بررسی ارتباط ژن *A-FABP* با صفات رشد و چربی لاشه در سویه طیور گوشتی آرین

حمیدرضا سیدآبادی[1*]، سیروس امیری نیا[2]، نورامیر مظفری[3]، رسول واعظ ترشیزی[4]، محمد چمنی[5]، علی جوانروح علی‌آباد[2]، زهرا رودباری[6]

تاریخ دریافت: ۸۹/۶/۱۲ تاریخ پذیرش: ۸۹/۱۱/۲۸

چکیده

هرچند انتخاب مرسوم بر اساس ارزش‌های فنوتیپی در جوجه‌های گوشتی موجب بهبود در سرعت رشد و بازده تولید گوشت شده است، ولی انتخاب برای سرعت رشد و کیفیت گوشت، باعث افزایش نقایص فیزیولوژیکی در طیور گردیده است. بنابراین انتخاب بر اساس نشانگرهای مولکولی می‌تواند برای افزایش بازده انتخاب مناسب باشد. هدف از انجام این تحقیق، تعیین چند شکلی ژن A-FABP و بررسی ارتباط آن با صفات رشد و ترکیبات لاشه در سویه تجاری طیورگوشتی آرین می‌باشد. بدین منظور، از تعداد ۴۰۰ قطعه جوجه گوشتی مربوط به ۴ خط پدری و مادری (A، B، C وD) نمونه خون تهیه شد و استخراج DNA از نمونه‌ها صورت گرفت. بعد از استخراج DNA، نمونه‌ها با استفاده از روش PCR-RFLP و آنزیم برشی TaqI شناسایی شدند. فراوانی ژنی و ژنوتیپی محاسبه شده برای جمعیت مورد مطالعه نشان داد که در هر ۴ خط فراوانی آلل B بیشتر از آلل A می باشد. مقایسه میانگین حداقل مربعات ژنوتیپ‌های مختلف نشان داد که چند شکلی ژنA-FABP با هیچ یک از صفات مورد مطالعه مثل وزن کل لاشه بدون محتویات شکمی، وزن پشت بدن و یا موارد دیگر ارتباط معنی‌داری ندارد. براساس نتایج حاصل از تحقیق حاضر می‌توان نتیجه گرفت که ژنA-FABP نمی‌تواند به عنوان ژن منتخب برای صفات رشد و ترکیبات لاشه در برنامه‌های اصلاح نژادی لاین طیور گوشتی ایرانی مورد استفاده قرارگیرد.

واژگان کلیدی: A-FABP ، صفات رشد، ترکیبات لاشه، چندشکلی، PCR-RFLP.

مقدمه

نیاز روز افزون جامعه به فرآورده‌های پروتئینی با منشأ حیوانی، استفاده از روش‌های نوین تولید و افزایش محصول را ضروری کرده است. در میان این فرآورده‌ها، گوشت مرغ در تغذیهٔ بشر از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. به همین دلیل در چند دههٔ گذشته تولید گوشت مرغ در بسیاری از کشورهای جهان از جمله ایران رشد زیادی داشته است و پیش‌بینی می‌شود که در آینده نیز ادامه یابد. برای افزایش تولید علاوه بر روش‌های نوین مدیریت، بهداشت و تغذیه، استفاده از

۱- دانشجوی دکتری، گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، تهران- ایران
۲- بخش بیوتکنولوژی، موسسه تحقیقات علوم دامی کشور، کرج، کرج- ایران
۳- گروه میکروبیولوژی دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، تهران- ایران
۴- گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تربیت مدرس ، تهران- ایران
۵- گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، تهران- ایران
۶- دانش آموخته کارشناسی ارشد دانشکده کشاورزی دانشگاه زابل، زابل- ایران
*- پست الکترونیکی نویسنده مسئول: h_seyedabadi@yahoo.com

روش‌های علمی اصلاح نژاد به همراه تکنیک‌های مولکولی ضروری می باشد.

پروتئین اتصالی به اسیدهای چرب (FABP)، عضوی از خانواده پروتئین‌های اتصالی به لیپیدها بوده و دارای وزن مولکولی پائین با تمایل بالا برای اتصال به اسیدهای چرب زنجیر بلند می‌باشد (٦). این پروتئین در انتقال اسیدهای چرب داخل سلولی، رشد و تمایز سلولی، سیگنال سلولی، رونویسی از ژن وحفاظت از آنزیم‌ها در مقابل اثرات توکسین‌ها نقش مؤثری دارد. این پروتئین همچنین نقش مهمی در تعدیل فعالیت آنزیمی و هدایت سیگنالی بر عهده دارد (١٦).

FABP داخل سلولی، شامل حداقل ۹ پروتئین مجزا و مشخص (پروتئین اتصالی به اسیدهای چرب کبدی، روده‌ای، قلبی، آدیپوسیتی، اپیتلیال، روده بزرگ، مغزی، میلینی و بیضه‌ای) می باشد. وزن مولکولی این پروتئین‌ها ١٤ تا ١٥ کیلو دالتون با طول متغییر بین ١٢٦ تا ١٣٤ اسیدآمینه می‌باشد (١٦).

ژن A-FABP در انسان، موش، سگ و طیور کلون و نقشه‌یابی شده است. این ژن بر روی کروموزوم ٢ طیور (١٢)، کروموزوم ٨ انسان (١١)، کروموزوم ٤ خوک (١٠)، کروموزوم ٣ موش (٧) و کروموزوم ١٤ گاو (٤) قرار دارد و دارای طولی به اندازه ٣ کیلو باز می‌باشد. مشابه با پستانداران، ژن A-FABP در پرندگان حاوی ٤ اگزون و ٣ اینترون می‌باشد که بیش از ١٣٢ اسید آمینه را کد می‌نماید (١٢). طول ٤ اگزون به ترتیب ٧٣، ١٧٣، ١٠٢ و ٥١ جفت باز و طول ٣ اینترون ١٢٤٠، ٢٢٣ و ٥١ جفت باز می‌باشد.

اگرچه روش انتخاب مرسوم بر اساس ارزش‌های فنوتیپی جوجه‌های گوشتی به طور قابل توجهی سرعت رشد و تولید گوشت را در چند دهه گذشته افزایش داده است، ولی به دلیل آنکه انتخاب فنوتیپ برتر همواره به معنای انتخاب ژنوتیپ برتر نیست و بسته به میزان دخالت واریانس محیطی در واریانس فنوتیپی، اختلاف بین فنوتیپ و ژنوتیپ وجود خواهد داشت، دقت انتخاب کاهش می‌یابد (٢). از سوی دیگر انتخاب بر اساس ارزش‌های فنوتیپی برای کاهش چربی لاشه قبل از کشتار امکان پذیر نمی‌باشد و لذا امروزه انتخاب به کمک نشانگرهای مولکولی برای افزایش بازده انتخاب و بهبود عملکرد تولیدی مدنظر می‌باشد و تلفیقی از روش‌های مرسوم انتخاب و روش‌های جدید مولکولی در آینده اصلاح نژاد طیور ترجیح داده خواهد شد (٣). استفاده از ژن‌های عمده وQTL ها در شاخص‌های بهینه انتخاب که در آن‌ها به پلی ژن‌ها و ژن عمده متناسب با سهم آن‌ها در واریانس ژنتیکی کل، ضریب اختصاص داده می شود، منجر به افزایش پیشرفت ژنتیکی و پاسخ به انتخاب می‌گردد.

Ye و همکاران (٢٠٠٧)، در تحقیق خود، دو جهش ترانزیشن C→T و G→A با استفاده از روش PCR-SSCP و توالی یابی مستقیم بر روی اینترون ٣ ژن A-FABP گزارش نمودند (١٥). یک جهش جدید G→A توسط Wang و همکاران (٢٠٠٩)، بر روی اگزون شماره ٣ ژن A-FABP در یک لاین جوجه گوشتی گزارش گردید که این جهش باعث تغییر اسید آمینه سرین به آسپارژین در پروتئینA-FABP می شود (١٤). در تحقیق انجام گرفته توسط Luo و همکاران (٢٠٠٦)، بر روی یک جمعیت مرغ بومی چینی، یک SNP دراگزون شماره ١ این ژن شناسایی شد (٩). Wangو همکاران (٢٠٠٦) ، در مطالعه خود روی اگزون ١ ژن A-FABP در دو لاین آزمایشی طیور گوشتی، جهش ترانزیشن C به T را گزارش نمودند. آن‌ها در این تحقیق نشان دادند که چند شکلی ناشی از این جهش، به طور معنی‌داری با صفات وزن بدن در٦ هفتگی، وزن لاشه، وزن و درصد چربی شکمی مرتبط است (P<٠/٠٥). نتایج این تحقیق نشان داد که پرندگانی با ژنوتیپ AB و BB برای تمام صفات از میانگین وزنی بالاتری برخوردار هستند (١٣).

با توجه به وجود ارتباط ژن A-FABP با صفات رشد و چربی و از آنجا که تاکنون تحقیقی بر روی

بررسی ارتباط چند شکلی این ژن با صفات رشد و ترکیبات لاشه در سویه‌های تجاری طیورگوشتی درکشور انجام نگرفته است، انجام این تحقیق و استفاده از نتایج آن در برنامه‌های اصلاح نژادی ضروری می‌باشد.

مواد و روش کار

جامعه آماری مورد مطالعه در این تحقیق خطوط پدری و مادری لاین طیورگوشتی آرین که در آن‌ها بر روی صفات مختلف تولیدی و تولیدمثلی انتخاب انجام شده است، مورد مطالعه قرار گرفت. لاین‌های پدری بر اساس صفات ماندگاری، وزن بدن، ضریب تبدیل غذایی، ضریب رشد، نطفه‌داری و جوجه درآوری و لاین‌های مادری از نظر صفات مربوط به تولید تخم مرغ و سایر صفات اقتصادی انتخاب می‌شوند.

برای مطالعه چند شکلی ژن A-FABP از پرندگان نسل ۱۵ یک گله تجاری طیور، نمونه‌گیری به عمل آمد. تعداد کل پرندگان موجود در چهار خط پدری و مادری گله FCR ٤٨٠٠ می‌باشد که در این تحقیق تعداد ٤٠٠ پرنده نر و ماده (هر خط حداکثر ۱۱۲ عدد) با شرایط پرورش یکسان به طور تصادفی انتخاب و نمونه‌گیری شدند.

وزن بدن در زمان هچ و پایان ٦ هفتگی (زمان کشتار) اندازه‌گیری شده و در٦ هفتگی همه پرندگان کشتار و پس از تجزیه لاشه، صفات وزن کل لاشه بدون محتویات شکمی، وزن پشت بدن (گردن، سینه و محوطه لگنی)، وزن عضله سینه، وزن عضله ران، وزن ودرصد چربی حفره بطنی اندازه گیری و ثبت گردیدند. قبل از کشتار، از تمام پرندگان به مقدار ۲ میلی‌لیترخون از سیاهرگ ناحیه مثلثی زیر بال، در تیوب‌های حاوی ماده ضد انعقادEDTA گرفته شد و نمونه‌های خون اخذ شده به آزمایشگاه بیوتکنولوژی مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور انتقال و تا زمان استخراج DNA در فریزر۲۰oc- نگهداری شدند. استخراج DNA از نمونه‌های خون کامل به روش بهینه شده و تغییر یافتهٔ استخراج نمکی انجام گردید (۸). کمیت و کیفیت نمونه‌های DNA استخراج شده به کمک دستگاه اسپکتروفتومتر-نانودراپ (Nano-Drop2000) بررسی گردید. بر اساس اطلاعات ژنومی از توالی ژن A-FABP آغازگرهای مورد نظر انتخاب شدند. توالی آغازگرهای مورد استفاده در این تحقیق به صورت زیر می‌باشد:

Forward: 5' AGA CTG CTA CCT GGC CTG ACA 3'
Reverse: 5' CAT CCT ACT GGA ATA CGG 3'

پس از آزمایش غلظت‌های مختلف اجزا PCR، شرایط بهینه PCR با حجم نهایی µl ۱۵ به صورت بافر PCR 1x، mM Mgcl2 ۲، آغازگرها µM ۰/۲۵، µM dNTPs ۲۰۰، یک واحد آنزیم Taq پلیمراز وDNA الگو به میزان ng ۱۵۰ در هر واکنش PCR بدست آمد. برنامه حرارتی مناسب برای آغازگر مورد مطالعه به صورت واسرشته‌سازی اولیه در ۹٤ درجه سانتیگراد به مدت ۳ دقیقه و ۳۵ سیکل شامل واسرشته-سازی اولیه در ۹٤ درجه سانتیگراد به مدت ۱ دقیقه، اتصال آغازگرها در دمای ۵۵ درجه سانتیگراد به مدت ۱ دقیقه و مرحله بسط در دمای ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۱ دقیقه انتخاب و بسط نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۸ دقیقه در نظر گرفته شد. پس از تکثیر، یک قطعه ۷۰۲ جفت بازی حاصل شد. عمل هضم آنزیمی با حجم ۱۰ میکرولیتر با استفاده از آنزیم برشی TaqI (۱۰ واحد آنزیمی در هر واکنش) در دمای ۵۵ درجه سانتیگراد و در طول شب بر روی محصول PCR انجام شد. یک جهش تک نوکلئوتیدی (SNP) در این قطعه تکثیری مورد شناسائی قرار گرفت. برای مشاهده قطعات هضم شده از ژل آگارز ۱/۵ درصد و ولتاژ ۱۵۰ به مدت ۱ ساعت استفاده شد. رنگ‌آمیزی ژل با اتیدیوم بروماید صورت گرفت و قطعات تکثیر شده زیر لامپ UV مشاهده گردیدند.

اطلاعات بدست آمده با استفاده از مدل آماری زیر و با روش GLM در نرم‌افزار آماری MINITAB 14 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت (۱).

$$yijkl = \mu + Genotypei + Sexj + Linek + Genotypei \times Sexj + Genotypei \times Linek + Genotypei \times Linek \times Sexj + Sire(Line) + dam (Line\ Sire) + eijkl$$

در این مدل yijkl: ارزش فنوتیپی صفات مورد مطالعه، μ : میانگین ارزش‌های فنوتیپی صفات و e: اثر باقیمانده می‌باشد. عوامل ژنوتیپ (Genotype)، جنس (Sex) و لاین (Line) به عنوان اثرات ثابت و اثر والد نر(sire) و والد ماده (dam) به عنوان اثرات تصادفی در مدل وارد گردیدند.

ارزش‌های فنوتیپی صفات مورد نظر در سطوح مختلف ژنوتیپ‌های جایگاه‌های مورد مطالعه با استفاده از میانگین حداقل مربعات داده‌ها (LSM) محاسبه شده، مورد بررسی قرار گرفت. برای برآورد فراوانی آلل‌ها، محاسبه هتروزیگوتی و آزمون کای مربع(χ^2) از نرم افزار Pop Gene 3.1 استفاده گردید.

برای برآورد اثرات جایگزینی آللی از رابطه زیر استفاده شد.

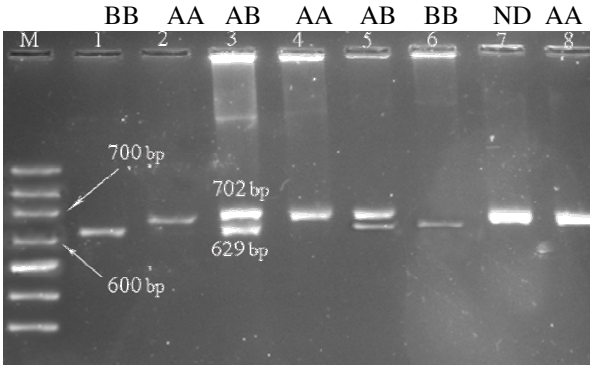
$$yijkl = \mu + Sexj + Linek + Sire(Line) + dam (Line\ Sire) + b\ (X) + eijkl$$

X: متغییر کمکی کد اختصاص داده شده برای هر ژنوتیپ می باشد.

متوسط اثرجایگزینی آللی از طریق اختصاص کدهایی برای ژنوتیپ‌ها (صفر برای ژنوتیپ هموزیگوت دارای کمترین عملکرد فنوتیپی در جایگاه مورد نظر، ۱ برای ژنوتیپ هتروزیگوت و ۲ برای ژنوتیپ دارای بیشترین عملکرد فنوتیپی در جایگاه مورد مطالعه) برآورد گردید.

نتایج

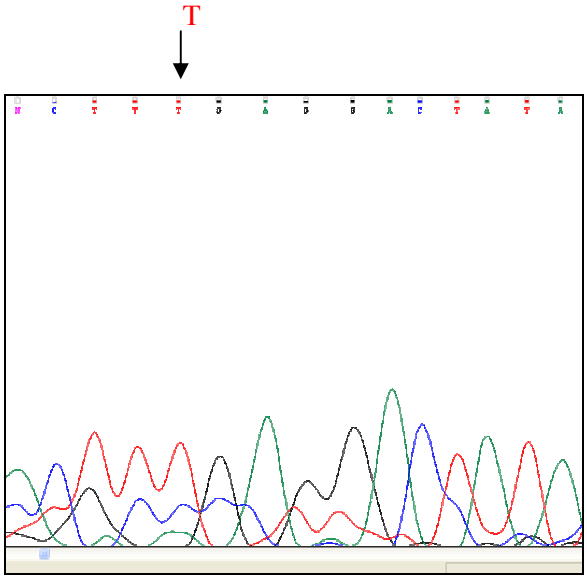
جهش C به T بر روی اگزون یک ژن A-FABP، یک جایگاه برش برای آنزیم TaqI ایجاد می‌کند. توالی همجوار این جایگزینی به صورت GAAACTTC/TGAGGA می‌باشد که وجود باز سیتوزین (C) در توالی نوکلئوتیدی، امکان برش را برای آنزیم فراهم کرده و وجود باز تیمین (T) مانع از هضم قطعه تکثیر شده توسط آنزیم می شود. بنابراین هضم محصول ۷۰۲ جفت باز تکثیر شده با آنزیم TaqI باعث ایجاد یک قطعه‌ی برش نیافته (۷۰۲ جفت باز) برای ژنوتیپ AA، دو قطعه برش خورده ٦٢٩ و ۷۳ جفت باز برای ژنوتیپ هموزیگوت BB و سه قطعه ۷۰۲، ٦٢٩ و۷۳ جفت باز برای ژنوتیپ هتروزیگوت AB می شود که قطعه ۷۳ جفت باز به دلیل کوچکی قطعه از ژل خارج شده است (شکل ۱).



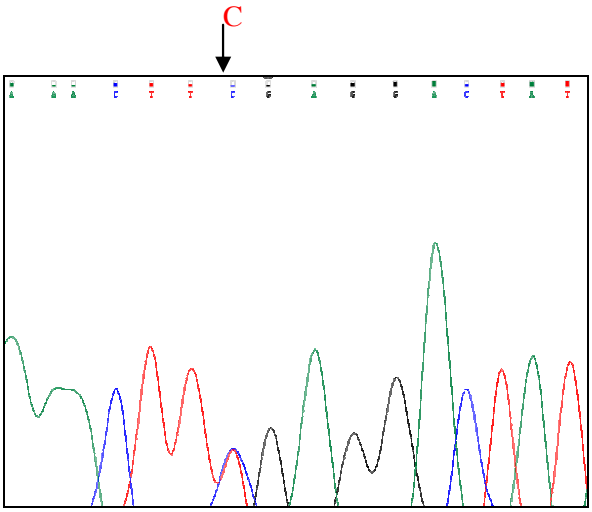
شکل ۱- محصولات هضم قطعه ۷۰۲ جفت باز اگزون ۱ ژن A-FABP با آنزیم *TaqI* بر روی ژل آگارز ۲ درصد.

در این شکل ستون‌های شماره ۲، ٤ و۸ بیانگر ژنوتیپ‌هایAA، ستون‌های شماره ۳ و ٥ بیانگر ژنوتیپ AB، ستون‌های شماره ۱ و ٦ بیانگر ژنوتیپ BB و ستون ۷ و M به ترتیب نشان دهنده قطعات هضم نشده و مارکر با فواصل ۱۰۰ جفت است.

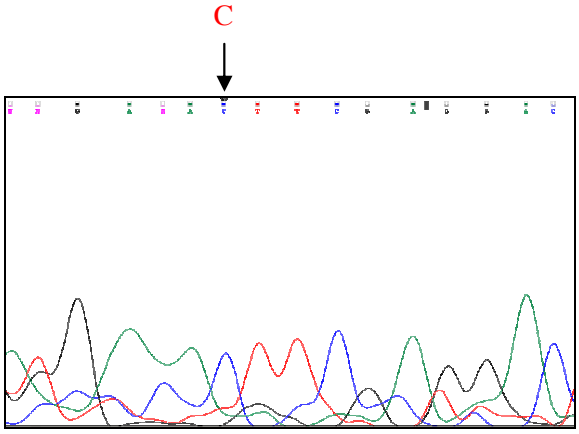
برای تأیید نتایج حاصل از PCR-RFLP ، برخی از نمونه‌ها با ژنوتیپ متفاوت تعیین توالی گردیدند. با بررسی نتایج تعیین توالی، نتایج حاصل از PCR-RFLP مورد تأیید قرار گرفت (شکل۲، ۳ و ٤).



شکل ۲- نتایج تعیین توالی ژنوتیپ AA



شکل ۳- نتایج تعیین توالی ژنوتیپ AB



شکل ۴- نتایج تعیین توالی ژنوتیپ BB

فراوانی ژنی و ژنوتیپی محاسبه شده برای جمعیت مورد مطالعه در جدول شماره ۱ نشان داده شده است. در هر ٤ خط فراوانی آلل B بیشتر از آلل A بود. مقایسه تعداد افراد مشاهده شده و مورد انتظار برای هر ژنوتیپ در ٤ خط (A، B، C، D) با استفاده از آزمون کای مربع(χ^2) نشان داد که مقدار آماره محاسبه شده در دو خط C و D کوچکتر از ارزش بحرانی جدول کای مربع (۳/۸٤۱) بوده و نشان داد که توزیع ژنوتیپ‌ها در این خطوط در حالت تعادل می‌باشد که یکی از دلایل وجود تعادل، عدم ارتباط بین ژن A-FABP با صفات انتخابی در این جمعیت‌ها می‌باشد. ولی توزیع ژنوتیپ‌ها در خطوط A و B از تعادل خارج است (جدول شماره ۲). یکی از دلایل عدم وجود تعادل در خطوط A و B، احتمال پیوسته بودن ژن A-FABP با ژن‌های مرتبط با صفات انتخابی در این جمعیت‌ها باشد.

جدول ۱- فراوانی مشاهده شده ژنوتیپی و آللی در جایگاه A-FABP

جمعیت	فراوانی ژنوتیپی						فراوانی آللی	
	AA		AB		BB		A	B
	تعداد	فراوانی	تعداد	فراوانی	تعداد	فراوانی	فراوانی	فراوانی
خط A	۱	۰/۰۱۲	۰	۰/۰۰	۸۳	۰/۹۸۸	۰/۰۱۲	۰/۹۸۸
خط B	۶	۰/۰۸۴	۷	۰/۰۹۸	۵۸	۰/۸۱۷	۰/۱۴	۰/۸۶
خط C	۱	۰/۰۱۳	۶	۰/۰۸۱	۶۸	۰/۹۲	۰/۰۵۳	۰/۹۴۶
خط D	۶	۰/۰۶۵	۱۴	۰/۱۵۲	۷۲	۰/۷۸۲	۰/۱۳۲	۰/۸۶۷

جدول ۲- آزمون کای مربع برای بررسی توزیع ژنوتیپ ها

جمعیت	آماره χ^2	$Pr > \chi^2$
خط A	۱۶۷	۰/۰۰
خطB	۲۴/۸۵	۰/۰۰
خطC	۲/۴۵	۰/۱۱۷
خطD	۰/۰۵	۰/۸

آنالیز آماری داده‌ها نشان داد که اثر متقابل بین اثرات ثابت معنی دار نمی‌باشد. همچنین چندشکلی در ژن A-FABP با هیچ یک از صفات مورد مطالعه ارتباط معنی داری نشان نداد (P>۰/۰۵). نتایج نشان داد که پرندگان با ژنوتیپ BB نسبت به ژنوتیپ AA، برای صفات وزن بدن، وزن لاشه، وزن عضله سینه، وزن ران و وزن چربی شکمی دارای میانگین حداقل مربعات بالاتری و ژنوتیپ AA برای صفات وزن بال، وزن پشت و درصد وزن پشت نسبت به ژنوتیپ‌های دیگر دارای میانگین حداقل مربعات بالاتری می باشد (جدول شماره ۳). بنابراین می توان مطابق با برنامه اصلاحی برای هر خط، نسبت به افزایش یا کاهش فراوانی هر یک از آلل‌های A و B اقدام نمود.

برآورد متوسط اثرات جایگزینی آللی در چند شکلی TaqI-RFLP نشان داد (جدول شماره ٤) که اثرجایگزین شدن آلل B به جای آلل A برای صفات وزن بدن در ٦ هفتگی، وزن لاشه، وزن عضله سینه و وزن ران و اثرجایگزین شدن آلل A به جای آلل B برای صفات وزن بال، وزن پشت، وزن چربی شکمی و درصد وزن پشت معنی‌دار نمی‌باشد (p>۰/۰۵). این ارقام نشان می‌دهد که جایگزین شدن آلل B باعث افزایش میانگین ارزش‌های فنوتیپی برای صفات وزن بدن در ٦ هفتگی، وزن لاشه، وزن عضله سینه و وزن ران، به ترتیب به میزان ۱۷/۱٦ کیلوگرم، ۱۵/٦۳ کیلوگرم، ۰/۳۲ کیلوگرم و ۱٤/۹۵ کیلوگرم می‌شود. همچنین نتایج نشان داد جایگزین شدن آلل A باعث افزایش میانگین ارزش‌های فنوتیپی به میزان ۱/۸ کیلوگرم ، ۸/۱۱ کیلوگرم و ۳/۵ کیلوگرم به ترتیب برای صفات وزن بال، وزن پشت، وزن چربی شکمی و ۰/٤۷ درصد برای صفت درصد وزن پشت می‌شود. این نتایج با نتایج تحقیقات Wang و همکاران (۲۰۰٦)، که در آن تاثیر آلل B در افزایش میانگین فنوتیپی صفات وزن بدن در ٦ هفتگی ذکر شده است، مطابقت دارد (۱۳).

جدول ۳- میانگین حداقل مربعات ژنوتیپ‌های A-FABP برای صفات رشد و ترکیبات بدن

صفت	P-value	AA	AB	BB
وزن بدن در ۶ هفتگی	۰/۹۷۴	۲۳۶۴/۵±۲۴۶/۴۲	۲۴۲۹/۵±۱۴۸/۸۳	۲۴۲۴/۹۳±۵۰/۶
وزن لاشه	۰/۹۷۶	۱۶۳۲/۲±۱۶۷/۲	۱۶۴۵/۷±۱۰۰/۴۲	۱۶۵۷/۲۵±۳۳/۱
وزن عضله سینه	۰/۹۹۵	۵۴۰/۱±۸۳/۴۸	۵۴۷/۶±۵۰/۳۲	۵۴۴/۱±۱۶/۲۱
وزن ران	۰/۵	۴۸۱±۴۱/۳۵	۴۴۴/۹±۲۶/۹	۴۸۳/۱±۸/۲۱
ون بال	۰/۸۸۴	۱۹۹/۳۶± ۱۹/۳۵	۱۸۵/۳۶±۱۲/۳	۱۸۹/۴۷±۴/۲۱
وزن پشت	۰/۴۴	۴۰۱/۱± ۲۷/۴۲	۳۵۲/۹۲±۱۶/۴۷	۳۶۳/۶۴±۵/۷۶
وزن چربی شکمی	۰/۸۳۶	۲۴/۲۵±۱۴/۲	۲۱/۷۸±۹/۷۳	۲۸/۵۶±۳/۲
درصد وزن لاشه	۰/۴۲	۶۹±۰/۷	۶۹±۰/۴	۶۹±۰/۱
درصد وزن عضله سینه	۰/۹۲۳	۲۲/۷۴±۰/۷	۲۲/۶۶±۰/۴	۲۲/۷۴±۰/۱
درصد وزن ران	۰/۹۷۶	۲۲/۷±۰/۹	۲۲/۵±۰/۵	۲۲/۷±۰/۱
درصد وزن بال	۰/۹۶	۷/۹±۰/۷	۸±۰/۴	۷/۹±۰/۱
درصد وزن پشت	۰/۲۵۸	۱۷±۰/۱	۱۴±۰/۱	۱۵±۰/۱
درصد وزن چربی شکمی	۰/۹۹۷	۱/۱۶±۰/۱	۱±۰/۱	۱±۰/۱۳

برآورد متوسط اثرات جایگزینی آللی در چند شکلی TaqI-RFLP نشان داد (جدول شماره ٤) که اثرجایگزین شدن آلل B به جای آلل A برای صفات وزن بدن در ٦ هفتگی، وزن لاشه، وزن عضله سینه و وزن ران و اثرجایگزین شدن آلل A به جای آلل B برای صفات وزن بال، وزن پشت، وزن چربی شکمی و درصد وزن پشت معنی‌دار نمی‌باشد (p>۰/۰۵). این ارقام نشان می‌دهد که جایگزین شدن آلل B باعث افزایش میانگین ارزش‌های فنوتیپی برای صفات وزن بدن در ٦ هفتگی، وزن لاشه، وزن عضله سینه و وزن ران، به ترتیب به میزان ۱۷/۱٦ کیلوگرم، ۱۵/٦۳ کیلوگرم، ۰/۳۲ کیلوگرم و ۱٤/۹۵ کیلوگرم می‌شود. همچنین نتایج نشان داد جایگزین شدن آلل A باعث افزایش میانگین ارزش‌های فنوتیپی به میزان ۱/۸ کیلوگرم ، ۸/۱۱ کیلوگرم و ۳/۵ کیلوگرم به ترتیب برای صفات وزن بال، وزن پشت، وزن چربی شکمی و ۰/٤۷ درصد برای صفت درصد وزن پشت می شود. این نتایج با نتایج تحقیقات Wang و همکاران (۲۰۰٦)، که در آن تاثیر آلل B در افزایش میانگین فنوتیپی صفات وزن بدن در ٦ هفتگی ذکر شده است، مطابقت دارد (۱۳).

جدول ۴- متوسط اثرات جایگزینی آللی برای چند شکلی TaqI -RFLP در اگزون ۱ ژن A-FABP برای ارزش‌های فنوتیپی صفات رشد و ترکیبات بدن

صفت	P-value	ضریب تابعیت[1]	خطای استاندارد
وزن بدن در ۶ هفتگی	۰/۸۶	۱۷/۱۶	۹۴/۱۳
وزن لاشه	۰/۸۲	۱۵/۶۳	۶۴
وزن عضله سینه	۰/۹۹	۰/۳۲	۳۲
وزن ران	۰/۴۵	۱۴/۹۵	۱۸/۶
ون بال	۰/۸۳	۱/۸	۸
وزن پشت	۰/۵۳	۸/۱۱	۱۲/۱۲
وزن چربی شکمی	۰/۵۶	۳/۵	۵/۴۶
درصد وزن پشت	۰/۳۲	۰/۴۷	۰/۴۸

۱: ضریب تابعیت نشان دهنده متوسط اثر جایگزینی آللی

بحث

صفات رشد و کیفیت لاشه جزء مهمترین صفات اقتصادی در جوجه‌های گوشتی می‌باشند. امروزه کیفیت لاشه و بازارپسند بودن آن مورد توجه تولیدکنندگان و مصرف کنندگان می‌باشد و روز به روز بر اهمیت آن در بازارهای جهانی افزوده می‌شود. مشابه با دیگر صفات اقتصادی مهم، صفات رشد و چربی نیز بوسیله تعداد زیادی ژن که اثر برخی از آن‌ها زیاد (ژن عمده) و اثر بسیاری دیگر کم می‌باشد، کنترل می‌شوند. اگر چه تعداد ژن‌های مؤثر بر یک صفت مانند صفات رشد و چربی نامشخص است، اما تعدادی ژن کاندید مؤثر بر روی این صفات شناسائی شده است. مدل ژن عمده پیشنهاد می‌کند تعداد کمی ژن می‌تواند سهم عمده‌ای از تنوع ژنتیکی را به خود اختصاص دهد. پیشرفت‌های اخیر در ژنتیک مولکولی امکان شناسائی و تعیین توالی این ژن‌ها را فراهم نموده است (۵). ژن A-FABP به عنوان ژن کاندیدا جهت بررسی ارتباط چندشکلی این ژن با صفات رشد و ترکیبات بدن در سویه تجاری طیورگوشتی آرین مورد مطالعه قرار گرفت.

مشابه با تحقیق حاضر Wang و همکاران (۲۰۰٦)، در مطالعه خود روی اگزون ۱ ژن A-FABP در دو لاین آزمایشی مورد مطالعه در سایت برش آنزیم TaqI چند شکلی ترانزیشنC→T را گزارش نمودند (۱۳).

فراوانی ژنی و ژنوتیپی محاسبه شده برای جمعیت مورد مطالعه نشان داد که در هر ٤ خط فراوانی آلل B بیشتر از آلل A بود. Wang و همکاران (۲۰۰٦)، فراوانی آلل A وB را به ترتیب ۰/۵۰٦ و ۰/٤۹٤ را برای جمعیت مورد مطالعه گزارش نمودند که با فراوانی آللی حاصل شده در تحقیق حاضر مغایرت دارد. دلیل این مغایرت می تواند ناشی از جمعیت‌های مورد مطالعه متفاوت باشد (۱۳).

رشد و ترکیبات بدن منعکس کننده رشد و نمو همه اندام‌های بدن در طیور می‌باشد و تظاهر فنوتیپی این صفات نتیجه اثر متقابل ژنتیک، تغذیه و فاکتورهای

محیطی می‌باشد (۱۳). مقایسه میانگین حداقل مربعات صفات مورد مطالعه با ژنوتیپ‌های مختلف نشان داد که چندشکلی در ژن A-FABP با هیچ یک از صفات مورد مطالعه ارتباط معنی‌داری ندارد ($p>0/05$).

در تحقیق Wang و همکاران (۲۰۰٦)، بر روی ٤٥٥ قطعه جوجه گوشتی مربوط به دو لاین گوشتی تحقیقاتی چینی، با استفاده از روش PCR-RFLP و تعیین توالی، نشان داده شد که چند شکلی ناشی از تبدیل باز C به T در اگزون یک ژنA-FABP، به طور معنی‌داری با صفات وزن بدن در ٦ هفتگی، وزن لاشه، وزن و درصد چربی شکمی مرتبط است ($p<0/05$). نتایج این تحقیق نشان داد که پرندگانی با ژنوتیپ AB و BB برای تمام صفات از میانگین وزنی بالاتری برخوردار هستند (۱۳). یکی از دلایل مغایرت نتایج این تحقیق با نتایج تحقیق حاضر، احتمالاً ناشی از عدم تعادل لینکاژی بین SNP مورد مطالعه با دیگر جهش‌های موجود در ژنA-FABP یا دیگر ژن‌های پیوسته که به طور مستقیم در تنظیم این صفات نقش دارند، می‌باشد.

در تحقیقی مشابه، Luo و همکاران (۲۰۰٦)، تأثیر چند شکلی ژن A-FABP بر روی صفات رشد و ترکیبات بدن را در جوجه‌های گوشتی نژاد بومی چینی (beijang-You) مورد مطالعه و نتایج آنالیز واریانس نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین درصد چربی احشائی، ضخامت چربی زیر جلدی و میزان چربی داخل عضلانی در ماهیچه سینه در بین ژنوتیپ‌های این ژن وجود دارد (۹).

Ye و همکاران (۲۰۰۷)، در تحقیقی که بر روی ٦ سویه مرغ بومی چینی انجام دادند، ارتباط معنی‌داری بین چند شکلی ژن A-FABP با صفات وزن بدن، چربی داخل عضلانی و درصد چربی شکمی گزارش نمودند که با نتایج تحقیق حاضر مغایرت دارد (۱۵). یکی از دلایل این مغایرت‌ها، احتمالاً تفاوت در برنامه‌های اصلاحی اجرا شده در این جمعیت‌ها در مقایسه با جمعیت‌های مورد بررسی در تحقیق حاضر می‌باشد.

به طور کلی در جوجه‌های گوشتی که تحت برنامه‌های شدید اصلاح نژادی هستند، باید به طور همزمان کاهش هزینه‌ها، بهبود کیفیت تولیدی و سلامت پرنده مدنظر قرار گیرد. لذا باید در شاخص‌های انتخاب صفات شایستگی و رشد منظور گردند. علاوه بر مشکل اندازه‌گیری این قبیل صفات، همبستگی بین این صفات، پیچیده می‌باشد. انتخاب به کمک نشانگر(MAS) می‌تواند یک گزینه مطلوبی برای بهبود برنامه‌های اصلاح نژادی مورد توجه قرار گیرد. نتایج حاصل از مطالعه اخیر نشان داد که چند شکلی ناشی از جهش در ژن A-FABP با هیچ یک از صفات مورد مطالعه در این تحقیق مرتبط نبوده و لذا نمی‌توان از این جایگاه به عنوان یک نشانگر بالقوه در برنامه‌های انتخاب به کمک نشانگر استفاده نمود.

منابع

1- Barbara, F., Ryan, B., Joiner, L., Thomas, A. (1985): *Minitab Handbook*, 2nd ed. Duxbury.

2- Burt, D. W., Dey, B. R., Paton, I. R., Morrice, D. R., Law, A. S. (1995): The chicken transforming growth factor-beta 3 gene: genomic structure, transcriptional analysis, and chromosomal location. DNA Cell Biology. 14, 2:111-23.

3- Emara, M. G., Kim, H. (2003): Genetic markers and their application in poultry breeding. Poultry Science. 82:952–957.

4- Everts-van der Wind, A., Kata, S. R., Band, M. R., Rebeiz, M., Larkin, D. M., Everts, R. E. (2004): A 1463 gene cattle-human comparative map with anchor points defined by human genome sequence coordinates. Genome Research. 14: 1424–1437.

5- Falconer D. S., Mckay, T. F. C. (1996): Introduction to quantitative genetics. 4th ed. Longman Sel., Harlow, UK.

6- Glatz, J. F., Veerkamp, J. H. (1985): Intracellular fatty-acid binding proteins. International. Journal. Biochemical. 17:13–22.

7- Hudson, T. J., Church D. M., Greenaway, S., Nguyen, H., Cook, A., Oteen, R. G. (2001): A radiation hybrid map of mouse genes. Natuare Genetics. 29: 201–205.

8- Javanrouh, A., Bañabais, M. H., Esmaeilkhanian, S., Amirinia, C., Seyedabadi, H. R., Emrani, H. (2006): Optimization onsalting out method for DNA extraction from animal and poultry blood cells. The 57th Annual Meeting of the European Association for Animal Production. Antalya, Turkey.

9- Luo, G. F., Chen, J. L., Wen, J., Zhao, G. P., Zheng, M. Q ., Sun, S. D. (2006): Study of single nucleotide polymorphism of A-FABP gene and its association with fatness traits in chicken. Yi Chuan. 28,1:39-42.

10- Mercade, A., Perez-Enciso, M., Varona, L., Alves, E., Noguera, J. L., Sanchez, A., Folch, J. M. (2006): Adipocyte fatty-acid binding protein is closely associated to the porcine locus on FAT1chromosome 4. Journal of Animal Science. 84:2907-2913.

11- Prinsen, C. F. M., de Bruijn, D. R. H., Merkx, G. F. M., Veerkamp, J. H. (1997): Assignment of the human adipocyte fatty acid-binding protein gene (FABP4) to chromosome 8q21 using somatic cell hybrid and fluorescence in situ hybridization techniques. Genomics 40: 207–209.

12- Wang, Q., Li, H., Li, N., Gu, Z., Wang, Y. (2004): Cloning and characterization of chicken adipocyte fatty acid binding protein gene. Animal. Biotechnology. 15:121–132.

13- Wang, Q., Li, H., Li, N., Leng, L., Wang, Y., Tang, Z. (2006): Identification of single nucleotide polymorphism of adipocyte fatty Acid-Binding protein gene and Its association with fatness traits in the Chicken. Poultry Science. 85:429–434.

1. 14-Wang, Q., Guan, T., Li, H., Bernlohr, D. A. (2009): A novel polymorphism in the chicken adipocyte fatty acid-binding protein gene (FABP4) that alters ligand-binding and correlates with fatness. Biochem Molecular Biology. 154(3):298-302.

14- Ye, X., Avendano, S., Dekkers, J. C. M., Lamont, S. J. (2006): Association of Twelve Immune-Related Genes with Performance of Three Broiler Lines in Two Different Hygiene Environments. Poultry Science 85:1555–1569.

15- Zimmerman, A. W., Veerkamp, J. H. (2002): New insights into the structure and function of fatty acid-binding proteins. Cell. Molecular. Life Science. 59:1096–1116.