نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۶، شماره ۱، بهار ۱۳۹۳، ص. ۹۷-۹۲

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 6, No. 1, Spring 2014, p. 92-97

مقایسه چندشکلی‌های تک نوکلئوتیدی جایگاه ژنی Mx در سویه‌های مختلف مرغ بومی، تجاری گوشتی و تخم‌گذار

صدیقه ملک شاهدهی[1*]- سید حسن حافظیان [2]- قدرت رحیمی میانجی[3]- زربخت انصاری[4]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۷/۲۱
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۲/۱۵

چکیده

بیماری آنفلوانزای طیور که از خانواده اورتومیکسوویروس ها می‌باشد از جمله بیماری هایی است که تاثیر مهمی بر دستگاه تنفسی، گوارشی و عصبی پرندگان دارد. در ژن Mx در طیور، نوع اسید آمینه در جایگاه ۶۳۱ فعالیت ضد ویروسی پروتئین های Mx در مقابل ویروس آنفلوآنزا را تعیین می کند. حضور یک چند شکلی تک نوکلئوتیدی A یا G در جایگاه ۲۰۳۲ این ژن باعث تنوع اسید آمینه در موقعیت ۶۳۱ (سرین به آسپاراژین) در پروتئین Mx شده که به ترتیب موجب فعالیت آنتی ویروسی مثبت و منفی می شوند. در مجموع ۲۵۰ نمونه خون به طور تصادفی برای شناسایی چند شکلی‌های آللی در جایگاه ژنی Mx از سویه‌های مرغ تجاری گوشتی، تخم‌گذار و مرغ‌های مولد از ایستگاه اصلاح نژاد مرغ بومی مازندران، فارس و خراسان جمع آوری گردید. استخراج DNA انجام و با استفاده از PCR و آغازگرهای ویژه ژن Mx قطعه ای به طول ۲۹۹ جفت باز از اگزون ۱۳ این جایگاه ژنی تکثیر و از روش PCR-RFLP با هضم آنزیمی محصولات PCR توسط آنزیم برشی Hpy8I برای شناسایی چند شکلی استفاده شد. فراوانی آللی به ترتیب در جمعیت مرغ های بومی ساری (۰/۶۹۲) A و (۰/۳۰۸) G، مرغ بومی شیراز (۰/۵۷۷) A و (۰/۴۲۳) G، مرغ بومی مشهد (۰/۶۰۴) A و (۰/۳۹۶) G، جمعیت مرغ گوشتی نژاد راس (۰/۴۶) A و (۰/۵۴) G و در جمعیت مرغ تخم گذار (۰/۸۶) A و (۰/۱۴) G محاسبه شد. با توجه به مشاهده چند شکلی در موقعیت ۲۰۳۲ ژن Mx و نقش مهم آلل A در مقاومت و آلل G در حساسیت به بیماری آنفلوانزا، احتمالا می توان از این ژن نشانگر در برنامه های اصلاح نژاد استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: آنفلوانزا، چندشکلی، ژن Mx، مرغ بومی، مرغ گوشتی، مرغ تخمگذار

مقدمه

مبانی برنامه های اصلاح نژادی حول محورهای مختلفی از جمله، افزایش کارآیی تولید مثل، تغذیه، رشد و مقاومت در مقابل بیماری ها انجام می پذیرد. مدیریت ژنتیکی بیماری ها به دلیل پیچیدگی آن از اهمیت ویژه ای برخوردار است. بیماری های زیادی در طیور وجود دارند که می توانند ضرر و زیان زیادی به مرغدار تحمیل نمایند. از جمله این بیماری ها که در صنعت طیور اهمیت زیادی دارد، آنفلوانزای طیور می باشد. آنفلوانزای طیور نوعی بیماری ویروسی است که در گونه های مختلف پرندگان باعث ابتلا به بیماری در دستگاه تنفسی، گوارشی و سیستم عصبی ودر موارد بسیار حاد باعث مرگ و میر فوق العاده زیادی خواهد شد. شیوع آنفلوانزای حاد، علاوه بر علایم تنفسی از جمله سرفه، صدای تنفسی، تورم سینوس ها، تولید تخم مرغ را کاهش داده و ممکن است اسهال نیز به همراه داشته باشد. خیز بافت‌های سر و صورت یا علایم عصبی نیز رخ می دهند. بنابراین اجرای پروژه‌های تحقیقاتی به منظور فهم هر چه بیشتر مکانیسم های مرتبط به بروز این بیماری بسیار دارای اهمیت می‌باشد (۱).

سیستم ایمنی نوعی سیستم دفاعی بسیار تخصصی می باشد که روش طبیعی مقاومت در برابر هجوم اولیه بیماری هایی است که به وسیله عوامل عفونی متفاوت نظیر باکتری ها، ویروس ها، قارچ ها و غیره ایجاد می شوند. به طور کلی در مهره داران دو سیستم دفاعی شامل ایمنی ذاتی و ایمنی اکتسابی علیه پاتوژن ها وجود دارد. سیستم ایمنی ذاتی اولین خط دفاعی می باشد که ظرف چند ساعت پس از عفونت پاسخ سریع خود را اعمال می کند (۸). مهمترین سلول های

۱، ۲، ۳ و ۴- به ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، دانشیار، استاد و استادیار گروه علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
(*- نویسنده مسئول: Email: s.malekshahdehi@gmail.com)

سیستم ایمنی لنفوسیت ها می باشند که به سلول های B و T دسته-بندی می شوند. لنفوسیت ها، ماکروفاژها و فیبروبلاست ها سبب ترشح اینترفرون‌ها می شوند. اینترفرون ها پروتئین های کد شده به وسیله‌ی میزبان هستند که روند همانند سازی ویروس ها را مهار کرده و در پاسخ به عفونت ویروسی یا عوامل القا کننده دیگر تولید می‌شوند. این ترکیبات اولین سد دفاعی بدن علیه عفونت های ویروسی هستند. اینترفرون ها ایمنی هومورال و سلولی را مدیریت کرده و اعمال تنظیمی مهمی را برای رشد سلول‌ها انجام می‌دهند (۱۵). ویروس های RNAدار در مقایسه با ویروس های حاویDNA عامل تحریک کننده قویتری برای تولید اینترفرون ها می باشند.

اینترفرون نوع ۱ اولین خط دفاعی قوی برضد عفونت های ویروسی در مهره داران است. IFN-α و IFN-β تحریک کننده های قوی برای بیان پروتئین های آنتی ویروسی می باشد و نقش مهمی در پاسخ ذاتی به عفونت های ویروسی دارند (۱۷).

اینترفرون های نوع ۱ اثرات حفاظتی خود را با بیان ژن های دیگر به نام ژن های ISGs[1]اعمال می کنند. شناخته شده ترین پروتئین های آنتی ویروسی که توسط ISGs کد می شوند، ژن مقاوم به میکسوویروس ها (Mx[2]) می باشد (۶).

ژن Mx یکی از مهمترین ژن های ضد ویروسی تنظیم کننده اینترفرون می باشد و ارتباط مشخصی بین عفونت آنفلوانزا و تحریک بیان Mx وجود دارد (۲). پروتئین Mx جزء خانواده بزرگ GTPase می باشد که در هسته و سیتوپلاسم مکان یابی شده است (۶). این پروتیئن ها در هسته از رونویسی ویروسی با غیر فعال کردن آنزیم پلیمراز ویروسی جلوگیری کرده و در سیتوپلاسم با اتصال اجزای درون سیتوپلاسمی فعالیت آنتی ویروسی خود را انجام می دهد (۵، ۱۲ و ۱۳). در ژن Mx طیور، نوع آمینو اسید موجود در جایگاه ۶۳۱ می‌تواند تعیین کننده فعالیت آنتی ویروسی نسبت به ویروس های آنفولانزا و VSV[3] باشد (۷). پروتئین های Mx که درجایگاه ۶۳۱ خود دارای اسید آمینه آسپاراژین می باشند، فعالیت آنتی ویروسی بیشتری را نسبت به حضوراسید آمینه سرین در این جایگاه نشان می‌دهند. وجود یک SNP درجایگاه نوکلئوتیدی۲۰۳۲ باعث تغییر نوکلئوتید Aبه G و در نتیجه منجر به تغییر اسید آمینه در زنجیره پروتئینی می شود.

انتخاب بر اساس نشانگرهای ژنتیکی یکی از راهکارهای موثر در اصلاح نژاد است که منجر به افزایش تولید می‌گردد. با توجه به پیشرفت شایان توجه تکنیک‌های ژنتیک ملکولی و اهمیت بسزای آن در طراحی برنامه‌های اصلاحی، نیاز به انجام بررسی‌های ملکولی خصوصاً در برنامه‌های انتخاب به کمک نشانگرهای ژنتیکی MAS[4] بیش از پیش احساس می‌شود. در این راستا استفاده از تکنیک-PCR RFLP[5] به منظور شناسایی SNP[6] ها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار می‌باشد (۴). با توجه به اهمیت بیماری آنفلوانزا مرغی در صنعت طیور در این پژوهش سعی شده است تا مقدار حساسیت و مقاومت طیور به این بیماریدر سویه های مختلف مرغ از طریق شناسایی آللهای مورد نظر در جایگاه ژن Mx موردارزیابی قرار گیرد.

1-Interferon-stimulated genes
2-Myxovirus Resistance
3-Vesicular Stomatitis Viruse

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه‌های خون

در این پژوهش در مجموع از ۲۵۰ قطعه مرغ از جمعیت های مختلف مرغ بومی شامل مرغ های بومی مازندران، فارس و خراسان و نیز مرغ های گوشتی و تخم‌گذار تجاری (۵۰ قطعه به ازای هر جمعیت) انتخاب و از هر پرنده مقدار ۲-۱ میلی لیتر خون ازورید زیر جمع آوری گردید. برای جلوگیری از انعقاد خون از محلول EDTA[7]به مقدار ۲ میلی مولار به نسبت ۱ به ۱۰ استفاده شد. نمونه‌ها بلافاصله بعد از شماره گذاری با حفظ شرایط زنجیره سرد به آزمایشگاه منتقل و در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد تا زمان استخراج DNA نگهداری شدند.

استخراج DNA و واکنش زنجیره‌ای پلیمراز

استخراج DNA به روش نمکی بهینه[8] یافته انجام و جهت تکثیر قطعه مورد نظر شامل ۱۴ اگزون از یک جفت آغازگر اختصاصی (۱۷) استفاده شد (جدول ۱).

جدول ۱- توالی آغازگرهای اختصاصی مورد استفاده برای تکثیر ژن مورد نظر

ژن	توالی آغازگر ('۳..'۵)	اندازه قطعه تکثیری
Mx	F: GCACTGTCACCTCTTAATAGA R: GTATTGGTAGGCTTTGTTGA	۲۹۹

به منظور تعیین چند شکلی ژن مورد نظر در این آزمایش از تکنیک PCR-RFLP و برای جداسازی آلل های مختلف از آنزیم اختصاصی Hpy8I استفاده گردید. واکنش PCR درحجم نهایی ۲۵ میکرولیترشامل ۱۰۰-۵۰ نانوگرم DNA ژنومی، ۰/۷۵ میکرولیتر

4- Marker Assisted Selection
5- PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism
6- Single Nucleotide Polymorphism
7- Ethylene diamin tetra acetic acid disodium salt
8- Salting out

$MgCl_2$ با غلظت ۵۰ میلی مولار، ۲/۵ میکرولیتر بافر (10X) PCR، ۱/۲۵ میکرولیتر ازهر یک از آغازگرهای رفت و برگشت با غلظت ۱۰ پیکو مول، ۰/۵ میکرولیتر dNTPs ۱۰میلی مولار و یک واحد آنزیم Taq پلیمرازکه در نهایت با آب مقطر به حجم ۲۵ میکرولیتر رسید، انجام گرفت. شرایط زمانی و حرارتی زیر به منظور تکثیر ژن مورد مطالعه بکار گرفته شد: واسرشته سازی اولیه ۹۵°C به مدت۵ دقیقه، و ۳۵ چرخه شامل واسرشته سازی ثانویه در ۹۴°C به مدت ۶۰ثانیه، دمای اتصال آغازگرها ۶۲°Cبه مدت ۸۰ ثانیه و دمای تکثیر ۷۲°C به مدت ۹۰ ثانیه و یک دمای تکثیر نهایی ۷۲°C به مدت۵ دقیقه استفاده گردید.

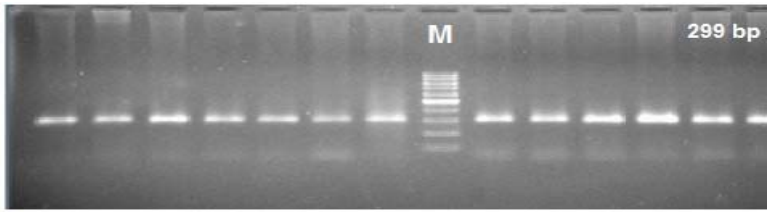
آنالیز RFLP

برای شناسایی چند شکلی موجود در ژن Mx ازآنزیم اختصاصی Hpy8I استفاده شد. برای انجام هضم آنزیمی، حجم پایانی واکنش ۵ میکرولیتر تعیین شد که به مقدار ۲/۵ میکرولیتر محصول PCR ، ۰/۰۸ میکرولیتر از هر کدام از آنزیم‌ها در واکنش‌های مختلف، ۰/۵ میکرولیتر بافر آنزیم و ۱/۲ میکرولیتر، آب مقطر دو بار تقطیر بدون یون استفاده گردید. بعد از تیمار آنزیمی، وجود یک قطعه ۲۹۹ جفت بازی به دلیل عدم برش آنزیم ژنوتیپ هموزیگوت AA، وجود دو قطعه ۲۰۰ و ۹۹ جفت بازی ژنوتیپ هموزیگوت GG و برای ژنوتیپ هتروزیگوت AGسه قطعه ۲۹۹، ۲۰۰ و ۹۹ جفت بازی و همچنین شناسایی ژنوتیپ ها از طریق مشاهده مستقیم باند ها روی ژل پلی اکریل آمید ۱۲٪ و رنگ آمیزی توسط نیترات نقره انجام شد. فراوانی ژنی و ژنوتیپی با شمارش مستقیم باندها از روی ژل و مقایسه فراوانی ژنی و ژنوتیپی در جایگاه مورد مطالعه بین سویه‌های مختلف مرغ- توسط آزمون های دقیق فیشر و کای – مربع انجام گرفت.

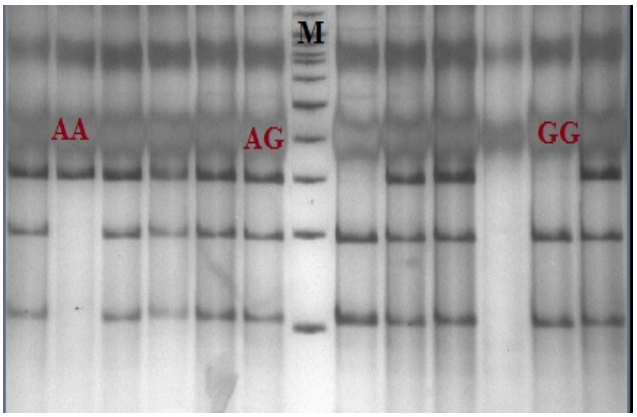
نتایج و بحث

جهت انجام آنالیز چند شکلی نشانگر RFLP که به اندازه ۲۹۹ جفت باز طول داشته است توسط دستگاه PCRو آغازگر اختصاصی تکثیر شد. برای اطمینان از صحت قطعه تکثیر شده، از الکتروفورز ژل آگارز۲ %استفاده گردید. نمونهای از الکتروفورز محصول PCR در شکل ۱ نشان داده شده است.

آنزیم HPY8I دارای یک محل برش روی محصول PCR در این جایگاه بوده که در نتیجه عمل هضم ۲ قطعه با اندازه‌های ۲۰۰ و ۹۹ جفت باز را ایجاد می‌کند. پس از هضم محصول PCR توسط آنزیم HPY8I قطعات هضم مورد شناسایی و بررسی قرار گرفتند. مطالعه الگوی باندی مشاهده شده در الکتروفورز پس از هضم آنزیمی ژنوتیپ‌های متفاوتی را برای این ناحیه نشان داد. به طوری که یک قطعه ۲۹۹ جفت بازی برای ژنوتیپ هموزیگوت AA، دو قطعه ۲۰۰ و ۹۹ جفت بازی برای ژنوتیپ هموزیگوت GG و سه قطعه ۲۹۹، ۲۰۰ و ۹۹ جفت بازی برای ژنوتیپ هتروزیگوت AG شناسایی شد (شکل ۲).



شکل۱- نمونه ای از باندهای حاصل از تکثیر ژن Mx. M: خط کش مولکولی SM۰۳۳۱



شکل ۲- الکتروفورز محصولات حاصل از هضم توسط آنزیم *HPY8I* . M: خط کش مولکولی SM۰۳۳۱

جدول۲- برآورد و مقایسه فراوانی ژنی جایگاه Mx در سویه های مختلف

	فراوانی			سطح احتمال			
نژاد	تعداد	آلل A	آلل G	بومی ساری	بومی شیراز	بومی مشهد	تخم گذار	گوشتی
بومی ساری	۵۰	۶۹/۲	۳۰/۸	-----	۵/۷۲	۸/۸	۰/۰۰۲	۰/۰۸
بومی شیراز	۵۲	۵۷/۷	۴۲/۳	۵/۷۲	-----	۰/۱	۲/۸۴	۰/۰۸
بومی مشهد	۴۸	۶۰/۴	۳۹/۶	۸/۸	۰/۱	-----	۳/۱۴	۰/۰۱
تخم گذار	۵۰	۸۶	۱۴	۰/۰۰۲	۲/۸۴	۳/۱۴	-----	۱/۱۴
گوشتی	۵۰	۴۶	۵۴	۰/۰۸	۰/۰۸	۰/۰۱	۱/۱۴	-----

جدول ۳- برآورد و مقایسه فراوانی ژنوتیپی جایگاه Mx در سویه های مختلف

	فراوانی			سطح احتمال			
نژاد	AA	AG	GG	بومی ساری	بومی شیراز	بومی مشهد	تخم گذار	گوشتی
بومی ساری	۲۵	۲۲	۵	-----	۰/۲۳	۰/۱۸	۰/۰۱۸	۰/۰۰۱
بومی شیراز	۱۸	۲۴	۱۰	۰/۲۳	-----	۰/۴۲	۰/۰۰۰۱	۰/۰۴۸
بومی مشهد	۱۱	۱۶	۲۱	۰/۱۸	۰/۴۲	-----	۰/۰۰۰۵	۰/۱۸
تخم گذار	۳۶	۱۴	۰	۰/۰۱۸	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۵	-----	۰/۰۰۰۱
گوشتی	۱۶	۱۴	۲۰	۰/۰۰۱	/۰۴۸	۰/۱۸	۰/۰۰۰۱	----

بر آورد و مقایسه فراوانی ژنی و ژنوتیپی

برآورد فراوانی آللی برای هر یک از سویه ها در جدول ۲ نشان داده شده است. برای مقایسه فراوانی آللی از آزمون فیشر استفاده گردید. در مطالعه حاضر، بین جمعیت های مرغ بومی ساری و مرغ تجاری تخم گذار، همچنین مرغ بومی مشهد و مرغ تجاری گوشتی اختلاف معنی داری وجود داشت ($p<۰/۰۵$). به دلیل نزدیک بودن فراوانی آللی بین جمعیت های مرغ بومی، اختلاف معنی داری بین این جمعیت ها مشاهده نشد (جدول ۲).

برای مقایسه فراوانی ژنوتیپی بین جمعیت های مورد مطالعه از آزمون کای اسکور استفاده شد. در فراوانی ژنوتیپی بین جمعیت مرغ تجاری تخم گذار و تجاری گوشتی، مرغ بومی ساری، شیراز و مشهد اختلاف معنی داری وجود دارد ($P<۰/۰۱$). بین سویه گوشتی و مرغ بومی ساری نیز اختلاف معنی داری وجود داشت. اما در مقایسه فراوانی ژنوتیپی بین جمعیت های بومی، اختلاف معنی داری بین این سه جمعیت مشاهده نشد (جدول ۳).

پروتئین Mx جزء خانواده بزرگ GTPaseمی باشد که هم در هسته و هم سیتوپلاسم مکان یابی شده است (۶). سلول ها به سرعت به عفونت آنفلوانزا با تولید اینترفرون ها در داخل سلول عفونی که برای تحریک بیان Mxلازم است پاسخ می دهند. به این ترتیب، سیستم اینترفرون با شرکت در محدود کردن گسترش ویروسی از راه فعال سازی سلول های B و T موجب ایمنی می شود. بیان ژن Mxهنگامی آغاز می شود که اینترفرون به گیرنده اش متصل شده و طی مراحلی از جمله فسفریلاسیون پروتئین و فعال سازی عوامل رونویسی موجود در هسته شروع شود (۹).

در تحقیقی، ژن Mx در ۱۴ لاین جوجه که دارای تنوع ژنتیکی بودند، توسط PCR تکثیر و توالی یابی شده و گزارش شد که ۶ لاین دارای آلل G (آمینو اسید سرین در جایگاه ۶۳۱) بودند که پیش بینی شد این لاین ها مستعدتر به ویروس آنفولانزا نوع A می باشند. در صورتیکه ۷ لاین دیگر دارای آلل A (آمینو اسید آسپارژین) بودند که نسبت به عفونت ویروسی مقاومت بیشتری داشتند (۱۱).

در جمعیت های بومی بالاترین فراوانی مربوط به ژنوتیپ مقاوم AA بود که با نتایج لی و همکاران (۱۰) مطابقت داشت. آن ها در پژوهشی که روی ۱۵ نژاد بومی و ۴ نژاد تجاری انجام دادند در مجموع در بین این نژاد ها ۳ ژنوتیپ AA، AG و GG شناسایی نمودند که فراوانی آلل A در نژادهای بومی۰/۷۲۴۱ تا ۰/۹۵۵۴و در نژادهای تجاری ۰/۰۵۶۵ تا ۰/۲۷۴۲ متغیر بود. همچنین مرغ بومی این جمعیت نسبت به سویه تجاری از مقاومت بالاتری برخوردار بود و جمعیت های دارای ژنوتیپ GG نسبت به این بیماری حساس تر بودند. مقاومت به بیماریها یک ویژگی پلی ژنی است که حاصل عملکرد مجموعه متنوعی از ژنها است و نمی توان آن را به تنهایی به بالا بودن فراوانی در یک ژنوتیپ نسبت داد. چنانکه در نتایج این پژوهش هم دیده می شود فراوانی آلل مقاوم در سویه تجاری تخمگذار از لاینهای بومی بسیار بیشتر بوده است اما بر این اساس نمی توان نتیجه گرفت که مقاومت در این لاینهای تجاری بالاتر است. در جمعیت مرغ تجاری گوشتی همانند جمعیت های بومی سه ژنوتیپ مشاهده شد. فراوانی آلل های A و G به ترتیب ۴۶ و ۵۴ درصد تخمین زده شد. بالاترین فراوانی مربوط به آلل حساس G و ژنوتیپ GG بوده است که با تحقیق بالکیسون و همکاران (۳) که در

سال ۲۰۰۷ انجام گرفت، مطابقت دارد. با این تفاوت کـه در پـژوهش این محققین ژنوتیپ GGتثبیت شـده بـود و فراوانـی آلـل G در ایـن جمعیت یک بود، اما در جمعیت ما فراوانـی آلـل G حـدود ۵۴ درصـد محاسبه شد. همچنین در مـرغ اجـداد گوشـتی در تحقیـق بالکیـسون فراوانی آلل A بسیار پایین بود. آن ها نشان دادنـد کـه فراوانـی آلـل مستعد به بیماری آنفولانزا در لاین های تیپ گوشتی بـسیار بیـشتر از لاین های تخم‌گذار و مرغ اجداد تخم گذار است کـه بـا نتـایج مـا در تحقیق حاضر مطابقت دارد. مطالعه حاضردر جمعیت مرغ تخم گذار دو ژنوتیپ AA و AG مشاهده شد. فراوانی آلل A و G به ترتیـب ۸۶ و ۱۴ درصد برآورد شد که نشان می دهد جمعیـت مـرغ تخـم گـذار در مقایسه با دیگر جمعیت ها باید از مقاومت بالاتری برخوردار باشد کـه با نتایج بالکیسون و همکاران (۳) مطابقـت دارد. در ایـن پـژوهش دو ژنوتیپ AA و AG مشاهده گردید و فراوانی آلل مقاوم A ۹۵ درصـد بوده است که نشان می دهـد جمعیـت مـورد مطالعـه ایـن تحقیـق از مقاومت بالایی برخوردار است. در جمعیت مورد مطالعه ما نیز، فراوانی آلل مقاوم مانند پژوهش بالکیسون به سمت یک تمایـل نـشان داد. از دلایل عدم مشاهده ژنوتیپ حساس GG کافی نبودن تعداد نمونه هـا می باشد. اما در پژوهش ایکسیانگیون و همکاران (۱۷) برخلاف نتایج ما در جمعیت مرغ تخم گذار سه الگوی باندی مشاهده شد و فراوانـی ژنوتیپ حساس GG بالاترین فراوانی را در بین ژنوتیپ ها داشـت. در این پژوهش فراوانی ژنوتیپ های AA، AG و GG به ترتیـب ۱۴/۷، ۹/۵ و ۷۵/۸ درصـد و فراوانـی آلـل A و G را بـه ترتیـب ۰/۱۹۵ و ۰/۸۰۵ محاسبه شد. این اختلافات ممکن اسـت بـه دلیـل تفـاوت در انحراف ژنی در جمعیت های منـاطق مختلـف و یـا سـطوح مختلـف انتخاب باشد. بالکیسون و همکاران (۳) وجود جایگاه های مربـوط بـه صفات تولیدی روی کروموزوم شماره یک و نزدیکی این جایگاه ها بـا جایگاه Mx را علت این تفاوت ذکر کردند. همچنین در پژوهش لی و همکاران (۱۰) مقدار فراوانی آلل مقـاوم A در نـژاد تجـاری گوشـتی، ۰/۰۵۶۵ تا ۰/۲۷۴۲ و وفـور آلـل حـساس G را ۰/۹۴۳۵ تـا ۰/۷۲۵۸ گزارش شد. در این پژوهش همانند نتایج ما، مقدار وفور آلـل حـساس G بسیار بیشتر از آلل مقاوم A بود.

ایکسیانگیون و همکاران (۱۷) بیان کردنـد کـه از دلایـل ممکـن برای اختلاف بین فراوانی آللی در جمعیت های بـومی و لایـن هـای تجاری گوشتی و تخمگذار انتخاب طبیعی بوده کـه مـسئول فراوانـی بالای آلل مقاوم در جمعیت های مرغ بومی می باشد. در لایـن هـای تجاری هدف انتخاب بهبود صـفات تولیـدی هماننـد افـزایش رشـد و افزایش تولید تخم مرغ می باشد و به علت وجود همبستگی منفی بین صفات تولیدی و مقاومت به بیماری ها، با بهبود این صفات اقتـصادی میزان مقاومت بیماری ها کاهش می یابد. سارتیکا و همکاران در سال ۲۰۱۰ پژوهشی را روی صفات تولیدی مرغان بومی از جمله وزن تخم مرغ، سن، میزان تولید تخم مرغ انجام دادند. که در این مطالعه نمونـه های دارای ژنوتیپ مـستعد بـه بیمـاری آنفلـوانزا رانـدمان بهتـری در صفات تولیدی نسبت به ژنوتیپ مقاوم به بیماری نشان دادند. هـالا و همکاران در سال ۱۹۹۱ بیان کردند که جوجه هـای مـرغ بـا سـرعت رشد بالا و بوقلمون ها از ایمنی پایینی در برابر عفونت های ویروسـی برخوردارند که می تواند علت حساسیت بالا جمعیت مرغ گوشـتی بـه ویروس آنفلوانزا و آبسه های مخاط دهانی باشد سـارتیکا و همکـاران (۱۴) در سال ۲۰۱۱ پژوهشی را روی صفات تولیدی مرغـان بـومی از جمله وزن تخم مرغ، سن، وزن مـرغ در اولـین تخمگـذاری و میـزان تخم مرغ انجام دادند. این بررسی نشان داد نمونه های دارای ژنوتیپ مستعد به بیماری آنفلوانزا به نمونه های دارای ژنوتیپ مقاوم رانـدمان بهتری در صفات تولیدی دارند.

تغییر در موقعیت نوکلوتیدی ۲۰۳۲ درژن Mx باعث تبدیل اسـید آمینه سـرین بـه آسـپاراژین مـی شـود و مقاومـت طیـور نـسبت بـه بیماری‌های ویروسی از جمله آنفلـوانزا را افـزایش مـی دهـد. در ایـن پژوهش بیشترین فراوانی آللی مرتبط با حساسیت به بیماری (آلل G) در جمعیت مرغ گوشتی و بالاترین فراوانی آللی مرتبط یا مقاومـت بـه بیماری آلل (A) در جمعیت مرغ تخم گذار و جمعیت های مرغ بـومی مشاهده شد. بیشترین فراوانی آلـل مقـاوم A در بـین جمعیـت هـای مرغ‌های بومی مورد مطالعه به ترتیب مربوط به ساری، شیراز و مشهد بوده است. لذا به نظر می رسد انجام برنامه های اصلاح نژاد از طریـق حذف تدریجی آلل های با حساسیت بالا برای کنترل بیماری آنفلـوانزا امکان پذیر است.

نتیجه گیری

در پژوهشی که انجام شد شناسایی جایگاه ژنی پروتئین Mx کـه یکی از جایگاه های مـارکری در ارتبـاط بـا میـزان مقاومـت در برابـر بیماری ویروسی آنفلوانزای طیـور مـی باشـد در مـرغ هـای ایـستگاه اصلاح نژاد مرغ بومی یزد و اصفهان مورد بررسی قرار گرفت. در ایـن تحقیق بالاترین وفور آللی مشاهده شده یرای در هر دو جمعیت مـورد مطالعه، آلل مقاوم A بوده است. با توجه به نقش این جایگـاه ژنـی در افزایش مقاومت و یا حساسیت به بیماری هـای ویروسـی، در صـورت انجام این تحقیق در مقیاس بزرگتر شاید بتوان در برنامه های اصـلاح نژاد مرتبط به مرغ های بومی کشوراز این جایگاه بـه عنـوان نـشانگر ژنتیکی موثر استفاده نمود.

منابع

۱- فرخوی، م. خلیقی سیگارودی و نیک نفس، ف. ۱۳۸۷. راهنمای کامل پرورش طیور. انتشارات شرکت پژوهش وتوسعه کشاورزی کوثر، ۹۱۵صفحه.

2- Arnheiter, H. and E. Meier. 1990. Mx proteins: antiviral proteins by chance or by necessity? New Biol. 2: 851-7.

3- Balkissoon, D., K. Staines., M. J. Cauley., J. Wood., J. Young., J. Kaufman and C. Butter. 2007. Low frequency of the Mx allele for viral resistance predates recent intensive selection in domestic chickens. Immunogenetics, 59: 687-691.

4- Beccavin, C., B. Chevalier, L. A. Cogburn, J. Simon and M. J. Duclos. 2001. Insulin-like growth factors and body growth in chickens divergently selected for high or low growth rate. J. Endocrinol. 168: 297-306.

5- Haller, O. and G. Kochs. 2002. Interferon-indused mx proteins: dynamic-like GTPase with antiviral activity. J. Traffic. 10: 710-717.

6- Haller, O., G. Koechs, and F. Weber. 2007. Interferon, Mx, and viral countermeasures, Cytokine Growth Factor. Rev. 18:425-433.

7- Ko, J. H. and H. K. Jin. 2002. Polymorphisms and the differential antiviral activity of the chicken Mx gene. Genome Res. 12: 595-601.

8- Lee, S. H. and S. M. Vidal. 2002. "Functional diversity of Mx proteins: variations on a theme of host resistance to infection. Genome Res. 12: 527-30.

9- Levy, D. 1995. Interferon induction of gene expression through the Jak-Stat pathway. Seminars in Virology. 6: 181-188.

10- Li, X. Y., L. J. Qu., J. F. Yao, and N. Yang. 2006. Skewed allele of an Mx gene mutation with potential resistance to Avian Influenza Virus in Different Chicken Populations. Poultry Science, 85: 1327-1329.

11- Michael Kaiser, G., J. Susan Lamont, F. Charles. 2008. Genetic Diversity of the antiviral Mx gene in 14 chicken lines. Iowa State University Animal Industry.

12- Pavlovic, J., O. Haller., and P. Staeheli. 1992. Human and mouse Mx proteins inhibit different step of the influenza virus multiplication cycle. J. Virol. 66: 2564-2569.

13- Salomon, R., P. Staheli., G. Kochs., H. L. Yen., J. Franks., J. E. Rehg, R. G. Webster and E. Hoffmann. 2007. Mx1gene protects mice against the highly lethal human H5N1 influenza virus. Cell Cycle, 6: 2417-2421.

14- Sartika, T., S. Sulandari and M. Symsul. 2011.Selection of Mx gene genotype marker for Avian influenza resistance in Indonesian native chicken. BMC Proceedings, 5(Suppl 4):S37

15- Seung H, L., and Silvia, M.V. 2002. Functional diversity of Mx Proteins: Variations on a Theme of Host Resistance to Infection. Genome Research, 12: 527-530.

16- Sironi L, J. L. Williams, A. M. Moreno-Martin, P. Ramelli, A. Stella, H. Jianlin, S. Weigend, G. Lombardi, P. Cordioli, and P. Mariani. 2008. Susceptibility of different chicken lines to H7 N1 highly pathogenic avian influenza virus and the role of Mx gene polymorphism coding amino acid position . Virology, 380: 152-156.

17- Xiangun, Ye., Z. Ten., Y. Zhang, and K. Li. 2010. Single nucleotide polymorphisms in the chicken Mx gene at position 2032 by Real-time Allele PCR Melting-curve Analysis. Journal of Poultry Science, 47: 133-138.