ارتباط پلی‌مورفیسم 5'UTR ژن تیروگلوبولین با خصوصیات لاشه در بره‌های آمیخته افشاری× برولا مرینو

ملیحه نظام‌آبادی [۱]، طاهر هرکی‌نژاد [۱و۲*]، محمدحسین شهیر [۱]، روناک خرمتایی [۱] ، مرادپاشا اسکندری نسب [۱]، لیلا دانش مقدم [۱] و رحمان رستمخانی [۳]

[۱] **زنجان، دانشگاه زنجان، دانشکده کشاورزی، گروه علوم دامی**

[۲] **زنجان، دانشگاه زنجان، پژوهشکده فناوریهای نوین زیستی**

[۳] **زنجان، سازمان جهاد کشاورزی، معاونت بهبود تولیدات دام**

تاریخ دریافت:۹۳/۹/۷ تاریخ پذیرش: ۹۴/۵/۲۸

چکیده

چربی اعماء و احشاء و دنبه درصد قابل توجهی از وزن لاشه در گوسفند را به خود اختصاص می‌دهد. در تحقیق حاضر ارتباط پلی‌مورفیسم ژن تیروگلوبولین (TG) با خصوصیات لاشه در گوسفند افشاری× برولا مرینو مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور از تعداد ۹۸ راس بره نر ۱۱ ماهه نمونه خون توسط ونوجکت حاوی EDTA از ورید وداج (گردن) گرفته و از آن DNA استخراج گردید. آغازگرهای لازم به دلیل عدم وجود توالی مربوطه در گوسفند در زمان طراحی پرایمر با استفاده از توالی ژن TG گاو طراحی شدند. محصولات حاصل از PCR با طول قطعه ۵۴۵ جفت باز با روش SSCP مورد بررسی قرار گرفت. با بررسی باندها بر روی ژل اکریل‌آمید، تمامی نمونه‌ها در ۶ گروه ژنوتیپی AA, BB, AB, AC, D- وEE قرار گرفتند. نتایج نشان داد که بین ضخامت چربی بین دنده ۱۳-۱۲ و ژنوتیپها تفاوت معنی‌دار (p<۰/۰۵) وجود دارد و ژنوتیپ BB کمترین (cm۱/۳۸) و ژنوتیپ D- بیشترین (cm۱/۸۷) میزان انباشت چربی در این ناحیه را دارند بالعکس درصد ضایعات به طور معنی-داری در ژنوتیپ BB (۴/۲۰) از سایر گروهها بیشتر و در ژنوتیپ D- (۳/۰۴) کمتر بود. ژنوتیپ BB کمترین مقدار عمق عضله راسته (۲/۰۹)، درصد راسته (۱۵/۶۰)، درصد سردست (۱۵/۸۷) و درصد لاشه (۴۲/۷۰) را داشت. و همچنین ژنوتیپBB به طور معنی‌داری کمترین میزان درصد قلوه‌گاه (۱۵/۰۸) و وزن قبل از کشتار (۵۲/۴۰) را نشان داد. ژنوتیپ D- بیشترین میزان درصد قلوه‌گاه (۱۶/۹۴) و ژنوتیپ AB (۵۹/۳۶) بیشترین میزان وزن قبل از کشتار را داشتند و اختلاف بین گروهها معنی‌دار بود. با توجه به این یافته می‌توان ژن TG را به عنوان یک ژن کاندید برای استفاده در برنامه های اصلاح نژاد این نژاد از گوسفند در نظر گرفت.

واژه های کلیدی: گوسفند افشاری، خصوصیات لاشه، تیروگلوبولین، پلی‌مورفیسم

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۲۷۴۳۲۶۶۴، پست الکترونیکی: Taher.Harkinezhad@znu.ac.ir

مقدمه

واحدهای ترشحی غده تیروئید فولیکولها هستند که یک ماده غیر شفاف به نام کلوئید را در بر می‌گیرند که حاوی تیروگلوبولین (TG) و مقدار کمی تیروآلبومین یددار است. تیروگلوبولین پیش‌ساز تمام هورمونهای تیروئیدی است. این پروتئین (TG) هورمونی بزرگ است که شایع ترین فرم آن دارای ۶۶۰ کیلو دالتون وزن مولکولی است. این مولکول بزرگ در بین ۵۰۰۰ اسید آمینه خود تنها حاوی حدود ۱۱۵ اسید آمینه تیروزین دارد. این اسید آمینه‌ها ید-

دار و به هم می پیوندند تا هورمونهای فعال تیروئیدی ساخته شوند. همانند سایر پروتئینها TGدر شبکه اندوپلاسمیک خشن سلولهای فولیکولی سنتز می شود و قند دار شدن آن در دستگاه گلژی انجام می‌گیرد. سپس TG در ویزیکولهای اگزوسیتوزی بسته بندی می‌شوند و به داخل فولیکول منتقل می‌شود. ۸ تا ۱۰ درصد وزن TG کربوهیدرات و۰/۲ تا ۱ درصد وزن آن ید است. هورمونهای تیروئیدی به صورت قسمتی از مولکول تیروگلوبولین در حفره درونی فولیکول ذخیره می‌شوند. این تیروگلوبولین به صورت کلوئید است سپس این قطره به لیزوزوم متصل می‌شود تا فاگوزوم (اندوزوم) را تشکیل دهد. پروتئازهای داخل فاگوزوم TG را به اسیدآمینه‌های تشکیل دهنده و T4 ، T3 ، rT3 ، DIT و MIT هیدرولیز می‌کند.

پروتئین TG به عنوان ماتریکسی برای سنتز هورمونهای تیروئیدی، تیروکسین (T4) و تری‌یدوتیرونین (T3) می-باشد. بیوسنتز هورمون تیروئید در برگیرنده متابولیسم تیروگلوبولین و ید است و تمامی مراحل توسط TSH تشدید می‌یابند. این هورمون نسخه‌برداری ژن تیروگلبولین را افزایش می‌دهد. هورمونهای تیروئیدی نقش بسیار مهمی در تنظیم متابولیسم داشته و می‌توانند روی رشد آدیپوسیت‌ها، تمایز و هموستازی انباشت چربی مؤثر باشند (۳و۷). این هورمونها با افزایش لیپولیز در بافت چربی روی متابولیسم چربی اثر دارند، گاهی ممکن است افزایش فعالیت بعضی از آنزیمها مثل مالیک آنزیم، سیترات لیاز، گلوکز ۶- فسفات دهیدروژناز لیپوژنز را هم تحریک کنند.

این ژن دارای ۴۸ اگزون بوده که دارای طول توالی حدود ۲۷۰ کیلو جفت باز می‌باشد و به طور وسیعی مورد مطالعه قرار گرفته است. بارندز (۱۹۹۹) توانست در ژن TG در گاو یک پلی‌مورفیسمی را در ناحیه غیرترجمه شونده (5'UTR) که تنظیم رونویسی و ترجمه ژن توسط آن انجام می‌گیرد شناسایی کند که با میزان ماربیلینگ مرتبط بود (۵). ارتباط معنی‌داری بین اسکور ماربیلینگ (چربی داخل عضلانی) با نشانگر DNA، CSSM66، پیدا شده است. این نشانگر روی کروموزوم ۱۴ گاو نزدیک سانترومر قرار گرفته است. مشخص شده که ژن تیروگلوبولین نیز نزدیک این نشانگر قرار دارد. از آنجایی که ناحیه 5'UTR ژن در رونویسی بسیار اهمیت دارد از این رو اثر زیادی روی میزان تیروگلوبولین موجود دارد. با بررسی پلی‌مورفیسم DNA در این قسمت ژن تیروگلوبولین سه ژنوتیپ مختلف در گاو شناسایی شده است و مشخص گردیده است که یکی از آللها به میزان زیادی با اسکور ماربیلینگ مرتبط است (۵و۱۹). انتظار می‌رود ضخامت چربی زیرپوستی و درصد چربی بافتی چون شیر تحت تأثیر TG قرار گیرد چرا که یدوتیرونین‌ها تمایز آدیپوسیتی را تحت تأثیر قرار می‌دهند (۳). دیوبی و همکاران گزارش کرده اند که چندشکلی در ناحیه پروموتر ژن تیروگلوبولین با درصد چربی شیر در گاومیش مرتبط است (۱۰). اثر چند شکلی ناحیه پروموتر این ژن در گاو گوشتی چینی نیز مورد بررسی قرار گرفته است، در این دام چند شکلی در ناحیه مذکور بر رشد اثر گذاشته است اما ارتباطی با ترکیبات لاشه نداشته است(۲۲). در حالی که آنتون و همکاران(۲۰۰۸) گزارش کرده اند که چندشکلی در این ژن با چربی داخل عضله پشت در نژادهای گاو در بلغارستان ارتباط داشته است (۴). ارتباط این ژن با اسکور چربی مرمری در گاو گوشتی توسط هو و همکاران(۲۰۱۱) نیز گزارش شده است (۱۳).

کروموزوم ۹ گوسفند همولوگ کروموزوم ۱۴ گاو می‌باشد و ژن تیروگلوبولین در گاو که مشخص شده با مقدار چربی لاشه در ارتباط است همان طور که جلوتر اشاره شد روی این کروموزوم قرار دارد. چنین ارتباطی در گوسفند مورد بررسی قرار نگرفته است. چربی لاشه، چربی زیرپوست و نیز دنبه قسمت قابل توجهی از وزن لاشه گوسفندان را تشکیل می‌دهند و این چربیها اغلب در کشتارگاهها جدا می‌شوند و مطلوب خریداران گوشت نیست. هدف از این

پژوهش بررسی ارتباط چندشکلی در ژن تیروگلوبولین با چربی و سایر صفات لاشه در گوسفند افشاریxبرولامرینو بود.

مواد و روشها

جهت اجرای تحقیق تعداد ۹۸ رأس بره نر ۱۱ ماهه آمیخته افشاریx برولامرینو نسل F3 که در گله اصلاح نژادی گوسفند افشاری مزرعه آموزشی- پژوهشی دانشگاه زنجان در شرایط یکسانی پرورش داده شدند، انتخاب شدند. به دلیل امکانات مزرعه و شرایط آب و هوایی منطقه زایش بره های ذکر شده از دهم فروردین ماه شروع و تا نیمه اول تیر ماه ادامه داشت. البته ۴۰ درصد زایشها در یک ماه اول انجام شد. بره ها معمولاً تا سن چهار ماهگی به طور دائم و یا چند ساعت در روز به همراه مادرانشان بودند. بنابراین سن ۲۲۰ روزگی در این مطالعه به عنوان سن از شیرگیری در نظر گرفته شد. تمامی گوسفندان از تغذیه یکسان برخوردار بودند. بره‌ها در ۱ تا ۲ هفته اول پس از زایش در کنار مادران قرار داشته و از شیر میشها به طور تمام وقت تغذیه می-کردند. سپس از مادر جدا شده و تنها در سه نوبت صبح، ظهر و شب برای استفاده از شیر میشها در کنار آنها قرار می-گرفتند در این مدت سه نوبت نیز تغذیه دستی انجام می شد. جیره بره‌ها شامل مخلوطی از یونجه خرد شده، آرد جو و مکملهای ویتامینی و درمانی بود که تا حد اشتها در اختیار دامها قرار داده می‌شد به گونه‌ای که حدود ۲۰ درصد خوراک داده شده باقی می‌ماند و در آخر هر روز جمع آوری می‌گردید. بره‌ها در سالنی مسقف و با نور و تهویه مناسب در دمای ۵ تا ۲۵ در جه سانتی گراد نگهداری می‌شدند. یک هفته قبل از کشتار، بره‌ها پشم‌چینی شدند. بره‌ها پس از تحمل ۱۸ ساعت گرسنگی توزین شدند و جهت اندازه-گیری ضخامت چربی، ضخامت و سطح مقطع عضله راسته در ناحیه بین دنده ۱۳-۱۲ با استفاده از سونوگرافی، ناحیه مورد نظر توسط تیغ تراشیده شد. سونوگرافی با استفاده از دستگاه التراسوند Sonovet 600 (ساخت کشور آمریکا) و پراب ۵ مگاهرتز انجام گرفت. برای اندازه گیری ضخامت چربی پشت (UBF) و ضخامت عضله راسته(ULMD) از تمامی بره‌ها در ناحیه ذکر شده فیلم تهیه شد. نرم افزار Scion Image برای بررسی فیلمهای تهیه شده جهت اندازه گیری UBF، ULMD مورد استفاده قرار گرفت. همچنین ابعاد مربوط به طول بدن، دور سینه و فاصله دوپا به وسیله متر پارچه‌ای و ارتفاع جدوگاه با استفاده از کولیس فلزی بزرگ اندازه‌گیری شد.

خونگیری جهت استخراج DNA انجام شد. جهت تهیه نمونه‌های خون از ونوجکت خلاءدار ۵ سی‌سی حاوی ماده ضد انعقاد EDTA استفاده شد. خونگیری از سیاه‌رگ وداج صورت گرفت و نمونه‌ها در ظرف محتوی یخ به آزمایشگاه منتقل شدند. نمونه‌های خون قبل از استخراج DNA در دمای منهای ۲۰ درجه سانتی گراد نگهداری شدند و استخراج DNA از تمام نمونه‌های خون انجام پذیرفت.

بره‌ها پس از تحمل ۲۴ ساعت گرسنگی توزین و سپس کشتار شدند. در کشتارگاه پس از بر داشتن پوست دام، ضخامت چربی CBF و عضله CLMD بین دنده 22 و 21 در همان ناحیه سونوگرافی‌شده، توسط خط‌کش فلزی با دقت 2 میلی متر روی لاشه اندازه‌گیری شد. لاشه‌ها پس از کشتار توزین و به یک شرکت بسته‌بندی گوشت منتقل و به مدت ۲۴ ساعت در سردخانه نگهداری شدند. سپس لاشه‌ها از سردخانه خارج و با دقت از طول به دو نیمه چپ و راست تقسیم گردیدند و نیم لاشه راست جهت تعیین اندازه های لاشه استفاده گردید. نیم لاشه مذکور به قطعات گردن، ران، سردست، قلوه گاه، راسته، دنبه تقسیم و ضایعات (چربی روی لاشه و اعماء و احشاء) آن اندازه‌گیری شد. داده‌های به دست آمده از بررسیهای قبل و بعد از کشتار دامها توسط نرم افزار SQL server و SPSS تجزیه و تحلیل شد.

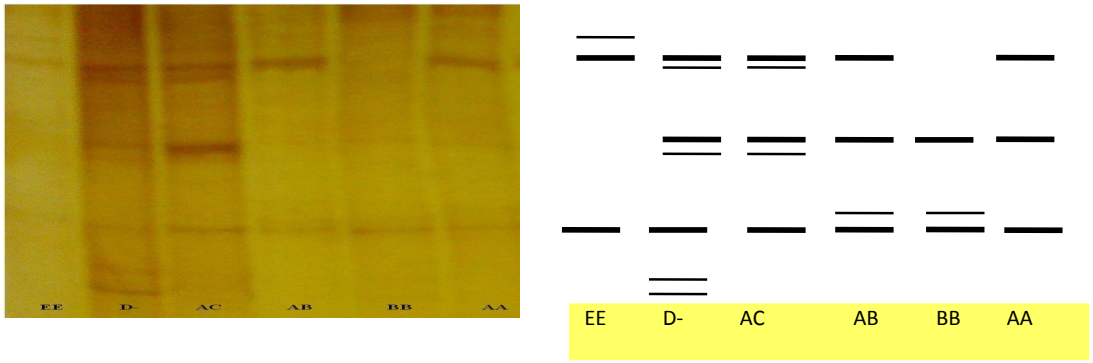
DNA خون با روش فنول-کلروفرم تعدیل شده استخراج گردید. از پرایمر های F: GGGGATGACTACGAGTATGACTG و R: GTGAAAATCTTGTGGAGGCTGTA برای تکثر قطعه مورد نظر توسط PCR استفاده شد. هر مخلوط واکنش (µl۲۵) شامل ۱۶ پیکومول از هر پرایمر، ۵۰ نانوگرم DNA ژنومیک، ۰/۸ IU تک‌پلیمراز، µl۰/۱ تک بافرPCR، ۲۰۰ µM از هرdNTP (سیناژن)، ۲ mM $MgCl_2$ و ۵۰ KCl mM بود. برنامه زمانی به ترتیب، مرحله واسرشتگی اولیه به مدت ۵ دقیقه با دمای ۹۶ درجه، ۳۰ چرخه شامل سه مرحله: ۹۶ درجه به مدت یک دقیقه، دمای اتصال ۵۶ درجه به مدت ۱ دقیقه و ۷۲ درجه به مدت ۱/۵ دقیقه و یک چرخه گسترش نهایی ۷۲ درجه به مدت ۵ دقیقه برای انجام PCR در نظر گرفته شد. جهت واسرشته کردن محصولات PCR پس از مخلوط شدن با بافر لودینگ به نسبت ۲۵ به ۱۰ به مدت ۵ دقیقه در حرارت ۹۶ درجه قرار گرفته و بلافاصله روی یخ انتقال داده شدند و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای منهای ۲۰ درجه سانتی گراد قرار گرفتند. سپس با استفاده از ژل غیر واسرشته‌ساز اکریلامید ۱۲ درصد با ولتاژ ۱۷۰ به مدت ۱۹ ساعت الکتروفورز انجام شد. رنگ‌آمیزی ژلها با استفاده از رنگ‌آمیزی معمول نیترات نقره انجام گرفت و ژنوتیپ حیوانات مشخص گردید(۹). از هر ژنوتیپ سه نمونه تعیین توالی گردیدند. تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS و مقایسه میانگینها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد. در این پژوهش از وزن تولد، تیپ تولد و سن مادر بره‌ها به عنوان متغیر کمکی (کواریت) در تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شد. مدل آماری: (مدل ۱)

$$Yij = \mu + Gi + T_j + e_{ij}$$

Yij= مقدار صفت برای هر دام µ= میانگین جامعه Gi= اثر ثابت ژنوتیپ Tj= اثر ثابت تیپ تولد، eij= مقادیر باقیمانده می باشد

نتایج و بحث

تکثیرناحیه 5'UTR ژن تیروگلوبولین گوسفند با استفاده از آغازگرهای طراحی شده با موفقیت انجام گرفت. الکتروفورز محصولات PCR واسرشته بر روی ژل اکریلامید، شش الگوی باندی و ژنوتیپ مختلف را نشان داد (شکل ۱). ۹۸ نمونه تکثیر یافته از طریق SSCP تعین ژنوتیپ شده، مورد آنالیز قرار گرفتند و مشخص شد که ژنوتیپ AA بیشترین (n=۳۷) و ژنوتیپ EE کمترین (n=۴) فراوانی را در جمعیت مورد مطالعه داشتند(جدول ۱).



شکل۱- نتایج حاصل از انجام SSCP محصولات PCR روی ژل اکریلامید ۱۲٪.

جدول۱- فراوانی ژنوتیپی *ژن تیروگلوبولین*

ژنوتیپ	فراوانی	درصد
AA	۳۷	۳۷/۷۶
AB	۲۵	۲۵/۵۱
BB	۷	۷/۱۴
AC	۱۱	۱۱/۲۲
D-	۱۴	۱۴/۲۹
EE	۴	۴/۰۸
کل	**۹۸**	**۱۰۰**

در جدول ۲ میانگین و درصد صفات چربی لاشه در گروههای ژنوتیپی ژن TG نشان داده شده است. ضخامت چربی در فواصل دنده ۱۳-۱۲ در بین ژنوتیپها تفاوت معنی‌دار (p<۰/۰۵) داشت و ژنوتیپ BB کمترین و ژنوتیپ -D بیشترین میزان انباشت چربی در این ناحیه را داشتند. بالعکس درصد ضایعات به طور معنی‌داری در ژنوتیپ BB از سایر گروهها بیشتر و در ژنوتیپ -D کمتر بود. بین وزن ضایعات و دنبه و درصد دنبه در گروههای ژنوتیپی تفاوتی مشاهده نشد. در بره های دارای ژنوتیپ -D بیشترین میزان چربی پشت اما کمترین درصد ضایعات مشاهده شد و نسبت به سایر گروهها به همراه ژنوتیپ AC کمترین درصد دنبه را داشتند. احتمال دارد که این ژنوتیپ موجب افزایش انباشت چربی در پشت و کاهش میزان چربی در دنبه گردد و بر عکس ژنوتیپ BB موجب کاهش انباشت چربی زیر جلدی شود و از آنجایی که سنتز چربی ادامه دارد ذخیره چربی در سایر قسمتها مانند دنبه افزایش پیدا کند.

در جدول ۳ میانگین و درصد صفات لاشه در گروههای ژنوتیپی ژن تیروگلوبولین نشان داده شده است. ارتباطی بین گروههای ژنوتیپی با عمق عضله راسته، درصد راسته، درصد سردست، درصد لاشه و وزن لاشه وجود نداشت. اما ژنوتیپ BB کمترین مقدار عمق عضله راسته، درصد راسته، درصد سردست و درصد لاشه را داشت.

جدول ۲- ارتباط ژنوتیپهای مختلف ژن تیروگلوبولین و صفات چربی لاشه بره‌های افشاری×برولامرینو.

ژنوتیپ / *تعداد هر ژنوتیپ*	*AA* (*n*=۳۷)	*AB* (*n*=۲۵)	*BB* (*n*=۷)	*AC* (*n*=۱۱)	*D-* (*n*=۱۴)	*EE* (*n*=۴)	SEM
ضخامت چربی دنده ۱۲-۱۳(cm)	۱/۶۴^{ab}	۱/۷۰^{ab}	۱/۳۸^{a}	۱/۷۶^{ab}	۱/۸۷^{b}	۱/۵۹^{ab}	۰/۱۷۳
درصد ضایعات	۳/۶۴^{ab}	۳/۴۴^{ab}	۴/۲۰^{b}	۳/۷۷^{ab}	۳/۰۴^{a}	۳/۷۱^{ab}	۰/۴۰۹
وزن ضایعات(kg)	۰/۸۹	۰/۹۳	۰/۹۴	۰/۹۴	۰/۷۹	۰/۷۹	۰/۱۱۸
درصد دنبه	۵/۳۵	۵/۷۷	۵/۶۱	۴/۹۱	۴/۹۷	۵/۲۱	۰/۸۹۵
وزن دنبه(kg)	۱/۳۴	۱/۵۶	۱/۲۷	۱/۲۶	۱/۲۹	۱/۱۵	۰/۲۱۵
اسکور	۳/۰۰	۳/۱۴	۲/۹۵	۳/۰۰	۳/۱۷	۲/۹۳	۰/۲۴۹

حروف مختلف^{b,a} در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی‌دار(P< ۰/۰۵) است.

قبلاً نیز ارتباط معنی‌داری بین TG و ضخامت چربی پشت و سطح مقطع عضله راسته در گاوهای *Bos indicus* گزارش شده است به این صورت که حیوانات هتروزیگوت چربی کمتر و سطح مقطع راسته کوچکتری

نسبت به ژنوتیپ هموزیگوت داشتند(۱۸) ممکن است کروموزم ۱۴ محلی برای دو ژن مختلف باشد که بر روی این دو صفت اثر می‌گذارند و نشانگر TG هم روی این دو ژن اثر می‌گذارد و یا ممکن است یک ژن در این ناحیه وجود داشته باشد که بر روی دو صفت اثر دارد و نشانگر TG هم روی آن ژن اثرگذار باشد (۷). به هرحال این ژن با سنتز پیش سازهای هورمونهای تیروئیدی می تواند نقش مهمی در متابولیسم داشته باشد و قسمت پروموتر آن می تواند تنظیم کننده اصلی در این میان باشد در کل نقش پروموتر همیشه اساسی است(۱ و ۲) البته نتایج تحقیقاتی که در مورد تأثیر ژن TG بر چربی داخل عضلانی (چربی مرمری) و نیز چربی پشت در گاو انجام شده است در برخی موارد ضد و نقیض است(۸، ۱۶ و ۱۸) . ژنوتیپ BB به طور معنی‌داری کمترین میزان درصد قلوه-گاه را نشان داد. در حالی که کمترین وزن قبل از کشتار مربوط به ژنوتیپ EE بود(P< ۰/۰۵). ژنوتیپ D- بیشترین میزان درصد قلوه‌گاه و این ژنوتیپ به همراه ژنوتیپ AB بیشترین میزان وزن قبل از کشتار را داشتند و اختلاف بین گروهها معنی‌دار بود. ژنوتیپ EE به طور معنی‌داری بیشترین و ژنوتیپ D- کمترین درصد وزن گردن را داشت. مشخص شده است که SNP در موقعیت C۴۲۲T ژن TG تولید چربی را بهبود داده و به عنوان یک نشانگر ژنی برای ذخیره چربی مرمری در گاوهای گوشتی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۵، ۶ و ۱۴) و بین درصد قطعات لاشه و وزن لاشه با پلی‌مورفیسم در این ژن ارتباط معنی‌دار گزارش کرده‌اند(۱۱). نتایج این پژوهش نیز نشان می‌دهد چند شکلی در این ژن بر روی برخی صفات لاشه به خصوص ضخامت چربی پشت اثرگذار است که با بسیاری از مطالعات قبلی مطابقت دارد.

جدول ۳- ارتباط ژنوتیپهای مختلف ژن تیروگلوبولین با لاشه بره‌های نر افشاری×برولامرینو.

ژنوتیپ *تعداد هر ژنوتیپ*	*AA* (*n*=۳۷)	*AB* (*n*=۲۵)	*AC* (*n*=۱۱)	*BB* (*n*=۷)	*D-* (*n*=۱۴)	*EE* (*n*=۴)	SEM
عمق عضله دنده ۱۲-۱۳(cm)	۲/۲۳	۲/۴۳	۲/۳۱	۲/۰۹	۲/۳۸	۲/۲۱	۰/۱۵۹
درصد ران	۳۰/۸۹^{ab}	۳۰/۳۳^{ab}	۳۱/۸۴^{b}	۳۲/۸۵^{b}	۳۱/۶۹^{b}	۲۸/۲۵^{a}	۰/۱۴۰
درصدراسته	۱۶/۱۴	۱۵/۹۸	۱۵/۸۶	۱۵/۶۰	۱۶/۰۷	۱۶/۲۸	۰/۷۸۰
درصد سردست	۱۶/۸۷	۱۷/۱۳	۱۶/۲۲	۱۵/۸۷	۱۷/۳۶	۱۷/۲۲	۰/۶۶۰
درصد قلوه‌گاه	۱۶/۴۶^{ab}	۱۶/۶۰^{ab}	۱۶/۶۶^{ab}	۱۵/۰۸^{a}	۱۶/۹۴^{b}	۱۶/۴۱^{ab}	۰/۶۳۴
درصد گردن	۸/۳۸^{ab}	۸/۸۳^{a}	۸/۲۷^{a}	۸/۱۷^{a}	۸/۰۲^{a}	۱۰/۲۷^{b}	۰/۶۶۴
درصد لاشه	۴۳/۵۱	۴۴/۰۰	۴۴/۰۳	۴۲/۷۰	۴۳/۴۰	۴۴/۳۷	۱/۲۰
وزن لاشه(kg)	۲۴/۳۵	۲۶/۱۷	۲۴/۸۲	۲۲/۴۴	۲۵/۸۲	۲۱/۴۷	۱/۷۴
وزن قبل از کشتار(kg)	۵۵/۹۵^{ab}	۵۹/۳۶^{b}	۵۴/۴۵^{ab}	۵۲/۴۰^{ab}	۵۹/۲۵^{b}	۴۸/۲۵^{a}	۳/۴۶

حروف مختلف^{b,a} در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی‌دار(P< ۰/۰۵) است.

در مطالعه گان و همکاران (۲۰۰۸) مشخص شد ارتباط معنی‌داری بین SNPهای G۱۳۳C، G۱۵۶A، C۲۲۰T و A۵۰۶C در ژن TG با اسکور ماربلینگ وجود دارد (۱۲). اما ون‌اننام و همکاران (۲۰۰۷) و همچنین کاسس و همکاران (۲۰۰۵) ارتباط معنی‌داری بین این مارکر و اسکور ماربلینگ پیدا نکردند. در این تحقیقات سایر صفات لاشه ارزیابی نشده بود ممکن است این ژن روی چربی مرمری اثری نداشته اما روی سایر صفات اثرگذار باشند و مدیریت و محیط و نژاد اثر زیادی روی عملکرد این ژن دارند (۸ و ۱۹).

تالر و همکاران (۲۰۰۳) ارتباطی بین چربی بین عضلانی در عضله راسته گاو شاروله آلمان با پلی‌مورفیسم در TG پیدا نکردند. ولی ارتباط معنی‌داری بین TG و ضخامت چربی پشت و سطح مقطع عضله راسته در گاوهای *Bos indicus* پیدا شد به این صورت که حیوانات هتروزیگوت چربی کمتر و سطح مقطع راسته (LMA) کوچکتری نسبت به ژنوتیپ هموزیگوت داشتند (۱۸). در تحقیق حاضر نیز مشخص شد پلی‌مورفیسم در ژن TG و ایجاد ژنوتیپ BB موجب کاهش ضخامت چربی و کاهش عمق عضله راسته خواهد شد. در ژنوتیپ -D بالاترین میزان چربی پشت و به همراه ژنوتیپ AB بالاترین میزان عمق عضله راسته وجود دارد که با گزارش کاسس و همکاران (۲۰۰۵) و تالر و همکاران (۲۰۰۳) مطابقت دارد (۸ و ۱۸). از آنجایی که ژنوتیپ -D موجب افزایش ضخامت چربی پشت می‌شود ممکن است موجب کاهش چربی مرمری گردد زیرا بوترفیلد در مطالعه‌ای که بر روی میشها و بره‌های اخته انجام داد گزارش کرد که نسبت بالاتر چربی زیر پوستی منجر به کمتر شدن چربی داخل ماهیچه‌ای می‌شود(۶).

QTL برای سطح مقطع عضله راسته روی کروموزوم ۱۴ شناسایی نشده است. ریلی و همکاران (۲۰۰۲) گزارش کردند همبستگی ژنتیکی و فنوتیپی بین ضخامت چربی و LMA در گاوهای برهمن به ترتیب ۰/۰۲ و ۰/۱۰ می‌باشد (۱۵). این نشان می‌دهد احتمال آنکه ژنهای یکسانی هر دو را کنترل کنند، بسیار کم است.

رینکر و همکاران (۲۰۰۶) هیچ ارتباط معنی‌داری بین مارکر TG و چربی ماربلینگ، چربی بین عضلانی و ضخامت چربی پشت پیدا نکردند اما بین درصد قطعات لاشه و وزن لاشه با پلی‌مورفیسم در این ژن ارتباط معنی‌دار گزارش کردند (۱۷). به علت آنکه مارکر TG یک مارکر رایج برای بهبود ماربلینگ است. تعیین آنکه آیا اثری روی سایر صفات تولیدی هم دارد، حائز اهمیت است ولی در گزارش کاسس و همکاران (۲۰۰۷) مشخص شد هیچ ارتباطی بین مارکر C۴۲۲T با درصد پروتئین، درصد چربی، درصد استخوان، وزن زنده، افزایش وزن روزانه، وزن لاشه، سطح مقطع عضله راسته و ضخامت چربی پشت وجود ندارد (۸).

TG در گاو یک ژن نسبتاً بزرگ شامل ۴۸ اگزون و بیش از ۲۰۰ کیلوباز ژنوم می‌باشد. ۵۰ قطعه ژنومیکی هر کدام تقریباً یک کیلوباز در گاو شناسایی شده است(۲۰). کاسس و همکاران (۲۰۰۷) بر اساس آللهای با کمترین میزان فراوانی در مطالعات قبلی پنج SNP جدید انتخاب نمونه (۸). آنالیز این پنج SNP نشان داد که هیچ ارتباط معنی-داری با اسکور ماربلینگ ندارد. اما مارکر ۵۵۱ (BV718460) ژن TG با درصد چربی و درصد استخوان و مارکر ۶۶۸ (BV718458) آن با افزایش وزن روزانه و درصد قطعات لاشه و درصد چربی ارتباط معنی‌دار دارد (۲۱). در تحقیق حاضر مشخص شد ژنوتیپهای -D و AB بیشترین وزن زنده و ژنوتیپ EE کمترین وزن زنده و وزن لاشه و بهترین درصد لاشه را دارد که با یافته‌های کاسس و همکاران (۲۰۰۷) همسو است (۸). پیش از این دو مطالعه روی گاوهای Wagyu، QTL را برای وزن زنده و وزن لاشه و نرخ رشد روی کروموزوم ۱۴ شناسایی کرده‌اند اما ارتباط آن با پلی‌مورفیسم TG، یا QTL ماربلینگ مورد بررسی قرار نگرفته است(۱۴ و ۱۵). با توجه به یافته‌های

این پژوهش و پژوهشهای پیشین به نظر می‌رسد که ژن TG می تواند یکی از کاندیداهای مناسب برای بهبود لاشه باشد. به هرحال برای اینکه این ژن بتواند در برنامه‌های اصلاحی نژادی مورد استفاده قرار گیرد تحقیقات بیشتری نیاز است که انجام گیرد.

نتایج این پژوهش نشان می دهد که چند شکلی در ناحیه 5'UTR ژن تیروگلوبولین با ضخامت چربی پشت در گوسفند مرتبط می باشد. ژنوتیپی که بیشترین چربی پشت را داشت (-D) تقریباً از بیشترین عمق عضله راسته نیز برخوردار بود. در عین حال این دامها از وزن دنبه کمتری برخوردار بودند. اما دارای وزن بیشتری از سایر بره‌ها بودند. با توجه به کاهش وزن دنبه انتظار می رود که چربی در بخشهای دیگر بدن دام ذخیره گردد. اما با توجه به اینکه چربی که در پشت ذخیره می شود هیچگاه به اندازه چربی دنبه نمی رسد این ژنوتیپ از دام می تواند برای اصلاح دام و کاهش دنبه مورد استفاده قرار گیرد. البته در مورد ارتباط آللهای مختلف این ژن با خصوصیات لاشه در گوسفند کارهای پژوهشی چندانی انجام نشده است. بنابراین برای اظهار نظر مطمئن‌تر در این مورد همان طور که قبلاً نیز اشاره گردید نیاز به کارهای پژوهشی بیشتر در مورد سایر نژادهای گوسفند و نیز با تعداد نمونه های بیشتر می‌باشد تا شواهد کافی برای صحت به کارگیری نتایج به دست آمده در برنامه های اصلاحی گردآوری شود.

منابع

۱- رحیم طایفه، آ.، حیدری، ف.، قراگزلو، ف.، میرشکرایی،پ.، فرخی، ن.، نیری فسایی، ب. و خضری، ج. ۱۳۹۳. بررسی نقش هورمون GnRH در مراحل مختلف تکوین آزمایشگاهی رویان گاو. مجله پژوهشهای سلولی و مولکولی ۲۷(۲): ۲۲۴-۲۳۲

۲- کمالی سروستانی، آ.، مغنی باشی منصوریه، م.م.، محمدی نژاد، پ.، کهن، ل. و کمالی، ا. ۱۳۹۳. ارتباط پلی مورفیسم G>T 137 در پروموتر ژن Muc6 با افزایش خطر ابتلا به بیماری زخم پپتیک. مجله پژوهشهای سلولی و مولکولی ۲۷(۲): ۲۷۷-۲۸۴.

3- Ailhaud, G., Grimaldi, P. and Negrel, R. 1992. Cellular and molecular aspects of adipose tissue development. Annual review of Nutrition. 12: 207-233.

4- Anton, I., Kovacs, K., Fesus, L., Varhegyi, J., Lehel, L., Hajda, Z., Polgar, J. P., Szabo, F., and Zsolnai, A. 2008. Effect of DGAT1 and TG gene polymorphisms on intramuscular fat and on milk production traits in different cattle breeds in Hungary. Acta Vet. Hung. 56, 181-186

5- Barends, W. 1999. Assessing lipid metabolism. Patent Publication WO9923248. Patent US 6383751. Available at: http:// ep. espacenet. Com.

6- Butter field, R. and Berg, M. 1976. Body composition and location of fat deposition. Journal of Animal Science. 7:151-155.

7- Casas, E., White, S. N., Riley, D. G., Smith, T. P. L., Brenneman, R. A., Olson. T. A., Johnson, D.D., Coleman, S. W., Bennet, G. L. and Chase, C. C. 2005. Assesssment of single nucleotid polymorphisms in genes residing on chromosomes 14 and 29 for association with carcass composition traits in Bos indicuscattle. Journal of Animal Science. 83: 13-19.

8- Casas, E., White, S. N., Shachelford, S. D., Wheeler, T. L., Koohmaraie, M., Bennett, G. L. and Smith, T. P. L. 2007. Assessing the association of single nucleotide polymorphism at the thyroglobuline gene with carcass traits in beef cattle. Journal of AnimalScience.85: 2807-2814.

9- Chuang Han, Y., Zhu Teng, C., Li Hu, Zh. And Chun Song, Y. 2008. An optimal method of DNA silver staining in polyacrylamide gels. Electrophoresis. 29, 1355–1358

10- Dubey, P. K., Goyal, S., Mishra, S. K., Yadav, A. K., Kathiravan, P., Arora, R., Malik, R., and Kataria, R. S. 2015. Association analysis of polymorphism in thyroglobulin gene promoter with milk production traits in riverine buffalo (Bubalus bubalis). Meta Gene 5, 157-161.

11- Fortes, M. R. S., Curi, R. A., Chardulo, l. A., Silveira, A. C., Assumpcao, O. D., Visintin, J. A. and Oliveira, H. N. 2009. Bovine gene polymorphism related to fat deposition and meat tenderness. Genetics and Molecular Biology. 32(1): 75-82.

12- Gan, Q. F., Zhang, L. P., Li, J.Y., Hou, G. Y., Li, H. D., Gao, X., Ren, H.Y. and Chen, J. B. 2008. Association analysis of thyroglobulin gene variants with carcass and meat quality traits in beef cattle. Journal of Applied Genetics. 4: 251-255.

13- Hou, G. Y., Yuan, Z. R., Zhou, H. L., Zhang, L. P., Li, J. Y., Gao, X., Wang, D. J., Gao, H. J., and Xu, S. Z. 2011. Association of thyroglobulin gene variants with carcass and meat quality traits in beef cattle. Mol. Biol. Rep. 38, 4705-4708

14- Mizoguchi, Y., Watanabe, T., Fujinaka, K., Iwamoto, E. and Sugimoto, Y. 2006. Mapping of quantitative trait loci for carcass traits in a Japanese Black (Wagyu) cattle population. Journal of Animal Breeding and Genetics. 37: 51-54.

15- Mizoshita, K., Watanabe, T., Hayashi, H., Kubota, C., Yamakuchi, H., Todoroki, J. and Sugimoto, Y. 2004. Quantitative trait loci analysis for growth and carcass traits in a half-sib family of purebred Japanese Black (Wagyu) cattle. Journal of Animal Science. 82: 3415-3420.

16- Moore, S. S., Li, C., Basarab, J., Snelling, W. M., Kneeland, J., Murdoch, B., Hansen, C. and Benkel, B. 2003. Fine mapping of quantitative trait loci and assessment of positional candidate genes for backfat on bovine chromosome 14 in a commercial line of Bos Taurus. Journal of Animal Science. 81: 1919-1925.

17- Rincker, C. B., Pyatt, N. A., Berger, L. L. and Faulkner,D. B. 2006. Relationship among GenesSTAR marbling marker, intramuscular fat deposition, and expected progeny differences in early weaned Simmental steers. Journal of Animal Science. 84: 686-693.

18-Thaller, G., Kuhn, C., Winte, A., Ewald, G., Bellman, O., Wegner, J., Zuhlke, H. and Fries, R. 2003. DGAT1, a new positional and functional candidate gene for intramuscular fat deposition in cattle. Journal of Animal Breeding and Genetics - Journal Information. 34: 354-357.

19- Van Eenennaam, A. L., Li, J., Thallman, R. M., Quaas, R. L., Dikeman, M. E., Gill, C. A., Franke, D. E. and Thomas, M. G. 2007. Validation of commercial DNA tests for quantitative beef quality traits. Journal of Animal Science. 85: 891-900.

20- White, S. N., Casas, E., Wheeler, T. L., Shackelford, S. D., Koohmaraie, M., Riley, D. G., Chase, C. C., Johnson, D. D., Keele, J. W. and Smith, T. P. L. 2005. A new single nucleotide polymorphism in CAPN1 extends the current tenderness marker test to include cattle of Bos indicus, Bos taurus, and crossbred descent. Journal of Animal Science. 83: 2001-2008.

21- Wood, I. A., Moser, G., Burrell, D. L., Mengersen, K. L. and Hetzel, S. 2006. A meta-analytic assessment of a Thyroglobulin marker for marbling in beef cattle. Genetics Selection Evolution. 38: 479-494.

22- Zhang, L., Ren, H., Yang, J., Gan, Q., Zhao, F., Gao, H., and Li, J. 2015. Effect of thyroglobulin gene polymorphisms on growth, carcass composition and meat quality traits in Chinese beef cattle. Mol. Biol. Rep. 42, 1403-1407

Association of polymorphism in 5' UTR of thyroglobulin gene with carcass traits in Afshari×Booroola Merino cross lambs

Nezamabady M.[1], Harkinezhad T.[1,2], Shahir M.H.[1], Khoramtaei R.[1], Daneshmoghadam L.[1] and Rostamkhani R.[3]

[1] **Animal Science Dept., Faculty of Agriculture, University of Zanjan, I.R. of Iran**

[2] **Research Institute of Modern Biotechnological Techniques, University of Zanjan, I.R. of Iran**

[3] **Jihad-e-Keshvarzi, Zanjan, I.R. of Iran**

Abstract

Tail and other adipose fat comprise a considerable fraction of carcass composition. This study aimed to assess association between polymorphism in thyroglobulin gene (TG) and carcass traits in Afshari× Booroola Merino sheep. To do this, a study was conducted using 97 male lambs at age of 11 month before slaughtering. Blood samples were collected from jugular vein using EDTA-containing venojeckts and thereafter DNA was extracted. Primers were designed based on sequences available for cow. To identify different genotypes SSCP procedure were implicated on PCR products (545 bp). Six different genotypes namely AA, AB, BB, AC, D- and EE were found according to the bands on non-denaturing polyacrylamide gel. There were significant differences between back fat thickness (BFT) among genotypes and BB and D- had the most and least BFT respectively. Among all genotypes, BB had lowest carcass percentage (42.7) and *Longissimus dorsi* muscle diameter (2.09) and live weight in animals of this genotype was also the lowest. In contrast genotype AB had the highest live weight. These results are indicating that TG can be considered as a candidate gene when improvement of the carcass quality is a goal in breeding planes.

Key words: Afshari sheep, Carcass traits, Thyroglobulin, Polymorphism