Archive of SID

ژنتیک نوین
دوره یازدهم، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۵
صفحه ۴۸۱ - ۴۷۵

ارتباط چندشکلی نشانگرهای ریزماهواره با صفات تولیدی و تولیدمثلی گوسفند سنجابی

Association of Microsatellite Markers Polymorphism with Production and Reproduction Traits of Sanjabi Sheep

ربیع رهبر*[۱]، برومند چهارآیین[۲]، بیژن سلیمانی[۳]

۱- مربی، گروه کشاورزی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران
۲- استادیار، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی کرمانشاه، ایران
۳- دانشجوی دکتری، آزمایشگاه ژنتیک مولکولی و بیوتکنولوژی دام، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران

Rahbar R*[1], Chaharaein B[2], Solimani B[3]

1- Instructor, Department of Agriculture, Payam e Noor University, Tehran, Iran
2- Assistant Professor, Agriculture and Natural Resources Research Center, Kermanshah, Iran
3- PhD Student, Laboratory for Molecular Genetics and Animal Biotechnology, Sari Agricultural Science and Natural Resources University

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: rahbarrabie@pnu.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۹۴/۲/۹ - تاریخ پذیرش: ۹۵/۶/۲۸)

چکیده

ریزماهواره‌ها به‌طور گسترده برای تعیین نقشه ژنی، برآورد فاصله ژنتیکی و ارزیابی دام‌های مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرند. هدف از مطالعه حاضر، بررسی ارتباط چندشکلی نشانگرهای ریزماهواره با صفات تولیدی و تولیدمثلی گوسفند سنجابی بود. نمونه‌های خون به‌طور تصادفی از ۷۸ میش و ۲۲ قوچ گوسفند نژاد سنجابی جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل شدند. پس از استخراج DNA با استفاده از روش نمکی بهینه شده، ۱۱ جایگاه ریزماهواره (GC101، LSCV043، TGLA377، CSSM47، OarFCB128، OarAE101، BM1329، BM143، OarHH35، OarHH55 و OarHH64) به کمک جفت پرایمرهای اختصاصی و واکنش زنجیره‌ای پلیمراز تکثیر شدند. با الکتروفورز محصولات روی ژل پلی آکریلامید هشت درصد، آلل‌های مختلف شناسایی و تجزیه‌های آماری روی داده‌های حاصل انجام شد. متوسط تعداد آلل‌های مشاهده شده و مؤثر به‌ترتیب ۵/۸۲ و ۴/۰۵ بود. میزان PIC نشانگرها در دامنه‌ای بین ۰/۶۳ (TGLA377) تا ۰/۸۲ (OarHH35) قرار داشت. متوسط هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار در بین جایگاه‌ها به‌ترتیب ۰/۶۴ و ۰/۷۷ بود. همچنین تجزیه آماری نشان داد که ژنوتیپ‌های مرتبط با نشانگرهای TGLA377، CSSM47، OarFCB128، OarHH35، OarHH55 و OarHH64 روی میزان دوقلوزایی گوسفندان نژاد سنجابی و ژنوتیپ‌های مرتبط با نشانگرهای GC101، LSCV043، TGLA377، CSSM47، OarAE101، BM143 و OarHH64 روی صفت افزایش وزن بدن در سنین مختلف تاثیر معنی‌داری داشته‌اند. با توجه به یافته‌های حاصل می‌توان نتیجه گرفت که به‌جز نشانگر BM1329، سایر نشانگرهای مورد مطالعه، در برنامه‌های اصلاح نژاد گوسفندان نژاد سنجابی روی صفات افزایش وزن بدن و میزان دوقلوزایی مناسب هستند.

واژه‌های کلیدی

چندشکلی
ریزماهواره
صفات تولیدی و تولیدمثلی
گوسفند

Archive of SID

ریزماهواره‌ها به عنوان واحدهای تکراری ساده [1] (SSR) در اوایل دهه ۱۹۸۰ میلادی کشف شدند. از خصوصیات این نشانگرها تعداد زیاد و توزیع پراکنده آن‌ها در سطح ژنوم موجودات زنده، میزان چندشکلی بالا، توارث همبارز، ساده و ارزان بودن کار با آن‌ها است. ریزماهواره‌ها به‌طور گسترده‌ای برای تعیین نقشه ژنی، برآورد فاصله ژنتیکی و ارزیابی دام‌های مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرند (Takahashi et al. 1998; Saitbekova et al. 1999). در سال‌های اخیر پژوهشگران از ریزماهواره‌ها برای تعیین تنوع ژنتیکی و ارزیابی صفات اقتصادی در گوسفند (Sun et al. 2006; Wang et al. 2006) و بز (Jandurova et al. 2004; Jin et al. 2006; Marrube et al. 2007) استفاده کرده‌اند. Arora et al. (2010)، گزارش کردند که ژنوتیپ‌های مختلف TGL377 و CSSM47 اثرات متفاوتی بر صفات تولیدی گوسفندان گنجام هندی دارند. Salari et al. (2010) به بررسی تنوع درون جمعیتی گوسفندان کردی خراسان با استفاده از پنج نشانگر ریزماهواره به نام‌های OarCP49، OarFCB20، OarFCB11، OarFCB304 و OarAE129 پرداختند. آن‌ها با یافتن چندشکلی بالای جایگاه‌ها، به وجود تنوع ژنتیکی زیاد در این نژاد پی بردند. در تحقیق دیگر با مطالعه ارتباط شش جفت آغازگر ریزماهواره کروموزوم یک با صفات رشد در گوسفند نژاد لری-بختیاری، یک QTL مؤثر روی صفت وزن یک ماهگی شناسایی شد (Horiyat 2010). توالی‌های ریزماهواره ویژه کروموزوم Y گاوی به‌منظور انجام مطالعات تعیین تنوع ژنتیکی در گوسفند نژاد کرمانی مناسب معرفی شده‌اند (Mohammadi Far and Mohammad Abadi 2011). گروه دیگری از محققین با بررسی پنج جمعیت از نژادهای گوسفند ایرانی (عربی، آرمان، دالاق، قره گل و لری) با استفاده از چهار نشانگر ریزماهواره‌ای (McMA2، McMA26، OarHH35 و BM6444)، دریافتند که جمعیت‌های گوسفند مورد بررسی از تنوع ژنتیکی نسبتاً بالایی برخوردار هستند (Vajed Ebrahimi et al. 2016). گوسفند سنجابی یکی از نژادهای سنگین وزن ایران می‌باشد که به‌طور گسترده در منطقه ماهیدشت توسط عشایر ایل سنجابی پرورش داده می‌شود. میزان دوقلوزایی در این نژاد از گوسفند پایین بوده و کمتر از ۲۰ درصد می‌باشد. از فرآورده‌های مهم این نژاد می‌توان به تولید گوشت، پشم، کشک و روغن معروف کرمانشاهی اشاره کرد. هم‌چنین از خصوصیات مهم آن بهره‌مندی از مراتع نسبتاً ضعیف و توان راهپیمایی بالای این نژاد می‌باشد. بنابراین با توجه به اهمیت پرورش گوسفند سنجابی در کشور، مطالعه ژنتیکی صفات اقتصادی این نژاد بسیار سودمند خواهد بود. به‌همین منظور هدف از تحقیق حاضر، بررسی ارتباط چندشکلی نشانگرهای ریزماهواره با صفات تولیدی و تولیدمثلی گوسفند سنجابی بوده است.

برای انجام این پژوهش از ۷۸ میش و ۲۲ قوچ گوسفند سنجابی ایستگاه تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی کرمانشاه خون‌گیری به عمل آمد. نمونه‌های خون از سیاهرگ وداجی گوش گوسفند تهیه و به‌منظور جلوگیری از لخته شدن آن از ماده ضد انعقادی سیترات سدیم استفاده شد. نمونه‌ها پس از جمع‌آوری به آزمایشگاه منتقل و تا زمان استخراج DNA در دمای ٤- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. استخراج DNA با روش نمکی بهینه یافته که توسط Miller et al. (1988) ارائه شده، انجام گرفت. در این تحقیق از ۱۱ نشانگر ریزماهواره شامل GC101، LSCV043، TGLA377، CSSM47، OarFCB128، OarAE101، BM1329، BM143، OarHH35، OarHH55 و OarHH64 استفاده شد. در انتخاب نشانگرها سعی شد جایگاه‌های ژنی ریزماهواره‌ها با توجه به نتایج مطالعات دیگران انتخاب شوند به‌طوری که میزان چند شکلی این نشانگرها در بسیاری از مطالعات گزارش شده‌است (Ouyang et al. 2007; Song et al. 2008; Yuqin et al. 2010). با توجه به حضور ژن بورولا (*FecB*) روی کروموزوم شماره شش به‌عنوان یک ژن بزرگ اثر در صفت دوقلوزایی (Montgomery et al. 1993)، بیش از نیمی از جایگاه‌ها (هفت جایگاه) روی این کروموزوم در نظر گرفته شد. جهت تکثیر قطعات مورد نظر، از جفت آغازگرهای اختصاصی و واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) در حجم ۲۵ میکرولیتر استفاده شد. حجم مخلوط مورد استفاده در PCR شامل ۲۰۰ نانوگرم نمونه DNA، ۱۰ پیکومول بر میکرولیتر از هر آغازگر، ۲۰۰ میکرومول dNTP، یک واحد آنزیم پلی‌مراز، یک الی دو میکرولیتر $MgCl_2$، دو میکرولیتر بافر PCR (10x) و آب مقطر بود.

[1] Simple Sequence Repeats

www.SID.ir

Archive of SID

جدول۱- توالی آغازگرها، جایگاه کروموزومی، مقدار $MgCl_2$ و دمای اتصال مورد استفاده در PCR.

جایگاه Locus	توالی آغازگر Primer sequences (5´→3´)	کروموزوم Chr	$MgCl_2$ (µL)	دمای اتصال Annealing temperature (°C)
GC101	F - ATCCTCACCCTTCAAACAG R - CTGGGGAGTTTTCTCTGAC	6	2	62.5
LSCV043	F-CCAGAATATAGAGTTTTGTCAAG R-GCCTGATTTGATTTTGTCAAG	6	1.5	61
TGLA377	F-GACTGTCATTATCTTCCAGCGGAG R-GATCTCTGGTTGAAATGGCCAGCAG	2	1.5	63
CSSM47	F-TCTCTGTCTCTATCACTATATGGC R-CTGGGCACCTGAAACTATCATCAT	2	1.5	61
OarFCB128	F-CAGCTGAGCAACTAAGACATACATGCG R-ATTAAAGCATCTTCTCTTTATTTCCTCGC	6	1	60
OarAE101	F-TTCTTATAGATGCACTCAAGCTAGG R-TAAGAAATATATTTGAAAAACTGTATCTCCC	6	1.5	62
BM1329	F-TTGTTTAGGGCAAGTCCAAAGTC R-AACACCGCAGCTTCATCC	6	1	60
BM143	F-ACCTGGGAAGCCTCCATATC R-CTGCAGGCAGATTCTTTATCG	6	1.5	63
OarHH55	F –GTTATTCCATATTCTTTCCTCCATCATAAGC R – CCACACGACAACTAAAACCCAGC	6	2	62.5
OarHH35	F-AATTGCATTCAGTATCTTTAACATCTGGC RATGAAAATATAAAGAGAATGAACCACACGG	4	2	62.5
OarHH64	F-CGTTCCCTCACTATGGAAAGTTATATATGC R-CACTCTATTGTAAGAATTTGAATGAGAGC	4	1.5	61

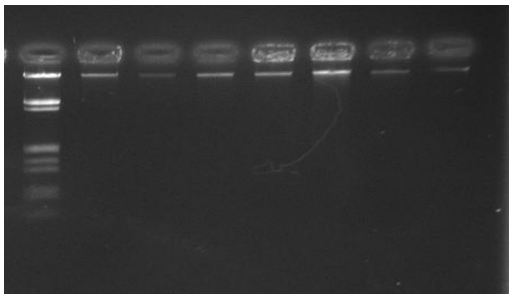
توالی آغازگرها، جایگاه کروموزومی، مقدار $MgCl_2$ و دمای اتصال برای هر آغازگر در جدول ۱ نشان داده شده‌است. پس از آزمایش دماها و برنامه‌های مختلف، برنامه حرارتی مناسب برای آغازگرهای مورد مطالعه به‌دست آمده برای تمامی آغازگرها از برنامه حرارتی یکسانی استفاده شد و تنها تفاوت بین آن‌ها در دمای اتصال بود. تکثیر قطعات در ۳۵ چرخه با شرایط دمایی ۹٤ درجه سانتی‌گراد در سه دقیقه برای واسرشته‌سازی اولیه، ۹٤ درجه سانتی‌گراد در یک دقیقه برای واسرشته‌سازی، ٦۰ الی ٦۳ درجه سانتی‌گراد در ٤۵ ثانیه برای اتصال، ۷۲ درجه سانتی‌گراد در یک دقیقه برای بسط و ۷۲ درجه سانتی‌گراد در پنج دقیقه برای بسط نهایی انجام شد. سپس محصولات از طریق الکتروفورز روی ژل پلی آکریلامید هشت درصد تفکیک و با استفاده از روش نیترات نقره رنگ‌آمیزی شدند. تعیین ژنوتیپ براساس حضور یک باند (هموزیگوت) یا دو باند (هتروزیگوت) روی ژل انجام شد.

برای هر حیوان، اطلاعات تعداد بره‌های متولد شده، زمان زایش، میزان دو قلوزایی، فصل زایش و میزان افزایش وزن بدن در سنین مختلف (تولد، ٤۵ روزگی، ۳ ماهگی، ٦ ماهگی، ۹ ماهگی، ۱۲ ماهگی و ۱۵ ماهگی) ثبت شد. در این پژوهش، شاخص محتوای اطلاعات چندشکل (PIC)، تعداد آلل‌های مؤثر (Ne)، هتروزیگوسیتی مورد انتظار (He)، هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Ho) و میزان تعادل هاردی-واینبرگ توسط نرم‌افزار POPGEN نسخه ۱/۳۲ برآورد شدند. هم‌چنین اثر هر یک از ژنوتیپ‌های حیوان روی صفات دوقلوزایی و افزایش وزن بدن با استفاده از رویه GLM نرم‌افزار SAS9.1 محاسبه شد. مدل آماری به‌کار رفته جهت تجزیه پارامترها به‌صورت $Y_{ijkm}=\mu+a_i+b_j+c_k+ e_{ijkm}$ بود که در این رابطه Y_{ijkm} میزان صفت مورد مطالعه، µ میانگین صفت مورد نظر در گله، a_i اثر ثابت ژنوتیپ حیوان، b_j اثر ثابت سال، c_k اثر ثابت فصل و e_{ijkm} اثر عوامل باقی‌مانده است.

نتایج حاصل از الکتروفورز DNAهای استخراج شده روی ژل آگارز یک درصد نشان داد که نمونه‌ها از کیفیت مطلوبی برخوردار هستند (شکل ۱). تمامی جایگاه‌های مورد مطالعه طبق برنامه‌های دمایی بدست آمده، با چند شکلی بالایی تکثیر شدند. از مجموع ۱۱ جایگاه ریزماهواره، ٦٤ آلل مشاهده شد.

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱- الکتروفورز چند نمونه DNA استخراج شده روی ژل آگارز یک درصد.

تعداد آلل‌های مشاهده شده در هر لوکوس در دامنه‌ای بین سه (TGLA377) تا نه (GC101، LSCV043) قرار داشت. متوسط تعداد آلل‌های مشاهده شده و مؤثر به‌ترتیب ۵/۸۲ و ٤/۰۵ بود. میزان PIC نشانگرها در دامنه‌ای بین ۰/٦۳ (TGLA377) تا ۰/۸۲ (OarHH35) قرار داشت. متوسط هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار در بین جایگاه‌ها به‌ترتیب ۰/٦٤ و ۰/۷۷ بود. بیش‌ترین میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده (۰/۷۹) برای نشانگر LSCV043 و کم‌ترین آن (۰/۳٤) برای نشانگر BM143 بود. هم‌چنین بیش‌ترین میزان هتروزیگوسیتی مورد انتظار (۰/۹٦) برای نشانگر CSSM47 و کم‌ترین آن (۰/۷) برای نشانگر OarHH55 به‌دست آمد. در این مطالعه، همه نشانگرهای ریزماهواره در حالت عدم تعادل هاردی- واینبرگ بودند ($P < 0.01$) (جدول ۲).

به‌طور کلی در این پژوهش ۸٤ ژنوتیپ برای همه ریزماهواره‌های مورد مطالعه مشاهده شد. تعداد ژنوتیپ‌های حاصل در دامنه‌ای بین پنج ژنوتیپ (TGLA377، BM143، OarHH64) و ۱۳ ژنوتیپ (OarHH35) بودند. با استفاده از آزمون مقایسه میانگین دانکن، ارتباط بین ژنوتیپ‌های مختلف و صفات دوقلوزایی و افزایش وزن بدن بررسی شد. تجزیه آماری نشان داد که ژنوتیپ‌های مرتبط با نشانگرهای TGLA377، CSSM47، OarFCB128، OarHH35، OarHH55 و OarHH64 اثر معنی‌داری روی میزان دوقلوزایی گوسفندان نژاد سنجابی داشتند ($P < 0.01$)، در حالی که نشانگرهای GC101، LSCV043، OarAE101، BM1329 و BM143 روی میزان دوقلوزایی بی‌تأثیر بودند. مقایسه میانگین ژنوتیپ‌های مختلف در هر نشانگر نشان داد که در نشانگرهای TGLA377، CSSM47، OarFCB128، OarHH35، OarHH55 و OarHH64 به‌ترتیب ژنوتیپ‌های AA، AB، AB، FF، CD و BD بیش‌ترین تأثیر را بر صفت دوقلوزایی داشته‌اند و سایر ژنوتیپ‌های مشاهده شده دارای اثرات متفاوتی بودند.

جدول۲- تعداد آلل‌های مشاهده شده و مؤثر، محدوده اندازه آلل، هتروزیگوسیتی (مشاهده شده و مورد انتظار)، شاخص اطلاعات چندشکلی و آزمون تعادل هاردی- واینبرگ برای هر نشانگر

نشانگر Marker	تعداد آلل No. of Alleles		حداقل اندازه آلل Minimum allele size	حداکثر اندازه آلل Maximum allele size	هتروزیگوسیتی Heterozygosity		شاخص اطلاعات چندشکلی PIC	آزمون تعادل هاردی- واینبرگ H-W (χ^2)
	مشاهده شده Observed (N_o)	موثر Effective (N_e)			مشاهده شده Observed (H_o)	مورد انتظار Expected (H_e)		
GC101	9	4.09	190	278	0.75	0.71	0.75	190.18**
LSCV043	9	4.77	73	173	0.79	0.74	0.79	127.31**
TGLA377	3	2.76	85	108	0.64	0.7	0.63	12.83**
CSSM47	5	4.08	140	185	0.75	0.96	0.65	161.9**
OarFCB128	4	3.92	92	127	0.74	0.91	0.77	44.13**
OarAE101	6	4.67	103	157	0.65	0.79	0.78	157.31**
BM1329	7	4.21	135	194	0.69	0.76	0.77	243.57**
BM143	4	3.39	100	135	0.34	0.7	0.7	146.58**
OarHH55	5	3.04	121	167	0.42	0.67	0.67	157.35**
OarHH35	8	5.63	100	174	0.68	0.83	0.82	221.25**
OarHH64	4	3.97	110	141	0.66	0.75	0.74	105.47**
Mean	5.82	4.05	-	-	0.64	0.77	0.73	142.53**

www.SID.ir

Archive of SID

هم‌چنین نتایج نشان داد که ژنوتیپ‌های مرتبط با نشانگرهای GC101، LSCV043، TGLA377، CSSM47، OarAE101، BM143 و OarHH64 اثر معنی‌داری ($P< 0.05$) بر صفت افزایش وزن بدن در سنین مختلف دارند، در حالی‌که سایر نشانگرها روی افزایش وزن بدن بی‌تأثیر هستند. مقایسه میانگین ژنوتیپ‌های مختلف در هر نشانگر نشان داد که نشانگرهای GC101، OarAE101 و OarHH64 به‌ترتیب با ژنوتیپ‌های FC، BD و CD روی افزایش وزن سه ماهگی و نشانگرهای LSCV043 و CSSM47 به‌ترتیب با ژنوتیپ‌های GI و AB روی افزایش هر دو وزن ۹ و ۱۲ ماهگی بیش‌ترین تاثیر معنی‌دار را داشته‌اند. هم‌چنین مشخص شد که در نشانگر TGLA377، ژنوتیپ‌های AB و BC به‌ترتیب بیش‌ترین تأثیر را روی افزایش وزن ۱۲ و ۱۵ ماهگی و در نشانگر BM143، ژنوتیپ CC بیش‌ترین تاثیر معنی‌دار را روی افزایش وزن ٦ و ۹ ماهگی داشته است.

در تحقیق حاضر، همه جایگاه‌های مورد مطالعه انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ را نشان دادند که ممکن است ناشی از جفت گیری‌های غیرتصادفی، انتخاب، مهاجرت و یا حضور آلل‌های نول در جمعیت گوسفندان نژاد سنجابی باشد. به‌طور مشابه، Mohammadi and Saberi Vand (2007) با بررسی جایگاه‌های متصل به ژن چندقلوزایی *FecB* (OarHH55, OarHH35, BM1329) در گوسفندان نژاد قزل ایرانی دریافتند که هر سه جایگاه چند شکل بوده و به‌طور معنی‌داری از تعادل هاردی واینبرگ انحراف نشان می‌دهند. در مطالعه‌ای دیگر، از ۱۰ نشانگر استفاده شده ۸ نشانگر انحراف از حالت تعادل هاردی واینبرگ نشان دادند (Ghanbari et al. 2003). در مطالعه Bancrofti et al. (1995) از شش جایگاه ریز ماهواره تنها یک جایگاه از حالت تعادل انحراف داشت در حالی‌که در مطالعه حاضر، همه جایگاه‌ها از حالت تعادل انحراف داشتند. در این مطالعه برای نشانگرهای OarHH55، BM1329 و OarHH35 به‌ترتیب ۵، ۷ و ۸ آلل مشاهده شد اما Ghanbari et al. (2003) در مطالعه خود از نشانگر OarHH55، هفت آلل و از نشانگر BM1329 تنها یک آلل بدست آوردند که این تفاوت‌ها با تحقیق حاضر می‌تواند به علت جهش در جایگاه ریزماهواره‌ها باشد. گروهی از محققین در مطالعه خود به بررسی ارتباط پنج نشانگر ریزماهواره OarAE101، BM1329، BM143، OarHH35 و OarHH55 با صفت دوقلوزایی در گوسفندان نژاد HU پرداختند. نتایج تجزیه آماری نشان داد که تفاوت معنی‌داری ($P< 0.05$) بین ژنوتیپ‌های جایگاه OarHH35 با میزان دوقلوزایی وجود دارد (Sun et al. 2010). در تحقیق حاضر علاوه بر جایگاه OarHH35، ژنوتیپ-های نشانگر OarHH55 نیز اثر معنی‌داری روی صفت دوقلوزایی داشتند و نتایج بقیه نشانگرها روی صفت مذکور در هر دو تحقیق یکسان بوده است. در مطالعه گوسفندان نژاد زندی با کمک ۱۵ نشانگر ریزماهواره و ۱۲۰ نمونه دام، میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده و PIC به‌ترتیب ۰/۹۸ و ۰/۸ گزارش شد (Naneh Karani et al. 2010). با توجه به مقادیر بدست آمده در تحقیق حاضر (به‌ترتیب ۰/٦٤ و ۰/۷۳)، گوسفندان نژاد سنجابی از سطح تنوع درون جمعیتی کمتری در مقایسه با نژاد زندی برخوردار هستند. گروه دیگری از محققین با بررسی چند شکلی نشانگرهای ریزماهواره‌ای BM6444، INRA135 و OarHH35 مرتبط با ژن اینهیبین در گوسفند سنجابی، بیان کردند که نشانگرهای مورد مطالعه دارای میزان هتروزیگوسیتی (دامنه ۰/٥٦ تا ۰/٦٨) و پلی-مورفیسم (دامنه ۰/٦۲ تا ۰/۷۲) بالایی هستند (Solimani et al. 2012). این نتایج تقریباً مشابه نتایج تحقیق حاضر است که نشان می‌دهد گوسفندان نژاد سنجابی از تنوع بالایی برخوردارند. با مطالعه ۱۹ نشانگر ریزماهواره جهت تعیین تنوع ژنتیکی بین گوسفندان نژاد بومی چین، میزان هتروزیگوسیتی مورد انتظار در محدوده ۰/٦۲ تا ۰/۷۳ شناسایی شده‌است (Zhong et al. 2010). در گوسفندان نژاد سنجابی میزان هتروزیگوسیتی مورد انتظار بین ۰/۷ تا ۰/۹٦ گزارش شد که نشان می‌دهد تنوع درون جمعیتی گوسفندان نژاد سنجابی از گوسفندان نژاد بومی چین بیش‌تر است. از ۲٤ نشانگر ریزماهواره جهت تجزیه تنوع ژنتیکی پنج نژاد گوسفند ایتالیایی استفاده شد و نتایج نشان داد که همه نژادهای مورد بررسی کاهش معنی‌داری در ژنوتیپ هتروزیگوت دارند که ناشی از سطح بالای همخونی در گله می‌باشد (Bozzi et al. 2009). در تحقیق حاضر با مطالعه ۱۱ نشانگر ریزماهواره در گوسفند نژاد سنجابی، میزان PIC و هتروزیگوسیتی بالایی یافت شد که حاکی از حفظ تنوع بالای درون جمعیتی و سطح پایین همخونی در گله می باشد. Khan Ahmadi et al. (2012) به

www.SID.ir

Archive of SID

شناسایی چندشکلی دو نشانگر ریزماهواره‌ای متصل به ژن بورولا (OarAE101 و TGLA68) در گوسفند نژاد دالاق پرداختند. آن‌ها مقدار PIC برای هریک از جایگاه‌ها را به‌ترتیب ۰/۲۷ و ۰/۱۵ معرفی کردند. در حالی‌که در تحقیق حاضر مقدار PIC برای تمامی جایگاه‌های مورد مطالعه در گوسفند نژاد سنجابی، بیش‌تر از ۰/٦ محاسبه شد. با توجه به این‌که جایگاه‌های چندشکل همچون ریزماهواره‌ها در صورت دارا بودن مقادیر PIC بالاتر از ۰/۵ جزو نشانگرهای دارای محتوای اطلاعاتی زیاد در نظر گرفته می‌شوند (Botstein et al. 1980)، بنابراین همه جایگاه‌های مورد استفاده در این تحقیق، از چند شکلی بالایی برخوردارند.

نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که در گوسفندان نژاد سنجابی پتانسیل زیادی جهت بهبود صفات اقتصادی مهم وجود دارد و نشانگرهای ریزماهواره ابزاری بسیار توانمند برای مطالعات ژنتیک جمعیت، بررسی تنوع درون و بین جمعیت‌ها و شناسایی ژن‌های موثر در حیوان می‌باشند. همچنین از یافته‌های حاصل می‌توان نتیجه گرفت که در برنامه‌های اصلاح نژاد، نشانگرهای TGLA377، CSSM47، OarFCB128، OarHH35، OarHH55 و OarHH64 جهت انتخاب گوسفند نژاد سنجابی از لحاظ صفت دوقلوزایی و نشانگرهای GC101، LSCV043، TGLA377، CSSM47، OarAE101، BM143 و OarHH64 جهت انتخاب از لحاظ صفت افزایش وزن بدن مناسب می‌باشند.

منابع

Arora R, Bhatia S, Jain A (2010) Morphological and genetic characterizationof Ganjam sheep. Animal Genetic Research. 46: 1-9.

Bancrofti DR, Pembertoni JM, King P (1995) Extensive protein and microsatellite variability in an Islandm cyclic ungulate poulation. Heredity 74: 326-336.

Botstein D, White RL, Skolnick M, Davis RW (1980) Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. The American Journal of Human Genetics 32: 314–331.

Bozzi R, Innocenti P, Diaz P, Naldi L, Crovetti A, Sargentini C, Giorgetti A (2009) Genetic characterization and breed assignment in five Italian sheep breeds using microsatellite markers. Small Ruminant Research 85: 50-57.

Ganbari S, Esmaeil Khanian S, Eskandari Nasab M, Ghafari H (2003) Molecular study and polymorphism determination of 10 microsatellite markers linked to FecB gene in Balochi sheep. In: Proceedings of 3th national conference of biotechnology of Islamic Republic of Iran, university of Ferdowsi, 334-338. (In Farsi).

Horiyat R (2010) Study of association of microsatellite markers on chromosome 1 with growth traits of Lori-Bakhtiari sheep, University of Shahrekord, Iran.

Jandurova O, Kott M, Kottova B, Czernrkova V (2004) Seven microsatellite markers useful for determining genetic variability in white and brown short-haired goat breeds. Small Rominant Research 52: 271-274.

Jin M, Gue CL, Hu JH, Gao WB, Wang W (2006) Correlation analysis of economic traits in Liaoning new breed of cashmere goats using microsatellite DNA markers. Acta Genetica Sinica 33: 230-235.

Khan Ahmadi A, Rahimi G, Hafezian SH, Khatami R, Mamizadeh N, Mosavi SM (2012) Identification of polymorphism in two microsatellite markers linked to Borolla gene (FecB) in Dallagh sheep. In: Proceedings of national conference of breeding and preservation of genetic resources of Zel and Dallagh. Iran, Gonbad Kavos University. (In Farsi).

Marrube G, Canob EM, Roldan DL, Bidinost F, Abad M (2007) QTL affecting conformation traits in Angora goats. Small Ruminant Research 71: 255-263.

Miller S, Dykes D, Paletsky H (1988) A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. Nucleic Acid Research 16: 1215.

Mohammadi G, Saberi Vand A (2007) Molecular study and polymorphism determination of some microsatellite markers linked to twinning gene (FecB) in Iranian Ghezel sheep. Journal of Iranian Veterinary 2: 38-45. (In Farsi).

Mohammadi Far A, Mohammad Abadi M (2011) Application of microsatellite markers for study of genome of Kermani sheep. Iranian Journal of Animal Science 4: 337-344. (In Farsi).

Montgomery GW, Crawford AM, Penty JM, Dodds KG, Ede AJ, Henry HM…(1993) The ovine Booroola fecundity gene (FecB) is linked to markers from a region of human chromosome 4q. Nature Genetics 4: 410-414.

Naneh Karani SH, Amiri Nia S, Amir Mozafari N, Vaez Torshizi R, Gharah Daghi AA (2010) Study of genetic diversity of Zandi sheep population with microsatellite markers. Veterinary Journal of Islamic Azad University 11: 79-86. (In Farsi).

Ouyang XX, Shi QS, Huang SQ, Deng ZF, Liu HX (2007) Studies of microsatellite markers OarAE101 and BM143 in four goat breeds. Acta veterinaria et zootechnica sinica Chinese Journal of Animal and Veterinary Sciences 37: 640-645.

Saitbekova N, Gaillard C, Obexer-Ruff G, Dolf G (1999) Genetics diversity in Swiss goat breeds based on microsatellite analysis. Animal Genetic 30: 36-41.

Salari A, Amirinia C, Gharahdaghi A, Shiri SA, Khedrzadeh S (2010) Investigation of genetic diversity of Kordi-Khorasan sheep with microsatellite markers.

www.SID.ir

Archive of SID

Animal Science and Research Journal 7: 11-17. (In Farsi).
Solimani B, Chaharaeein B, Rahimi Mianji G (2012) Polymorphism study of microsatellite markers BM6444, INRA135 and OarHH35 linked to Inhibin gene in Sanjabi sheep. Iranian Journal of Animal Science Research 1: 85-90. (In Farsi).
Song YX, Zhu GQ, Wang YB, Wang JG, Cao BY (2008) Studies on microsatellite markers of fecundity trait in two goat breeds. Acta veterinaria et zootechnica sinica Chinese Journal of Animal and Veterinary Sciences 39: 16-23.
Sun YL, Liu GQ, Wang G (2006) Correlation analysis between microsatellite markers and body weight in meat sheep. Scientia Agricultura Sinica 39: 2095-2100.
Sun W, Chang H, Musa H, Chu M (2010) Study on relationship between microsatellite polymorphism and producing ability on fecundity trait of Hu sheep in China. African Journal of Biotechnology 9: 8704-8711.
Takahashi H, Nirasawa K, Nagamine Y, Tsudzuki M, Yamamoto Y (1998) Genetic relationships among Japanese native breeds of chicken based on microsatellite DNA polymorphisms. Journal of Heredity 89: 543-546.
Vajed Ebrahimi M, Mohammad Abadi M, Esmaeili Zadeh A (2016) Study of genetic diversity of 5 population of Iranian sheep with microsatellite markers. Journal of Agricultural Biotechnology 4: 143-158. (In Farsi).
Wang GF, Wu DJ (2006) Correlation analysis of microsatellite DNA markers with wool traits in Liangshan semi-fine wool sheep. Journal of Genetics and Genomics (Yi chuan xue bao) 28: 1505-1512.
Yuqin W, Zhang N, Wang Z, Wang Q, Zhang X, Bai J, Pang Y (2010) Association of polymorphism of microsatellite markers with fecundity in Chinese Funiu Goat. Research Journal Animal Science 4: 92-98.
Zhong T, Han J, Guo J, Zhao Q, Fu B, He X, Jeon J, Guan W, Ma Y (2010) Genetic diversity of Chinese indigenous sheep breeds inferred from microsatellit markers. Small Ruminant Research 90: 88-94.

www.SID.ir

Archive of SID

Modern Genetics Journal

Vol 11, Number 3, Autumn 2016, Quaternary

Association of Microsatellite Markers Polymorphism with Production and Reproduction Traits of Sanjabi Sheep

Rahbar R*[1], Chaharaein B[2], Solimani B[3]

1. Instructor, Department of Agriculture, Payam e Noor University, Tehran, Iran
2. Assistant Professor, Agriculture and Natural Resources Research Center, Kermanshah, Iran
3. PhD Student, Laboratory for Molecular Genetics and Animal Biotechnology, Sari Agricultural Science and Natural Resources University

* Corresponding Author, Email: rahbarrabie@pnu.ac.ir

ABSTRACT

Microsatellites are widely used for designing of gene mapping, genetic distance estimation and evaluation of different animals. The aim of present study was investigation of association of microsatellite markers polymorphism with production and reproduction traits of Sanjabi sheep. Blood samples were randomly collected from 78 ewes and 22 rams of Sanjabi sheep and transported to laboratory. After extraction of DNA by salting out method, 11 microsatellite loci (GC101, LSCV043, TGLA377, CSSM47, OarFCB128, OarAE101, BM1329, BM143, OarHH55, OarHH35 and OarHH64) were amplified by specific primers and polymerase chain reaction. By electrophoresis of productions on 8% polyacrylamide gel, different alleles were recognized and then data were analyzed by using of software program SAS 9.1 and POPGENE. The mean of number of observed and effective alleles were 5.82 and 4.05, respectively. PIC amount of markers was in range of 0.63 (TGLA377) to 0.82 (OarHH35). The mean of observed and expected heterozygosity was 0.64 and 0.77 in between loci, respectively. Also, the statistical analysis showed that genotypes associated with markers TGLA377, CSSM47, OarFCB128, OarHH35, OarHH55 and OarHH64 have had a significant effect ($P < 0.01$) on the twinning of Sanjabi sheep and genotypes associated with markers GC101, LSCV043, TGLA377, CSSM47, OarAE101, BM143 and OarHH64 have had a significant effect ($P < 0.05$) on body weight gain traits in different ages. Due to the findings, it can be concluded that except of marker BM1329, other studied markers are suitable on body weight gain and twinning traits in breeding programs of Sanjabi sheep.

Key Words

polymorphism, Microsatellite, sheep, production, reproduction traits

www.SID.ir