

واگرایی ژنتیکی دو جمعیت نژاد بز گوشتی و شیرده:

بر پایه تحقیقات چند شکلی‌های نوکلئوتیدی موجود در ژن‌های کانیدها

- **آرش جوانمرد**
گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز.
- **نادر اسدزاده** (نویسنده مسئول)
عضو هیئت علمی موسسه تحقیقات علوم دامی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.
- **رضا توحیدی**
دانشکده کشاورزی و دامپروری تربت جام، مجتمع آموزش عالی و کشاورزی تربت جام، تربت جام.
- **رضا مسعودی**
عضو هیئت علمی موسسه تحقیقات علوم دامی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.

تاریخ دریافت: اردیبهشت ۱۳۹۸ تاریخ پذیرش: مرداد ۱۳۹۸

شماره تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۲۳۲۳۱۶۷۸

Email: naderasadzadeh4@gmail.com

شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/asj.2019.125931.1904

چکیده

واگرایی ژنتیکی، فرآیندی است که در طی آن، دو یا چند جمعیت از یک گونه با جد مشترک، در طول زمان از طریق سازکارهای تکاملی، همچون جدایی جغرافیایی، نوترکیبی مولکولی و جهش‌های مستقل، آلل‌های با فراوانی غیر مشابه در سطح ژنومشان، فاصله ژنتیکی پیدا می‌کنند. این پدیده را می‌توان، اساس بوجود آمدن دو نژاد متفاوت از لحاظ، تیپ تولیدی در یک گونه دانست. در این راستا، هدف پژوهش حاضر، بررسی مقایسه‌ای چند شکلی‌های موجود در شش ژن کانیدها برای تولید، در دو نژاد شاخص بز تیپ گوشتی و شیرده می‌باشد. بدین منظور، مجموعاً، تعداد ۳۰ عدد از هر نژاد بز شیری سانن و گوشتی بوئر، برای شناسایی چند شکلی‌ها در ناحیه ای از شش ژن کالپاستاتین، میوستاتین، هورمون شبه انسولین، لپتین، فاکتور نسخه پرداری اختصاصی هیپوفیزی و SCD با استفاده از تکنیک PCR-RFLP تعیین ژنوتیپ شدند. سپس، پارامترهای ژنتیکی مولکولی، با استفاده از نرم‌افزار POPGENE بین دو جمعیت محاسبه گردید. از آزمون کای اسکور، بر طبق جدول توافقی، برای آزمون معنی‌داری تفاوت‌های شاخص‌های مولکولی بین دو جمعیت استفاده شد. ضمناً، فراوانی آلل‌های مطلوب مرتبط با تولید در هر دو گروه تعیین گردید. نتایج مطالعه حاضر، نشان داد که ژنوم دو جمعیت مورد مطالعه در پروفایل آلل‌های شناسایی شده در بیشتر موارد تفاوت معنی‌داری دارد ($p < 0.01$). چنین مطالعات واکرایی ژن در خصوص ژن‌های بزرگ اثر مرتبط با صفات تولیدی شاید بتواند، بینش اصلاح گران را برای درک بیشتر و پرده برداری از سیمای توارث جهش‌ها و نقش آنها در واریانس فنوتیپی مشاهده شده در صفات اقتصادی را بالا ببرد.

واژه‌های کلیدی: واکرایی ژنتیکی، بز نژاد سانن و بوئر، ژن کانیدها، جهش مسبب.

Animal Science Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 128 pp: 69-82

Exploring genetic divergence between two superior meat and dairy type goat population: A candidate gene polymorphism based evidence.

By: A. Javanmard¹, N. Asadzadeh*², R. Tohidi³, R. Masoudi²

1- Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz

2- scientific board member of animal science research institute of IRAN, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO) Iran.

3- Education complex of agriculture and animal science of Torbat-e-Jam.

Received: May 2019

Accepted: August 2019

The genetic divergence could define as a mechanism which two or more breeds within the same species with a common ancestor could differently evolutionary separated in genome structure. Molecular genetics may provide proper tools for estimation of the level of diversity and mutational events on this breed over time. Accordingly, the main objective of the present report was to evaluate and compare the candidate gene polymorphisms for two meat and dairy type of goat breeds using candidate gene polymorphism approach. For this purpose, in overall, 30 goat individuals for two meat and dairy goat breed were chosen for genotyping of six candidate genes (Calpastatin, Myostatin, Insulin growth like hormone, Leptin, Pituitary-specific transcription factor and SCD genes using PCR-RFLP techniques. Molecular descriptive Statistics such as genotype and allele frequencies observed and expected heterozygosity, Minor allele frequency, and Hardy-Weinberg Equilibrium was calculated and compared using POPGENE software between populations. The Chi-square test was used for significant differences between the two populations for screened genes. The observed results interesting showed significant genotype and allele frequency pattern between the two studied breeds. Obtained outputs may insight to the understanding of Genetic divergence between well-known breeds due to domestication and artificial selection as well as geographical isolation.

Key words: Genetic divergence, candidate gene, goat, casual mutation.

مقدمه

مختص به یک ژن بزرگ اثر، منجر به ایجاد تفاوت معنی دار در سطح فنوتیپ می شود؟ یا وجود آلل های متفاوت در یک جایگاه ایفاگر تنوع فنوتیپی هستند که به هر حال پاسخ این سناریوهای تحقیقاتی از طریق انجام مطالعات ژنتیک مولکولی مقایسه ای بین دو جمعیت با فنوتیپ آستانه ای متفاوت، قابل رمزگشایی می باشد. مطالعه حاضر، دو نژاد شیری و گوشتی بز را هدف گذاری تحقیق خود قرار داده است. در خصوص نژاد سانن خاستگاه این نژاد از دره ای به همین نام در کشور سوئیس اخذ شده است. فنوتیپ سفید رنگ و در بعضی مواقع دارای لکه های رنگی در روی پوست گوش و پستان است. وزن در ماده ها در حدود ۶۰ کیلوگرم و در

واگرایی ژنتیکی، فرآیندی است که در طی آن، دو یا چند جمعیت از یک گونه با جد مشترک، در طول زمان از طریق سازکارهای تکاملی، همچون جدایی جغرافیایی، نوترکیبی مولکولی و جهش های مستقل، آلل هایی با فراوانی غیر مشابه، در سطح ژنومشان فاصله ژنتیکی پیدا می کنند. این پدیده را می توان، پایه و اساس بوجود آمدن دو نژاد متفاوت از لحاظ تیپ تولیدی در یک گونه دانست (پروتو و همکاران ۲۰۱۳). فناوری مکان یابی جایگاه های کنترل کننده صفات کمی در داخل یک نژاد و بین چند نژاد متفاوت، برای متخصصان ژنتیک ابزار مطالعاتی مناسبی را فراهم کرد که به این سوال پاسخ دهند که، آیا آلل مسبب

بردن بازدهی برنامه های اصلاح نژادی به خوبی مشخص شده است (Rothschild و Soller، ۱۹۹۷). یک ژن کانیدایا برای تولید در واقع ژنی است که موقعیت و محل استقرار کروموزومی آن و مکانیزم مولکولی و بیوشیمیایی آن در داخل سلول، پروتئین و نقش آن در مسیرهای هورمونی و پیام های داخل سلولی مشخص است و جهش های مسبب که در آن می تواند مستقیماً بر روی واریانس فنوتیپی صفت مؤثر باشد از افق های تحقیقاتی بسیاری از مقالات است (Fontanesi و همکاران، ۲۰۰۸).

در تحقیقات پیشین، ژن های کانیدایا متعددی برای توجیه واریانس صفات تولیدی، تولیدمثلی و باروری و مقاومت و حساسیت به بیماری های متداول شناسایی شده است که از آن میان، در پژوهش حاضر، بررسی مقایسه ای چند شکلی های موجود در شش ژن کانیدایا با تولید در دو نژاد شاخص برای تیپ گوهی و شیرده بز می باشد. بدین منظور، تعداد ۳۰ عدد از هر نژاد بز سانن و بوئر برای ناحیه ای از ژن های کالپاستاتین، میوستاتین، هورمون شبه انسولین، لپتین، فاکتور نسخه پرداری اختصاصی هیپوفیزی و SCD¹ با استفاده از تکنیک PCR-RFLP می باشد.

مواد و روش ها

در این مطالعه، نمونه های بز بوئر از طریق مکاتبات انجام شده با انجمن حمایت از این نژاد در امریکا از طریق ارسال نمونه های ریشه مو و فولیکول های موجود در آن به تعداد ۳۰ عدد از هر نژاد خالص (نر، ماده) دریافت شد. نمونه های خون بز سانن خالص و حاوی شجره (نر، ماده) از مزارع پرورش موجود در ایران جمع آوری گردید. پس از ثبت دقیق مشخصات، با استفاده از دستورالعمل پیشنهادی کیت های تجاری استخراج از ریشه مو و خون شرکت کیاژن آمریکا استخراج DNA صورت گرفت و با استفاده از دستگاه نانو دراپ شرکت اپندروف آلمان کمیت و کیفیت نمونه های استخراج شده اندازه گیری و ثبت گردید. جایگاه های مورد انتخاب برای تعیین ژنوتیپ، نام ژن و جزییات کامل در جدول ۱ نشان داده شده است.

نرها در حدود ۸۵ کیلوگرم است. سالیانه، در حدود ۲۰۰۰ کیلوگرم شیر تولید می کند. دوره شیردهی آن ۲۹۰ تا ۳۰۵ روز است و روزانه بین ۳ تا ۸ لیتر شیر می رسد. متوسط چربی شیر این نژاد، ۳/۶ درصد، پروتئین شیر ۳/۲ درصد و مواد جامد شیر ۱۲/۸ درصد می باشد (بیچارد ۱۹۸۹). اخیراً در ایران، پرورش نژاد سانن با استقبال مناسبی بین دامداران مواجه شده است و در نقاط مختلف پرورش داده می شود.

نژاد دوم نژاد بوئر است که کلمه بوئر از زبان هلندی به معنی "مزرعه دار" گرفته شده است. خاستگاه نژاد بوئر آفریقای جنوبی است. تیپ این نژاد گوهی می باشد و به داشتن خصوصیتی همچون، وزن بدن سنگین، سرعت رشد و کیفیت لاشه مطلوب، معروف است (Casey و Van Niekerk، ۱۹۸۸). همچنین، این نژاد به بسیاری از بیماری ها مقاوم و از باروری مناسبی برخوردار است، وزن بز ماده بالغ ۴۵-۶۵ کیلوگرم و روزانه ۳/۱ تا ۴/۱ کیلوگرم شیر تولید می کند (Sahlu و Goetsch، ۲۰۰۵). بز نر ۵۰-۷۰ کیلوگرم می باشد و بز بالغ ۱۱۰-۱۳۰ کیلوگرم هم می رسد.

در راستای مقایسه ساختار ژنتیکی این دو نژاد، ژنتیک مولکولی و ابزارهای موجود در آن می تواند در درک فرآیندهای تکاملی، انتخاب طبیعی و آزمون بازدهی برنامه های سنتز نژادی نقش آفرین باشد (Shrestha و Fahmy، ۲۰۰۵). در حال حاضر، تحقیقات گسترده ای در خصوص مکان یابی جایگاه های کنترل کننده صفات کمی و دیدگاه شناسایی چند شکلی های موجود در ژن های کانیدید و ارتباط آن با صفات اقتصادی وجود دارد (Cano و همکاران، ۲۰۰۷؛ Shu و همکاران، ۲۰۰۸). در واقع، وارد شدن اطلاعات نشانگرهای مولکولی در مدل های ارزیابی ژنتیکی دام های اهلی انقلاب نوینی را در ابداع روش های اصلاح نژادی مدرن ایجاد کرد. ارزیابی جایگزینی های تک نوکلئوتیدی در ژن های کانیدید و تأثیر آن بر روی صفات اقتصادی می تواند سر نخ هایی از پدیده اهلی شدن و نشانه های انتخاب در سطح ژنوم را برای محققان ایجاد کند (D'Andrea و همکاران، ۲۰۰۷). دستاوردهای معنی دار حاصل، از کاربرد اطلاعات ژنومی در بالا

¹ Stearoyl-CoA desaturase

جدول ۱- تعداد ۹ جایگاهها مورد انتخاب برای تعیین ژنوتیپ، نام ۶ ژن کاندیدای انتخابی و جزییات کامل تکثیر

منبع	پالیندروم	اندازه باند	دمای اتصال	منطقه ژنی	توالی آغازگرها	جایگاه
<i>et Lagonigro al. (2003)</i>	ATCGAT TAGCTA	۴۶۷	۶۰	اگزون دو	5-GATTCCGCGCACCTCTC-3 5-CCTGTCAAGGCTGCACAGCC-3	پبتین (۱)
<i>Liefers et al. (2002)</i>	GATC CTAG	۴۴۲	۵۵	اینترون دو	5- TGGAGTGGCTTGTGTTATTTTCTTCT- 3 5-GTCCCCGCTTCTGGCTAGGTAACT-3	پبتین (۲)
<i>et Buchanan al. (2003).</i>	TCCGGA AGGCCT	۹۴	۵۲	اگزون دو	5-ATGCGCTGGACCCCTGTATC-3 5-TGGTGTATCCTGGACCTTCC-3	پبتین (۳)
<i>Chung et al. (2001)</i>	GAANN CTNN	۱۵۵۴	۶۴	اگزون شش و هفت	5-AGCAGCCACCATCAGAGAAA-3 5-TCGGCTGGTTCGGCAGAT-3	کالپاستاتین
<i>et Di Stasio al. (2005)</i>	GGATG CCTAC	۱۲۴	۵۵	اگزون سه	5-CCAAATACTGCTCTGGAGGAT-3 5- GGAGACATCTTTGTAGGAGTACAGC- 3	مبوستاتین
<i>Yahyaoui (2003)</i>	GTAC CATG	۴۴۷	۶۳	اگزون پنج	5-AGTGTAGAAGGGACAGCCCAGC-3 5-GTGAATGACACATGGAGAGGG-3	SCD
<i>Lan, et al. (2007)</i>	CTAG GATC	۶۵۵	۶۰	اگزون دو	5-GAAATGGCAGTGAGTCGG-3 5-TGGGCTCTTGAGTAATGGTG-3	فاکتور شبه انسولین (۱)
<i>Lan, et al. (2007)</i>	GGCC CCGG	۳۵۰	۵۶	اگزون دو	5- CCAAGCGTGAGACAGAATAC-3 5-AGGAGGGATAGGAGCAAGTT-3	فاکتور شبه انسولین (۲)
<i>et Lagonigr al. (2003)</i>	AGCT TCGA	۴۵۰	۵۴	اگزون شش	5-CCATCATCTCCCTTCTT-3 5- AATGTACAATGTCCTTCTGAG-3	فاکتور اختصاصی نسخه برداری هیپوفیزی

بروماید (۱۰ mg/ml) و جهت مشاهده باندها از ژل آگارز ۱/۸٪ استفاده شد. پس از حصول اطمینان از تکثیر اختصاصی هر یک از جایگاههای مورد مطالعه و شارپی باندها، نبود باند کاذب و غلظت مناسب هر یک از نمونهها اقدام به هضم آنزیمی شد. بدین منظور، بسته به هر ژن آنزیم برشی مناسب بر طبق مقالات رفرنس جدول ۱ انتخاب شد و پس از تهیه واکنش هضمی و تأمین ۱۰ واحد آنزیم برای هر واکنش ۱۵ میکرولیتری برای انکوباسیون نمونهها همگی در دمای ۳۷ درجه به مدت حداقل ۱۶ ساعت تیمار شدند و برای انکوباسیون و جلوگیری از تبخیر نمونههای هضمی از دستگاه ترموسایکلر تنظیم شده روی تک چرخه ۳۷ درجه سانتی گراد استفاده شد. نمونههای هضمی پس از تیمار دمایی بسته به اندازه باندها در روی ژل آگارز ۳-۲ درصد بارگذاری شد. جزییات این هضم آنزیمی و نام آنزیمها در جدول شماره ۲ نمایش داده شده است.

غلظت نهایی مواد در ۲۵ میکرولیتر حجم واکنش PCR شامل: یک واحد آنزیم Taq Polymerase، ۲۰۰ میکرومول از هر یک از dNTP، ۲۰۰ میلی مول MgCl₂، ۲۰-۱۰ پیکامول از هر یک از آغازگرها، ۵۰-۱۰۰ نانوگرم DNA و بافر استاندارد بوده است. برنامه ترموسایکلر شامل سیکل پیش ران ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۳ دقیقه و متعاقباً سه چرخه داخلی برنامه شامل دمای واسرشت سازی ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت یک دقیقه، دمای اتصال آغازگر بر حسب هر ژن (طبق جدول یک) به مدت یک دقیقه و دمای تکثیر یا بسط ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت یک دقیقه (در ۳۵ چرخه دمایی) و یک سیکل بسط نهایی دیگر ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۷ دقیقه مد نظر قرار گرفت. پس از اتمام برنامه شرایط الکتروفورز بسط به اندازه باند معمولاً ولتاژ ۸۰ ولت به مدت متغیر ۲۰-۶۰ دقیقه (بسته به طول ژل و تانک) تعیین شد. رنگ آمیزی ژل با اتیدیوم

جدول ۲- جزییات هضم آنزیمی و نام آنزیم‌های متعلق به ۹ جایگاه‌های مورد انتخاب برای تعیین ژنوتیپ

جایگاه	پالیندروم	آنزیم	نوع جهش	محصولات هضم bp	منبع
لپتین (۱)	ATCGAT TAGCTA	<i>Clal</i>	A/T Tyrosine to Phenylalanine	215, 252(A) T 467	<i>et al. (2003) Lagonigro</i>
لپتین (۲)	GATC CTAG	<i>Sau3AI</i>	GAC=>GAT	303, 88 and 32(B) 390, 32(A)	<i>(2002) et al. Liefers</i>
لپتین (۳)	TCCGGA AGGCCT	<i>Kpn2I</i>	C/T Arginine to Cysteine	T 94 72, 19(C)	<i>Buchanan et al. (2003).</i>
کالپاستاتین	GAANN CTTNN	<i>XmnI</i>	گزارش نشده	B 1552 bp 960 and 592(A)	<i>Chung et al. (2001)</i>
میوستاتین	GGATG CCTAC	<i>BstF5I</i>	گزارش نشده	100,24(A) B 124	<i>et al. (2005) Di Stasio</i>
SCD	GTAC CATG	<i>RsaI</i>	G to T	349, 98(G) 238, 110, 98(T)	<i>Yahyaoui (2003)</i>
فاکتور شبه انسولین (۱)	CTAG GATC	<i>XspI</i>	G>A	421, 234(X1 X1 600	<i>et al. (2007) Lan</i>
فاکتور شبه انسولین (۲)	GGCC CCGG	<i>HaeIII</i>	C>G	264,44,8(H1 195,69,44,8(H2)	<i>Lan, et al. (2007)</i>
فاکتور اختصاصی نسخه برداری هیپوفیزی	AGCT TCGA	<i>AluI</i>	AGT>AGC Silent (Ser)	C (216, 124 and 110) T (340 and 110)	<i>et al. (2003) Lagonigr</i>

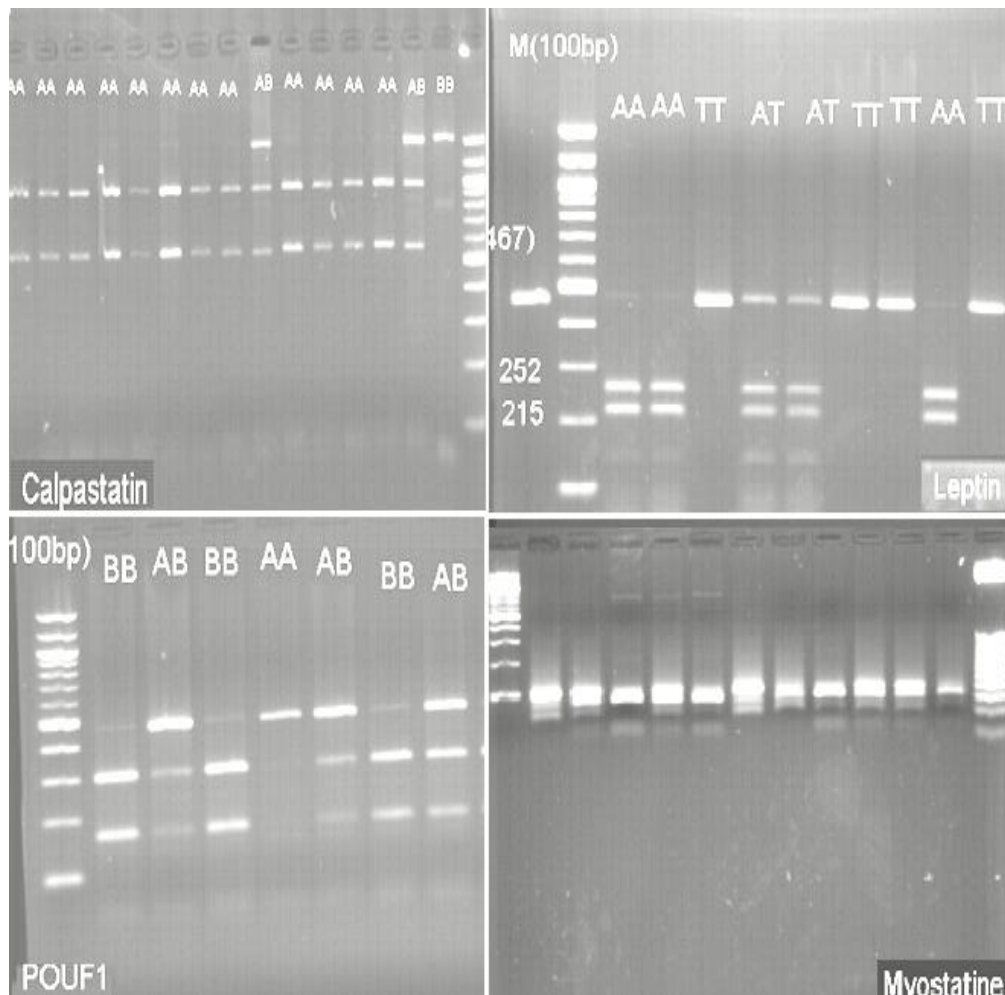
تجزیه و تحلیل آماری

پارامترهای مولکولی ژنتیک جمعیتی، همچون فراوانی ژنوتیپی، فراوانی آللی، هتروزیگوتی مشاهده شده و مورد انتظار، حداقل فراوانی آللی، آزمون تعادل هاری و اینبرگ با استفاده از نرم افزار POPGENE (ین و همکاران ۱۹۹۷). بین دو جمعیت محاسبه گردید. از آزمون کای اسکور بر طبق جدول توافقی برای آزمون معنی داری تفاوت‌های شاخص‌های مولکولی بین دو جمعیت استفاده شد. سپس آلل‌های مطلوب مرتبط با تولید در هر دو گروه تعیین گردید.

نتایج

در این مطالعه از دو دستورالعمل و کیت تجاری شرکت کیاژن برای استخراج DNA ژنومی از فولیکول‌های ریشه مو و خون

کامل استفاده شد. نتایج این دو دستورالعمل نشان داد که غلظت و کیفیت DNA ژنومی از ماده اولیه ریشه مو به طور معنی دار کمتر از استخراج از خون کامل می‌باشد، به طوری که در روش استخراج از ریشه مو 20 ± 80 نانوگرم DNA در برابر 30 ± 230 نانوگرم DNA از خون کامل می‌باشد. در خصوص تکثیر محصولات توسط واکنش زنجیره پلی‌مرز و با استفاده از آغازگرهای اختصاصی هر ژن کاندیدا پیشنهادی توسط مقالات کلیدی پیشین، همه واکنش‌ها تکثیر با اندازه باندی مطابق با مطالعات پیشین را نشان دادند و در تمام جایگاه‌ها این تطابق اندازه باندی مشاهده گردید.



شکل ۱- نمونه‌ای از چندشکلی‌های مشاهده شده در جمعیت بزهای مورد مطالعه

مورفیسیم و تنوع مناسبی مشاهده گردید. در جدول ۳ اندازه آللی مورد انتظار بعد از هضم به طور دقیق گزارش شده است.

محصولات حاصل از تکثیر در هر جایگاه و گروه ژنی با استفاده از آنزیم برشی مناسب و تحت شرایط بهینه مورد هضم قرار گرفت و در خصوص تمامی جایگاه‌ها بااستثنای فاکتور شبه انسولین (۲) پلی

جدول ۳- آمار توصیفی و شاخص‌های مولکولی مقایسه ای بین دو نژاد بز مورد

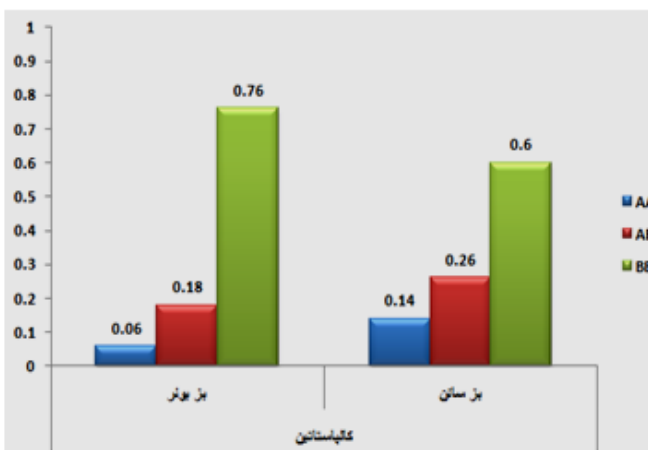
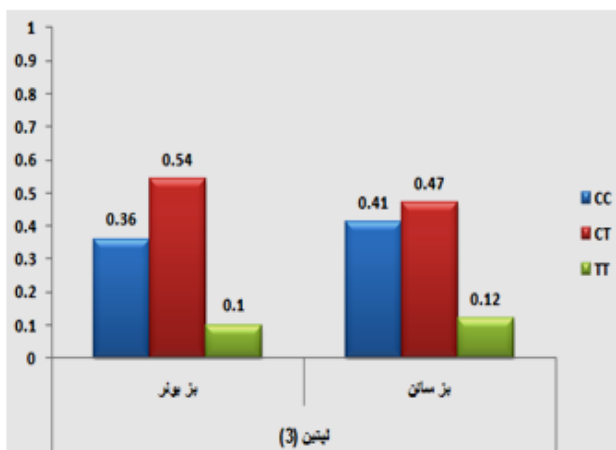
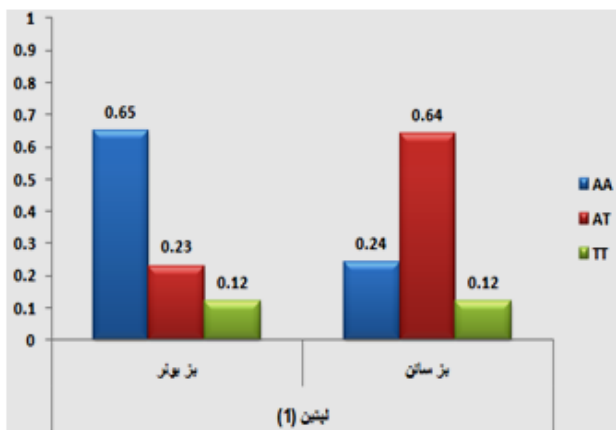
آزمون کای اسکور سطح معنی داری	هتروزیگوتی		فراوانی آللی		فراوانی ژنوتیپی			n=30 لیتین یک
	He	Ho	T	A	TT	AT	AA	
$p > 0.05$	0.37	0.24	0.24	0.76	0.12	0.23	0.65	بز بوئر
$p > 0.05$	0.51	0.65	0.44	0.56	0.12	0.64	0.24	بز سانن
	He	Ho	B	A	BB	AB	AA	لیتین دو
$p > 0.05$	0.45	0.56	0.66	0.34	0.38	0.56	0.06	بز بوئر
$p > 0.05$	0.35	0.28	0.22	0.78	0.08	0.28	0.64	بز سانن
	He	Ho	T	C	TT	CT	CC	لیتین سه
$p > 0.05$	0.47	0.54	0.37	0.63	0.10	0.54	0.36	بز بوئر
$p < 0.01$	0.47	0.47	0.35	0.65	0.12	0.47	0.41	بز سانن
	He	Ho	B	A	BB	AB	AA	کالیپاستاتین
$p < 0.05$	0.26	0.18	0.85	0.15	0.76	0.18	0.06	بز بوئر
$p < 0.01$	0.40	0.26	0.73	0.27	0.60	0.26	0.14	بز سانن
	He	Ho	B	A	BB	AB	AA	میوستاتین
$p < 0.01$	0.51	0.90	0.49	0.51	0.02	0.94	0.04	بز بوئر
$p < 0.05$	0.26	0.18	0.85	0.15	0.76	0.18	0.06	بز سانن

Ho: هتروزیگوتی مشاهده شده He: هتروزیگوتی مورد انتظار n: تعداد کل

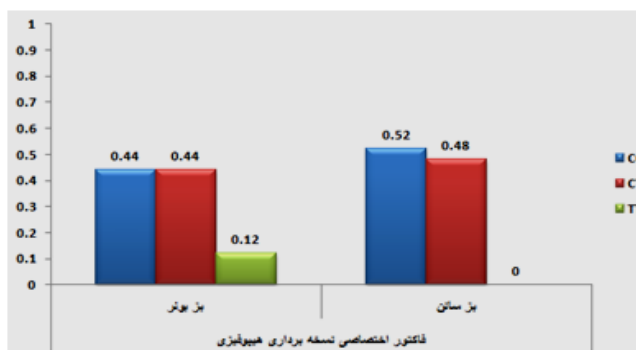
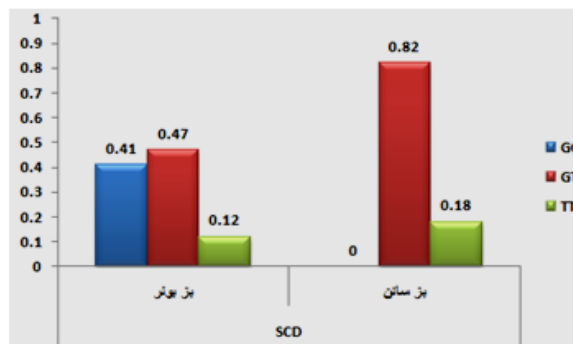
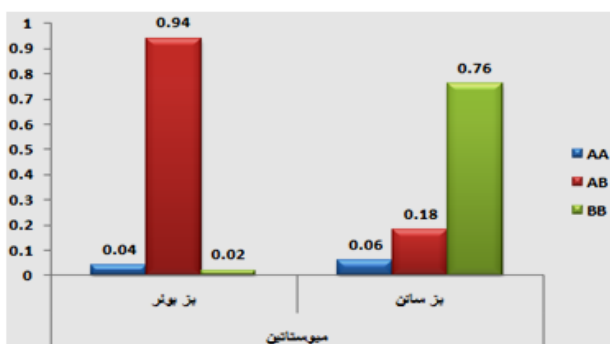
جدول ۳- (۱۵۱امه) آمار توصیفی و شاخص‌های مولکولی مقایسه‌ای بین دو نژاد بز مورد مطالعه

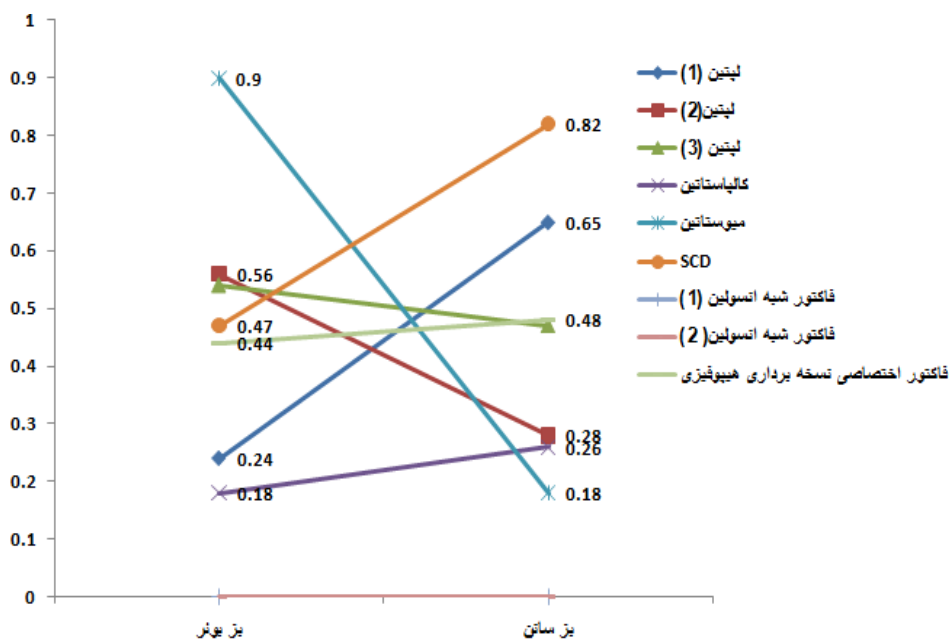
آزمون کای اسکور	هتروزیگوتی		فراوانی آلی		فراوانی ژنوتیپی			n=30 SCD
	He	Ho	T	G	TT	GT	GG	
$p < 0.01$	0.47	0.47	0.35	0.65	0.12	0.47	0.41	بز بوئر
$p < 0.01$	0.49	0.82	0.59	0.41	0.18	0.82	0.00	بز سانن
	He	Ho	X ₂	X ₁	X ₂ X ₂	X ₁ X ₂	X ₁ X ₁	فاکتور شبه انسولین (۱)
$p < 0.01$	0.00	0.00	1.00	0.00	1.00	0.00	0.00	بز بوئر
$p < 0.01$	0.00	0.00	1.00	0.00	1.00	0.00	0.00	بز سانن
	He	Ho	H ₂	H ₁	H ₂ H ₂	H ₁ H ₂	H ₁ H ₁	فاکتور شبه انسولین (۲)
$p < 0.01$	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	1.00	بز بوئر
$p < 0.01$	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	1.00	بز سانن
	He	Ho	T	C	TT	CT	CC	فاکتور اختصاصی نسخه برداری هیپوفیزی
$p > 0.05$	0.45	0.44	0.34	0.66	0.12	0.44	0.44	بز بوئر
$p < 0.05$	0.37	0.48	0.24	0.76	0.00	0.48	0.52	بز سانن

Ho: هتروزیگوتی مشاهده شده He: هتروزیگوتی مورد انتظار n: تعداد کل



شکل ۲- پروفایل فراوانی ژنوتیپی در زن‌های کاندیدای مقایسه شده در جمعیت بزهای مورد مطالعه





شکل ۳- فراوانی هتروزیگوتی مشاهده شده در ژن‌های کاندیدای مقایسه شده در جمعیت بزها

و حدود ۱۲ درصد نژادهای پستانداران را شامل می‌شود. هم اکنون، تعداد جمعیت بز در دنیا ۷۸۶ میلیون در قالب ۵۴۳ نژاد وجود دارد. این تنوع نژادی عظیم، در نتیجه انتخاب طبیعی برای شرایط محیطی بسیار گوناگون و سازگاری آسان بز نسبت به آن‌ها و انتخاب مصنوعی به وجود آمده است. دیدگاه شناسایی جهش‌های مسبب در ژنوم دام‌های اهلی یکی از ابزارهای مطالعاتی مناسب برای، ارزیابی فاصله ژنتیکی بین دو نژاد با تیب تولیدی کاملاً متمایز و شاخص می‌باشد.

در مطالعه حاضر پلی مورفیسم‌های موجود در ۹ جایگاه از ۶ ژن کاندید در دو نژاد بز بوئر و سانن بطور مقایسه‌ای تعیین ژنوتیب گردید و پروفایل شاخص‌های مولکولی با یکدیگر مقایسه گردید به هرحال الگوهای به تصویر کشیده موجود می‌تواند تغییرات ژنتیکی و جهش‌های رخ داده در طی پدیده‌های همچون اهلی شدن، انتخاب و جدایی جغرافیایی را بطور غیر مستقیم منعکس کند. از جمله ژن‌های کاندیدایی که سه جایگاه از آن در این مطالعه مورد بررسی قرار گرفت ژن کلیدی لپتین می‌باشد.

لپتین از واژه *Loptos* به معنی لاغری گرفته شده است (Lusk, ۲۰۰۷). یک هورمون پروتئینی است که اثرات عمده‌ای در تنظیم

مطابق شاخص‌های مولکولی محاسبه شده در جدول و شکل ۳ در بین دو نژاد مورد بررسی در ۶ ژن کاندیدا نتایج جالبی بدست آمد. بطوری که در بز سانن در جایگاه‌های مورد مطالعه لپتین دو، SCD و فاکتور اختصاصی نسخه برداری هیپوفیزی بطور معنی‌داری فراوانی آللی با بز بوئر متفاوت و این آلل‌ها با صفات تولید شیر ارتباط نشان داده بودند. علاوه بر این طبق همین الگو در نژاد گوشتی بوئر در ژن‌های لپتین یک، دو، کالپاستاتین و میوستاتین آلل مطلوب مرتبط با خصوصیات رشد و وزن تفاوت معنی‌داری را با رقیب بز سانن داشت ($p < 0.01$). در خصوص فراوانی هتروزیگوتی مشاهده شده (طبق شکل ۴) نیز پروفایل و آهنگ تغییرات بین دو نژاد تفاوت‌های فاحشی را نشان داد.

بحث و نتیجه‌گیری

فرآیند واگرایی به پدیده‌ای گفته می‌شود که دو نژاد کاملاً متمایز از لحاظ تیب تولیدی دارای جد مشترک یکسانی بوده اما عوامل متفاوتی ساختار ژنتیکی و ژنوم آنها را متمایز ساخته است. واگرایی ژنتیکی را می‌توان پایه و اساس وجود آمدن دو نژاد متفاوت، از لحاظ تیب تولیدی در یک گونه دانست. گونه بز یکی از دام‌های ارزشمند می‌باشد که تنوع نژادی در آن بسیار زیاد است

ضایعات متعاقب کشتار دارد (Kury و همکاران، ۲۰۰۳). بنابراین میزان و سرعت تردشدن گوشت تا حدود زیادی تحت تأثیر عملکرد آنزیم کالپاستاتین می‌باشد (Chung و همکاران، ۲۰۰۸). طی مطالعات انجام شده آلل B این ژن، نقش مهمی در رشد و ترددی و بازارپسندی گوشت دارد که نتایج مطالعه حاضر با مطالعات پیشین در خصوص بز بوئر که نژاد گوشتی است موافقت داشت (Schenkel و همکاران، ۲۰۰۶).

ژن‌های PIT1/IGF1 بعنوان یک فاکتور اختصاصی نسخه برداری در غده هیپوفیز شناسایی شده است. پروتئین کد شونده توسط این ژن میزان تظاهر ژن هورمون رشد و پرولاکتین را کنترل می‌کند. وجود چندشکلی در توالی این ژن احتمالاً در میزان و تعداد نسخه برداری ژن‌های هورمون رشد و پرولاکتین ضروری می‌باشد (Hossner و همکاران، ۱۹۹۷). بنابراین این ژن بعنوان ژن کاندیدا برای صفات مرتبط با رشد در گاوهای گوشتی شناخته شده است (Romagnolo و همکاران، ۱۹۹۲). ژن IGF1 ژن دیگری است که پروتئین حاصل از این ژن در تنظیم عمل هورمون رشد نقش عمده ای دارد. ژن IGF1، سوماتومدین C نام دارد که توسط کبد ساخته می‌شود و دارای ۷۰ اسید آمینه است. بسیاری از محققین نشان داده اند که عمل هورمون رشد از طریق واسطه‌گری پروتئین IGF1 عمل می‌کند (Maciulla و همکاران، ۱۹۹۷؛ Haegeman و همکاران، ۱۹۹۹؛ Sun، ۲۰۰۲).

Renavill و همکاران (۱۹۹۷) نشان دادند که آلل A از ژن PIT1 نقش قابل توجهی را در تولید شیر دارد، بطوری‌که گاوهای با ژنوتیپ AB حاوی مقادیر بالایی از شیر تولیدی نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها بودند (Parmentier و همکاران، ۱۹۹۹). Zwierzchowsk و همکاران (۲۰۰۲) گزارش کردند که گاوهای ماده حاوی ژنوتیپ AB از ژن PIT1 به میزان ۱.۳-۱.۶ کیلو گرم شیر بالاتری به ژنوتیپ‌های AA و BB تولید می‌کنند. ژن میواستاتین کنترل کننده هیپرتروفی ماهیچه^۲ میواستاتین نام دارد. پروتئین کد شونده توسط این ژن رشد ماهیچه‌های اسکلتی را باعث می‌شود اما جهش در این ژن باعث ایجاد رشد بیش از حد ماهیچه می‌شود فنوتیپ‌های حاصل از این جهش به صورت

وزن بدن، متابولیسم انرژی، بلوغ، سندرم چاقی، عملکرد تولیدمثلی، محورهای عصب - هورمونی، ایمنی در برابر بیماری و اشتها دارد که به طور عمده در سلول‌های چربی پستانداران ترشح می‌شود (Buchanan و همکاران، ۲۰۰۲؛ Fitzsimmons و همکاران، ۱۹۹۸). منبع اصلی ترشح لپتین سلول‌های آدیپوسیت بافت‌های چربی بخصوص آدیپوز سفید می‌باشد. این ژن دارای ۳ آگرون و ۲ اینترون می‌باشد و از لحاظ اصلاح نژاد برای بهبود و کیفیت گوشت، باروری، بازده مصرف خوراک و تولید شیر حائز اهمیت است. در مطالعه حاضر در هر سه جایگاه این ژن فراوانی ژنوتیپی و آللی متفاوت بین دو نژاد مورد مطالعه مشاهده گردید. Liefers و همکاران (۲۰۰۲) گزارش کردند که آلل B به طور معنی‌داری باعث افزایش تولید شیر و مصرف خوراک و کاهش بیلان منفی انرژی می‌گردد که نتایج مطالعه ما نیز بر بالا بودن این آلل مرتبط با تولید شیر در بز سانن دلالت داشت (Liefers و همکاران، ۲۰۰۲).

مجموعه پروتئین‌های کالپاین که در تجزیه ماهیچه و گوشت پس از ذبح، نقش کلیدی را بر عهده دارد یک مجموعه پروتئینی پروتئولیتیک و سیتوسولیک می‌باشد (Murachi، ۱۹۸۳). که وجود آن در همه سلول‌های عضلانی ثابت شده است. این سیستم شامل پروتئازهای طبیعی وابسته به کلسیم، می‌باشد (Takano و همکاران، ۲۰۰۰). که نقش اساسی در رشد ماهیچه و تردی گوشت ذبح شده دارند. کالپاین‌ها را عامل شروع کننده تجزیه ماهیچه‌های میوفیبریل، می‌دانند (Zhou و همکاران، ۲۰۰۷). بطور کلی آنزیم‌های کالپاین از طریق کنترل تجزیه میوفیبریل‌ها در طول حیات حیوان، رشد ماهیچه را تحت کنترل دارند و پس از کشتار، از طریق تجزیه کردن Z-Disk های موجود در ماهیچه اسکلتی و همچنین تضعیف پیوندهای موجود بین میوفیبریل‌ها، باعث تردی و بازارپسندی گوشت می‌شوند (Kapelański و همکاران، ۲۰۰۴). در این مقوله، آنزیم کالپاستاتین یکی دیگر از اعضای خانواده کالپاین‌ها با نقشی متفاوت تر از بقیه شناسایی شده است که به عنوان یک ممانعت کننده اختصاصی پروتئازهای وابسته به کلسیم عمل می‌کند و اخیراً نقش آن در رشد و لاغری و میزان

² Double Muscling

در جمع‌بندی نتایج تحقیق حاضر بطور کلی نتایج مطالعه حاضر به روشنی نشان داد که ژنوم دو جمعیت مورد مطالعه در پروفایل آلل‌های شناسایی شده در بیشتر موارد تفاوت معنی‌داری دارد ($p < 0.01$). در جدول شماره ۴ خلاصه و جمع‌بندی مطالعات پیشین مشابه در گونه‌های مختلف و مقایسه آن با نتایج کلیدی در مطالعه حاضر به نمایش گذاشته شده است. در هر حال علت تفاوت در برخی نتایج مطالعه حاضر با مطالعات مشابه پیشین را می‌توان به تفاوت در ماده آزمایشی متفاوت، ساختار ژنتیکی متفاوت، ناحیه ژنی مورد بررسی متفاوت و آغازگرهای غیر یکسان با این مطالعه دانست و همچنین ممکن است آنزیم برشی مورد استفاده برای تعیین چندشکلی و تکنیک شناسایی جهش‌ها در مطالعات پیشین با مطالعه حاضر متفاوت بوده باشد.

اندام‌های خلفی گرد و برجسته، سر کوچک، زبان بزرگ، دستگاه تناسلی نابالغ و افزایش حساسیت در مقابل بیماری‌های تنفسی و عضلات مضاعف می‌باشد (Yeh و همکاران ۱۹۹۷).

ژن استریول کو آنزیم آدسچوراز عامل موثر بر بیوسنتز اسیدهای چرب با یک پیوند دو گانه^۳ است که در وجود آوردن یک پیوند دو گانه سیس (CIS) بین کربن ۹ و ۴۳ در یک طیف وسیعی از اسیدهای چرب اشباع^۴ شده با اولویت اسیداستتاریک C18 و اسید پالمیتیک C16 نقش کلیدی دارد (Yahyaoui, ۲۰۰۳).

آنزیم دلتا ۹ دسچوراز نقش مهمی در سوخت و ساز چربی و نگهداری خاصیت سیالیت غشاء، بر اساس اهمیت فیزیولوژیکی نسبت بین اسیدهای چرب اشباع و غیر اشباع را دارد (Yahyaoui, ۲۰۰۳). تغییرات در این نسبت در انواع اختلالات سیستم ایمنی نقش دارد. رونویسی این ژن با بیان بالا در بافت چربی، کبد و غده پستانی حیوانات شیرده نشخوارکننده انجام می‌شود. استرول کوآنزیم آدسچوراز یک آنزیم حیاتی در تبدیل اسیدهای چرب اشباع به اسیدهای چرب غیر اشباع با یک پیوند دو گانه و نیز سنتز لینولئیک اسید کونژوگه (CLA) می‌باشد. یکی از اسیدهای چربی که آنزیم Δ^9 - دسچوراز بر آن اثر می‌کند، واکسینیک (c18:1 trans-11) است که به سیس-۹-ترانس-۱۱ (CLA) موجود در شکمبه تبدیل می‌شود. بیشترین اسید لینولئیک مزدوج^۵ ساخته شده در غده پستانی حیوانات نشخوارکننده، توسط این آنزیم سنتز می‌شود. ایزومر عمده اسید لینولئیک مزدوج در شیر نشخوارکنندگان سیس-۹-ترانس-۱۱ CLA (رومینیک اسید) است که از اسید واکسینیک (c18:1 trans-11) توسط به وسیله دسچوراز Δ^9 در بافت‌ها سنتز می‌گردد. این ژن دارای ساختاری با شش اگزون و پنج اینترون می‌باشد (Yahyaoui, ۲۰۰۳).

³ Mufa: Mono unsaturated fatty acid

⁴ SFA: saturated fatty acid

⁵ CLA: Conjugated linoleic acid

جدول ۴- جمع بندی مطالعات پیشین مشابه در گونه‌های مختلف و مقایسه آن با نتایج کلیدی در مطالعه حاضر

منبع	نتایج مطالعه حاضر	ارتباط با صفت	گونه مطالعه شده	آلل مطلوب	جایگاه
<i>et al. Lagonigro</i> (2003)	غیر معنی دار	مصرف خوراک	گاو های کره جنوبی	T	لپتین (۱)
<i>et al. Liefers</i> (2002)	در بز سانن فراوانی بالا	تولید شیر	گاوهای هلشتاین	B	لپتین (۲)
<i>Buchanan et al.</i> (2003).	در بز بوئر فراوانی بالا	مصرف خوراک	گاو گوشتی	C/T	لپتین (۳)
<i>Chung et al.</i> (2001)	در بز بوئر فراوانی بالا	تردی گوشت	گاو گوشتی	B	کالپاستاتین
<i>et al. Di Stasio</i> (2005)	در بز بوئر فراوانی بالا	وزن زنده	بز	A/B	میوستاتین
<i>Yahyaoui</i> (2003)	در بز سانن فراوانی بالا	صفات شیر	بز	T	SCD
<i>et al. Lan</i> (2007)	مونومورف	چند قلو زایی	بز	X ₁	فاکتور شبه انسولین (۱)
<i>Lan, et al.</i> (2007)	مونومورف	چند قلو زایی	بز	H ₁	فاکتور شبه انسولین (۲)
<i>et al. Lagonigr</i> (2003)	در بز بوئر فراوانی بالا	صفات رشد	بز	T	فاکتور اختصاصی نسخه برداری هیپوفیزی

هزینه‌های پست تشکر و قدردانی می‌کنیم.

منابع

- Buchanan, F. C and Van Kessel, A. G. (2003). Hot Topic: An Association between a Leptin Single Nucleotide Polymorphism and Milk and Protein Yield. *J. Dairy Sci.* 86(10): 3164-3166.
- Buchanan, F. C., Fitzsimmons, C. J., Van Kessel, A.G., Thue, T. D., Winkelman-Sim, D.C and Schmutz. S. M. (2002). Association of a Missense Mutation in the Bovine Leptin Gene with Carcass Fat Content and Leptin mRNA Levels. *Genetic. Selec. Evol.* 34(1): 105-116.
- Cano, E. M., Marrube, G. *et al.* (2007). QTL affecting fleece traits in Angora goats. *Small Rumin. Res.* 71 (1-3): 158.
- Casey N. H. and Van Niekerk. W. A. (1988). the Boer Goat (I). Origin, Adaptability, Performance Testing, Reproduction and Milk Production. *Small Rumin. Res.* 1:291-302.
- Chung, E. R., Shin, S. C., Shin, K. H and Chun, K. Y. (2008). SNP Discovery in the Leptin Promoter Gene and Association with Meat Quality and Carcass Traits in Korean Cattle. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 21: 1689-1695.

از لحاظ اعتبار سنجی و اندازه و حجم نمونه‌ها با توجه به اینکه نشانگر PCR-RFLP یک نشانگر هم‌بارز با بروز دو آلل می‌باشد به نظر می‌رسد تعداد ۳۰ عدد نمونه از هر نژاد غیر محتمل نباشد. با این حال نگارندگان باور دارند که استفاده از روش‌های نوینی همچون پویش کل ژنوم برای استفاده از اسنیپ چیپ و توالی یابی نسل جدید در صورت تأمین هزینه‌های سنگین می‌تواند تکرارپذیری ادعاهای این پژوهش را به داوری مجدد بگذارد. چنین مطالعات و اگرایی ژن در خصوص ژن های بزرگ اثر مرتبط با صفات تولیدی شاید بتواند بینش اصلاح‌گران را برای درک بیشتر و پرده برداری از سیمای توارث جهش‌ها و نقش آنها در واریانس فنوتیپی مشاهده شده در صفات اقتصادی را بالا ببرد.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از انجمن حمایت از بز نژاد بوئر جهت سازماندهی و اطلاع‌رسانی فراخوان جهت ارسال نمونه به آزمایشگاه و تأمین

- Chung, H. Y., Davis, M. E and Hines, H. C. (2001). Genetic Variants Detected by PCR-RFLP in Intron 6 of the Bovine Calpastatin Gene. *Anim. Genet.* 32(1): 53-53.
- Di Stasio, L. A. R. (2005). A PCR-RFLP Method for Genotyping the Myostatin Locus in Piemontese Cattle. *Anim Genet.* 36(6): 521-521.
- Fontanesi L, Tazzoli M., Scotti, E and Russo V. (2008). Analysis Of Candidate Genes for Meat Production Traits in Domestic Rabbit Breeds. 9th World Rabbit Congress – June 10-13, 2008 – Verona – Italy.
- Haegeman A., Van Zeveren A and Peelman L. J. (1999). A New Mutation in the Bovine Insulin like Growth Factor Binding Protein-3. *Anim. Genet.*, 30: 382.
- Hossner, K. L., Mccusker R. H and Dodson, M. V. (1997). Insulin-Like Growth Factors and their Binding Proteins in Domestic Animals. *Anim. Sci.*, 64: 1-15.
- Kapelański W., Grajewska, S., Kurył, J., Bocian, M., Jankowiak, H and Wiśniewska, J. (2004). Calpastatin (CAST) Gene Polymorphism and Selected Meat Quality Traits in Pigs. *Animal Science Paper Report* 22(4), 435-441.
- Kury J., Kapelański, W., Pierzchała, M., Grajewska, S and Bocian, M. (2003). Preliminary Observations on the Effect of Calpastatin Gene (CAST) Polymorphism on Carcass traits in Pigs. *Animal Science Paper Report* 21(2), 87-95.
- Lagonigro, R., Wiener, P., Pilla, F., Woolliams, J. A and Martin, J. L. (2003). A New Mutation in the Coding Region of the Bovine Leptin Gene Associated with Feed Intake. *Anim. Genet.* 34:371-374.
- Lan, X. Y., Pan, C. Y., Chen, H., Zhao, M., Li, J. Y., Yu, J., Zhang, C. L., Lei, C. Z., Hua, L. S and Yang, X. B. (2007). The novel SNPs of the IGFBP3 Gene and their Associations with Litter Size and Weight Traits in Goat (Brief report). *Arch. Tierz.* 50, 223-224.
- Lan, X. Y., Pan, C. Y and *et al.* (2007). An AluI PCR-RFLP Detecting a Silent Allele at the Goat POU1F1 locus and its Association with Production Traits. *Small Rumin. Res.* 73(1-3): 8-15.
- Lan, X. Y., Pan, C. Y and *et al.* (2007). The HaeIII and XspI PCR-RFLPs Detecting Polymorphisms at the Goat IGFBP-3 Locus. *Small Rumin. Res.* (1-3): 283-288.
- Liefers, S.C., Veerkamp, R. F and Vander lene T. (2002) Association Between Leptin gene Polymorphism and Production, Live Weight Energy Balance, Feed intake and Fertility in Holstein Heifers. *J. Dairy Sci.* 85: 1633-1638.
- Lin, C., Lin, S.C., Chang, C. P and Rosenfeld, M. G. (1992). Pit-1-dependent Releasing Factor Mediates Pituitary Cell Growth. *Nature*, 360:765-768.
- Lusk, J. L. (2007). Association of Single Nucleotide Polymorphisms in the Leptin Gene with Body Weight and Backfat Growth Curve Parameters for Beef Cattle. *J. Anim Sci.* 85(8): 1865-1872.
- Maciulla, J.H., Zhang, H.M and DeNise, S.K. (1997) A Novel Polymorphism in the Bovine Insulin-Like Growth Factor Binding Protein-3 (IGFBP-3) gene. *Anim. Genet.*, 28, 375.
- Parmentier, I., Portelle, D., Gengler, N., Prandai, A., Bertozzi, C., Vleurick, L., Gilson, R and Riller, R. (1999). Candidate Gene Markers Associated with Somatotropic axis and Milk Selection. *Dom. Anim. Endo.* 17:139-148.
- Murachi, T. (1983). Calpain and calpastatin. *Trends Biochem. Sci.* 8, 167-169.
- Rothschild, M.F and Soller, M. (1997). Candidate Gene Analysis to Detect Traits of Economic Importance in Domestic Livestock. *Probe*, 8, 13-22.
- Sahlu, T and Goetsch, A. L. (2005). A foresight on goat research. *Small Rumin. Res* 60(1-2): 7.
- Schenkel, F.s., Miller, Sp., Jiang, Z., Mandell, Bi., Ye, X., Li, H and Wilton, Wj. (2006). Association of a Single Nucleotide Polymorphism in the Calpastatin Gene with Carcass and Meat Quality Traits of Beef cattle. *J. Anim. Sc.* 84:291-299.
- Shrestha, J. N. B and Fahmy, M. H. (2005). Breeding goats for meat production: A Review: 1. Genetic Resources, Management and Breed Evaluation. *Small Rumin. Res* 58(2): 93.
- Takano, J., Watanabe, M and *et al.* (2000). Four Types of Calpastatin Isoforms with Distinct Amino-Terminal Sequences Are Specified by Alternative First Exons and Differentially Expressed in Mouse Tissues. *J Biochem* 128(1): 83-92.
- Van Niekerk, W.A and Casey, N. H. (1988). Growth, Nutrient Requirements, Carcass and Meat Quality. *Small Ruminant Res.* 1: pp. 355-368.
- Yahyaoui, M. H. (2003). Mapping of the Goat Stearoyl Coenzyme A Desaturase Gene to Chromosome 26. *Anim. Genet.* 34(6): 474-475.
- Yeh FC, Yang RC, Boyle T (1997) *POPGENE* version 1.31, the user-friendly shareware for population genetic analysis. Molecular Biology and Biotechnology Center, University of Alberta, Edmonton, Canada.
- Zhou, H., Hickford, J. G. H and *et al.* (2007). Polymorphism of the Ovine Calpastatin Gene. *Molecular and Cellular Probes* 21(3): 242.