



مکان‌یابی QTL کنترل کننده چندقلوزایی در کروموزوم ۱ بز مرخز با استفاده از نشانگرهای ریزماهوره

نجات بادبرین^۱، سید ضیاء الدین میرحسینی^{۲*}، بابک ربیعی^۳، نوید قوی حسین زاده^۴

۱- دانشجوی دکتری، گروه علوم دامی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان

۲- استاد گروه علوم دامی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان

۳- استاد گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان

۴- استادیار گروه علوم دامی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان

(تاریخ دریافت: ۹۳/۳/۲۰ - تاریخ پذیرش: ۹۳/۷/۱۰)

چکیده

صفت چندقلوزایی از جمله صفات آستانه‌ای می‌باشد که به‌وسیله ژن‌های زیادی کنترل می‌شود. به دلیل وراثت‌پذیری پایین این صفت (حدود ۰/۱۰) استفاده از روش‌های کلاسیک اصلاح نژاد، پیشرفت کمی دارد. بنابراین، نیاز به استفاده از فناوری‌های جدید در بهبود این صفت می‌باشد. طول کروموزوم ۱ بز حدود ۱۸۶ سانتی‌مورگان می‌باشد. با توجه به تحقیقات پیشین و همولوژی بالای نقشه ژنومی گاو و بز، در این تحقیق منطقه بین ۱۶ تا ۱۶۹ سانتی‌مورگان از کروموزوم ۱ برای مکان‌یابی جایگاه ژنتیکی صفت چندقلوزایی بز مرخز انتخاب شد. جمعیت مورد مطالعه شامل ۸ خانواده ناتنی پدری غیرخویشاوند بود. تعداد فرزندان به ازای هر پدر در دامنه ۳۰ تا ۴۰ فرزند قرار داشتند. همه افراد برای ۶ نشانگر ریزماهوره مربوط به کروموزوم ۱ تعیین ژنوتیپ شدند. مکان‌یابی QTL‌های کنترل کننده صفت چندقلوزایی در خانواده‌های ناتنی پدری با استفاده از نرم افزار GridQTL انجام گرفت. نتایج این تحقیق بیانگر تفرق یک QTL موثر بر چندقلوزایی در موقعیت ۱۶۵ سانتی‌مورگان کروموزوم ۱ بز مرخز بود. مکان QTL تعیین شده در نزدیکی نشانگر CSSM19 قرار داشت و توانست ۲/۲۰ درصد تغییرات ژنتیکی صفت چندقلوزایی را توصیف کند. QTL مکان‌یابی شده در این پژوهش می‌تواند در ارتباط با ژن POU1F1 باشد. بنابراین این ژن می‌تواند یک ژن کاندید برای اثرات مشاهده شده QTL بر صفت چندقلوزایی در بز مرخز باشد.

واژه‌های کلیدی: بز مرخز، نشانگرهای ریزماهوره، نرخ چندقلوزایی، QTL

مقدمه

بز مرخز یکی از نژادهای با ارزش در ایران است که محصول اصلی آن موهر می‌باشد. این حیوان در برابر شرایط بد آب و هوایی و تغذیه نامناسب مقاوم بوده و به دلیل استفاده از برگ درختان بلوط و مقاوم بودن به فقر غذایی، هزینه پرورش این حیوان بسیار پایین است (زندی باغچه مریم و همکاران، ۱۳۸۸). در سال‌های اخیر کاهش تقاضا برای موهر و جایگزینی الیاف مصنوعی باعث شده که پرورش‌دهندگان این دام به شیر، گوشت و سایر فرآورده‌های آن اهمیت بیشتری دهند. حفظ و اصلاح نژاد بز مرخز می‌تواند عامل مهمی در فعال کردن دامپروری و صنایع نساجی محلی، اشتغال‌زایی، جلوگیری از مهاجرت روستاییان و رونق اقتصادی منطقه و کشور باشد. چندقلوزایی یکی از مهمترین صفات اقتصادی در پرورش دام‌ها می‌باشد که چنانچه روش مناسبی برای افزایش آن بکار گرفته شود می‌توان بازدهی تولید مثل را به طور قابل توجهی افزایش داد. افزایش تعداد بچه در هر زایش، با استفاده از روش‌های کلاسیک مانند انتخاب در داخل یک نژاد، پیشرفت کندی دارد، زیرا وراثت پذیری و تکرارپذیری این صفت در هر زایش پایین است. همچنین فاصله نسل طولانی مورد نیاز است تا بتوان از مزایای آزمون نتاج برای اصلاح یک صفت با وراثت‌پذیری پایین بهره برد (Cady and Van Vleck, 1978). به دلیل آنکه اصلاح نژاد دام‌ها برای چندقلوزایی عملی دشوار و وقت‌گیر است، بنابراین نیاز به استفاده از تکنولوژی‌های جدید در بهبود این صفت با ارزش اقتصادی بالا در بزها احساس می‌شود. اگر چه صفت چندقلوزایی از جمله صفات آستانه‌ای می‌باشد، اما از نظر توارث جزء صفات چند ژنی محسوب می‌شود که کنترل آن در دام‌ها به‌وسیله ژن‌هایی با اثرات عمده نیز صورت می‌گیرد (Hanrahan *et al.*, 2004). از این رو بررسی ارتباط بخش‌هایی از ژنوم و تعداد بچه در هر زایش، توجه بسیاری از محققان را به خود جلب کرده است تا به کمک این اطلاعات، صفت مورد نظر را بهبود بخشند.

پیشرفت‌های جدید در زمینه زیست‌شناسی مولکولی و روش‌های آماری سبب پیشرفت اساسی در شناسایی جایگاه‌ها و مناطقی از کروموزوم شده که بر صفات مهم تولیدی در حیوانات اهلی اثر دارند (Andersson, 2001). اگر QTL‌های موثر بر صفات شناسایی شوند و نشانگرهای

ژنتیکی همبسته با این QTL‌ها مشخص گردند، برنامه‌های اصلاح نژادی برای صفات با وراثت پذیری پایین که معمولاً بسیار مشکل و پرهزینه‌اند، آسانتر شده و به جای انتخاب و تلاقی‌های مبهم و بعضاً نادرست، با استفاده از انتخاب به کمک نشانگر، برنامه‌های اصلاحی جهت‌دار دنبال می‌شوند (Knott *et al.*, 1996). تحقیقات بسیار کمی در زمینه تعیین QTL‌های صفت چندقلوزایی صورت گرفته است. از جمله این تحقیقات می‌توان به یک تحقیق (Weller *et al.*, 2008) اشاره کرد که به بررسی QTL‌های تاثیرگذار روی صفات مرتبط با چندقلوزایی در جمعیتی از گاوهای هلشتاین پرداختند. این بررسی با استفاده از ۷۳ نشانگر ریزماهواره، ۱۱ خانواده ناتنی که در مجموع ۵۲۲۱ گوساله داشتند، انجام گرفت. در این بررسی نه QTL برای صفات مرتبط با چندقلوزایی روی کروموزوم‌های ۱، ۶، ۷، ۸، ۱۴، ۱۵ و ۲۳ بدست آمد ($P < 0.05$). همچنین مطالعاتی روی بخشی از ژنوم یا تمام ژنوم در ارتباط با تعیین QTL‌های موثر بر دوقلوزایی روی گاوهای هلشتاین آمریکای شمالی (Cruickshank *et al.*, 2004; Cobanoglu *et al.*, 2005) و گاوهای نروژی (Lien *et al.*, 2000) صورت گرفته است. در این مطالعات با توجه به تعداد افراد کم مورد استفاده، QTL معنی‌دار مرتبط با صفت دوقلوزایی مشاهده نشد. در تحقیقات صورت گرفته روی گاوهای هلشتاین آمریکایی مقادیر EBV محاسبه شده با استفاده از یک مدل آستانه‌ای به عنوان صفت دوقلوزایی تصحیح شده استفاده شد، در حالیکه در گاوهای نروژی صفت مورد آنالیز میانگین نرخ دوقلوزایی اولین شکم زایش به‌صورت تصحیح شده برای اثرات ثابت بود.

دو روش برای بررسی مکان ژن‌های کنترل‌کننده صفات کمی وجود دارد. روش اول، اسکن‌های ژنومی، که به منظور تشخیص ناحیه QTL استفاده می‌شود. روش دوم، بررسی یک ژن عمده به منظور ارزیابی اثر مستقیم آن بر صفات اقتصادی می‌باشد. مطالعه‌ای که به‌وسیله Feng *et al.* (2012) به منظور بررسی ارتباط بین چندشکلی‌های موجود در ژن POU1F1، که روی کروموزوم ۱ قرار دارد و تعداد نتاج بز خاکستری جینینگ^۱ چین در هر زایش انجام شد، نشان داد که

^۱. Jining Grey goat

در داخل یخ به آزمایشگاه منتقل و تا زمان استخراج DNA ژنومی در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند. استخراج DNA از خون کامل و با استفاده از یک روش تغییر یافته خون لخته انجام شد. کمیت و کیفیت DNA استخراج شده با استفاده از الکتروفورز روی ژل آگارز ۱ درصد و نیز روش اسپکتروفتومتری سنجیده شد. کلیه پدرها و فرزندان آنها برای ۶ نشانگر ریزماهوره بر اساس نقشه ژنومی موجود (<http://locus.jouy.inra.fr>) که در مجموع ۱۵۶ سانتی مورگان (۸۲ درصد) از کروموزوم ۱ این دام را پوشش می‌داد و فاصله متوسط نشانگرها از یکدیگر ۲۶ سانتی مورگان بود، تعیین ژنوتیپ شدند (جدول ۱). واکنش زنجیره‌ای پلیمرز در حجم ۱۰ میکرولیتر انجام شد. چرخه‌های حرارتی شامل واسرشته‌سازی اولیه به مدت ۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی-گراد، تکثیر در ۳۳ چرخه (۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه، دمای اتصال به مدت ۴۰ ثانیه و ۷۲ درجه به مدت ۵۰ ثانیه) و بسط نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی-گراد به مدت پنج دقیقه بود. پس از انجام واکنش زنجیره-ای پلیمرز (PCR)، محصولات حاصله با الکتروفورز ژل اکریل آمید ۸ درصد تفکیک و با استفاده از روش رنگ-آمیزی نیترات نقره، رنگ‌آمیزی شدند.

بعضی از ژنوتیپ‌ها با تعداد نتاج در هر زایش ارتباط معنی‌دار داشتند. همچنین در تحقیقات قبلی، کروموزوم ۱ گاو هلشتاین در موقعیت ۱۰۸ سانتی مورگان یک QTL موثر بر دوقلوژی را نشان داده است (Weller *et al.*, 2008). بنابراین با توجه به همپوشانی نقشه ژنومی بز و گاو (Maddox and Cockett, 2007) و وجود ژن‌های تاثیرگذار بر چندقلوژی روی کروموزوم ۱ بز، مطالعه حاضر با هدف مکان‌یابی QTL‌های کنترل کننده صفت چندقلوژی روی کروموزوم ۱ بز مرخز، تعیین نشانگرهای مولکولی پیوسته به QTL‌ها و پیشنهاد آنها برای انتخاب به کمک نشانگر با استفاده از نشانگرهای مولکولی ریزماهوره انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

مواد ژنتیکی این تحقیق، ۸ فامیل پدری غیرخویشاوند بز مرخز که تعداد فرزندان بیشتری داشتند، بود که از ایستگاه پرورش بز مرخز سندیج انتخاب شده و با استفاده از طرح ناتی، شناسایی QTL‌های کنترل کننده چندقلوژی انجام گرفت. تعداد فرزندان برای پدران در دامنه ۳۰ تا ۴۰ قرار داشت. نمونه‌گیری از سیاهرگ و داج گردن با استفاده از لوله خلادار ۶ میلی لیتری حاوی ماده ضد انعقاد EDTA انجام شد و بلافاصله بعد از خونگیری

جدول ۱: آغازگرهای مورد استفاده برای تکثیر جایگاه‌های ریزماهوره

Table 1. The primers used for amplification of the microsatellite markers

Microsatellite marker	Annealing temperature	Alleles size range (bp)	Primer sequences
ILSTS004	46.4	200-270	5'-CTTAAAATCTGTCTCTCTCC-3' 5'-TAGTGTGTATTAGGTTTCTCC-3'
BM1312	53.8	100-147	5'-CCATGTGCTGCAACTATGAC-3' 5'-GGAATGTTACTGAACCTCTCCG-3'
LSCV06	53.4	160-200	5'-GACTTCTCCCAGTAGGCTGG-3' 5'-GCTGTTTCGGAAGTGATGTAG-3'
CSSM32	48.5	200-240	5'-TTATTTTCAGTGTCTTAGAAAAC-3' 5'-TATAATATTGCTATCTGGAAATCC-3'
CSSM19	53.4	150-180	5'-TGTTTTAAGCCACCCAATTATTTG-3' 5'-TTGTCAGCAACTTCTTGTATCTTT-3'
BM3205	52.4	195-250	5'-TCTTGCTTCCTTCCAAATCTC-3' 5'-TGCCCTTATTTTAACAGTCTGC-3'

بودند که به وسیله رویه Logistic نرم افزار SAS مشخص شدند. از مدل زیر برای پیش‌بینی ارزش ارثی صفت چندقلوژی با استفاده از مدل آستانه‌ای نرم افزار Matvec استفاده شد:

در این تحقیق از ارزش‌های ارثی پیش‌بینی شده برای صفت چندقلوژی به عنوان صفت فنوتیپی استفاده شد. اثرات ثابت برازش یافته و معنی‌دار در مدل آماری جهت تجزیه ژنتیکی صفت چندقلوژی شامل سال و ماه تولد

$$y_{ijk} = \mu + yr_i + mo_j + e_{ijk} \quad \text{رابطه (۱)}$$

که در آن، y_{ijk} مشاهدات مربوط به صفت چندقلوزایی، μ میانگین صفت، yr_i اثر سال تولد، mo_j اثر ماه تولد و e_{ijk} اثر باقیمانده بود. مکان‌یابی صفات کمی با استفاده از رگرسیون چندگانه نشانگرها در خانواده‌های ناتنی پدری مطابق روش Knott *et al.* (1996) انجام گرفت. این تجزیه‌ها با استفاده از نرم افزار آنلاین GridQTL (Seaton *et al.*, 2006) انجام شد. با استفاده از این نرم افزار احتمال به ارث بردن هر کدام از آلل‌های پدری به وسیله فرزندان در فاصله هر یک سانتی مورگان از کروموزوم محاسبه می‌شود. این احتمال با استفاده از تخمین میزان نوترکیبی بین نزدیک‌ترین نشانگرهای دو طرف قطعه موردنظر محاسبه می‌شود. در نهایت ضریب رگرسیون صفت کمی روی احتمال توارث هر کدام از جایگاه‌ها در طول هر کروموزوم محاسبه می‌شود. به منظور شناسایی QTL‌های کنترل‌کننده صفت چندقلوزایی، رگرسیون صفت چندقلوزایی روی ژنوتیپ نشانگرها (به عنوان متغیر موهومی) برازش شد و سپس در هر فاصله یک سانتی مورگانی بین دو نشانگر، احتمال وجود QTL در مقابل احتمال عدم وجود QTL محاسبه و نسبت این دو از طریق آماره F بیان شد. سپس در هر موقعیت که که آماره F بیشترین مقدار را داشته باشد، به عنوان محتمل‌ترین نقطه یا جایگاه وجود QTL در نظر گرفته شد. به منظور به دست آوردن آستانه معنی‌دار QTL از آزمون تبدیل^۱ با ۱۰۰۰ تکرار و برای محاسبه دامنه اطمینان^۲ موقعیت QTL از تجزیه خود راه‌اندازی^۳ با ۲۰۰۰ تکرار استفاده شد.

نتایج و بحث

صفت چندقلوزایی صفتی با توارث چندژنی می‌باشد، یعنی تحت تاثیر تعداد زیادی ژن می‌باشد و هیچ ژنی به تنهایی تعیین‌کننده نیست. انتخاب برای بهبود ژنتیکی این صفت بر اساس اطلاعات عملکرد خود حیوان یا خویشاوندان آن از طریق محاسبه ارزش ارثی (EBV) آن انجام می‌شود. ارزش ارثی، مجموع اثرات افزایشی ژن‌های

یک فرد می‌باشد و آن بخش از مواد ژنتیکی است که به فرزندان منتقل می‌شود. ارزش‌های ارثی به صورت انحراف از میانگین جمعیت بیان می‌شوند و در یک جمعیت متعادل، مجموع ارزش‌های ارثی افراد آن جمعیت برابر با صفر است. داده‌های فنوتیپی شامل ارزش ارثی تمام افراد بود که برای اثرات ثابت سال تولد و جنس تصحیح شدند. در جدول ۲ تعداد فرزندان و میانگین ارزش ارثی صفت چندقلوزایی در میان خانواده‌ها نشان داده شده است. میانگین ارزش ارثی فرزندان پدر شماره ۴ بیشترین (۰/۰۰۰۱۲۷) است. یعنی با انتخاب این فامیل برای تشکیل نسل بعد، انتظار می‌رود به طور میانگین در نسل بعد، دام‌ها به میزان نصف این مقدار (۰/۰۰۰۰۶۳۵) دوقلوزایی بیشتری داشته باشند. میانگین ارزش ارثی فرزندان پدر شماره ۵ کمترین است (۰/۰۰۰۰۲۶۰) که نشان می‌دهد با انتخاب افراد این خانواده برای تولید نسل بعد انتظار می‌رود چندقلوزایی به میزان ۰/۰۰۰۱۳ کاهش یابد.

در این تحقیق از نشانگرهای ریزماهواره کروموزوم ۱ بر اساس نقشه ژنومی بز استفاده شد. در جدول ۳ نشانگرهای استفاده شده، موقعیت آنها روی کروموزوم ۱، تعداد پدران تعیین ژنوتیپ شده و هتروزیگوت، تعداد فرزندان تعیین ژنوتیپ شده و تعداد آلل‌های مشاهده شده برای هر کدام از نشانگرها ارائه شده است. جایگاه‌های ریزماهواره مورد مطالعه در این جمعیت چند شکلی بالایی نشان دادند و برای مطالعه چند شکلی ناحیه مورد نظر مناسب بودند. همانطور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود، کمترین میزان هتروزیگوسیتی پدران در نشانگر LSCV06 و بیشترین میزان هتروزیگوسیتی در نشانگرهای ILSTS004 و CSSM19 مشاهده شد. در پژوهش‌های مکان‌یابی QTL نیاز است که پدران و فرزندان آن پدر از نظر آن نشانگر بخصوص هتروزیگوت باشند. در عمل وقتی پدر هتروزیگوت نباشد، نمی‌توان QTL‌ها را ردیابی کرد و لزومی به تعیین ژنوتیپ فرزندان آن پدر نمی‌باشد. هر چه تعداد پدران هتروزیگوت بیشتر باشد، تعداد بیشتری فرزند برای تعیین ژنوتیپ در اختیار خواهد بود. بنابراین نشانگرهای ILSTS004 و CSSM19 در این آزمون بیشترین و نشانگر LSCV06 کمترین میزان اطلاعات مورد نظر را فراهم کرده‌اند. نحوه امتیازدهی برای نشانگر LSCV06 در شکل ۱ نشان داده شده است.

1. Permutation test

2. confidence interval

3. Bootstrap analysis

جدول ۲- تعداد فرزندان و میانگین ارزش ارثی صفت چندقلوزایی در خانواده‌های ناتنی بز مرخز

Table 2. Number of the children and the average breeding value of litter size of the Markhoz half-sib families

Half sib family	Number of progeny	litter size (mean)	EBV (mean)
1	40	1.45	0.000090
2	23	1.33	0.000021
3	37	1.79	-0.000013
4	25	1.94	0.000127
5	35	1.32	-0.000260
6	36	1.81	0.000091
7	29	1.60	0.000115
8	30	1.63	0.000079
Mean	31.88	1.61	0.000020

جدول ۳- اطلاعات مربوط به موقعیت، هتروزیگوتی و تعداد آل‌های نشانگرهای مورد استفاده

Table 3. Information of number, location, heterozygosity and number of alleles of the used markers

Name of Markers	BM3205	CSSM19	CSSM32	LSCV06	BM1312	ILSTS004
Position on chromosome 1	156	139	112	96	66	0
No. of sire genotyped	8 (100 %)	8 (100 %)	8 (100 %)	8 (100 %)	8 (100 %)	8 (100 %)
No. of heterozygous sire	6 (75 %)	8 (100 %)	5 (62 %)	4 (50 %)	5 (62 %)	8 (100 %)
No. of genotyped offspring	228 (95 %)	235 (98 %)	240 (100 %)	225 (94 %)	216 (90 %)	240 (100 %)
No. of alleles	5	3	4	4	5	4

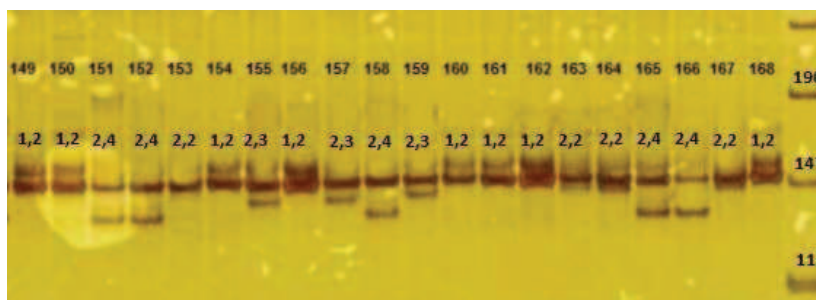


Fig 1. Genotyping of the LSCV06 marker, number 149 indicates a sire parent and numbers 150 to 168 indicate offsprings of the mentioned sire.

شکل ۱- تعیین ژنوتیپ نشانگر LSCV06، شماره ۱۴۹ پدر و شماره‌های ۱۵۰ تا ۱۶۸ فرزندان آن می‌باشد

امروزه مطالعات مولکولی در بز به طور عمده مربوط به تعیین تنوع ژنتیکی و آزمون انتساب بوده است. هرچند که در زمینه مکان‌یابی QTL‌های صفات موهر و وزن بدن بزها چندین تحقیق صورت گرفته است (Cano *et al.*, 2007, 2009; Mohammed Abadi *et al.*, 2009; Visser *et al.*, 2011, 2013)، اما در رابطه با مکان‌یابی QTL‌های چندقلوزایی در دام‌ها تحقیقات اندکی صورت گرفته است. از ژن‌های عمده موثر بر تولیدمثل بز می‌توان به ژن *FOXL2*، *POU1F1* و ژن گیرنده *A1* ملاتونین که موجب بهبود عملکرد تولیدمثل در جنس ماده می‌شوند، اشاره داشت (جلیل سرفلعه و همکاران، ۱۳۹۲). در ارتباط با باروری در گوسفند نیز ژن‌های مختلفی نظیر *BMP15*، *BMPR-1B* و *GDF9* شناسایی شده است که در فرآیند

بر خلاف جمعیت‌های خالص، به دلیل ماهیت جمعیت‌های دامی ممکن است QTL در تمامی خانواده‌ها تفرق نشان ندهد، لذا در مرحله اول روی تک تک خانواده‌ها تجزیه انجام گرفت. از میان ۸ خانواده مورد بررسی، QTL در خانواده‌های ۳ و ۵ در فاصله ۱۶۹ و ۱۶۳ سانتی‌مورگان از ابتدای کروموزوم معنی‌دار شد ($P < 0.05$). پس از معنی‌دار شدن اثر QTL در خانواده‌های شماره ۳ و ۵ در مرحله بعد تجزیه نهایی با حضور تمام خانواده‌ها بجز خانواده‌های ۱ و ۴ انجام شد. محتمل‌ترین مکان QTL در موقعیت ۱۶۵ سانتی‌مورگان روی کروموزوم ۱ و در فاصله ۳ سانتی‌مورگانی از نشانگر *CSSM19* تعیین شد ($P < 0.05$) (جدول ۴، شکل ۲ و ۳).

تکامل جنین، سرعت تخمک‌گذاری و میزان باروری نقش اساسی ایفا می‌کنند (اقبال سعید و همکاران، ۱۳۸۹).

جدول ۴- QTL‌های معنی‌دار برای صفت چندقلوزایی روی کروموزوم ۱

Table 4. The significant QTLs for litter size trait on chromosome 1

Segregating family	F _{Statistic}	F _{Threshold} (5%-1%)	Position (cM) ^a	Effect of sire QTL (SD)
3	7.6*	6.30-10.40	169	3.00
5	8.87*	7.43-10.40	163	2.97
2-3-5-6-7-8	3.8*	3.30-4.28	165	0.62

a- QTL distance from the beginning of the chromosome 1. b- Average in Specified families

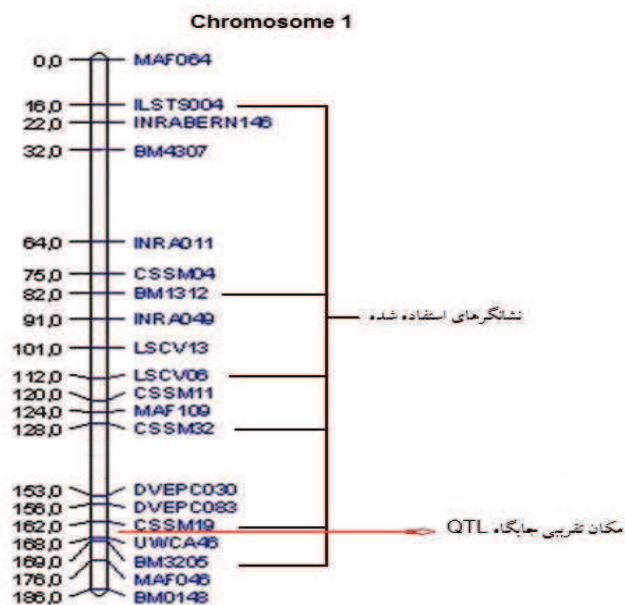


Fig 2. Arrangement of microsatellite markers and approximate location of QTL affecting litter size on chromosome 1

شکل ۲- ترتیب قرار گرفتن نشانه‌های ریزماهواره و محل تقریبی QTL موثر بر چندقلوزایی روی کروموزوم ۱

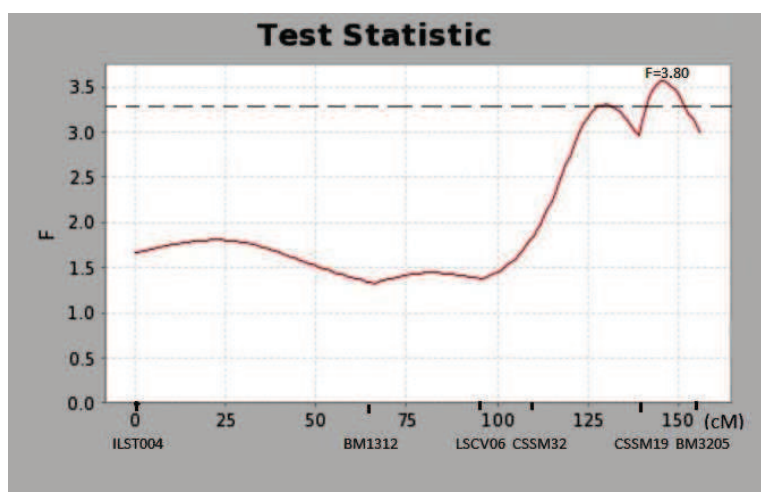


Fig 3. F-statistic profile across the chromosome 1 for litter size among the half sib families. The dashed line indicates QTL significant threshold level ($P<0.05$) obtained by permutation test

شکل ۳- مقادیر آماره F بدست آمده در طول کروموزوم ۱ برای صفت چندقلوزایی در میان خانواده‌های ناتنی. در این شکل خط نقطه چین نشان دهنده آستانه معنی‌دار QTL در سطح احتمال ۵٪ می‌باشد که به وسیله آزمون تبدیل به دست آمده است

تحقیقات مکان دقیق‌تر این QTL روی کروموزوم ۱ شناسایی شود، سپس توالی ژن‌های این ناحیه از کروموزوم ۱ برای بررسی جهش‌های احتمالی و ارتباط آنها با صفت چندقلو‌زایی مورد بررسی قرار گیرد. بنابراین، با توجه به فاصله اطمینان نسبتاً زیاد این مکان ژنی تعیین شده پیشنهاد می‌شود در تحقیقات آتی از نشانگرهای مترادف‌تری در این ناحیه از ژنوم استفاده شود و همچنین تعداد فرزندان در درون خانواده‌ها به اندازه کافی زیاد باشد تا با اطمینان بیشتری نسبت به این جایگاه تعیین شده نظر داد و بتوان از این اطلاعات در برنامه‌های به‌نژادی و بهبود ارزیابی‌های ژنتیکی در افراد کاندید استفاده کرد.

نتیجه‌گیری کلی

مطالعه اخیر در شناسایی QTL موثر بر صفت چندقلو‌زایی بز مرخز موفقیت آمیز بود و یک مکان ژنی در موقعیت ۱۶۵ سانتی مورگانی روی کروموزوم ۱ بز مرخز شناسایی شد. این بخش از کروموزوم ۱ بهترین کاندید وجود ژن‌های موثر بر چندقلو‌زایی در بز مرخز می‌باشد. در صورت مکان‌یابی دقیق‌تر این QTL، امکان استفاده از آن در برنامه‌های انتخاب به کمک نشانگر در این نژاد وجود دارد.

در تحقیق حاضر روی کروموزوم ۱، یک مکان ژنی برای صفت چندقلو‌زایی در موقعیت ۱۶۵ سانتی مورگان و در فاصله ۳ سانتی مورگانی از نشانگر CSSM19 تعیین شد. (Weller *et al.* (2008) یک مکان ژنی برای صفت دوقلو‌زایی روی کروموزوم ۱ در موقعیت ۱۰۸ سانتی-مورگان در نژاد گاو هلشتاین گزارش نمودند. به واسطه تشابهی که در ساختار ژنتیکی کروموزوم ۱ گاو و بز وجود دارد (Maddox and Cockett, 2007)، احتمالاً باید یک QTL کنترل‌کننده صفت چندقلو‌زایی در این ناحیه از کروموزوم ۱ بز مرخز وجود داشته باشد. فاصله اطمینان در این تحقیق با استفاده از تجزیه خودراه انداز با ۲۰۰۰ تکرار برابر با ۵۶ سانتی مورگان (۱۰۰-۱۵۶) محاسبه شد. مکان ژنی شناسایی شده در پژوهش حاضر برای صفت چندقلو‌زایی روی کروموزوم ۱ می‌تواند مربوط به ژن‌های تاثیرگذار بر صفت چندقلو‌زایی، به ویژه ژن POU1F1 باشد که قبلاً اثر چندشکلی اگزون ۶ آن بر صفت چندقلو‌زایی بز خاکستری جینینگ به‌وسیله Lan *et al.* (2007) معنی‌دار شده است. با توجه به اینکه در این فاصله کروموزومی ممکن است تعداد زیادی ژن وجود داشته باشد، بررسی تک تک این ژن‌ها و جهش‌های مربوط به آنها هزینه و زمان زیادی نیاز خواهد داشت، بنابراین در مراحل اولیه بهتر است به کمک این نوع

فهرست منابع

- اقبال سعید ش.، طغیانی م.، قائدی ک. و نصر اصفهانی م. ح. ۱۳۸۹. بررسی ژن‌های عمده موثر بر تخمک اندازی و چندقلوزایی گوسفندان. ژنتیک در هزاره سوم. ۸: ۲۱۶۹-۲۱۸۹.
- ایران پور مبارکه و.، اسماعیل زاده کشکوئیه ع. و اسدی خشویی ا. ۱۳۹۰. تجزیه جایگاه‌های صفات کمی (QTL) موثر بر صفات رشد روی کروموزوم ۱۸ در گوسفند نژاد لری-بختیاری. مجله علوم دامی ایران. ۴۲: ۹۱-۱۱.
- جلیل سرقلعه ع.، مرادی شهربابک ح.، امینی ح. ر. و خلقی م. ۱۳۹۲. نقش ژن‌های عمده بر صفات مهم تولیدی و اقتصادی در بز. ژنتیک در هزاره سوم. ۳: ۳۱۳۶-۳۱۵۵.
- زندى باغچه مریم م.، مرادی شهر بابک م.، میرایی آشتیانی س. ر.، رشیدی ا. و کاوسی م. ۱۳۸۸. مقایسه بهره‌وری کل عوامل تولید گله‌های بز مرخز در استان کردستان. پژوهش و سازندگی. ۸۳: ۷۴-۸۱.
- Andersson L. 2001. Genetic dissection of phenotypic diversity in farm animals. *Natural Review in Genetics*, 2: 130-138.
- Cady R. A. and Van Vleck L. D. 1978. Factors affecting twinning and effects of twinning in Holstein dairy cattle. *Journal of Animal Science*, 46: 950-956.
- Cano E. M., Marrube G., Roldan D. L., Bidinost 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.
- Cano E. M., Debenedetti S., Abad M., Allain D., Taddeo H. R. and Poli M. A. 2009. Chromosomal segments underlying quantitative trait loci for mohair production in Angora goats. *Animal Genetic Resources Information*, 45: 107-112.
- Cobanoglu O., Berger P. J. and Kirkpatrick B. W. 2005. Genome screen for twinning rate QTL in four North American Holstein families. *Animal Genetic*, 36: 303-308.
- Cruickshank J., Dentine M. R., Berger P. J. and Kirkpatrick B. W. 2004. Evidence for quantitative trait loci affecting twinning rate in North American Holstein cattle. *Animal Genetic*, 35: 206-212.
- Feng T., Chu M. X., Cao G. L., Tang Q. Q., Di R., Fang L. and Li N. 2012. Polymorphisms of caprine POU1F1 gene and their association with litter size in Jining Grey goats. *Molecular Biology Report*, 39: 4029-4038.
- Hanrahan J. P., Gregan S. M., Mulsant P., Mullen M., Davis G. H., Powell R. and Galloway S. 2004. Mutations in the genes for oocyte derived growth factors GDF9 and BMP15 are associated with both increased ovulation rate and sterility in Cambridge and Belclare sheep. *Biological Reprod*, 70: 900-909.
- Knott S., Elsen A. J. M. and Haley C. S. 1996. Methods for multiple-marker mapping of quantitative trait loci in half sib populations. *Theoretical Applied Genetic*, 93: 71-80.
- Lan X. Y., Pan C. Y., Chen H., Lei C. Z., Hua L. S., Yang X. B., Qiu G. Y., Zhang R. F. and Lun Y. Z. 2007. Ddel polymorphism in coding region of goat POU1F1 gene and its association with production traits. *Asian Australasian Journal of Animal Science*, 20: 1342-1348.
- Lien S., Karlsen A., Klemetsdal G., Vage D. I., Olsaker I., Klungland H., Aasland M., Heringstad B., Ruane J. and Gomez-Raya L. 2000. A primary screen of the bovine genome for quantitative trait loci affecting twinning rate. *Mammalian Genome*, 11: 877-882.
- Liu B. H. 1998. *Statistical Genomics; Linkage, Mapping and QTL analysis*. CRC Press, LLC, USA.
- Maddox J. F. and Cockett N. E. 2007. An update on sheep and goat linkage maps and other genomic resources. *Small Ruminant Research*, 70: 4-20.
- Mohammad Abadi M. R., Askari N., Baghizadeh A. and Esmailizadeh A. K. 2009. A directed search around caprine candidate loci provided evidence for microsatellites linkage to growth and cashmere yield in Rayini goats. *Small Ruminant Research*, 81: 146-151.
- Seaton G., Hernandez J., Grunchev J. A., White I., Allen J., de Koning D. J., Wei W., Berry D., Haley C. and 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*, Belo Horizonte, Brazil.
- Visser C., Crooijmans R. P. M. A. and Van Marle Köster E. 2010. A genetic linkage map for the South African Angora goat. *Small Ruminant Research*, 93: 171-179.
- Visser C., Van Marle-Koster E., Bovenhuis H. and Crooijmans R. P. M. A. 2011. QTL for mohair traits in South African Angora goats. *Small Ruminant Research*, 100: 8-14.
- Visser C., Van Marle-Koster E., Snyman M. A., Bovenhuis H. and Crooijmans R. P. M. A. 2013. Quantitative trait loci associated with pre-weaning growth in South African Angora goats. *Small Ruminant Research*, 112: 15-20.
- Weller J. I., Golik M., Seroussi E., Ron M. and Ezra E. 2008. Detection of Quantitative Trait Loci Affecting Twinning Rate in Israeli Holsteins by the Daughter Design. *Journal of Dairy Science*, 91: 2469-2474.



Identification of QTL for litter size on chromosome 1 in Markhoz goats using SSR markers

N. Badbarin¹, S. Z. Mirhoseini^{2*}, B. Rabiei³, N. Ghavi Hossein-Zadeh⁴

1. PhD Student, Department of Animal Sciences, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan

2. Professor, Department of Animal Sciences, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan

3. Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan

4. Assistant Professor, Department of Animal Sciences, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan

(Received: 10-6-2014 – Accepted: 2-10-2014)

Abstract

The litter size is a threshold trait that is controlled by many genes. Due to the low heritability (0.10), of litter size, classical breeding methods lead to slow genetic progress. Hence it is essential to use new technology to improve this trait. Length of chromosome 1 in goat is approximately 186 cM. Based on previously published data in addition to a high genetic homology between goat and cattle chromosome 1, a region between 16 to 169 cM of chromosome 1 was selected for QTL detection of litter size in the Markhoz goat breed. Sample population included 8 paternal half-sib families. The numbers of half-sib offspring per buck ranged from 30 to 40. All individuals were genotyped by six microsatellites specific to chromosome 1. QTL analyses were performed using multiple regression method under a half-sib model. Our study indicated that a QTL in position 165 cM on chromosome 1 affect litter size rate in Markhoz goats. Its location was near to CSSM19 marker and was able to explaining 2.20 percent of the genetic variance of litter size. The QTL detected in this research could be related with POU1F1 gene. Hence this gene could be a candidate for the associated QTL on goat chromosomes 1.

Keywords: Markhoz goats, Microsatellite markers, Twinning rate, QTL

*Corresponding author: mirhosin@guilan.ac.ir