

بررسی چندشکلی ژن IGF-1 و ارتباط آن با صفات مرتبط با رشد در گاوهای سیستانی

سمیه علی پور^۱، غلامرضا داشاب^{۲*}، مسعود علی پناه^۳ و محمد رکوعی^۴

۱، ۲ و ۴. دانشجوی کارشناسی ارشد و استادیاران، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل

۳. دانشیار، دانشگاه تربت حیدریه

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱/۲ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۳/۶/۱۱)

چکیده

فاکتور رشد شبه انسولین (IGF-1) یک هورمون پپتیدی است که ساختار مشابهی با هورمون انسولین داشته و روی کروموزوم شماره ۵ گاو قرار دارد. IGF-1 نقش مهمی در رشد و نمو بافت‌های مختلف بدن ایفا می‌کند. هدف از پژوهش حاضر، بررسی چندشکلی‌های موجود در ژن IGF-1 و تأثیر آن بر صفات مرتبط با رشد در گاوهای سیستانی است. نمونه‌های خون از ورید گردنی ۵۳ رأس گاو سیستانی (یک‌ساله) گرفته شد و استخراج DNA به روش نمکی بهینه‌یافته از خون کامل انجام گرفت. تکثیر یک قطعه ۲۴۹ جفت بازی از ناحیه‌ی اگزون ۱ ژن IGF-1 توسط واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز (PCR) با استفاده از یک جفت آغازگر اختصاصی صورت گرفت. وجود جهش نقطه‌ای و تعیین ژنوتیپ‌های موجود در این جایگاه در هریک از نمونه‌ها با استفاده از آنزیم برشی *SnaBI* انجام گرفت و روی ژل آگارز ۲ درصد الکتروفورز شد. نتایج از وجود دو آلل A و B در جایگاه مورد مطالعه حاکی بود که فراوانی آن‌ها به ترتیب ۰/۲۵ و ۰/۷۵ محاسبه شد. سه الگوی ژنوتیپی جایگاه مورد مطالعه شامل AA، AB و BB دارای فراوانی‌های ژنوتیپی به ترتیب برابر با ۰/۰۵۷، ۰/۳۹۶ و ۰/۵۴۷ بودند. آزمون مربع کای برای ناحیه‌ی اگزون ۱ ژن IGF-1 در جمعیت گاو سیستانی مورد مطالعه، بیانگر برقراری تعادل هاردی-واینبرگ بود. آنالیز ارتباط ژنوتیپ‌ها در این جایگاه با داده‌های مرتبط با صفات رشد اختلاف معناداری ($P < 0/05$) را بین ژنوتیپ‌های AA و AB نشان داد. بر اساس نتایج تحقیق حاضر می‌توان نتیجه گرفت که ژن IGF-1 می‌تواند به‌عنوان ژن کاندیدا برای صفات مرتبط با رشد در برنامه‌های به‌نژادی گاو سیستانی استفاده شود.

واژه‌های کلیدی: چندشکلی تک‌نوکلئوتیدی، صفات مرتبط با رشد، گاو بومی ایران، IGF1،

IGF1/*SnaBI*

مقدمه

کمک مارکرهای ژنتیکی امکان‌پذیر است و استفاده از این ژن‌ها می‌تواند به پیشرفت ژنتیکی حیوانات اهلی سرعت چشم‌گیری ببخشد (Lei et al., 2005; Casas et al., 2000).

رشد در حیوانات به وسیله سیستم پیچیده‌ای کنترل می‌گردد که سلول‌های سوماتوتروپیک نقش کلیدی در

از مزایای علم ژنتیک مولکولی، شناخت ژن‌هایی است که در امر انتخاب برای صفات تولیدی مفید و سودآورند. با توجه به اینکه ارتباط برخی ژن‌ها با تنوع موجود در صفات تولیدی بسیار زیاد است، از آن‌ها به‌عنوان ژن‌های کاندیدا استفاده می‌شود. شناخت ژن‌های کاندیدا تنها به

نقشی کلیدی در فرآیندهای متابولیکی و فیزیولوژیکی ایفا می‌کند. IGF-1 در مسیرهای بیولوژیکی نیز نقش میانجی ایفا می‌کند؛ برای نمونه جذب گلوکز را افزایش می‌دهد، سنتز ماهیچه را تحریک می‌کند، از تجمع چربی بین بافتی جلوگیری می‌کند، در فعالیت چرخه سلولی شرکت می‌کند، سنتز لیپید را افزایش می‌دهد، تولید پروژسترون در سلول‌های گرانولا را تحریک می‌کند و در سنتز DNA، RNA، پروتئین و تکثیر سلولی دخالت می‌کند (Etherton, 2004).

در ژن IGF-1 گاوی دو منطقه چندشکل مشاهده شده است، یکی در ناحیه پروموتور که یک میکروساتلایت با واحدهای تکراری (CA)_n است (Kirkpatrick, 1992) و دوم یک جابه‌جایی T/C یا چندشکلی تک‌نوکلئوتیدی (SNP)^۱ IGF1/SnaBI می‌باشد (Ge et al., 1997, 2001). Ge et al. (1997) با استفاده از تکنیک SSCP یک جهش تک‌نوکلئوتیدی را در ژن IGF-1 گزارش کردند. این مطالعه نشان داد نشانگر IGF1/SnaBI که روی اگزون ۱ ناحیه پروموتور ژن IGF-1 واقع شده، دارای دو هاپلوتیپ ۲۳۳/۲۶ و ۲۴۹ جفت بازی است. Ge et al. (2001) ارتباط معناداری بین چندشکلی‌های جایگاه IGF/SnaBI با صفات مرتبط با رشد در گاوهای نژاد آنگوس^۲ گزارش کردند و نشان دادند که در ناحیه 5' این ژن و ۵۱۲ جفت باز قبل از اولین کدون اگزون اول (ATG)، یک جایگزینی تک‌نوکلئوتید T با C اتفاق افتاده است (شماره AF0171143 در بانک ژن) که ژنوتیپ BB در این جایگاه، به‌طور مثبتی با اضافه وزن بدن در ۲۰ روز پس از شیرگیری مرتبط است. مطالعات صورت‌گرفته روی نژادهای نلور^۳، کانچیم^۴ و چندین نژاد دورگ، ارتباط معناداری (P<۰/۰۱) بین چندشکلی جایگاه تک‌نوکلئوتید با وزن بدن و چربی زیرپوستی را نشان داده است (Curi et al., 2005). Siadkowska et al. (2006) با مطالعه این SNP در گاوهای هلشتاین-فریزین لهستان گزارش کردند که کل مواد جامد، مقدار و درصد چربی و پروتئین روزانه شیر به‌طور معناداری (P<۰/۰۵) بین گروه‌های ژنتیکی این جایگاه متفاوت

آن ایفا می‌کنند (Andrade et al., 2008). هورمون رشد اساساً برای رشد استخوان‌ها و ماهیچه‌ها و با میانجی‌گری ژن IGF-1 فعالیت می‌کند (Sellier, 2000). IGF-1 یکی از اعضای خانواده بزرگ IGF است. این خانواده شامل سه پپتید IGF-I، IGF-II و انسولین، گیرنده‌های هم‌جنس با آن‌ها و حداقل شش پروتئین باندشونده به آن‌هاست (Roite et al., 2001). IGF-1 پپتیدی تک‌زنجیره‌ای با وزن مولکولی تقریبی ۷۰۰۰ دالتون و دارای ۷۰ اسید آمینه است (Weber, 1998). توالی اسید آمینه‌های آن در گاو، انسان (Fotsis et al., 1989) و خوک شبیه به هم است و با گوسفند در موقعیت اسید آمینه ۶۶ که به جای پرولین، آلانین دارد، تفاوت دارد. IGF-I با IGF-II در ۶۰ درصد توالی‌های اسید آمینه‌ای خویش مشترک هستند (Laureano et al., 2009). پروتئین‌های حاصل از ژن IGF-1 در تنظیم هورمون رشد، نقش عمده‌ای ایفا می‌کنند و ژن‌کدکننده آن‌ها به عنوان ژن کاندیدا برای بررسی صفات مرتبط با رشد و کیفیت گوشت در طرح‌های بهبود ژنتیکی حیوانات مطرح است (Andrade et al., 2008). هورمون IGF-1 مستقل از هورمون رشد، توانایی تحریک هایپرتروفی در ماهیچه‌های اسکلتی را دارد (Musaro et al., 1999). همچنین، IGF-1 باعث تحریک هیپوفیز پیشین و ترشح LH و در نتیجه تنظیم فعالیت‌های تولید مثلی در پستانداران می‌شود (Adam et al., 2005). نظر به اینکه سوماتومدین‌ها تأثیراتی شبیه انسولین بر سلول‌ها دارند فاکتورهای رشد شبه‌انسولینی نامیده شده‌اند، ولی برخلاف انسولین، تقریباً در ۹۸ درصد موارد در مایعات بیولوژیکی به یکی از شش پروتئین باندشونده (IGFBP) متصل می‌شوند (Williams, 2008).

نقش IGF-1 در رشد بافت‌های مختلف بدن (سلول‌های ماهیچه، غضروف و استخوان) تحریک سنتز پروتئین، افزایش متابولیسم قندها و چربی‌ها در بدن، محرک تقسیم میتوز، تحریک ازدیاد سلول‌های اپیتلیال غده پستانی، سنتز و بیان ژن کارژین و حمل گلوکز شناخته شده است (Williams, 2008). IGF-1 در تنظیم بسیاری از هورمون‌ها که برای سیستم تولیدمثلی حیاتی است نیز نقش اساسی ایفا می‌کند (Sirotkin et al., 2003). در مهره‌داران فاکتور رشد شبه‌انسولین (IGF-1)

1. Single-Nucleotide Polymorphism
2. Angus
3. Nellore
4. Canchim

رأس آغاز کرد و تا اردیبهشت ماه ۱۳۷۴ تحت نظر معاونت امور دام جهاد سازندگی استان سیستان و بلوچستان فعالیت کرد و از آن تاریخ تا اردیبهشت ماه ۱۳۸۳ فعالیت خود را زیر نظر مرکز تحقیقات منابع طبیعی و امور دام استان با عنوان ایستگاه تحقیقات دامپروری سیستان ادامه داده است. سپس با ادغام مراکز تحقیقاتی، این ایستگاه به مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی زابل منتقل شد. در حال حاضر حدود ۲۶۰ رأس گاو و گوساله از نژاد بومی سیستانی در این ایستگاه نگهداری می‌شوند. در مدت حدود ۲۵ سال از فعالیت این ایستگاه برنامه‌های به‌نژادی مختلفی با هدف بهبود صفات مرتبط با رشد و ضریب تبدیل خوراک در این نژاد انجام گرفته است. هدف از مطالعه حاضر بررسی چندشکلی جایگاه ژنی IGF-1 در جمعیت گاو سیستانی ایستگاه مذکور و ارتباط ژنوتیپ‌های موجود در این جایگاه با صفات مرتبط با رشد است.

مواد و روش‌ها

برای بررسی چندشکلی ژن IGF-1 و ارتباط ژنوتیپ‌های مختلف جایگاه مورد مطالعه با صفات مرتبط با رشد از سیاه‌رگ وداجی ۵۳ رأس گاو سیستانی هم‌سن (۱۲±۱ ماهگی) مرکز تحقیقات کشاورزی زابل واقع در ایستگاه دامپروری زهک که دارای رکوردهای وزن تولد تا یک‌سالگی بودند، خون‌گیری شد. استخراج DNA از خون کامل با روش نمکی بهینه‌یافته انجام گرفت. کمیت و کیفیت DNA استخراج‌شده از نمونه‌های مختلف با دو روش الکتروفورز ژل آگارز و اسپکتروفتومتری (اندازه‌گیری جذب نوری نمونه‌ها) بررسی شد. توالی آغازگرهای مورد استفاده با تحقیق Reyna *et al.* (2010) مطابق است (جدول ۱).

تکثیر قطعه مذکور با استفاده از توالی‌های اختصاصی و در حضور ۰/۶ میکرولیتر dNTP، ۰/۸ میکرولیتر MgCl₂، ۰/۵ میکرولیتر مخلوط پرایمرهای رفت و برگشت، ۳ میکرولیتر DNA Template، ۰/۵ میکرولیتر Taq DNA Polymerase، ۲ میکرولیتر Buffer PCR 10X و ۱۲/۶ میکرولیتر dH₂O در حجم ۲۰ میکرولیتر با واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز (PCR) در دستگاه ترموسیکلر اپندرف انجام گرفت. این واکنش شامل یک مرحله

است. Abdolmohammadi (2008) نیز تأثیر معنادار این SNP را بر برخی صفات شیردهی و میزان باروری گاوهای هلستاین ایران گزارش کرد. چندشکلی در جایگاه کنترل‌کننده هورمون IGF-1 نشان داده است که فرم‌های مختلف این ژن دارای تأثیر معناداری ($P < 0.05$) بر غلظت هورمون فوق و به دنبال آن صفات کمی مانند سرعت رشد و افزایش وزن دام‌های مختلف از جمله گاو و گوسفند داشته است (Tahmorespour *et al.*, 2008). تجزیه و تحلیل مؤلفه‌های واریانس در گاوهای نژاد کانچیم نشان داده است که ارتباط معناداری ($P < 0.05$) بین چندشکلی ژن IGF-1 و وزن تولد وجود دارد (Grossi *et al.*, 2010). تحقیق و بررسی روی چندشکلی ژن IGF-1 در دام‌های بومی ایران توسط پژوهشگران مختلفی انجام گرفته است. Yazdan-Panah *et al.* (2010a) با مطالعه بررسی چندشکلی ژن IGF-1 در جمعیت گاو همیشه استان خوزستان گزارش کردند که چندشکلی در ناحیه قطعه ۲۴۹ جفت بازی اگزون ۱ ژن IGF-1 کم است. در تحقیق دیگری که Yazdan-Panah *et al.* (2010b) به منظور بررسی هتروزیگوسیتی ناحیه اگزون ۱ ژن IGF-1 در جمعیت گاو نجدی استان خوزستان با روش PBR^۱ انجام دادند سه ژنوتیپ AA، AB و BB را گزارش کردند. محققان در مطالعه دیگری که روی جمعیت گاوهای دورگ استان خوزستان و به منظور بررسی چندشکلی ژن IGF-1 با استفاده از روش PCR-RFLP و هضم با آنزیم SnaBI انجام گرفت، سه ژنوتیپ را گزارش کردند که نشان‌دهنده وجود چندشکلی در ناحیه مورد مطالعه در جایگاه ژن IGF-1 در جمعیت مذکور است (Hasanpour *et al.*, 2012).

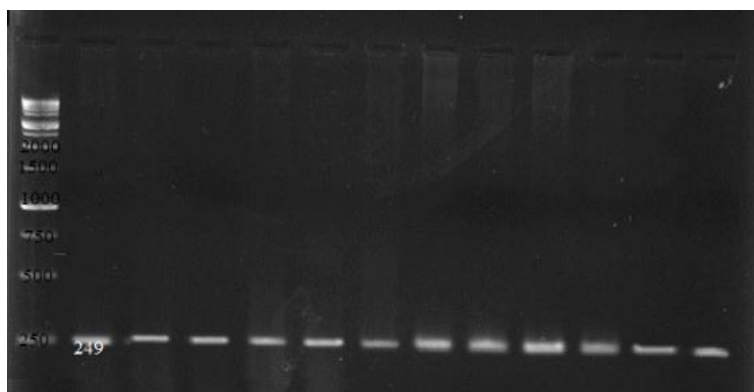
گاو سیستانی یکی از نژادهای با گرایش گوشتی ایران محسوب می‌شود. ایستگاه تحقیقات گاو سیستانی واقع در شهرستان زابل با هدف به‌گزینی گاو سیستانی فعالیت‌های خود را از سال ۱۳۶۷ با جمعیتی حدود ۸۶

۱. در روش PBR ابتدا قطعه حاوی جایگاه چندشکلی را با واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز و با استفاده از دو پرایمر اختصاصی که به همین منظور طراحی شده است، تکثیر و پس از هضم آنزیمی، الکتروفورز می‌کنند. در این روش جهش‌هایی از نوع نقطه‌ای و حذف و اضافه که باعث تغییر در سطح قطعه آنزیمی می‌شوند، قابل تشخیص است.

واسرشته‌سازی اولیه در دمای ۹۵°C به مدت ۱۰ دقیقه، سپس واسرشته‌سازی ثانویه در دمای ۹۴°C به مدت ۴۵ ثانیه، دمای اتصال ۶۱°C به مدت ۵۵ ثانیه و دمای بسط اولیه ۷۲°C به مدت ۴۵ ثانیه در ۳۶ سیکل ادامه یافت. در نهایت بسط نهایی در دمای ۷۲°C به مدت ۱۰ دقیقه خاتمه یافت. با الکتروفورز فرآورده‌های تکثیرشده روی ژل آگارز ۲ درصد، یک قطعه ۲۴۹ جفت بازی مشاهده شد (شکل ۱).

جدول ۱. آغازگرهای اختصاصی جهت تکثیر بخش اگزون ۱ ژن IGF-1

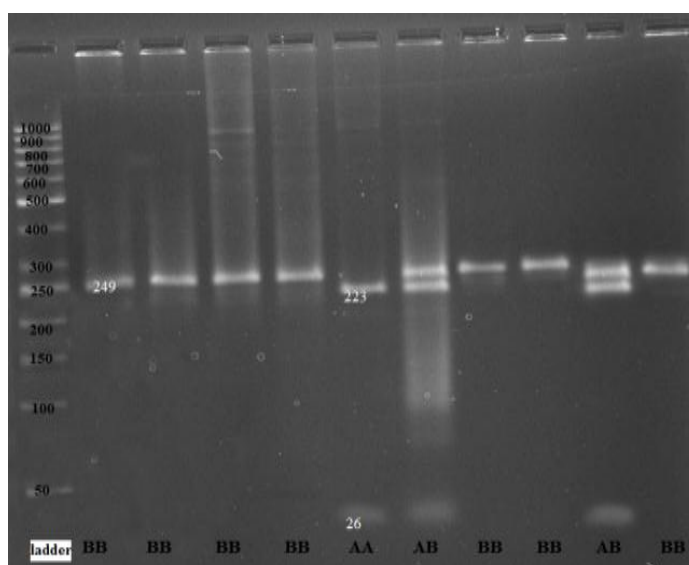
اندازه قطعه	توالی آغازگر	جایگاه ژنی
۲۴۹ bp	F: 5'-ATTACAAAGCTGCCTGCCCC-3' R: 5'-ACCTTACCCGTATGAAAGGAATATACGT-3'	اگزون ۱



شکل ۱. محصول PCR برای پرایمر (قطعه ۲۴۹ جفت بازی) روی ژل آگارز ۲ درصد

فعالیت آنزیمی به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد داخل بن‌ماری قرار داده شد. پس از هضم قطعه ۲۴۹ جفت بازی اگزون ۱ ژن IGF-1 با آنزیم *Sna*BI سه ژنوتیپ AA، AB و BB مشاهده شد (شکل ۲).

سپس ۶ میکرولیتر از محصول PCR در محیط بافری شامل ۲ میکرولیتر بافر 10X و در حضور ۰/۵ میکرولیتر آنزیم برشی *Sna*BI در حجم ۲۰ میکرولیتر در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۱۶ ساعت مورد هضم آنزیمی قرار گرفت. سپس جهت متوقف کردن



شکل ۲. الکتروفورز محصولات حاصل از هضم آنزیمی *Sna*BI در جمعیت گاو سیستانی

متوسط وزن تولد گوساله‌های گاو سیستانی ایستگاه اصلاح نژاد زهک حدود ۲۳ کیلوگرم بود و در یک‌سالگی به حدود ۱۳۴ کیلوگرم رسید. متوسط افزایش وزن گوساله‌ها قبل از شیرگیری تحت تأثیر قدرت شیرواری و تأثیرات مادری هستند و سپس تحت تأثیر توان ژنتیکی خود حیوان قرار می‌گیرند. سرعت افزایش وزن روزانه از زمان تولد تا بلوغ جسمی افزایشی بوده، اما محدودیت محیطی از جمله خشکسالی‌های بسیار موجب تغییر در روند سرعت رشد می‌شود (Sellier, 2000). متوسط افزایش وزن روزانه گوساله‌های گاو سیستانی از تولد تا سه‌ماهگی، سه تا شش‌ماهگی، شش تا نه‌ماهگی و نه تا دوازده‌ماهگی به ترتیب ۰/۳۵۳، ۰/۳۶۴، ۰/۲۵۹ و ۰/۲۸۷ کیلوگرم مشاهده شد.

فراوانی آللی و ژنوتیپی جایگاه IGF-1 در جمعیت گاو سیستانی مورد مطالعه در این تحقیق در شکل‌های ۳ و ۴ ارائه شده است. فراوانی ژنوتیپ‌های AA، AB و BB به ترتیب ۰/۰۵۷، ۰/۳۹۶ و ۰/۵۴۷ و فراوانی آلل‌های A و B به ترتیب ۰/۲۵ و ۰/۷۵ برآورد شد.

فراوانی‌های آللی و ژنوتیپی و سایر معیارهای ژنتیکی و جمعیتی جایگاه مورد مطالعه در جمعیت گاو سیستانی با نرم‌افزار POPGENE3.2 محاسبه شد. برای بررسی ارتباط تنوع در صفات مرتبط با رشد با ژنوتیپ‌های جایگاه ژن IGF-1 از مدل خطی ثابت با رویه GLM نرم‌افزار SAS (نسخه ۹/۱) و از مدل آماری زیر استفاده شد:

$$y_{ijk} = \mu + \text{Sex}_i + G_j + G_j \times \text{Sex}_i + e_{ijk}$$

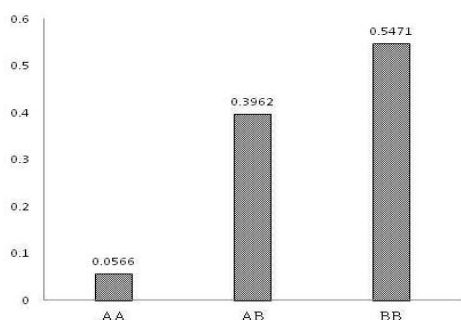
در رابطه بالا، y_{ijk} مقدار فنوتیپی هر یک از صفات مورد بررسی (وزن‌های تولد، سه ماهگی، شش ماهگی، نه ماهگی و دوازده ماهگی و همچنین متوسط افزایش وزن روزانه از تولد تا سه ماهگی، از سه تا شش ماهگی، از شش تا نه ماهگی و از نه تا دوازده ماهگی)، μ میانگین کل، Sex_i اثر ثابت جنس، G_j اثر ثابت ژنوتیپ حیوان، $G_j \times \text{Sex}_i$ اثر متقابل ژنوتیپ و جنس حیوان و e_{ijk} خطای باقی‌مانده است.

نتایج

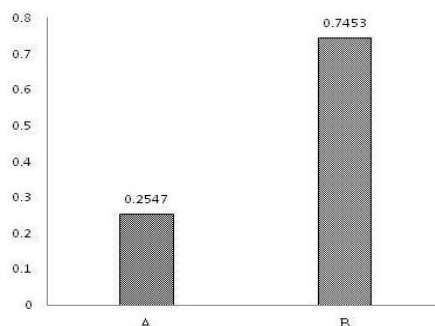
آمار توصیفی صفات مورد مطالعه در تحقیق حاضر در جدول ۲ ارائه شده است.

جدول ۲. آمار توصیفی صفات مرتبط با رشد در گاو سیستانی (بر حسب کیلوگرم)

صفت	تعداد دام	حداقل	حداکثر	میانگین	انحراف معیار
وزن تولد (کیلوگرم)	۵۳	۱۶	۳۲/۲	۲۳/۷۸	۳/۶۳
وزن سه‌ماهگی (کیلوگرم)	۵۳	۳۸	۹۲/۱	۵۶/۲۲	۱۳/۵۴
وزن شش‌ماهگی (کیلوگرم)	۵۳	۵۴	۱۱۹/۴	۸۷/۸۷	۱۶/۰۷
وزن نه‌ماهگی (کیلوگرم)	۵۳	۶۵	۱۵۶/۴	۱۰۹/۳۶	۲۱/۵۱
وزن دوازده‌ماهگی (کیلوگرم)	۵۳	۹۶	۲۱۶	۱۳۴/۱۷	۲۸/۲۵
متوسط افزایش وزن از تولد تا سه‌ماهگی (کیلوگرم)	۵۳	۰/۱۶۳	۰/۷۲۱	۰/۳۵۳	۰/۱۳۹
متوسط افزایش وزن از سه تا شش‌ماهگی (کیلوگرم)	۵۳	۰/۰۳۷	۰/۸۰۹	۰/۳۶۴	۰/۱۶۲
متوسط افزایش وزن از شش تا نه‌ماهگی (کیلوگرم)	۵۳	۰/۰۳۳	۰/۵۴۹	۰/۲۵۹	۰/۱۲۶
متوسط افزایش وزن از نه تا دوازده‌ماهگی (کیلوگرم)	۵۳	۰/۰۶۴	۰/۷۱۸	۰/۲۸۷	۰/۱۵۶



شکل ۴. فراوانی ژنوتیپی جایگاه ژن IGF-1 پس از هضم با آنزیم SnaB1



شکل ۳. فراوانی آللی جایگاه ژن IGF-1 بعد از هضم با آنزیم SnaB1

جدول ۴. آزمون تعادل هاردی-واینبرگ جایگاه ژن IGF-1 در

جمعیت گاو سیستانی		
مربع کای اسکور	آزمون درست‌نمایی	
۰/۰۶۲۳	۰/۰۶۲۳	جمع مجدورات
۲	۲	درجه آزادی
۰/۸۰۲۸	۰/۸۰۱۲	سطح احتمال

تعداد آلل مشاهده شده (Na) و تعداد آلل مؤثر (Ne) به ترتیب ۲ و ۱/۶۱ بود. نزدیکی اندازه مؤثر آللی و تعداد آلل واقعی در این تحقیق ممکن است بیانگر کارایی خوب آلل‌ها در ایجاد چندشکلی باشد. آماره F_{is} نیز در این تحقیق ۰/۰۴- محاسبه شد (جدول ۵). دو عامل میزان رابطه خویشاوندی در تلاقی‌ها و طول دوره تلاقی‌های خویشاوندی بر مقدار F مؤثرند. F_{is} منفی نشان‌دهنده افزایش هتروزیگوسیتی و F_{is} مثبت نشان‌دهنده کاهش هتروزیگوسیتی در زیربخش‌های جمعیت است. در تحقیق اخیر F_{is} منفی برآورد شد که نشان‌دهنده افزایش هتروزیگوسیتی در جمعیت است.

نتایج ارتباط صفات مورد مطالعه با تأثیرات عوامل ثابت موجود در مدل نشان داد که تأثیر ژنوتیپ‌های مختلف جایگاه IGF-1 بر وزن سه، شش، نه و دوازده‌ماهگی بسیار معنادار است ($P < 0/01$) ولی تأثیر آن بر وزن تولد معنادار نیست ($P > 0/05$). تأثیر جنس که به‌عنوان عاملی ثابت در مدل استفاده شد، فقط بر وزن تولد معنادار بود ($P < 0/01$). اثر متقابل ژنوتیپ و جنس نیز بر صفات وزن سه‌ماهگی، شش‌ماهگی، نه‌ماهگی و دوازده‌ماهگی معنادار بود ($P < 0/05$) ولی بر سایر صفات مورد بررسی معنادار نبود ($P > 0/05$). همچنین، نتایج تجزیه و تحلیل واریانس اثر عوامل مختلف بر افزایش وزن دوره‌ای نشان داد که اثر ژنوتیپ بر متوسط افزایش وزن روزانه از تولد تا سه‌ماهگی کاملاً معنادار ($P < 0/01$) است، ولی بر متوسط افزایش وزن دوره‌ای از سه تا شش‌ماهگی، شش تا نه‌ماهگی و نه تا دوازده‌ماهگی معنادار نیست ($P > 0/05$). تأثیر جنس نیز فقط برای متوسط افزایش وزن از نه تا دوازده‌ماهگی دارای اختلاف معناداری بود ($P < 0/05$) که احتمالاً به واسطه نقش هورمون‌های جنسی نر و ماده و تأثیر متفاوت آن‌ها بر تغییر حجم اسکلت و ماهیچه باشد. همچنین اثر متقابل ژنوتیپ و جنس نیز بر متوسط افزایش وزن روزانه از تولد تا سه‌ماهگی معنادار است ($P < 0/05$).

اطلاعات مربوط به میزان هتروزیگوسیتی و هموزیگوسیتی جایگاه IGF-1 در جدول ۳ ارائه شده است.

جدول ۳. فراوانی هتروزیگوسیتی و هموزیگوسیتی جایگاه ژن

IGF-1 در جمعیت گاو سیستانی				
جایگاه ژنی	هتروزیگوسیتی		هموزیگوسیتی	
	مشاهده شده	مورد انتظار	مشاهده شده	مورد انتظار
IGF-1	۰/۳۹۶۲	۰/۳۸۳۳	۰/۶۰۳۸	۰/۶۱۶۷

برای بررسی تعادل هاردی-واینبرگ جایگاه ژنی مورد نظر در جمعیت یادشده از دو آزمون کای اسکور (χ^2) و نسبت درست‌نمایی (G^2) استفاده شد که نتایج هر دو آزمون مشابه بود (جدول ۴). بر اساس نتایج این تحقیق می‌توان اظهار کرد که جایگاه مورد بررسی در این مطالعه در تعادل هاردی-واینبرگ قرار دارد ($P > 0/05$) که دلایل احتمالی آن می‌تواند تغییرات دائمی در برنامه‌ها و اهداف اصلاح نژادی در سال‌های مختلف و تبادل ژنتیکی بین زیرجمعیت‌ها در ایستگاه تحقیقاتی گاو سیستانی باشد.

در تحقیق حاضر برای مشخص کردن بهتر تنوع ژنتیکی از شاخص اطلاعاتی شانون استفاده شد که با نرم‌افزار POPGENE3.2 محاسبه گردید. دامنه تغییرات این شاخص بین صفر و یک قرار دارد. هرچه این شاخص به صفر نزدیک‌تر شود، سطح تنوع کمتر خواهد شد. در پژوهش حاضر مقدار شاخص شانون (I) محاسبه شده برابر ۰/۵۷ بود که بیانگر تنوع ژنتیکی به نسبت زیادی در جمعیت است. دیگر شاخص برآوردشده، میزان محتوای چندشکلی یا PIC¹ بود. کارایی یک نشانگر برای تجزیه و تحلیل پیوستگی به PIC آن بستگی دارد. PIC برآوردشده برای جایگاه مورد بررسی در این تحقیق ۰/۳۱ بود که دال بر متوسط بودن مقدار چندشکلی برای جایگاه مورد نظر در جمعیت است. هتروزیگوسیتی برآوردشده به وسیله شاخص Nei در جمعیت مورد بررسی نیز ۰/۳۸ بود. این پارامتر حاکی از این است که تنوع ژنتیکی جمعیت برای ژن IGF-1 در حد متوسط قرار دارد.

جدول ۵. نتایج به دست آمده برای شاخص‌های تنوع در جایگاه ژن IGF-1 در جمعیت گاو سیستانی

شاخص شانون (I)	شاخص (PIC)	شاخص نئی (Nei)	تعداد آل واقعی (Na)	تعداد آل مؤثر (Ne)	آماره‌های F
۰/۵۷	۰/۳۱	۰/۳۸	۲/۰۰	۱/۶۱	-۰/۰۴

جدول ۶. میانگین حداقل مربعات اثر ثابت جنس بر صفات مرتبط با رشد بر حسب کیلوگرم

صفت	جنس	
	ماده	نر
وزن تولد	۲۳/۲۱±۰/۷۱ ^b	۲۸/۱۳±۰/۹۵ ^a
وزن سه‌ماهگی	۵۷/۴۳±۳/۳۳ ^a	۶۵/۰۷±۴/۰۳ ^a
وزن شش‌ماهگی	۹۰/۲۸±۴/۹۶ ^a	۹۲/۴۶±۳/۷۳ ^a
وزن نه‌ماهگی	۱۱۴/۹۸±۴/۹۱ ^a	۱۱۹/۵۹±۶/۴۹ ^a
وزن دوازده‌ماهگی	۱۴۰/۹۹±۱۰/۲۷ ^a	۱۶۷/۸۴±۱۴/۴۶ ^a

گروه‌های دارای حروف غیرمشابه معنادار ($P < 0.05$) و گروه‌های دارای حروف مشابه غیرمعنادارند ($P > 0.05$).

میانگین حداقل مربعات تأثیر ژنوتیپ‌های مختلف جایگاه IGF-1 بر صفات مرتبط با رشد در جدول ۸ ارائه شده است. نتایج این تحقیق نشان داد تفاوت معناداری میان سه ژنوتیپ AA، AB و BB برای وزن تولد وجود ندارد ($P > 0.05$)، اما در سایر صفات شامل وزن سه‌ماهگی، شش‌ماهگی، نه‌ماهگی و دوازده‌ماهگی میان سه ژنوتیپ AA، AB و BB اختلاف معناداری مشاهده شد ($P < 0.05$).

جدول ۷. میانگین حداقل مربعات اثر ثابت جنس بر صفات متوسط افزایش وزن‌های دوره‌ای بر حسب کیلوگرم

صفت	جنس	
	ماده	نر
متوسط افزایش وزن روزانه از تولد تا سه‌ماهگی	۰/۸۷±۰/۰۳ ^a	۰/۹۱±۰/۰۴ ^a
متوسط افزایش وزن روزانه از سه تا شش‌ماهگی	۰/۷۸±۰/۰۵ ^a	۰/۸۸±۰/۰۴ ^a
متوسط افزایش وزن روزانه از شش تا نه‌ماهگی	۰/۷۵±۰/۰۳ ^a	۰/۸۲±۰/۰۴ ^a
متوسط افزایش وزن روزانه از نه تا دوازده‌ماهگی	۰/۸۲±۰/۰۷ ^b	۱/۰۹±۰/۱۱ ^a

گروه‌های دارای حروف غیرمشابه معنادار ($P < 0.05$) و گروه‌های دارای حروف مشابه غیرمعنادارند ($P > 0.05$).

ژنی مرتبط با صفات رشد باشد. همچنین نتایج مقایسه میانگین حداقل مربعات ارتباط بین ژنوتیپ‌ها و صفات متوسط افزایش وزن‌های دوره‌ای (جدول ۹) نشان داد که تفاوت معناداری بین ژنوتیپ‌های AA و AB با متوسط افزایش وزن روزانه از تولد تا سه‌ماهگی وجود دارد ($P < 0.05$)، اما در خصوص سایر صفات این تفاوت‌ها معنادار نبود ($P > 0.05$).

میانگین حداقل مربعات اثر جنس بر صفات مرتبط با رشد در جدول ۶ ارائه شده است. نتایج این تحقیق اختلاف معناداری بین میانگین جنس نر و ماده برای وزن تولد نشان داد، به طوری که جنس نر میانگین وزنی بیشتری در مقایسه با جنس ماده داشت ($P < 0.05$). در خصوص سایر صفات شامل وزن سه‌ماهگی، وزن شش‌ماهگی، وزن نه‌ماهگی و وزن یک‌سالگی اگرچه جنس نر میانگین وزنی بیشتری از جنس ماده داشت، اما اختلاف دو جنس به لحاظ آماری معنادار نبود ($P > 0.05$).

همچنین میانگین حداقل مربعات اثر جنس بر صفات متوسط افزایش وزن‌های دوره‌ای (جدول ۷) اختلاف معناداری بین جنس نر و ماده برای متوسط افزایش وزن روزانه، از وزن تولد تا سه‌ماهگی، از سه تا شش‌ماهگی و از شش تا نه‌ماهگی نشان نداد؛ اگرچه جنس نر میانگین افزایش وزن روزانه بیشتری در مقایسه با جنس ماده داشت ($P > 0.05$)، ولی برای متوسط افزایش وزن روزانه از نه تا دوازده‌ماهگی این اختلاف معنادار بود ($P < 0.05$).

همچنین دام‌های با ژنوتیپ AB در مقایسه با دام‌های با ژنوتیپ BB و دام‌های با ژنوتیپ BB در مقایسه با دام‌های با ژنوتیپ AA دارای متوسط وزن بیشتری در بیشتر صفات مورد مطالعه (وزن‌های تولد، سه، شش، نه و دوازده‌ماهگی) بودند که احتمالاً به واسطه تأثیرات غیر افزایشی آل‌ها از جمله غالبیت ناقص یا تأثیرات اپیستاتیک آل‌های جایگاه مورد مطالعه ژن IGF-1 با سایر جایگاه‌های

جدول ۸. میانگین حداقل مربعات تأثیر ژنوتیپ‌های مختلف جایگاه ژن IGF-1 با صفات مرتبط با رشد در جمعیت گاو سیستانی (بر حسب کیلوگرم)

ژنوتیپ			تعداد دام	صفت
BB	AB	AA		
۲۵/۱۳±۰/۶۲ ^a	۲۵/۲۹±۰/۷۰ ^a	۲۶/۵۹±۱/۷۸ ^a	۵۳	وزن تولد
۶۰/۸۴±۲/۵۴ ^{ab}	۷۰/۷۰±۸/۵۳ ^a	۵۲/۲۰±۲/۷۶ ^b	۵۳	وزن سه‌ماهگی
۸۹/۶۷±۳/۲۵ ^{ab}	۱۰۴/۱۰±۹/۳۰ ^a	۸۰/۳۵±۳/۶۶ ^b	۵۳	وزن شش‌ماهگی
۱۱۳/۱۶±۴/۲۵ ^{ab}	۱۳۶/۹۰±۱۲/۱۶ ^a	۱۰۱/۷۹±۴/۸۷ ^b	۵۳	وزن نه‌ماهگی
۱۴۹/۰۸±۸/۰۱ ^{ab}	۱۸۰/۶۷±۲۸/۵۰ ^a	۱۳۳/۴۹±۹/۱۵ ^b	۵۳	وزن دوازده‌ماهگی

گروه‌های دارای حروف غیرمشابه معنادار ($P < 0.05$) و گروه‌های دارای حروف مشابه غیرمعنادارند ($P > 0.05$).

جدول ۹. میانگین حداقل مربعات تأثیر ژنوتیپ‌های مختلف جایگاه ژن IGF-1 با متوسط افزایش وزن دوره‌ای (بر حسب کیلوگرم)

ژنوتیپ			صفت
BB	AB	AA	
۰/۹۱±۰/۰۲ ^{ab}	۰/۹۷±۰/۰۹ ^a	۰/۸۰±۰/۰۳ ^b	متوسط افزایش وزن روزانه از تولد تا سه‌ماهگی
۰/۸۰±۰/۰۳ ^a	۰/۹۶±۰/۱۰ ^a	۰/۷۹±۰/۰۳ ^a	متوسط افزایش وزن روزانه از سه تا شش‌ماهگی
۰/۷۷±۰/۰۲ ^a	۰/۸۶±۰/۰۷ ^a	۰/۷۴±۰/۰۳ ^a	متوسط افزایش وزن روزانه از شش تا نه‌ماهگی
۰/۹۰±۰/۰۶ ^a	۱/۱۱±۰/۲۱ ^a	۰/۸۷±۰/۰۷ ^a	متوسط افزایش وزن روزانه از نه تا دوازده‌ماهگی

گروه‌های دارای حروف غیرمشابه معنادار ($P < 0.05$) و گروه‌های دارای حروف مشابه غیرمعنادارند ($P > 0.05$).

بحث

در تحقیق حاضر ژنوتیپ BB، بیشترین فراوانی و ژنوتیپ AA کمترین فراوانی را دارد. فراوانی آلل B نیز بیشتر از آلل A بود که با نتایج Yazdan-Panah et al. (2010b, 2010a)، Hasanpour et al. (2012) و تعدادی از پژوهشگران دیگر نظیر Reyna et al. (2010)، Laurano et al. (2009)، Curi et al. (2005) و همچنین با نتایج Kim et al. (2004) موافق و با نتایج تعدادی دیگر نظیر Siadkowska et al. (2006)، Li et al. (2004) و Ge et al. (2001) مطابقت نداشت. تفاوت در نتایج به‌دست‌آمده ممکن است مربوط به تفاوت‌های نژادی، اندازه جمعیت یا نمونه مورد بررسی، فاکتورهای محیطی و استراتژی‌های جفت‌گیری باشد.

نتایج بررسی ارتباط چندشکلی ژن IGF-1 با صفات مرتبط با رشد در مطالعه حاضر با نتایج مطالعات Ge et al. (2001)، Siadkowska et al. (2006)، Curi et al. (2005) و همچنین Reyna et al. (2010) که روی نژادهای آنگوس، نلور، هلشتاین-فریزین و گاوهای مکزیکی انجام گرفته، مطابقت دارد. در تمام این

پژوهش‌ها اثر آلل B بر صفات افزایش وزن بعد از شیرگیری، وزن لاشه و متوسط افزایش وزن روزانه بیش از آلل A گزارش شده است. در پژوهش حاضر افراد هتروزیگوت AB در مقایسه با افراد دارای ژنوتیپ هموزیگوت BB و همچنین افراد هموزیگوت BB در مقایسه با افراد با ژنوتیپ هموزیگوت AA در بیشتر صفات مورد بررسی میانگین وزن بیشتری نشان دادند که می‌تواند به واسطه اثر غالبیت نسبی آلل B بر آلل A باشد. Ge et al. (2001) گزارش کردند که در ناحیه ۵ این ژن و ۵۱۲ جفت باز قبل از اولین کدون اگزون اول (ATG) یک جهش جایگزینی نوکلئوتیدی T با C اتفاق افتاده است، به طوری که ژنوتیپ BB در این جایگاه با اضافه وزن بدن گاوهای آنگوس در ۲۰ روز پس از شیرگیری ارتباط معناداری دارد. Siadkowska et al. (2006) با مطالعه این SNP در گاوهای هلشتاین-فریزین لهستان گزارش کردند که کل مواد جامد، مقدار و درصد چربی و پروتئین روزانه شیر به طور معناداری بین گروه‌های ژنتیکی این جایگاه متفاوت است. این پژوهشگران همچنین گزارش کردند که ژنوتیپ BB در

نتیجه‌گیری و پیشنهاد

با در نظر گرفتن شناسایی چندشکلی و وجود ژنوتیپ‌های متنوع در جایگاه ژن IGF-1 در گاو سیستانی و همچنین ارتباط معناداری که بین این الگوها و برخی صفات مشاهده شد، با تحقیقات بیشتر درباره این ژن و تصدیق یافته‌های این پژوهش می‌توان گفت که ژن IGF-1 در کنار جایگاه‌های ژنی و نشانگرهای مولکولی دیگر می‌تواند به‌عنوان نشانگر ژنتیکی مناسبی در زمینه اصلاح نژاد گاوهای مناطق بومی ایران مورد توجه قرار گیرد. از طرفی پیشنهاد می‌شود در مطالعات بعدی و برای دستیابی به اطلاعات مفید و دقیق‌تر، ضمن استفاده از تعداد نمونه بیشتر، وسعت بیشتری از ژنوم گاو بررسی شود.

مقایسه با سایر ژنوتیپ‌ها برای مصرف و ضریب تبدیل خوراک مطلوب‌تر است. علاوه بر این نرخ رشد در گاوهای نر حامل ژنوتیپ BB در مقایسه با ژنوتیپ‌های دیگر بیشتر بود (Siadkowska *et al.*, 2006). در مطالعات روی نژادهای نلور، کانچیم و چندین نژاد دورگ، ارتباط معناداری بین چندشکلی جایگاه تکنوکلتوتیدی با وزن بدن و چربی زیرپوستی گزارش شده است (Curi *et al.*, 2005). در مطالعه روی چندشکلی تکنوکلتوتیدی (SNP) ژن IGF-1/*SnaBI* به‌عنوان یک نشانگر ژنتیکی در گاو شاروله مکزیکه مشخص شد که این چندشکلی اثر معناداری بر صفات تولیدی شامل وزن از شیرگیری، افزایش وزن در دوره قبل و بعد از شیرگیری دارد (Reyna *et al.*, 2010).

REFERENCES

1. Abdolmohammadi, A. (2008). *Study of genetic polymorphism of four candidate gene with PCR-RFLP and HRM methods and its Association with production and reproductive traits in Iranian Holstein cattle*. Ph.D. dissertation in genetics and Animal breeding, College of Agriculture, Tehran University, Iran. (In Farsi)
2. Adam, D., Cosgrove, L.J., Booker, G.W., Wallace, J.C. & Forbes, B.E. (2005). Molecular interactions of the IGF system. *Cytokine & Growth Factor Reviews*, 16 (4-5), 421-43.
3. Andrade, P.C., Grossi, D.A., Paz, C.C., Alencar, M.M., Regitano, L.C. & Munari, D.P. (2008). Association of an insulin-like growth factor 1 gene microsatellite with phenotypic variation and estimated breeding values of growth traits in Canchim cattle. *Animal Genetics*, 39, 480-485.
4. Casas, E., Shackerford, S. D., Keele, J. W., Stone, R. T., Kappes, S. M. & Koohmareie, M. (2000). Quantitative trait loci affecting growth and carcass composition of cattle segregating alternate form of myostatin. *Journal of Animal Science*, 78, 560-569.
5. Curi, R. A., Oliveira, H. N., Silveira, A. C. & Lopes, C. R. (2005). Association between IGFI, IGF-IR and GHRH gene polymorphisms and growth and carcass traits in beef cattle. *Livestock Production Science*, 94, 159-167.
6. Etherton, T. D. (2004). Somatotropic function: The somatomedin hypothesis revisited. *Journal of Animal Science*, 82 (E-Suppl), E239-E244.
7. Fotsis, T., Murphy, C. & Gannon, F. (1989). Nucleotide Sequence of the Bovine Insulin-Like Growth Factor 1 and its IGF-IA Precursor. *Journal of Progress Nucleic Acid Research Molecular Biology*, 18(30).
8. Ge, W., Davis, M. E. & Hines, H. C. (1997). Two SSCP alleles detected in the 5'-flanking region of bovine IGF1 gene. *Animal Genetics*, 28, 155-156.
9. Ge, W., Davis, M. E., Hines, H. C., Irvin, K. M. & Simmen, R. C. M. (2001). Association of genetic marker with blood serum insulin-like growth factor-I concentration and growth traits in Angus cattle. *Journal of Animal Science*, 79, 1757-1762.
10. Grossi, D. A., Grupioni, N. V., Buzanskas, M. E., Schenkel, F. S., Regitano, L. C., Paz, C. C. P., Alencar, M. M. & Munari, D. P. (2010). Association of Polymorphisms in the IGF1, GH and PIT1 Genes with Growth and Reproductive Traits in Canchim Cattle. In: *Proceedings of the 9th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*, Leipzig, Germany.
11. Hasanpour, K., Asgari-Moghadam, M., Bigi-Nassiri, M. T., Roshanfakr, H. A., Fayazi, J. & Tabatabayei-Vakili, S. S. (2012). Study of IGF-1 gene polymorphism in hybrid cattle of Khuzestan province with PCR-RFLP method. *Journal of Modern Veterinary Research*, 13, 45-52. (In Farsi)
12. Kim, M. H., Seo, D. S. & Ko, Y. (2004). Relationship between Egg productivity and Insulin Like growth factor-1 genotypes in Korean native Ogot chickens. *Poultry Science*, 83, 1203-1208.
13. Kirkpatrick, B. W. (1992). Identification of a conserved microsatellite site in the porcine and bovine insulin-like growth factor-I gene 5' flank. *Animal Genetic*, 23, 543-548.
14. Laureano, M. M. M., Otaviano, A. R., Lima, A. L. F., Costa, R. B., Salman, A. K. D., Sena, J. A. D., Tonhati, H. & Albuquerque, L. G. D. (2009). Characterization and polymorphism screening of IGF-1 and prolactin genes in Nelore heifers. *Italian Journal of Animal Science*, 8, 277-283.

15. Lei, M., Nie, Q., Peng, X. & Zhang, X. (2005). Single nucleotide polymorphisms of the chicken insulin-like factor binding protein 2 genes associated with chicken growth and carcass traits. *Poultry Science*, 84, 1191-1198.
16. Li, C., Basarad, J., Snelling, W. M., Bwnkel, B., Murdoch, B., Hansen, C. & Moore, S. S. (2004). Assessment of positional candidate genes myf5 and igf1 for growth on bovine chromosome 5 in commercial lines of *Bos taurus*. *Journal of Animal Science*, 82, 1-7.
17. Musaro, A., McCullagh, K. J., Naya, F. J., Olsen, E. N. & Rosenthal, N. (1999). IGF-1 induces skeletal myocyte hypertrophy through calcineurin in association with GATA-2 and NF-ATc1. *Nature*, 400 (6744), 581-585.
18. Reyna, X. F., Montoya, H. M., Castellon, V. V., Rincon, A. M., Bracamonte, M. P. & Vera, W. A. (2010). Polymorphisms in the IGF1 gene and their effect on growth traits in Mexican beef cattle. *Genetics and Molecular Research*, 9(2), 875-883.
19. Roite, D., Bondy, C., Yakar, S., Liu, J. L. & Butler, A. (2001). The Somatomedin Hypothesis. *Endocrinology Review*, 22, 53-74.
20. Sellier, P. (2000). Genetically caused retarded growth in animals. *Domestic Animal Endocrinology*, 19, 105-119.
21. Siadkowska, E., Zwierzchowski, L., Oprzadek, J. & Strzalkowska, N. (2006). Effect of polymorphism in IGF-1 gene on production traits in Polish Holstein-Friesian cattle. *Animal Science. Pap. Rep.*, 3, 225-237.
22. Sirotkin, A. V., Mertin, D., Suvegova, K., Makarevich, A. V. & Mikulova, E. (2003). Effect of GH and IGF-I treatment on reproduction, growth, and plasma hormone concentrations in domestic nutria (*Myocastor coypus*). *General and Comparative Endocrinology*, 131, 296-301.
23. Tahmorespour, M., Vafaie-Valeh, M., Ansari, M., Heravi-Mosavi, A. R. & Nasiri, M. R (2008). Study of IGF-1 gene polymorphism and its association with daily gain in Baluchi sheep. In: *the 3th Iranian Congress of Animal Science*, College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad. (In Farsi)
24. Weber, M. S. (1998). *The Role of Insulin-Like Growth Factor-I (IGF-I) and IGF Binding Proteins in Mammary Gland Development*, Fulfillment of the Requirements for the Degree of Doctor of Philosophy, Faculty of the Virginia Polytechnic Institute, State University.
25. Williams, J. L. (2008). Genetic control of meat quality traits. *Meat Biotechnology*.
26. Yazdan-Panah, A., Khedrzhadeh, S. & Mohammadi-Kaftarkari, A. (2010a). Study of IGF-1 gene polymorphism in Buffalo population in Khuzestan province with PBR technique. In: *the 4th Iranian Congress of Animal Science*, Karaj, Iran, pp. 2879-2882. (In Farsi)
27. Yazdan-Panah, A., Khedrzhadeh, S. & Mohammadi-Kaftarkari, A. (2010b). Determination of heterozygosity in exon 1 of IGF-1 in Najdi cattle in Khuzestan province with PBR technique. In: *the 4th Iranian Congress of Animal Science*, Karaj, Iran, pp. 2775-2878. (In Farsi)