مجله بیوتکنولوژی کشاورزی (دوره 3، شماره 2، پاییز و زمستان 1390)

بررسی چندشکلی ژن POU1F1 و ارتباط آن با صفات بیومتریک در گوسفندان ماکویی به روش PCR-SSCP

فرزانه فیل کوش مقدم[1]، نصرالله پیرانی*[2]، جلیل شجاع[3]، قربان الیاسی[4]، اکبر تقی زاده[3]، عباس حاجی‌حسینلو[5]

[1] دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

[2] دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد

[3] دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

[4] استادیار مرکز تحقیقات جهاد کشاورزی، استان آذربایجان شرقی

[5] دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

تاریخ دریافت: 1390/06/15، تاریخ پذیرش: 1390/12/28

چکیده

امروزه کاربرد توأم نشانگرهای ژنتیکی و اطلاعات فنوتیپی، برآورد دقیقتری از ارزشهای اصلاحی دام‌ها را فراهم نموده است. شناسایی چند شکلی‌های موجود در ژن‌های کاندیدای رشد و بررسی ارتباط آن با این صفات، اطلاعات مناسبی را برای متخصصین اصلاح نژاد مهیا می‌سازد. یکی از ژن‌های کلیدی موجود ژن POU1F1 (که PIT-1 یا فاکتور 1 هورمون رشد نیز نامیده می‌شود) می‌باشد. در تحقیق حاضر پس از استخراج DNA به روش نمکی، از 95 نمونه خون گوسفندان ماکویی نر و ماده، از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز برای تکثیر قطعه 295 جفت بازی از DNA استفاده شد. سپس بررسی چندشکلی فرم فضایی رشته‌های منفرد (SSCP) محصولات PCR توسط ژل پلی‌آکریلامید 6% و رنگ‌آمیزی نیترات نقره انجام شد. درنهایت چهار ژنوتیپ AA، AB، CC و CD به ترتیب با فراوانی‌های 0/45، 0/073، 0/44 و 0/037 مشاهده شدند. فراوانی آللهای A، B، C و D به ترتیب 0/48، 0/04، 0/46 و 0/02 محاسبه شد. نتایج حاصل نشان دادند که تعادل هاردی- واینبرگ در جمعیت مورد مطالعه گوسفندان ماکویی وجود ندارد. ارتباط آماری بین ژنوتیپ‌ها و صفات ارتفاع از جدوگاه، ارتفاع از کپل، طول بدن، دور سینه، دور بیضه و دور ران در حدود سن یکسالگی توسط رویه GLM انجام گرفت. اثر ژنوتیپ برروی صفات ارتفاع از جدوگاه، ارتفاع از کپل و دور بیضه معنی‌دار گردید (P<0/05). دام‌های با ژنوتیپ CC دارای بیشترین میانگین ارتفاع از جدوگاه و ارتفاع از کپل (به ترتیب 69/27 و 71/22 سانتی‌متر) در مقایسه با دام‌های با ژنوتیپ AB (به ترتیب 61/67 و 65/6 سانتی‌متر) بودند. همچنین برای صفت دور بیضه ژنوتیپ‌های CD و AB به ترتیب دارای بیشترین (20/55 سانتی‌متر) و کمترین (13/31 سانتی‌متر) میانگین بودند. انتظار می‌رود که این ژن بتواند بعنوان یک ژن کاندیدا برای بهبود ژنتیکی برخی صفات مربوط به رشد در این نژاد بکار رود.

واژه‌های کلیدی: *چندشکلی، صفات بیومتریک، گوسفند ماکویی، PCR-SSCP، POU1F1.*

* نویسنده مسئول: نصرالله پیرانی تلفن: 09144177930 Email: napirany@gmail.com

مقدمه

فعالیت‌های گوسفندداری در ایران با توجه به شرایط طبیعی و در صورت فراهم بودن امکانات فنی و بهداشتی معمولاً از نظر اقتصادی مقرون به صرفه است (Saadat Noori & Siah Mansoor, 1987). گوسفند ماکویی به طور کلی از لحاظ نوع محصول تولیدی جزو گوسفندان پشمی ایران به شمار می‌رود (Sattari, 1975). پرورش گوسفند ماکویی عموماً در آذربایجان غربی و در حاشیه شهرهای خوی، ماکو و سلماس انجام می‌گیرد (Ezzat Poor, 2003). صفات بیومتریک در اصلاح نژاد گوسفند دارای اهمیت ویژه‌ای بوده و سرعت رشد و تیپ بدن به عنوان شاخص‌های انتخاب مهم در برنامه‌ی انتخاب در نظر گرفته می‌شوند (Mandal *et al.*, 2008). صفات بیومتریک همچنین در پیش بینی وزن بدن حائز اهمیت می‌باشند (Bose & Basu, 1984). ضرایب وراثت پذیری برای صفات طول بدن، دور سینه، ارتفاع از جدوگاه و ارتفاع پشت در گوسفند ماکویی به ترتیب 0/073±0/298، 0/072±0/256، 0/065±0/151 و 0/069±0/176 برآورد شده است (Ghafoori Kasabi *et al.*, 2010). ضریب وراثت پذیری صفت دور بیضه به میزان 0/104±0/431 برآورد گردیده است که نشان می‌دهد بهبود ژنتیکی دور بیضه در نتیجه انتخاب چشمگیر خواهد بود (Abbasi & Ghafoori Kasabi, 2010). امروزه استفاده از نشانگرهای مولکولی یکی از ابزارهای کمکی مناسبی می‌باشد که ویژگی بارز آن ایجاد اطلاعات مناسب ژنوم و امکان استفاده این اطلاعات در مدل‌های حیوانی در کنار رکوردهای فنوتیپی می‌باشد (Naghavi *et al.*, 2009). از جمله کاربردهای ژنتیک مولکولی در زمینه اصلاح نژاد دام، بررسی چندشکلی‌های ژن‌های مرتبط با صفات مهم و اقتصادی می‌باشد. ژن POU1F1 (که PIT-1 یا فاکتور 1 هورمون رشد[1] نیز نامیده می‌شود) به‌عنوان عضوی از خانواده فاکتورهای رونوشت‌برداری ژن POU، به طور عمده در غده هیپوفیز بیان شده و تنظیم‌کننده مثبت برای هورمون رشد، هورمون پرولاکتین، هورمون محرک تیروئید، خود ژن POU1F1 و همچنین ژن‌های مربوط به گیرنده‌های هورمون آزادکننده هورمون رشد[2] می‌باشد (Li *et al.*, 1990; Chen *et al.*, 1990; McCormick *et al.*, 1990; Lin *et al.*, 1992). ساختار ژن POU1F1 شامل 6 اگزون و 5 اینترون بوده و به طول تقریبی 16500 جفت‌باز می‌باشد (Bastos *et al.*, 2006). این ژن روی کروموزوم شماره 1 قرار دارد (Woollard *et al.*, 2000). در مطالعه‌ای روی ژن POU1F1 چندشکلی هر 6 اگزون از طریق تعیین توالی در 100 گوسفند نژاد کورادا تراکوئنت[3] در کشور پرتغال بررسی شد. از میان 6 اگزون مورد مطالعه چندشکلی تنها در

[1] Growth hormone factor-1
[2] Growth hormone releasing hormone receptor
[3] Churra da Terra Quente

اگزون‌های 2، 3 و 5 مشاهده شده است (Bastos *et al.*, 2006). در پژوهشی دیگر از تکنیک PCR-SSCP برای تعیین چندشکلی ناحیه‌ی اگزون 3 ژن لپتین 120 رأس گوسفند کرمانی استفاده شده است که 10 الگوی ژنوتیپی مختلف مشاهده شده است (Shojaei *et al.*, 2010). در مطالعه‌ای دیگر چندشکلی اگزون‌های 1 تا 5 ژن POU1F1 در 452 رأس نژاد بز با طراحی هفت جفت آغازگر و با روشSSCP بررسی شده که در آنالیز آماری، ارتباط معنی‌داری بین ژنوتیپ‌های قطعه‌ی P_4 و صفت طول پشم در دو سالگی مشاهده شده است (Lan *et al.*, 2009). در پژوهشی دیگر نیز از تکنیک SSCP برای تعیین چندشکلی ژن PIT-1 برای نواحی اینترون 2 تا اگزون 6 گاوهای نژاد آنگوس استفاده شد که دو چند شکلی در اینترون 3، یکی در اینترون 4 و یک تفاوت تک نوکلئوتیدی نیز در اینترون 5 مشاهده شد و در آنالیز آماری هیچ ارتباط معنی داری بین این چند شکلی ها با صفات رشد و صفات لاشه مشاهده نشده است (Zhao *et al.*, 2004). درمطالعه‌ای دیگر، بررسی فراوانی شکلهای مختلف آللی ژن PIT-1 در جمعیت‌های گاو سرابی و گلپایگانی ایران با استفاده از تکنیک PCR-RFLP انجام گرفت. ژنوتیپ‌های AB، AA و BB به ترتیب با فراوانی 57/3%، 39% و 3/7% برای 82 رأس از گاوهای سرابی و 55/3%، 36/8% و 7/9% برای 42 رأس از گاوهای گلپایگانی محاسبه شده‌اند (Tavakolian *et al.*, 2007). در بررسی چند شکلی ژن POU1F1 به روش PCR-RFLP در 9 نژاد بومی بز در کشور چین نیز سه نوع ژنوتیپ TT، TC و CC مشاهده شده است (Lan *et al.*, 2007). هدف از این تحقیق تعیین ارتباط بین ژنوتیپ‌های مشاهده شده در ژن POU1F1 گوسفندان ماکویی توسط تکنیک PCR-SSCP با برخی از صفات بیومتریک بود.

مواد و روش‌ها

برای اجرای این تحقیق تعداد 95 رأس گوسفند ماکویی از مرکز اصلاح نژاد ماکو انتخاب و صفات رشد در سن حدود یکسالگی اندازه گیری شدند. علاوه بر رکوردهای مربوط به صفات بیومتریک، اطلاعات مربوط به جنس گوسفندان و سن رکوردگیری برحسب روز نیز در دسترس بود که در نظر گرفته شدند. رکوردهای مورد بررسی عبارت از ارتفاع از جدوگاه، ارتفاع از کپل، طول بدن، دور سینه، دور بیضه و دور ران (به سانتی متر) بودند. برای استخراج DNA حدود 4 میلی‌لیتر خون از ورید وداجی گوسفندان اخذ شد و در داخل تیوب‌های حاوی مواد ضدانعقاد خون ریخته شدند و بلافاصله به آزمایشگاه منتقل و تا زمان شروع استخراج DNA، در دمای 20- درجه سانتیگراد نگهداری شدند.

استخراج DNA تمامی نمونه‌ها به روش نمکی[1] انجام گرفت (Miller *et al.*, 1998). سنجش کمیت و کیفیت DNA استخراج شده توسط روش اسپکتروفتومتری انجام گرفت.

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز برای تکثیر قطعه‌ی 295 جفت بازی بخشی از اینترون 2، اگزون 3 و بخشی از اینترون 3 ژن POU1F1 انجام شد. دو آغازگر زیر مورد استفاده قرار گرفتند (Bastos *et al.*, 2006):

F:5'-GAGGGATAATTACAAATGGTCC-3'
R:5'-TGTTAACAGCTGTGGGACACAC-3'

واکنش PCR در حجم نهایی 20 میکرولیتر و با ترکیب 2 میکرولیتر DNA ژنومی با غلظت 50 نانوگرم، 1 میکرولیتر از هر آغازگر با غلظت 10 پیکومول بر میکرولیتر، 10 میکرولیتر از کیت مخلوط واکنش 2X[2] (شماره 190301 مربوط به شرکت Ampliqon) و 6 میکرولیتر آب مقطر انجام شد. برنامه حرارتی مورد استفاده شامل دمای 95 درجه سانتیگراد به مدت 15 دقیقه جهت واسرشته شدن اولیه و فعال سازی آنزیم DNA پلی مراز، دمای 94 درجه سانتیگراد به مدت 45 ثانیه جهت واسرشته شدن، دمای 58 درجه سانتیگراد به مدت 1 دقیقه جهت اتصال آغازگر، دمای 72 درجه سانتیگراد به مدت 1 دقیقه جهت تکثیر و دمای 72 درجه سانتیگراد به مدت 5 دقیقه جهت تکثیر نهایی، و به تعداد 35 سیکل بود. برای واکنش زنجیره‌ای پلیمراز از دستگاه ترموسایکلر مدل UNIO II شرکت Biometra استفاده شد. برای بررسی و اطمینان از تکثیر قطعه‌ی 295 جفت بازی، نمونه های PCR شده برروی ژل آگارز 1/5 درصد الکتروفورز افقی شدند.

برای انجام SSCP مقدار 5 میکرولیتر از محصول PCR با 10 میکرولیتر از بافر بارگذاری فرمامید (فرمامید 95%، هیدروکسید سدیم 100 میلی‌مولار، بروموفنل بلو 0/25% و گزیلن سیانول 0/35%) مخلوط شد. به منظور واسرشته سازی محصول PCR، نمونه‌ها به مدت 15 دقیقه در دمای 95 درجه سانتیگراد حرارت داده شدند و بلافاصله بر روی یخ قرار گرفتند. نمونه‌ها تا زمان استفاده از آنها در داخل فریزر قرار داده شدند. از محلول پایه 30% با نسبت 1:19 آکریلامید به بیس آکریلامید برای تهیه ژل 6% استفاده شد و نمونه‌ها به مدت 21 ساعت و با ولتاژ 55 ولت الکتروفورز عمودی شدند. برای مشاهده ژنوتیپ‌ها از رنگ‌آمیزی نقره استفاده شد.

برای محاسبه‌ی فراوانی آلل‌ها و بررسی تعادل هاردی- واینبرگ از نرم افزار Popgen32 استفاده شد (Yeh *et al.*, 1999). جهت مطالعه ارتباط صفات با ژنوتیپ‌های بدست آمده از مدل آماری زیر استفاده شد.

$$Y_{ijkl} = \mu + SSCP_i + Sex_j + Age_k + e_{ijkl}$$

[1] Salting out
[2] Master Max

که Y_{ijkl}= رکورد l امین حیوان، kامین سن رکوردگیری، jامین جنس و i امین ژنوتیپ، μ= میانگین نمونه‌ها، $SSCP_i$= اثر تصادفی i امین ژنوتیپ، Sex_j= اثر ثابت j امین جنس، Age_k= اثر k امین سن رکوردگیری (برحسب روز) به عنوان عامل کووریت و e_{ijkl} = اثر تصادفی باقی مانده.

البته برای صفت دور بیضه اثر جنس حذف گردید. آنالیز واریانس با رویه GLM[1] و از طریق SS3 و مقایسه میانگین‌ها از طریق میانگین حداقل مربعات توسط نرم افزار SAS انجام شد.

نتایج و بحث

نتیجه‌ی الکتروفورز قطعه‌ی 295 جفت بازی تکثیر شده ژن POU1F1 مورد تأیید واقع شد که در شکل 1 آورده شده است. فراوانی آلل‌های A، B، C و D به ترتیب 0/4895، 0/0368، 0/4579 و0/0158 محاسبه شدند. میزان کل χ^2 محاسبه شده برابر با 96/55 بود که در سطح احتمال 0/05 دارای تفاوت معنی‌داری بود، بنابراین جمعیت در تعادل هاردی- واینبرگ نبود. این عدم تعادل، نبود شرایط برقراری تعادل و همچنین تلاقی‌های غیرتصادفی را در توده نشان می‌دهد. از طرفی دیگر به دلیل عدم وجود تعدادی از ژنوتیپ‌ها در جمعیت، این عدم تعادل قابل انتظار بود. در رابطه با ژنوتیپ‌ها بیشترین و کمترین فراوانی‌ها به ترتیب مربوط به ژنوتیپ‌های AA (0/45) و CD (0/037) بود که در جدول 1 ارائه شده است. در حالیکه در مطالعه قبلی در جمعیت 452 رأسی در یک نژاد بز برای اگزون 3 و بخشی از اینترون 3 ژن POU1F1 به روش SSCP ژنوتیپ‌های CC، CD و DD مشاهده شده‌اند که فراوانی آلل‌های C و D به ترتیب 0/92 و 0/08 گزارش شده‌اند (Lan *et al.*, 2009). در مطالعه‌ی دیگری با تعیین توالی به وجود چندشکلی در اگزون 3 ژن POU1F1 پی برده شده است، به طوری که در مطالعه فوق در اثر دو جهش متفاوت (کدون شماره 89 و 105) در یکی از آلل‌های ژنوتیپ GG، ژنوتیپ‌های GA و GC به ترتیب در 1 و 3 رأس از 100 رأس گوسفند مشاهده شده‌اند (Bastos *et al.*, 2006). در پژوهشی دیگر در اینترون 3 این ژن توسط تکنیک SSCP ژنوتیپ‌های CC، CD و DD به ترتیب با فراوانی‌های 0/12، 0/49 و 0/39 گزارش شده‌اند (Zhao *et al.*, 2004). مقایسه‌ها نشان می‌دهند که در دو مورد از مطالعات قبلی 2 نوع آلل و در یک مورد از مطالعات فقط 3 نوع آلل در بین جمعیت‌ها مشاهده شده است، در حالی که در این تحقیق 4 نوع آلل مشاهده شد که این تفاوتها ممکن است به دلیل تفاوت در تعداد دام‌های مورد مطالعه و یا متفاوت بودن نژاد مورد بررسی باشد.

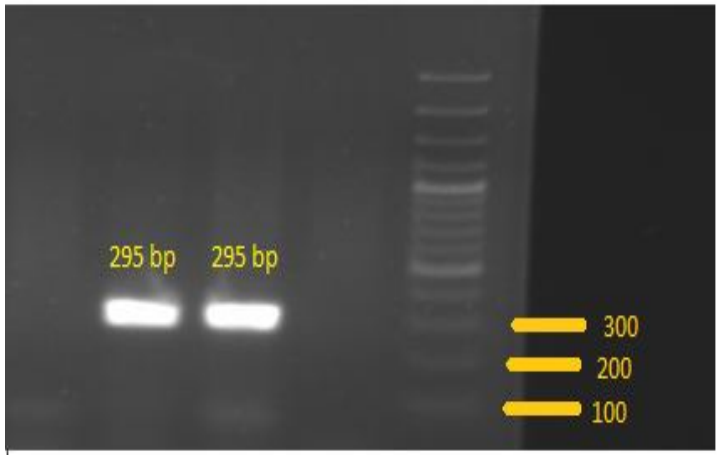
پس از الکتروفورز عمودی، محصولات تک‌رشته‌ای PCR بر روی ژل پلی‌آکریلامید، با توجه به فرم فضایی خاص خود و در پی آن وزن

[1]General Linear Model

مولکولی خاصی که داشتند، در نقاط مختلف ژل قرار گرفتند. نهایتاً 4 نوع ژنوتیپ AA، AB، CC و CD در جمعیت مورد مطالعه مشاهده شد که در شکل 2 آورده شده است.

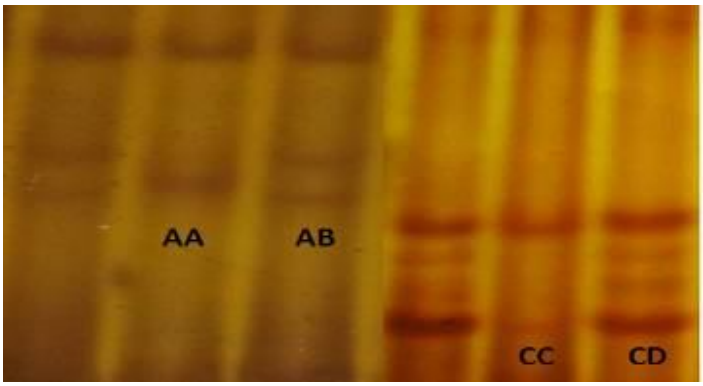
نتایج تجزیه‌ی واریانس نشان داد که اثر جنس در صفات طول بدن و دور سینه معنی‌دار است (P<0/05)، به طوری که به ترتیب برای طول بدن و دور سینه نرها دارای میانگین بیشتری (به ترتیب 57/82 و 86/08 سانتی‌متر) نسبت به ماده‌ها (به ترتیب 54 و 79/98 سانتی‌متر) بودند. از طرف دیگر، اثر ژنوتیپ روی صفات ارتفاع از جدوگاه، ارتفاع از کپل و دوربیضه معنی‌دار گردید (P<0/05). دام‌های با ژنوتیپ CC دارای بیشترین میانگین ارتفاع از جدوگاه و ارتفاع از کپل (به ترتیب 69/27 و 71/22 سانتی‌متر) و دام‌های با ژنوتیپ AB دارای کمترین میانگین برای این دو صفت (به ترتیب 61/67 و 65/6 سانتی‌متر) بودند. همچنین برای صفت دور بیضه ژنوتیپهای CD و AB به ترتیب دارای بیشترین (20/55 سانتی‌متر) و کمترین (13/31 سانتی‌متر) میانگین بودند. مقایسه میانگین‌ها، نشان داد که آلل‌های C و A به ترتیب در بالا و پایین بودن میانگین صفات مذکور مؤثر هستند (جدول 2).

در مطالعات پیشین در بررسی چندشکلی اگزون 3 ژن POU1F1 در گوسفند ارتباط آماری بین ژنوتیپ‌ها (GG، GA و GC) و صفت خاصی انجام نگرفته است (Bastos *et al.*, 2006). در صورتی که در مطالعه دیگری ارتباط معنی‌داری بین ژنوتیپ‌های AA، AB و BB در اینترون 5 و اگزون 6 این ژن در گاوهای نژاد نانیانگ به روش PCR-RFLP و صفات ارتفاع از جدوگاه، طول بدن و دور سینه مشاهده شده است که دام‌های با ژنوتیپ BB دارای میانگین بیشتری برای این صفات بوده‌اند (Kai *et al.*, 2006). در دو چند شکلی موجود در اینترون 3 (ژنوتیپ‌های CC، CD و DD) ژن POU1F1 گاوهای آنگوس هیچ گونه ارتباط معنی‌داری بین ژنوتیپ‌ها و صفات رشد (وزن تولد، وزن از شیرگیری و افزایش وزن روزانه) مشاهده نشده است (Zhao *et al.*, 2004). بین ژنوتیپ‌های مشاهده شده (CC، CD و DD) به روش SSCP در اگزون 3 و بخشی از اینترون 3 این ژن در نژاد بزی و صفت طول پشم در دو سالگی ارتباط معنی‌داری گزارش شده است که دام‌های با ژنوتیپ CD دارای طول پشم بیشتری (6/64 سانتی‌متر) نسبت به دام‌های با ژنوتیپ CC (5/68 سانتی‌متر) بوده‌اند (Lan *et al.*, 2009).



شکل 1- الکتروفورز محصولات PCR برای ژن POU1F1 (295 جفت بازی).

Figure 1- Electrophoresis of PCR products for the POU1F1 gene (295-bp).



شکل 2- ژنوتیپ‌های مشاهده شده برای ژن POU1F1 در گوسفند ماکویی با تکنیک PCR-SSCP.

Figure 2- Genotypes of the POU1F1 gene in Makui sheep using PCR-SSCP.

جدول 1- فراوانی ژنوتیپی و آللی ژن POU1F1 در گوسفند ماکویی.

Table 1- Genotypic and allelic frequencies of the POU1F1 gene in Makui sheep.

فراوانی ژنوتیپی Genotypic frequency				فراوانی آللی Allelic frequency			
CD	CC	AB	AA	D	C	B	A
0.037	0.44	0.073	0.45	0.02	0.46	0.04	0.48

جدول 2- مقایسه میانگین حداقل مربعات ژنوتیپهای مختلف ژن POU1F1 برای صفات بیومتریک (میانگین ± انحراف معیار) در گوسفند ماکویی (در هر ردیف هر دو میانگین با حروف غیرمشابه معنی دار در سطح احتمال 5 درصد (P<0/05)).

Table 2- Means comparison of different genotypes of POU1F1 for biometric traits (mean±SE) in Makui sheep (in each row, means with different superscripts are significantly different (P<0.05)).

ژنوتیپ Genotype				صفت (سانتی‌متر) Trait (Cm)
CD	CC	AB	AA	
68.57 ± 2.38^{ab}	69.27 ± 1.04^{a}	61.67 ± 1.53^{c}	63.8 ± 0.78^{bc}	ارتفاع از جدوگاه Withers height
69.95 ± 2.02^{ab}	71.22 ± 0.89^{a}	65.6 ± 1.3^{b}	66.01 ± 0.66^{b}	ارتفاع از کپل Rump height
53.06 ± 2.35^{a}	56.54 ± 1.03^{a}	56.95 ± 1.51^{a}	57.08 ± 0.77^{a}	طول بدن Body length
80.55 ± 2.55^{a}	85.76 ± 1.12^{a}	82.29 ± 1.64^{a}	83.51 ± 0.83^{a}	دور سینه Chest girth
20.55 ± 2.52^{a}	19.28 ± 0.87^{ab}	13.31 ± 1.91^{c}	14.99 ± 1.79^{ac}	دور بیضه Testis girth
37.67 ± 1.83^{a}	36.00 ± 0.8^{a}	33.27 ± 1.17^{a}	34.02 ± 0.6^{a}	دور ران Leg girth

با توجه به شناسایی 4 نوع ژنوتیپ در جمعیت مورد مطالعه، می‌توان نتیجه گرفت که روش PCR-SSCP یک تکنیک مناسب برای تشخیص و شناسایی تنوع ژنتیکی در جمعیت‌ها می‌باشد. همچنین از آنجا که ژن POU1F1 در بیان ژنهای هورمون رشد، هورمون پرولاکتین و هورمون محرک تیروئید نقش بسزایی دارد، و از طرفی هورمون رشد نیز هورمون اصلی در صفات رشدی محسوب می‌شود، بنابراین ژنوتیپ‌های ژن POU1F1 می‌توانند نشانگرهای ژنتیکی مناسبی در زمینه‌ی اصلاح نژاد دام‌ها باشند. همچنین با توجه به معنی دار بودن رابطه ژنوتیپ‌ها و صفات ارتفاع از جدوگاه، ارتفاع از کپل و دور بیضه می‌توان از ژنوتیپ CC به عنوان یک شاخص در بالا بودن میزان ارتفاع از جدوگاه و ارتفاع از کپل و از ژنوتیپ CD به عنوان شاخصی برای اندازه‌ی دور بیضه در سن یکسالگی در برنامه‌های اصلاح نژادی استفاده نمود.

سپاسگزاری

بدینوسیله از همکاری‌های مرکز اصلاح نژاد گوسفند ماکویی در شهرستان ماکو به خاطر در اختیار گذاشتن اطلاعات لازم برای انجام این تحقیق قدردانی می‌گردد.

منابع

Abbasi MA, Ghafoori Kasabi F (2010). Heritability of scrotal circumference and its genetic and phenotypic relationships with some production traits in Makoeei sheep. The 4th Congress on Animal Science. Sept. 2010. pp. 3366-3370.

Bastos E, Santos I, Parentier I, Castrillo JL, Cravador A, Guedes-Pinto H, Renaville R (2006). Ovis aries POU1F1 gene: cloning, characterization and polymorphism analysis. Genetica 126: 303-314.

Bose S, Basu SB (1984). Relationship between body measurements and meat production in Beetal goats. Indian Veterinary Journal 61: 670-673.

Chen R, Ingraham H, Treacy MN, Albert VR, Wilson L, Rosenfeld MG (1990). Autoregulation of PIT-1 gene expression mediated by two cis-active promoter elements. Nature 346: 583-586.

Ezzat poor M (2003). Sheep and goat Husbandry in Iran. Sari, Iran.

Ghafoori Kasabi F, Abbasi MA, Baneh H, Babaei M (2010). Genetic analysis of biometric traits in Makooei sheep. The 4th Congress on Animal Science. Sept. 2010. pp. 3362-3365.

Kai X, Hong C, Shan W, Xin C, Bo L, Cun-Fang Z, Chu-Zhao L, Xin-Zhuang W, Yi-Min W, Hui N (2006). Effect of genetic variations of the POU1F1 gene on growth traits of Nanyang cattle. Acta Genetica Sinica 33: 901-907.

Lan XY, Pan CY, Chen H, Zhang CL, Li JY, Zhao M, Lei CZ, Zhang AL, Zhang L (2007). An AluI PCR-RFLP detecting a silent allele at the goat POU1F1 locus and its association with production traits. Small Ruminant Research 73: 8-12.

Lan XY, Pan CY, Li JY, Guo YW, Hu S, Wang J, Liu YB, Hu SR, Lei CZ, Chen H (2009). Twelve novel SNPs of the goat POU1F1 gene and their associations with cashmere traits. Small Ruminant Research 85: 116-121.

Li S, Crenshaw EB, Rawson EJ, Simmons DM, Swanson LW, Rosenfeld MG (1990). Dwarf locus mutants lacking three pituitary cell types result from mutations in the POU-domain gene pit-1. Nature 347: 528-533.

Lin C, Lin SC, Chang CP, Rosenfeld MG (1992). PIT-1 dependent expression of the receptor for growth hormone releasing factor mediates pituitary cell growth. Nature 360: 765-767.

Mandal A, Roy R, Rout PK (2008). Direct and maternal effects for body measurements at birth and weaning in Muzaffarnagari sheep of India. Small Ruminant Research 75: 123-127.

McCormick A, Brady H, Theill LE, Karin M (1990). Regulation of the pituitary-specific homeobox gene POU1F1 by cell-autonomous and environmental cues. Nature 345: 829-832.

Miller SA, Dykes DD, Polesky HF (1998). A simple salting out procedure for extraction of DNA from human nucleated cells. Nucleic Acids Research 16: 12-15.

Naghavi MR, Ghareyazie B, Hosseini Salekdeh GH (2009). Molecular Markers. University of Tehran Press, Tehran, Iran.

Saadat Noori M, Siah Mansoor S (1987). Sheep Husbandry and Management. Ashrafi Publications Tehran, Tehran.

Sattari M (1975). Sheep Husbandry in Iran. University of Tehran Press, Tehran, Iran.

Shojaei M, Mohammadabadi MR, Asadi Fozi M, Esmailizadeh KA, Ferdowsi MH, Torabi A, Tayyarzadeh M, Mirzakhani H (2010). Using PCR-SSCP technique to investigate polymorphism of Leptin gene in Kermani sheep. Animal Science Researches 20: 115-122.

Tavakolian J, Zeinali C, Asadzadeh N, Javanmard A, Banabazi BH, Azimifar B (2007). Analysis of bovine PIT1 gene polymorphism in Iranian native cattle (*Bos tauruse*) using PCR Based RFLP. Pajouhesh & Sazandegi 76: 189-195.

Woollard J, Tuggle CK, PoncedeLeon FA (2000). Rapid communication: localization of POU1F1 to bovine, ovine, and caprine 1q21-22. Journal of Animal Science 78: 242-243.

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

Zhao Q, Davis ME, Hines HC (2004). Associations of polymorphisms in the Pit-1 gene with growth and carcass traits in Angus beef cattle. Journal of Animal Science 82: 2229-2233.

Association of POU1F1 Gene Polymorphism and Biometric Traits in Iranian Makui Indigenous Sheep using PCR-SSCP

Filkoosh M.F[1]., Pirany N.[*2], Shodja J.[3], Elyasi GH[4]., Taghizadeh A[3]., Hajihosseinloo A[5].

[1] MSc Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran.
[2] Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Shahrekord University, Iran.
[3] Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran.
[4] Assistant Professor, East Azarbaiejan, Agricultural and Natural Center, Tabriz.
[5] MSc Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Urmia, Iran.

Abstract

Inclusion of genetic marker information in animal model is an effective method for identification of superior animals with proper breeding values. Candidate genes for growth provide additional information for breeders for proper breeding programs for improvement of growth in sheep breeds. The objective of this study was to study association of POU1F1 with biometric traits in Makui sheep. For this purpose, 95 Makui sheep (males and females) were selected from Makui breeding station and subsequently extraction of DNA was done according to salting out method from whole blood. the polymerase chain reaction (PCR) was used to amplify the 295 bp DNA fragment (a part of intron 2, exon 3 and a part of intron 3) with a pair of designed specific primers. The single stranded conformation polymorphism (SSCP) patterns of PCR products were studied using 6% Polyacrilamid gel and silver staining method. Finally, 4 banding patterns AA, AB, CC and CD were obtained with frequencies of 0.45, 0.073, 0.44 and 0.037, respectively. The frequencies of A, B, C and D alleles were calculated as 0.48, 0.04, 0.46 and 0.02, respectively. Results indicated that studied samples was not in Hardy-Weinberg equilibrium ($P<0.05$). Associations of the observed polymorphisms with withers height, rump height, body length, chest girth, testis girth and leg girth were analyzed using a general linear model procedure. Significant ($P<0.05$) statistical relationships between polymorphism of POU1F1 gene and withers height, rump height and testis girth were found. CC genotype was associated with highest withers height and rump height (69.27 and 71.22 cm, respectively) than AB genotype (61.67 and 65.6 cm, respectively). The testis girth was highest in the CD genotype (20.55 cm) and lowest in the AB genotype (13.31 cm). Perhaps result of present study could be useful for genetic improvement of growth traits in this brees.

Key words: *Biometric traits, Makui sheep, PCR-SSCP, Polymorphism, POU1F1*

[*] Corresponding Author: Pirany N. Tel: 09144177930 Email: napirany@gmail.com