ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ԱԶԳԱՅԻՆ ԱԳՐԱՐԱՅԻՆ ՀԱՄԱԼՍԱՐԱՆ

ԱԲՈԼՖԱԶԼ ՂՈԼԻԲԵՅԿԻՖԱՐԴ

IGF-I, ADRB3 ԵՎ *BMP-15* ԳԵՆԵՐԻ ՊՈԼԻՄՈՐՖԻԶՄԻ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒՄԸ ԵՎ ԴՐԱՆՑ ԱՍՈՑԻԱՏԻՎ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ԻՐԱՆԱԿԱՆ ԲԵԼՈՒՉԻ ՈՉԽԱՐԻ ՑԵՂԻ ՄԹԵՐԱՏՈՒ ԵՎ ՎԵՐԱՐՏԱԴՐԱԿԱՆ ՀԱՏԿԱՆԻՇՆԵՐԻ ՎՐԱ

Ց.02.01. «Գյուղատնտեսական կենդանիների բուծում, սելեկցիա և վերարտադրություն, գազանաբուծություն» մասնագիտությամբ գյուղատնտեսական գիտությունների թեկնածուի գիտական աստիճանի հայցման ատենախոսության

ՍԵՂՄԱԳԻՐ

ԵՐԵՎԱՆ – 2012

НАЦИОНАЛЬНЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ АРМЕНИИ

АБОЛФАЗЛ ХОЛИБЕЙКИФАРД

ИЗУЧЕНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ IGF-I, ADRB3, BMP-15 И ИХ АССОЦИАТИВНОГО ВЛИЯНИЯ НА ПРОДУКТИВНЫЕ И РЕПРОДУКТИВНЫЕ КАЧЕСТВА ОВЕЦ ИРАНСКОЙ ПОРОДЫ БЕЛУЧИ

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук по специальности 06.02.01-“Разведение, селекция и воспроизводство сельскохозяйственных животных, звероводство”

ЕРЕВАН – 2012

Ատենախոսության թեման հաստատվել է Հայաստանի պետական ագրարային համալսարանի գիտական խորհրդում

Գիտական ղեկավար՝
գյուղատնտեսական գիտությունների դոկտոր, դոցենտ **Ռ.Թ. Սարգսյան**

Պաշտոնական ընդդիմախոսներ՝
կենսաբանական գիտությունների դոկտոր, պրոֆեսոր Է.Գ. Յավրույան
գյուղատնտեսական գիտությունների թեկնածու, դոցենտ Հ.Հ. Սկրտչյան

Առաջատար կազմակերպություն՝ ՀՀԳԱԱ-ի Մոլեկուլային կենսաբանության ինստիտուտ

Պաշտպանությունը կայանալու է նոյեմբերի 27 2012 թ. -ին ժամը 14[00]-ին Հայաստանի ազգային ագրարային համալսարանում գործող ՀՀ ԲՈՀ-ի 022 «Անասնաբուժության և անասնաբուծության» մասնագիտական խորհրդում Հասցեն՝ 0009, ք. Երևան, Տերյան 74:

Ատենախոսությանը կարելի է ծանոթանալ Հայաստանի ազգային ագրարային համալսարանի գրադարանում:

Սեղմագիրն առաքված է հոկտեմբերի 26 2012 թ.-ին:

Մասնագիտական խորհրդի գիտական քարտուղար, անասնաբուժ. գիտ. թեկնածու, դոցենտ՝ **Ա.Մ. Բաղալյան**

Тема диссертации утверждена на ученом совете государственного аграрного университета Армении

Научный руководитель:
доктор сельскохозяйственныхнаук, доцент **Р.Т. Саргсян**

Официальные оппоненты:
доктор биологических наук, профессор **Э.Г. Явруян**
кандидат сельскохозяйственныхнаук,доцент **Г.А. Мкртчян**

Ведущая организация: институт Молекулярной биологии НАН РА

Защита диссертации состоится 27 ноября, 2012 г. в 14[00] час. на заседании Специализированного Совета 022 ВАК "Ветеринария и зоотехния" при Национальном аграрном университете Армении по адресу: 0009, г. Ереван, ул. Теряна 74.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Национального аграрного университета Армении.

Автореферат разослан 26 октября 2012 г.

Ученый секретарь СпециализированногоСовета, канд. вет. наук, доцент **А.М. Бадалян**

5-0 20-2012

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. В одомашнении овец по крайней мере принимали участие три родовых подвида дикого муфлона, около 10000 лет до настоящего времени в Юго-Западной Азии. В Иране разводятся более 27 пород овец, которые различаются по своим генетическим потенциалам по производству мяса, молока, шерсти и шкур; а также устойчивости к болезням, плодовитости и т.д.

В Иране насчитываются около 54 миллионов овец (FAO, 2010), которые в основном используются для производства мяса. В Иране баранина считается традиционным источником белка и имеет высокие уровни потребления по сравнению с мясом крупного рогатого скота и коз.

Заинтересованность в продукции животноводства основана на количественных признаках, однако характер этих признаков затрудняет вывести генотип индивидума от его фенотипа и соотнести генетические вариации к различиям в фенотипе. Генетическая характеристика животных до сих пор проводится на основе применения теории количественной генетики. Концептуальной основой этой теории является полигенная модель, которая предполагает, что количественные признаки это результат действий и взаимодействий большего числа генов. Конечный эффект можно предсказать с помощью мощных статистических методов (модели животных) на основе записей характеристик родословной и производительности конкретного животного и его сородичей. Достижения в области технологии молекулярной генетики на основе ДНК маркеров, в последние два десятилетия, оказали большое влияние на картиро-вание генов, позволяющее идентификацию основных генов, которые контролируют часть этих мультигенных показателей. Как в настоящем, так и в будущем, маркер или ген-вспомогательной селекции (MAS или GAS), вероятно, будет использоваться для повышения эффективности традиционных методов селекции животных.

Для показателей, которые легко можно измерить в начале жизни животных, MAS или GAS имеет практическую и научную значимость. Существуют другие возможности для генотипирования показателей, которые трудно или невозможно измерить у неполовозрелого молодняка, которые имеют рецессивную или неполную наследственность и пенетрантность. Корреляции вариантов гена с этими признаками производительности, обеспечат полезную основу для селекции на основе не генотипа, а фенотипа. В итоге, для достижения этой цели, были разработаны две экспериментальные стратегии: взаимосвязь исследований и подход генов-кандидатов.

В животноводстве, параметры роста и развития приплода животных всегда считались первоочередной задачей в вопросах селекции и имели экономическую ценность. Масса тела и размеры приплода, несмотря на, количественный характер, взаимосвязаны с некоторыми основными генами, такие как инсулиноподобный фактор роста I (IGF-I) и β3-адренорецепторы (ADRB3), костно-морфогенетические белки 15 (BMP-15).

Инсулиноподобный фактор роста 1(IGF-I), который находится в хромосоме

3 и содержит 6 экзонов, в связи с его важной ролью в регуляции роста, развития и метаболизма у млекопитающих, был выбран в качестве гена-кандидата в данном исследовании.

Еще один ключевой ген, связанный с показателем роста является ген ADRB3 (у овец он находится в хромосоме 26 и содержит 2 экзона), который принадлежит к R7G семейству, связанных рецепторов G-белков и играет ключевую роль в регуляции энергетического метаболизма в организме млекопитающих. У овец интронный полиморфизм гена ADRB3 связан с массой тела при рождении, показателем роста, строением, холодостойкости и выживанием. Костный морфогенный белок 15 (BMP-15) (находится в хромосоме X и содержит 2 экзона), который является представителем семейства трансформирующего фактора роста бета (TGF-ß), вырабатывется в ооцитах и имеет важное значение для плодовитости овец. Отмеченные мутации в этом гене являются причиной повышенной скорости овуляции и бесплодия.

Выбор только на основании фенотипных данных не обеспечивает точный метод отбора. С развитием молекулярной биологии и биотехнологии, ученые смогли добиться более точных и эффективных методов отбора. Точность отбора потенциально может быть увеличена с включением этих основных генов в генетические методы оценки. Кроме того, использование генетических маркеров в животноводстве позволяет делать отбор на ранних стадиях роста и развития - до формирования соответствующего фенотипа и исключить животных, не соответствующих целям разведения.

Цель и задачи исследований. Об очень низких генетических тенденциях роста овец породы белучи, сообщил Eskandari_Nasab (1998). Показатели низких генетических изменений могут быть отнесены к низкой наследственности и плохого отбора, что в значительной степени зависит от физических показателей и отсутствия четкого и целенаправленного критерия отбора в период исследования. Учет основных генов в генетических методах оценки, может привести к повышению точности отбора и генетического прогресса.

Несмотря на функциональную значимость IGF-I или соматомедин генов в регуляции гормонов роста и ADRB3 гена в регуляции энергетического метаболизма в организме млекопитающих, нет данных относительно эффекта полиморфизма генов IGF-I и ADRB3 на фактор роста у овец породы белучи. Следовательно, цель данной работы заключается в выявлении полиморфизма генов и его влияния на массу овец иранской породы белучи, используя полимеразная цепная реакция - однонитевой конформационный полиморфизм ДНК PCR-SSCP. Для исследования были отобраны два основных гена, связанных с массой тела, инсулин-подобного фактора роста I (IGF-I) и β3-адренорецепторов (ADRB3) и один основной ген, связанный с ростом приплода: костные морфогенетические белки 15 (BMP-15).

Научная новизна. До сих пор генетические оценки и стратегии в разведении овец породы белучи и других пород овец в Иране были основаны на объективных прогнозированиях BLUP (наилучший линейный несмещенный прогноз)

и фенотипном выборе. До сих пор большинство молекулярных исследований в Иране были основаны на обнаружении генетического разнообразия с использованием микроспутников маркеров. Эти исследования станут первым шагом в более глубоком исследовании овец породы белучи для того, чтобы установить программу разведения на основе маркеров или геновспомогательной селекции. Кроме того, в исследовании разных пород овец, были обнаружены разные SNP полиморфизма. Мы намерены обнаружить в этих исследованиях новые SNP.

Несмотря на то, что Tahmoorespur и соавт. (2011) провели исследование об ассоциации полиморфизма в 5 фланкирующих областях IGF-I гена роста овец породы белучи, они исследовали экзон 1, в то время как мы изучали экзон 3.

Практическое значение. Многие из этих показателей продукции животноводства являются количественными, однако, количественный характер этих показателей затрудняет вывести отдельно взятый генотип от его фенотипа, и составить генетические вариации согласно различиям в фенотипе. Точность отбора потенциально может быть увеличена с включением этих главных генов (IGF-I, ADRB3 и BMP-15) в генетические методы оценки, которые связаны с этими сложными показателями. Кроме того, использование этих генов в овцеводстве позволяет сделать отбор на ранней стадии и устраняет животных, которые не соответствуют целям разведения, прежде чем формируется их фе-нотип.

Апробация работы (публикация). По материалам диссертации опубликованы четыре научных статей. Материалы исследований обсуждены также на заседании кафедры Частного животноводства ГАУА.

Структура и обьем диссертации. Диссертационная работа изложена на 124 страницах текста компьютерного набора.

Состоит из введения, общей характеристики работы, обзора литературы, материала и методов исследования, выводов и практических предложений, списка использованной литературы, включающей 175 наименований и приложения. Диссертационная работа проилюстрирована 16 таблицами и 29 рисунками и схемами. Приложение приведено на 9 страницах.

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

По результатам исследований ряда авторов за последние сорок лет, улучшение животноводства и генетический прогресс в Иране и во всем мире, был достигнут за счет отбора, основанного на фенотипической и генотипической информации. Однако, генетические улучшения полигенных особенностей, как например рост производства мяса могут быть повышены за счет маркеров или геном-вспомогательной селекции (MAS или GAS), которые имеют более высокую точность в оценке генетической ценности животных. Генетические маркеры могут быть найдены непосредственно, применяя методы молекулярной биологии.

В данной главе также изложены результаты исследований ряда авторов по повышению мясной продуктивности овец.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Сбор проб и извлечение ДНК. Образцы крови, взятые из яремной вены (5 мл на овцу) у 200 овец породы белучи, при помощи вакумных пробирок, обработанных 0,25% этилендиаминтетрацетической кислотой (ЭДТА), сразу же помещают в лед и доставляют в лабораторию в течение 2 часов. Геномная ДНК была извлечена из цельной крови с помощью комерционных экипировок (Diatom of Isogen Lab. ООО Компания, Москва, Россия). После измерения концентрации ДНК и ее чистоты (качество и количество) на спектрофотометре и электрофорезе в агарозном геле, пробирки с извлеченной ДНК разбавляли до конечной концентрации 50 нг/мкл в стерильной дистиллированной воде и хранили при температуре 4°C для использования последующего PCR.

Праймеры для PCR-амплификации. Специфические праймеры были разработаны для усиления одной области IGF-I гена (экзон 3) совпадающим с номером X69473.1 Банка Генов, одной области ADRB3 гена (Интрон) с инвентарным номером AF109928 и одной области BMP-15 гена (экзон 2), совпадающим с номером AH009593.1 Банка Генов. Праймеры были разработаны с использованием Primer Premier 5.0 (http://www.premierbiosoft.com/).

Таблица 1

Секвенирование праймеров, используемых в PCR

ГЕНЫ	СЕКВЕНИРОВАНИЕ ПРАЙМЕР (5'-3')	Размер фрагмента (bp)	Регион Амплификации	Инвентарный номер
BMP15	Fw-GCAGGCAGTATTGCATCGGAAG Rw-CTCAATCAGAAGGATGCTAATGG	310	Exon 2	AH009593.1
IGF-I	Fw-AGGAAGATGACCCTCCTTCTG Rw-GTGAGGAATCTCGGAGGCTG	302	Exon 3	X69473.1
$ADRB_3$	Fw-GCACAGAGTAGGGAATCAAAGT Rw- CCTTCGGGGCTATCAGACTTTC	374	Intron	AF109928.2

Амплификации PCR. Полимеразная цепная реакция (PCR) проводилась с использованием ~ 50 нг геномной ДНК, 0.5μ L каждого праймера, и 2.5 μL M 10x буфера с μM $MgCl_2$, 0.5 μL dNTP (10mM) и от 0.2 μL до 0.25 μL ДНК-полимеразы Taq (Ferments. США). Конечный объем составляет 25 μL. Увеличение числа было сделано при соблюдении следующих условий: а) 5 минут денатурации при 95°C, после 35 циклов денатурации при 94°C в течение 30сек, б) нормализация при температуре праймера (в основном около 53-56°C) 30 сек. и в расширение на 45 сек при 72°C, а окончательное расширение 72°C в течение 10 мин. PCR-продукты были обнаружены с помощью электрофореза в 2% агарозном геле.

Условия SSCP упомянутых генов. Для продуктов PCR (полимеразная цепная реакция) также использовался однонитевой конформационный

полиморфизм ДНК (SSCP). Увеличенное число фрагментов мешали с равным объемом буфера образца [95% формамид, 20 мМ ЭДТА (pH 8.0), 0.05% ксилола Cyanol и 0.05% Bromophenol синий]. 30мл не денатуратного геля, содержащего смесь 7.5 мл 40% полиакриламида и 2.5% биакриламида 30 л TEMED- а и 0.8 мл 10% персульфата аммония в лк КЭ (90 мМ Трис-борат с ph8. 3,4 mM EDTA) и напряжения (300 В), время работы (8 часов) и рабочей температуры (4°C). Каждая реакция PCR разбавлялась в денатурирующем растворе, денатурированной при температуре 95°C в течение 5 мин, охлаждалась, затем растворялась в полиакриламидном геле. Электрофорез проводили в вертикальном блоке (Hoefer Scientific SE600) (на 16 * 14 см пластинках и 1 мм прокладках), в 1x буфере TBE. В гели добавляли 0.1% нитрата серебра по методу (Sambrook и соавт).

Секвенирование ДНК. Результаты, полученные после анализа SSCP были подтверждены путем секвенирования 5, 10, 20 случайно отобранных проб ДНК для генов BMP-15, IGF-I и ADRB3. Секвенирование было проведено в компании Bioneer в Южной Корее.

Статистический анализ. По тесту Харди-Вайнберга (с использованием тест χ^2) были оценены частоты аллелей и генотипов BMP-15, IGF-I и ADRB3 генов с использованием GENALEX 6.4 программного обеспечения (Peakall и Smouse, 2006). После этого, в целях выявления фиксированных эффектов, которые будут включены в моделях для определения связи между генотипами и ростом особенностей, был проведен анализ с общей линейной моделью (GLM) процедуры JMP 7.0 (SAS, 2007 г.) в соответствии со следующей статистической моделью (2-1).

$$Y_{ijklmn} = \mu + F_i + S_j + YB_k + BT_l + AgeD_{ijklm} + BM_{ijklmn} + b(age-\overline{age})_{ijklmn} + e_{ijklmn} \quad (2\text{-}1)$$

Где y-зависимая переменная, μ-общее среднее, F-фиксированный эффект стада (1 и 2), S-фиксированный эффект пола (мужской и женский), YB–год рождения (с 1966 по 2003 г.), BT тип рождения (один, двойня или тройня), AgeD возраст особи, BM месяца рождения (январь, февраль и март), b является коэффициентом регрессии даты рождения от массы тела, e- остаток. Было протестированно двухстороннее взаимодействие между фиксированными эффектами в модели, но ни один не был значительным. После определения значительного фиксированного эффекта, фенотипы записи были скорректированы для фиксированных эффектов, а взаимосвязь между генотипами и фенотипами была определена следующим образом (2-2).

$$Ccorrected\ Phenotype_{ij} = G1_i + G2_j + e_{ij} \quad (2\text{-}2)$$

G1 и G2 были фиксированными эффектами, связанными с генотипами в ADRB3 и IGF-I генов. Эти данные были представлены в виде наименьших квадратов средних ± SE (стандартная ошибка среднего) и P-значение ≤ 0.05 считалось статистически достоверным.

Оценка генетических параметров и генетических тенденций. Генетические параметры были оценены с использованием процедуры ограниченной максимальной вероятности (REML), предусмотренные для одно-и многомерных моделей животных (Meyer, 2006). Значительные эффекты для каждого признака были исследованы путем установки добавочных прямых генетических эффектов, добавочных материнских эффектов, ковариации между аддитивным прямым и материнским эффектами, эффектами материнской постоянной среды и общими эффектами приплода у двенадцати моделей животных. Полная модель выглядит следующим образом (2-3).

$$Y_{ijklmn} = \mu + F_{i+} S_{j+} YB_k + BT_l + AgeD_{ijklm} + BM_{ijklmn} + b(\overline{age}\text{-}age)_{ijklmn} + a_{ijklm} + m_{ijklm} + pe_{ijklm} + c_{ijklm} + e_{ijklm} \quad (2\text{-}3)$$

где a, m, pe, параметры разведения, материнская генетика, постоянная окружающая среда овец, и другие символы, как в модели 2-1.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБСУЖДЕНИЕ

Цифры PCR-продуктов длинных фрагментов ДНК ADRB3 (интронов) 374bp, 302bp IGF-I (экзон 3) и 310bp BMP-15 (экзон 2) представлены на рисун-ке 1, 2 и 3. У десяти животных (5%), увеличение числа не удалось. Таким образом, 190 образцов ДНК были использованы в SSCP и секвенировании.

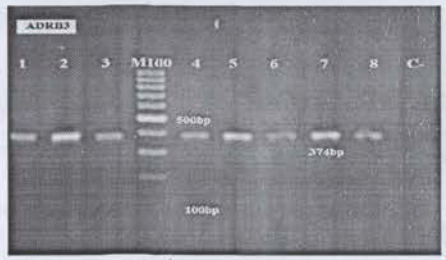

Рис.1. Агарозном гель-электрофореза PCR-продукты локус ADRB3, M100 является маркер молекулярного веса

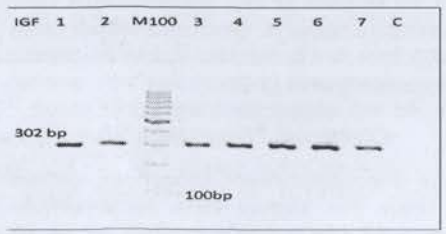

Рис. 2. Агарозном гель-электрофореза PCR-продукты локус IGF-I, M100 является маркером молекулярного веса

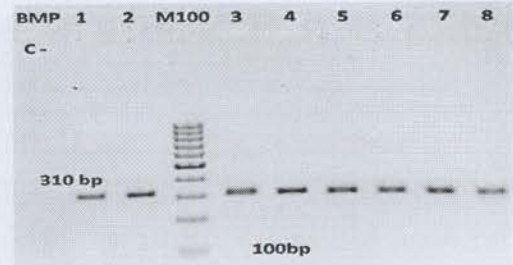

Рис. 3. Агарозном гель-электрофореза PCR-продукты локус BMP-15, M100 является маркером молекулярного веса

После оптимизации параметров, которые влияют на обнаружение SSCP, мы проанализировали продукты PCR у 190 животных, с условиями, описанными в разделе материал и методы. Оценка результатов SSCP выявила по две обьединенные модели генов IGF-I и ADRB3, и одну модель для гена BMP-15 (для мутации $FecX^L$) (рис. 4-6).

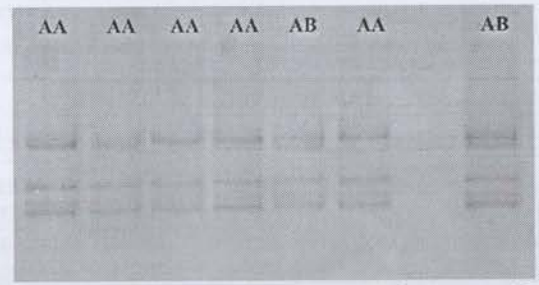

Рис. 4. Анализ PCR-SSCP фрагмента 374-bp из гена ADRB3 овец породы белучи

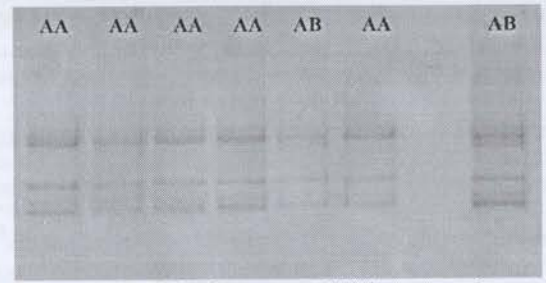

Рис. 5. Анализ PCR-SSCP фрагмента 302-bp экзона 3 гена ADRB3 овец породы белучи

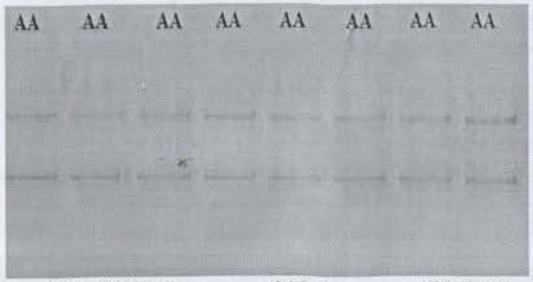

Рис. 6. Анализ PCR-SSCP фрагмента 310-bp из гена BMP-15 овец породы белучи (все животные были гомозиготы)

Частота распределения аллелей изученных генов показаны в таблице 2. Кроме того, гистограмма частот аллелей в исследованных генах представлена на рисунке 7.

Таблица 2

Частота аллелей BMP-15, IGF-I и ADRB3, наблюдающаяся у овец породы белучи

Гены-кандидаты	№ образцов (овцы)	Частота аллелей A*	Частота аллелей B*
ADRB3	190	0.93	0.07
IGF-I	190	0.95	0.05
BMP-15	190	1.00	0.00

Генотипирование этих овец показали, что PCR-SSCP представляет собой мощный инструмент для генотипирования IGF-I и ADRB3, не только в экономических и технических, легко интерпретируемых вопросах, но и позволяет одновременную идентификацию известных аллелей и выявление потенциальных новых аллелей. Этот метод был использован в создании коммерческих генмаркер тестов для оценки экномичных количественных локусов (EQTLs) у овец для разведения, а также может быть адаптирована для ввода других основных генов у других видов.

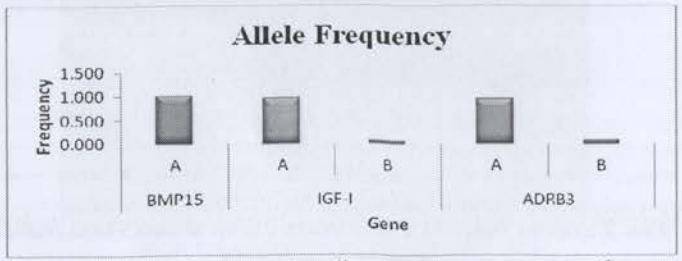

Рис. 7. График Частоты аллелей локусов у овец породы белучи

Частота генотипов. Распределение частоты наблюдаемых и ожидаемых генотипов в BMP-15, IGF-I и ADRB3 локусов, а также тест Харди-Вайнберга, представлены в таблице 3. В локусе ADRB3, частота A (0.93) аллель дикого типа была выше, чем частота B (0.07) мутантного аллеля, а частоты AA, AB и BB были в пределах 0.85, 0.15 и 0.00 соответственно. Значения теста хи-квадрата (χ^2) для частот генотипов, указанных здесь показало, что все исследованные локусы находятся в равновесии Харди-Вайнберга.

Исследования показали, что ген BMP-15 ($FecX^L$) у овец породы Белучи не является носителями $FecX^G$ мутации, что соответствует с результатами исследований, проведенных на породах овец Восточной фризской, Блуфейз, Лестер, D'Мана, Хиоса, Романовская, Финна и тд.

Результаты наших исследований показали, что исследуемые мутации ADRB3, которые оказывают существенное влияние на регулирование энергетического обмена, присутствуют у овец породы белучи. Эти результаты находятся в согласии с докладами Мерино Новой Зеландии (Forrest и др., 2007).

Таблица 3

Наблюдаемый и ожидаемый генотип частоты BMP-15, IGF-I и ADRB3 у овец породы белучи

Гены кандидаты	№ овец	Наблюдаемые генотипические частоты			Ожидаемые генотипические частоты			P
		AA	AB	BB	AA	AB	BB	
ADRB3	190	0.85 (162)	0.15 (28)	0.00 (0)	0.89 (163.03)	0.105 (25.938)	0.005 (1.032)	0.273^{ns}
IGF-I	190	0.90 (170)[1]	0.10 (20)	0.00 (0)	0.90 (170.53)	0.097 (18.95)	0.003 (0.52)	0.444^{ns}
BMP-15	190	мономорфический			--			--
Цифры в скобках это отдельные номера, принадлежащие отдельным генотипам								

Исследования Tahmoorespur и соавт., (2009) с использованием PCR-SSCP анализа экзон 1 IGF-I выявили три различные конформационные модели. Йылмаз и соавт. (2005) обнаружил те же модели, которые соответствовали трем генотипам A/A/B, и B/B у разных пород овец. Однако, в нашем исследовании у пород белучи присутствует только генотипы AA и AB, генотип BB отсутствует.

Секвенирование результатов. В этом исследовании, секвенирование ДНК анализа показал, что последовательности продуктов PCR соответствовали последовательности Банка Генов. Анализ SSCP и секвенирование позволило обнаружить четыре нуклеотидных вариаций для ADRB3 (рис.8) и два одиночных нуклеотидных изменений IGF-I (рис.9). Секвенирование генов ADRB3 соответствующие Банку Генов AF109928 в национальном центре биотехнологических информации (NCBI) показали в одном случае включение (цитозин или C), а в трех случаях удаление (C, а гуанин или G). Для IGF-I

соответствующему инвентарному номеру X69473.1 in NCBI, наблюдалось одно удаление (аденин или A) и одна замена (переходы на G). Новые нуклеотидные замены (удаление аденина) были обнаружены у овец породы белучи на NT 188 IGF-I, в то время как в других зарегистрированных генотипов в NCBI этого полиморфизма не наблюдалось.

В NCBI, соответствующему регистрационному номеру AH009593.1, в BMP-15 наблюдается только одна мутация (удаление A) в 863. (рис 10). Таким образом, этот вариант наблюдается в первый раз в овцах породы белучи. В этом случае необходимо провести дальнейшие исследования для того, чтобы лучше понять значение этой мутации, которая никогда не была описана у овец других пород.

Рис. 8. Нуклеотидные изменения ADRB3 мутации (Query, наши образцы) по сравнению с секвенированием овец регистрированных в Банках Генов (Subject)

Рис. 9. Нуклеотидные изменения IGF-I мутации (Query, наши образцы) по сравнению с секвенированием овец регистрированных в Банках Генов (Subject)

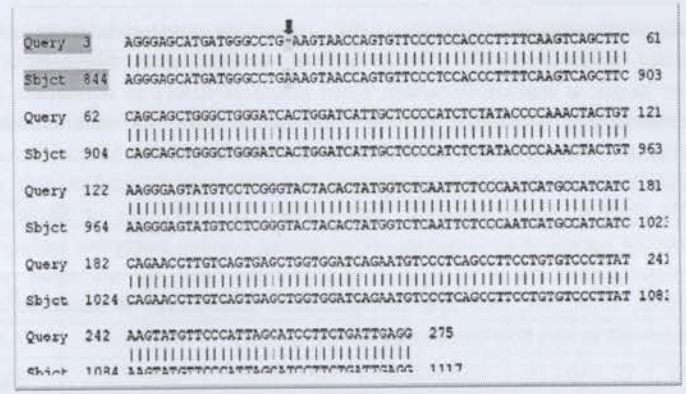

Рис. 10. Нуклеотидные изменения BMP-15 мутации (Query, наши образцы) по сравнению с секвенированием овец регистрированных в Банках Генов (Subject)

Связь между показателями роста и исследуемыми генами. Описательная статистика показателя веса овцы породы белучи приведена в таблице 4. Статистические данные, асимметрия и эксцесса были близки к нулю в большинстве случаев, что означает, что эти переменные имеют приблизительно нормальное распределение. Фальконе и Mackay (1996) сообщили, что если переменная имеет CV ниже, чем на 20%, нет никаких причин, чтобы трансформировать ее в обычную переменную.

Таблица 4

Статистика особенностей роста массы овец породы белучи

Возраст	Кол-во овец	Средний показатель (кг)	SD ±	CV %	Мини-мум	Макси-мум	Перенос	Эксцесс распре-деления
BW[1](kg)	184	4.38	0.66	15.04	3.4	6.4	0.14	-0.42
WW(kg)	182	22.47	4.49	19.95	10.5	36.1	-0.37	2.26
6MW(kg)	190	32.70	5.48	16.77	20.2	48.5	0.45	0.06
9MW(kg)	190	36.92	5.68	15.38	25.1	55.3	0.16	-0.13
YW(kg)	186	42.06	6.24	14.84	28.3	61.2	0.33	0.04

[1]BW масса тела при рождении WW: набранный вес, 6MW: набранный вес в 6 месяцев, 9MW: набранный вес в 9 месяцев, YW: годовалый вес
SD.: стандартное отклонение, C.V.: коэффициент вариации

Средние показатели квадратов ± SE основных эффектов исследуемых особенностей, приведены в таблице 5. Зафиксированные факторы, оценивающие параметры роста были стадо: овец, пол, тип рождения, возраст матки, год и месяц рождения. Показатель роста в 3, 6, 9, 12 месяцев в виде линейной ковариации имеет значительное воздействие на WW, 6MW, 9MW и YW соответсвенно.

Зафиксированные эффекты пола, типа рождения и года рождения, оказывают существенное воздействие на исследуемые показатели. Самцы тяжелее самок и имеют больший темп роста ($P<0.01$). В основном это из-за физиологических различий между двумя полами, о чем сообщает по результатам исследований и Näsholm и Danell (1996). Масса тела одного рожденного ягненка было значительно тяжелее, чем у двойни или у тройни ($P<0.01$). Двойни были тяжелее, чем тройни ($P<0.01$), но не было никакого различия по живой массе годовалого возраста, однако различия между WW и 6 MBт зарегистрированы во время содержания овец на весенних и летних пастбищах. Отметим, что при необходимом количестве и качестве пастбищ, тройня может иметь компенсационный рост.

Таблица 5

Наименьшие средние квадратные показатели ± S.E.исследуемых особенностей с живой массой

Показатели	BW[¥] (kg)	WW (kg)	6MW (kg)	9MW (kg)	YW (kg)
Общее среднее	3.97±0.02	20.41±0.15	30.11±0.20	33.41±0.21	38.48±0.24
стадо	**	**	ns	ns	**
1	4.01^{a}±0.02	20.29^{a}±0.16	30.08^{a}±0.21	33.37^{a}±0.22	38.30^{a}±0.25
2	3.92^{b}±0.02	20.53^{b}±0.15	30.13^{a}±0.21	33.46^{a}±0.21	38.67^{b}±0.24
пол	**	**	**	**	**
самец	4.02^{a}±0.02	21.34^{a}±0.16	31.66^{a}±0.21	34.94^{a}±0.22	40.65^{a}±0.25
самка	3.85^{b}±0.02	19.49^{b}±0.16	28.56^{b}±0.21	31.88^{b}±0.22	36.31^{b}±0.25
Тип рождения	**	**	**	**	**
один	4.59^{a}±0.03	23.49^{a}±0.11	32.72^{a}±0.14	35.21^{a}±0.14	40.07^{a}±0.16
двойня	3.90^{b}±0.02	19.32^{b}±0.11	28.98^{b}±0.14	32.56^{b}±0.15	37.77^{b}±0.18
тройня	3.40^{c}±0.04	18.44^{c}±0.35	28.62^{b}±0.49	32.47^{b}±0.52	37.61^{b}±0.58
Возраст самки (год) *	**	**	**	**	**
2	3.68^{c}±0.02	19.84^{c}±0.16	29.60^{d}±0.21	33.08^{dc}±0.22	38.01^{c}±0.25
3	3.95^{b}±0.02	20.90^{a}±0.16	30.74^{a}±0.21	33.79^{cb}±0.22	38.76^{b}±0.25
4	4.03^{a}±0.02	21.04^{a}±0.16	30.77^{a}±0.21	34.16^{a}±0.22	39.13^{a}±0.25
5	4.05^{a}±0.02	20.90^{a}±0.17	30.69^{ab}±0.22	33.91^{ab}±0.23	38.74^{b}±0.27
6	4.06^{a}±0.02	20.75^{ab}±0.19	30.26^{bc}±0.26	33.43^{cd}±0.27	38.56^{b}±0.31
7	4.04^{a}±0.03	20.38^{b}±0.26	29.82^{cd}±0.33	33.31^{cd}±0.35	38.34^{bc}±0.40
8	3.97^{ab}±0.05	19.08^{d}±0.36	28.88^{d}±0.45	32.21^{e}±0.45	37.84^{c}±0.55
Месяц рождения	n. s.	**	**	**	*
январь	3.89^{a}±0.02	21.88^{a}±0.28	32.04^{a}±0.36	34.38^{a}±0.37	39.59^{a}±0.43
февраль	3.98^{b}±0.02	21.16^{b}±0.13	30.34^{b}±0.18	33.85^{a}±0.19	38.73^{b}±0.21
март	4.04^{c}±0.02	18.20^{c}±0.15	27.94^{c}±0.21	32.01^{b}±0.22	37.12^{c}±0.25
Год рождения	1966 - 2003				

* Показатели приведены как модель, взятых из банков данных по породе белучи

Средние показатели квадратов ± SE до и после набора роста белучих ягнят и их связь с IGF-I и ADRB3 геном, приведены в таблице 6.

Таблица 6

Среднии показатели квадратов ± SE до и после набора роста белучих ягнят и их связь с IGF-I и ADRB3 геном

Гены	Возраст[1]				
	BW	WW	6MW	9MW	YW
IGF-I	ns[2]	ns	ns	ns	ns
AA	2.30±0.34	21.28±1.18	29.18±1.76	31.87±1.44	39.69±1.65
AB	2.56±0.41	28.69±1.41	28.69±2.09	31.10±1.72	39.89±1.97
ADRB3	ns	ns	**	ns	ns
AA	2.42±0.20	20.97±1.25	30.20±1.85	31.34±1.52	39.90±1.74
AB	2.44±0.22	20.49±1.33	27.67±1.98	31.62±1.62	39.68±1.85

[1] Для сокращений особенностей см. примечание к таблице 4.

[2] *: $P<0,05$; **: $P<0,01$; и **ns** - не существенно ($P>0,05$)

У овец, полиморфизм ADRB3 и IGF-I генов, по сообщениям других авторов (Forrest и др., 2003;. Forrest и др., 2007), связана с массой тела при рождении, интенсивностью роста, телосложением и выживаемостью овец, однако в наших исследованиях (за исключением массы тела в 6 MB) не было значимой связи между изученными генами и исследованными особенностями роста. Общие предположения в животноводстве заключаются в том, что изменение количественных признаков, таких как рост или лактация молока контролируется многими генами. Как правило, каждый из этих генов имеет небольшой эффект. Тем не менее, основная модель генов предполагает, что несколько генов могут отвечать за относительно большую часть генетической изменчивости. Возможно, эти результаты показывают, что особенности роста контролируются большим количеством генов, поэтому отдельно взятый ген, не мог отвечать за изменения этих количественных признаков.

Анализ в рамках различных моделей. Сравнение моделей для определения наиболее подходящей модели для каждого признака проводилось с использованием информации критерий Акаика (АИК) теста (табл.7). Наиболее подходящей моделью для BW (модель 12) была модель, включающая прямую аддитивную генетику, материнскую аддитивную генетику, материнскую постоянную среду, общий эффект приплода с учетом ковариации между эффектами прямой аддитивной и материнской аддитивной генетики. Наиболее подходящей моделью для WW стала модель 10. В то время как наиболее подходящей моделью для 6 MB стала модель 5, а для 9MB и YW модель 1.

Таблица 7

АИК значения для исследуемых особенностей в рамках моделей различных животных (лучшие модели представлены жирным шрифтом)

Модели	Возраст¥				
	BW	WW	6MW	9MW	YW
Модель 1	-2278.98	38306.44	34081.22	**30346.26**	**28793.26**
Модель 2	-2628.82	38282.92	34075.82	30353.84	28797.44
Модель 3	-2562.38	38234.26	34021.46	30365.32	28808.78
Модель 4	-2768.74	38228.24	34022.86	30361	28800.9
Модель 5	-2545.98	38225.76	**34001.88**	30362.62	28812.04
Модель 6	-2776	38215.9	34010.6	30356.4	28801.44
Модель 7	-2565.6	38227.72	34006.82	30353.44	28804.44
Модель 8	-2789.04	38217.84	34007.56	30347.36	28794.04
Модель 9	-2588.06	38227.76	34006.26	30360.56	28809
Модель 10	-2793.8	**38210.28**	34007.68	30356.02	28801.06
Модель 11	-2605.8	38218.48	34003.24	30352.28	28802.94
Модель 12	**-2807.08**	38212.26	34004.66	30347.7	28794.72

¥ Для сокращений показателя особенностей см. примечание к таблице 4

Генетические оценки параметров. Оценка генетических параметров для исследуемых особенностей на основе лучшей модели в рамках одномерного анализа представлены в таблице 8.

Прямая наследуемость для BW, WW, 6MW, 9MW и YW оценивались 0.34, 0.09, 0.06, 0.27 и 0.29 соответственно. Материнская наследуемость была значимой для BW (0.12), WW (0.06) и 6MW (0.12).

Материнское постоянное воздействие на окружающую среду была только значимым для BW, WW и приводит к оценкам 0.06 и 0.04. Материнская постоянная дисперсия как доля фенотипической дисперсии C^2 имеет величину 0.22 и 0.06 для BW, WW соответственно.

Таблица 8

Оценки (ко) вариации компонентов а также генетических и негенетических параметров[1] ± SE для исследуемых признаков в рамках лучших моделей

Возраст ¥	Модели	σ_p^2	σ_e^2	σ_a^2	σ_m^2	σ_{pe}^2	σ_c^2	σ_{am}	$h^2 \pm$ S.E	$m^2 \pm$ S.E	$pe^2 \pm$ SE	$c^2 \pm$ S.E	r_{am}	h_t^2
BW	12	0.35	0.12	0.12	0.04	0.02	0.08	-0.03	0.34± 0.03	0.12± 0.02	0.06± 0.01	0.22± 0.02	-0.38	0.28
WW	10	14.25	10.64	1.25	0.88	0.58	0.89	-	0.09± 0.02	0.06± 0.01	0.04± 0.01	0.06± 0.01	-	0.12
6MW	5	19.44	16.06	1.08	2.30	-	-	-	0.06± 0.01	0.12± 0.01	-	-	-	0.11
9MW	1	19.72	14.23	5.49	-	-	-	-	0.27± 0.03	-	-	-	-	0.27
YW	1	24.74	17.47	7.26	-	-	-	-	0.29± 0.03	-	-	-	-	0.29

[1] σ_p^2: фенотипическая дисперсия σ_e^2: остаточная дисперсия; σ_a^2:прямая добавка генетических отклонений; σ_m^2 :материнская добавка генетических отклонений; σ_{pe}^2 :постоянная дисперсия материнской среды; σ_c^2 : общая дисперсия приплода; σ_{am} : ковариация между прямыми и материнскими адитивными генетическими эффектами; h^2 : прямая наследственность; m^2 : материнская наследственность; pe^2 : показатель эффекта материнской постоянной среды по отношению к фенотипичной дисперсии; c^2 : показатель общего эффекта приплода по отношению к фенотипичной дисперсии ; SE: стандартная ошибка ог; h_t^2 =общая наследственность $= (\sigma_a^2 + 0.5\sigma_m^2 + 1.5\sigma_{am}) / \sigma_p^2$

¥ Для сокращений показателя особенностей см. примечание к таблице 4

ВЫВОДЫ

1. Результаты настоящего исследования показали отсутствие генетического полиморфизма локусов в $FecX^{L}$ BMP-15 гена у овец породы белучи
2. После PCR-SSCP, в интронной части ADRB3 наблюдались только полосы модели. По-видимому это связано с породными особенностями, используемые для изучения этого гена.
3. Результаты исследований в рамках породы овец белучи, показали, что основная связь между ADRB3 геном и исследованным показателем роста наблюдается в 6 месячном возрасте.
4. Это первые данные относительно мутации в гене ADRB3 иранской породы овец белучи. В дальнейших исследованиях, обнаруженное изменение в локусе ADRB3 может помочь в вопросах генетической селекции.
5. Результаты настоящего исследования показали, что существуют два аллеля и два генотипа в IGF-I генного экзона 3 в иранской породы овец белучи, однако значимой связи между этим геном и показателем роста не установлено.
6. Новый SNP был обнаружен в экзоне 2 IGF-I. Это были первые данные IGF-I гена в международном геноме овец.
7. Учитывая фенотипические данные этой породы, полученный результат показывает, что генетический фактор, ответственный за признаки роста не связан с данными мутированных аллелей в основном гене IGF-I, что дает возможность исследовать другие гены породы.
8. Оценки генетических тенденций показывают, что во всех изученных признаках выявлены положительные генетические улучшения, которые указывают на то , что процесс селекции будет эффективным.
9. Данные исследования показывают, что эффективные программы разведения овец могут способствовать значительного прогресса в генетических достижениях показателя массы тела, а также важность материнского эффекта в точной генетической оценке массы тела ягнят, особенно в более позднем периоде развития (9MW and YW)
10. Результаты показали исключительную важность материнского эффекта в точной генетической оценке массы тела ягненка от рождения до 6-месячного возраста, а положительные связи между исследуемыми показателями позволяют предположить, что такая стратегия выбора приведет к улучшению показателей исследований.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. С целью стимулирования роста и развития овец, предлагается внедрить в производство метод геномной селекции, что предопределит будущие показатели мясной продуктивности овец породы белучи.
2. Методы PCR-SSCP с использованием маркерной селекции (MAS), предлагается использовать при разведении овец породы белучи путем интрогресии основных генов.
3. Дальнейшие исследования должны быть направлены на другие локусы гена BMP-15, или связанных с плодовитостью других генов, с ипользованием большого количества образцов.

Список работ, опубликованных по материалам диссертации

1. Gholibeikifard A. Study of BMP-15 gene polymorphism and its association with Litter Size in Iranian Bluchi sheep breed by PCR-SSCP technique // Агронаука.- 2012, № 1-2.- P. 98-102.
2. Gholibeikifard A., Sargsyan R. Evaluation of IGF-I gene polymorphism in Iranian Baluchi sheep breed by PCR-SSCP method // Агронаука.- 2011, № 11-12.- P. 634-638.
3. Gholibeikifard A., Sargsyan R. Application of molecular markers and candidate gene for selection and Improvement of Livestock Production // Агронаука.- 2012, № 1-2.- P. 93-98.
4. Gholibeikifard A., Gasparyan G. Polymorphism of the ovine β_3-adrenergic receptor (ADRB3) gene and its association with growth traits in Iranian Baluchi sheep breed // Известия ГАУА.- 2012, № 2.- P.60-64.

ABOLFAZL GHOLIBEIKIFARD

THE STUDY OF IGF-I, ADRB3 AND BMP-15 GENES POLYMORPHISM AND THEIR ASSOCIATIVE EFFECT ON THE PRODUCTIVE AND REPRODUCTIVE TRAITS OF IRANIAN BALUCHI SHEEP BREED.

SUMMARY

Sheep breeding is the major activity in the Iran animal production and is very important for the rural economy as well as its constitutes the most important part of Iranian livestock industry. There are more than 50 million heads of sheep of more than twenty breeds are produced in Iran.

Baluchi sheep is the most common native breed of sheep in Iran, comprising 30% of the sheep population. This breed is fat-tailed and native to the eastern part of the country, which have a dry and hot climate. This breed is fat-tailed.

For the past forty years, animal breeding and genetic improvement has been achieved by selection based on phenotype information, this method has a lot disadvantage. Recently, Marker/Gene Assisted Selection (MAS or GAS) have been developed.

The β3 adrenergic receptor (ADRB3) belong to the R7G super-family of G-protein coupled receptors and plays a pivotal role in the regulation of energy metabolism in mammals. In sheep, intronic polymorphism of the ADRB3 gene has been reported to be associated with birth weight, growth rate, carcass composition, cold survival and lamb survival. Insulin-like growth factors one (IGF-I) plays a key role in cell differentiation, embryogenesis, growth and regulation of metabolism. Due to its important roles in animals growth, IGF-I is an important candidate gene for growth traits in agricultural animals. Bone morphogenetic protein 15 (BMP-15) is a member of the transforming growth factor beta (TGF-ß) superfamily, is specifically expressed in oocytes and is essential for sheep prolificacy. Reported mutations in this gene cause increased ovulation rate and infertility in a dosage-sensitive manner. This research was designed to study the incidence of mutation in three loci of BMP-15 (Exon 2), IGF-I (Exon 2) and ADRB3 (Intron) genes and their association with body weight and litter size traits in Baluchi sheep population.

Venous jugular blood samples (5 ml) were initially taken from 200 animals using vacuum tubes treated with 0.25% ethylenediaminetetracetic acid (EDTA), in Abbasabad Sheep Breeding Station, located northeast of Mashhad, Iran. The collected blood samples were transferred to the laboratory using cooling chain and stored at -20°C. Genomic DNA was extracted from whole blood samples by using a commercially available kit (Diatom of Isogene Lab.ltd Co., Moscow, Russia). The quality and quantity of the extracted DNA was checked by spectrophotometer and agarose gel electrophoreses. After DNA extraction, specific primers were designed to amplify one region of IGF-1 gene corresponded to the GenBank accession number X69473.1, one region of ADRB3 gene with accession number AF109928 and one

region of BMP-15 gene corresponded to the GenBank accession number AH009593.1. The primers were designed using the Primer Premier 5.0 software (http://www.premierbiosoft.com/).

The polymerase chain reaction (PCR) was carried out by Biometra PCR machine with the specially condition and the fragment of ADRB3 (374 bp), IGF-I (302 bp) and BMP-15 genes has been successfully amplified.

PCR-SSCP (single strand conformation polymorphism) were used with the specially condition to detect polymorphism of mentioned genes. Two banding patterns were detected for IGF-I and ADRB3 loci and all individuals were found to be as non-carriers for BMP-15 (FecXL) mutations.

In ADRB3 gene, the allele frequencies for the A and B were 0.93 and 0.07, respectively, and the genotype frequencies for AA, AB and BB patterns were 0.85, 0.15 and 0.00 respectively.

For the IGF-I gene, the allele frequencies for the A and B were 0.95 and 0.05, respectively, and the genotype frequencies for AA, AB and BB patterns were 0.90, 0.10 and 0.00 respectively.

The values from the chi-square (χ^2) test for genotype frequencies found here indicated that all of the studied loci from this two genes are in Hardy-Weinberg equilibrium.

The results obtained after SSCP analysis were confirmed by DNA sequencing or SNP (single nucleotide polymorphism) 5, 10 and 10 randomly chosen DNA samples for BMP-15, IGF-I and ADRB3, respectively.

Three SNP changes were observed in ADRB3, two SNP changes in IGF-I and one SNP change was observed in BMP-15. A novel SNP was revealed in exon 2 of IGF-I and intron of ADRB3, which was the first report in the international sheep genome for this genes. The effects of IGF-I and ADRB3 polymorphisms on the corrected phenotypes for body weight at birth (BW), weaning (WW), 6 months of age (6MW), 9 months of age (9MW) and 12 months age or yearling weight (YW) were examined using least square methods and analyses were conducted with general linear model (GLM) procedure of JMP 7.0 (SAS, 2007). No significant association was found between the polymorphisms of IGF-I with body weights. The effect of the ADRB3 gene was significant ($P<0.01$) only for 6 month of age (AA, 30.20±1.85 kg/day; AB, 27.67±1.98 kg/day; $P<0.01$).

ԱԲՈԼՖԱԶԼ ՂՈԼԻԲԵՅԿԻՖԱՐԴ

IGF-I, ADRB3 ԵՎ BMP-15 ԳԵՆԵՐԻ ՊՈԼԻՄՈՐՖԻԶՄԻ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒՄԸ ԵՎ ԴՐԱՆՑ ԱՍՈՑԻԱՏԻՎ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ԻՐԱՆԱԿԱՆ ԲԵԼՈՒՉԻ ՈՉԽԱՐԻ ՑԵՂԻ ՄԹԵՐԱՑՈՒ ԵՎ ՎԵՐԱՐՏԱԴՐԱԿԱՆ ՀԱՏԿԱՆԻՇՆԵՐԻ ՎՐԱ

ԱՄՓՈՓԱԳԻՐ

Իրանի անասնաբուծության մեջ կարևորագույն բնագավառ է համարվում ոչխարաբուծությունը, ինչը էական նշանակություն ունի երկրի տնտեսության համար: Իրանում բուծում են 27 ցեղի ոչխար, ինչը կազմում է ավելի քան 50 մլն գլուխ: Ոչխարների բելուչի ցեղը ամենատարածվածն է Իրանում և կազմում է ընդհանուր գլխաքանակի 30%-ը: Այս ցեղը բուծվում է երկրի արևելյան շրջանում, որն ունի չոր և շոգ կլիմա: Վերջին 40 տարիների ընթացքում գենետիկայի զարգացմանը զուգահեռ անասնաբուծությունը վերելք է ապրել, շնորհիվ ֆենոտիպային սելեկցիայի, սակայն այս մեթոդն ունի շատ թերություններ: Այս բացը լրացնում է վերջերս ձևավորված Մարկերային/Գենային սելեկցիան (MAS կամ GAS):

β3 ադրենառեցեպտորը (ADRB3) պատկանում է G-սպիտակուցային զուգորդված ընկալիչների R7G ընտանիքին և խաղում է առանցքային դեր կաթնասունների նյութափոխանակության կարգավորման մեջ: Ոչխարների մոտ ADRB3 գենի ինտրոնի պոլիմորֆիզմը կապված է նորածին կենդանու քաշի, աճի պարամետրերի և մարմնի կառուցվածքի, ինչպես նաև ցրտադիմացկունության հետ: Ինսուլինանման աճի գործոններից IGF-I առանցքային դեր է խաղում բջջի տարբերակվածության, էմբրիոգենեզիսի, աճի և նյու-թափոխանակության կարգավորման մեջ:

Կենդանիների աճի ժամանակ IGF-I-ը կարևոր թելքնածու-գեն է, որը պատասխանատու է գյուղատնտեսական կենդանիների աճի համար: Մորֆոգենիկ սպիտակուց 15-ը (BMP-15), կարևոր դեր է խաղում ոչխարների պտղաբերության հարցում: Այս գենում տեղի ունեցող մուտացիաները նպաստում են օվուլյացիայի արագությանը և պտղաբերության զարգացմանը: Այս հետազոտությունը նպատակ ունի ուսումնասիրել մուտացիաների հաճախականությունը BMP-15 (Exon 2), IGF-I (Exon 2) եւ ADRB3 (Intron) գեներում եւ դրանց կապը մարմնի քաշի եւ պտղի չափսի հետ բելուչի ցեղի ոչխարների մոտ:

Նախնական փուլում 200 ոչխարից վերցրել ենք արյան նմուշ (5 մլ)՝ 0.25 տոկոս էթիլենդիամինտետրացետիկ թթու պարունակող վակուումային փորձանոթներով: Աշխատանքները իրականացվել են Մաշհադ քաղաքի <<Աբբասաբադ>> ոչխարաբուծարանում: Ստացված արյան նմուշները տեղափոխվել են լաբորատորիա և պահպանվել են -20°C պայմաններում: Արյան նմուշից անջատել ենք գենոմիկ ԴՆԹ՝ օգտագործելով հատուկ կոմերցիոն պարկեր (Diatom of Isogene Lab.ltd Co., Մոսկվա, Ռուսաստան): Ստացված ԴՆԹ-ի քանակը և որակը

ստուգվել է սպեկտրաֆոտոմետրի և էլեկտրաֆորեզի օգնությամբ: ԴՆԹ ստանալուց հետո նախագծել ենք հատուկ պրայմերներ՝ բազմապատկելու IGF-I գենը, որը համապատասխանում է Գեների բանկի X69473.1 համարին, ինչպես նաև ADRB3 գենը՝ AF109928 համարով, BMP-15 գենը՝ AH009593.1 համարով: Պրայմերները նախագծվել են Primer, Premier 5.0 համակարգչային ծրագրով (http://www.premierbiosoft.com/):

Պոլիմերային շղթայական ռեակցիան իրականացվել է Biometra PCR սարքի օգնությամբ, որտեղ հատուկ պայմաններում ADRB3 (374 bp), IGF-I (302 bp) և BMP-15 գեները հաջողությամբ բազմապատկվել են:

PCR-SSCP–ը օգտագործվել է նշված գեների պոլիմորֆիզմը հայտնաբերելու համար: Երկու գծային մոդելներ հայտնաբերվել են IGF-I և ADRB3-ում, նաև հայտնաբերվել է, որ բոլոր առանձին տարրերը BMP-15-ի (FecXL) մուտացիաների կրիչ չեն:

IGF-I locus-ի AA, AB հաճախականությունները կազմում են 0.90, 0.11: ADRB3-ի պարագայում երկու մոդելները համապատասխանում էին AA (0.93) և AB (0.07) ցուցանիշներին: Երեք SNP փոփոխություններ են նկատվում ADRB3-ում, երկու SNP փոփոխությունները IGF-I-ում եւ մեկ SNP փոփոխություն՝ BMP-15-ում:

IGF-I-ի exon 2-ում բացահայտվել է նոր SNP, որը IGF-I-ի գենի մեջ առաջին անգամ էր գրանցվել:

Հետազոտել ենք IGF-I-ի և ADRB3 պոլիմորֆիզմի ազդեցությունը նորածնի մարմնի քաշի (BW), այնուհետև 3 (WW), 6 (6MW) եւ 9 ամսվա ընթացքում քաշի (9MW), ինչպես նաև 12 ամսական կենդանու քաշի (YW) վրա՝ օգտագործելով նվազագույն քառակուսու մեթոդները:

Հայտնաբերվել է, որ ADRB3 AA գենոտիպը դրական ազդեցություն ունի 6MW վրա, այսինքն՝ 6 ամսականում կենդանի զանգվածի վրա (AA 30,20 ± 1,85 կգ և AB 27,67 ± 1,98 կգ):

Ուսումնասիրությունները ցույց են տալիս, որ ոչխարի ընտրությունը գենոմային սելեկցիայի օգտագործմամբ նրա աճի և զարգացման կարևոր բացահայտում է, որը և կբարձրացնի մսի արտադրությունը Իրանի Իսլամական Հանրապետությունում: