ژنتیک نوین
دوره چهاردهم، شماره ٤، زمستان ١٣٩٨
صفحه ٣٢٦ - ٣١٩

# شناسایی چندشکلی در جایگاه ژنی *IGF-I* و ارتباط آن با فاکتور وضعیت در تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*)

# Detection of polymorphism in *IGF-I* gene and its association with condition factor in the Persian sturgeon fish (*Acipencer persicus*)

زهرا زین‌الدینی‌میمند[1]، سکینه یگانه*[1]، قدرت رحیمی میانجی[2]، ایوب فرهادی[2]

١- به‌ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، دانشیار، گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
٢- به‌ترتیب استاد، دانشیار، گروه علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

**Zeinaddini Meymand Z[1], Yeganeh S[*1], Rahimi-Mianji Gh[2], Farhadi A[2]**

1. Graduated MSc Student, Associate Professor, Department of Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University
2. Professor, Associate Professor, Department of Animal Sciences, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: s.yeganeh@sanru.ac.ir

(تاریخ دریافت: ٩٦/٩/١٩ - تاریخ پذیرش: ٩٨/٩/٢٧)

## چکیده

**هدف از این پژوهش بررسی چندشکلی‌های موجود در ژن *IGF-I* تاس‌ماهی ایرانی (*Acipencer persicus*) با استفاده از تکنیک PCR-SSCP و هم‌چنین بررسی ارتباط این چندشکلی‌ها با صفات مرتبط به رشد ماهی (فاکتور وضعیت، طول و وزن بدن) بود. در این تحقیق تعداد ٩٥ عدد تاس‌ماهی ایرانی به‌طور تصادفی از یکی از مزارع پرورشی استان گیلان انتخاب شده و نمونه‌های مورد نیاز برای استخراج DNA از باله دمی جداسازی شدند. DNA به روش نمکی بهینه‌سازی شده استخراج و دو قطعه ١٧١ و ٣٦٢ جفت‌بازی به‌ترتیب از نواحی 5′-UTR و 3′-UTR ژن مورد نظر تکثیر شدند. تعیین ژنوتیپ افراد در نمونه‌های تاس‌ماهی ایرانی، سه الگوی باندی مختلف K, M و G برای جایگاه‌های ١٧١ و ٣٦٢ جفت‌بازی به‌ترتیب با فراوانی‌های ١٣، ٣٩، ٤٨ و ٣١، ٤٩، ٢٠ درصد را نشان داد. ژنوتیپ K در جایگاه ژنی 3′-UTR و ژنوتیپ M در جایگاه ژنی 5′-UTR دارای بیش‌ترین فراوانی ژنوتیپی بود. تجزیه و تحلیل نشانگر- صفت با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS هیچ ارتباط معنی‌دار آماری را بین الگوهای باندی مشاهده‌شده در جایگاه‌های نشانگری و صفات مرتبط با رشد ماهیان مورد بررسی (فاکتور وضعیت، طول و وزن بدن) نشان نداد. با توجه به اهمیت جایگاه IGF-I به‌عنوان یک ژن کاندید احتمالی مؤثر بر صفات مرتبط به رشد، مطالعه این جایگاه ژنی در جمعیت‌هایی با اندازه بزرگ‌تر پیشنهاد می‌شود.**

## واژه‌های کلیدی

تاس‌ماهی ایرانی
چندشکلی
PCR-SSCP
3/-UTR
5/-UTR
*Acipenser persicus*

[ Downloaded from mg.genetics.ir on 2024-04-19 ]

[ DOR: 20.1001.1.20084439.1398.14.4.6.6 ]

## مقدمه

ماهیان خاویاری از جمله مهم‌ترین و با ارزش‌ترین ماهیان اقتصادی دریای خزر به‌دلیل قدمت طولانی و تولید محصولات بسیار با ارزش نظیر خاویار می‌باشند (PeykanHeyrati et al. 2010). تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) یکی از گونه‌های ارزشمند بخش میانی و جنوبی دریای خزر به‌خصوص بسترهای شنی نواحی نزدیک به ساحل می‌باشد. این گونه نخستین بار توسط بورودین در رودخانه اورال شناسایی شد که برای تخم‌ریزی منحصرا وارد رودخانه‌های بخش جنوبی دریای خزر شده و در رودخانه‌های شمالی خزر دیده نمی‌شود (Salmroudi et al. 2013). گوشت و خاویار تاس‌ماهی ایرانی دارای ارزش غذایی زیادی می‌باشد، به‌طوری‌که گوشت آن ۱۱ درصد چربی و ۱۵/٦ درصد پروتئین دارد و خاویار آن نیز دارای ۱۱ تا ۱٦ درصد چربی و ۲۳ تا ۲۷ درصد پروتئین است. در سواحل ایران، ۱۵/۷۵ درصد از وزن بدن این ماهی را خاویار تشکیل می‌دهد (Abdoli and Naderi, 2008). ماهیان خاویاری بزرگ‌ترین ماهیانی هستند که در آب شیرین یافت می‌شوند. تمام گونه‌های ماهیان خاویاری به‌دلیل ارزش فراوان، اندازه‌ی بزرگ و آسیب‌پذیری نسبت به آلودگی و صید بی‌رویه، حداقل در بخشی از محدوده‌ی خود در معرض خطر نابودی قرار دارند (Sattari et al. 2007). طبق ضوابط سازمان جهانی حفاظت از طبیعت در لیست قرمز و از سال ۱۹۹۷ نام این ماهیان در فهرست کنوانسیون بین‌المللی نظارت بر تجارت گونه‌های در معرض خطر (CITES)[1] قرار گرفته‌است (Aghilinejad et al. 2008). این ماهیان جایگاه مهمی در تاریخ تکاملی ماهیان دارند. تاریخچه آن‌ها به زمان ژوراسیک برمی‌گردد و به‌همین علت به آن‌ها فسیل زنده می‌گویند (Nelson et al. 2010).

از جمله مهم‌ترین زمینه‌های فعالیت پژوهش‌های ژنتیک آبزیان می‌توان به استفاده از اصول ژنتیک و زیست‌فناوری جهت مدیریت صحیح ذخایر آبزیان، بازسازی جمعیت‌های بومی و حفاظت از ذخیره ژنی و تنوع ژنتیکی در منابع طبیعی و گونه‌های در معرض انقراض اشاره نمود. تنوع ژنتیکی، قابلیت بقای یک گونه یا جمعیت را از طریق ایجاد توانایی سازگاری با تغییرات محیطی فراهم می‌کند و بنابراین وجود تنوع ژنتیکی برای بقای طولانی‌مدت یک گونه ضروری است. به‌طور کلی مدیریت تنوع ژنتیکی در موجودات، نیازمند ارزیابی ساختار ژنتیکی و تفکیک ذخایر گونه مورد نظر است. بنابراین آگاهی و بررسی دایمی وضعیت ژنتیکی گونه‌هایی که در معرض بهره‌برداری و صید بی‌رویه قرار دارند، برای حفظ و مدیریت آن‌ها ضروری است (Sharifi et al. 2012). به‌دست‌آوردن اطلاعاتی راجع به تنوع ژنتیکی مولدین وحشی برای مولدگیری موفقیت‌آمیز قبل از تلاش برای توسعه برنامه‌های اصلاح نژاد انتخابی یا افزایش تولید و مدیریت منابع ژنتیکی مهم است. آگاهی از تنوع ژنتیکی ذخائر از مهم‌ترین اهداف مدیریت ذخایر و اصلاح‌نژاد می‌باشد. نگه‌داشتن سطوح کافی تنوع ژنتیکی ظرفیت جمعیت را برای پاسخ به تغییرات محیطی افزایش می‌دهد و نیز موجودات ناخالص نسبت به خالص‌ها در خیلی از صفات اقتصادی مهم مانند رشد، لقاح و مقاومت به بیماری برتری دارند. به‌طور کلی تنوع زیستی تعداد، غنا و ترکیب موجودات را تحت پوشش قرار داده و در سطح تنوع ژنتیکی بین گونه‌ها، میان گونه‌ها و تنوع در سطح اکوسیستم به مطالعه می‌پردازد. مطالعات روی ژنتیک ماهیان خاویاری تامین‌کننده اطلاعات مهم برای مدیریت استفاده پایدار و حفاظت گونه‌های خاویاری می‌باشد (Chakmehdouz Ghasemi et al. 2011). از طرفی برنامه‌های انتخاب کلاسیک که بر اساس مشاهدات فنوتیپی صورت می‌پذیرند در بسیاری از موارد ایده‌آل نمی‌باشند، زیرا برخی از صفات در ابتدای زندگی موجود بیان نمی‌شوند و یا این‌که در موارد خاص رکوردگیری از صفات بعد از مرگ حیوان قابل انجام است. در نتیجه استفاده از داده‌های ژنوتیپی به‌عنوان یک منبع انتخاب، ابزار نیرومندی خواهد بود که می‌تواند در رفع موانع یاد شده مؤثر واقع شود.

سوماتوژنزیس یک صفت چندژنی است که از یک‌سری مسیرهای فیزیولوژیکی تنظیم‌کننده متابولیسم انرژی و رشد ماهیچه منتج می‌شود. در میان مسیرهای امکان‌پذیر تنظیم‌کننده رشد در مهره‌داران، ژن‌های محور سوماتوتروپیک و زیر خانواده فاکتورهای رشد تغییر شکل‌یافته به‌عنوان ژن‌های کاندید در دام و ماهیان بیشتر مورد توجه قرار گرفته‌اند. اگر چه صفات تولیدی

[1] Convention on international trade in endangered species of wild fauna and flora



[ Downloaded from mg.genetics.ir on 2024-04-19 ]
[ DOR: 20.1001.1.20084439.1398.14.4.6.6 ]

تحت‌تاثیر ژن‌های زیادی قرار می‌گیرند، اما گرایش قابل توجهی برای شناسایی و به‌کارگیری ژن‌های عمده مرتبط با صفات تولیدی وجود دارد، از ژن‌های با اثر عمده که تاکنون مورد شناسایی قرار گرفته‌اند می‌توان به ژن هورمون رشد، گیرنده هورمون رشد و خانواده فاکتورهای مؤثر بر رشد بتا اشاره کرد. از آنجائی‌که محور سوماتوتروپیک نقشی مرکزی در تنظیم فرایند رشد دارد، لذا هر جایگاه ژنی که مؤثر در بیان هورمون‌ها، فاکتورهای رشد و یا پپتیدها در این سیستم باشد می‌تواند به‌عنوان نماینده یک ژن کاندید بالقوه و با اهمیت خاص در افزایش رشد به‌حساب آید (De-Santis and Jerry 2007). بسیاری از مطالعات نشان داده‌اند که عمل هورمون رشد از طریق واسطه‌گری پروتئین IGF-I عمل می‌کند. به‌جز منشا کبدی، IGF-I در بسیاری از بافت‌های ماهیان نیز به‌طور موضعی و به‌صورت اتوکراین – پاراکراین ساخته و رهاسازی می‌شود (Salmroudi et al. 2013). رونویسی ژن IGF-I در بسیاری از بافت‌ها از جمله کبد، پانکراس، لوله گوارش، کلیه، قسمت قدامی کلیه، آبشش، تخمدان، بیضه، چشم و مغز ماهیان استخوانی مشاهده شده‌است (Bahrami Kamangar et al. 2010).

روش‌های مختلفی برای شناسایی تفاوت تک‌نوکلئوتیدی[1] شامل بررسی تغییرات ساختمانی تک‌رشته‌ای (SSCP)[2] (Sunnucks et al. 2000)، ریزماهواره‌ها[3] و چندشکلی قطعات با طول محدودشده[4] (Hosseini Salcadeh et al. 2014) وجود دارد. PCR-SSCP یک ابزار مناسب برای ارزیابی تنوع ژنتیکی می‌باشد (Kumar et al. 2006)، این روش یک روش ارزان، حساس و ساده برای تشخیص این‌که آیا قطعات DNA در یک توالی خاص به هم مشابهند یا خیر ارائه می‌دهد و بنابراین نیاز به توالی‌یابی را کاهش می‌دهد. این روش به‌طور گسترده‌ای در پژوهش‌های زیستی–دارویی به‌کار می‌رود (Sunnucks et al. 2000).

در روش پویش ژنومی[5] برای تعیین ژنوتیپی جمعیت حاصل از تلاقی، وقت و زمان زیادی صرف می‌شود. استراتژی دیگری برای نقشه‌یابی جایگاه‌های مربوط به صفات کمی (QTL) به‌کار گرفته شده‌است که روش ژن کاندید نامیده می‌شود. ژن‌های کاندید عبارتند از ژن‌های توالی‌یابی شده‌ای که فعالیت زیستی آن‌ها شناخته شده‌است و در تکامل یا فیزیولوژی صفت مورد نظر دخالت دارند. این ژن‌ها ممکن است ژن ساختمانی و یا ژن‌های تنظیمی و یا ژن‌های مؤثر بر مسیرهای بیوشیمیایی بروز صفت مربوطه باشند. به این ژن‌ها، ژن‌های کاندیدای عملکردی اطلاق می‌شود (Womack et al. 1995).

اگرچه مطالعاتی در ارتباط با ژن هورمون رشد و ژن *IGF-II* در ماهیان مختلف با استفاده از نشانگرها و روش‌های مختلف انجام شده است (Li et al. 2009a, b؛ You et al. 2001, 2002؛ Juhua et al. 2010؛ Hu et al. 2013)، اما مطالعه‌ای در مورد تاس‌ماهی ایرانی وجود ندارد، لذا تلاش اصلی در این تحقیق شناسایی چندشکلی ژن کاندید *IGF-I* در جمعیت تاس‌ماهی ایرانی (*Acipencer persicus*) با توجه به نقش این ژن به‌عنوان یک ژن کاندید برای صفات رشد و نیز اهمیت انکارناپذیر ماهیان خاویاری در تولید خاویار ایران و جهان می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری از ۳–۲ گرم از بافت باله دمی ۹۵ عدد تاس‌ماهی ایرانی شامل ۵۵ عدد نمونه ۸ ساله و ٤٠ عدد نمونه ٦/٥ ساله صورت گرفت. نمونه‌ها در زمستان ۱۳۹۲ از یکی از مزارع پرورشی استان گیلان تهیه شد. پس از نمونه‌برداری، نمونه‌ها به‌منظور استخراج DNA، در اتانول ۹٦٪ تثبیت شدند. نمونه‌ها تا زمان استخراج DNA، در فریزر ۲۰– درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. استخراج DNA با روش بهینه‌سازی شده نمکی انجام گرفت (Miller et al. 1988) و کیفیت DNA استخراج شده با روش الکتروفورز بر روی ژل آگاروز یک درصد تعیین شد. وزن و طول کل نیز برای تعیین فاکتور وضعیت اندازه‌گیری شد. فاکتور وضعیت از رابطه $k=W/L^3*100$ محاسبه شد که در آن W وزن ماهی بر حسب گرم و L طول ماهی برحسب سانتی‌متر است.

برای تکثیر قطعاتی با طول ۱۷۱ و ۳٦۲ جفت‌باز به‌ترتیب از نواحی 5′-UTR و 3′-UTR ژن فاکتور رشد شبه انسولین نوع ۱

[1] Single nucleotide polymorphism (SNP)
[2] Single strand conformation polymorphism (SSCP)
[3] Microsatellite
[4] Restricted fragment length polymorphism (RFLP)
[5] Genom scanning



[ Downloaded from mg.genetics.ir on 2024-04-19 ]
[ DOR: 20.1001.1.20084439.1398.14.4.6.6 ]

دو جفت آغازگر اختصاصی با استفاده از توالی‌های موجود در بانک ژن (NCBI) به‌ترتیب با شماره دسترسی AB5127701.1 با استفاده از نرم‌افزار Oligo 7 طراحی شده و به‌کمک تکنیک PCR قطعات مورد نظر تکثیر شدند. توالی آغازگرها به‌صورت 5′ TGCTAAATCTCGCTTCCCTC-3′ (forward) و 5′ - CCCAAAACTACAAAGACCAG-3′ (reverse) برای جایگاه ۱۷۱ جفت‌باز از ناحیه 5′-UTR و 5′ - GGTTCACTTGTATTGTTCATGC-3′ (forward) و 5′ - CCATTGCTGTATTTGAACCTC-3′ (reverse) برای جایگاه ۳۶۲ جفت‌باز از ناحیه 3′-UTR بودند.

جهت بهینه‌سازی واکنش PCR برنامه‌های حرارتی مختلفی استفاده شد، ولی در نهایت برنامه حرارتی به‌صورت ۹۵ درجه سانتی‌گراد برای ۳ دقیقه واسرشت‌سازی اولیه، ۳۵ چرخه شامل ۹۵ درجه سانتی‌گراد برای ۳۰ ثانیه، ۵۵ و ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه به‌ترتیب برای اتصال آغازگرهای مربوط به نواحی 5′-UTR و 3′-UTR، ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه و بسط نهایی در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه در دستگاه ترموسایکلر (BioRad T100) اعمال شد. برای ارزیابی صحت PCR، محصولات PCR روی ژل آگارز ۱/۵ درصد الکتروفورز شده و با رنگ‌آمیزی اتیدیوم برماید باندهای مورد نظر روی ژل ردیابی شدند.

در این مطالعه برای تعیین ژنوتیپ نمونه‌ها از روش SSCP استفاده شد. برای این منظور از الکتروفورز عمودی مدل VSTA-1002M استفاده شد (Orita et al. 1989). هشت میکرولیتر از بافر SSCP (جدول ۳-۶) با ۵ میکرولیتر محصول PCR مخلوط شده و سپس با ورتکس کاملاً همگن شد، سپس رشته‌های DNA به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۹۶ درجه سانتی‌گراد دناتوره شده و روی ژل عمودی پلی‌آکریل‌آمید با ۲۹۰-۳۶۰ ولت، الکتروفورز شد. برای بررسی SSCP و مشاهده قطعات از رنگ‌آمیزی به روش نیترات نقره استفاده شد.

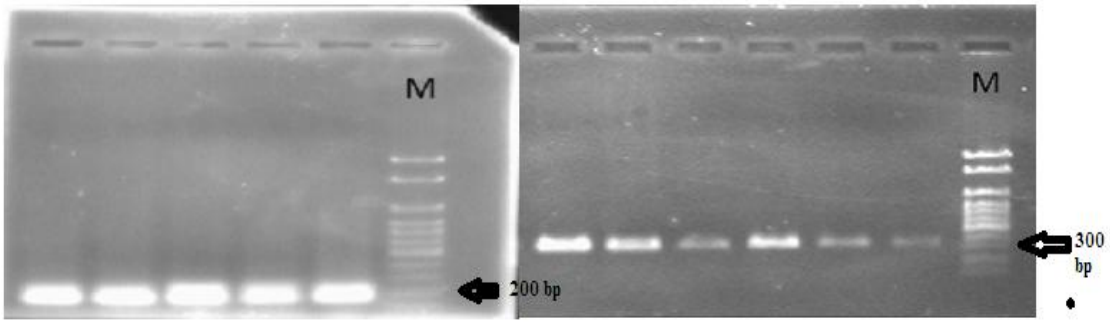
پس از تعیین ژنوتیپ تک‌تک نمونه‌ها برای جایگاه مورد بررسی این اطلاعات به‌همراه داده‌های مربوط به وزن، طول و فاکتور وضعیت وارد برنامه Excel شده و پس از ویرایش وارد برنامه SAS 9.1 شده و توسط رویه GLM و با استفاده از مدل زیر تجزیه و تحلیل شدند:

$$Y_{ij} = \mu + G_i + A_j + e_{ij}$$

که $Y_{ij}$ مقدار مشاهده شده برای هر صفت، $\mu$ میانگین صفت، $G_i$ اثر جایگاه ژنی مورد نظر، $A_j$ اثر متغیر کمکی سن و $e_{ij}$ اثر تصادفی خطا در جمعیت می‌باشد. مقایسات میانگین با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن انجام شد.

## نتایج

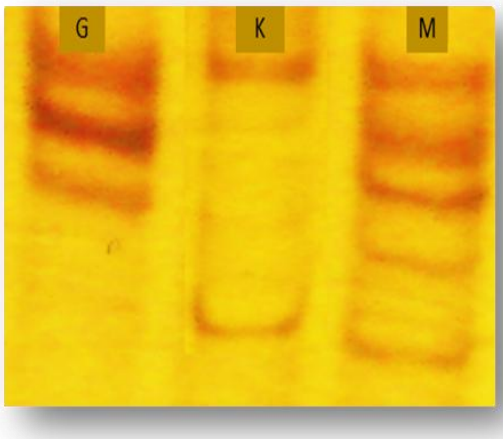
دو قطعه با طول ۱۷۱ و ۳۶۲ جفت باز از نواحی 5′-UTR و 3′-UTR از ژن *IGF-I* با موفقیت تکثیر شدند (شکل ۱). تعیین ژنوتیپ با روشSSCP وجود ۳ الگوی باندی مختلف را در جایگاه های 5′-UTR و 3'-UTR ژن *IGF-I* را مشخص کرد. به طوری که در هر دو جایگاه سه الگوی G، K و M مشاهده شدند (شکل ۲ و ۳).



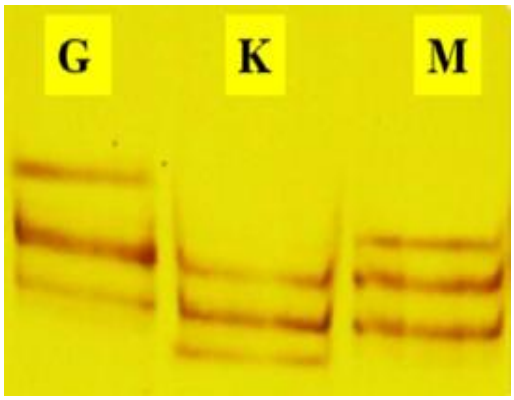

شکل ۱- محصول PCR یک قطعه از ناحیه 5′-UTR ژن *IGF-I* (راست) و از ناحیه 3′-UTR ژن *IGF-I* (چپ) در در تاس‌ماهی ایرانی، M: نشانگر وزن مولکولی (mi-E8200s).



[ Downloaded from mg.genetics.ir on 2024-04-19 ]
[ DOR: 20.1001.1.20084439.1398.14.4.6.6 ]




شکل ۲- الگوهای باندی مشاهده‌شده برای ناحیه 5′-UTR ژن *IGF-I* در تاس‌ماهی ایرانی




شکل ۳- الگوهای باندی مشاهده‌شده برای ناحیه 3′-UTR ژن *IGF-I* در تاس‌ماهی ایرانی

فراوانی‌های ژنوتیپی برای جایگاه‌های مورد مطالعه در گونه تاس‌ماهی ایرانی در جدول ۱ آورده شده‌است. ژنوتیپ‌های G، K و M برای جایگاه ژنی 5′-UTR به‌ترتیب با فراوانی‌های ۱۳، ۳۹ و ٤٨ درصد و برای جایگاه ژنی 3′-UTR به‌ترتیب با فراوانی‌های ۳۱، ٤۹ و ۲۰ درصد مشاهده شدند. ژنوتیپ K در جایگاه ژنی 3′-UTR و ژنوتیپ M در جایگاه ژنی 5′-UTR دارای بیشترین فراوانی ژنوتیپی بود. همچنین بررسی تأثیر چندشکلی جایگاه ژنی UTR-/۵ و UTR-/۳ ژن *IGF-I* بر صفات وزن، طول و فاکتور وضعیت نشان داد که اثر ژنوتیپ‌های جایگاه‌های مختلف IGF-I بر صفات مورد مطالعه در نمونه‌های تاس‌ماهی ایرانی معنی‌دار نیست (جدول ۲ و ۳).

جدول ۱- فراوانی الگوهای باندی مشاهده‌شده در ناحیه 5′-UTR و 3′-UTR ژن *IGF-I* در نمونه‌های تاس‌ماهی ایرانی

| الگوی باندی | ناحیه 5′-UTR | ناحیه 3′-UTR |
|---|---|---|
| | فراوانی (درصد) | فراوانی (درصد) |
| G | ۱۳ | ۳۱ |
| K | ۳۹ | ٤۹ |
| M | ٤٨ | ۲۰ |

جدول ۲- نتایج مقایسه میانگین الگوهای باندی مختلف در ناحیه 5′-UTR ژن *IGF-I* برای صفات فاکتور وضعیت، طول بدن و وزن نمونه‌های تاس‌ماهی ایرانی

| الگوی باندی | وزن (gr) | طول (cm) | فاکتور وضعیت ($gr/cm^3$) |
|---|---|---|---|
| G | ٤۳۰۸/۳ | ۱۰۰/٤۱۷ | ۰/٤۱ |
| K | ٤۸۲۹/۷ | ۱۰۰/۹۷۳ | ۰/٤۵ |
| M | ۵۱۳۷ | ۱۰۳/۱۹٦ | ۰/٤۵ |
| P-value | ۰/۰٦۲۸ | ۰/۰۷۷۸ | ۰/۱۳٤ |
| SEM | ۱۷۵/۲۵ | ۱/۱۸۹ | ۰/۰۰٦۲ |

جدول ۳- نتایج مقایسه میانگین الگوهای باندی مختلف در ناحیه 3′-UTR ژن *IGF-I* برای صفات فاکتور وضعیت، طول بدن و وزن نمونه‌های تاس‌ماهی ایرانی

| الگوی باندی | وزن (gr) | طول (cm) | فاکتور وضعیت ($gr/cm^3$) |
|---|---|---|---|
| G | ٤۷٤۱/٤ | ۱۰۰/٦۲۱ | ۰/٤٤ |
| K | ٤۹٤۸/۹ | ۱۰۱/۸ | ۰/٤۵ |
| M | ۵۰۸٤/۲ | ۱۰٤/٤۷ | ۰/٤۳ |
| value P | ۰/۹٤ | ۰/۵ | ۰/۳٦ |
| SEM | ۱۷۵/۲۵ | ۱/۱۸ | ۰/۰۰٦۲ |

## بحث

در پژوهش حاضر دو قطعه از نواحی تنظیمی بالا و پایین دست ژن *IGF-I* در تاس‌ماهی با موفقیت تکثیر شد. نتایج تعیین ژنوتیپ با روش SSCP وجود ۳ الگوی باندی را برای هر دو جایگاه نشان داد به‌طوری که الگوی ژنوتیپی K در گونه تاس‌ماهی ایرانی بیش‌ترین فراوانی را داشتند. توالی‌های منطقه 3′-UTR می‌تواند تنظیم‌کننده بیان ژن در سطح رونویسی باشد (Barrett et al. 2012)، بنابراین چندشکلی‌های دیده شده در این منطقه ممکن است روی سطح IGF-I پلاسما توسط تغییر فراوانی mRNA ژن



[ Downloaded from mg.genetics.ir on 2024-04-19 ]
[ DOR: 20.1001.1.20084439.1398.14.4.6.6 ]

*IGF-I* تاثیر بگذارد (Hu et al. 2013). نشان داده شده‌است که IGF-I یک هورمون پلی‌پپتیدی مؤثر بر رشد و متابولیسم سلولی در تمامی مراحل توسعه در مهره‌داران می‌باشد و بیشتر تاثیرات هورمون رشد روی فرآیند رشد سوماتیکی توسط میانجی‌گری IGF-I انجام می‌گیرد (Li et al. 2009a, b). علی‌رغم اینکه در پژوهش حاضر بین الگوهای ژنوتیپی قطعه ۳۶۲ جفت‌بازی از ناحیه 3′-UTR و صفات مربوط به رشد مورد مطالعه در تاس‌ماهی ایرانی ارتباط معنی‌دار آماری مشاهده نشد، اما در بعضی از مطالعات نشان داده شد که IGF-I یکی از QTLهایی است که روی وزن و اندازه بدن در خوک، گاو، گوسفند و سگ تاثیر می‌گذارد (Casas-Carrillo et al. 1997). IGF-I نقش فیزیولوژیکی مهمی در رشد و نمو در ماهی ایفا می‌کند، اما در مجموع بررسی‌های اندکی در مورد ارتباط بین نشانگرهای ژنتیکی در جایگاه ژنی IGF-I و صفات رشد در ماهیان انجام شده‌است. به‌علت نقش مهم این فاکتور روی رشد، IGF-I یک ژن کاندید مهم برای صفات رشد در موجودات آبزی می‌باشد (Li et al. 2009b). علت عدم وجود ارتباط آماری معنی‌دار بین این ناحیه و صفات مورد نظر می‌تواند تعداد کم نمونه‌های مورد مطالعه باشد، لذا به‌نظر می‌رسد که باید پژوهش‌های بیشتری از جمله با اندازه نمونه‌های بزرگ‌تر انجام گیرد، تا بتوان به‌طور دقیق ارتباط این چندشکلی‌ها را با صفات مربوط به رشد مورد ارزیابی قرار داد. به عنوان مثال در تضاد با یافته‌های پژوهش حاضر Hu et al. (2013) در مطالعه‌ای که روی تعداد بیشتری از ماهیان انجام شده بود، قادر به تشخیص یک چندشکلی حذف یا اضافه ۷۹ جفت‌بازی در ناحیه جانبی ′۳ ژن *IGF-I* توسط PCR و توالی‌یابی در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) شدند. برای دست‌یابی به ارتباط بین این چندشکلی با صفات مربوط به رشد ۷۴۷ ماهی شامل ۲۶۳ *Cyprinus carpio var. wuyuanensis*، ۲۹۲ *Cyprinus carpio* L. *mirror* (لاین انتخابی کپور آینه‌ای آلمانی) و ۲۲۵ *Cyprinus carpio var. wuyuanensis* (لاین کپور قرمز مقاوم به سرما) تعیین ژنوتیپ شدند که ژنوتیپ DD به‌طور عمده‌ای با بیشترین طول بدن، وزن بدن، وزن خالص و کوتاه‌ترین دوره زمستان گذرانی ارتباط داشت. مغایرت نتایج مذکور یا پژوهش حاضر می‌تواند به‌دلیل تعداد کم نمونه‌ها، جایگاه مورد نظر و یا تفاوت شرایط پرورش باشد. در بررسی چندشکلی آللی ژن *IGF-I* برای قطعه ۱۷۱ جفت‌بازی از ناحیه 5′-UTR، ۳ الگوی ژنوتیپی در گونه تاس‌ماهی ایرانی مشاهده شد. در گونه تاس‌ماهی ایرانی ژنوتیپ M در جایگاه 5′-UTR بیشترین فراوانی را نشان داد. ناحیه 5′-UTR ژن *IGF-I* تنظیم‌کننده بیان این ژن می‌باشد، بنابراین چندشکلی‌های موجود در این منطقه از ژن می‌تواند از نظر عملکردی باعث تفاوت در میزان بیان و عملکرد این ژن شود (Li et al. 2009b). چندشکلی‌های ناحیه پروموتور و جهش‌های منطقه کدکننده ژن ارتباط مستقیم با صفات عملکردی متاثر از ژن‌های کاندید دارد (Ge et al. 2001). ارتباط بین چندشکلی‌های پروموتور ژن *IGF-I* با صفات مختلف، در انسان و دام‌های اهلی مکرر گزارش شده است (Li et al. 2009b). در توافق با نتایج پژوهش حاضر یک SNP از پروموتور IGF-I در ماهی شار قطبی (*Salvelinus alpinus* L.) شناسایی شد، اما ارتباطی بین SNP و رشد اولیه در این ماهیان جوان یافت نشد (Tao and Boulding 2003). یک چند شکلی دونوکلئوتید تکراری CA در منطقه 5′ جانبی ژن *IGF-I* در گاو و نیز در خوک تشخیص داده شد که با وزن سالانه در گاو مرتبط بوده است (Moody et al. 1994). نتایج بررسی رابطه بین چند شکلی ناحیه جانبی بخش ′۵ ژن *IGF-I* و صفات مرتبط به رشد را در ۹۱ ماهی باس دهان بزرگ (*Micropterus salmoides*) نشان داد که هاپلوتایپ‌ها تاثیرات عمده‌ای روی وزن و عرض بدن داشتند به‌طوری‌که افراد با ژنوتیپ AA وزن و عرض بدن بیشتری نسبت به ژنوتیپ‌های BB و AB داشتند (Li et al. 2009b). در پژوهش مذکور از روش‌های RFLP و SSCP برای تعیین ژنوتیپ نمونه‌ها استفاده شده و تنوع قابل ملاحظه‌ای در ژن *IGF-I* مشاهده شد (Li et al. 2009a) که نشان دهنده توانایی تکنیک SSCP در ردیابی چند شکلی‌ها در جمعیت ماهیان می‌باشد. در بررسی ارتباط بین چند شکلی در ژن *IGF-II* و صفت رشد در یک گونه تیلاپیای پرورشی (*Oreochromis niloticus*)، بعد از مقایسه توالی IGF-II در ۱۰ نمونه مورد مطالعه، ۹ جایگاه چندشکل در اینترون‌های ۱، ۳ و ۴ جایگاه جهش خاموش در اگزون‌های ۲ و ۳ مورد مطالعه شناسایی شد. آنالیز رگرسیون نشان داد که جایگاه میکروستلایت در اینترون ۳ با رشد تیلاپیای پرورشی نر ارتباط داشته است (Juhua et al.



[ Downloaded from mg.genetics.ir on 2024-04-19 ]
[ DOR: 20.1001.1.20084439.1398.14.4.6.6 ]

2010). در توافق با یافته‌های پژوهش حاضر در مطالعه بر روی شناسایی چندشکلی IGF-I در جمعیت فیل‌ماهی (*Huso huso*)، الگوی باندی D و A به‌ترتیب بیش‌ترین فراوانی را در جایگاه 5′-UTR و 3′-UTR نشان دادند و هم‌چنین ارتباط معنی‌داری بین الگوهای باندی مشاهده شده در جایگاه‌های نشانگری و صفات مورد مطالعه مشاهده نشد (Zeinaddini Meymand et al. 2017). علت اینکه در جمعیت مورد مطالعه، رابطه این ناحیه از ژن *IGF-I* از لحاظ آماری با صفات مربوط به رشد معنی‌دار نبود، علاوه بر تعداد نسبتا کم نمونه‌ها، احتمالا به این دلیل است که صفات رشد علاوه بر ژن *IGF-I* تحت تاثیر ژن‌های دیگری از جمله هورمون رشد، گیرنده هورمون رشد، هورمون آزادکننده هورمون رشد، هورمون مهارکننده هورمون رشد و سوماتواستاتین (SRFI14) و همچنین پروتئین‌های باند شونده به IGF است (Murkaeva et al. 2008). بررسی ارتباط چندشکلی‌های آللی ناحیه 3′-UTR ژن *IGFBP3* در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) مشخص شد که این ناحیه از ژن بسیار چند شکل بوده و به‌طور معنی‌داری صفت فاکتور وضعیت را تحت تاثیر قرار می‌دهد (Mehrabi et al. 2015). با توجه به نقشی که پروتئین‌های باند شونده به IGF در فرایند رشد بازی می‌کنند، مطالعه هم‌زمان جایگاه های مورد مطالعه در پژوهش حاضر با این پروتئین‌ها و همچنین مطالعه نواحی اگزونی و اینترونی ژن مورد نظر در تاس‌ماهی ایرانی پیشنهاد می‌شود.

## منابع

Abdoli A, Naderi M (2008) Biodiversity of fishes in the Caspian Sea basin. Aquatics. Iran. 244 pp. (In Farsi).

Aghilinejad SM, Kolangi Miandareh H, Hoseinifar Sh (2008) Possibility of Bluga culture in pen in Gorgan basin. 1st National confrence of Caspian Sea Fisheries Resources (In Farsi).

Bahrami Kamangar B, Mojazi Amiri B, Rasaee MJ, Abtahi B, Bahmani M (2010) Immunolocalization of Insulin-Like Growth Factor-I and its Immunoreactivity during Ovary Developmental Stages of Persian Sturgeon, *Acipenser Persicus.* Cell Journal (Yakhtah) 11: 441-432. (In Farsi).

Barrett, LW, Fletcher S, Wilton SD (2012). Regulation of eukaryotic gene expression by the untranslated gene regions and other non-coding elements. Cellular and Molecular Life Sciences 69: 3613-3634.

Casas-Carrillo E, Prill-Adams A, Price SG, Clutter AC, Kirkpatr-Ick BW (1997) Relationship of growth hormone and insulin-like growth factor-1 genotypes with growth and carcass traits in swine. Animal Genetics 28: 88-93.

Chakmehdouz Ghasemi F, Pourkazemi M, Tavakolli M, Yarmohammadi M, Hassanzadeh Saber M, Baradaran Noveiri S (2011) Application of microsatellite markers to determine populations of the Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) in the South of Caspian Sea. Iranian Journal of Fisheries Sciences 10: 596-606.

De-Santis C, Jerry DR (2007) Candidate growth genes in finfish-where should we be looking?. Aquaculture 272: 22-38.

Estany J, Tor M, Villalba D, Bosch L, Gallardo D, Jiménez N, Altet L, Noguera JL, Reixach J, Amills M, Sánchez A (2007) Association of CA repeat polymorphism at intron 1 of insulin-like growth factor (IGF-I) gene with circulating IGF-concentration, growth, and fatness in swine. Physiological Genomics 31: 236-243

Ge W, Davis ME, Hines HC, Irvin KM, Simmen RCM (2001) Association of a genetic marker with blood serum insulin-like growth factor-I concentration and growth traits in Angus cattle. Journal of Animal Science 79: 1757-1762.

Hosseini Salcadeh Gh, Naghavi MR, Ghareh Jaghi B (2014) Molecular markers. Tehran University. pp. 340

Hu X, Li C, Shi L (2013) A novel 79-bp insertion/deletion polymorphism in 3′-flanking region of IGF-I gene is associated with growth-related traits in common carp (*Cyprinus carpio* L.). Aquaculture Research 44: 1632-1638.

Juhua Y, Xuefeng C, Jianlin L, Yongkai T, Hongxia L, Pao X, Zaijie D (2010) Isolation of IGF2 and association of IGF2 polymorphism with growth trait in genetically improved farmed tilapia, *Oreochromis niloticus* L. Aquaculture Research 41: 743-750.

Kumar D, Gupta N, Ahlawat SPS, Satyanarayana R, Sunder Sh, Gupta SC (2006) Single strand confirmation polymorphism (SSCP) detection in exon I of the α-lactalbumin gene of Indian Jamunapari milk goats (*Capra hircus*). Genetics and Molecular Biology 29: 287-289.

Li XH, Bai JJ, Ye X, Hu YC (2009a) Polymorphisms of intron 1, 3 and 4 of insulin-like growth factor I gene in Largemouth bass. Journal of Shanghai Ocean University 18: 8-13.

Li XH, Bai JJ, Ye X, Hu YC, Li SJ, Yu LY (2009b). Polymorphim in the 5′ flanking region of the insulin-like growth factor-I gene are associated with growth traits in largemouth bass *Micropterus salmoides*. Fisheries Science 75: 351-358.

Mehrabi F, Khalesi MK, Farhadi A (2015) Polymorphism of insulin-like growth factor binding protein-3 (*IGFBP-3*) gene associated with growth traits in *Cyprinus carpio*. Iranian Journal of Ichthyology 2: 172-176.



[ Downloaded from mg.genetics.ir on 2024-04-19 ]
[ DOR: 20.1001.1.20084439.1398.14.4.6.6 ]

Miller SA, Dykes DD, Polesky HF (1988) A simple salting out procedure for extraction DNA from human nucleated cells. Nucleic Acids Research 16: 1215.

Moody, DED, Pomp, SN and MacNeil, MD (1994) Characterization of DNA polymorphisms and their associations with growth and maternal traits in line 1 Hereford cattle. Proceedings of the 5th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Guelph, Canada, 7-12 Aug 1994, 21: 221-224.

Murkaeva, A. 2008. Struction, evolution and expression of the duplication growth hormone genes of common carp (*cyprinus carpio*). Zur erlagung des akademischen grades. Doctor Rerum Naturalium, 1-180.

Nelson TC, Doukakis P, Lindley ST, Drauch Schreier A, Hightower JE, Hildebrand LR, Whitlock RE, Webb MAH (2010) Modern technologies for an ancient fish: tools to inform management of migratory sturgeon stocks. A report for the Pacific Ocean Shelf Tracking (POST) Project. Available: http://www.postprogram.org.

Orita M, Suzuki Y, Sekiya T, Hayashi K (1989). Rapid and sensitive detection of point mutations and DNA polymorphisms using the polymerase chain reaction. Genomics 5: 874-879.

PeykanHeyrati F, MojaziAmiri B, Farahmand H (2010) Sequencing of IGF-I in Beluga (*Huso huso*), Modern Genetics Journal 4: 17-25. (In Farsi).

Salmroudi M, Pourkazemi M, Khoshkholq M, Azizzadeh Pormehr, L (2013) Identification the Coding Sequences Of Growth Hormone Gene of Persian (*Acipenser Persicus*) Sturgeon.12th Iran Genetic Congress. (In Farsi).

Sattari M, Shahsavani D, Shafiei SH (2007) Ichtiology. Haghshens, pp. 502.

Sharifi M, Sourinejad I, Hoseyni SJ, Qasemi SA, Faghih A (2012) Genetic diversity of Black Pomfret (*Parastromateus niger*) in Iranian coasts of Persian Gulf using AFLP molecular marker. Journal of Aquatic Ecology 2: 68-81. (In Farsi)

Sunnucks P, Wilson ACC, Beheregaray LB, Zenger K, French J, Taylor AC (2000) SSCP is not so difficult: the application and utility of single-stranded conformation polymorphism in evolutionary biology and molecular ecology. Molecular Ecology 9: 1699- 1710.

Tao WJ, Boulding EG (2003) Associations between single nucleotide polymorphisms in candidate genes and growth rate in Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.). Heredity 91: 60-69.

Womack JE, Kata SR (1995) Bovine genome mapping: Evolutionary inference and the power of comparative genomics. Current opinion in Genetic and Development 5: 725-733.

Yue G, Li Y, Orban L (2001) Characterization of Microsatellites in the IGF-II and GH Genes of Asian Seabass (*Lates calcarifer*). Marine Biotechnology 3: 1-3.

Yue GH, Orban L (2002) Microsatellites from genes show polymorphism in two related *Oreochromis* species. Molecular Ecology Notes 2: 99-100.

Zeinaddini Meymand Z, Yeganeh S, Rahimi-Mianji Gh, Farhadi A (2017) Insulin-like growth factor I gene polymorphism associated with growth traits in beluga (*Huso huso*) fish. Iranian Journal of Fisheries Sciences 16: 1257-1266

[ Downloaded from mg.genetics.ir on 2024-04-19 ]
[ DOR: 20.1001.1.20084439.1398.14.4.6.6 ]