مهندسی ژنتیک و ایمنی زیستی
دوره دوم، شماره ۲، پاییز و زمستان ۱۳۹۲
صفحه ۱۳٤-۱۲۷

تعیین تفاوت ژن *PEPCK-C* به‌روش 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[٤*] و مونا صالحی‌نسب[٥]

Fereshte Ghadamgahi[1], Saeed Zerehdaran[2], Mokhtar Ali Abbasi[3], Mojtaba Ahani Azari[4*] and Mona Salehi Nasab[5]

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

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

٥- 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: ۹۲/٦/۲۲ تاریخ پذیرش: ۹۲/۱۱/۹)

چکیده

این پژوهش با هدف تعیین تفاوت ژن *PEPCK-C* در جمعیت مرغان بومی استان خراسان‌رضوی انجام گرفت. این ژن کد کننده آنزیمی با همین نام درون سلول‌های اغلب موجودات است. این آنزیم نقش کلیدی در چرخه نوسازی گلوکز (گلوکونئوژنز) 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، ABو BB به‌ترتیب با فراوانی ۰/٤٦، ۰/۳٥و ۰/۱۹ در این جمعیت مشاهده شد. تفاوت ژن *PEPCK-C* اثر معنی‌داری بر صفات وزن تولد (P<۰/۰۱)، وزن در ۱۲ هفتگی (P<۰/۰۰۰۱) و میانگین وزن تخم‌مرغ بین ۲۸ تا ۳۲ هفتگی (P<۰/۰۰۲) 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 (Kimanimanesh *et al.* 2003). افزایش بی‌سابقه جمعیت، رشد اقتصادی کشورهای جهان، بالا رفتن سطح زندگی مردم، افزایش میانگین طول‌عمر و تسریع در الگوپذیری 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, 2000, Rasulian, 2001). 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 (Kianimanesh *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 (Shamsaee, 1986). بنابراین ارتقا وضعیت تولیدی آن‌ها جهت اقتصادی‌تر شدن پرورش در روستاها امری بسیار مهم و اجتناب ناپذیر است.

ژن فسفوانول‌پیروات کربوکسی‌کیناز (*PEPCK*) (Phosphoenolpyruvat Carboxykinase) کد کننده آنزیمی با همین نام است و در ژنوم بیشتر موجودات‌زنده دو نوع متفاوت از این ژن وجود دارد (David *et al.* 1990). نوع اول این ژن سیتوزولی است (*PEPCK-C*) Cytosolic Phosphoenolpyruvat Carboxykinase)) که اندازه آن هشت کیلوباز است و نوع دوم آن میتوکندریایی (Mitochondrial Phosphoenilpyruvat Carboxykinase) است (*PEPCK-M*) که اندازه آن ٤/٣ کیلوباز است (Yaacov *et al.* 1984). فسفوانول‌پیروات کربوکسی‌کیناز آنزیم کلیدی در چرخه نوسازی گلوکز (گلوکونئوژنز) است. این آنزیم با استفاده از یک مولکول GTP و دکربوکسیلاسیون‌اگزالواستات این ماده را به فسفوانول‌پیروات تبدیل می‌کند. این آنزیم همچنین باعث فسفوریلاسیون اسیدهای‌کربوکسیلیک نظیر گلیکولات و تیوگلیکولات می‌شود (David *et al.* 1990). واکنش گلوکونئوژنز در کبد و کلیه‌ها انجام و باعث تبدیل مواد غیرقندی مانند برخی از اسیدهای‌آمینه به گلوکز می‌شود. گلوکز وارد چرخه کربس شده و درنهایت باعث تولید انرژی می‌شود (Malone *et al.* 2007). ژن کدکننده این آنزیم به‌عنوان یک ژن کاندیدا برای شناسائی تنوع آللی 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 پلیمراز 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 صفت‌ها 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

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 محدوده (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 پرندگانی 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 اصلاح‌نژاد مرغ بومی خراسان رضوی در مشهد (کیلومتر پنج جاده مشهد-قوچان) واقع شده است. عملیات اصلاح‌نژادی در این مرکز از سال ۱۳۸٤ آغاز شد. در نسل‌های بعدی، رکوردهای مربوطبه صفت‌های 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 پرندگان‌برتر 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 منتقل‌شده و تولید تخم آن‌ها به‌مدت ۱۲ هفته ثبت می‌شود. در مرحله دوم انتخاب، 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 ٤۰ درصد است، به طوری‌که درنهایت تعداد ۸۰۰ مرغ و ۸۰ خروس انتخاب می‌شوند و برنامه آمیزشی به‌صورت 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، نسبت‌به 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 به‌صورت روزانه ثبت می‌شود. در پژوهش حاضر، از داده‌های مربوطبه 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، نسل‌هفتم (۱۳۹۱) مرکز پشتیبانی و اصلاح‌نژاد مرغ بومی خراسان رضوی مورد استفاده قرار گرفت. خون‌گیری به‌میزان 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.اِ به‌روش نمکی بهینه یافته استخراج شد.

غلظت ژل‌آگارز برای الکتروفورز دی.ان.اِی استخراجی یک درصد بوده و دی.ان.اِی استخراجی بدون شکستگی و آلودگی مشاهده شد. پس از مرحله استخراج، دی.ان.اِ با استفاده از یک جفت آغازگر با توالی

F: ۵´GCTGGGACTGAATGGAAGAGGAG۳´

R: ۵´CTGTTGAGTCGGATGGGTGTCAG۳´

(Parsanejat *et al*. 2002) و طول قطعه ۱۰۰۰ جفت‌باز از پیشبر تا اگزون شماره ۳ ژن *PEPCK-C* تکثیر شد. برنامه

حرارتی استفاده شده برای تکثیر نواحی مورد نظر در ژن *PEPCK-C*، شامل دمای واسرشته‌سازی اولیه ۹۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۵ دقیقه، دمای واسرشته‌سازی ثانویه ۹٤ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ٦۰ ثانیه، دمای اتصال ٦۱ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۸۰ ثانیه، دمای تکثیر ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۹۰ ثانیه و دمای تکثیر نهایی ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت هشت دقیقه است.

اندازه قطعه تکثیر شده با استفاده از ژل‌آگارز ۱/۲ درصد مشخص شد. تکنیک استفاده‌شده در این پژوهش مبتنی‌بر PCR-RFLP بود. آنزیم برشی مورد استفاده برای هضم محصول‌های پی.سی.آر، آنزیم *BstE* Π (EcoRI)، ساخت شرکت پدیده نوژن پارس (مشهد) با جایگاه برشی 5´ GGTNACC3´ بود. پروتکل هضم آنزیمی شامل استفاده از دو واحد آنزیم (۰/۲ میکرولیتر) برای هرنمونه از محصول‌های پی.سی.آر، دو میکرولیتر بافر ۱۰x، ۱٦ 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 به‌مدت ۱۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند و پس از اتمام زمان هضم آنزیمی برای بررسی قطعات برشی از ژل‌آگارز 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 پژوهش با رویه مدل‌های خطی عمومی (GLM) نرم‌افزار SAS 9.1 انجام‌شد. برای بررسی ارتباط ژنوتیپ‌ها با صفات عملکردی از رابطه ۱ استفاده شد.

رابطه ۱ $Y_{ijk}=\mu+H_i+G_j+e_{ij}$

در این مدل:

Y_{ijk}: مشاهده‌های مربوط‌به صفت‌های مورد بررسی

μ: میانگین کل

H_i: اثر ثابت نوبت جوجه‌کشی

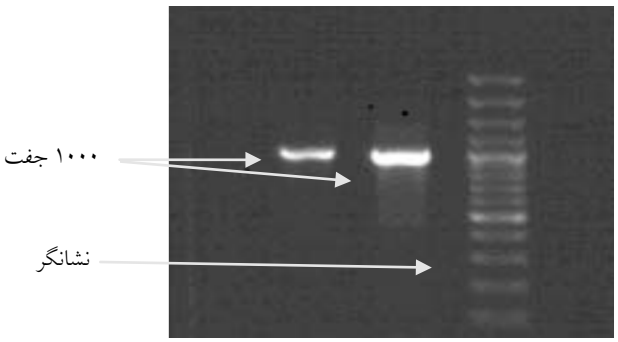
G_j: اثر ژنوتیپ‌های مربوط‌به ژن مورد بررسی

e_{ijk}: اثر باقیمانده

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

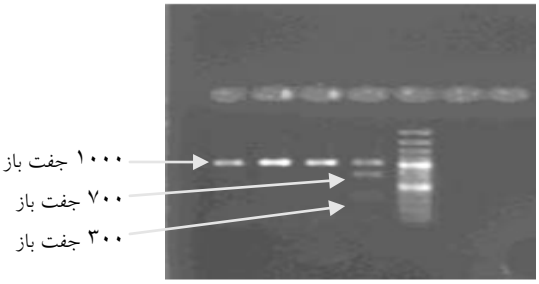
نتایج و بحث

نتایج هضم با آنزیم‌های برشی نشان‌داد که برای قطعه‌های تکثیرشده توسط یک جفت آغازگر (شکل ۱)، دو جایگاه برشی برای آنزیم *BstE* Π 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 به‌شرح جدول (۱) است.



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

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



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

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

باتوجه به‌شکل ۱ و ۲ الگوی باندی متفاوت AA، AB و BB در بین نمونه‌ها مشاهده‌شد 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 مشاهده‌شد. 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 بررسی‌های قبلی (Omrani Bidi *et al.* 2011)، برای ژن *PEPCK-C* در دو توده نژاد سیستان شامل خزک و دشتیاری مطابقت نداشت. در پژوهش ذکرشده ژنوتیپ BB مشاهده‌نشده بود. همچنین پارسانژاد و همکاران (۲۰۰۳)، شش ژنوتیپ BC،CC، BB، AC، AB و AA را در نژاد لگهورن مشاهده‌کردند. امام‌قلی‌بگلی و همکاران (۲۰۱۰)، نیز برای ژن *PEPCK-C* در مرغان بومی یزد تفاوت مشاهده‌نکردند. این تفاوت‌ها ممکن است به‌دلیل تفاوت در تعداد طیور مورد پژوهش و یا متفاوت‌بودن نژادها باشد.

میزان هتروزایگوسیتی مشاهده‌شده در جمعیت مورد بررسی ۳۵ درصد بود که نشان دهنده تنوع ژنتیک به نسبت کم در این مرکز برای این ژن است. میزان هتروزایگوسیتی مورد انتظار در این جمعیت، ٤٦/٥٨ درصد محاسبه‌شد. در پژوهش قبلی (Omrani Bidi *et al.* 2011)، هتروزایگوسیتی مشاهده‌شده در بین مرغان بومی خزک، ٠٤ درصد و در نژاد دشتیاری ١٦ درصد بوده است. کم بودن میزان هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده می‌تواند ناشی از تلاقی‌های جورشده مثبت در جمعیت مورد بررسی باشد.

میزان کل χ^2 محاسبه‌شده برابر با ٦/٠٠ بود که در سطح احتمال ٥ درصد دارای تفاوت معنی‌داری است، بنابراین جمعیت در تعادل هاردی- واینبرگ نیست (جدول ۱). این عدم تعادل، نبود شرایط برقراری تعادل، وجود انتخاب و همچنین تلاقی‌های غیرتصادفی را در توده نشان می‌دهد.

اثر ژنوتیپ در سنین وزن تولد، وزن در ۱۲ هفتگی و میانگین وزن تخم‌مرغ معنی‌دار ($p<0/05$) و برای صفات وزن در ۸ هفتگی، سن بلوغ جنسی، وزن بلوغ جنسی و تعداد تخم‌مرغ غیرمعنی‌دار بود. پرندگان با ژنوتیپ BB دارای وزن تولد، وزن ۱۲ هفتگی و میانگین وزن تخم‌مرغ بیشتر (به‌ترتیب ٣٨/٠٦، ١٥٠٢/٧٥ و ٨٤/٩٥ (گرم)) و حیوانات با ژنوتیپ AA دارای وزن تولد، ۱۲ هفتگی و میانگین وزن تخم‌مرغ تولیدی کمتری (به‌ترتیب ٣٦/٢٦، ١٢٥٤/٦١ و ٧٠/٤٢ (گرم)) بودند. از طرفی با مقایسه میانگین‌ها، می‌توان به اثر آلل B پی‌برد که این آلل در افزایش وزن بدن در سنین تولد، ۱۲ هفتگی و میانگین وزن تخم‌مرغ مؤثر بوده است، به‌طوری‌که حالت هموزایگوتی این آلل در هر سه صفت اثر بیشتری بر وزن بدن نسبت به حالت هتروزایگوتی نشان‌داده‌است، (جدول ۲). پارسانژاد و همکاران (۲۰۰۳)، در محدوده ۳۷۹۲ جفت‌باز از ژن *PEPPCK-C*، شش تفاوت مشاهده‌کردند که ژنوتیپ AA بیشترین اثر را بر روی اولین سن تخم گذاری و ژنوتیپ BB بیشترین اثر را بر روی وزن تخم‌مرغ داشته و همچنین بیشترین مصرف خوراک را در پرندگانی با ژنوتیپ‌های AA و AB نژاد لگهورن گزارش کردند. نتایج این پژوهش با نتایج پارسانژاد و همکاران (۲۰۰۳)، در همبستگی ژنوتیپ BB با صفت وزن تخم‌مرغ مطابقت‌داشت.

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 مشاهده شده	تعداد مورد انتظار	آماره χ^2
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*

*معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد (p<۰/۰۵)

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

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

صفت (گرم)	AA	AB	BB	احتمال معنی‌داری
وزن تولد	36.26 ^{b} ± 0.34	36.65 ^{b} ± 0.34	38.05 ^{a} ± 0.09	0.013
وزن ۸ هفتگی	665.93 ± 40/45	722.58 ± 44/25	745/67±38/15	0.070
وزن ۱۲ هفتگی	1254. ^{c} 60 ± 0.51	1467.44 ^{b} ± 1.1	1502.75 ^{a} ± 0.81	0.0001
سن بلوغ جنسی	165.72 ± 0.64	167.78 ± 1.12	165.34 ± 0.71	0.72
وزن بلوغ جنسی	2007.67 ± 0.59	1963.74 ± 1.33	1865.61 ± 0.76	0.088
تعداد تخم مرغ در ۲۸ تا ۳۲ هفتگی	35.8 ± 0.58	32.18 ± 0.93	36.15 ± 0.88	0.128
وزن تخم مرغ	70.42 ^{b} ± 0.69	72.53 ^{b} ± 0.82	84. 95 ^{a} ± 0.37	0.002

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

گرچه ارتباط معنی‌داری بین صفات وزن در هشت هفتگی و وزن بلوغ جنسی با ژن موردنظر مشاهده نشد ولی میانگین این صفات در مرغان دارای ژنوتیپ BB از نظر عددی بالاتر از ژنوتیپ‌های دیگر بود. ارتباط معنی‌داری بین صفات سن بلوغ جنسی و تعداد تخم‌مرغ تولیدی با ژن موردنظر مشاهده‌نشد (جدول ۲). درنتیجه این ژن روی این صفات در مرغان بومی خراسان رضوی مؤثر نیست.

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

این پژوهش ارتباط ژنتیک و فنوتیپی صفت‌های تولیدی مرغ بومی ایران در استان خراسان رضوی را مورد بررسی قرارداده‌است. براساس نتایج حاصل از این پژوهش، ژن *PEPCK-C* می‌تواند اثر معنی‌داری بر صفت‌های وزن تولد، وزن در ۱۲ هفتگی و میانگین وزن تخم‌مرغ تولیدی داشته‌باشد. به‌نظر می‌رسد پرندگان دارای ژنوتیپ هموزایگوت غالب برای این ژن (BB) از مقدار بیشتری آنزیم *PEPCK-C* برخوردار بوده و درنتیجه سنتزگلوکز در بدن این پرندگان از منابع غیرقندی مانند برخی از اسیدهای‌آمینه 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 تخم‌مرغ سنگین‌تر فراهم می‌آورد. بنابراین با توجه به نتایج

حاصل از این پژوهش می‌توان از ژنوتیپ BB در برنامه‌های اصلاح‌نژادی برای بالا بردن وزن بدن در این سنین و وزن تخم‌مرغ استفاده‌کرد. 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.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از مساعدت مسئولین سازمان جهاد کشاورزی، موسسه تحقیقات علوم دامی کشور و همچنین کارشناسان مرکز اصلاح‌نژاد 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 phosphoen-olpyruvat carboxykinase gene expression. Annual Review Biological chemistry. 66: 581-611.

Hoffman I, 2005. Research and investment in poultry genetic resources-challenges and options forsustainable 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 experession. Journal of biological chemistry. 277: 27606-27612.

Kyanymanesh H, Nejatyjvarmy 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, Nejatyjvarmy 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 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, Turkmanzehi 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, 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 (In Farsi with English abstract).

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

Rasoulian 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).

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

Yaacov H, Morrist 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.