

تولیات دامی

دوره ۱۸ ■ شماره ۴ ■ زمستان ۱۳۹۵

صفحه‌های ۶۷۰-۶۶۱

بررسی QTL‌های وزن بدن و اثرات پلیوتروپی آنها روی کروموزوم شماره دو بز مرخز

رضا سید شریفی^{۱*}، نجات بادبرین^۲، نعمت هدایت ایوریق^۳

۱. استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل - ایران

۲. دانش‌آموخته دکتری ژنتیک اصلاح نژاد دام، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت - ایران

۳. استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل - ایران

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۵/۰۳/۰۳

تاریخ وصول مقاله: ۱۳۹۴/۱۱/۲۶

چکیده

این تحقیق به منظور مکان‌یابی QTL‌های صفات وزن بدن با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره کروموزوم دو بز مرخز انجام شد. برای این منظور ۸ خانواده ناتنی پدری بز مرخز که در مجموع ۲۵۵ فرزند (شامل ۱۲۹ فرزند نر و ۱۲۶ فرزند ماده) برای ۶ نشانگر ریزماهواره روی کروموزوم دو تعیین ژنوتیپ شد. صفات کمی مورد نظر شامل وزن بدن در زمان تولد چهار، شش، نه و ۱۲ ماهگی بود. معنی‌دار بودن اثر QTL با استفاده از نرم‌افزار GridQTL (نسخه 3.3.0) و به روش مکان‌یابی فاصله‌ای آزمون شد. در تحقیق حاضر، اثر یک QTL در موقعیت ۱۵۳ سانتی مورگان روی کروموزوم دو بر وزن شیرگیری معنی‌دار شد ($P < 0.01$). اثر جایگزینی آن ۴/۹۹ در واحد انحراف استاندارد فنوتیپی برآورد گردید. مکان این QTL در بین نشانگرهای IDVGA64 و OarFCB011 و در فاصله ۱۰ سانتی مورگان از نشانگر IDVGA64 تعیین گردید. در پژوهش حاضر، اثر پلیوتروپی بین مکان‌یابی شده با دیگر صفات مورد بررسی شناسایی نشد. انتظار می‌رود که اسکن ژنومی گسترده با استفاده از تعداد فرزندان بیشتر در درون هر خانواده امکان شناسایی اثرات پلیوتروپی و QTL‌های بیشتری در ارتباط با این صفات فراهم نماید و نشانگرهای مفیدی برای انتخاب به کمک نشانگر برای این صفات تأمین نماید. باتوجه به فاصله اطمینان زیاد ($CI = 25 \text{ cM}$) پیشنهاد ژن کاندیدا برای QTL تعیین شده چندان صحیح نمی‌باشد و توصیه می‌شود به منظور تعیین دقیق‌تر این QTL در تحقیقات آینده از تعداد فرزندان بیشتر در درون خانواده‌ها استفاده شود.

کلیدواژه‌ها: بز مرخز، کروموزوم دو، مکان ژن‌های کمی، نشانگرهای ریزماهواره، وزن بدن

مقدمه

در دهه‌های گذشته ارزیابی ژنتیکی حیوانات با استفاده از مدل‌های حیوانی و اطلاعات شجره‌ای و فنوتیپی انجام شده است. مکان‌یابی QTL‌های صفات تولید و استفاده از آنها می‌تواند در افزایش دقت انتخاب مؤثر باشد [۱۱]. اگر QTL‌های مؤثر بر صفات شناسایی شوند و نشانگرهای ژنتیکی همبسته با این QTL‌ها مشخص گردند، برنامه‌های ارزیابی ژنتیکی برای صفات با وراثت‌پذیری کم آسان‌تر شده و به‌جای انتخاب و آمیزش‌های ناصحیح، با استفاده از نشانگرها این ارزیابی‌ها آسانتر می‌شوند [۸]. در سال‌های اخیر از نشانگرهای مولکولی DNA (به‌خصوص نشانگرهای ریزماهواره) برای بررسی نحوه توارث هاپلوتایپ‌های ژنومی استفاده شده است. به دلیل اینکه تشخیص نشانگرهای ریزماهواره ارزان بوده و کار کردن با آنها ساده است و دارای چندین آلل است و احتمال وجود تعداد افراد هتروزیگوت در جامعه زیاد است، برای تشخیص مکان QTL‌ها در ژنوم از آنها به وفور استفاده شده است [۹]. با استفاده از اطلاعات حاصل از این نشانگرها در درون جمعیت‌های خاص، نقشه پیوستگی نشانگرهای DNA در سطح ژنوم گونه‌های مختلف حیوانی ترسیم شده و امکان شناسایی QTL‌ها فراهم شده است [۵]. ممکن است یک ناحیه به‌خصوص از ژنوم بر بیش از یک صفت تأثیر داشته باشد. در این حالت، گفته می‌شود QTL موجود در این ناحیه از ژنوم دارای اثر پلیوتروپی بر صفات موردنظر است. چون همبستگی بین صفات وزن بدن در سن‌های مختلف زیاد است [۱۴]، توصیه می‌شود که برای افزایش دقت و صحت QTL‌های معنی‌دار، علاوه بر تجزیه تک صفتی از تجزیه‌های چندصفتی نیز استفاده شود [۱۸]. انتظار می‌رود با شناسایی QTL‌ها و آلل‌های همبسته با آنها و استفاده از آنها در برنامه‌های انتخاب به کمک نشانگر، برنامه‌های اصلاح نژاد با دقت بیشتری انجام شود [۸].

پیش‌بینی شده است که با منظور نمودن اطلاعات نشانگر در پیش‌بینی ارزش‌های اصلاحی میزان پیشرفت ژنتیکی ۳۸-۸ درصد بیشتر می‌شود [۱۱].

بز مرخز یکی از ذخایر ژنتیکی باارزش کشور است که بیشتر برای موهر آن پرورش داده می‌شود. بز مرخز دارای ویژگی‌های منحصر به فردی نظیر مقاومت به شرایط نامناسب محیطی، دوقلوزایی زیاد و کیفیت خوب الیاف تولیدی می‌باشد. ویژگی‌های ممتاز الیاف موهر نظیر استحکام، قابلیت ارتجاع، کمتر چروک شدن، کم بودن قابلیت اشتعال، جذب سریع رطوبت، آسان بودن زدودن گرد و خاک، طول مناسب، جذب کامل رنگ و ثبات رنگ، کاربردهای وسیعی دارد [۱۳]. حفظ، شناسایی و اصلاح نژاد بز مرخز می‌تواند عامل مهمی در فعال کردن دامپروری و صنایع نساجی محلی، اشتغال‌زایی، جلوگیری از مهاجرت روستاییان و رونق اقتصادی منطقه و کشور باشد [۳]. در زمان‌های گذشته اصلاح نژاد بز مرخز بیشتر براساس مقدار و کیفیت موهر تولیدی آن انجام گرفته است، اما باتوجه به تقاضای بازار در سال‌های اخیر، تولید گوشت آن نیز مورد توجه قرار گرفته است [۱۴]. رابطه ژنتیکی بین وزن بدن و قطر موهر مثبت است، لذا با انتخاب بر اساس قطر موهر کمتر وزن بلوغ کاهش می‌یابد [۲۰].

تاکنون تحقیقات زیادی در زمینه شناسایی ژن‌ها و QTL‌های مؤثر بر صفات وزن بدن بزها در دنیا انجام شده است. بیشتر پژوهش‌های مکان‌یابی QTL در بزها در مورد صفات مربوط به الیاف تولیدی آنها بوده است [۵، ۶، ۷ و ۲۰]. صفات مربوط به وزن بدن جزء صفات اقتصادی می‌باشند، ولی تحقیقات در زمینه شناسایی QTL‌های مربوط به این صفات کم است. از این پژوهش‌ها می‌توان به مکان‌یابی QTL‌های مربوط به صفات وزن بدن قبل از شیرگیری با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره اشاره کرد [۲۱]. QTL‌های صفات رشد بز راینی مورد بررسی قرار

تولیدات دامی

نژاد بز مرخز سنندج در سال ۱۳۹۰ تعداد هشت مولد نر که تا چند نسل قبل دارای والد مشترک نبودند، انتخاب و به طور تصادفی با بزهای ماده آمیزش داده شد و فرزندان آنها در طی سال‌های ۹۰ تا ۹۲ متولد شدند. صفات مورد اندازه‌گیری روی فرزندان نر و ماده شامل وزن‌های تولد چهار، شش، نه و ۱۲ ماهگی بود. با استفاده از ونوجکت‌های حاوی ماده ضدانعقاد خون، از سیاهرگ وداج گردن کلیه افراد مورد مطالعه خون‌گیری انجام شد. پس از استخراج DNA به روش نمکی، غلظت DNA استخراج شده با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری اپندورف ساخت کشور آلمان تعیین شد و سپس غلظت آنها با استفاده از آب مقطر به ۵۰ نانوگرم بر میکرولیتر رسانده شد. ابتدا به کمک واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) ژنوتیپ کلیه پدران برای نشانگرهای ریزماهواره مورد استفاده در این پژوهش با استفاده از دستگاه ترموسایکلر بیومترا ساخت کشور آلمان تعیین شد. سپس، ژنوتیپ فرزندان پدران هتروزویگوت برای این نشانگرها نیز تعیین شد. نشانگرهای ریزماهواره باتوجه به تحقیقات قبل [۱۹] و همچنین براساس نقشه ژنتیکی نشانگرهای ریزماهواره‌ای بز به نشانی [۸] انتخاب شدند (جدول ۲).

گرفت و چند QTL روی کروموزوم‌های یک، دو و پنج بز راثینی شناسایی شد [۱۲]. در پژوهشی که روی کروموزوم‌های یک و پنج بز مرخز انجام گرفت، QTL های مؤثر بر صفت وزن بدن با استفاده از ۱۱ نشانگر ریزماهواره روی کروموزوم‌های یک و پنج بررسی و یک QTL روی کروموزوم پنج برای وزن بدن شناسایی شد [۱]. وجود QTL های مؤثر بر صفت وزن بدن روی کروموزوم شماره دو بز راثینی گزارش شده است [۱۲]، همچنین، وجود ژن-هایی مانند میوستاتین، آدنیلات کیناز II، آلکالین فسفاتاز، اینهیبین و ... روی کروموزوم شماره دو گوسفند و بز نقشه‌یابی شده است [۲]. باتوجه به زیاد بودن همپوشانی نقشه ژنتیکی گوسفند و بز [۹]، هدف از انجام پژوهش حاضر، تأیید QTL های شناسایی شده در تحقیقات قبل روی کروموزوم دو، شناسایی QTL های جدید و همچنین بررسی اثر پلیوتروپی این QTL ها بر وزن‌های تولد چهار، شش، نه و ۱۲ ماهگی بز مرخز با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره‌ای می‌باشد.

مواد و روش‌ها

باتوجه به اطلاعات شجره‌ای موجود در ایستگاه اصلاح

جدول ۱. تعداد فرزندان، میانگین صفات و انحراف معیار آنها در هشت خانواده ناتنی بز مرخز

| خانواده پدری | تعداد فرزندان | وزن تولد | وزن چهار ماهگی | وزن شش ماهگی | وزن نه ماهگی | وزن ۱۲ ماهگی |
|--------------|---------------|------------|----------------|--------------|--------------|--------------|
| ۱ | ۴۰ | ۲/۵ ± ۰/۵ | ۱۳/۵ ± ۲/۵ | ۱۷/۰ ± ۳/۲ | ۱۹/۹ ± ۳/۵ | ۲۲/۵ ± ۳/۹ |
| ۲ | ۲۳ | ۲/۵ ± ۰/۴ | ۱۲/۹ ± ۲/۴ | ۱۵/۹ ± ۳/۰۱ | ۱۸/۹ ± ۳/۰ | ۲۱/۶ ± ۲/۷ |
| ۳ | ۳۷ | ۱/۹ ± ۰/۳ | ۱۲/۸ ± ۳/۱ | ۱۶/۴ ± ۳/۴ | ۱۹/۶ ± ۳/۴ | ۲۴/۵ ± ۳/۷ |
| ۴ | ۲۵ | ۲/۲ ± ۰/۴ | ۱۲/۳ ± ۳/۱ | ۱۵/۸ ± ۳/۷ | ۲۰/۴ ± ۳/۸ | ۲۸/۵ ± ۳/۵ |
| ۵ | ۳۵ | ۲/۳ ± ۰/۵ | ۱۲/۲ ± ۳/۷ | ۱۵/۲ ± ۳/۴ | ۱۷/۶ ± ۳/۵ | ۲۰/۶ ± ۴/۷ |
| ۶ | ۳۶ | ۲/۶ ± ۰/۳ | ۱۱/۹ ± ۳/۰ | ۱۵/۰ ± ۳/۴ | ۱۸/۱ ± ۴/۰ | ۲۱/۱ ± ۴/۵ |
| ۷ | ۲۹ | ۲/۴ ± ۰/۵ | ۱۲/۵ ± ۲/۸ | ۱۵/۳ ± ۳/۷ | ۱۸/۱ ± ۴/۰ | ۲۱/۰ ± ۴/۳ |
| ۸ | ۳۰ | ۲/۲۰ ± ۰/۴ | ۱۲/۴ ± ۳/۳ | ۱۵/۰۸ ± ۳/۶ | ۱۸/۳ ± ۳/۷ | ۲۱/۵ ± ۳/۹ |
| میانگین | ۳۱/۹ ± ۶/۶ | ۲/۳ ± ۰/۵ | ۱۲/۴ ± ۳/۱ | ۱۵/۸ ± ۳/۴ | ۱۸/۸ ± ۳/۴ | ۲۱/۵ ± ۴/۴ |

تولیدات دامی

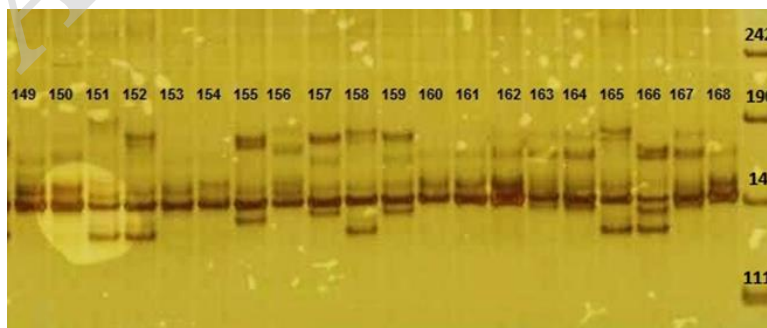
دوره ۱۸ ■ شماره ۴ ■ زمستان ۱۳۹۵

جدول ۲. نام نشانگرها، مکان نشانگر روی کروموزوم دو (سانتی مورگان)، دمای اتصال (سانتی گراد)، دامنه اندازه آلل‌ها، تنوع ژنی (Ne) و توالی آغازگرهای مورد استفاده

| نام نشانگر | مکان نشانگر | دمای اتصال | دامنه آللی | تنوع ژنی | توالی آغازگرها |
|------------|-------------|------------|------------|----------|--|
| INRA040 | صفر | ۵۴/۲ | ۹۰-۱۴۰ | ۰/۰۲ | 5-TCAGTCTGGAGGAGAGAAAAC-3 5-CTCTGCCCTGGGGATGATTG-3 |
| ILSTS030 | ۳۲ | ۵۲/۱ | ۱۳۰-۱۹۰ | ۰/۷۵ | 5-CTGCAGTTCTGCATATGTGG-3 5-CTTAGACAACAGGGGTTTGG-3 |
| ILSTS082 | ۶۴ | ۵۱/۵ | ۲۰۰-۳۰۰ | ۰/۶۴ | 5-TTCGTTCTCATAGTGCTGG-3 5-AGAGGATTACACCAATCACC-3 |
| LSCV37 | ۱۱۰ | ۵۳/۶ | ۱۳۰-۱۸۰ | ۰/۶۰ | 5-GACAACCAACAAGGACAACAAG-3 5-CAGGTGTATAGCCAAGTGATTC-3 |
| IDVGA64 | ۱۴۳ | ۵۳/۲ | ۹۰-۱۴۷ | ۰/۵۴ | 5-GCAGAGGAGGTTTTTCAGATTC-3 5-CGGAGATCAGAGCACTTGTC-3 |
| OarFCB011 | ۱۶۷ | ۶۱/۱ | ۱۵۰-۲۱۰ | ۰/۶۳ | 5-GCAAGCAGGTTCTTTACTAGCACC-3 5-GGCCTGAACTCACAAGTTGATATATCTATCAC-3 |

گرفت. قطعات DNA تکثیر شده روی ژل پلی اکریل آمید ۸ درصد (۱۹ قسمت اکریل آمید، یک قسمت بیس اکریل آمید) با ولتاژ ثابت ۲۵۰ ولت، دمای ۵۰ درجه سانتی گراد و مدت زمان حدود ۲ ساعت تفکیک و با استفاده از روش رنگ‌آمیزی سریع نیترات نقره رنگ‌آمیزی شد [۴]. پس از شناسایی آلل‌های مربوط به هر بز، فایل داده‌های ژنومی برای حیوانات مورد بررسی تشکیل شد. در شکل ۱ آلل‌های نشانگر ILSTS030 روی ژل پلی اکریل آمید ۸ درصد نشان داده شده است.

ترکیب و غلظت واکنش شامل PCR buffer 1X، dNTPs 0.2mM، Each primers 0.2μM، MgCl₂ 2.5mM و DNA Taq 0.7u polymerase در حجم کلی ۱۰ میکرولیتر بود. برنامه حرارتی واکنش PCR به صورت تجربی بهینه شد و شامل واسرشته‌سازی اولیه در دمای ۹۵ درجه به مدت پنج دقیقه و ۳۰ چرخه تکرار شامل واسرشته‌سازی در دمای ۹۴ درجه به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال آغازگر در دمای بهینه اتصال هر آغازگر و به مدت ۴۰ ثانیه، بسط آغازگر در دمای ۷۲ درجه به مدت ۵۰ ثانیه و بسط نهایی در دمای ۷۲ درجه به مدت ۵ دقیقه انجام



شکل ۱. تعیین ژنوتیپ نشانگر ILSTS030، شماره ۱۴۹ پدر، شماره‌های ۱۵۰ تا ۱۶۸ فرزندان و نوار سمت راست نشانگر اندازه 8 PUC Mix Marker (که اندازه‌های ۳۴ تا ۱۱۸ جفت باز را نشان می‌دهد) می‌باشد.

تولیدات دامی

دوره ۱۸ ■ شماره ۴ ■ زمستان ۱۳۹۵

تکرار محاسبه شد. همچنین به منظور بررسی اثر پلیوتروپی QTL ها از نرم افزار (V) QTLMap (نسخه 0.9.7) استفاده شد.

نتایج و بحث

داده های فنوتیپی مورد استفاده در پژوهش حاضر مربوط به سال ۱۳۹۴ و شامل صفات وزن تولد، وزن چهار، وزن شش، وزن نه و وزن ۱۲ ماهگی بودند (جدول ۱). پس از تعیین ژنوتیپ تمام افراد برای این نشانگرها بیشترین میزان هتروزیگوسیتی مربوط به نشانگر ILSTS030 (Nei = 0.75) و کمترین میزان هتروزیگوسیتی برای نشانگر INRA040 (Nei = 0.02) محاسبه شد. بنابراین، نشانگرهای فوق به ترتیب بیشترین و کمترین میزان اطلاعات برای هدف مورد نظر فراهم کرده اند. هتروزیگوسیتی مشاهده شده برای نشانگر INRA040 برابر با ۰/۰۲ برآورد گردید. از دلایل آن می توان به ماهیت هموزیگوت بودن نشانگر INRA040 برای بز مرخز و یا به دلیل کوچک بودن جامعه آماری مورد بررسی نسبت داد. دامنه این عدد از صفر تا یک می باشد و مقدار این عدد نشان می دهد که میانگین هتروزیگوسیتی این نشانگر در جمعیت مورد مطالعه کم بوده و در تحقیقات آینده بهتر است که از این نشانگر استفاده نشده و از نشانگرهای مجاور آن استفاده شود. میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده برای سایر نشانگرهای مورد استفاده در این تحقیق برابر با ۰/۶۳ برآورد گردید. نزدیک بودن این عدد به یک نشان می دهد که میزان هتروزیگوسیتی برآورد شده در این نشانگرها زیاد بوده و نشانگرهای خوبی برای بررسی تنوع در سطح DNA روی کروموزوم دو هستند (جدول ۲).

در پژوهش های مکان یابی QTL نیاز است که پدران و فرزندان آن پدر از نظر آن نشانگر به خصوص هتروزیگوت باشند. در عمل وقتی پدر هتروزیگوت نباشد، نمی توان

آنالیز مکان یابی QTL با استفاده از روش رگرسیون چندگانه، براساس مکان یابی فاصله ای نشانگرهای مجاور و براساس مدل رگرسیونی انجام گرفت.

$$y_{ij} = \mu_i + \alpha_i x_{ij} + e_{ij} \quad \text{رابطه (۱)}$$

در این رابطه، y_{ij} مقادیر صفات وزن بدن فرزندان j از پدر i که با استفاده از نرم افزار GridQTL برای اثرات سال تولد، جنس و تیپ تولد تصحیح شدند. μ_i میانگین صفات مورد نظر در پدر i ، α_i اثر جایگزینی آلل های QTL درون خانواده i و X_{ij} احتمال به ارث رسیدن اولین آلل فرضی QTL به فرزند بود. تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار آنالین GridQTL (نسخه 3.3.0) انجام شد [۱۶]. با استفاده از این نرم افزار احتمال انتقال قطعات ژنومی از پدر به فرزندان در فواصل هر یک سانتی مورگان از کروموزوم مورد مطالعه محاسبه گردید. سپس، رکوردهای تصحیح شده وزن بدن بر احتمال توارث هر قطعه از کروموزوم مورد مطالعه برازش شد. چون بعضی از پدرها در هر دو مکان ژنی نشانگر و مکان QTL هتروزیگوت هستند، بنابراین ارتباط آلل های QTL با آلل های نشانگرهای پدران با استفاده از مدل با اثرات QTL (مدل کامل) و مدل بدون اثرات QTL (مدل کاهش یافته) تعریف شدند. با استفاده از رابطه (۲) مقادیر F برای هر یک سانتی مورگان از کروموزوم مورد مطالعه محاسبه شد. بهترین محل برای وجود یک QTL نقطه ای است که بیشترین ضریب F را دارد [۱۹].

$$\text{رابطه (۲)}$$

$$F = \frac{(SSE_{reduced} - SSE_{full}) / (DFE_{reduced} - DFE_{full})}{SSE_{full} / DFE_{full}}$$

آستانه های معنی دار با استفاده از روش آزمون تبدیل در سطح کروموزوم و با ۵۰۰۰ دور تکرار و دامنه اطمینان موقعیت QTL با استفاده از روش بوت استرپ با ۱۰۰۰

تولیدات دامی

مؤثر بر وزن شیرگیری باشد. این QTL در مجاورت نشانگر IDVGA64 و در فاصله ۱۰ سانتی‌مورگان از آن قرار داشت (شکل‌های ۲ و ۳). میانگین اثر جایگزینی پدران برای آن ۴/۹۹ در واحد انحراف استاندارد فنوتیپی صفت وزن شیرگیری محاسبه شد. در سایر اوزان نیز در این مکان آماره F به آستانه معنی‌دار بسیار نزدیک بود، ولی از آنجا که به حداقل آستانه لازم ($P < 0.05$) نرسید، بنابراین در بقیه وزن‌ها QTL گزارش نشد (جدول ۳). از راه‌های شناسایی QTL‌های بیشتر روی این کروموزوم می‌توان به افزایش تعداد نتاج به ازای هر پدر و استفاده از تعداد نشانگرهای بیشتر اشاره کرد. جامعه آماری بزرگتر در پژوهش‌های مکان‌یابی QTL موجب برآورد دقیق‌تر مکان QTL خواهد شد و همچنین امکان تعیین QTL‌های با اثر کمتر نیز وجود دارد. لذا، پیشنهاد می‌شود که به منظور تعیین دقیق‌تر این ناحیه ژنومی در تحقیقات آتی از نشانگرهای بیشتر و تعداد فرزندان بیشتر در درون خانواده‌ها استفاده شود.

QTL‌ها را ردیابی کرد و لزومی به تعیین ژنوتیپ فرزندان آن پدر نمی‌باشد. هر قدر تعداد پدران هتروزیگوت بیشتر باشد، تعداد بیشتری فرزند برای تعیین ژنوتیپ در اختیار خواهد بود. همچنین، اگر آلل‌های فرزندان هتروزیگوت دقیقاً مشابه آلل‌های به ارث رسیده از پدران باشد، اطلاعات حاصل برای ردیابی QTL‌ها مفید نیست. بهترین حالت این است که در فرزندان پدران هتروزیگوت یک آلل مشابه پدر خود و آلل دیگر با آلل‌های پدر متفاوت باشد. در این حالت، هر چه عدم تعادل ناشی از پیوستگی آلل‌ها در نسل بعد بیشتر باشد، احتمال مکان‌یابی QTL‌های کنترل‌کننده صفت بیشتر است. تعداد کل نتاج حاوی اطلاعات مفید برای مکان‌یابی QTL‌ها ۲۲۴ فرد (۸۸ درصد) بود. بنابراین، نتاجی که ژنوتیپ آنها تعیین شده، اطلاعات خوبی را برای مکان‌یابی QTL‌ها تأمین کرده‌اند [۱۸].

در پژوهش حاضر، در موقعیت ۱۵۳ سانتی‌مورگان روی کروموزوم دو، QTL مؤثر بر وزن بدن در چهار ماهگی (وزن شیرگیری) در خانواده‌های یک و سه معنی‌دار شد ($P < 0.01$). لذا به نظر می‌رسد این مکان حاوی ژن‌های

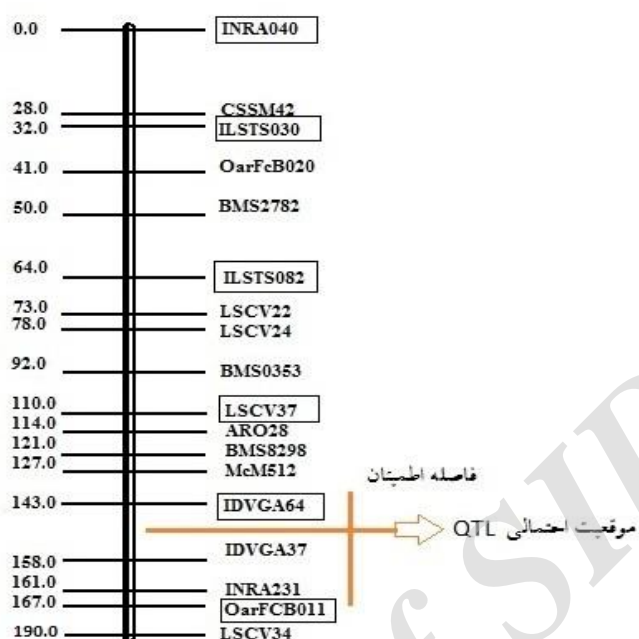
جدول ۳. میانگین حداقل مربعات جایگاه‌های معنی‌دار و غیرمعنی‌دار، اثر QTL و انحراف معیار اثر QTL

| Variance (%) | QTL effect (SE) | F threshold (0.05) | F statistic | MS Reduced | MS Full | موقعیت QTL | خانواده تفرق | | صفت |
|--------------|-----------------|--------------------|--------------------|------------|---------|------------|--------------|---------------|-----|
| | | | | | | | یافته | ۴ و ۵ | |
| ۱/۳۳ | ۶/۰۶(۴/۵۶) | ۴/۵۸ | ۳/۵۹ ^{ns} | ۷/۰۷ | ۶/۲۳ | ۱۵۴ | ۴ و ۵ | وزن تولد | |
| ۱/۴۱ | ۴/۹۹(۳/۵۴) | ۴/۰۵ | ۵/۲۴* | ۵/۳۷ | ۴/۴۷ | ۱۵۳ | ۱ و ۳ | وزن چهارماهگی | |
| ۲/۵۶ | ۷/۵۴(۲/۹۵) | ۶/۵۲ | ۵/۴۴ ^{ns} | ۸/۵۲ | ۶/۳۹ | ۱۶۶ | ۵ | وزن شش‌ماهگی | |
| ۱/۶۹ | ۵/۳۰(۳/۱۳) | ۵/۵۹ | ۱/۷۹ ^{ns} | ۶/۸۸ | ۶/۵۴ | ۱۵۷ | ۷ | وزن نه‌ماهگی | |
| ۲/۷۸ | ۶/۵۳(۲/۳۵) | ۴/۷۶ | ۴/۴۶ ^{ns} | ۹/۰۳ | ۷/۸۰ | ۱۵۵ | ۶ | وزن ۱۲‌ماهگی | |

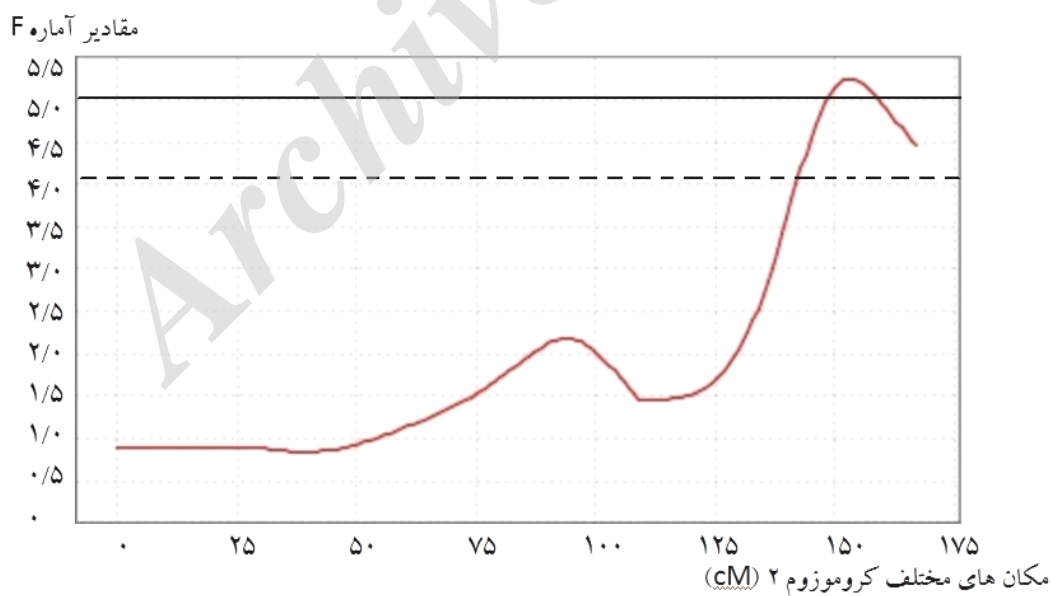
تولیدات دامی

دوره ۱۸ ■ شماره ۴ ■ زمستان ۱۳۹۵

بررسی QTL های وزن بدن و اثرات پلیوتروپی آنها روی کروموزوم شماره دو بز مرخز



شکل ۲. نمایش شماتیک ترتیب و موقعیت نشانگرهای ریزماهواره، فاصله اطمینان و محل تقریبی QTL مؤثر بر وزن شیرگیری روی کروموزوم دو. نشانگرهای داخل کادر نشانگرهای مورد استفاده در این پژوهش هستند [۱۵].



شکل ۳. منحنی آماره F در نقاط مختلف کروموزوم دو برای وزن شیرگیری بز مرخز. در این شکل، خط نقطه چین آستانه معنی دار بودن QTL در سطح احتمال ۵٪ ($F_{0.05} = 4.05$) و خط پیوسته آستانه معنی دار بودن QTL در سطح احتمال ۱٪ ($F_{0.01} = 4.99$) می باشد.

تولیدات دامی

دوره ۱۸ ■ شماره ۴ ■ زمستان ۱۳۹۵

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار QTLMap (نسخه 0.9.7) اثر پلیوتروپی برای صفات مورد نظر شناسایی نشد. چون هر اندازه تعداد فرزندان در درون هر خانواده بیشتر باشد، قدرت طرح مورد نظر برای مکان‌یابی QTL بیشتر است و احتمالاً یکی از دلایل عدم شناسایی اثرات پلیوتروپی مربوط به کوچک بودن اندازه جمعیت باشد. بنابراین، پیشنهاد می‌شود در پژوهش‌های آتی از تعداد فرزندان بیشتری در درون هر خانواده استفاده شود.

مطالعات مولکولی اخیر روی بزها بیشتر مربوط به ژنتیک جمعیت‌ها و یا بررسی ارتباط چندشکلی یک ژن خاص با یک صفت کمی بوده است و در ارتباط با قطعات کروموزومی مرتبط با صفات رشد بز که یکی از صفات اقتصادی بزها می‌باشد، اطلاعات بسیار محدودی منتشر شده است. در یک تحقیق، چندین QTL معنی‌دار در ارتباط با صفات وزن تولد و وزن شیرگیری در بزهای آنقوره شناسایی شد [۲۱]. همچنین برای صفات وزن تولد و وزن شیرگیری بز راینی چند QTL شناسایی شد [۱۲]، ولی در یک تحقیق دیگر QTL معنی‌داری در ارتباط با صفات رشد بزهای آنقوره شناسایی نشد [۱۰]. در یک پژوهش در زمینه مکان‌یابی QTL‌های مؤثر بر صفات وزن بدن بز مرخز فقط کروموزوم‌های یک و پنج بررسی شد [۱]. با توجه به محدودیت‌های مالی و زمان مورد نیاز آزمایشات تعیین QTL، هدف از پژوهش حاضر بررسی کروموزوم شماره دو بز مرخز برای مکان‌یابی QTL‌های مؤثر بر وزن بدن بود.

در پژوهش حاضر، یک QTL در ارتباط با وزن شیرگیری روی کروموزوم دو معنی‌دار شد. در یک تحقیق چندین QTL برای صفات وزن بدن روی کروموزوم‌های شماره چهار، هشت، ۱۶، ۱۷، ۱۹ و ۲۷ بزهای آنقوره شناسایی شد [۲۱]. در ایران در روی کروموزوم شماره دو برای صفت وزن شیرگیری بز راینی در ناحیه ۴۱ و ۵۱ سانتی‌مورگان، QTL گزارش شده است [۱۲]. همچنین دو

فاصله اطمینان برآورد موقعیت QTL با استفاده از روش بوت استراپ با ۱۰۰۰ تکرار در دامنه ۱۴۲ تا ۱۶۷ سانتی‌مورگان برآورد شد. به دلیل اینکه فاصله اطمینان موقعیت QTL نسبتاً زیاد است (۲۵ سانتی‌مورگان)، لذا پیشنهاد ژن کاندیدا برای این QTL چندان صحیح نمی‌باشد. به هر حال این نکته قابل توجه است که ژن‌های زیادی همچون آدنیلات کیناز II، آلکالین فسفاتاز، اینهیبین، سکرتوگرانین II و ترانزیشن پروتئین I در این ناحیه مکان‌یابی شده‌اند (<http://dga.jouy.inra.fr/cgi-bin/lgbc/gene.operl?BASE=goat>). بنابراین، احتمالاً عامل اثرات مشاهده شده بر وزن شیرگیری در این ناحیه از کروموزوم دو باشند و می‌توان پیشنهاد داد که بلوکی از ژن‌های مؤثر بر صفت وزن شیرگیری در این ناحیه از کروموزوم دو وجود داشته باشد. تاکنون ژن‌های زیادی شناسایی شده که اثر عمده‌ای بر صفات اقتصادی بز داشته‌اند. عملکرد این ژن‌ها مشابه نبوده و برخی از آنها اثرات هم‌افزایی و برخی از آنها اثرات مخالف در بیان فنوتیپ صفات دارند. پیش از کاربرد اطلاعات این ژن‌ها در برنامه‌های اصلاح نژاد لازم است که اطلاعات کافی از اثرات آنها بر صفات همبسته کسب نمود [۲].

وجود همبستگی ژنتیکی زیاد بین صفات وزن بدن می‌تواند به دلیل اثرات پلیوتروپیک ژن‌ها با QTL‌های یکسان کنترل‌کننده آنها باشد [۱۴]. بنابراین، برای درک بهتر مکان‌های ژنی کنترل‌کننده صفات وزن بدن بهتر است که از روش مکان‌یابی چند صفتی استفاده شود. مکان‌یابی چندصفتی همبستگی ژنتیکی و محیطی بین صفات را در محاسبات منظور کرده و می‌تواند اثرات پلیوتروپی را هم محاسبه نماید. طبق نتایج دیگر تحقیقات، مکان‌یابی چندصفتی، نه تنها QTL‌های اضافی را شناسایی می‌کند، بلکه روابط ژنتیکی بین صفات با همبستگی زیاد را نیز در سطح مولکولی نشان می‌دهد. در پژوهش حاضر، در آنالیز

تولیدات دامی

ازای هر خانواده و تعداد نشانگرها محدود باشد، توان آزمون نسبت به زمانی که تعداد نتاج و نشانگر بیشتر است، کمتر خواهد بود. بنابراین، در تحقیقات آتی بهتر است از خانواده‌هایی با نتاج بیشتر و تعداد کافی از نشانگرهای هتروزیگوت استفاده شود تا سایر QTL ها با اثرات کمتر هم ردیابی شوند.

منابع

۱. بادبرین ن، میرحسینی س ض، ربیعی ب و قوی حسین زاده ن (۱۳۹۳) بررسی کروموزوم ۶ های شماره یک و پنج بز مرخز برای مکان‌یابی QTL های مؤثر بر وزن بدن. بیوتکنولوژی کشاورزی. ۷(۲): ۱۰-۱.
۲. جلیل سرقلعه ع، مرادی شهربابک ح، امینی ح و ر خلقی م (۱۳۹۲) نقش ژن ۶ های عمده بر صفات مهم تولیدی و اقتصادی در بز. ژنتیک در هزاره سوم. ۱۱(۲): ۳۱۵۵-۳۱۳۶.
۳. زندی باغچه مریم م، مرادی شهربابک م، میرایی آشتیانی س ر، رشیدی ا و کاووسی م (۱۳۸۸) مقایسه بهره‌وری کل عوامل تولید گله‌های بز مرخز در استان کردستان. پژوهش و سازندگی. ۸۳: ۸۱-۷۴.
4. An ZW, Xie LL, Cheng H, Zhou Y, Zhang Q, He XG and Huang HG (2009) A silver staining procedure for nucleic acids in polyacrylamide gels without fixation and pretreatment. Analytical Biochemistry. 39: 77-79.
5. Cano EM, Marrube G, Roldan DL, Bidinost F, Abad M, Allain D, Vaiman D, Taddeo H and Poli MA (2007) QTL affecting fleece traits in Angora goats. Small Ruminant Research. 71: 158-164.

QTL مرتبط با وزن شیرگیری و وزن شش ماهگی در ناحیه دو و هشت سانتی‌مورگان از ابتدای کروموزوم پنج بز مرخز مکان‌یابی شده است [۱]. معمولاً ارتباط بیشتری بین ژنوتیپ و فنوتیپ برای صفات با وراثت‌پذیری زیاد نسبت به صفات با وراثت‌پذیری کم وجود دارد، بنابراین شناسایی ارتباط بین چند شکلی نشانگرهای مولکولی و ژن‌های کنترل‌کننده صفات با وراثت‌پذیری کم مشکل‌تر بوده و نیاز به اطلاعات بسیار بیشتری است [۱۷]. وراثت‌پذیری صفات وزن تولد و وزن شیرگیری به دلیل اثرات مادری، نسبت به صفات وزن بدن در سایر سنین بیشتر است، بنابراین انتظار می‌رود QTL های بیشتری برای این صفات نسبت به صفات دیگر وزن بدن تعیین شود.

در حال حاضر جثه کوچک، بزغاله‌های ضعیف و بازده تولیدمثل کم از مشکلات اصلی بخش پرورش بز مرخز در ایران می‌باشد. معمولاً پاسخ انتخاب صفات با وراثت‌پذیری کم نسبت به برنامه‌های انتخاب کم است و استفاده از روش‌های انتخاب به کمک نشانگر می‌تواند منجر به پیشرفت ژنتیکی سریع‌تر شود. پس از تأیید و اعتبارسنجی QTL شناسایی شده در این پژوهش می‌توان از این اطلاعات برای انتخاب صحیح‌تر بزهای با ظرفیت ژنتیکی زیاد اقدام نمود. بدین منظور، در ابتدا لازم است تحقیقات بیشتری به منظور کاهش فاصله اطمینان صورت گیرد تا مکان دقیق QTL تعیین شده مشخص گردد.

باتوجه به نتایج تحقیق حاضر به دلیل کم بودن همبستگی ژنوتیپ و فنوتیپ در صفات با وراثت‌پذیری کمتر، بررسی ارتباط جایگاه‌های ژنی با صفات دارای وراثت‌پذیری کمتر مشکل بوده و نیازمند داده‌های بیشتر است. لذا به منظور بررسی QTL در جمعیت‌های دامی لازم است تعداد فرزندان در درون خانواده‌ها به اندازه کافی زیاد باشد تا با احتمال بیشتری در مورد موقعیت یک QTL اظهار نظر شود. باید توجه داشت که هر قدر تعداد نتاج به

تولیدات دامی

6. Cano EM, Debenedetti S, Abad M, Allain D, Taddeo HR and Poli MA (2009) Chromosomal segments underlying quantitative trait loci for mohair production in Angora goats. *Animal Genetic Resources Information*. 45: 107-112.
7. Debenedetti S, Cano EM, Abad M, Allain D, Taddeo H and Poli MA (2010) Detection of QTL affecting fleece traits on CHI 5 in a backcross Angora × Creole goats in Argentina—preliminary results. *Proc 9th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*. Leipzig, Germany Communication. Pp. 764-769.
8. <http://dga.jouy.inra.fr/cgi-bin/lgbc/main.pl?BASE=goat>
9. Knott S, Elsen AJM and Haley CS (1996) Methods for multiple-marker mapping of quantitative trait loci in half sib populations. *Theoretical Applied Genetic*. 93: 71-80.
10. Maddoxa JF and Cockett NE (2007) An update on sheep and goat linkage maps and other genomic resources. *Small Ruminant Research*. 70: 4-20.
11. Marrube G, Cano EM, Roldan DL, Bidinost F, Abad M, Allain D, Vaiman D, Taddeo H and Poli MA (2007) QTL affecting conformation traits in Angora goats. *Small Ruminant Research*. 71: 255-263.
12. Meuwissen THE and Goddard ME (1996) The use of marker haplotypes in animal breeding schemes. *Genetic Selection Evolution*. 28: 161-176.
13. Mohammad Abadi MR, Askari N, Baghizadeh A and Esmailizadeh AK (2009) A directed search around caprine candidate loci provided evidence for microsatellites linkage to growth and cashmere yield in Rayini goats. *Small Ruminant Research*. 81: 146-151.
14. Rashidi A, Sheikahmadi M, Rostamzadeh J and Shrestha JNB (2008) Genetic and Phenotypic Parameter Estimates of Body Weight at Different Ages and Yearling Fleece Weight in Markhoz Goats. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*. 21(10): 1395-1403.
15. Rashidi A, Bishop SC and Matika O (2011) Genetic parameter estimates for pre-weaning performance and reproduction traits in Markhoz goats. *Small Ruminant Research*. 100: 100-106.
16. Schibler L, Vaiman D, Oustry A, Giraud-Delville C and Cribiu EP (1998) Comparative gene mapping: a fine-scale survey of chromosome rearrangements between ruminants and humans. *Genome Research*. 9(8): 901-915.
17. Seaton G, Hernandez J, Grunchev JA, White I, Allen J, Koning DJ, Wei W, Berry D, Haley C and Knott S (2006) Grid QTL: A Grid Portal for QTL Mapping of Compute Intensive Datasets. In: *Proceedings of the 8th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*, Belo Horizonte, Brazil.
18. Snelling WM, Allan MF, Keele JW, Kuehn LA, McDanel T, Smith TPL, Sonstegard TS, Thallman RM and Bennett GL (2010) Genome wide association study of growth in crossbred beef cattle. *Journal of Animal Science*. 88: 837-848.
19. Van der Werf JHJ, Marshall K and Sanghong L (2007) Methods and experimental designs for detection of QTL in sheep and goats. *Small Ruminant Research*. 70: 21-31.
20. Visser C, Crooijmans RPMA and Van MarleKoster E (2010) A genetic linkage map for the South African Angora goat. *Small Ruminant Research*. 93: 171-179.
21. Visser C, Van Marle-Koster E, Bovenhuis H and Crooijmans RPMA (2011) QTL for mohair traits in South African Angora goats. *Small Ruminant Research*. 100: 8-14.
22. Visser C, Van Marle-Köster E, Snyman MA, Bovenhuis H and Crooijmans RPMA (2013) Quantitative trait loci associated with pre-weaning growth in South African Angora goats. *Small Ruminant Research*. 112: 15-20.