



دانشگاه گوارکندگی و تولید دام

نشریه پژوهش در نشخوارکنندگان

جلد هشتم، شماره چهارم، ۱۳۹۹

<http://ejrr.gau.ac.ir>

۶۵-۷۶

DOI: 10.22069/ejrr.2020.17781.1741

ردیابی جایگاه‌های کنترل کننده صفات کمی برای پارامترهای منحنی رشد در گوسفند نژاد قزل

سنودا حسین زاده^۱، *آرش جوانمرد^۲، سیدعباس رافت^۳ و صادق علیجانی^۴

^۱دانشجوی کارشناسی ارشد، ^۲استادیار، ^۳استاد و ^۴دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

تاریخ دریافت: ۹۸/۱۲/۲۰؛ تاریخ پذیرش: ۹۹/۹/۶

چکیده

سابقه و هدف: یکی از معایب برآورد پارامترهای ژنتیکی بر اساس وزن مطلق گوسفند در یک سن خاص این است که برخی از ژن‌ها فقط در یک دوره خاص از زندگی حیوان بر رشد مؤثر هستند. اثرات پلیوتروپی نیز بین صفات مقطعی وزن در سنین مختلف وجود دارد. به طوری که انتخاب برای یک صفت، سبب پاسخ همبسته در سایر صفات می‌شود. پس تمرکز بر تمام مراحل منحنی رشد و مولفه‌های توصیف کننده این منحنی می‌تواند پیشرفت ژنتیکی بیشتری را حاصل آورد. نتایج تحقیقات نشان می‌دهد که پارامترهای منحنی رشد در گونه‌های مختلف وراثت پذیر هستند. بنابراین امکان تغییر شکل منحنی رشد از طریق انتخاب وجود دارد. شناخت روابط ژنتیکی و محیطی بین وزن‌های مختلف، بلوغ و نرخ رشد در تمام مراحل رشد برای طراحی برنامه اصلاح نژادی به منظور بهبود کارایی تولید در طول عمر حیوان ضروری است. لذا شناسایی و مکان یابی جایگاه‌های کنترل کننده صفات کمی برای پارامترهای منحنی رشد به عنوان صفات وراثت پذیر می‌تواند سناریوی تحقیقاتی مفیدی برای بررسی باشد که در نهایت سبب افزایش تولید گوشت شود.

مواد و روش‌ها: پارامترهای منحنی رشد با استفاده از مدل برودی و اطلاعات ۲۷۵۳۷ رأس گوسفند قزل تخمین زده شد. شجره جمعیت مورد مطالعه توسط نرم افزارهای شجره پرداز مورد بررسی قرار گرفت. دو خانواده که دارای شرایط طرح خواهر برادر ناتنی بودند انتخاب شدند. سپس برای انجام این پژوهش، از ۵۱ نتاج دو خانواده‌ی ناتنی گوسفندان قزل (گوسفندان مربوط به ایستگاه تحقیقاتی پرورش و اصلاح نژاد گوسفند قزل میاندوآب بودند) خونگیری به عمل آمد. برای تعیین ژنوتیپ از هشت نشانگر ریزماهواره که روی کروموزوم‌های دو و پنج مستقر بودند استفاده شد. فاصله نشانگرها از یکدیگر روی نقشه کروموزومی کمتر از ۳۰ سانتی مورگان بود. استخراج دی ان ای با استفاده از روش کلروفورم و ایزوآمیل الکل از خون کامل صورت گرفت. جهت تکثیر جایگاه‌های ریز ماهواره از برنامه‌ی Touchdown PCR و ژل متافور آگارز ۴ درصد استفاده شد. از نرم‌افزار UVDOC برای امتیازدهی باندها استفاده شد. آمار توصیفی برای شاخص‌های مولکولی هر جایگاه ریزماهواره‌ای با استفاده از نرم‌افزار PopGene محاسبه شد. پس از اتمام تعیین ژنوتیپ، سه فایل نقشه‌ی کروموزومی، رکوردهای ژنوتیپی و فنوتیپی تهیه شد. سپس بررسی نرمالیت داده‌های خام و تصحیح برای اثرات ثابت (جنسیت، تیپ تولد...) توسط رویه GLM نرم‌افزار SAS نسخه ۹.۲ ساخت سال ۲۰۱۵، انجام شد. روش مورد استفاده برای تجزیه و تحلیل مکان یابی جایگاه‌های کنترل کننده صفات کمی شناسایی ارتباط مابین نشانگرهای ژنتیکی و جایگاه‌های کنترل کننده صفات کمی توسط دو نشانگر بود.

*نویسنده مسئول: arash_707@yahoo.com

یافته‌ها: نتایج تجزیه و تحلیل ریزماهوره‌ها نشان داد که چندشکلی مناسبی در جمعیت مورد مطالعه وجود دارد. در نهایت نتایج حاصل از دو خانواده مورد نظر نشانگر عدم شناسایی جایگاه‌های کنترل کننده صفات کمی معنی‌دار روی کروموزوم‌های شماره دو و پنج برای صفات پارامترهای منحنی رشد برودی (A,B,C) بود.

نتیجه‌گیری: طی تجزیه و تحلیل های انجام شده جایگاه‌های کنترل کننده صفات کمی معنی‌داری یافت نشد. البته طرح مربوطه به دلیل کم بودن تعداد نشانگرها، تعداد خانواده و اعضای هر خانواده نقابضی را متحمل شد. این عوامل در جای خود می‌توانند دلیلی بر عدم شناسایی جایگاه‌های کنترل کننده صفات کمی در این طرح باشد.

واژه‌های کلیدی: صفت رشد، نشانگرهای ریزماهوره، نقشه‌یابی جایگاه‌های کنترل کننده صفات کمی

مقدمه

با توجه به افزایش روز افزون جمعیت جهان، نیاز به مواد غذایی، مخصوصاً مواد غذایی پروتئینی افزایش می‌یابد. چرا که، پروتئین دامی، دارای ارزش بیولوژیکی بالایی بوده و می‌تواند اسید آمینه‌های مورد نیاز بدن را تأمین کند. طبق مطالعات محمد آبادی و همکاران (۲۰۱۳) در حال حاضر، مهم‌ترین دلیل پرورش گوسفند در ایران تولید گوشت بوده و سایر تولیدات مثل شیر، پشم و پوست در درجات بعدی اهمیت قرار دارند. گوسفند قزل پراکندگی بالایی در منطقه آذربایجان شرقی دارد. که طبق طبقه‌بندی خالداری (۲۰۰۹) دارای خصوصیت گوشتی - شیری می‌باشد.

بررسی صفات وزن به صورت مقطعی، توسط تحقیقات پیشین در نژادهای بومی و خارجی انجام گرفته که عاری از اشتباه نیستند. تحقیقات گیلبرت و همکاران (۲۰۰۵) نشان داد که برخی از ژن‌ها، فقط در یک دوره خاص از زندگی حیوان بیان می‌شوند. بعلاوه، دارای اثرات پلیوتروپی نیز هستند. از طرف دیگر، انتخاب برای یک صفت، سبب پاسخ همبسته در سایر صفات می‌شود. لذا، دیدگاه جایگزین تمرکز بر تمام مراحل منحنی رشد و مؤلفه‌های توصیف

کننده این منحنی می‌تواند، پیشرفت ژنتیکی بیشتری را حاصل آورد.

طبق گفته بلاسکو و همکاران (۱۹۹۳) رشد، جزء صفات مهم اقتصادی است که تحت تأثیر عوامل ژنتیکی و محیطی قرار دارد و بیانگر توصیف نموداری وزن در مقابل سن حیوان است. بتائی و همکاران (۱۹۹۸) افزود، صفت رشد، امکان پیش‌بینی وزن در سنین مختلف را نیز فراهم می‌کند. خدابخش زاده (۲۰۱۶) افزود یکی از الزامات برنامه‌های اصلاح نژادی در دام‌های بومی، بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت مورد مطالعه است. که بدین منظور، می‌توان از نشانگرهای ژنتیکی نیز استفاده کرد. بعلاوه، براساس مطالعات موسوی‌زاده (۲۰۰۹) استفاده از نشانگرهای ژنتیکی در انتخاب و اصلاح نژاد، پیشرفت ژنتیکی را تسریع می‌بخشد. به طوری که نشانگرهای ریزماهوره در تهیه نقشه ژنتیکی بسیار مفید واقع شدند. که یکی از نقشه‌های ژنتیکی توسط نشانگرهای دی ان ای^۱ توسط مادوکس (۲۰۰۱) ترسیم شده است. بعلاوه، نشانگرهای ریزماهوره امکان ردیابی جایگاه‌های کنترل کننده صفات کمی را در صورت وجود اطلاعات شجره و اطلاعات فنوتیپی فراهم می‌کند. لذا در صورت برقراری ارتباط معنی‌دار مابین نشانگر و

رشد و برآورد پارامترهای آن از اطلاعات مجموع، ۲۷۵۳۷ رأس گوسفند قزل استفاده شد. اطلاعات مربوطه از مرکز اصلاح نژاد گوسفند قزل میاندوآب تهیه شد. بعد از بررسی شجره توسط نرم افزار شجره پرداز اطلاعاتی در رابطه با جمعیت مورد مطالعه بدست آمد که در جدول (۱) قابل مشاهده است. همچنین به کمک اطلاعات بدست آمده ۲ خانواده ناتنی که به ترتیب دارای ۲۳ و ۲۷ نتاج بودند، انتخاب شد. صفات مورد بررسی در این طرح، پارامترهای تخمین زده شده توسط منحنی رشد برودی بود. این پارامترها، با استفاده از داده‌های وزن که از زمان تولد تا یکسالگی در طی سال‌های ۱۳۸۶ تا ۱۳۸۷ جمع‌آوری شده بودند محاسبه شد.

داده‌های فنوتیپی، وجود ژنگاه‌های کنترل کننده صفات کمی تأیید می‌شود. هدف از پژوهش حاضر، شناسایی جایگاه‌های کنترل کننده صفات کمی جهت کنترل پارامترهای منحنی رشد مدل برودی (بهترین مدل منتخب در این طرح) در گوسفند نژاد قزل است. برای این امر کروموزوم‌های شماره ۲ و ۵ با استفاده از نشانگر ریزماهواره مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

اطلاعات جمعیت مورد بررسی: جهت ترسیم منحنی

جدول ۱- اطلاعات بدست آمده از شجره

Table 1. Information from the pedigree

اطلاعات شجره			
Pedigree information			
تعداد دام‌های مورد بررسی	27537	تعداد دام‌هایی که پدر و مادرشان مشخص نیست	5713
Evaluated individuals		With unknown sire and dam	
تعداد دام‌های هم خون	93	تعداد کل میش‌ها	10129
Inbreeds in total		Dams in total	
تعداد کل قوچ‌ها	395	تعداد افراد دارای نتاج	10524
Sires in total		Individuals with progeny	
تعداد کل نتاج	5733	تعداد افراد فاقد نتاج	17013
Progeny		Individuals with no progeny	
تعداد دام‌هایی که فقط پدرشان مشخص است	20	تعداد گروه‌های خواهر-برادرتنی	574
Only with known sire		Full-sib groups	
تعداد دام‌هایی که فقط مادرشان مشخص است	11993	میانگین اندازه خانواده‌ها	2.06794
Only with known dam		Average family size	

مورگان بود. نقشه کروموزومی مورد استفاده توسط ماریکو و همکاران (۱۹۹۸) تهیه شده است. آغازگرهای لازم جهت تکثیر نشانگرها از شرکت متابیون کشور آلمان تهیه شد که اطلاعات آن‌ها در جدول (۲) ارائه شده است.

تعیین ژنوتیپ توسط نشانگرهای ریز ماهواره: جهت تعیین ژنوتیپ، از ۸ نشانگر ریز ماهواره استفاده شد که روی کروموزوم‌های ۲ و ۵ قرار داشتند. تا حد امکان، از نشانگرهایی استفاده شد که فاصله آن‌ها روی نقشه کروموزومی از یکدیگر کمتر از ۳۰ سانتی

جدول ۲- مشخصات آغازگرهای مورد استفاده در تحقیق حاضر کراوفورد و همکاران (۱۹۹۵)

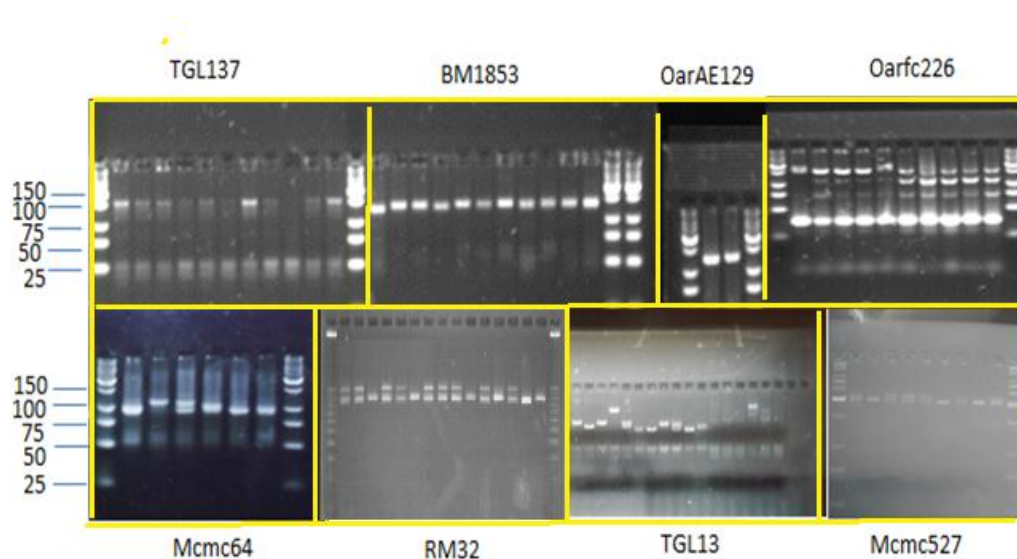
Table 2. Characteristics of primers used in the present study (Crawford, 1995)

منبع Reference	دمای اتصال Anelling temperature	شماره کروموزوم Chromosom e number	توالی پرایمر Primer sequence	نشانگر Marker
جنورسبز و همکاران (۱۹۹۲)	62.2	5	F:GTTGACTTGTTAATCACTGACAGCC R:CCTTAGACACACGTGAAGTCCAC	TGL137
جنورسبز و همکاران (۱۹۹۲)	62.3	5	F:AATCCAGTGTGTGAAAGACTAATCCAG R:GTAGATCAAGATATAGAATATTTTTCAACACC	OarAEI29
بیشاپ و همکاران (۱۹۹۴)	55.4	5	F:AGCCTTTTGTAGGTGTTTCATTG R:ATGGGGTTGCAAAGAGTCAG	BM1853
الگرن و همکاران (۱۹۹۷)	55.4	5	F:AGCCTTTTGTAGGTGTTTCATTG R:ATGGGGTTGCAAAGAGTCAG	MCMC527
الگرن و همکاران (۱۹۹۷)	66.7	2	F:TACAGTCCATGGGGTCACAAGAG R:TCTGAATCTACTCCCTCCTCAGAGC	MCMC64
بیشاپ و همکاران (۱۹۹۴)	65.3	2	F:CTATATGTTGCCTTCCCTCCTGC R:GTGAGTCCCATAGAGCATAAGCTC	Oarfc226
بیشاپ و همکاران (۱۹۹۴)	55.4	2	F:GTTTGCAAAGGAATGTTATAATTGAA R:AAAACATTAACCTCAGAAACAGAA	RM32
جنورسبز و همکاران (۱۹۹۲)	59	2	F:CATTTAATATACATATATGACTATGTGCC R:GAGCTCTTTTTTACTTGTGTCTCC	TGL13

Touchdown PCR با توجه به دمای اتصال پرایمرها طراحی و محصولات واکنش زنجیره‌ای پلیمرز^۱ بر روی ژل متافور آگارز ۴٪ بارگذاری شد. رنگ آمیزی ژل، نیز با ۱۰ میکرولیتر DNA Safe Stain انجام گرفت. در نهایت، توسط دستگاه Gel Doc عکسبرداری صورت گرفت. بعضی نمونه عکس‌های مربوطه در تصویر (۱) قابل رؤیت است. امتیاز دهی باندها نیز توسط نرم‌افزار UVDOC صورت گرفته است. هریک از نتایج قوچ هتروزیگوت، توسط ۸ نشانگر مربوطه تعیین ژنوتیپ شد. آمار توصیفی، برای شاخص‌های مولکولی هر جایگاه ریز ماهواره‌ای با استفاده از نرم‌افزار POPGENE محاسبه گردید و نشانگرهای OarAEI29، TGL137 و BM1853 به دلیل مونومورف بودن از سیر مطالعاتی خارج شدند.

نشانگرهایی مورد گزینش قرار گرفتند که در تمامی پدرهای خانواده‌ها به صورت الگوی، ژنوتیپ هتروزیگوت وجود داشتند. تا امکان ردیابی آلل‌های مربوط به هر نشانگر در نتایج فراهم شود. بعلاوه، امکان بررسی واریانس فنویپی و ژنوتیپی و در نهایت شناسایی جایگاه‌های کنترل کننده صفات کمی معنی‌دار فراهم شود. نشانگرهای مورد استفاده در تحقیق حاضر، دارای فواصل مناسب از یکدیگر بر حسب سانتی مورگان، دمای اتصال نزدیک به هم و به علاوه روی کروموزوم‌های شماره ۲ و ۵ قرار داشتند. استخراج دی‌ان‌ای با استفاده از روش کلروفورم و ایزوآمیل الکل که توسط صمدی شمس و همکاران (۲۰۱۱) بدست آمده بود، از خون کامل صورت گرفت. کیفیت دی‌ان‌ای استخراج شده، توسط الکتروفورز با استفاده از ژل آگارز بررسی شد. برای تکثیر جایگاه‌های ریز ماهواره، برنامه شیب حرارتی

1. Polymerase Chain Reaction(PCR)



شکل ۱- نمونه‌ای از تعیین ژنوتیپ گوسفندان به کمک نشانگر ریزماهواره

Figure 1. Example of sheep genotype determination using microsatellite markers

نشانگر بود. این روش، از فصل هفتم یادداشت‌های دوره آموزشی جولیوس وان در ورف (۲۰۰۰) مورد استفاده، قرار گرفت. در ابتدا، پس از مشخص کردن فاصله نشانگرها از یکدیگر برحسب مورگان، این فواصل به صورت متغیر توسط فرمول (۱) به نرخ نوترکیبی تبدیل شد. برای مثال فاصله دو نشانگر MCMC64 و TGL13 از یکدیگر برابر ۰/۱۱ مورگان بود. بنابراین این فاصله از عدد صفر تا ۰/۱۱ مورگان در فرمول (۱) جایگزین شد. سپس برای هر نقطه نرخ نوترکیبی محاسبه شد. البته نمونه‌ایی از این محاسبات در جدول (۳) موجود است.

$$r = \frac{1}{2} (1 - e^{-2d}) \quad (1) \text{ فرمول}$$

در فرمول (۱)، منظور از r نرخ نوترکیبی و منظور از d فاصله نقطه احتمالی وجود جایگاه‌های کنترل کننده صفات کمی تا نشانگر مورد نظر است که برحسب مورگان بیان می‌شود.

پس از بررسی نرمالیتی باقیمانده داده‌ها، توسط رویه Univariate، عدم نرمالیت در داده‌ها شناسایی گردید. با رویه‌ی GLM نرم افزار SAS نسخه ۹.۲ ساخت سال ۲۰۱۵، اثرات ثابت شناسایی و توسط همین رویه، تصحیح صورت گرفت. مدل آماری مورد استفاده، عبارت است از $Y_{ijkl} = \mu + S_i + L_j S_k + P_k + IC_1 + e_{ijkl}$ که در این مدل اثرات ثابت شامل، S_j جنسیت (نر و ماده)، $L_j S_k$ تیپ تولد (یک قلو یا دو قلو)، P_k شکم زایش و IC_1 ضریب همخوانی بودند. در این مدل آماری Y به منظور فنوتیپ I امین HF نتاج، μ میانگین کل و e_{ijkl} خطای تصادفی در ارتباط هر رکورد می‌باشد.

روش مورد استفاده برای تجزیه و تحلیل جایگاه‌های کنترل کننده صفات کمی: روش محاسباتی، ارتباط ما بین نشانگرهای ژنتیکی و جایگاه‌های کنترل کننده صفات کمی توسط دو

جدول ۳- نمونه محاسبات انجام گرفته در رابطه با نرخ نوترکیبی

Table 3. Sample calculations of recombination rates

نرخ نوترکیبی بین QTL و TGL13 Recombination rate between QTL and TGL13	نرخ نوترکیبی بین QTL و MCMC64 Recombination rate between QTL and MCMC64	فاصله TGL13 از QTL TGL13 distance from QTL	فاصله MCMC64 از QTL MCMC64 distance from QTL
0	0.09874	0	0.11
0.0099	0.09063	0.01	0.1
0.01961	0.08236	0.02	0.09
0.02912	0.07393	0.03	0.08
0.03844	0.06532	0.04	0.07
0.04758	0.05654	0.05	0.06
0.05654	0.04758	0.06	0.05
0.06532	0.03844	0.07	0.04
0.07393	0.02912	0.08	0.03
0.08236	0.01961	0.09	0.02
0.09063	0.0099	0.1	0.01
0.09874	0	0.11	0

محاسبات استفاده شد.

در این طرح، فقط یکی از چهار نشانگر موجود روی کروموزوم شماره پنج به صورت پلی مورف بود و فقط یک نشانگر پلی مورف شناسایی شد. بنابراین، از روش تک نشانگری جهت تجزیه و تحلیل آماری استفاده گردید. بطوریکه، پدرهای دو خانواده مد نظر برای این نشانگر دارای ژنوتیپ هتروزیگوت بوده و تفرق آلل‌ها در نتاج توسط روش‌های مولکولی مشاهده شد. نتاج مربوطه به هر خانواده بر اساس نوع آلل دریافتی از پدر به دو گروه تقسیم شد و توسط رویه t-test در نرم‌افزار SAS نسخه ۹.۲ ساخت سال ۲۰۱۵ مورد آزمون قرار گرفت.

سیس، احتمال بروز آلل Q پدری به شرط وجود چهار نوع هاپلوتیپ (M1M1, M1m2, m1M2, m1m2) توسط فرمول‌های موجود در جدول ۴ بدست آمد. پس از محاسبه احتمالات شرطی، برای ۵۱ رأس دام مورد مطالعه از دو خانواده مختلف. تجزیه و تحلیل‌های مربوط با اطلاعات کروموزوم شماره ۲، که حاوی چهار نشانگر بود توسط نرم‌افزار SAS نسخه ۹.۲ ساخت سال ۲۰۱۵ و رویه one way انجام گرفت. چرا که، داده‌های فنوتیپی مورد مطالعه جزء صفات کمی پیوسته بوده و نتایج آزمون نرمالیتیه باقی مانده‌ها نشانگر عدم نرمال بودن داده‌ها بود. به این دلیل، از روش غیر پارامتریک (one way) برای

جدول ۴- احتمال توارث آلل Q پدری توسط هاپلوتیپ نشانگرهای مختلف

Table 4. Probability of paternity Q allele inheritance by haplotype of different markers

احتمال Possibility	فرمول Formula
prob(Q/M1M2)	$(1 - \frac{r1r2}{1 - r1r2})$
prob(Q/M1m2)	$\frac{r2 - r1r2}{r1r2}$
prob(Q/m1M2)	$\frac{r1 - r1r2}{r1r2}$
prob(Q/m1m2)	$\frac{r1r2}{(1 - r1r2)}$

نتایج و بحث

قابل مشاهده است و اطلاعات مربوط به آمار توصیفی نشان می‌دهد واریانس جمعیت در پارامتر A یعنی وزن بلوغ بیشتر از سایر پارامترها است.

آمار توصیفی مربوط به فنوتیپ‌ها (پارامترهای A, B, C) و بدست آمد و اطلاعات مربوطه در جدول (۵)

جدول ۵- آمار توصیفی پارامترهای منحنی رشد

Table 5. Descriptive statistics of growth curve parameters

صفت	تعداد	میانگین	انحراف معیار	حداقل	حداکثر
Trait	Number	Mean	Sd	Min	Max
A (وزن بلوغ) A (Maturity weight)	49	26.32	4.33	20	43.11
B (ثابت انتگرال گیری) B (Integration constant)	49	1.44	0.35	0.89	2.00
C (نرخ بلوغ) C (Maturity rate)	49	0.59	0.17	0.10	0.82

جدول ۶- اطلاعات مربوط به اثرات ثابت

Table 6. Fixed effect information

پارامتر C	پارامتر B	پارامتر A	اثر ثابت
C Parameter LSM(SE)	B Parameter LSM(SE)	A Parameter LSM(SE)	Fix Effect
تیپ تولد (Birth Type)			
0.44 (0.07)	1.45 (0.10)	30.70 (1.49)	تک قلو Single
0.52 (0.08)	1.51(0.11)	23.5 (1.63)	دوقلو Twin
ns	ns	**	p- value
جنسیت (SEX)			
0.59 (0.06)	1.64 (0.08)	26.45 (1.25)	نر Male
0.036 (0.06)	1.32 (0.09)	27.77 (1.28)	ماده Female
*	**	ns	p- value
شکم زایش (Parity)			
0.56 (0.07)	1.59 (0.09)	26.29 (1.28)	شکم اول First
0.47 (0.08)	1.46 (0.11)	26.72 (1.57)	شکم دوم Second
0.50 (0.14)	1.51 (0.18)	30.14 (2.67)	شکم سوم Third
0.37 (0.12)	1.36 (0.15)	25.30 (2.22)	شکم چهارم Fourth
ns	ns	ns	p- value
ضریب همخونی (Inbreeding Coefficient)			
0.41(0.089)	1.41(0.10)	28.90 (1.53)	همخونی بین ۰ تا ۰.۵ F0-0.5
0.54(0.09)	1.54(0.12)	25.33 (1.83)	همخونی بیشتر از ۰.۵ F>0.5
ns	ns	ns	P Value

**معنی داری در سطح احتمال (P<۰.۰۱)، *معنی داری در سطح احتمال (P<۰.۰۵) و ns: عدم معنی داری

نتایج حاصل، از تجزیه و تحلیل ژنوتیپ‌ها در جدول (۷) قابل مشاهده است. اطلاعات مربوطه نشان می‌دهد حدود ۹۰٪ نتاج برای مکان‌یابی جایگاه‌های کنترل‌کننده صفات کمی مناسب‌اند چون برخی نتاج به دلیل خطاهای آزمایشگاهی تعیین ژنوتیپ نشدند.

اثر عوامل ثابت مورد بررسی، روی هر یک از پارامترهای منحنی رشد متفاوت بود. به‌طوری‌که، پارامتر A (وزن بلوغ) تحت تاثیر اثر تیپ تولد قرار داشت. پارامتر B (ثابت انتگرال‌گیری) و پارامتر C (نرخ بلوغ) تحت تاثیر جنسیت قرار داشتند. تصحیح برای اثرات ثابت، صورت گرفت. اطلاعات مربوط به اثرات ثابت در جدول ۶ قابل مشاهده است.

جدول ۷- اطلاعات بدست آمده از تعیین ژنوتیپ افراد و موقعیت مکانی نشانگرها

Table 7- Data obtained from genotyping of individuals and location of markers

موقعیت مکانی (cM) Location(cM)	نتاج حاوی آلل پدری Progeny containing the paternal allele	تعداد پدر هتروزیگوت Number of heterozygous sire	آلل Allele	نشانگر Marker
44.99	83%	2	4	Oarfc226
63	92%	2	3	MCMC64
74.4	88%	2	4	TGL 13
73.4	86%	2	2	RM32
118.9	100%	2	2	MCMC527

صورت مونومرف شناسایی شدند. نشانگرهای Oarfc226 و TGL 13 نیز از بیشترین چندشکلی و تنوع در جمعیت مورد مطالعه ما برخوردار بودند.

همچنین، فراوانی‌های آللی مربوط به نشانگرها برای هر دو خانواده در جدول (۸) ارائه شده است. نشانگرهای oarAE129، TGL137 و BM1853 به

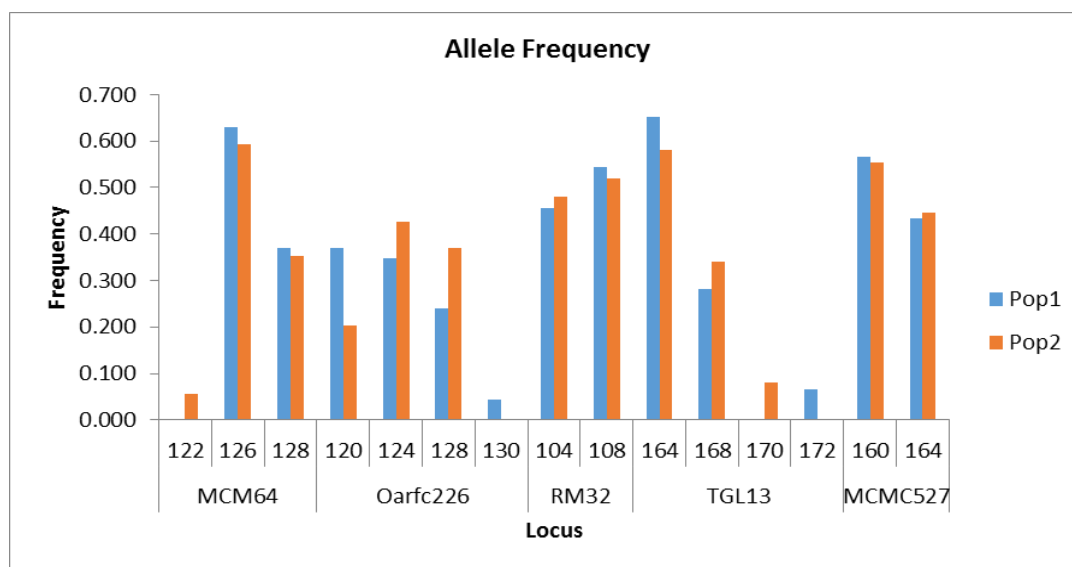
جدول ۸-آمار توصیفی برای شاخص‌های مولکولی

Table 8- Descriptive statistics for molecular markers

شاخص شانون Shannon index	تعداد آلل موثر Number of effective alleles	فراوانی آللی Allele frequently	آلل Allele	جایگاه Location
0.77	1.98	0.36	128	MCMC64
		0.61	126	
		0.03	122	
1.16	3.05	0.39	124	Oarfc226
		0.31	128	
		0.28	120	
		0.02	130	
0.69	1.99	0.53	108	RM32
		0.47	104	
0.90	2.09	0.61	164	TGL 13
		0.31	168	
		0.05	170	
		0.03	172	
0.68	1.97	0.56	16	MCMC527
		0.44	164	

خانواده منتخب از نظر فراوانی آللی حاکم نیست. چه بسا که در طرح خواهر-برادر ناتنی فقط پدرها تعیین ژنوتیپ می‌شوند ولی برای مادرها تعیین ژنوتیپ صورت نمی‌گیرد و دلیل شباهت بین خانواده‌ها ممکن است، وجود مادران مشترک بین نتاج دو خانواده باشد.

به علاوه اطلاعات مربوط به فراوانی آللی به تفکیک خانواده در شکل (۲) قابل مشاهده است. این نمودار نشان می‌دهد فراوانی معقولی در خانواده های مورد مطالعه حاکم است ولی فقط دو مورد از نشانگرها چندشکلی بالایی نسبت به سایر نشانگرها دارند. به علاوه نشان می‌دهد تفاوت زیادی بین دو



شکل ۲- فراوانی آللی نشانگرهای مورد مطالعه به تفکیک خانواده

Figure 2. Allelic frequency of the markers studied by family

با کمک طرح خواهر برادر ناتنی صورت گرفت، سبب شناسایی جایگاه‌های کنترل کننده صفات کمی معنی دار روی کروموزوم های ۲ و ۵ گردید. همچنین، الماموم (۲۰۱۵) برای صفت وزن بدن روی نژاد مرینو موفق به شناسایی جایگاه‌های کنترل کننده صفات کمی روی کروموزوم شماره ۲ در موقعیت ۴۱.۲۲ و ۲۳۰.۴۴ سانتی مورگان، شد. جایگاه‌های کنترل کننده صفات کمی مربوط به وزن شش ماهگی روی کروموزوم شماره ۵، توسط زانگ (۲۰۱۶) روی نژاد چینی در موقعیت ۵.۶۹ یافت شد و گلی‌زاده (۲۰۱۵) نیز جایگاه‌های کنترل کننده صفات کمی را روی نژاد بلوچی و در موقعیت ۶۴.۰۱ شناسایی کرد. جایگاه‌های کنترل کننده صفات کمی مربوط به

نتایج حاکی از آن بود که، روی کروموزوم شماره ۲ هیچ ارتباط معنی داری مابین احتمالات شرطی محاسبه شده و فنوتیپ‌های مورد مطالعه یعنی پارامترهای منحنی رشد برقرار نشد. طبق نتایج بدست آمده، جایگاه‌های کنترل کننده صفات کمی معنی داری شناسایی نشد. روی کروموزوم شماره ۵ از ۴ نشانگر مربوطه فقط یک نشانگر چند شکل بود. بنابراین از روش تک نشانگری جهت تجزیه و تحلیل آماری استفاده گردید. ولی، تفاوت معنی داری مابین نتاج مشاهده نشد و این نیز نشانگر عدم وجود جایگاه‌های کنترل کننده صفات کمی است.

تحقیقات صورت گرفته روی صفات رشد توسط والینگ (۲۰۰۴) که روی نژادهای تکسل و سافولک

بودن هزینه خوانش چندشکلی های تک نشانگری ناگزیر به استفاده از نشانگرهایی مانند ریزماهورها هستیم.

نتیجه گیری کلی

طی تجزیه و تحلیل های انجام شده جایگاه های کنترل کننده صفات کمی معنی داری یافت نشد البته طرح مربوطه به دلیل کم بودن تعداد نشانگرها، تعداد خانواده و اعضای هر خانواده نقایضی را متحمل شد. این عوامل در جای خود می توانند دلیلی بر عدم شناسایی جایگاه های کنترل کننده صفات کمی در این طرح باشد.

تشکر و قدردانی

این مطالعه توسط پشتیبانی مالی دانشگاه تبریز و همکاری مرکز اصلاح نژاد گوسفند قزل میاندواب انجام گرفته که از حمایت های مراکز مرتبط نهایت تقدیر و تشکر را داریم.

منابع

1. Al-Mamun, H.A., Kwan, P., Clark, S. A., Ferdosi, M.H., Tellam, R. and Gondro, C. 2015. Genome-wide association study of body weight in Australian Merino sheep reveals an orthologous region on OAR6 to human and bovine genomic regions affecting height and weight. *Journal of Genetics*. 19(3): 47- 66.
2. Bathaei, S.S. and Leroy, P.L. 1998. Genetic and phenotypic aspects of the growth curve characteristics in Mehraban Iranian fat-tailed. *Journal of Small Ruminant Research*. 22(4): 155-162.
3. Bishop, M.S., Kappes, M., Keele, J.W. and Stone, R.T. 1994. A genetic linkage map for cattle. *Journal of Genetics*. 136(2): 619-639.
4. Blasco, A. and Gomes, E. 1993. A note on growth curves of rabbit lines selected

وزن از شیرگیری نیز توسط وانگ (۲۰۱۶) روی نژاد رامنی در موقعیت ۱۴۹.۶ سانتی مورگان روی کروموزوم شماره ۲، شناسایی شد.

به علاوه براساس مطالعات صورت گرفته، قابل توجه است عوامل متعددی بر روی دقت برآورد جایگاه های کنترل کننده صفات کمی تأثیرگذار می باشند که شامل: سیستم های جفتگیری، تعداد خانواده ها، تعداد نتاج یا اندازه خانواده ها، استفاده از ژنوتیپ های مادری، فراوانی های آلی، فواصل نشانگرها و روش های برآورد توان تشخیص جایگاه های کنترل کننده صفات کمی می باشد.

نمونه مطالعات صورت گرفته در این زمینه بسیار است و این نشانگر اهمیت شناسایی جایگاه های کنترل کننده صفات کمی در طول تاریخ اصلاح نژاد است. امروزه نیز مطالعات در زمینه جایگاه های کنترل کننده صفات کمی از اهمیت بالایی برخوردار است با این تفاوت که امروزه از نشانگرهایی مانند چند شکلی های تک نشانگری برای این تحقیقات استفاده می شود. ولی قابل ذکر است در کشور ما به دلیل بالا

- on growth rate or litter size. *Journal of Animal production*. 57(2): 332-334.
5. Crawford, A.M., Dodds, K.G., Ede, A. J., Pierson, C.A., Montgomery, G.W., Garmonsway, H.G. and Beattie, A.E. 1995. An autosomal genetic linkage map of the sheep genome. *Journal of Genetics*. 140(2): 703-724.
6. Ellegren, H., Moore, S., Robinson, N., Byrne, K., Ward, W. and Sheldon, B.C. 1997. Microsatellite evolution--a reciprocal study of repeat lengths at homologous loci in cattle and sheep. *Journal of Molecular Biology and Evolution*. 14(8): 854-60.
7. Gholizadeh, M., Rahimi-Mianji, G. and Nejati-Javaremi, A. 2015. Genomewide association study of body weight traits in Baluchi sheep. *Journal of Genetics*. 94(1): 143-6.

8. Gilbert, S.F. 2005. Mechanisms for the environmental regulation of gene expression: Ecological aspects of animal development. *Journal of Biosciences*. 30(1): 65-74.
9. Vander werf, J. QTL course: June. 2000. *Belo Horizonte-Brasil*. 8(6): 61-68.
10. Khaldari, M. 2009. The principles of breeding sheep and goats. University of Tehran Publications. Press. 2(1): 434-436. (In Persian)
11. Khodabakhshzadeh, R., Mohammadabadi, M.R., Moradi-Shahrehabak, H. and Esmailzadeh Koshkoieh, A. 2016. Identification of available mutations in the first half (from 5' end) of exon 2 of GDF9 gene in crossbred sheep from crossing of Romanov and Lori-Bakhtiari breeds. *Journal of Animal Production Research* 4(4): 15-26. (In Persian)
12. Maddox, J.F., Davies, K.P., Crawford, A. M., 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, T.C., Phua, S.H., AdelsonD, L., Burkin, H.R., Broom, J.E., Buitkamp, J., Cushwa, W. T., Gerard, E., Galloway, S. M., Harrison, B., Hawken, R.J., Hiendleder, S., Henry, H. M., Medrano, J.F., Paterson, K. A., Schibler, L., Stone, R.T. and Hest, B. 2001. An enhanced linkage map of the sheep genome comprising more than 1000 loci. *Journal of Genome Research*. 11(7): 1275-1289.
13. Maurico, J., Gortari, D., Brad, A., Freking, L., Rachel, P., Steven, M., John, W., Roger, T., Kreg, A. and Allan, M. 1998. A second-generation linkage map of the sheep genome. *Mammalian Genome*. 9(3): 204-209.
14. Mohammadabadi, M.R. and Sattayimokhtari, R. 2013. Estimation of (co) variance components of ewe productivity traits in kermani sheep. *Slovak Journal of Animal Science*. 46(2): 45-51.
15. Mousavizadeh, A., Mohammadabadi, M. R., Torabi, A., Nassiry, M.R. and Esmailzadeh, A.K. 2009. Genetic polymorphism at the growth hormone locus in Iranian Talli goats by polymerase chain reaction-single strand conformation polymorphism (PCR-SSCP). *Iranian Journal of Biotechnology* 7(1): 51-53.
16. Samadi shams, S., Zununi, V., Soltanzad, F., Kafil, V., Barzegari, A., Atashpaz, S. and Barar, J. 2011. Highly effective DNA extraction method from fresh, frozen, dried and clotted blood samples. *Journal of Bio Impacts*. 1(3): 183-187.
17. Walling, G.A., Visscher, P.M., Wilson, A.D., McTeir, B.L., Simm, G. and Bishop, S.C. 2004. Mapping of quantitative trait loci for growth and carcass traits in commercial sheep populations. *Journal of Animal Science*. 82(8): 2234-2245.



Mapping of Quantitative Trait Loci for parameters of growth curve regression in Ghezel sheep

S. Hosseinzadeh¹, *A. Javanmard², A. Rafat³ and S. Alijani⁴

¹M.Sc. Student., ²Assistant Prof., ³Professor and ⁴Associate Prof., Dept. of Animal Science,
Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

Received: 03/10/2020; Accepted: 11/26/2020

Abstract

Background and objective: One of the disadvantages of estimating genetic parameters based on the absolute weight of sheep at a given age is that some genes affect growth only in a specific period of animal life. There are also pleiotropic effects between weight cross-sectional traits of different ages. Therefore, that selection for one trait causes a correlated response in other traits. So focusing on all the stages of the growth curve and the components that characterize the curve can produce more genetic progress. Research results show that growth curve variables are heritable in different species. Therefore, it is possible to modify the growth curve through selection. Understanding the genetic and environmental relationships between different weights, maturity, and growth rates at all stages of development is essential for designing a breeding program to improve production efficiency over the lifetime of the animal. Therefore, identifying and locating QTLs controlling growth curve parameters as heritable traits could be a useful research scenario for investigation. Ultimately, it will increase meat production.

Materials and Methods: Growth curve parameters were estimated using the Brody model and data of 27537 Ghezel sheep. This population pedigree was checked by pedigree viewer software and the two families were selected for this project. To do the present research two half-sib families, 51 offspring of two genera of sheep breeding in the Ghezel Miandoab Breeding station were taken. The chromosomal positions were located on 2 and 5 of the microsatellite were used to determine the genotype. The marker spacing on the chromosomal map was under 30CM. DNA extraction was performed from the whole blood using chloroform and isoamyl-alcohol methods and 4% metaphor agarose gel was used for multiplication of microsatellite sites using Touchdown PCR. UVDOC software was used to score bands. Descriptive statistics were calculated for molecular indices of each markers locus using POPGENE software. Upon completion of genotyping three files map, genotype and records phenotype were prepared and then evaluated normality raw data and correction for fixed effects (gender, type of birth,) by the procedure GLM in SAS 9.2 software made in 2015 was carried out. The analysis results microsatellites showed that polymorphism fit there, but alleles heterozygous rams similarity high, suggesting consanguinity with alleles of the sheep show. The method used for the QTL analysis was to identify the relationship between genetic markers and QTLs by two markers.

Results: The results of microsatellite analysis showed that there is a good polymorphism in the studied population. Finally, the results of the two families indicated no significant QTL identification on chromosomes 2 and 5 for traits of Brody growth curves parameters (A, B, C).

Conclusions: No significant differences were found in the QTL analysis. However, the plan was criticized because of the low number of markers, the number of families, and each family member. These factors may, in turn, be the reason for the lack of QTL identification in this design.

Keywords: Growth trait, Microsatellite, QTL mapping

*Corresponding author; arash_707@yahoo.com