



تولیدات دامی

دوره ۲۰ ■ شماره ۴ ■ زمستان ۱۳۹۷

صفحه‌های ۵۲۷-۵۳۷

تنوع ژنتیکی چهار ژن کاندید مرتبط به سیستم ایمنی در مرغ‌های تجاری گوشتی و تخم‌گذار

جعفر پیش جنگ آقاجری^{۱*}، قدرت اله رحیمی میانجی^۲، سید حسن حافظیان^۳، محسن قلی‌زاده^۴

۱. دانش‌آموخته دکتری ژنتیک و اصلاح نژاد دام، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری و استادیار، گروه علوم دامی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد مراغه، مراغه، ایران.
۲. استاد، گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران.
۳. دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران.
۴. استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران.

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۷/۰۸/۰۲

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۷/۰۴/۰۸

چکیده

در تحقیق حاضر، چندشکلی چهار جایگاه ژنی شامل *TLR4*، *IgL*، *IL2* و *IFN γ* در ۱۰۰ قطعه مرغ تجاری گوشتی و تخم‌گذار با استفاده از تکنیک PCR-RFLP و آنزیم‌های برشی *Tsp509I* و *Sau96I*، *HphI* بررسی شدند. در جایگاه نشانگری *TLR4*، دو آلل C (دو باند ۱۳۸ و ۱۱۹ جفت بازی و G (سه باند ۱۱۹، ۹۹ و ۳۹ جفت بازی)، در جایگاه ژنی *IL2*، دو آلل A (چهار باند ۶۵، ۶۴، ۴۰ و ۳۱ جفت بازی) و B (پنج باند ۵۴، ۶۴، ۴۰، ۳۱ و ۱۱ جفت بازی)، در جایگاه ژنی *IgL*، دو آلل M (دو باند ۱۷۳ و ۱۶۱ جفت بازی و دو باند ۱۰ جفت بازی) و N (سه باند ۱۶۱، ۱۰۳، ۷۰ و دو باند ۱۰ جفت بازی) و در جایگاه ژنی *IFN γ* ، دو آلل E (یک باند ۱۲۹ جفت بازی) و F (دو باند ۹۰ و ۳۹ جفت بازی) شناسایی شدند. در جایگاه‌های نشانگری *TLR4*، *IgL* و *IFN γ* ، ساختارهای جمعیتی در کل جمعیت‌ها شامل شاخص اطلاعات شانون به ترتیب ۰/۶۸، ۰/۶۹ و ۰/۵۸، شاخص تثبیت به ترتیب ۰/۱۹، ۰/۳۷، ۰/۱۸- و ۰/۱۷ و شاخص هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده به ترتیب ۰/۳۲، ۰/۲۷، ۰/۵۸ و ۰/۴۱ برآورد شدند. با توجه به وجود چندشکلی در این جایگاه‌ها و در صورت مطالعه پاسخ‌های ایمنی ژنوتیپ‌های مشاهده‌شده برای جایگاه‌های ژنی مورد مطالعه می‌توان از آن‌ها به‌عنوان نشانگر در برنامه‌های اصلاح نژاد ژنتیکی مرغ‌ها برای افزایش مقاومت به بیماری‌ها بهره برد.

کلیدواژه‌ها: اصلاح نژاد، بیماری، جهش، نشانگر مولکولی، PCR-RFLP.

مقدمه

بهبود مقاومت ژنتیکی در مرغ‌ها یک روش مناسب جهت افزایش مقاومت به عوامل عفونت‌زای مقاوم در برابر داروها، استفاده کم آنتی‌بیوتیک‌ها و متعاقب آن عدم ظهور بیماری‌های جدید می‌باشد. تعیین و شناسایی تنوع ژنتیکی سیستم ایمنی بدن یکی از گزینه‌های اصلی جهت بررسی تفاوت‌های مرغ‌ها در مقاومت به بیماری‌ها با منشأ عفونی به‌شمار می‌آید [۶، ۷]. پرورش مرغ در طی سال‌های گذشته به سوی انتخاب لاین‌های تجاری جهت رشد، تولید بیشتر و ضریب تبدیل غذایی کمتر هدایت شده است، اما نتیجه آن با کاهش تنوع ژنتیکی، اختلالات فیزیولوژیک و کاهش مقاومت به بیماری‌ها همراه بوده است [۸، ۱۸].

در چند سال اخیر برنامه‌های اصلاح نژاد مرغ‌ها در راستای شناسایی و انتخاب جمعیت‌های مقاوم به بیماری‌ها پیشرفت نموده است و امروزه تولید لاین‌های مقاوم به بیماری‌ها و پاسخ‌دهی بهتر به واکسن‌ها و همچنین صفات تولیدی برتر مورد توجه قرار گرفته است و تشخیص مقاومت ژنتیکی به بیماری‌ها با اهداف کنترل و پیشگیری، یک اصل کاربردی در اصلاح نژاد است [۱۳، ۱۸، ۲۳]. از جمله ژن‌های کاندید مؤثر در مقاومت به بیماری‌ها، می‌توان ژن‌های کدکننده ایمونوگلوبولین‌ها، سایتوکین‌ها، هیستوگلوبولین‌ها و گیرنده‌های پاتوژن‌ها را نام برد [۲]. مهم‌ترین سلول‌های سیستم ایمنی لنفوسیت‌ها هستند که به سلول‌های B و T دسته‌بندی می‌شوند. لنفوسیت‌ها، ماکروفاژها و فیبروبلاست‌ها سبب ترشح اینترفرون‌ها می‌شوند [۱۹]. ژن TLR4 بعد از تشخیص الگوهای مولکولی مرتبط با پاتوژن‌ها از طریق شناسایی لیپیلی ساکاریدهای پاتوژن‌ها، سیستم ایمنی را فعال می‌کند [۱۰]. گزارش شده است که پس از آلودگی بدن توسط یک عامل بیماری‌زا، بیان ژن TLR4 افزایش می‌یابد [۱۶].

اینترفرون‌ها هم یک گروه مهم از سایتوکین‌ها را تشکیل می‌دهند و نقش مهمی در ایجاد پاسخ‌های ایمنی دارند. اینترفون ۲ (IL2) سایتوکین ضدالتهابی است که به‌عنوان یکی از ژن‌های کاندید مهم در پاسخ ایمنی شناخته شده است [۵، ۲۱]. اینترفرون گاما ($IFN\gamma$) نیز یکی از سایتوکین‌های مهمی است که پاسخ ایمنی اولیه و ایمنی سلولی را کنترل می‌کند. اینترفرون گاما علاوه بر لنفوسیت‌های کمکی T نوع یک، توسط لنفوسیت‌های T حامل گیرنده‌های CD8 و سلول‌های کشنده طبیعی (NK) نیز تولید می‌شود. ایمونوگلوبولین‌ها پروتئین‌های گیرنده غشایی هستند و روی غشای لنفوسیت‌های B و یا به‌وسیله سلول‌های پلازما در داخل خون و سطوح مخاطی ترشح می‌شوند. تنوع و کمیت ایمونوگلوبولین‌ها از عوامل مهم در مقاومت یا حساسیت در مقابل عوامل عفونت‌زا به حساب می‌آیند و توانایی تولید مقادیر بالایی از انواع آنتی‌بادی‌ها اغلب با شایستگی ایمنی بدن در ارتباط است. تفاوت ژنتیکی پاسخ‌های آنتی‌بادی به‌صورت گسترده توسط ژن‌های ایمونوگلوبولین‌ها کنترل می‌شود [۳، ۱۷].

در مطالعه‌ای اثرات چندشکلی جایگاه‌های ژنی IL2، $IFN\gamma$ ، TGF- β 2، JgL، TLR4، MD-2 و iNOS بر مقاومت به سالمونلا در دو نژاد مرغ بومی مالزی مورد بررسی قرار گرفت [۲۰]. برای جایگاه ژنی TLR4 با طول ۲۵۶ جفت باز، دو آلل C و G به‌ترتیب با میانگین فراوانی‌های ۰/۳۴۵ و ۰/۶۵۵ و هم‌چنین سه ژنوتیپ CC، CG و GG به‌ترتیب با میانگین فراوانی‌های ۰/۱۰، ۰/۴۹ و ۰/۴۱ شناسایی شد. در این مطالعه میانگین شاخص شانون ۰/۶۳ و میانگین شاخص تثبیت نیز ۰/۱۱۵- گزارش شدند. برای جایگاه ژنی IgL با طول ۳۵۴ جفت باز، دو آلل A و G به‌ترتیب با میانگین فراوانی‌های ۰/۲۷۵ و ۰/۷۲۵ و هم‌چنین سه ژنوتیپ AA، AG و GG به‌ترتیب

تولیدات دامی

دادند. در مرغ‌های بومی نژاد هلندی فقط ژنوتیپ GG شناسایی شد و از تعداد کل مرغ‌ها فقط شش مرغ دارای ژنوتیپ AA بودند. با استفاده از آنزیم برشی *Tsp509I* چندشکلی‌های تک نوکلئوتیدی را در جایگاه ژنی IFN γ به طول 670 جفت بازی مرغ‌های مولد بومی نژاد مازندرانی مورد بررسی قرار گرفت [1]. در نتایج این تحقیق دو آلل A و G به ترتیب با فراوانی 0/53 و 0/47 و هم‌چنین سه ژنوتیپ AA، AG و GG به ترتیب با فراوانی 0/31، 0/44 و 0/25 شناسایی شد.

با توجه به پیشرفت‌های صورت‌گرفته در تکنیک‌های ژنتیک مولکولی و اهمیت آن‌ها در برنامه‌های اصلاح نژاد، نیاز مبرم به انتخاب به‌کمک نشانگرها بیش از پیش احساس می‌شود. لذا در این پژوهش چندشکلی‌های آللی در ژن‌های کاندید مرتبط به سیستم ایمنی در مرغ‌های تجاری گوشتی و تخم‌گذار مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

برای این پژوهش 100 نمونه خون از مرغ‌های تجاری گوشتی آرین و تخم‌گذار شیور (50 قطعه به‌ازای هر جمعیت) موجود در مراکز پرورش منطقه آذربایجان شرقی که به‌صورت تصادفی انتخاب شدند، اخذ گردید. استخراج DNA ژنومی نمونه‌های خون با استفاده از روش بهینه‌شده نمکی [15] انجام گرفت. کمیت DNAهای ژنومی استخراج‌شده به‌روش طیف‌سنجی و با استفاده از اسپکتروفتومتر نانودراپ و کیفیت آن‌ها با الکتروفورز روی ژل آگارز دو درصد تعیین شد. جهت تکثیر قطعات ژنی موردنظر برای هر جایگاه ژنی از یک جفت آغازگر اختصاصی استفاده شد (جدول 1). اختصاصی بودن آغازگرهای مورد استفاده، از سرویس BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) در سایت NCBI بررسی شد.

با میانگین فراوانی‌های 0/075، 0/405 و 0/52 شناسایی شد. برای جایگاه ژنی IFN γ به طول 670 جفت باز، دو آلل A و G به ترتیب با میانگین فراوانی‌های 0/55 و 0/45 و هم‌چنین سه ژنوتیپ AA، AG و GG به ترتیب با میانگین فراوانی‌های 0/32، 0/46 و 0/22 شناسایی شدند. در تحقیقی با استفاده از تکنیک PCR-RFLP ژن‌های IL-15R α و IL-2R γ در مرغ‌های نژاد کاداکانات مورد ارزیابی قرار گرفتند [9]. در جایگاه ژنی IL-2R سه ژنوتیپ AA، AB و BB به ترتیب با فراوانی 0/65، 0/32 و 0/32 شناسایی و فراوانی آلل‌های A و B نیز به ترتیب 0/19 و 0/81 برآورد شدند. در دو تحقیق جداگانه مطالعه‌ای تحت عنوان بررسی چندشکلی جایگاه ژنی IgL روی پاسخ به آنتی‌بادی در مرغ‌های نژادهای لگهورن و فایومی انجام شد [14، 24]. در نتایج این تحقیقات، وجود یک باند 161 جفت بازی و دو باند 10 جفت بازی در دو نژاد یاد شده مشترک بوده و به‌غیر از این قطعه‌ها در نژاد لگهورن یک باند اضافی به‌طول 173 جفت باز و در نژاد فایومی نیز دو باند اضافی دیگر به‌طول‌های 103 و 70 جفت باز مشاهده شده بود.

در تحقیقی چندشکلی DNA را در جایگاه‌های ژنی IL-15R α و IL-2R γ در مرغ‌های نژاد آسیل مورد بررسی قرار دادند [12]. در جایگاه ژنی IL-2R γ دو ژنوتیپ AA و AB به ترتیب با فراوانی‌های 0/64 و 0/36 شناسایی و فراوانی‌های آلل‌های A و B به ترتیب 0/82 و 0/18 برآورد شد. در پژوهشی همبستگی چندشکلی‌های مربوط به جایگاه ژنی IFN γ به طول 129 جفت باز را روی پاسخ به آلودگی سالمونلائی در مرغ‌های نژاد هلندی (دو گروه) و تجاری گوشتی (سه گروه) مورد مطالعه قرار دادند [11]. طبق بررسی‌های صورت‌گرفته در این تحقیق سه نوع ژنوتیپ شناسایی شد که فراوانی متفاوتی را در بافت‌های مختلف از جمله کبد، سکوم و طحال نشان

راستا برای هضم آنزیمی محصولات PCR، آنزیم‌های برشی *Sau96I* و *HphI* (ساخت شرکت Thermo Scientific) مورد استفاده قرار گرفت (جدول ۱). این واکنش‌ها در حجم نهایی ۱۴/۵ میکرولیتر، شامل پنج میکرولیتر محصول PCR، یک میکرولیتر بافر و ۰/۵ میکرولیتر آنزیم و در نهایت هشت میکرولیتر آب دو بار تقطیر انجام شد. واکنش‌های هضم آنزیمی برای سه جایگاه ژنی *TLR4*، *IL2* و *IgL* در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و برای جایگاه ژنی *IFN γ* در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۶ ساعت انجام شد. بعد از هضم آنزیمی برای مشاهده‌ی باندها و تعیین الگوهای ژنوتیپی حاصل از ژل آگارز چهار درصد و نشانگر وزن مولکولی ۵۰ جفت بازی (ساخت شرکت Thermo Scientific) استفاده شد. آنالیز ساختار ژنتیکی شامل فراوانی‌های آلی و ژنوتیپی و همچنین آنالیز ساختار جمعیت‌ها شامل هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار، شاخص تثبیت (مقدار افزایش و یا کاهش هتروزیگوسیتی)، شاخص اطلاعات شانون (میزان تنوع ژنتیکی) و شاخص تعادل هاردی-واینبرگ با استفاده از نرم‌افزار POPGENE نسخه ۱/۳۲ [۲۲] انجام شد.

واکنش‌های زنجیره‌ای پلیمرز در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر شامل ۲۰۰-۱۰۰ نانوگرم DNA ژنومی، چهار میکرولیتر Taq DNA polymerase 2X Master mix red (ساخت شرکت AMPLIQON) برای جایگاه ژنی *TLR4*، پنج میکرولیتر برای جایگاه‌های ژنی *IL2* و *IgL* و شش میکرولیتر برای جایگاه ژنی *IFN γ* و همچنین ۰/۴ میکرولیتر از هر یک از آغازگرها (ساخت شرکت BIONEER) با غلظت ۱۰ پیکومول برای جایگاه‌های ژنی *TLR4*، *IL2* و *IgL* و ۰/۶ میکرولیتر برای جایگاه ژنی *IFN γ* انجام شد. چرخه‌های دمایی این واکنش‌ها طبق جدول ۲ انجام شد.

قطعات تکثیر یافته برای هر چهار جایگاه ژنی در حضور نشانگر وزن مولکولی ۱۰۰ جفت بازی (ساخت شرکت Thermo Scientific) روی ژل آگارز دو درصد الکتروفورز شدند و صحت تکثیر قطعات مورد نظر بدون حضور باندهای غیراختصاصی و محصولات ناخواسته تأیید شد (شکل ۱). در پژوهش حاضر از تکنیک PCR-RFLP جهت تعیین چندشکلی جایگاه‌های ژنی مورد نظر استفاده شد و در این

جدول ۱. توالی و دمای اتصال آغازگرها، اندازه محصولات PCR برای هر جایگاه ژنی و آنزیم‌های برشی برای هضم آنزیمی

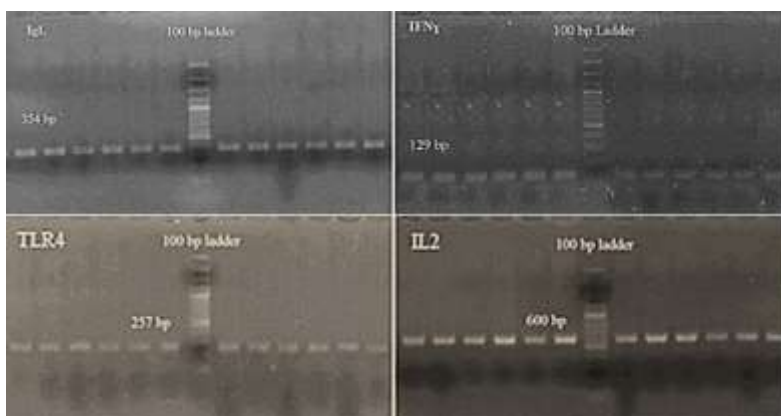
جایگاه ژنی	آغازگر (۵' → ۳')	محصول PCR (جفت باز)	دمای اتصال آغازگر (ثانیه / درجه سانتی‌گراد)	آنزیم برشی
TLR4	CCTGGACTTGGACCTCAG GGACTGAAAGCTGCACATC	۲۵۷	۳۰ / ۴۸	<i>Sau96I</i>
IL-2	CCCAGCGTGGACTATGAGAA CATCTTAGGACTCCGACCCA	۶۰۰	۳۰ / ۵۴	<i>HphI</i>
IgL	GGGAAATACTGGTGATAGGTG TTTATACCCGCGTCCTTC	۳۵۴	۳۰ / ۴۹	<i>Sau96I</i>
IFN γ	ATTCTGATGCTGCCAC GGCTTAGGCATACTCTTA	۱۲۹	۳۰ / ۴۰	<i>Tsp509I</i>

جدول ۲. دما، مدت زمان و تعداد چرخه‌های دمایی برای هر جایگاه ژنی در واکنش زنجیره‌ای پلیمرز

جایگاه ژنی	واسرشت‌سازی اولیه	واسرشت‌سازی ثانویه	اتصال آغازگرها	دمای تکثیر	تعداد چرخه	دمای تکثیر نهایی
TLR4	۹۵ °C / پنج دقیقه	۹۵ °C / ۳۰ ثانیه	۴۸ °C / ۳۰ ثانیه	۷۲ °C / ۳۰ ثانیه	۳۵	۷۲ °C / پنج دقیقه
IL-2	۹۵ °C / پنج دقیقه	۹۵ °C / ۳۰ ثانیه	۵۴ °C / ۳۰ ثانیه	۷۲ °C / ۳۰ ثانیه	۳۰	۷۲ °C / چهار دقیقه
IgL	۹۵ °C / پنج دقیقه	۹۵ °C / ۳۰ ثانیه	۴۹ °C / ۳۰ ثانیه	۷۲ °C / ۳۰ ثانیه	۳۵	۷۲ °C / پنج دقیقه
IFN γ	۹۵ °C / پنج دقیقه	۹۴ °C / ۳۰ ثانیه	۴۰ °C / ۳۰ ثانیه	۷۲ °C / ۳۰ ثانیه	۴۰	۷۲ °C / هفت دقیقه

تولیدات دمی

تنوع ژنتیکی چهار ژن کاندید مرتبط به سیستم ایمنی در مرغ‌های تجاری گوشتی و تخم‌گذار



شکل ۱. محصولات PCR برای جایگاه‌های ژنی مورد مطالعه روی ژل آگاروز دو درصد با نشانگر وزن مولکولی ۱۰۰ جفت باز

نتایج و بحث

به ترتیب ۰، ۰/۱۴ و ۰/۸۶ محاسبه شد. شاخص اطلاعات شانون، شاخص تثبیت و شاخص تعادل هاردی-واینبرگ در جمعیت مرغ گوشتی به ترتیب ۰/۵۶، ۰/۳۳- و ۵/۲۹ و در جمعیت مرغ تخم‌گذار به ترتیب ۰/۲۵، ۰/۰۷- و ۰/۲۴ برآورد شدند (جدول ۳). مقادیر شاخص اطلاعات شانون در دو جمعیت مورد مطالعه، نشان‌دهنده تنوع ژنتیکی بالا در جمعیت مرغ گوشتی بود و مقادیر شاخص تثبیت حاکی از کاهش هتروزیگوسیتی بیشتر در جمعیت مرغ گوشتی نسبت به جمعیت مرغ تخم‌گذار بود. هم‌چنین با توجه به مقادیر شاخص تعادل در دو جمعیت ذکر شده، عدم تعادل در جمعیت مرغ گوشتی مشخص شد.

در کل جمعیت‌های مورد مطالعه، فراوانی آلل‌های C و G به ترتیب ۰/۱۶ و ۰/۸۴ محاسبه شد. بیشترین و کمترین مقدار فراوانی هتروزیگوسیتی مشاهده شده به ترتیب مربوط به جمعیت مرغ‌های تجاری گوشتی (۰/۵۰) و تخم‌گذار (۰/۱۴) بود. میانگین شاخص اطلاعات شانون ۰/۴۳ و شاخص تثبیت منفی بوده و میانگین آن ۰/۱۹- محاسبه شد (جدول ۳). این جایگاه ژنی در جمعیت‌های مورد مطالعه دارای چندشکلی بوده و تنوع ژنتیکی در جمعیت مرغ‌های تجاری گوشتی بیشتر از جمعیت مرغ‌های تجاری تخم‌گذار بود. در جمعیت‌های مورد مطالعه کاهش هتروزیگوسیتی

در دو جمعیت مرغ گوشتی و تخم‌گذار، برای جایگاه ژنی TLR4، بعد از هضم آنزیمی محصولات واکنش زنجیره‌ای پلیمرز، سه نوع ژنوتیپ CC، CG و GG شناسایی شد. برای آلل C دو باند ۱۳۸ و ۱۱۹ جفت بازی و برای آلل G سه باند ۱۱۹، ۹۹ و ۳۹ جفت بازی مشاهده شد. برای جایگاه ژنی IL2، سه نوع ژنوتیپ AA، AB و BB شناسایی شد. آلل A دارای چهار باند ۴۶۵، ۶۴، ۴۰ و ۳۱ جفت بازی و آلل B دارای پنج باند ۴۵۴، ۶۴، ۴۰، ۳۱ و ۱۱ جفت بازی بود. برای جایگاه ژنی Igl، سه نوع ژنوتیپ MM، MN و NN شناسایی شد به طوری که آلل M دارای دو باند ۱۷۳ و ۱۶۱ و دو باند ۱۰ جفت بازی و آلل N دارای سه باند ۱۶۱، ۱۰۳، ۷۰ و دو باند ۱۰ جفت بازی بوده است. هم‌چنین برای جایگاه ژنی IFN γ ، سه نوع ژنوتیپ EE، EF و FF شناسایی شد که آلل E دارای یک باند ۱۲۹ جفت بازی و آلل F دارای دو باند ۹۰ و ۳۹ جفت بازی بود (شکل ۲).

در جایگاه ژنی TLR4، فراوانی آلل C در جمعیت‌های مرغ گوشتی و تخم‌گذار به ترتیب ۰/۲۵ و ۰/۰۷ و فراوانی آلل G به ترتیب ۰/۷۵ و ۰/۹۳ برآورد شد. فراوانی ژنوتیپ‌های CC، CG و GG در جمعیت مرغ گوشتی به ترتیب ۰، ۰/۵۰ و ۰/۵۰ و در جمعیت مرغ تخم‌گذار

تولیدات دامی

دوره ۲۰ ■ شماره ۴ ■ زمستان ۱۳۹۷

بومی مالزی نبود [۲۰]. طبق گزارش [۱۲]، در این جایگاه ژنی، مرغ‌هایی با ژنوتیپ هتروزیگوس، میزان سرزندگی بالایی داشتند. در مطالعه حاضر، در کل جمعیت‌ها بیشترین فراوانی ژنوتیپی مربوط به ژنوتیپ هموزیگوس GG است و تنوع این جایگاه ژنی کم بوده و این احتمالاً به دلیل نوع تلاقی‌های صورت گرفته در گله مادر این هیبریدها بوده است.

مشاهده شد که احتمالاً می‌تواند به دلیل عدم تلاقی تصادفی افراد در داخل جمعیت‌های مادر مولد این هیبریدها باشد. در کل جمعیت‌ها، برای این جایگاه ژنی، ژنوتیپ هتروزیگوس CG با فراوانی ۰/۳۲ و ژنوتیپ CC با فراوانی ۰/۶۸ و فراوانی آل‌های C و G به ترتیب ۰/۱۶ و ۰/۸۴ محاسبه شد (جدول ۳). این نتایج مطابق مقادیر فراوانی آللی و ژنوتیپی گزارش شده در جمعیت مرغ



شکل ۲. الگوهای ژنوتیپی مشاهده‌شده حاصل از هضمی آنزیمی محصولات PCR برای هر یک از جایگاه‌های ژنی مورد مطالعه روی ژل آگارز چهار درصد با نشانگر وزن مولکولی ۵۰ جفت باز

جدول ۳. فراوانی‌های آللی و ژنوتیپی و فراوانی‌های هتروزیگوسیته و هموزیگوسیته مشاهده‌شده و مورد انتظار برای جایگاه‌های ژنی TLR4, IL2, IFN γ در جمعیت‌های مرغ‌های تجاری مورد مطالعه

جایگاه ژنی	مرغ‌های تجاری	فراوانی آللی	فراوانی ژنوتیپی مشاهده‌شده (مورد انتظار)		کای اسکور ^۱	فراوانی هتروزیگوسیته مشاهده‌شده		فراوانی هتروزیگوسیته مورد انتظار		شاخص اطلاعات شانون	شاخص تثبیت
			BB	AB		AA	B	A	GG		
IL-2	گوشتی	۰/۷۴	۰/۲۶	۰/۶۴ (۰/۵۴)	۱۲/۱۷ [*]	۰/۲۰ (۰/۳۸)	۰/۱۶ (۰/۰۶)	۰/۳۸ (۰/۶۱)	۰/۵۷	۰/۴۸	
	تخم‌گذار	۰/۶۳	۰/۳۷	۰/۴۶ (۰/۳۹)	۳/۹۵ [*]	۰/۳۴ (۰/۴۷)	۰/۲۰ (۰/۱۳)	۰/۴۷ (۰/۵۲)	۰/۶۵	۰/۲۷	
	کل جمعیت‌ها	۰/۶۸	۰/۳۲	۰/۵۵ (۰/۴۶)	۱۴/۴۳ [*]	۰/۲۷ (۰/۴۳)	۰/۱۸ (۰/۰۹)	۰/۴۳ (۰/۵۶)	۰/۶۲	۰/۳۷	
TLR4	گوشتی	۰/۲۵	۰/۷۵	۰ (۰/۰۶)	۵/۲۹ [*]	۰/۵۰ (۰/۳۷)	۰/۵۰ (۰/۵۶)	۰/۳۷ (۰/۶۲)	۰/۵۶	-۰/۳۳	
	تخم‌گذار	۰/۰۷	۰/۹۳	۰ (۰/۰۰۴)	۰/۲۴	۰/۱۴ (۰/۱۳)	۰/۸۶ (۰/۸۶)	۰/۱۳ (۰/۸۶)	۰/۲۵	-۰/۰۷	
	کل جمعیت‌ها	۰/۱۶	۰/۸۴	۰ (۰/۰۲)	۳/۵۰	۰/۳۲ (۰/۲۷)	۰/۶۸ (۰/۶۸)	۰/۲۷ (۰/۷۲)	۰/۴۳	-۰/۱۹	
IgL	گوشتی	۰/۵۸	۰/۴۲	۰/۳۲ (۰/۳۳)	۰/۱۶	۰/۵۲ (۰/۴۹)	۰/۱۶ (۰/۱۷)	۰/۴۹ (۰/۵۰)	۰/۶۸	-۰/۰۶	
	تخم‌گذار	۰/۵۶	۰/۴۴	۰/۲۴ (۰/۳۱)	۴/۱۶ [*]	۰/۶۴ (۰/۴۹)	۰/۱۲ (۰/۱۹)	۰/۴۹ (۰/۵۰)	۰/۶۸	-۰/۲۹	
	کل جمعیت‌ها	۰/۵۷	۰/۴۳	۰/۲۸ (۰/۳۲)	۳/۱۷	۰/۵۸ (۰/۴۹)	۰/۱۴ (۰/۱۸)	۰/۴۹ (۰/۵۰)	۰/۶۸	-۰/۱۸	
IFN γ	گوشتی	۰/۴۰	۰/۶۰	۰/۲۴ (۰/۱۵)	۵/۹۰ [*]	۰/۳۲ (۰/۴۸)	۰/۴۴ (۰/۳۵)	۰/۴۸ (۰/۵۱)	۰/۶۷	۰/۳۳	
	تخم‌گذار	۰/۶۱	۰/۳۹	۰/۳۶ (۰/۳۶)	۰/۰۸	۰/۵۰ (۰/۴۸)	۰/۱۴ (۰/۱۴)	۰/۴۸ (۰/۵۱)	۰/۶۶	-۰/۰۵	
	کل جمعیت‌ها	۰/۵۱	۰/۴۹	۰/۳۰ (۰/۲۵)	۳/۴۲	۰/۴۱ (۰/۵۰)	۰/۲۹ (۰/۲۴)	۰/۵۰ (۰/۵۰)	۰/۶۹	۰/۱۷	

* معنی‌دار در سطح احتمال (P < ۰/۰۵) / ۱) آزمون کای‌اسکور برای تعادل هاردی-واینبرگ.

(جدول ۳). مطالعه حاضر الگوی مشابهی را که قبلاً در مرغ‌های نژادهای لگهورن و فایومی [۱۴، ۲۴]، در مرغ‌های نژاد کاداکانات [۹] و در مرغ‌های نژاد آسیل [۱۲] ارائه داده بودند، نشان می‌دهد. در مطالعه حاضر، فراوانی هتروزیگوسیتی مشاهده شده کمتر از گزارش‌هایی است که در مرغ‌های نژاد کاداکانات (۰/۳۲) [۹] و در مرغ‌های آسیل (۰/۳۶) [۱۲] ارائه شد که این تفاوت را می‌توان احتمالاً به دلیل تفاوت در ساختار جمعیت‌های مورد مطالعه نسبت داد.

در جایگاه ژنی IgL، فراوانی آلل M در جمعیت‌های مرغ گوشتی و تخم‌گذار به ترتیب ۰/۵۸ و ۰/۵۶ و فراوانی آلل N به ترتیب ۰/۴۲ و ۰/۴۴ برآورد شد. فراوانی ژنوتیپ‌های MM، MN و NN در جمعیت مرغ گوشتی به ترتیب ۰/۳۲، ۰/۵۲ و ۰/۱۶ و در جمعیت مرغ تخم‌گذار به ترتیب ۰/۲۴، ۰/۶۴ و ۰/۱۲ محاسبه شد. شاخص اطلاعات شانون، شاخص تثبیت و شاخص تعادل هاردی-واینبرگ در جمعیت مرغ گوشتی به ترتیب ۰/۶۸، ۰/۰۶- و ۰/۱۶ و در جمعیت مرغ تخم‌گذار به ترتیب ۰/۶۸، ۰/۲۹- و ۴/۱۶ برآورد شدند (جدول ۳). مقادیر شاخص اطلاعات شانون در دو جمعیت با هم برابر بوده و نشان‌دهنده تنوع ژنتیکی بالا در دو جمعیت مرغ گوشتی و تخم‌گذار بود و مقادیر شاخص تثبیت حاکی از کاهش هتروزیگوسیتی در دو جمعیت ذکر شده بوده که در جمعیت مرغ تخم‌گذار این مقدار بالاتر بود. هم‌چنین با توجه به مقادیر شاخص تعادل در دو جمعیت ذکر شده، عدم تعادل در جمعیت تخم‌گذار مشخص شد.

در کل جمعیت‌ها، فراوانی آلل‌های M و N به ترتیب ۰/۵۷ و ۰/۴۳ برآورد شد. بیشترین و کمترین مقدار فراوانی هتروزیگوسیتی مشاهده شده به ترتیب برای مرغ‌های تجاری تخم‌گذار (۰/۶۴) و گوشتی (۰/۵۲) مشاهده شد. میانگین شاخص اطلاعات شانون ۰/۶۸ و

در جایگاه ژنی IL2، فراوانی آلل A در جمعیت‌های مرغ گوشتی و تخم‌گذار به ترتیب ۰/۷۴ و ۰/۶۳ و فراوانی آلل B به ترتیب ۰/۲۶ و ۰/۳۷ برآورد شد. فراوانی ژنوتیپ‌های AA، AB و BB در جمعیت مرغ گوشتی به ترتیب ۰/۶۴، ۰/۲۰ و ۰/۱۶ و در جمعیت مرغ تخم‌گذار به ترتیب ۰/۴۶، ۰/۳۴ و ۰/۲۰ محاسبه شد. شاخص اطلاعات شانون، شاخص تثبیت و شاخص تعادل هاردی-واینبرگ در جمعیت مرغ گوشتی به ترتیب ۰/۵۷، ۰/۴۸ و ۱۲/۱۷ و در جمعیت مرغ تخم‌گذار به ترتیب ۰/۶۵، ۰/۲۷ و ۳/۹۵ برآورد شدند (جدول ۳). مقادیر شاخص اطلاعات شانون در دو جمعیت، نشان‌دهنده تنوع ژنتیکی بالای جمعیت مرغ تخم‌گذار نسبت به جمعیت مرغ گوشتی بود و مقادیر شاخص تثبیت حاکی از افزایش هتروزیگوسیتی در جمعیت مرغ گوشتی نسبت به جمعیت مرغ تخم‌گذار بود. هم‌چنین با توجه به مقادیر شاخص تعادل در دو جمعیت ذکر شده، عدم تعادل در جمعیت‌های مرغ گوشتی و تخم‌گذار مشخص شد. در کل جمعیت‌های مورد مطالعه، فراوانی آلل‌های A و B به ترتیب ۰/۶۸ و ۰/۳۱ برآورد شد. بیشترین و کمترین مقدار فراوانی هتروزیگوسیتی مشاهده شده به ترتیب برای مرغ‌های تجاری تخم‌گذار (۰/۳۴) و گوشتی (۰/۲۰) مشاهده شد. میانگین شاخص اطلاعات شانون ۰/۶۲ و میانگین شاخص تثبیت ۰/۳۷ محاسبه شد (جدول ۳). در جمعیت‌های مورد مطالعه برای این جایگاه ژنی افزایش هتروزیگوسیتی مشاهده شد که علت آن احتمالاً می‌تواند آمیزش‌های غیرخویشاوندی در داخل جمعیت‌های مرغ مادر مولد این هیبریدها باشد.

در کل جمعیت‌های مورد مطالعه، ژنوتیپ AA دارای فراوانی ۰/۵۵ و وفور ژنوتیپ‌های AB و BB به ترتیب برابر با ۰/۲۷ و ۰/۱۸ بود. فراوانی هموزیگوسیتی و هتروزیگوسیتی مشاهده شده به ترتیب ۰/۷۳ و ۰/۲۷ بود

تولیدات دامی

۰/۰۵- و ۰/۰۸ برآورد شدند (جدول ۳). مقادیر شاخص اطلاعات شانون تقریباً در دو جمعیت با هم برابر بوده و نشان‌دهنده تنوع ژنتیکی بالا در دو جمعیت مرغ تخم‌گذار و گوشتی بود و مقادیر شاخص تثبیت حاکی از کاهش هتروزیگوسیتی فقط در جمعیت مرغ تخم‌گذار بود. هم‌چنین با توجه به مقادیر شاخص تعادل در دو جمعیت ذکر شده، عدم تعادل در جمعیت مرغ گوشتی مشخص شد.

در کل جمعیت‌ها، فراوانی آلل‌های E و F به ترتیب ۰/۵۱ و ۰/۴۹ برآورد شد. بیشترین و کمترین مقدار فراوانی هتروزیگوسیتی مشاهده شده به ترتیب برای مرغ‌های تجاری تخم‌گذار (۰/۵۰) و گوشتی (۰/۳۲) مشاهده شد. میانگین شاخص اطلاعات شانون ۰/۶۹ و میانگین شاخص تثبیت نیز مثبت برآورد شد (جدول ۳). در جمعیت‌های مورد مطالعه در این جایگاه ژنی افزایش هتروزیگوسیتی مشاهده شد که دلیل آن می‌تواند آمیزش‌های غیرخوشاوندی در داخل جمعیت‌های مادر مولد این هیبریدهای تجاری باشد. با توجه به فراوانی‌های آللی و ژنوتیپی برآورد شده در این جایگاه ژنی، در مقایسه با نتایج تحقیقات دیگر [۱، ۲۰]، فراوانی ژنوتیپ‌های هموزیگوس پایین‌تر از فراوانی ژنوتیپ هتروزیگوس برآورد شد.

در تحقیق حاضر برای جایگاه نشانگری (IFN γ) سه نوع ژنوتیپ شناسایی شد که با نتایج تحقیق [۱۱] مطابقت نداشت. تفاوت در نتایج مشاهده شده در جایگاه ژنی مورد مطالعه در مقایسه با نتایج تحقیقات دیگر را می‌توان به تفاوت در ساختار جمعیت‌های مورد مطالعه و یا به تکنیک‌های تعیین ژنوتیپ نسبت داد. کای‌اسکور محاسبه شده برای جمعیت تجاری گوشتی و تخم‌گذار فقط در جایگاه ژنی IL2 معنی‌دار بود ($P < 0.05$) (جدول ۳). معنی‌داری کای‌اسکور یا به عبارتی دیگر انحراف از تعادل

میانگین شاخص تثبیت نیز ۰/۱۸- محاسبه شد (جدول ۳). در جمعیت‌های مورد مطالعه کاهش هتروزیگوسیتی مشاهده شد که احتمالاً می‌تواند به دلیل آمیزش‌های خوشاوندی در داخل جمعیت‌های مادر مولد هیبریدهای تجاری مورد مطالعه باشد. با توجه به فراوانی آلل‌ها و ژنوتیپ‌های برآورد شده، فراوانی آلل M و فراوانی ژنوتیپ‌های هتروزیگوس MM و هموزیگوس NN بیشتر از نتایج تحقیق [۲۰] بودند. هم‌چنین در این مطالعه، در کل جمعیت‌ها، ژنوتیپ MM دارای دو باند ۱۷۳ و ۱۶۱ جفت بازی، ژنوتیپ MN دارای چهار باند ۱۷۳، ۱۶۱، ۱۰۳ و ۷۰ جفت بازی و ژنوتیپ NN دارای سه باند ۱۶۱، ۱۰۳ و ۷۰ جفت بازی بودند که با تحقیقات [۱۴، ۲۴] مطابقت داشت. در تحقیق حاضر، برای جایگاه ژنی IgL در کل جمعیت‌ها، شاخص اطلاعات شانون (۰/۶۸) محاسبه شده که بیشتر از نتایج گزارش شده توسط [۱۴] بوده است و این بیانگر تنوع ژنتیکی بالای این نشانگر در جمعیت‌های مورد مطالعه است. شاخص تثبیت (۰/۱۸-) محاسبه شده نیز مغایر با نتایج [۲۰] می‌باشد که مقدار آن گزارش شد. منفی بودن شاخص تثبیت می‌تواند ناشی از کاهش هتروزیگوسیتی، افزایش هموزیگوسیتی یا افزایش هم‌خونی و هم‌چنین انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ در جمعیت‌ها باشد.

در جایگاه ژنی IFN γ ، فراوانی آلل E در جمعیت‌های مرغ گوشتی و تخم‌گذار به ترتیب ۰/۴۰ و ۰/۶۱ و فراوانی آلل F به ترتیب ۰/۶۰ و ۰/۳۹ برآورد شد. فراوانی ژنوتیپ‌های EE، EF و FF در جمعیت مرغ گوشتی به ترتیب ۰/۲۴، ۰/۳۲ و ۰/۴۴ و در جمعیت مرغ تخم‌گذار به ترتیب ۰/۳۶، ۰/۵۰ و ۰/۱۴ محاسبه شد. شاخص اطلاعات شانون، شاخص تثبیت و شاخص تعادل هاردی-واینبرگ در جمعیت مرغ گوشتی به ترتیب ۰/۶۷، ۰/۳۳ و ۰/۹۰ و در جمعیت مرغ تخم‌گذار به ترتیب ۰/۶۶،

تولیدات دامی

- Technique (International Office of Epizootics) 17: 43-70.
4. Corander J, Waldmann P and Sillanpää MJ (2003) Bayesian analysis of genetic differentiation between populations. *Genetics* 163: 367-374.
 5. Estess P, Nandi A, Mohamadzadeh M and Siegelman MH (1999) Interleukin 15 induces endothelial hyaluronan expression in vitro and promotes activated T cell extravasations through a CD44-dependent pathway in vivo. *The Journal of Experimental Medicine* 190: 9-19.
 6. Gavora JS (1990) Disease Genetics. In: Crawford RD (Eds.), *Genetics and Breeding of Poultry*. Elsevier, Amsterdam. PP. 805-846.
 7. Hawken RJ, Beattie CW and Schook LB (1998) Resolving the genetics of resistance to infectious diseases. *Revue Scientifique Et Technique (International Office of Epizootics)* 17: 17-25.
 8. Hoffmann I (2009) The global plan of action for animal genetic resources and the conservation of poultry genetic resources. *World's Poultry Science Journal* 65: 286-297.
 9. Jaiswal G, Kumar S, Prasad Y and Singh DP (2009) PCR-RFLP analysis of IL-2R γ and IL-15R α genes in Kadakanath native chicken. *Journal of Applied Animal Research*. 36: 239-242.
 10. Köllisch G, Kalali BN, Voelcker V, Wallich R, Behrendt H, Ring J, Bauer S, Jakob T, Mempel M and Ollert M (2005) Various members of the Toll-like receptor family contribute to the innate immune response of human epidermal keratinocytes. *Immunology* 114: 531-541.
 11. Kramer J, Malek M and Lamont SJ (2003) Association of twelve candidate gene polymorphisms and response to challenge with *Salmonella* Enteritidis in poultry. *Animal Genetics* 34: 339-348.
 12. Kumar R, Kumar S, Singh DP and Gaur P (2007) DNA polymorphism at IL-2R γ and IL-15R α genes in Aseel native chicken. *Journal of Applied Animal Research* 32: 107-110.
 13. Lwlamira J, Kifaro GC, Gwakisa PS and Msoffe PLM (2008) Association of LEI0258 microsatellite alleles with antibody response against Newcastle disease virus vaccine and body weight in two Tanzania chicken ecotypes. *African Journal of Biotechnology* 7: 714-720.
 14. Malek M and Lamont SJ (2003) Association of INOS, TRAIL, TGF-b2, TGF-b3, and IgL genes with response to *Salmonella* Enteritidis in poultry. *Genetics Selection Evolution* 35 (1): 99-111.

হারدی- واینبرگ، نشان‌دهنده تغییرات در وفور آلی در یک جمعیت است و این تغییرات را می‌توان به تعدادی از عوامل مثل رانش ژنتیکی که در جمعیت‌هایی با تعداد افراد کم رخ می‌دهد، نسبت داد [۴].

برای ایجاد مقاومت در برابر بیماری‌های مرغ‌ها، نیاز به اطلاعات کافی در مورد چندشکلی ژن‌های کاندید مرتبط به سیستم ایمنی است. با توجه به چندشکلی در جایگاه‌های ژنی مورد مطالعه و در صورت مطالعه‌ی پاسخ‌های ایمنی ژنوتیپ‌های مشاهده‌شده در جایگاه‌های ژنی مورد مطالعه، می‌توان از آن‌ها به‌عنوان نشانگر در برنامه‌های اصلاح نژاد ژنتیکی مرغ‌ها برای افزایش مقاومت به بیماری‌ها بهره برد.

سپاسگزاری

این پژوهش با همکاری و مساعدت دانشگاه آزاد اسلامی، واحد مراغه انجام گرفت. لذا به این وسیله از معاون محترم پژوهش و فن‌آوری و مدیر محترم آزمایشگاه‌ها و کارگاه‌های این واحد دانشگاهی، تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

1. قاسمیان، رحیمی میانجی، ق، انصاری ز و کاظمی ح (۱۳۹۱) استفاده از نشانگر آنزیمی *Tsp509I* برای شناسایی چندشکلی‌های تک نوکلئوتیدی در ناحیه پروموتور ژن ایتترفرون گاما در مرغ‌های مولد ایستگاه اصلاح نژاد مرغ بومی مازندران، پنجمین کنگره علوم دامی ایران، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان.
2. مقصودی ص و پاکدل ع (۱۳۸۷) مروری بر روش‌های ژنتیکی مؤثر بر مقاومت‌سازی دام و طیور به بیماری‌ها، نخستین همایش ملی صنعت دام و طیور، استان گلستان، گرگان.
3. Butler JE (1998) Immunoglobulin diversity, B cell and antibody repertoire development in large farm animals. *Revue Scientifique Et*

15. Miller SA, Dykes DD and Polesky HF (1988) A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Research*. 16(3): 12-15.
16. Ramasamy KT, Reddy MR and Murugesan S (2011) Toll-like receptor mRNA expression, iNOS gene polymorphism and serum nitric oxide levels in indigenous chickens. *Veterinary Research Communications*. 35: 321-327.
17. Rees MJ and Nordskog AW (1981) Genetic control of serum immunoglobulin g levels in the chicken. *Journal of Immunogenetics*. 8: 425-431.
18. Sheldon BL (2000) Research and development in 2000: Directions and priorities for the world's poultry science community. *Poultry Science*. 78: 147-158.
19. Thomas N and Joseph S (2012) Role of SLC11A1 gene in disease resistance. *Biotechnology in Animal Husbandry*. 28(1): 99-106.
20. Tohidi R, Idris IB, Panandam JM and Bejo MH (2012) The effects of polymorphisms in IL-2, IFN- γ , TGF- β 2, I κ L, TLR-4, MD-2, and iNOS genes on resistance to Salmonella Enteritidis in indigenous chickens. *Avian Pathology* 41 (6): 605-612.
21. Weir BS (1990) Genetic data analysis. In: *Methods for discrete population genetic data* (1st edn), Sinauer Assoc., Sunderland, MA, USA.
22. Yeh FC, Rongcal Y and Boyle T (2000) POPGENE 1.32. A free program for the analysis of genetic variation among and within populations using co-dominant and dominant markers. Department of Renewable Resources, University of Alberta, Alberta, Canada.
23. Yonash N, Heller ED, Hillel J and Cahaner A (2000) Detection of RFLP markers associated with antibody response in meat-type chickens: haplotype/genotype, single-band, and multiband analyses of RFLP in the major histocompatibility complex. *Journal of Heredity*. 91: 24-30.
24. Zhou H, Buitenhuis AJ, Weigend S and Lamont SJ (2001) Candidate gene promoter polymorphisms and antibody response kinetics in chickens: Interferon- γ , Interleukin-2, and Immunoglobulin Light Chain. *Poultry Science*. 80: 1679-1689.



Animal Production

(College of Abouraihan – University of Tehran)

Vol. 20 ■ No. 4 ■ Winter 2019

Genetic diversity in four candidate genes related to the immune system in commercial broiler and layer chickens

Jafar Pish Jang Aghajeri^{1*}, Ghodrat Rahimi Mianji², Seyyed Hassan Hafezian³, Mohsen Gholizadeh⁴

1. Ph.D. Graduated in Genetics and Animal Breeding, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University & Assistant Professor, Department of Animal Science, Maragheh branch, Islamic Azad University, Maragheh, Iran.
2. Professor, Department of Animal Science, Faculty of Animal Sciences and Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran.
3. Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Animal Sciences and Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran.
4. Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Animal Sciences and Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran.

Received: June 29, 2018

Accepted: October 24, 2018

Abstract

In the present study, the polymorphism of four loci including of TLR4, IL2, IgL and IFN γ were investigated in 100 commercial broiler and layer chickens using PCR-RFLP technique and enzymes of *Tsp509I*, *Sau96I* and *HphI*. In TLR4 marker site, two alleles of C (two bands of 138 and 119 bp) and G (three bands of 119, 99 and 39 bp), In IL2 locus, two alleles of A (four bands of 465, 64, 40 and 31bp) and B (five bands of 454, 64, 40, 31 and 11 bp), in IgL locus, two alleles M (two bands of 173, 161 and two bands of 10 bp) and N (three bands of 161, 103,70 and two bands of 10 bp) and in IFN γ locus, two alleles E (one band of 129 bp) and F (two bands of 90 and 39 bp) were identified. In TLR4, IL2, IgL and IFN γ markers sites, the population structure of the total population including the Shannon information index 0.43, 0.62, 0.68 and 0.69, the Fixation index -0.19, 0.37, -0.18 and 0.17 and the observed heterozygosity index 0.32, 0.27, 0.58 and 0.41 were estimated, respectively. Regarding the presence of polymorphism at these sites and also studying the immune responses of the observed genotypes, they can be used as a set of markers in genetic breeding programs of chickens for increasing the resistance to disease.

Keywords: Breeding, disease, molecular marker, mutation, PCR-RFLP.