



تاثیر فرایند های اپی ژنتیک در طی دوره انکوباسیون بر بیان ژن های محور تیروتروپین هیپوتالاموس و مقاوم سازی جوجه

های گوشتی به سرما

رسول محمدی

مقدمه

تحقیقات بسیار کمی در مورد تاثیر تنش سرمایی دوره جوجه کشی و اثرات آن بر روی مقاومت به سرما انجام شده است (۵ و ۴). بلوغ سیستم های غدد درون ریز و همچنین سیستم عصبی در دوره جنینی آغاز می شود و این سیستم ها در طی دوره انکوباسیون و نیز اوایل دوره پرورش تحت تاثیر عوامل محیطی میتوانند دچار دگرگونی شوند. یکی از مکانیسم های عادت پذیری به شرایط محیطی در دوره جوجه کشی و اوایل دوره پرورش زمانی که سیستم عصبی مرکزی تکامل نهایی را پیدا نکرده است، "سازگاری اپی ژنتیک" نامیده می شود (۱ و ۲). در بررسی انجام شده توسط وانگ و همکارش (۲۰۰۸) تاثیر استرس سرمایی بر روی بیان ژن هورمون کورتیکوتروپین (CRH) و هورمون آزاد کننده تیروتروپین (TRH) آزمایش شد. استرس سرمایی حاد (۶ و ۱۲ ساعت) در گروه تحت آزمایش باعث کاهش معنی دار بیان سطوح هورمون CRH نسبت به گروه شاهد شد. استرس سرمایی مزمن (۵، ۱۰ و ۲۰ روز) باعث افزایش معنی دار بیان سطوح هورمون CRH در گروه سرما دیده نسبت به گروه شاهد گردید (۶). شیندر و همکارانش (۲۰۰۹) با مطالعه اثرات استرس سرمایی در اواخر دوره جوجه کشی و انتقال جوجه های حاصل از پروتکل خود به دمای ۱۵ درجه سانتیگراد نتوانستند نتیجه خوبی از لحاظ وزن پایان دوره بگیرند. به طوری که تنش سرمایی سبب کاهش عملکرد وزنی تا میزان ۷۰۰ گرم در تیمارها شده بود. آنها همچنین در تحقیق بعدی خود (۲۰۱۱) به نتایج مشابهی رسیدند (۵ و ۴).

مواد و روش ها

تخم مرغ های نطفه دار (۶۰۰ عدد با میانگین وزنی یکسان) به طور مساوی به دو گروه شاهد (بدون دستکاری دمایی) و گروه تنش سرمایی (تحت تاثیر دمای ۱۵ درجه سانتیگراد در روز ۱۸ انکوباسیون) تقسیم شدند. پس از اعمال تنش سرمایی به فاصله زمانی ۱ و ۵ ساعت از هر تکرار سرما دیده (تیمار) و ندیده (شاهد) تعداد ۲ عدد تخم حاوی جنین جهت بررسی بیان ژنهای مرتبط با هورمون های تیروئیدی (TRH) برداشته شد و به فریزر ۸۰- منتقل گردید. از ژن GAPDH به عنوان ژن خانه دار جهت کنترل داخلی آزمایش استفاده گردید. در آزمایشگاه نمونه گیری از ناحیه هیپوتالاموس جنین ها، جهت استخراج RNA و سپس تبدیل RNA استخراجی به cDNA توسط کیت سیناکلون استخراج انجام گرفت. بررسی بیان ژن توسط روش Real-Time PCR به وسیله دستگاه Rotor Gene 3000 صورت گرفت. توالی آغازگرها (از سایت NCBI) به شرح ذیل می باشد:

TRH- Reverse / GCTGCTGACCTCCAAACCTA : TRH- Forward
TGGGCTCGTAAAGGAACTGAC
AAGGGTGGTGCTAAGCGTGT: Gap - Forward / GTGATGGCATGGACAGTGGT: Gap -
Reverse

جهت بررسی بیان ژن اندازه های C_t و نیز اندازه مطلق تعداد کپی های DNA که با مقایسه با منحنی استاندارد رسم شده بدست آمد مقایسه نمونه های تیمار با گروه شاهد انجام شد. از روز ۱۵ تا انتهای دوره پرورش نیمی از تیمار های شاهد و استرس دیده به شرایط دمایی 2 ± 15 درجه سانتیگراد منتقل شدند. جوجه گوشتی یکروزه نر از سویه کاب ۵۰۰ در قالب طرح فاکتوریل 2×2 به طور تصادفی انتخاب شده و پس از توزین، به ۲ گروه (شاهد و تیمار) در دو سطح دمایی (معمولی و کاهش دما) تقسیم شدند. داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS و بر اساس مدل $Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + AB_{ij} +$