

تعیین تفاوت ژن *PEPCK-C* به روش PCR-RFLP و ارتباط آن با صفات

عملکردی در مرغان بومی استان خراسان رضوی

Identification of *PEPCK-C* polymorphism using PCR- RFLP method and its association with economic traits in native fowl of Khorasan Razavi province

فرشته قدمگاهی^۱، سعید زره‌داران^۲، مختارعلی عباسی^۳، مجتبی آهنی‌آذری^{۴*} و مونا صالحی‌نسب^۵
Fereshte Ghadamgahi¹, Saeed Zerehdaran², Mokhtar Ali Abbasi³, Mojtaba Ahani Azari^{4*}
and Mona Salehi Nasab⁵

۱- کارشناسی‌ارشد دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه گرگان

۲- استاد و عضو هیات علمی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد

۳- دانشیار و عضو موسسه تحقیقات علوم دامی کشور

۴- استادیار و عضو هیات علمی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه گرگان

۵- دانشجوی دکتری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

1- M.Sc student, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources.

2- Professor, Ferdosi Mashhad University of Agricultural Sciences.

3- Associate professor, Animal Research Institute, Karaj.

4- Assistant professor, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources.

5- PhD student, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources.

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: mojtaba-9@yahoo.com

(تاریخ دریافت: ۹۲/۶/۲۲ تاریخ پذیرش: ۹۲/۱۱/۹)

چکیده

این پژوهش با هدف تعیین تفاوت ژن *PEPCK-C* در جمعیت مرغان بومی استان خراسان رضوی انجام گرفت. این ژن کد کننده آنزیمی با همین نام درون سلول‌های اغلب موجودات است. این آنزیم نقش کلیدی در چرخه نوسازی گلوکز (گلوکوئوئوز) دارد. دو نوع متفاوت از این ژن به شکل‌های نوع سیتوزولی (*PEPCK-C*) و نوع میتوکندریایی (*PEPCK-M*) وجود دارد. در این پژوهش نمونه‌های خون به‌طور تصادفی از ۱۰۰ قطعه نژاد مرغ بومی منطقه خراسان رضوی جمع‌آوری شد. دی.ان.ای به‌روش نمکی بهینه یافته استخراج و سپس با استفاده از یک جفت آغازگر اختصاصی، قطعه‌ای با طول ۱۰۰۰ جفت‌باز تولید شد. این قطعه از پیش‌بر تا اگزون شماره سه ژن *PEPCK-C* را پوشش می‌دهد. به منظور تعیین ژنوتیپ‌های مختلف، روش PCR-RFLP با استفاده از آنزیم‌برشی *BstE II* به‌کار گرفته شد. برای بررسی ارتباط تفاوت این ژن با صفات عملکردی از روش GLM، نرم‌افزار SAS استفاده شد. سه الگوی ژنوتیپی AA، AB و BB به‌ترتیب با فراوانی ۰/۴۶، ۰/۳۵ و ۰/۱۹ در این جمعیت مشاهده شد. تفاوت ژن *PEPCK-C* اثر معنی‌داری بر صفات وزن تولد ($P < 0/01$)، وزن در ۱۲ هفتگی ($P < 0/0001$) و میانگین وزن تخم‌مرغ بین ۲۸ تا ۳۲ هفتگی ($P < 0/002$) داشت. اثر تفاوت این ژن روی دیگر صفات مورد پژوهش معنی‌دار نبود. براساس نتایج این پژوهش، پرندگان با ژنوتیپ BB بالاترین وزن تولد، وزن در ۱۲ هفتگی و میانگین وزن تخم‌مرغ را داشتند. براساس نتایج این پژوهش انتخاب براساس تفاوت ژن *PEPCK-C* می‌تواند در بهبود ژنتیکی صفات وزن بدن و وزن تخم‌مرغ در مرغان بومی خراسان رضوی موثر باشد.

واژه‌های کلیدی

ژن *PEPCK-C*

تفاوت

صفات عملکردی

مرغ خراسان رضوی

PCR-RFLP

مقدمه

مهمترین عواملی که پیشرفت در هر فعالیت تولیدی و اقتصادی را تضمین می‌کند، تلفیق دانسته‌های علمی با امکانات عملی است و این امر به‌ویژه در برخی از رشته‌های تولیدی مانند فعالیت‌های دامپروری ضروری و اجتناب ناپذیر است. یکی از اهداف ژنتیک مولکولی در زمینه اصلاح‌نژاد دام، بررسی تفاوت‌های موجود در ژن‌های مرتبط با صفات تولیدی مهم و اقتصادی است.

مرغان بومی به‌عنوان سرمایه ملی و ذخایر استراتژیک هر کشور محسوب می‌شوند و حفظ و تکثیر آن‌ها از اهمیت زیادی برخوردار است (Kimanimesh *et al.* 2003). افزایش بی‌سابقه جمعیت، رشد اقتصادی کشورهای جهان، بالا رفتن سطح زندگی مردم، افزایش میانگین طول عمر و تسریع در الگویذیری کشورهای درحال توسعه از کشورهای پیشرفته باعث افزایش تقاضا برای پروتئین با منشا دامی شده‌اند. این افزایش تقاضا راندمان کمی و کیفی تولیدات دامی را افزایش داده است (Maaz, 2001, Rasulian, 2000). مرغ‌های بومی به‌دلیل عدم نیاز به فناوری، مقاومت به برخی بیماری‌ها و شرایط سخت آب و هوایی و افزایش درآمد خانوارهای روستایی و همچنین استفاده مطلوب و بهینه از مازاد موادغذایی، تولید محصولات ارگانیک و ایجاد اشتغال اهمیت زیادی دارند (Kianimesh *et al.* 2002). با بهبود خصوصیت‌های ژنتیک مرغان بومی در دراز مدت می‌توان گامی موثر در جهت خودکفایی و در نتیجه قطع وابستگی از واردات طیور برداشت (Shamsae, 1986). بنابراین ارتقا وضعیت تولیدی آن‌ها جهت اقتصادی‌تر شدن پرورش در روستاها امری بسیار مهم و اجتناب ناپذیر است.

ژن فسفوانول‌پیرووات کربوکسی‌کیناز (PEPCK) (Phosphoenolpyruvat Carboxykinase) کد کننده آنزیمی با همین نام است و در ژنوم بیشتر موجودات زنده دو نوع متفاوت از این ژن وجود دارد (David *et al.* 1990). نوع اول این ژن سیتوزولی است (Cytosolic Phosphoenolpyruvat) PEPCK-C)

Carboxykinase)) که اندازه آن هشت کیلوباز است و نوع دوم آن میتوکنندریایی (Mitochondrial Phosphoenolpyruvat Carboxykinase) است (Yaacov *et al.* 1984). فسفوانول‌پیرووات کربوکسی‌کیناز آنزیم کلیدی در چرخه نوسازی گلوکز (گلوکونئوژنز) است. این آنزیم با استفاده از یک مولکول GTP و دکربوکسیلاسیون‌آگزواساتات این ماده را به فسفوانول‌پیرووات تبدیل می‌کند. این آنزیم همچنین باعث فسفوریلاسیون اسیدهای کربوکسیلیک نظیر گلیکولات و تیوگلیکولات می‌شود (David *et al.* 1990). واکنش گلوکونئوژنز در کبد و کلیه‌ها انجام و باعث تبدیل مواد غیرقندی مانند برخی از اسیدهای آمینه به گلوکز می‌شود. گلوکز وارد چرخه کربس شده و در نهایت باعث تولید انرژی می‌شود (Malone *et al.* 2007). ژن کدکننده این آنزیم به‌عنوان یک ژن کاندیدا برای شناسایی تنوع آلی و ارتباط آن با صفات اقتصادی مرتبط با پرورش طیور شناخته شده است و به‌طور عمده ناحیه پیشبر این ژن جهت تعیین ژنوتیپ به‌کار می‌رود. وجود توالی CCAAT در پیشبر ژن باعث افزایش اتصال پروتئین‌های نسخه‌برداری می‌شود. توالی CCAAT همچنین عامل اتصال پروتئین در وضعیت‌های چندگانه تغذیه‌ای، رشدی و تنظیم هورمونی است. هورمون‌هایی مانند تیروئید و گلوکوکورتیکوئید باعث افزایش اتصال آر.ان.ا پلیمرز II به پیشبر ژن و افزایش اتصال پروتئین به توالی CCAAT می‌شوند و نسخه‌برداری ژن مربوطه را تنظیم می‌کنند (Jurado *et al.* 2002).

در بررسی پارسانژاد و همکاران (۲۰۰۲)، که روی جوجه‌های نژاد لگهورن صورت گرفت، مشخص شد که چندشکلی در ژن PEPCK-C می‌تواند بر طیف وسیعی از صفات‌ها اثر داشته باشد. این ژن همچنین در بروز بیماری‌های توموری طیور که به‌شدت به سوخت و ساز گلوکز وابسته است نیز مؤثر هستند. آن‌ها روی ناحیه‌های به طول ۳۷۹۲ جفت‌باز از این ژن، در هشت جمعیت

مرغ‌ها براساس سن بلوغ جنسی، تعداد تخم‌مرغ تولیدی و میانگین وزن تخم‌مرغ در هفته‌های ۲۸، ۳۰ و ۳۲ و خروس‌ها براساس عملکرد خواهرانشان انتخاب می‌شوند. شدت انتخاب اعمال‌شده در نرها حدود ۵ درصد و در ماده‌ها حدود ۴۰ درصد است، به طوری که در نهایت تعداد ۸۰۰ مرغ و ۸۰ خروس انتخاب می‌شوند و برنامه آمیزشی به صورت هر خروس به ازای ۱۰ مرغ اجرا می‌شود.

جوجه‌های تولیدی شجره‌دار با وزن‌کشی در روز اول و انجام واکسیناسیون‌های لازم به سالن پرورش منتقل و سپس در سنین هشت و ۱۲ هفتگی وزن‌کشی شده و جداسازی مرغ و خروس انجام می‌گرفت. با شروع تخم‌گذاری گله، نسبت به ثبت سن بلوغ جنسی اقدام و بعد از رسیدن به ۵ درصد تولید ثبت وزن و تعداد تخم‌مرغ طی ۱۲ هفته اول تولید آغاز و همچنین وزن تخم‌مرغ در سنین ۲۸، ۳۰ و ۳۲ هفتگی به صورت روزانه ثبت می‌شود. در پژوهش حاضر، از داده‌های مربوط به وزن بدن در هنگام تولد، وزن بدن در هشت و ۱۲ هفتگی، سن بلوغ جنسی، وزن بلوغ جنسی، تعداد تخم‌مرغ تولیدی در ۱۲ هفته اول تولید و میانگین وزن تخم‌مرغ بین ۲۸ تا ۳۲ هفتگی، نسل هفتم (۱۳۹۱) مرکز پشتیبانی و اصلاح نژاد مرغ بومی خراسان رضوی مورد استفاده قرار گرفت. خون‌گیری به میزان یک سی‌سی از رگ بال ۱۰۰ مرغ بومی این مرکز که به‌طور تصادفی انتخاب شدند، انجام و نمونه‌ها به لوله‌های حاوی EDTA منتقل و در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد ذخیره شد. دی.ان.ا. به روش نمکی بهینه یافته استخراج شد.

غلظت ژل آگارز برای الکتروفورز دی.ان.ای استخراجی یک درصد بوده و دی.ان.ای استخراجی بدون شکستگی و آلودگی مشاهده شد. پس از مرحله استخراج، دی.ان.ا. با استفاده از یک جفت آغازگر با توالی
 F: 5'GCTGGGACTGAATGGAAGAGGAG3'
 R: 5'CTGTTGAGTCGGATGGGTGTCA3'
 (Parsanejat et al. 2002) و طول قطعه ۱۰۰۰ جفت‌باز از پیشبر تا اگزون شماره ۳ ژن *PEPCK-C* تکثیر شد. برنامه

مختلف لگهورن سفید با روش RFLP، ۱۹ جهش تک نوکلئوتیدی شناسایی کردند. همچنین پارسانژاد و همکاران (۲۰۰۳)، با استفاده از تکنیک RFLP، شش ژنوتیپ CC، BC، BB، AC، AB و AA برای این محدودده (۳۷۹۲ جفت‌باز) از ژن تعیین کردند. امام‌قلی‌بگلی و همکاران (۲۰۱۰)، برای ژن *PEPCK-C* در مرغان بومی یزد تفاوت مشاهده نکردند.

عمرانی‌بیدی و همکاران (۱۳۸۹)، تفاوت ژن *PEPCK-C* را در مرغان بومی سیستان در دو توده خزک و دشتیاری با روش PCR-RFLP بررسی کردند.

تجزیه و تحلیل نتایج، وجود ارتباط ژنوتیپ‌های این ژن با صفات عملکردی در گله‌های مربوطه را نشان داد. از آنجایی که ترکیب ژنتیکی نژادهای محلی پایه و اساس اصلاح‌نژاد طیور را تشکیل می‌دهند، استفاده از تنوع ژنتیک موجود در مرغان بومی می‌تواند زمینه را برای تولید پرندگان با عملکرد رشد و تولید تخم‌مرغ در عین سازگاری با شرایط روستایی فراهم کند (Hoffman, 2005). هدف از این پژوهش، بررسی تفاوت ژن *PEPCK-C* و ارتباط آن با صفات عملکردی در جمعیت مرغان بومی خراسان رضوی است.

مواد و روش‌ها

مرکز پشتیبانی و اصلاح نژاد مرغ بومی خراسان رضوی در مشهد (کیلومتر پنج جاده مشهد-قوچان) واقع شده است. عملیات اصلاح‌نژادی در این مرکز از سال ۱۳۸۴ آغاز شد. در نسل‌های بعدی، رکوردهای مربوط به صفات‌های وزن بدن در یک‌روزگی، هشت و ۱۲ هفتگی، سن و وزن بلوغ جنسی و تعداد تخم‌مرغ تولیدی در ۱۲ هفته اول تولید اندازه‌گیری شد. مشابه با سایر مراکز اصلاح‌نژاد مرغ بومی، انتخاب پرندگان برتر در هر نسل در دو مرحله انجام می‌شود. در مرحله اول، پرندگان براساس وزن هشت و ۱۲ هفتگی انتخاب می‌شوند. در سن ۲۰ هفتگی، ماده‌ها به قفس‌های انفرادی منتقل شده و تولید تخم آن‌ها به مدت ۱۲ هفته ثبت می‌شود. در مرحله دوم انتخاب،

پژوهش با رویه مدل‌های خطی عمومی (GLM) نرم‌افزار SAS 9.1 انجام شد. برای بررسی ارتباط ژنوتیپ‌ها با صفات عملکردی از رابطه ۱ استفاده شد.

$$Y_{ijk} = \mu + H_i + G_j + e_{ij} \quad \text{رابطه ۱}$$

در این مدل:

Y_{ijk} : مشاهده‌های مربوط به صفت‌های مورد بررسی

μ : میانگین کل

H_i : اثر ثابت نوبت جوجه‌کشی

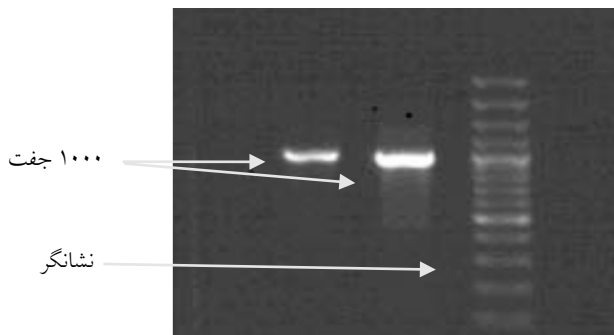
G_j : اثر ژنوتیپ‌های مربوط به ژن مورد بررسی

e_{ijk} : اثر باقیمانده

برای مقایسه میانگین‌های حداقل مربعات صفت‌های عملکردی در ژنوتیپ‌های مختلف از روش توکی استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج هضم با آنزیم‌های برشی نشان داد که برای قطعه‌های تکثیرشده توسط یک جفت آغازگر (شکل ۱)، دو جایگاه برشی برای آنزیم *BstE* II وجود داشت و این آنزیم تعدادی از محصول‌ها را به قطعات ۳۰۰ جفت‌باز و ۷۰۰ جفت‌باز برش داد (شکل ۲)، که قطعات با طول ۱۰۰۰ جفت‌باز، آلل A و قطعه‌های با طول ۳۰۰ جفت‌باز و ۷۰۰ جفت‌باز، آلل B نام‌گذاری شده و ژنوتیپ‌های به‌دست آمده به شرح جدول (۱) است.



شکل ۱- محصول‌های پی.سی.آر (قطعه‌های ۱۰۰۰ جفت‌بازی) تکثیر شده توسط جفت آغازگر بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد

Figure 1- The products of PCR (Parts 1000bp) amplified by primer on agaros gel 1.5 percent

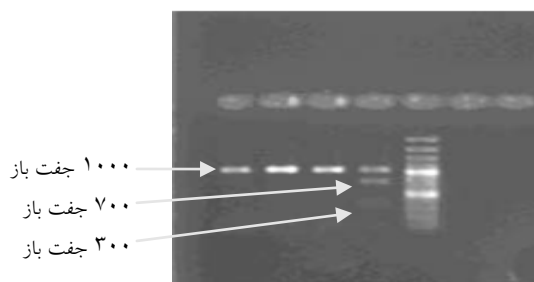
حرارتی استفاده شده برای تکثیر نواحی مورد نظر در ژن *PEPCK-C*، شامل دمای واسرشته‌سازی اولیه ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، دمای واسرشته‌سازی ثانویه ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶۰ ثانیه، دمای اتصال ۶۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۸۰ ثانیه، دمای تکثیر ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۹۰ ثانیه و دمای تکثیر نهایی ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت هشت دقیقه است.

اندازه قطعه تکثیر شده با استفاده از ژل آگارز ۱/۲ درصد مشخص شد. تکنیک استفاده‌شده در این پژوهش مبتنی بر *PCR-RFLP* بود. آنزیم برشی مورد استفاده برای هضم محصول‌های پی.سی.آر، آنزیم *BstE* II (*EcoRI*) ساخت شرکت پدیده نوژن پارس (مشهد) با جایگاه برشی $5' \text{GGTNACC}3'$ بود. پروتکل هضم آنزیمی شامل استفاده از دو واحد آنزیم (۰/۲ میکرولیتر) برای هر نمونه از محصول‌های پی.سی.آر، دو میکرولیتر بافر ۱۰x، ۱۶ میکرولیتر آب مقطر و سه میکرولیتر از محصول‌های پی.سی.آر (به‌علت غلظت بالای محصولات) برای هر واکنش آنزیمی در نظر گرفته شد. سپس تمامی نمونه‌های حاوی آنزیم به مدت ۱۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند و پس از اتمام زمان هضم آنزیمی برای بررسی قطعات برشی از ژل آگارز ۱/۵ درصد استفاده شد. برای تعیین فراوانی ژنی و ژنوتیپی از روی تعداد ژنوتیپ‌های به‌دست آمده در جمعیت مورد بررسی فایل اطلاعات ژنوتیپ‌های مشاهده شده در نرم‌افزار *Pop gene* 1.31 (Yeh *et al.* 1997) فراخوانده‌شده و پس از تعاریف اولیه در این نرم‌افزار شامل دیپلوئید بودن موجود، تعداد جایگاه، جمعیت‌ها، تعداد ژنوتیپ‌های مشاهده‌شده و نام‌گذاری آن‌ها، محاسبه‌های فوق در این نرم‌افزار انجام شد. پژوهش برقراری تعادل هاردی واینبرگ در جایگاه مورد بررسی در این پژوهش نیز با استفاده از نرم‌افزار *Pop Gene* و با آزمون کای‌مربع انجام شد. پس از تشخیص ژنوتیپ‌های مربوط به ژن *PEPCK-C*، آزمون آماری به منظور بررسی ارتباط ژنوتیپ‌های مذکور با صفت‌های عملکردی انجام شد. آزمون آماری کلیه داده‌های این

خزک، ۰۴ درصد و در نژاد دشتیاری ۱۶ درصد بوده است. کم بودن میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده می-تواند ناشی از تلاقی های جور شده مثبت در جمعیت مورد بررسی باشد.

میزان کل χ^2 محاسبه شده برابر با ۶/۰۰ بود که در سطح احتمال ۵ درصد دارای تفاوت معنی داری است، بنابراین جمعیت در تعادل هاردی-واینبرگ نیست (جدول ۱). این عدم تعادل، نبود شرایط برقراری تعادل، وجود انتخاب و همچنین تلاقی های غیر تصادفی را در توده نشان می دهد.

اثر ژنوتیپ در سنین وزن تولد، وزن در ۱۲ هفتگی و میانگین وزن تخم مرغ معنی دار ($p < 0.05$) و برای صفات وزن در ۸ هفتگی، سن بلوغ جنسی، وزن بلوغ جنسی و تعداد تخم مرغ غیر معنی دار بود. پرندگان با ژنوتیپ BB دارای وزن تولد، وزن ۱۲ هفتگی و میانگین وزن تخم مرغ بیشتر (به ترتیب ۳۸/۰۶، ۱۵۰۲/۷۵ و ۸۴/۹۵ گرم)) و حیوانات با ژنوتیپ AA دارای وزن تولد، ۱۲ هفتگی و میانگین وزن تخم مرغ تولیدی کمتری (به ترتیب ۳۶/۲۶، ۱۲۵۴/۶۱ و ۷۰/۴۲ گرم)) بودند. از طرفی با مقایسه میانگین ها، می توان به اثر آلل B پی برد که این آلل در افزایش وزن بدن در سنین تولد، ۱۲ هفتگی و میانگین وزن تخم مرغ مؤثر بوده است، به طوری که حالت هموزایگوتی این آلل در هر سه صفت اثر بیشتری بر وزن بدن نسبت به حالت هتروزیگوتی نشان داده است، (جدول ۲). پارسائزاد و همکاران (۲۰۰۳)، در محدوده ۳۷۹۲ جفت باز از ژن *PEPCK-C*، شش تفاوت مشاهده کردند که ژنوتیپ AA بیشترین اثر را بر روی اولین سن تخم گذاری و ژنوتیپ BB بیشترین اثر را بر روی وزن تخم مرغ داشته و همچنین بیشترین مصرف خوراک را در پرندگانی با ژنوتیپ های AA و AB نژاد لگهورن گزارش کردند. نتایج این پژوهش با نتایج پارسائزاد و همکاران (۲۰۰۳)، در همبستگی ژنوتیپ BB با صفت وزن تخم مرغ مطابقت داشت.



شکل ۲- هضم آنزیمی قطعه ۱۰۰۰ جفت بازی (تولید شده با جفت آغازگر) با آنزیم *BstE II* بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد

Figure 2- digestion of 1000 bp fragment (generated with primers) with *BstE II* enzymes on agarose gel 1.5 percent

باتوجه به شکل ۱ و ۲ الگوی بانندی متفاوت AA، AB و BB در بین نمونه ها مشاهده شد که این تفاوت نشان دهنده وجود سه ژنوتیپ متفاوت در جمعیت مورد بررسی در این پژوهش بود. فراوانی آللی برای آلل A، ۰/۶۳ و برای آلل B، ۰/۳۶ مشاهده شد. بیشترین فراوانی در این جمعیت مربوط به ژنوتیپ AA بوده و همچنین فراوانی آللی A هم بیشتر از فراوانی آللی B است. نتایج این پژوهش با بررسی های قبلی (Omrani Bidi et al., 2011)، برای ژن *PEPCK-C* در دو توده نژاد سیستان شامل خزک و دشتیاری مطابقت نداشت. در پژوهش ذکر شده ژنوتیپ BB مشاهده نشده بود. همچنین پارسائزاد و همکاران (۲۰۰۳)، شش ژنوتیپ AC، BB، BC، CC، AB و AA را در نژاد لگهورن مشاهده کردند. امام قلی بگلی و همکاران (۲۰۱۰)، نیز برای ژن *PEPCK-C* در مرغان بومی یزد تفاوت مشاهده نکردند. این تفاوت ها ممکن است به دلیل تفاوت در تعداد طیور مورد پژوهش و یا متفاوت بودن نژادها باشد.

میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده در جمعیت مورد بررسی ۳۵ درصد بود که نشان دهنده تنوع ژنتیک به نسبت کم در این مرکز برای این ژن است. میزان هتروزیگوسیتی مورد انتظار در این جمعیت، ۴۶/۵۸ درصد محاسبه شد. در پژوهش قبلی (Omrani Bidi et al., 2011)، هتروزیگوسیتی مشاهده شده در بین مرغان بومی

جدول ۱- فراوانی و تعداد ژنوتیپ‌ها و نتایج تعادل هاردی واینبرگ در مرغان بومی خراسان رضوی

Table 1- Frequency of genotypes and results of Hardy-Weinberg equilibrium in the domestic fowl Khorasan Razavi

ژنوتیپ	فراوانی	تعداد		آماره χ^2
		مشاهده شده	مورد انتظار	
AA	0.46	46	40.20	0.83
AB	0.35	35	46.58	2.88
BB	0.19	19	13.20	2.54
جمع	1	100	100	6.26*

*معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد ($p < 0.05$)

جدول ۲- مقایسه میانگین حداقل مربعات ژنوتیپ‌های مختلف ژن *PEPCK-C* بر روی صفات مورد پژوهش (میانگین \pm انحراف معیار) در مرغان بومی خراسان رضوی.

Table 2- Comparison of different genotypes means for *PEPCK-C* gene on the characteristics of the study (mean \pm SD) in Khorasan Razavi native birds.

صفت (گرم)	AA	AB	BB	احتمال معنی داری
وزن تولد	36.26 ^b \pm 0.34	36.65 ^b \pm 0.34	38.05 ^a \pm 0.09	0.013
وزن ۸ هفتگی	665.93 \pm 40/45	722.58 \pm 44/25	745/67 \pm 38/15	0.070
وزن ۱۲ هفتگی	1254. ^c 60 \pm 0.51	1467.44 ^b \pm 1.1	1502.75 ^a \pm 0.81	0.0001
سن بلوغ جنسی	165.72 \pm 0.64	167.78 \pm 1.12	165.34 \pm 0.71	0.72
وزن بلوغ جنسی	2007.67 \pm 0.59	1963.74 \pm 1.33	1865.61 \pm 0.76	0.088
تعداد تخم مرغ در ۲۸ تا ۳۲ هفتگی	35.8 \pm 0.58	32.18 \pm 0.93	36.15 \pm 0.88	0.128
وزن تخم مرغ	70.42 ^b \pm 0.69	72.53 ^b \pm 0.82	84.95 ^a \pm 0.37	0.002

در هر ردیف میانگین‌ها با حروف غیرمشترک دارای اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد هستند.

این پژوهش ارتباط ژنتیک و فنوتیپی صفات تولیدی مرغ بومی ایران در استان خراسان رضوی را مورد بررسی قرار داده است. براساس نتایج حاصل از این پژوهش، ژن *PEPCK-C* می‌تواند اثر معنی داری بر صفات تولیدی تولد، وزن در ۱۲ هفتگی و میانگین وزن تخم مرغ تولیدی داشته باشد. به نظر می‌رسد پرندگان دارای ژنوتیپ هموزایگوت غالب برای این ژن (BB) از مقدار بیشتری آنزیم *PEPCK-C* برخوردار بوده و در نتیجه سنتز گلوکز در بدن این پرندگان از منابع غیرقندی مانند برخی از اسیدهای آمینه بیشتر می‌شود. گلوکز وارد چرخه کربس شده و در نهایت باعث تولید انرژی می‌شود. افزایش تولید انرژی در این پرندگان شرایط را برای رشد بهتر و تولید تخم مرغ سنگین تر فراهم می‌آورد. بنابراین با توجه به نتایج

گرچه ارتباط معنی داری بین صفات وزن در هشت هفتگی و وزن بلوغ جنسی با ژن مورد نظر مشاهده نشد ولی میانگین این صفات در مرغان دارای ژنوتیپ BB از نظر عددی بالاتر از ژنوتیپ‌های دیگر بود. ارتباط معنی داری بین صفات سن بلوغ جنسی و تعداد تخم مرغ تولیدی با ژن مورد نظر مشاهده نشد (جدول ۲). در نتیجه این ژن روی این صفات در مرغان بومی خراسان رضوی مؤثر نیست.

PEPCK-C یک آنزیم کلیدی در سنتز گلوکز است. این آنزیم به شدت توسط انواع رژیم غذایی و هورمون‌ها تنظیم می‌شود. AMP حلقوی، گلوکو کورتیکوئیدها و هورمون‌های طبیعی از عوامل اصلی افزایش بیان ژن *PEPCK-C* به شمار می‌روند (Hanson, 1997).

سپاسگزاری

بدین وسیله از مساعدت مسئولین سازمان جهاد کشاورزی، موسسه تحقیقات علوم دامی کشور و همچنین کارشناسان مرکز اصلاح نژاد مرغ بومی مشهد سپاسگزاری می‌شود.

منابع

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.

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 (In Farsi with English abstract).

Hanson RW, 1997. Regulation of phosphoenolpyruvat carboxykinase gene expression. Annual Review Biological chemistry. 66: 581-611.

Hoffman I, 2005. Research and investment in poultry genetic resources-challenges and options for sustainable use. World Poult Sci 61:57-70.

Jurado LA, Song S, Roesler WJ and Park EA, 2002. Conserved Amino Acids within CCAAT Enhancer-binding proteins regulate Phosphoenolpyruvate Carboxykinase Gene expression. Journal of biological chemistry. 277: 27606-27612.

Kyanymanesh H, Nejatjvarmy A. Kamali M., 2003. Fars Native Fowl estimate genetic and environmental parameters, Journal of Construction Research, 5, pp: 9 (In Farsi with English abstract).

Kyanymnsh HR, Nejatjvarmy and Ariana AH., 2002. Study of economically important genetic traits in Mazandaran native fowls. The first seminar on genetics and breeding of livestock, poultry and aquaculture country, Faculty of Agriculture, Tehran University (In Farsi with English abstract).

Maaz, 2000. Statistical analysis of the world's poultry industry, poultry industry magazine, Issue 52 (In Farsi with English abstract).

Malone S, Chen ZH, Bahrami AR, Walker RP, Gray JE, Leegood RC, 2007. hosphoenolpyruvate

حاصل از این پژوهش می‌توان از ژنوتیپ BB در برنامه‌های اصلاح نژادی برای بالا بردن وزن بدن در این سنین و وزن تخم مرغ استفاده کرد. با توجه به کم بودن وفور مرغان دارای این ژنوتیپ، انتخاب براساس افزایش این ژنوتیپ می‌تواند راه‌کار مناسبی برای ارتقا بازده مرغ بومی خراسان رضوی باشد.

carboxykinase in Arabidopsis: changes in gene expression, protein and activity during vegetative and reproductive development. Plant and Cell Physiology, 48:441-450.

Omrani Bidi J, Alipanah M, Turkmanzahi A, Hosseini S. and Nasiri M, 2011. PEPCK-C gene polymorphism in Native Fowl Sistan and Baluchestan. Master Thesis of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Zabol (In Farsi with English abstract).

Parsanejad R, Torkamanzahi 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 (In Farsi with English abstract).

Parsanejad R, Zadworny S and Kuhnlein U, 2002. Genetic variability of the cytosolic phosphoenolpyruvate carboxykinase gene in White Leghorn chickens (In Farsi with English abstract). Journal Poultry Science 81:1668-1670.

Rasoulia S. 2001. Genetic study of some economic traits in domestic fowl in West Azerbaijan Province. Master's Thesis in Animal Science, Faculty of Agriculture, Higher Education Center, Imam Khomeini (ra).

Shamsae A. 1986. Identification and breeding of native chickens, Animal Husbandry Research Institute, the Research Journal, pp: 50.

Yaacov H, Morrish S M and Hanson W, 1984. Induction by CAMP of the mRNA encoding the cytosolic form of phosphoenolpyruvate carboxykinase (GTP) from the chicken. The journal of biological chemistry. 259:15603-15608.

Yeh FC, Yang RC, Timothy BJ, Ye Z, Judy M, 1997. Pop Gene, the user-friendly shareware for population genetic analysis. Molecular Biology and Biotechnology Center. Univ. Alberta.