

## بررسی پلیمورفیسم ژن *PEPCK-C* مرغان بومی

### منطقه سیستان و بلوچستان

جلال عمرانی بیدی<sup>۱</sup>، مسعود علی‌پناه<sup>\*</sup><sup>۲</sup>، آدم ترکمن‌زهی<sup>۳</sup>، سید ابوالفضل حسینی<sup>۴</sup>  
محمد رضا نصیری<sup>۵</sup>

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد ژنتیک و اصلاح دام دانشگاه زابل

۲- استادیار گروه علوم دامی دانشگاه زابل

۳- دانشیار گروه زیست‌شناسی دانشگاه سیستان و بلوچستان

۴- استاریار گروه زیست‌شناسی دانشگاه تربیت معلم سبزوار

۵- دانشیار گروه علوم دامی دانشگاه فردوسی مشهد

\* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: alipanah.masoud@gmail.com

(تاریخ دریافت: ۸۸/۶/۳ - تاریخ پذیرش: )

### چکیده

ژن *PEPCK* باعث کد شدن آنزیم فسفوanolپیروات کربوکسی کیناز می‌شود که نقش کلیدی در چرخه گلیکونئوژنر دارد. دو نوع متفاوت از ژن *PEPCK* وجود دارد: میتوکندریایی و *PEPCK-M* و سیتوزوولی *PEPCK-C*. در این تحقیق تعداد ۱۰۰ نمونه از ۲ توده نژادی به نام خزک و دشتیاری در منطقه سیستان و بلوچستان مورد بررسی قرار گرفت. پس از استخراج DNA از فولیکول انتهایی پر، با استفاده از جفت آغازگرهای F1R1، F2R2، F3R3، F4R4 به ترتیب قطعاتی با طول-های ۸۰۰ bp، ۱۰۰۰ bp، ۱۰۰۰ و ۱۰۸۰ bp ایجاد شد. این قطعات از پرومотор تا آگزون شماره ۳ ژن *PEPCK-C* را پوشش دادند. فراوانی آللی و ژنتیکی برای دو جمعیت توسط نرم افزار Popgene آنالیز و تعیین گردید. مطالعه هاپلوتیپ نشان داد که در این دو توده جمعیتی سه هاپلوتیپ C، B و D به ترتیب دارای فراوانی ۰/۱۴، ۰/۸۴ و ۰/۰۲ برای مرغان خزک و ۰/۰۲ و ۰/۰۸ برای مرغان دشتیاری بود.

### مقدمه

توده‌های نژادی مرغ بومی منطقه سیستان و بلوچستان شامل دو توده نژادی خزک و دشتیاری است که مرغان خزک دارای تیپ تخمگذار می‌باشند و بیشتر در شمال استان در منطقه سیستان نگهداری می‌شوند و مرغان دشتیاری که شبیه به نژادهای بومی طیور جنوب آسیا و از تیپ گوشتی می‌باشند، بیشتر در مناطق جنوبی استان و سواحل دریای عمان نگهداری می‌شوند. میزان تخم مرغ تولیدی مرغان خزک و دشتیاری به ترتیب ۱۳۰ و ۷۰ عدد در سال می‌باشد. قابلیت جوجه درآوری این دو توده نژادی بین ۷۰ تا ۸۰ درصد می‌باشد (۱).

### واژه‌های کلیدی

پلیمورفیسم،  
ژن فسفوanolپیروات-  
کربوکسی کیناز،  
مرغان بومی سیستان و  
بلوچستان،  
خزک،  
دشتیاری

جهش در اگرون شماره ۱ قرار داشتند. همچنین پارسانژاد و همکاران (۲۰۰۳) با استفاده از تکنیک RFLP ۶ ژنوتیپ CC, BC, AC, AA برای این محدوده (۳۷۹۲ bp) از ژن تعیین کردند که ژنوتیپ AA بیشترین تاثیر را بر روی سن اولین تخم‌گذاری و ژنوتیپ BB بر روی وزن تخم مرغ داشته و ژنوتیپ‌های AA و AB باعث بیشترین مصرف خوراک در طیور نزاد لگهورن بودند. در مطالعه امام قلی بیگلی و همکاران (۲۰۱۰) در مرغان بومی یزد پلی‌مورفیسم مشاهده نگردید. با توجه به اقدامات اخیر برای حفظ و نگهداری توده‌های نزادی بومی از جمله توده‌های خزک و دشتیاری در کشور و همچنین تاثیر این ژن بر روی تولید تخم مرغ و سایر صفات فیزیولوژیک، این تحقیق با هدف بررسی پلی‌مورفیسم ژن PEPCK-C در این دو توده نزادی صورت گرفت.

## مواد و روش‌ها

در این تحقیق تعداد ۱۰۰ نمونه از مرغان بومی منطقه سیستان و بلوچستان مرغان خزک و دشتیاری بطور تصادفی از گله موجود در پژوهشکده دام‌های خاص دانشگاه زابل انتخاب شدند. این مرغان در پژوهشکده دام‌های خاص نگهداری می‌شوند. DNA با غلظت مناسب از ناحیه فولیکول انتهایی پر باستفاده از کیت دیاتوم استخراج گردید (۲۰ نانوگرم DNA در هر میکرولیتر). غلظت ژل آگارز برای الکتروفورز DNA استخراجی ۱٪ بوده و DNA استخراجی بدون شکستگی و آلودگی بود. تکنیک استفاده شده در این تحقیق مبتنی بر PCR-RFLP بود. پس از مرحله استخراج، DNA باستفاده از جفت آغازگرها (۹) از پرومотор تا اگرون شماره ۳ ژن PEPCK-C تکثیر شد. مشخصات این آغازگرها در جدول ۱ آمده است.

برای تکثیر نواحی مورد نظر در ژن PEPCK از برنامه‌ریزی حرارتی که در جدول ۲ آمده است، استفاده شد.

ژن فسفوانول‌پیروات‌کربوکسی‌کیناز (PEPCK)، کدکننده آنزیمی با همین نام درون سلول‌های اکثر موجودات می‌باشد که دو شکل متفاوت از این ژن در دو مکان متفاوت از ژنوم وجود دارد، که یکی ژن نوع سیتوزولی (PEPCK-C)<sup>۱</sup> و دیگری نوع میتوکندریالی (PEPCK-M)<sup>۲</sup> می‌باشد. آنزیم PEPCK یک آنزیم کلیدی در چرخه نوسازی گلوکز (گلیکونئوژن) بوده که با استفاده از یک مولکول GTP و تبدیل آن به GDP و دکربوکسیلاسیون-اگزالاستات، این ماده را به فسفوانول‌پیروات تبدیل می‌کند و همچنین باعث فسفوریلاسیون اسیدهای کربوکسیلیک نظیر گلیکولات و تیوگلیکولات می‌شود (۲). جداسازی پروتئین‌های تولید شده به وسیله این ۲ ژن نشان از تفاوت در اندازه، مسئولیت PEPCK-C دارای طول ۸ kb و بوده که دارای ۸ اگزون می‌باشد. مشخص شده است که طول mRNA برای ژن PEPCK-C حدود ۲/۸ kb و برای ژن PEPCK-M ۳/۴ kb می‌باشد (۵ و ۶). همچنین آنزیم PEPCK-C دارای یک محتوای غنی از پرولین و تریپتوфан می‌باشد. موقعیت ۴۶۰-۷۳ این ژن شامل عوامل تنظیمی است که به cAMP، هورمون‌های گلیکوکورتیکوئید، تیروئید و انسولین پاسخ داده و نسخه‌برداری ژن مربوطه را تنظیم می‌کند (۶). ناحیه ۶۴۹ bp غیرترجمه‌ای ژن ۲۶۴ bp و توالی غیرترجمه‌ای ۳' ژن ۳' mRNA ۶۴۹ bp طول دارند و یک ناحیه غنی از U در انتهای ۳' از ژن mRNA در PEPCK-C جوچه وجود دارد (۷). وجود توالی CCAAT در پرومотор ژن باعث افزایش اتصال پروتئین‌های نسخه‌برداری می‌گردد. توالی CCAAT همچنین عامل اتصال پروتئین در وضعیت-های چندگانه تغذیه‌ای، رشدی و تنظیم هورمونی می‌باشد. هورمون‌هایی نظیر تیروئید و گلوکوکورتیکوئید باعث افزایش اتصال RNA پلیمراز II به پرومotor ژن و افزایش اتصال پروتئین به توالی CCAAT می‌شوند (۸). پارسانژاد و همکاران (۲۰۰۲) وجود ۱۹ چندشکلی تک نوکلئوتیدی (SNP) را در توالی به طول ۳۷۹۲ bp (۲۰۶۹ - ۲۱۷۲۳) از ژن PEPCK-C مشخص کرد که SNP ۱۰ در ناحیه پرومотор، ۸ در ناحیه ایترون و یک

<sup>1</sup> Cytosolic Phosphoenolpyruvat Carboxykinase

<sup>2</sup> Mitochondrial Phosphoenolpyruvat Carboxykinase

جدول ۱- مشخصات جفت آغازگرهای مورد استفاده

نام آغازگر	توالی آغازگر	طول قطعه
F1R1 F R	5'CTGGGACCACCAAGCAAGTACTG3' 5' GCCTGTGCAGTCGGTGTGTA 3'	۸۰۰
F2R2 F R	5'GCTGGGACTGAATGGAAGAGGAG3' 5'CTGTTGAGTCGGATGGGTGTCAG3'	۱۰۰۰
F3R3 F R	5' CACCATCAGCTGAAAGGGAGCC3' 5'GTTGGGTTCGTTGGGAGAGACAAC3'	۱۰۰۰
F4R4 F R	5'GTCTCTCCAACGAACCCAACATG3' 5' CCTCTTCTGACATCCAGCGACC3'	۱۰۸۰

جدول ۲- برنامه دمایی مورد استفاده برای آغازگرهای مختلف

دماهی تکثیر نهائی/زمان	دماهی تکثیر زمان	دماهی اتصال/زمان	دماهی واسرشته سازی ثانویه/زمان	دماهی واسرشته سازی اولیه/زمان	آغازگر
۸/۷۲°C	۹۰/۷۲°C	۸۰/۶۰°C	۶۰/۹۴°C	۵/۹۵°C	F1R1
		۸۰/۶۱°C			F2R2
		۸۰/۵۸°C			F3R3, F4R4

### نتایج

نتایج هضم با آنزیم‌های برشی نشان داد که برای قطعات تکثیر شده توسط جفت آغازگرهای F1R1، F3R3، F4R4 و F2R2 هیچ جایگاه برشی برای آنزیم *BstE II* وجود نداشت و قطعات با طول‌های اولیه خود وجود داشتند، ولی برای جفت آغازگر F2R2، آنزیم *BstE II* تعدادی از محصولات را به قطعات ۳۰۰ و ۷۰۰ bp پژوهش کردند. برای هر نمونه از محصولات PCR، ۲ μl بافر ۱۰<sup>۰</sup>x، ۱۶ μl آب مقطر و ۳ μl از محصول PCR (به علت غلظت بالای محصولات) برای هر واکنش آنزیمی و ب - آنزیم *Aci I* با جایگاه برشی AATGTT3'، پروتکل هضم آنزیمی شامل استفاده از ۱ واحد آنزیم (۰/۱ میکرولیتر) برای هر نمونه از محصولات PCR، ۲ μl بافر ۱۰<sup>۰</sup>x، ۱۶ μl آب مقطر و ۵ μl از محصول PCR (به علت غلظت بالای محصولات) برای هر واکنش آنزیمی در نظر گرفته شد. سپس تمامی نمونه‌های حاوی آنزیم به مدت ۱۲ ساعت در دماهی ۳۷°C در انکوبه شدند و پس از اتمام زمان هضم آنزیمی برای بررسی قطعات برشی از ژل آگارز ۱/۵ درصد استفاده شد. برای تعیین فراوانی‌های الی و ژنوتیپی از نرم‌افزار POPGENE استفاده شد.

با توجه به جدول ۴ فراوانی ژنوتیپ AA برای جفت آغازگر F2R2 (در مورد ژنوتیپ‌های *Aci I*) در توده نژادی خزک کمتر از ۴۱

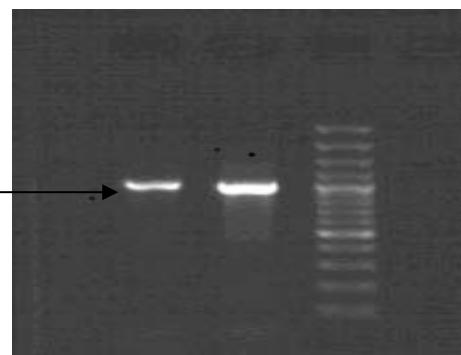
اندازه قطعه تکثیر شده با استفاده از ژل آگارز ۱/۲ و نشانگر اندازه ۱۰۰ bp (Fermentas) مشخص شد. دو آنزیم برشی مورد استفاده برای هضم محصولات PCR عبارت بودند از الف - آنزیم *BstE II* (Eco91 I) با جایگاه برشی ۵'GGTNACC3'، پروتکل هضم آنزیمی شامل استفاده از ۲ واحد آنزیم (۰/۲ میکرولیتر) برای هر نمونه از محصولات PCR، ۲ μl بافر ۱۰<sup>۰</sup>x، ۱۶ μl آب مقطر و ۳ μl از محصول PCR (به علت غلظت بالای محصولات) برای هر واکنش آنزیمی و ب - آنزیم *Aci I* با جایگاه برشی AATGTT3'، پروتکل هضم آنزیمی شامل استفاده از ۱ واحد آنزیم (۰/۱ میکرولیتر) برای هر نمونه از محصولات PCR، ۲ μl بافر ۱۰<sup>۰</sup>x، ۱۶ μl آب مقطر و ۵ μl از محصول PCR (به علت غلظت بالای محصولات) برای هر واکنش آنزیمی در نظر گرفته شد. سپس تمامی نمونه‌های حاوی آنزیم به مدت ۱۲ ساعت در دماهی ۳۷°C در انکوبه شدند و پس از اتمام زمان هضم آنزیمی برای بررسی قطعات برشی از ژل آگارز ۱/۵ درصد استفاده شد. برای تعیین فراوانی‌های الی و ژنوتیپی از نرم‌افزار POPGENE استفاده شد.

مرغان دشتیاری دارای فراوانی بیشتر بود، فراوانی آلل A نیز در نژاد خزرک بیشتر بود.

با توجه به اینکه مطالعات مختلف نشان داده است که یک نشانگر می‌تواند به تنهایی مورد بررسی قرار گیرد ولی اثر اقتصادی آن وقتی مورد توجه است که در یک ساختار هاپلوبئیدی (یعنی ترکیب چند آلل) در سویه مورد مطالعه بکار برده شود. لذا ما این دو نشانگر (SNP) را در ساختار هاپلوبئیدی نیز بررسی کردیم (جدول ۵).

نژاد دیگر بود، ضمن اینکه از این نظر نژاد دشتیاری بیشترین فراوانی را نشان داد. نکته جالب این بود که در هیچ یک از دو توده نژادی ژنتیپ BB مشاهده نشد. فراوانی آلل‌های A به ترتیب در مرغان دشتیاری و خزرک بیشتر بود. فراوانی آلل B در خزرک نسبت به دشتیاری از فراوانی بیشتری برخوردار بود. در این مطالعه مشاهده گردید که ژنتیپ‌های *BstE* II همچون ژنتیپ‌های *Aci* I از سه ژنتیپ ممکن تنها دو ژنتیپ مشاهده گردید و همچنین فراوانی ژنتیپ AA در نژاد خزرک نسبت به

۱۰۰۰ جفت باز



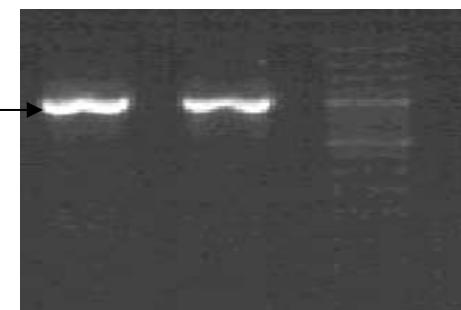
شکل ۱- محصولات PCR (قطعه ۱۰۰۰ جفت بازی) تکثیر شده توسط جفت آغازگر F2R2 بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد

۱۰۸۰ جفت باز

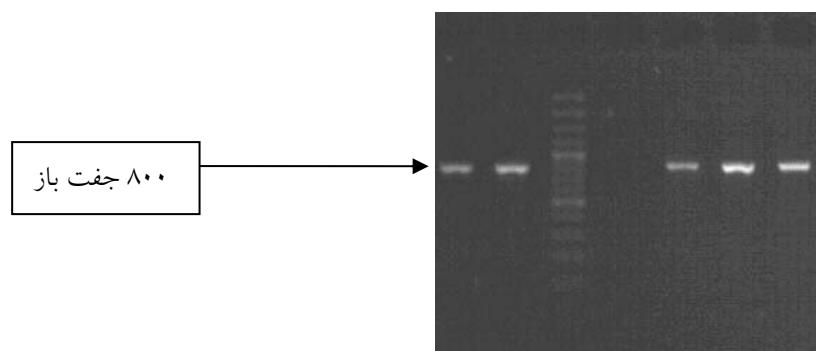


شکل ۲- محصولات PCR (قطعه ۱۰۸۰ جفت بازی) تکثیر شده توسط جفت آغازگر F4R4 بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد

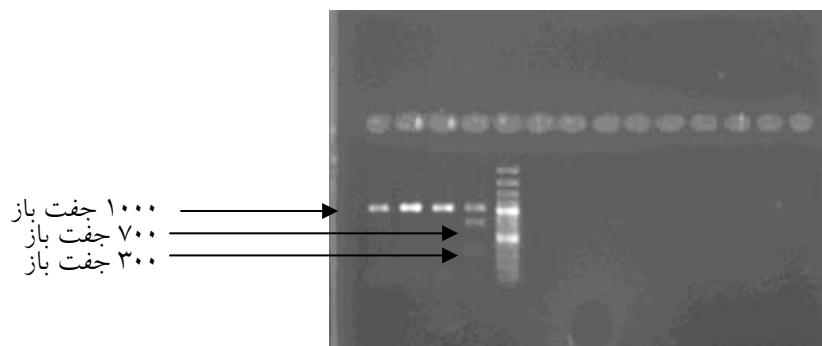
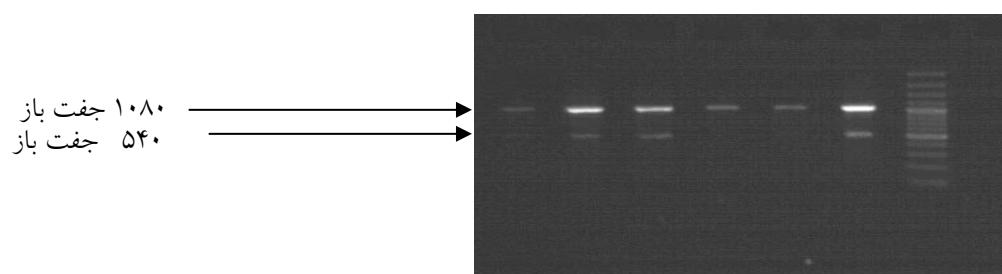
۱۰۰۰ جفت باز



شکل ۳- محصولات PCR (قطعه ۱۰۰۰ جفت بازی) تکثیر شده توسط جفت آغازگر F3R3 بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد



شکل ۴- محصولات PCR (قطعه ۸۰۰ جفت بازی) تکثیر شده توسط جفت آغازگر F1R1 بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد

شکل ۵- هضم آنزیمی قطعه ۱۰۰۰ جفت بازی (تولید شده با جفت آغازگر BstE II) با آنزیم *BstE* II بر روی ژل آگارز ۳ درصد در ژنتوتیپ‌های مطالعه شدهشکل ۶- هضم آنزیمی قطعه ۱۰۸۰ جفت بازی (تولید شده با جفت آغازگر *Aci* I) با آنزیم *Aci* I بر روی ژل آگارز ۳ درصد در ژنتوتیپ‌های مختلفجدول ۳- فراوانی ژنتوتیپی و آللی ژن *PEPCK* هضم شده با آنزیم *BstE* II

فراوانی آللی				فراوانی ژنتوتیپی		ژنتوتیپ
B		A		دشتیاری	خزر	
دشتیاری	خزر	دشتیاری	خزر			
۰/۰۸	۰/۰۲	۰/۹۲	۰/۹۸	۰/۸۴	۰/۹۶	AA
				۰/۱۶	۰/۰۴	AB
				۰/۰۰	۰/۰۰	BB

جدول ۴- فراوانی ژنتیپی و آللی ژن PEPCK هضم شده با آنزیم Aci I

فراوانی آللی				فراوانی ژنتیپی		ژنتیپ
B		A		دشتیاری	خرزک	
دشتیاری	خرزک	دشتیاری	خرزک			
۰/۰۲	۰/۱۴	۰/۹۸	۰/۸۶	۰/۹۶	۰/۷۲	AA
				۰/۰۴	۰/۲۸	AB
				۰/۰۰	۰/۰۰	BB

می‌گردد، از ۹ ژنتیپ مختلف تنها چهار ژنتیپ در دو توده نژادی (سه ژنتیپ برای هر یک از توده مرغان خرزک و دشتیاری) مشاهده گردید. در هر دو توده نژادی، فراوانی ژنتیپی CC بالاترین مقدار بود، به همین ترتیب فراوانی آلل C بیشترین مقدار را در این مرغان نشان داد. ولی فراوانی ژنهای B و D با یکدیگر متفاوت بود (جدول ۵).

قطعه از توده مرغان خرزک و دشتیاری برای RFLP در جایگاه Aci I و RFLP در جایگاه BstE II تعیین ژنتیپ شدند. فقدان یا حضور جایگاه برشی در دو جایگاه سه دسته هاپلوتیپی C (Aci I- BstE II-), B (Aci I+ BstE II-), و (Aci I- BstE II+) را نشان داد: هاپلوتیپ (Aci I+ BstE II+) در این دو توده چهارمین هاپلوتیپ A که در آن برای هر دو آنزیم جایگاه برشی دارد (Aci I+ BstE II+) در این دو توده مشاهده نگردید (جدول ۵). همان‌گونه که در جدول ۶ مشاهده

جدول ۵- فراوانی هاپلوتیپی PEPCK-C

فراوانی هاپلوتیپی		RFLP alleles		هاپلوتیپ
دشتیاری	خرزک	Aci I	BstE II	
۰/۰۲	۰/۱۴	+	-	B
۰/۹۰	۰/۸۴	-	-	C
۰/۰۸	۰/۰۲	-	+	D

جدول ۶- فراوانی هاپلوتیپ - ژنتیپ

فراوانی مشاهده شده	هاپلوتیپ - ژنتیپ	توده نژادی
۰/۷۲	CC	خرزک
	CD	
	BC	
	BD	
۰/۰	CC	دشتیاری
	CD	
	BC	
	BD	

## بحث

۰/۲۹ و ۰/۵۴ بود. می‌توان گفت در این نژاد میزان جهش ایجاد شده احتمالاً در اثر فشار انتخاب برای تولید تخم مرغ بیشتر بوده است به نحوی که فراوانی ژن وحشی C به ۰/۵۴ تقلیل یافته است در حالی که در نژادهای بومی خزک و دشتیاری اولاً میزان فراوانی ژن وحشی C کمتر دچار تغییر بوده است (به ترتیب ۰/۸۴ و ۰/۹۰ برای مرغان خزک و دشتیاری)، ثانیاً هاپلوتیپ A (که در آن برای هر دو جایگاه جهش رخ داده است) در دو جمعیت مرغان مشاهده نگردید و بجای آن هاپلوتیپ D مشاهده گردید. از نظر توزیع ژنتیکی نیز برای سه آلل هاپلوتیپ ۹ ژنتوتیپ مرور انتظار است، اما تنها چهار ژنتوتیپ مشاهده گردید. البته با این تذکر که در هر جمعیت تنها سه نوع ژنتوتیپ مشاهده گردید. در مطالعه روی مرغان لگهورن تعداد شش ژنتوتیپ از نه ژنتوتیپ ممکن مشاهده شده بود، با توجه به این نظریه که احتمالاً آلل اولیه B بوده است و سایر آلل‌ها از جهش ایجاد شده‌اند. در مورد این دو توده نژادی با توجه به فراوانی بالای آلل C کمی دشوار است که این نظریه را پذیریم.

مطالعات بیشتری راجع به اثر آلل‌ها و ژنتوتیپ‌های هاپلوتیپ مورده مطالعه روی صفات تولیدی در مرغان خزک و دشتیاری باید صورت گیرد تا دلیل این تنوع کم مشخص گردد.

## منابع

1. ربانی، ف (۱۳۷۸). بررسی تنوع ژنتیکی توسط نشانگرهای ریزماهواره‌ای در جمعیت توده نژادی خزک و دشتیاری منطقه سیستان. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه زابل.
2. David EA, Fraces AE, Sohcli AC, Yoshitake S and Vern LS (1990). Mammalian and avian liver Phosphoenolpyruvat Carboxykinase. *The journal of biological chemistry*. 265: 7377-7384.
3. Yaccov H, Yoo-Warren H and Hanson RW (1984). The gene encoding the cytosolic form of the phosphoenolpyruvat carboxykinase from the chicken. *The journal of biological chemistry*. 259: 15609-15614.
4. Yaccov H, Morris SM and Hanson RW (1984). Induction by cAMP of the mRNA encoding the cytosolic form of phosphoenolpyruvat carboxykinase from the chicken. *The journal of biological chemistry*. 259: 15603-15608.

پارسانژاد و همکاران (۲۰۰۲) ۳۷۹۲ جفت باز شامل ۱۷۲۳ جفت باز در ناحیه پروموتور و ۱۵۷۸ جفت باز در ناحیه اینترون و ۴۹۵ جفت باز در ناحیه اگزون ۱ تا ۳ را مورد بررسی قرار دادند و ۱۹ SNP یا یک SNP به ازاء هر ۲۰۰ جفت باز شناسائی کردند که تنها دو تا از SNP توسط آنزیم‌های برشی قابل شناسائی بودند. ده SNP در ناحیه پروموتور، هشت SNP در ناحیه اینترون و تنها یک SNP در ناحیه اگزون وجود داشت. در تحقیق حاضر چهار جفت آغازگر فاصله پروموتور تا اگزون ۳، ژن PEPCK را تحت پوشش قرار داده بود، و دو آنزیم برشی برای شناسائی SNP‌های احتمالی در دو توده نژادی مورد بررسی قرار گرفت تا در صورت وجود جایگاه شناسائی برای این دو آنزیم برشی آن‌ها شناسائی شوند. همچون سایر گزارشات قبلی که روی مرغان سویه لگهورن صورت گرفته، در تحقیق ما نیز سایت برشی برای آنزیم Aci I تنها در قطعه تکثیر شده توسط جفت آغازگر F4R4 وجود داشت و برای آنزیم BstE II نیز یک سایت برشی در قطعه تکثیر شده F2R2 وجود داشت. در تحقیق امام قلی بیگلی و همکاران (۲۰۱۰) برای مرغان بومی یزد، هیچ سایت برشی برای آنزیم Aci I مشاهده نگردید.

نتایج تحقیق ما سه هاپلوتیپ و چهار ژنتوتیپ - هاپلوتیپ را نشان داد. در گزارش پارسا نژاد و همکاران (۲۰۰۲) هاپلوتیپ D (Aci I- BstE II+) مشاهده نشده بود، اما در تحقیق حاضر هاپلوتیپ A (Aci I+ BstE II+) مشاهده نشد. گزارش شده است که دو هاپلوتیپ A و C نماینده دو شاخه متفاوت از درخت ژنتیکی هستند و بیشترین فاصله ژنتیکی را از هم دارند (پارسانژاد و همکاران ۲۰۰۲). در این تحقیق هاپلوتیپ A مشاهده نگردید و بجای آن هاپلوتیپ D وجود داشت. این نتایج نشان می‌دهد که برای این جایگاه‌ها توده مرغان بومی خزک و دشتیاری دارای تنوع کمتری می‌باشند. ضمن اینکه هاپلوتیپ B در مرغان خزک بیشترین فراوانی را داشت و هاپلوتیپ D که قبلاً گزارش نشده بود در مرغان دشتیاری فراوانی بالاتری داشت. با توجه به این که در گزارش مربوط به هاپلوتیپ‌های ژن PEPCK-C در مرغان لگهورن سفید (۹) فراوانی سه هاپلوتیپ A، B و C به ترتیب

5. Sato A, Takahashi H, Konishi K, Susuki T and Kochi H (1997). Nucleotide sequence of the promoter region of chicken Cytosolic phosphoenolpyruvate carboxykinase. *Journal of Biochemistry*. 121: 711-716.
6. Hanson RW (1997). Regulation of phosphoenolpyruvate carboxykinase gene expression. *Annual Review Biochemistry*. 66: 581-611.
7. Jonathan S, Cook S, Welden L and Garcia-Ruiz JP (1986). Nucleotid sequence of the mRNA encoding the Cytosolic form of Phosphoenolpyruvate Carboxykinase from the chicken. *The Proceedings of the Naional Academy of Sciences*. 83: 7583-7587.
8. Jurado LA, Song S, Roesler WJ and Park EA (2002). Conserved Amino Acids within CCAAT Enhancer-binding proteins regulate Phosphoenolpyruvate Carboxykinase Gene experession. *Journal of biological chemistry*. 277: 27606-27612.
9. Parsanejad R, Torkamanzehi A, Zadworny D and Kuhnlein U (2002). Genetic variability of the Cytosolic Phosphoenolpyruvate Carboxykinase gene in white leghorn chickens. *Poultry science*, 81: 1668-1670.
10. Parsanejad R, Torkamanzehi A, Zadworny D and Kuhnlein U (2003). Alleles of Cytosolic Phosphoenolpyruvate Carboxykinase (*PEPCK*) trait association and interaction with mitochondrial PEPCK in a strain of Leghorn chickens. *Poultry Science*, 82: 1708-1715.
11. Emamgoli begli H, Zerehdaran S, Hassani S, Abbasi MA and Khan Ahmadi A (2010). Polymorphism in prolactin and *PEPCK-C* genes and its association with economic traits in native fowl of Yazd province. *Iranian journal of biotechnology*. 8: 172-177.