

ارتباط چند شکلی های ژن گرلین با صفات مرتبط با رشد در مرغان

بومی مازندران

فخرالدین فلاحتی^۱، قدرت اله رحیمی میانجی^۲، ایوب فرهادی^{۳*}

۱، ۲ و ۳- به ترتیب دانش آموخته کارشناسی ارشد، استاد و دانشجوی دکتری تخصصی، آزمایشگاه ژنتیک مولکولی و بیوتکنولوژی دام، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، مازندران

*نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: ayyoob_farhadi@yahoo.com

(تاریخ دریافت: ۸۹/۱۱/۲۲ - تاریخ پذیرش: ۹۰/۷/۵)

چکیده

گرلین یا پپتید تحریک کننده هورمون رشد، یک هورمون پپتیدی متشکل از ۲۶ اسید آمینه در طیور است. گرلین با تحریک آزاد سازی هورمون رشد، مصرف غذا و افزایش وزن بدن موجب توازن مثبت انرژی و نیز چاقی می شود. در تحقیق حاضر سه جفت آغازگر اختصاصی (RP-L1، RP-L3 و RP-L5) به ترتیب برای شناسایی چند شکلی های آللی جایگاه های نوکلئوتیدی ۷۱، ۱۲۱۵ و ۲۳۵۵ ژن گرلین با استفاده از تکنیک PCR-RFLP مورد استفاده قرار گرفتند. قطعاتی با اندازه های ۳۶۹، ۳۲۰ و ۲۲۸ جفت باز به ترتیب برای آغازگرهای RP-L1، RP-L3 و RP-L5 تکثیر شدند. سپس محصولات حاصل از PCR هر یک از آغازگرهای RP-L1، RP-L3 و RP- L5 به ترتیب با اندونوکلازهای *MboII*، *Eco72I* و *HeaII* هضم شدند. چهار نوع ژنوتیپ TC، CC، TB و CB به ترتیب با فراوانی های ۳۷، ۵، ۴۷ و ۱۱ درصد برای جایگاه نوکلئوتیدی ۷۱ شناسایی شدند. در جایگاه ۱۲۱۵ هیچ تنوع آللی مشاهده نشد و همه نمونه ها ژنوتیپ مونومورف (AA) را نشان دادند. در جایگاه نوکلئوتیدی ۲۳۵۵ ژن گرلین دو ژنوتیپ AB و BB به ترتیب با فراوانی های ۲۵ و ۷۵ درصد مشاهده شدند. آنالیز آماری ارتباط معنی داری ($p < 0.05$) بین جایگاه ۲۳۵۵ این ژن با صفت وزن جوجه در زمان هج را نشان داد.

واژه های کلیدی

چند شکلی،
ژن گرلین،
مرغان بومی،
PCR-RFLP

مقدمه

ژن‌های محور سوماتوتروپ نقشی اصلی در تنظیم رشد و نمو ایفا می‌کنند. تاثیر چند شکلی این ژن‌ها بر بیان ژن چه در سطح رونویسی و چه در سطح ترجمه تاکنون در چندین مطالعه نشان داده شده است (۹، ۱۶). چند شکلی‌ها در ژن‌های محور سوماتوتروپ می‌توانند به‌عنوان ژن‌های کاندید برای بررسی اثرات آن‌ها روی صفات رشد و نمو در طیور مطرح باشند (۸). در سال ۱۹۹۹، یک پپتید مغزی-شکمی ۲۸ اسید آمینه‌ای به نام گرلین^۱ برای اولین بار از معده پستانداران استخراج شد (۶). گرلین از سلول‌های اندوکراین لوله گوارشی ترشح شده و غالباً در معده بیان می‌شود. این هورمون از یک پیش هورمون ۱۱۷ اسید آمینه‌ای به نام پرپروگرلین^۲ جدا شده (۱۵، ۱۶) که ضمن اثر محرک بر ترشح هورمون رشد و مصرف غذا، در کنترل توازن انرژی نیز نقش دارد. دخالت در رشد و نمو اولیه در موش و طیور و شرکت در تنظیم ترشح هورمون رشد در پرندگان از دیگر کنش‌های بیولوژیکی این هورمون گزارش شده است (۱۲). فعالیت‌های بیولوژیکی گرلین با ساختار آن مرتبط بوده (۱۱) و تنظیم بیان آن در سطح رونویسی کاملاً با سازماندهی ژنومی‌اش در ارتباط است (۵). cDNA ژن گرلین مرغی برای اولین بار توسط Kaiya و همکاران (۲۰۰۲) کلون شده و نشان داده شد که پیش ماده این هورمون در مرغ دارای ۱۱۶ اسید آمینه است که از آن یک پپتید ۲۶ اسید آمینه‌ای بالغ جدا می‌شود (۴). ژن گرلین در مرغ روی کروموزوم شماره ۱۲ قرار داشته و از چهار ایترون و پنج اگزون تشکیل شده است به‌طوری که اولین اگزون آن هیچ اسید آمینه‌ای را کد نمی‌کند و این خصوصیت بین پستانداران حفظ شده است (۱۲، ۱۶). تاکنون تعداد ۱۹ جهش تک نوکلئوتیدی (SNP^۳) در ژن گرلین مرغی و گیرنده آن شناسایی شده است (۱۳) که ارتباط برخی از این جهش‌ها و همچنین یک جهش حذف/اضافه در ناحیه ۵' غیر قابل ترجمه^۴ با صفات مختلف رشد نظیر وزن بدن، قطر درشت‌نی و قطر بدن در مرغ گزارش شده است (۱، ۲). هدف از تحقیق حاضر ردیابی چند شکلی‌های تک نوکلئوتیدی

ژن گرلین و بررسی ارتباط این جهش‌ها با صفات وزن بدن در مرغان مولد مرکز اصلاح نژاد مرغان بومی مازندران بوده است.

مواد و روش‌ها

نمونه برداری و استخراج DNA

از تعداد ۸۲ قطعه مرغ مولد و ۱۴ قطعه خروس مرکز اصلاح نژاد مرغ بومی مازندران که به‌طور تصادفی از مرغان مولد انتخاب شده بودند با استفاده از سرنگ‌های آغشته به ماده ضد انعقاد EDTA نمونه خون گرفته و استخراج DNA با روش نمکی بهینه یافته انجام پذیرفت. کیفیت و کمیت DNA استخراج شده با روش‌های اسپکتروفتومتری و الکتروفورز روی ژل آگارز تعیین شد. نمونه-گیری از مرغ‌های چهار سالن که در هر سالن مرغان یک هج نگهداری می‌شدند انجام شد.

واکنش زنجیره‌ای پلیمراس^۵ (PCR)

واکنش زنجیره‌ای پلیمراس به‌منظور تکثیر قطعات مورد نظر با استفاده از جفت آغازگرهای اختصاصی (جدول ۱) و در مخلوط واکنش با حجم ۲۵ میکرولیتری حاوی ۲۰۰ نانوگرم DNA الگو، ۲/۵ میکرولیتر بافر PCR (1X)، ۰/۳ میکرولیتر مخلوط dNTPS، ۳ میلی‌مول MgCl₂، یک واحد آنزیم DNA پلیمراس و ۱۰ پیکومول از هر یک از آغازگرها انجام پذیرفت. برنامه حرارتی PCR شامل تک رشته‌سازی اولیه در ۹۴ درجه سانتیگراد به مدت ۵ دقیقه بود که با ۳۴ چرخه شامل ۹۴ درجه سانتیگراد در ۴۰ ثانیه، دمای اتصال آغازگرها (جدول ۱) در ۳۰ ثانیه، ۷۲ درجه سانتیگراد در یک دقیقه و یک مرحله تکثیر پایانی در ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۱۰ دقیقه دنبال شد.

آزمون PCR-RFLP

به‌منظور ردیابی چند شکلی‌های ژنوتیپی جایگاه‌های نوکلئوتیدی ۷۱ (اگزون ۱ و ۲)، ۱۲۱۵ (اینترون ۳)، ۲۳۵۵ (اینترون ۴ و اگزون ۵)، محصولات حاصل از تکثیر توسط هر یک از آغازگرهای RP-L3، L1، RP-L5 و RP-L3 به‌ترتیب با اندونوکلازهای MboII، Eco72I و HaeII هضم شدند. چند شکلی‌ها بر اساس Li و همکاران (۲۰۰۶) انتخاب شدند (۸). مخلوط هضم حاوی ۷ میکرولیتر محصول PCR، ۵ میکرولیتر اندونوکلاز و ۹ میکرولیتر

¹ Ghrelin

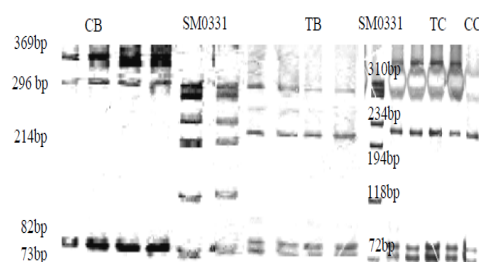
² Preproghrelin

³ Single Nucleotide Polymorphism

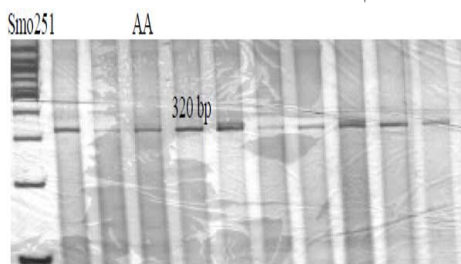
⁴ 5' UTR

⁵ Polymerase Chain Reaction

۳۷، ۴۷ و ۱۱ درصد را در جایگاه نوکلئوتیدی ۷۱ نشان داد (جدول ۲).



شکل ۱- محصول هضم جایگاه ۷۱ ژن گرلین. SM0331: نشانگر وزن مولکولی



شکل ۲- محصول هضم جایگاه ۱۲۱۵ ژن گرلین. SM0331: نشانگر وزن مولکولی

آلل B در این جایگاه آلل جدیدی بود که بعد از هضم دو قطعه با اندازه های ۷۳ و ۲۹۶ جفت باز تولید می کرد. این آلل تا به حال در هیچ یک از پژوهش های انجام شده در ارتباط با این جایگاه ژنی گزارش نشده است. در محصول حاصل از هضم جایگاه نوکلئوتیدی ۱۲۱۵ هیچ برشی مشاهده نشد و تمامی نمونه ها مونومورف (AA) بودند (شکل ۲). محصول تکثیر شده جایگاه نوکلئوتیدی ۲۳۵۵ قطعه ای با اندازه ۲۲۸ جفت باز بود که بعد از هضم با اندونوکلاز *HeaIII* دو الگوی بانندی شامل ۲ و ۳ باند (شکل ۳) را به ترتیب برای ژنوتیپ های BB و AB نشان داد.

آب مقطر بود که در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۳-۶ ساعت هضم شدند. شناسایی ژنوتیپ ها از طریق الکتروفورز محصولات هضم روی ژل پلی اکریل آمید ۱۲ درصد و شمارش مستقیم باندها روی ژل انجام پذیرفت.

تجزیه و تحلیل آماری

شاخصه های ژنتیک جمعیت با استفاده از نرم افزار POPGEN نسخه ۱/۳۲ برآورد شدند. ارتباط آماری نشانگر- صفات نیز با استفاده از رویه GLM در برنامه آماری SAS (SAS institute, 2002) و با استفاده از مدل آماری زیر انجام پذیرفت:

$$Y_{ijklm} = \mu + G_i + H_j + S_k + Co_l + e_{ijklm}$$

که Y_{ijklm} ارزش فنوتیپی صفت مورد نظر (وزن جوجه در زمان هج، وزن مرغ در ۸ و ۱۲ هفتگی)، μ میانگین کل جامعه برای هر یک از صفات مذکور، G_i اثر ژنوتیپ، H_j اثر هج ($j=1-4$)، S_k اثر جنس ($k=1,2$)، Co_l اثر کواریت و e_{ijklm} اثرات مرتبط به خطای تصادفی می باشند. با توجه به این که وزن جوجه در زمان هج می تواند صفات وزن در ۸ و ۱۲ هفتگی را تحت تاثیر قرار دهد، لذا از وزن جوجه در زمان هج به عنوان متغیر کمکی در مدل استفاده شد. در مقایسه بین اثر ژنوتیپ های مختلف بر میانگین صفات مورد نظر از آزمون چند دامنه ای دانکن استفاده شد.

نتایج و بحث

شاخصه های ژنتیک جمعیت ژن گرلین

نیمرخ الکتروفورزی RP-L1 بعد از هضم با اندونوکلاز *MboII* سه آلل T, C, B به ترتیب با فراوانی های ۴۲، ۲۹، ۲۹ و چهار ژنوتیپ TC, CC, TB و CB (شکل ۱) به ترتیب با فراوانی های ۵،

جدول ۱- توالی آغازگرهای استفاده شده در این تحقیق

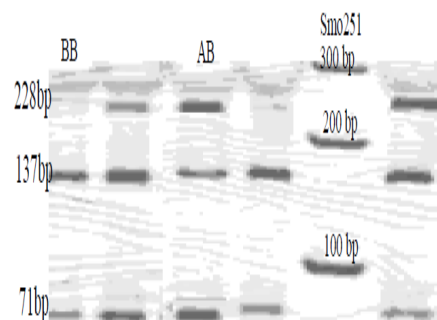
منبع	محصول (**bp)	Tm* (°C)	توالی آغازگر (۳'.....۵')	جایگاه
۸	۳۶۹	۵۷	F-TTTTGCCAGTTTCTCTGTAATAC R-CTAGAGCCAGCCAGAGCAGTTT	۷۱
۸	۳۲۰	۵۹	FTGAAGGGTATGTAGAAAAGGACATG RGGACAAGGGCACTAGAGGATAATTT	۱۲۱۵
۸	۲۲۸	۵۷	F-TATCTTTTGCCTTTTGTAGAACTTA R-GCCTACACGTCAGCCTGTGAT	۲۳۵۵

*Melting temperature

**base pair

و تحلیل آماری به ترتیب دارای ضرایب تبیین ۲۶، ۴۳ و ۴۵ درصد برای صفات HW، BW8 و BW12 بوده است. همان‌طور که در این تحقیق نشان داده شد، جایگاه نوکلئوتیدی ۲۳۵۵ ژن گرلین با وزن جوجه در زمان هج (HW) ارتباط معنی‌داری داشت. تاکنون ارتباط چند شکلی‌های ژن گرلین با صفات مرتبط به رشد در مرغ در مطالعات متعددی گزارش شده است (۱، ۶، ۸، ۱۳).

Li و همکاران (۲۰۰۶) یک قطعه ۲۶۵۶ جفت بازی از ژن گرلین مرغی را کلون کرده و جهش‌های تک نوکلئوتیدی آن‌را با استفاده از تکنیک‌های PCR-RFLP و ^۱ASP در ۱۲ نژاد مرغ بومی چینی و یک نژاد تجاری بررسی نمودند. مقایسات چند گانه وجود ارتباط معنی‌داری را بین ژنوتیپ CT جایگاه نوکلئوتیدی ۷۱ با برخی صفات رشد نظیر وزن بدن، قطر سینه و قطر درشت‌نی در ۲ نژاد تبتی و تجاری و بین ژنوتیپ AG جایگاه نوکلئوتیدی ۱۲۱۵ با وزن بدن در ۱۶ هفتگی در دو نژاد دیگر نشان دادند. آن‌ها دو آلل (C و T) و سه ژنوتیپ (CT، TT و TC) را در جایگاه نوکلئوتیدی ۷۱ در ۱۲ نژاد مرغ بومی چینی گزارش کردند (۸). در تحقیق حاضر، سه آلل (C، T و B) و چهار ژنوتیپ (TC، CC، TB و CB) در مرغان بومی مازندران شناسایی شدند. آلل B آلل جدیدی بود که برای اولین بار در جایگاه نوکلئوتیدی ۷۱ ژن گرلین در مرغان بومی مازندران شناسایی شد و در مقالات مورد بررسی مشاهده نشده است. در این تحقیق آلل T و ژنوتیپ TB بیشترین فراوانی‌ها را داشتند. در تحقیق حاضر ارتباط معنی‌داری بین جایگاه نوکلئوتیدی ۷۱ و صفات مورد مطالعه مشاهده نشد. Li و همکاران (۲۰۰۶) وجود تفاوت‌های معنی‌داری را بین ژنوتیپ‌های TT، CC و CT در جایگاه نوکلئوتیدی ۷۱ در ارتباط با وزن بدن در ۲، ۷ و ۱۶ هفتگی گزارش کرده و نشان دادند که افراد CT دارای بیش‌ترین نرخ رشد نسبت به سایر افراد هستند (۸). He و همکاران (۲۰۰۷) چند شکلی‌های جایگاه C2100T ژن گرلین مرغی را در یک جمعیت تنی شامل ۴۷۰ جوجه با استفاده از تکنیک‌های PCR-RFLP و تعیین توالی بررسی کردند. آن‌ها همچنین از داده‌های mRNA برای بررسی اثر این جایگاه روی



شکل ۳- محصول هضم جایگاه ۲۳۵۵ ژن گرلین. SM0331: نشانگر وزن مولکولی

فراوانی‌های آللی ۳۷ و ۶۳ درصد و فراوانی‌های ژنوتیپی ۲۵ و ۷۵ درصد در جایگاه ۲۳۵۵ به ترتیب برای آلل‌های A و B و ژنوتیپ‌های AB و BB برآورد شدند (جدول ۲).

جدول ۲- فراوانی‌های آللی و ژنوتیپی جایگاه‌های نوکلئوتیدی ۷۱، ۱۲۱۵ و ۲۳۵۵ ژن گرلین در مرغان بومی مازندران

فراوانی	جایگاه ۲۳۵۵			جایگاه ۷۱		
	ژنوتیپ	فراوانی	آلل	ژنوتیپ	فراوانی	آلل
۰/۲۵	AB	۰/۳۷۵	A	TC	۰/۴۲	T
۰/۷۵	BB	۰/۶۲۵	B	CC	۰/۲۹	C
				TB	۰/۲۹	B
				CB	۰/۱۱	

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه آماری ارتباط معنی‌دار ($p < 0.05$) بین اثر ژنوتیپ در جایگاه نوکلئوتیدی ۲۳۵۵ بر وزن جوجه‌ها در زمان هج (HW) را نشان داد به‌طوری که افراد دارای ژنوتیپ BB وزن بیشتری در زمان هج (HW) نسبت به افراد AB داشتند (جدول ۳). در تحقیق حاضر هیچ ارتباط معنی‌داری بین جایگاه‌های مطالعه شده و صفات وزن بدن در ۸ (BW8) و ۱۲ (BW12) هفتگی مشاهده نشد. بررسی‌های آماری همچنین ارتباط معنی‌دار ($p < 0.01$) بین هج و صفات مورد مطالعه را نشان داد به‌طوری که جوجه‌های متعلق به هج چهارم دارای کم‌ترین میانگین در مورد صفات مورد مطالعه نسبت به هج‌های دیگر بودند. بررسی آماری اثر جنسیت جوجه‌ها بر صفات مورد مطالعه نیز وجود ارتباط معنی‌دار ($P < 0.01$) بین جنس و وزن در ۸ و ۱۲ هفتگی را نشان داد به‌طوری که خروس‌ها دارای وزن بیشتری نسبت به مرغ‌ها بودند (جدول ۴). در تحقیق حاضر اثر کواریت (متغیر کمکی وزن جوجه در زمان هج) بر صفات مورد مطالعه معنی‌دار نشد. مدل تعریف شده برای تجزیه

¹ Allele specific primer - PCR

بیشترین فراوانی‌ها در نژادهای dogu و sikies و ژنوتیپ‌های AA، GG و AG نیز به‌ترتیب دارای بیشترین فراوانی‌ها در نژادهای xianju، bijing، chahua، langshan هستند (۸). در تحقیق حاضر، فراوانی ژنوتیپ BB (۰/۷۵) در مرغان بومی مازندران به فراوانی ژنوتیپ AA (۰/۷) در نژاد chahua چینی نزدیک بود. علاوه بر این، از بین سایر مطالعاتی که ارتباط معنی‌دار ژن گرلین را با صفات رشد در طیور نشان داده‌اند می‌توان به ارتباط معنی‌دار یک چند شکلی ۸ جفت‌بازی حذف/اضافه در اگزون شماره یک ژن گرلین با صفات رشد و ترکیب بدن در یک جمعیت تنی نسل دوم اشاره نمود (۱). Li (۲۰۰۹) چند شکلی‌های اگزون ۳ ژن گرلین و ارتباط آن‌ها را با صفات رشد بدن در اردک‌های نژاد Chaohu با استفاده از تکنیک PCR-RFLP بررسی نمودند. یک جایگزینی تک نوکلئوتیدی (گوانین به جای آدنین) در موقعیت ۵۴ جفت بازی اگزون ۳ شناسایی شد. سه ژنوتیپ AA، AB و BB در جمعیت اردک‌های مورد مطالعه مشاهده شدند. مطالعات آماری نشان دادند که جایگاه جهش یافته به‌طور بسیار معنی‌داری روی وزن بدن و عمق سینه ($p < 0.01$) و به‌طور معنی‌داری روی عرض سینه ($p < 0.05$) اثر دارد.

بیان ژن گرلین استفاده نمودند. سه ژنوتیپ (CC، CT و TT) در جایگاه C2100T شناسایی شدند. مطالعات آماری نشان دادند که جایگاه C2100T به‌طور معنی‌داری ($p < 0.05$) با وزن بدن در ۱، ۶ و ۹ هفتگی و ضخامت لایه چربی زیر پوستی ارتباط دارد. ارزش میانگین ژنوتیپ CC بیشتر از ژنوتیپ‌های CT و TT بوده و آلل C نیز نسبت به آلل T دارای بیان غالب بود (۳). در تحقیق حاضر ۲ آلل (A و B) و دو ژنوتیپ (AB و BB) در جایگاه نوکلئوتیدی ۲۳۵۵ ژن گرلین مشاهده شدند به‌طوری‌که آلل B و ژنوتیپ BB دارای بیشترین فراوانی‌ها بودند. در این جایگاه ژنوتیپ AA مشاهده نشده است همچنین در جایگاه ۱۲۱۵ تمامی نمونه‌ها یک ژنوتیپ نشان داد که حاکی از مونومورف بودن ژنوتیپ‌ها در این جایگاه می‌باشد که احتمالاً به دلیل کم بودن تعداد نمونه‌های مورد مطالعه بوده است. جایگاه نوکلئوتیدی ۲۳۵۵ به‌طور معنی‌داری ($p < 0.05$) با وزن جوجه در زمان هج مرتبط بوده و افراد BB دارای وزن بیش‌تری در زمان هج نسبت به افراد AB بودند. Li و همکاران (۲۰۰۶) نشان دادند که هیچ تفاوت معنی‌داری بین ژنوتیپ‌های مختلف جایگاه نوکلئوتیدی ۲۳۵۵ ژن گرلین در ۱۲ نژاد مرغ بومی چینی و یک نژاد تجاری وجود ندارد. آن‌ها گزارش کردند که در بین نژادهای مطالعه شده آلل‌های A و G دارای

جدول ۳- مقایسه میانگین ژنوتیپ‌های مختلف در جایگاه نوکلئوتیدی ۲۳۵۵ در مرغان بومی مازندران با روش دانکن

جایگاه	ژنوتیپ	HW	BW8	BW12
۲۳۵۵	AB	۳۷/۶۲b±۱/۱۴	۵۴۷/۴۶a±۲۷/۰۹	۱۰۵۲/۹۰a±۴۶/۱۱
	BB	۳۹/۹۰a±۱/۰۳	۵۶۸/۱۴a±۲۴/۵۶	۱۰۶۷/۴۸a±۴۱/۸۰

* میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند.

جدول ۴- مقایسه میانگین سطوح مختلف هج و جنس در مرغان بومی مازندران با روش دانکن

عامل	سطح	تعداد	HW	BW8	BW12
هج	۱	۲۳	۳۸/۲۵±۱/۱۸ ^{a*}	۵۶۳/۸۷±۲۸/۱۲ ^b	۱۱۴۶/۲۷±۴۷/۸۵ ^a
	۲	۲۵	۴۱/۲۵±۱/۱۹ ^a	۵۵۰/۶۷±۲۸/۳۶ ^b	۱۰۷۱/۱۱±۴۸/۲۷ ^a
	۳	۳۰	۳۸/۷۹±۱/۱۵ ^b	۶۱۶/۴۲±۲۷/۳۹ ^a	۱۰۶۴/۲۲±۴۶/۶۲ ^a
	۴	۱۸	۳۶/۷۶±۱/۲۶ ^d	۵۵۴/۲۲±۳۰/۰۳ ^b	۹۶۱/۱۸±۵۱/۱۱ ^b
جنس	مرغ	۱۴	۳۸/۳۳±۰/۹۵ ^a	۴۹۴/۷۳±۲۲/۶۷ ^b	۹۲۸/۲۱±۳۸/۵۸ ^b
	خروس	۸۲	۳۹/۱۹±۱/۲۶ ^a	۶۴۷/۸۶±۳۰/۰۳ ^a	۱۱۹۳/۱۷±۵۱/۱۱ ^a

* میانگین‌های دارای حروف مشابه فاقد اختلاف معنی‌دار هستند.

از وزن جوجه‌ها در زمان هج به عنوان کواریت در مدل آماری استفاده شد. تجزیه و تحلیل واریانس برای اثر کواریت نشان داد که تفاوت در اوزان جوجه‌ها در هج اثر معنی‌داری روی صفات وزن در ۸ و ۱۲ هفتگی نداشته است. با توجه به نتایج به دست مقدماتی به دست آمده در این تحقیق، انجام پژوهش‌های بیش‌تر در زمینه شناسایی چند شکلی‌های ژن گرلین و ارتباط آن با صفات تولیدی و تولید مثلی در ایستگاه‌های اصلاح نژاد مرغ بومی کشور با استفاده از تعداد نمونه‌های بیشتر می‌تواند اطلاعات جامع‌تری در اختیار ما قرار دهد.

سپاسگزاری

در پایان از زحمات کارکنان و مدیریت مرکز اصلاح نژاد مرغ بومی مازندران برای تامین نمونه‌ها کمال تشکر را داریم.

منابع

1. Fang M, Nie Q, Luo C, Zhang D, Zhang X (2007) An 8 bp indel in exon 1 of ghrelin gene associated with chicken growth. *Domestic Animal Endocrinology*, 32 (3): 216–225.
2. Fang M, Nie Q, Luo C, Zhang D, Zhang X (2010) Associations of GHSR gene polymorphisms with chicken growth and carcass traits. *Molecular Biology of Reproduction*, 37: 423–428.
3. He D, Fang M, Nie Q, Peng J, Deng Y, Zhang X (2007) Association of Ghrelin gene C2100T polymorphism with chicken growth and fat traits. *Guangdong Agricultural Sciences*, 4.
4. Kaiya H, Van der Geyten S, Kojima M (2002) Chicken ghrelin: purification, cDNA cloning, and biological activity. *Endocrinology*, 143 (9): 3454–3463.
5. Kishimoto, M, Okimura Y, Nakata H, Kudo T (2003) Cloning and characterization of the 5'(0)-flanking region of the human ghrelin gene. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 305: 186–192.
6. Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H, Kangawa K (1999) Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nat*. 6762: 656–660.
7. Lei M, Luo C, Peng X (2007) Polymorphism of growth correlated genes associated with fatness and muscle fiber traits in chickens. *Poultry Science*, 86 (5): 835–842.
8. Li C C, Li K, Li J, Mo D L, Xu R F, Chen G H, Qiangba Y Z, Ji S L, Tang X H, Fang B, Zhu M J, Xiong T A, Guan X, Liu B (2006) Polymorphism of ghrelin gene in twelve Chinese indigenous chicken breeds and its relationship with chicken growth traits.

همچنین افراد BB دارای وزن بدن، عمق و عرض سینه بیش‌تری نسبت به افراد AA و AB بودند (۹). تجزیه آماری ارتباط معنی داری ($p < 0.01$) را بین هج و صفات مورد مطالعه در این تحقیق نشان داد به‌طوری‌که نمونه‌های متعلق به هج چهارم دارای کم‌ترین میانگین در مورد صفات مورد مطالعه نسبت به هج‌های دیگر بودند. به‌نظر می‌رسد که کاهش اندازه تخم مرغ که با افزایش سن مادر اتفاق می‌افتد، سبب کم شدن میانگین وزن جوجه در زمان هج و متعاقب آن وزن در هشت و دوازده هفتگی در نمونه‌های مورد مطالعه شده باشد. بررسی آماری اثر جنسیت جوجه‌ها بر صفات مورد مطالعه وجود ارتباط معنی‌دار ($P < 0.01$) بین جنس و BW8 و BW12 را نشان داد به‌طوری‌که خروس‌ها دارای وزن بیش‌تری نسبت به مرغ‌ها بودند. از آن‌جایی که وزن جوجه‌ها در زمان هج می‌تواند وزن جوجه‌ها در سنین بعدی را تحت تاثیر قرار دهد لذا

Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 19 (2): 153–159.

9. Li J (2009) SNP Detection on the Polymorphism of Ghrelin Gene of Chaohu Duck and Association Analysis on its Polymorphism and Body Measurement Traits. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 10.

10. Lo H S, Wang Z, Hu Y, Yang H H, Gere S, Buetow K H, Lee M P (2003) Allelic variation in gene expression is common in the human genome. *Genome Research*, 13:1855–1862.

11. Matsumoto M, Hosoda H, Kitajima Y, Morozumi N (2001) Structure-activity relationship of ghrelin: pharmacological study of ghrelin peptides. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 287: 142–146.

12. Nie Q, Zeng H, Lei M, Ishag N A, Fang M, Sun B, Yang G, Zhang X (2004) Genomic organization of the chicken ghrelin gene and its single nucleotide polymorphisms detected by denaturing high-performance liquid chromatography. *British Poultry Science*, 45: 611–618.

13. Nie Q, Lei M, Ouyang J, Zeng H, Yang G, Zhang H (2005) Identification and characterization of single nucleotide polymorphisms in 12 chicken growth-correlated genes by denaturing high performance liquid chromatography. *Genetics Selection Evolution*, 37 (3): 339–360.

14. Nie, Q, Fang M, Xie L, Peng X, Xu H, Luo C, Zhang D, Zhang X (2009) Molecular Characterization of the Ghrelin and Ghrelin Receptor Genes and Effects on Fat Deposition in Chicken and Duck. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*: 1–12.

15. Paul D R, Kramer M, Rhodes D G, Rumpler W V (2005) Preprandial ghrelin is not affected by macronutrient intake, energy intake or energy

expenditure. Journal of Negative Results in BioMedicine, 4: 2-10.

16. Seim I, Carter S L, Herington A C, Chopin L K (2009) The proximal first exon architecture of the murine ghrelin gene is highly similar to its human orthologue. BMC Research Notes, 2: 85-92.

17. Wyszynska-Koko J, Pierzchala M, Flisikowski K, Kamyczek M, Rozycki M, Kury J (2006) Polymorphisms in coding and regulatory regions of the porcine MYF6 and MYOG genes and expression of the MYF6 gene in m. longissimus dorsi versus productive traits in pigs. Journal of Applied Genetics, 47:131-138.