# بررسی و مقایسه چند شکلی (T487C) اگزون 17 ژن در DGAT1 و ارتباط آن با وزن لاشه و بازده لاشه درگوسفندان نژاد لری بختیاری و زل

حسین محمدی*[1]، محمد مرادی شهر بابک[2]، مصطفی صادقی[2]

[1] دانش آموخته کارشناسی ارشد ژنتیک و اصلاح نژاد دام، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران.

[2] به ترتیب استاد و استادیار پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران

تاریخ دریافت: 1389/12/11، تاریخ پذیرش: 1390/1/29

## چکیده

دی آسیل گلیسرول آسیل ترانسفراز (DGAT1) از جمله ژن‌های کاندیدا برای بهبود خصوصیات لاشه در دام‌های پرواری می‌باشد. فرآورده این ژن کد کننده، یک آنزیم میکروزومی است که مرحله نهائی سنتز تری گلیسریدها، یعنی تبدیل دی آسیل گلیسرول به تری آسیل گلیسرول را تسریع می‌نماید. هدف از این تحقیق، مطالعه ناحیه (T487C) در اگزون 17 ژن فوق و بررسی چند شکلی آن با صفات لاشه در دو نژاد لری بختیاری و زل بود. برای این منظور طی 35 دوره به طور تصادفی از دام‌های کشتاری رکوردگیری انجام شد. استخراج DNA به روش بهینه یافته استخراج نمکی از تعداد 152 نمونه گوسفند لری بختیاری و 157 نمونه گوسفند زل بدست آمد، واکنش زنجیره‌ای پلیمراز برای تکثیر 309 جفت بازی از اگزون 17 ژن DGAT1 با استفاده از یک جفت آغازگر اختصاصی انجام گرفت. ژنوتیپ‌ها به روشPCR-RFLP و به طور مستقیم از روی ژل آگارز بدست آمد. در گوسفندان لری بختیاری دو آلل T و C به ترتیب با فراوانی 0/746 و 0/254 مشاهده گردید. در جمعیت گوسفندان زل نیز دو T و C به ترتیب با فراوانی 0/81 و 0/19 مشاهده شد. نتایج آنالیز آماری نشان داد چند شکلی در ناحیه‌ای از اگزون 17 این ژن ارتباط معنی داری با صفات وزن و بازده لاشه دارد (P<0/05). بطوریکه ژنوتیپ‌های CC به طور معنی داری وزن لاشه و بازده لاشه گرم سنگین‌تری نسبت به ژنوتیپ‌های TT داشتند (P<0/05). از چند شکلی مشاهده شده می‌توان در برنامه‌های اصلاح نژادی برای بهبود صفات بازده لاشه و وزن لاشه از طریق انتخاب به نفع ژنوتیپ‌های برتر استفاده نمود.

**واژه‌های کلیدی:** *ژن DGAT1، چند شکلی، گوسفند، وزن لاشه، بازده لاشه.*

* نویسنده مسئول: حسین محمدی تلفن: 09127584572 Email: mohammadi37@ut.ac.ir

**مقدمه**

گوشت گوسفند در ایران به عنوان یک منبع تأمین پروتئین رایج و در مقایسه با گوشت گاو و بز مصرف آن بالا می باشد. در حال حاضر در هر سال حدود 435/9 هزار تن (52/6%) از کل گوشت تولیدی در کشور توسط بیش از 50 میلیون رأس گوسفند تولید می‌شود (Talebi, 2009). این مقدار تولید پاسخگوی نیاز جمعیت کشور نبوده و افزایش بازده تولید گوشت از اهمیت خاصی برخوردار است. از طرفی با توجه به تخریب مراتع، پرورش گوسفند تحت سامانه عشایری رو به کاهش و پرورش آن تحت سامانه-های نیمه بسته و روستایی رو به افزایش می‌باشد. در نتیجه هر گونه افزایش در بازدهی و ارتقاء بهره‌وری و افزایش سود آوری، منجر به پایداری تولید این سامانه‌ها خواهد گردید. گوسفند لری بختیاری، دنبه دار با جثه‌ای بزرگ و از نظر تولید گوشت از گوسفندان سنگین وزن ایران است و محیط اصلی پرورش این گوسفند در محدوده استان‌های لرستان، چهار محال و بختیاری و خوزستان می‌باشد (Talebi *et al.*, 2005). در مقابل، گوسفند زل تنها گوسفند بی‌دنبه در ایران بوده و از گوسفندان کوچک جثه محسوب می-شود. این نژاد بیشتر در دو استان مازندران و گلستان دیده می‌شود و جهت مقایسه با نژاد بزرگ جثه لری بختیاری در این تحقیق مورد استفاده قرار گرفت.

علی رغم اینکه انتخاب فنوتیپی و استفاده از مدل‌های حیوانی، همواره توانسته پیشرفت ژنتیکی مناسبی را در نسل های آتی به وجود آورد اما نیاز به روش‌هائی که منجر به کاهش هزینه صفاتی که اندازه‌گیری آن مشکل یا پرهزینه بوده و نیاز به ارزیابی با دقت بالاتری دارد، احساس می‌شود. لذا یکی از راهکارهای احتمالی مناسب موجود برای دستیابی به این اهداف، کاربرد نشانگرهای ژنتیکی می‌باشد که به طور مستقیم و یا غیر مستقیم بر تولید گوشت و خصوصیات آن تاثیر گذار باشد (Meuwissen *et al.*, 2001).

بررسی جایگاه‌های ژنی مؤثر بر صفات لاشه مستلزم اندازه‌گیری این صفات و در نتیجه کشتار دام است، در این حالت شناسایی ژن‌های با اثرات عمده بر روی این صفات اهمیت خاصی در پیشرفت برنامه‌های اصلاح نژادی می‌تواند در این زمینه داشته باشد. مطالعات برای یافتن ژن-های مؤثر بر صفات لاشه در گاوهای گوشتی منجر به کشف ژن DGAT1[1] به عنوان ژن کاندیدا برای کمیت و کیفیت گوشت گردید و نقش آن در نژادهای مختلف گوشتی شناخته شده است (Thaller *et al.*, 2003; White *et al.*, 2007; Souza *et al.*, 2010 ; Anton *et al.*, 2010; Pannier *et al.*, 2010). دی آسیل گلیسرول آسیل ترانسفراز (DGAT1) یک آنزیم میکروزومی است که نقش مهمی در متابولیسم گلیسرو لیپید دارد. این آنزیم مرحله نهائی سنتز تری گلیسریدها، یعنی تبدیل دی آسیل گلیسرول به تری آسیل گلیسرول را تسریع می‌نماید

1 . Diacylglycerol acyltransferase 1

(Winter *et al.*, 2002). علاوه بر نقش مهم DGAT1 در سنتز تری گلیسریدها و ذخیره انرژی، این آنزیم در جذب چربی از روده، اتصال لیپید و پروتئین و تشکیل لیپو پروتئین‌ها و تنظیم غلظت تری گلیسرید پلاسما، ذخیره چربی در سلول‌های چربی و متابولیسم انرژی در ماهیچه پستانداران نقش مهمی دارد (Cases *et al.*, 1998). این ژن در گاو در منطقه سانترومری کروموزوم 14 با اثرات عمده بر درصد چربی شیر در گاوهای شیری توسط (Bovenhuis and Schrooten, 2002) و ذخیره چربی در گاوهای گوشتی (Thaller *et al.*, 2003) شناخته شده است. این ژن با طول تقریبی 8/5 کیلو باز دارای 17 اگزون و 16 اینترون است. یک جهش در اگزون 17 این ژن در جمعیت‌های مختلف گوسفند چینی اتفاق افتاده است که توسط آنزیم برشی *Alu*I که توانایی شناسایی و هضم توالی (AG/CT) را دارد، قابل شناسائی است، بطوریکه جهش در باز 1461 و با تغییر نوکلئوتید T به C در اسید آمینه شماره 487 می گردد (Xu *et al.*, 2009). تحقیقاتی که در نژادهای گوسفند فرانسه شامل Lacaune و Manech، ایتالیا شامل Massa و Sarda و اسپانیا شامل Merino، Churra، manchega و segurena جهت برآورد تاثیر نواحی کاندیدای مؤثر بر روی صفات تولیدی انجام گرفت، نشان داده‌اند که مؤثرترین ژن کاندیدا بر روی مقدار و درصد چربی شیر روی کروموزوم 9 گوسفند (OAR9) قرار گرفت که همولوگ آن در گاو بر روی کروموزوم 14 است (Barillet *et al.*, 2005; Moioli *et al.*, 2007). در تحقیقی توسط Xu *et al.* (2009) ارتباط چندشکلی در اگزون 17 این ژن با صفات کیفیت و کمیت لاشه در گوسفندان مختلف چینی مورد بررسی قرار گرفت. محققین دریافتند که چند شکلی موجود اثر معنی‌داری بر میزان چربی داخل ماهیچه‌ای دارد. با توجه به اهمیت گوسفند لری بختیاری در تولید گوشت و ژنوتیپ منحصر در نژاد زل، انجام این تحقیق ضروری بود، لذا هدف این پژوهش با توجه به تنها جهش شناسایی شده در جایگاه (T487C) اگزون 17 ژن DGAT1، تعیین فراوانی آللی و ژنوتیپی و بررسی ارتباط ژنوتیپ‌های این جایگاه با صفات لاشه در سنین و مقایسه دو جمعیت گوسفندان لری بختیاری و زل می‌باشد.

## مواد و روشها

### داده برداری و جمع آوری نمونه‌های خون از حیوانات

در این مطالعه رکوردهای دو جمعیت لری بختیاری و زل در کشتارگاه صنعتی استان قم و مازندران در طی 35 دوره در سال 88 بررسی شد. در مرحله اول از تعداد 152 رأس گوسفند لری بختیاری که برای ذبح به کشتارگاه صنعتی قم از اواسط تیر تا اواسط مرداد سال 88 آورده شده بودند، رکورد برداری و خونگیری انجام شد. گوسفندان مورد آزمایش به طور تصادفی از بین گوسفندان آماده فروش انتخاب گردیدند. به طور متوسط روزانه 7 تا 8 رأس گوسفند به طور

تصادفی از هر دو جنس رکورد برداری شد. شب قبل از کشتار دام‌های مورد نظر شناسائی شده و علاوه بر شماره زنی، جنس، سن و وزن زنده دام ثبت گردید. از هر دام 5 میلی‌لیتر خون در لوله-های ونوجکت حاوی EDTA (0/5 مولار) از سیاهرگ گردن (وداج) جمع آوری گردید و بلافاصله به دورن یخ منتقل شد. پس از ذبح گوسفندان و تخلیه تمام محتویات از حفره بطنی، لاشه گرم توزین و بعد از جدا کردن دنبه از بدن دوباره لاشه بدون دنبه توزین و ثبت گردید. مرحله دوم تعداد 157 رأس گوسفند زل از کشتارگاه صنعتی مازندران از اواخر مرداد تا اواخر شهریور سال 88 آورده شده بودند، انجام گرفت. انجام عملیات کشتارگاهی در نژاد زل مطابق نژاد لری بختیاری انجام گرفت.

## استخراج DNA و اندازه‌گیری کیفیت وکمیت DNA

استخراج DNA پس از بهینه سازی روش استخراج نمکی (Salting-out) (Miller *et al.*, 1998) از 1/5 میلی لیتر خون حیوانات صورت گرفت. کیفیت و کمیت DNAهای استخراج شده به روش اسپکتوفتومتری و بوسیله دستگاه نانودراپ[1] (Thermo, NanoDrop 1000) با استفاده از نسبت$A_{260}/A_{280}$ و نیز به کمک ژل آگاروز 0/8% انجام گردید.

1 .Nanodrop

## PCR-RFLP و هضم آنزیمی ژن DGAT1

توالی آغازگرها، شرایط واکنش PCR و شرایط هضم آنزیمی نمونه‌ها از مطالعه قبلی (Xu *et al.*, 2009) اقتباس گردید که با بهینه کردن آن به صورت زیر انجام گرفت. از دو پرایمر زیر به منظور تکثیر قطعه موردنظر استفاده شد.

Forward: 5´-GCA TGT TCC GCC CTC TGG-3´;
Reverse: 5´-GGA GTC CAA CAC CCC TGA-3´

الگوی چرخه‌های تکثیر به صورت زیر بود: 5 چرخه در دمای 94 درجه به مدت 30 ثانیه، 55-60 درجه در هر چرخه 30 ثانیه، 72 درجه به مدت 30 ثانیه، 30 چرخه در دمای 94 درجه به مدت 30 ثانیه، 55 درجه به مدت 30 ثانیه و 72 درجه به مدت 30 ثانیه و بسط نهائی آغازگر در دمای 72 درجه به مدت 10 دقیقه. واکنش‌ها در دستگاه ترموسایکلر مدل FTGRAD2D شرکت TECHNE انگلستان انجام گردید.

حجم نهایی واکنش 25 میکرولیتر و شامل 50-100 نانوگرم DNA، بافر PCR (1x)، 10 پیکو مول از هر آغازگر، 200 میکرولیتر dNTPs، 2/5 میلی مولار MgCl2 و یک واحد آنزیم تک پلی‌مراز (Metabion- آلمان) می‌باشد. به منظور تشخیص محصولات PCR از ژل آگارز 1/5% با رنگ آمیزی اتیدیوم بروماید استفاده گردید. جهت تعیین ژنوتیپ حیوانات برای جایگاه مورد مطالعه ژن DGAT1، هضم آنزیمی محصولات PCR با استفاده از آنزیم برشی A*lu*I (Fermentase- آلمان) به مدت 12 ساعت و در دمای 37 درجه

سانتیگراد انجام گرفت، واکنش هضم شامل مقدار 7 میکرولیتر محصول PCR، مقدار 1/5 بافر 10X، 1/5 واحد آنزیم برشی A*lu*I (AG/CT) بود. قطعات حاصل از هضم آنزیمی بر روی ژل آگارز 2% ران شده و با استفاده از رنگ آمیزی اتیدیوم بروماید باندهای حاصله مشاهده گردیدند. تعیین ژنوتیپ افراد به طور مستقیم از روی ژل آگارز انجام شد.

## تجزیه تحلیل آماری

اثرات ثابت مؤثر بر متغیرها، به روش تجزیه حداقل مربعات[1] و با استفاده از رویه GLM [2] نرم افزار (9.1 ) SAS و مدل آماری زیر تعیین گردید.

$$y_{ijkl} = \mu + A_i + S_j + CG_k + G_l + B(W_{ijkl} - \bar{w}) + (AG)_{il} + (SG)_{jl} + e_{ijkl}$$

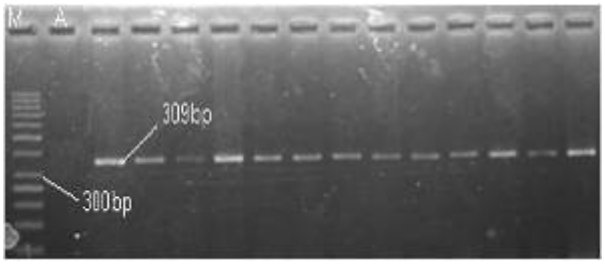
که در آن $y_{ijkl}$: هر یک از مشاهدات مربوط به صفات وزن دنبه و ضخامت چربی پشت از تمام دامهای خونگیری شده، $\mu$ : میانگین جامعه، $A_i$ : اثر i امین سن حیوان در هنگام خونگیری، $S_j$: اثر j امین جنس حیوان (نر، ماده)، $CG_K$: اثر k امین گروه کشتار، $G_l$: اثر l امین ژنوتیپ DGAT1، B: ضریب تابعیت Y روی W (وزن دامها در هنگام خونگیری)، $W_{ijkl}$ : وزن دامها در هنگام خونگیری، $\bar{w}$: میانگین وزن دامها در هنگام خونگیری، $(AG)_{il}$ اثر متقابل بین سن و ژنوتیپ، $(SG)_{jl}$: اثر متقابل بین جنس و ژنوتیپ و $e_{ijklo}$: اثر سایر عوامل تصادفی.

بعد از تعیین اثرات ثابت مدل، اثر گروه کشتاری( دامهایی که در یک روز کشتار شده بودند) و اثرات متقابل به علت معنی دار نبودن از مدل خذف شدند. مقایسه میانگین‌ها با آزمون توکی انجام گرفت.

## نتایج و بحث

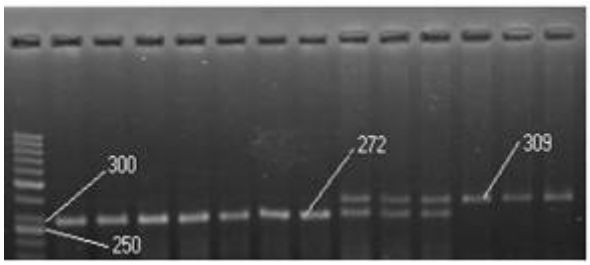
با توجه به بهینه شدن روش، نمونه‌های DNA استخراج شده کمیت و کیفیت بسیار خوبی داشتند و آن را برای کارهای مولکولی از جمله PCR بسیار مناسب می‌ساخت. بعد از بهینه سازی شرایط واکنش‌های PCR تکثیر قطعه 309 جفت بازی از ژن DGAT1 به وسیله واکنش زنجیره‌ای پلیمراز و با استفاده از آغازگرهای اختصاصی به خوبی و بدون تکثیر قطعات غیر اختصاصی صورت گرفت (شکل 1). نتیجه هضم الکتروفورز فرآوردهای حاصل از هضم قطعه 309 جفت بازی توسط آنزیم برشی A*lu*I بر روی ژل آگارز 3 ژنوتیپ TT، TC و CC در هر دو جمعیت متفاوت گوسفندان لری بختیاری و زل نشان داد (شکل 2). گوسفندان با ژنوتیپ هتروزیگوت (TC) دارای قطعات 309، 272 و 37 جفت بازی بودند. در هموزیگوت TT قطعه 309 به دو قطعه 272 و 37 جفت بازی برش داده می شوند و در هموزیگوت CC نیز قطعه 309 جفت بازی بدون برش باقی می‌ماند.

1 . Least Squares (LS)
2 . Generalized Linear Method (GLM)




**شکل 1- قطعه 309 جفت بازی حاصل از تکثیر ژن دی آسیل گلیسرول آسیل ترانسفراز روی ژل آگارز.**

**Figure 1- Agarose gel electrophoresis examination of amplification product 309 bp of DGAT1.**




**شکل2- فرآوردهای هضمی حاصل از هضم با آنزیم برشی *Alu*I روی ژل آگارز.**

**Figure 2- Agarose gel electrophoresis digestion products with AluI endonuclease.**

ژنوتیپ‌های مشاهده شده در دو جمعیت مورد مطالعه، فراوانی آللی و ژنوتیپی، نتایج آزمون تعادل هاردی واینبرگ در جدول (1) نشان داده شده است. بعد از محاسبه فراوانی آللی براساس Falconer and MacKay (1998) آزمون مربع کای اسکوئر با استفاده از نرم افزار SAS با رویه FREQ (Xu *et al.*, 2009) انجام و مشخص گردید که تعادل هاردی واینبرگ در این دو جمعیت برای ناحیه مورد مطالعه از ژن DGAT1 برقرار نیست ($P< 0.001$). عدم تعادل در این جایگاه احتمالاً نشان دهنده حضور بعضی عوامل بر هم زننده تعادل، از جمله انتخاب است. چون نمونه‌ها در کشتارگاه از جمعیت‌های مختلف و کوچک نمونه برداری شده و به دلیل اینکه انتخاب حیوانات به صورت انتخابی از گله-های متفاوت باشند، بر هم زننده تعادل است. البته اندازه نمونه مورد بررسی هم در این امر می‌تواند مؤثر باشد. آزمون مقایسه نسبتها بر اساس اعداد جدول شماره (1) نشان داد که بین فراوانی آللی در گوسفند لری بختیاری و زل تفاوت آماری وجود دارد. در این تحقیق مطابق جدول شماره 1، در هر دو جمعیت فراوانی آللی T بیش از فراوانی آللی C محاسبه شد. فراوانی آللی در گوسفندان لری بختیاری و زل برای آلل T به

ترتیب با فراوانی 0/764 و 0/81 و کمترین فراوانی آللی برای آلل C به ترتیب با فراوانی 0/254 و 0/19 به دست آمد. نتایج مشابهی نیز در سه نژاد مختلف گوسفندان چینی برای این جایگاه ژنی گزارش شده است. در آن تحقیق بیشترین فراوانی آللی برای آلل T و کمترین فراوانی آللی نیز برای آلل C به دست آمد (Xu *et al.*, 2009). تعداد و میانگین حداقل مربعات صفات مورد بررسی در جنس و سن‌های مختلف در جداول 2 و 3 نشان داده شده است. اثرات ثابت جنس و سن روی صفات وزن لاشه گرم و بازده لاشه معنی‌دار بود ($P< 0.05$).

**جدول 1- تنوع ژنتیکی ژن DGAT1 در جمعیت گوسفندان لری بختیاری و زل.**

**Table 1- Genetic diversity of DGAT1 in sheep Lori-Bakhtiari and Zel populations.**

| شاخص<br>**Index** | گوسفند لری بختیاری<br>**Lori-Bakhtiari sheep** | گوسفند زل<br>**Zel sheep** |
|---|---|---|
| تعداد دام<br>animals | 152 | 157 |
| دامهای با ژنوتیپ TT (فراوانی ژنوتیپی)<br>Number of Animals with TT Genotype (Frequency) | 99 (0.558) | 108 (0.657) |
| دامهای با ژنوتیپ TC (فراوانی ژنوتیپی)<br>Number of Animals with TC Genotype (Frequency) | 29 (0.378) | 38 (0.307) |
| دامهای با ژنوتیپ CC (فراوانی ژنوتیپی)<br>Number of Animals with CC Genotype (Frequency) | 24 (0.064) | 11 (0.036) |
| فراوانی آللی T<br>Allele Frequency of T | 0.764 | 0.81 |
| فراوانی آللی C<br>Allele Frequency of C | 0.254 | 0.19 |
| آزمون مربع کای با درجه آزادی 2<br>K-square with df=2 | P< 0.001 | P< 0.001 |

**ارتباط بین ژنوتیپ و صفات لاشه**

مقادیر میانگین حداقل مربعات ژنوتیپ‌های مختلف به همراه انحراف معیار آنها در جداول 4 و 5 نشان داده شده است. ارتباط بین ژنوتیپ‌ها با صفات مورد بررسی بین دو جمعیت در ناحیه-ای اگزون 17 ژن DGAT1 متفاوت بود. به طوریکه در گوسفندان زل اثر ژنوتیپ‌های مختلف بر وزن لاشه گرم معنی‌دار بود ($P<0.05$). بیشترین وزن لاشه گرم مربوط به ژنوتیپ CC به دست آمد. در مورد بازده لاشه گرم تفاوت بین ژنوتیپ‌های هموزیگوت TT و هموزیگوت CC معنی‌دار بود ($P< 0.05$)، ولی تفاوت بین هموزیگوت CC و هتروزیگوت TC معنی‌دار نبود ($P> 0.05$). اما در نژاد لری بختیاری اثر ژنوتیپ-ها بر وزن لاشه و بازده لاشه گرم با دنبه معنی‌دار بود، دامهای با ژنوتیپ CC بیشترین بازده را داشتند ($P< 0.05$). در این جمعیت وزن لاشه

گرم و بازده لاشه گرم بدون دنبه در دامهای با ژنوتیپ CC بیشتر بود ($P< 0.05$).

**جدول 2- تعداد و میانگین حداقل مربعات صفات مختلف در جمعیت گوسفندان لری بختیاری.**

**Table 2- Number and least square mean (LSM) different traits in sheep Lori-Bakhtiari populations.**

| صفت Trait | جنس Sex | | سن Age | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | نر male | ماده Female | 1 1 | 2 2 | 3 3 | 4 4 |
| تعداد دام animals | 89 | 63 | 82 | 17 | 21 | 32 |
| وزن لاشه گرم(کیلوگرم) Hot carcass weight (Kg) | 22.96±0.16 | 19.20 ±0.12 | 19.54± 0.70 | 21.80± 0.80 | 23.47± 0.51 | 24.11± 0.19 |
| وزن دنبه(کیلوگرم) Fat-tail weight (Kg) | 4.42± 0.38 | 3.27± 0.32 | 0.28± 3.60 | 3.74± 0.38 | 4.29± 0.32 | 4.49± 0.36 |
| بازده لاشه گرم (%) Hot dressing percentage (%) | 49.11±0.94 | 47.58 ± 0.92 | 45.12± 1.61 | 47.96± 1.84 | 51.65± 1.17 | 52.72± 1.26 |
| بازده لاشه گرم بدون دنبه(%) Hot dressing percentage free fat-tail (%) | 41.41±0.88 | 40.07 ± 1.09 | 38.43± 1.30 | 41.33± 1.77 | 42.21± 1.51 | 42.99± 1.67 |

جدول 3- تعداد و میانگین حداقل مربعات صفات مختلف در جمعیت گوسفندان زل.

**Table 3- Number and least square mean (LSM) different traits in sheep Zel populations.**

| صفت Trait | جنس Sex | | سن Age | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | نر male | ماده Female | 1 1 | 2 2 | 3 3 | 4 4 |
| تعداد دام animals | 96 | 61 | 86 | 15 | 12 | 44 |
| وزن لاشه گرم(کیلوگرم) Hot carcass weight (Kg) | 11.09± 0.17 | 10.89± 0.15 | 10.43± 0.18 | 11.06± 0.26 | 11.07± 0.24 | 11.41± 0. 25 |
| بازده لاشه گرم (%) Hot dressing percentage (%) | 46.57± 0.67 | 45.20±0.58 | 42.70± 0.68 | 46.35± 0. 99 | 46.59± 0. 94 | 47.90± 0.96 |

**جدول 4- ارتباط ژنوتیپ های مختلف ژن DGAT1 با صفات مورد مطالعه در جمعیت گوسفندان لری بختیاری.**

**Table 4- Associations of DGAT1 genotypes with studies traits in sheep Lori-Bakhtiari populations.**

| ژنوتیپ(تعداد) Genotype (Number) | | | صفت Trait |
|---|---|---|---|
| CC(24) | TC(29) | TT(99) | |
| 23.83± 0.28 [b] | 22.40± 0.54 [ab] | 21.60± 0.25 [a] | وزن لاشه گرم (کیلوگرم) Hot carcass weight (Kg) |
| 20.63± 0.28 [a] | 19.89± 0.74 [a] | 19.10± 0.86 [a] | وزن لاشه گرم بدون دنبه (کیلوگرم) Hot carcass weight free fat-tail (Kg) |
| 47.13± 1.46 [b] | 46.35± 1.25 [ab] | 45.43± 0.65 [a] | بازده لاشه گرم با دنبه(%) Hot dressing percentage with fat-tail (%) |
| 41.87± 1.42 [a] | 40.28± 1.21 [a] | 39.56± 0. 84 [a] | بازده لاشه گرم بدون دنبه(%) Hot dressing percentage free fat-tail (%) |

**جدول 5- ارتباط ژنوتیپ های مختلف ژن DGAT1 با صفات مورد مطالعه در جمعیت گوسفندان زل.**

**Table 5- Associations of DGAT1 genotypes with studies traits in sheep Zel populations.**

| ژنوتیپ(تعداد) Genotype (Number) | | | صفت Trait |
|---|---|---|---|
| CC(11) | TC(38) | TT (108) | |
| 11.71± 0.30 [b] | 10.33± 0.16 [ab] | 9.93± 0.12 [a] | وزن لاشه گرم (کیلوگرم) Hot carcass weight (Kg) |
| 46.01± 1.16 [b] | 45.24± 0.64 [ab] | 44.97± 0.48 [a] | بازده لاشه گرم (%) Hot dressing percentage (%) |

منابع مختلف آلل T را به عنوان آلل مطلوب جهت اصلاح بهبود کمیت و کیفیت لاشه معرفی کرده اند. در پژوهشی Xu *et al.* (2009) چندشکلی ژن DGAT1 را در اگزون 17 در سه نژاد گوسفندان چینی بدون داشتن رابطه ژنتیکی (انتخاب تصادفی) بررسی کردند و ارتباط بین این ژن و خصوصیات لاشه را مشخص نمودند. در تحقیق آنها ژنوتیپ CC دارای بازده لاشه گرم بیشتری نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها بود، که نتایج بدست آمده در این تحقیق با آن مطابقت دارد. در گاوهای گوشتی نژادهای مختلف نیز تحقیقات زیادی در این مورد انجام شده و تاثیر آن به اثبات رسیده است. اولین تحقیق را Thaller *et al.* (2003) با استفاده از گاوهای گوشتی شاروله

انجام دادند که در آن تحقیق تاثیر چندشکلی در ناحیه اگزون 8 ژن DGAT1 در اسید آمینه شماره 232 که سبب تغییر اسید آمینه آلانین به لیزین (K232A) می‌گشت، به عنوان یک ژن کاندیدا برای صفات خصوصیات لاشه معرفی گردید. در مطالعات بعدی تأثیر این ژن کاندیدا به صفات کمی لاشه در نژاد Nelore از گاوهای Bos indicus توسط Souza *et al.* (2010) و در نژادهای مختلف گاوهای Bos taurus توسط Pannier *et al.* (2010); Anton *et al.* (2010) - Kaupe *et al.* (2004); Ripoli *et al.* (2006); به اثبات رسیده است. همچنین در گاوهای نژاد-Hanwoo بومی کره توسط Kong *et al.* (2007) در ترکیب با مارکر T11993C در ژن DGAT1 بر صفات کمی و کیفی لاشه به اثبات رسیده است. درست است که این آلل تاثیر معنی‌داری بر کمیت و کیفیت لاشه دارد، اما باید توجه داشت در این تحقیق تنها یک جهش را بر روی این ژن بررسی کردیم که بر این صفات تأثیر می‌گذارد و تأثیر این جهش می‌تواند ناشی از اثر مستقیم این جهش یا جهش‌های دیگر در نواحی مجاور و یا ژن‌های پیوسته با این مکان باشد. این تحقیق وجود چند شکلی ژنتیکی ژن DGAT1 را در دو جمعیت گوسفندان لری بختیاری و زل نشان داد، با توجه به اینکه وراثت‌پذیری صفات مربوط به کمیت وکیفیت لاشه از متوسط (کمیت لاشه) تا بالا (کیفیت لاشه) و در دامنه (0/33-0/59) می-باشد که نشان دهنده پتانسیل بالای این صفات برای بهبود ژنتیکی این صفات می‌باشد (Nkrumah *et al.*, 2007; Talebi *et al.*, 2008; Bertrand *et al.*, 2001). ضروری است برای صفات مربوط به کمیت و کیفیت لاشه داه‌های لازم را از دامهای شجره‌دار جمع آوری و ثبت نمود و با کمک آنها پیوستگی آلل‌های مربوط را با خصوصیات لاشه را مورد تحقیق قرار داد.

## نتیجه گیری

به طورکلی نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که نخست روش PCR-RFLP برای مطالعه چند شکلی های موجود در ژن DGAT1 و بررسی ارتباط آنها با صفات تولیدی مناسب است و دوم اینکه در دو نژاد مورد مطالعه ارتباط معنی‌داری بین صفات مورد بررسی با چند شکلی ناحیه‌ای از اگزون 17 ژن DGAT1 وجود دارد. به هر حال با توجه به اینکه صفات مربوط به لاشه و خصوصیات وابسته آن توسط برآیند اثر چندین جایگاه ژن کنترل می‌شود، بررسی وضعیت یک جایگاه در یک ژن و بالاتر از آن بررسی چند شکلی‌های یک ژن بزرگ اثر، به تنهایی برای هر نوع نتیجه‌گیری جامع کافی نیست و تعیین ژنوتیپ توام چندین ژن عمده تاثیرگذار بر تولید کمیت و کیفیت گوشت مورد نیاز است. در نهایت، شاید بتوان از نتایج حاصل از چنین پژوهش‌هایی در برنامه‌های انتخاب بر اساس نشانگر از این چندشکلی‌ها به عنوان یک مارکر ژنتیکی در برنامه‌های اصلاح نژاد صفات لاشه استفاده کرد.

## منابع


Anton I, Kovacs K, Hollo G, Farkas V, Lehel L, Hajda Z, 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.

Barillet F., Arranz JJ, Carta A (2005). Mapping quantitative trait loci for milk production and genetic polymorphisms of milk proteins in dairy sheep. Genetic Selection and evaluation 37: S109–S123.

Bertrand JK, Green RD, Herring WO, Moser DW (2001). Genetic evaluation for beef carcass traits. Journal of Animal Science 79: E190-E200.

Bovenhuis H, Schrooten C (2002). Quantitative trait loci for milk production trait in dairy cattle. In Proc. Of the 7th World Congress on Genetics applied to Livestock Production. Volume II, Sept. 11-14, 2002. Montpellier, France. pp. 212-214.

Cases S, Smith SJ, Zhang YW, Meyers HM, Lear SRE, Novak SS, Welch CC, Lusis AJ, Erickson SK (1998). Identification of a gene encoding an acyl CoA: diacylglycerol acyltransferase, a key enzyme in triacyl glycerol synthesis. Proceedings of National Academy Sciences USA 95: 13018-13023.

Falconer DS, Mackay TFC (1996). Introduction to Quantitative Genetics. 4th Edition Longman Scientific and Technical, New York.

Kaupe B, Winter A, Fries R, Erhardt G (2004). DGAT1 polymorphism in Bos indicus and Bos taurus cattle breeds. Journal of Dairy Research 71: 182-187.

Kong HS, Oh JD, Lee JH, Yoon DH, Choi YH, Cho BW, Lee HK, Jeon GJ (2007). Association of sequence variations in DGAT1 gene with economic traits in Hanwoo (Korea cattle). Asian- Australasian Journal of Animal Sciences 6: 817-820.

Meuwissen THE, Hayes BJ, Goddard ME (2001). Prediction of total genetic value using genome-wide marker maps. Genetics 157: 1819-1829.

Miller SA, Dykes DD, Polesky HF (1998). A simple salting out procedure for extraction DNA from human nucleated cells. Nucleotide Acids Research 16: 1255.

Moioli B, Andrea MD, Pilla F (2007). Candidate genes affecting sheep and goat milk quality. Small Ruminant Research 68: 179-192.

Nkrumah JD, Basarab JA, Wang Z, Li C, Price MA, Okine EK, Crews DH, Moore SS (2007). Genetic and phenotypic relationships of feed intake and measures of efficiency with growth and carcass merit of beef cattle. Journal of Animal Science 85: 2711-2720.

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

Ripoli MV, Corva P, Giovambattista G (2006). Analysis of a polymorphism in the DGAT1gene in 14 cattle breeds through PCR-SSCP methods. Veterinary Science 80: 287-290.

SAS (Statistical Analysis Systems) (2004). User’s Guide. Version 9.1. SAS Institute Inc., Cary.

Souza FRP, Mercadante MEZ, Fonseca LFS, Ferreira LMS, Regatieri IC, Ayres DR, Tonhati H, Silva SL, Razook AG, 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. Journal of Animal Science 88: 435-441.

Talebi MA (2009). Selection Index to Improve Growth Traits and Carcass Composition in Lori-Bakhtiari Sheep. Ph. D. Thesis, Faculty of Agriculture, University of Tehran. (In Farsi).

Talebi MA, Moradi-Shahrbabak M, Nejati–Javaremi A, Miraei-Ashtiani SR (2005). Relationship between growth and carcass traits in Lori-Bakhtiari sheep. Journal of agriculture Science 39(1): 29-37 (In Farsi).

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

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

Winter A, Krämer W, Werner FAO, Kollers S, Kata S, Durstewitz G, Buitkamp J, Womack JE, Thaller G, Fries R (2002). Association of a lysine-232/alanine polymorphism in a bovine gene encoding acyl-CoA: diacylglycerol acyltransferase (DGAT1) with variation at a quantitative trait locus for milk fat content. Proceedings of National Academy Sciences USA 14: 9300-9305.

Xu QL, Chen YL, Ma RX, Xue P (2009). Polymorphism of DGAT1 associated with intramuscular fat-mediated tenderness in sheep. Journal of the Science of Food and Agriculture 89: 232- 237.

# Study and comparative of polymorphism (T487C) in exon 17 of the DGAT1 gene and its relationship with carcass weight and dressing percentage in the Lori-Bakhtiari and Zel sheep breed

**Mohammadi H.[1*], Moradi shahrebabak M.[2], Sadeghi M.[2]**

[1] Master of student animal breeding, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran.
[2] Professor and Assistant Professors, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran.

## Abstract

Diacylglycerol acyltransferase 1 (DGAT1) is one of the candidate genes to improve carcass characteristics in feedlot animals. Gene product coding, a microsomal enzyme that final triglyceride synthesis, hence converting diacyl glycerol to triglyceride accelerated. The purpose of this research, study area (T487C) in exon 17 of the above gene polymorphisms with carcass traits in two Lori-Bakhtiari and Zel breed. For this purpose, during the 35 period animals randomly slaughtered in the abattoir were recorded. DNA was extracted using salting-out method, 152 samples of Lori-Bakhtiari sheep and 157 samples of Zel sheep were obtained, polymerase chain reaction to amplify 309 bp of exon 17 DGAT1 gene using a pair of specific primers was performed. Genotypes obtained from method PCR-RFLP and directly from agarose gel. In Lori-Bakhtiari sheep in two alleles T and C with frequency of 0.746 and 0.254 respectively, were observed, in population Zel Sheeps the two T and C, with frequency 0.81 and 0.19 respectively, observed. Statistical analysis showed polymorphism in exon 17 region of the gene significantly correlated with carcass weight and dressing percentage ($P < 0.05$). So that the CC genotypes of the significant mean carcass weight and dressing percentage heavier than had TT genotypes ($P< 0.05$). Of polymorphism can be observed that improvement in breeding programs to improve carcass weight and dressing percentage through selection in favor of superior genotypes be used.

**Key words:** *Gene DGAT1, Polymorphism, Sheep, Carcass Weight, Dressing Percentage.*

[*] Corresponding Author: Mohammadi H. Tel: 09127584572 Email: mohammadi37@ut.ac.ir