

کاوش مولکولی ژنوم گاو برای نقشه یابی جایگاه های ژنی مرتبط با وزن لاشه

علی اسماعیلی زاده کشکوئی^{1*}، محمدرضا محمدآبادی¹

اعضای هیئت علمی دانشگاه شهید باهنر کرمان

چکیده

پوشش کل ژنوم با هدف یافتن محتمل ترین نقاط ژنومی کنترل کننده صفات کمی (QTL) یکی از استراتژیهای کارآمد برای تحلیل مولکولی صفات دارای مکانیسم توارثی پیچیده است. مکان یابی QTL، اولین گام برای شناسایی ژن های مسئول تنوع در صفات کمی است. هدف از انجام این پژوهش شناسایی QTL های موثر بر وزن لاشه گاو بود. تعداد 6 گاو نر آمیخته جرسی × لیموزین با گاوهای ماده جرسی و لیموزین تلاقی داده شدند و شش خانواده ناتنی پدری شامل 784 نتاج تشکیل شد. تمام نتاج کشتار شده و وزن لاشه بلافاصله پس از کشتار ثبت شد. شش والد نر و تمامی نتاج برای 189 نشانگر ریزماهواره تعیین ژنوتیپ شدند. وزن لاشه برای اثرات ثابت گروه کشتار، جنس، سال، گله، نژاد مادر، تیپ تولد، سن مادر و اثر ژن میوستاتین تصحیح گردیدند. باقیمانده های مدل با تقسیم بر انحراف معیار فنوتیپی، استاندارد شدند. روش نقشه یابی درون فاصله ای مبتنی بر رگرسیون برای آنالیز QTL استفاده شد. تعداد سه QTL در سطح معنی دار ژنومی واقع بر کروموزوم های 3، 5 و 14 و دو QTL در سطح معنی دار کروموزومی روی کروموزوم های 10 و 17 شناسایی شدند. فقط QTL شناسایی شده روی کروموزوم 14 در تمام خانواده ها تفرق نشان داد. اثرات QTL بین 0/4 تا 0/8 به واحد انحراف معیار فنوتیپی بود.

واژه های کلیدی: ژنوم، گاو، وزن لاشه، QTL

مقدمه

هدف اصلی از نقشه یابی ژنومی در دام‌های اهلی، شناسایی ژن‌های مرتبط با تنوع فنوتیپی در صفات اقتصادی است. وزن لاشه در دام، یکی از صفات مهم اقتصادی است که دارای الگوی توارث کمی بوده و استفاده از روش‌های به‌نژادی برای بهبود آن به دلیل لزوم کشتار حیوان برای رکورددرداری صفت، هزینه زیادی دارد. عموماً رتبه بندی مستقیم حیوانات زنده یا انتخاب گاوهای نر با استفاده از آزمون نتاج بر اساس داده‌های اولتراسوند، یکی از راه‌های بهبود صفات مختلف مرتبط با لاشه است، اما نتایج به دست آمده از یک پژوهش که روی گله‌های گاو در ایالات متحده آمریکا صورت گرفته نشان داده که با وجود قابلیت توارث متوسط این صفات (Koch et al., 1982)، در طی 30 سال گذشته بهبودی برای این صفات حاصل نشده است (Van Vleck et al., 2007). استفاده از روش‌های گزینش بر اساس اوزان زنده دام که همبستگی ژنتیکی بالایی با وزن لاشه دارند، می‌تواند منجر به تغییر ژنتیکی این صفت شود، اما به دلیل همبستگی ژنتیکی مثبت این صفات با وزن تولد (MacNeil, 2003)، امکان افزایش فراتر از حد بهینه وزن تولد و در نتیجه افزایش سخت‌زایی در گله وجود دارد. در صورت شناسایی نواحی ژنومی اختصاصی کنترل‌کننده وزن لاشه دام، امکان استفاده از روش انتخاب به

کمک نشانگر (MAS) (Spelman & Bovenhuis, 1998) برای این صفت بدون تغییر در صفات دیگر وجود خواهد داشت. فناوری‌های نوین در عرصه زیست‌شناسی مولکولی و روش‌های محاسباتی توسعه یافته در حوزه ژنتیک آماری، امکان مطالعه عوامل ایجادکننده تنوع ژنتیکی صفات دارای مکانیسم توارثی پیچیده را در سطح مولکولی با استفاده از نقشه‌های پیوستگی نشانگرهای مولکولی DNA فراهم نموده است.

جدیدترین نقشه پیوستگی در گاو شامل 3802 نشانگر ریزماهوره¹ روی 30 کروموزوم (کروموزوم‌های جنسی و 29 جفت اتوزوم) می‌باشد (Ihara et al., 2004). گاو از جنس *Bos* بوده و اکثر نژادهای گاو گوشتی از گونه *Bos taurus* می‌باشند، بنابراین اتوزوم‌های گاو به صورت مخفف BTA1 تا BTA29 نام‌گذاری شده‌اند. کروموزوم‌های جنسی X و Y به ترتیب بصورت BTX و BTY نام‌گذاری شده‌اند. تعداد نشانگرهای چندشکلی تک‌نوکلوتیدی² (SNPs) در گاو به چندین هزار می‌رسد. این نقشه‌های ژنتیکی نشانگرها، زمینه لازم برای شناسایی نواحی ژنومی حامل چندشکلی‌های مرتبط با تنوع در صفات کمی (QTL) را فراهم نموده‌اند. پویش کل ژنوم با هدف یافتن محتمل‌ترین نقاط

¹ Microsatellite

² Single nucleotide polymorphisms

حاصل از تلاقی دو نژاد لیموزین و جرسی، تعداد 6 گاو نر با گاوهای ماده جرسی و لیموزین تلاقی داده شدند و شش خانواده ناتنی پدری شامل 784 نتاج (366 حیوان در استرالیا و 418 حیوان در نیوزیلند) تشکیل گردید. در نیوزیلند، دام ها فقط از مرتع تغذیه نمودند و در سن 22-28 ماهگی کشتار شدند. در استرالیا، دام ها تا یکسالگی از مرتع استفاده نمودند سپس به مدت 180 روز پروار و در سن 34-40 ماهگی کشتار شدند. تمام نتاج حاصل از تلاقی برگشتی شش گاو نر با ماده گاوهای لیموزین و جرسی کشتار شده و وزن لاشه بلافاصله پس از کشتار به عنوان وزن لاشه گرم ثبت شد. میانگین و انحراف معیار وزن لاشه در جدول 1 آمده است.

ژنومی کنترل کننده صفات کمی یکی از راهبردهای کارآمد برای یافتن ژن های کاندیدا و نشانگرهای مرتبط با صفات کمی برای استفاده در برنامه های MAS است. مطالعات شبیه سازی نشان داده که MAS تاثیر زیادی در پیشرفت ژنتیکی صفات لاشه دارد (Meuwissen & Goddard, 1996). مکان یابی QTL، اولین گام در جهت شناسایی نشانگرهای مرتبط با صفات کمی است و هدف از انجام این پژوهش، شناسایی QTL های موثر بر وزن لاشه گاو بود.

مواد و روشها

طرح آزمایشی و تعیین فنوتیپ

طرح آزمایشی مورد استفاده یک طرح ناتنی پدری بود. از بین آمیخته های نسل اول

جدول 1- ترکیب نژادی، میانگین و انحراف معیار وزن لاشه نتاج و تعداد نتاج مربوط به شش خانواده مورد مطالعه.

Grand dam breed	Grand sire breed	SD	Mean	N. of Progeny	Family
Limousin	Jersey	63.2	343.9	125 (121) ¹	1
Jersey	Limousin	59.0	335.6	128 (127)	2
Limousin	Jersey	44.4	223.6	140 (140)	3
Jersey	Limousin	61.8	323.4	113 (108)	4
Limousin	Jersey	47.0	239.2	156 (152)	5
Limousin	Jersey	35.5	217.9	122 (121)	6
-	-	75.1	277.2	784 (769)	Total

¹ اعداد داخل پرانتز بیانگر تعداد نتاج دارای رکورد هستند.

Table 1- Breed composition, mean and standard deviation of carcass weight and the number of progeny per family.

استخراج DNA و تعیین ژنوتیپ

نمونه خون دام‌ها در طول اولین سال زندگی جمع‌آوری شد و استخراج DNA از لوکوسیت‌های خون دام‌ها (Montgomery & Sise, 1990) صورت گرفت. تعداد اندکی از نتایج حاصل انتقال جنین بودند. برای این دسته از دام‌ها استخراج DNA از لاله گوش و با استفاده از کیت کیاژن¹ که یک کیت استخراج DNA از بافت است، بر اساس روش کار سازنده کیت انجام شد. از آنجا که احتمال تبادل خون جنین‌های مختلف در رحم گاو از طریق جفت وجود دارد، برای جلوگیری از اختلاط DNA این دسته از دام‌ها، از این روش استخراج DNA استفاده شد.

موقعیت نشانگرها بر اساس نقشه ژنتیکی بین‌المللی ارائه شده برای گونه گاو (Ihara et al., 2004) بود. این نقشه پیوستگی در واقع متوسط نقشه جنس نر و ماده بوده و طول آن برابر 3160 سانتی‌مورگان شامل 29 گروه پیوستگی اتوزومی، یک کروموزوم جنسی X و یک کروموزوم جنسی Y است. تعداد نشانگرهای ریزماهواره در این نقشه شامل 3960 نشانگر متعلق به 2389 جایگاه (تعدادی از نشانگرها موقعیت مشابه داشته‌اند) است. بنابراین، متوسط فاصله هر نشانگر 1/4 سانتی‌مورگان می‌باشد. این نقشه ژنتیکی، به

روش تحلیل پیوستگی چند نقطه‌ای و با استفاده از نرم‌افزار کرای مپ² (Green et al., 1990) تشکیل شده است. مطالعات شبیه‌سازی (Visscher et al., 1996) نشان داده که به طور متوسط فاصله بهینه بین نشانگرها برای مطالعات اولیه شناسایی QTL در جوامع ناخالصی همچون گاو، 15 سانتی‌مورگان است. بر این اساس، با توجه به طول ژنوم گاو و با در نظر گرفتن این موضوع که معمولاً تعدادی از والدین نر فاقد اطلاعات مفید برای برخی از نشانگرها هستند، انتخاب نشانگرها صورت گرفت. سرانجام، بر اساس اطلاعات مربوط به نقشه ژنتیکی گاو (Ihara et al., 2004) که در سامانه اینترنتی مرکز پژوهش‌های حیوانات گوستی ایالات متحده آمریکا قرار دارد (<http://www.marc.usda.gov>)، تعداد 284 نشانگر با توجه به محتوای چندشکلی، فاصله بین نشانگرها، تعداد آلل‌ها و آسانی استفاده از آنها انتخاب شدند. شش والد نر برای تمام 284 نشانگر مورد نظر تعیین ژنوتیپ شدند. والدین نر در 178 تا 206 جایگاه و به طور متوسط برای 189 نشانگر هتروزیگوت بودند، بنابراین تمامی نتایج بطور متوسط برای 189 نشانگر، تعیین ژنوتیپ شدند (جدول 2).

² CRIMAP

¹ Qiagen DNeasy Tissue Kit

جدول 2- تعداد نشانگرهای دارای اطلاعات مفید به ازاء هر خانواده به تفکیک گروه پیوستگی.

Mean	Max	Min	Family						Chromosome
			6	5	4	3	2	1	
8.5	8	7	8	7	8	8	7	7	1
9.8	14	7	10	14	8	12	7	8	2
8.2	10	7	7	8	8	10	7	9	3
9.0	9	8	10	8	8	9	9	10	4
6.7	8	5	7	8	6	5	6	8	5
5.5	8	4	6	5	5	4	5	8	6
7.8	9	6	8	7	9	8	6	9	7
7.3	9	6	7	8	7	7	6	9	8
8.5	9	8	8	9	8	9	8	9	9
6.7	7	6	7	7	7	6	6	7	10
9.3	13	6	9	6	12	13	7	9	11
5.7	7	4	6	5	6	6	7	4	12
7.5	9	6	9	6	6	7	9	8	13
6.7	8	5	8	8	7	6	5	6	14
8.0	9	7	8	8	8	9	7	8	15
7.8	11	5	11	5	6	9	8	8	16
7.3	9	4	8	4	7	8	8	9	17
7.2	8	6	8	8	7	7	6	7	18
5.5	8	3	6	5	8	6	3	5	19
6.2	8	4	7	4	7	6	8	5	20
5.8	8	3	6	3	7	6	8	5	21
5.7	8	4	8	6	4	4	6	6	22
4.5	7	3	6	4	3	7	3	4	23
3.3	4	2	4	4	3	2	4	3	24
3.5	5	2	3	5	4	4	3	2	25
4.2	6	2	6	4	2	5	4	4	26
3.8	5	3	3	3	5	5	4	3	27
4.3	5	4	5	4	5	4	4	4	28
5.7	7	3	7	5	6	6	7	3	29
189	206	178	206	178	187	198	178	187	Total

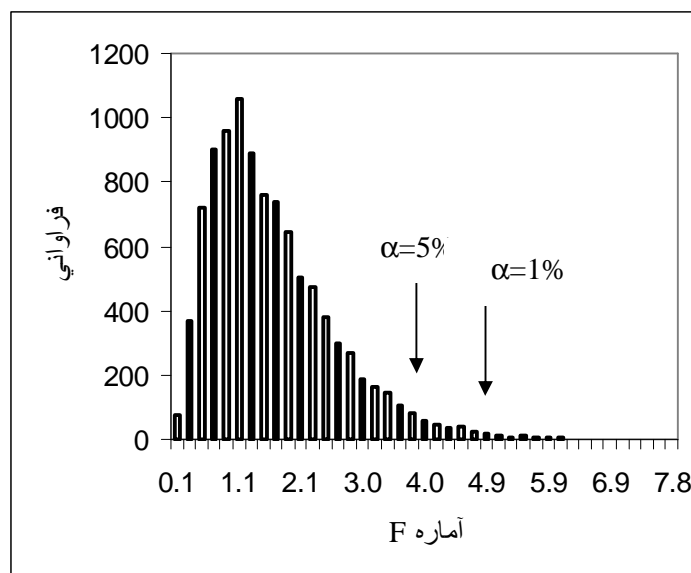
Table 2- Number of informative markers per family in each linkage group.

آنالیز آماری داده ها

وزن لاشه های بدست آمده در کشور نیوزیلند با استفاده از یک مدل آماری شامل اثرات ثابت گروه کشتار، جنس، سال، گله، نژاد مادر، تیپ تولد و اثر ژن میوستاتین تصحیح شدند. وزن لاشه های به دست آمده در استرالیا نیز با استفاده از یک مدل آماری شامل اثرات ثابت گروه کشتار (شش ترکیب جنس و سال)، نژاد مادر و اثر ژن میوستاتین تصحیح گردیدند. نتایج یک مطالعه قبلی بیانگر اثرات معنی دار یک جهش در ژن میوستاتین گاو بر صفات مختلف لاشه بود، لذا ژنوتیپ حیوانات برای این ژن نیز به صورت اثر ثابت در مدل های بالا وارد شد. برای برآزش مدل های آماری فوق از نرم افزار ای اس ریمل¹ (Gilmour et al., 2006) استفاده شد. باقیمانده مدل های آماری فوق با تقسیم بر انحراف معیار فنوتیپی داخل هر کشور، استاندارد شدند. پس از استنباط هاپلوتیپ های به ارث رسیده از هر نژاد از طریق والد نر، نقشه یابی درون فاصله ای مبتنی بر رگرسیون برای آنالیز QTL (Esmailizadeh et al., 2008; Knott et al., 1996) روی صفت استاندارد شده، انجام شد. آنالیز درون فامیلی و آنالیز پولد شده QTL در بین خانواده های مختلف

(Esmailizadeh et al., 2008) با استفاده از نرم افزار گراید کیو تی ال² (Seaton et al., 2006) انجام شد. آستانه های معنی دار با استفاده از روش آزمون تبدیل³ (Churchill & Doerge, 1994) تعیین شدند. این آزمون تبدیل، امکان تعیین آستانه های تجربی را در سطح کروموزوم یا کل ژنوم فراهم می نماید. افزون بر این، از آنجا که آزمون تبدیل یک آزمون تجربی است، وابسته به فرض استقلال آزمونها یا مفروضات مربوط به توزیع آزمون نمی باشد. برای انجام آزمون تبدیل، داده های ژنوتیپی نشانگرها به طور تصادفی به داده های فنوتیپی اختصاص داده شدند و آنالیز QTL با استفاده از مدل نقشه یابی درون فاصله ای روی داده های جدید انجام شده و حداکثر آماره F بدست آمده، ثبت شد. این عمل به تعداد ده هزار مرتبه تکرار گردید و در نهایت توزیعی از آماره های F حداکثر بدست آمد و آماره F مربوط به سطح احتمال 5% یا 1% از این توزیع F به عنوان مرز آستانه معنی دار در نظر گرفته شد. نتیجه یک آنالیز تبدیل برای تمام خانواده ها روی کروموزوم 14 در شکل 1 نشان داده شده است.

² GridQTL³ Permutation test¹ ASReml



شکل 1- نتیجه یک آنالیز تبدیل برای تمام خانواده ها روی کروموزوم 14 برای تعیین آستانه های معنی دار.

Figure 1- Result of a permutation analysis across all the families on chromosome 14 for determining the significant threshold values.

آزمون تبدیل در سطح کل ژنوم معنی دار بودند. در همه موارد، به غیر از کروموزوم 5 (BTA5) علامت اثر QTL در جهت مورد انتظار بود، یعنی آلل لیموزین منجر به افزایش وزن لاشه می شد (جدول 3). یک QTL در موقعیت 68 سانتی مورگان روی کروموزوم 3 (BTA3) (فاصله اطمینان 28 cM) با اثر بسیار معنی دار بر وزن لاشه، شناسایی شد. در این نقطه از ژنوم، مدارکی مبنی بر وجود QTL موثر بر گوشه قایل فروش لاشه (Casas et al., 2003; Casas et al., 2001) و میزان چربی لاشه (Casas et al., 2001) گزارش شده است.

برای برآورد فاصله اطمینان موقعیت QTL، از روش بوت استراپ¹ (Visscher et al., 1996) استفاده شد. نمونه گیری به تعداد 10000 مرتبه تکرار شد و پس از آنالیز هر نمونه بوت استراپ، بهترین برآورد موقعیت QTL ثبت گردید تا توزیع برآوردهای موقعیت QTL در طول کروموزوم، بدست آید.

نتایج و بحث

تعداد 5 کروموزوم حامل QTL مرتبط با وزن لاشه بودند. QTL های شناسایی شده روی کروموزوم های 3، 5 و 14 پس از تصحیح برای آزمون های چندگانه با استفاده از

¹ Bootstrap

جدول 3- محتمل ترین موقعیت و اندازه اثر QTL های شناسایی شده برای وزن لاشه گاو.

F statistic	QTL effect ²	Family	Marker ²	Location ¹	Chromosome
15.1 ^{**}	6.3	3	HUJ246	68	3
17.0 ^{**}	-8.0	2	BL37	52	5
12.4 ^{**}	5.8	3	TGLA272	97	10
14.2 ^{**}	6.6	1	BM302	40	14
6.2 [*]	6.6	2	BM302	40	14
6.1 [*]	4.1	3	BM302	40	14
6.0 [*]	4.5	4	BM302	40	14
5.9 [*]	3.3	5	BM302	40	14
6.4 [*]	4.4	6	BM302	40	14
7.3 [*]	5.7	2	BM1233	92	17
6.3 [*]	5.2	4	BM1233	92	17

¹ موقعیت QTL (سانتی مورگان) بر اساس نقشه ژنتیکی ریزماهواره ها (Ihara et al., 2004)، ² نزدیک ترین نشانگر به موقعیت QTL، ³ اثر QTL به صورت درصدی از میانگین صفت، * و ** به ترتیب اثر معنی دار QTL در سطح 5% و 1% پس از تصحیح برای آزمون های چندگانه در طول کروموزوم.

Table 3- Most probable location and the size of effect of the identified QTL for bovine carcass weight.

گزارش هایی در مورد QTL موثر بر صفات لاشه روی BTA5 وجود دارد (Casas et al., 2000; Mizoshita et al., 2004; Stone et al., 1999). گزارش شده که نشانگر BL37 با درصد استخوان و بازده لاشه مرتبط است (Stone et al., 1999). این نشانگر در موقعیت 52 سانتی مورگانی نسبت به سانترومر BTA5 واقع شده و در مطالعه حاضر مشخص شد که این نشانگر با وزن لاشه گرم، مرتبط است. QTL موثر بر سطح مقطع عضله راسته، ماربلینگ و تولید چربی روی کروموزوم 5 و در موقعیت ژنومی شناسایی شده در این پژوهش، نیز گزارش شده است.

(Casas et al., 2003). بنابراین، با وجود استفاده از ترکیب نژادی متفاوت (یک نژاد گوشتی و یک نژاد شیری) در پژوهش حاضر نسبت به پژوهش های بالا، این آزمایش قادر به تأیید تفرق این QTL برای وزن لاشه روی BTA5 بود. اگر چه این QTL در اکثر این پژوهش های در یک ناحیه ژنومی واقع شده است، اما به دلیل فاصله اطمینان نسبتاً زیاد موقعیت QTL (25-40cM)، ممکن است ژن های مختلفی در بروز صفات مختلف لاشه موثر باشند که در این ناحیه ژنومی قرار دارند. بنابراین، مطالعات بیشتری برای نقشه یابی دقیق تر این QTL و سرانجام شناسایی ژن یا ژن های

گزارش هایی در مورد QTL موثر بر صفات لاشه روی BTA5 وجود دارد (Casas et al., 2000; Mizoshita et al., 2004; Stone et al., 1999). گزارش شده که نشانگر BL37 با درصد استخوان و بازده لاشه مرتبط است (Stone et al., 1999). این نشانگر در موقعیت 52 سانتی مورگانی نسبت به سانترومر BTA5 واقع شده و در مطالعه حاضر مشخص شد که این نشانگر با وزن لاشه گرم، مرتبط است. QTL موثر بر سطح مقطع عضله راسته، ماربلینگ و تولید چربی روی کروموزوم 5 و در موقعیت ژنومی شناسایی شده در این پژوهش، نیز گزارش شده است.

وزن لاشه در موقعیت 44cM (Kim et al., 2003) و موقعیت 32-49cM (Mizoshita et al., 2004) روی این کروموزوم شناسایی شده است. افزون بر این، در یک پژوهش دیگر (Takasuga et al., 2007) نقشه یابی دقیق تر این QTL نیز انجام شده و فاصله اطمینان QTL به 1/1 Mb کاهش یافته است. QTL موثر بر صفات رشد نیز در گاوهای گوشتی در این ناحیه از BTA14 گزارش شده است (Miyata et al., 2007). تاکنون بیش از 40 مطالعه مستقل، حضور QTL موثر بر صفات اقتصادی مختلف در گاوهای شیری و گوشتی را روی کروموزوم 14 گزارش نموده اند و در یک مطالعه مروری (Wibowo et al., 2008) مشخص شده که در گاوهای شیری، بیشترین تراکم QTL های گزارش شده روی BTA14 در فاصله 0-10 سانتی مورگانی نسبت به سانترومر بوده و عمدتاً بر صفات مرتبط با تولید شیر موثر هستند. از طرفی در گاوهای گوشتی، اکثر QTL های شناسایی شده در فاصله 15-45 سانتی مورگان نسبت به سانترومر BTA14 بوده اند (Wibowo et al., 2008). از آنجا که با استفاده از جمعیت مورد مطالعه در این پژوهش، QTL موثر بر وزن تولد نیز در این نقطه از ژنوم شناسایی شد (Esmailzadeh et al., 2006) و با توجه به اثرات مشابه این QTL بر وزن تولد و وزن لاشه، احتمالاً استفاده از این نشانگر در انتخاب

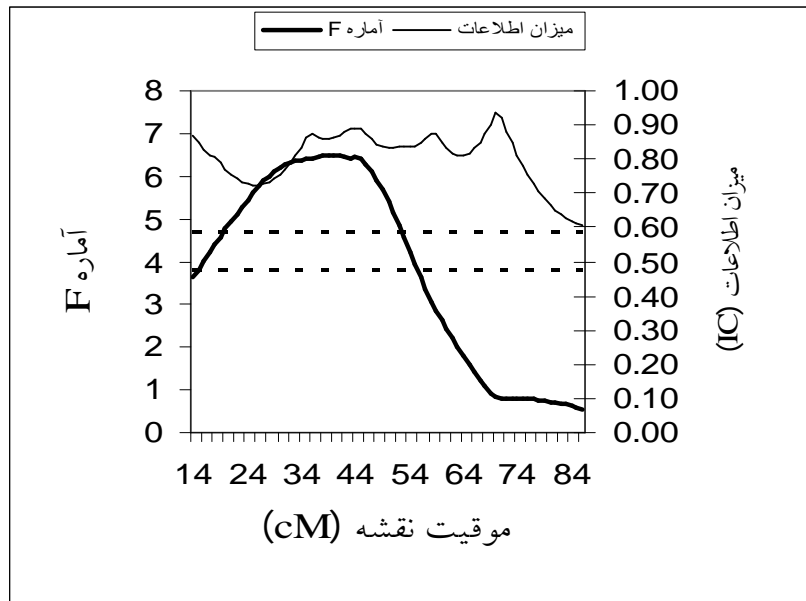
مسبب اثرات QTL برای صفات مختلف لاشه، ضروری است.

اگر چه پیشنهاد ژن های کاندیدا بر اساس نتایج این پژوهش به دلیل فاصله اطمینان نسبتاً زیاد برآورد موقعیت QTL (35 cM)، چندان صحیح نمی باشد، به هر حال این نکته قابل توجه است که ژن های *IGF-1* و *MYF-5* روی BTA5 و در نزدیکی موقعیت QTL شناسایی شده در این پژوهش قرار دارند و ممکن است عامل اثرات مشاهده شده QTL بر وزن لاشه باشند. برای مثال، ارتباط معنی داری بین یک جهش در ژن *IGF-1* و صفات لاشه در گاوهای گوشتی گزارش شده است (Curi et al., 2005).

یک QTL با اثر بسیار معنی دار روی کروموزوم 14 شناسایی شد که در همه خانواده ها تفرق حاصل می نمود، اما میزان اثر آن در خانواده های مختلف متفاوت بود (جدول 3). موقعیت نقشه یابی شده برای این QTL بر اساس مقدار بیشینه آماره F ، در آنالیز توام شش خانواده مورد مطالعه در فاصله 40 سانتی مورگان نسبت به ابتدای کروموزوم بود (شکل 2).

نکته قابل توجه در مورد QTL مکان یابی شده روی BTA14 این است که با وجود متفاوت بودن شرایط محیطی و پرورشی حیوانات در استرالیا و نیوزیلند، اثرات این QTL در هر دو محیط مشاهده شد. QTL موثر بر

برای بهبود وزن لاشه منجر به افزایش وزن تولد نیز خواهد شد. با این حال، پژوهش های بیشتری با هدف شناسایی جهش های عامل اثرات QTL در این نقطه از ژنوم ضروری است. تعداد زیادی ژن های کاندیدا در این ناحیه قرار دارند. یکی از آنها ژن *myc* است که یک ژن تحریک کننده سایر ژن های موثر بر رشد می باشد.



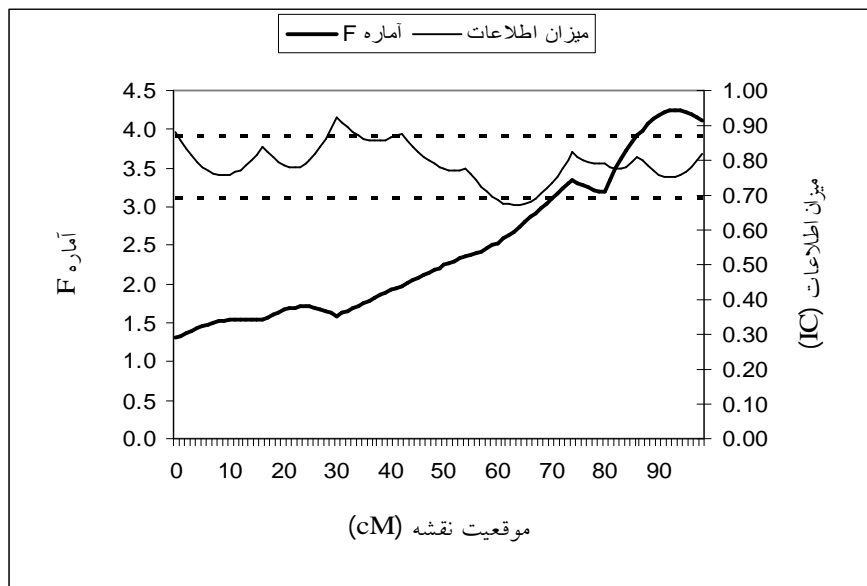
شکل 2- میزان اطلاعات مفید (IC) و مقادیر آماره F (پولد شده در بین شش خانواده) مربوط به برازش مدل رگرسیون وزن لاشه بر احتمال توارث هاپلوتیپ پدری در نقاط مختلف کروموزوم شماره 14 گاو. خطوط متقاطع افقی پایین و بالا به ترتیب آستانه های معنی دار کروموزومی در سطح 5% و 1% هستند.

Figure 2. Information content (IC) and F-profile (pooled across the six families) on bovine chromosome 14. The dotted lower and upper horizontal lines show the chromosome-wide significant 5% and 1% thresholds, respectively.

17، در موقعیت 92 سانتی مورگان (فاصله اطمینان 32 cM) نسبت به سانترومر بود (شکل 3). این اولین گزارش از QTL موثر بر وزن لاشه گاو روی کروموزوم 17 است. در مورد میزان اثرات QTL، این نکته قابل توجه است که

کروموزوم های 10 و 17 نیز حامل QTL موثر بر وزن لاشه بودند. QTL شناسایی شده روی کروموزوم 17 در دو خانواده از شش خانواده مورد مطالعه، تفرق حاصل می نمود. حداکثر آماره F به دست آمده روی کروموزوم

اثرات مشاهده شده (بدون در نظر گرفتن منشاء نژادی آلل) بین 3/3 تا 8/0 به واحد درصد میانگین یا 0/4 تا 0/8 به واحد انحراف معیار فوتویی بود. بنابراین، این آزمایش فقط توانایی تشخیص QTL متوسط تا زیاد اثر را داشته است.



شکل 3- میزان اطلاعات مفید (IC) و مقادیر آماره F (پولد شده در بین شش خانواده) مربوط به برازش مدل رگرسیون وزن لاشه بر احتمال توارث هاپلوتیپ پدری در نقاط مختلف کروموزوم شماره 17 گاو. خطوط متقاطع افقی پایین و بالا به ترتیب آستانه های معنی دار کروموزومی در سطح 5% و 1% هستند.

Figure 3. Information content (IC) and F-profile (pooled across the six families) on bovine chromosome 17. The dotted lower and upper horizontal lines show the chromosome-wide significant 5% and 1% thresholds, respectively.

ماهیت جوامع غیر خالص از جمله انسان و دام این است که اولاً "ممکن است یک QTL در تمام خانواده ها تفرق حاصل ننماید. ثانياً "ممکن است که میزان اثر QTL در خانواده های مختلف به دلیل متفاوت بودن نوع آلل تفرق یافته در خانواده ها، متفاوت باشد. لازم به یادآوری است که یکی از ویژگی های چنین جوامعی این است که در یک جایگاه ژنی ممکن است چندین آلل تفرق حاصل نمایند. از سوی دیگر ممکن است فاز پیوستگی QTL و نشانگر در خانواده های مختلف متفاوت باشد. بنابراین، استفاده از QTL های شناسایی شده در این پژوهش در برنامه های MAS برای وزن لاشه گاو احتمالاً "بسیار مشکل خواهد بود. بنابراین،

ماهیت جوامع غیر خالص از جمله انسان و دام این است که اولاً "ممکن است یک QTL در تمام خانواده ها تفرق حاصل ننماید. ثانياً "ممکن است که میزان اثر QTL در خانواده های مختلف به دلیل متفاوت بودن نوع آلل تفرق یافته در خانواده ها، متفاوت باشد. لازم به یادآوری است که یکی از ویژگی های چنین

سپاسگزاری

هزینه انجام این پژوهش را سازمان تحقیقات، علوم و فناوری نیوزیلند، دانشگاه آدلاید (استرالیا) و وزارت علوم، تحقیقات و فناوری ایران (دانشگاه شهید باهنر کرمان) تامین کرده اند. بخش هایی از این مقاله در ششمین همایش بیوتکنولوژی ایران به صورت سخنرانی ارائه شده است.

بهبود ژنتیکی وزن لاشه گاو با استفاده از انتخاب به کمک نشانگرهای متصل به این QTL ها نیازمند نقشه یابی دقیق تر QTL و همچنین بررسی اثرات آنها در داخل هر نژاد است. در این راستا یک راهبرد کارآمد، استفاده از تعداد بیشتری نتاج و افزایش تراکم نشانگرها در نواحی کاندیدای مشخص شده در این پژوهش، با هدف کاهش فاصله اطمینان موقعیت QTL خواهد بود.

منابع

1. Casas E, Shackelford SD, Keele JW, Koohmaraie M, Smith TPL, Stone RT (2003) Detection of quantitative trait loci for growth and carcass composition in cattle. *Journal of Animal Science* 81: 2976-2983.
2. Casas E, Shackelford SD, Keele JW, Stone RT, Kappes SM, Koohmaraie M (2000) Quantitative trait loci affecting growth and carcass composition of cattle segregating alternate forms of myostatin. *Journal of Animal Science* 78: 560-569.
3. Casas E, Stone RT, Keele JW, Shackelford SD, Kappes SM, Koohmaraie M (2001) A comprehensive search for quantitative trait loci affecting growth and carcass composition of cattle segregating alternative forms of the myostatin gene. *Journal of Animal Science* 79: 854-860.
4. Churchill GA, Doerge RW (1994) Empirical threshold values for quantitative trait mapping. *Genetics* 138: 963-971.
5. Curi RA, de Oliveira HN, Silveira AC, Lopes CR (2005) Association between IGF-I, IGF-IR and GHRH gene polymorphisms and growth and carcass traits in beef cattle. *Livestock Production Science* 94: 159-167.
6. Esmailizadeh KA, Mohammad Abadi MR, Asadi Foozi M (2008) Mapping quantitative trait loci in livestock using simple linear regression. *Iranian Journal of Animal Sciences* 39: 83-93.
7. Esmailizadeh KA, Pitchford WS, Bottema CDK, Verbyla AP, Gilmour AR (2006) Mapping multiple QTL for birth weight in cattle growth using a mixed model approach. In '8th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production'. Brazil. CDRom Article 20-17.
8. Gilmour AR, Gogel BJ, Cullis BR, Thompson R (2006) ASReml User Guide Release 2.0 VSN International Ltd, Hemel Hempstead, HP1 1ES, UK.
9. Green P, Falls K, Crooks S (1990) Documentation of CRI-MAP, Version 2.4. Washington University School of Medicine, St.Louis, MO.
10. Ihara N, Takasuga A, Mizoshita K, Takeda H, Sugimoto M, Mizoguchi Y, Hirano T, Itoh T, Watanabe T, Reed KM, et al. (2004) A comprehensive genetic map of the cattle genome based on 3802 microsatellites. *Genome Research* 14: 1987-1998.

11. Kim J-J, Farnir F, Savell J, Taylor JF (2003) Detection of quantitative trait loci for growth and beef carcass fatness traits in a cross between *Bos taurus* (Angus) and *Bos indicus* (Brahman) cattle. *Journal of Animal Science* 81: 1933-1942.
12. Knott SA, Elsen JM, Haley CS (1996) Methods for multiple-marker mapping of quantitative trait loci in half-sib populations. *Theoretical and Applied Genetics* 93: 71 - 80.
13. Koch RM, Cundiff LV, Gregory KE (1982) Heritabilities and genetic, environmental and phenotypic correlations of carcass traits in a population of diverse biological types and their implications in selection programs. *Journal of Animal Science* 55: 1319-1329.
14. MacNeil MD (2003) Genetic evaluation of an index of birth weight and yearling weight to improve efficiency of beef production. *Journal of Animal Science* 81: 2425-2433.
15. Meuwissen THE, Goddard ME (1996) The use of marker haplotypes in animal breeding schemes. *Genetics Selection Evolution* 28: 161-176.
16. Miyata M, Gasparin G, Coutinho LL, Martinez ML, Machado MA, Silva MVGB, Campos AL, Sonstegard TS, Rosário MF, Regitano LCA (2007) Quantitative trait loci (QTL) mapping for growth traits on bovine chromosome 14. *Genetics and Molecular Biology* 30 364-369.
17. Mizoshita K, Watanabe T, Hayashi H, Kubota C, Yamakuchi H, Todoroki J, Sugimoto Y (2004) Quantitative trait loci analysis for growth and carcass traits in a half-sib family of purebred Japanese Black (Wagyu) cattle. *Journal of Animal Science* 82: 3415-3420.
18. Montgomery GW, Sise JA (1990) Extraction of DNA from sheep white blood cells. *New Zealand Journal of Agricultural Research*. **33**: 437-441.
19. Seaton G, Hernandez J, Grunchev JA, White I, Allen J, De Koning DJ, Wei W, Berry D, Haley C, Knott S (2006) GridQTL: A Grid Portal for QTL Mapping of Compute Intensive Datasets. In 'Proceedings of the 8th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, August 13-18, 2006. Belo Horizonte, Brazil. '.
20. Spelman R, Bovenhuis H (1998) Genetic Response from Marker Assisted Selection in an Outbred Population for Differing Marker Bracket Sizes and with Two Identified Quantitative Trait Loci. *Genetics* 148: 1389-1396.
21. Stone RT, Keele JW, Shackelford SD, Kappes SM, Koohmaraie M (1999) A primary screen of the bovine genome for quantitative trait loci affecting carcass and growth traits. *Journal of Animal Science* 77: 1379-1384.
22. Takasuga A, Watanabe T, Mizoguchi Y, Hirano T, Ihara N, Takano A, Yokouchi K, Fujikawa A, Chiba K, Kobayashi N (2007) Identification of bovine QTL for growth and carcass traits in Japanese Black cattle by replication and identical-by- descent mapping. *Mammalian Genome* 18: 125-136.
23. Van Vleck LD, Cundiff LV, Wheeler TL, Shackelford SD, Koohmaraie M (2007) Across-breed adjustment factors for expected progeny differences for carcass traits. *Journal of Animal Science* 85: 1369-1376.
24. Visscher PM, Thompson R, Haley CS (1996) Confidence intervals in QTL mapping by bootstrapping. *Genetics* 143: 1013-1020.
25. Wibowo TA, Gaskins CT, Newberry RC, Thorgaard GH, Michal JJ, Jiang Z (2008) Genome assembly anchored QTL map of bovine chromosome 14. *International Journal of Biological Sciences* 4: 406-414.

A molecular genome scan to map quantitative trait loci affecting bovine carcass weight

Esmailizadeh K. A. ^{*}, Mohammadabadi M.R. ¹

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

Abstract

Genome scan to map quantitative trait loci (QTL) is one of the efficient strategies for molecular dissection of complex traits. QTL mapping is the first step toward the detection of genes responsible for quantitative traits variation. The objective of the present research was to identify QTL influencing carcass weight in cattle. Six Limousin × Jersey crossbred sires were mated to both Jersey and Limousin dams producing 782 backcross progeny. Six sires and all the progeny were genotyped for 189 microsatellite markers. Carcass weight (CWT) was pre-adjusted to account for known fixed effects including, slaughter group, sex, year, herd, dam breed, birth type and age of dam. Residuals were stored after standardization by dividing by the phenotypic standard deviation (σ_p). Linkage with standardized CWT was tested, using interval-mapping regression procedure. Three genome-wide significant QTL located on BTA3, 5 and 14 and two chromosome-wide significant QTL resided on BTA10 and 17 were identified for CWT. QTL located on BTA14 was segregating in all the six families. The QTL effects ranged from 0.4 to 0.8 in units of phenotypic standard deviation, thus the experiment had only a power to detect medium to large QTL.

Key words: *Carcass weight, Cattle, Genome, QTL.*

^{*} Corresponding author: A.Esmailizadeh K Tel: 09133958041 E-mail: aliesmaili@uk.ac.ir