Archive of SID

نشریه پژوهش‌های علوم دامی/ جلد ۲۶ شماره ۱/ سال۱۳۹۵

بررسی رابطه‌ی چندشکلی ژن DRB2 با تعداد تخم انگل نماتودیروس در دستگاه گوارشی گوسفند نژاد قزل

شهرام حسین زاده*[۱]، سید عباس رأفت[۲]، غلامعلی مقدم [۲]، احمد نعمت اللهی[۳] و رحمان حاجی علیزاده[۱]

تاریخ دریافت: ۹٤/٤/۲ تاریخ پذیرش: ۹٤/۱۰/۵

[۱] دانش‌آموخته‌کارشناسی ارشد دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز

[۲] دانشیار و استاد گروه علوم دامی دانشگاه تبریز

[۳] استاد دانشکده دامپزشکی دانشگاه تبریز

* مسئول مکاتبه: Email: shahram.91@ms.tabrizu.ac.ir

چکیده

زمینه مطالعاتی: انگل‌های گوارشی یکی از دلایل اصلی کاهش تولید اقتصادی گوسفندان می‌باشند. **هدف**: پژوهش حاضر به منظور بررسی چندشکلی‌های ریز ماهواره‌های اینترون ۵ ژن DRB2 و ارتباط آن با تعداد تخم انگل نماتودیروس در گوسفند نژاد قزل انجام گرفت. **روش کار**: بدین منظور از ۸۰ رأس بره نر ٤ تا ٦ ماهه خون‌گیری صورت گرفت و نمونه‌های مدفوع از رکتوم بره‌ها جمع‌آوری و شمارش تعداد تخم انگل به روش کلیتون لین انجام شد. استخراج DNA به روش کلروفرم-ایزوآمیل الکل انجام و ناحیه ریز ماهواره‌ای اینترون ۵ ژن DRB2 تکثیر گردید. محصولات حاصل از PCR روی ژل آگارز ۳ درصد الکتروفورز شدند و اندازه آلل‌ها با نشانگر اندازه M25 و نرم‌افزار Uvidoc مورد ارزیابی قرار گرفت. با استفاده از رویه‌ی مختلط، اثر ژنوتیپ روی صفت مورد نظر توسط نرم‌افزار SAS بررسی گردید. **نتایج**: آنالیز آماری ارتباط معنی‌داری را بین صفت تعداد تخم انگل نماتودیروس با چندشکلی ژن DRB2 نشان داد، بطوریکه بره‌های دارای ژنوتیپ هموزیگوت ۳۰۰ در ناحیه اینترون ۵ ژن DRB2 به طور معنی‌داری ($P<۰/۰۱$) تعداد تخم انگل کمتری نسبت به بره‌های دیگر داشتند. **نتیجه‌گیری نهایی**: به عنوان نتیجه، چندشکلی ژنتیکی در این جایگاه می‌تواند به‌عنوان یک ابزار مفید در برنامه‌های انتخاب بر اساس نشانگرها مورد استفاده قرار گیرد.

واژگان کلیدی: انگل نماتودیروس، نژاد قزل، ریز ماهواره، DRB2

مقدمه

گوسفند نژاد قزل یکی از نژادهای دنبه‌دار است که منطقه زیست آن در آذربایجان غربی و آذربایجان شرقی و مناطق کوهستانی تبریز می‌باشد. هر چه دنبه از حالت فوق خارج‌شده باشد، به همان اندازه از مطلوبیت گوسفند کاسته می‌شود. رنگ دنبه و سینه و چهار قلم تیره‌تر از سایر نقاط بدن می‌باشد. اکثر گوسفندان در زیر گردن منگوله‌دارند. خصوصیات تولیدی: میانگین وزن تولد بره‌ها ٤,۵ کیلوگرم، میانگین وزن ٦ ماهگی ۳۵ کیلوگرم، میانگین وزن بلوغ ۵۰ کیلوگرم، دوقلوزائی ۲۰ درصد (http://blog.iran-carpet.comt). انگل و کرم‌های گوارشی یکی از منابع

www.SID.ir

Archive of SID

اصلی کاهش تولید گوسفندان در سراسر جهان می‌باشد (هالیدی و همکاران ۲۰۱۲ ، ریگو و همکاران ۲۰۱٤). متأسفانه صنعت پرورش گوسفند متکی برافزایش استفاده از مواد ضد انگل برای کنترل انگل است. بااین‌حال، افزایش مقاومت شیمیایی موجب شده تا محققان به دنبال کشف روش‌های کنترل جایگزین باشند (کاپلان و همکاران ۲۰۱۲). در مزارع یونان استفاده از داروهای ضد انگل از قبیل موکسیدین و ایورمکسین، بنزیمادوزل و لوامیزول که به ترتیب باعث کاهش FEC به میزان ۹۱، ۱۰۰، ۵۸، ۸۷ درصد می‌شوند (گوردن وهمکاران ۲۰۱٤). از سویی دیگر در اکثر مراتع اصلی پرورش گوسفند در اروپا، نسبت به بنزیمادوزل مقاومت دارویی مشاهده شده است. علی‌الخصوص در یونان (پاپادوپولیس و همکاران ۲۰۱۲) شمال ایرلند (مک ماهان و همکاران ۲۰۱۲) و نروژ (دومک و همکاران ۲۰۱۲) و اسپانیا (مارتینز و همکاران ۲۰۱۳). انگل‌های تریشوریس و نماتودیروس نسبت به اثر دارویی بنزیمادوزل، لوامیزول و لاکتون مقاومت نشان دادند (میتچل و همکاران ۲۰۱۰). بر طبق یافته‌ها، مهم‌ترین نماتدهای گوسفندی که به درمان دارویی مقاوم بوده، سیرکومسینکتا، هونکوس کنتورتوس و تریشوریس و به میزان کمتر نماتودیروس می‌باشند (پاپادوپولیس و همکاران۲۰۱۲). شواهدی توجیه می‌کند که برخی از ژن‌ها، ازجمله دو منبع MHC[1] و IFNɣ[2] در مقاومت به انگل‌های روده در نژادهای مختلف گوسفند نقش داشته است (براون و همکاران ۲۰۱۳). بین چندشکلی در مجموعه سازگاری بافتی (MHC) ومقاومت گوسفندان به نماتدهای گوارشی رابطه وجود دارد (لی و همکاران ۲۰۱۱). پایگاه داده QTL[3] حیوانات نشان داد که درمجموع ۷۵۳ QTL برای صفات مختلف اقتصادی در گوسفند گزارش‌شده که در این میان، ۸۱ مورد از این QTL ها مربوط به ویژگی مقاومت به انگل‌ها بودند، که روی کروموزوم‌های مختلف گوسفند توزیع شده بودند. بااین‌حال، QTL های مربوط به مقاومت انگل در کروموزوم ۳ بیشتر بوده است. در میان انگل‌های مختلف، ٤٤ از ۸۱ QTL کنترل‌کننده مقاومت در برابر گونه‌های هونکوس گزارش‌شده است. همچنین ۲۰ تا در گونه تریشوسترونژیلوس، ۱۱ گونه در نماتودیروس و شش گونه در استرونژیلا گزارش‌شده است (هو و همکاران ۲۰۱۳). درمجموع از ۲٤۳ توالی ژن انتخاب‌شده، در میان ٤۱ SNP شناسایی‌شده، ۲۷ عدد در کروموزوم ۳ با حداکثر تعداد QTL های مربوط به ویژگی مقاومت انگل در گوسفند واقع‌شده‌اند. از ۱٤ SNP ها باقی‌مانده، سه عدد در هر یک از کروموزوم ۱ و ۱۲، دو عدد در هر یک از کروموزوم‌های ۱۱، ۱٦ و ۲۷ و یکی در کروموزوم ۸ و ۱۳ قرار دارند (پریسامی و همکاران ۲۰۱٤). به‌طور قابل‌توجهی کروموزوم ۳ گوسفند دارای بیشترین تعداد QTL با مقاومت در برابر نماتود دستگاه گوارش است (پریسامی و همکاران ۲۰۱٤). ریز ماهواره‌ها کوتاه‌ترین توالی‌های تکراری (۱ تا ٦ جفت بازی) بوده که تعداد واحد تکرارشونده در هر محل، تنها چند باز تا حدود ۳۰ باز متفاوت است. چندشکلی بالا و آسانی نسبی در اسکوربندی و تجزیه‌ی راحت داده‌های حاصل، از ویژگی‌های مهم نشانگرهای ریز ماهواره است که موجب توسعه مطالعات آن شده است (زان و همکاران ۲۰۰۲) کمپلکس اصلی سازگاری بافتی روی کروموزوم شماره‌ی ۲۰ گوسفند قرار دارد. جایگاه MHC دو نوع ژن چندشکلی MHC دارد، ژن Ovar-DRB2 از خانواده شبه ژن‌ها می‌باشد که فاقد اگزون ۱ و ۲ و دارای دو کدون پایان نابجا و سایر جهش‌هایی که در قسمت‌های غیرکاربردی ترجمه می شوند (شارون و همکاران ۲۰۰۲). هدف از مبارزه جهت نابودی انگل‌ها نه‌تنها به خاطر ضرر اقتصادی آن‌ها بلکه به خاطر انتقال آلودگی‌های انگلی به انسان نیز می‌باشد. آلودگی‌های کرمی یکی از شایع‌ترین امراض دامی بوده و علاوه بر مشکلات مستقیمی که در دام‌ها ایجاد

1- Major Histocompatibility Complex
2- Interferon gamma
3- Quantitative trait loci

www.SID.ir

Archive of SID

می‌کنند، زمینه را برای امراض باکتریایی و ویروسی مساعد کرده و حتی در بسیاری از موارد منجر به مرگ دام‌ها می‌شود. هدف از این پژوهش بررسی ارتباط بین چندشکلی ژن DRB2 و تعداد تخم انگل نماتودیروس در گوسفند نژاد قزل بود.

مواد و روش‌ها

تعداد ۸۰ بره نر و تقریباً هم‌سن (٤ تا ٦ ماهه) نژاد قزل که از ٤ گله (۲۰ رأس از هر گله) دامداران استان آذربایجان شرقی، به‌طور تصادفی انتخاب شدند و نمونه‌گیری در دو نوبت به فاصله یک هفته از هم که شامل نمونه‌های خون و مدفوع بود، انجام شد. نمونه‌های مدفوع نیز از رکتوم گوسفند جمع‌آوری شده و در آزمایشگاه شمارش تعداد تخم انگل به روش کلیتون لین انجام گردید سپس بر طبق فرمول زیر تعداد تخم انگل در گرم (EPG) حساب شد:

$EPG= [n+ (n/6)] \times m$

n=تعداد تخم انگل شمارش‌شده

m =امتیاز مدفوعی

امتیازدهی وضعیت نمونه‌ی مدفوعی برای هر بره، در فرمول محاسبه‌ی EPG برای هر تخم انگل اعمال شده و امتیازدهی از عدد ۱ تا ۳ بود (اسلامی و بهادری ۱۳۸۲). صفت اصلی برای ارزیابی وضعیت مقاومت در حیوانات تحت چالش انگل‌های مشابه تعداد تخم در مدفوع است (مرادپور و همکاران ۲۰۱۳). برای گوسفند، تعداد تخم در مدفوع به‌طورکلی به‌عنوان یک ابزار برای تعیین کمیت انگل استفاده می‌شود (سینگلتون و همکاران ۲۰۱۳). تعداد ۸۰ نمونه خونی با استفاده از لوله‌های ونوجکت حاوی ماده‌ی ضد انعقاد K3 EDTA از ورید وداج جمع‌آوری گردید واستخراج DNA به روش کلروفرم–ایزوآمیل الکل از نمونه‌های خونی انجام گردید (شمس و همکاران ۲۰۱۱). با استفاده از روش اسپکتوفوتومتر و ژل آگارز ۰/۲ درصد کمیت و کیفیت DNA استخراجی مورد بررسی قرار گرفت. تعیین خلوص DNA استخراج شده با روش اسپکتوفوتومتر، نتایج حاصل از ژل آگارز را در استخراج DNA تایید کرد. نسبت OD260/OD280 در نمونه های DNA استخراج شده در محدوده ۱/۷ الی ۱/۹ قرار داشتند و در نتیجه خلوص DNA در حد بالایی بوده و فاقد RNA یا پروتئین می باشند. DNA استخراج‌شده با واکنش زنجیره‌ای پلیمراز و با استفاده از دو پرایمر اختصاصی و با توالی‌های زیر جهت تکثیر اینترون شماره‌ی۵ ژن Ovar-DRB2 معرفی‌شده بودند، انجام شد (فیگوریا و همکاران ۲۰۱۱).

OLADRB2 F 5`
CTGCCAATGCAGAGACACAAGA 3`
OLADRB2 R 5`
GTCTGTCTCCTGTCTTGTCTCAT 3

چرخه‌های حرارتی PCR نیز به‌قرار زیر صورت پذیرفت؛ ۱- واسرشته سازی اولیه به مدت چهار دقیقه در دمای ۹۵ C^0، ۲- واسرشته سازی به مدت ۳۰ ثانیه در دمای ۹۵ C^0، ۳- اتصال آغازگر به مدت ۳۰ ثانیه با دمای ۵۹ C^0، ٤- مرحله بسط به مدت ۵۰ ثانیه در دمای ۷۲ C^0، ۵- تکرار مراحل ٤-۲ به تعداد ۳۵ دور، ٦- مرحله بسط نهایی به مدت ۵ دقیقه در دمای ۷۲ درجه C^0. پس از انجام مراحل DNA تکثیرشده طی انجام الکتروفورز با ژل آگارز ۳ درصد از یکدیگر تفکیک‌شده و سپس به‌وسیله رنگ‌آمیزی به روش اتیدیوم بروماید نمایان شدند. همچنین توسط نرم‌افزارUVIDOC باندهای به‌دست‌آمده مورد سنجش قرارگرفته و ارتباط آن‌ها با صفت مقاومت به انگل‌های داخلی که یک صفت آستانه‌ای بوده، بررسی گردید. برای انجام آنالیزهای آماری داده‌های نتایج به‌دست‌آمده به خاطر ماهیت اندازه‌گیری مکرر از رویه‌ی مدل مختلط در نرم‌افزار SAS استفاده شد. در این مدل اثر ژنوتیپ و گله را ثابت در نظر گرفته شد (لایتل و همکاران۱۹۹۸).

$$Y_{ijk} = \mu + H_i + G_j + LAMB\ (H \times G)_{ij} + e_{ijk}$$

www.SID.ir

Archive of SID

H_i = اثر ثابت گله، Gj = اثر ثابت ژنوتیپ، $LAMB(H\times G)_{ij}$= اثرتصادفی حیوان داخل ژنوتیپ ×گله، e_{ijk} = عوامل باقیمانده.

دامنه آللی به‌دست‌آمده بین ۲۷٤bp تا ۳۱۸ تعیین گردید (شکل-۱)، که آلل ۳۰۰ دارای بیشترین فراوانی بود، که نتایج مربوطه برای جایگاه اینترون ۵ ژن DRB2 در جدول ۱ و ۲ و شکل ۱ آمده است.

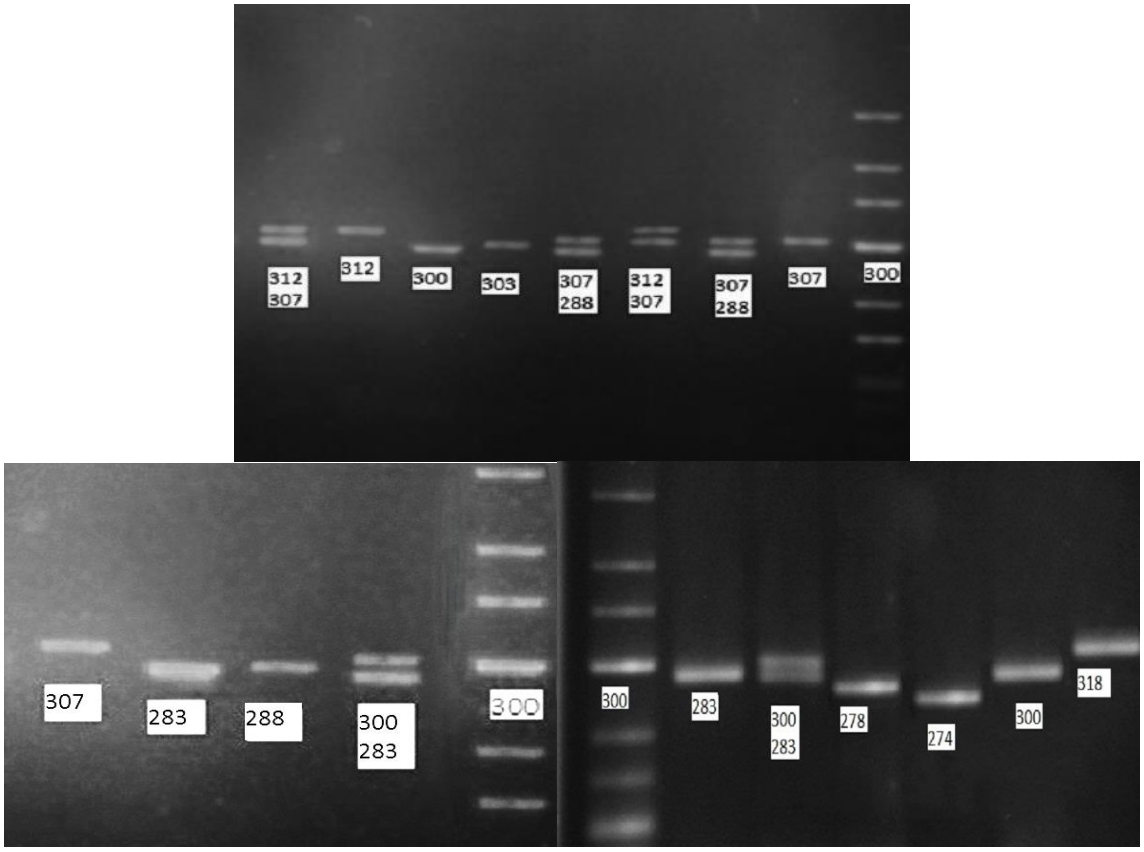
نتایج و بحث

جدول ۱- فراوانی ژنوتیپ‌های ژن DRB2 در گوسفند نژاد قزل

ژنوتیپ	۳۰۷-۳۰۷	۳۰۰-۳۰۰	۲۸۸-۲۸۸	۲۸۳-۲۸۳	۲۸۱-۲۸۱	۲۷۸-۲۷۸	۲۷۴-۲۷۴
فراوانی	۰,۰۷	۰,۱۸	۰,۰٦	۰,۰۷	۰,۰۵	۰,۰٦	۰,۰۵
ژنوتیپ	۳۰۰-۲۸۳	۳۰۷-۲۸۸	۳۰۷-۳۱۲	۳۱۸-۳۱۸	۳۱۲-۳۱۲	۳۱۸-۳۱۲	
فراوانی	۰,۰۷	۰,۰۵	۰,۰۵	۰,۱۲	۰,۰۷	۰,۰۹	

جدول ۲ - فراوانی آللی ژن DRB2 در گوسفند نژاد قزل

آلل	۲۷۴	۲۷۸	۲۸۳	۲۸۸	۳۰۰	۳۰۳	۳۰۷	۳۱۲	۳۱۸
فراوانی	۰,۰٤	۰,۰٤	۰,۰۹	۰,۱۳	۰,۱۹	۰,۰٤	۰,۱۳	۰,۱۲	۰,۲۱



شکل-۱ نمونه هایی از الل‌های مربوط به ناحیه اینترون ۵ ژن DRB2 در گوسفند نژاد قزل

www.SID.ir

Archive of SID

در این تحقیق، تعداد آلل در ناحیه اینترون ۵ ژن DRB2 در نژاد قزل برابر با ۹ آلل با دامنه بین ۲۷٤ تا ۳۱۸ جفت باز به دست آمد که با تعداد آلل به‌دست‌آمده در نژادهای a merino corriedale polworth, southdown suffolk border Leicester, (بلتمن و همکاران ۱۹۹۲) با ۱۳ آلل و در نژاد A German Rhonschaf با ۸ (جانسن و همکاران۲۰۰۲) و در نژاد A Soay برابر با ٦ آلل (پترسون و همکاران ۱۹۹۸) و در گوسفندان پلیبوئی با ۱۵ آلل (فیگوریا و همکاران ۲۰۱۱) مطابقت ندارند. این تفاوت‌ها می‌تواند ناشی از تفاوت بین نژادهای مختلف بوده باشد. در یک آزمایش، چندشکلی ریز ماهواره DRB2 در ناحیه اینترون ۵ را در دو نژاد Heatherhead و Zelaznienska در لهستان بررسی گردیده و تعداد آلل را به ترتیب ۱۱ و ۸ گزارش و اعلام کردند فراوانی آللی در این دو نژاد باهم فرق می‌کند (شارون و همکاران ۲۰۰۲). بااین‌حال صفت فنوتیپی اصلی برای ارزیابی وضعیت مقاومت در حیوانات تحت چالش انگل‌های مشابه اندازه‌گیری تعداد تخم در مدفوع می‌باشد (مک ماهن و همکاران ۲۰۱۳). بنابراین تعداد تخم در مدفوع به‌طورکلی به‌عنوان یک ابزار برای تعیین کمیت انگل گوسفند استفاده می‌گردد (سینگلتون وهمکاران۲۰۱۱). در تحقیقی با استفاده از توالی یابی توسطOvine 50k SNP Chip ، رابطه‌ی معنی‌داری بین ناحیه‌های ژنی ١٤، ١٩، ٢٠ با تعداد تخم انگل شمارش‌شده پیدا گردید و نشان داد که ناحیه‌ی ژنی OAR 20 نزدیک به جایگاه کمپلکس سازگاری بافتی (MHC) قرار دارد(ریگوو و همکاران ٢٠١٤). در پژوهش‌های انجام‌شده در مکزیک بررسی ارتباط بین ریز ماهواره‌های ژن‌های MHC زیر کلاس I (OMHCI) و زیر کلاس II (OLA DRBI و OLA DRB2) انجام و تعداد تخم انگل در مدفوع گوسفندان پلیبوئی که به‌صورت مصنوعی به انگل هومنکوس کنتورتوس آلوده‌شده بودند، شمارش گردید. نتایج نشان دادند که چند شکلی ژن‌های MHC نقش مهمی را در ایجاد مقاومت نسبت به انگل هومنکوس کنتورتوس بازی کرده و می‌توانند به‌عنوان یک نشانگر در برنامه-های انتخاب بر اساس نشانگر و اصلاح نژاد برای ایجاد مقاومت نسبت به انگل هومنکوس کنتورتوس، مورد استفاده قرار گیرند (فیگوریا و همکاران ۲۰۱۱). در پژوهش حاضر نیز ارتباط معنی‌داری بین چندشکلی اینترون ۵ ژن DRB2 و تعداد تخم انگل نماتودیروس در سطح یک در صد به دست آمد که نشان‌دهنده‌ی میزان تخم انگل کمتر در بره‌های دارای ژنوتیپ هموزیگوت ۳۰۰ در ناحیه اینترون ۵ ژن DRB2 نسبت به بقیه بره‌ها می‌باشد. با توجه به ارتباط معنی‌دار چندشکلی در ژن DRB2 با تعداد تخم انگل می‌توان انتظار داشت که از این چندشکلی به‌عنوان یک نشانگر ژنتیکی در برنامه‌های اصلاح نژاد استفاده گردد.

نتیجه‌گیری کلی

به نظر می‌رسد چندشکلی اینترون ۵ ژن DRB2 ارتباط معنی داری با تعداد تخم نماتودیروس در گوسفند داشته و همچنین تنوع قابل ملاحظه‌ی تعداد تخم انگل امکان تغییر ژنتیکی میزان تخم انگل را از طریق انتخاب فراهم می‌سازد. اگرچه صفت مربوط توسط تعداد زیادی ژن کنترل می‌شود ولی بعضی از این ژن‌ها دارای اثرات بیشتری بوده و نقش آن‌ها در مطالعات مختلف به اثبات رسیده است. در پژوهشی که اخیراً روی گوسفند قزل صورت گرفته که ارتباط ژن DRBI از کلاسII کمپلکس MHC با تعداد تخم انگل‌های گوارشی نشان داده است (حاجی علیزاده و همکاران۲۰۱۵).

www.SID.ir

Archive of SID

منابع مورد استفاده

Bishop S, 2012. Possibilities to breed for resistance to nematode parasite infections in small ruminants in tropical production systems. Animal 6(5): 741-747.

Blattman A and Beh K, 1992. Dinucleotide repeat polymorphism within the ovine major histocompatibility complex. J Animal Genetics 2: 392-392.

Brown E, Pilkington J, Nussey D, Watt K, Hayward A, Tucker and R Pemberton J, 2013. Detecting genes for variation in parasite burden and immunological traits in a wild population: testing the candidate gene approach. J Molecular Ecology 22:757-773.

Charon K, Cieslak D, Gruszczynska J, Kuryl J, Pierzchala M and Swiderek W, 2002. Microsatellite polymorphism of pseudo-gene OLA-DRB2 in intron 5 in two Polish sheep breeds. Animal Science Papers and Reports 20: 67-72.

Domke AVM, Chartier C, Gjerde B, Höglund J, Leine N, Vatn S and Stuen S, 2012. Prevalence of anthelmintic resistance in gastrointestinal nematodes of sheep and goats in Norway.Parasitol Res 111: 185-193.

Figueroa Castillo JA, Medina RDM, Villalobos JMB, Gayosso-Vázquez A, Ulloa-Arvízu R, Rodríguez RA, and Alonso RA, 2011. Association between major histocompatibility complex microsatellites, fecal egg count, blood packed cell volume and blood eosinophilia in Pelibuey sheep infected with Haemonchus contortus. J Veterinary Parasitology 177: 339-344.

Geurden T, Hoste H, Jacquiet P, Traversa D, Sotiraki S, Frangipane A, and Privat S, 2014. Anthelmintic resistance and multidrug resistance in sheep gastro-intestinal nematodes in France, Greece and Italy. J Veterinary Parasitology 201: 59-66.

Halliday AM, Lainson F, Yaga R, Inglis NF, Bridgett S, Nath M and Knox DP, 2012. Transcriptional changes in Teladorsagia circumcincta upon encountering host tissue of differing immune status. J Parasitology 139: 387-405.

Hajializadeh R, Rafat SA, Notter, Shoja J, Moghaddam G and Nematollahi A, 2015. Fecal egg counts for gastro intestinal nematodes are associated with a polymorphism in the MHC-DRB1 1gene in the Iranian Ghezel sheep breed. Frontiers in Genetics 10: 3389

Hu Z, Park CA, Wu XL and Reecy JM 2013. Animal QTLdb: an improved database tool for livestock animal QTL/association data dissemination in the post-genome era. J Nucleic Acids Research 41: D871-D879.

Janssen M, Weimann C, Gauly M and Erhardt G, 2002. Associations between infections with Haemonchus contortus and genetic markers on ovine chromosome 20. Paper presented at the Proceedings of the 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Montpellier, France, August, 2002. Session 13.

Kaplan RM and Vidyashankar AN, 2012. An inconvenient truth: global worming and anthelmintic resistance. J Veterinary Parasitology 186: 70-78.

Lee C, Munyard K, Gregg K, Wetherall J, Stear M and Groth D, 2011. The influence of MHC and immunoglobulins A and E on host resistance to gastrointestinal nematodes in sheep. J Parasitology Research 2011.

Littell R, Henry P and Ammerman C, 1998. Statistical analysis of repeated measures data using SAS procedures. J Animal Science 76: 1216-1231.

Martínez-Valladares M, Martínez-Pérez JM, Robles-Pérez D, Cordero-Perez C, Famularo M, Fernandez-Pato N and Rojo-Vázquez FA, 2013. The present status of anthelmintic resistance in gastrointestinal nematode infections of sheep in the northwest of Spain by in vivo and in vitro techniques. J Veterinary Parasitology 191:177-181.

McMahon C, Bartley D, Edgar H, Ellison S, Barley J, Malone F and Fairweather I, 2013. Anthelmintic resistance in Northern Ireland (I): prevalence of resistance in ovine gastrointestinal nematodes, as determined through faecal egg count reduction testing. J Veterinary Parasitology 195: 122-130.

Mitchell E, Hunt K, Wood R and McLean B, 2010. Anthelmintic resistance on sheep farms in Wales. J Veterinary Record 166: 650-652.

www.SID.ir

Archive of SID

Moradpour N, Borji H, Razmi G, Maleki M and Kazemi H, 2013. Pathophysiology of Marshallagia marshalli in experimentally infected lambs. Parasitology 140:1762-1767.

Papadopoulos E, Gallidis E and Ptochos S, 2012. Anthelmintic resistance in sheep in Europe: A selected review. Vet Parasitol 189: 85-88.

Paterson S, 1998. Evidence for balancing selection at the major histocompatibility complex in a free-living ruminant. J Heredity 89: 289-294.

Periasamy K, Pichler R, Poli M, Cristel S, Cetrá B, Medus D and Ellahi MB, 2014. Candidate gene approach for parasite resistance in sheep variation in immune pathway genes and association with fecal egg count. Plos One 9: e88337.

Riggio V, Pong WR, Sallé G, Usai M, Casu S, Moreno C and Bishop S, 2014. A joint analysis to identify loci underlying variation in nematode resistance in three European sheep populations. J Animal Breeding and Genetics. 131(6):426–436.

Shams SS, Vahed SZ, 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. BioImpacts 1(3): 183–187.

Singleton D, Stear M and Matthews L, 2011. A mechanistic model of developing immunity to Teladorsagia circumcincta infection in lambs. Parasitology 138: 322-332.

Zane L, Bargelloni L and Patarnello T, 2002. Strategies for microsatellite isolation: a review. J Molecular Ecology 11: 1-16.

www.SID.ir

Archive of SID

Investigation of relationship between DRB2 gene polymorphism and Nematodirus parasites in gastrointestinal of Ghezel sheep breed

Sh Hosseinzadeh[1]*, S A Rafat[2], Gh Moghaddam[2] , A Nematollahi[3] and R Hajializadeh[1]

Received: June 23, 2015 Accepted: December 26, 2015

[1] MSc, Graduated Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
[2]Associate Professor and Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
[3]Professor, Department of Veterinary, Faculty of Veterinary Sciences University of Tabriz, Tabriz, Iran
*Corresponding author: E mail: shahram.91@ms.tabrizu.ac.ir

Abstract

BACKGROUND: Parasites and intestinal worms are one of the main causes of the economic decline in the sheep industry. **OBJECTIVES:** This research carried out for consideration of microsatellite polymorphism in the intron 5 of DRB2 gene and its association with the egg numbers of Nematodirus parasite in Ghezel sheep breed. **METHODS:** Blood and fecal samples were obtained from 80 male lambs at the age of 4-6 months. Fecal samples were collected from the lambs' rectum and the number of fecal eggs was calculated by the Clayton Lane technique. The DNA was extracted using Chloroform-Amyl Alcohol; and Microsatellite regions of intron 5 of the DRB2 gene were amplified. PCR products were electrophoresed on 3% Agarose gel. Allele sizes were determined by ladder 25 bp and Uvidoc software. The Proc Mixed was considered for evaluation of genotypes effects on the traits. **RESULTS:** Statistical analysis showed there was significant correlation between the numbers of Nematodirus parasite eggs and the polymorphism of DRB2 gene. Therefore, lambs that had the genotypes 300-300 in intron 5 of DRB2 gene had significantly ($P<0.01$) lower number of eggs in compare with the others. **CONCLUSIONS:** It was concluded that the polymorphism at this locus can be utilized as a useful tool in the selection programs based on markers.

Keywords: Nematodirus parasites, Ghezel Breed, Microsatellite, DRB2

www.SID.ir