



ارزیابی تنوع ژنتیکی در جوجه‌گوشتی نژاد راس ۳۰۸ با استفاده از نشانگر ریزماهواره LEI0258

افرا وطنخواه^۱، غلامرضا نیکبخت‌بروجنی^۲، عاطفه اسماعیل‌نژاد^۳، پریسا میرزایی^۱

^۱ دانش آموخته دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران

^۲ گروه میکروبیولوژی و ایمنولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران

^۳ گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

تاریخ دریافت: ۳۰ خرداد ماه ۱۴۰۱، تاریخ پذیرش: ۱ شهریور ماه ۱۴۰۱

doi 10.22059/jvr.2022.326479.3173

20.1001.1.20082525.1401.77.3.6.5

چکیده

زمینه مطالعه: مجتمع عمده پذیرش بافتی (MHC) مولکول‌های بسیار متغیری را کدگذاری می‌کند که بیشتر آن‌ها مسئول تشخیص پادگن و فعال شدن پاسخ‌های ایمنی در میزبان هستند. یک نشانگر ژنتیکی مناسب برای تعیین هاپلوتیپ‌های MHC و تنوع ژنتیکی در طیور ریزماهواره LEI0258 است که در ناحیه MHC طیور قرار دارد.

هدف: با توجه به این‌که تاکنون گزارشی مبنی بر فراوانی و انواع آل‌های MHC و تحلیل ژنتیک جمعیت در طیور راس ۳۰۸ ایران در دست نیست، لذا هدف از مطالعه حاضر بررسی تنوع هاپلوتیپ‌های MHC جوجه‌های گوشتی نژاد راس ۳۰۸ توسط ریزماهواره LEI0258 است.

روش کار: تعداد ۲۱۶ نمونه خون از دو گله مولد جوجه گوشتی نژاد راس ۳۰۸ تهیه شد. پس از استخراج DNA از نمونه‌های خون و افزودن سازی آل‌های ریزماهواره LEI0258، ژنوتایپینگ هاپلوتیپ‌های MHC با استفاده از روش‌های آگارز ژل الکتروفورز و تحلیل قطعات (Fragment analysis) انجام شد.

نتایج: در مجموع ۷ آل و ۲۱ ژنوتیپ ریزماهواره LEI0258 در دو جمعیت شناسایی شدند. بیشترین فراوانی متعلق به آل ۳۸۵ جفت باز (۴۲/۸۶ درصد) و کمترین فراوانی متعلق به آل ۳۰۰ جفت باز (۴/۳۳ درصد) بود. همچنین هتروزیگوت ۲۰۷/۳۸۵ ژنوتیپ غالب در هر دو جمعیت بود. در تحلیل ماتریکس تشابه، ۸۴/۵۶ درصد تشابه بین دو جمعیت مشاهده شد.

نتیجه‌گیری نهایی: نتایج حاصل از مطالعه حاضر سطح بالایی از هتروزیگوسیتی (۸۵/۷۱ و ۹۱/۳۵ درصد) و انحراف از تعادل هاردی-وینبرگ ($P < 0.0001$) را در هر دو جمعیت جوجه‌های گوشتی راس ۳۰۸ نشان داد. جمعیت‌های راس ۳۰۸ در مقایسه با جمعیت‌های بومی از تنوع آلی کم و تشابه ژنتیکی بالایی برخوردارند. این نتایج اطلاعات بیشتری در جهت استفاده از MHC به عنوان یک نشانگر ژنی برای حفظ منابع و بهبود ژنتیکی در جمعیت جوجه‌های گوشتی فراهم می‌کند.

کلمات کلیدی: پلی‌مورفیسم، جوجه گوشتی، ریزماهواره، مجتمع عمده پذیرش بافتی، LEI0258

کپی‌رایت © تحقیقات دامپزشکی: دسترسی آزاد؛ کپی‌برداری، توزیع و نشر برای استفاده کامل با ذکر منبع آزاد است.

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

نویسنده مسئول: غلامرضا نیکبخت‌بروجنی، گروه میکروبیولوژی و ایمنولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران

مقدمه

۱۷ و در ماکیان در میکروکروموزوم ۱۶ قرار دارد. نامگذاری کلی پروتئین‌های MHC نیز در بین گونه‌های مختلف متفاوت است چنانچه در انسان Human leukocyte antigen (HLA)، در موش H-2 و در ماکیان مجتمع B نامیده می‌شود (۲). MHC دارای ۳ دسته جایگاه ژنتیکی است که با توجه به ماهیت و نقشی که ایفا می‌کنند به سه کلاس I، II و III طبقه بندی می‌شوند.

تمام مهره‌داران به جز ماهیان فاقد آرواره دارای ژن‌های Major histocompatibility complex (MHC) یا مجتمع عمده پذیرش بافتی هستند. این ناحیه ژنتیکی توسط Peter Gorer در سال ۱۹۳۶ که بر روی آنتی‌ژن‌های گروه‌های خونی موش کار می‌کرد شناسایی شد (۱). جایگاه ژن‌های MHC در گونه‌های مختلف متفاوت است و در انسان در کروموزوم ۶، موش کروموزوم

حضور یابند. از آنجایی که در تمام دستگاه B این عدم تعادل پیوستگی وجود دارد، نشانگری که در این ناحیه یا یک مکان دیگر از کروموزوم ۱۶ واقع شده باشد، بسیار مفید و کارآمد خواهد بود و امکان تحقیقات بیشتری در رابطه با MHC و کروموزوم ۱۶ را فراهم خواهد ساخت (۱۷). در نتیجه با توجه به این که در غالب موارد ارتباط مستقیمی بین یک آلل ریزماهواره LEI0258 و یک هاپلوتیپ خاص از MHC وجود دارد پس این ریزماهواره برای تایپینگ هاپلوتیپ‌های MHC در طیور مفید است (۱۷). مناسب بودن این مارکر برای تجزیه و تحلیل تنوع ژنتیکی ناحیه MHC در جمعیت‌های مختلف طیور در سراسر جهان نشان داده شده است (۲۳-۱۶).

مطالعات نشان می‌دهند که علاوه بر نقش بسیار ارزشمند ریزماهواره LEI0258 در تعیین ژنوتیپ‌های MHC، تعدادی از آلل‌های این ریزماهواره با برخی پارامترهای مربوط به سلامتی از جمله پاسخ پادتن علیه واکسن نیوکاسل، انگل‌های دستگاه گوارش، وزن بدن و صفات تولیدی در ارتباط هستند (۲۷-۲۴، ۲۱، ۱۱). در نتیجه می‌توان از این ریزماهواره جهت حفظ و انتخاب این صفات ارزشمند در برنامه‌های اصلاح‌نژادی استفاده کرد. هدف از مطالعه حاضر شناسایی هاپلوتیپ‌ها و تنوع MHC با استفاده از نشانگر LEI0258 در دو جمعیت مختلف جوجه‌گوشتی راس ۳۰۸ است.

مواد و روش کار

نمونه‌گیری و استخراج DNA: در مطالعه حاضر از تعداد ۲۱۶ قطعه جوجه‌گوشتی سویه تجاری راس ۳۰۸ استفاده شد. ۱۱۲ جوجه از یک گله مولد و ۱۰۴ جوجه از گله مولد دیگری تهیه شدند. ۱ الی ۱/۵ میلی‌لیتر خون از ورید بالی هر جوجه اخذ شد. نمونه‌های خون در تیوب‌های واجد ماده ضد انعقاد EDTA جمع‌آوری و تا زمان استخراج DNA در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. استخراج DNA با استفاده از کیت تجاری iNtRON Biotechnology Genomic DNA Extraction kit و طبق پروتکل کیت صورت گرفت.

سنجش کیفیت DNA استخراج شده: پس از استخراج DNA نمونه‌های خون، کیفیت نمونه‌ها توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر T70+UV/VIS (مورد بررسی قرار گرفت PG Instruments, Lutterworth, United Kingdom).

مهم‌ترین نقش ژن‌های MHC عرضه پادگن به سلول‌های حساس به پادگن است. اعمال دیگر نظیر شناسایی و آماده‌سازی پادگن نیز بر عهده محصولات ژنی MHC است. مولکول‌های MHC کلاس I و II به پپتیدهایی با منشأهای متفاوت متصل می‌شوند. مولکول‌های MHC کلاس I به پپتیدهای مشتق از پروتئین‌های سیتوزولی یا داخل سلولی (آنتی‌ژن‌های درونزاد) متصل می‌شوند و آنتی‌ژن را به سلول‌های T سیتوتوکسیک عرضه می‌کنند. مولکول‌های MHC کلاس II به پپتیدهای مشتق از پروتئین‌های خارج سلولی که توسط فاگوسیتوز یا اندوسیتوز به داخل سلول آورده شده‌اند (آنتی‌ژن‌های برونزاد) متصل می‌شوند و آنتی‌ژن را به سلول‌های T کمکی عرضه می‌کنند (۳، ۱). برخلاف پستانداران که ژن‌های MHC در آن‌ها در یک منطقه ژنومی بزرگ قرار دارند و از اعضای مشابه چندین خانواده ژنی تشکیل شده‌اند، این منطقه در طیور کوچک‌تر و فشرده‌تر است. اندازه جایگاه B در طیور ۹۲ کیلو باز، شامل ۱۹ ژن و در حدود یک بیستم MHC انسان است. جایگاه B شامل ژن‌های کلاس I (B-F)، کلاس II (B-L) و کلاس IV (B-G) است (۴، ۲). این اندازه کوچک و سادگی MHC طیور و ارتباط قوی آلل‌های خاصی در لکوس B با مقاومت و حساسیت به بسیاری از بیماری‌های عفونی مهم، پاسخ به واکسن و صفات تولیدی سبب افزایش توجهات به این جایگاه ژنی برای مطالعه روند تکامل در سطح مولکولی و درک عملکرد تغییرات MHC در پدیده‌های ایمنی و غیر ایمنی شده است (۴-۵).

پلی‌مورفیسم در ناحیه MHC طیور توسط روش‌های مختلفی شناسایی می‌شود. یکی از این روش‌ها استفاده از ریزماهواره LEI0258 است که توسط McConnell و همکاران در سال ۱۹۹۹ شناسایی شد (۱۵). این ریزماهواره تترانوکلئوتیدی است و در جایگاه ژنی B ماکیان بین ژن‌های BF و BG واقع شده است (تصویر ۱) (۱۶). ریزماهواره LEI0258 اولین بار توسط Fulton و همکاران در سال ۲۰۰۶ برای تعیین هاپلوتیپ‌های طیور مورد استفاده قرار گرفت (۱۷). ریزماهواره LEI0258 به دلیل داشتن آلل‌های زیاد و همچنین دامنه وسیع اندازه آلل‌های آن بسیار جالب توجه است و تفاوت چشمگیر اندازه آلل‌های این ریزماهواره به آسانی توسط یک الکتروفورز ساده قابل جداسازی و تشخیص است. همچنین این ریزماهواره در عدم تعادل پیوستگی با آلل‌های MHC است. عدم تعادل پیوستگی معرف یک ارتباط غیر تصادفی از آلل‌ها در دو یا چند جایگاه ژنتیکی پیوسته است. به عبارت ساده‌تر برخی از آلل‌ها بیشتر تمایل دارند که همراه یکدیگر در یک هاپلوتیپ

جدول ۱. توالی پرایمرهای واکنش زنجیره‌ای پلیمرز استفاده شده جهت افزودن‌سازی ژن LEI0258.

تعداد باز	توالی الیگونوکلوئیدی	پرایمر
۲۲	5'-CACGCAGCAGA ACTTGGTAAGG-3'	pF
۲۲	5'-AGCTGTGCTCAGTCC TCAGTGC-3'	pR

جدول ۲. فراوانی آلل‌های ریزماهواره LEI0258 در دو جمعیت طیور گوشتی راس ۳۰۸.

جمعیت	آلل (جفت‌باز)	فراوانی	فراوانی (درصد)
۱ (۱۱۲ نمونه)	۱۹۵	۱۶	۷/۱۴
	۲۰۷	۴۱	۱۸/۳
	۳۰۰	۱۶	۷/۱۴
	۳۶۲	۳۰	۱۳/۳۹
	۳۸۵	۹۶	۴۲/۸۶
مجموع	۴۴۸	۲۵	۱۱/۱۶
	۶	۲۲۴	۱۰۰
	۱۹۵	۳۰	۱۴/۴۲
	۲۰۷	۶۷	۳۲/۳۱
	۳۰۰	۹	۴/۳۳
۲ (۱۰۴ نمونه)	۳۶۲	۳۱	۱۴/۹۰
	۳۸۵	۴۷	۲۲/۶۰
	۴۴۸	۱۷	۸/۱۷
	۲۶۳	۷	۳/۳۷
	۷	۲۰۸	۱۰۰

جدول ۳. فراوانی ژنوتیپ‌های LEI0258 مشاهده شده در دو جمعیت راس ۳۰۸.

ژنوتیپ	جمعیت ۱ (۱۱۲ نمونه)	جمعیت ۲ (۱۰۴ نمونه)
(۱۹۵/۲۰۷)	۶	۸
(۲۰۷/۲۰۷)	۰	۸
(۲۰۷/۳۰۰)	۰	۲
(۱۹۵/۳۶۲)	۲	۱۵
(۲۰۷/۳۶۲)	۰	۳
(۳۰۰/۳۶۲)	۲	۰
(۳۶۲/۳۶۲)	۱	۰
(۱۹۵/۳۸۵)	۸	۳
(۲۰۷/۳۸۵)	۲۷	۳۱
(۳۰۰/۳۸۵)	۹	۲
(۳۶۲/۳۸۵)	۱۷	۷
(۳۸۵/۳۸۵)	۱۵	۰
(۱۹۵/۴۴۸)	۰	۳
(۲۰۷/۴۴۸)	۸	۷
(۳۰۰/۴۴۸)	۵	۰
(۳۶۲/۴۴۸)	۷	۵
(۳۸۵/۴۴۸)	۵	۲
(۱۹۵/۲۶۳)	۰	۱
(۳۶۲/۲۶۳)	۰	۵
(۳۸۵/۲۶۳)	۰	۱
(۲۶۳/۲۶۳)	۰	۱

شماره دسترسی Z83781 بانک ژن) مورد استفاده قرار گرفتند (۱۵). توالی آغازگرهای رفت و برگشت در جدول ۱ نشان داده شده است.

الکتروفورز و آنالیز محصولات PCR: ۵ میکرولیتر از

محصول PCR با ۲ میکرولیتر از ۶x لودینگ بافر مخلوط و روی ژل آگاروز ۳ درصد با اختلاف پتانسیل ۶۰ ولت و ۲۵ میلی آمپر به مدت ۳ ساعت الکتروفورز شد. اندازه باندهای ایجاد شده در نتایج الکتروفورز بر اساس DNA مارکر ۵۰ جفت باز سنجیده شد. رنگ آمیزی با DNA Safe Stain (شرکت سیناکلون) انجام گرفت و تصاویر ژل‌ها با دستگاه ژل داک EBOX مدل Vilber VX5 (Lourmat, France) ثبت و اندازه هر کدام از محصولات PCR

غلظت DNA و جذب نوری ۲۶۰/۲۸۰ نانومتر جهت بررسی خلوص DNA مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. غلظت DNA در تمام نمونه‌ها بالای ۵۰ نانوگرم در میکرولیتر و جذب نوری نزدیک به ۱/۹ بود.

افزوده‌سازی آلل‌های ریزماهواره LEI0258: واکنش PCR

در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل ۲۰ نانوگرم DNA ژنومی، ۱۰ پیکومول از هر کدام از آغازگرهای LEI0258، ۱/۵ میلی مولار MgCl₂ و یک واحد آنزیم تک پلیمرز (Fermentas، آلمان) انجام شد. چرخه‌های دمایی شامل یک مرحله واسرشتگی اولیه ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ دقیقه، ۳۰ چرخه سه مرحله‌ای، شامل مرحله واسرشته‌سازی ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، مرحله اتصال ۶۳ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، مرحله بسط ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۰ ثانیه و در انتها یک مرحله بسط انتهایی ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه بود. آغازگرهای مورد استفاده برای افزودن‌سازی طبق گزارش McConnell و همکاران در سال ۱۹۹۹ (به

جدول ۴. هتروزیگوسیتی و هموزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار در دو جمعیت راس ۳۰۸.

Ne ^b	تعداد آلل	تعداد نمونه	هتروزیگوسیتی		هموزیگوسیتی	
			مورد مشاهده (درصد)	مورد انتظار (درصد)	مورد مشاهده (درصد)	مورد انتظار (درصد)
۰/۷۴۲۲	۶	۱۱۲	۷۴/۵۶	۸۵/۷۱	۲۵/۴۴	۱۴/۲۹
۰/۷۹۲۵	۷	۱۰۴	۷۹/۶۳	۹۱/۳۵	۲۰/۳۷	۸/۶۵

^b Ne = Effective number of alleles. ** Nei's (1973) expected heterozygosity

هتروزیگوسیتی (He) در هر جایگاه، بر اساس فرمول ارائه شده توسط Nei و همکاران در سال ۱۹۷۳ تعیین شد. انحراف از تعادل هاردی-وینبرگ (HWE) در هر جایگاه با استفاده از آزمون دقیق فیشر بررسی شد.

نتایج

در بررسی پلی مورفیسم جایگاه MHC جوجه گوشی راس ۳۰۸ در گروه اول (۱۱۲ نمونه) در مجموع ۶ آلل و در گروه دوم (۱۰۴ نمونه) در مجموع ۷ آلل متنوع از ریزماهواره LEI0258 در محدوده ۱۹۵ تا ۴۴۸ جفت باز شناسایی شد (جدول ۲). در گروه ۱ بیشترین فراوانی متعلق به آلل ۳۸۵ جفت باز (۴۲/۸۶ درصد) و آلل‌های ۱۹۵ و ۳۰۰ جفت باز کمترین فراوانی (۷/۱۴ درصد) را دارا بودند. با توجه به هم بارز بودن آلل‌های ریزماهواره از مجموع این ۶ آلل در گروه ۱ تعداد ۱۳ ژنوتیپ (۲ ژنوتیپ هموزیگوت و ۱۱ ژنوتیپ هتروزیگوت) مشاهده شد که ژنوتیپ ۲۰۷/۳۸۵ بیشترین فراوانی (۲۶/۱ درصد) و ژنوتیپ ۳۶۲/۳۶۲ کمترین فراوانی (۰/۸۹ درصد) را داشتند (جدول ۳). در گروه ۲ بیشترین فراوانی متعلق به آلل ۲۰۷ جفت باز (۳۲/۲۱ درصد) و آلل‌های ۲۶۳ و ۳۰۰ جفت باز به ترتیب با ۳/۳۷ و ۴/۳۳ درصد کمترین فراوانی را دارا بودند. از مجموع این ۷ آلل در این جمعیت تعداد ۱۷ ژنوتیپ (۲ ژنوتیپ هموزیگوت و ۱۵ ژنوتیپ هتروزیگوت) مشاهده شد که ژنوتیپ ۲۰۷/۳۸۵ بیشترین فراوانی (۲۸/۸۴ درصد) و ژنوتیپ‌های ۱۹۵/۲۶۳، ۲۶۳/۲۶۳ و ۲۶۳/۳۸۵ کمترین فراوانی (۰/۹۶ درصد) را داشتند (جدول ۳). میزان هتروزیگوسیتی و هموزیگوسیتی مورد انتظار و مشاهده شده در گروه‌های ۱ و ۲ در جدول ۴ آورده شده است. به‌طور کلی نتایج حاصل از مطالعه حاضر سطح بالایی از هتروزیگوسیتی (گروه اول ۸۵/۱۷ درصد و گروه دوم آنچه از یک ریزماهواره معمول انتظار می‌رود ۹۱/۳۵ درصد) و انحراف از تعادل هاردی-وینبرگ را در این دو

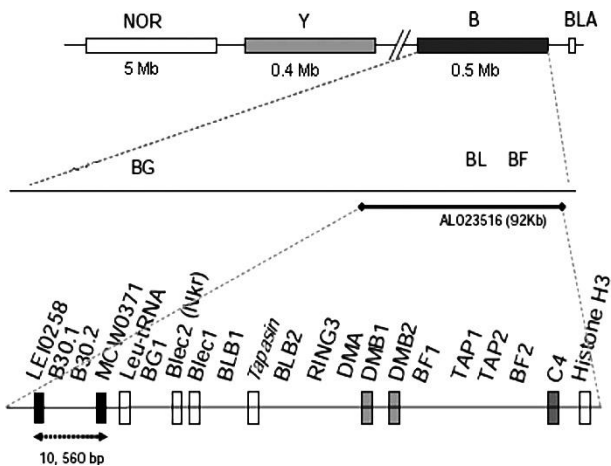
آلل‌های ریزماهواره) توسط نرم افزار دستگاه بر اساس جفت باز تعیین گردید. تمام نمونه‌ها با هم مقایسه و نمونه‌های مشابه مشخص گردیدند.

آنالیز قطعه‌ای آلل‌های ریزماهواره LEI0258:

آنجایی که ممکن است تفاوت اندازه برخی از آلل‌های ریزماهواره در حدی باشد که این تفاوت با الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۳ درصد قابل تشخیص نباشد. لذا برای تأیید نتایج به‌دست آمده از الکتروفورز و برای تفکیک دقیق‌تر آلل‌ها از یکدیگر از روش آنالیز قطعه‌ای نیز استفاده شد. جهت آماده‌سازی نمونه‌ها ابتدا پرایمر رفت ریزماهواره LEI0258 با رنگ فلورسنت 6-FAM نشاندار شده (رنگ به قسمت ۵' پرایمر متصل شد) و سپس واکنش PCR با شرایط مشابه مرحله قبل تکرار شد. به منظور انجام آنالیز قطعه‌ای، ۰/۵ میکرولیتر از محصول PCR با ۰/۵ میکرولیتر از نشانگر وزنی (Gene Scan 500 LIZ Size standard) (Applied Biosystems) GS500LIZ و ۹ میکرولیتر فرمامید (HiDi Formamide) ترکیب شده و ۳ دقیقه در ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. قطعات DNA تک رشته‌ای شده بلافاصله بر روی یخ انتقال داده شده و سپس با استفاده از دستگاه تعیین توالی ABI 3130 genetic analyzer تفکیک شدند (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). نتایج حاصل با استفاده از دو نرم افزار Peak scanner نسخه ۱/۰ و Gene marker نسخه ۱/۶ آنالیز شدند.

روش‌های تحلیل: تعداد آلل‌ها و ژنوتیپ‌های مشاهده

شده، فراوانی آلل‌ها و ژنوتیپ‌ها، محتوای اطلاعات پلی مورفیسم (PIC)، میزان هتروزیگوسیتی و هموزیگوسیتی مورد مشاهده و مورد انتظار برای هر ژن به‌طور جداگانه توسط نرم افزار POP GENE نسخه ۱/۳۲ مورد ارزیابی قرار گرفت. میزان تنوع ژنتیکی در جمعیت توسط دو پارامتر تعداد آلل (Na) و میزان

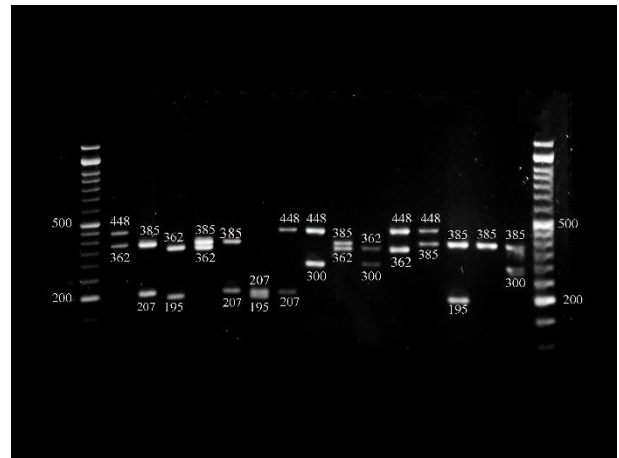


تصویر ۱. نمایی از محل قرارگیری ریزماهوره LEI0258 بر روی کروموزوم ۱۶ طیور در کنار خوشه ژنی MHC. اقتباس از Izadi et al. 2011.

یکی از روش‌های تقریباً نوین در این زمینه استفاده از ریزماهوره LEI0258 است. این ریزماهوره تنوع بسیار بیشتری از را نشان می‌دهد و علت این تنوع بالا ممکن است مربوط به این باشد که این ریزماهوره در ناحیه‌ای که ژن‌های MHC قرار دارند واقع شده است و می‌تواند تحت تأثیر بهگزینی تنوع دهنده (Diversifying selection) قرار گیرد. این نوع از انتخاب، تنوع را نه تنها در ژن‌های تحت تأثیر آن بلکه در نواحی مجاور هم ایجاد می‌کند (۱۷،۲۳).

سهولت استفاده، تنوع قابل تشخیص آلل‌های ریزماهوره LEI0258 و عدم تعادل پیوستگی‌اش با سایر آلل‌های MHC، امروزه این ریزماهوره را به مرکز توجهات جهت تایپینگ MHC طیور تبدیل کرده و تاکنون در بررسی تنوع MHC-B در نژادهای بومی و تجاری کشورهای مختلف از جمله چین، هند، ایران، کره، آرژانتین، تانزانیا، کامرون و نیجریه استفاده شده است (۱۶،۲۲،۲۳،۳۷-۳۹). در ایران تاکنون گزارشی مبنی بر تحلیل تنوع ریزماهوره LEI0258 برای سویه راس صورت نگرفته است. در مطالعه حاضر جهت شناسایی آلل‌های ریزماهوره LEI0258 از تکنیک آگارز ژل الکتروفورز و آنالیز قطعه‌ای استفاده شد. در مطالعات مشابهی در طیور بومی ایران، نیجریه و آرژانتین از آگارز ژل الکتروفورز و همچنین در مطالعات متعددی از روش آنالیز قطعه‌ای برای شناسایی آلل‌های ریزماهوره LEI0258 با موفقیت استفاده شده است (۲۱،۲۳،۳۰،۳۵).

Haunshi و همکاران در سال ۲۰۲۰ تنوع ژنتیکی MHC را در دو جمعیت طیور بومی هند (Nicobari و Ghagus) در مقایسه با نژاد White Leghorn (WLH) با استفاده از نشانگر LEI0258



تصویر ۲. تصویری از الکتروفورز آلل‌های مختلف ریزماهوره LEI0258 بر روی ژل آگارز ۳ درصد. مارکر ۵۰ جفت باز در ابتدای ژل استفاده شده است. این تصویر به عنوان یک نمونه‌ای از تصاویر است.

جمعیت نشان داد ($P < 0.0001$). تشابه ژنتیکی محاسبه شده بین دو جمعیت نیز ۸۴/۵۶ درصد بود. تصویر ۲ الکتروفورز آلل‌های مختلف ریزماهوره LEI0258 بر روی ژل آگارز ۳ درصد را نشان می‌دهد.

به‌طور کلی نتایج حاصل از تکنیک‌های آگارز ژل الکتروفورز و آنالیز قطعه‌ای با یکدیگر همخوانی داشتند.

بحث

تاکنون از روش‌های مختلفی جهت مشخص کردن هاپلوتیپ‌های MHC در طیور استفاده شده است. روش سرولوژی برای اولین بار توسط Briles و همکاران در سال ۱۹۸۲ استفاده شد (۲۸) ولی به علت مشکلاتی از جمله واکنش‌های پیچیده و احتمال خطای بالا، زمان‌بر بودن آزمایش و نبود آنتی‌سرم‌های مربوط به هاپلوتیپ‌های جدید، روش‌های مولکولی از جمله PCR-SSP و RFLP به مرور جایگزین این روش شدند؛ از مزایای روش‌های مولکولی، عدم نیاز به آنتی‌سرم‌های مخصوص است اما برای این روش‌ها نیز حضور پروب‌های خاص مربوط به ناحیه مورد مطالعه لازم و ضروری است و از سوی دیگر تنوع در سطح جمعیت مربوط به توالی‌های نوکلئوتیدی است که آنزیم‌های به کار رفته توانایی شناسایی و برش این توالی‌ها را داشته باشند. این تکنیک‌ها همیشه برای آزمایشگاه‌ها عملی نیستند و در تعداد زیاد نمونه کارایی لازم را نداشته و مقرون به صرفه نیز نیستند (۱۷،۲۰).

بیشتر است و در نتیجه افزایش تنوع به آن‌ها این امکان را می‌دهد که به پاتوژن‌های محیطی بیشتری پاسخ داده و بخت زنده‌مانی بیشتری داشته باشند. در حالی که طیور تجاری اغلب در شرایط بهداشتی و پرورشی دقیق به منظور بهبود صفات تولیدی قرار داشته و در این به‌گزینی، مقاومت در برابر بیماری‌ها انتخاب دوم است. جمعیت‌های تجاری تنوع ژنتیکی بسیار کمی داشته و آل‌های محدودتری از ریزماهوره LEI0258 در مقایسه با طیور بومی را نشان می‌دهند (۳۸). در این مطالعه در بررسی دو جمعیت طیور راس، در یک گروه آل ۲۶۳ جفت باز شناسایی نشد و در گروه دیگر نیز این آل کمترین فراوانی را داشت که این امر می‌تواند نشانه‌ای از کاهش تنوع در این جمعیت به علت از بین رفتن این آل نایاب باشد لذا ضروری است در مطالعات آتی این امر مورد توجه قرار گیرد.

نتیجه‌گیری نهایی: مطالعه حاضر با هدف ارزیابی تنوع آلی و ژنتیکی در دو جمعیت راس ۳۰۸ با استفاده از نشانگر LEI0258 انجام شده است. از ریزماهوره LEI0258 می‌توان به عنوان یک نشانگر DNA در مطالعات ایمنی‌شناسی، ژنتیکی و همچنین به عنوان یک روش مناسب برای تایپینگ MHC در طیور استفاده کرد. استفاده از این نشانگر برای طیور می‌تواند اطلاعات ارزشمندی در رابطه با تنوع و فراوانی آل‌های موجود در ذخایر ژنتیکی کشور به دست دهد و امکان مقایسه آن با سایر جمعیت‌های جهان را برای ما فراهم سازد. جمعیت‌های راس ۳۰۸ در مقایسه با جمعیت‌های بومی ایران از تنوع آلی کم و تشابه ژنتیکی بالایی برخوردارند. تنوع کم در آل‌ها نشان دهنده اصلاح نژاد و انتخاب پرنده به منظور تولید گوشت است که ممکن است به حساسیت به بیماری‌ها منجر شود. از سوی دیگر تشابه فراوانی آلی بین دو جمعیت حاکی از اجداد مشابه است که می‌تواند به دلیل انحصار تولید سویه راس رخ دهد. یافته‌های مطالعه حاضر اطلاعات بیشتری جهت معرفی آل‌های سویه راس و استفاده از MHC به عنوان یک نشانگر ژنی برای حفظ منابع و بهبود ژنتیکی در جمعیت جوجه‌های گوشتی فراهم می‌کند.

سپاسگزاری

نویسندگان از معاونت پژوهشی دانشگاه تهران و دانشکده دامپزشکی جهت تأمین اعتبار این مطالعه در راستای طرح پژوهشی مصوب به شماره ۳۹/۶/۷۵۰۲۰۱۵ قدردانی می‌کنند.

تعارض منافع

بین نویسندگان تعارض در منافع گزارش نشده است.

مورد بررسی قرار دادند. در نژادهای Ghagus، Nicobari و WLH به ترتیب ۲۳، ۱۴ و ۱۰ آل از این ریزماهوره شناسایی شد که از این میان، آل‌های ۱۹۵ و ۳۸۵ جفت باز که به ترتیب در Ghagus و WLH یافت شدند در مطالعه حاضر نیز شناسایی شدند (۲۱).

Duan و همکاران در سال ۲۰۱۹ توزیع آلی LEI0258 را در ۹ جمعیت مختلف jungle fowl به دست آوردند. در مجموع کل آل‌های شناسایی شده در این جمعیت‌ها، سه آل ۲۰۷، ۲۶۳ و ۴۴۸ جفت باز در مطالعه حاضر نیز شناسایی شدند (۱۹).

مطالعه دیگری توسط Ncube و همکاران در سال ۲۰۱۴ بر روی چهار جمعیت طیور روستایی آفریقای جنوبی، زیمباوه و مالاوی انجام شد. در مجموع ۲۲ آل در محدوده ۴۴۸-۱۸۸ جفت باز مشاهده شد و به طور متوسط ۱۲ آل در هر جمعیت تشخیص داده شد. در دو جمعیت مورد مطالعه از آفریقای جنوبی، آل ۴۴۸ جفت باز با درصد فراوانی کمتر از ۵ درصد شناسایی شد (۳۴). همچنین Touko و همکاران در سال ۲۰۱۵ نیز به بررسی تنوع ژنتیکی MHC-B طیور بومی کامرون از طریق تایپینگ مولکولی با نشانگرهای ریزماهوره LEI0258 و MCW0371 پرداختند، آل ۴۴۸ جفت باز برای ریزماهوره LEI0258 یافت شد (۳۷). در مطالعه حاضر نیز آل ۴۴۸ جفت باز شناسایی شد.

Mwambene و همکاران در سال ۲۰۱۹ مطالعه‌ای بر روی ۱۰ اکوتیپ بومی تانزانیا انجام دادند. از مجموع ۳۰ آل شناسایی شده، ۳۰۰ جفت باز در تمام جمعیت‌ها و آل ۳۸۵ جفت باز در هشت جمعیت مشاهده شدند و در مطالعه حاضر نیز این آل‌ها شناسایی شدند (۲۲).

اگرچه تعداد آل‌های مشاهده شده در مطالعه حاضر در محدوده تعداد آل‌های گزارش شده در سایر جمعیت‌های تجاری است، اما کمتر از تعداد آل‌هایی است که در جمعیت‌های طیور بومی کشورهای مختلف گزارش شده است. در مطالعه‌ای که توسط Nikbakht و همکاران در سال ۲۰۱۳ بر روی سه جمعیت مرندي، خراسان و آرين از ایران انجام شد، ۲۳ آل در جمعیت مرندي، ۱۵ آل در جمعیت خراسان و ۱۱ آل در جمعیت گوشتی آرين تشخیص داده شد (۲۳). همچنین در مجموع ۴۲، ۳۷ و ۳۰ آل از این ریزماهوره به ترتیب در طیور بومی کامرون، هند و تانزانیا گزارش شده است (۲۱، ۲۲، ۳۷). تنوع ژنتیکی بالاتر طیور بومی در مقایسه با طیور تجاری می‌تواند به این دلیل باشد که طیور بومی اغلب در شرایط آزاد نگهداری می‌شوند و تحت کنترل شدید برنامه‌های مدیریتی اصلاح نژاد نیستند. طیور بومی با پاتوژن‌های متعددی مواجه شده و شیوع بیماری‌ها در آن‌ها

References

- Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Major Histocompatibility Complex Molecules and Antigen Presentation to T Lymphocytes. In: Grulio R, Stingelin L. editors. 7th ed. Cellular and molecular immunology. Saunders Company. Philadelphia, USA. 2011. p. 109-138.
- Davison F. The Avian MHC. In: Schat KA, Kaspers B, Kaiser P. editors. 2nd ed. Avian Immunology. Academic Press. Cambridge, MA, USA. 2008. p.149-167.
- Delves PJ, Martin SJ, Burton DR, Roitt IM. Membrane receptors for antigen. In: Delves PJ, Martin SJ, Burton DR, Roitt IM. editors. 13th ed. Roitt's essential immunology. John Wiley & Sons, Ltd. Chichester, UK, 2017. p. 119-128.
- Afrache H, Tregaskes CA, Kaufman JA. Potential nomenclature for the immuno polymorphism database (IPD) of chicken MHC genes: progress and problems. Immunogenetics. 2020; 72(1): 9-24. doi: [10.1007/s00251-019-01145-6](https://doi.org/10.1007/s00251-019-01145-6) PMID: [31741010](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31741010/)
- Kaufman J. Generalists and specialists: a new view of how MHC class I molecules fight infectious pathogens. Trends Immunol. 2018; 39(5): 367-79. doi: [10.1016/j.it.2018.01.001](https://doi.org/10.1016/j.it.2018.01.001) PMID: [29396014](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29396014/)
- Miller MM, Taylor Jr RL. Brief review of the chicken major histocompatibility complex: the genes, their distribution on chromosome 16, and their contributions to disease resistance. Poult Sci. 2016; 95(2): 375-92. doi: [10.3382/ps/pev379](https://doi.org/10.3382/ps/pev379) PMID: [26740135](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26740135/)
- Mpenda F, Schilling M, Campbell Z, Mngumi E, Buza J. The genetic diversity of local African chickens: A potential for selection of chickens resistant to viral infections. J Appl Poul Res. 2019; 28(1): 1-12. doi: [10.3382/japr/pfy063](https://doi.org/10.3382/japr/pfy063)
- Mpenda FN, Tiambo CK, Juma J, Pelle R, Lyantagay SL, Buza J. Association of LEI0258 marker alleles and susceptibility to virulent Newcastle disease virus infection in Kuroiler, Sasso, and local Tanzanian chicken embryos. J Pathog. 2020; 2020. doi: [10.1155/2020/5187578](https://doi.org/10.1155/2020/5187578) PMID: [32328309](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32328309/)
- Nassar FS. Genetic diversity of the major histocompatibility complex by using LEI0258 microsatellite marker associated with productive performance and viral diseases in broiler breeders. Egypt Poult Sci J. 2021; 41(2): 279-97. doi: [10.21608/EPSJ.2021.182505](https://doi.org/10.21608/EPSJ.2021.182505)
- Nikbakht G, Esmailnejad A. Chicken major histocompatibility complex polymorphism and its association with production traits. Immunogenetics. 2015; 67(4): 247-52. doi: [10.1007/s00251-015-0832-7](https://doi.org/10.1007/s00251-015-0832-7) PMID: [25737311](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25737311/)
- Nikbakht G, Esmailnejad A, Khazeni ON. Study of the association of major histocompatibility complex with antibody response to vaccines in Khorasan native chickens. J Vet Res. 2015; 70(2): 163-170. doi: [10.22059/jvr.2015.53733](https://doi.org/10.22059/jvr.2015.53733)
- Psifidi A, Banos G, Matika O, Desta TT, Bettridge J, Hume DA, Dessie T, Christley R, Wigley P, Hanotte O, Kaiser P. Genome-wide association studies of immune, disease and production traits in indigenous chicken ecotypes. Genet Sel Evol. 2016; 48(1): 1-16. doi: [10.1186/s12711-016-0252-7](https://doi.org/10.1186/s12711-016-0252-7) PMID: [27687164](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27687164/)
- Psifidi A, Fife M, Howell J, Matika O, Van DP, Kuo R, Smith J, Hocking PM, Salmon N, Jones MA, Hume DA, Banos G, Stevens MP, Kaiser P. The genomic architecture of resistance to *Campylobacter jejuni* intestinal colonisation in chickens. BMC genomics. 2016; 17(1): 1-18. doi: [10.1186/s12864-016-2612-7](https://doi.org/10.1186/s12864-016-2612-7) PMID: [27090510](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27090510/)
- Silva AP, Gallardo RA. The chicken MHC: Insights into genetic resistance, immunity, and inflammation following infectious bronchitis virus infections. Vaccines. 2020; 8(4): 637. doi: [10.3390/vaccines8040637](https://doi.org/10.3390/vaccines8040637) PMID: [33147703](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33147703/)
- McConnell S, Dawson D, Wardle A, Burke T. The isolation and mapping of 19 tetranucleotide microsatellite markers in the chicken. Anim Genet. 1999; 30(3): 183-9. doi: [10.1046/j.1365-2052.1999.00454.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-2052.1999.00454.x) PMID: [10442979](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10442979/)
- Izadi F, Ritland C, Cheng K. Genetic diversity of the major histocompatibility complex region in commercial and noncommercial chicken flocks using the LEI0258 microsatellite marker. Poult sci. 2011; 90(12): 2711-7. doi: [10.3382/ps.2011-01721](https://doi.org/10.3382/ps.2011-01721) PMID: [22080008](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22080008/)
- Fulton JE, Juul-Madsen HR, Ashwell CM, McCarron AM, Arthur JA, O'Sullivan NP, Taylor Jr RL. Molecular genotype identification of the Gallus gallus major histocompatibility complex. Immunogenetics. 2006; 58(5): 407-21. doi: [10.1007/s00251-006-0119-0](https://doi.org/10.1007/s00251-006-0119-0) PMID: [16738938](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16738938/)
- Chang CS, Chen C, Berthouly-Salazar C, Chazara O, Lee Y, Chang C, Chang KH, Bed'Hom B, Tixier-Boichard MA. global analysis of molecular markers and phenotypic traits in local chicken breeds in Taiwan. Anim Genet. 2012; 43(2): 172-82. doi: [10.1111/j.1365-2052.2011.02226.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.2011.02226.x) PMID: [22404353](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22404353/)
- Duan X, Yang B, Na R, Han Y, Zeng Y. Genetic diversity pattern of the MHC-LEI0258 *Locus across* asian populations of chickens. Russ J Genet. 2020; 56(6): 725-33. doi: [10.1134/s1022795420060058](https://doi.org/10.1134/s1022795420060058)
- Emara M, Kim H, Zhu J, Lapierre R, Lakshmanan N, Lillehojt H. Genetic diversity at the major histocompatibility complex (B) and microsatellite loci in three commercial broiler pure lines. Poult sci. 2002; 81(11): 1609-17. doi: [10.1093/ps/81.11.1609](https://doi.org/10.1093/ps/81.11.1609) PMID: [12455584](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12455584/)
- Haunshi S, Devara D, Ramasamy K, Ullengala R, Chatterjee RN. Genetic diversity at major histocompatibility complex and its effect on production and immune traits in indigenous chicken breeds of India. Arch Anim Breed. 2020; 63(1): 173-82. doi: [10.5194/aab-63-173-2020](https://doi.org/10.5194/aab-63-173-2020) PMID: [32760784](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32760784/)
- Mwambene PL, Kyallo M, Machuka E, Githae D, Pelle R. Genetic diversity of 10 indigenous chicken ecotypes from Southern Highlands of tanzania based on major histocompatibility complex-linked microsatellite LEI0258 marker typing. Poult sci. 2019; 98(7): 2734-46. doi: [10.3382/ps/pez076](https://doi.org/10.3382/ps/pez076) PMID: [30877744](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30877744/)
- Nikbakht G, Esmailnejad A, Barjesteh N. LEI0258 microsatellite variability in Khorasan, Marandi, and Arian chickens. Biochem Genet. 2013; 51(5): 341-9. doi: [10.1007/s10528-013-9567-z](https://doi.org/10.1007/s10528-013-9567-z) PMID: [23340766](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23340766/)
- Lwelamira J, Kifaro G, Gwakisa P, Msoffe P. Association of LEI0258 microsatellite alleles with antibody response against Newcastle disease virus vaccine and body weight in two Tanzania chicken ecotypes. Afr J Biotechnol. 2008; 7(6). doi: [10.4314/AJB.V7I6.58502](https://doi.org/10.4314/AJB.V7I6.58502)
- Owen JP, Delany ME, Cardona CJ, Bickford AA, Mullens BA. Host inflammatory response governs fitness in an avian ectoparasite, the northern fowl mite (*Ornithonyssus sylviarum*). Int J Parasitol. 2009; 39(7): 789-99. doi: [10.1016/j.ijpara.2008.12.008](https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2008.12.008) PMID: [19367920](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19367920/)

26. Schou TW, Labouriau R, Permin A, Christensen JP, Sørensen P, Cu H, Nguyen VK, Juul-Madsen HR. MHC haplotype and susceptibility to experimental infections (*Salmonella Enteritidis*, *Pasteurella multocida* or *Ascaridia galli*) in a commercial and an indigenous chicken breed. *Vet Immunol Immunopathol.* 2010; 135(1-2): 52-63. doi: [10.1016/j.vetimm.2009.10.030](https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2009.10.030)
27. Schou TW, Permin A, Juul-Madsen H, Sørensen P, Labouriau R, Nguyen T, Fink M, Pham SL. Gastrointestinal helminths in indigenous and exotic chickens in Vietnam: association of the intensity of infection with the Major Histocompatibility Complex. *Parasitology.* 2007; 134(4): 561. doi: [10.1017/S0031182006002046](https://doi.org/10.1017/S0031182006002046) PMID: [17166322](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17166322/)
28. Briles WE, Briles RW. Identification of haplotypes of the chicken major histocompatibility complex (B). *Immunogenetics.* 1982; 15(5): 449-59. doi: [10.1007/bf00345904](https://doi.org/10.1007/bf00345904) PMID: [7106863](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7106863/)
29. Han B, Lian L, Qu L, Zheng J, Yang N. Abundant polymorphisms at the microsatellite locus LEI0258 in indigenous chickens. *Poult Sci.* 2013; 92(12): 3113-9. doi: [10.3382/ps.2013-03416](https://doi.org/10.3382/ps.2013-03416) PMID: [24235219](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24235219/)
30. Iglesias GM, Beker MP, Remolins JS, Canet ZE, Librera J, Cantaro H, Maizon DO, Fulton JE. MHC-B variation in maternal and paternal synthetic lines of the Argentinian Campero INTA chicken. *Poult Sci.* 2021; 101253. doi: [10.1016/j.psj.2021.101253](https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101253) PMID: [34217141](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34217141/)
31. Iglesias GM, Canet ZE, Cantaro H, Miquel MC, Melo JE, Miller MM, Berres ME, Fulton JE. Mhc-B haplotypes in "Campero-Inta" chicken synthetic line. *Poult Sci.* 2019; 98(11): 5281-6. doi: [10.3382/ps/pez431](https://doi.org/10.3382/ps/pez431) PMID: [31376352](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31376352/)
32. Kannaki T, Reddy M, Ravindra K, Chatterjee R. Genetic diversity analysis of the major histocompatibility complex (MHC) region in Indian native chicken breeds and pureline chickens using the LEI0258 microsatellite marker. *Indian J Anim Res.* 2017; 51(6): 998-1001. doi: [10.18805/ijar.v0iOF.6989](https://doi.org/10.18805/ijar.v0iOF.6989)
33. Manjula P, Fulton JE, Seo D, Lee JH. Major histocompatibility complex B variability in Korean native chicken breeds. *Poult Sci.* 2020; 99(10): 4704-13. doi: [10.1016/j.psj.2020.05.049](https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.05.049) PMID: [32988505](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32988505/)
34. Ncube K, Jooste P, Soma P, Dzomba E, Muchadeyi F. Polymorphism of the major histocompatibility complex and genetic structure of southern african village chicken populations. *Int J Poult Sci.* 2014; 13: 357-63. doi: [10.3923/ijps.2014.357.363](https://doi.org/10.3923/ijps.2014.357.363)
35. Olufowobi OT, Ilori BM, Olowofeso O, Sogunle OM, Omotoso AO. Genetic variation of the major histocompatibility complex-B haplotypes in Nigerian local chicken populations. *Agricultura Tropica et Subtropica.* 2020; 53(4): 175-81. doi: [10.2478/ats-2020-0017](https://doi.org/10.2478/ats-2020-0017)
36. Sartore S, Sacchi P, Soglia D, Maione S, Schiavone A, De Marco M, Ceccobelli S, Lasagna E, Rasero R. Genetic variability of two Italian indigenous chicken breeds inferred from microsatellite marker analysis. *Br Poult Sci.* 2016; 57(4): 435-43. doi: [10.1080/00071668.2016.1187714](https://doi.org/10.1080/00071668.2016.1187714) PMID: [27159279](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27159279/)
37. Touko BH, Keambou C, Han JM, Bembidé C, Skilton RA, Ogugo M, Manjeli Y, Osama S, Cho CY, Djikeng A. Molecular typing of the major histocompatibility complex B microsatellite haplotypes in Cameroon chicken. *Anim Genet Res.* 2015; 56: 47-54. doi: [10.1017/S2078633614000538](https://doi.org/10.1017/S2078633614000538)
38. Esmailnejad A, Nikbakhat G, Oskoui NK, Amini F. Allelic segregation of major histocompatibility complex using LEI0258 microsatellite marker in indigenous and commercial chickens. *J Vet Res.* 2015; 70(1). doi: [10.22059/jvr.2015.52978](https://doi.org/10.22059/jvr.2015.52978)



Evaluation of Genetic Diversity in Ross 308 Broiler Chicken using LEI0258 Microsatellite Marker

Afra Vatankhah^{1✉}, Gholamreza Nikbakht Brujeni^{2✉}, Atefeh Esmailnejad^{3✉}, Parisa Mirzai^{1✉}

¹ Graduated from the faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

¹ Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

² Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran

doi [10.22059/jvr.2022.326479.3173](https://doi.org/10.22059/jvr.2022.326479.3173)

Received: 20 June 2022, Accepted: 23 August 2022

Abstract

BACKGROUND: Major histocompatibility complex (MHC) encodes for highly variable molecules, most of which are responsible for foreign antigen recognition and activation of immune responses in the host. LEI0258 microsatellite, located in the poultry MHC region, is a suitable genetic marker for determining MHC haplotypes and genetic diversity in poultry.

OBJECTIVES: Considering the fact that there is no report on the frequency and types of MHC alleles and population genetic analysis in Ross 308 poultry in Iran, the present study aimed to investigate the diversity of MHC haplotypes of Ross 308 broilers by LEI0258 microsatellite.

METHODS: A total of 216 blood samples were collected from two productive herds of Ross 308 broilers. After extracting DNA of the blood samples and amplifying LEI0258 microsatellite alleles, genotyping of MHC haplotypes was performed using agarose gel electrophoresis and fragment analysis techniques.

RESULTS: A total of seven alleles and 21 genotypes were identified for LEI0258 microsatellite in these two groups. The highest and the lowest frequencies belonged respectively to allele 385 bp (42.86 %) and allele 300 bp (4.33 %). Heterozygous 207/385 was found to be the dominant genotype in both populations. According to the similarity matrix analysis, there was an 84.56 % similarity between the two groups.

CONCLUSIONS: The results obtained in this study revealed a high level of heterozygosity (85.71 % and 91.35 %) and deviation from Hardy–Weinberg equilibrium ($P < 0.0001$) in these two Ross 308 broiler populations. Ross 308 broiler chickens had lower allelic diversity and higher genetic similarity compared to the native ones. These findings provided additional information on the use of MHC as a candidate gene marker in genetic improvement and resource conservation in broiler populations.

Keywords: Broiler chicken, LEI0258, MHC, Microsatellite, Polymorphism

Copyright © 2020. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution- 4.0 International License which permits Share, copy and redistribution of the material in any medium or format or adapt, remix, transform, and build upon the material for any purpose, even commercially.

Corresponding author: Gholamreza Nikbakht Brujeni, Tel/Fax: 021-61117057

How to cite this article:

Vatankhah A, Nikbakht Brujeni G, Esmailnejad A, Mirzai P. Evaluation of Genetic Diversity in Ross 308 Broiler Chicken using LEI0258 Microsatellite Marker. J Vet Res, 2022; 77(3): 187-195.
doi: [10.22059/jvr.2022.326479.3173](https://doi.org/10.22059/jvr.2022.326479.3173)

Figure Legends and Table Captions

Table 1. Polymerase chain reaction (PCR) primers sequences used for amplification of LEI0258 gene.

Table 2. LEI0258 allele frequencies in two Ross 308 broiler chicken groups.

Table 3. LEI0258 genotype frequencies in two Ross 308 broiler chicken groups.

Table 4. Observed and expected heterozygosity and homozygosity in two Ross 308 broiler chicken groups.

Figure 1. Illustration of LEI0258 microsatellite located in MHC region on chicken chromosome 16; derived from Izadi et al. 2011.

Figure 2. Image of electrophoresis of different LEI0258 microsatellite alleles on 3 % agarose gel. (50 bp DNA Ladder was used at the beginning of the gel). This picture is a sample of the images.