تولیدات دامی

دوره ۱۷ ■ شماره ۱ ■ بهار و تابستان ۱۳۹۴

صفحه‌های ۱۱۷-۱۰۷

بررسی چندشکلی ناحیهٔ اگزون سوم ژن *FABP4* در دو نژاد سیستانی و دشتیاری و ارتباط آن با صفات رشد در گاوهای نژاد سیستانی

سمانه ابولی[۱]، غلامرضا داشاب[۲*]، محمد رکوعی[۲]، مهدی وفای واله[۲]

۱. کارشناس ارشد، گروه علوم دامی، دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه زابل

۲. استادیار، گروه علوم دامی، دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه زابل

تاریخ وصول مقاله:۱۳۹۳/۰۹/۱۷ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۳/۱۱/۲۷

چکیده

چندشکلی ناحیهٔ اگزون سوم جایگاه ژن *FABP4* و ارتباط الگوهای ژنوتیپی شناسایی‌شده با صفات مرتبط با رشد با استفاده از ۴۵ رأس گاو شامل نژاد سیستانی (۳۰ رأس) و دشتیاری (۱۵ رأس) بررسی شد. DNA از خون کامل استخراج و کیفیت آنها به‌کمک الکتروفورز ژل آگارز یک درصد بررسی شد. پس از تکثیر زنجیره‌ای پلی‌مرازی (PCR) و هضم آنزیمی آنها با *NlaIII* و الکتروفورز روی ژل آگارز ۲/۸ درصد، الگوهای ژنوتیپی دام‌ها براساس اندازه و تعداد باندها تعیین شد. فراوانی نسبی الگوهای باندی شناسایی‌شده شامل ژنوتیپ‌های AA، AB، و BB در دو نژاد سیستانی و دشتیاری به‌ترتیب ۶۷، ۳۰، و ۳ و نیز ۷۳، ۲۷، و صفر درصد بودند. فراوانی آلل‌های A و B در جایگاه مطالعه‌شده در جمعیت سیستانی و دشتیاری به‌ترتیب ۸۲، ۱۸، ۸۶/۵، و ۱۳/۵ درصد محاسبه شد. شاخص‌های هتروزایگوسیتی شامل شاخص شانون (I)، شاخص نئی، هتروزایگوسیتی مشاهده شد و هتروزایگوسیتی مورد انتظار در جمعیت سیستانی و دشتیاری به‌ترتیب ۴۸، ۳۰، ۳۰ و۳۰ و ۳۹، ۱۱، ۲۷ و ۲۴ درصد برآورد شد. الگوهای ژنوتیپی در جایگاه ژن *FABP4* در جمعیت گاو سیستانی همبستگی معنی‌داری با وزن‌های شش، نه، و دوازده ماهگی نشان داد. بنابراین جایگاه مذکور می‌تواند به‌عنوان ژن کاندیدا در توصیف تنوع صفات مرتبط با رشد بعد از سن ازشیرگیری گوساله‌ها در برنامه‌های اصلاح نژادی استفاده شود.

کلیدواژه‌ها: ژن *FABP4*، محتوای اطلاعات چندشکلی، نژادهای بومی، نژاد سیستانی، هتروزیگوسیتی.

* نویسنده مسئول Email: dashab@uoz.ac.ir

مقدمه

در پستانداران عملکرد عمدهٔ ساخت اسیدهای چرب و ذخیرهٔ انرژی مازاد در بافت چربی انجام می‌شود (۸). بافت چربی غده‌ای درون‌ریز است که ترکیبات متفاوتی را برای حفظ سطح انرژی بدن در خون ترشح می‌کند (۱۳). چربی عضلانی و چربی زیر پوستی دو منبع عمدهٔ چربی در دام هستند (۱۸).

برنامه‌های متداول اصلاح نژادی مستلزم اندازه‌گیری مستقیم صفات لاشه و درنتیجه کشتار دام یا استفاده از روش‌های پرهزینه‌ای مانند اولتراسونیک است که نیازمند تجهیزات و دستگاه‌های خاص است. پیشرفت تکنیک‌های جدید مولکولی در سطح DNA، درنتیجه شناسایی ژن‌هایی با تأثیرات عمده بر ویژگی‌های کمّی و کیفی لاشه می‌تواند اهمیت خاصی در پیشرفت برنامه‌های اصلاح نژادی داشته باشد (۲۷).

مطالعات برای یافتن ژن‌های مؤثر بر صفات لاشه در گاوهای گوشتی منجر به کشف ژن‌های کاندیدای مؤثر بر کمّیت و کیفیت گوشت شده و نقش آنها در نژادهای گوناگون گوشتی مشخص شده است (۳ ، ۱۹، ۲۲، ۲۳ و ۲۶). ژن *A-FABP* که *FABP4* (ژن تولیدکنندهٔ پروتئین متصل به اسید چرب) که *aP2* نیز نامیده می‌شود، یکی از اعضای خانواده *FABP* است که میل ترکیبی بالا با گروه‌های آب‌گریزی مانند اسیدهای‌چرب شاخه‌بلند اشباع و غیراشباع دارند (۷ و۱۲). ژن *FABP* بیشتر در سلول‌های چربی بالغ و ماکروفاژهای فعال بیان می‌شود و حدود شش درصد از پروتئین محلول آنها را به خود اختصاص می‌دهد. همچنین، پروتئین حاصل از بیان ژن *FABP4* در گردش خون در پلاسما نیز شناسایی شده است (۹).

در چند سال گذشته، تلاش‌های زیادی برای کشف نقش *FABP4* انجام شده است، با این حال مسیرهایی که در بافت‌ها به ترشح پروتئین متصل به اسید چرب می‌انجامد و همچنین نقش پروتئین *FABP4* در گردش خون ناشناخته مانده است. ژن *FABP4* روی کروموزوم ۱۴ گاو واقع شده است و چهار اگزون و سه اینترون دارد که طول تقریبی آن برابر با ۴/۳ کیلو جفت باز است (۹). ژن *A-FABP* نقش مهمی در فرایندهای بیولوژیکی مرتبط با لیپیدها مانند وساطت در مسیرهای متابولیکی، افزایش حجم بافت‌های چربی، دیابت قندی، ناهنجاری متابولیکی، و تصلب شرایین دارد (۱۱، ۲۴ و ۲۸). کاهش بیان *A-FABP* در بافت چربی، تأثیر سودمندی بر قلب و عروق و کارکرد صحیح گردش خون دارد (۲۵). ژن *FABP4* منحصراً در سلول‌های چربی بیان شده و به اسیدهای چرب زنجیربلند و دیگر گروه‌های آب‌گریز متصل است (۱۸). همچنین، ژن *FABP4* در گاو به‌عنوان عامل ژنتیکی مؤثر بر رسوب چربی در عضله شناخته شده است (۵، ۱۸ و ۲۳).

الگوهای گوناگون ژنوتیپی موجود در جایگاه ژنی *FABP4* با میزان چربی عضلانی مرتبط است (۲۱). با مطالعهٔ جمعیت گاو نلری گزارش شد که چندشکلی *FABP4* با چربی‌های زیرپوستی، چربی درون، و بین‌سلولی مرتبط هستند (۱۴). جهش در اینترون یک باعث تغییر در سرعت رونویسی ژن در گوسفند بومی چینی می‌شود که تأثیر زیادی بر چربی درون سلولی و درصد چربی بین بافتی دارد (۲۹).

هدف از انجام پژوهش حاضر، بررسی چندشکلی اگزون سوم در جایگاه ژن *FABP4* در جمعیت‌های گوشتی ایران شامل نژاد گاو سیستانی و دشتیاری و مطالعهٔ ارتباط الگوهای ژنوتیپی در جایگاه مذکور با صفات مرتبط با رشد در جمعیت گاو سیستانی است.

مواد و روش‌ها

در پژوهش حاضر، از ۴۵ رأس گوسالهٔ یک‌ساله با سن تقریبی ۱۲ تا ۱۴ماه (۳۰ رأس گوسالهٔ سیستانی و ۱۵ رأس

گوسالهٔ دشتیاری) استفاده و از آنها ازطریق ورید زیرشکمی خون‌گیری شد. DNA از خون کامل با کیت دنازیست آسیا (DenaZyst Co.) استخراج شد. کمّیت و کیفیت DNA استخراج‌شده با روش اسپکتروفتومتری و الکتروفورز ژل آگارز یک درصد بررسی شد و DNA استخراج‌شده تا استفادهٔ بعدی در دمای ۲۰- درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شد. تکثیر قطعهٔ ۵۶۵bp از ناحیهٔ اگزون سوم جایگاه ژنی *FABP4* با استفاده از یک جفت آغازگر اختصاصی (۲۱) طی واکنش PCR و دستگاه ترموسیکلر (مدل Ependorph) انجام شد. توالی نوکلئوتیدی جفت آغازگر اختصاصی استفاده‌شده در ادامه ذکر می‌شود:

F: 5'ACCCCTATGATGCTATTCCACA3'
R: 5'ATACGGTTCACATTGAGAGGGA3'

اجزای واکنش استفاده‌شده برای واکنش تکثیر PCR در جدول ۱ آمده است.

به‌منظور پیشرفت واکنش PCR از دستگاه ترموسایکلر (مدل Ependorph) استفاده شد و چرخهٔ حرارتی مطابق با جدول ۲ بود.

جدول ۱. مخلوط واکنش PCR برای هر میکروتیوپ برای تکثیر ژن *FABP4*

اجزای واکنش	حجم استفاده‌شده (میکرولیتر)	غلظت نهایی (در ۲۰ میکرولیتر)
Master Mix (Top DNA polymerase, dNTP, Tris-HCL, KCL and MgCL2)	۶/۷	(به‌ترتیب ۱ واحد، ۲۵۰ میکرومول، ۱۰ میلی‌مول، ۳۰ میلی مول و ۱/۵ میلی‌مول)
DNA	۱	۵۰ نانوگرم
Primer Stock (Reverse, Forward)	۰/۵	۱۰ پیکومول
ddH_2O	۱۱/۸	–
Total	۲۰	–

جدول ۲. چرخهٔ حرارتی PCR (برای تکثیر قطعهٔ ۵۶۵ جفت بازی از جایگاه ژنی *FABP4*)

مرحله	واکنش	دما (درجهٔ سانتی‌گراد)	زمان (ثانیه)	تعداد چرخه
۱	واسرشته‌سازی اولیه	۹۵	۳۰۰	۱
	واسرشته‌سازی ثانویه	۹۵	۳۰	۳۵
۲	اتصال	۵۳/۵	۴۰	
	بسط	۷۲	۴۰	
۳	بسط نهایی	۷۲	۳۰۰	۱

به‌منظور آشکارسازی الگوهای باندی حاصل از تکثیر PCRاز الکتروفورز ژل آگارز یک درصد استفاده شد. برای هضم آنزیمی محصولات PCR از آنزیم برشی اختصاصی، *NlaIII* استفاده شد. واکنش هضم آنزیمی DNA با آنزیم اختصاصی *NlaIII*، به‌مدت چهار ساعت و در دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد انجام شد و سپس محصول برش‌یافته روی ژل آگارز ۲/۸ درصد در ولتاژ ۸۰ به‌مدت دو ساعت الکتروفورز شد (جدول ۳).

جدول ۳. مواد لازم برای هضم آنزیمی *NlaIII* ناحیهٔ اگزون ۳ ژن *FABP4*

مواد لازم	غلظت اولیه	حجم استفاده‌شده (میکرولیتر)	غلظت نهایی
Nuclease-free Water	–	۵/۵	–
Buffer G	۱۰ X	۲	۱ X
PCR Product	۱۰۰ ng/µl	۷	۲۵ ng/µl
NlaIII	۵ U/µl	۰/۵	۱ U
حجم نهایی	–	۱۵	–

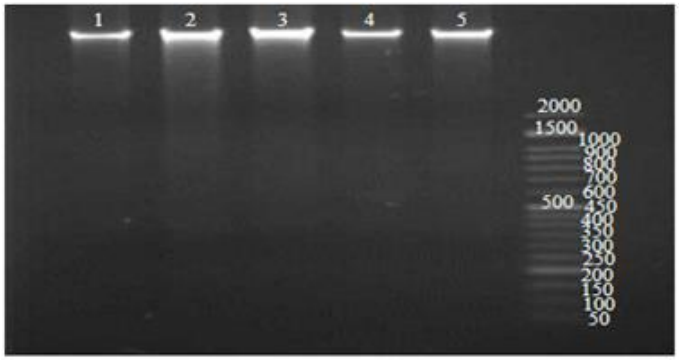
ساختارهای ژنتیکی و جمعیتی در جایگاه مطالعه‌شده با نرم‌افزار POPGENE3.2 تجزیه و تحلیل شدند (۳۰). ارتباط بین ژنوتیپ‌های مشاهده‌شده در جایگاه ژن *FABP4* با صفات مرتبط با رشد شامل وزن تولد، سه، شش، نه، و ۱۲ماهگی در قالب مدل‌های خطی ثابت با نرم‌افزار آماری SAS (۲۰) با رویهٔ GLM بررسی شد. لازم به ذکر است که تمام دام‌های استفاده‌شده از جمعیت گاو سیستانی غیرخویشاوند و غیرهمخون بودند. درضمن دام‌هایی با الگوی ژنوتیپی BB فقط در جمعیت گاو سیستانی (فقط یک حیوان) مشاهده شد. بنابراین حیوان با الگوی BB در تجزیه و تحلیل آماری استفاده نشد. چون جمعیت گاو دشتیاری فاقد رکورد وزن بودند، بنابراین فقط ارتباط الگوهای ژنوتیپی مشاهده‌شده در جمعیت گاو سیستانی با مدل آماری ۱ مطالعه شد. میانگین‌های حداقل مربعات بین گروه‌های ژنوتیپی با آزمون توکی کرامر مقایسه شدند.

$$y_{ijk} = \mu + Sex_i + G_j + e_{ijk} \qquad (۱)$$

در این رابطه: y_{ijk} رکورد فنوتیپی هر یک از صفات مطالعه‌شده (وزن تولد، سه‌ماهگی، شش‌ماهگی، نه‌ماهگی، و ۱۲ماهگی)، µ میانگین کل، Sex_i تأثیر ثابت جنس شامل دو سطح، G_j تأثیر ثابت الگوی ژنوتیپی حیوان شامل دو سطح (AA و AB)، و e_{ijk} خطای تصادفی باقیمانده هستند.

نتایج و بحث

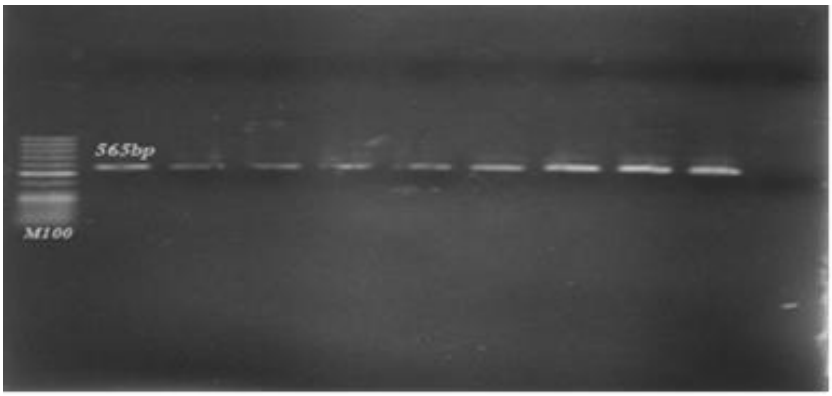
نتایج استخراج DNA روی ژل آگارز یک درصد ازنظر کمّیت و کیفیت مناسب بود و باندها خطی، بدون شکستگی بودند و کیفیت مطلوبی داشتند (شکل ۱).



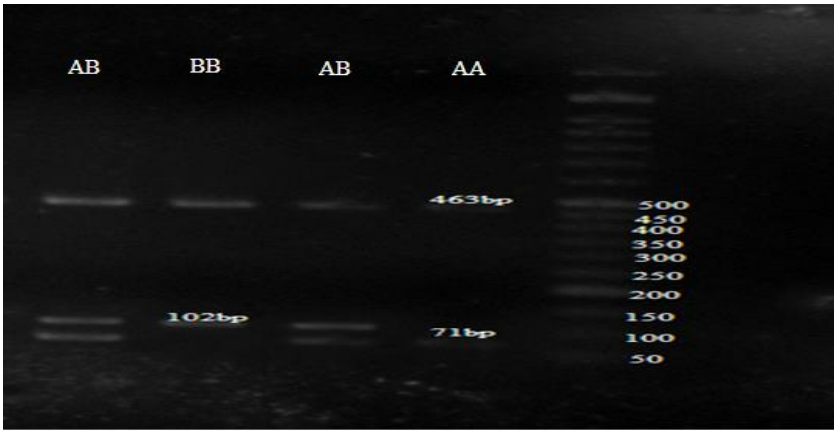
شکل ۱. کیفیت DNA استخراج‌شده از خون کامل در گاوهای سیستانی و دشتیاری (اولین ستون از سمت راست مارکر وزنی ۵۰ جفت بازی یا M50)

تکثیر قطعهٔ ۵۶۵ جفت بازی از ناحیهٔ اگزون سوم ژن *FABP4* با واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) به‌خوبی صورت گرفت. با برنامهٔ حرارتی مناسب، آغازگرهای اختصاصی، و شرایط آزمایشگاهی خوب قطعهٔ ۵۶۵ جفت بازی بدون قطعات غیراختصاصی به‌دست آمد (شکل ۲).

پس از هضم آنزیمی محصول PCR با آنزیم *NlaIII* در ناحیهٔ اگزون سوم جایگاه ژنی *FABP4*، براساس تعداد باندهای مشاهده‌شده روی ژل اگارز، انواع الگوهای ژنوتیپی دام‌ها تعیین شدند (شکل ۳). آنزیم *NlaIII* با سایت برشی CATG* (ستاره به معنی این است که هر نوکلئوتید دیگری هم می‌تواند جایگزین آن شود) در اگزون سوم جایگاه ژنی *FABP4* سه الگوی ژنوتیپی شامل AA، AB، و BB را ایجاد کرد. دام‌های با الگوی ژنوتیپی AA شامل سه باند با طول‌های ۴۶۳، ۷۱، و ۳۱ جفت بازی و دام‌های دارای الگوی ژنوتیپی AB، شامل چهار باند ۴۶۳، ۱۰۲، ۷۱، و ۳۱ جفت بازی و درپایان دام‌هایی که الگوی ژنوتیپی BB دارند نیز دو باند شامل ۴۶۳ و ۱۰۲ جفت بازی بر روی ژل آگارز نمایان ساختند.



شکل ۲. الکتروفورز محصولات PCR در ناحیهٔ اگزون سوم ژن *FABP4* در جمعیت گاو سیستانی و دشتیاری (اولین ستون از سمت چپ Ladder M100)



شکل ۳. الکتروفورز محصولات حاصل از هضم با آنزیم اختصاصی NlaIII و انواع الگوهای ژنوتیپی دام‌ها در دو نژاد سیستانی و دشتیاری (از سمت راست Ladder M50)

نتایج حاصل از الکتروفورز محصولات هضم آنزیمی در جمعیت گاوهای سیستانی منجر به شناسایی سه الگوی ژنوتیپی شامل AA، AB، و BB به‌ترتیب با فراوانی‌های ۶۷، ۳۰، و سه‌درصد شد. همچنین، در جمعیت گاو دشتیاری فقط دو الگوی ژنوتیپی AA و AB به‌ترتیب با فراوانی‌های ۷۳ و ۲۷ درصد مشاهده شد. فراوانی آلل‌های A و B در جمعیت سیستانی به‌ترتیب ۸۲ و ۱۸ و در جمعیت دشتیاری ۸۶/۵ و ۱۳/۵ درصد محاسبه شد. فراوانی‌های آللی و الگوهای ژنوتیپی مشاهده‌شده در جمعیت سیستانی و دشتیاری در جدول‌های ۴ و ۵ ارائه شده است.

در پژوهش حاضر، ژنوتیپ AA و آلل A بیشترین فراوانی را در هر دو جمعیت گاو سیستانی و دشتیاری داشتند. با مطالعهٔ جمعیت گاوهای بومی برزیلی، الگوی ژنوتیپی AA، و آلل A (فراوانی ۰/۸۴) با بیشترین فراوانی در اگزون سوم جایگاه ژن *FABP4* گزارش شد (۴). در مطالعهٔ نژادهای کره‌ای و آمیخته‌های آنها یک جهش در ناحیهٔ اگزون سوم جایگاه ژنی *FABP4* گزارش شد که با تغییر نوکلئوتید آدنین به گوانین (A>G) همراه است و از دو آلل مشاهده‌شده، آلل A فراوان‌ترین آلل بود (۱۸). در مطالعهٔ گاوهای جرسی در اگزون سوم جایگاه ژن *FABP4* دو الگوی ژنوتیپی AA و AB به‌ترتیب با فراوانی‌های ۰/۸۹ و ۰/۱۱ گزارش شد و الگوی ژنوتیپی BB همانند مطالعهٔ حاضر در نژاد دشتیاری مشاهده نگردید. همچنین، فراوانی‌های آللی در جایگاه مذکور به‌ترتیب ۰/۹۵ و ۰/۰۵ گزارش شد که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت داشت (۱۵).

جدول ۴. فراوانی الگوهای ژنوتیپی برای محصولات حاصل از هضم آنزیمی با *NlaIII* در جمعیت گاو سیستانی و دشتیاری

نژاد	ژنوتیپ	تعداد مشاهده‌شده	تعداد موردانتظار	فراوانی ژنوتیپی (درصد)
سیستانی	AA	۲۰	۱۹/۹۳	۶۷
	AB	۹	۹/۱۴	۳۰
	BB	۱	۰/۹۳	۳
دشتیاری	AA	۱۱	۱۱/۲۰۷	۷۳
	AB	۴	۳/۵۸۶	۲۷
	BB	۰	۰/۲۰۷	۰

جدول ۵. فراوانی‌های آللی براساس الگوهای ژنوتیپی در اگزون سوم جایگاه ژنی *FABP4* در جمعیت گاو سیستانی و دشتیاری

آلل	فراوانی (درصد)	
	جمعیت سیستانی	جمعیت دشتیاری
A	۸۲	۸۶/۵
B	۱۸	۱۳/۵

جدول ۶. فراوانی‌های هتروزایگوسیتی و هموزایگوسیتی الگوهای ژنوتیپی اگزون سوم جایگاه ژن *FABP4* در جمعیت گاوهای سیستانی و دشتیاری

نژاد	هتروزایگوسیتی (درصد)		هموزایگوسیتی (درصد)	
	مشاهده‌شده	مورد انتظار	مشاهده‌شده	مورد انتظار
سیستانی	۳۰	۳۰	۷۰	۷۰
دشتیاری	۲۷	۲۴	۷۳	۷۶

تنوع مبنای همهٔ گزینش‌ها بوده و انتخاب ژنوتیپی نیز نیازمند تنوع است. تنوع ژنتیکی در یک جایگاه را می‌توان با معیارهایی همچون هتروزایگوسیتی مورد انتظار و هتروزایگوسیتی مشاهده‌شده، تعیین کرد. اطلاعات مربوط به میزان هتروزایگوسیتی و هموزایگوسیتی در دو جمعیت سیستانی و دشتیاری در جدول ۶ ارائه شده است. متوسط هتروزایگوسیتی نیز برای هر دو نژاد سیستانی و دشتیاری ۲۷ درصد محاسبه شد که بیانگر تنوع کم در جایگاه ژن *FABP4* در جمعیت‌های سیستانی و دشتیاری است. شایان ذکر است که تنوع کم، ممکن است نتیجهٔ انتخاب و آمیزش‌های خویشاوندی در بین حیوانات باشد و برای جلوگیری از تأثیرات سوء تنوع کم، به ورود ژن‌های جدید، و مبادلهٔ ژنتیکی با سایر جمعیت‌ها نیاز است. همچنین، افزایش میزان هتروزایگوسیتی تظاهر آلل‌های مغلوب زیان‌آور را کاهش می‌دهد (۱).

آزمون کای اسکور و نسبت درست‌نمایی نشان داد که هر دو جمعیت سیستانی و دشتیاری خارج از تعادل هاردی‌وایینبرگ قرار دارند ($P< ۰/۰۱$)، عدم تعادل هاردی‌وایینبرگ در جایگاه ژن *FABP4* می‌تواند به‌دلیل‌پایین‌بودن تعداد نمونه‌های مطالعه‌شده، پیش زمینهٔ ژنتیکی حیوانات مطالعه‌شده، و همچنین به‌گزینی چندین‌ساله در جمعیت گاو سیستانی مطالعه‌شده باشد. نتایج به‌دست‌آمده با نتایج تحقیق دیگری در جمعیت گاوهای بومی کره‌ای در نواحی اگزون دوم و سوم جایگاه ژن *FABP4* به‌روش PCR- RFLP مطابقت دارد (۱۰).

شاخص‌های تنوع ژنتیکی در اگزون سوم جایگاه ژن *FABP4* در جدول ۷ ارائه شده است.

جدول ۷. شاخص‌های تنوع در اگزون سوم جایگاه ژن *FABP4* در جمعیت گاو سیستانی و دشتیاری

نژاد	شاخص شانون (I) (٪)	محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC)	شاخص نئی (٪)	تعداد آلل واقعی	تعداد آلل مؤثر	آمارهٔ Fis*
سیستانی	۴۸	۰/۲۶	۳۰	۲/۰۰	۱/۴۳	−۰/۰۰۲
دشتیاری	۳۹	۰/۲۵	۲۳	۲/۰۰	۱/۳۰	−۰/۱۵۴

*: شاخص تثبیت رایت

از شاخص‌های تنوع در جمعیت شاخص شانون است که بیانگر میزان تنوع ژنتیکی در هر جمعیت برحسب درصد است. هرچه این شاخص به صفر نزدیک‌تر شود، تنوع کمتر خواهد بود. میزان شاخص شانون محاسبه‌شده برای جمعیت سیستانی، ۴۸ و برای جمعیت دشتیاری، ۳۹ درصد محاسبه شد که بیانگر تنوع متوسط در جمعیت‌های مطالعه‌شده است. شاخص برتری جایگاه ژنی در مطالعات پیوستگی، محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) است. براساس این شاخص اگر مقدار محتوای اطلاعات چندشکلی کمتر از ۰/۲۵ باشد، میزان چندشکلی کم؛ اگر بین ۰/۲۵ و ۰/۵۰ باشد، چندشکلی متوسط؛ و اگر بالاتر از ۰/۵۰ باشد، چندشکلی زیاد خواهد بود (۲ و ۶). محتوای اطلاعات چندشکلی در جایگاه *FABP4* در دو جمعیت سیستانی و دشتیاری به‌ترتیب ۰/۲۶ و ۰/۲۵ بودند که در حد متوسط قرار دارد. همچنین، میزان هتروزایگوسیتی برآوردشده با شاخص نئی در جمعیت سیستانی ۳۰ و در جمعیت دشتیاری ۲۳ درصد محاسبه شد که شاخص متوسط تنوع ژنتیکی در جایگاه ژن *FABP4* در جمعیت گاوهای سیستانی و دشتیاری است.

سایر معیارهای میزان تنوع ژنتیکی جایگاه شامل تعداد آلل واقعی و مؤثر در دو جمعیت گاو سیستانی و دشتیاری به‌ترتیب دو، ۱/۴۳، دو، و ۱/۳ بودند. تعداد آلل مؤثر در جمعیت، اطلاعاتی را در زمینهٔ تأثیر آلل‌ها در تنوع درون‌جمعیتی مشاهده‌شده می‌دهد و متناسب با اندازهٔ مؤثر جمعیت است. تعداد آلل مؤثر زمانی با تعداد آلل واقعی برابر خواهد بود که فراوانی مساوی داشته باشند، ولی در بیشتر موارد تعداد آلل مؤثر کمتر از تعداد آلل واقعی است. با توجه به تعداد آلل‌های مشاهده‌شده (۲) و مؤثر (۱/۴۳) در جایگاه بررسی‌شده در جمعیت گاو سیستانی و تعداد آلل‌های مشاهده‌شده (۲) و مؤثر (۱/۳۰) در جمعیت دشتیاری، اختلاف فراوان آلل‌های گوناگون در جایگاه ژنی *FABP4* توجیه‌پذیر است. بنابراین، چندشکلی ژن و کارایی نشانگر استفاده‌شده در مطالعات پیوستگی ژن در حد متوسط و پایین است.

نتایج حاصل از تجزیهٔ واریانس، تفاوت معنی‌داری بین الگوهای ژنوتیپی صفات وزن تولد و سه‌ماهگی نشان نداد، اما تأثیر الگوهای ژنوتیپی بر صفات بعد از بلوغ جنسی مانند وزن‌های شش‌ماهگی، نه‌ماهگی، و ۱۲ماهگی بسیار معنی‌دار بودند ($P<۰/۰۱$). در مطالعهٔ گاوهای هان‌وو یک جهش در موقعیت اگزون سوم (g.3631 G>A) گزارش شد که با درجهٔ چربی ماهیچه بالاتر مرتبط بود، اما وزن بدن را تحت تأثیر قرار نداد (۱۷). البته در مطالعات قبلی گزارش کرده بودند که بالاترین سطح بیان در جایگاه ژن *FABP4* بین ۱۲ تا ۲۷ماهگی است و هاپلوتیپ‌های مشاهده‌شده در جایگاه مذکور با وزن بدن، وزن لاشه، و درجهٔ چربی ماهیچه مرتبط است (۱۶). در مطالعهٔ اگزون سوم جایگاه *FABP4* در گاوهای نلری (گاو بومی برزیل) که الگوهای ژنوتیپی شناسایی‌شده در اگزون سوم جایگاه *FABP4* ارتباط معنی‌داری با وزن تولد، سه‌ماهگی، و وزن ۱۲ماهگی نداشت، اما بر وزن شش‌ماهگی و نه‌ماهگی اثر معنی‌داری داشت (۴). تحقیقات انجام‌شده در نژادهای کره‌ای و آمیخته‌های آنها یک جهش در اگزون سوم، با صفات لاشه، و درجهٔ چربی ماهیچه مرتبط بود (۱۴). همچنین، در مطالعهٔ بررسی چندشکلی جایگاه *FABP4* در جمعیت گاوهای بومی کره‌ای سه جهش در اگزون سوم گزارش کردند که مرتبط با ضخامت چربی پشتی بود، اما صفات لاشه را تحت تأثیر قرار نداد (۱۰). نتایج نشان‌دهندهٔ این موضوع است که احتمالاً ژن *FABP4* بعد از بلوغ جنسی یا حدود شش‌ماهگی بیان می‌شود. حیوان در زمان تولد و سه‌ماهگی بیشتر تحت حمایت مادر و شایستگی ژنتیکی مادری قرار دارد، اما بعد از سن شیرگیری افزایش وزن تحت تأثیر توان یا شایستگی ژنتیکی خود حیوان قرار

دارد (۱۰). میانگین حداقل مربعات تأثیرات الگوهای ژنوتیپی جایگاه ژن *FABP4* بر صفات مرتبط با رشد در جمعیت گاوهای سیستانی در جدول ۸ ارائه شده است. در اکثر صفات، دام‌های با الگوی ژنوتیپی AB وزن بالاتری در مقایسه با دام‌های با ژنوتیپ AA داشتند (P<۰/۰۵) به‌جز وزن تولد و سه‌ماهگی که اختلاف معنی‌داری نداشتند، که احتمالاً به واسطهٔ تأثیرات افزایشی بین آلل‌ها و یا گروه‌های ژنی پیوسته با آنهاست، که با نتایج محققان که گزارش کردند ژنوتیپ جهش‌یافته اثر معنی‌داری بیشتری در مقایسه با ژنوتیپ AA در صفات کیفیت گوشت دارد و منبع مفیدی برای به‌حداکثررساندن منافع اقتصادی برای جمعیت گاو خواهد بود، مطابقت دارد (۲۱)، اما مخالف با نتایج مطالعاتی است که گزارش کردند ژنوتیپ AA حساسیت بالاتری در مقایسه با ژنوتیپ جهش‌یافته دارد و آلل A اثر شایان توجهی بر وزن بدن و درصد لاشه در ۹۰روزگی دارد (۲۹).

بنابراین، باتوجه به چندشکلی و وجود ژنوتیپ‌های متنوع در جایگاه ژن *FABP4* در دو نژاد سیستانی و دشتیاری و همچنین ارتباط معنی‌داری که بین این الگوها و صفات رشد مشاهده شد، می‌توان با تحقیقات بیشتر در مورد این ژن و تصدیق یافته‌های این پژوهش، از این نشانگر مولکولی به همراه سایر اطلاعات مولکولی در برنامه‌های به‌نژادی استفاده گردد. همچنین، باتوجه به نقش مهم جایگاه ژنی *FABP4* بر متابولیسم چربی پیشنهاد می‌شود ارتباط الگوهای ژنوتیپی با صفات کیفی لاشه بررسی شود.

جدول ۸. مقایسهٔ میانگین‌های حداقل مربعات الگوهای ژنوتیپی جایگاه ژن *FABP4* بر صفات مرتبط با رشد در جمعیت گاوهای سیستانی

صفت	الگوی ژنوتیپی	
	AA	AB
وزن تولد	۲۵/۴۹ ± ۱/۳۷	۲۵/۹۱ ± ۱/۳۵
وزن سه‌ماهگی	۴۹/۹۸ ± ۳/۶۴	۵۴/۹ ± ۳/۶۱
وزن شش‌ماهگی	۶۵/۶۷ ± ۴/۴۴[b]	۹۴/۷۴ ± ۴/۴۱[a]
وزن نه‌ماهگی	۸۰/۰۹ ± ۴/۸۷[b]	۱۲۰/۶۹ ± ۴/۸۳[a]
وزن ۱۲ماهگی	۹۸/۹ ± ۶/۳۹[b]	۱۴۷/۵۹ ± ۶/۳۴[a]

a-b: تفاوت ارقام در هر ردیف با حروف نامشابه معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

منابع

۱. یزدان‌پناه ا، خدرزاده ص و محمدی‌کفترکاری ع (۱۳۸۹) تعیین میزان هتروزایگوسیتی در گاو نجدی استان خوزستان با استفاده از تکنیک PBR. چهارمین کنگرهٔ علوم دامی ایران. کرج. صص. ۲۸۷۵-۲۸۷۸.

2. Adoligbe C, Linsen Zan C, Farougou S, Hongbao Wang J and Ujjan A (2012) Bovine GDF10 gene polymorphism analysis and its association with body measurement traits in Chinese indigenous cattle. Molecular Biology Reproduction. 39: 4067-4075.

3. Anton I, Kovacs K, Hollo G, Farkas V, Lehel L, Hajda Z and Zsolnai A (2010) Effect of leptin, DGAT1 and TG gene polymorphisms on the intramuscular fat of Angus cattle in Hungary. Livestock Science. 11: 243-249.

4. Ayres DR, Souza FRP, Mercadante MEZ, Fonseca LFS, TonhatiH, Cyrillo JNSG, Bonilha SFM and Albuquerque LG (2010) Evaluation of TFAM and FABP4 gene polymorphisms in three lines of Nellore cattle selected for growth. Genetics Molecular Resource. 9: 2050-2059.

5. Barendse W, Bunch RJ, Thomas MB and Harrison BE (2009) A splice site single nucleotide polymorphisms of the fatty acid binding protein 4 gene appears to be associated with intramuscular fat deposition in longissius muscle in Australian cattle. Animal Genetics. 40: 770-773.

6. Botstein D, White RL, Skolnick M and Davis RW (1980) Construction of a genetic-linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. American Journal of Human Genetic. 32: 314-331.

7. Cabré A, Lázaro I, Girona J, Manzanares JM, Marimon F and Plana N (2008) Plasma fatty acid binding protein 4 is associated with atherogenic dyslipidemia in diabetes. Lipid Resource. 49(8): 1746-51.

8. Chen CH, Lin EC, Cheng WTK, Sun HS, Mersmann HJ and Ding ST (2006) Abundantly expressed genes in pig adipose tissue: An expressed sequence tag approach. Animal Science. 84: 2673-2683.

9. Chmurzynska A (2006) The multi-gene family of fatty acid-binding proteins (*FABPs*): function, structure and polymorphism. Applied Genetics. 47: 39-48.

10. Cho S, Park TS, Yoon DH, Cheong HS, Namgoong S, Park BL, Lee HW, Han CS, Kim EM, Cheong IC, Kim H and Shin HD (2007) Identification of genetic polymorphisms in *FABP3* and *FABP4* and putative association with back fat thickness in Korean native cattle. BMB reports. Pp. 29-34.

11. Furuhashi M and Hotamisligil GS (2008) Fatty acid binding proteins: role in metabolic diseases and potential as drug targets. National Revolution Drug Discovery. 7: 489-503.

12. Haluzík MM, Anderlová K, Dolezalová R, Adamíková A, Haluzíková D and Housová J (2009) Serum adipocyte fatty acid binding protein levels in patients with type 2 diabetes mellitus and obesity: the influence of fenofibrate treatment. Physiology Resource. 58: 93-9.

13. Havel PJ (2002) Control of energy homeostasis and insulin action by adipocyte hormones: Leptin, acylation stimulating protein, and adiponectin. Current Opinion in Lipidology. 13: 51-59.

14. Jiang Z, Kunej T and Michal JJ (2005) Biochemistry Biophysics Resource Community. 334: 516-523.

15. Kulig H, Kowalewska-Łuczak I, Kmieć M and Wojdak-Maksymiec K (2010) *ANXA9*, *SLC27A3*, *FABP3* and *FABP4* single nucleotidepolymorphisms in relation to milk production traits in Jersey cows. Czech Journal of Animal Science. 55: 463-467.

16. Lee SH, Park EW, Cho YM, Kim KH, Oh YK, Lee JH, Lee CS, Oh SJ and Yoon DH (2006) Lipogenesis gene expression profiling on the early and late fattening stage of Hanwoo longissimus dorsi. Animal Science and Technology (Kor). 48: 913-20.

17. . Lee SH, Van der Werf JHJ, Lee SH, Park EW, Oh SJ, Gibson JP and Thompson JM (2010) Genetic polymorphisms of the bovine Fatty acid binding protein 4 gene are significantly associated with marbling and carcass weight in Hanwoo (Korean Cattle). Animal Genetics. 41: 442- 444.

18. Michal JJ, Zhang ZW, Gaskins CT and Jiang Z (2006) The bovine fatty acid binding protein 4 gene is significantly associated with marbling and subcutaneous fat depth in Wagyu 9 Limousin F2 crosses. Animal Genetics. 37: 400-402.

19. Pannier L, Mullen AM, Hamill RM, Stapleton PC and Sweeney T (2010) Association analysis of single nucleotide polymorphisms in DGAT1, TG and FABP4 genes and intramuscular fat in crossbred Bos taurus cattle. Meat Science. 85: 515-518.

20. SAS User Guide: statistics (2009) SAS institute (version 9.2) Cary: NC.

21. Shin SC, Heo JP and Chung FR (2012) Genetic variants of the *FABP4* gene are associated with marbling scores and meat quality grades in Hanwoo (Korean cattle). Molecular Biology Reports. 39: 5323-5330.

22. Souza FRP, Mercadante MEZ, Fonseca LFS, Ferreira LMS, Regatieri IC, Ayres DR, Tonhati H, Silva SL, Razook AG and Albuquerque LG (2010) Assessment of DGAT1and LEP gene polymorphisms in three Nelore (Bos indicus) lines selected for growth and their relationship with growth and carcass traits. Animal Science. 88: 435-441.

23. Thaller G, Kuhn C, Winter A, Ewald G, Bellmann O, Wegner J, Zuhlke H and Fries R (2003) DGAT1, a new positional and functional candidate gene for intramuscular fat deposition in cattle. Animal Genetics. 34: 354-357.

24. Tso AW, Xu A, Sham PC, Wat NM, Wang Y and Fong CHY (20070 Serum adipocyte fatty acid binding protein as a new biomarker predicting the development of type 2 diabetes: a 10-year prospective study in a Chinese cohort. Diabetes Care. 30: 2667-2672.

25. Tuncman G, Erbay E, Hom X, DeVivo I, Campos H and Rimm EB (2006) A genetic variant at the fatty acid-binding protein aP2 locus reduces the risk for hypertri- glycer-idemia, type 2 diabetes, and cardiovascular disease. Proceedings of the National Academy of Sciences. 103: 6970-6975.

26. White SN, Casas E, Allan MF, Keele JW, Snelling WM, Wheeler TL, Shackelford SD, Koohmaraie M and Smith TPL (2007) Evaluation in beef cattle of six deoxy-ribo-nucleic-acid markers developed for dairy traits reveals an osteopontin polymorphism associated with post-weaning growth. Animal Science. 85: 1-10.

27. Wimmers K, Murani E, Schellander K and Ponsuksili S (2005) Combining QTL and expression-analysis: identification of functional positional candidate genes for meat quality and carcass traits. Archiv Tierzucht. 48: 23-31.

28. Xu A, Wang Y, Xu JY, Stejskal D, Tam S and Zhang J (2006) Adipocyte fatty acid binding protein is a plasma biomarker closely associated with obesity and metabolic syndrome. Clinical Chemistry. 52: 405-413.

29. Xu QL, Tang GW, Zhang QL, Huang YK, Liu YX, Quan K, Zhu KY and Zhang CX (2011)

The *FABP4* gene polymorphism is associated with meat tenderness in three Chinese native sheep breeds. Czech Journal Animal Science. 56: 1-6.

30. Yeh FC, Yang RC and Boyle T (1999) POPGENE version 1.31 Microsoft window-based freeware for population genetic analysis. University of Alberta and Centre for International Forestry Research in water Catchments Systems. 416-432 pp: 45-54.