



ارتباط بین حد آستانه‌ای و اندازه موتیف نشانگرهای ریزماهوره با صفات رشد و شاخص نسبت کلیبر در بزهای تجاری

آرش جوانمرد^{۱*}، لیلا علی طالبش^۲، محمد حسین مرادی^۳، زهرا عزیزی^۱، علی اسماعیلی زاده کشکویه^۴

استادیار و دانشجوی دکتری ژنتیک و اصلاح نژاد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.
فارغ التحصیل کارشناسی ارشد ژنتیک و اصلاح نژاد، مجتمع کشاورزی و منابع طبیعی پردیس ابوریحان دانشگاه تهران، ایران.
^۳ استادیار ژنتیک و اصلاح نژاد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه اراک، اراک، ایران.
^۴ دانشیار ژنتیک و اصلاح نژاد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۰۴/۲۵، تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۹/۱۳

چکیده

تعیین ژنوتیپ جایگاه‌های ریزماهوره‌ای همیشه با ریسک بروز خطا همراه است، که می‌تواند به‌طور معنی‌داری کلیه نتایج حاصل از آنرا تحت‌تأثیر قرار دهد. یکی از راهکارهای جدید برای حل این مشکل، استفاده از سامانه گروه‌بندی جدید ژنوتیپی براساس ماهیت توالی موتیف و دامنه آللهای مشاهده شده به جای قرائت ژنوتیپ انفرادی هر جایگاه می‌باشد. در این راستا، هدف از مطالعه حاضر ارزیابی ارتباط بین سه گروه بندی جدید ژنوتیپی هموزیگوت برای آللهای کوتاه، هموزیگوت برای آللهای بلند و هتروزیگوت برای ترکیب آللهای کوتاه و بلند برای تعداد کل ۱۳ جایگاه ریزماهوره با صفات رشد و شاخص نسبت کلیبر در بزهای تجاری بوئر بود. پس از تصحیح اثرات ثابت، نتایج مطالعه حاضر نشان داد که گروه ژنوتیپی هتروزیگوت در جایگاههای TEXAN006 و CSSM32 تأثیر معنی‌داری بر روی صفت وزن تولد بزغاله‌ها دارند ($P < 0.05$). همچنین افراد متعلق به گروه هموزیگوت برای آللهای بلند در جایگاه BMC1009 به طور معنی‌دار دارای وزن از شیرگیری بالاتری در مقایسه با دیگر گروه‌های ژنوتیپی بودند ($P < 0.05$). علاوه بر این ارتباط معنی‌داری در جایگاه‌های ریزماهوره‌ای BM4307، BM4621 و UWCA46 با صفت افزایش وزن روزانه مشاهده گردید ($P < 0.05$). در مجموع نتایج مطالعه حاضر نشان داد، که دیدگاه گروه‌بندی جدید آللهای مشاهده شده در جایگاه ریزماهوره بر مبنای تغییر طول موتیف می‌تواند خطاهای تعیین ژنوتیپ ناشی از وجود باندهای کاذب در سیستم تعیین ژنوتیپ انفرادی را حداقل نماید و شانس بالاتری را برای مشاهده همبستگی بین این جایگاهها و صفات اقتصادی مورد ارزیابی ایجاد کند.

کلمات کلیدی: نشانگرهای ریزماهوره، خطای تعیین ژنوتیپ، طول موتیف، صفات رشد

نوکلئوتیدی نیست و ثانیاً وجود الگوهای باندی کاذب حتی با به کارگیری روشهای پیشرفته الکتروفورز نیز قابل اجتناب نمی‌باشد. بنابراین قرائت ژنوتیپ نادرست، امکان اجرای برنامه اصلاح مولکولی موثر و با صحت بالا را غیر محتمل می‌کند. یکی از راهکارهای اخیر برای غلبه بر این تنگنا، استفاده از سیستم گروه‌بندی جدید ژنوتیپهای مشاهده شده بر اساس ماهیت و طول موتیف ریزماهواره و انسب ژنوتیپ مشاهده شده افراد به جای ژنوتیپ انفرادی افراد می‌باشد. بطوریکه ژنوتیپهای هرجایگاه بر اساس اندازه آلل به صورت گروه هموزیگوت برای آللهای کوتاه، گروه هموزیگوت برای آللهای بلند و گروه هتروزیگوت برای آللهای کوتاه و بلند گروه‌بندی می‌شوند.

ریزماهواره‌ها اغلب، در مناطق آغازین رونویسی متمرکز هستند که خود به خود نقش بالقوه آنها را در تنظیم ژن پیشنهاد می‌کند. براساس یافته‌های اخیر در ژنتیک انسانی، ارتباط بین ریزماهواره‌ها و صفات فنوتیپی نه تنها به یک آلل ویژه بلکه به حد آستانه‌ای و اندازه موتیف تکراری نیز وابسته می‌باشد. به عنوان مثال کاهش فراینده در نسبت‌های رونویسی یک ژن به وسیله افزایش تدریجی در تعداد تکرار از ۱۶ به ۲۰ برای یک ریزماهواره CA در اینترون ۱ از ژن گیرنده فاکتور رشد اپیدرمی^۲ در انسان گزارش شده است

بز تجاری نژاد بوئر^۱ به علت رشد سریع، کیفیت عالی گوشت، مقاومت در مقابل بیماریها، توان باروری بالای غیرفصلی و درصد بزغاله‌زایی بالا به عنوان یک نژاد معروف گوشتی در دنیا شناخته می‌شود (Malan, Greyling, 2000). منشأ پیدایش این نژاد آفریقایی جنوبی می‌باشد که بعدها به آمریکا، استرالیا، چین، آرژانتین و مالزی آورده شده و جمعیت آن به سرعت افزایش یافته است. در این نژاد، پیشرفت ژنتیکی حاصل از انتخاب فنوتیپی برای صفات رشد به دلیل اندازه گیری آسان و وراثت‌پذیری متوسط به بالا، به میزان زیادی مؤثر بوده است (Naude and Hofmeyr, 1981).

در دهه‌های گذشته، نشانگرهای ریزماهواره به دلیل چند شکلی بالا، به عنوان یک ابزار سودمند و کارآمد در انتخاب و بررسی تنوع ژنتیکی حیوانات اهلی مورد استفاده قرار گرفته‌اند (Estoup and Angers, 1998). در مطالعات متعدد و گزارشات موجود، ارتباط نشانگرهای ریزماهواره با صفات رشد، در گونه‌های اهلی مختلف به خوبی مورد بررسی قرار گرفته است اما از چالشهای مورد بحث و معایب ذکر شده، احتمال بروز خطای تعیین ژنوتیپ در نشانگرهای ریزماهواره می‌باشد زیرا اولاً، بنا به ماهیت این جایگاهها عملاً تفاوت توالی نوکلئوتیدی در ژنوم دو فرد معمولاً بیش از چند باز

² Epidermal Growth Factor Receptor

¹ Boer

رشد کم در گاوهای پرواری آنگوس^۳ ممکن است مستقیماً به طول کوتاه این تکرار واقع در پروموتور ژن گیرنده هورمون رشد مرتبط باشد در پژوهشی Weller (2008) با مطالعه ریزماهواره‌های موثر بر میزان رونویسی نشان دادند که چند شکلی-های طول ریز ماهواره یک ابزار مهم کنترل کننده تنوع صفات کمی است که اصلاحگران را در تدوین برنامه های اصلاحی کمک می کند.

در راستای بررسی این فرضیه، هدف مطالعه حاضر تعیین ژنوتیپ مجموع ۱۳ نشانگر ریزماهواره مختص ژنوم بز با استفاده از سیستم گروه بندی ژنوتیپی و سپس ارزیابی ارتباط آنها با صفات وزن بدن، افزایش رشد روزانه و در نهایت شاخص کلیر^۴ در بزهای تجاری نژاد بوئر بود.

مواد و روش ها

در این مطالعه، داده ها بطور تصادفی از ۱۲۲ رأس بز نژاد تجاری بوئر (نر و ماده) استرالیایی از بین گله های مختلف (۱۰۰۰-۳۰۰ رأسی) جمع-آوری گردید. بزهای ماده در این مطالعه، برای یک بار بزغاله زایی در سال، مدیریت و به طور کنترل شده با نرها جفت گیری می کردند. در شروع زمان پرورش، ماده ها وزن شدند و به طور تصادفی برای هر بز نر، بسته به سن، ۲۵ تا ۴۰ ماده اختصاص داده شد. صفات رکوردگیری شده شامل وزن تولد، وزن از شیرگیری، وزن شش ماهگی، میانگین افزایش

(Gebhardt et al., 1999). همچنین با افزایش تدریجی در تعداد تکرار نوکلئوتیدی از صفر به ۲۱ برای ریزماهواره CA در ناحیه آغازگر ژن متالو پروتئیناز ۹ ماتریکس انسانی میزان و سرعت رونویسی افزایش می یابد (Shimajiri et al., 1999). در تحقیقی دیگر نشان داده شد در ژن آلدوردوکتاز، تغییر در تعداد تکرار (CA)_n ریزماهواره مستقر در منطقه پایین دست آغازگر با بروز بیماریهای دیابت و رتینوپاتی در ارتباط است و در ژن α گیرنده استروژن، تغییر در تعداد تکرار ریزماهواره (TA)_n با تغییرات در تراکم مواد معدنی استخوانی و استخوان سازی مرتبط می باشد (Hayashi et al. 2007).

در تحقیقاتی مشابه در گاوهای گوشتی کوتوله، تیم تحقیقاتی Lucy et al. (1998) نشان دادند که تعداد تکرار نوکلئوتیدی ریزماهواره GT مستقر در ناحیه آغازگر ژن گیرنده هورمون رشد GHR در گاوهای بوس ایندیکوس^۱ به صورت تکرارهای ۱۱ جفت بازی و در گاوهای بوس-تاروس^۲ معمولاً یک تکرار ۲۰-۱۶ جفت بازی را شامل می شود. این نتایج نشان می داد که آلل کوتاه ریزماهواره مشاهده شده با وزن از شیرگیری پایین و وزن لاشه ارتباط معنی داری دارند (Hale et al., 2000). این رویکرد دلیلی بر وجود ارتباط منفی صفت رشد با آلل کوتاه در ریزماهواره GT است و

³ Angus

⁴ Keliber index

¹ Bos indicus

² Bos taurus

که اجزا این فرمول AWW وزن از شیرگیری تصحیح شده و BW وزن تولد می‌باشد.

شاخص کلیبر طبق فرمول زیر محاسبه می‌شود:

$$ADG/W^{0.75}$$

که در فرمول فوق ADG متوسط افزایش وزن روزانه است که در واحد g/day بیان می‌شود، W وزن بدن در واحد کیلوگرم و $W^{0.75}$ حجم متابولیک می‌باشد.

استخراج DNA از خون کامل با استفاده از کیت تجاری QIAGEN انجام شد. خلوص DNA استخراج شده به وسیله نسبت‌های ۲۶۰/۲۸۰nm با فتویومتری^۱ شرکت اپندورف تعیین شد. فناوری واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) چندگانه با استفاده از WELLRED dye (شرکت بکمن) انجام شد و برای الکتروفورز محصولات PCR از دستگاه توالی‌یاب شرکت بکمن آمریکا CEQ8000 استفاده گردید. واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) در حجم ۲۵ میکرولیتر شامل ۱/۵ mM MgCl₂، ۰/۲ mM dNTP، ۰/۱ mM از هرکدام از آغازگرها (Research Biolab)، ۵۰ نانوگرم DNA ژنومی و ۰/۲ واحد از Taq DNA polymerase (Progma Company) انجام شد. برنامه حرارتی PCR شامل دمای واسرشت سازی اولیه ۹۵°C به مدت ۳ دقیقه و ۳۴ سیکل واسرشت‌سازی به مدت ۴۵ ثانیه در دمای ۹۴°C، دمای اتصال آغازگرها به مدت یک دقیقه در دمای مخصوص هر آغازگر و ۷۲°C به مدت ۴۵ ثانیه برای بسط و بسط نهایی به مدت

وزن روزانه و نسبت کلیبر است. افزایش وزن روزانه بین تولد تا سه ماهگی (ADG₁)، بین سه ماهگی تا شش ماهگی (ADG₂) و بین تولد تا یک سالگی (ADG₃) و همچنین نسبت کلیبر بین سه ماهگی تا شش ماهگی (KBR₁) و بین شش ماهگی تا یکسالگی (KBR₂) محاسبه گردید. علاوه بر این، ویرایش‌های اساسی برای تصحیح رکوردهای اندازه‌گیری شده بر اساس عوامل ثابت تاثیرگذار بر هر حیوان انجام گرفت، رکوردهای حیواناتی که در یک دوره پرورش به خاطر بیماری و یا دلایل دیگر از بین رفته بود، از ارزیابی نهایی حذف شدند. رکوردهای خارج از سه انحراف استاندارد فنوتیپی از میانگین تصحیح شده نیز از محاسبات نهایی حذف شدند.

فرمول ریاضی زیر برای محاسبه صفت افزایش وزن از زمان تولد تا وزن از شیرگیری از روی رکوردهای موجود وزن تولد و وزن از شیرگیری هر حیوان استفاده شد:

$$ADG(g/day) = \frac{(WW - BW)}{Weaning\ Age} \times 100$$

که در این فرمول، ADG متوسط وزن روزانه، WW وزن از شیرگیری تصحیح شده و BW وزن تولد می‌باشد. برای تصحیح وزن از شیرگیری از فرمول ذیل استفاده گردید:

$$AWW(kg) = \frac{(ActualWW - BW)}{Weaning\ age(days)} \times 90 + BW$$

¹ Photobiometry

و آل‌های مشاهده شده در جمعیت حاضر بود. در هر گروه فاصله ده جفت باز معرف هر گروه الی کوتاه و بلند بود و بین دو گروه نیز فاصله ده جفت باز به عنوان مرز متمایز کننده محسوب گردید که این دامنه‌ها در جدول ۱ آورده شده است.

هتروزیگوسیتی مورد انتظار و مشاهده شده بر اساس Levene (1949) و Nei (1973) و همچنین تعداد آل‌های مؤثر و مشاهده شده طبق Crow and Kimura (1964) با استفاده از نرم افزار POPGENE v1.31 (Yeh, 1999) محاسبه گردید. روابط بین گروه‌های ژنوتیپی و نشانگرهای ژنتیکی و عملکرد رشد با آنالیز واریانس یک طرفه در نرم-افزار SAS version 9.1 تعیین شد. گروه‌های ژنوتیپی آل‌ها به عنوان متغیر مستقل و رکوردهای صفات رشد به عنوان متغیر وابسته در نظر گرفته شد. مدل زیر در این مطالعه به کار برده شد:

$$Y_{ijklm} = \mu + \beta cov_{ij} + O_m + X_l + S_k + L_j + P_i + e_{ijklm}$$

که در این مدل Y_{ijklm} رکورد فنوتیپی حیوان، μ میانگین کل، P_i اثر ثابت i امین قلو (۲،۳،۴)، L_j اثر ثابت j امین تعداد بزغاله در هر زایش (۱،۲،۳)، S_k اثر ثابت k امین جنس (۱،۲)، اثر X_l ثابت L امین سال تولد (۲۰۰۷ و ۲۰۰۸)، O_m گروه m از ژنوتیپ‌ها، β ضریب رگرسیون کوواریانس، cov_{ij} کوواریانس بین وزن تولد و صفات اندازه گیری شده رشد است که طبق صفت

۱۰ دقیقه در دمای $72^{\circ}C$ در نظر گرفته شد. توالی آغازگرها و دمای اتصال استفاده شده در اینجا از مطالعات قبلی گرفته شده است (Hale et al., 2000). سیکل‌های Touch-down نیز به صورت واسرشت‌سازی اولیه به مدت ۵ دقیقه در دمای $95^{\circ}C$ ، پنج سیکل در دمای $95^{\circ}C$ به مدت ۴۵ ثانیه، در $68^{\circ}C$ برای $1/5$ دقیقه ($2^{\circ}C$ برای هر سیکل)، $72^{\circ}C$ به مدت یک دقیقه و چهار سیکل از $95^{\circ}C$ به مدت ۴۵ ثانیه، $58^{\circ}C$ به مدت یک دقیقه ($2^{\circ}C$ برای هر سیکل)، $72^{\circ}C$ به مدت یک دقیقه و ۲۵ سیکل از $95^{\circ}C$ به مدت ۴۵ ثانیه، $50^{\circ}C$ به مدت یک دقیقه، $72^{\circ}C$ یک دقیقه و در نهایت پنج دقیقه در $72^{\circ}C$ انجام شد.

اندازه آل‌ها به وسیله مقایسه باندهای مشاهده شده روی ژل با اندازه نشانگر^۱ ۲۵ جفت-بازی تعیین شد. گروه‌بندی ژنوتیپ‌های هر جایگاه ریزماهورای چندشکل^۲ بر اساس دامنه الی مشاهده شده در کل جمعیت گروه‌بندی شد. ژنوتیپها طبق اندازه آل‌ها در گروه‌های هموزیگوت برای آل‌های کوتاه، هموزیگوت برای آل‌های بلند و هتروزیگوت، در ۸ جایگاه ریزماهورای چندشکل از بین سیزده جایگاه کل بررسی شده آنالیز شدند (سایر نشانگرها الگوی یک‌شکل^۳ نشان دادند). معیار گروه‌بندی ژنوتیپهای مشاهده شده بر اساس دامنه الی گزارش شده در بانک توالیهای ژن

¹ Size Marker

² Polymorph

³ Monomorph

آنالیز شده تغییر میکند و در نهایت e_{ijklm} خطای تصادفی در ارتباط با هر رکورد می‌باشد.

از طرفی در آنالیزها وزن تولد به عنوان کوواریت (همبسته) برای صفات افزایش وزن روزانه در نظر گرفته شد. پس از بررسی ارتباط بین هر گروه ژنوتیپی با رکوردهای رشد و در صورت معنی‌داری از طریق آزمون مقایسه میانگین بونفرونی^۱ تصحیح شده، اختلاف و معنی‌داری بین آنها محاسبه گردید.

نتایج و بحث

وزن زنده در سنین مختلف، معیار انتخابی خوبی برای ارزیابی صفات رشد در نژادهای تیپ گوشتی بز محسوب می‌شود. صفات رشد، وراثت-پذیری بالایی دارند و پیشرفت ژنتیکی حاصل از انتخاب فنوتیپی در این صفات چشمگیر می‌باشد. مجموعه‌ای از مکانها با اثرات انفرادی کوچک به عنوان مکان صفات کمی یا QTLs نامیده می‌شوند که صفات رشد را کنترل می‌کنند و ممکن است اثرات مثبتی در تنوع وزن بدن و برنامه پیشرفت میانگین افزایش وزن روزانه داشته باشند. بعد از تعیین ژنوتیپ، ۸ جایگاه ریزماهوره‌ای شامل BM4307, BM4621, BMC1009, CSSM3, IDVGA37, TEXAN006, TGLA245, UWCA46 دارای چندشکلی بودند و ۵ جایگاه ILSTS004, INRA11, INRABEN17, MCM512, RM148

از آنالیزهای بعدی کنار گذاشته شدند. معیارهای تعیین کننده چندشکلی از جمله تعداد آلل‌های واقعی (n_a)، تعداد آلل‌های مؤثر (n_e)، هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده و مورد انتظار، شاخص اطلاعاتی شانون (I)، میانگین تنوع ژنی Nei (1978)، و میانگین و انحراف استاندارد برای هر یک از نشانگرهای مورد مطالعه در جدول ۲ ارائه شده است.

یکی از معیارهای مورد استفاده جهت بررسی میزان تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیت‌های مختلف تعداد آلل‌های نشانگرهای مورد استفاده می‌باشد. تعداد آلل‌های مشاهده‌شده در مطالعات متعددی برای نشانگرهای ریز ماهوره‌ای گزارش شده است در پژوهشی *Nanekarani et al.* (2010)، دامنه تغییرات تعداد آلل‌ها در جایگاههای ریز ماهوره‌ای مورد مطالعه در سه نژاد گوسفند پوستی ایران را ۶ تا ۱۲ آلل و میانگین تعداد آلل به ازای هر جایگاه در سه نژاد قهوه‌ای شیراز، زندی و قره گل را به ترتیب ۸/۱، ۸، ۸/۱ گزارش نمودند. در مطالعه‌ای دیگر طی تحقیقات *Muneeb et al.* (2012) با استفاده از ۱۹ نشانگر ریزماهوره‌ای، ۱۷۳ آلل با دامنه‌ی ۲-۱۴ و میانگین ۹/۱۱ آلل مشاهده شده در هر جایگاه را در گوسفند نجدی گزارش کردند. مقایسه n_e با n_a در هر جایگاه، اطلاعاتی در مورد پیش غالبیت آلل‌های خاص در هر نژاد را فراهم می‌کند (Arranz et al., 1998).

¹ Bonferroni

جدول ۱- دامنه اندازه اللی در جایگاه‌های مورد مطالعه و اندازه‌ی آلی در نظر گرفته شده برای آل‌های کوتاه و بلند.

Table 1- The range of observed allele sizes in studied loci and the sizes which considered as short and long.

ال بلند Long allele	ال کوتاه Short allele	دامنه مشاهده شده Observed range	کروموزوم Chromosome	جایگاه Loci
220 - 210	200 - 190	221 - 189	1	BM4307
181 - 171	170 - 160	173 - 161	1	BM4621
310 - 300	290 - 280	308 - 282	5	BMC1009
234 - 224	223 - 213	221 - 213	1	CSSM32
200 - 190	126 - 116	206 - 116	2	IDVGA37
170 - 160	150 - 140	172 - 142	1	TEXAN006
150 - 140	130 - 120	151 - 131	1	TGLA245
140 - 130	120 - 110	140 - 111	1	UWCA46

جدول ۲- تنوع ژنی نئی، هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار، شاخص شانون، تعداد آل‌های مشاهده شده و مؤثر برای نشانگرهای مختلف در این تحقیق.

Table 2- Nei's genetic diversity, Observed and expected heterozygosity, Shannon's index and effective and observed numbers of alleles for different markers in this research.

تعداد آل واقعی Observed allele number (n_a)	تعداد آل موثر Effective allele number (n_e)	شاخص شانون Shannon's index (I)	هتروزیگوسیتی مشاهده شده Expected Hetrozygosity (H_{obs})	هتروزیگوسیتی مورد انتظار Observed Hetrozygosity (H_{exp})	ضریب تنوع Gene diversity	جایگاه Loci
9	5.17	1.79	0.8	0.81	0.8	BM4307
6	3.73	1.42	0.61	0.73	0.73	BM4621
6	3.61	1.49	0.78	0.72	0.72	BMC1009
7	3.62	1.47	0.61	0.72	0.72	CSSM32
8	6.01	1.9	1	0.83	0.83	IDVGA37
11	4.85	1.77	0.78	0.79	0.79	TEXAN006
9	5.2	1.83	0.73	0.81	0.8	TGLA245
6	3.24	1.33	0.57	0.69	0.69	UWCA46
7.83	4.5	1.64	0.76	0.77	0.77	Mean
1.85	0.95	0.19	0.14	0.05	0.05	SD

میزان هتروزیگوسیتی بیشتر از ۰/۸ است، برای رفع محدودیت موجود در مقایسه تنوع حاصل از این نشانگرها از شاخص اطلاعاتی شانن استفاده می-شود که مقدار عددی آن می تواند از یک بیشتر شود. به عنوان مثال طی پژوهش Gour et al. (2006) میانگین هتروزیگوسیتی مورد انتظار و شاخص اطلاعاتی شانن را در بزهای چاماناپاری^۲ هند با استفاده از نشانگرهای ریزماهورای به ترتیب ۰/۲۳±۰/۵۲ و ۱/۰۶±۰/۵۱ گزارش کرده اند. طی تحقیقات Muneeb et al. (2012) نیز هتروزیگوسیتی مشاهده شده، مورد انتظار و شاخص اطلاعاتی شانن را در گوسفند نجدی به ترتیب ۰/۶۷، ۰/۷۵، ۱/۶۹ گزارش کردند. به همین خاطر در این تحقیق شاخص اطلاعاتی شانن نیز برای مقایسات بعدی محاسبه گردید.

هشت نشانگر ریزماهورای به طور موفقیت-آمیزی در نژاد بز تجاری (بوئر) تکثیر شدند و طبق معیارهای استفاده شده برای تعیین چندشکلی، در تمام نشانگرها چندشکلی بالایی تشخیص داده شد. نتایج اندازه آلی در جدول ۲ ارائه شده است. بزرگترین اندازه باندی محصولات حاصل از تکثیر برای جایگاه BMC1009 مشاهده شد. تفاوت تعداد افراد مطالعه شده در هر سامانه، به دلیل مشکلات عدم تکثیر در تعدادی از نمونه ها می باشد.

یکی دیگر از فراسنجه های مهم در مقایسه و بررسی تنوع ژنتیکی نژادهای مختلف، تنوع ژنی می باشد. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد، میانگین (\pm انحراف معیار) تنوع ژنی در نژاد بز بوئر ۰/۰۵±۰/۷۷ می باشد. این میانگین بالاتر از مقادیر گزارش شده در نژادهای دیگر بز است. در چند پژوهش Moradi et al. (2013) میانگین تنوع ژنی را در بزهای نژاد مرخز با استفاده از نشانگرهای بین ریزماهورای ISSR، ۰/۳۴، Olivera et al. (2005) در جمعیت های مختلف نژاد موکسوتوی^۱ برزیل با استفاده از نشانگرهای RAPD، ۰/۳۳ - ۰/۲۲ و Ajmone-Marsan et al. (2001) در بزهای ایتالیایی با استفاده از نشانگرهای AFLP، ۰/۲۴ - ۰/۲۱ گزارش کرده اند. بدون در نظر گرفتن تفاوت های نشانگری به نظر می رسد تنوع ژنی در بزهای بوئر در مقایسه با نژادهای بز ذکر شده بیشتر می باشد، هر چند در تفسیر این نتایج باید تفاوت های نژادی و نحوه نمونه برداری متفاوت را نیز مد نظر قرار داد.

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که میانگین (\pm انحراف معیار) شاخص اطلاعاتی شانن ۱/۱۹±۱/۶۴ می باشد. شاخص اطلاعاتی شانن روشی دیگر در ارزیابی تنوع ژنتیکی است که بیشتر در نشانگرهای ریزماهورای مورد استفاده قرار می-گیرد. در این نشانگرها به دلیل اینکه به طور عمده

² Jamunapari goat

¹ Moxoto

بیشترین فراوانی آلی پایین (L) مربوط به جایگاه BMC1009 می‌باشد. از طرفی همان گونه که مورد انتظار بود گروه آل‌های HH یعنی با طول بلند در اکثر موارد فراوانی بیشتری را نسبت به گروه آلی با طول کوتاه (LL) نشان دادند زیرا بروز جهش از نوع حذف کمتر از جهش از نوع اضافه شدن می‌باشد (Comings, 1996).

فراوانی‌های آلی و ژنوتیپی جایگاه‌های مورد مطالعه در جدول ۳ ارائه شده است. ژنوتیپ‌های هر جایگاه طبق اندازه آل به صورت گروه‌های هموزیگوس برای آل‌های کوتاه LL، گروه هموزیگوس برای آل‌های بلند HH و گروه هتروزیگوس برای آل‌های کوتاه و بلند HL گروه‌بندی می‌شوند. نتایج نشان داد که بیشترین فراوانی آلی بالا (H) مربوط به جایگاه IDVGA37 و

جدول ۳- فراوانی‌های آلی و ژنوتیپی جایگاه‌های مورد مطالعه.

Table 3- Genotypic and allelic frequencies of investigated loci.

فراوانی آلی		فراوانی ژنوتیپی			جایگاه
Allelic Frequency		Genotypic Frequency			Loci
H	L	HH	HL	LL	
0.87	0.13	0.74	0.26	0	BM4307
0.69	0.31	0.6	0.18	0.22	BM4621
0.44	0.56	0.12	0.63	0.25	BMC1009
0.53	0.47	0.27	0.51	0.22	CSSM32
0.99	0.01	0.99	0.01	0	IDVGA37
0.56	0.44	0.12	0.88	0	TEXAN006
0.62	0.38	0.29	0.66	0.05	TGLA245
0.4	0.6	0.12	0.57	0.31	UWCA46

LL: Homozygous for the short allele, HL: Heterozygous for long and short alleles, HH: Homozygous for the long allele.

وزن تولد می‌باشد ($P < 0.05$). در افراد هموزیگوس برای آل‌های بلند در جایگاه BMC1009 در مقایسه با دیگر جایگاه‌ها وزن شیرگیری بیشتری مشاهده گردید ($P < 0.05$). به طوریکه گروه ژنوتیپی HH و LL در جایگاه BMC1009 با میانگین 9.80 در برابر 6.63 کیلوگرم اثر معنی‌دای بر روی وزن از شیرگیری نشان دادند

میانگین حداقل مربعات گروه‌های ژنوتیپی بر روی وزن تولد، وزن از شیرگیری، وزن شش ماهگی و همچنین نسبت کلیبر بین سه ماهگی تا شش ماهگی (KBR_1) و بین شش ماهگی تا یکسالگی (KBR_2) در جدول ۴ ارائه شده است. نتایج نشان داد که ژنوتیپ HH در جایگاه‌های TEXAN006 و CSSM32 ژنوتیپ مطلوب برای

(P<0.01). وزن زنده بالا در ۶ ماهگی در افراد هتروزیگوس در جایگاه BM4621 و افراد هتروزیگوس و هموزیگوس برای آلل‌های بلند در جایگاه UWCA46 مشاهده شد. در جایگاه UWCA46 گروه آلی بلند نسبت به بقیه ژنوتیپ‌ها با وزن شش ماهگی ارتباط معنی‌دار مثبت نشان داد، درحالی‌که در جایگاه‌های BM4621 این روند برعکس بود (P<0.01). همچنین هیچکدام از نشانگرهای مورد بررسی در این تحقیق ارتباط معنی‌داری با میزان کلیبر نشان ندادند.

جدول ۴- مقایسه میانگین حداقل مربعات وزن تولد (BW_0)، وزن از شیرگیری (WW) و وزن ۶ ماهگی (W_6)، نسبت کلیبر بین سه ماهگی تا شش ماهگی (KBR_1) و بین شش ماهگی تا یکسالگی (KBR_2) در گروه‌های ژنوتیپی مختلف نشانگرهای ریزماهورهای با اثرات معنی‌دار در سطح ۰/۰۵.

Table 4- Comparison of least square means for birth weight (BW_0), weaning weight (WW), weight in 6 months (W_6), Keliber ratio among 3-6 months (KBR_1) and among 6-12 months (KBR_2) traits in different genotypic classes of significant microsatellite markers ($\alpha=0.05$).

KBR2	KBR1	W_6 (kg)	WW(kg)	BW_0 (kg)	گروه	جایگاه مورد بررسی
نسبت کلیبر دو	نسبت کلیبر یک	وزن شش ماهگی	وزن از شیرگیری	وزن تولد	Class	Loci
Keliber2	Keliber1	6 th months weight	Weaning weight	Birth weight		
14.98 ± 3.83	11.75 ± 2.74	23.50 ± 2.52 ^b	7.70 ± 2.37	3.83 ± 0.59	HH(68)	BM4621
16.77 ± 3.31	9.96 ± 2.37	25.09 ± 2.36 ^a	8.65 ± 2.22	3.92 ± 0.55	HL (20)	
17.39 ± 3.46	8.27 ± 2.47	23.68 ± 2.51 ^b	7.63 ± 2.36	3.85 ± 0.58	LL(24)	
16.19 ± 3.73	11.017 ± 2.67	25.14 ± 2.72	9.80 ± 2.57 ^a	4.07 ± 0.64	HH(13)	BMC1009
16.20 ± 3.41	9.387 ± 2.44	23.86 ± 2.36	7.55 ± 2.22 ^{ab}	3.55 ± 0.55	HL (71)	
16.75 ± 3.36	9.587 ± 2.40	23.27 ± 2.46	6.63 ± 2.32 ^b	3.99 ± 0.57	LL(28)	
16.86 ± 3.58	10.10 ± 2.56	24.24 ± 2.50	8.18 ± 2.36	4.05 ± 0.58 ^a	HH(31)	CSSM32
16.17 ± 3.32	10.27 ± 2.38	23.78 ± 2.42	8.32 ± 2.28	3.86 ± 0.56 ^{ab}	HL (58)	
16.11 ± 3.68	9.60 ± 2.63	24.25 ± 2.45	7.48 ± 2.31	3.68 ± 0.57 ^b	LL(23)	
16.49 ± 3.45	10.09 ± 2.47	23.64 ± 2.46	7.49 ± 2.32	4.17 ± 0.57 ^a	HH(13)	TEXAN006
16.27 ± 3.38	9.88 ± 2.42	24.54 ± 2.47	8.50 ± 2.33	3.57 ± 0.58 ^b	HL (99)	
--	--	--	--	--	LL(0)	
17.35 ± 3.80	9.71 ± 2.72	24.63 ± 2.50 ^a	7.74 ± 2.35	4.03 ± 0.58	HH(13)	UWCA46
15.31 ± 3.38	10.70 ± 2.42	24.46 ± 2.43 ^a	7.50 ± 2.29	3.82 ± 0.57	HL (63)	
16.49 ± 3.42	9.56 ± 2.45	23.18 ± 2.46 ^b	8.74 ± 2.32	3.75 ± 0.57	LL(36)	

*اعداد داخل پرانتز بیانگر تعداد بزهای قرار گرفته در هر گروه ژنوتیپی است.

*The numbers inside the parenthesis are showing the number of animals in each genotypic class.

در پژوهشی *Saghi et al.* (2011) نیز QTL معنی‌داری را برای وزن تولد، وزن ۳۰ و ۶۰ روزگی در کروموزوم یک به ترتیب در نزدیکی نشانگرهای BMS 2572، BMS2321 و BM7145 گزارش کردند. همچنین طی تحقیقات *Esmailzadeh* (2010) QTL معنی‌داری را در کروموزوم یک نزدیک نشانگر BMS2572 در گوسفند کرمانی گزارش کرد. نتایج بدست آمده در این تحقیق مبنی بر وجود QTL‌های کنترل کننده صفات رشد در کروموزوم‌های ۱ و ۵ با نتایج این تحقیقات در گونه‌های مختلف مطابقت دارد.

نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر با استفاده از روش گروه-بندی ژنوتیپ براساس طول توالی موتیف ریزماهورای به جای ژنوتیپ انفرادی برای تعیین ارتباط‌های معنی‌دار بین نشانگرها و صفات کمی یک مرحله ابتکاری به طرف انتخاب به کمک نشانگرها در حیوانات اهلی می‌باشد.

شیوه تشکیل گروه‌های آلی برای مکانهای ریزماهوره که به وسیله *Comings* (1998) به جای بررسی ارتباط با هر آلل پیشنهاد شده بود، گنجاندن تعداد بیشتری از افراد هر ژنوتیپ را امکان پذیر می‌سازد. بنابراین قابلیت اطمینان آزمایش‌های مرتبط افزایش می‌یابد. در مجموع، نتایج مطالعه حاضر امکان استفاده از این روش را برای تعیین ارتباطات معنی‌دار بالا با صفات کمی و بگارگیری

افزایش وزن روزانه بین تولد تا سه ماهگی (ADG_1) و بین سه ماهگی تا شش ماهگی (ADG_2) و بین تولد تا یک سالگی (ADG_3) محاسبه گردید. ژنوتیپ هموزیگوت و هتروزیگوت HH و HL نشانگر UWCA46، دارای اثرات معنی‌داری با افزایش وزن روزانه در سنین مختلف بود و ژنوتیپ هتروزیگوت HL نشانگرهای BM4621 و BM4307 اثر معنی‌داری روی افزایش وزن روزانه بین ۶ ماهگی تا یکسالگی داشت (جدول ۵).

تمام نشانگرهای ریزماهورای با اثرات معنی‌دار بر روی رشد و وزن بدن در این تحقیق در کروموزوم‌های ۱ و ۵ ژنوم بز قرار گرفته‌اند. *UWCA46* و *BM4307* از کروموزوم شماره ۱ با وزن بدن و میانگین افزایش وزن روزانه ارتباط نشان دادند. در پژوهشی *Lan et al.* (2007) گزارش کردند که یک جهش خاموش در ژن *POUF1* که بر روی کروموزوم شماره ۱ قرار دارد به صورت معنی‌داری چندقلوزایی و وزن بدن را در بز تحت تأثیر قرار می‌دهد. در مطالعه‌ای *Javanmard* (2012) دو QTL بین نشانگرهای *BMC1009* و *RM029* در کروموزوم ۵ بز گزارش کردند که با وزن تولد ارتباط معنی‌داری را نشان می‌داد. وجود ارتباط بین QTL و وزن تولد در کروموزوم ۵ برای بزهای راینی نیز گزارش شده است (*Mohammad Abadi et al.*, 2009).

سپاسگزاری

انتخاب به کمک نشانگرها در حیوانات اهلی نشان

بدینوسیله از مدیریت و کارکنان مزرعه بز تجاری
بوئر برای فراهم کردن نمونه‌ها برای این مطالعه
کمال تشکر و قدردانی را داریم.

می‌دهد.

جدول ۵- مقایسه میانگین حداقل مربعات افزایش وزن روزانه بین تولد تا سه ماهگی (ADG₁)، بین سه ماهگی تا شش ماهگی (ADG₂) و بین شش ماهگی تا یک سالگی (ADG₃) در گروه‌های ژنوتیپی مختلف نشانگرهای ریزماهواره‌ای با اثرات معنی‌دار.

Table 5- Comparison of least square means for Average Daily Gain among Birth to 3 months (ADG₁), 3-6 months (ADG₂) and 6-12 months (ADG₃) in different genotypic classes of significant microsatellite markers ($\alpha=0.05$).

افزایش وزن روزانه شش ماهگی تا یک سالگی Average daily gain among 6-12 months ADG ₃ (g/day)	افزایش وزن روزانه بین سه ماهگی تا شش ماهگی Average daily gain among 3-6 months ADG ₂ (g/day)	افزایش وزن روزانه بین تولد تا سه ماهگی Average daily gain among 0-3 months ADG ₁ (g/day)	گروه Class	جایگاه مورد بررسی Loci
108.28 ± 13.20 ^b	174.84 ± 34.64	40.86 ± 16.35	HH(82)*	BM4307
117.06 ± 13.23 ^a	179.16 ± 34.70	54.19 ± 16.40	HL (30)	
--	--	--	LL(0)	
109.40 ± 13.69 ^b	173.31 ± 35.93	44.63 ± 17.33	HH(68)	BM4621
117.98 ± 12.81 ^a	180.25 ± 33.61	54.84 ± 15.57	HL (20)	
110.64 ± 13.63 ^b	177.44 ± 35.77	43.10 ± 17.21	LL(24)	
114.79 ± 13.58 ^a	186.40 ± 35.65 ^a	57.74 ± 17.11 ^a	HH(13)	UWCA46
114.76 ± 13.23 ^a	185.84 ± 34.71 ^a	42.68 ± 16.40 ^b	HL (63)	
108.47 ± 13.40 ^b	158.76 ± 35.15 ^b	52.15 ± 16.74 ^b	LL(36)	

*اعداد داخل پرانتز بیانگر تعداد بزهای قرار گرفته در هر گروه ژنوتیپی است.

*The numbers inside the parenthesis are showing the number of animals in each genotypic class.

- Ajmone-Marsan P, Negrini R, Crepaldi P, Milanese E, Gorni C, Valentini A, Cicogna M (2001). Assessing genetic diversity in Italian goat populations using AFLP markers. *Animal Genetics* 32: 281-288
- Arranz JJ, Bayón Y, Primitivo F (1998). Genetic relationships among Spanish sheep using microsatellites. *Animal Genetics* 29: 435-440.
- Comings DE (1998). Polygenic inheritance and minisatellites. *Molecular Psychiatry* 3: 21-31.
- Comings DE, Gade R, MacMurray JP, Muhleman D, Peters WR (1996) Genetic variants of the human obesity (OB) gene: Association with body mass index in young women, psychiatric symptoms, and interaction with the dopamine D-2 receptor (DRD2) gene. *Molecular Psychiatry* 1:325-335.
- Esmailzadeh KA (2010). A partial genome scan to identify quantitative trait loci affecting birthweight in kermani sheep. *Small Ruminant Research*. 94: 73-78.
- Estoup A, Angers B (1998). Microsatellites and minisatellites for molecular ecology: theoretical and empirical considerations, *Advances in Molecular Ecology*, IOS Press, Amsterdam.
- Gebhardt F, Zanker KS, Brandt B (1999) Modulation of epidermal growth factor gene transcription by a polymorphic dinucleotide repeat in intron 1. *Journal of Biological Chemistry*. 274:13176-13180.
- Gour DS, Malik G, Ahlawat SPS, Pandey AK, Sharma R, Gupla N, Gupta SC, Bisen PS, Kumar D (2006) Analysis of genetic structure of Jamunapari goats by microsatellite markers. *Small Ruminant Research*. 66:140-149.
- Greyling JP (2000) Reproduction traits in the Boer goat doe. *Small Ruminant Research*. 36 (2):171-177
- Hale CS, Herring WO, Shibuya H, Lucy MC, Lubahn DB, Keisler DH, Johnson GS (2000) Decreased growth in Angus steers with a short TG-microsatellite allele in the P1 promoter of the growth hormone receptor gene. *Journal of Animal Science*. 78:2099-2104.
- Hayashi, T., Iwamoto, Y., Kaku, K., Hirose, H., Maeda, S (2007) Replication study for the association of TCF7L2 with susceptibility to the type 2 diabetes in a Japanese population. *Diabetologia* 50, 980-984
- Javanmard A (2012) Genetic Parameters and polymorphism in candidate genes for growth and conformation traits in boer goats. PH.D thesis, University of Putra, Malaysia.
- Kimura M, Crow JF (1964) The number of alleles that can be maintained in a finite population. *Genetics*. 49:725-738.
- Lan XY, Pan CY, Chen CL, Zhang JYL, Zhao C Z, Lei AL Zhang L (2007). ALUI PCR-RFLP detecting a silent allele at the goat POUF1 locus and its association with production traits. *Small Ruminant Research*. 73 (3): 8-12.
- Levene H (1949) On a matching problem arising in genetics. *Annals of Mathematical Statistics*. 20: 91-94.
- Lucy MC, Johnson GS, Shibuya S, Boyd CK, Herring WO (1998) Rapid communication: Polymorphic (GT)_n microsatellite in the bovine somatotrophin receptor gene promoter. *Journal of Animal Science*. 76:2209-2210
- Malan SW (2000) The improved Boer goat. *Small Ruminant Research*. 36 (2): 165-170.
- Mohammad Abadi MR, Askari N, Baghizadeh A, Esmailzadeh 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 (2-3): 146-151.

- Moradi MH, Rostamzadeh J, Rashidi A, Vahabi Kh, Farahmand H (2013) Analysis of genetic diversity in Iranian Mohair goat and its color types using Inter Simple Sequence Repeat (ISSR) markers. *Journal of Agricultural Communications*. 1:2.
- Muneeb M, Aljummah RS, Alshaik MA (2012) Genetic diversity of Najdi sheep based on microsatellite analysis. *African Journal of Biotechnology*. 11 (83):14868-14876.
- Nanekarani S, Amirinia C, Amirmozafari N, Vaez Torshizi R, Gharahdaghi A (2010). Genetic variation among pelt sheep population using microsatellite markers. *African journal of Biotechnology*. 9(44): 7437-7445.
- Naude RT, Hofmeyr HS (1981) Meat Production. In: C. Gall (Ed.), *Goat Production*. Academic Press, London, New York, pp. 285–307.
- Nei M (1973) Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 70:3321-3323.
- Nei M (1978) *Molecular evolutionary genetics*. New York: Columbia University Press, USA.
- Olivera RR, Egito AA, Riberio MN, Paiva SR, Albuquerque MSM, Castro SR, Mariante AS, Adriaio M (2005) Genetic characterization of the Moxoto goat breed using RAPD markers. *Pesq. Agropec. Brasilia*. 40:233-239.
- Renaville N, Gengler E, Vrech A, Prandi S, Massart C, Corradini C, Bertozzi F, Mortiaux A, Burny, Portetelle D (1997) Pit-1 gene polymorphism, milk yield and conformation traits for Ital Holstein-Frisian bulls. *Journal of Dairy Science*. 80: 3431–343.
- Saghi, D., Aslaminajad, A.M. Tahmoraspour, M.R. Nassiri, G., Dashab. (2012). Identification of QTL controlling body weigh in bluchi sheep. *Journal of Animal Science*. 95:200-201 (in persian)
- Shimajiri S, Nobuyuki N, Tanimoto A, Murata Y, Hamada T, Wang KY, Sasaguri Y (1999) Shortened microsatellite (CA)₂₁ sequence down-regulates promoter activity of matrix metaloproteinase 9 gene. *FEBS Let*. 455:70–74.
- Yeh FC (1999). *POPGENE*, v.1.31. Distributed by the <http://www.ualberta.ca/~fyeh.fyeh>.
- Yu K, Park J, Poysa V, Gepts P (2000) Integration of simple sequence repeats (SSR) markers into a molecular linkage map of common bean (*Phaseolus vulgaris*). *Heredity* 91:429-434.
- Weller JI. 2008. *Quantitative trait loci analysis in animals*. New York: CABI Publishing;
- Zhao ME, Hines HC (2004) Associations of polymorphisms in the pit-1 gene with growth and carcass traits in Angus beef cattle. *Journal of Animal Science* 82: 2229-2233.

Association between threshold size and motif length of microsatellite markers with growth traits and Keliber ratio in commercial goats

Javanmard A. *¹, Alitalesh L.², Moradi M. H.³, Azizi Z.¹, Esmailzadeh A. K.⁴

¹Assistant Professor and Ph.D. Student, Department of Animal Science, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

²Ph.D. Student, Department of Animal Science, University of Tehran, Karaj, Iran.

³Assistant Professor, Department of Animal Science, Arak University, Arak, Iran.

⁴Associate Professor, Department of Animal Science, University of Kerman, Kerman, Iran.

Abstract

Microsatellite genotyping can always be prone to genotyping errors which significantly affect the entire subsequent analysis. One of the new approaches to overcome this problem is an alternative method of using a clustering system of genotypes based on microsatellite motif length and allelic frequencies range instead of individual genotypes. The objective of the present study was to establish an association of 13 microsatellite markers, classified into three new groups based on allele size consisting homozygous for the short allele, homozygous for the long allele and the class of heterozygous for long and short alleles, with body weight and Keliber ratio in commercial Boer goats. The results after considering the fixed effects, revealed that the class of heterozygous for long and short alleles of TEXAN006 and CSSM32 loci were significantly associated with kids birth weight ($P<0.05$). The highest weaning weight was observed in individuals homozygous for long alleles at the BMC1009 locus ($P<0.05$). The BM4307, BM4621 and UWCA46 loci were also shown an association with average daily gain ($P<0.05$). In conclusion, the results showed that the use of motif length in the genotyping of microsatellite markers instead of genotype of each locus can minimize the genotyping errors and cause the higher probability to get a significant association with economically important traits.

Keywords: Microsatellite markers, Genotyping error, Motif length, Growth traits.

* Corresponding Author: Javanmard A.

Tel:041-33356004

Email: a.javanmard@tabrizu.ac.ir

