دوره پانزدهم ـ شماره ۳ ـ پاییز ۱۳۹۸
DOI: 10.22055/ivj.2018.110694.1997

تنوع ژنتیکی در اینترون شماره‌ی ۱ ژن هورمون رشد در مرغ‌های بومی نژاد مرندی

فراز نقوی[۱] و جعفر پیش‌جنگ‌آقاجری[۲*]

تاریخ دریافت: ۹۶/۱۰/۲۳ تاریخ پذیرش: ۹۷/۵/۲

چکیده

هورمون رشد مرغ‌ها بر رشد و نمو جوجه‌ها، تولید تخم‌مرغ، تیپ بدن، کنترل اشتها، تولید مثل و پاسخ سیستم ایمنی بدن تأثیر دارد. بسیاری از مطالعات نشان داده‌اند که ژن هورمون رشد یک ژن کاندید برای صفات تولیدی مرغ‌ها هست. از چندشکلی‌های این ژن می‌توان در بهبود تولید، تجزیه و تحلیل فیلوژنتیکی و برنامه‌های انتخاب به کمک نشان‌گر استفاده کرد. در این پژوهش چندشکلی‌های جایگاه ژنی اینترون شماره‌ی ۱ ژن هورمون رشد در مرغ‌های بومی نژاد مرندی با استفاده از تکنیک PCR-RFLP مورد بررسی قرار گرفت. در مجموع ۱۰۰ قطعه مرغ انتخاب و برای شناسایی جهش در این جایگاه ژنی (۷۷۶ جفت بازی) از آنزیم برشی *MspI* استفاده شد. پنج ژنوتیپ مختلف شناسایی شد و در کل جمعیت برای سه آلل A_1، A_2 و A_3 به ترتیب فراوانی‌های ۲۴، ۴ و ۷۳ درصد برآورد شد. ژنوتیپ A_3A_3 با بیش‌ترین فراوانی (۰/۵۰) و ژنوتیپ‌های A_1A_1 و A_1A_2 با کم‌ترین فراوانی (۰/۰۲) مشاهده شدند. در کل جمعیت، شاخص اطلاعات شانون و شاخص تثبیت به ترتیب ۰/۶۹ و ۰/۱۶- محاسبه شدند. بر اساس آزمون کای اسکور، جمعیت مرغ‌های بومی نژاد مرندی برای این جایگاه ژنی دارای تعادل هاردی و واینبرگ بود. با توجه چندشکلی زیاد این جایگاه ژنی، می‌توان بعد از تعیین ژنوتیپ و عملکرد هر یک از ژنوتیپ‌ها در تولید صفات اقتصادی، از این جایگاه ژنی در مرغ‌های بومی نژاد مرندی به عنوان یک نشان‌گر در برنامه‌های انتخاب و اصلاح نژاد ژنتیکی جهت بهبود صفات اقتصادی مرتبط با هورمون رشد بهره برد.

کلمات کلیدی: تنوع ژنتیکی، اینترون ۱، هورمون رشد، مرغ بومی، نژاد مرندی

مقدمه

نژادهای بومی مرغ‌ها در هر کشور، به عنوان سرمایه‌ی ملی و از ذخایر استراتژیک محسوب می‌شوند و نگهداری و بهبود قابلیت‌های تولیدی این نژادها اهمیت ویژه‌ای دارد به طوری که تنوع ژنتیکی حیوانات در نتیجه‌ی تکامل آن‌ها صورت می‌گیرد و با اهلی شدن حیوانات، تنوع ژنتیکی بیش‌تر شده و در نتیجه گونه‌های متفاوتی به وجود می‌آید (Simon and Buchenauer 1993). امروزه با توجه به صنعتی شدن زندگی و پرورش گسترده‌ی سویه‌های تجاری با بازده‌ی درآمدی بالا، تعداد سویه‌های بومی کاسته شده و در نتیجه به سمت انقراض پیش می‌روند (Yilmaz et al. 2014). امروزه رشد روز افزون جمعیت جهان موجب شده که تأمین نیازهای غذایی مردم از جمله پروتئین حیوانی، جزء ضروری‌ترین برنامه‌های هر کشور محسوب گردد. به منظور بهره‌برداری بهینه و بهبود عملکرد در صنعت پرورش مرغ، کاربرد تکنیک‌های نوین در زمینه‌ی پرورش، اصلاح نژاد و پیش‌گیری از بیماری‌ها، بسیار حائز اهمیت است (Mayahi et al. 2018). مرغ‌های بومی از منابع ژنتیکی با ارزش هر منطقه به شمار می‌روند که با توجه به داشتن سازگاری به شرایط مختلف آب و هوایی، یک منبع تأمین پروتئین محسوب

[۱] دانشجوی کارشناسی ژنتیک، دانشکده علوم پایه، واحد مراغه، دانشگاه آزاد اسلامی، مراغه، ایران
[۲*] استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، واحد مراغه، دانشگاه آزاد اسلامی، مراغه، ایران
(نویسنده‌ی مسئول) E-mail: jafar.pishjang@iau-maragheh.ac.ir

می‌شوند و درنتیجه حفظ و برنامه‌ریزی برای افزایش تولید آن‌ها امری ضروری است و اصلاح نژاد مرغ‌های بومی کشور با توجه به سازگاری آن‌ها با محیط و شرایط اقلیمی کشور زمینه‌ی بسیار مناسب و مقرون به صرفه‌ای جهت سرمایه‌گذاری در این بخش فراهم آورده است (Rezaei Yazd Abadi et al. 2017). طبق مطالعات صورت گرفته، در ایران فقط دو نژاد خالص لاری و مرندی وجود دارد و نژاد مرندی از بهترین نژادهای تخم‌گذار محسوب می‌شود و میزان تخم‌گذاری سالیانه‌ی آن در شرایط روستایی ۱۲۰ تا ۱۵۰ عدد و در شرایط مناسب تا ۱۸۰ عدد نیز می‌رسد و وزن تخم‌مرغ آن در حدود ۵۰ گرم و از نظر خاصیت مادری و کرچی، مرغ خوبی هست (شکل ۱) (Zohrai 2014).

شکل ۱: مرغ و خروس بومی مرندی

در حیوانات، هورمون رشد یک پلی پپتید مهم بوده و به همراه هورمون‌های دیگر نقش‌های مهمی در افزایش وزن بدن، رشد ماهیچه‌ها و سوخت و ساز چربی‌ها بازی می‌کند (Etherton and Bauman 1998). در محیط آزمایشگاهی روی حیوانات زنده، تأثیر این هورمون روی متوسط افزایش وزن روزانه، راندمان تبدیل غذایی، افزایش تولید شیر و کاهش ذخیره‌ی چربی اثبات شده است (Hoj et al. 1993, Klindt et al. 1996, Vasilatos-Younken 1995). در خوک، این هورمون توزیع مواد مغذی را میان بافت‌های چربی و ماهیچه‌های اسکلتی در جهت تحریک رشد ماهیچه و کاهش ذخیره‌ی چربی انجام می‌دهد (Etherton 2001). در گاوهای نر نیز ارتباط بین چندشکلی در ژن این هورمون با عملکرد تولیدمثلی و تولید اسپرم مشخص شده است (Lechniak et al. 1999).

این هورمون در مرغ‌ها از سلول‌های سوماتوتروپ غده‌ی هیپوفیز قدامی ترشح می‌شود و ژن کد کننده‌ی این هورمون چندشکلی زیادی دارد و روی رشد و نمو جوجه‌های مرغ، تولید تخم‌مرغ، تیپ بدن، کنترل اشتها، تولیدمثل (Apa et al. 1994, Byatt et al. 1993, Thakur et al. 2009) و پاسخ سیستم ایمنی بدن (Kelley and Felton 1995) تأثیر دارد. ژن هورمون رشد مرغ‌ها شناسایی و تعیین توالی شده است (Lamb et al. 1988) و روی کروموزوم شماره‌ی ۱۲ قرار دارد (Darabi et al. 2010) و اندازه‌ی آن حدود چهار کیلو باز بوده و دارای پنج اگزون و چهار اینترون است (Tanaka et al. 1992). ژن هورمون رشد یک ژن کاندید برای صفات تولیدی مرغ‌ها هست و از چندشکلی‌های این ژن می‌توان در تجزیه و تحلیل فیلوژنتیکی و برنامه‌های انتخاب به کمک نشان‌گر استفاده کرد (Ip et al. 2001, Kuhnlein et al. 1997). پژوهش‌های مداوم روی ژن‌های کاندید، مسیرهای فیزیولوژیکی زیادی را در برمی‌گیرد که به تشخیص ماهیت مولکولی تولید صفات مفید کمک می‌کنند. استفاده از این نشان‌گرهای ژنتیکی، به طور بالقوه تا حد زیادی شدت انتخاب را افزایش خواهد داد و پتانسیل تولیدی مرغ‌ها را به طور مؤثر کشف خواهد کرد. علاوه بر این، مطالعه‌ی ژن‌های کاندیدا و تأثیر آن‌ها روی تظاهرات فنوتیپی مورد مطالعه‌ی محققین، مبنای انتخاب بر اساس نشان‌گرها هست (Isvandi et al. 2017).

در تحقیق Ip و همکاران در سال ۲۰۰۰ روی نژادهای مختلف مرغ، سه آلل A_1، A_2 و A_3 و شش ژنوتیپ شناسایی شد. آلل A_3 با بیش‌ترین فراوانی (۰/۵۴) به عنوان آلل غالب در بین همه‌ی سویه‌های مورد مطالعه غیر از سویه‌ی لگهورن و آلل A_2 با کم‌ترین فراوانی (۰/۱۸) مشاهده شد. در تحقیق Pipalia در سال ۲۰۰۳ برای این جایگاه ژنی، دو آلل A_1 و A_3 و سه نوع ژنوتیپ شناسایی شد. فراوانی آلل‌ها در مرغ‌های بانتام در حد متوسط و در مرغ‌های لگهورن سفید بانتام آلل A_1 با بیش‌ترین فراوانی (۰/۸۸) مشاهده شد و در مرغ‌های لگهورن سفید نیز تنها

آلل A_1 شناسایی شد. همچنین Makhsous و همکاران در سال ۲۰۱۳ مطالعه‌ای روی چندشکلی‌های هورمون رشد مرغ‌های بومی ایران و ارتباط آن با تولید تخم‌مرغ انجام داده بودند. در گزارش آن‌ها سه آلل A، B و C به ترتیب با فراوانی‌های آللی ۰/۵۹۹، ۰/۱۰۲ و ۰/۲۹۹ شناسایی شد. تحقیقی توسط Thakur و همکاران در سال ۲۰۰۶ روی سه نژاد از مرغ‌های بومی کادکناز هند انجام شد. طبق گزارش آن‌ها، دو آلل A_1 و A_3 و سه ژنوتیپ شناسایی و بیش‌ترین فراوانی برای آلل A_3 (۰/۶۲۵) محاسبه شد. Jafari و همکاران در سال ۲۰۰۹ در مرغ‌های بومی اصفهانی و مازندرانی، وجود ۳ آلل A_1، A_2 و A_3 را شناسایی و بیش‌ترین فراوانی آللی در جمعیت مرغ بومی اصفهان برای آلل A_3 (۰/۶۰) و در جمعیت مرغ بومی مازندران برای آلل A_1 (۰/۶۷) محاسبه شد. توسط Khakpour و همکاران نیز در سال ۲۰۱۱ تحقیقی روی مرغ‌های بومی استان آذربایجان غربی انجام شد. طبق گزارش آن‌ها فراوانی‌های سه آلل A_1، A_2 و A_3 به ترتیب ۳۱/۱۲، ۱۷/۸۶ و ۵۱/۰۲ درصد محاسبه شد.

هدف از این تحقیق شناسایی چندشکلی‌های اینترون شماره‌ی ۱ ژن هورمون رشد در مرغ‌های بومی نژاد مرندی، با استفاده از چندشکلی طول قطعات ایجاد شده به وسیله‌ی آنزیم محدودالاثر مبتنی بر واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR-RFLP) و تعیین فراوانی‌های ژنی و ژنوتیپی، تعیین میزان تنوع ژنتیکی (شاخص اطلاعات شانون)، تعیین مقدار افزایش و یا کاهش هتروزیگوسیتی (شاخص تثبیت) و همچنین آزمون تعادلی هاردی و واینبرگ در این جمعیت است.

مواد و روش کار

در این تحقیق به تعداد ۱۰۰ قطعه مرغ بومی نژاد مرندی از جمعیت پرورشی و جمع‌آوری شده از مناطق مختلف موجود در موسسه‌ی تحقیقات علوم دامی کشور انتخاب و از هرکدام به اندازه‌ی ۲-۱ میلی‌لیتر خون از سیاهرگ بال جمع‌آوری و به لوله‌های حاوی ماده‌ی ضد انعقاد انتقال داده شدند. نمونه‌های خون بعد از شماره-گذاری با حفظ شرایط زنجیره‌ی سرد به آزمایشگاه ژنتیک و بیوتکنولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد مراغه انتقال و در دمای ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد تا زمان استخراج DNAی ژنومی نگهداری شدند.

استخراج DNAی ژنومی نمونه‌های خون به روش بهینه شده‌ی نمکی (Salting out) ارائه شده توسط Miller و همکاران در سال ۱۹۸۸ انجام شد و جهت تکثیر جایگاه ژنی مورد نظر از یک جفت آغازگر اختصاصی استفاده شد (جدول ۱).

جدول ۱: توالی و دمای اتصال آغازگرها، اندازه‌ی جایگاه ژنی تکثیر شده و آنزیم برشی

ژن	آغازگر (۵' → ۳')	اندازه‌ی جایگاه ژنی (bp) (جفت باز)	دما و زمان اتصال آغازگر (ثانیه / درجه‌ی سانتی‌گراد)	آنزیم برشی
cGH	ATCCCCAGGCAAACATCCTC CCTCGACATCCAGCTCACAT	۷۷۶	۳۰/۵۶	*MspI*

واکنش PCR در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر شامل ۵۰۰-۱۰۰ نانوگرم DNAی ژنومی، ۵ میکرولیتر Taq DNA polymerase 2X Master mix red (Taq DNA polymerase، بافر، dNTPs، Red Dye و $Mgcl_2$) و ۰/۴ میکرولیتر از هر یک از آغازگرهای رفت و برگشت با غلظت ۱۰ پیکومول برای تکثیر اینترون شماره‌ی ۱ به اندازه‌ی ۷۷۶ جفت باز از ژن هورمون رشد، انجام شد. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در دمای واسرشته‌سازی اولیه ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه و ۳۵ چرخه شامل واسرشته‌سازی ثانویه در دمای ۹۵ درجه‌ی سانتی-گراد به مدت ۳۰ ثانیه، دمای اتصال آغازگرها ۵۶ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، دمای تکثیر ۷۲ درجه‌ی

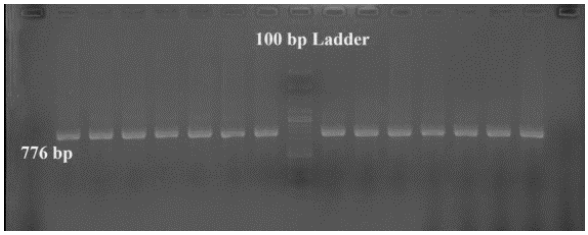
سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه و دمای تکثیر نهایی ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه انجام شد.

در پژوهش حاضر از تکنیک PCR-RFLP جهت تعیین چندشکلی جایگاه ژنی مورد نظر استفاده شد و در این راستا برای هضم آنزیمی محصولات PCR از آنزیم محدودالاثر *MspI* استفاده شد (جدول ۱). این واکنش در حجم نهایی ۱۷/۵ میکرولیتر، شامل ۷ میکرولیتر محصول PCR، ۱ میکرولیتر بافر و ۰/۵ میکرولیتر آنزیم و در نهایت ۹ میکرولیتر آب دو بار تقطیر انجام شد. واکنش هضم آنزیمی برای این جایگاه ژنی در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد و به مدت ۱۶ ساعت انجام شد.

برای آنالیز ژنتیکی داده‌های حاصل از هضم آنزیمی، از نرم‌افزار POPGENE نسخه‌ی ۱/۳۲ استفاده شد. این نرم‌افزار، برای برآورد فراوانی‌های آللی و ژنوتیپی، هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار، متوسط هتروزیگوسیتی، تعادل هاردی و واینبرگ، شاخص تثبیت و شاخص اطلاعات شانون و دیگر پارامترهای ژنتیکی مورد استفاده قرار می‌گیرد.

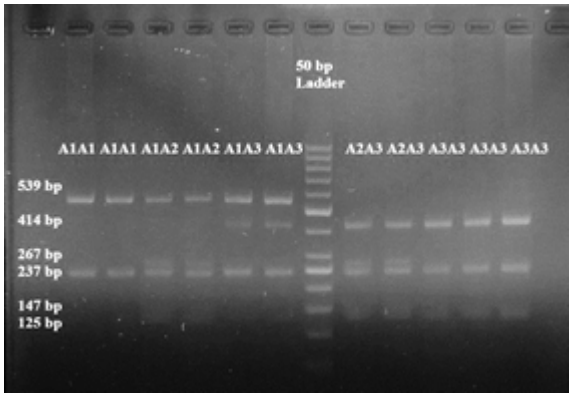
نتایج

قطعه‌ی مورد نظر از اینترون ۱ ژن هورمون رشد به طول ۷۷۶ جفت باز توسط یک جفت آغازگرهای اختصاصی تکثیر گردید. الکتروفورز محصولات PCR روی ژل آگارز دو درصد و در حضور نشان‌گر وزن مولکولی ۱۰۰ جفت بازی انجام گرفته و صحت تکثیر قطعه‌ی مورد نظر تأیید شد (شکل ۲).



شکل ۲: محصولات PCR برای جایگاه ژنی مورد مطالعه (۷۷۶ جفت باز) با نشان‌گر وزن مولکولی ۱۰۰ جفت باز

بعد از هضم آنزیمی محصولات PCR، برای مشاهده‌ی باندهای ایجاد شده و تعیین ژنوتیپ، از ژل آگارز چهار درصد و نشان‌گر وزن مولکولی ۵۰ جفت بازی استفاده شد. بعد از هضم آنزیمی جایگاه ژنی مورد نظر، شش نوع ژنوتیپ متفاوت مورد انتظار بود که فقط پنج ژنوتیپ و سه آلل شناسایی شد. آلل A_1 با دو باند ۵۳۹ و ۲۳۷ جفت بازی، آلل A_2 با چهار باند ۲۶۷، ۲۳۷، ۱۴۷ و ۱۲۵ جفت بازی و آلل A_3 با سه باند ۴۱۴، ۲۳۷ و ۱۲۵ جفت بازی شناسایی شدند (شکل ۳).



شکل ۳: باندهای ایجاد شده با آنزیم برشی *MspI* برای جایگاه ژنی اینترون شماره‌ی ۱ ژن هورمون رشد همراه با نشان‌گر وزن مولکولی ۵۰ جفت باز

با تجزیه و تحلیل ژنتیکی داده‌های به دست آمده برای جایگاه ژنی مورد مطالعه، فراوانی‌های آللی A_1، A_2 و A_3 به ترتیب ۰/۲۳، ۰/۰۴ و ۰/۷۳ و فراوانی‌های ژنوتیپی A_1A_1، A_1A_2، A_1A_3، A_2A_3 و A_3A_3 به ترتیب ۲، ۲، ۴۰، ۶ و ۵۰ درصد محاسبه شدند (جدول ۲). جایگاه ژنی مورد مطالعه برای جمعیت مرغ بومی نژاد مرندی چندشکلی زیادی داشته و شاخص اطلاعات شانون و شاخص تثبیت به ترتیب ۰/۱۶- و ۰/۶۹ محاسبه شدند (جدول ۲).

جدول ۲: فراوانی‌های آللی و ژنوتیپی مشاهده شده و مورد انتظار در جمعیت مرغ‌های بومی نژاد مرندی

	آلل و ژنوتیپ	جنس		کل جمعیت
		خروس	مرغ	
فراوانی آللی	A_1	۰/۲	۰/۲۵	۰/۲۳
	A_2	۰/۰۷۵	۰/۰۱	۰/۰۴
	A_3	۰/۷۲	۰/۷۳	۰/۷۳
فراوانی ژنوتیپی مشاهده شده (مورد انتظار)	A_1A_1	۰ (۱/۴۳)	۲ (۳/۵۵)	۲ (۵/۱۱)
	A_1A_2	۲ (۱/۲۳)	۰ (۰/۵)	۲ (۱/۸۵)
	A_1A_3	۱۴(۱۱/۸۹)	۲۶ (۲۲/۳۷)	۴۰ (۳۳/۹۱)
	A_2A_2	۰ (۰/۱۵)	۰ (۰)	۰ (۰/۱۲)
	A_2A_3	۴ (۴/۴۶)	۲ (۱/۴۹)	۶ (۵/۸)
	A_3A_3	۲۰ (۲۰/۸۲)	۳۰ (۳۲/۰۶)	۵۰ (۵۳)
[1]F	A_1	−۰/۲۵	−۰/۱۵	−۰/۱۸
	A_2	−۰/۰۸	−۰/۰۱	−۰/۰۴
	A_3	−۰/۱۲	−۰/۱۹	−۰/۱۶
	کل	−۰/۱۶	−۰/۱۶	−۰/۱۶
هتروزیگوسیتی و (هموزیگوسیتی) مشاهده‌شده		۰/۵ (۰/۵)	۰/۴۶ (۰/۵۴)	۰/۴۸ (۰/۵۲)
هتروزیگوسیتی و (هموزیگوسیتی) مورد انتظار		۰/۴۴ (۰/۵۶)	۰/۴۱ (۰/۵۹)	۰/۴۲ (۰/۵۸)
χ^2[2]		۱/۲۶	۱/۰۴	۱/۶۴
I[3]		۰/۷۴	۰/۶۴	۰/۶۹

۱- شاخص تثبیت

۲- کای اسکور برای تعادل هاردی و واینبرگ

۳- شاخص اطلاعات شانون

بحث

شاخص اطلاعات شانون برآوردی از تنوع ژنتیکی در جمعیت بوده و در یک اکوسیستم غنی از تنوع ژنتیکی، شاخص اطلاعات شانون در محدوده‌ی ۱/۵ تا ۳/۵ قرار دارد (McDonald et al. 2003). شاخص تثبیت همیشه در محدوده‌ی ۱ تا ۱- متغیر است و منفی بودن آن نشانی از کاهش هتروزیگوسیتی و افزایش هموزیگوسیتی یا افزایش هم‌خونی و همچنین انحراف از تعادل هاردی و واینبرگ در جمعیت است. در نتایج این تحقیق بیش‌ترین و کم‌ترین فراوانی آللی را به ترتیب آلل A_3 (۰/۷۳) و آلل A_2 (۰/۰۴) داشتند. این نتایج تا حدودی به نتایج تحقیق Ipو همکاران در سال ۲۰۰۰ مطابقت دارد. نتایج تحقیق حاضر با نتایج دو تحقیق Pipalia در سال ۲۰۰۳ و Makhsous و همکاران در سال ۲۰۱۳ مطابق نبود. مشابه تحقیق حاضر توسط Thakur و همکاران در سال ۲۰۰۶ و Jafari و همکاران در سال ۲۰۰۹ انجام شد که بیش‌ترین فراوانی برای آلل A_3 محاسبه شد. نتایج تحقیق انجام شده توسط Khakpour و همکاران در سال ۲۰۱۱ نیز با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. تطابق فراوانی‌های آللی گزارش شده در جمعیت‌های ذکر شده می‌تواند بیان‌گر شباهت ژنتیکی در این جایگاه ژنی و صفات تأثیرپذیر از آن باشد.

در تحقیق حاضر، مقایسه‌ای جداگانه بین مرغ‌ها و خروس‌های مرغ بومی نژاد مرندی انجام شد (جدول ۲). در بین مرغ‌ها و خروس‌ها، آلل A_3 دارای بیش‌ترین فراوانی شناسایی شد. فراوانی آلل‌های A_1 و A_3 در مرغ-ها بیش‌تر از خروس‌ها محاسبه شد. اختلاف در فراوانی آللی بین جنس‌ها می‌تواند به دلیل تفاوت در صفات فنوتیپی آن‌ها باشد. χ^2 محاسبه شده برای تعادل هاردی و واینبرگ، در جمعیت مورد مطالعه معنی‌دار نبود (P<۰/۰۵). عدم مهاجرت‌های متعدد، عدم آمیزش‌های غیر تصادفی، عدم رانش ژنتیکی، عدم انتخاب و عدم وجود جهش در جمعیت‌های کوچک که اثر چشم‌گیری دارند، می‌توانند علت معنی‌دار نبودن χ^2 و یا در تعادل بودن جمعیت مورد مطالعه محسوب شوند.

با توجه نتایج به دست آمده از این تحقیق، جایگاه ژنی اینترون شماره‌ی ۱ ژن هورمون رشد در جمعیت مرغ بومی نژاد مرندی چندشکلی زیادی داشته و بعد از تعیین ژنوتیپ مرغ‌ها و مشخص شدن عملکرد تولیدی متأثر از هورمون رشد می‌توان از این جایگاه ژنی به عنوان نشان‌گر مناسب در برنامه‌های انتخاب و اصلاح نژاد ژنتیکی مرغ‌های بومی جهت بهبود صفات اقتصادی مرتبط با هورمون رشد بهره برد.

تشکر و قدردانی

این تحقیق به عنوان طرح پژوهشی دانشجویی با حمایت مالی دانشگاه آزاد اسلامی واحد مراغه انجام شد. لذا مراتب تشکر و سپاس‌گزاری خویش را از معاون محترم پژوهش و فن‌آوری، انجمن علمی دانشجویی زیست‌شناسی و مدیر محترم آزمایشگاه‌ها و کارگاه‌های این واحد دانشگاهی اعلام می‌داریم.

منابع

Apa, R.; Lanzone, A. and Micheli, F. (1994). Growth hormone induces invitro maturation of follicle and cumulus-enclosed rat oocytes. Molecular Cell Endocrinology, 106: 207-212.

Byatt, J.C.; Staten, N.R.; Salsgiver, W.J.; Kostelec, J.C. and Collier, R.J. (1993). Stimulation of food intake and weight gain in mature female rats by bovine prolactin and bovine growth hormone gene. American Journal Physiology, 264: 986-992.

Darabi, A.; Fayazi, J.; Roshanfekr, H. and Nasiry, M.T. (2010). Investigation of growth hormone gene polymorphism using PCR-RFLP technique in native poultry in khouzestan province. Journal of Animal and Veterinary Advances, 9 (2): 255-257.

Etherton, T.D. (2001). Porcine growth hormone: a central metabolic hormone involved in the regulation of adipose tissue growth. Nutrition, 17: 789-792.

Etherton, T.D. and Bauman, D.E. (1998). Biology of somatotropin in growth and lactation of domestic animals. Physiology Review, 78: 745-761.

Hoj, S.; Fredholm, M.; Larsen, N.J. and Nielsen, V.H. (1993). Growth hormone gene polymorphism associated with selection for milk fat production in lines of cattle. Animal Genetics, 24: 91-95.

Ip, S.C.; Zhang, X. and Leung, F.C. (2001). Genomic growth hormone gene polymorphism in native Chinese chicken. Experimental Biology and Medicine, 226: 458-462.

Isvandi, S.; Beigi-Nassiri, M.T.; Roshanfekr, H. and Fayazi, J. (2017). Evaluation of Prolactin gene (PRL) polymorphism in Khouzestan native chickens using PCR-RFLP some masses. Iranian Veterinary Journal, 13(1): 26-32. (In Persian).

Jafari, A.; Pakdel, A. and Esmail-khanian, S. (2009). Study of polymorphisms in the introns 1 and 4 chicken growth hormone gene in the native fowls of Isfahan and Mazandaran. Modern Genetics Journal, 4(3): 37-43. (In Persian).

Khakpour, K.; Mardani, K. and Hashemi, A. (2011). Polymorphism of Interon I of Chicken Growth Hormone Gene in West Azerbaijan Native Chicken Using PCR-RFLP. Iranian Journal of Animal Science Research, 21(3): 21-30. (In Persian).

Kelley, S.M. and Felton, D.L. (1995). Experimental basis for neural immune interactions. Physiology Review, 75: 77-106.

Klindt, J.; Buonomo, F.C.; Wise, T. and Yen, J.T. (1996). Endocrine and metabolite responses to porcine growth hormone administered by sustained release implant for different lengths of time in male pigs. Endocrinology, 137: 3689-95.

Kuhnlein, U.N.; Liu, S.; Weigend, J.S.; Gavora, W.; Fairfull and Zadworny, D. (1997). DNA polymorphisms in the chicken growth hormone gene: response to selection for disease resistance and association with egg production. Animal Genetics, 28: 116-123.

Lamb, L.C.; Galehouse, D.M. and Foster, D.N. (1988). Chicken growth hormone cDNA sequence. Nucleic Acids Research, 16: 9339.

Lechniak, D.; Machnik, G.; Szydlowski, M. and Switonski, M. (1999). Growth hormone gene polymorphism and reproductive performance of AI bulls. Theriogenology, 52: 1145-52.

Makhsous, S.G.; Mihoseini, S.Z.; Zamiri, M.J. and Niazi, A. (2013). Polymorphisms of growth hormone gene in a native chicken population. Association with egg production. Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy, 57 (1): 73-77.

Mayahi, M.; Talazadeh, F. and Abdoshah, M. (2018). Comparison of the performance between three strains of broiler chicks in Iran. Iranian Veterinary Journal, 13(4): 100-108. (In Persian).

McDonald, D.G. and Dimmick J. (2003). The conceptualization and measurement of diversity. Communication Research, 30: 60-79.

Miller, S.A.; Dykes, D.D. and Polesky, H.F. (1988). A Simple Salting Out Procedure for Extracting DNA from Human Nucleated Cells. Nucleic Acids Research, 16(3): 12-15.

Pipalia, D.L. (2003). Growth hormone gene polymorphism in Bantam, White Leghorn and Bantamised White Leghorn. Indian Journal of Poultry Science, 38: 206-211.

Rezaei Yazd Abadi, S.; Roshanfekr, H.; Beigi Nasiri, M.T. and Fayazi, J. (2017). Study of polymorphism in intron 4 and exon 5 of ghrelin gene in some masses of Khuzestan native chickens using PCR-RFLP. Iranian Veterinary Journal, 13(2): 22-28. (In Persian).

Simon, D.L. and Buchenauer, D. (1993). Genetic diversity of European livestock breeds. EAAP Publ, No. 66, Wageningen Press, Wageningen, the Netherlands, P: 581.

Tanaka, M.; Hosokawa, Y.; Watahiki, M. and Nakashima, K. (1992). Structure of the chicken growth hormone-encoding gene and its promoter region. Gene, 112: 235-239.

Thakur, M.S.; Parmar, S.N.; Chaudhari, M.V. and Bhardwaj, J.K. (2009). Growth hormone gene polymorphism and its association with egg production in Kadaknath chicken. Livestock Research for Rural Development, 21 (8): 132.

Thakur, M.; Parmar, S.; Tolenkhomba, T.; Srivastava, P.; Joshi, C.; Rank, D. and Pillai, P. (2006). Growth hormone gene polymorphism in Kadaknath breed of poultry. Indian Journal of Biotechnology, 5: 189-194.

Vasilatos-Younken, R. (1995). Proposed mechanism for the regulation of growth hormone action in poultry: Metabolic effects. The Journal of Nutrition, 125: 1783-89.

Yilmaz, O.; Karaca, O.; Ince, D.; Cemal, I.; Yarali, E.; Varol, M. et al. (2014). Nomadic sheep breeding in western Anatolia and the role of animal breeding programs. Journal of Tekirdag Agricultural Faculty, 11(2), 89-97.

Zohari, M.A. (2014). Principles of Poultry Breeding. Tehran University Publisher, Tehran, P: 384. (In Persian).

Vol. 15, No. 3, Autumn, 2019
DOI: 10.22055/ivj.2018.110694.1997

Genetic diversity in intron 1 of cGH gene in the indigenous chicken of Marandi breed

Naghavi, F.[1] and Pish Jang Aghajeri, J.[2]

Received: 13.01.2018 Accepted: 24.07.2018

Abstract

The growth hormone of chickens affects the growth and development of chickens, egg production, body type, appetite control, reproduction, and the response of the body immune system. Several studies have shown that the growth hormone gene is a candidate gene for chicken economic traits. The polymorphisms of this gene can be used to improve production, phylogenetic analysis and marker-assisted selection programs. In this study, allelic polymorphism in intron 1 of growth hormone (cGH) gene in the Marandi indigenous chicken examined using PCR-RFLP technique. A total of 100 birds were selected and for detection of mutation in intron 1 of cGH gene (776 bp), the PCR products were digested by *MspI* restriction enzyme. The results showed that the five genotypes and three of the A_1, A_2 and A_3 alleles with a frequency of 24, 4 and 73 percent respectively, identified. The A_3A_3 genotype had the highest (0.50) and the lowest (0.02) frequency was found for A_1A_1 and A_1A_2 genotypes. In the total population, Shannon's information index and Fixation index 0.69 and -0.16 respectively, calculated. According to the Chi-square test, the Marandi indigenous chickens had a Hardy-Weinberg equilibrium for this locus. Considering the high polymorphism of this locus in Marandi indigenous chickens can after determining the genotype and the performance of each genotype in the production of economic traits be used as a marker in genetic selection and breeding programs to improve the economic traits associated with growth hormone.

Key words: Genetic diversity, Intron 1, Growth hormone, Indigenous chicken, Marandi breed

1- Bachelor's Student of Genetics, Faculty of Basic Sciences, Maragheh Branch, Islamic Azad University, Maragheh, Iran
2- Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Maragheh Branch, Islamic Azad University, Maragheh, Iran
Corresponding Author: Pish Jang Aghajeri, J., E-mail: jafar.pishjang@iau-maragheh.ac.ir