

شناسایی جایگاه‌های کنترل کننده صفات کمی (QTL)

مرتبط با صفات رشد در بزهای استرالیا

- آرش جوانمرد
گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
 - مصطفی مدد
گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز.
 - نادر اسدزاده (نویسنده مسئول)
استادیار، موسسه تحقیقات علوم دامی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
 - علی اسماعیلی زاده کشکویه
گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان
 - محمدحسین بنابازی
موسسه تحقیقات علوم دامی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
- تاریخ دریافت: اسفند ۱۳۹۵ تاریخ پذیرش: مرداد ۱۳۹۵
شماره تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۲۳۳۱۶۷۸
Email: naderasadzadeh4@gmail.com

چکیده

امروزه، کاربرد توأم اطلاعات فنوتیپی و نشانگرهای مولکولی برای بهبود صفات رشد توانسته است کارآیی برنامه‌های اصلاح نژادی را به بازدهی نسبتاً مناسبی برساند. هدف از پژوهش حاضر شناسایی جایگاه‌های کنترل کننده صفات کمی (QTL) مرتبط با صفات وزن و خصوصیات رشد با استفاده از نشانگرهای اختصاصی ریزماهواره در گستره ۶۰۵ سانتی‌مورگانی از کروموزوم‌های بز می‌باشد. بدین منظور، از یک گله بزرگ با بررسی اطلاعات شجره، تعداد چهار خانواده برادر- خواهر نانی که مجموع کل خانواده ۱۱۲ رأس بودند، انتخاب شد. صفات تحت رکورد برداری شامل: وزن‌های تولد، از شیرگیری، شش ماهگی، میانگین افزایش وزن روزانه، نسبت‌های کلیبر محاسبه شده برای دو دوره تولد تاسن از شیردهی و دوره شیردهی تا سن شش ماهگی بودند. سپس در فاز مطالعه مولکولی، در مجموع تعداد ۴۵ نشانگر ریزماهواره پراکنده بر روی تعداد ۵ کروموزوم (۱، ۲، ۵، ۶ و ۲۶) با پیش شرط روئیت الگوی هتروزیگوت برای آن نشانگر در بزهای نر هر خانواده در نتاج، تعیین ژنوتیپ شدند. از نتایج کلیدی مطالعه حاضر، شناسایی دو QTL بین نشانگرهای BMC1009-RM029 و INRABEN172 که در کروموزوم ۵ و ۲۶ با وزن تولد مرتبط هستند، می‌باشد ($p < 0.01$). همچنین بعد از تجزیه و تحلیل فامیلی یک QTL نزدیک نشانگر BM1312 در ارتباط با نسبت کلیبر (KBR_1) در کروموزوم یک تشخیص داده شد ($p < 0.05$).

Animal Science Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 118 pp: 125-136

Identification QTLs controlling growth characteristics in commercial goat population

By: Arash Javanmard¹, Mostafa Madad¹, Nader Asadzadeh^{*2}, Ali Esmailizadeh Kashkoeiyeh³, Mohamad hossein Banabazi²

1: Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran.

2: Assistant professor of Animal Science Research Institute of Iran;

3: Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Iran.

Received: March 2017

Accepted: July 2017

Nowadays, Incorporation of both phenotypes and genotype information enhanced the accuracy of genetic parameter predictions for growth characteristics in breeding schematics. The purpose of this study was to identify quantitative traits controlling positions (QTLs) associated with live body weight traits and growth characteristics using specific microsatellite markers in the 605 cm distance of goat chromosomes. In this regards, 4 half sib families were selected from large herd pedigree including 112 individual. Investigated records were included: birth, weaning, 6 months weights, average daily gain, calculated Keliber ratio index for two measured periods of birth-weaning age, weaning age- 6 months age. In the molecular study phase, a total of 45 microsatellite markers belong to 5 chromosome numbers (1, 2, 5, 6, and 26) with a pre-condition of the heterozygote pattern for microsatellite marker in each sire genotypes in progenies of heterozygote sires. The key findings of the present study are the identification of two QTLs between BMC1009-RM029 and INRABEN172 markers that are related to birth weight in chromosomes 5 and 26 ($p < 0.01$). Also, after a across familial analysis, a QTL close to the BM1312 marker was detected in relation to the KBR1 ratio on chromosome 1 ($p < 0.05$).

Key words: goat, quantitative traits loci, growth traits, microsatellite.

مقدمه

بعدی منتقل می‌شوند (Weller, 2009). با وجود اهمیت پرورش بز، مطالعات انجام شده در حوزه ژنوم این گونه، در مقایسه با گونه‌های دامی دیگر مانند گاو، خوک، مرغ و گوسفند هنوز در مراحل ابتدایی خود می‌باشد. موفقیت در شناسایی QTL مثبت با استفاده از نشانگرها در مرحله نقشه‌یابی، منجر به طراحی برنامه انتخاب به کمک نشانگرها می‌شود (Dekkers, 2004). به طوری که با استفاده از نشانگرهای پیوسته با QTL می‌توان ارزش ژنتیکی یک حیوان را محاسبه و به صورت بالقوه این ارزش ژنتیکی دارای صحت بالاتری نسبت به ارزش ژنتیکی محاسبه شده از طریق فنوتیپ و شجره خواهد بود. جمع‌بندی و خلاصه مرور مطالعات پیشین، در نقشه‌یابی و تعیین جایگاه‌های مرتبط با صفات کمی برای خصوصیات رشد در بز، وجود QTL‌های معنی‌دار

در برنامه‌های اصلاح نژاد بز، انتخاب بر اساس اطلاعات فنوتیپی در صفات رشد، به علت عدم رکورد برداری دقیق، وراثت‌پذیری پایین، از جمله چالش‌ها و موانع پیشرفت ژنتیکی محسوب می‌شود (Dodds و همکاران ۲۰۰۷). بز، از جمله گونه‌های ارزشمند پرورشی شناخته شده است که در گستره جهانی در حدود ۸۰۰ میلیون رأس در قالب ۵۶۰ نژاد، از این گونه پراکنده شده است و تقریباً ۱۲ درصد از تعداد کل نژادهای دام ثبت اهلی جهان را به خود اختصاص داده است (FAO, 2007). جایگاه کنترل کننده صفات کمی (QTL) به قطعات کروموزومی اطلاق می‌شود که سهم بزرگی در واریانس ژنتیکی صفات دارند و تفرق این جایگاه‌ها، معمولاً به‌طور همزمان بوده و بین آنها نوترکیبی رخ نمی‌دهد و هاپلوتایپ‌های کروموزومی در آن با یکدیگر به نسل

حاضر، تعیین جایگاه های کنترل کننده صفات کمی (QTL) مرتبط با صفات وزن و خصوصیات رشد با استفاده نشانگرهای اختصاصی ریزماهوره، در بزهای استرالیایی می باشد.

مواد و روش ها

در پژوهش حاضر، از یک گله بزرگ بز بوئر وارد شده از استرالیا، با بررسی اطلاعات شجره، تعداد چهار خانواده برادر- خواهر ناتنی و در مجموع ۱۱۲ بزغاله انتخاب شد. برای برنامه تلاقی ها در این مزرعه از جفت گیری طبیعی با نسبت یک بز نر به ۲۵ تا ۴۰ بز ماده استفاده گردید. در ضمن اطلاعات شجره به طور دقیق ثبت و اطلاعات مربوط به اثرات ثابت همچون سال تولد، شماره شکم، وزن مادر در هنگام زایمان، تیپ تولد بزغاله، جنسیت بزغاله های متولد شده به دقت رصد می شد.

مطالعه فوتویی

وزن های تولد، سه ماهگی، شش ماهگی از طریق رکوردگیری مستقیم در حیوان زنده اندازه گیری شد و صفات غیر مستقیم مانند افزایش وزن و شاخص کلیبر از طریق فرمول های محاسباتی موجود برآورد گردید. از فرمول ذیل برای تصحیح داده های وزن از شیرگیری (سه ماهگی) و شش ماهگی استفاده شد.

روی کروموزوم های شماره یک، دو، چهار، هشت (Mohammadabadi و همکاران ۲۰۰۹)، کروموزوم شماره ۹، ۲۷ در نژادهای مختلف را نشان می دهد (Visser, 2013). ریزماهوره ها به عنوان نواحی کوتاه تکراری (یاتوالی ساده تکراری نامیده می شوند. این توالی ها شامل واحدهای تکراری پشت سرهم می باشند که هر کدام از واحدها از ۲ تا ۶ جفت باز تشکیل شده اند (Ellegren, 2004). ریزماهوره ها به طور وسیعی در تمامی ژنوم یوکاریوت ها توزیع شده اند و اغلب چند شکلی بالایی از طریق تنوع در تعداد واحدها تکرار شونده توالی موتیف مشاهده می گردد. ریزماهوره ها جهت بررسی نقشه پیوستگی ژنتیکی دام های اهلی مورد استفاده قرار می گیرند (Goldstein و همکاران ۱۹۹۷).

بز بوئر، در سال ۱۹۰۰ توسط دامداران هلندی در آفریقای جنوبی شناسایی شد و واژه بوئر از کلمه هلندی کشاورزی گرفته شد، این نژاد بر اساس انتخاب های صورت گرفته بر روی آن به یک نژاد ممتاز گوشتی با باروری بالا و مقاومت به بیماری مناسب توسعه یافت. اجداد تشکیل دهنده این نژاد از بزهای هندی و اروپایی مشتق شده است (Menezes و همکاران ۲۰۱۶). اخیراً هم در استان خراسان توسط شرکت های تجاری برای بررسی امکان پرورش در آب و هوای ایران وارد شده است. هدف از پژوهش

$$90 \times \frac{\text{وزن شیرگیری} - \text{وزن تولد}}{\text{سن شیرگیری واقعی}} + \text{وزن تولد} = \text{وزن از شیرگیری تصحیح شده}$$

برای محاسبه افزایش وزن روزانه بین تولد تا سه ماهگی و سه ماهگی تا شش ماهگی از فرمول محاسباتی ذیل استفاده شد.

$$\text{افزایش وزن روزانه (تولد تا سه ماهگی بر حسب گرم)} = \frac{\text{وزن شیرگیری} - \text{وزن تولد}}{\text{سن شیرگیری واقعی}} \times 1000$$

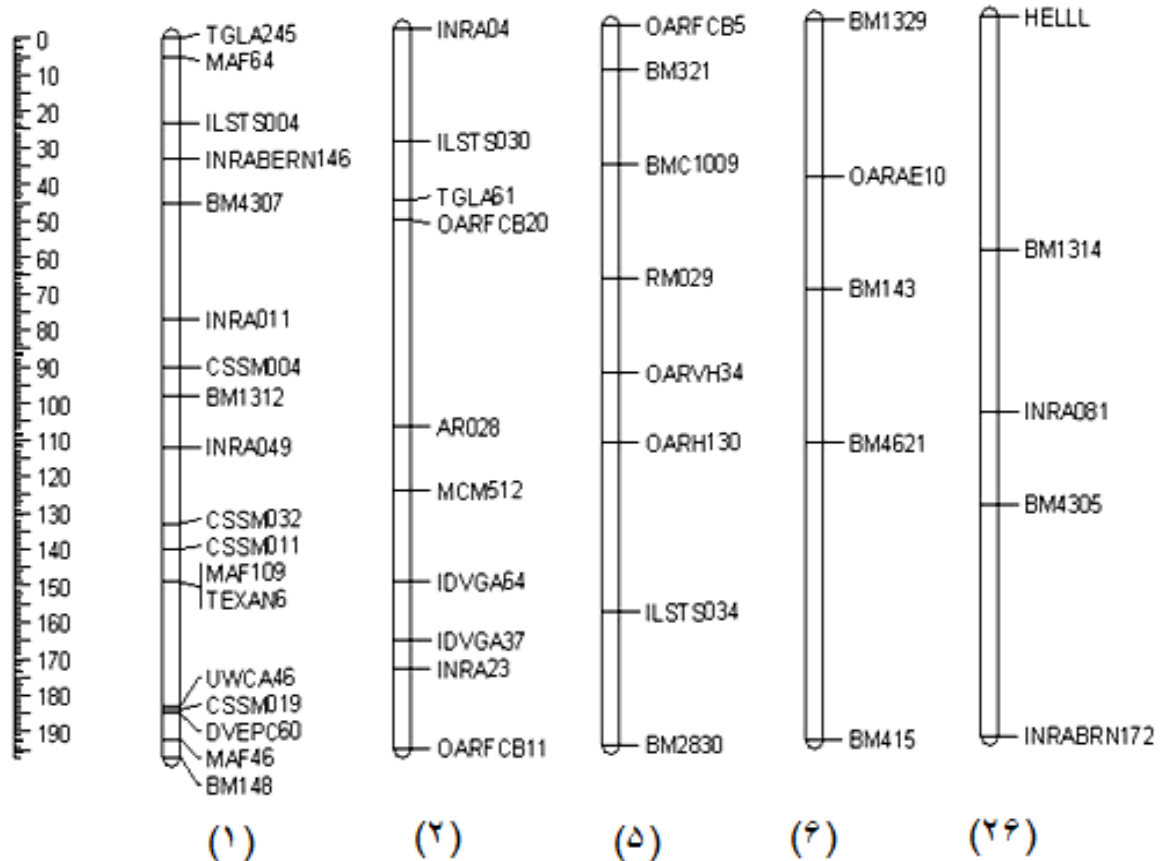
$$\text{افزایش وزن روزانه (سه تا شش ماهگی بر حسب گرم)} = \frac{\text{وزن شش ماهگی} - \text{وزن سه ماهگی}}{\text{سن شیرگیری واقعی}} \times 1000$$

$$\text{افزایش وزن روزانه} = \frac{\text{شاخص کلیبر}}{0.75}$$

مطالعه مولکولی

و نگهداری خون در ماده ضد انعقاد EDTA در لوله‌های ونوجکت و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت. استخراج DNA ژنومی بر اساس دستورالعمل کیت تجاری کیاژن صورت گرفت. کمیت و کیفیت DNA با روش اسپکتوفوتومتری و الکتروفورز ژل آگارز تعیین گردید. انجام PCR به روش استاندارد موجود انجام گرفت. برای صرفه‌جویی در کار از روش Multiplex PCR و تکثیر گروهی جایگاه‌ها استفاده شد. جزییات هر یک از جایگاه‌ها و محل استقرار آن در روی نقشه کروموزومی در شکل شماره یک ارائه شده است.

تعداد ۴۵ نشانگر ریزماهواره که بر روی ۵ کروموزوم (کروموزوم ۱، ۲، ۵، ۶ و ۲۶) در گستره ۶۰۵ سانتی‌مورگانی از کروموزوم‌های بز توزیع شده بودند، انتخاب شدند. برای نقشه‌یابی جایگاه‌های کنترل‌کننده صفات بر اساس طرح آزمایشی خواهر - برادر ناتنی (HF) پیش شرط شناسایی نرهای هتروزیگوت برای جایگاه‌های انتخابی ریزماهواره می‌باشد و در صورتی که این پیش شرط برقرار باشد امکان ردیابی هر یک از آلل‌های با منشأ پدری در نتاج متعلق به این نر در ادامه آزمایش وجود دارد. اخذ نمونه خون از این نرها با استفاده از ورید وداجی



شکل ۱. توزیع و فاصله نشانگرهای مورد استفاده جهت انجام مطالعه حاضر (بر گرفته از Viatman و همکاران ۱۹۹۶)

تجزیه و تحلیل آماری

شاخص های آمار توصیفی به ترتیب با استفاده از نرم افزارهای Popgene version 1.31 و SAS version 9.1 (Yeh و همکاران، ۱۹۹۹) محاسبه گردید. همچنین از روش رگرسیون خطی به شیوه Stepwise استفاده شد (Esmailizadeh و همکاران ۲۰۰۸). در مدل مورد نظر، صفات بررسی شده به عنوان متغیر تابع و بعد از تصحیح اثرات ثابت تأثیرگذار بر داده های خام، داده های مولکولی به عنوان متغیر ثابت وارد مدل رگرسیونی شدند. فرم مدل رگرسیونی به صورت زیر می باشد:

$$Y_{ijklmn} = \mu + S_k + L_i + X_m + \beta_{covij} + e_{ijklmn}$$

Y_{ijklmn} = فنوتیپ i امین HF نتاج، μ میانگین کل، L_i = اثر ثابت i امین تیپ تولد (۱، ۲، ۳، ۴)، S_k اثر ثابت k امین جنس تولد (۱ و ۲)، X_m = اثر ثابت m امین سال تولد داده های دو سال متمادی، β ضریب رگرسیون کوواریانس، e_{ijklmn} = خطای تصادفی در ارتباط با هر رکورد، COV_{ij} = کوواریانس (وزن تیپ تولد و شماره شکم مادر هردو کواریت برای وزن های اندازه گیری شده سه ماهگی، شش ماهگی و افزایش وزن روزانه تأثیر می گذارد و باید با گذاشتن این صفات اثر کواریت در مدل تصحیح شود). تجزیه و تحلیل اصلی QTL بر اساس یک مدل خطی توسعه یافته توسط Beckman and Soller, 1983 به صورت زیر است:

$$Y_{ijk} = \mu + S_i + M_{ij} + e_{ijk}$$

Y_{ijk} = ارزش فنوتیپی برای k امین نتاج از i امین نر که j امین آلل نشانگر را دریافت می کند. μ = میانگین جمعیت برای این صفت، S_i = اثر i امین نر هتروزیگوت، M_{ij} = اثر j امین آلل مارکر از i امین نر، e_{ijk} = اثر باقیمانده، تجزیه و تحلیل رگرسیون مطابق روش پیشنهادی Knott و همکاران، ۱۹۹۶ و طبق فرمول ذیل بدست آمد.

$$y = \mu + \alpha \cdot x_1 + \beta x_2 + e$$

در تعیین ژنوتیپ جایگاه ها، محصولات تکثیر شده به وسیله الکتروفورزدر ژل ۴ درصد ژل متافورآگارز در ولتاژ ۶۵ به مدت ۳۰ الی ۴۰ دقیقه (بسته به اندازه مورد انتظار آلل ها)، با استفاده از رنگ آمیزی اتیدیوم بروماید، آشکار شدند. سپس تخمین اندازه آلل ها بوسیله مقایسه با استاندارد ۲۵ جفت بازی امتیاز دهی شدند. جایگاه های ریزماهوره که تکثیرشان رضایت بخش نبود یا برای بسیاری از نرها اطلاعات کافی نداشتند (فقدان هتروزیگوتی) از تجزیه و تحلیل بعدی حذف شدند. مکان های ریزماهوره هتروزیگوت باقیمانده برای ادامه تجزیه و تحلیل آماری استفاده شد. DNA نتاج از نمونه های خون آنها با همان روش استفاده شده برای نرها استخراج شد. فنآوری واکنش زنجیره پلی مرز چندگانه با استفاده از نشاندار کردن آغازگرها (پرایمر جلوبر پروب دار شده بود) توسط شرکت بکمن انجام شد و برای الکتروفورز محصولات PCR از توالی یاب CEQ8000 استفاده گردید.

واکنش زنجیره ای پلیمرز

شرایط انجام واکنش در حجم ۲۵ میکرولیتر شامل mM ۱/۵ MgCl₂، ۰/۲ mM dNTP، ۰/۰۱ mM از هر کدام از آغازگرها (Research Biolab)، ۵۰ نانوگرم DNA ژنومی و ۰/۲ واحد از Taq DNA polymerase (progma) انجام شد. برنامه چرخه های دما شامل دو بخش برنامه روتین و برنامه Touch down PCR بود: واسرشت سازی اولیه در مدت ۳ دقیقه در ۹۴°C و به دنبال آن ۳۴ سیکل از واسرشت سازی در مدت زمان ۴۵ ثانیه در دمای ۹۴°C، مرحله اتصال آغازگرها در یک دقیقه در دمای مخصوص هر آغازگر و ۷۲°C به مدت ۴۵ دقیقه برای تکثیر و یک تکثیر نهایی به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۷۲°C در نظر گرفته شد. توالی های آغازگرها و دماهای اتصال استفاده شده در مطالعه از مطالعات قبلی گرفته شده است. در نهایت از نرم افزار Crimap (Green, 1990) برای تعیین خطاهای ژنوتیپی در توارث مندلی استفاده شد.

(Doerge, 1994). از نرم افزار GridQTL برای ایجاد خروجی‌های آماری تجزیه و تحلیل QTL استفاده شد.

نتایج و بحث

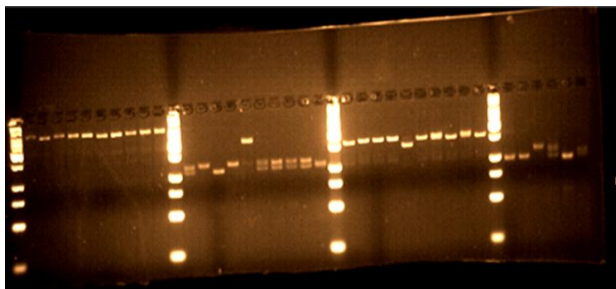
خلاصه آمار توصیفی داده‌های فنوتیپی برای چهار خانواده خواهر برادر ناتنی در جدول ۱ نشان داده شده است. همان‌طور که در جدول مذکور مشخص است بین صفات اندازه‌گیری شده در داخل خانواده‌های خواهر برادر ناتنی میانگین و انحراف معیار مختلفی وجود دارد. تجزیه و تحلیل آماری تفاوت ارزش‌های اندازه‌گیری شده بین خانواده‌ها نشان داد که این ارزش‌ها بین خانواده‌ها معنی‌دار نیستند. آمار توصیفی داده‌های فنوتیپی در این مطالعه در دامنه مطالعات پیشین در این نژاد قرار داشت.

در پژوهش حاضر معیارهای مورد توجه برای انتخاب جایگاه‌های ریزماهوره، مشاهده چندشکلی بالا در مطالعات پیشین، طول کروموزوم و تراکم بالای جایگاه اختصاصی شناسایی شده، الگوی باند شارپ و تکرارپذیر در روی ژل و حضور ژن‌های بزرگ اثر بود به‌طوری‌که در کروموزوم یک ژن Pit-1 (Renaville و همکاران ۱۹۹۷) کروموزوم شماره دو ژن میوستاتین، کروموزوم پنج، IGF-1 و کروموزوم شش کاپاکازین و کروموزوم بیست‌وشش SCD واقع بودند که در مطالعات پیشین با صفات رشد ارتباط معنی‌دار نشان داده بودند و دلیل تمرکز در این پژوهش بودند. در تکثیر گروهی جایگاه‌ها ابتدا دامنه باندی مورد انتظار به عنوان معیار مورد بررسی قرار گرفت و جایگاه‌هایی که ۳۰ جفت باز با یکدیگر تفاوت باندی داشتند در یک گروه قرار گرفتند و به‌طور همزمان تکثیر شدند (Raadsma و همکاران ۲۰۰۹).

$X_1 = P(QQ | M_i) - P(qq | M_i)$ $X_2 = P(Qq | M_i)$
به‌نحوی که y فنوتیپ مشاهده شده، μ میانگین است و X_1 و X_2 احتمالات برای ژنوتیپ‌های QTL مشروط به ژنوتیپ‌های نشانگر مجاور هستند. ضرایب رگرسیون آلفا و بتا به ترتیب نشان دهنده تفاوت بین ژنوتیپ‌های QTL هموزیگوت و اثر غالبیت QTL هستند. آنها برای آزمون آماری پیشنهاد شده‌اند که به صورت "آزمون نسبت درست‌نمایی تقریبی" نشان داده شده است.

$$LR = n \ln \frac{(SSE_{reduced})}{SSE_{full}} = -n \cdot \ln(1 - r^2)$$

LR نسبت مجموع مربعات باقی‌مانده در یک مدل با QTL (کامل) و یک مدل بدون QTL (کاهش یافته) است. بخش r^2 معمولاً مربع R است که برای توضیح درصد واریانس به وسیله‌ی مدل استفاده می‌شود (تنها در صورتی به کار گرفته می‌شود که کلیه اثر ثابتی وجود نداشته باشد). برای نقشه‌یابی جایگاه‌های کنترل‌کننده صفات کمی، از احتمالات نسبی در فواصل یک سانتی مورگان و در طول کروموزوم‌هایی که ژنوتیپ‌های همه نشانگرها را در گروه پیوستگی داده‌اند، استفاده شد. این احتمالات برای محاسبه احتمالات ژنوتیپی برای یک QTL مورد قبول در هر موقعیت استفاده شدند. برای برآورد فواصل اطمینان (CI) از موقعیت‌های QTL از روش LOD drop-off پیشنهادی توسط Lander and Botstein, 1989 استفاده شد. آستانه‌های معنی‌دار و پیشنهادی طبق دستورالعمل‌های پیشنهادی Lander and Kruglyak, 1995، با استفاده از یک آزمایش جایگشت (permutation) محاسبه شد (Churchill and



شکل ۲- الگوی باندی متعلق به چهار جایگاه میکروساتلایت

مورد مطالعه و دامنه باندی متعلق به آنها در مطالعه حاضر

جدول ۱. آمار توصیفی صفات رشد اندازه گیری شده در نتاج چهار خانواده برادر و خواهر ناتنی در مطالعه حاضر

نسبت کلیبر دو	افزایش وزن روزانه دو (g/day)	افزایش وزن کلیبر یک	نسبت کلیبر یک	افزایش وزن روزانه یک (g/day)	وزن شش ماهگی (kg)	وزن سه ماهگی (kg)	وزن تولد (kg)	تعداد	جنسیت	خانواده ناتنی
۱۴/۴۶ ± ۳/۶۰	۱۴۴/۵۱ ± ۳۸/۳۲	۱۳/۸۱ ± ۲/۳۳	۱۳/۸۱ ± ۲/۳۳	۸۸/۰۷ ± ۱۷/۵۹	۲۳/۲۷ ± ۳/۳۵	۷/۷۵ ± ۲/۰۵	۳/۰۵ ± ۰/۶۰	۱۳	نر	نر
۴/۴۲ ± ۳/۵۴	۱۴۴/۴۶ ± ۴۸/۰۳	۱۲/۴۰ ± ۴/۱۲	۱۲/۴۰ ± ۴/۱۲	۶۹/۳۰ ± ۱۶/۵۹	۲۳/۱۹ ± ۳/۰۳	۹/۲۸ ± ۲/۴۸	۳/۰۵ ± ۰/۹۲	۱۵	ماده	یک
۱۳/۹۴ ± ۳/۰۷	۱۴۹/۴۹ ± ۴۳/۱۶	۱۳/۱۲ ± ۳/۰۱	۱۳/۱۲ ± ۳/۰۱	۷۷/۶۸ ± ۱۶/۰۳	۲۳/۲۳ ± ۳/۱۹	۹/۷۷ ± ۱/۹۷	۳/۰۵ ± ۰/۷۶	۲۸	مجموع	مجموع
۱۳/۸۵ ± ۲/۸۳	۱۳۱/۷۴ ± ۳۵/۴۱	۱۳/۴۱ ± ۲/۵۶	۱۳/۴۱ ± ۲/۵۶	۷۸/۷۳ ± ۲۳/۲۴	۲۲/۱۱ ± ۲/۶۰	۱۰/۲۵ ± ۱/۴۶	۳/۱۶ ± ۰/۴۶	۲۵	نر	نر
۱۳/۱۳ ± ۳/۳۵	۱۳۳/۸۹ ± ۴۶/۴۱	۱۲/۲۰ ± ۲/۲۳	۱۲/۲۰ ± ۲/۲۳	۶۶/۳۷ ± ۱۹/۰۶	۲۱/۴۴ ± ۳/۴۹	۹/۹۳ ± ۱/۵۸	۳/۴۱ ± ۰/۶۸	۲۰	ماده	دو
۱۲/۹۹ ± ۳/۰۹	۱۳۲/۸۲ ± ۴۰/۹۱	۱۲/۸۱ ± ۲/۴۱	۱۲/۸۱ ± ۲/۴۱	۷۲/۵۵ ± ۱۹/۶۵	۲۱/۷۷ ± ۳/۰۴	۹/۸۲ ± ۲/۲	۳/۲۹ ± ۰/۵۷	۴۵	مجموع	مجموع
۱۱/۰۶ ± ۳/۳۰	۱۱۷/۳۲ ± ۴۱/۴۵	۱۵/۱۵ ± ۲/۰۷	۱۵/۱۵ ± ۲/۰۷	۹۹/۶۶ ± ۳۲/۵۰	۲۲/۶۷ ± ۳/۷۶	۱۲/۱۲ ± ۲/۴۶	۳/۱۵ ± ۰/۶۳	۲۰	نر	نر
۱۰/۹۳ ± ۳/۵۹	۱۱۶/۰۴ ± ۵۸/۱۴	۱۴/۷۹ ± ۳/۰۳	۱۴/۷۹ ± ۳/۰۳	۹۸/۹۶ ± ۳۷/۲۳	۲۲/۰۹ ± ۴/۷۴	۱۱/۶۵ ± ۳/۱۳	۳/۰۱ ± ۰/۷۱	۲۰	ماده	سه
۱۱/۰۰ ± ۳/۹۳	۱۱۶/۶۸ ± ۴۹/۷۹	۱۴/۹۷ ± ۲/۵۵	۱۴/۹۷ ± ۲/۵۵	۹۹/۸۱ ± ۳۲/۳۷	۲۲/۳۸ ± ۴/۲۵	۱۱/۸۸ ± ۲/۷۹	۳/۰۸ ± ۰/۶۷	۴۰	مجموع	مجموع
۱۱/۶۹ ± ۲/۸۲	۱۲۲/۵۵ ± ۳۵/۴۱	۱۵/۲۱ ± ۲/۵۶	۱۵/۲۱ ± ۲/۵۶	۹۸/۳۳ ± ۱۷/۵۹	۲۳/۰۷ ± ۳/۵۹	۱۲/۰۴ ± ۳/۷۱	۳/۱۹ ± ۰/۸۰	۵	نر	نر
۳/۳۵ ± ۱۲/۴۸	۱۳۲/۸۸ ± ۴۶/۴۱	۱۴/۸۲ ± ۲/۲۳	۱۴/۸۲ ± ۲/۲۳	۹۲/۵۵ ± ۱۶/۵۹	۲۳/۴۳ ± ۴/۱۰	۱۱/۴۷ ± ۲/۶۱	۳/۱۴ ± ۰/۰۶	۱۰	ماده	چهار
۱۲/۰۶ ± ۳/۰۹	۱۲۷/۷۲ ± ۴۰/۹۱	۱۵/۰۳ ± ۲/۴۱	۱۵/۰۳ ± ۲/۴۱	۹۵/۴۴ ± ۱۶/۰۳	۲۳/۲۵ ± ۴/۸۸	۱۱/۷۶ ± ۴/۴۳	۳/۱۷ ± ۰/۷۹	۱۵	مجموع	مجموع

اعداد نمایش داده شده در قسمت بالایی هر ستون میانگین صفت و عدد پایین مویز به انحراف معیار می باشد. نسبت کلیبر واحد اندازه گیری ندارد و بصورت عدد مطلق گزارش داده می شود. افزایش وزن از تولد تا سه ماهگی (افزایش وزن یک) و افزایش وزن از تولد تا شش ماهگی (افزایش وزن دو نامگذاری شده است).

جدول ۲. آمار توصیفی شاخص‌های مولکولی مرتبط با جایگاه‌های ریزماهوره مورد استفاده

جایگاه	دامنه الی جفت باز	تعداد ال مشاهده شده	تعداد ال مورد انتظار	شاخص شانن	فراوانی هتروزیگوتی	
					مشاهده شده	مورد انتظار
BMC1009	۳۰۸-۲۸۲	۶	۳/۶۱	۱/۴۹	۰/۷۸	۰/۷۲
BM2830	۱۱۸-۹۶	۷	۴/۱۵	۱/۵۸	۰/۷۵	۰/۷۶
CSSM019	۱۵۶-۱۰۴	۷	۴/۴۴	۱/۶۷	۰/۸۱	۰/۷۷
OARFCB5	۱۱۴-۸۰	۶	۵/۷۸	۱/۲۷	۰/۷۷	۰/۶۴
CSSM004	۲۱۵-۱۹۹	۶	۵/۴۷	۱/۷۴	۰/۷۹	۰/۸۲
BM4307	۲۲۱-۱۸۹	۹	۵/۱۷	۱/۷۹	۰/۸۰	۰/۸۱
ILSTS004	۱۲۱-۱۱۱	۱۰	۴/۵۷	۱/۷۳	۰/۸۸	۰/۷۸
TEXAN006	۱۷۲-۱۴۲	۱۱	۴/۸۵	۱/۷۷	۰/۷۸	۰/۷۹
CSSM32	۲۲۱-۲۱۳	۷	۳/۶۲	۱/۴۷	۰/۶۱	۰/۷۲
BM415	۱۲۷-۱۰۹	۱۴	۵/۶۶	۲/۰۵	۰/۹۵	۰/۸۲
MCM512	۸۸-۷۸	۱۱	۶/۱۴	۲/۰۵	۰/۷۷	۰/۸۴
INRABEN172	۲۷۴-۱۹۴	۵	۳/۷۰	۱/۴۰	۰/۵۷	۰/۷۳
BM4621	۱۷۳-۱۵۵	۶	۳/۷۳	۱/۴۲	۰/۶۱	۰/۷۳
IDVGA37	۲۰۶-۱۱۶	۸	۶/۰۱	۱/۹۰	۱	۰/۸۳
BM1312	۱۴۱-۱۱۱	۴	۲/۳۹	۰/۹۸	۰/۲۶	۰/۵۸
UWCA46	۱۰۸-۹۸	۶	۳/۲۴	۱/۳۳	۰/۵۷	۰/۶۹
TEXAN5	۱۷۲-۱۴۲	۱۱	۴/۷۴	۱/۷۴	۰/۷۸	۰/۷۹
AR028	۲۷۲-۲۵۶	۶	۳/۵۷	۱/۴۹	۰/۶۴	۰/۷۲
INRA11	۲۲۰-۱۸۸	۶	۴/۸۲	۱/۶۶	۰/۶۵	۰/۷۹
TGLA245	۱۵۱-۱۳۱	۹	۵/۲۰	۱/۸۳	۰/۷۳	۰/۸۱
OARFCB11	۸۴-۷۸	۶	۲/۳۸	۱/۰۴	۰/۳۹	۰/۵۸
RM029	۹۹-۷۵	۵	۳/۹۸	۱/۴۸	۰/۸۲	۰/۷۵
OARFCB20	۱۳۳-۱۲۹	۴	۱/۹۲	۰/۷۲	۰/۴۵	۰/۴۸
RM148	۱۰۵-۱۰۱	۵	۲/۵۹	۱/۱۰	۰/۵۲	۰/۶۱
IDVGH64	۲۴۸-۲۴۲	۵	۲/۱۱	۰/۹۸	۰/۳۰	۰/۵۲
میانگین		۷/۲	۴/۰۳	۱/۵۱	۰/۶۸	۰/۷۲
انحراف معیار		۲۲/۵۴	۱/۲۳	۰/۳۴	۰/۱۸	۰/۰۹

این مطالعه از چند شکلی قابل قبولی برخوردار هستند. در پژوهش حاضر در خصوص شناسایی جایگاه های کنترل کننده صفات کمی برای خصوصیات رشد، یک QTL مجاور نشانگر BM1312 در ارتباط با نسبت کلیپر (KRB₁) در کروموزوم شماره یک بعد از آنالیز خانواده ای شناخته شد ($p < 0.05$) و دو QTL در مجاور نشانگرهای BMC1009 و RM029 و همچنین جایگاه ریزماهوره INRABEN172 که با وزن تولد مرتبط می باشد و بر روی کروموزوم های ۵ و ۲۶ (دامنه معنی دار کروموزوم $p < 0.01$) مستقر بودند، شناسایی شد. در دیگر کروموزوم های مورد مطالعه اثرات QTL معنی دار نبود (جدول ۳).

در پژوهش حاضر، آمار توصیفی شاخص های مولکولی نشان داد که تعداد آلل مشاهده شده در کل جایگاه های ریزماهوره بین ۴ تا ۱۴ و با میانگین ۷/۲ آلل مشاهده شد. شاخص اطلاعات شانن نشان داد که همه جایگاه های ریزماهوره که حاوی الگوهای آلی چند شکل هستند. ضمناً حداکثر و حداقل تعداد آلل مؤثر به ترتیب در جایگاه های McM512 (۶/۱۴) و OarfcB20 (۱/۹۲) به دست آمد. میانگین تعداد آلل مؤثر $4/03 \pm 1/23$ بود. میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده $0/68 \pm 0/18$ محاسبه گردید (جدول ۲).

شاخص شانن که معیاری برای شناسایی جایگاه ریزماهوره پلی مورف می باشد، نشان داد که کلیه نشانگرهای مورد استفاده در

جدول ۳. جایگاه های کنترل کننده صفات کمی معنی دار و نقشه یابی شده برای صفات رشد مورد مطالعه

شماره کروموزومی	۵	۶	۲۶	۱	۲۶
صفت	وزن تولد	شاخص کلیپر یک	وزن تولد	وزن از شیرگیری	وزن از شیرگیری
نشانگر مجاور	BMC1009- RM029	BM1312	INRABEN1 72	INRA11	INRABEN1 72
فاصله نقشه (سانتی مورگان)	۸	۱۰	۶	۷۲	۱۰
دامنه اطمینان (سانتی مورگان)	۱۲-۵۶/۵	۰/۱-۶۳	۱-۱۵	۱-۲۲۳	۰-۱۰
شاخص F	۱۰/۲۵	۹/۲۶	۳/۳۴	۸/۸۷	۴/۲۶
خانواده معنی دار	یک	یک	سه	سه	یک
سطح معنی داری	$p < 0.05$	$p < 0.05$	$p < 0.05$	$p < 0.05$	ns

در پژوهش حاضر، شناسایی QTL در ۵ کروموزوم (یک، دو، پنج، شش، بیست و شش) برای وزن های تولد، از شیرگیری، شش ماهگی، میانگین افزایش وزن روزانه، نسبت های کلیپر محاسبه شده برای دو دوره تولد تا سن از شیرگیری و از شیرگیری تا سن شش ماهگی مطالعه و تنها QTL مرتبط با وزن تولد، وزن از شیرگیری و شاخص کلیپر در کروموزوم های یک، پنج، شش و بیست و شش شناسایی شد. نتایج مطالعه حاضر با مطالعات پیشین همخوانی داشت (Raadsma و همکاران ۲۰۰۹)، به طوری که مطالعات

Walling و همکاران، ۲۰۰۴؛ Casas و همکاران ۲۰۰۳، در گوسفند برای صفات رشد را بر روی کروموزوم پنج گوسفند نشان دادند که نزدیک نشانگر BMC1009 و به علت نزدیکی به ژن IGF1 در واریانس صفات رشد همواره نقش دارد. شاید علت این رفتار داده ها در مجاور این ژن به دلیل نقش کلیدی این ژن کاندیدا بر روی مسیرهای متابولیکی و پیام های مولکولی مرتبط با رشد در داخل سلول باشد. Esmailzadeh و همکاران، ۲۰۱۰؛ جایگاه های کنترل کننده صفات کمی برای وزن تولد در گوسفند

آنها استفاده نمود. در واقع با شناسایی حیواناتی که دارای بهترین ترکیب ژنی هستند، به آنها اجازه‌ی تولیدمثل داده شده و به این ترتیب نسل بعد به‌طور میانگین ژن‌های مفید بیشتری نسبت به نسل قبل خواهد داشت و منجر به تغییر تدریجی در معدل یک صفت در نسل‌های آینده می‌شود. در پژوهش حاضر، چهار نر از بین نرهای زیاد استفاده شده در جفت‌گیری‌های گله، برای اکثر جایگاه‌ها ریزماهواره الگوی هتروزیگوتی نشان دادند و لذا نتایج آنها برای ادامه آنالیز مورد رکورد برداری صفات قرار گرفت.

کرمانی را مطالعه و گزارش کردند که کروموزوم یک و شش با وزن تولد ارتباط دارد. با توجه به همولوژی بالای کروموزوم‌های بز و گوسفند (Maddox و همکاران، ۲۰۰۷) و شناسایی جایگاه‌های مشترک میکروساتلایت در این دو گونه نتایج این دو مطالعه غیر محتمل به نظر نمی‌رسد. Mohammed Abadi و همکاران، ۲۰۰۹؛ در بزهای راینی مطالعه مشابهی را طراحی کردند و کروموزوم‌های ۵ و ۲۶ را مرتبط با کنترل صفات رشد در این نژاد دانستند و در آن مطالعه نیز میکروساتلایت BMC1009 به عنوان نشانگر مرتبط با حضور QTL معرفی گردید که مجدداً با مطالعه حاضر همخوانی داشت. بررسی پارامترهای رگرسیونی مرتبط با منحنی رشد در گوسفند بلوچی، نشان داد که کروموزوم یک با این صفات ارتباط دارد که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی داشت (ساقی و همکاران، ۱۳۹۱). Visser و همکاران، ۲۰۱۳؛ گزارش کردند که QTL مرتبط با وزن تولد در کروموزوم ۲۶ ممکن است به خاطر ژن SCD باشد. اخیراً مشخص شده است که SCD-1 یک هدف جانبی بزرگ از لپتین می‌باشد (Maddox و همکاران، ۲۰۰۷) و به‌عنوان یک کلید تنظیم‌کننده هموستازی و اشباع‌شدگی در نظر گرفته می‌شود. نتایج مطالعه Van der Werf و همکاران، ۲۰۰۷؛ بر روی QTL مرتبط با وزن تولد در یک گونه بز، با مطالعه حاضر همخوانی نداشت، یکی از توجیحات ممکن برای این تفاوت می‌تواند ناشی از ساختار جمعیتی متفاوت بین دو جمعیت مورد مطالعه باشد. از سوی دیگر جایگاه‌های میکروساتلایت در نژادهای مختلف معمولاً چندشکلی‌های متفاوتی را نشان می‌دهد که در آنالیزهای بعدی تأثیر گذار است و نتایج را تحت تأثیر قرار می‌دهد. تعداد خانواده‌های ناتنی و اندازه هر خانواده ناتنی و طرح آزمایشی مورد استفاده برای تجزیه QTL نیز از عوامل مهم دیگر است که ممکن است موجب ایجاد عدم همخوانی در دو مطالعه مشابه برای تجزیه و شناسایی QTL باشد. در مطالعات نقشه‌یابی جایگاه‌های کنترل‌کننده صفات کمی، در صورت شناسایی می‌توان از روش‌های نوین انتخاب ژنتیکی بر مبنای تفاوت‌های افراد در سطح DNA

نتیجه گیری

به طور کلی، وزن زنده حیوان در سنین مختلف یک معیار انتخابی خوب برای رشد در انواع نژادگوشی بز است. صفات رشد وراثت پذیری بالایی دارند و تفاوت های موجود در وزن تولد می تواند در آینده، وزن های آتی رشد و وزن کشتار را تحت تاثیر قرار دهد. در پژوهش، حاضر حداقل چهار QTL رایج برای وزن تولد (کروموزوم ۵ و ۲۶)، میزان کلیبر (کروموزوم ۵) گزارش شد. تا به امروز گزارش هایی در مورد QTL مرتبط با صفت رشد در بز بوئر منتشر نشده است. این نتایج تفکیک مکان های صفات کمی در بز بوئر را احتمالاً بتواند توجیه کند. داده های گزارش شده در اینجا فرصت را برای مطالعه عمیق یک بخش ژنومی ویژه در بز بوئر باز می کند و تغییر پذیری در صفات اقتصادی در بز های بوئر را مشخص می سازد.

سپاسگزاری

بدینوسیله از پرفسور دکتر مدوکس از دانشگاه آدلاید استرالیا و دکتر شیلر از اینرای فرانسه به جهت ارسال اطلاعات کلیدی در خصوص نقشه ژنتیکی بز و جایگاه های پلی مورف کمال سپاسگزاری را داریم. همچنین از پرفسور Knott طراحی اصلی نرم افزار GridQTL به جهت ارسال مثال های مختلف و تبیین درست تجزیه و تحلیل ها، کمال تشکر و قدردانی را داریم.

منابع

ساقی، د.ع.، اسلمی نژاد، ع.ا.، طهمورث پور، م.، نصیری، م.ر و داشاب، غ.ر. (۱۳۹۱). مکان یابی جایگاه های صفت کمی (QTL) موثر بر وزن بدن در بخشی از ژنوم گوسفند بلوچی. نشریه علوم دامی (پژوهش و سازندگی). دوره ۲۵،

صفحه ۵۷ - ۴۹.

- Beckman, J. S., and M. Soller. (1983). Restriction fragment length polymorphisms in genetic improvement-methodologies, mapping and costs. *Theoretical Applied Genetics*. 67:35-43
- Casas, E., Shackelford, S.D., Keele, J. W., Koochmaraie, M., Smith, T. P. L. and Stone, R.T. (2003). Detection of quantitative trait loci for growth and carcass composition in cattle. *Journal of Animal Science*. 81:2976-83 .
- Churchill, G. A. and Doerge, R.W. (1994). Empirical threshold values for quantitative trait mapping. *Genetics*, 138:963-971.
- Dekkers, J.C. M. (2004). Commercial application of marker- and gene assisted selection in livestock: strategies and lessons. *Journal Animal Science*. 82 (E Suppl.), E313-328.
- Dodds, K.G., McEwan, J.C. & Davis, G.H.(2007). Integration of molecular and quantitative information in sheep and goat industry breeding program. *Small Ruminant Research*. 70, 32-41.
- Ellegren, H. (2004). Microsatellites: Simple sequences with complex evolution. *National Review Genetics* 5(6): 435-45.
- Esmailizadeh, K. A., Mohammad Abadi, M R., Asadi Foozi, M.(2008). Mapping quantitative trait loci in livestock using simple linear regression. *Iranian Journal Animal Science*. 39, 83-93.
- Ezmailizadeh, A.K.(2010). A partial genome scan to identify quantitative trait loci affecting birth weight in Kermani sheep. *Small Ruminant Research*. 94, 73-78.
- FAO. (2007) Status of animal genetic resources. In: The state of the world's animal genetic resources for food and agriculture (Ed. by D. Pilling & B. Rischkowsky), pp. 23-49. FAO, Rome.

- Goldstein, D. B. and Pollock, D. D. (1997). Launching microsatellites: A review of mutation processes and methods of phylogenetic inference. *Journal of Heredity* 88: 335-342.
- Green, P., Falls, K. and Crooks, S. (1990). Documentation for CRI-MAP, version 2.4. *Washington University School of Medicine, St. Louis.*
- Kleiber, M. (1947). Body size and metabolic rate. *Physiology Review*. 27:511-541.
- Knott, S.A., Elsen, J.M. and Haley, C. S. (1996) Methods for multiple marker mapping of quantitative trait loci in half-sib populations. *Theoretical and Applied Genetics* 93, 71-80.
- Lander, E. and Kruglyak, L. (1995). Genetic dissection of complex traits: guidelines for interpreting and reporting linkage results. *Nature Genetics*, 11: 241-247 .
- Lander, E. S. and Botstein, D. (1989). Mapping Mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. *Genetics*, 121: 185-199.
- Maddox, J. and Cockett, N.(2007). An update on sheep and goat linkage maps and other genomic resources. *Small Ruminant Research*. 70, 4-20.
- Menezes, W.H.Sous, E.P.Cavalcanti-Filho, L.T.Gama.(2016). Genetic parameters for reproduction and growth traits in Boer goats in Brazil. *Small Ruminant Research* 136 (2016) 247-256
- Mohammedabadi, M. R., Askari N., Baghizadeh A. and Esmailzadeh, A. K. (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, 146-51.
- Raadsma, H., Thomson, P., Zenger, K., Cavanagh, C., Lam, M., Jonas, E., Jones, M., Attard, G., Palmer, D. and Nicholas, F.(2009). Mapping quantitative trait loci (QTL) in sheep. I. A new male framework linkage map and QTL for growth rate and body weight. *Genetic Selection and Evaluation*. 41, 34.
- Renaville, R., Gengler, N., Vrech, E., Prandi, A., Massart, S., Corradini, C., Bertozzi, C., F. Mortiaux, Burny, A. and Portetelle, D. (1997). Pit-1 gene polymorphism, milk yield, and conformation traits for Italian Holstein-Friesian bulls. *Journal of Dairy Science*. 80, 3431-3438.
- SAS. (2009). SAS, SAS/sat user's guide, release 9.1. *SAS Institute Inc., Cary, NC, USA*
- Vaiman 1996
- Vaiman, D., Schibler, L., Bourgeois, F., Oustry, A., Amigues, Y. and Cribeu E. P. (1996) A genetic linkage map of the male goat genome. *Genetics* 144, 279-305.
- Van der Werf, J. H.J., Marshall, K., . and Sanghong, L.(2007). Methods and experimental designs for detection of QTL in sheep and goats. *Small Ruminant Research*. 70, 21-31.
- Visser, C., Van Marle-Kster, E., Snyman, M.A., Bovenhuis, H. and Crooijmans, R.P.M.A. (2013) Quantitative trait loci associated with pre-weaning growth in South African Angora goats. *Small Ruminant Research* 112, 15-20.
- 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*. 82:2234-2245.
- Weller, J. I.(2009). Quantitative Trait Loci Analysis in Animals. CABI Publishing, London, UK;
- Yeh, F. C., Boyle, T. and Yang, R. (1999). Popgene version 1.31. Microsoft window based freeware for population genetic analysis. *University of Alberta Canada*.