علوم دامی ایران
دورۀ ۴۷، شمارۀ ۱، بهار ۱۳۹۵ (ص ۶۱-۵۱)
DOI: 10.22059/ijas.2016.57999

بررسی چندریختی اگزون چهار ژن هورمون رشد و اگزون ده گیرندۀ هورمون رشد و ارتباط آن‌ها با صفات لاشه در گوسفند نژاد لری بختیاری

حسین مرادی شهربابک[1*]، رسول خدابخش‌زاده[2]، مصطفی صادقی[3] و امیر طاهری یگانه[4]
۱ و ۳. استادیار و دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکدۀ مهندسی علوم زراعی و دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج
۲. دانش‌آموختۀ کارشناسی ارشد گروه علوم دامی، دانشکدۀ کشاورزی دانشگاه کرمان
٤. کارشناس ارشد و مسئول بخش دام سبک، مرکز اصلاح‌نژاد و بهبود تولیدات دامی کشور
(تاریخ دریافت: ۱۳۹٤/۷/۱۹ - تاریخ تصویب: ۱۳۹٤/۱۰/٦)

چکیده

ژن هورمون رشد (GH) ژنی نامزد (کاندیدا) برای رشد حیوانات اهلی است و هورمون رشد نقش مهمی در سوخت‌وساز (متابولیسم) رشد دارد. برای اینکه هورمون رشد بتواند در سوخت‌وساز رشد شرکت کند نیاز به گیرنده‌های آن (GHR) در سطح یاخته‌های هدف دارد. این پژوهش با هدف بررسی ارتباط چندریختی ژن‌های GH و GHR با صفات لاشه در نژاد لری بختیاری انجام شد. برای این منظور، از سیاهرگ وداج تعداد ۱۵۲ رأس گوسفند نژاد لری بختیاری خون‌گیری شد. استخراج DNA از خون با روش استخراج نمکی بهینه یافته انجام و واکنش زنجیره‌ای پلیمراز برای افزایش قطعه‌های ۲۱٤ جفت‌بازی از اگزون چهار ژن هورمون رشد و ۲۱۸ جفت‌بازی از اگزون ده ژن گیرندۀ هورمون رشد انجام شد. پس از تعیین چندریختی فضایی تک‌رشته‌ای محصولات PCR، الگوهای باندی مربوط به ژن‌های GH و GHR روی ژل پلی اکریل‌آمید و رنگ‌آمیزی با نیترات نقره، مشاهده شد. نتایج بیانگر چندریختی در جایگاه ژن GH بود، اما برای ژن GHR، هیچ‌گونه تفاوتی بین باندها مشاهده نشد. نتایج توالی‌یابی منجر به شناسایی پنج چندریختی تک نوکلئوتیدی برای ژن GH در جمعیت مورد بررسی شد. هیچ‌یک از ژنوتیپ‌های ژن GH با صفات مورد بررسی ارتباط معنی‌داری نشان ندادند.

واژه‌های کلیدی: **توالی‌یابی، چندریختی تک نوکلئوتیدی، ژن گیرندۀ هورمون رشد، ژن هورمون رشد.**

مقدمه

با توجه به محدود بودن منابع غذایی دام و نبود امکان افزایش تعداد دام در کشور برای افزایش تولیدات دامی و رسیدن به خودکفایی، علم ژنتیک و اصلاح نژاد به‌عنوان ابزاری مهم برای بالا بردن بازده در هر واحد تولیدی، نقش مهمی را بر عهده خواهد داشت و استفاده از ژنتیک مولکولی سودمندی‌های زیادی دارد که یکی از آن‌ها تعیین ژنوتیپ افراد برای جایگاه‌های خاص است (Mousavizadeh *et al*., 2009). صفت رشد در گوسفندان از جمله صفات اقتصادی مهم است که به میزان زیادی بازدۀ تولید گوشت در گله‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهد. هورمون رشد فراوان‌ترین هورمون هیپوفیز پیشین است و از یاخته‌های رشد بدنی (سوماتوتروپ) ترشح می‌شود (Ayuk &

* تلفن: ۰۹۱۳۳۹۱۵۳۰۶
E-mail: hmoradis@ut.ac.ir

Sheppard, 2006). ژن هورمون رشد یک ژن نامزد (کاندیدا) برای رشد گوسفند است که نقش مهمی در رشد دارد (Boyd & Bauman, 1989). هورمون رشد (GH)[1] سوخت‌وساز (متابولیسم) پروتئین را تحریک می‌کند، این اثر سبب افزایش جذب اسیدآمینه و ساخت (سنتز) پروتئین و کاهش اکسایش (اکسیداسیون) پروتئین می‌شود. همچنین هورمون رشد باعث افزایش تجزیهٔ تری گلسیریدها و اکسایش در یاخته‌های چربی در صورت تعادل منفی انرژی و ساخت چربی‌ها در صورت تعدیل مثبت انرژی و کم رشدی (هیپوتروفی) یاخته‌های چربی می‌شود (Gluckman *et al*., 1987). بنابراین هورمون رشد منجر به کاهش انرژی ذخیره‌شده در بدن می‌شود (Eisemann *et al*., 1986) و همچنین جذب گلوکز و اکسایش گلوکز (Neathery *et al*., 1991) را کاهش می‌دهد. هورمون رشد جذب روده‌ای کلسیم را افزایش می‌دهد، در نتیجه موجب افزایش رشد استخوان‌ها می‌شود (Boyd & Bauman, 1989).

هورمون رشد به‌صورت یک هورمون پلی‌پپتیدی تک زنجیره‌ای است که وزنی در حدود ۲۲ کیلو دالتون و ۱۹۱ اسیدآمینه دارد (*et al*., 1990 Valinsky). این هورمون از چهار رشتهٔ مارپیچی تشکیل شده است (Warwick *et al*., 1989). این ژن بخشی از خانوادهٔ ژن‌های چندگانه شامل پرولاکتین و لاکتوژن جنینی است و روی کروموزوم ۱۹ گوسفند و در ناحیهٔ q۱۷، شامل ۲۸۵۶ جفت باز، ۵ اگزون و ۴ حایل (اینترون) است (Gootwine *et al*., 1993). محققان در پژوهشی روی گوسفندان بلوچی چندریختی اگزون پنج ژن هورمون رشد با استفاده از روش PCR-[3]SSCP[2] بررسی و سه الگوی باندی متفاوت مشاهده کردند. همچنین آنان گزارش کردند ارتباط معنی‌داری بین این چندریختی و صفات رشد وجود دارد (Tahmoorespur & Ahmadi, 2012; Tahmoorespur *et al*., 2011). محققان در پژوهشی دیگر روی گوسفندان ماکویی پنج الگوی SSCP مشاهده و ارتباط معنی‌داری بین این چندریختی با صفات زیست‌سنجی (بیومتریک) گزارش کردند (Hajihosseinlo *et al*., 2013). محققان دیگری نیز در بررسی روی ژن هورمون رشد در گوسفندان ماکویی، پنج الگوی SSCP مشاهده و ارتباط معنی‌داری بین این چندریختی‌ها با وزن در زمان تولد و وزن از شیرگیری و دو، شش و نه ماهگی مشاهده کردند (Moradian *et al*., 2013). همچنین محققان با استفاده از آنزیم *PvuII* نشان دادند که نسخه‌های همانندسازی‌شدهٔ ژن هورمون رشد گوسفندی چندریختی در حایل شمارهٔ ۲ خود دارند (Gootwine *et al*., 1993). در بررسی چندریختی ژن هورمون رشد، حذف یا اضافه شدن یک تکرار TGC بین نوکلئوتیدهای ۱۲۵ و ۱۴۲ راه‌انداز این ژن باعث تفاوت در حرکت قطعه‌های تک‌رشته‌ای روی ژل می‌شود. همچنین سه جهش نقطه‌ای (SNP)[4] نیز در راه‌انداز ژن هورمون رشد در گاو نژاد آنگوس کشف شده است (Garrett *et al*., 2008). جهش نقطه‌ای در نوکلئوتید ۱۵۴۷ که به دلیل تبدیلT/ Cبه وجود می‌آید، باعث ایجاد ناحیهٔ شناسایی MspI در حایل ۴ می‌شود، همچنین جابجایی متقاطع بازهای آلی C به G در نوکلئوتید شماره ۲۱۴۱ و A بهC در نوکلئوتید ۲۲۹۰ اگزون ۵ به‌ترتیب توسط آنزیم‌های محدودکنندهٔ AluI، DdeI قابل‌شناسایی است (Garrett *et al*., 2008). جهش در نوکلئوتید ۲۱۴۱ باعث تغییر اسیدآمینهٔ لوسین به والین در اسیدآمینهٔ ۱۲۷ هورمون رشد می‌شود (Garrett *et al*., 2008). محققان تفاوت معنی‌داری از هورمون رشد را در گاوهای گوشتی نژاد برآنگوس نشان دادند و گزارش کردند که چندریختی در اگزون ۲ هورمون رشد در گاوهای نر برآنگوس منجر به ۶/۱ درصد چربی کمتر دنده‌ای در این دام‌ها شده است (Garrett *et al*., 2008).

برای اینکه هورمون رشد بتواند برای رشد و در سوخت‌وساز چربی شرکت کند نیاز به گیرنده‌های آن در سطح یاخته‌های هدف است (Garrett *et al*., 2008). هورمون رشد در فرآیندهای سوخت‌وسازی (متابولیکی) و فیزیولوژیکی بسیاری نقش دارد و برای

1. Growth hormone
2. Single-Strand Conformational Polymorphism
3. Polymerase Chain Reaction
4. Single Nucleotide Polymorphism

انجام صحیح این فرآیندها باید به گیرندهٔ این هورمون (GHR) متصل شود (Etherton, 2004). ژن مربوط به گیرندهٔ هورمون رشد ده اگزون و نه حایل دارد و توالی DNA آن 365186 bp است. این ژن روی کروموزوم ۱۶ گوسفند قرار دارد و در فعالیت‌های زیستی هورمون رشد در یاخته‌های هدف، توسط نشانه (سیگنال)های تحریک‌کنندهٔ وابسته به ماهیچه در میان غشای یاخته‌ای و تحریک بسیاری از ژن‌ها مانند IGF-I نقش دارد. محققان با استفاده از روش SSCP یک جهش تک نوکلوتیدی در ژن GHR شناسایی کردند و مشخص شد که در ناحیهٔ $5^{/}$ نوکلئوتید A به G تبدیل شده است (Ge *et al*., 2003). وجود چندریختی در ژن مربوط به گیرندهٔ هورمون رشد می‌تواند یک عامل مؤثر برای بیان ژن هورمون رشد باشد (Moody *et al*., 1995). محققان در پژوهشی روی چندریختی اگزون ده ژن مربوط به گیرندهٔ هورمون رشد و ارتباط آن با صفات رشد در گوسفندان نژاد کرمانی با روش PCR-SSCP، گزارش کردند که ارتباط الگوهای متفاوت ژنتیکی با صفات رشد (وزن تولد، وزن سه ماهگی، وزن شش ماهگی، وزن نه ماهگی و وزن دوازده ماهگی) معنی‌دار نیست (Moradi Shahrbabak *et al*., 2012).

گوسفند لری بختیاری یکی از نژادهای سنگین و ممتاز کشور از نظر صفات تولیدی است. گوسفند نژاد لری بختیاری سری بزرگ و بینی تا قسمت انتهایی آن خمیدگی محدب دارد. گوش‌ها بلند و افتاده و پشت و کمر پهن و تخت است (Khaldari, 2008). دنده‌ها و پهلو پهن و دراز و در مجموع استخوان‌بندی قوی و محکم است. چشم‌ها درشت، ران‌ها پهن و عضلانی و به‌طورکلی تمام اندازه‌ها متناسب با جثه و قوس‌دار هستند (Khaldari, 2008). دنبه متناسب با اندازهٔ بدن و بزرگ است که توسط یک شکاف عمیق به دو لب قرینه تقسیم شده است (Khaldari, 2008). همچنین از محل رویش شاخ‌ها یک دسته پشم ضخیم و بلند رشد می‌نمایند که بر زیبایی این نژاد می‌افزاید (Khaldari, 2008). در این نژاد رنگ غالب سفید است ولی به رنگ‌های ابلق سیاه‌وسفید، قرمز و سفید و حنایی نیز دیده می‌شود (Khaldari, 2008).

چندشکلی‌های ژنتیکی از خواص ژنتیکی هر جمعیت بوده و احتمال دارد به شناسایی روند اختلاط جمعیت‌ها در گذشته کمک می‌کند. تنوع ژنتیکی و مدیریت منابع ژنتیکی به‌عنوان یکی از اجزای مهم پروژه‌های اصلاحی هستند. چراکه یک‌گونه بدون تنوع ژنتیکی کافی قادر به سازگاری با تغییرات محیطی و مبارزه با انگل‌ها و رقیب‌ها نیست (Askari *et al*., 2011). حفاظت باید بر پایهٔ دانش عمیقی از منابع ژنتیکی نژادهای خاص باشد، لذا تلاش برای شناسایی و تعیین خصوصیات ژنتیکی نژادهای بومی و محلی بسیار اهمیت دارد (Shojaei *et al*., 2010). همچنین این احتمال وجود دارد که این چندریختی‌ها به‌طور مستقیم و غیرمستقیم بر عملکرد رشد و یا تولید شیر تأثیر داشته باشد، لذا در این تحقیق چندریختی اگزون چهار ژن هورمون رشد و اگزون ۱۰ گیرندهٔ هورمون رشد و ارتباط آن‌ها با صفات لاشه در نژاد لری بختیاری با استفاده از روش PCR-SSCP و توالی‌یابی محصولات PCR بررسی شد.

مواد و روش‌ها

این بررسی با استفاده از رکوردهای اندازه‌گیری شده روی ۱۵۲ رأس گوسفند لری بختیاری (نر و ماده) که برای کشتار به کشتارگاه صنعتی جونقان (واقع در ۴۵ کیلومتری شهرستان شهرکرد) آورده شده بودند، انجام گرفت. با استفاده از ونوجکت‌های EDTA دار از ۱۵۲ رأس گوسفند خون‌گیری شد و نمونه‌ها تا زمان استخراج DNA در دمای ۲۰- درجهٔ سلسیوس نگهداری شدند. همهٔ عملیات آزمایشگاهی این پژوهش در آزمایشگاه تحقیقاتی گروه علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران (کرج) صورت گرفت. در این پژوهش استخراج DNA به روش بهینه یافتهٔ نمکی انجام گرفت (Abadi *et al*., 2009). کمیت و کیفیت DNA استخراج‌شده با روش اسپکتوفوتومتری و الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۰/۸درصد تعیین شد.

افزایش اگزون چهار ژن هورمون رشد

واکنش PCR با استفاده از دو آغازگر (پرایمر) اختصاصی با توالی‌های زیر (Bastos *et al*., 2001)

برای افزایش قطعهٔ ۲۱۴ جفت بازی از جایگاه اگزون چهار ژن هورمون رشد گوسفندی انجام شد:

F: 5′- CCACCAACC ACC CAT CTG CC-3′

R: 5′- GAAGGG ACC CAAGAACGC C-3′

واکنش PCR برای افزایش قطعهٔ موردنظر از ژن GH در حجم ۲۵ میکرولیتر شامل ۲ میکرولیتر از DNA (غلظت۵۰ng/µl)، ۱۳/۶ میکرولیتر آب، ۰/۳ میکرولیتر آنزیم *Tag* پلیمراز (غلظت۵Unit/µl)، ۰/۸ میکرولیتر از هر یک از آغازگرهای رفت و برگشتی (غلظت 10 pm/µL)، ۲ میکرولیتر از dNTP (غلظت 10 Mm/µL)، ۲/۵ میکرولیتر از (۱۰X) PCR buffer و ۳ میکرولیتر از $Mgcl_2$ (غلظت ۲۵Mm/µL) انجام شد. سپس واکنش PCR با برنامهٔ دمایی زیر در دستگاه ترموسایکلر مدل FTGRAD2D شرکت TECHNE ساخت انگلیس انجام شد .برنامهٔ دمایی عبارت بود از: ۱) پنج دقیقه دمای ۹۵ درجهٔ سلسیوس به منظور واسرشت‌سازی اولیه DNA، ۲) انجام سی چرخهٔ دمایی زیر: الف- سی ثانیه دمای ۹۵ درجهٔ سلسیوس به منظور تک‌رشته‌ای شدن DNA، ب- سی ثانیه در دمای ۶۰ درجهٔ سلسیوس به منظور همجوشی آغازگر به DNA تک‌رشته‌ای، پ- سی ثانیه دمای ۷۲ درجهٔ سلسیوس به منظور بسط آغازگر، ۳) پنج دقیقه دمای ۷۲ درجهٔ سلسیوس برای بسط نهایی.

افزایش اگزون ده گیرندهٔ هورمون رشد

به کمک روش PCR و با استفاده از دو آغازگر اختصاصی به توالی‌های زیر (VafayeValeh *et al.*, 2009) برای افزایش قطعهٔ ۲۱۸ جفت بازی از جایگاه اگزون ده ژن گیرندهٔ هورمون رشد گوسفندی انجام شد:

F:
5′- GCCAAAACAATAAGACTGGGAACC-3′

R:
5′- GGCTGTAGTGGTAAGGCTTTCTGTG-3′

واکنش PCR و برنامهٔ دمایی برای افزایش قطعهٔ موردنظر از ژن GHR همانند واکنش PCR برای افزایش قطعهٔ موردنظر از ژن GH بود، با این تفاوت که در برنامهٔ دمایی ژن GHR از ۳۵ چرخهٔ دمایی استفاده شد و دمای بهینهٔ همجوشی آغازگرها برای ژن ۶۲GHR درجهٔ سلسیوس در نظر گرفته شد.

نمونه‌های محصولات PCR بلافاصله از دستگاه خارج‌شده و در دمای ۴- درجهٔ سلسیوس نگهداری شدند. برای ارزیابی محصولات PCR از روش الکتروفورز بر روی ژل آگارز با غلظت ۱/۵درصد با ولتاژ ۱۲۰ ولت و مدت بیست دقیقه استفاده شد.

بارگذاری و الکتروفورز محصولات SSCP

پیش از آماده‌سازی ژل اکریل‌آمید برای تک‌رشته‌ای شدن محصولات PCRمیکروتیوب‌ها در دستگاه ترموسایکلر در ۹۵ درجهٔ سلسیوس به مدت ده دقیقه قرار داده شدند و سپس میکروتیوب‌ها بی‌درنگ به فریزر در دمای ۲۰- درجهٔ سلسیوس برای پنج دقیقه انتقال داده شدند. برای تهیهٔ ژل اکریل‌آمید ۸ درصد از محلول پایهٔ اکریل‌آمید ۳۸/۵ درصد (نسبت ۳۷/۵ گرم پودر اکریل‌آمید به ۱ گرم پودر بیس اکریل‌آمید) استفاده شد. برای انجام SSCP، ۱۲ میکرولیتر بافر بارگذاری را با ۵ میکرولیتر محصول PCR مخلوط و بعد از مقداری ورتکس ۱۰ میکرولیتر از هر نمونه با استفاده از الکتروفورز عمودی روی ژل اکریل‌آمید ۸ درصد بارگذاری و با جریان برق (۶۰mA، ۳۰۰V) و به مدت شانزده ساعت، الکتروفورز شدند. برای الکتروفورز محصولات SSCP از دستگاه الکتروفورز عمودی دارای سامانهٔ خنک‌کننده با آب استفاده شد که با اتصال آن به این سامانه، برای به جریان انداختن آب با دمای ۴ تا ۵ درجهٔ سلسیوس، دمای بافر TBE (1X) و ژل در دمای ۵-۴ درجهٔ سلسیوس ثابت نگه داشته شد. برای مشاهدهٔ الگوهای SSCP از رنگ‌آمیزی به روش نیترات نقره استفاده شد (Khodabakhshzadeh *et al.*, 2015).

در این بررسی بر پایهٔ الگوهای باندی متفاوت، از هر الگو یک نمونه از محصولات PCR انتخاب و برای توالی‌یابی به‌صورت مستقیم به شرکت Bioneer کره جنوبی ارسال شد. پس از دریافت نتایج توالی‌یابی، توالی‌ها با استفاده از نرم‌افزار Bio Edit برای تعیین جهش‌های تک‌نوکلئوتیدی به همراه توالی‌های گزارش‌شده در NCBI هم‌تراز شده و مقایسه شدند.

تجزیه و تحلیل‌های آماری

در این تحقیق پس از تعیین ژنوتیپ حیوانات برای

جایگاه‌های موردبررسی این اطلاعات به همراه داده‌های مربوط به وزن زنده، وزن لاشهٔ گرم، وزن لاشهٔ گرم بدون دنبه، وزن دنبه، درصد دنبه، ضخامت چربی پشت بین دندهٔ دوازده و سیزده، تری گلیسرید خون، کلسترول خون، سن دام و جنس وارد نرم‌افزار اکسل شده و پس از ویرایش وارد برنامهٔSAS شده و توسط رویهٔ GLM تجزیه شدند (SAS Institute, 2000). در این آزمایش تأثیر ژن‌های GH و GHR به‌عنوان عامل ثابت تأثیرگذار بر صفات لاشه در معادلهٔ مدل قرار داده شد. به این صورت که ژنوتیپ‌های مشاهده‌شدهٔ ژن‌های GH و GHR تعداد سطوح این عامل ثابت را تشکیل می‌داد. تأثیر سن و جنس حیوان به عنوان عامل ثابت و تأثیر وزن مربوط به پیش از کشتار دام موردنظر به‌عنوان کوواریت در مدل قرار داده شد. به‌طورکلی معادلهٔ مدل به شکل زیر در آمد:

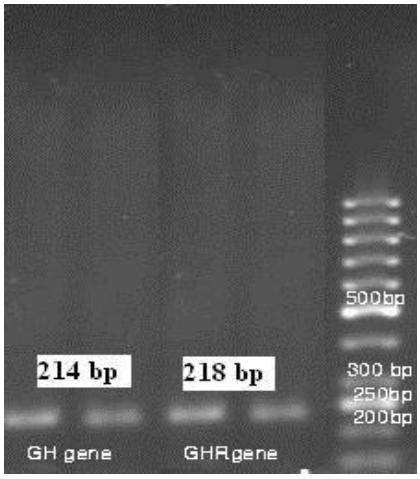
$$y_{ijlko} = \mu+A_i+G_l+D_k+B\,(W_{ijlko}-\overline{W})+(AG)_{il}+e_{ilko}$$

در این مدل؛ y_{ijklo} = مشاهدهٔ مربوط به صفات وزن دنبه، وزن لاشه، ضخامت چربی پشت، سطح تری‌گلیسرید و کلسترول خون از همهٔ دام‌های خون‌گیری شده، μ= میانگین جمعیت، A_i= اثر iمین سن حیوان در هنگام خون‌گیری (سن حیوان با بررسی دندان آن‌ها تعیین و ثبت شده بود)، G_l= اثر l مین ژنوتیپ ژن موردنظر (GH و GHR)، D_k= اثر kامین روز نمونه‌گیری، B= ضریب تابعیت صفات وابسته بر وزن دام‌ها، W_{ilo}= وزن دام‌ها در هنگام خون‌گیری، $\overline{W}$= میانگین وزن دام‌ها در هنگام خون‌گیری، $(AG)_{il}$= اثر متقابل بین سن و ژنوتیپ، e_{ilo}= اثر باقیمانده با میانگین صفر و توزیع نرمال.

پس از تجزیهٔ واریانس و مشخص نمودن تأثیر هر یک از عامل‌ها بر صفات موردبررسی مقایسهٔ میانگین صفات در سطوح مختلف ژن‌های GH و GHR با آزمون توکی مقایسه شدند.

نتایج و بحث

الکتروفورز محصولات افزایش شده روی ژل آگارز ۱/۵ درصد، از جایگاه موردبررسی در ژن GDF9 نشان داد که قطعهٔ ۲۱۴ جفت بازی از جایگاه اگزون چهار ژن هورمون رشد و قطعهٔ ۲۱۸ جفت بازی از جایگاه اگزون ده ژن گیرندهٔ هورمون رشد در نظر گرفته شده به‌خوبی و بدون هیچ باند غیراختصاصی افزایش یافته‌اند (شکل ۱). برای ارزیابی قطعه‌های افزایش شده از خط‌کش DNA، صد جفت بازی استفاده شد. نبود کشیدگی و درخشنده بودن باندها نشان‌دهندهٔ نبود آلودگی‌های پروتئینی و نمکی بود. وجود یک نوار مشخص روی آگارز نشان می‌دهد که آغازگرهای مورداستفاده در این بررسی تنها یک قطعه هدف روی DNA داشتند و همسانی توالی در مکان‌های دیگری از DNA وجود نداشت.

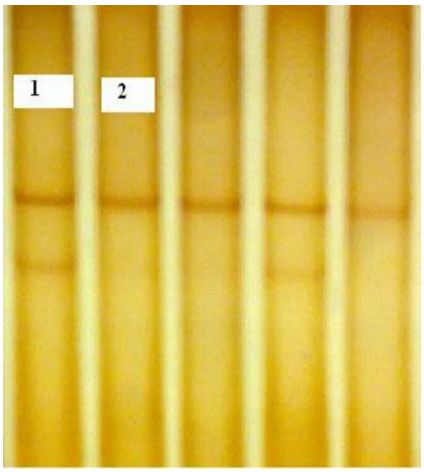


شکل ۱. نمونه‌ای از الکتروفورز محصولاتPCR روی ژل آگارز۱/۵ درصد

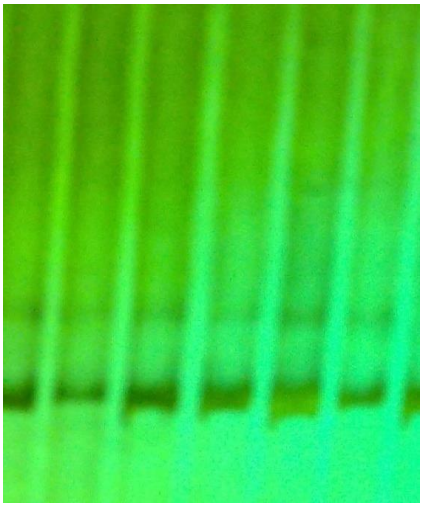
Figure 1. PCR products analyzed by Electrophoresis in a 1.5%

شناسایی الگوهای ژنوتیپی بر پایهٔ نتایج توالی‌یابی

تعیین چندریختی فضایی تک‌رشته‌ای جایگاه ژنی GH و GHR به‌طور موفقیت‌آمیز انجام شد. به‌طوری‌که پس از انجام واکنش SSCP روی ژل اکریل آمید ۱۲ درصد و بررسی نتایج به‌دست‌آمده از آن، ۲ شکل مختلف از الگوهای باندی در جمعیت موردبررسی برای قطعهٔ bp ۲۱۴ جایگاه اگزون چهار ژن GH مشاهده شد اما برای قطعهٔ ۲۱۸ جفت بازی از جایگاه اگزون ده ژن GHR، هیچ‌گونه تفاوتی بین باندها مشاهده نشد (شکل‌های ۲ و ۳). ژنوتیپ‌های یک و دو ژن GH به ترتیب با فراوانی‌های ۷۲/۸۵ و ۲۷/۱۴ درصد در جمعیت مورد بررسی مشاهده شدند. ملاحظه می‌شود که ژنوتیپ ۱ در جمعیت موردبررسی بیشترین فراوانی ژنوتیپی را داشت.



شکل ۲. الگوهای SSCP جایگاه ژن GH
Figure 2. PCR-SSCP pattern of the ovine GH gene



شکل ۳. الگوهای *SSCP* جایگاه ژن GHR
Figure 3. PCR-SSCP pattern of the ovine GHR gene

محققان در پژوهشی روی چندریختی اگزون ده ژن مربوط به گیرندهٔ هورمون رشد در گوسفندان نژاد کرمانی با روش PCR-SSCP، شش الگوی باندی مشاهده کردند (Moradi Shahrbabak *et al*., 2012) که با نتایج این پژوهش همخوانی ندارد. در بررسی چندریختی ژن هورمون رشد در گوسفند مرینو استرالیایی به روش RFLP-TaqI[1] دوآلل و به روش RFLP-PvuII چهار آلل متفاوت مشاهده شده است (Parsons *et al*., 1996). همچنین محققان اگزون چهار و پنج ژن هورمون رشد را در گوسفندان بومی پرتغال بررسی کردند و برای اگزون چهار دو الگو و برای اگزون پنج تعداد پنج الگوی متفاوت را مشاهده کردند (Bastos *et al*., 2001) که با نتایج این پژوهش همخوانی دارد.

پس از به دست آمدن نتایج SSCP قطعهٔ ۲۱۴ bp جایگاه اگزون چهار ژن GH، بر پایهٔ الگوهای باندی متفاوت، از هر الگو، نمونه‌ای برای توالی‌یابی فرستاده شد که نتایج توالی‌یابی در جدول ۱ داده شده است.

جدول ۱. تغییرات توالی‌های مربوط به ژن GH (exon 4)
Table 1. Polymorphic sequence variations in the exon 4 of sheep GH gene

Nucleotides accession no. X12546	Del.	G	C	A	G
			nucleotide Number		
	1343	1357	1358	1486	1489
pattern					
1	C	-	-	G	C
2	C	T	G	G	C

در بررسی نتایج توالی‌یابی با GenBank accession no. X12546 معرفی‌شده در NCBI، در هر دو الگوی ۱ و ۲، در نوکلئوتیدهای ۱۴۸۶ و ۱۴۸۹ تغییرات باز را به‌صورت A به G و G به C و همچنین در نوکلئوتید ۱۳۴۳ اضافه شدن C مشاهده شد. در الگوی ۱، در نوکلئوتیدهای ۱۳۵۷ و ۱۳۵۸، حذف باز مشاهده شد. در گیرندهٔ هورمون رشد، هیچ‌گونه تفاوتی بین باندها مشاهده نشد.

تأثیر عامل‌های ثابت بر صفات موردبررسی

تأثیر برخی از عامل‌های ثابت و شناخته‌شدهٔ مؤثر بر وزن کشتار، وزن لاشهٔ گرم، ضخامت چربی، بازدهٔ لاشه، ضخامت چربی پشت، وزن دنبه، وزن لاشهٔ گرم بدون دنبه و فراسنجه (پارامتر)های خونی در جمعیت موردبررسی در جدول ۲. الف و ب ارائه شده است.

همان‌طور که در جدول ۲. الف و ب مشاهده می‌شود میانگین حداقل مربعات (±S.E) برای سطوح مختلف عامل‌های ثابت در جمعیت موردبررسی برای جایگاه GH، سن حیوان روی همهٔ صفات موردبررسی به‌جز بازدهٔ لاشه، بازدهٔ لاشه بدون دنبه و بازدهٔ دنبه، تأثیر معنی‌دار ($P<۰/۰۵$) داشت. میانگین حداقل مربعات وزن لاشهٔ گرم و لاشهٔ گرم بدون دنبه با

1. Restriction Fragment Length Polymorphism-TaqI

افزایش سن، روند صعودی نشان داد. میانگین حداقل مربعات بازدهٔ لاشهٔ گوسفندان تفاوت معنی‌داری نشان نداد. احتمال دارد معنی‌دار نشدن دامنهٔ تغییرات بازدهٔ لاشهٔ گرم به‌این‌علت است که در گروه‌های سنی متفاوت به‌رغم این‌که با افزایش سن حیوان، وزن زنده، لاشهٔ گرم و لاشهٔ گرم بدون دنبه افزایش‌یافته ولی بافت دنبه با سرعت بیشتری ذخیره شده است. نتایج این پژوهش نشان می‌دهد، گوسفندانی که سنگین‌تر بوده‌اند، وزن لاشهٔ گرم بالاتری داشته‌اند، اما دنبهٔ سنگین‌تر نیز داشته‌اند که به همین علت بازدهٔ لاشهٔ گرم بدون دنبه در آن‌ها به‌طور جزئی کاهش یافته است (لذا بازدهٔ لاشهٔ گرم بدون دنبه تأثیر معنی‌داری نشان نداد). جنس گوسفند نیز بر همهٔ صفات موردبررسی اثر معنی‌داری داشت. گوسفندان نر وزن سنگین‌تر نسبت به ماده‌ها داشتند. بازدهٔ لاشهٔ گرم برای گوسفندان ماده بالاتر از گوسفندان نر بود. میانگین حداقل مربعات وزن لاشهٔ گرم با افزایش سن، روند صعودی نشان داد. تأثیر سن اثر معنی‌داری بر مقدار تری گلیسرید و کلسترول خون داشت، به‌طوری‌که با بالاتر رفتن سن مقدار آن‌ها افزایش پیدا کرد.

جدول ۲. (الف) مقایسهٔ میانگین حداقل مربعات (±S.E) تأثیر سن و جنس بر صفات لاشهٔ گوسفند نژاد لری بختیاری

Table 2. (A) comparison least square means (± S.E) influence age and sex on carcass traits in Lori-Bakhtiari sheep

trait	Weight after slaughter	Carcass weight	longissimus dorsi muscle fat thickness	fat-tail weight	Carcass weight without fat-tail
			fixed effect		
age					
≤1	1.33 ^{a}±31.14	0.54 ^{a}±14.08	0.17 ^{a}±2.82	0.20 ^{a}±2.41	0.57 ^{a}±11.67
2	3.44 ^{b}±50.65	1.39 ^{b}±23.50	0.45 ^{a}±3.59	0.53 ^{a}±3.17	1.47 ^{b}±20.33
3	2. 85^{cd}± 59.68	1.15^{cd}±29.06	0/37^{bc}±5.58	0.44^{bc}±4.73	1.22^{cd}±24.32
4≥	2.23 ^{d}±63.58	0.90 ^{d}±31.29	0.29 ^{c}± 5.38	0.34 ^{c}±4.88	0.95 ^{d}±26.41
sex					
male	1.36^{a}±49.12	0.55^{b}±23.10	0.18^{a}±4.41	0.34^{a}±3.82	0.58^{b}±19.32
female	2.18^{b}±35.41	0.88^{a}±25.87	0.29^{b}±4.05	0.21^{b}±3.78	0.93^{a}±22.05

جدول ۲. (ب) مقایسهٔ میانگین حداقل مربعات (±S.E) تأثیر سن و جنس بر صفات لاشهٔ گوسفند نژاد لری بختیاری

Table 2. (B) comparison least square means (± S.E) influence age and sex on carcass traits in Lori-Bakhtiari sheep

trait	blood triglyceride level	blood cholesterol level	Carcass efficiency	Carcass efficiency without fat-tail	fat-tai efficiency
			fixed effect		
age					
≤1	1.29 ^{a}±22.22	3.00 ^{a}±55.19	1.05±46.47	1.17±38.10	1.30±18.20
2	3.35 ^{ac}±23.45	7.78 ^{b}±80.19	2.72±46.64	3.03±40.97	3.37±12.44
3	2.77 ^{b}±32.19	6.44^{cd}±105.23	2.25±49.05	2.51±41.72	2.79±15.17
4≥	2.17^{bc}±29.26	5.05 ^{d}±115.51	1.77±49.46	1.97±42.30	2.18±14.61
sex					
male	1.32^{b}±26.09	3.07^{b}±81.41	1.07^{b}±47.09	1.20^{b}±39.00	1.33^{a}±17.26
female	2.13^{a}±27.47	4.94^{a}±96.65	1.73^{a}±48.72	1.92^{a}±42.54	2.14^{b}±12.95

سن و جنس تأثیر معنی‌داری بر وزن دنبه و درصد دنبه در جمعیت موردبررسی داشت. میانگین وزن دنبه در گروه سنی کوچک‌تر یا برابر با یک سال ۲/۴۱±۰/۲۰ کیلوگرم بوده، با زیادشدن سن حیوان وزن دنبهٔ افزایش‌یافته به‌طوری‌که در گروه سنی بزرگ‌تر یا برابر با چهار سال به ۴/۸۸±۰/۳۴ کیلوگرم رسیده است. به نظر می‌رسد که بره‌های پرواری درصد شایان‌توجهی از وزن بدن را به دنبهٔ خود اختصاص داده‌اند. ازآنجایی‌که انرژی موردنیاز برای تشکیل یک واحد چربی ۲/۱۱ برابر انرژی موردنیاز برای تشکیل یک واحد پروتئین است، تولید بره‌های پرواری با وزن دنبهٔ بالا افزون بر اینکه هزینهٔ پرواربندی را افزایش می‌دهد، به علت نبود تقاضای مصرف‌کنندگان برای چربی بالا، فروش و بازاررسانی آن‌ها نیز مشکل است و درصورتی‌که بره‌های پرواری پیش از رسیدن به مرحلهٔ بسیار چاق کشتار شوند، به علت پایین بودن وزن

آن‌ها، درآمد حاصل از پرواربندی کاهش خواهد یافت. برای رفع این چالش، شناسایی و افزایش ژنوتیپ‌هایی که گوشت بیشتر همراه با دنبهٔ کمتری دارند، ضروری به نظر می‌رسد. در یک بررسی روی ۵۸ رأس برهٔ نر پرواری در نژاد لری بختیاری، میانگین درصد دنبه نسبت به لاشهٔ سرد را ۱۲/۱۷±۰/۰۴ درصد گزارش شد (Talebi & Edris, 2002).

تأثیر جنس بر صفت ضخامت چربی پشت در بره‌ها معنی‌دار بود و بره‌های نر نسبت به بره‌های ماده ضخامت چربی بیشتری داشتند. وزن بالاتر بره‌های نر در مقایسه با بره‌های ماده منجر به ضخامت چربی پشت بالاتر شده است. در رابطه با تأثیر جنس بر عمق ضخامت چربی پشت نتایج متفاوتی گزارش شده است. نتایج این پژوهش نشان می‌دهد در گوسفندانی که نیمی از مرحلهٔ رشد وزن زندهٔ بالغ خود را طی کرده‌اند، نسبت تولید و ذخیرهٔ چربی در آن‌ها نسبت به تولید ماهیچه در لاشه به‌طور معنی‌دار افزایش یافته است، لذا در زمان پرواربندی سن حیوانات باید به‌خوبی در نظر گرفته شود. همچنین می‌توان بیان کرد که ضخامت چربی پشت بین دندهٔ دوازدهم و سیزدهم در لاشه تا حد زیادی بیان‌کنندهٔ میزان چربی و گوشت لاشه است. نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که اثرگذاری‌های ثابت که شامل اثرگذاری‌های غیر ژنتیکی و محیطی هستند روی ضخامت چربی پشت در حیوان زنده و لاشه که به‌عنوان معیاری از ترکیب لاشه است، مؤثرند و تصحیح صفات برای این عامل‌ها ضروری به نظر می‌رسد. محققان ضریب تغییرات عمق بافت چربی بین دندهٔ دوازده و سیزده را ۴۰/۱ درصد گزارش کرده‌اند (Safari *et al*., 2005). صفت ضخامت چربی پشت که معرف میزان چربی لاشه است، می‌تواند نقش کنترلی در جلوگیری از افزایش میزان چربی زیر جلدی لاشه در هنگام کاهش دنبه را داشته باشد. تفاوت موجود در زمینهٔ میانگین‌ها و دامنهٔ تغییرات ممکن است به این دلیل باشد که گوسفندان ایرانی چربی را درون یاخته‌ها، بین عضلات، زیر جلدی، داخل حفرهٔ بطنی و به‌صورت دنبه ذخیره می‌کنند. این در حالی است که گوسفندان خارجی بدون دنبه بوده و احتمال دارد تفاوت موجود می‌تواند به چربی زیر جلدی نسبت داده شود که به نظر می‌رسد در گوسفندان خارجی بیشتر از گوسفندان ایرانی است.

بررسی ارتباط بین ژنوتیپ‌های ژن GH با صفات مورد بررسی در جمعیت موردبررسی

نتایج تجزیهٔ واریانس تأثیر چندشکلی ژن GH بر وزن و بازدهٔ لاشه، درصد دنبه، عمق بافت چربی، مقدار تری گلیسرید و کلسترول خون در جدول ۳ نشان داده شده است.

جدول ۳. مقایسهٔ میانگین حداقل مربعات (±S.E) اثر ژنوتیپ‌های ژن GH بر صفات لاشه در گوسفند نژاد لری بختیاری

Table 4. comparison least square means (± S.E) influence the different genotypes of GH gene on carcass traits in Lori-Bakhtiari sheep

Genotypes	1	2
Weight After Slaughter	1.51±51.73	1.78±50.80
Carcass Weight	0.61±24.68	0.72±24.29
Longissimus Dorsi Muscle Fat Thickness	0.20±4.41	0.23±4.28
Fat-Tail Weight	0.23±3.96	0.27±3.65
Carcass Weight Without Fat-Tail	0.65±20.73	0.76±20.63
Blood Triglyceride Level	1.47±27.16	1.74±26.40
Blood Cholesterol Level	3.43±93.16	4.04±84.91
Carcass Efficiency	1.20±48.15	1.41±47.66
Carcass Efficiency Without Fat-Tail	1.33±40.81	1.57±40.74
Fat-Tail Efficiency	1.48±15.39	1.75±14.81

نتایج تجزیهٔ واریانس تأثیر چندشکلی ژن GH بر وزن، بازدهٔ لاشه، درصد دنبه، عمق بافت چربی، مقدار تری گلیسرید و کلسترول خون در جدول ۳ نشان می‌دهد که اثرگذاری‌های ژنوتیپ‌های ژن GH بر صفات موردبررسی معنی‌دار نبودند. در بررسی‌های دیگر (Moradian *et al*., 2013) نتایج ارتباط ژن GH

با صفات رشد و چربی لاشه در جمعیت‌های مختلف متفاوت بوده است که این می‌تواند به دلیل اثر متقابل نژاد و ژنوتیپ باشد (اگر دیگر عامل‌های مؤثر به مانند اثر نمونه‌گیری رعایت شود) که باعث می‌شود ژنوتیپی در یک نژاد بر صفتی خاص تأثیر معنی‌داری داشته باشد و یا با عملکرد بهتر مرتبط باشد و در نژاد دیگر نسبت به آن صفت تأثیر معنی‌داری نداشته باشد و یا عملکرد ضعیف‌تری داشته باشد. در پژوهشی محققان پنج اگزون از ژن هورمون رشد گوسفندی را با روش PCR-SSCP در ۲۰۰ میش نژاد بومی پرتقالی (Serra da Estrela) تجزیه کردند و نشان دادند که همهٔ اگزون‌ها به‌جز اگزون یک چندریختی دارند و افزایش در تولید شیر با چندریختی در اگزون چهار ارتباط دارد (Marques *et al*., 2001). محققان ارتباط معنی‌داری بین ژنوتیپ‌های ژن هورمون رشد و تولید شیر در گوسفندان Serra da Estrela مشاهده و بیان کردند که ژنوتیپ‌های GH2-N و GH2-Z همراهی معنی‌دار باصفایت تولیدی شیر دارند و تأثیر توأم آن‌ها تا ۲۵ درصد تولید شیر را نسبت به میانگین گله بهبود می‌بخشد (Marques *et al*., 2006). در پژوهشی روی چندریختی اگزون ده ژن گیرندهٔ هورمون رشد و ارتباط آن با صفات رشد در گوسفندان نژاد کرمانی گزارش شد که ارتباط الگوهای متفاوت ژنتیکی با صفات رشد (وزن تولد، وزن سه ماهگی، وزن شش ماهگی، وزن نه ماهگی و وزن دوازده ماهگی) معنی‌دار نیست (Moradi Shahrbabak *et al*., 2012). در پژوهشی روی ارتباط ژن GH گوسفندان نژاد زل با صفت وزن از شیرگیری به روشPCR-SSCP ، ارتباط معنی‌داری بین ژنوتیپ‌های شناسایی‌شده با وزن از شیرگیری مشاهده نشد (Yousefi *et al*., 2012). محققان در بررسی ارتباط ژن GH (اگزون چهار) و ارتباط آن با صفات زیست‌سنجی در گوسفندان ماکویی، ارتباط معنی‌داری بین محیط قفسهٔ سینه و بیضه و صفات مرتبط با پشم مشاهده کردند (Hajihosseinlo *et al*., 2013).

نتایج این بررسی نشان داد تنوع فراوانی در وزن دنبه و درصد دنبه به لاشهٔ گرم در گوسفندان نژاد لری بختیاری وجود دارد. ازآنجایی‌که در پرورش گوسفند عامل‌های مؤثر و موافق با اندازهٔ بزرگ دنبه (شرایط اقلیمی، نظام‌های پرورشی باز، شرایط محیطی فقیر، محدودیت‌های اقتصادی و نیاز مردم به چربی) اهمیت خود را از دست داده‌اند، به نظر می‌رسد که کاهش اندازهٔ دنبه یا درصد دنبه نسبت به لاشه بتواند در کاهش چربی لاشه مؤثر باشد. کاهش میزان چربی از جمله اندازهٔ دنبه یا درصد دنبه نسبت به لاشه از دو طریق بر سودآوری مؤثر است یکی با افزایش سرعت رشد و بهبود کیفیت لاشه، منجر به افزایش درآمد می‌شود زیرا که بازارپسندی لاشه افزایش و در نتیجه قیمت محصول افزایش می‌یابد. دوم به دلیل اینکه با کاهش هزینهٔ غذا به ازای هر کیلوگرم وزن زنده یا لاشه، میزان سود حاصل را افزایش می‌دهد بنابراین متخصصان اصلاح نژاد به دنبال کاهش ابعاد دنبه هستند و از سوی دیگر برای آن‌ها صفات رشد اهمیت ویژه‌ای دارد. این تحقیق وجود چندشکلی ژنتیکی برای ژن GH را در گوسفندان بزرگ‌جثهٔ نژاد لری بختیاری به‌خوبی نشان داد. با در نظر گرفتن کل اطلاعات ژنومیک و رکوردهای به‌دست‌آمده از این بررسی می‌توان از وجود این چندریختی‌ها در جهت بررسی ارتباط بین چندریختی ژنی با صفات لاشه به‌عنوان نشانگرهای ژنتیکی در برنامه‌های اصلاح‌نژادی کشور و بهبود وضعیت تولیدمثلی گله‌های موجود در کشور استفاده کرد.

REFERENCES

1. Abadi, M.R.M., Askari, N., Baghizadeh, A. & Esmailizadeh, A.K. (2009). A directed search around caprine candidate loci provided evidence for microsatellites linkage to growth and cashmere yield in Rayini goats. *Small Ruminant Research*, 81(2), 146-151.
2. Askari, N., Abadi, M.R.M. & Baghizadeh, A. (2011). ISSR markers for assessing DNA polymorphism and genetic characterization of cattle, goat and sheep populations. *Iranian Journal of Biotechnology*, 9(1), 222-229.
3. Ayuk, J. & Sheppard, M. C. (2006). Growth hormone and its disorders. *Postgraduate Medical Journal*, 82(963), 24-30.

4. Bastos, E., Cravador, A., Azevedo, J. & Guedes-Pinto, H. (2001). Single strand conformation polymorphism (SSCP) detection in six genes in Portuguese indigenous sheep breed "Churra da Terra Quente". *Biotechnology*. 5(1), 7-15.
5. Boyd, R.D. & Bauman, D.E. (1989). Mechanisms of action for somatotropin in growth. In: Campion DR, Hausman GJ, Martin RJ (eds.) Animal Growth Regulation. *Plenum Publishing Coorporation*, New York, NY, USA. (pp. 257-293.) Springer Science.
6. Eisemann, J. H., Tyrrell, H. F., Hammond, A. C., Reynolds, P. J., Bauman, D. E., Haaland, G. L., Mc Murtry, J. P. & Varga, G. A. (1986). Effect of Bovine growth hormone administration on metabolism of growing Hereford heifers: dietary digestibility, energy and nitrogen balance. *The Journal of Nutrition*, 116(1), 157-163.
7. Etherton, T. (2004). Somatotropic function: the somatomedin hypothesis revisited. *Animal Science*.82 E-Suppl, E239-E244.
8. Garrett, A., Rincon, G., Medrano, J., Elzo, M., Silver, G. & Thomas, M. (2008). Promoter region of the bovine growth hormone receptor gene: Single nucleotide polymorphism discovery in cattle and association with performance in Brangus bulls. *Animal Science*, 86(12), 3315-332.
9. Ge, W., Davis, M., Hines, H., Irvin, K. & Simmen, R. (2003). Association of single nucleotide polymorphisms in the growth hormone and growth hormone receptor genes with blood serum insulin-like growth factor I concentration and growth traits in Angus cattle. *Animal Science*, 81(3), 641-648.
10. Gluckman, P.D. & Pinal, C.S. (2003). Regulation of fetal growth by the somatotrophic axis1. *The Journal of Nutrition*. 133(5 Suppl 2), 1741S-1746S.
11. Gootwine, E., Sise, J.A., Penty, J.M. & Montgomery, G.W. (1993). The duplicated gene copy of the bovine growth hormone gene contains a PvuII polymorphism in the second intron. *Animal Genetic*, 24(4), 319-321.
12. Hajihosseinlo, A., Semsarnejad, A., Abollow, E., Hashrafi, F. & Negahdary, M. (2013). Effect of GH gene polymorphisms on biometric traits in Makooei sheep. *Annals of Biological Research*, 4(6), 351-355.
13. Khaldari, M. (2008). Sheep and goat husbandry. *Publications of Tehran University*. Third of edition. (in Farsi)
14. Khodabakhshzadeh, R., Mohammadabadi, M.R., Esmailizadeh Koshkoieh, A., Moradi-Shahrebabak, H. & Ansari Namin, S. (2015). Study of mutations available in first-half exon 2 of GDF9 gene in crossbred sheep born from crossing of Romanov rams with Kermani ewes. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 6(4), 395-403. (in Farsi with English abstract)
15. Marques, M.R., Santos, I.C., Belo, C.C. & Cravador, A. (2001). Associations between SSCPs in the GH gene and milk traits in "Serra da Estrela" ewes. In: *Proceedings of the IV International Conference on Farm Animal Endocrinology*, 5(Special Issue), 57 pp.
16. Marques, M.R., Santos, I.C., Carolino, N., Belo, C.C., Renaville, R. & Cravador, A. (2006). Effects of genetic polymorphisms at the growth hormone gene on milk yield in Serra da Estrela sheep. *Journal of Dairy Research*, 73(4), 394-405.
17. Mousavizadeh, A., Mohammad Abadi, M.R., Torabi, A., Nassiry, M.R., Ghiasi, H. & Esmailizadeh, A.K. (2009). Genetic polymorphism at the growth hormone locus in Iranian Talli goats by polymerase chain reaction-single strand conformation polymorphism (PCR-SSCP). *Iranian Journal of Biotechnology*, 7(1), 51-53.
18. Moody, D., Pomp, D., Barendse, W. & Womack, J. (1995). Assignment of the growth hormone receptor gene to bovine chromosome 20 using linkage analysis and somatic cell mapping. *Animal Genetics*, 26(5), 341-343.
19. Moradian, C., Mohamadi, N., Sheshdeh, S. A., Hajihosseinl, R. & Ashrafi, F. (2013). Effects of genetic polymorphismat the growth hormone gene on growth traits in Makooei sheep. *European Journal of Experimental Biology*, 3(3), 101-105.
20. Moradi Shahrbabak, H., Asadi, A., Azizi, P. & Elahian, S. (2012). Polymorphism of exon 10 of GHR gene by PCR- SSCP method and its association with growth traits in Kermani sheep breed. *Journal of Animals Productions*, 14(2), 43-50. (in Farsi with English abstract)
21. Neathery, M. W., Crowe, C. T., Hartnell, G. F., Veensuizen, J. J., Reagan, J. O. & Blackmon, D. M. (1991). Effects of sometribove on performance, carcass composition and chemical blood characteristics of dairy calves. *Journal of Dairy Science*, 74(11), 3933-3939.
22. Parsons, Y.M., Cooper, D.W. & Piper, L.R. (1996). Genetic variation in Australian Merino Sheep. *Animal Genetics*, 27(4), 223- 228.
23. Safari, E., Fogarty, N.M. & Gilmour, A.R. (2005). A review of genetic parameter estimates for wool, growth, meat and reproduction traits in sheep. *Livestock Productions Science*, 92(3), 271-289.

24. SAS Institute. (2000). *SAS Institute Inc., Cary*.
25. Shojaei, M., Mohammad Abadi, M.R., Asadi Fozi, M., Dayani, O., Khezri, A. & Akhondi, M. (2010). Association of growth trait and Leptin gene polymorphism in Kermani sheep. *Journal of Cell and Molecular Research*, 2(1), 67-73.
26. Tahmoorespur, M., Taheri, A., Gholami, H. & Ansary, M. (2011). PCR-SSCP variation of GH and STAT5A genes and their association with estimated breeding values of growth traits in Baluchi sheep. *Animal Biotechnology*, 22(1), 37-43.
27. Tahmoorespur, M. & Ahmadi, H. (2012). A neural network model to describe weigh gain of sheep from genes polymorphism, birth weight and birth type. *Livestock Science*, 148, 221-226.
28. Talebi, M.H & Edris, M.H. (2002). Effect of period of fattened on growth and carcass particulars male lambs of Lori Bakhtiari sheep. *Journal of Agricultural Engineering Research*, 9(2), 153-167. (in Farsi with English abstract)
29. VafayeValeh, M., Tahmoorespour, M., Ansari, M., Nassiry, M.R., Karimi, D. & Taheri, A. (2009). Association of growth traits with SSCP polymorphisms at the growth hormone receptor (GHR) and growth hormone releasing hormone receptor (GHRHR) genes in the Baluchi Sheep. *Animal Veterinary Advances*, 8(6), 1063-1069.
30. Valinsky, A., Shani, M. & Gootwine, E. (1990). Restriction fragment length polymorphism in sheep at the growth hormone locus is the result of variation in gene number. *Animal Biotechnology*, 1(2), 135-144.
31. Warwick, J.M., Wallis, O.C. & Wallis, M. (1989). Cloning, sequence and expression in Escherichia coli of cDNA. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1008(2), 247-250.
32. Yousefi, S. & Ahani Azari, M. (2012). Genetic effect of growth hormone gene on yearling weight and wool traits in Zel sheep. *Leibniz Institute for Farm Animal Biology*, Dummerstorf, Germany, 55(3), 303-306.

Iranian Journal of Animal Science, Vol. 47, No. 1, Spring 2016

Study the polymorphism of Exon 4 of GH gene and exon 10 of GHR gene and their association with carcass traits in Lori-Bakhtiari breed sheep using PCR-SSCP

Hossein Moradi-Shahrebabak[1*], Rasoul Khodabakhshzadeh[2], Mostafa Sadeghi[3] and Amir TaheriYeganeh[4]

1, 3. Assistant Professors and Associate Professor, Department of Animal Science, University College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

2. Fromer M.Sc. Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Iran

4. Former M. Sc. Student and Head of Animal Breeding Center of Ministry of Agriculture of IRAN

(Received: Oct. 11, 2015 - Accepted: Dec. 27, 2015)

ABSTRACT

The growth hormone (GH) gene is a candidate for growth trait in farm animals and plays an important role in growth metabolism. Growth hormone can contribute in growth metabolism when it's receptor (GHR) are on cells target. The single nucleotide polymorphism was occurred in GH and GHR genes and that associated with carcass traits in Lori-Bakhtiari sheep breed with using PCR-SSCP. In this research, blood samples were collected from the left jugular vein from 152 Lori-Bakhtiari sheep breed. Genomic DNA was extracted from blood samples by using the salting-out procedure and PCR were used to amplify the regions are located in exon 4 (214 bp segments) of the ovine GH gene and exon 10 (218 bp segments) of the ovine GHR Gene. The single stranded conformation polymorphism (SSCP) patterns of PCR products were studied using acrylamide gel electrophoresis and silver-nitrate staining method. The result showed polymorphism in GH gene but any difference between banding patterns for GHR gene was not observed. The sequencing results showed the presence of 5 Single nucleotide polymorphism for GH gene in the studied population. No significant associations of the available genotypes in the exon 4 of the ovine GH Gene with carcass traits.

Keywords: Growth hormone gene, growth hormone receptor gene, single nucleotide polymorphism, sequencing.

* Corresponding author E-mail: hmoradis@ut.ac.ir Tel: +98 913 3915306