مجله علوم دامی ایران
دوره ۴۳، شماره ۴، ۱۳۹۱ (۵۵۲-۵۳۹)

تجزیه جایگاه های ژنی (QTL)، مؤثر بر صفات کمی و کیفی الیاف پشم درگوسفند بلوچی

غلامرضا داشاب[1*]، علی اصغر اسلمی نژاد[2]، محمد رضا نصیری[3]، علی اسماعیلی زاده کشکوئیه[4] و داود علی ساقی[5]
۱، دانشجوی دکتری فردوسی مشهد و عضو هیات علمی دانشگاه زابل، ۲، ۳، استادیار و دانشیار دانشگاه فردوسی مشهد ٤، دانشیار دانشگاه شهید باهنر کرمان، ٥، عضو هیات علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی، مشهد
(تاریخ دریافت: ۹۱/۲/۱۰ – تاریخ تصویب: ۹۱/۱۰/۳۰)

چکیده

این تحقیق با هدف تایید تفرق QTL مؤثر بر صفات کمی و کیفی الیاف پشم در نژاد بلوچی، دربخش هایی از کروموزومهای ۱، ۵ و ۲۵ انجام شد. جمعیت مورد مطالعه شامل ۵۰۳ حیوان مربوط به ۱۳ خانواده ناتنی پدری بود که برای ۱۵ جایگاه ریز ماهواره ماهواره‌ای تعیین ژنوتیپ شدند. متوسط تعداد نتاج هر خانواده ناتنی پدری برابر با ۳۸ راس و دامنه تغییرات آن ١٦ تا ٥٩ راس بود. ١٤ صفت کمی و کیفی الیاف پشم بر روی دامها اندازه گیری شد. ١٤صفات این صفات کمی و کیفی الیاف پشم ازدر مرکز اصلاح نژاد گوسفند بلوچی در طی سالهای ۱۳۸۸ و ۱۳۸۹اندازه گیری شده است. داده های فنوتیپی برای اثرات ثابت شامل سال تولد، جنس بره، نوع تولد و سال پشم چینی تصحیح شدند. آنالیز ناحیه کروموزومی مرتبط با صفات کمی (QTL) به روش مکان یابی درون فاصله‌ای مبتنی بر رگرسیون و با دو مدل تک QTL و دو QTL انجام گرفت. با آنالیز درونی خانواده خانواده‌ها ششQTL برای صفات کمی و کیفی الیاف پشم بر روی کروموزوم ۱ شناسایی گردید، که این QTL QTLها مرتبط با درصد اختلاط الیاف (درصد الیاف حقیقی، کمپ و هتروتیپ)، ضریب تنوع قطر الیاف در بیده پشم و وزن بیده تمیز و ناشور بودند. آنالیز نشانگرهای کروموزوم ۵ یک QTL در موقعیت ۸۹cM مرتبط با درصد الیاف هتروتیپ و وزن بیده تمیز را شناسایی کرد. نهایتا بر روی کروموزوم ۲۵، تعداد هفتQTL شناسایی شد که مرتبط با صفات درصد اختلاط الیاف (درصد الیاف هتروتیپ، کمپ و حقیقی)، وزن بیده تمیز و ناشور، ضریب تنوع قطر الیاف و درصد الیاف با قطر ٥٠-٤٠ میکرومتر بودند.

واژه های کلیدی: نشانگرهای DNA، مکان مکان‌یابی ژنها، گوسفند بلوچی و صفات پشم

مقدمه

اکثریت قریب به اتفاق صفات مهم اقتصادی در دام و آبزیان، صفات کمی هستند، که داده‌های فنوتیپی آنها توزیع پیوسته دارند. در تلاش برای بیان تنوع ژنتیکی مشاهده شده در این صفات دو مدل توسط محققین ژنتیک تعریف شده است، مدل بینهایت کوچک نامحدود ژنی[1] و مدل با جایگاه‌های محدود[2]. در مدل بینهایت کوچک نامحدود ژنی، فرض بر این است که تعداد نامحدودی ژن یا عوامل مختلف صفت ر ا کنترل می کنند و سهم هر کدام از این ژنها در تظاهر فنوتیپ بسیار کوچک اما افزایشی است. این مدل پایه تئوری

1. Infinitesimal model
2. Finite loci model

* نویسنده مسئول: غلامرضا داشاب تلفن: ۰۹۱۵۵۴۴۱۴۷۹ E-mail: Dashab5@yahoo.com

های اصلاح دام در طی دو دهه گذشته بوده و نقش به سزایی در اصلاح نژاد و تولید دامهای برتر داشته است (Henderson, 1984). اما ثابت بودن مواد ژنتیکی قابل توارث هر حیوان (ژنوم) و این اعتقاد که تنها حدود ۲۰,۰۰۰ ژن در کل ژنوم وجود دارد، بدین معنی است که تعداد محدودی از جایگاه های ژنی در تنوع صفات نقش دارند. در حقیقت شواهد زیادی وجود دارد که نشان می دهد از تعداد کل جایگاه‌های مؤثر بر صفات کمی فقط تعداد محدودی ژن دارای اثرات بزرگ و بسیاری از آنها اثرات کوچک دارند (Hayes and Goddard, 2001). تئوری فوق موجب شکل گرفتن برنامه های نوین اصلاح نژاد شده است، به هر کدام از جایگاه‌هایی که سهمی در تنوع صفت کمّی دارند به طور عام یک QTL اطلاق می‌گردد. فن آوری‌های مولکولی به شکل نشانگرهایی که می‌توانند تفاوت افراد را در سطح DNA آنها نشان دهند، می‌توانند نقش مهمی در بهبود ژنتیکی صفات دارای مکانیسم پیچیده از طریق انتخاب به کمک نشانگر یا ژن داشته باشند.

در برنامه‌های اصلاح نژادی گوسفند جهت بهبود تولید پشم و کیفیت آن صفاتی مانند وزن بیده ناشور، وزن بیده تمیز، میانگین قطر الیاف، طول دسته الیاف و ضریب تنوع آنها مهمترین ملاک‌های انتخاب هستند. نرخ رشد در صفات پشم نسبت به سایر صفات سرعت کندی داشته است، اما در کشورهایی مانند استرالیا و نیوزیلند که نژادهای پشمی پرورش داده می‌شوند و صنایع تبدیلی شامل نساجی و قالیبافی توسعه پیدا کرده است و سفره های پشمی برای عرضه در بازار و فروش رتبه بندی می شوند، نرخ رشد متفاوت است و این کشورها توانسته‌اند علاوه بر افزایش تولید پشم پیشرفت قابل توجهی در تغییر صفات کیفی پشم برای اهداف خاص داشته باشند (Botkin, 1988).

اکثر صفات پشم دارای وراثت پذیری متوسط و بالا هستند، از این رو اگر در برنامه های اصلاح نژادی ملاک انتخاب قرار گیرند، می توان شاهد تغییرات قابل ملاحظه ای در این صفات در طی نسل های آینده بود. اما مشکلاتی وجود دارد که روند انتخاب و بهبود صفات بر پایه داده های فنوتیپی را کند می نماید. بعضی صفات پشم مانند استحکام الیاف یا اندازه گیری آنها مشکل یا پر هزینه است. همچنین به خاطر همبستگی‌های ژنتیکی منفی بین بعضی صفات بیده های پشمی و صفات پشم با صفات تولید مثلی و رشد موجب شده است تا تمایل به مطالعه ژنهای بزرگ اثر و مکان‌های ژنی کنترل کننده صفات کمی (QTL) در بین محققین برای صفات پشم افزایش پیدا کند و از این طریق تولید پشم و صفات کیفی سفره های پشمی بهبود پیدا نمایند (Iu and Carta, 2006).

در طی سالهای اخیر، تکنیک‌های بیولوژی مولکولی توسعه پیدا کرده و موجب گردیده است تا نقشه های جامع نشانگرهای DNA در سطح کل ژنوم در گونه‌ها مختلف حیوانی ترسیم گردند (Vaiman *et al*., 1996؛ Schibler *et al*., 1998؛ Maddox *et al*., 2001). نقشه های ژنتیکی و تکنیک‌های ژنتیک مولکولی این امکان را فراهم می‌آورد تا مکان‌های کنترل کننده صفات کمی و کیفی سفره‌های پشمی را شناسایی نمود. نشانگرهای ریز ماهواره‌ای حاصل از نقشه‌های فوق برای بررسی الگوی توارث قطعات ژنومی متصل به آنها در جمعیت های شجره دار استفاده می شوند. ارتباط آلل‌های نشانگر با داده‌های فنوتیپی صفت مورد مطالعه وجود مکان‌های ژنی کنترل کننده صفت (QTL) را تایید می‌کند. همچنین روش‌های آماری قوی و مؤثر مختلفی نیز مبتنی بر رگرسیون خطی برای تشخیص مکان‌های ژنی کنترل کننده صفات در جمعیت های ساده و پیچیده پیشنهاد شده است (Haley and Knott, 1992؛ Knott *et al*., 1998؛ de Koning *et al*., 2001). توانایی هر یک از روش‌های آماری برای شناسایی مکان ژنی کنترل کننده صفت (QTL) به میزان وراثت پذیری صفت و میزان اثر هر QTL بستگی دارد.

شناسایی QTLهای صفات کمی در گونه‌های اهلی به خصوص برای صفاتی که دارای ارزش اقتصادی هستند، موجب می گردد تا دقت برآورد ارزش اصلاحی دامها افزایش و فاصله نسلی کاهش یابد که نتیجه آن افزایش سرعت پیشرفت ژنتیکی در این صفات است (Spelman and Bovenhuis, 1998؛ Dekkers and Hospital, 2002). همچنین شناسایی QTL موجب شناخت بیشتر ژنها و علت تنوع صفات مهم دامها می گردد (Seaton *et al*., 2006).

نژاد بلوچی یک از مهمترین نژادهای بومی ایران است که نقش به سزایی درتولید گوشت و پشم در ایران ایفا می کند. جمعیت گوسفند و بز ایران به ترتیب حدود ۵۲ و ۱۹ میلیون راس شامل ۲۸ نژاد گوسفند و ۱۲ نژاد و سویه های مختلف بز است (ASRI, 2005)، که نژاد بلوچی حدود ۳۰ درصد جمعیت گوسفندان را تشکیل می‌دهد و گستردگی وسیعی در مناطق مختلف ایران از جمله شرق، شمال شرق، مرکز و جنوب شرق ایران دارد. محصول پشم این نژاد عمدتا برای تولید قالی استفاده می‌شود. پوشش این نژاد سفید رنگ و شرایط آب و هوایی سخت و متغیر را به خوبی تحمل می‌کند (ASRI, 2005).

با وجود این که تلاش‌های مختلفی در سطح دنیا برای شناسایی مکان‌های ژنی کنترل کننده صفات کمی و کیفی الیاف پشم صورت گرفته، اما در ایران در زمینه شناسایی مکان‌های ژنی کنترل کننده صفات پشم بر روی نژادهای بومی هیچ گزارشی در دسترس نیست. در صورت شناسایی جایگاه‌های ژنی مرتبط با صفات کمی (QTL)، می توان از روش‌های نوین انتخاب ژنتیکی بر مبنای تفاوت‌های افراد در سطح DNA آنها استفاده نمود. این تحقیق با هدف شناسایی جایگاه های ژنی کنترل کننده صفات کمی و کیفی الیاف پشم بر روی نژاد بلوچی با استفاده از خانواده‌های ناتنی پدری بر روی بخش‌های مشخصی از کروموزوم های ۱، ۵ و ۲۵ با استفاده از ۱۵ جایگاه ریز ماهواره‌ای انجام شد و همچنین تایید تفرق QTL مؤثر بر صفات پشم گزارش شده در سایر نژادها بر روی ژنوم گوسفند بلوچی است.

بررسی منابع

تعداد کروموزومهای گوسفند ۲۷جفت است که کروموزومهای ۱، ۲ و ۳ به نامهای OOV1، OOV2 و OOV3 نامگذاری گردیده و کروموزومهای متاسانتریک و سایر کروموزومها آکروسانتریک هستند. تا قبل از سال ۱۹۹۴ تنها موقعیت ۱۷ جایگاه در ژنوم گوسفند شناسایی شده بودند و در سال ۱۹۹۴، تعداد جایگاه‌های شناسایی شده به ۵۲ مکان رسید که عمده آنها را نشانگرهای ریز ماهواره‌ای و قطعات حاصل از هضم آنزیمی تشکیل می‌داد. در سال ۱۹۹۵ مجموعه تحقیقات یک گروه از متخصصین ژنتیک منجر به شناسایی ۲۴۶ نشانگر گردید (۸۶ نشانگر در گوسفند، ۱۲۶نشانگر در گاو و ۳۳جایگاه ژن). در سال ۱۹۹۸ استفاده ازنقشه های پیوستگی منجر به شناخت ۵۱۹ نشانگر شد (۴۰۲ نشانگر گاوی، ۱۰۱نشانگر گوسفندی و ۱۶ژن) و سطح ژنوم حدود ۲۰۷۰ سانتی مورگان برآورد گردید. نسل جدیدی از نقشه های پیوستگی اخیرا" گزارش گردیده است که نقشه های فوق شامل ۱۰۶۲ جایگاه است (۹۴۱ نشانگر ریزماهواره‌ای و ۱۲۱ ژن) و سطح کل ژنوم با احتساب کروموزوم‌های جنسی در جنس ماده ۳۴۰۰ سانتی مورگان تعیین شد (http://rubens.its.unimelb.edu.au/~jill/jill.html) و در نهایت آخرین نقشه‌های پیوستگی گزارش شده توسط ایالات متحده امریکا شامل ۱۴۹۲ جایگاه است (۱۰۹۸ نشانگر ریزماهواره‌ای، ۳۶۹ژن و ۲۵ نشانگر مربوط به چند شکلی گروههای خونی) که اطلاعات فوق در وب سایت های زیر قابل مشاهده است.

http://www.thearkdb.org و http://texas.thearkdb.org

باید به این نکته نیز توجه کرد که نقشه‌های پیوستگی تنها منجر به شناخت تعداد محدودی ژن گردیده است که بیانگر شناسایی مشکل آنها است (Cockett *et al*., 2001).

صفات کمی و کیفی پشم مانند قطر الیاف، ضریب تنوع قطر، طول دسته الیاف، وزن سفره‌های پشمی و استحکام الیاف مهمترین صفاتی هستند که در برنامه-های بهنژادی نژادهای پشمی از جمله نژاد بلوچی مورد توجه قرار می گیرد. اگرچه تمام صفات فوق واریانس پلی ژنیک نشان داده‌اند اما تحقیقات نشان داده است که ژنهای بزرگ اثر نیز این صفات را کنترل می کنند و یا ژنهای منفردی در ژنوم فرد وجود دارند که بخش قابل توجهی از واریانس ژنتیکی صفات فوق را توجیه می کند. Purvis and Franklin (2005)، اثبات کردند که بین ژن کراتین و صفاتی مانند قطر الیاف، ضریب تنوع قطر، استحکام الیاف و طول دسته الیاف ارتباط وجود دارد. Bidinost و همکاران (2006) در تحقیقی که بر روی نژاد مرینوس انجام داد وجود ژنهای کنترل کننده صفات کمی الیاف پشم را بر روی کروموزوم ۴ و ژنهای کنترل کننده صفات کیفی پشم را بر روی کروموزوم ۲۵ گزارش نمود. در تحقیق فوق از اطلاعات خانواده‌های

ناتنی نژاد مرینوس استفاده شد و تجزیه آماری آن مبتنی بر رگرسیون درون فاصله‌ای نشانگرهای ریز ماهواره‌ای بود و برای تعیین آستانه های معنی داری از روش تبدیلی (Permutation test) با ۱۰,۰۰۰ تکرار در فواصل ۱ سانتی مورگان برای تهیه نقشه‌های نهاییQTL استفاده شد. تحقیق فوق وجود ۴ مکان ژنی در کروموزوم ۴ مرتبط با صفات وزن بیده خام در سن ۱۱ ماهگی، وزن بیده خام در سن ۲۵ماهگی، وزن بیده تمیز در ۲۵ماهگی و طول دسته الیاف در موقعیت ۳۶ سانتی مورگان را تایید کردند و همچنین ۳ مکان ژنی برای صفات کیفی بر روی کروموزوم ۲۵ مرتبط با قطر الیاف و استحکام الیاف در موقعیت ۵۳ سانتی مورگان و ضریب تنوع قطر در موقعیت ۴۶ سانتی مورگان اثبات گردید. در آزمایش فوق از ۱۶ نشانگر استفاده شده بود که بر روی کروموزوم های ۳، ۴، ۱۱، ۲۵ قرار داشتند (Bidinost *et al*., 2006).

Parsons و همکاران (1994) گزارش کردند که بین ژن کراتین که تولید کننده پروتئین با درصد گلیسین-تیروزین بالا است و قطر الیاف پشم ارتباط وجود دارد. Beh و همکاران (2001) در تلاقی برگشتی نژاد مرینوس با رامنی اندازه اثر QTL گزارش شده در تحقیق Parsons و همکاران (1994) را ۳ میکرومتر تغییر در قطر الیاف گزارش کردند. پروتئین کراتین مهم‌ترین ترکیب ساختمانی الیاف پشم را تشکیل می دهد که نقش مهمی در رشد و ساختار الیاف دارد ژن‌های کراتین (Keratin genes) مهمترین ژنهایی هستند که در تحقیقات مختلف شناسایی و نقش آنها معلوم گردیده است دو هاپلوتیپ از این ژنها شناسایی گردیده که یکی به نام IF1 بر روی کروموزوم ۱۱ قرار دارد و دیگری به نام IF2 بر روی کروموزوم ۳واقع شده است (Cockett *et al*., 2002؛ Purvis and Franklin, 2005؛ Rogers *et al*., 1994).

Allain و همکاران (2006)، در مطالعه بر روی جمعیت حاصل از تلاقی دو نژاد لاکونه و ساردا (Lacaune and sarda) و با تجزیه مبتنی بر رگرسیون نشانگرهای چندگانه، جایگاه‌های ژنی متعددی برای صفات کمی و کیفی پشم گزارش نمودند که بر روی کروموزوم ۲۵ واقع شده و در نزدیکی نشانگر ARVH41 قرار دارند. همچنین تعدادی جایگاه QTL بر روی کروموزومهای ۱، ۳ و ۱۰ شناسایی گردید که صفاتی مانند وزن بیده خام و ضریب تنوع قطر را تحت تاثیر قرار می دهند.

Cano و همکاران (2007)، در مطالعه خانواده های ناتنی جمعیت بزهای آنقوره با استفاده از ۷۶ نشانگر ریز ماهواره‌ای در سطح ژنوم وجود جایگاه‌های ژنی کنترل کننده مرتبط با صفات میانگین و ضریب تنوع قطر بر روی کروموزومهای ۱ و ۱۳، درصد الیاف کمپ روی کروموزوم ۵، طول دسته الیاف و درصد الیاف هتروتیپ روی کروموزوم ۲ را گزارش کردند.

مواد و روش‌ها

حیوانات وصفات مورد مطالعه

جمعیت آزمایشی جهت مطالعه مکان‌یابی ژن‌ها شامل ۵۰۳ نتاج حاصل از ۱۳ خانواده ناتنی پدری از نژاد بلوچی بودند که از دو گله ایستگاه تحقیقات گوسفند بلوچی در مرکز شمال شرق ایران در طی سالهای ۱۳۸۷ و ۱۳۸۸ متولد شده اند. متوسط اندازه هر خانواده ۳۸ نتاج و دامنه آن شامل ۱۶ تا ۵۹ راس بودند. داده‌های فنوتیپی در طی دو سال پیوسته ۱۳۸۸ و ۱۳۸۹ جمع آوری گردید. تمام داده‌های فنوتیپی حاصل از قوچ ها، میش ها و نتاج آنها در آنالیز پارامتر های ژنتیکی مورد استفاده قرار گرفت. برای صفات کیفی الیاف پشم که دارای توزیع نرمال نبودند قبل از انجام آنالیز مکان‌یابی ژنها، برای بهبود توزیع خطای تصادفی تبدیل داده صورت گرفت (لگارتیم برپایه ۱۰، لگارتیم طبیعی و سینوسی).

صفات کیفی و میزان تولید پشم بر روی تمام نتاج اندازه گیری شد. از تمام نتاج در سن ۱۲ تا ۱۵ ماهگی، قبل از پشم چینی سالیانه، از پهلوی سمت چپ حیوان به ابعاد تقریبی ۳×۳ سانتی متر مربع نمونه برداری پشم انجام گرفت. طول دسته الیاف (SL)[1] با خط کش در قسمت میانی دام اندازه گیری شد. سپس دامها پشم چینی شده و پس از اتمام کار وزن بیده ناشور (GFW)[2]

1. Staple Length
2. Greasy Fleece Weight

بر حسب گرم اندازه گیری گردید و اطلاعات برای انجام کارهای بعدی ثبت شدند. نمونه‌های پشم گرفته شده در آزمایشگاه با مواد شوینده شسته شده و پس از شستشو و خشک شدن نمونه‌ها در شرایط آزمایشگاهی صفاتی مانند وزن بیده تمیز (CFW)[1]، درصد عملکرد پشم (YLD)[2] اندازه گیری شد. برای اندازه‌گیری میانگین قطر تار پشم (AFD)[3]، به طور تصادفی ۲ تا ۳ دسته الیاف از داخل نمونه بیرون کشیده و از قسمت میانی آنها به طول حدود ۱۵۰ تا ۲۰۰ میکرومتر برش‌هایی زده و آنها را با استفاده از گلیسرین بر روی لام تثبیت نمودیم و با استفاده از میکروسکوپ پروژکتینا قطر تارهای پشم بر حسب میکرومتر اندازه گیری شد. میانگین قطر الیاف هر نمونه بر حسب ۴۰۰ تار پشم محاسبه گردید. همچنین هنگام قرائت قطر الیاف پشم با استفاده از میکروسکوپ پروژکتینا نوع تار پشم نیز یادداشت برداری گردید. نهایتا از اطلاعات به دست آمده سایر صفات کیفی بیده شامل ضریب تنوع قطر الیاف (CVAFD)[4]، درصد الیاف با قطر کمتر از ۲۰ میکرومتر (FD20)، درصد الیاف با قطر بین ۲۰ تا ۳۰ میکرومتر (FD30)، درصد الیاف با قطر بین ۳۰ تا ۴۰ میکرومتر (FD40)، درصد الیاف با قطر بین ۴۰ تا ۵۰ میکرومتر (FD50)، درصد الیاف با قطر بیش از ۵۰ میکرومتر (FDUP50)، درصد الیاف حقیقی (TRUE)[5]، درصد الیاف هتروتیپ (HET)[6] و درصد الیاف مدولادار (MED)[7] محاسبه شدند.

تعیین ژنوتیپ نشانگرهای ریز ماهواره‌ای

بر اساس مطالعات قبلی گزارش شده برای مکان یابی ژن‌های کنترل کننده صفات کمی در گوسفند، تعداد ۱۵ نشانگر ریز ماهواره‌ای از آخرین نقشه پیوستگی گوسفند در وب سایت قابل دسترس (http://www.thearkdb.org/arkdb/) بر روی کروموزوم‌های ۱، ۵ و ۲۵ انتخاب گردید. مناطق ژنومی مورد مطالعه شامل بخش‌هایی از کروموزم ۱ (۸ نشانگر ریز ماهواره ای از ۸۰/۸ تا ۲۳۴/۶ سانتی مورگان)، کروموزوم ۵ (۴ نشانگر ریز ماهواره‌ای از ۱۲/۸ تا ۹۵/۷ سانتی مورگان) و کروموزوم ۲۵ (۳ نشانگر ریز ماهواره-ای از ۰ تا ۵۲/۶ سانتی مورگان) هستند. میانگین فاصله نشانگرها بر روی سه کروموزوم ۱، ۵ و ۲۵ به ترتیب برابر با ۱۹/۲۲، ۲۰/۷۲ و ۱۷/۵ سانتی مورگان بود و کل مناطق ژنومی مطالعه شده حدود ۲۸۹ سانتی مورگان است.

نمونه‌های خون از ۱۳ والد پدری به همراه تمام نتاج آنها از سیاهرگ وداجی گرفته شد و به منظور جلوگیری از انعقاد خون در د اخل لوله‌های آزمایشی از محلول EDTA ۵٪ به عنوان ضد انعقاد خون استفاده شد. نمونه‌های اخذ شده تا قبل از استخراج DNA در داخل فریزر در دمای ۲۰ - درجه سانتی گراد نگهداری گردید. استخراج DNA از نمونه‌های یخ زده با استفاده از کیت دیاتوم انجام گرفت. درجه خلوص DNA استخراج شده با استفاده از ژل آگارز و دستگاه نانو دراپ اسپکتروفتومتر تعیین شد. واکنش تکثیر DNA در حجم ۲۵ میکرو لیتر با ۵۰ تا ۸۰ نانو گرم DNA به عنوان ماده آغازین انجام گرفت. ترکیب محلول واکنش تکثیر DNA شامل آنزیم *Tag* DNA پلی مراز، dNTP، Tris-HCL، KCL و $MgCl_2$ بود. پروسه واکنش تکثیر DNA شامل دمای 95 ºC به مدت ۱۰ دقیقه بود که موجب واسرشته شدن DNA می‌گردد و سایر سیکل‌های دمایی به ترتیب ۹۴ ºC به مدت ۳۰ ثانیه، ۴۸ ºC تا ۶۲ºC به مدت ۵۵ ثانیه و۷۲ ºC به مدت ۳۰ ثانیه بود که برای ۳۵ بار تکرار شدند و نهایتا در آخرین سیکل دمایی در دمای ۷۲ºC به مدت ۳۰ دقیقه واکنش خاتمه یافت. خصوصیات رشته‌های آغازین، شرایط انجام آزمایش و دیگر اطلاعات لازم از سایت علمی دانشگاه ادینبورگ گرفته شده است (http://www.roslin.ed.ac.uk/). در ابتدا تمام والدهای پدری برای تمام نشانگرها تعیین ژنوتیپ شدند و در ادامه برای نشانگرهایی که والد مربوطه هتروزیگوت بود تمام نتاج آن والد نیز تعیین ژنوتیپ شدند.

محصول واکنش تکثیر DNA بر روی ژل آکریل آمید ۸ ٪ برده شد، سپس ژل‌ها خشک شده و از آنها تصویر گرفته شد و تصاویر گرفته شده برای شناسایی تعداد باندها و اندازه باندها مورد استفاده قرار گرفت. از

1. Clean Fleece Wieght
2. Yield Wool
3. Average Fiber Diameter
4. Coefficient of Variation of Average Fiber Diameter
5. True Fibers
6. Heterotype Fibers
7. Medullated Fibers

ladder ۲۰ نوکلئوتیدی (دامنه bp ۱۰۰ تا ۲۵۰) برای اندازه‌گیری اندازه باندها استفاده گردید.

تجزیه آماری مکان‌های ژنی کتترل‌کننده صفات کمی

در ابتدا با استفاده از رویه آنالیز واریانس و روش حداقل مربعات خطای آزمایشی عوامل ثابت معنی‌دار بر روی صفات کمی و کیفی الیاف پشم مشخص گردید (SAS Institute, version 9.2). کل اثرات ثابت موجود در معادله شامل سال تولد، جنس، نوع زایش و سال پشم چینی است. عوامل ثابت با اثرات معنی‌دار (P<۰/۰۵) بعدا" در مدل های آماری برای برآورد اثر QTL و جایگاه آن استفاده گردید.

آنالیز تک-QTL

آنالیز مکان‌یابی ژنی صفات کمی با استفاده از رگرسیون چندگانه نشانگرها در خانواده های ناتنی پدری بر اساس مکان‌یابی فاصله‌ای برای نشانگرهای مجاور هم انجام گرفت. روش فوق اساس روش وصف شده توسط نات و همکاران (Knott *et al*., 1996) است. برای این منظور از نرم افزار آن لاین GridQTL (Seaton *et al*., 2006)، استفاده شد. احتمال توارث آلل‌های پدری در فواصل ۱ سانتی مورگان برای هر کدام از نتاجشان محاسبه گردید. سپس از روی فراوانی آلل‌ها، فراوانی ژنوتیپ نشانگر هر فرد و والدش معین گردید و نهایتا فنوتیپ هر کدام از صفات پشم روی احتمال توارث در هر کدام از جایگاه‌ها در طول هر کروموزوم و در هر خانواده برگشت داده شد. برای محاسبه اثر هر کدام از آلل‌های مکان کنترل کننده صفت از آنالیز درون خانواده‌ای برای هر کدام از والدها استفاده شد. چون تمام والدهای پدری برای تمام جایگاه‌های کنترل کننده صفات کمی هتروزیگوت نیستند و ارتباط آلل‌های QTL با هاپلوتیپ پدری از یک والد پدری به والد دیگر تغییر خواهد کرد، این باعث می شود در هر مرحله برای هر کدام از رگرسیون‌ها یک نسبت F محاسبه شود که این نسبت در واقع مدل با اثرات QTL بر روی مدل بدون وجود QTL است. بهترین نقطه برای وجود یک QTL، نقطه ای است که بالاترین ضریب F را داشته باشد. سطح آستانه معنی‌داری برای اثبات معنی‌داری QTL از تست تبدیلی permutation و برای محاسبه دامنه اطمینان ۹۵ درصد از بوت استراپ (bootstraping) با ۱۰۰۰۰ تکرار نمونه برداری استفاده شد (Visscher *et al*., 2007؛ Doerge and Churchill, 1996). تمام آنالیزهای فوق با نرم افزار GridQTL (Seaton *et al*, 2006) انجام شد.

مدل دو- QTL . برای صفاتی که مدل تک– QTL معنی‌دار شد همچنین مدل دو-QTL هم در هر سه کروموزوم اجرا گردید (Seaton *et al*., 2006).

نتایج

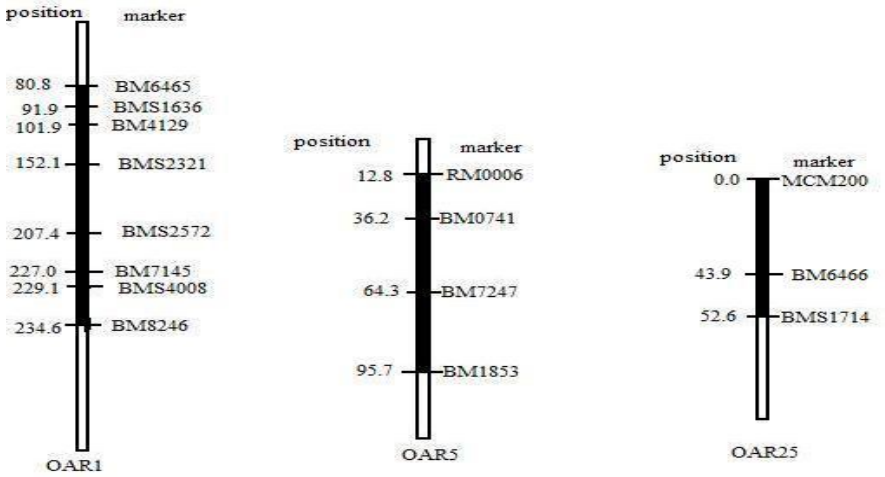
از تمام اثرات ثابت موجود در معادله، سال تولد بر اکثر صفات بیده به استثناء درصد الیاف هتروتیپ، درصد الیاف مدولا دار، درصد الیاف حقیقی و درصد الیاف با قطر بین ۴۰ تا ۵۰ میکرومتر اثر معنی دار داشت (P<۰/۰۱). جنس بره‌ها تنها بر وزن بیده ناشور، تمیز و طول دسته الیاف را تاثیر معنی‌دار داشت (P<۰/۰۵). میانگین قطر الیاف در بین دو گله ایستگاه اختلاف معنی دار داشتند که این امر به واسطه تفاوت معیارهای انتخاب در دو گله می باشد که گله یک بیشتر معیار انتخاب آن در طی سالهای مختلف افزایش راندمان تولید مثل و بهبود کمیت و کیفیت گوشت بوده است، اما ملاک انتخاب در گله دو بیشتر برای کیفیت الیاف انجام گرفته است.

سال پشم چینی همچنین اثرات معنی‌دار بر وزن بیده تمیز و ناشور، طول دسته الیاف و درصد الیاف با قطر بین ۳۰ تا ۴۰ میکرومتر داشت. نوع زایش (تک قلو، دوقلو و چند قلو) اثرات معنی‌داری روی هیچ کدام از صفات نشان نداد.

بر اساس بررسی مطالعات انجام گرفته، بخش‌های مشخصی از کروموزوم های ۱، ۵ و ۲۵ برای انجام تجزیه QTL انتخاب شدند (شکل۱). بعد از تعیین ژنوتیپ والد ها و نتاج آنها برای نشانگرهایی که هتروزیگوت بودند تجزیه QTL بر پایه درون فاصله‌ای نشانگرهای مجاور هم در خانواده‌های ناتنی پدری انجام گرفت. قبل از انجام تجزیه آماری لازم است تا آلل پدری به ارث رسیده به نتاج را مشخص نمود.

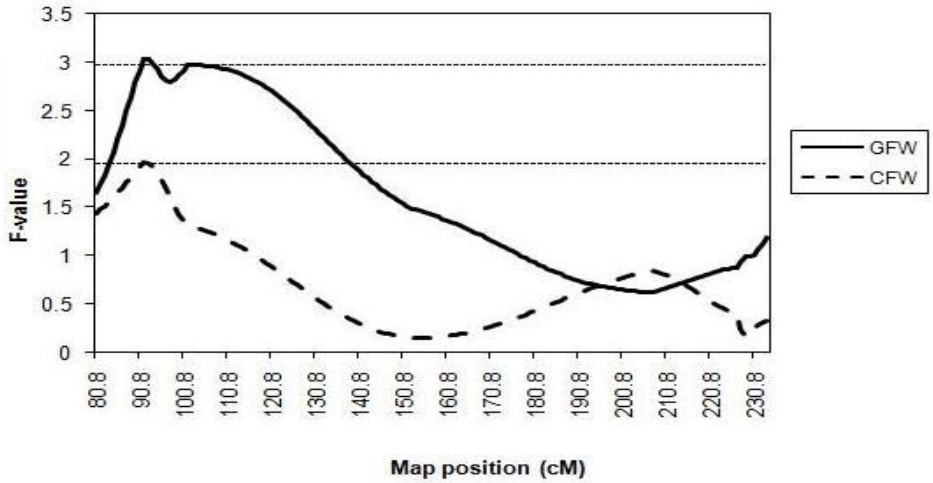
با تجزیه مبتنی بر رگرسیون اختلاف بین گروه‌های ژنوتیپی در نقطه‌ای که بالاترین

میـــــزان آمـــــاره F را نشـــان داد به عنـــوان جایگـــاه QTL در نظر گرفتـــه شـــــد.



شکل ۱- مناطق کروموزومی در نظر گرفته شده جهت تجزیه QTL

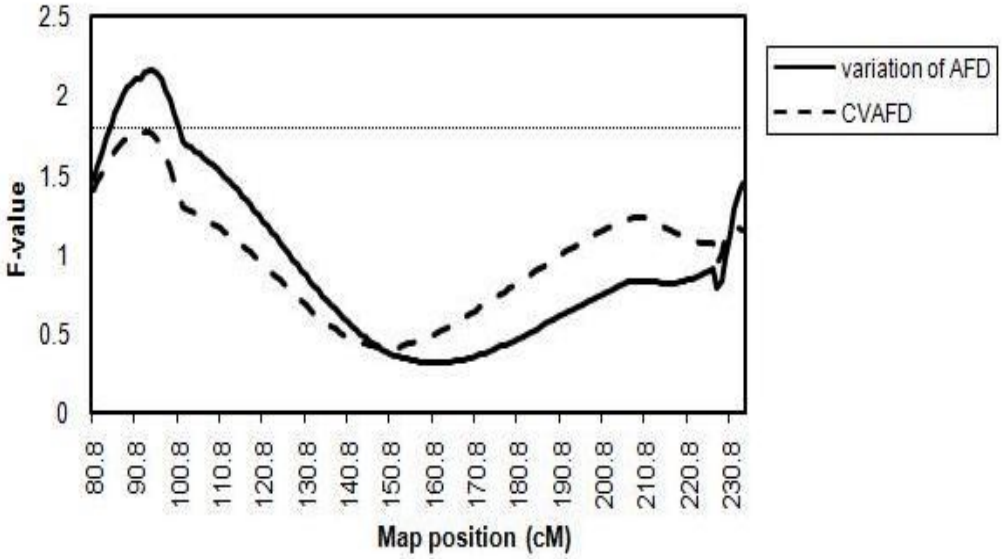
مطالعه فوق در شناسایی مکان‌های ژنی کنترل کننده صفات کمی و کیفی الیاف پشم نژاد بلوچی موفقیت آمیز بود (جدول 1 و شکل‌های ۲ تا ۷). کروموزوم یک تعداد ۶ مکان ژنی کنترل کننده برای صفات وزن بیده تمیز، وزن بیده ناشور، ضریب تنوع قطر، درصد الیاف حقیقی، درصد الیاف مدولادار و درصد الیاف هتروتیپ به ترتیب در موقعیت های ۹۲، ۹۳، ۹۵، ۹۶ ، ۱۵۲ و ۲۲۸ سانتی مورگان شناسایی شد. تمام جایگاههای فوق بر اساس آستانه معنی‌داری نقطه‌ای (Single-position permutation) و آزمایشی (Experimental-wide) معنی‌دار بودند، اما بر اساس آستانه معنی‌داری در سطح کروموزوم (Chromosome-wide permutation) تنها ۴ مکان ژنی تایید گردید (جدول 1).



شکل۲- جایگاه QTL وزن بیده ناشور(GFW) و تمیز (CFW) بر روی کروموزوم ۱
(خط های نقطه چین افقی با لا و پایین به ترتیب سطح آستانه معنی داری در سطح کروموزوم ۰/۰۵ و ۰/۰۱ است).

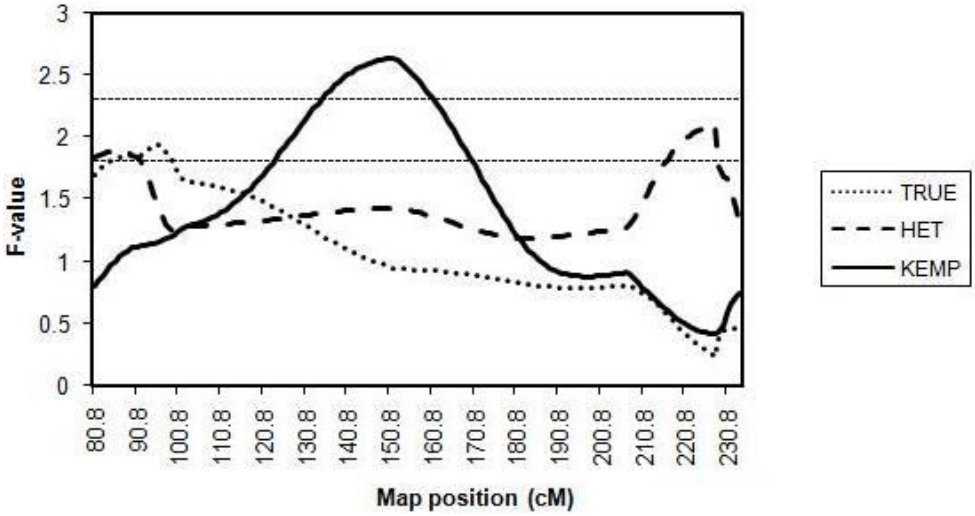
موقعیت های شناسایی شده برای مکان های ژنی کنترل کننده بعضی صفات یکسان یا بسیار نزدیک به هم بودند از جمله موقعیت ضریب تنوع قطر الیاف و طول دسته الیاف که دارای مکان مشابه در محل ۹۴

سانتی مورگان کروموزوم یک قرار دارند و همچنین موقعیت های ژنی صفات وزن بیده تمیز و ناشور بسیار نزدیک به هم شناسایی گردیدند (به ترتیب ۹۲ و ۹۳ سانتی مورگان) که با توجه به همبستگی ژنتیکی بسیار بالای وزن بیده تمیز و ناشور ممکن ژن یا ژنهای مشابه ای مسئول کنترل هر دوی این صفات باشند.



شکل ۳- موقعیت جایگاه QTL صفات میانگین قطر الیاف (AFD) و ضریب تنوع آن (CVAFD) بر روی کروموزوم ۱ .(خط نقطه چین افقی سطح آستانه معنی داری در سطح کروموزوم ۰/۰۵ است)

کروموزوم ۵ وجود دو مکان ژنی کنترل کننده صفات درصد الیاف هتروتیپ و وزن بیده تمیز در موقعیت ۸۸ سانتی مورگان نمایان ساخت، که تنها مکان ژنی صفت وزن بیده تمیز با هر سه سطح آستانه معنی داری نقطه ای، آزمایشی و درسطح کروموزومی تایید گردید (P<0/05).

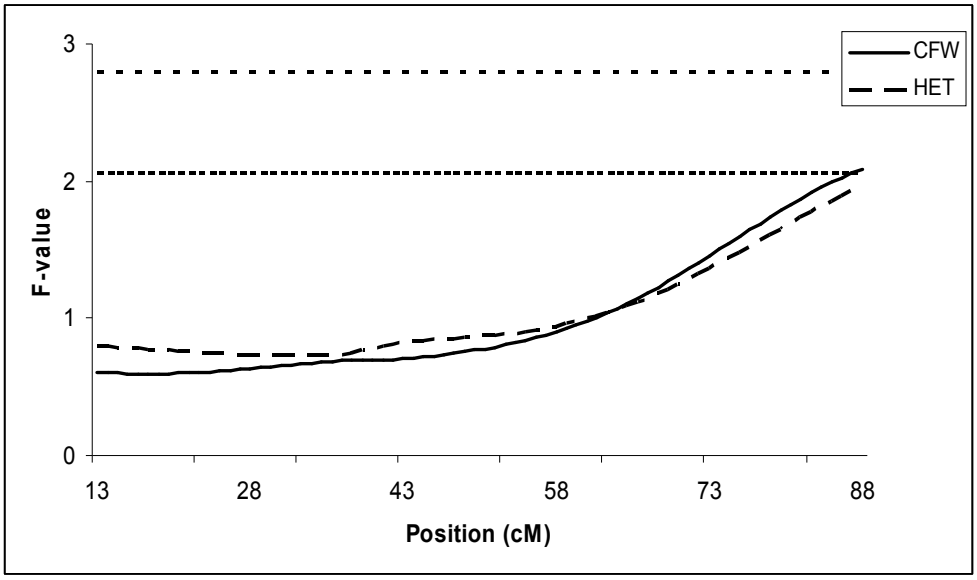


شکل۴- جایگاه ژنی کنترل کننده صفات کیفی الیاف پشم بر روی کروموزوم ۱
(خط های نقطه چین افقی با لا و پایین به ترتیب سطح آستانه معنی داری در سطح کروموزوم ۰/۰۵ و ۰/۰۱ است)

جدول۱- تایید تفرق جایگاه های ژنی کنترل کننده صفت کمی در نژاد بلوچی

فاصله اطمینان (95%)	اثر QTL (انحراف معیار فنوتیپی)	والد پدری	F-value (chromosome-wide thresholds)	صفت	موقعیت (cM)	کروموزوم
81-230	0/56	1314	3/12 (2/4, 2/9) **	GFW	92	1
	0/41	1414				
81-232	0/49	1314	1/97 (2/2-2/9) NS	CFW	92	
81-230	0/50	1062	2/2 (2/2-2/9) *	CVFD	95	
81-232	0/59	2348	1/95 (2/2-2/7) NS	TRUE	96	
85-233	1/47	1001	2/64 (2/3, 2/9) *	KEMP	152	
81-232	1/56	1433	2/11 (2/06-2/9) *	HET	228	
19-88	0/97	2382	2/09 (2/06, 2/5) *	CFW	88	5
13-88	0/67	2382	1/97 (2/2-2/8) NS	HET	88	
4-52	0/75	1414	3/26 (2/2, 2/9) **	GFW	23	25
	0/57	1314				
16/5-52	1/35	1001	2/57 (2/2, 2/8) *	TRUE	28	
	0/91	1414				
0-52	1/96	1414	3/46 (2/2, 2/9) **	KEMP	32	
	1/06	1062				
0-52	1/06	1414	2/4 (2/2, 2/8) *	FD50	35	
	1/44	1001				
20-52	2/0	1001	2/83 (2/3, 2/9) *	HET	42	
	0/33	1414				
0-52	0/79	2310	2/01 (2/0-2/9) *	CFW	46	
0-52	0/92	2310	2/18 (2/1, 2/8)*	CVFD	52	
	1/21	1001				

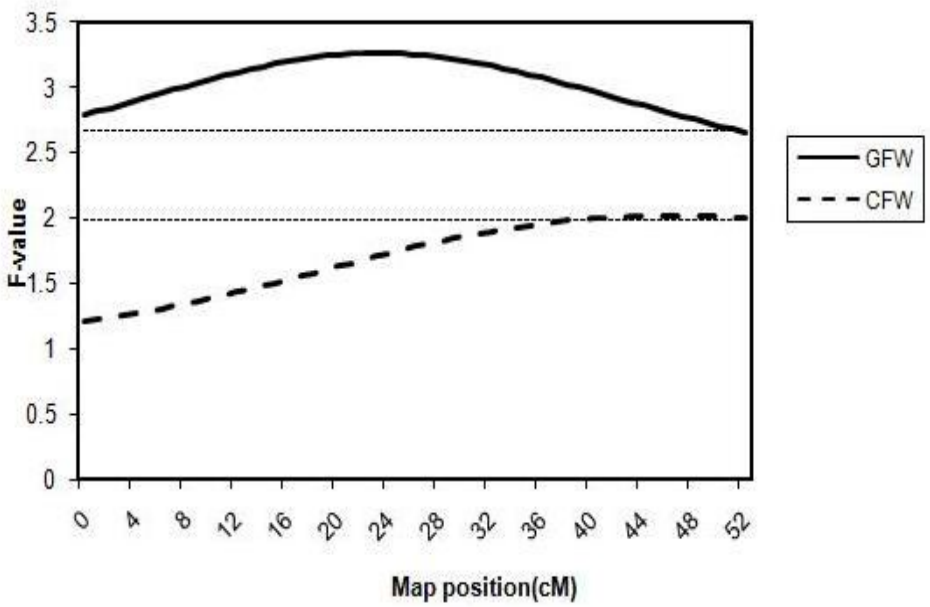
***و ** سطح احتمال معنی داری به ترتیب ۰/۰۵ و ۰/۰۱ و NS غیر معنی دار است**



شکل ۵- موقعیت QTL های وزن بیده تمیز و درصد الیاف هتروتیپ بر روی کروموزوم ۵
(نقطه چین افقی سطح آستانه معنی داری ۰/۰۵ در سطح کروموزوم است)

اثرات ژنی آلل های مختلف مکان ژنی کنترل کننده صفت درصد الیاف هتروتیپ در والد ۲۳۸۲ برابر با ۰/۶۷ انحراف معیار فنوتیپی و برای صفت وزن بیده تمیز در والد پدری ۲۳۸۲ برابر با ۰/۹۷ انحراف معیار

فنوتیپی برآورد گردید. کروموزوم ۲۵ وجود جایگاه های ژنی کنترل کننده بسیار معنی‌دار برای صفات درصد اختلاط الیاف (درصد الیاف هتروتیپ، درصد الیاف مدولادار و درصد الیاف حقیقی) و وزن بیده ناشور را نشان داد که با هر سه روش تست تبدیلی معنی دار هستند (P<۰/۰۱). هفت مکان ژنی بر روی کروموزوم ۲۵ شناسایی گردید که عبارتند از: وزن بیده ناشور در موقعیت ۲۳ سانتی مورگان با اثرات QTL ۰/۵۷ تا ۰/۷۵ انحراف معیار فنوتیپی در والد های ۱۴۱۴ و ۱۳۱۴ (P<۰/۰۱)، درصد الیاف حقیقی در موقعیت ۲۸ سانتی مورگان با اثرات QTL ۰/۹۱ تا ۱/۳۵ انحراف معیار فنوتیپی در والد های ۱۰۰۱، ۱۴۱۴ و ۱۰۶۲ (P<۰/۰۱)، درصد الیاف مدولادار در موقعیت ۳۲ سانتی مورگان با اثرات QTL ۱/۰۶ تا ۱/۹۶ انحراف معیار فنوتیپی در والد های ۱۴۱۴ و ۱۰۶۲ (P<۰/۰۱)، درصد الیاف هتروتیپ در موقعیت ۴۲ سانتی مورگان با اثرات QTL ۰/۳۳ تا ۲ انحراف معیار فنوتیپی در خانواده‌های ۱۰۰۱ و ۱۴۱۴ (P<۰/۰۱)، درصد الیاف با قطر بین ۴۰ تا ۵۰ میکرومتر در موقعیت ۳۵ سانتی مورگان با اثرات QTL ۱/۰۶ تا ۱/۴۴ انحراف معیار فنوتیپی در والدهای ۱۰۰۱ و ۱۴۱۴ (P<۰/۰۵)، وزن بیده تمیز در موقعیت ۴۶ سانتی مورگان با اثرات QTL ۰/۵۵ تا ۰/۷۹ انحراف معیار فنوتیپی در والدهای ۲۳۱۰ و ۱۴۱۴ (P<۰/۰۵)، و ضریب تنوع قطر الیاف در موقعیت ۵۲ سانتی مورگان با اثرات QTL ۰/۹۲ تا ۱/۲۱ انحراف معیار فنوتیپی در والدهای ۱۰۰۱ و ۲۳۱۰ (P<۰/۰۵).



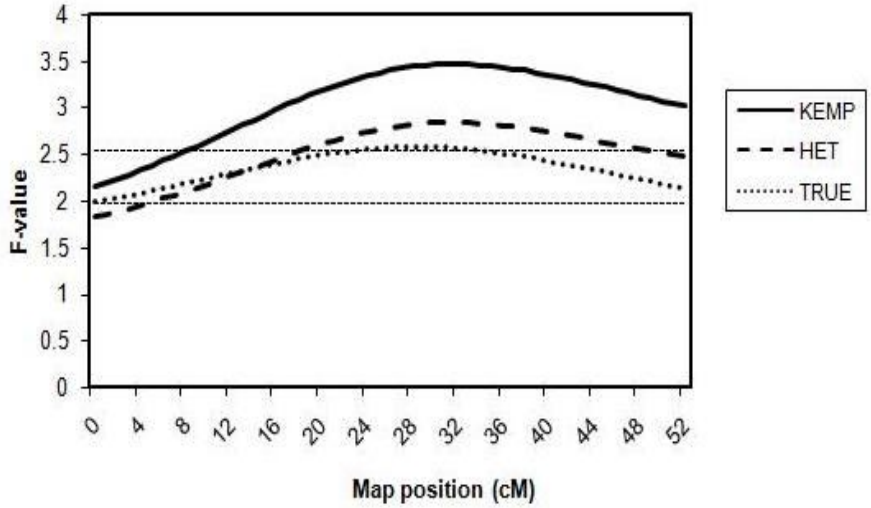
شکل ۶- جایگاه ژنی صفات وزن بیده تمیز و ناشور بر روی کروموزوم ۲۵
(خط های نقطه چین افقی با لا و پایین به ترتیب سطح آستانه معنی داری در سطح کروموزوم ۰/۰۵ و ۰/۰۱ است)

اثر QTL بر اساس انحراف معیار فنوتیپی در والد هایی که اثر معنی‌داری دارند در جدول ۱ ارائه شده است.

دامنه اثر QTL در والد های مختلف از ۰/۳۳ تا ۲ واحد انحراف معیار فنوتیپی متغیر بود. والد هایی که نتاج کمتری دارند ممکن است اثر QTL در خانواده بیش از حد انتظار برآورد گردیده باشد. فاصله اطمینان برای تمام جایگاه های QTL با روش بوت استراپ (Bootstraping) با ۱۰۰۰۰ تکرار انجام شد که نتایج آن در آخرین ستون جدول ۱ ارائه شده است.

چون فاصله نشانگرها در تمام مناطق ژنومی مطالعه شده نسبتا زیاد است (حدود ۲۰ سانتی مورگان)، لذا در

اکثر مواقع فاصله اطمینان QTL تمام قطعه کروموزومی مطالعه شده را در بر می گیرد.



شکل ۷- جایگاه ژنی صفات درصد اختلاط الیاف بر روی کروموزوم ۲۵
(خطوط افقی نشان دهنده بالا و پایین به ترتیب سطوح آستانه معنی داری ۰/۰۵ و ۰/۰۱)

نتایج تجزیه مدل با ۲-QTL نشان داد که بر روی کروموزوم ۱ برای بعضی از صفات پشم دو جایگاه ژنی کنترل کننده وجود دارد که در بعضی صفات مانند وزن بیده تمیز و ناشور بسیار نزدیک هم هستند و ممکن است مربوط به یک ژن باشند و یا جهش هایی است که در ساختار یک ژن رخ داده و عدم تعادل به وجود آمده بین این نقاط جهش یافته و جایگاه های نشانگر توانسته اند موجب تنوع در این صفات گردند. جایگاه های شناسایی شده برای صفات درصد الیاف با قطر کمتر از ۲۰ سانتی مورگان، درصد الیاف با قطر بین ۳۰-۲۰ سانتی مورگان، ضریب تنوع قطر و درصد الیاف هتروتیپ از هم فاصله دارند که ممکن است بخش های از ژن های مختلف باشند (جدول ۲).

جدول۲- نتایج مربوط به تجزیه مدل با ۲-QTL مرتبط با صفات پشم بر روی کروموزوم ۱

صفت	ارزش F (2QTL vs. 0QTL)	ارزش F (2QTL vs. 1QTL)	موقعیت QTL۱ (cM)	موقعیت QTL2 (cM)
درصد الیاف با قطر کمتر از ۲۰ میکرومتر	1/91 NS	11*/2	94	176
درصد الیاف با قطر ۳۰-۲۰ میکرومتر	1/93 NS	2/16*	93	179
وزن بیده ناشور	2/33*	1/50 NS	91	103
وزن بیده تمیز	1/66 NS	1/33 NS	93	191
ضریب تنوع قطر	1/97 NS	2/08*	95	183
درصد الیاف هتروتیپ	2/04*	1/93 NS	88	228
میانگین قطر الیاف	1/57 NS	1/48 NS	96	207
درصد الیاف مدو لادار	1/64 NS	0/65 NS	91	126
درصد الیاف حقیقی	1/55 NS	1/14 NS	98	132

*سطح معنی داری (Single-position permutation test , P<0.05)؛ NS اختلافات غیر معنی دار است

بحث

شناسایی و تایید QTL در جمعیت های تجاری اولین گام در استفاده از انتخاب به کمک نشانگرها (MAS) می‌باشد. مهمترین مزیت استفاده از انتخاب ژنتیکی، افزایش دقت برآورد ارزش اصلاحی دامها و کاهش فاصله نسلی است که متعاقب آن نرخ رشد

ژنتیکی را افزایش می دهد (Dekkers and Hospital, 2002). در مطالعه اخیر ۱۵ مکان ژنی (QTL) برای صفات پشم بر روی کروموزوم‌های ۱ (ششQTL) کروموزوم ۵ (دو QTL) و کروموزوم ۲۵ (هفت QTL) در نژاد بلوچی شناسایی شد.

مکان‌های ژنی کنترل‌کننده درصد الیاف حقیقی، هتروتیپ و مدولادار بر روی کروموزوم ۱ تشخیص داده شد که این مکان هـــا مجـــزا از هم هستنـــد و به نظر می رسد توسط ژن یا ژن های مختلفی کنترل می شوند.

بر روی کروموزوم ۱ یک مکان ژنی برای ضریب تنوع قطر الیاف تشخیص داده شد. Cano و همکاران (2007)، یک مکان ژنی برای صفت ضریب تنوع قطر بر روی کروموزوم ۱ در موقعیت ۹۶ سانتی مورگان در نژاد بز گزارش نمودند به واسطه تشابه ای که در ساختار ژنتیکی گوسفند و بز وجود دارد (Maddox, 2005)، تایید می گردد که می بایست یک QTL کنترل کننده صفت قطر الیاف در این ناحیه از کروموزوم ۱ وجود داشته باشد.

در گوسفند گزارش‌های متعددی در ارتباط با پیوستگی ژنها و مکان‌های ژنی با صفات تولیدی پشم وجود دارد (Purvis and Franklin, 2005؛ Bray *et al*., 2002؛ Ponz *et al*., 2001). Rogers و همکاران (1994)، در مطالعه آمیخته های رومنی× مرینوس وجود یک QTL مرتبط با استحکام الیاف بر روی کروموزوم ۳ گزارش نمودند. Allain و همکاران (1998)، QTL هایی برای ضریب تنوع قطر و طول دسته الیاف بر روی کروموزوم های ۳ و ۴ شناسایی نمودند. Beh و همکاران (2001)، یک QTL مرتبط با طول دسته الیاف بر روی کروموزوم ۱ شناسایی نمود. همچنین QTLهای مرتبط با صفات پشم بر روی کروموزوم های ۱ در سایر جمعیت ها نیز تایید شده است (Bidinost *et al*., 2006؛ Allain *et al*., 2008). مکان های ژنی شناسایی شده برای صفات پشم روی کروموزوم ۱ می تواند مربوط به ژنهای کنترل کننده پروتئین کراتین پشم (KRT) و سایر ژن های مرتبط با کراتین (KRTAP) است که مجموعه این ژن ها توسط McLaren و همکاران (1997)، شناسایی گردید. الیاف کمپ موجود در بیده های پشم، الیاف مدولاداری هستند که در قسمت میانی به خاطر کمبود گوگرد در پروتئین فیلامنت میانی آن به صورت یک کانال پیوسته هوا دیده می شود. مکان های ژنی شناسایی شده بر روی کروموزوم ۱ گوسفند، یکی از مجموعه ژن‌های کنترل کننده پروتئین کراتین (KAP, KAP7 and KAP8) هستند که در تشکیل ماتریکس اطراف کورتکس میکروفیبریل های الیاف پشم نقش مؤثری دارند (Parsons *et al*., 1993؛ and Crawford, Ede 1995؛ McLaren *et al*., 1997). همچنین یکی دیگر از پروتئین‌های فولیکول‌های پشم یعنی تریکوهیالین (THH) توسط یک ژن منفرد کنترل می-شود که بر روی کروموزوم ۱ واقع شده است (McLaren *et al*., 1997). همبستگی بین مجموعه ژنهای کنترل کننده پروتئین کراتین و میانگین قطر الیاف در نژاد مرینوس گزارش شده است (Parsons *et al*., 1994). Beh و همکاران (2001) وجود ارتباط بین ژن‌های کراتین (KAP6 وKAP8) و میانگین قطر الیاف را در آمیخته‌های حاصل از تلاقی برگشتی مرینوس و رامنی گزارش کردند. لذا مجموعه ژنهای کنترل کننده کراتین پشم و سایر ژنها مرتبط با پروتئین کراتین می‌تواند بهترین گزینه برای QTLهای شناسایی شده برای صفات پشم در روی کروموزوم یک در نژاد بلوچی باشد.

آنالیز قطعه کروموزومی ۵ وجود دو مکان ژنی برای وزن بیده تمیز و درصد الیاف هتروتیپ را نشان داد. که این مکان مکان‌های ژنی می‌تواند بخش‌هایی از ژنهای KRT8 , KRT1B باشند که در گوسفند، بز و گاو بر روی کروموزوم ۵ شناسایی گردیده است (Fries et al., 1991؛ Schibler et al., 1998؛ Pinton et al., 2000). کانو Cano و همکاران (Cano et al., 2007)، در مطالعه بزهای آنقوره علاوه بر شناسایی دو مکان ژنی (QTL)، برای ضریب تنوع قطر بر روی کروموزوم های ۱ و ۱۳ همچنین یک مکان ژنی مرتبط با درصد الیاف کمپ بر روی کروموزوم ۵ گزارش نمود. کروموزوم ۲۵ وجود مکان مکان‌های ژنی (QTL) بسیار معنی معنی‌داری برای صفات مختلف بیده پشم را نمایان ساخت. مجموعه QTLهای فوق، وجود حداقل یک ژن بزرگ اثر که بر روی صفات پشم اثر معنی دار دارد را پیشنهاد می کند. پونز Ponz و همکاران (Ponz et al., 2001)، در مطالعه بر روی نژاد INRA401 وجود مکان مکان‌های ژنی

مرتبط با میانگین قطر الیاف، ضریب تنوع قطر و طول دسته الیاف را بر روی کروموزوم ۲۵ گزارش نمود. الاین Allian و همکاران (Allain et al., 2006)، درجمعیت آمیخته حاصل از تلاقی Lacaune × Sarda وجود QTLهای مرتبط با وزن بیده ناشور، میانگین قطر الیاف و ضریب تنوع آن را بر روی کروموزوم ۲۵ نزدیک جایگاه OARVH41 و همچنین یک QTL مرتبط با درصد الیاف مدولادار نزدیک نشانگر BMS1714 بر روی کروموزوم ۲۵ شناسایی گردید. بیدنوست Bidinost و همکاران (Bidinost et al., 2008)، وجود دو QTL مرتبط با عملکرد پشم ، در بره‌های جوان در موقعیت ۴۳ cM و در دام‌های بالغ در مکان ۵۰ cM و همچنین یک QTL مرتبط با ضریب تنوع قطر در موقعیت ۵۳ سانتی مورگان را بر روی کروموزوم ۲۵ گزارش نمودند. بنابراین تطبیق نتایج فوق با یافته‌های سایر محققین وجود ژن یا ژن‌های بزرگ اثر بر روی کروموزوم ۲۵ که دارای اثر قابل توجهی بر تولید پشم و خصوصیات کیفی آن است، را تایید می‌کند.

نتیجه گیری کلی

مطالعه اخیر در شناسایی QTL مؤثر بر صفات کمی و کیفی الیاف پشم موفقیت آمیز بود و مکان‌های ژنی کنترل کننده صفات پشم در بخش‌هایی ازکروموزوم‌های ۱، ۵ و ۲۵ در نژاد بلوچی شناسایی گردید که نقاط فوق بهترین کاندید وجود ژن‌های کراتین در گوسفند بلوچی هستند. در صورت استفاده از اطلاعات فوق در برنامه‌های انتخاب به کمک مارکرها و هاپلوتیپ‌های QTL می‌توان پیشرفت ژنتیکی قابل توجهی در طی نسل‌های آینده شاهد بود. همچنین لازم است تا در مطالعات آینده کاوش ژنومی در وسعت بیش‌تری از ژنوم گوسفند انجام گیرد تا سایر مکان‌های ژنی کنترل کننده صفات پشم نیز شناسایی گردند.

REFERENCES

1. Allain D., Lantier I., Elsen J.M., Francois D., Brunel J. C., Weisbecker J., Schibler J., Vaiman D., Cribiu E., Gautier A., Berthon P., and Lantier F. 1998.A design aiming at detecting QTL controlling wool traits and other traits in the INRA401 sheep line, in:Proc. 6th Word Cong. Genet. Appl. Livest. Prod., Armidale, 11-16 January, University of New England, Vol. 24, pp. 51-54.
2. Allain D., Schibler L., Mura L., Barillet F., Sechi T., Rupp R., Casu S., Cribiu E., and Carta A. 2006. QTL detection with DNA markers for wool traits in a sheep backcross Sarda* Lacaune resource population. 8th Word Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Belo Horizonte, MG, Brazil, August 13-18.
3. Animal Science Research Institute of IRAN Tehran (20042005). Draft Iran's Country Report on Farm Animal Genetic Resources: Ministry of Jihad-e-Agriculture. (In Far
4. Beh K.J., Callaghan M.J., Leish Z., Hulme D., Lenane I., and M F. 2001. A genome scan for QTL affecting fleece and wool traits in Merino sheep, *Wool Technology Sheep Breeding*, 49: 88-97.
5. Bidinost F., Roldan D. L., Dorero A. M., Cano E. M., Taddeo H. R., Mueller J. P.,and Poli M. A. 2006. Quantitative trait loci related ro Merino sheep wool quality, 8th World Congress on genetics Applied to Livestock Production , August 13-8,Belo Horizonte, MG, Brasil.
6. Bidinost F., Roldan D.L., Dodero A.M., Cano E.M., Taddeo H.R., Mueller J.P.,and Poli M.A. 2008. Wool quantitative trait loci in Merino sheep. *Small Ruminant Research*, 74: 113-118.
7. Botkin M. P., Ray A. F.,and Johnson C.L. 1988. Sheep and Wool: Science, Production, and Management. Prentice Hall.
8. Bray A.R., O'Connell D., and Saville D.J. 2002. Genes with major effects on wool traits detected in Finn cross sheep. Proc. N. Z. Doc. *Animal Production*, 62: 62-68.
9. Cano E.M., Marrube G., Roldan D.L., Bibinost F., Abad M., Allain D., Vaiman D., Taddeo H., and Poli M.A. 2007. QTL affecting fleece traits in Angora goats. *Small Ruminant Research* 71: 158-164.
10. Cockett N. E., Shay T. L., and Smit M. 2001, Analysis of the sheep genome, Physiol. *Genomics*, 7:69-78.
11. Cottle D.J., Bryson W.G., and Aitken G.D. 2002. A review of markers for wool and sheep carcase quality traits, *Wool Technology Sheep Breed*, 50(3):401-409.
12. de Koning D.J., Schulmant N.F., Elo K., Moisio S., Kinos R., Vilkki J., and Maki-Tanila A. 2001. Mapping of multiple quantitative trait loci by simple regression in half-sib design. *Journal of Animal Science*, 79: 616-622.
13. Dekkers J.C.M., and Hospital M. 2002. The use of molecular genetics in the improvement of agricultural populations. *Nature Reviews Genetics*, 3(1): 22-32.

14. Doerge R.W., and Churchill G.A. 1996. Permutation test for multiple loci affecting a quantitative character. *Genetics*, 142, 285-294.
15. Ede A.J., and Crawford A.M. 1995. Mutations in the sequence flanking the microsatellite at the KAP8 locus prevent the amplification of some alleles. *Animal Genetic*, 26:43-44.
16. Fries R., Threadgill D.W., Hediger R., Gunawardana A., Blessing M., Jorcano J.L., Stranzinger G., and Womack J.E. 1991. Mapping of bovine cytokeratin sequences to four different sites on three chromosomes, *Cytogenetic Cell Genetic*, 57: 135-141.
17. Haley C.S., and Knott S.A. 1992. A simple regression method for mapping quantitative trait loci in line crosses using flanking markers. *Heredity*, 69: 315-375.
18. Hayes B.J., and Goddard M.E. 2001. The distribution of the effects of genes affecting quantitative traits in livestock. *Genetics Selection Evolution*, 33(3): 209-229.
19. Iu E., and Carta A. 2006. QTL detection with DNA markers for wool traits in a sheep backcross Sarda× Lacaune Resource Population. Pp: 13–18.
20. Knott S. A., Elsen J. M., and Haley C.S. 1996. Methods for multiple maker mapping of quantitative trait loci in half -sibs population, *Theorical Applied Genetic*, 93:71-80.
21. Knott S.A., Marklund L., Haley C.S., Andersson K., Davies W., Ellegren H., Fredholm M., Hannsson I., Lundstrom K., Moller M., and Andersson L. 1998. Multiple marker mapping of quantitative trait loci in an outbred cross between wild boar and large white pigs. *Genetics*, 149: 1069-1080.
22. Maddox J. F., 2005. A presentation of the differences between the sheep and goat genetic maps, *Genetic Selectiov Evolution*, 37(Suppl. 1): S1-S10.
23. Maddox J.F., Davies K.P., Crawford A.M., Hulme D.J., Vaiman D., Cribiu E.P., Freking B.A., Beh K.J., Cockett N.E., Kang N., Riffkin C.D., Drinkwater R., Moore S.S., Dodds K.G., Lumsden J.M., van Stijin T.C., Phua S.H., Adelson D.L., Burkin H.R., Broom J.E., Buitkamp J., Cambridge L., Cushwa W.T., Gerard E., GallowayS.M., Harrison B., HawkenR.J., Hiendleder S., Henry H.M., Medrano J.F., Paterson K.A., Schibler L., Stone R.T., and Van Hest B., 2001. An enhanced linkage map of the sheep genome comprising more than 1000 loci. *Genome Research*, 7(11), 1275-1289.
24. McLaren R.J., Roger G.R., Davies K.P., Maddox J.F., and Montgomery G.W., 1997. Linkage mapping of wool keratin and keratin-associated protein genes in sheep. *Mammalian Genome* 8: 938-940.
25. Parsons Y.M., Cooper D.W., Piper L.R., and Powell B.C., 1993. A BamHI polymorphism in ovine glycine-tyrosine-rich type II (KATAP6) keratin sequences. *Animal Genetics*, 24:218.
26. Parsons Y.M., Piper L.R., and Cooper D.W., 1994. Linkage relationships between keratin-associated protein (KRTAP) genes and growth hormone in sheep, *Genomics*, 20: 500-502.
27. Pinton P., Schibler L., Cribiu E., Gellin J., and Yerle M., 2000. Localization of 113 anchor loci in pigs: improvement of the comparative map for humans, pigs and goats, *Mammalian Genome*, 11: 306-315.
28. Ponz R., Moreno C., Allain D., Elsen J.M., Lantier F., Lantier I., Brunel J.C., and Perez-Enciso M., 2001. Assessement of genetic variation explained by markers for wool traits in sheep via a segment mapping approach, *Mammalian Genome*, 12:569-572.
29. Purvis I.W. and Franklin I. R., 2005. Major genes and QTL influencing wool production and quality: a review. *Genetics Selection Evolution*, 37: 97-107.
30. Rogers G.R., Hickford J.G.H., and Bickerstaffe R., 1994. Polymorphism in two genes for B2 sulfur proteins of wool, *Animal Genetics*, 25:407-415.
31. SAS User Guide: statistics (2009), SAS institute (version 9.2) Cary: NC.
32. Schibler L., Vaiman D., Oustry A., Giraud-Delville C., and Cribiu E.P., 1998. Comparative gene mapping: a fine-scale survey of chromosome rearrangements between ruminants and humans. *Genome Research*, 9(8), 901-915.
33. Seaton G., Hernandez J., Grunchec J.A., White I., Allen J., de Koning D.J., WeiW., Berry D., Haley C., and Knott S., 2006. GridQTL: a grid portal for QTL mapping of compute intensive datasets, In: Proceedings of the 8th Word Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Belo Horizonte, Brazil, August 13-18.
34. Spelman R., and 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.
35. Vaiman D., Schibler L., Bourgeois F., Oustry A., Amigues Y., and Cribiu E., 1996. A genetic linkage map of the male goat genome. *Genetics,* 144: 279-305.
36. Visscher P.M., Thompson R., and Haley C. S., 2007. Confidence intervals in QTL mapping by bootstrapping, Genetics, 143:1013-1020.