

مقایسه شترهای تک کوهانه و دوکوهانه ایران بر اساس ژن MYF5 مرتبط با صفات رشد Comparison of Iranian One and Two Humped Camels Based on MYF5 Gene Associated with Growth Traits

نعمت هدایت ایوریق^{۱*}، سیدرضا میرایی آشتیانی^۲ و محمد مرادی شهربابک^۲

تاریخ دریافت: ۹۱/۳/۲۱

تاریخ پذیرش: ۹۱/۱۰/۲

چکیده

تردی گوشت یکی از صفات مهم در صنعت تولید گوشت و یکی از خصوصیات مهم از نظر مصرف کننده می باشد. ژن میوژنیک فاکتور ۵ (MYF5) نقش کلیدی تنظیم کننده در تشکیل و توسعه ماهیچه اسکلتی ایفا می کند و به عنوان یک ژن کاندیدا در صفات مرتبط با رشد و کیفیت گوشت به شمار می رود. در این پژوهش از تعداد ۴۰ نفر شتر دوکوهانه و ۱۴۰ نفر از سه جمعیت مختلف شتر تک کوهانه به صورت تصادفی خونگیری به عمل آمد. برای تعیین تنوع ژنتیکی در آگزون ۱ ژن MYF5 از روش PCR-SSCP استفاده شد و چهار الگوی متفاوت مشاهده گردید. توالی یابی در موقعیت های ۹۹ و ۳۶۷ جهش را نشان داد که به ترتیب تغییر نوکلئوتید A به G و G به A را موجب می شود و باعث ایجاد چهار هاپلوتایپ که مرتبط با چهار الگوی متفاوت بودند، می شود. همچنین فاصله ژنتیکی نشان داد که شترهای دوکوهانه نسبت به جمعیت های دیگر شترهای تک کوهانه دارای فاصله ژنتیکی بیشتری می باشند.

واژه های کلیدی: شترهای تک کوهانه، شترهای دوکوهانه، فاصله ژنتیکی، PCR-SSCP

۱. دانشجوی دکتری گروه علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج

۲. استادان گروه علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج

* نویسنده مسئول Email: Hedayatuma@gmail.com

اطلاعات باعث بهبود صحت انتخاب و به دنبال آن باعث افزایش پاسخ به انتخاب می‌شوند (Beuzen et al. 2000).

اگر چه حفظ تنوع ژنتیکی خود یکی از اهداف مهم اصلاح نژاد است اما واقعیت این است که دامداران و پرورش‌دهندگان به دنبال افزایش سود و پرورش دام‌های پر بازده می‌باشند. در صورتی که صفات اقتصادی در دام‌های کم بازده توسعه و بهبود نیابد، احتمال رو آوردن پرورش‌دهندگان به گونه‌های پر بازده بیشتر می‌شود و در این شرایط دام‌هایی مانند شتر در خطر از بین رفتن قرار می‌گیرند. به کار بردن روش کلاسیک اصلاح نژاد علاوه بر نیاز به اطلاعات وسیع برای شتر که دارای فاصله نسل طولانی است با کندی همراه است. یکی از روش‌های توسعه سریعتر و دقیقتر استفاده از نشانگرهای مولکولی از جمله یافتن چندشکلی‌های تک‌نوکلئوتیدی (SNPs) مرتبط با صفت است. از طریق شناسایی SNP‌های مرتبط با صفات و انتخاب آنها ممکن است بتوان سریعتر به اهداف مربوطه رسید. لذا وجود تنوع تک-نوکلئوتیدی در جایگاه ژنی مرتبط با صفت اقتصادی رشد و افزایش گوشت می‌تواند در انتخاب برای سودمندی شتر استفاده شود (Heifetz et al. 2005).

روش ژن‌های کاندیدا یک روش مؤثر برای پیدا کردن QTL است که با تنوع ایجاد شده در صفات مورد نظر ارتباط دارد (Linville et al. 2001). با این توضیحات می‌توان انتظار داشت ژنتیک مولکولی می‌تواند به عنوان ابزار سودمندی برای اصلاح و بهبود شتر در آینده مورد استفاده قرار بگیرد.

تشخیص شروع میوژنیزاس اسکلتی بوسیله بیان فاکتورهای میوژنیک (MYF) و به‌طور قابل توجه‌تر MYF5 و MyoD، عضوی از خانواده دارای دومن هلیکس-لوپ-هلیکس (Helix-Loop-Helix) است. خانواده ژن MyoD در ۴ ساختار ژنی مربوط به ژن‌های MYOD1، MYF3، MYF5، MYF6، MRF4 (MRF4) و MYOG (میوژنین) می‌باشد (TePas & Visscher, 1994). فاکتورهای میوژنیک ۵ و ۶ در شروع و توسعه ماهیچه اسکلتی و نگهداری فنوتیپ‌ها نقش جدایی ناپذیری را دارند. بنابراین آنها ژن‌های کاندیدا برای صفات مرتبط با رشد و کیفیت گوشت می‌باشند (Maak et al. 2006). در پستانداران ژن MYF5 دارای سه اگزون و دو اینترون می‌باشد که در خوک به طول ۳۶۸۰ جفت باز، شامل اگزون‌های ۱، ۲ و ۳ به ترتیب ۶۶۶، ۷۶ و ۷۹۲ جفت باز و اینترون ۱ و ۲ به ترتیب ۸۰۸ و ۴۱۶ جفت باز هستند (Sajee et al. 2009).

منابع ژنتیکی شتر در ایران بیشتر از نوع شتر تک‌کوهانه (*Camelus dromedarius*) است و به تعداد خیلی کم شترهای دوکوهانه (*Camelus bactrianus*) نیز در استان اردبیل وجود دارد و بر اساس اطلاعات موجود به دلیل عدم توجه به این دام، تعداد آنها در حال کاهش می‌باشد که در واقع یک جمعیت در معرض انقراض به حساب می‌آید (ابرعانی و همکاران، ۱۳۸۹).

یکی از راه‌های بهره‌برداری صحیح از امکانات موجود در مناطق کویری و بیابانی که برای فعالیت‌های کشاورزی مانند زراعت، باغبانی و نیز پرورش گاو، گوسفند و طیور چندان مناسب نیستند، نگهداری و پرورش شتر است. پرورش شتر در این مناطق از نظر اقتصادی، اکولوژیکی، اجتماعی و حتی فرهنگی اهمیت زیادی دارد و با توجه به تقاضای فراوان برای تولید گوشت و شیر، نیاز به حفظ و احیا این دام کاملاً احساس می‌شود. روش عمده نگهداری شتر در ایران روش سنتی است که در این روش شترها به صورت آزاد در سطح مراتع رها می‌شوند (مقدس، ۱۳۷۶).

تولیدات و خدمات شتر شامل پشم، گوشت، شیر، حمل و نقل می‌باشد. کاربرد اصلی شتر در قدیم استفاده آن به عنوان وسیله حمل و نقل بود که با ورود فناوری و وسایل حمل‌ونقل جدید امروزه دیگر کمتر از شتر برای این هدف استفاده می‌شود. در سال‌های اخیر علاوه بر استفاده از شتر به عنوان یک فعالیت کشاورزی در نواحی خشک برای تولید گوشت و شیر، کاربرد آن در اکوتوریسم در جهان افزایش یافته است.

یکی از بهترین راه‌های حفظ دام‌ها و تنوع زیستی ترغیب دامداران برای پرورش دام مورد نظر است. پرورش دام مورد نظر بایستی اقتصادی باشد که دامدار به پرورش آن راغب باشد. به همین خاطر بایستی بهبود صفات اقتصادی در دام‌هایی مانند شتر مورد توجه قرار گرفته و ترویج شود (Oldenbroek, 2007).

بیشتر صفات اقتصادی در حیوانات بوسیله تعداد نسبتاً زیادی ژن با اثرات کوچک کنترل می‌شود (Deeb & Jamont, 2002). در سال‌های اخیر پیشرفت‌های ژنتیک مولکولی منجر به شناسایی تعداد زیادی نشانگرهای ژنتیکی در صفات مختلف شده است. توانایی بررسی نواحی ژنومی امکان شناسایی نشانگرهای مرتبط با QTL (جایگاه مربوط به صفات کمی) مؤثر بر تنوع صفات کمی مهم و اقتصادی را فراهم می‌کند. لذا می‌توان از نشانگرهای مرتبط با QTLها در انتخاب استفاده کرد و این

(شکل ۱) از پرایمرهای زیر که از مقاله Shah et al. 2007 اقتباس شده است، استفاده گردید.

Foreward: 5'-TGCCAGTTCCTCGCCCTCTGAFT-3'
Backward: 5'-TATAGTAGTTTTCCACCTGTTCC-3'

برنامه حرارتی برای تکثیر ژن MYF5 به ترتیب؛ دمای واسرشت شدن اولیه ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، ۳۵ سیکل دمای واسرشت ۹۴ درجه سانتی‌گراد برای ۱ دقیقه، اتصال پرایمرها ۵۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵۰ ثانیه، تکثیر قطعه مورد نظر ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه و یک سیکل دمای تکثیر نهایی ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد. غلظت مواد مورد استفاده برای انجام واکنش PCR به ترتیب $MgCl_2$ (1.6 μL) بافر (2.5 μ) 10X PCR، dNTP (0.16 μL)، پرایمرها (18 pm)، Taq DNA Polymerase (1.25 unit)، DNA ژنومی (1.5 μL) و مابقی را تا رسیدن به ۲۵ μL از آب مقطر استفاده شد.

تعیین ژنوتیپ محصولات PCR با استفاده از روش SSCP (Single-Strand Conformational Polymorphism) انجام شد. ۱۲ میکرولیتر محلول دای (98% formamide، 10 mM EDTA، 0.025% bromophenol blue، 0.025% xylene cyanol) را با ۵ میکرولیتر محصول PCR مخلوط شد. سپس در ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده و بعد از آن سریع در یخ سرد کردیم. بعد نمونه‌ها در ژل آکریل‌آمید ۱۱ درصد به طول ۱۶ سانتی‌متر بارگذاری شد. رنگ‌آمیزی ژل به روش نیترات نقره انجام گردید.

توالی‌یابی جایگاه MYF5 و آنالیز توالی‌ها

بعد از تکثیر جایگاه اگزون ۱ ژن MYF5 از ۱۰ نمونه شتر دوکوهانه از استان اردبیل (از هر الگو ۲ یا ۳ نمونه) و ۱۰ نمونه از شتر تک‌کوهانه ایستگاه‌های یزد، طرود و گله مردمی در روستای طرود از الگوهای متفاوت (از هر الگو یک نمونه) جهت بررسی تنوع موجود در این جایگاه توالی‌یابی گردید. همه توالی‌ها با استفاده از روش W در نرم افزار BioEdit Version 7.0.5 (Hall, 1999) هم‌ردیف شدند. نرم افزار DnaSP Version 5.10 (Librado and Rozas, 2009) برای آنالیز تنوع هاپلوتایپ (H_d) میانگین تعداد نوکلئوتید متفاوت (Tajima, 1983)، تنوع نوکلئوتیدی (π) تنوع نوکلئوتیدی هم‌معنی (π_s)، تنوع نوکلئوتیدی غیر هم‌معنی (π_n) با تصحیح Jukes and Cantor (Lynch) نوکلئوتیدی میانگین تعداد نوکلئوتید جایگزین در هر جایگاه بین دو گونه (DXY) (Lynch)

ژن MYF5 در توسعه سلول‌های ماهیچه اسکلتی دخالت داشته و متعاقباً در تولید گوشت مؤثر می‌باشد اثر معنی‌داری از ژن MYF5 بر روی گوشت لخت، وزن گوشت بدون چربی، و چربی داخل ماهیچه‌ای در خوک گزارش شده است (Sajee et al. 2009). براساس مطالعات موجود در خوک، گوسفند، گاو، مرغ، ماهی و بوقلمون، چند شکلی‌های موجود در MYF5 در ارتباط با میزان رشد بوده است (Ujan et al. 2011; Yin et al. 2011; Jiyeon et al. 2011).

ظرفیت ترکیبات گوشت و میزان رشد در پستانداران مرتبط با تعداد فیبر ماهیچه‌ای بوده که MYF5 نقش مهمی در تکثیر میوبلاست در طول شکل‌گیری فیبرها دارد. با توجه به اینکه ژن MYF5 یک ژن مهم در پستانداران بوده و در ارتباط با صفت مهم اقتصادی رشد می‌باشد و به خاطر اینکه صفت رشد از لحاظ اقتصادی در شتر یکی از مهمترین صفات به شمار می‌رود لذا در این مطالعه تنوع موجود در اگزون ۱ ژن MYF5 که یکی از مهم‌ترین ژن‌های تأثیر گذار بر روی لاشه و رشد می‌باشد، در داخل و بین جمعیت‌های شترهای تک‌کوهانه و دوکوهانه مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

نمونه‌گیری و استخراج DNA

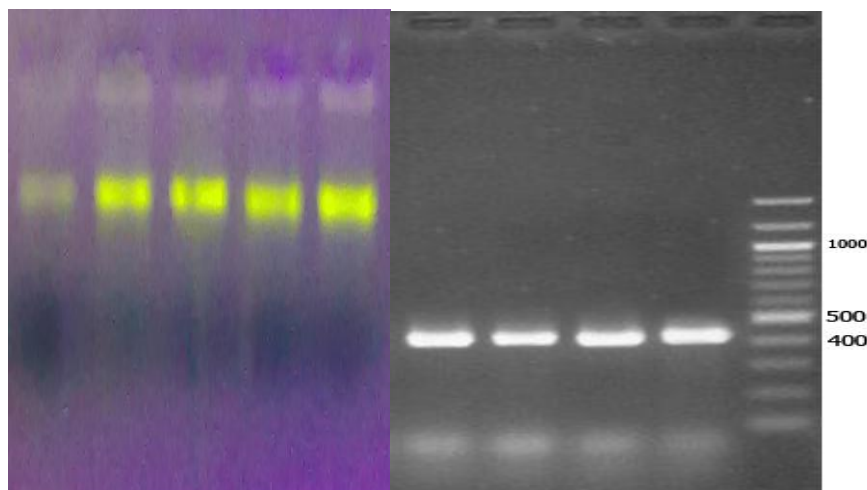
نمونه‌برداری خون از سیاهرگ وداجی تعداد ۴۰ نفر شتر دو کوهانه اردبیل، ۵۵ نفر شتر تک‌کوهانه ایستگاه یزد، ۵۰ نفر شتر تک‌کوهانه ایستگاه طرود و ۳۵ نفر شتر تک‌کوهانه از گله مردمی در روستای طرود با استفاده از ونوجکت حاوی ماده ضد انعقاد EDTA انجام شد. میزان خون استحصالی ۴ میلی‌لیتر بود. نمونه‌های خون در محیط سرد بلافاصله پس از استحصال به آزمایشگاه منتقل و در فریزر -۲۰ درجه سانتی‌گراد تا زمان استخراج DNA نگهداری شد و DNA ژنومیک با استفاده از کیت استخراجی DNA از خون پستانداران شرکت RBC Real Biotech Corporation, RBC, (South Korea) جهت تعیین کیفیت DNA استخراج شده حجم ۵ میکرولیتر از DNA استخراج شده بر روی ژل آگارز ۰.۸٪ به مدت ۱/۵ ساعت بارگذاری گردید (شکل ۱).

پرایمرهای مورد استفاده و تکثیر جایگاه MYF5 جهت تکثیر اگزون ۱ از جایگاه ژن میوژنیک فاکتور-۵ به طول ۴۲۲ جفت باز

نتایج و بحث

کیفیت DNA با استفاده از ژل آگارز ۰/۸ درصد تعیین گردید و رنگ آمیزی با اتیدیوم بروماید با غلظت 10 µg/µl انجام شد همان طور که مشاهده می شود غلظت DNA تقریباً یک دست و با کیفیت خوب می باشد. و آغازگرها نیز به صورت اختصاصی عمل کردند و قطعه ۴۲۲ جفت بازی از ژن MYF5 را تکثیر گردید (شکل ۱).

استفاده (and Crease 1990) میانگین تعداد نوکلئوتیدهای جایگزین در هر جایگاه (D_{XY}) و شاخه بندی بین جمعیت ها با استفاده از نرم افزار MEGA4 و با روش UPGMA بررسی گردید (Tamura et al. 2007).

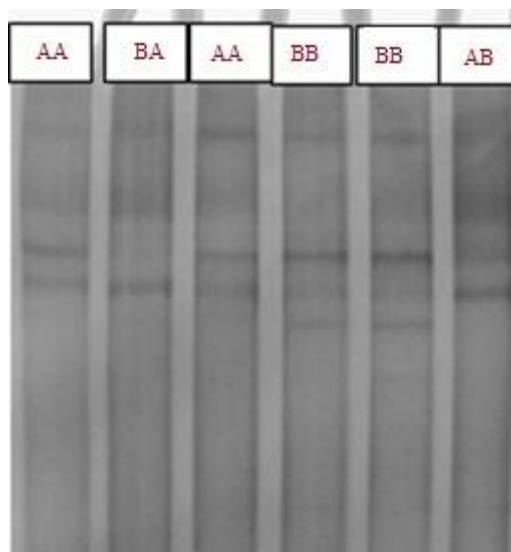


شکل ۱: تکثیر جایگاه ۴۲۲ جفت باز اگزون ۱ ژن MYF5 (سمت راست) و کیفیت DNA استخراج شده با استفاده از کیت RBC (سمت چپ)
Fig 1: Amplified of 422 bp of exon 1 gene MYF5 and quality of genomic DNA purified using RBC mini kit

موقعیت ۹۹ و ۳۶۷ مشاهده گردید که تغییر نوکلئوتید A به G موجب جایگزینی اسیدآمینه سرین به آسپارژین در موقعیت ۹۹ و تغییر نوکلئوتید G به A موجب جایگزینی اسیدآمینه تریپتوفان به کدون متوقف کننده در موقعیت ۳۶۷ می شود که ترکیب این دو تغییر باعث ایجاد هاپلوتایپ گردیده که کاملاً مرتبط با الگوهای متفاوت مشاهده شده بود. فراوانی هاپلوتایپ (جدول ۱) نشان دهنده فراوانی مناسب هر یک از آلل های A و B در هر موقعیت می باشد.

بخش اگزون ۱ ژن MYF5 شتر (۴۲۲ جفت باز) تکثیر و با روش PCR-SSCP تعیین ژنوتیپ شد نتایج PCR-SSCP چهار الگوی متفاوت را نشان داد الگوها براساس AA (دو باند)، BA (یک باند)، BB (سه باند) و AB (سه باند با الگوی متفاوت از BB) نامگذاری شدند و همه الگوها یک باند مشترک در ابتدای ژل دارند (شکل ۲). نتایج توالی یابی نیز تفاوت این الگوها را با تغییر در دو جایگاه نشان داد توالی مورد نظر به طور کلی در شکل ۳ نشان داده شده است.

براساس توالی یابی و هم ردیف سازی با استفاده از روش W در نرم افزار BioEdit (Version 7.0.5) تغییر نوکلئوتیدی در دو



شکل ۲: الگوهای متفاوت از آنالیز نمونه‌ها ژن MYF5 در شتر با استفاده از PCR-SSCP
 Fig 2: PCR- single-strand conformational polymorphism patterns of the camel MYF5 gene

AAAAACCCTGAGGCGAGTTCGGGGACGAGTTTGAGCCGCGAGTGGCTGCCTTCG
 GGGCGCACAAAGCAGACTTGAAGGCTCAGACGAGGATGAGCACGTGAGAGCAC
 CTATGGGCCACCACCAGGCCGGCCACTGCCTCATGTGGGCCTGCAAAGCATGCAA
 GAGGAAGTCCACCACCATGGATCGGCGGAAGGCGGCCACCATGCGCGAGCGAAG
 ACGCCTGAAGAAGGTCAACCAGGCTTTCGAGACGCTCAAGAGATGCACCACGAC
 CAACCCCAACCAGAGGCTGCCCAAGGTGGAGATCCTCAGGAATGCCATCCGCTAC
 ATTGAGAGCCTGCAGGAGCTGTTGAGGGAACAGGTGAAAA

شکل ۳: توالی مربوط به جایگاه اگزون ۱ ژن MYF5 در شتر
 Fig3: Camel Myogenic factor 5 (MYF5) gene sequence

جدول ۱: فراوانی‌های هاپلوتیپ‌های شناسایی شده از اگزون ۱ ژن MYF5 در نمونه‌های توالی‌یابی شده
 Table 1: Haplotype and Sequence variation detected frequency in the exon 1 region of camels MYF5

| تغییرات اسید آمینه ای (Amino Acid) (Changing) | هاپلوتایپ (Haplotype) | | | | موقعیت تغییر نوکلئوتیدی (Nucleotide) (Changing) |
|---|-----------------------|-------|------|--------|---|
| | BA | AB | BB | AA | |
| Ser/Asn | AAC | AGC | AAC | AGC | ۹۹ |
| Trp/stop | UGG | UGA | UGA | UGG | ۳۶۷ |
| فراوانی | 0.083 | 0.165 | 0.44 | 0.3075 | |

تنوع کدون متوقف‌کننده

کدون متوقف‌کننده از ژن MYF5 در داخل و بین دو گونه مشاهده گردید. شتر دوکوهانه و تک‌کوهانه کدون TGA به عنوان کد توقف‌کننده در صورت وجود جهش A به G مشاهده گردید. این کدون متوقف‌کننده ممکن است در بین و داخل گونه‌ها اریبی ایجاد کند (Ghosh, 2000). Li et al. 2007. کدون متوقف‌کننده متغییر را در ژن MSHR در داخل و بین خانواده‌ها مشاهده کردند و نشان دادند که اکثر خانواده‌ها دارای کدون متوقف‌کننده TGA بوده و کمتر خانواده‌ای کدون TAG و TAA را دارند. کدون متوقف‌کننده TAA به علت اینکه دو تری پپتید آزاد‌کننده فاکتور ۱ و ۲ می‌توانند کدون توقف‌کننده UAA را تشخیص دهند، معمولاً بالاترین کارایی را در توقف ترجمه دارد (Robert, 2001). تنوع حاصل در ژن MYF5 در بین دو گونه ممکن است نتیجه تکامل و تمایز بین دو گونه باشد. به طور کلی تنوع و تغییرات موجود ممکن است به وسیله اضافه شدن و حذف شدن و یا جایگزینی بین نوکلئوتیدی حاصل گردد.

چندشکلی و تنوع ژنتیکی داخل و بین گونه در جمعیت

شترهای ایران

در کل ۲۰ توالی به طول ۳۸۱ جفت باز و گپ‌ها با استفاده از نرم افزار BioEdit هم‌ردیفیابی شدند. نتایج DnaSP برای ناحیه انتخاب شده (۱-۳۸۱) از ۲۰ توالی در دو گونه دارای ۳۵۶ جایگاه را نشان داد. تنوع نوکلئوتید ($\pi = 0.00891$) و میانگین تعداد نوکلئوتید مختلف ($K=3.146$) برای همه توالی‌ها به دست آمد. ژن MYF5 می‌تواند به‌عنوان تنوع ژنتیکی بالا در تمایز مجزای گونه‌ها مورد بحث قرار گیرد. اطلاعات چند شکلی و تنوع هاپلوتیپی برای ژن MYF5 هر دو گونه و ایستگاه‌های مجزا در جدول ۲ آورده شده است. میانگین تعداد تفاوت نوکلئوتیدی در شتر تک‌کوهانه برابر با $4/75$ بود که نشان می‌دهد نسبت به شتر دو کوهانه ($2/25$) دارای تنوع ژنتیکی بالاتری می‌باشد. معمولاً تنوع ژنتیکی بالا برای انتخاب طبیعی بیشتر مطلوب می‌باشد. تنوع ژنتیکی بالا برای ژن MYF5 در شتر دوکوهانه ممکن است مرتبط با سازگاری و قدرت زنده‌مانی آن باشد.

تنوع نوکلئوتیدی غیرهم‌معنی نسبت به تنوع نوکلئوتیدی هم‌معنی بیشتر است که این ممکن است به خاطر انتخاب انجام شده باشد. تنوع هاپلوتیپی در شترهای تک‌کوهانه نزدیک به ۱ و در گله یزد و طرود ۱ می‌باشد که این نشان‌دهنده تنوع ژنتیکی بالا در این گونه است (جدول ۲).

جدول ۲: چند شکلی و تنوع ژنتیکی برای ژن MYF5 شتر

Table 2: Genetic diversity of the MYF5 gene in camels

| پارامترهای تنوع زیستی (Biodiversity Parameter)* | | | | | | گونه و جمعیت |
|---|---------|---------|-------|-------|---|-------------------------------|
| π_a | π_s | Π | K | H_d | H | Species and) (Population |
| 0.00369 | 0.00284 | 0.00625 | 2.25 | 0.889 | 6 | شتر دوکوهانه (Bactrian) |
| 0.01466 | 0.01045 | 0.01341 | 4.75 | 0.911 | 7 | شتر تک‌کوهانه (dromedaries) |
| 0.01594 | 0.00423 | 0.01298 | 4.667 | 1 | 3 | ایستگاه یزد (Yazd station) |
| 0.01577 | 0.01379 | 0.01506 | 5.4 | 0.9 | 4 | ایستگاه طرود (Trod station) |
| 0.01966 | 0.00609 | 0.0163 | 6 | 1 | 2 | گله طرود (Trod Herd) |

* تعداد هاپلوتایپ (H)، تنوع هاپلوتایپ (H_d)، میانگین تعداد نوکلئوتید متفاوت (K)، تنوع نوکلئوتیدی (Π)، تنوع نوکلئوتیدی هم‌معنی (π_s)، تنوع نوکلئوتیدی غیرهم‌معنی (π_a) با تصحیح Jukes and Cantor

2008) (شکل ۳) و زمان انشعاب در بین جمعیت‌ها و گونه با استفاده از میزان میانگین نوکلئوتیدهای غیرهم‌معنی ($10^{-9} \times 0.85$) (Li and dan, 1991) محاسبه شد. کوچکترین D_{XY} (0.008) و زمان انشعاب (حدود ۲ میلیون سال) برای دو گونه نزدیک هم یعنی شتر دوکوهانه و تک‌کوهانه به دست آمد (جدول ۳).

آنالیز انشعاب DNA و شاخه‌بندی

میانگین تعداد نوکلئوتیدهای جایگزین در هر جایگاه (D_{XY}) از ژن MYF5 در بین جمعیت‌ها در جدول ۳ نشان داده شده است. شاخص D_{XY} برای انشعاب DNA بین و میان گونه‌ها بوده و هر چه D_{XY} بیشتر باشد حاکی از فاصله ژنتیکی کمتر بین X و Y می‌باشد بر پایه D_{XY} درخت فیلوژنتیکی برای جمعیت‌ها با استفاده از روش UPGMA ترسیم گردید (Jing-feng *et al.*).

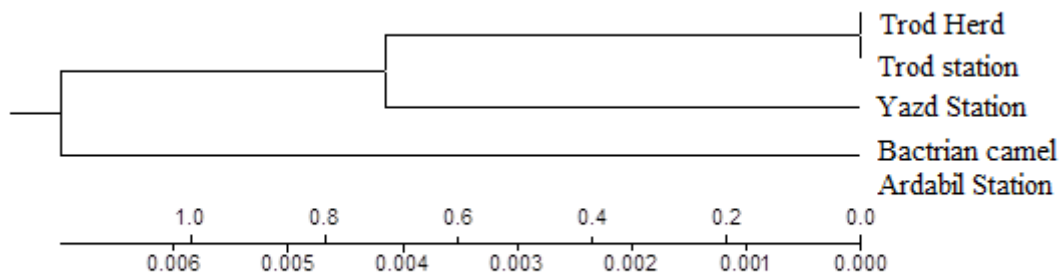
جدول ۳: میانگین تعداد نوکلئوتیدهای جایگزین در هر جایگاه (D_{XY}) از ژن MYF5

Table 3: Average nucleotide substitutions per site D_{xy} of MYF5 gene

| | شتر دو کوهانه (Bactrian Camel) | ایستگاه یزد (Yazd Station) | ایستگاه طرود (Trode Station) | گله طرود (Trode Herd) |
|-----------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|--------------------------|
| شتر دو کوهانه (Bactrian camel) | | | | |
| ایستگاه یزد (Yazd Station) | 0.008 | | | |
| ایستگاه طرود (Trode station) | 0.008 | 0.017 | | |
| گله طرود (Trode Herd) | 0.008 | 0.017 | 0.00 | |

و همچنین نزدیکی بین این دو گله با ایستگاه یزد را نشان داد (شکل ۴).

درخت فیلوژنتیکی ترسیم بین نمونه‌ها عدم وجود فاصله ژنتیکی بین دو گله طرود و ایستگاه طرود



شکل ۴: درخت فیلوژنتیکی ژن MYF5 در چهار جمعیت شتر با استفاده از روش UPGMA

Fig 4: Phylogenetic tree of MYF5 gene among four populations with used UPGMA methods

است سبب ایجاد واریانس در تولید شود. پیشنهاد می‌شود که این جهش در تحقیقات بعدی جهت ارتباط سنجی مورد استفاده قرار گیرد.

به‌طور کلی با توجه به تغییرات آب و هوایی و چالش‌هایی که در برابر تامین غذا وجود دارد حفظ و نگهداری و تولید غذا از

در این مطالعه نشان داده شد تغییر نوکلئوتید A به G موجب جایگزینی اسیدآمینه سرین به آسپارژین در موقعیت 99 تغییر نوکلئوتید G به A موجب جایگزینی اسیدآمینه تریپتوفان به کدون متوقف‌کننده در موقعیت ۳۶۷ می‌شود این جایگزینی موجب تغییر در پروتئین و ساختار آن خواهد شد که ممکن

مقایسه شترهای تک کوهانه و دو کوهانه ایران بر اساس ژن MYF5 مرتبط با صفات رشد

به وجود تنوع از نوع گزارش شده و شناسایی ژن‌های کاندیدای دیگر می‌تواند برای انتخاب به کمک نشانگر در جهت بهبود و اصلاح شتر برای اقتصادی کردن دام مثمر ثمر باشد.

منابع متفاوت یکی از ضروریات به شمار می‌رود و به‌خاطر اینکه در مناطق بیابانی دام‌های دیگر امکان تولید ندارند لذا استفاده از شتر به‌عنوان یک دام تولیدکننده غذا مهم به‌نظر می‌رسد. توجه

منابع:

جهت ملاحظه منابع به صفحه‌های ۱۱-۱۲ متن انگلیسی مراجعه شود.

Comparison of Iranian *Camelus deramedarius* and *Camelus Bactrinus* Based on Gene MYF5 Associated with Growth Traits

Hedayat-Evrigh^{1*}, N., Miraei-Ashtiani², S. R. and Moradi-Shahre-Babak², M.

Abstract

Tenderness is one of the important characteristics of meat and desired to consumers. MYF5 gene has a key role in the regulating of formation and development of skeletal muscle and considered as a candidate gene associated with growth and meat quality characteristics. In this study blood samples from 180 camels; include 40 *Camelus Bactrinus* and 140 *Camelus deramedarius* was randomly collected. To ascertain whether there was variation in the camel MYF5 gene, we have developed a method of PCR-single-strand conformational polymorphism (PCR-SSCP) analysis. In this study, exon 1 region of the MYF5 gene were investigated and four unique SSCP patterns observed. Two SNPs were detected with substitution of A/G and G/A in 97 and 367 position, respectively that create four haplotypes, related to banding patterns. In comparison to the other populations of one humped camels, genetic divergence between populations showed that Bactrian camels have a greater genetic distance.

Keywords: *Camelus Bactrianus*, *Camelus Dramedarius*, genetic distance, PCR-SSCP

References

- Abargani, A., Garadagi, A., ghanbari, A., Afshari mirak, H. and khaki, M. 2010. Consider the condition of breeding Bactrian camels in Moghan. *Journal of Animal Science (pajohesh sazandegi)*, 12-22.
- Moghadas, A. 1997. Camel and breedings. Nourbakhsh-Tehran, 345.
- Beuzen, N. D., Stear, M. J. and Chang, K. C. 2000. Molecular marker and their use in animal breeding. *Veterinary Journal*, 160(1): 13-4.
- Deeb, N. and lamont, S. J. 2002. Genetic architecture of growth and body composition in unique chicken population. *Journal of Heredity*, 93: 107-118.
- Ghosh, T. 2000. Studies on codon usage in *Entamoeba histolytica*. *International Journal Parasitology*, 30: 715-722.
- Hall, T. A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, 41: 95-98.
- Heifetz, E. M., Fulton, J. E., Osulliv, N., Zhao, H., Dekkers, J. C. M. and Soller, M. 2005. Extent and consistency across generations of linkage disequilibrium in commercial layer chicken breeding populations. *Genetics*, 171: 1173-1181.
- Jing-Fen, K., Xiang-Long, L., Rong-Yan, Z., Lan-Hui, L., Fu-Jun, F. and Xiu-Li, G. 2008. Bioinformatics analysis of lactoferrin gene for several species. *Biochemistry Genetic*, 46: 312-322.

1. PhD student, Department of Animal Science, University College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj

2. Professors, Department of Animal Science, University College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj

*: Corresponding Author

Email: Hedayatuma@gmail.com

- Jiyeon, S., Jae, D. O., Cheong, C., Kun, W. L., Hak, K. L., Dong, S. S., Gwang, J. J., Kyung, D. P. and Hong, S. K. 2011. Association between polymorphisms of MYF5 and POU1F1 genes with growth and carcass traits in Hanwoo (Korean cattle). *Gene and Genome*, 33: 425-430.
- Li, X. L., Zheng, G. R. and Zhou, R. Y. 2007. Evolution and differentiation of MSHR gene in different species. *Journal of Heredity*, 3: 165-168.
- Librado, P. and Rozas, J. 2009. Dnasp V5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 25: 1451-1452.
- Linville, R. C., Pomp, D., Johnson, R. K. and Rothschild, M. F. 2001. Candidate gene analysis for loci affecting litter size and ovulation rate in swine. *Journal of Animal Science*, 79: 60-67.
- Lynch, M. and Crease, T. J. 1990. The analysis of population survey data on DNA sequence variation. *Molecular Biology and Evolution*, 7: 377-394.
- Maak, S., Neumann, K. and Swalve, H. H. 2006. Identification and analysis of putative regulatory sequences for the MYF5/MYF6 locus in different vertebrate species. *Genetics*, 379: 141-147.
- Oldenbroek K. 2007. Utilisation and conservation of farm animal genetic resources. Published by Wageningen Academic Publishers, The Netherlands, pp. 232.
- Robert, F. W. 2001. *Molecular biology*. University of Kansas-Lawrence, Scientific Press.
- Sajee, K., Huitong, Z. and Jon, G. H. H. 2009. Allelic variation in the porcine MYF5 gene detected by PCR-SSCP. *Molecular Biology*, 41: 208-212.
- Shah, M. G., Qureshi, A. S., Resissmann, M. and Schwartz, H. J. 2007. Single nucleotide polymorphism in the coding region of MYF5 gene of the camel (*camelus deromedarius*). *Pakistan Veterinary journal*, 27(4): 163-166.
- Tajima, F. 1983. Evolutionary relationship of DNA sequences in finite populations. *Genetics*, 105: 437-460.
- Tamura, K., Dudley, J., Nei, M. and Kumar, S. 2007. MEGA4: molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0. *Molecular Biology and Evolution*, 24: 1596-1599.
- TePas, M. F. W. and Visscher, A. H. 1994. Genetic regulation of meat production by embryonic muscle formation: a review. *Journal of Animal Breeding and Genetic*, 111: 404-412.
- Ujan, J. A., Zan, L. S., Wang, H. B. and Ujan, S. A., 2011. The effect of myogenic factor 5 polymorphism on the meat quality in chinese Bos Taurus. *Agriculture Construction Science*, 76: 373-377.
- Yin, H., Zhang, Z., Lan, X., Zhao, X., Wang, Y. and Zhu, Q. 2011. Association of MYF5, MYF6 and Myog gene polymorphism with carcass traits in chinese meat type quality chicken populations. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 10(6): 704-708.