ژنتیک نوین
دوره هشتم، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۲
صفحه ۴۱۰- ۴۰۳

مطالعه چندشکلی اینترون چهار ژن *Ghrelin* در مرغ بومی آذربایجان غربی با استفاده از روش PCR-SSCP

Study of polymorphism in Intron 4 of *Ghrelin* gene in west Azerbaijan native chickens using PCR-SSCP

محمد قادرزاده*[۱]، کریم مردانی[۱]، علی هاشمی[۱]

۱- به ترتیب دانش آموخته کارشناسی ارشد، دانشیار و استادیار دانشگاه ارومیه

Ghaderzadeh M*[1], Mardani K[1], Hashemi A[1]

1. MSc Graduated Student, Associate Professor and Assistant Professor, Urmia University

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: mg.mahabad1365@gmail.com

(تاریخ دریافت: ۹۱/۴/۲۹ - تاریخ پذیرش: ۹۱/۱۱/۲۹)

چکیده

این پژوهش به منظور بررسی چندشکلی اینترون چهارم ژن *Ghrelin* با استفاده از روش PCR-SSCP در مرغ بومی آذربایجان غربی صورت گرفت. در این طرح از ۱۰۰ پرنده به صورت تصادفی خونگیری شد. سپس DNA نمونه‌های خون با استفاده از روش الجنابی و مارتینز استخراج شد. برای تعیین کیفیت DNA از ژل آگارز یک درصد استفاده شد. ناحیه اینترون ۴ جایگاه *Ghrelin* به طول ۴۵۸ bp با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلی مراز تکثیر و محصولات PCR توسط روش SSCP آنالیز شدند. محصولات PCR توسط الکتروفورز با ژل پلی‌آکریلامید ۸ درصد و رنگ آمیزی نیترات نقره آشکار شد. نتایج SSCP محصولات PCR با ژل پلی‌آکریل آمید سه ژنوتیپ AA، AB و BB را آشکار ساخت. شاخص شانون، شاخص نئی و هتروزیگوزیستی مشاهده شده به ترتیب ۰/۵۸، ۰/۳۹ و ۰/۴۲ به دست آمد. با توجه به نتایج به دست آمده، جایگاه ژنی *Ghrelin* دارای چندشکلی قابل قبولی است به طوری‌که می‌تواند در برنامه‌های به‌گزینی و اصلاح نژاد طیور بومی کشور، ارتباط این چندشکلی‌ها با صفات اقتصادی مورد ارزیابی قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی

اینترون
ژن *Ghrelin*
مرغ بومی آذربایجان غربی
DNA
PCR-SSCP

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-07-01]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1392.8.4.9.7]

مقدمه

امروزه با توجه به رشد روزافزون جمعیت انسانی و نیاز به منابع پروتئین حیوانی، رشد سریع حیوانات اهلی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. تنظیم فیزیولوژی مصرف خوراک، رشد و انرژی در حیوانات تحت تاثیر ژن‌های متعددی از جمله: GH[1]، GHR[2]، GHRL[3]، GHSR[4]، IGF1[5]، IGF2[6]، IGFBP-2[7]، PIT1[8]، TSH-β[9]، LEPR[10] و SS[11] قرار دارد. پیش بینی ارزش اصلاحی افراد به طور معمول با استفاده از فنوتیپ انجام می‌شود. با وجود صحت بالای انتخاب فنوتیپی در پیش بینی ظرفیت ژنتیکی افراد، در برخی صفات نمی‌توان از روی فنوتیپ به عملکرد واقعی حیوانات پی برد. امروزه در راستای حل این مشکل متخصصان اصلاح دام تلاش می‌کنند تا به کمک روش‌های ژنتیک مولکولی اطلاعات بیشتری از مکانیسم ژنتیکی صفات اقتصادی به دست آورند و با اطلاعات فنوتیپی تلفیق کنند، تا با انتخاب صحیح‌تر و سریعتر، به روند اصلاح دام سرعت ببخشند. بررسی میزان تنوع و چندشکلی حاصل از این ژن‌های موثر در رشد و تولید در حیوانات می‌تواند راهنمای مفیدی برای اصلاح‌گران دام در زمینه-های به‌نژادی و انتخاب حیوانات با تولید بهتر و با کیفیت‌تر باشد. تحقیقات نشان داده‌اند پیشرفت برنامه‌های اصلاح نژادی تا حدود زیادی به میزان تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های مورد بررسی بستگی دارد، بنابراین شناسایی تنوع نژادهای بومی کشور و حفاظت آنها از وظایف اصلی متخصصین اصلاح نژاد دام می‌باشد (Mohammadabadi et al. 2010). شناسایی و استفاده از ژن‌های موثر بر صفات اقتصادی اهمیت زیادی در برنامه‌های به‌نژادی حیوانات دارند (Moazeni et al. 2012). یکی از ژن‌های مهم و موثر در رشد و مصرف خوراک ژن گرلین می‌باشد که اولین بار ژن گرلین در معده موش شناسایی شد. این ژن در پستانداران دارای ساختار ۲۸ آمینواسیدی است (kojima et al. 1999). برخی تحقیقات نشان داده‌اند که میزان بیان و ترشح گرلین بر روی میزان مصرف خوراک در پرندگان و پستانداران تاثیرگذار است. سطوح پلاسمایی گرلین با مصرف اختیاری خوراک در بلدرچین ژاپنی افزایش می‌یابد، گرلین باعث تحریک سیگنال‌های گرسنگی در مغز می‌شود (Shousha et al. 2005). گرلین یک رابط آندوژنی برای تحریک گیرنده هورمون رشد است. این رابط بطور عمده در معده پستانداران بیان می‌شود و بطور اختصاصی آزادسازی هورمون رشد را تحریک می‌کند و تاثیر زیادی بر متابولیسم معده، روده و قلب دارد (Kojima et al. 1999; Ahmed et al. 2002; Noritoshi et al. 2003). پپتید گرلین مصرف خوراک را افزایش می‌دهد و موجب افزایش سرعت رشد می‌شود (Pecker et al. 2004; Guido et al. 2002; Iglesias et al. 2004). ژن گرلین نه تنها باعث افزایش سطوح پلاسمایی هورمون رشد می‌شود بلکه سطوح پلاسمایی کورتیکوسترون را نیز افزایش می‌دهد (Geelissen et al. 2006). در تحقیقی ژن گرلین مرغ را کلون کردند و مشخص شد که این ژن دارای ساختار ۲۶ آمینواسیدی می‌باشد (Kaiya et al. 2002). mRNA ژن گرلین مرغ شامل ۸۴۳ جفت باز می‌باشد و همچنین ساختار آن ۵ اگزون و ۴ اینترون دارد. این ژن بر روی کروموزوم شماره ۱۲ مرغ واقع شده است (Richards et al. 2006). بررسی توالی کامل ژن گرلین نشان داده در کل توالی ژن گرلین ۱۹ چندشکلی تک نوکلئوتیدی وجود دارد که بیشتر این چندشکلی‌ها بر روی جایگاه اینترون چهارم این ژن واقع شده‌اند (Nie et al. 2004). بررسی ناحیه اگزون سوم ژن گرلین در جمعیت اردک‌های نژاد Chaohu با استفاده از روش PCR-RFLP منجر به شناسایی سه ژنوتیپ AA، AB و BB شد (Li 2009). بیشتر جزئیات مربوط به ارتباط بین ژن گرلین و صفات رشد هنوز به خوبی مشخص نشده است و چندشکلی و تنوع این ژن در طیور تا به حال چندان مورد بررسی قرار نگرفته است بنابراین در راستای بررسی و مطالعه بیشتر این ژن در مرغ بومی آذربایجان غربی ناحیه اینترون چهارم انتخاب شد و شکل

[1] Growth hormone
[2] Growth hormone receptor
[3] Ghrelin
[4] Growth hormone secretagogue receptor
[5] Insulin-like growth factor 1
[6] Insulin-like growth factor 2
[7] Insulin-like growth factor-binding protein 2
[8] Pituitary-specific positive transcription factor 1
[9] Thyroid stimulating hormone beta
[10] Leptin receptor
[11] Somatostatin

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-07-01]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1392.8.4.9.7]

های مختلف آللی و ژنوتیپی با توجه به تحقیقات گذشته با استفاده از روش چندشکلی رشته‌های منفرد مبتنی بر واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR-SSCP) شناسایی و بررسی شد.

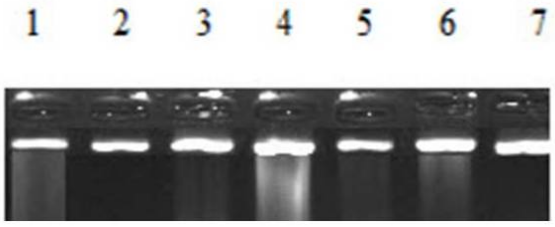
مواد و روش‌ها

نمونه‌گیری

در مجموع از ۱۰۰ قطعه پرنده مرکز پرورش و اصلاح نژاد مرغ بومی استان آذربایجان غربی نمونه خون گرفته شد. خونگیری از ورید زیر بال مرغ‌ها صورت گرفت. جهت جلوگیری از انعقاد نمونه‌های خون از لوله‌های با نام تجاری (CBC) حاوی EDTA استفاده شد. نمونه‌ها بلافاصله پس از خونگیری به داخل یخچال منتقل شدند و تا زمان استخراج DNA در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

استخراج DNA

استخراج DNA از نمونه‌های خون با استفاده از روش توصیف شده Aljanabi et al. (1997) انجام گرفت. کیفیت نمونه‌های DNA استخراج شده با کمک ژل آگارز یک درصد ارزیابی شد (شکل ۱).



شکل ۱- چاهک‌های شماره ۱-۷ نمونه‌های DNA استخراج شده از خون مرغ بومی آذربایجان غربی بر روی ژل آگارز یک درصد

انتخاب آغازگرها

در این تحقیق از آغازگرهای پیشنهادی توسط Nie et al. (2005) استفاده شد که، ترتیب توالی آنها بصورت زیر بود:

Ghre F:5'-GAGCAACGGAAGGTATCTGATGT-3'

Ghre R:5'-CAGGCACTCAAATGAAGAAAG-3'

واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR)

مواد بکار رفته در واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز شامل: ۲/۵ میکرو-لیتر بافر ۱۰X، یک میکرولیتر $MgCl_2$ (با غلظت ۵۰ mM)، ۰/۵ میکرولیتر آنزیم *Taq* پلی‌مراز، ۰/۴ میکرولیتر $dNTP_s$ (با غلظت ۱/۲۵ mM)، ۰/۵ میکرولیتر از هر یک از آغازگرها و ۴ میکرولیتر از نمونه DNA در حجم کلی ۲۵ میکرولیتر انجام شد. برنامه حرارتی با توجه به آزمایشات Li et al. (2006) طراحی شد. دمای واسرشت اولیه ۹۴°C به مدت ۵ دقیقه، ۳۴ مرحله با دمای ۹۴°C به مدت ۴۰ ثانیه، ۶۲°C به مدت ۵۰ ثانیه، ۷۲°C به مدت یک دقیقه و در پایان یک مرحله توسعه نهایی با دمای ۷۲°C به مدت ۱۰ دقیقه در نظر گرفته شد.

تکنیک چندشکلی فضایی رشته‌های منفرد (SSCP)

در آزمایشگاه از دستگاه الکتروفورز با ابعاد ۰/۱ ×۱۸×۲۰ سانتی متر ساخت شرکت کلور انگلستان استفاده شد. ژل مورد استفاده پلی آکریلامید ۸ درصد و غیر واسرشت‌ساز بود. در ترکیب ژل پلی آکریلامید نسبت آکریل آمید به بیس آکریلامید ۲۹ به یک بود. محلول غیر واسرشت‌ساز تهیه شده در این روش در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. به منظور آنالیز محصولات PCR با روش SSCP مقدار دو میکرولیتر از هر نمونه PCR با ۸ میکرو-لیتر SSCP dye (شامل ۱۰ میکرولیتر بروموفنل ۱۰ درصد، دو میکرولیتر EDTA نیم مولار، ۱۹۰ میکرولیتر گلیسرول، ۸۰۰ میکرولیتر فرمامید) مخلوط شد. سپس نمونه‌های PCR شده به مدت ۵ دقیقه در ترموسایکلر (مدل*UNIOII*) ساخت کشور آلمان با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از آن نمونه‌ها به داخل یخ از قبل آماده شده منتقل شدند تا برودت یخ مانع از به هم چسبیدن مجدد تک‌رشته‌ای‌های DNA شود. نمونه‌های تک رشته‌ای شده به چاهک‌های (ژل پلی آکریل آمید سرد) منتقل شدند و به مدت ۳ ساعت با ولتاژ ۳۲۰ الکتروفورز شدند (Nassiry et al. 2010). در نهایت بعد از انجام الکتروفورز، ژل پلی آکریل آمید با روش نیترات نقره رنگ‌آمیزی شد (Benbouza et al. 2006).

آنالیز آماری

به منظور تعیین فراوانی‌های آللی و ژنوتیپی و برآورد شاخص‌های شانون، متوسط هتروزیگوسیتی، شاخص نئی و هتروزیگوسیتی مورد انتظار و محاسبه مقدار مربع کای از نرم افزار PopGene1.31 استفاده شد (Yeh et al. 1999).

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-07-01]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1392.8.4.9.7]

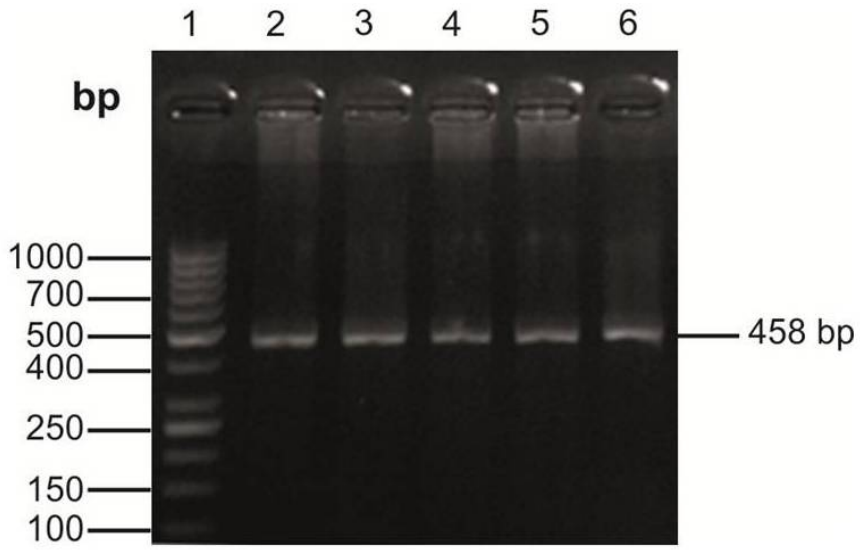
نتایج و بحث

نمونه‌های خون مرغان بومی آذربایجان غربی بر روی ژل آگارز یک درصد تعیین کیفیت شدند و با توجه به شکل، دارای کیفیت خوب و مناسب برای ادامه مراحل پژوهش بودند (شکل۱). پس از تعیین کیفیت، نمونه‌های DNA در واکنش زنجیره‌ای پلی مراز بکار رفتند. بعد از انجام واکنش PCR، به منظور اطمینان از صحت قطعه تکثیر شده (۴۵۸ جفت بازی) اینترون چهارم ژن گرلین، از ژل آگارز ۱/۵ درصد استفاده شد (شکل۲). با توجه به تصویر نمونه‌های پی سی آر شده (شکل۲) بر روی ژل آگارز می‌توان گفت که نمونه‌های مورد بررسی فاقد آلودگی و باند اضافه بوده‌اند و برنامه دمایی برای تکثیر ناحیه مورد نظر مناسب طراحی شده است. در تحقیق حاضر که با استفاده از روش PCR-SSCP بر روی ناحیه اینترون ۴ (جایگاه ۲۳۵۵ جفت بازی) ژن گرلین در مرغ بومی آذربایجان غربی انجام گرفت سه ژنوتیپ مختلف AA، AB و BB به ترتیب با فراوانی‌های ۵۲، ۴۲ و ۶ درصد مشاهده و دو آلل A و B به ترتیب با فراوانی ۷۳ درصد و ۲۷ درصد شناسایی شدند. به عبارت دیگر آلل A و ژنوتیپ AA دارای بیشترین فراوانی در جمعیت مورد مطالعه بودند (جدول۱). در تحقیق دیگری بر روی مرغان بومی مازندران برای جایگاه ۷۱ جفت بازی (اگزون۱ و ۲) سه آلل C، B و T و چهار ژنوتیپ (TC، CC، TB و CB) شناسایی شدند که آلل B و ژنوتیپ TB دارای حداکثر فراوانی بودند، همچنین در جایگاه ۲۳۵۵ جفت بازی (اینترون ۴ و اگزون ۵) دو ژنوتیپ BB و AB شناسایی شد و نیز در جایگاه ۱۲۱۵ جفت بازی (اینترون ۳ ژن گرلین) نمونه‌ها بصورت مونومورف شناسایی شدند (Falahati et al. 2011). در تحقیق Falahati et al. (2011) برای ناحیه اینترون چهارم ژن گرلین مرغ بومی مازندران ژنوتیپ BB و آلل B به ترتیب با فراوانی ۰/۷۵ و ۰/۶۲۵ دارای بیشترین فراوانی ژنوتیپی و آللی در جمعیت مذکور بودند، در حالی‌که در تحقیق حاضر ژنوتیپ AA و آلل A شناسایی شدند که در جمعیت دارای بیشترین فراوانی ژنوتیپی و آللی بودند. نتایج تحقیقات بر روی ژن گرلین جوجه‌ها ۲۳ مکان حاوی چندشکلی تک نوکلئوتیدی (SNPs) را مشخص نمود که سه چندشکلی تک نوکلئوتیدی در موقعیت‌های ۷۱، ۱۲۱۵ و ۲۳۵۵ جفت بازی منجر به تغییر آمینواسیدی شده‌اند (Li et al. 2006). در تحقیق حاضر نیز سه ژنوتیپ در جایگاه ۲۳۵۵ جفت بازی (اینترون چهارم) ژن گرلین شناسایی شد که نشان می‌دهد جایگاه اینترون چهارم ژن گرلین در مرغان دارای میزان چندشکلی بالایی باشد. بررسی جایگاه ۷۱ جفت بازی ژن گرلین در ۱۳ نژاد مرغ چینی سه ژنوتیپ (TC، TT و CC) را آشکار ساخت و ژنوتیپ TT بیشترین فراوانی را دارا بود (Li et al. 2006). در مطالعه حاضر نیز بالاترین فراونی ژنوتیپی مربوط به ژنوتیپ هموزیگوت AA بود. در مطالعه جایگاه ۲۱۰۰ جفت ژن گرلین مرغ که با استفاده از روش PCR-RFLP انجام شد سه ژنوتیپ (TT، TC و CC) شناسایی شدند (He et al. 2007). تحقیقات در مورد خصوصیات ژن گرلین و گیرنده ژن گرلین و تاثیر آنها بر روی وجود چربی در لاشه مرغ‌ها و اردک مشخص شد در کل ۱۹، ۸، ۴۳ و ۴۸ چندشکلی تک نوکلئوتیدی در جایگاههای ۲۷۵۱، ۱۳۵۸، ۳۶۷۱ و ۳۵۶۷ جفت بازی ژن گرلین و گیرنده آن به ترتیب وجود دارد (Nie et al. 2009). چندشکلی ژن گرلین در سایر حیوانات نیز مورد بررسی قرار گرفته است. در یک تحقیق که بر روی گیرنده ژن گرلین در گاو انجام گرفت. چندین چندشکلی تک نوکلئوتیدی در نواحی مختلف این ژن شناسایی شد (Zhang et al. 2007). در تحقیقی دیگر چندشکلی تک نوکلئوتیدی (A/G) در ژن گرلین گاو گوشتی شناسایی شده است (sherman et al. 2008). برخی محققان اگزون اول و دوم ژن گرلین را در گوسفند و گاو تعیین توالی کرده‌اند به طوری که تک معده‌ای‌ها دارای هر دو فرم از ژن گرلین (فرم آسیله و فرم غیر آسیله) هستند در حالی که نشخوارکنندگان فقط یک شکل از آن را دارند (Dickin et al. 2004). بررسی ناحیه اگزون اول ژن گرلین در گوسفند بلوچی با استفاده از روش PCR-SSCP الگوهای یکسان ژنوتیپی را بصورت مونومورف نشان داد (Tahmoorespour et al. 2009).

از شاخص‌های مهم یک نشانگر مولکولی تعداد آلل، فراوانی آللی، تعداد آلل موثر و میزان هتروزیگوسیتی می‌باشد که مقدار هر کدام

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-07-01]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1392.8.4.9.7]



شکل۲- قطعات ۴۵۸ جفت بازی اینترون چهارم ژن گرلین مرغ بومی آذربایجان غربی، تکثیر شده بوسیله PCR. چاهک یک نشانگر مولکولی ۱۰۰ جفت بازی (سیناژن- ایران)؛ چاهک‌های ۶-۲ محصولات PCR تکثیر شده از DNAهای استخراج شده بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد.

جدول ۱- فراوانی ژنوتیپی و آللی اینترون ۴ ژن گرلین مرغ بومی آذربایجان غربی

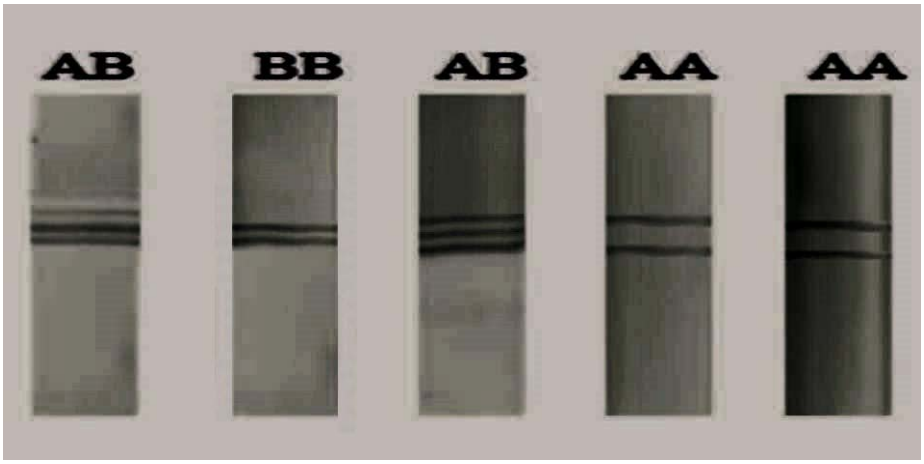
ژنوتیپ	AA	AB	BB
فراوانی ژنوتیپی (درصد)	۵۲	۴۲	٦
آلل	A	-	B
فراوانی آللی (درصد)	۷۳	-	۲۷

از این پارامترهای موثر در تنوع درون جمعیت در (جدول۲) ذکر شده‌اند. در این تحقیق سه الگوی مختلف ژنوتیپی و دو آلل شناسایی شدند که نتایج بدست آمده برای این ناحیه تا حدود زیادی مطابق با تحقیق Falahati et al. (2011) بود و نیز یک ژنوتیپ هموزیگوت AA در این ناحیه شناسایی شد. برخی تفاوت‌ها در تعداد و نوع ژنوتیپ‌ها در دو نژاد مرغ آذربایجان غربی و نژاد مازندران ممکن است در اثر جهش، مهاجرت و یا عوامل محیطی متفاوت باشد. یکی دیگر از معیارهای تنوع و چندشکلی تعداد آلل مؤثر می‌باشد که در این تحقیق به کمک نرم افزار PopGene 1.31 محاسبه شد (Yeh et al. 1999). در جایگاه ژنی گرلین در مرغ بومی نژاد آذربایجان غربی ۲ نوع آلل واقعی (A و B) شناسایی شد. فراوانی موثر آللی بوسیله نرم‌افزار PopGene1.31 برآورد شد، که نزدیکی این دو عدد (تعداد آلل واقعی و تعداد موثر آللی) به یکدیگر نشانگر کارآیی خوب این جایگاه ژنی در ایجاد چندشکلی می‌باشد. با توجه به اینکه تکنیک SSCP دارای قدرت تفکیک بالایی در شناسایی جهش‌ها در

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-07-01]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1392.8.4.9.7]

جدول۲- پارامترهای آماری و ژنتیکی برآورده شده اینترون چهارم ژن گرلین مرغ بومی آذربایجان غربی توسط نرم افزار پاپ ژن.

خطای استاندارد ژنوتیپی	شاخص شانون	تعداد آلل مؤثر	مقدار χ^2	هتروزیگوسیتی Nie	هتروزیگوسیتی مورد انتظار	هموزیگوسیتی مورد انتظار	هتروزیگوسیتی مشاهده شده	هموزیگوسیتی مشاهده شده	ژن گرلین
۰/۰۲۶۷	۰/۵۸۳۳	۱/۶۵۰۷	۰/۳۶	۰/۳۹۴۲	۰/۳۹۶۲	۰/۶۰۳۸	۰/۴۲	۰/۵۸	اینترون چهارم



شکل ۳- الگوهای باندی مشاهده شده برای اینترون چهارم ژن گرلین در مرغان بومی آذربایجان غربی به روش SSCP بر روی ژل پلی آکریلامید

ردیف‌های نوکلئوتیدی و چندشکلی آللی می‌باشد لذا در ادامه کار شاخص شانون که بیانگر تنوع ژنتیکی در جمعیت می‌باشد محاسبه شد، که میزان آن ۰/۵۸۳۳ بدست آمد که بیانگر میزان چندشکلی نسبتاً بالا در جمعیت مورد مطالعه می‌باشد (جدول۲). مطالعه تنوع ژنتیکی درون جمعیت در تحقیق حاضر از طریق اندازه‌گیری معیارهایی مانند هتروزیگوسیتی مشاهده شده، هتروزیگوسیتی مورد انتظار و هتروزیگوسیتی Nie (متوسط هتروزیگوسیتی) اندازه‌گیری شد، هتروزیگوسیتی مشاهده نسبت ژنوتیپهای هتروزیگوت مشاهده شده در جایگاه ژنی به کل تعداد ژنوتیپ‌هاست که در این تحقیق فقط یک ژنوتیپ هتروزیگوت AB (با فراوانی ۰/۴۲) بدست آمد و شاخص دیگر هتروزیگوسیتی مورد انتظار است که میزان فراوانی ژنوتیپ‌های هتروزیگوت را در جایگاه ژنی موردنظر که تحت شرایط آمیزش تصادفی هستند، را برآورد می‌کند که شامل دو شاخص هتروزیگوزیستی نی و هتروزیگوزیستی مورد انتظار (هتروزیگوسیتی نی نا اریب) است که با توجه به (جدول۲) میزان هتروزیگوسیتی مورد انتظار و هتروزیگوسیتی نی به ترتیب ۰/۶۰۳۸ و ۰/۳۹ برآورد شد که این ارقام میزان قابل توجهی از هتروزیگوتی را در جمعیت نشان می‌دهند. در نهایت می‌توان گفت مقادیر نسبتاً بالای شاخص‌های شانون و نی، نشان از میزان تنوع ژنتیکی بالا در جمعیت مورد مطالعه می‌دهند.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به دست آمده و تکثیر قطعه مورد نظر ۴۵۸ جفت بازی می‌توان نتیجه گرفت که در مطالعات بعدی می‌توان برای ناحیه اینترون ۴ ژن گرلین از همین آغازگرها استفاده نمود. با توجه به نتایج بدست آمده می‌توان گفت که این ژن دارای چندشکلی نسبتاً بالایی می‌باشد و می‌تواند به عنوان یک نشانگر ژنتیکی در بررسی‌ها و مطالعات آینده از آن بهره گرفت و در صورت در دست داشتن رکوردهای تولیدی و اقتصادی مرغان بومی می‌توان در جهت به‌نژادی و انتخاب ژنوتیپ‌های برتر با توجه به صفات اقدام کرد.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-07-01]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1392.8.4.9.7]

سپاسگزاری

نویسندگان مراتب قدردانی خود را از معاونت محترم آموزشی گروه علوم دامی دانشگاه ارومیه جناب آقای دکتر محسن دانشیار به جهت راهنمایی‌های ارزنده‌شان و مسئولان محترم مرکز پرورش و اصلاح نژاد مرغ بومی آذربایجان غربی بخاطر همکاری صمیمانه در اخذ نمونه‌های خون اعلام می‌دارند.

منابع

Ahmed S, Harvey S (2002) Ghrelin: A hypothalamic GH-releasing factor in domestic fowl (gallus domesticus). Journal of Endocrinology 172: 117-125.

Aljanabi S, Martinez L (1997) Universal and rapid salt - extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques. Nucleic Acids Research 22: 4692-4693.

Benbouza H, Jacquemin M, Baudoin J, Mergeai G (2006) Optimization of a reliable, fast, cheap and sensitive silver staining method to detect SSR markers in polyacrylamide gel. Biotechnology, Agronomy, Society and Environment 2:77-81.

Dickin J, Thue T, Buchanan F (2004) An alternative splice site in ghrelin is missing in ruminants. Animal Genetics 35: 411-412.

Falahati F, Rahimi Mianji G, Farhadi A (2011) Association of ghrelin gene polymorphism with growth related traits in Mazandaran native fowls. Modern Genetic Journal 6: 41-47. (In Farsi).

Geelissen S, Swennen Q, Geyten S, Kuhn E, Kaiya H, Kangawa K, Decuypere E, Buyse J, Darras V (2006) Peripheral ghrelin reduces food intake and respiratory quotient in chicken. Domestic Animal Endocrinology 30: 108-116.

Guido R, Necchi V, Savio A, Torsello A, Zoli M, Locatelli V, Raimondo F, Cocchi D, Solcia E (2002) Characterisation of gastric ghrelin cells in man and other mammals: studies in adult and fetal tissues. Histochemistry and Cell Biology 117:511-519.

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 7: 1-4.

Iglesias M, Pineiro R, Blanco M, Gallego R, Dieguez C, Gualillo O, GonzalezJ Lago F (2004) Growth hormone releasing peptide (ghrelin) is synthesized and secreted by cardiomyocytes. Cardiovascular Research 62:481-488.

Kaiya H, Van Der Geyten S, Kojima M, Hosoda H, KitajimaY, Matsumoto M, Geelissen S, Darras V, Kangawa K (2002) Chicken ghrelin: Purification, cDNA cloning, and biological activity. Endocrinology 143:3454-3463.

Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H, Kangawa k (1999) Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. Nature 402: 656-660.

Li C, Li K, Li J, Mo D L, Xu R F, Chen G, Qiangba Y, Ji S, Tang X, Fang B, Zhu M, Xiong T, Guan X, Liu B (2006) Polymorphism of ghrelin gene in twelve Chinese indigenous chicken breeds and its relationship with chicken growth traits. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences 19:153-159.

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 9: 1-10.

Moazeni S, Sadeghi M, Mohamadabadi M, Moradi Shahrbabak H, Esmailizadeh Kashkoeiyeh A (2012) Study of genetic structure of UCP gene in Mazandaran native chickens. Fifth Congress of Animal Science Iran, Uninversity of Technology Isfahan 200-203. (In Farsi).

Mohammadabadi M, Nikbakhti M, Mirzaee H, Shandi M, Saghi D, Romanov M, Moiseyeva I (2010) Genetic variability in three native Iranian chiecken populations of the khorasan province based on microsatellite markers. Russian Journal of Genetics 46: 572-576.

Nassiry M, Valizadeh R, Tahmoorespur M, Javadmanesh A, Foroutani S (2010) Molecular Study of Calpastain, Calpain and Beta-Lactoglobulin Loci in Kordi Sheep. Iranian Journal of Animal Science Research 2: 163-170 (In Farsi).

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 120: 1-12.

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: 339-360.

Nie Q, Zeng H, Lei M, Ishag N, Fang M, Sun B (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.

Noritoshi N, Kangaway K (2003) Ghrelin improves left ventriculardys function and cardiac cachexia in heart failure. Current Opinion in Pharmacology 3: 146-151.

Pecker F (2004) Ghrelin in the heart and growth hormone: which is chicken, which is egg? Cardiovascular Research 62:442-443.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-07-01]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1392.8.4.9.7]

in the Japanese quail. General and Comparative Endocrinology 141: 178-183.
Tahmoorespour M, Taheri A, Vafaiy M, Karimi D (2009) Study of polymorphism Ghrelin gene in Baluchi sheep by PCR-SSCP. The 6th National Biotechnology Congress of Iran 13-15 Aug, 2009, Milad Tower Conference Hall, Tehran-Iran (In Farsi).
Yeh C, Boyle T, Yang R (1999) Popgene version 1.31. Microsoft window based freeware for population genetic analysis. University Alberta. Canada.
Zhang B, Chen H, Zhang L, Hua L, Zhao M, Lan X, Lei C (2007) Five novel single nucleotide polymorphisms (SNPs) of the ghrelin receptor (GHSR) gene in cattle. Archiv Tierzucht / Archives Animal Breeding 50: 630-631.
Richards M, Poch S, McMurtry M (2006) Characterization of turkey and chicken ghrelin genes, and regulation of ghrelin and ghrelin receptor mRNA levels in broiler chickens. General and Comparative Endocrinology 3: 298-310.
Sherman E, Nkrumah L, Murdoch J, Li B, Wang C, Fu Z, Moore S (2008) Polymorphisms and haplotypes in the bovine neuropeptide Y, growth hormone receptor, ghrelin, insulin-like growth factor 2 and 3 genes and their associations with measures of growth, performance, feed efficiency and carcass merit in beef cattle. Animal Scince 86:1-16.
Shousha S, Nakahara K, Kojima M, Miyazato M, Hosoda H, Kangawa K, Murakami N (2005) Different effects of peripheral and central ghrelin on regulation of food intake

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-07-01]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1392.8.4.9.7]