

## بررسی اثرات چند شکلی ژن‌های *IGF1*، *POU1F1* و *Leptin* بر میانگین افزایش وزن روزانه در گوسفند

### نژاد ماکوئی

عباس حاجی حسینلو<sup>۱</sup>، علی‌هاشمی<sup>۲</sup>، نصراله پیرانی<sup>۳</sup>، سعادت صادقی<sup>۴\*</sup>، فرزانه فیل کوش مقدم<sup>۵</sup>

<sup>۱</sup> دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

<sup>۲</sup> استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

<sup>۳</sup> دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهر کرد

<sup>۴\*</sup> دانشجوی دکتری، علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، بورسیه مؤسسه تحقیق و توسعه نوین دانشمند و بنیاد

مستضعفان

<sup>۵</sup> دانشجوی دکتری، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۳/۱۴، تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۸/۲۴

### چکیده

جهت بررسی چند شکلی ژن‌های لپتین، فاکتور اختصاصی رونویسی هیپوفیز و فاکتور رشد شبه انسولین و ارتباط آن‌ها با میانگین افزایش وزن روزانه، از تعداد ۱۰۰ رأس گوسفند نر (۶۵ رأس) و ماده (۳۵ رأس) نژاد ماکوئی به طور تصادفی خونگیری شد. نمونه‌های DNA از خون استخراج و واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراس با استفاده از سه جفت آغازگر اختصاصی انجام گرفت. چند شکلی فضایی تک رشته‌ای (SSCP) روی محصولات PCR انجام شد. برای ژن‌های *IGF1*، *POU1F1* و لپتین به ترتیب ۴، ۳ و ۵ الگوی بانندی (ژنوتیپ) مشاهده شد. ارتباط بین ژنوتیپ‌ها با صفات میانگین افزایش وزن روزانه به وسیله مدل خطی مورد بررسی قرار گرفت. اثر ژنوتیپ‌های ژن‌های لپتین، فاکتور اختصاصی رونویسی هیپوفیز و فاکتور رشد شبه انسولین بر میانگین افزایش وزن معنی‌دار بود ( $P < 0/05$ ). الگوهای بانندی (ژنوتیپ) AB و BB در ژن *IGF1* به ترتیب برای صفت افزایش وزن از تولد تا ۳ ماهگی و افزایش وزن از ۶ تا ۹ ماهگی و ژنوتیپ‌های CC و AA در ژن *POU1F1* به ترتیب برای صفت افزایش وزن از ۶ تا ۹ ماهگی و افزایش وزن از ۹ تا ۱۲ ماهگی و الگوی بانندی BC در ژن لپتین برای صفت افزایش وزن از ۳ تا ۶ ماهگی عملکرد بهتری نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها داشتند. لذا می‌توان از آن‌ها به عنوان یک شاخص در انتخاب گوسفندان نژاد ماکوئی استفاده نمود.

**کلمات کلیدی:** *PCR-SSCP*، ژنوتیپ، وزن تولد، وزن یک سالگی، گوسفند نژاد ماکوئی.

می‌توانند در صفات کمی موثر باشد استفاده می‌شوند. در این میان لپتین را می‌توان به عنوان مثال ذکر کرد.

از جمله اهداف ژنتیک مولکولی در زمینه اصلاح نژاد دام، بررسی چندشکلی‌های ژن‌های مرتبط با صفات مهم و اقتصادی می‌باشد که در این میان ژن‌های IGF1، POU1F1 و Leptin از اهمیت خاصی برخوردارند (Dekkers & Hospital, 2002). ژن POU1F1 (Pit-1) به عنوان یک فاکتور رونویسی ویژه غده هیپوفیزی<sup>۲</sup> در موش می‌باشد که بیان ژن‌های هورمون‌های پرولاکتین<sup>۳</sup> (PRL) و رشد<sup>۴</sup> (GH) را تنظیم می‌نماید. ژن‌های هورمون‌های پرولاکتین و رشد عمدتاً در دو نوع متفاوت از سلول‌های غده هیپوفیز قدامی (لاکتوتروف‌ها<sup>۵</sup> و سوماتوتروف‌ها<sup>۶</sup>) بیان می‌شوند. Pit-1 توالی ATGNATAA/TA/T را شناسایی می‌کند (Nelson et al., 1988). بیان Pit-1 در سلول‌های هترولوکوس منجر به فعالیت پروموتورهای هورمون‌های رشد و پرولاکتین می‌شود (Ingraham et al., 1988). لپتین یک پروتئین 16 کیلو دالتونی است که کنترل اشتها، متابولیسم انرژی، بلوغ، سندرم چاقی و افزایش وزن نقش دارد و چند شکلی‌های موجود در آن با صفات اقتصادی و مهم مرتبط می‌باشد (Liefers et al.,

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 ماکوئی بطور کلی از لحاظ نوع محصول تولیدی جزء گوسفندان پشمی ایران به شمار می‌رود (Sattari, 1975). گوسفند ماکوئی به علت سفید بودن پشم تولیدی، مناسب برای قالی بافی و به علت دارا بودن جثه متوسط از نظر تولید گوشت، برای پرواربندی مناسب می‌باشد. زیستگاه اصلی گوسفند ماکوئی شهرستان‌های ماکو، چالدران، شوط، پلدشت، خوی و قسمتی از ترکیه (کارامان سفید) می‌باشد (Ezzat poor, 2003).

داده‌های ژنتیکی پتانسیل بالایی برای مورد استفاده قرار گرفتن در انتخاب حیوانات دارند و روز به روز بر استفاده از آنها در طراحی سیستم‌های اصلاحی افزوده می‌شود (Dodds et al., 2007). ژن‌های کاندید، مارکرها و QTLها را می‌توان از جمله این اطلاعات برای انتخاب زود هنگام ژنوتیپ‌های مطلوب در گله‌ها نام برد. از این لحاظ آگاهی داشتن از ارتباط بین ژن‌های بخصوص و عملکرد حیوانات در استفاده موثر از این اطلاعات ضروری است (Banos et al., 2008). چند شکلی‌های تک نوکلئوتیدی (SNP<sup>۱</sup>) اغلب برای ارزیابی نواحی از کروموزوم که تصور می‌شود

<sup>2</sup> Pituitary

<sup>3</sup> Prolactin

<sup>4</sup> Growth Hormone

<sup>5</sup> Lactotrophs

<sup>6</sup> Somatotrophs

<sup>1</sup> - Single Nucleotide Polymorphism

ژن‌های POU1F1 و IGF1 به روش نمکی (, *et al.*, Miller 1998) و برای ژن لپتین با استفاده از کیت استخراج DNA ژنومی صورت گرفت. واکنش PCR جهت تکثیر قطعات مورد نظر برای ژن‌های POU1F1، IGF1 در حجم ۲۰ میکرولیتر با استفاده از آغازگرهای اختصاصی موجود در جدول ۱ انجام شد. غلظت نهایی مواد PCR عبارت بودند از: بافر 1X PCR، ۲۰۰ میکرومولار dNTP، ۱/۵ میلی مولار MgCl<sub>2</sub>، ۰/۵ پیکومول از هر آغازگر، ۱ واحد آنزیم تک پلیمرراز و ۱۰۰ نانوگرم DNA. در حالی که برای ژن لپتین در حجم ۵۰ میکرولیتر با استفاده از آغازگر اختصاصی موجود در جدول ۱ و واکنش شامل ۵۰ میکرومولار dNTP، ۴ میلی مولار MgCl<sub>2</sub>، ۰/۵ پیکومول از هر آغازگر، ۲/۵ واحد آنزیم تک پلیمرراز و ۱۰۰ نانوگرم DNA بود.

IGF1. (2002). بر روی رشد جنین، رشد پس از تولد، متابولیسم کربوهیدرات‌ها و پروتئین‌ها دخالت دارد. این عامل، افزایش دهنده جذب گلوکز در بافت‌های محیطی بوده که باعث تحریک ساخت گلیکوژن شده و دارای اثری شبیه انسولین می‌باشد که با افزایش جذب اسید آمینه، باعث ساخت پروتئین می‌شود (Hadsell *et al.*, 2002). هدف از انجام این تحقیق تعیین اثرات چندشکلی موجود در ژن‌های POU1F1، IGF1 و Leptin با صفات مربوط به افزایش وزن روزانه در گوسفند ماکوئی می‌باشد.

#### مواد و روش‌ها

از ۱۰۰ راس گوسفندان نر (۶۵ رأس) و ماده (۳۵ رأس) ماکوئی ایستگاه اصلاح نژاد ماکو به طور تصادفی خونگیری به عمل آمد. با توجه به امکانات آزمایشگاهی موجود، استخراج DNA برای

#### جدول ۱-۱- آغازگرهای واکنش PCR جهت تکثیر ژن‌های POU1F1، IGF1 و لپتین.

Table 11- PCR Primers for amplifying POU1F1, IGF1 and Leptin genes.

ژن	اندازه محصولات PCR	جایگاه	توالی آغازگر
Gene	Size of PCR-prod.	Location	Primer sequence (5'-3')
IGF1	265bp	اگزون ۱ Exon1	F-ATTACAG CTGCCTGCCCTT' R-CACATCTGCTAATACACCTTACCCG
PIT-1	295bp	قسمتی از ایترون ۲ و ۳ و اگزون ۳ Intron 2 and 3 and exon 3	F-GAGGGATAATTACAAATGGTCC R-TGTTAACAGCTGTGGGACACAC
Leptin	471bp	اگزون ۳ Exon 3	F-AGGAAGCACCTCTACGCTC RCTCAAGGCTTCAGCACC

با ۱۰ میکرولیتر بافر بارگذاری (6X) (فرمامید ۹۵٪، هیدروکسید سدیم ۱۰۰ میلی مولار، بروموفیل بلو ۲۵٪ و گزیلین سیانول ۳۵٪) مخلوط شده و به همراه ۱۰۰ bp نشانگر وزنی (نشانگر مولکولی استاندارد) روی ژل آگارز ۱/۵ درصد اجرا شد و رنگ آمیزی با اتیدیوم بروماید صورت گرفت. جهت انجام SSCP، مقدار ۱۰-۷ میکرولیتر از محصولات با ۷ میکرولیتر بافر بارگذاری مخلوط شده رنگ آمیزی با نیترت نقره صورت گرفت (Herring *et al.*, 1982). الگوهای بانندی ایجاد شده مورد شمارش قرار گرفتند و بر اساس قرار گرفتن الگوهای بانندی ژنوتیپ حیوانات تعیین شد و سپس با استفاده از نرم افزار POPGENE32 (Yeh *et al.*, 1999) معیارهای مربوط به چند شکلی این ژن‌ها در این جمعیت محاسبه شدند. برآورد مؤلفه‌های واریانس و پارامترهای ژنتیکی برای صفات وزن بدن با استفاده از مدل حیوانی تک صفتی و با روش حداکثر درست‌نمایی محدود شده بی نیاز از مشتق‌گیری و با نرم افزار DFREML صورت گرفته است. برای بررسی ارتباط چند شکلی ژن‌های POU1F1، IGF1 و Leptin با افزایش وزن روزانه از رویه GLM نرم افزار آماری (2002) 9.1 SAS استفاده شد.

### نتایج و بحث

فراوانی‌های آلی و ژنوتیپی ژن لپتین، POU1F1 و IGF1 در جمعیت گوسفند نژاد ماکوئی در جدول ۲

### برنامه حرارتی مورد استفاده برای ژن IGF1

مرحله اول: واسرشت اولیه در ۹۵ درجه سلسیوس به مدت ۳ دقیقه، مرحله دوم ۳۱ سیکل شامل واسرشت در ۹۴ درجه سلسیوس به مدت ۴۵ ثانیه، اتصال ۵۸ درجه سلسیوس ۳۰ ثانیه و تکثیر در ۷۲ درجه سلسیوس ۳۰ ثانیه و تکثیر نهایی در ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۴ دقیقه (برای از بین بردن باندهای غیر اختصاصی کمتر) و انجام گرفت.

### برنامه حرارتی مورد استفاده برای ژن PIT-1

مرحله اول: واسرشت اولیه در ۹۵ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه، مرحله دوم در ۳۵ سیکل شامل واسرشت در ۹۴ درجه سلسیوس به مدت ۴۵ ثانیه، اتصال ۵۸ درجه سلسیوس ۱ دقیقه و تکثیر در ۷۲ درجه سلسیوس ۱ دقیقه و تکثیر نهایی در ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۴ دقیقه انجام گرفت.

### برنامه حرارتی مورد استفاده برای ژن لپتین

مرحله اول: واسرشت اولیه در ۹۵ درجه سلسیوس به مدت ۲ دقیقه، مرحله دوم در ۳۵ سیکل شامل واسرشت در ۹۴ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال ۵۹ درجه سلسیوس ۳۰ ثانیه و تکثیر در ۷۲ درجه سلسیوس ۳۰ ثانیه و تکثیر نهایی در ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۵ دقیقه انجام گرفت. جهت بررسی صحت قطعات به دست آمده از محصول PCR، ۵ میکرولیتر از محصولات

نشان داده شده است. برای ژن‌های IGF1, POU1F1 و Leptin به ترتیب ۴، ۳ و ۵ تنوع ژنوتیپی در نژاد گوسفند نژاد ماکوئی می‌باشد. الگوی بانندی (ژنوتیپ) مشاهده شد که نشان دهنده

جدول ۲۲- فراوانی‌های آلی و ژنوتیپی ژن‌های IGF1, POU1F1 و لپتین در گوسفند نژاد ماکوئی.

**Table 22- Genotypic and allelic frequencies of the POU1F1, IGF1 and Leptin genes in Makui sheep.**

Gene	فراوانی آلی				فراوانی ژنوتیپی						
	Allele frequency				Genotype frequency						
	A	B	C	D	AA	AB	BB	AC	BC	CC	CD
Leptin	0.15	0.37	0.48	-	-	0.17	0.09	0.14	0.37	0.23	-
IGF1	0.73	0.27	-	-	0.52	0.42	0.06	-	-	-	-
POU1F1	0.4895	0.036	0.4579	0.0166	0.45	0.073	-	-	-	0.44	0.037

ژن IGF1-G201C برای ژنوتیپ‌های CC, CG و GG به ترتیب ۰.۴٪، ۱۳/۷٪ و ۸۵/۹٪ و برای ژن IGF2-in8-C27322G به ترتیب ۱۲٪، ۴۲/۳٪ و ۴۵/۷٪ بود (Huang *et al.*, 2012).

مطالعات روی آگزون ۳ ژن لپتین در نژادهای گوسفند لری بختیاری و زل به ترتیب ۳ و ۶ الگوی بانندی (Azizi *et al.*, 2012a) و برای بزهای نژاد مهابادی الگوی بانندی برای همه نمونه‌ها یکسان و این جایگاه‌ها یک شکل بودند (Azizi *et al.*, 2012b). نتایج آماری توصیفی صفت افزایش وزن روزانه در جدول ۳ برای گوسفندان نژاد ماکوئی نشان دهنده‌ی افزایش وزن روزانه بیشتر در فواصل زمانی اوایل تولد تا زمان شیرگیری، نسبت به زمان بعداز شیرگیری است و این روند با نزدیک شدن به یک سالگی روند نزولی داشت.

بررسی چند شکلی قطعه ۲۹۵ جفت بازی ژن POU1F1 سه الگوی ژنوتیپی با فراوانی‌های ۰/۲۷، ۰/۴۰ و ۰/۳۳ برای گوسفندان لری بختیاری و سه الگوی ژنوتیپی با فراوانی‌های ۰/۵۱، ۰/۲۳ و ۰/۲۶ به ترتیب برای ژنوتیپ‌های GG, AG و GG نشان داد (JalilSarghale *et al.*, 2012). در برخی مطالعات برای ژن POU1F1 در بز ۳ ژنوتیپ و دو آلل C و D به ترتیب با فراوانی‌های ۰/۹۲ و ۰/۰۸ گزارش شد (Lan *et al.*, 2009).

برای ژن IGF1 دو الگوی بانندی برای بزهای نژاد مهابادی با فراوانی ۰/۶۵/۷٪ و ۰/۳۴/۳٪ (Gharedaghi *et al.*, 2012) و سه الگوی بانندی با فراوانی ۰/۶۹، ۰/۲۹ و ۰/۶۰ به ترتیب برای BC, BD و BB برای گوسفندان مغانی مشاهده شد (Purbayramian *et al.*, 2012). فراوانی ژنوتیپی

جدول ۳۳- آمار توصیفی میانگین افزایش وزن روزانه گوسفند نژاد ماکوئی.

Table 33-Descriptive statistics of the average daily gain in Makui sheep.

صفات Traits	میانگین (گرم) Mean (gr)	انحراف استاندارد Standard deviation	ضریب تغییرات Coefficient of variation	دامنه Range (gr)
میانگین افزایش وزن روزانه از تولد تا از شیرگیری Average daily gain from birth to weaning	187.8	30.8	16.4	91-260
میانگین افزایش وزن روزانه از شیرگیری تا ۶ ماهگی Average daily gain from weaning to 6 months	85.45	34.17	39.98	42-157
میانگین افزایش وزن روزانه از ۶ ماهگی تا یک سالگی Average daily gain from 6 months to yearling	71.73	25.58	35.66	8-164
روزانه اثر معنی دار نداشتند (Huang <i>et al.</i> , 2012). در دو چند شکلی موجود در ایترون ۳ (ژنوتیپ‌های CC، CD و DD) ژن POU1F1 گاوهای انگوس هیچ گونه ارتباط معنی داری بین ژنوتیپ‌ها روی افزایش وزن روزانه مشاهده نشده است (Zhao <i>et al.</i> , 2004). اثر ژنوتیپ‌های ژن Pit-1 - Hinf1 بر وزن تولد و افزایش وزن ۹ تا یک سالگی در گاوهای سیستانی معنی دار بود و گاوهای سیستانی با ژنوتیپ AA بهترین عملکرد افزایش وزن روزانه در سنین ۹ تا ۱۲ ماهگی را نسبت به ژنوتیپ‌های AB و BB نشان دادند (Alipanah <i>et al.</i> , 2012). مطالعات قبلی روی اگزون ۳ ژن لپتین بر صفات رشد در گوسفندان کرمانی انجام گرفته است (Shojaei <i>et al.</i> , 2010). اثر ژنوتیپ‌های ژن لپتین روی افزایش وزن روزانه از تولد تا ۳ ماهگی در گوسفندان بلوچی معنی دار بود (Tahmoorespur <i>et al.</i> , 2009) که با نتایج این تحقیق مطابقت نداشت.	الگوهای بانندی (ژنوتیپ) AB و BB در ژن IGF1 به ترتیب برای صفت افزایش وزن از تولد تا ۳ ماهگی و افزایش وزن از ۶ تا ۹ ماهگی و ژنوتیپ‌های CC و AA در ژن POU1F1 به ترتیب برای صفت افزایش وزن از ۶ تا ۹ ماهگی و افزایش وزن از ۹ تا ۱۲ ماهگی و الگوی بانندی BC در ژن لپتین برای صفت افزایش وزن از ۳ تا ۶ ماهگی عملکرد بهتری را نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها داشتند (جدول ۴). اثر ژنوتیپ‌های ژن IGF1 روی افزایش وزن روزانه تولد تا از شیرگیری، ۳ ماهگی تا یکسالگی، ۶ ماهگی تا یکسالگی و ۹ ماهگی تا یک سالگی در بزهای نژاد مرغز و کردی معنی دار بود ( $P < 0/05$ ) و بهترین عملکرد در حیوانات با ژنوتیپ GG مشاهده شد (Karimi Kurdistani <i>et al.</i> , 2012). اثر ژنوتیپ‌های ژن IGF2-in8- C27322G روی صفت افزایش وزن روزانه معنی- دار بود ( $P < 0/05$ ). این در حالی بود که ژنوتیپ‌های ژن IGF1-G201C روی افزایش وزن			

جدول ۴- میانگین و اشتباه معیار افزایش وزن روزانه ژنوتیپ‌های ژن POU1F1 و IGF1 و لپتین در گوسفند نژاد ماکوئی.

**Table 4- Means comparisons of different genotypes of POU1F1, IGF1 and Leptin, for average daily gain traits (mean± SE) in Makui sheep.**

ژنوتیپ Genotype	میانگین افزایش وزن روزانه (Average daily gain (kg))			
	تولد تا از شیرگیری Birth to weaning	از شیرگیری تا ۶ ماهگی weaning to 6 months	۶ ماهگی تا ۹ ماهگی 6 months to 9 months	۹ ماهگی تا یک سالگی 9 months to yearling
<b>IGF1</b>				
AA	0.177±0.007 <sup>b</sup>	0.094±0.007	-0.004±0.007 <sup>b</sup>	0.083±0.011
AB	0.202±0.009 <sup>a</sup>	0.098±0.009	0.005±0.012 <sup>b</sup>	0.094±0.012
BB	0.159±0.012 <sup>b</sup>	0.088±0.013	0.054±0.018 <sup>a</sup>	0.110±0.018
F value	6.36**	0.19 <sup>ns</sup>	5.31**	0.87 <sup>ns</sup>
<b>PIT-1</b>				
AA	0.163±0.005	0.101±0.006	0.034±0.009 <sup>a</sup>	0.103±0.008 <sup>a</sup>
AB	0.165±0.011	0.106±0.012	0.0004±0.017 <sup>ab</sup>	0.070±0.016 <sup>ab</sup>
CC	0.172±0.006	0.090±0.007	0.0394±0.010 <sup>b</sup>	0.085±0.009 <sup>ab</sup>
CD	0.168±0.016	0.111±0.017	0.0008±0.025 <sup>ab</sup>	0.032±0.033 <sup>b</sup>
F value	0.52 <sup>ns</sup>	1.03 <sup>ns</sup>	4.03**	4.14**
<b>Leptin</b>				
AB	0.176±0.007	0.093±0.008 <sup>ab</sup>	0.011±0.012	0.082±0.011
BB	0.171±0.008	0.105±0.009 <sup>ab</sup>	-0.002±0.014	0.068±0.013
AC	0.172±0.009	0.097±0.010 <sup>ab</sup>	-0.009±0.015	0.080±0.014
BC	0.188±0.006	0.118±0.006 <sup>a</sup>	-0.014±0.009	0.93±0.009
CC	0.169±0.007	0.091±0.007 <sup>b</sup>	0.009±0.011	0.090±0.01
F value	1.51 <sup>ns</sup>	2.81*	1.98 <sup>ns</sup>	2.06 <sup>ns</sup>

\* P<0.05 \*\* P<0.01

<sup>a-b</sup> میانگین‌های موجود در هر ستون که دارای حروف مشابه می‌باشند فاقد اختلاف معنی‌دار هستند.

<sup>a-b</sup> Means within each column bearing common superscript do not differ significantly.

روی افزایش وزن روزانه در بزهای نر بویرمعنی‌دار بود (Hua et al., 2009). به طور کلی روند افزایش وزن روزانه در تمام بازه‌های زمانی رشد برای ژنوتیپ‌های ژنهای POU1F1, IGF1 و Leptin دارای روند متغیری داشت، این در حالی بود که در گاوهای نژاد سیستانی ژنوتیپ AA برای افزایش

اثر الگوهای بانندی (ژنوتیپ) روی صفت افزایش وزن روزانه بره‌های نر بلوچی معنی‌دار بود (p < 0/05) و بیشترین افزایش وزن روزانه در بره‌های نر با ژنوتیپ LI مشاهده شد (Tahmoorespur & Ahmadi, 2012). اثر ژنوتیپ‌های مشاهده شده به روش PCR-RFLP

وزن تمامی سنین دارای کمترین عملکرد بود (Alipanah *et al.*, 2012). با توجه به جدول ۵ گوسفندان ماکوئی برای دوره یک ساله استفاده نمود.

### سپاسگزاری

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

بیشتر بودن واریانس اشتباه آزمایشی از واریانس افزایشی مستقیم برای کل صفات مورد مطالعه حاکی از شرایط بد تغذیه‌ای و آب و هوایی و فقیر بودن مراتع در سیستم پرورشی است. با توجه به اثر معنی‌دار چند شکلی ژن‌های IGF1، POU1F1 و لپتین بر افزایش وزن روزانه و نقش آنها در رشد می‌توان از آنها به عنوان یک شاخص در انتخاب

جدول ۵۵- برآورد مؤلفه‌های واریانس و پارامترهای حاصل از آن برای صفات افزایش وزن روزانه در دوره‌های زمانی رشد در گوسفند نژاد ماکوئی.

**Table 5-5 Estimated of variance components and its parameters for daily gain traits during different growing periods in Makui sheep.**

صفات افزایش وزن روزانه	واریانس ژنتیکی	واریانس محیط	واریانس	واریانس	وراث پذیری اثر
Average daily gain traits	افزایشی مستقیم	دائمی	اشتباه	فنوتیپی	مستقیم
	$\sigma_a^2$	$\sigma_c^2$	$\sigma_e^2$	$\sigma_p^2$	$h^2$
از تولد تا از شیرگیری	164	53	519	735	0.22±0.03
From birth to weaning					
از شیرگیری تا ۶ ماهگی	51.8	0.009	499.9	501.7	0.1±0.04
From weaning to six month					
از تولد تا ۶ ماهگی	39.75	-	17.55	234.96	0.17±0.06
From birth to six month					

### منابع

- Alipanah M, Mohannadnia H, Rokuie H, Khehasaber M (2012). Pit-1 gene polymorphism in Sistani cattle using PCR RFLP method. Proc. of 5<sup>th</sup> Congress of the Iranian animal Societies. August. 29-30, 2012. Isfahan, Iran. pp. 1071-1075.
- Azizi P, Moradi shahrbabak M, Moradi shahrbabak H, Talebi M A (2012a). Study polymorphism of exon 3 Ovine Leptin gene and its association with blood parameters and biometric traits in fat-tailed (Lori-Bakhtiari) and non fat-tailed (Zel) Iranian Sheep breeds using PCR-



- SSCP. Proc. of 5<sup>th</sup> Congress of the Iranian animal Societies. August. 29-30, 2012. Isfahan, Iran. pp. 407-412.
- Azizi Z, Moradi-Shahreabak M, Moradi-Shahreabak H, Zali A (2012b). Study polymorphism leptin gene third Exon in Mahabadi goat breed using PCR-SSCP. Proc. of 5<sup>th</sup> Congress of the Iranian animal Societies. August. 29-30, 2012. Isfahan, Iran. pp. 642-646.
- Banos G, Woolliams JA, Woodward BW, Forbes AB, Coffey MP (2008). Impact of single Nucleotide polymorphisms in leptin, leptinreceptor, growth hormone receptor and diacylglycerolacyltransferase (DGAT1) gene loci on milk production, feed and body energy traits of uk dairy cows. *Journal of Dairy Science* 91: 3190-3200.
- Dekkers JCM, Hospital F (2002). The use of molecular genetics in the improvement of agricultural populations. *Nature Reviews Genetics* 3: 22-32.
- Dodds KG, McEwan JC, Davis GH (2007). Integration of molecular and quantitative information in sheep and goat industry breeding programmes. *Small Ruminant Research* 70:32-41.
- Ezzat poor M (2003) Sheep and goat Husbandry in Iran. Sari, Iran.
- Gharedaghi L, Moradi Shahreabak H, Sadeghi M, Ganjkhanelou M (2012). Study Polymorphism of IGF-1 candidate Gene in mahabadi goat using PCR-SSCP. Proc. of 5<sup>th</sup> Congress of the Iranian animal Societies. August. 29-30, 2012. Isfahan, Iran. pp. 941-944.
- Hadsell DL, Bonnette SG, Lee AV (2002). Genetic Manipulation of the IGF-I Axis to Regulate Mammary Gland Development and Function. *Journal of Dairy Science* 85: 365-377.
- Herring AJ, Inglis NF, Ojeh Ck, Snodgrass DR, Menzies JD (1982). Rapid diagnosis of rotavirus infection by direct detection of viral nucleic acid in silver-stained polyacrylamide gels. *Journal of Clinical Microbiology* 16: 473-477.
- Hua GH, Chen SL, Yu JN, Cai KL, Wu CJ, Li QL, Zhang CY, Liang AX, Han L, Geng LY, Shen Z, Xu DQ, Yang LG (2009). Polymorphism of the growth hormone gene and its association with growth traits in Boer goat bucks. *Meat Science* 81: 391-395.
- Huang SY, Lo LL, Chung MT, Li HL, Tu CF, Tsou HL, Huang MC, Yu YC, Huang TH, Lin EC (2012). Effects of single-nucleotide polymorphisms in insulin-like growth factor-1 and insulin-like growth factor-2 genes on growth performance of centrally tested Duroc boars using segregated early weaning entrance. *Livestock Science* 144: 290-293.
- Ingraham HA, Chen R, Mangalam HJ, Elsholtz HP, Flynn SE, Lin CR, Simmons L, Swanson DM, Rosenfeld MG (1988). A tissue specific transcription factor containing a homeo domain specifies a pituitary phenotype. *Cell* 55: 519-529.
- JalilSarghale A, Moradi Shahreabak M, Moradi Shahreabak H, Sadeghi M (2012). Study of POU1F1 (Pit-1) gene polymorphism to PCR-RFLP method in Lori-Bakhtiari sheep and Zel sheep. Proc. of 5<sup>th</sup> Congress of the Iranian animal Societies. August. 29-30, 2012. Isfahan, Iran. pp. 497-501.
- Karimi Kurdistani Z, Rostamzadeh J, Rashidi A, Davis ME (2012). Evaluation of insulin-like growth factor-I gene polymorphism on growth traits and yearling fleece weight in goats. *Small Ruminant Research* In Press.
- 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.
- Liefers SC, Te Pas MF, Veerkamp RF, Chilliard Y, Delavaud C, Gerritsen R (2003). Association of leptin gene polymorphisms with serum leptin concentration in dairy cows. *Mammalian Genome*. 14: 657-663.

- Miller SA, Dykes DD Polesky HF (1998). A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Research* 16: 1215.
- Nelson C, Albert VR, Elsholtz HP, Lu LIW, Rosenfeld MG (1988). Activation of cell-specific expression of rat growth hormone and prolactin genes by a common transcription factor. *Science* 239: 1400-1405.
- Purbayramian F, Hashemi A, Mardani K, Ghaderzadeh M, Biabani P, Boromand J, Nayeri F (2012). Detection of Polymorphism of Insulin-like Growth Factor-I (IGF-I) Gene in Moghani Sheep By PCR-SSCP technique. *Proc. of 5<sup>th</sup> Congress of the Iranian animal Societies*. August. 29-30, 2012. Isfahan, Iran. pp. 187-190.
- Saadat Noori M, Siah Mansoor S (1987). *Sheep Husbandry and Management*. Ashrafi Publications Tehran, Iran.
- Sattari M (1975). *Sheep Husbandry in Iran*. University of Tehran Press, Tehran, Iran.
- Shojaei M, Mohammadabadi MR, Asadi Fozi M, Esmailzadeh 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.
- Tahmoorespur M, Ahmadi H (2012). A neural network model to describe weight gain of sheep from genes polymorphism, birth weight and birth type. *Livestock Science* 148: 221-226.
- Tahmoorespur M, Nassiry MR, Ansary M, Heravi Mousavi A, Vafaye vale M, Eftekhari Shahroudi F (2009). Analysis of Leptin gene polymorphism and their association with average daily gain trait in Baluchi sheep. *Proc. 3<sup>rd</sup> Congress of animal science*, Mashhad, Iran.
- 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.

## Effect of POU1F1, IGF1 and Leptin Genes Polymorphisms on Average Daily Gain in Makui Sheep Breed

Hajhosseinloo A<sup>1</sup>., Hashemi A<sup>2</sup>., Pirany N<sup>3</sup>., Sadeghi S.\*<sup>4</sup>., Filkoosh Moghaddam F<sup>5</sup>.

<sup>1</sup> MSc Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Urmia, Iran.

<sup>2</sup> Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Urmia, Iran.

<sup>3</sup> Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Shahrekord, Iran.

<sup>4</sup> PhD Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Scholarship of Novin Daneshmand Research and Development Institute, Iran.

<sup>5</sup> PhD Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran.

### Abstract

For study polymorphism of POU1F1, IGF1 and Leptin genes and their relationships with daily gain, blood samples of 100 heads (65 males and 35 females) of Makui sheep breed were randomly collected. DNA was extracted from whole blood and polymerase chain reactions (PCR) were performed using three pairs of specific primers. Single Strand Conformation Polymorphism (SSCP) was used for detection of genotypes. Number of banding patterns (genotypes) for POU1F1, IGF1 and Leptin genes were 4, 3 and 5, respectively. A general linear model procedure was applied to determine association between genotypes with average daily gain in different stages. Genotypes of leptin, POU1F1 and IGF1 genes had significant effect ( $P < 0.05$ ) on the average daily gain. Banding patterns (genotypes) of AB and BB genotypes in IGF1 gene for average daily gain from birth to weaning (3 months) and average daily gain from 6 months to 9 months, respectively, CC and AA genotypes in POU1F1 gene for average daily gain from 6 months to 9 months and 9 months to yearling, respectively and BC genotype in Leptin gene for average daily gain from weaning to 6 months had higher performances than other genotypes. These results confirmed the potential usefulness of IGF1, POU1F1 and Leptin genes in marker-assisted selection programs in Makui breed.

**Keywords:** PCR-SSCP, genotype, birth weight, yearling weight, Makui sheep breed.

---

\* Corresponding Author: Sadeghi S.

Tel: 09355569207

Email: ssasegi42@yahoo.com

