نشریه علوم دامی
(پژوهش و سازندگی)

شماره ۱۰۶، بهار ۱۳۹٤
ص‌ص: ۲٦٥~۲۷۲

ارتباط چندشکلی ناحیه‌ای از اگزون یک ژن IGF-I با صفات رشد در گوسفند مغانی

- **فاطمه پوربایرامیان**
  دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه.
- **علی هاشمی**
  استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه.
- **کریم مردانی**
  دانشیار گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه.
- **محمد قادرزاده** (نویسنده مسئول)
  دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه.
- **پرویز عزیزی**
  دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران.
- **محمد فرهادیان**
  دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه.
- **پریسا بیابانی**
  دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه.

تاریخ دریافت : آبان ۹۱ تاریخ پذیرش : خرداد ۹۲

شماره تماس نویسنده مسئول: ۰۹۳۹۴۳۲۲۰۹۱
Email: mg.mahabad1365@gmail.com

چکیده

در این تحقیق استخراج DNA با روش بهینه نمکی از نمونه‌های خون جمع آوری شده از ۱۰۰ رأس گوسفند مغانی مرکز پرورش و اصلاح نژاد جعفرآباد مغان انجام شد. پس از استخراج DNA، قطعه‌ای به اندازه ۲۷۹ جفت باز از ناحیه اگزون یک ژن IGF-I با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز تکثیر و الگوهای مختلف ژنوتیپی به روش SSCP تعیین گردیدند. الگوهای باندی متفاوتی در جایگاه مورد مطالعه بدست آمد. در مجموع در گوسفندان مورد مطالعه سه ژنوتیپ BC، BD و BB با فراوانی‌های ٦٥ درصد، ۲٦ درصد و ۹ درصد بدست آمدند. فراوانیهای ژنوتیپی در جایگاه مورد مطالعه انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ را نشان دادند. بین ژنوتیپ‌های BB، BD و BC با صفات وزن از شیرگیری، وزن ٦ ماهگی، وزن نه ماهگی، افزایش وزن روزانه و نسبت کلیبر تفاوت معنی داری مشاهده شد. بین صفات وزن تولد و وزن یکسالگی با ژنوتیپ‌ها ارتباط معنی‌داری مشاهده نشد. ارتباط معنی‌دار بین چندشکلی‌های ژن IGF-I با صفات رشد، کارایی برنامه‌های اصلاح نژادی را در گوسفندان از طریق راهکار انتخاب به کمک نشانگر ارتقاء می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: نشانگر، گوسفند مغانی، صفات رشد، PCR-SSCP.

Animal Science Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 106 pp: 265-272

Association between Polymorphism IGF-I gene exon 1 and growth traits in Moghani Sheep

By: F. Purbayramian, MSc Graduated Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Urmia University,
A. Hashemi, Assistant Professor Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Urmia University,
K. Mardani, Associate Professor Department of Food Hygiene and Quality control, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University,
*M. Ghaderzadeh, MSc Graduated Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Urmia University (Corresponding Author; Tel: +989394322091),
P. Azizi, MSc Graduated Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Tehran University,
M. Farhadian, MSc Graduated Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Urmia University,
P. Biabani, MSc Graduated Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Urmia University.

Received: November 2012 **Accepted: May 2013**

In this study, 100 Moghani sheep from breeding station located in Jaafarabad, Moghan were genotyped for exon 1 of IGF-I gene, using PCR-SSCP. Different band patterns were obtained in this site gene that was studied. Based on SSCP patterns, three genotypes BC, BD and BB obtained with frequencies of 65%, 26% and 9%, respectively. The genotype frequencies had a significant deviation from HWE. In addition, significant associations were observed between BB, BD and BC genotypes and weaning weight, weight in six months, weight in nine months, Average daily gain and Kleiber ratio. No association of the genotypes with the Birth weight and Yearling weight traits were found. These association polymorphisms and growth traits may be applied in sheep breeding schemes as marker assisted selection (MAS).

Key words: Marker, Moghani Sheep, Growth traits, PCR-SSCP.

مقدمه

گوشت قرمز به عنوان منبع اصلی تأمین پروتئین برای انسان محسوب می‌شود. در هر جامعه انسانی با توجه به ذائقه‌ی مردم، نوع خاصی از گوشت بر انواع دیگری ترجیح داده می‌شود. در ایران گوشت گوسفند بیشترین میزان مصرف را دارا می‌باشد. از این رو پرورش و نگهداری گوسفند از اهمیت زیادی برخوردار است. با توجه به نیاز جامعه به پروتئین حیوانی (از جمله گوشت، لبنیات و فراورده‌های حیوانی)، برنامه‌های اصلاحی به منظور افزایش بازده تولیدات گوسفند بوسیله بهبود ترکیب بدنی، وزن بره‌ها، تعداد بره‌ها در یک نوبت زایمان و بازده تولید شیر، مورد نیاز است (Yazdi et al. 1997). سودمندی تولیدات گوسفند برای افزایش تولید گوشت به میزان افزایش وزن بره وابسته است. بنابراین اهداف انتخاب باید روی این صفات متمرکز گردد (Tosh and Kemp, 1994). تولید گوشت یکی از مهمترین معیارهای تعیین کننده سود اقتصادی در پرورش گوسفند در ایران است. جهت دستیابی به بیشترین بازده تولید گوشت، صفات رشد (وزن تولد، وزن از شیرگیری، وزن شش ماهگی، وزن یک-سالگی و افزایش وزن روزانه) به عنوان معیار انتخاب در پرورش گوسفند پیشنهاد شده‌اند (اسدی خشوی و همکاران، ۱۳۷۸). گوسفند مغانی یکی از مستعدترین نژادهای گوسفندان گوشتی در ایران است. درشت بودن جثه، مقاومت در برابر تغییرات آب و هوا، قابلیت تولید بره‌های سنگین از جمله عواملی هستند که موجب شده‌اند تا دامداران بسیاری از استان‌های کشور تمایل زیادی جهت پرورش این نژاد از خود نشان داده و نسبت به نگهداری آن به صورت گله‌های روستایی و یا پراکنده در مزارع اقدام نمایند. گوسفند نژاد مغانی بیشتر از لحاظ تولید گوشت اهمیت دارد و به عبارت دیگر هدف اصلی پرورش این نژاد تولید

گوشت می‌باشد (رشیدی و همکاران، ۱۳۷۷ ؛ کارگر و همکاران،۱۳۸۵). متخصصان اصلاح دام تلاش دارند تا با کمک روش‌های ژنتیک مولکولی اطلاعات بیشتری از مکانیسم ژنتیکی صفات اقتصادی به دست آورند و با اطلاعات فنوتیپی تلفیق کنند، تا با انتخاب صحیح‌تر و سریعتر، به روند اصلاح دام سرعت ببخشند (Beuzen et al, 2000).

بنابراین شناسایی ژن‌هایی که بر صفات اقتصادی اثر می‌گذارند از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. بطوریکه می‌توان با استفاده از این ژن‌ها حیوانات را برای صفات مورد نظر انتخاب و سبب سریعتر شدن پیشرفت ژنتیکی شد (یزدان پناه و همکاران، ۱۳۸۹). این پیشرفت‌ها فرصت‌هایی را جهت افزایش بهبود و کارایی برنامه‌های اصلاحی فراهم آورده است تا از طریق انتخاب مستقیم بر روی ژن‌ها با نواحی مرتبط با صفات اقتصادی بتوان انتخاب براساس مارکر (MAS) را با دقت بالایی انجام داد (Dekker and Hospital, 2002). ژن فاکتور رشد شبه انسولینی (IGF-S) ژنی است که پروتئین‌های حاصل از آن در تنظیم هورمون رشد نقش عمده‌ای دارند و ژن کد کننده آنها به عنوان ژن کاندیدا برای بررسی رشد و صفات کیفی گوشت در طرح‌های بهبود ژنتیکی حیوانات مطرح می‌باشد (Ge et al, 2001). سیستم IGFS از IGF-I، IGF-II گیرنده‌های آنها و ۶ پروتئین اتصالی (IGFBP1-6) تشکیل شده است و نقش مهمی در رشد، نمو، تولید مثل و فرآیند پیری بازی می‌کند (Bale and Conover, 1992). IGF-I یکی از اجزای خانواده پیچیده IGFS است که سنتز استخوان و پروتئین، میزان مصرف گلوکز در ماهیچه‌ها، متابولیسم چربی‌ها، ابقای نورون‌ها و سنتز میلین را تحریک می‌کند. همچنین تعادل منفی نیتروژن را بر می‌گرداند و مانع از تجزیه پروتئین در ماهیچه می‌شود (Roite (et al, 2001. پلی پپتید ۷/۵ کیلو دالتونی IGF-I شامل ۶ اگزون و ۵ اینترون و ۷۰ آمینو اسید است (Shimutsu and Rotwin, 1986). ژن IGF-I در گوسفند بر روی کروموزوم شماره ۳ قرار دارد (Imam-ghali et al, 1991) و دارای ساختاری شبیه به هورمون انسولین است و به واسطه پیوند به گیرنده‌های گلیکو پروتئین مرتبط به غشاء عملکرد بسیاری از بافت‌ها و انواعی از سلول‌های پستانداران را نگهداری می‌کند (Bryne and Mcmullen,1996). IGF-I به عنوان ژن کاندیدا برای تنظیم سن بلوغ است و باعث هایپرتروفی در سلول‌های عضلانی می‌شود و موجب تغییر در بیان پروتئینی می‌شود که مایو فیبریل (واحد عملکردی بافت ماهیچه) را می‌سازد. کبد جایگاه اصلی و اولیه ساخت IGF-I بوده اما اخیراً ثابت شده است که mRNA، IGF-I در بسیاری از بافت‌های پستانداران بخصوص فیبروبلاست و سلول‌های با منشأ مزونشیمال سنتز می‌شود. نقصان IGF-I در دوران جنینی سبب ناهنجاری‌های شدید رشد می‌شود (Yimaz, 2005). اولین بار جی و همکاران (۱۹۹۷) با استفاده از تکنیک SSCP یک جهش تک نوکلئوتیدی را در ژن IGF-I گاوهای آنگوس گزارش نمودند. هنرور و همکاران (۲۰۱۲) طی مطالعه‌ی چند شکلی در گوسفند زل چهار الگوی ژنوتیپ ۱،۲،۳،۴ را با استفاده از تکنیک PCR-SSCP گزارش کردند.

کواینگ و همکاران (۲۰۱۱) در طی مطالعه‌ای بر روی بزهای Xinjiang، بز کشمیر Bogeda و بز کشمیر Nanjiange ۴ الگوی ژنوتیپی AA، AB، BB و AC را برای این نژادها گزارش کردند. در بز کشمیر Nanjiange، نرمی و لطافت کشمیری از ژنوتیپ AA ارتباط معنی‌داری نسبت به ژنوتیپ AB داشت. وزن بدن دامهای با ژنوتیپ AC ارتباط معنی‌دار بالاتری را نسبت به ژنوتیپ BB داشت.

یزدان‌پناه و همکاران (۱۳۸۹) ضمن مطالعه اگزون ۱ ژن IGF-I با روش PBR در گاو نجدی ، ۳ ژنوتیپAA ، AB و BB را در این جمعیت گزارش کردند.

هدف از این پژوهش شناسایی چندشکلی ناحیه اگزون یک ژن IGF-I در گوسفندان نژاد مغانی با استفاده از روش چندشکلی فضایی رشته‌های منفرد[1] مبتنی بر واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR-SSCP) و همچنین تعیین فراوانی ژنوتیپی و ارتباط آن با صفات رشد می‌باشد.

[1] Single-strand conformation polymorphism

مواد و روش‌ها

۱۰۰ نمونه خون از جمعیت گوسفندان مغانی مرکز پرورش و اصلاح نژاد جعفرآباد بدست آمد. استخراج DNA به روش بهینه یافته نمکی انجام شد (Javanrouh et al., 2006). برای تعیین کمیت و کیفیت DNA از الکتروفورز ژل آگارز یک درصد و همچنین دستگاه اسپکتروفتومتر استفاده شد. برای تکثیر قطعه ۲۷۹ جفت بازی از ناحیه اگزون یک ژن IGF-I با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلی مراز (PCR) طراحی آغازگرها بر اساس توالیهای ژن IGF-I موجود در بانک ژن با استفاده از نرم افزار Amplifx انجام گرفت. توالی آغازگرها به صورت زیر بود:

آغازگرفت: 5′-CTGAGGGGAGCCAATTACAAAG-3′

آغازگربرگشت: 5′-ACACATCTGCTAATACACCTTACC-3′

واکنش PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر، شامل ۲۰۰ نانوگرم نمونه DNA، ۱۰ پیکومول بر میکرولیتر از هر آغازگر، ۲۰۰ میکرومول از هر یک از نوکلئوتید تری فسفات‌ها، یک واحد آنزیم پلی مراز، ۲/۵ $MgCl_2$ میلی مولار و بافر PCR (۱۰ X) انجام شد. تکثیر قطعه مورد نظر با استفاده از یک مرحله ابتدایی واسرشته سازی در دمای ۹۵°C به مدت ۵ دقیقه و ۳۵ چرخه (واسرشته‌سازی در ۹۴°C به مدت ۴۵ ثانیه، اتصال آغازگرها در ۵۷°C به مدت ۴۵ ثانیه و تکثیر در ۷۲ °C به مدت ۳۰ ثانیه) و تکثیر نهایی در ۷۲°C به مدت ۵ دقیقه با استفاده از دستگاه ترموسایکلر (Master cycler *Eppendrof, آلمان*) انجام شد. محصولات PCR روی ژل آگارز ۱/۵٪ و با ولتاژ ۸۰ ولت به مدت ۶ ساعت الکتروفورز شدند. رنگ آمیزی ژل با اتیدیوم بروماید (۱۰ mg/ml) انجام گرفت. آنالیز SSCP بر روی محصولات PCR با استفاده از ژل آکریل آمید (محلول از قبل تهیه شده بدون استفاده از حرارت) ۸ درصد انجام شد.

برای این منظور دو میکرولیتر از محصول PCR با ۸ میکرولیتر بافر بارگذاری (شامل ۱۰ میکرولیتر بروموفنل ۱۰ درصد+ ۲ میکرولیتر EDTA نیم مولار + ۱۹۰ میکرولیتر گلیسرول+ ۸۰۰ میکرولیتر فرم‌آمید) مخلوط گردید و به مدت ۵ دقیقه در دمای ۹۵°C واسرشته (تک رشته‌ای) گردید. سپس نمونه‌ها به سرعت بر روی یخ منتقل شدند تا از اتصال مجدد رشته‌های مکمل به یکدیگر ممانعت به عمل آید (Pipalia et al, 2004). نمونه‌ها در ژل آکریل ۸ درصد با ولتاژ ۳۲۰ ولت به مدت ۱۵۰ دقیقه الکتروفورز گردیدند. رنگ آمیزی ژل با استفاده از روش نیترات نقره صورت گرفت (Benbouza et al, 2006). فراوانی ژنوتیپی، هتروزیگوسیتی مشاهده شده و هتروزیگوسیتی مورد انتظار توسط نرم افزار PopGene 32 محاسبه گردید (Yeh et al.,1999). برای بررسی ارتباط هر یک از الگوها و صفت‌های مورد مطالعه پس از آماده‌سازی داده‌ها و آزمون نرمال بودن داده‌ها و نرمال‌سازی داده‌هایی که از توزیع نرمال برخوردار نبودند با روش *Boxcox* که در این روش با کمک نرم‌افزار SAS 9.12 و رویه *Transreg* یک مقدار به نام لامبدا (λ) بدست آورده شد، سپس با کمک فرمول زیر داده‌ها نرمال گردید. که در آن X(n) داده نرمال شده و X داده غیر نرمال می‌باشد.

$$X(n)=(x^{\lambda}-1)/\lambda$$

علاوه بر رکوردهای وزن تولد (BW)، وزن از شیرگیری (WW)، وزن شش ماهگی (6W)، وزن نه ماهگی (9W)، وزن یکسالگی (W12)، میانگین افزایش وزن روزانه و نسبت کلیبر، اطلاعات مربوط به جنس گوسفندان و سن رکوردگیری نیز ثبت گردید. مدل آماری بکار رفته جهت توصیف داده‌ها (مشاهدات) به شرح زیر بود:

$$Y_{ijklmn}=\mu+G_i+Sex_j+LS_k+Yb_l+Mb_m+b1(Age_n-\overline{Age})+b2(W_n-\overline{W})+BV_n+e_{ijklmn}$$

که در آن:

Y_{ijklmn}: مقدار صفت، μ: اثر میانگین، G_i: اثر i امین ژنوتیپ، Sex_j: اثر j امین جنس، LS_k: اثر k امین وضعیت تولد (چند قلو یا تک قلو بودن) Yb_l : اثر l امین سال تولد، Mb_m : اثر m امین ماه تولد، b_1 : ضریب تابعیت Y بر روی سن وزن کشی، Age_n : اثر سن وزن کشی حیوان k، $\overline{Age}$: میانگین سن دامهای نمونه-گیری شده، b_2 : ضریب تابعیت Y بر روی وزن، W_n : اثر وزن حیوان k، $\overline{W}$: میانگین وزن دامهای نمونه‌گیری شده، BV_n : اثرتصادفی k امین ارزش اصلاحی، e_{ijklmn} : اثرات باقیمانده.

ژنوتیپ، جنس، سال تولد و ماه تولد در مدل بالا به عنوان اثرات ثابت در نظر گرفته شدند. سن و وزن دوره پیش برای صفات وزن به عنوان عامل همبسته در مدل آورده شده است. همچنین سن مادر نیز به عنوان عامل همبسته در مدل قرار گرفت اما به دلیل اینکه اثر آن معنی‌دار نبود در مدل نهایی حذف گردید. آنالیز واریانس با رویه GLM و آزمون مقایسات میانگین توکی با استفاده از نرم افزار SAS ۹/۱ انجام شد.

نتایج و بحث

محصولات بدست آمده از واکنش PCR جهت اطمینان از صحت تکثیر قطعه ۲۷۹ جفت بازی از ژن IGF-I روی ژل آگارز ۱/۵ درصد الکتروفورز شدند (شکل۱). پس از الکتروفورز عمودی، محصولات PCR تک رشته‌ای شده بر روی ژل پلی-آکریلامید با توجه به فرم فضایی خاص خود ۳ ژنوتیپ BB، BC و BD در جمعیت مورد مطالعه، نشان دادند که در شکل ۲ آورده شده است. مقدار χ^2 محاسبه شده برابر با ۶۸/۷۸ که در سطح احتمال ($p\leq$ ۰/۰۵) دارای تفاوت معنی‌داری بود، بنابراین جمعیت انحراف معنی داری از تعادل هاردی- واینبرگ نشان داد ($p\leq$ ۰/۰۵). این عدم تعادل ناشی از برهم خوردن شرایط تعادل در جمعیت مذکور احتمالاً بواسطه عواملی از جمله جهش، انتخاب و همچنین آمیزش‌های غیر تصادفی باشد.

در تحقیق حاضر ۳ الگوی باندی مختلف مشاهده شد که با نتیجه بدست آمده از مطالعات یالماز و همکاران (۲۰۰۵) بر روی گوسفندان آمیخته، طهمورث پور و همکاران (۲۰۰۹) در گوسفند بلوچی و کاظمی و همکاران (۲۰۱۱) بر روی گوسفندان زل مطابقت دارند، که همانند مطالعاتی که بر روی گوسفند آمیخته و زل گزارش شده است در تحقیق حاضر نیز ژنوتیپ BB کمترین مقدار فراوانی را داشت.

همچنین یالماز و همکاران (۲۰۰۵) در طی مطالعه‌ای که بر روی گوسفندان پلی پای انجام دادند ۲ الگوی ژنوتیپی را برای این جایگاه شناسایی کردند دلیل احتمالی تفاوت در تعداد ژنوتیپ‌های شناسایی شده در این تحقیق با نتایج تحقیق یالماز و همکاران در گوسفند پلی پای ممکن است مربوط به نوع نژاد و وجود جهش در گوسفندان مذکور باشد. طهمورث‌پور و همکاران (۲۰۰۹) طی مطالعه‌ای که بر روی جایگاه اگزون ۱ ژن IGF-I در گوسفند بلوچی یک اثر ارتباطی بین این الگوهای SSCP با وزن تولد، وزن از شیرگیری، میانگین افزایش وزن روزانه از تولد تا شیرگیری، از شیرگیری تا ۶ ماهگی و از ۶ ماهگی تا یکسالگی و تأثیر مثبت ژنوتیپ AB با میانگین افزایش وزن روزانه و وزن از شیرگیری را شناسایی کردند.

در گوسفند بلوچی اثر ژنوتیپ AA بر وزن زنده در یکسالگی مطلوب ارزیابی شد. زانگ و همکاران (۲۰۰۸) چندشکلی تک نوکلئوتیدی اینترون ۴ ژن IGF-I را در بزهای بومی شناسایی کردند که ۳ ژنوتیپ CC،GC و GG برای این جایگاه مشاهده شد، این چندشکلی‌های ژن IGF-I ارتباط معناداری با وزن تولد، وزن بدن در ۶ ماهگی و ۱۲ ماهگی، دور سینه در ۲ ماهگی، طول بدن در ۶ ماهگی، ارتفاع جدوگاه در ۶ ماهگی و در ۱۲ ماهگی و دور سینه در ۱۲ ماهگی داشت.

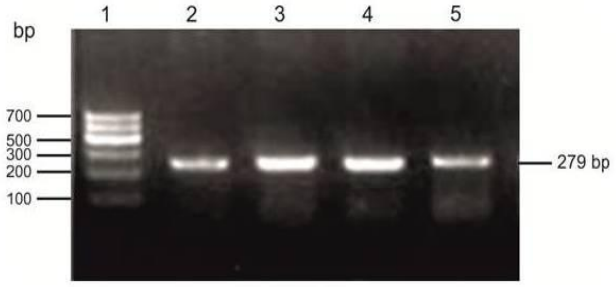
جی و همکاران (۲۰۰۱) مشخص کردند که در ناحیه ′۵ این ژن و ۵۱۲ جفت قبل از اولین کدون اگزون اول (ATG) یک جهش جایگزینی نوکلئوتیدی T باC اتفاق افتاده است که ژنوتیپ BB در این جایگاه، با اضافه وزن بدن گاوهای آنگوس در ۲۰ روز پس از شیرگیری ارتباط معنا داری داشت. در گزارشی دیگر، یک چند شکلی تک نوکلئوتیدی (SNP) از IGF-I/*snaBI* به عنوان یک نشانگر ژنتیکی در گاو شاروله مکزیکی و نقش آن در ارتباط با وزن از شیر گیری و افزایش وزن قبل از شیر گیری ثابت شده است (Rosa, Reyana et al, 2010).

در این تحقیق برای بررسی جهش در این ژن تنها تکنیک PCR-SSCP بکار گرفته شد اما بهتر است سایر روشهای مولکولی نیز آزمایش گردند.

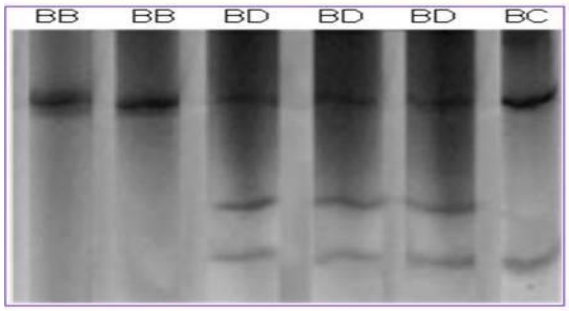
همانگونه که در جدول ۱ دیده می‌شود در نژاد مغانی بین ژنوتیپ-های BC، BB و BD برای صفات وزن تولد و وزن یکسالگی هیچ تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. برای صفت وزن از شیرگیری بین ژنوتیپ‌های BB و BC هیچ تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد

اما بین این ژنوتیپ‌ها با ژنوتیپ BD تفاوت معنی‌داری مشاهده شد. بطوریکه دام‌های با ژنوتیپ BD برای صفات از شیرگیری بیشترین وزن را داشتند. برای وزن نه ماهگی تفاوت معنی‌داری بین ژنوتیپ BD و BC مشاهده شد اما تفاوت معنی‌داری بین ژنوتیپ BD وBC با BB مشاهده نشد و دام‌های با ژنوتیپ BD بالاترین وزن را برای نه ماهگی داشتند. برای صفت افزایش وزن روزانه، ژنوتیپ BD بالاترین وزن را داشتند و تفاوت معنی‌داری بین ژنوتیپ BD با ژنوتیپ‌های BC و BB مشاهده شد.

نسبت کلیبر برای دام‌های با ژنوتیپ BB هیچ تفاوت معنی‌داری با ژنوتیپ BD و BC نشان نداد. دام‌های با ژنوتیپ‌های BD و BC تفاوت معنی‌داری با هم داشتند و دام‌های با ژنوتیپ BD بالاترین نسبت کلیبر را داشتند. از آنجائیکه تعداد نمونه‌های مورد آزمایش محدود بودند این احتمال وجود دارد که با تعداد نمونه-های بیشتر ژنوتیپ‌های دیگری از این ژن در نژاد مغانی مشاهده شود. بررسی جدول ۲ نشان می‌دهد که در کلیه صفات رشد گوسفند مغانی ژنوتیپ‌های مربوط به ژن IGF-I بصورت همبارز عملکرده و هیچ گونه اثر غالبیت در این صفات مشاهده نشد. دام-هایی که دارای الگوی BD بودند در مقایسه با دو الگوی دیگر از میانگین عملکرد بالاتری برخودارند. با انجام تحقیق اخیر مشخص گردید که ژن IGF-I در گوسفند مغانی احتمالاً می‌تواند نشانگر ژنتیکی مفید برای افزایش وزن تولد باشد که با نتایج طهمورث پور(۲۰۰۹) و زانگ و همکاران(۲۰۰۸) مطابقت دارد. تحقیق حاضر که با استفاده از روش چندشکلی فضایی رشته‌های منفرد مبتنی بر واکنش زنجیره‌ای پلی مراز انجام گرفت، سه ژنوتیپ مختلف شناسایی و مشاهده گردید و می‌توان روش PCR-SSCP را به عنوان یکی از تکنیک‌های مناسب و کم هزینه در شناسایی چندشکلی تک نوکلئوتیدی در گوسفند مغانی توصیه نمود. همچنین از آنجائیکه ژن IGF-I به عنوان محرک رشد می-باشد و با توجه به نقش بسیار مهم هورمون رشد و در پی آن اثراتی که این هورمون بر صفت‌های مهم تولیدی و اقتصادی می‌گذارد با در نظر گرفتن شناسایی چندشکلی و وجود ژنوتیپهای متنوع در این جایگاه از ژن فاکتور رشد شبه انسولین یک در نژاد مغانی و همچنین ارتباط معنی‌داری که بین این الگوها و برخی از صفات دیده شد، می‌توان این نشانگر مولکولی را در برنامه بهنژادی در گوسفندان مغانی مورد توجه قرار داد. بنابراین ژنوتیپ‌های ژن IGF-I می‌تواند به عنوان نشانگر ژنتیکی مناسبی در زمینه اصلاح نژاد گوسفندان مناطق بومی ایران مورد توجه قرار گیرند. همچنین با توجه به معنی‌دار بودن رابطه برخی ژنوتیپ‌ها و صفت وزن تولد شاید بتوان با انجام مطالعات بیشتر و تأیید نتایج یافته‌های پژوهش حاضر، از ژنوتیپ BD به عنوان شاخصی برای وزن تولد بالاتر در برنامه‌های بهنژادی استفاده نمود. با توجه به مطالعات انجام گرفته بر روی این ژن در در این تحقیق و مطالعات قبلی در سایر نژادهای گوسفند در کشور می‌توان چنین بیان کرد که در نژادهای ایرانی نیز ژن IGF-I بصورت چند شکلی وجود دارد و می توان با بکارگیری و تلفیق نتایج حاصل از مطالعات مولکولی و رکورد-های فنوتیپی و ثبت شده گوسفندان زمینه هر چه بهتر طراحی برنامه‌های انتخاب و بهگزینی گوسفندان بومی کشور را فراهم آورد.



شکل ۱- نتایج حاصل از PCR. چاهک ۱: نشانگر مولکولی ۱۰۰ جفت بازی (سیناژن-ایران)، چاهکهای ۵-۲ محصولات PCR حاصل از تکثیر اگزون ۱ ژن IGF-I



شکل۲- ژنوتیپ‌های مشاهده شده برای ژن IGF-I در گوسفندان نژاد مغانی

جدول ۱- فراوانی ژنوتیپی ژن IGF-I در گوسفند مغانی

ژنوتیپ	BB	BD	BC
فراوانی ژنوتیپ (درصد)	۹	۲۶	۶۵
χ^2=۶۸/۷۸*			

جدول ۲-مقایسه میانگین‌های ژنوتیپ‌های مختلف ژن IGF-I برای صفات رشد(mean±SE) در گوسفند مغانی با استفاده از آزمون توکی.

صفات	ژنوتیپ‌ها		
	BB	BD	BC
BW	۴/۲۵±۰/۲۵	۴/۷۴±۰/۴۲	۴/۳۷±۰/۳۵
WW*	۲۵/۵۰۳±۱/۳۷^{b}	۲۸/۱۸۹±۱/۲۴^{a}	۲۶/۳۳۲±۱/۰۲^{b}
W6	۴۰/۹۵۸±۱/۹۳	۳۹/۷۱۳±۱/۹۵	۳۷/۴۰۵±۱/۵۴
W9*	۳۹/۷۳۱±۲/۲۳^{ab}	۴۲/۸۵۵±۰/۹۳۰^{a}	۴۰/۰۰۸±۱/۲۴۰^{b}
W12	-	۴۲/۰۳۱±۱/۱۰۸	۴۱/۹۴۰±۰/۷۰۳
ADG	۲۰۷/۵۲۴±۱۴/۷۴^{b}	۲۳۹/۸۳۳±۸/۶۹^{a}	۲۱۱/۸۳۲±۹/۸۷^{b}
KLR*	۱۸/۷۶۳±۰/۸۱۱^{ab}	۲۰/۰۶۸±۰/۶۵۶^{a}	۱۸/۹۷۱±۰/۶۳۷^{b}

BW: وزن تولد، ww: وزن شیرگیری، W6: وزن شش‌ماهگی،W9: وزن نه‌ماهگی، Adg: میانگین افزایش وزن روزانه ، KLR: نسبت کلیبر برای از تولد تا شیرگیری.
*میانگین‌های با حروف متفاوت در داخل هر ردیف اختلاف معنی‌دار (P<۰/۰۵) بین ژنوتیپ‌ها و صفات رشد را نشان می‌دهد.

منابع

اسدی خشویی، ا.، میزائی آشتیانی، س .ر.، ترکمن زهی،آ.(۱۳۷۸). ارزیابی نسبت کلیبر (Kleiber-Ratio) به عنوان یکی از معیارهای انتخاب قوچ در گوسفند نژاد لری بختیاری. مجله علوم کشاورزی ایران. جلد ۳۰، شماره ۴، ص ۶۵۵-۶۴۹.

یزدان پناه، ا.، خدرزاده، ع.، محمدی کفتر کاری، م. (۱۳۸۹). بررسی چند شکلی ژن IGF-I در جمعیت گاومیش استان خوزستان با استفاده از تکنیک PBR. چهارمین کنگره علوم دامی کشور.

کارگر، ن.، مرادی شهر بابک، م.، مروج، ح.، رکوعی، م. (۱۳۸۵)، تخمین پارامترهای ژنتیکی صفات رشد و پشم در گوسفند کرمانی. مجله پژوهش و سازندگی، شماره ۷۳، ص ۹۵-۸۸

رشیدی، ا.، افتخار شاهرودی، ف.، نیکخواه، ع.، اصغری، ی. (۱۳۷۷). تخمین پارامترهای ژنتیکی و فنوتیپی صفات رشد در گوسفند مغانی. مجله علوم کشاورزی ایران. جلد ۲۹، شماره ۲، ص ۲۳۵-۲۲۷.

Bale, L.K. and Conover, C.A. (1992). Regulation of insulin Like growth factor binding protein-3 messenger ribonucleic acid expression by insulin-like growth factor I. *Endocrinology*, Vol, 131, No, 2. pp: 608-614.

Benbouza, H. Jacquemin, M. Baudoin, J. and Mergeai, G. (2006). Optimization of a reliable, fast, cheap and sensitive silver staining method to detect SSR markers in polyacrylamide gel. *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment*, Vol, 10, No, 2. pp: 77-81.

Beuzen, N., D. STEAR M. J. and Chang, K. C.(2000). Molecular markers and their use in animal breeding. *The Veterinary Journal*. Vol,160, No, 1: pp. 42–52.

Byrne, P.F. and McMullen, M. D. (1996). Defining genes for agricultural traits: QTL and the candidate gene approach. *Probe*, Vol, 7, No, 3. pp:24–27.

Dekkers, J. C. M. and Hospital, F. (2002). The use of molecular genetics in improvement of agricultural populations. *Nature Reviews Genetics*. Vol, 3, No, 1. pp: 22-32.

Ge, W. Davis, M. E. and Hines, H. C. (1997). Two SSCP alleles detected in the 5'-flanking region of bovine IGF1 gene. *Animal Genetics*. Vol, 28, No, 2. pp: 155-156.

Ge, W. Davis, M. E. Hinec, H. C. Irvin, K. M. and Simmen, R. C. M.(2001). Associations of a genetic marker with blood serum insulin-like growth factor-1 concentration and growth traits in angus cattle. *Journal of Animal Science*, Vol, 79, No, 7. pp: 1757-1762.

Honarvar M., M. Sadeghi., H. Moradi-Shahre babak, S.H. Behzadi., H. Mohammadi and A. Lavaf. 2012.Study of polymorphisms in the 5" flanking region of the ovine IGF-I gene in Zel sheep. *World Applied Sciences Journal*. Vol, 16, No, 5. pp: 726-728.

Imam-Ghali, M.I. Saidi-Mehtar, N. and Guerin, G. (1991). Sheep gene mapping: additional DNA markers included (CASB, CASK, LALBA, IGF-I and AMH). *Animal Genetics*. Vol, 22, No, 2. pp:165-172.

Javanrouh, A. Banabazi, M.H. Esmaeilkhanian, S. Amirinia, C. Seyedabadi, H. R. and Emrani, H. (2006) Optimization on salting out method for DNA extraction from animal and poultry blood cells. *The 57th Annual Meeting of the European Association for Animal Production*. Antalya, Turkey 21-25 August.

Kazemi, S. M. Amirinia, C. Emrani, H. and Gharahveysi, SH. (2011). Study and Identification of Insulin-Like Growth Factor-I Gene Polymorphisms in Zel Sheep Population**.** *American Journal of Animal and Veterinary Sciences* .Vol, 6, No, 4. pp: 176-179.

Pipalia, D.l. Joshi, C.G. Brahmkshtri, B.P. and Sonlanki, J.V. (2004). PCR-SSCP typing of MHC in cattle and buffaloes. *Indian Journal of Animal Sciences*,Vol, 74, No, 6. pp: 637-639.

Qiong, W. Chao, F. Wu-Jun, L. Yi, F. and Shi-Gang, Y. (2011). A Novel Mutation at Exon 4 of GENE IN Three Indigenous Goat Breeds in China.*Asian Journal of Animal and Veterinary Advances.* Vol, 6, No, 6. pp: 627-635.

Roite, D. Bondy, C. Yakar, S. Liu, J.L. and Butler, A. (2001). The Somatomedin Hypothesis. *Endocrine Reviews*. Vol, 22, No, 1. pp: 53-74.

Reyna, X.F. Montoya, H.M. Castrellon, V. V. Rincon, A.M. Bracamonte, M.P. and Vera, W. A. (2010). Polymorphisms in the IGF1 gene and their effect on growth traits in Mexican beef cattle. *Genetics and Molecular Research*. Vol, 9, No, 2. pp:875-883.

SAS. (2008). User's Guide: Statistics. Version 9.1, Cary, NC, USA.

Shimatsu, A. and Rotwein, P. (1987). Mosaic evolution of the insulin-like growth factors. Organization, sequence, and expression of the rat insulin-like growth factor I gene. *Journal of Biological Chemistry*. Vol, 262, No, 16. pp: 7894-7900.

Tahmoorespur, M. Valeh, M.V. Nassiry, M.R. Heravi Moussavi, A. and Ansary, M. (2009). Association of the polymorphism in the 5' flanking region of the ovine IGF-I gene with growth traits in the Baluchi sheep. S Afr. *Journal of Animal Science*. Vol, 39, No, 5. pp: 97-101.

Tosh, J.J. and Kemp, R.A. (1994). Estimation of variance components for lamb weights in three sheep populations. *Journal of Animal Science*. Vol, 72, No, 5. pp: 1184-1190.

Yazdi, M.H. Engstrom, G. Nasholm, A. Johansson, K. Jorjani, H. and Liljedahl, L.E. (1997). Genetic parameters for lamb weight at different ages and wool production in Baluchi sheep. *Journal of Animal Scienc*e. Vol, 65, No, 2. pp: 247-255.

Yeh, F. C. Yang, R. and Boyle, T. (1999). *POPGENE (V. 1.31)*. University of Alberta and Centre for International Forestry Research. USA

Yilmaz, A. E. Michael, C. H. Harold, Hines and Hoyoung. Chung. (2005). Detection of two nucleotide substitutions and putative promoters in the 5' flanking region of the ovine IGF-I gene. *Journal of Applied Genetics*. Vol, 46, No, 3. pp: 307-309.

Zhang, Ch. Zhang, W. Luo, H. Yue1, W. Gao, M and Jia, Z. (2008). A new single nucleotide polymorphism in the IGF-I gene and its association with growth traits in the Nanjiang Huang goat.*Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. Vol, 21, No, 8. pp: 1073-1079.