نشریه علوم دامی
(پژوهش و سازندگی)

شماره ۱۲۷، تابستان ۱۳۹۹
ص‌ص: ۳۱~۴۲

بررسی چندشکلی برخی از جایگاه‌های ریزماهواره‌ای کروموزوم ۳ و ارتباط آن‌ها با تولید پشم در گوسفند بلوچی

- **مریم قلی زاده** (نویسنده مسئول)
  دانشجوی دکتری گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان
- **جمال فیاضی**
  دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان.
- **رضا ولی زاده**
  استاد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد.
- **حامد خراتی کوپایی**
  دانشجوی دکتری پژوهشکده زیست فناوری، دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز
- **غلامرضا داشاب**
  استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل

تاریخ دریافت : دی ۱۳۹۷ تاریخ پذیرش : خرداد ۱۳۹۸

شماره تماس نویسنده مسئول: ۰۹۳۷۶۷۷۷۲۰۲
Email: ma.gholizade@gmail.com

شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/asj.2019.124999.1863

چکیده

در این مطالعه چندشکلی چهار جایگاه ریزماهواره‌ای BMS1915، BMS1350، LGB وILSTS45 در کروموزوم ۳ و ارتباط آن‌ها با صفت وزن پشم در گوسفندان بلوچی مورد بررسی قرار گرفت. به این منظور استخراج DNA از نمونه‌های خون جمع‌آوری شده از ۱۸۵ رأس گوسفند نژاد بلوچی ایستگاه عباس آباد مشهد انجام شد. قطعات ژنی مربوط به جایگاه‌های ریزماهواره‌ای توسط واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز و با استفاده از آغازگرهای اختصاصی تکثیر شدند. نتایج نشان داد آلل E در جایگاه BMS1915 با ۰/٤۰، آللD در جایگاه BMS1350 با ۰/۳۰، آلل B در جایگاه LGB با ۰/٤۸ و آلل A در جایگاه ILSTS45 با ۰/٤٦ دارای بیشترین فراوانی بودند. نتایج مقایسه میانگین نشان داد جایگاه ریزماهواره LGB دارای بیشترین میزان تولید پشم و جایگاه ریزماهواره ILSTS45 دارای کمترین میزان تولید پشم می باشد. همچنین درجایگاه LGB ژنوتیپ AC دارای بیشترین (۹۵/۷± ۱۳۰۸ گرم) و ژنوتیپ BC دارای کمترین (۵٤/۷±۸۷۵ گرم) میزان تولید پشم است. با مقایسه ضریب تغییرات ٤ جایگاه مشخص شد که بیشترین تنوع و پراکندگی مربوط به جایگاه ریزماهوارهILSTS45 و کمترین میزان تنوع مربوط به جایگاه BMS1350 می باشد. از طریق آزمون کای مربع مشخص شد همه جایگاه‌ها در تعادل هاردی-واینبرگ قرار دارند (P>۰/۰۵). ارزیابی نتایج آنالیزهای آماری نشان داد چند شکلی جایگاه‌های مورد مطالعه با تولید پشم در گوسفندان بلوچی ارتباط معنی‌داری ندارند (P> ۰/۰۵) . بنابراین نتیجه‌گیری می‌شود که با انجام تحقیقات بعدی در زمینه مطالعات مبتنی بر انتخاب بر اساس نشانگرهای مولکولی، می‌توان ارتباط این جایگاه‌ها را با سایر صفات در گوسفند بلوچی مورد بررسی قرار داد.

واژه‌های کلیدی: ریز ماهواره، چندشکلی، گوسفند بلوچی، صفت تولید پشم

Animal Science Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 127 pp: 31-42

polymorphism of some microsatellites of chromosome 3 and their association with wool production in Baluchi sheep

By: Maryam Gholizadeh[1]*, Jamal fayazi[2], Reza Valizadeh[3], Hamed Kharrati-koopaee[4], Gholam Reza Dashab[5]

1 PhD Student, Dep. of Animal science, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khozestan

2 Associate Professor Dep of Animal science, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khozestan

3 Professor Dep of Animal science Ferdowsi University of Mashhad , Khorasan, Iran,

4 PhD student, Institute of Biotechnology, College of Agriculture, Shiraz University

5 Assistant Professor Dep. Of Animal science Faculty of Agriculture, University of Zabol, Iran.

Received:January 2019 **Accepted: June 2019**

In this study, the polymorphism of four microsatellite loci BMS1350, LGB, ILSTS45, and BMS1915 in chromosome 3 and their association with wool trait were investigated in Baluchi sheep. DNA extraction was performed from blood samples of 185 Baluchi sheep from Abbas Abad Breeding Station. Gene fragments of microsatellites were amplified by polymerase chain reaction with specific primers. The result shown allele E in BMS1915 locus with 0.40, Allele D in BMS1350 locus with 0.30, Allele B in LGB locus with 0.48 and Allele A in ILSTS4 locus with 0.46, had the highest frequency. The results of the Comparison of mean shown the LGB locus has the highest and ILSTS45 locus has the lowest production. Also, genotype AC in the LGB locus highest (1308 ±95.7) and genotype BC had the lowest (875 ± 54.7) of production. By comparing the coefficient of variation 4 loci founded that the greatest diversity and dispersion associated with the ILSTS45 and the lowest diversity associated with BMS1350 locus. Chi-square test ($\chi 2$) shown all of the microsatellite loci were in the Hardy-Weinberg equilibrium ($P>0.05$). Association analysis of polymorphism these loci shown there is no significant association between polymorphism of these loci and wool trait in Baluchi sheep ($P>0.05$). Statistical analysis showed there was no significant difference between loci polymorphisms and wool traits. Therefore, concluded in further research on selected studies based on molecular markers, the relationship between these loci and other traits in the Balochi sheep can be examined.

Key words: Microsatellite, Polymorphism, Baluchi sheep, Wool trait.

مقدمه

گوسفند بلوچی یکی از شاخص‌ترین نژادهای بومی ایران است که در مقایسه با سایر نژادها از پرجمعیت‌ترین نژادهای گوسفند در ایران به شمار می‌رود به گونه‌ای که حدود ۳۰ درصد از جمعیت گوسفندان ایرانی را در بر می‌گیرد. این نژاد نسبت به شرایط سخت مقاوم بوده و نرخ دوقلوزایی بالایی دارد (Ismail khanian و همکاران، ۲۰۰۷). پشم گوسفند بلوچی خراسان از بهترین نوع پشم گوسفندان ایرانی محسوب شده و بدلیل سفیدی و ظرافت آن (۱۸-۳۱ میکرومتر)، یکی از منابع تولید قالی‌های مرغوب ایرانی می‌باشد و پس از آن نژاد عربی اهواز، کرمانشاه، ماکویی قرار دارند (Nane karani و همکاران، ۲۰۱۰). علاوه بر این نژاد بلوچی با تولید بین ۱/۵ تا ۲/۵ کیلوگرم در سال پس از نژاد بختیاری با تولید ۳-۴ کیلوگرم دارای رکورد بیشترین میزان تولید پشم در بین گوسفندان ایرانی می‌باشد. بنابراین با توجه به اهمیت میزان تولید پشم از نقطه نظر اقتصادی، لحاظ نمودن آن در اهداف اصلاح نژادی گوسفند بلوچی همراه با سایر صفات تولیدی، یک ضرورت محسوب می گردد. شناسایی ژن‌های کاندیدا و بررسی اثر آن‌ها با صفت تولید پشم در نژادهای بومی گوسفند می‌تواند منجر به بهبود ژنتیکی این صفت گردد. پیشرفت‌های چشمگیر

ژنتیک مولکولی و فناوری زیستی موجب فراهم آوردن ابزارهای قدرتمندی برای اصلاح ژنتیکی حیوانات شده است که یکی از این ابزارها نشانگرهای DNA می‌باشند. بهره‌گیری از ژنتیک مولکولی موجب شناسایی جایگاه‌های موثر بر صفات تولیدی مهم در دام‌ها گردیده است. شناسایی جایگاه‌های مؤثر در افزایش تولید با استفاده از روش‌های مولکولی منجر به افزایش پیشرفت ژنتیکی و پاسخ به انتخاب خواهد شد(Pariset و همکاران، ۲۰۰۳). نقشه-یابی ژن‌ها و تعیین خصوصیات ژن‌های کنترل کننده صفات، مرحله اساسی برای تحقیق در مورد جایگاه‌های صفات کمی مؤثر بر صفات تولیدی در دام می‌باشد (Nagarajan و همکاران، ۲۰۰۹). لذا انتخاب به کمک نشانگرهای مولکولی برای افزایش بازده انتخاب و بهبود عملکرد تولیدی مد نظر قرار گرفته است. یکی از ابتدایی‌ترین گام‌ها در مطالعات با استفاده از نشانگرهای مولکولی بررسی تنوع ژنتیکی و ارتباط آن با صفات می باشد. امروزه طیف وسیعی از نشانگرهای مبتنی بر واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز برای انجام مطالعات تنوع ژنتیکی بکار می‌رود که استفاده از ریزه ماهواره‌ها به عنوان یکی از این نوع نشانگرها به دلیل مزایایی نظیر توانایی بالا در نشان دادن چندشکلی، قابلیت رتبه‌دهی آسان، همبارز بودن و پراکندگی یکنواخت در سرتاسر ژنوم، مورد توجه قرار گرفته است (Crispima و همکاران ۲۰۱۴). بدین منظور در این پژوهش تنوع چهار جایگاه ریزماهواره‌ای BMS1915، BMS1350، LGB و ILSTS45 و ارتباط آن ها با صفت تولید پشم در گوسفندان بلوچی مورد مطالعه قرار گرفت. جایگاه‌های BMS1350، ILSTS45 و LGB بر روی کروموزوم ۱۱ و جایگاه BMS1915 بر روی کروموزوم ۱۶ گاو می‌باشد و هر چهار جایگاه بر روی کروموزم ۳ گوسفند واقع شده است (Li و همکاران، ۲۰۰۴). نشانگر BMS1350 از LGB و نشانگر ILSTS45 از BMS1915 حدود ۱۰ سانتی مورگان فاصله دارند و نشانگر LGB و ILSTS45 نیز حدود ۲۰ سانتی مورگان از یکدیگر فاصله دارند (Julius and Werf, 2006). در مطالعه ای که توسط Jillian و همکاران (۲۰۰۱) انجام شد، ۱۰۰۰ جایگاه از جمله نشانگر BMS1915 به منظور ارائه یک نقشه ژنی پیشرفته از ژنوم گوسفند مورد استفاده قرار گرفت. Dominik و همکاران (۲۰۱۰) به منظور شناسایی QTL های مرتبط با مقاومت در برابر انگل‌های داخلی در جمعیت گوسفند حاصل از کراس برگشتی نژاد مرینو و رومانی، تعداد ۵۵ جایگاه ریزماهواره موجود بر روی کروموزم ۳ ازجمله جایگاه BMS1350 را مورد مطالعه قرار دادند که مطالعات آن‌ها نشان دهنده عدم وجود ارتباط معنی‌دار بین این جایگاه و مقاومت به انگل‌های داخلی بود. Miluchová و همکاران (۲۰۱۱) چندشکلی ژن بتالاکتوگلوبولین (LGB) مبتنی بر روش PCR-RFLP در ارتباط با صفات وزن، محتوای پروتئین شیر و تراکم پشم گوسفند نژاد والاچینا مورد بررسی قرار دادند. همچنین ولی-زاده و همکاران (۱۳۹۲) تنوع ژنتیکی چهار جایگاه ریزماهواره‌ای BMS1915، BMS1350، LGB و ILSTS45 مورد بررسی قرار دادند. از آنجایی که تا کنون ارتباط چندشکلی این جایگاه‌ها به صورت همزمان با میزان تولید پشم در گوسفند مورد بررسی قرار نگرفته است، انجام این تحقیق و استفاده از نتایج حاصل از آن می‌تواند در برنامه‌های بعدی اصلاح نژادی مفید واقع شود.

مواد و روش‌ها

تهیه نمونه خون و استخراج DNA

در این مطالعه به منظور تهیه نمونه بیولوژیک از تعداد ۱۸۵ گوسفند بلوچی موجود در مرکز اصلاح نژاد شمال شرق کشور (ایستگاه عباس آباد)، ۲cc خون از ورید وداجی گرفته شد و جهت جلوگیری از انعقاد خون از لوله‌های حاوی ماده ضد انعقاد EDTA استفاده گردید و سپس تا زمان استخراج DNA در فریزر در دمای ۲۰- نگهداری شدند. استخراج DNA به روش گوانیدین تیوسیانات - سیلیکاژل با استفاده از کیت Diatom DNA Prepمحصول شرکت ایزوژن روسیه طبق دستور العمل شرکت سازنده صورت گرفت. برای تعیین کمیت و کیفیت DNA استخراج شده از روش ND-2000 نانودراپ اسپکتروفوتومتر استفاده شد.

تکثیر جایگاه‌های ریزماهواره‌ای

توالی آغازگرها برای سه جایگاه از سایت Sheep QTL Database و برای جایگاه BMS1915 با استفاده از نرم افزار Primer Premier 5.0 طراحی و ساخت آغازگرها توسط شرکت بایونیر کره جنوبی (Bioneer; South Korea) انجام شد. توالی آغازگر هر جایگاه، جایگاه ژنی آن‌ها و طول قطعات تکثیر شده و برنامه حرارتی واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز برای هر جایگاه در جدول شماره ۱ نشان داده شده است. واکنش زنجیره ای پلی‌مراز به کمک کیت لئوفلیزه Genepak Universal (شرکت IsoGene، روسیه) و در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر در دستگاه ترموسایکلر Biometra مدل T-personal (Biometra; Germany) انجام شد. ترکیبات مورد استفاده در واکنش عبارت بود از یک واحد آنزیم تک پلیمراز[1]، ۲۰ میکرومول از هر dNTP، ۲۰۰ میلی مول $MgCl_2$، ۲۰-۱۰ پیکومول مخلوط پرایمرها، ۱۰۰-۵۰ نانوگرم DNA و بافر استاندارد. الکتروفورز و تفکیک محصولات واکنش زنجیره ای پلی مراز با استفاده از ژل آکریل آمید ۸٪ و رنگ آمیزی به روش نیترات نقره انجام شد. اندازه قطعات به دست آمده با استفاده از نرم افزار Photo-Capt[UVI03973] تعیین گردید و سپس ژنوتیپ‌ها مشخص شدند.

[1] Taq Polymerase

جدول ۱- توالی آغازگر هر جایگاه، جایگاه ژنی آن ها و طول قطعات تکثیر شده

جایگاه ژنی	طول قطعات تکثیر شده (جفت باز)	توالی آغازگر (۳' → ۵')	دمای اتصال آغازگرها (°C / sec)
BMS1350	۱۱۶-۱۴۴	GTGGTAATCGGAAAATGCAA: F ACTGTTGGGAGAATCACATTTC:R	۵۱ /۴۵
ILSTS45	۱۶۰-۱۸۰	TTCTGGCAAACTATTCCACC: F CATGAAAGACACAGATGACC: R	۵۱ / ۴۰
LGB	۲۱۰-۲۲۰	TGTGCTGGACACCGACTACAAAAAG: F GCTCCCGGTATATGACCACCCTCT: R	۵۵ / ۴۰
BMS1915	۸۷-۹۷	CCAGTGGGTCAAAGATCTGTATTC: F TAATGTAGGAGGTTGGGGTAA: R	۵۴/ ۴۵

آنالیز آماری

اطلاعات مربوط به رکورد وزن پشم سالیانه از ایستگاه اصلاح نژاد عباس آباد شمال شرق کشور تهیه گردید. اثر ژنوتیپ‌های بدست آمده در قالب یک مدل اثرات ثابت روی رکوردهای فنوتیپی با استفاده از نسخه ۱۶ نرم افزار SPSS و رویه GLM برازش شدند. مدل آماری مورد استفاده بصورت زیر بود:

$$Y_{ijkl} = \mu + G_i + S_j + T_k + e_{ijkl}$$

در این مدل:

Y_{ijkl}: نشان دهنده رکورد وزن بیده پشم یکساله

μ: اثر میانگین کل

G_i: نشان دهنده ژنوتیپ حیوان i در جایگاه ریز ماهواره‌ای

S_j: اثر جنس

T_m: اثر تیپ تولد

e_{ijkl}: اثر عوامل ناشناخته یا خطا

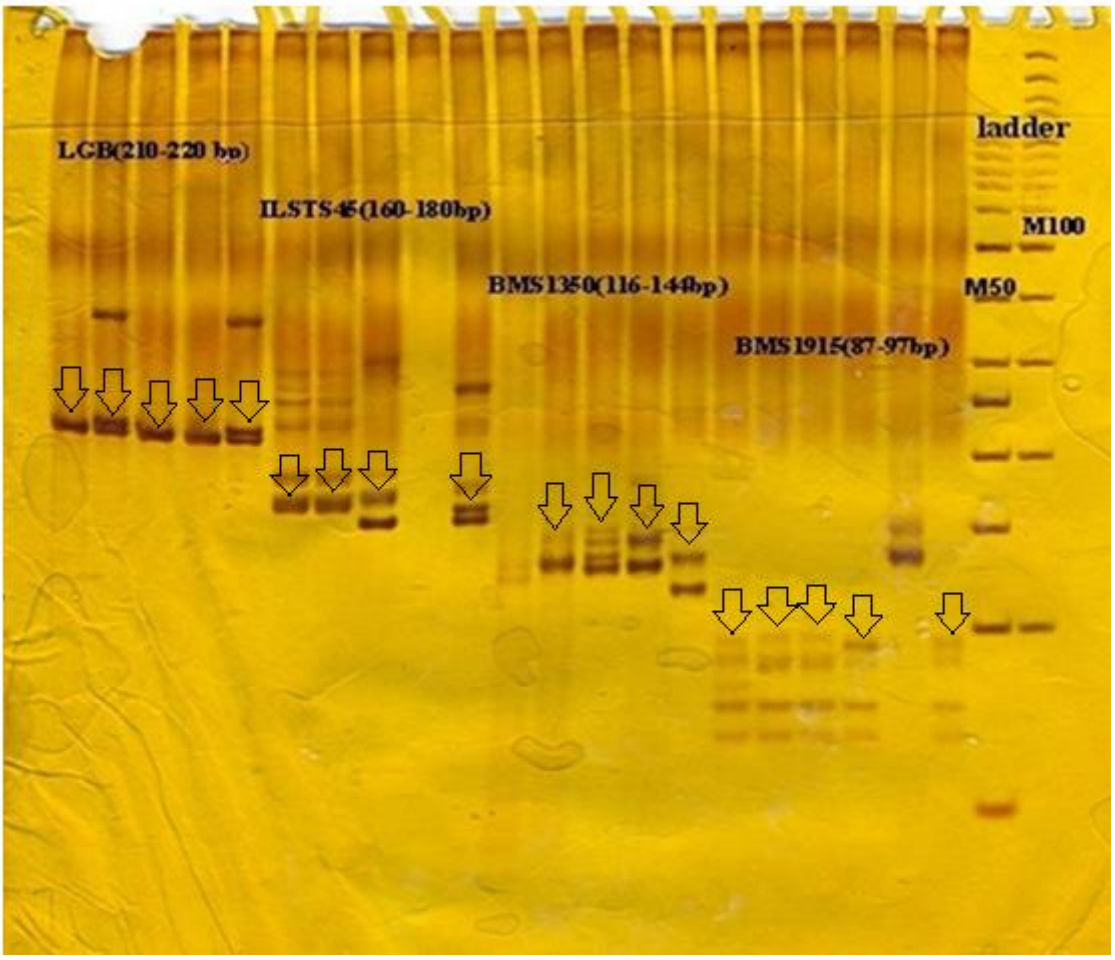
مقایسه میانگین، ضریب تغییرات آن و مقایسه میانگین ژنوتیپ ها با روش توکی برای هر۴ جایگاه نیز با نرم افزار SPSS محاسبه گردید. آزمون کای مربع (χ^2) برای بررسی تعادل هاردی-واینبرگ، فراوانی آللی و ژنوتیپی در هر ۴ جایگاه با استفاده از نرم افزار PopGene انجام شد.

نتایج و بحث

نتیجه الکتروفورز چهار جایگاه ریزماهواره‌ای BMS1915، BMS1350، LGB وILSTS45 مورد مطالعه در این تحقیق نشان داد که DNA های استخراج شده دارای کیفیت بسیار خوب و تقریباً بدون آلودگی می‌باشد. شکستگی DNA در هیچ یک از نمونه‌ها مشاهده نشد و همه جایگاه‌ها به خوبی با استفاده از پرایمرهای اختصاصی و برنامه حرارتی مناسب بدون هیچ گونه باند غیراختصاصی تکثیر گردیدند (شکل ۱). فراوانی آللی و ژنوتیپی محاسبه شده هر یک از جایگاه‌های مورد مطالعه در جمعیت گوسفند بلوچی ایستگاه عباس آباد در جدول ۲ ارائه شده است. جایگاه BMS1915 دارای ۶ آلل و آلل E با ۰/۴۰ و آلل D با ۰/۱۰ به ترتیب دارای بیشترین و کمترین فراوانی بودند. جایگاه BMS1350 دارای ۷ آلل می‌باشد که در بین سایر جایگاه ها از بیشترین تعداد آلل برخوردار است و نتایج نشان داد آللD با ۰/۳۰ و آلل‌های A، Bو C (۰/۱۰) به ترتیب دارای بیشترین و کمترین فراوانی در این جایگاه هستند. جایگاه LGB دارای ۴ آلل بود که آلل B با ۰/۴۸ دارای بیشترین و آلل C با ۰/۱۲ دارای کمترین فراوانی بودند. همچنین جایگاه ILSTS45 با ۶ آلل شناسایی شد که آللA دارای بیشترین فراوانی(۰/۴۶) و آلل های B، F و G (۰/۱۰) دارای کمترین فراوانی هستند. نتایج آزمون کای اسکور

نشان داد در سطح احتمال ۰/۰۵ تمام جایگاه‌ها در تعادل هاردی-واینبرگ قرار دارند.(P>۰/۰۵). خروجی آنالیز فراوانی ژنوتیپ‌ها نشان داد در جایگاه BMS1915 ژنوتیپ BE (۰/۸۰)، در جایگاه LGB ژنوتیپ BB (۰/۷۴) و در جایگاه ILSTS45 ژنوتیپ AD (۰/۹۱) و در جایگاه BMS1350 ژنوتیپ EG (۰/۶۷) دارای بیشترین فراوانی بودند. Forrest و همکاران (۲۰۰۶) چند شکلی ژن ADRB3 و ارتباط آن با صفات مختلف پشم گوسفند مرینو مانند میزان تولید پشم، قطر الیاف و طول استاپل را مورد بررسی قرار دادند؛ آنالیزها نشان داد که آلل‌های A و D تاثیر منفی و آلل‌های C و E تاثیر مثبتی بر روی برخی ویژگی های پشم دارند. Eveline و همکاران (۲۰۰۸) با استفاده از روش واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز-آر اف ال پی چندشکلی ژن IGFBP-3 را در گوسفندان چینی مرینوس و گوسفندان قزاقستان مورد بررسی قرار دادند؛ نتایج نشان دادند که بین ژنوتیپ-های AA، AB و BB اختلاف معنی‌داری در وزن بیده وجود ندارد. طول استاپل در ژنوتیپ‌های AA، AB و BB کم بود و بین ژنوتیپ AA و AB اختلاف معنی‌دار بود. وزن پشم چرب به طور معنی‌داری در ژنوتیپ AA کمتر از ژنوتیپ AB و BB بود.

نتایج بررسی ارتباط ژنوتیپ‌ها با رکورد پشم با نرم افزار SPSS در جدول ۳ آورده شده است. آنالیزهای آماری نشان داد که چند شکلی‌های مشاهده شده در ۴ جایگاه مورد مطالعه دارای اثر معنی-داری روی تولید پشم نیستند. در مطالعه ای که توسط Miluchová و همکاران (۲۰۱۱) انجام شد، چندشکلی جایگاهLGB در ارتباط با تراکم پشم و سایر صفات گوسفند نژاد والاچینا مورد بررسی قرار گرفت. نتایج آن‌ها نشان داد ژنوتیپ BB دارای بیشترین فراوانی (۰/۴۷۰۶) و ژنوتیپ AA دارای کمترین فراوانی (۰/۱۷۶۵) بودند و همچنین نتایج آن‌ها نشان دهنده ارتباط معنی دار بین ژنوتیپ AA و تراکم پشم در این نژاد بود. در مطالعه DoksO و همکاران (۲۰۱۱) چندشکلی ژن LGB و ارتباط این ژن با کمیت و کیفیت شیر را بر روی گاوهای کرواسی مورد بررسی قرار دادند. تعیین ژنوتیپ‌ها با استفاده از روش واکنش زنجیره ای پلی مراز- آراف‌ال‌پی انجام گرفت. نتایج نشان داد که ارتباط معنی‌داری بین ژنوتیپ AA با میزان تولید شیر و ژنوتیپ BB با چربی شیر وجود دارد. همانطور که از نتیجه مطالعه ما و سایر مطالعات بر می‌آید ارتباط منطقی‌تری بین جایگاه LGB و میزان تولید شیر و سایر پارامترهای شیر گوسفند و گاو وجود دارد.



شکل ۱- الگوی باندی بر روی ژل پلی‌اکریل‌آمید برای ۴ جایگاه ریزماهواره‌ای گوسفند بلوچی، که برای هر جایگاه ۵ نمونه بر روی ژل قرار دارد. طول قطعات تکثیر شده برای جایگاه LGB بین ۲۱۰-۲۰۰ ، در جایگاه ILSTS45 بین ۱۸۰-۱۶۰، در جایگاه BMS1350 بین ۱۴۴- ۱۱۶ و در جایگاه BMS1915 بین ۸۷ - ۹۷ می‌باشد.

Liu و همکاران (۲۰۰۷) ارتباط بین چند شکلی ژن‌های KAP6.1، KAP1.3 و KAP1.1 و صفت کیفیت و وزن پشم را درگوسفند نژاد مرینو مورد بررسی قرار دادند. نتایج آن‌ها نشان داد لوکوسW08667 در ژن‌های KAP1.3 و KAP1.1 که جزء پروتئین‌های با سولفور بالا در خانواده پروتئینی KAP می‌باشند در سطح احتمال ۰/۰۵ ارتباط معنی‌داری با کیفیت پشم دارد. نتایج آن‌ها همچنین نشان دهنده وجود ارتباط معنی‌دار بین ژنوتیپ‌های AA و BB لوکوس W06933 در ژن KAP6.1 که جز پروتئین‌های با تیروزین-گلایسین بالا در این خانواده پروتئینی می‌باشد، و صفت کیفیت پشم این گوسفندان بود.

جدول ۲- فراوانی آللی و ژنوتیپ‌های ٤ جایگاه میکروستلایتی گوسفند بلوچی

فراوانی آللی					فراوانی ژنوتیپی				
آلل	BMS1915	BMS1350	LGB	ILSTS45	ژنوتیپ	BMS1915	BMS1350	LGB	ILSTS45
A	۰/۱۵	۰/۱۰	۰/۲۱	۰/۴۶	AA			۰/۲۹	۰/۳۸
B	۰/۱۱	۰/۱۰	۰/۴۸	۰/۱۰	AB			۰/۲۴	
C	۰/۱۳	۰/۱۰	۰/۱۲	۰/۱۳	AC	۰/۲۰		۰/۲۲	۰/۴۲
D	۰/۱۰	۰/۳۰	۰/۱۹	۰/۱۱	AD	۰/۱۷	۰/۳۴		۰/۹۱
E	۰/۴۰	۰/۱۵			AE	۰/۴۱			
F	۰/۱۱			۰/۱۰	BB			۰/۷۴	
G		۰/۱۲		۰/۱۰	BC			۰/۲۰	
H		۰/۱۳			BD		۰/۳۲	۰/۳۱	
					BE	۰/۸۰			
					BF	۰/۲۳			
					CE		۰/۳۴		
					CF	۰/۱۹			
					DF				۰/۲۹
					DG				
					EG		۰/۶۷		
					EH		۰/۳۳		

محمدی و همکاران (۱۳۹۶) از طریق مطالعه ارتباط ژنومی هاپلوتایپی (**GWAS**) با استفاده از تراشه **SNP** ژنوم، ساختار و لایه بندی جمعیتی و شناسایی جایگاه‌ها و ژن‌های مرتبط با صفات کیفی پشم را در گوسفند زندی مورد بررسی قرار دادند. نتایج آن-ها در ارتباط با کنترل ژنومیک، لایه‌بندی ضعیفی برای صفات کیفی پشم شامل طول استاپل، میانگین قطر الیاف، ضریب تغییرات قطر الیاف را نشان داد (**F≥۳۰**). آن‌ها همچنین دو ناحیه هاپلوتایپی دارای عملکرد مولکولی معنی‌دار با صفات الیاف پشم در داخل ژن های کاندیدا **ERBB2** و **GNAS** شناسایی کردند. **Lan** و همکاران (۲۰۰۹) چندشکلی ژن **POU1F1** در ارتباط با صفت طول پشم را دریک نژاد بز بومی چینی مورد بررسی قرار دادند. نتایج آن‌ها نشان داد فراوانی آلل‌های **C** و**D** به ترتیب ۰/۹۲ و ۰/۰۸ است و سه ژنوتیپ **CC**، **CD** و**DD** در این نژاد شناسایی شد که ارتباط معنی‌داری بین ژنوتیپ **CD** و صفت طول پشم وجود داشت. علاوه بر این **Roldan** و همکاران (۲۰۱۰) خصوصیات پشم در گوسفند نژاد مرینوس را با تجزیه و تحلیل **QTL** های ۳۶ جایگاه ریزماهواره‌ای مورد مطالعه قرار دادند. آن‌ها منطقه‌ای ژنومی در موقعیت ۴۰/۷-۳۸/۱ **Mb** را گزارش کردند که با ضریب تغییرات قطر الیاف در این نژاد ارتباط معنی-داری داشت.

جدول ۳- نتایج بررسی ارتباط ژنوتیپ‌ها با رکورد پشم در ٤ جایگاه ریزماهواره‌ای

نشانگر	ارزش F	ارزش P	اثر ژنوتیپ
BMS1350	۱/۹۲	۰/۰۷	N.S
LGB	۱/۶۸	۰/۱۶	N.S
ILSTS45	۰/۹	۰/۵۴	N.S
BMS1915	۰/۷۳	۰/۶۶	N.S

نتایج Liu و همکاران (۲۰۰۷) نشان داد ژن KAP6.1 می‌تواند به عنوان یک ژن کاندیدا برای بررسی وزن متوسط پشم انتخاب شود و ژنوتیپ BB می‌تواند به عنوان یک نشانگر مولکولی مناسب برای وزن پشم باشد. در مطالعه حاضر نتایج مقایسه میانگین نشان داد جایگاه ریزماهواره LGB دارای بیشترین میزان تولید پشم و جایگاه ریزماهواره ILSTS45 دارای کمترین میزان تولید پشم بودند اما این اختلاف از نظر آماری در سطح احتمال ۰/۰۵ معنی‌دار نبود. نتایج مقایسه ضریب تغییرات نشان داد جایگاه BMS1350 دارای میانگین تولید ۱۲۶۱/۸±۴۰/۸۲ گرم با ضریب تغییرات برابر ۰/۲۳۹، جایگاه LGB با میانگین تولید ۱۱۶۸/۷±۵۳/۷۲ گرم و ضریب تغییرات ۰/۲۹۰، جایگاه ILSTS45 با میانگین تولید ۱۰۰۱/۱±۴۶/۱۲ گرم و ضریب تغییرات ۰/۳۰۹ و جایگاه BMS1915 با میانگین تولید ۱۱۱۲/۵±۴۶/۰۹ و ضریب تغییرات ۰/۲۹۸ می‌باشند (جدول ۴).

جدول٤- میانگین جایگاه‌های ریزماهواره‌ای و ضریب تغییرات هر جایگاه

نشانگر	میانگین(گرم)	ضریب تغییرات
BMS1350	۱۲۶۱/۸±۴۰/۸۲	۰/۲۳۹
LGB	۱۱۶۸/۷±۵۳/۷۲	۰/۲۹۰
ILSTS45	۱۰۰۱/۱±۴۶/۱۲	۰/۳۰۹
BMS1915	۱۱۱۲/۵±۴۶/۰۹	۰/۲۹۸

همانطور که از نتایج بر می‌آید بیشترین تنوع و پراکندگی مربوط به جایگاه ریزماهواره ILSTS45 و کمترین میزان تنوع مربوط به جایگاه BMS1350 می‌باشد. مقایسه میانگین ژنوتیپ‌ها به تفکیک نشان داد در جایگاه BMS1350 ژنوتیپ EG دارای بالاترین میزان تولید (۹۵ ± ۱۵۵۰/۷۴) و ژنوتیپ AD دارای کمترین(۱۵۹/۶۲±۱۰۰۰) میزان تولید در این جایگاه می‌باشد. درجایگاه LGB ژنوتیپ BB دارای بالاترین (۱۳۰۸±۹۵/۷) میزان تولید و ژنوتیپ BC دارای کمترین (۸۷۵±۵۴/۷) میزان تولید است. در جایگاه ILSTS45 ژنوتیپAD دارای بالاترین میزان تولید (۱۴۰۰±۱۴۰/۱۸) و ژنوتیپ AB دارای کمترین (۵۱/۸۴ ±۷۰۰) میزان تولید می‌باشد و در جایگاهBMS1915 ژنوتیپ BE دارای بیشترین تولید (۱۳۴۲±۱۲۵) و ژنوتیپ EE دارای کمترین (۱۱±۱۰۰۰) میزان تولید پشم بوده است (جدول ۵).

جدول ۵- میانگین تولید پشم تمام ژنوتیپ‌ها
در جایگاه‌هایBMS1915 ، ILSTS45، BMS1350وLGB

ILSTS45		LGB		BMS1350		BMS1915	
۸۹۵/۹۲ ± ۵۸/۹	AA	۱۱۲۶/۲۳ ± ۹۸	AA	۱۰۰۰±۱۵۹/۶۲	AD	۱۲۵±۱۲۵۴	AC
۷۰۰± ۵۱/۸۴	AB	۹۹۵/۸۵ ± ۱۲۴	AB	۱۳۵۲/۳۴ ± ۱۰۵	BD	۱۱۳±۱۳۰۰	AD
۱۲۶۴/۷۰ ± ۵۴	AC	۱۲۷۴/۶۵ ± ۸۹/۵	AC	۱۴۹۰/۶۳ ± ۱۰۰	CE	۱۲۴±۱۲۹۸	AE
۱۴۰۰±۱۴۰/۱۸	AD	۱۳۰۸/۷۰ ± ۹۵	BB	۱۵۵۰/۷۴ ± ۹۵	EG	۱۳۴۲±۱۲۵	BE
۹۹۸/۱۱۰ ± ۶۴	DG	۸۷۵/۷۰ ± ۵۴	BC	۱۱۹۵/۸۳ ± ۱۱۲	EH	۱۰۰±۱۱۹۵	BF
		۱۰۲۹/۵۳ ± ۱۰۵	BD			۱۱۵±۱۲۷۴	CF
						۱۱۹±۱۰۰۰	EE

نتیجه‌گیری

نتایج بررسی ارتباط ژنوتیپ‌ها با رکورد تولید پشم نشان داد که چند شکلی‌های مشاهده شده در ۴ جایگاه مورد مطالعه دارای اثر معنی‌داری روی تولید پشم نیستند. بنابراین توصیه می‌شود در تحقیقات بعدی در زمینه مطالعات مبتنی بر انتخاب بر اساس نشانگرهای مولکولی، می‌توان ارتباط این جایگاه‌ها را با سایر صفات در گوسفند بلوچی مورد بررسی قرار داد.

سپاسگزاری

بدینوسیله از همکاری‌های مرکز اصلاح نژاد دام عباس آباد بخاطر در اختیار گذاشتن اطلاعات قدردانی می گردد.

منابع

محمدی، ح. رافت، س. ع. مرادی شهر بابک، ح. شجاع، ج. و مرادی، م. ح. (۱۳۹۶). مطالعه ساختار و لایه بندی جمعیتی و ارتباط ژنومی هاپلوتایپی صفات کیفی پشم در گوسفندان نژاد زندی. نشریه پژوهش های علوم دامی. شماره ۲، ص ص. ۱۹۳-۲۰۴

ولی زاده، ر. نصیری، م. اسلمی نژاد، ع.ا. داشاب، غ. ساقی، د. ع. قلی زاده، م. (۱۳۹۱). بررسی تنوع ژنتیکی چهار جایگاه میکروستلایت BMS1915، BMS1350، LGB وILSTS45 در گوسفندان بلوچی. نشریه پژوهش های علوم دامی ایران. شماره ۱، ص ص. ۶۱-۵۶

Agha, S. H., Pilla, F., Galal, S., Shaat, I., D'Andrea, M., Reale, S., Abdelsalam, A. Z. and Li, M. H. (2008). Genetic diversity in Egyptian and Italian goat breeds measured with microsatellite polymorphism. *J Anim Breed Genet*.42:245-253

Aljumaah, R.S., Al-Shaikh, M.A., Kibogo, H., Kwallah, A., Jianlin, H., Hanotte, O., Musthafa, M.M. and Marikar, F.M.M.T. (2014). Genetic Relationships among Four Saudi Arabian Sheep Populations. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, Volume: 4; Number: 4; Pages: 775-779.

Cho, G. J. and Cho, B. W. (2004). Microsatellite DNA typing using 16 markers for parentage verification of the Korean native horse. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 17(6):750-754.

Crispim, B.A., Seno, L.O., Andréa Alves do Egito, A.A., Junior, F.M.V. and Grisolia, A.B. (2014). Application of microsatellite markers for breeding and genetic conservation of herds of Pantaneiro sheep. *Electronic Journal of Biotechnology*. 17(6): 317–321.

DoksO, A., Kelava, N., Brka, M. and Ivankovic, A. (2011). the effect of LGB gene on quantitative and qualitative characterization of milk Holstein breed in croativ. In: Proceedings - 2:1d International Scientific-Expert Conference of Agriculture and Food Industry – Sarajevo.

Eveline, M., Awemu, I., Kgwatalala, P. and Zhao, X. (2008). A critical analysis of production-associated DNA polymorphisms in the genes of cattle, goat, sheep, and pig. *mammalian Genome.* 19:591–617

Forrest, RH., Hickford, JG., Wynyard, J., Merrick, N., Hogan, A. and Frampton. C. (2006). Polymorphism at the beta-adrenergic receptor (ADRB3) locus of Merino sheep and its association with lamb mortality. *Animal Genetics*. 37(5):465-8.

Ismail khanian, S., Nejati javaremi, A., Afraz, F., Daneshyar P. and Ghanbari, S. (2007). investigate genetic variation in Baluchi sheep using microsatellite markers. *Agricultural Sciences and Natural Resources*. 41:373-379

Julius, H.J. and Werf, V. (2006). Marker-assisted selection in sheep and goats. Science Publishers, INC. USA.pp:25-32

Karimi, K., Beigi Nassir, MT., Mirzadeh, K. I., Ashayerizadeh, A., Roushanfekr, H. and Fayyazi, J. (2009). Polymorphism of the β-lactoglobulin gene and its association with milk production traits in Iranian Najdi cattle. *Iranian journal of biotechnology*. 7:82-85

Li, X. L., Gong, Y. F., Zhang, J. W., Liu, Z. Z. and Valentini, A. (2004). Study on polymorphisms of microsatellites DNA of six Chinese indigenous sheep breeds. *Yi Chuan Xue Bao*. 31(11):1203-10.

Liu, GF., Tian, K.C., Zhang, E.P., Huang, X.X. and Zhang, Y.H. (2007). Candidate gene analysis of high-quality merino sheep. *Yi Chuan Chinese*. 29(1):70-4.

Miah, M., Y. Rafii, M., R. Ismail, M., B. Puteh, A., A. Rahim, H., Islam, K.N. and Abdul Lati, M. (2013). A Review of Microsatellite Markers and Their Applications in Rice Breeding Programs to Improve Blast Disease Resistance. *International Journal of Molecular Sciences*. 14(11): 22499–22528.

Nagarajan, M., Kumar, N., Nishanth, G., Haribaskar, R., Paranthaman, K., Gupta, J., Mishra, M., Vaidhegi, R., Kumar, S., Ranjan, S.K. and Kumar, S. (2009). Microsatellite markers of water buffalo, Bubalus bubalis - development, characterization and linkage disequilibrium studies, *BMC Genetics*, 10:68-79

Nane karani, s., Amiri niya, s., Amir Mozafari, N., Vaez torshizi, R. and Ghare daghi, A.A. (2010). investigate genetic variation in Zandi sheep population using microsatellite markers. *journal of veterinary medicine*. 11:80-86

Pariset, L., Savarese, M.C., Cappuccio, I. and Valentini, A. (2003). Use of microsatellites for genetic variation and inbreeding analysis in Sarda sheep flocks of central Italy. *Journal of Animal Breeding and Genetics*. 120:213-216

Maddox, JF., Davies, KP., Crawford, AM., Hulme, D.J., Vaiman, D., Cribiu, E.P., Freking, B.A., Beh, K.J., Cockett, N.E., Kang, N., Riffkin, C.D., Drinkwater, R., Moore, S.S., Dodds, K.G., Lumsden, J.M., Van Stijn, T.C., Phua, S.H., Adelson, D.L., Burkin, H.R., Broom JE, Buitkamp J, Cambridge L, Cushwa WT, Gerard E, Galloway SM, Harrison B, Hawken, R.J., Hiendleder, S., Henry, H.M., Medrano, J.F., Paterson ,K.A., Schibler, L., Stone, R.T. and Van Hest, B. (2001) An enhanced linkage map of the sheep genome comprising more than 1000 loci. *Genome research*. 11(7):1275-89.

Dominik, S., Hunt, P.W., McNally, J., Murrell, A., Hall, A. and Purvis, I.W. (2010). Detection of quantitative trait loci for internal parasite resistance in sheep. I. Linkage analysis in a Romney x Merino sheep backcross population. *Parasitology*. 137(8):1275-82.

Lan, X.Y., Pan, C.Y., Li, J.Y., Guo, Y.W., Hu, S., Wang, J., Liu, Y.B., Hu, S.R., Lei, C.Z. and Chen, H. (2009). Twelve novel SNPs of the goat POU1F1 gene and their associations with cashmere traits. *Small Ruminant Research*. 85: 116-121.

Miluchová, M., Trakovická, A. and Gábor, M. (2011). Polymorphism and genetic structure of lgb gene (rsai) in valachian sheep population. *Animal science and biotechnology*. 44(1): 98-110.

Roldan, D.L., Dodero, A.M., Bidinost, F., Taddeo, H.R., Allain, D., Zhang, M. and Li, S. (2010). Merino sheep: a further look at quantitative trait loci for wool production. *Animal*. 4: 1330–1340.