نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۳، شماره ۱، بهار ۱۳۹۰، ص. ۸۰-۷۴

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 3, No. 1, Spring 2011, p. 74-80

ارزیابی ارتباط چندشکلی جایگاه‌های ژنی کالپین۳ و گیرنده آندروژنیβ_3 با ارزش ارثی برآوردشده صفات رشد در گوسفند بلوچی

مجتبی طهمورث‌پور[۱]- داوود کریمی[۲*]

تاریخ دریافت:۸۹/۷/۲۸
تاریخ پذیرش:۸۹/۱۱/۱۷

چکیده

برای ارزیابی چندشکلی جایگاه‌های ژنی کالپین۳ و گیرنده آندروژنی β_3 و بررسی ارتباط آن با ارزش ارثی صفات رشد در گوسفند بلوچی این مطالعه انجام شد. داده‌های فنوتیپی مربوط به صفات رشد ۱۰۲ گوسفند بلوچی خالص استفاده گردید. اثرات مربوط به تفاوت‌های ژنی کالپین۳ و گیرنده آندروژنی β_3 روی صفات رشد مورد آزمون قرار گرفت. در جمعیت مورد آزمایش با استفاده از روش PCR–SSCP سه الگوی ژنوتیپی مختلف (AA، AB و BB) برای ژن کالپین۳ شناسایی گردید، در حالیکه برای جایگاه ژنی گیرنده آندروژنی β_3، چندشکلی مشاهده نشد. در تجزیه واریانس ژنوتیپ‌های کالپین۳ و ارزش ارثی برآوردشده به ترتیب به عنوان عوامل مستقل و وابسته در نظر گرفته شد. ژنوتیپ‌های کالپین۳ با ارزش‌های ارثی برآورد شده افزایشی برای وزن تولد ارتباط معنی‌داری داشتند ($P<0.05$) اما با ارزش‌های ارثی سایر صفات مورد آزمایش ارتباط معنی‌داری نشان نداد. ژنوتیپ BB در مقایسه با ژنوتیپ‌های دیگر، وزن تولد بالاتری داشت. بر اساس یافته‌های این تحقیق ژن کالپین۳ را به عنوان یکی از فاکتورهای ژنتیکی مهم مؤثر در صفات رشد پیشنهاد می‌کند که می‌تواند به عنوان بخشی از منبع تنوع ژنتیکی باشد. همچنین چندشکلی ژن کالپین۳ می‌تواند به عنوان نوعی مارکر در روش انتخاب بر اساس نشانگر مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: گوسفند بلوچی، ارزش ارثی، کالپین۳، گیرنده آندروژنیβ_3، PCR-SSCP

مقدمه

رشد به عنوان یکی از اصلی‌ترین صفات اقتصادی در تولیدات دامی محسوب می‌شود. سودبخشی حاصل از تولید گوشت در صنعت تولیدات گوسفندی به میزان زیادی به وزن بره بستگی دارد، به همین منظور در کشورهایی مانند ایران که گوشت گوسفند در مقایسه با گوشت گاو و بز به‌عنوان منابع اصلی پروتئین شناخته می‌شوند، وزن بره‌ها باید به عنوان هدف انتخاب مورد توجه قرار گیرد (۱۸و۱۹). با توجه به این حقیقت که تامین گوشت گوسفند جوابگوی متقاضیان نیست، نوعی برنامه های اصلاحی کارآمد نیاز است که بتواند تولید گوسفندان را با بهبود اندازه زایش، ترکیب بدن[۳]، وزن بره و تولید شیر افزایش دهد (۱۹).

گوسفند بلوچی پر جمعیت‌ترین گوسفند ایران بوده و در بخش های وسیعی از کشور شامل نواحی مرکزی و جنوبی استان خراسان، سیستان و بلوچستان، یزد و کرمان پرورش داده می‌شود. ایستگاه پرورش اصلاح نژاد گوسفند بلوچی در شمال شرق کشور بعنوان یکی از مراکزی که اقدام به حفظ و اصلاح ذخایر ژنتیکی دام‌های بومی می کند از ثبات برنامه‌ریزی و مدیریت طولانی برخوردار بوده و نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل اطلاعات جمع‌آوری شده به دلیل دقت بالا و حجم زیاد داده ها قابل استناد و استفاده است (۱). بیشترین مطالعات ژنتیکی صورت‌گرفته در زمینه رشد گوسفندان بر روی وزن تولد، وزن از شیرگیری و وزن یک‌سالگی متمرکز شده است (۴). این صفات بعنوان معیارهای رشد در طول دوره رشد حیوان مورد ارزیابی قرار می‌گیرند.

پیشرفت‌های قابل توجی در طول دهه‌ای گذشته در مورد کاربرد ژنتیک مولکولی در تشخیص نواحی ژنی و کرومزومی مرتبط با صفات مهم اقتصادی در تولیدات چهارپایان صورت گرفته است (۳). این پیشرفت‌ها فرصت‌هایی را جهت افزایش بهبود کارایی برنامه‌های ژنتیکی فراهم آورده است تا ازطریق انتخاب مسقیم بر روی ژن‌ها با

۱و۲- دانشیار و دانشجوی دکتری گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
(*- نویسنده مسئول : Email: Karimi.davood@gmail.com)

3 - body conformation

نواحی مرتبط با صفات اقتصادی بتوان انتخاب بر اساس مارکر (MAS) را با دقت بالایی انجام داد (۱۰). مطالعات انجام‌شده بر روی ژن‌های کالپین۳ (CAPN3) و گیرنده آندروژنی β_3 (ADRB3) نشان می‌دهد که این ژن‌ها در تنظیم وزن بدن پستانداران دخالت دارند (۶، ۷، ۱۲ و ۱۶). کالپین ماهیچه‌ای– استخوانی (کالپین۳) نقش مهمی را در کنترل رشد ماهیچه‌ها و تنظیم تجزیه پروتئین در بره‌ها بر عهده دارد (۸). بنابراین در صورت بروز هرگونه تغییر در ناحیه کدکننده ژن کالپین۳، تفاوت‌های ظاهری و فنوتیپی در رشد ماهیچه ها در حیوان دیده خواهد شد. در سال‌های اخیر ژن کالپین۳ بخاطر تاثیر بر رشد ماهیچه‌ها و توسعه بافت مایوفیبریل‌ها بسیار مورد توجه قرار گرفته است (۷ و ۹). بعلاوه گیرنده آندروژنی β_3 که متعلق به خانواده R_7G هستند جزء گیرنده‌های پروتئین نوع G محسوب می شوند. تفاوت‌های موجود در ژن گیرنده آندروژنی β_3 با چاقی در بسیاری از حیوانات از جمله گوسفندان به اثبات رسیده است. گیرنده آندروژنی β_3 بطور عمده در سطح سلول‌های چربی یافت می‌شوند و به عنوان واسطه‌های اصلی تجزیه چربی و گرمازایی در بافت‌های چربی سفید و قهوه‌ای ایفای نقش می‌کنند. حضور آللهای ویژه‌ای از ژن گیرنده آندروژنی β_3 باعث افزایش وزن تولد، نرخ رشد از تولد تا شیرگیری و چربی لاشه می‌شود (۱۲).

تخمین پارامترهای ژنتیکی و محیطی صفات مختلف مرتبط با رشد نیازمند بسط و توسعه برنامه های انتخابی است. بدین منظور صفات مرتبط با وزن به دلیل ارتباط آنها با رشد اولیه ماهیچه‌ها در بره‌ها، فاکتورهای بسیار مهمی در تولیدات گوسفندان می‌باشند. به منظور تحقیقات بیشتر در زمینه نقش چندشکلی ژنهای کالپین۳ و گیرنده آندروژنی β_3 در صفات رشدی در گوسفند بلوچی و تاثیر آن بر روی سطح بیان این ژن‌ها و تفاوت‌های ژنوتیپی حاصله از چندشکلی این ژن‌ها مورد مطالعه قرار گرفتند. بنابراین هدف از تحقیق حاضر ارزیابی ارتباط بین چندشکلی جایگاه‌های ژنی کالپین۳ و گیرنده آندروژنی β_3 با ارزش اصلاحی صفات رشدی در گوسفندان بلوچی است تا در صورت ارتباط بتوان از آن در طراحی برنامه های اصلاح نژاد گوسفند بلوچی استفاده نمود.

مواد و روش‌ها

حیوانات و مواد آزمایشگاهی

در این تحقیق از اطلاعات موجود در ایستگاه پرورش اصلاح نژاد گوسفند بلوچی عباس آباد مشهد که در طی سال های ۱۳۸۴– ۱۳۷۹ جمع‌آوری شده بود استفاده گردید. در این تحقیق اطلاعات گله شماره ۲ مورد استفاده قرار گرفته است. این گله در سال ۱۳۵۱ تشکیل شده و رکوردگیری در آن از سال ۱۳۵۲شروع شده است. در ابتدا رکوردهایی که تاریخ و وزن آنها مورد قبول نبود حذف شدند. در نهایت، رکوردهای ۲۲۵۱ بره که دارای اطلاعات شجره و وزن بدن در سنین مختلف بودند مورد استفاده قرار گرفت. صفات مورد استفاده شامل وزن تولد (BW)، وزن از شیرگیری (WW)، وزن ۶ ماهگی (6MW)، وزن ۹ ماهگی (9MW) و وزن یک‌سالگی (YW) بودند. خصوصیات و ساختار رکوردهای مورد مطالعه در جدول ۱ مشخص شده است. جهت ارزیابی چندشکلی ژن‌های کالپین۳ و گیرنده آندروژنی β_3 بصورت تصادفی ۱۰۲ حیوان از میان شجره فوق انتخاب شدند.

استخراج DNA و PCR

بر اساس روش Boom و همکاران (۵)، ۱۰۰ میکرولیتر خون از هر حیوان جهت استخراج DNA ژنومی مورد استفاده قرار گرفت. کمیت و کیفیت DNA بدست آمده با استفاده از ژل آگارز ۰/۸٪ و غلظت آن با اسپکتروفتومتر اندازه گیری شد. ۲ جفت آغازگر الیگونوکلئوتیدی بر اساس توالی بانک ژنی برای ژن‌های کالپین۳ (شماره ثبت DQ660376.1) و گیرنده آندروژنی β_3 (شماره ثبت AF109928.2) توسط نرم افزار پرایمر پریمیر۵ [1] طراحی گردید. طول قطعاتی که برای طراحی آغازگرها انتخاب شده بود ۱۱۸ جفت باز برای ژن کالپین۳ و ۲۴۶ جفت باز برای ژن گیرنده آندروژنی β_3 بود. توالی پرایمرها برای ژن کالپین۳ شامل forward5'-CTCTCAGGATGTCCTACG-3' reverse5'-CTGGGAAGTTGCGGCAG-3' و ژن گیرنده آندروژنی β_3 شامل forward 5'-CTAGCTCAGTTCTTTCTCTGC-3' reverse 5'-CCCAACTCCAACCCGACC-3' بودند.

به منظور کنترل و بهبود واکنش PCR از کیت خشک [2] PCR استفاده شد. هر کیت شامل ۱/۵ واحد از آنزیم DNA پلی‌مراز، ۱۰۰میلی‌مول تریس HCl، ۵۰ میلی‌مول KCl، ۱/۵ میلی‌مول $MgCl_2$ و ۰/۲ میلی‌مول dNTP بود. به ترکیب فوق ۱/۵ میکرولیتر از هر پرایمر، ۲۰/۵ میکرولیتر آب، ۲ میکرولیتر DNA و در نهایت ۲ قطره روغن PCR اضافه گردید. برای تکثیر قطعه مورد نظر از دستگاه ترموسایکر شرکت بایومترا [3] استفاده شد. برنامه حرارتی شامل ۳۵ چرخه با دمای واسرشت اولیه ۹۵درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ دقیقه، دمای واسرشت ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه، دمای اتصال ۵۹ و ۶۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه و یک دقیقه به ترتیب برای کالپین۳ و گیرنده آندروژنی β_3، دمای تکثیر ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱/۵ دقیقه و دمای تکثیر نهایی ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۸ دقیقه بود. برای تعیین اندازه قطعات بدست آمده

1- Primer Premier 5
2-GenePack PCR Universal
3-Biometra T-Personal Ver: 1.11 thermocycler

از مراحل تکثیر ۵ میکرولیتر از محصول PCR با ۲ میکرولیتر بافر بارگذاری (×۶) مخلوط شد و با نشانگر وزنی M100 با ولتاژ ۸۰ ولت به مدت یک ساعت بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد الکتروفورز گردید. برای انجام SSCP، ۱۲ میکرولیتر از محصول PCR با ۲۴ میکرولیتر بافر بارگذاری[1] SSCP مخلوط گردید. برای واسرشته‌کردن رشته‌ها، نمونه‌ها بمدت ۱۰دقیقه در داخل یخ قرار گرفتند تا از اتصال مجدد رشته‌های مکمل جلوگیری شود. برای مشاهده ژنوتیپ‌ها از دستگاه الکتروفورز عمودی پایاپژوهش مدل VEU-7350 به ابعاد ۱۶۰×۱۴۰×۰/۷۵ و از ژل اکریلامید غیر واسرشته‌ساز ۸ درصد استفاده شد. نمونه‌ها بلافاصله پس از خارج شدن از یخ به میزان ۱۰ میکرولیتر از مخلوط محصول PCR با بافر بارگذاری PCR در داخل هرکدام از چاهک‌ها ریخته شد و با ولتاژ ۱۸۰ ولت به مدت ۶ ساعت در دمای ۶ درجه سانتی‌گراد و با بافر (×۰/۵ TBE) الکتروفورز شدند. برای مشاهده ژنوتیپ‌ها از روش رنگ‌آمیزی نیترات نقره استفاده شد (۲).

تجزیه و تحلیل آماری

برای تجزیه و تحلیل رکوردهای وزن بدن و محاسبه ارزش ارثی صفات رشد، از مدل حیوانی استفاده شد. صفات رشد شامل وزن تولد، وزن از شیرگیری، وزن ۶ ماهگی، وزن ۹ ماهگی و وزن یک‌سالگی بودند. جهت شناسایی اثرات ثابت موجود در مدل، آنالیز حداقل مربعات با استفاده از رویه GLM نرم افزار SAS استفاده گردید. اثرات ثابت موجود در مدل شامل، گله، سال، جنس، تیپ تولد و سن مادر بودند که به ترتیب در ۲ و ۵ و ۲ و ۲ و ۵ کلاس دسته‌بندی می‌شدند. پیش از استفاده از صفات فوق در مدل، آزمون معنی‌داری در سطح ۵ درصد انجام شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار DFREML[2] (۱۴)، صورت گرفت. اثرات محیطی دائمی و ژنتیک مادری بصورت اثرات تصادفی در مدل قرار داده شدند (۱۳). ساختار کلی مدل دام مورد استفاده بصورت زیر بود.

$$Y = Xb + Zu + Wm + Spe + e$$

Y : ماتریس مشاهدات

X و Z و W و S: ماتریس ضرایب برای اثرات ثابت و تصادفی

b: بردار اثرات ثابت شامل شماره گله، سال تولد، جنسیت، تیپ تولد و سن مادر

u: بردار اثرات ژنتیکی افزایش مستقیم حیوان

m: بردار اثرات ژنتیکی افزایش مادری

pe: بردار اثرات محیطی مادری

e: بردار اثرات باقیمانده یا بردار اثرات محیطی موقت

بنابراین ساختار واریانس–کواریانس مدل بصورت زیر است:

$$V\begin{pmatrix} u \\ m \\ pe \\ e \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} A\sigma_u^2 & A\sigma_{um} & 0 & 0 \\ A\sigma_{mu} & A\sigma_m^2 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & I_{pe}\sigma_{pe}^2 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & I_e\sigma_e^2 \end{pmatrix}$$

A: ماتریس روابط خویشاوندی

I_{pe}: ماتریس واحد با رتبه تعداد ماده‌ها

σ_u^2 : واریانس ژنتیک مستقیم

σ_m^2 : واریانس ژنتیکی مادری

σ_{um} : کواریانس بین اثرات ژنتیک مادری و ژنتیک خود دام

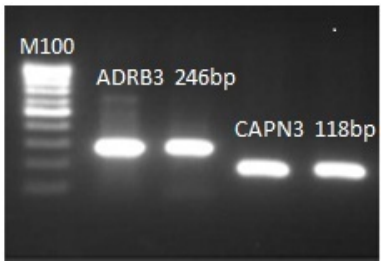
σ_{pe}^2 : واریانس اثرات محیطی دائمی مادری

σ_e^2 : واریانس باقیمانده

در این تحقیق صفات مورد مطالعه با استفاده از رویه GLM نرم افزار SAS مورد آنالیز قرار گرفتند و میانگین حداقل مربعات ژنوتیپ‌ها با استفاده از آزمون توکی[3] مورد مقایسه قرار گرفت. در نهایت بین حیواناتی که ژنوتیپهای مختلفی از ژن‌های کالپین۳ و گیرنده آندروژنی β_3 را داشتند ارزش ارثی برآوردشده هر حیوان توسط تجزیه واریانس (ANOVA) مورد مقایسه قرار گرفت.

نتایج و بحث

نتیجه الکتروفورز محصولات واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز بر روی ژل آگارز صحت قطعات ۱۱۸ جفت بازی تکثیرشده از ژن کالپین۳ و ۲۴۶ جفت بازی تکثیرشده از ژن گیرنده آندروژنی β_3 گوسفند بلوچی را توسط نشانگر وزنی M100 تایید کرد (شکل۱). در این تحقیق محصولات PCR مربوط به ۱۰۲ حیوان مورد بررسی قرار گرفت.

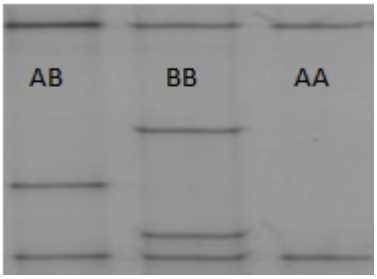


شکل ۱- محصولات PCR و مارکر وزنی M100

۱- ترکیب بافر بارگذاری SSCP: فرمامید ۹۵٪، سود سوزآور ۱۰ میلی مولار، بروموفنل بلو ۰/۰۵٪، زایلن سیانل۰/۰۵٪

2-Derivative Free Restricted Maximum Likelihood

3-Tukey test



شکل ۲- الگوی PCR-SCCP ژن کالپین۳

نشان داد که جایگاه ژنی کالپین۳ حالت چندشکلی از خود نشان می‌دهد که منجر به شناسایی سه ژنوتیپ AA، AB و BB و دو آلل A و B به ترتیب با فراوانی ۴۲ درصد و ۵۸ درصد شد (شکل۲). در مورد جایگاه ژنی گیرنده آندروژنی β_3 چندشکلی مشاهده نگردید. در تحقیق مشابهی که بر روی پنج نژاد مختلف گوسفند برای شناسایی تفاوت های تک‌نوکلئوتیدی جایگاه ژنی کالپین۳ صورت گرفته بود سه ژنوتیپ منحصر به فرد مشاهده گردید که فراوانی آللی گزارش شده ۰/۶، ۰/۲۲، ۰/۱۸ بود (۲۰).

نتایج حاصل از الکتروفورز ژل اکریلامید برای گوسفند بلوچی

جدول ۱- خصوصیات و ساختار رکوردها

تعداد	صفات				
	وزن تولد	وزن از شیرگیری	وزن ٦ ماهگی	وزن ۹ ماهگی	وزن یک‌سالگی
رکوردها	۱۸۵۴	۱۷۲۵	۱۳۲۵	۱۲۶۲	۱۱۵۴
حیوانات	۲۲۵۱	۲۲۵۱	۲۲۵۱	۲۲۵۱	۲۲۵۱
نرها	۴۵	۴۵	۴۵	۴۴	۴۴
ماده‌ها	۵۶۰	۵۴۹	۵۱۹	۵۰۳	۴۸۱
پدر بزرگ‌ها	۳۲	۳۲	۳۱	۲۹	۲۹
مادر بزرگ‌ها	۱۴۱	۱۳۷	۱۳۰	۱۲۵	۱۱۵
میانگین	۴/۱۸	۲۱/۲	۳۱/۷۹	۳۳/۷۹	۴۵/۵۴
ضریب تغییرات(%)	۱۴/۱۵	۱۵	۱۴/۲۶	۱۲/۸۱	۱۱/۱۰

جدول ۲- میانگین و انحراف استاندارد اثرات ثابت موجود در مدل

		وزن تولد		وزن از شیرگیری		وزن ٦ ماهگی		وزن ۹ ماهگی		وزن یک‌سالگی	
		تعداد	Mean±SD	تعداد	Mean±SD	تعداد	Mean±SD	تعداد	Mean±SD	تعداد	Mean±SD
گله	۱	۱۰۶۱	۴/۱۸±۰/۷۴^{a}	۹۹۴	۲۱/۳۸±۵/۵^{a}	۷۸۶	۳۱/۰۷±۵/۹^{a}	۷۲۹	۳۳/۹۱±۵/۶^{a}	۶۶۸	۴۰/۵۶±۶/۱^{a}
	۲	۷۹۳	۴/۱۹±۰/۷۷^{a}	۷۳۴	۲۰/۹۹±۵/۳^{b}	۵۷۲	۳۱/۹۳±۵/۷^{a}	۵۳۹	۳۳/۶۷±۵/۵^{a}	۴۸۶	۴۰/۵۱±۵/۹^{a}
سال	۷۸	۴۷۰	۴/۰۹±۰/۷۱^{c}	۴۳۷	۱۷/۳۵±۴/۵^{e}	۲۷	۲۸/۰۷±۴/۳^{d}	۲۴۱	۲۸/۷۹±۴/۲^{d}	۲۳۴	۳۴/۲۲±۴/۵^{c}
	۷۹	۲۶۷	۴/۲۲±۰/۷۶^{b}	۲۶۳	۲۴/۲۶±۴/۸^{a}	۱۳۲	۳۰/۴۵±۴/۳^{c}	۱۲۸	۳۳/۸۱±۴/۲^{c}	۱۲۴	۴۰/۹۷±۴/۸^{b}
	۸۰	۲۸۷	۴/۳۵±۰/۷۱^{a}	۲۶۷	۲۰/۰۸±۴/۳^{d}	۲۵۵	۳۳/۱۸±۵/۵^{a}	۲۲۴	۳۷/۰۶±۴/۱^{a}	۲۱۵	۴۱/۶۷±۴/۹^{b}
	۸۱	۳۶۹	۴/۰۶±۰/۸۱^{b}	۳۱۸	۲۱/۸۷±۴/۶^{c}	۲۸۵	۳۱/۶۵±۵/۸^{b}	۲۷۰	۳۵/۲۷±۵/۸^{b}	۲۶۷	۴۱/۵۴±۳/۵^{b}
	۸۲	۴۶۱	۴/۲۶±۰/۷۱^{b}	۴۴۳	۲۳/۴۰±۵/۳^{b}	۴۱۵	۳۳/۹۱±۶/۳^{a}	۴۰۵	۳۴/۰۱±۴/۹^{c}	۳۱۴	۴۳/۴۴±۵/۱^{a}
جنس	نر	۹۳۳	۴/۳۳±۰/۷۶^{a}	۸۶۴	۲۲/۲۲±۵/۶^{a}	۶۸۳	۳۳/۰۳±۶/۱^{a}	۶۳۲	۳۴/۷۷±۵/۹^{a}	۵۶۵	۴۲/۲۸±۶/۶^{a}
	ماده	۹۲۱	۴/۰۴±۰/۷۲^{b}	۸۶۴	۲۰/۱۹±۴/۹^{b}	۶۷۵	۳۰/۵۵±۳/۵^{b}	۶۳۶	۳۲/۸۳±۴/۹^{b}	۵۸۹	۳۸/۸۷±۴/۷^{b}
تیپ تولد	تک قلو	۱۰۲۷	۴/۵۶±۰/۶۵^{a}	۹۵۹	۲۳/۵۱±۴/۷^{a}	۸۱۵	۳۳/۵۵±۵/۷^{a}	۷۷۰	۳۵/۳۱±۵/۵^{a}	۷۱۴	۴۴/۵۱±۶/۱^{a}
	دو قلو	۸۲۷	۳/۷۲±۰/۵۷^{b}	۷۶۹	۱۸/۳۴±۴/۸^{b}	۵۳۹	۲۹/۱۳±۵/۰^{b}	۴۹۸	۳۱/۴۸±۴/۷^{b}	۴۴۰	۳۸/۹۸±۵/۴^{b}
سن مادر	۲	۳۶۶	۴/۰۰±۰/۸۰^{c}	۳۳۱	۲۱/۲۳±۵/۲^{a}	۲۵۸	۳/۴۵±۵/۴^{bc}	۲۴۲	۳۳/۶۰±۵/۱^{ab}	۲۲۱	۳۹/۹۹±۵/۹^{b}
	۳	۴۰۵	۴/۲۲±۰/۸۰^{ab}	۳۸۴	۲۱/۸۱±۵/۱^{ab}	۳۰۳	۳۲/۲۲±۵/۶^{ab}	۲۷۸	۳۴/۰۷±۵/۶^{a}	۲۶۲	۴۰/۳۱±۵/۹^{ab}
	۴	۴۵۸	۴/۱۵±۰/۷۰^{b}	۴۲۴	۲۱/۰۹±۵/۷^{b}	۳۳۹	۳۱/۸۲±۶/۲^{ab}	۳۱۵	۳۳/۹۳±۶/۱^{a}	۲۸۸	۴۰/۹۸±۳/۶^{a}
	۵	۳۱۷	۴/۳۱±۰/۶۰^{a}	۳۰۲	۲۱/۰۳±۵/۵^{b}	۲۱۸	۳۲/۵۷±۵/۸^{a}	۲۰۶	۳۴/۳۹±۵/۴^{a}	۱۹۴	۴۰/۸۸±۵/۹^{ab}
	۶	۳۰۸	۴/۲۷±۰/۷۰^{a}	۲۸۷	۲۰/۷۲±۵/۴^{b}	۲۴۰	۳۰/۹۲±۶/۲^{c}	۲۲۷	۳۲/۹۹±۵/۳^{b}	۱۸۹	۴۰/۵۱±۵/۷^{ab}

(a، b و c میانگین های هر ردیف با حروف غیرمشترک دارای اختلاف معنی دار می‌باشند ($P<۰/۰۵$)

میانگین و انحراف استاندارد برای تمام صفات که مورد تجزیه قرار گرفته‌اند در جدول شماره ۲ آمده است. حروف کوچک موجود در جدول۲ بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد توسط آزمون توکی هستند (P<۰/۰۵). جدول شماره ۳ میانگین حداقل مربعات به همراه انحراف استاندارد صفات رشد گوسفند بلوچی را براساس تفاوتهای ژنوتیپی مشاهده شده برای ژن کالپین۳ نشان می‌دهد. ژنوتیپ‌های ژن کالپین۳ از لحاظ آماری تنها با صفت وزن تولد اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد نشان می‌دهند (جدول ۳). در بین ژنوتیپ‌های کالپین۳، ژنوتیپ AA کمترین (۰/۱۲±۴/۳۸۶) و ژنوتیپ BB بیشترین (۰/۱۲±۷/۳۹۱) میانگین حداقل مربعات را دارند. در جمعیت مورد آزمایش گوسفند بلوچی میانگین وزن بدن برای حیواناتی که ژنوتیپ BB را داشتند ۴/۵۴ کیلوگرم بود که در مقایسه با ژنوتیپ‌های AB و AA به ترتیب ۰/۲ و ۰/۳۷ کیلوگرم وزن بیشتری را نشان می‌دهد. بعلاوه حیواناتی که ژنوتیپ BB را داشتند عملکرد بهتری را در صفات رشد پیش از شیرگیری در مقایسه با سایر ژنوتیپ‌ها نشان می‌دادند، اما در مورد صفات پس از شیرگیری بدترین عملکرد را در بین سایر ژنوتیپ‌ها داشتند (جدول ۳).

اطلاعات حاصله از تفاوت‌های ژنتیکی موجود در سطح DNA می‌تواند در درک بهتر این موضوع به محققین کمک کند که کدام بخش ژنی و یا پروتئینی در مکانیسم سازماندهی ماهیچه‌ها نقش دارد. نوعی اثر غالبیت در بین ژنوتیپهای مختلف ژن کالپین۳ دیده می‌شود. قابلیت ترکیب [1] ژن به طور کلی تحت تاثیر اثرات افزایشی ژنها قرار می‌گیرد اما قابلیت ترکیب یک ژن خاص تحت تاثیر اثرات غالبیت و اپیستازی قرار می‌گیرد (۱۱). در این مطالعه نوعی اثر غالبیت برای صفت وزن تولد در بین آللهای ژن کالپین۳ دیده می‌شود که ممکن است ناشی از اثر جورشوندگی بین آللهای ژن کالپین۳ باشد. در حالیکه هیچگونه اثر غالبیتی برای صفت از شیرگیری و صفات پس از شیرگیری مشاهده نمی‌شود. این یافته‌ها نشان می‌دهد که بعد از تولد، توسعه بافت ماهیچه‌ای بیشتر تحت تاثیر فاکتورهای ژنتیکی در مقایسه با فاکتورهای محیطی قرار می‌گیرد.

نونمن و کهمره‌ای (۱۶)، و چانگ (۶)، پیشنهاد کردند که ژن کالپین۳ نقش مهمی را در توسعه ماهیچه و رشد آنها در روزهای اولیه پس از تولد در مقایسه با تنظیم فعالیت ماهیچه‌ها بر عهده دارند. همچنین در مورد اثرات ژنتیکی ژنها بر صفات مربوط به رشد نتایج این تحقیق حاکی از آن است که ژنوتیپهای ژن کالپین۳ بر روی ارزش ارثی صفات رشد تاثیر گذارند (جدول ۴). نتایج نشان می‌دهند که چندشکلی این جایگاه ژنی اثر معنی‌داری در سطح ۵ درصد بر ارزش ارثی برآوردشده مربوط به وزن تولد بره‌ها دارد و ژنوتیپ‌های AA و BB به ترتیب کمترین و بیشترین ارزش ارثی افزایشی برآورد شده را برای وزن تولد و وزن از شیرگیری نشان می‌دهند.

برآوردهای حاصله از آنالیز تک‌صفتی واریانس و کواریانس مربوط به اثرات ژنتیکی افزایشی و مادری و تفاوت‌های فنوتیپی برای صفات وزن تولد، وزن از شیرگیری، وزن ۶ ماهگی، وزن ۹ ماهگی و وزن یک‌سالگی در جدول شماره ۵ نشان داده شده است. برای صفات وزن تولد و وزن از شیرگیری باید اثرات ژنتیکی افزایشی حیوان و اثرات محیطی دائمی مادری در مدل گنجانده شوند هرچند که بهترین مدل مناسب برای صفات پس از شیرگیری تنها شامل اثر افزایشی ژنتیکی حیوان است. بعلاوه تیپ تولد، جنس، سن مادر و سال تولد اثر معنی‌داری را بر روی صفت وزن تولد دارند (P<۰/۰۵). همچنین در زمان از شیرگیری، سن بره بر روی صفات پس از شیرگیری اثر معنی‌داری دارد. نتایج حاصل از برآورد پارامترهای ژنتیکی صفات رشد مربوط به این مطالعه و سایر محققین (۱۵ و ۱۹)، نشان می‌دهد که وراثت‌پذیری صفات رشد با افزایش سن افزایش می‌یابند که این افزایش وراثت‌پذیری ممکن است ناشی از دو دلیل باشد، افزایش در بیان ژنهایی که تحت تاثیر اثرات افزایشی ژن‌ها باعث توسعه بافت‌های بدن می‌شوند و یا کاهش در واریانس اثرات مادری (m^2) در سنین بالاتر حیوان، که خود منجر به برآورد افزایش نقش وراثت‌پذیری مستقیم (h^2) حیوان در سنین بالاتر می‌شود (جدول ۵).

نتایج این تحقیق با نتایج طهمورث‌پور و همکاران (۱۷)، که ارتباط بین چندشکلی جایگاه ژنی IGF-I با صفات رشد در گوسفند بلوچی بود مطابقت دارند. مطالعات گذشته که بر روی جایگاه ژنی کالپین۳ در گوسفند انجام شده بود ارتباط این جایگاه را با صفات رشد مورد بررسی قرار نداده بودند.

نتیجه گیری

نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که با توجه به وجود ارتباط معنی‌دار بین وزن تولد و چندشکلی ژن کالپین۳، تفاوت‌های وزن تولد می‌تواند با حضور یا عدم حضور ژنوتیپ‌های مختلف ژن کالپین۳ توجیه‌پذیر باشد. همچنین چندشکلی ژن کالپین۳ می‌تواند به عنوان نوعی مارکر در روش انتخاب بر اساس نشانگر بکار رود.

تشکر و قدردانی

این تحقیق با حمایت و همکاری قطب علوم دامی دانشکده کشاورزی و معاونت پژوهشی دانشگاه فردوسی و ایستگاه تحقیقاتی عباس آباد مشهد انجام شد. بدینوسیله نویسندگان این مقاله از تمامی کسانی که در تهیه و ارائه این تحقیق ما را یاری کردند، تشکر می نمایند.

1-Combining ability

جدول ۳- میانگین حداقل مربعات و خطای استاندارد صفات رشد گوسفند بلوچی بر اساس ژنوتیپ های ژن کالپین۳

ژنوتیپ	تعداد	وزن تولد	وزن از شیرگیری	وزن ٦ماهگی	وزن ۹ ماهگی	وزن یک سالگی
کالپین۳		*P=۰/۰۲۹	P=۰/۳۴۵	P=۰/۴۵۰	P=۰/۵۴۵	P=۰/۷۶۰
AA	۲۰	۴/۶۸۳±۰/۲۱[a]	۱۸/۲۵۲±۱/۱۵	۴۵/۳۴۵±۳/۰۴	۵۰/۲۵۶±۱۲/۲۵	۶۰/۲۴۵±۱۳/۹۷
AB	۴۶	۶/۵۷۳±۰/۱۸[b]	۱۹/۳۴۸±۱/۰۸	۲۷/۰۱۵±۳/۳۰	۴۸/۵۶۹±۱۱/۶۰	۵۸/۷۰۵±۱۳/۲۵
BB	۳۶	۷/۱۹۳±۰/۲۱[b]	۱۹/۷۸۵±۱/۳۰	۲۶/۴۵۲±۳/۱۵	۴۶/۱۲۸±۱۰/۵۰	۵۵/۶۷۰±۱۳/۱۶

(a، b وc میانگین های هر ردیف با حروف غیرمشترک دارای اختلاف معنی دار می باشند (P <۰/۰۵)

جدول ٤- حداقل میانگین مربعات و انحراف استاندارد ارزش ارثی افزایشی و مادری صفات رشد بر اساس ژنوتیپهای مختلف ژن کالپین۳

الگوی ژنوتیپی	ارزش ارثی براورد شده صفات وزن(Means ± s.e.)						
	وزن تولد		وزن از شیرگیری		وزن ۶ ماهگی	وزن ۹ ماهگی	وزن یک سالگی
	(افزایشی)	(مادری)	(افزایشی)	(مادری)	(افزایشی)	(افزایشی)	(افزایشی)
AA(n=۲۰)	۰/۰۲±۰/۰۱[a]	۰/۰۱۵±۰/۰۱	۰/۰۳±۰/۰۱	۰/۱۵±۰/۰۲	۰/۰۵±۰/۰۱	۰/۱۷±۰/۰۷	۰/۲۵±۰/۰۴
AB (n=٤٦)	۰/۰۳±۰/۰۱[b]	۰/۰۲±۰/۰۱	۰/۰۴±۰/۰۲	-۰/۱±۰/۰۱	۰/۰۴±۰/۰۲	۰/۲۵±۰/۱	۰/۳±۰/۰۲
BB (n=۳٦)	۰/۰۵±۰/۰۴[c]	۰/۰۲±۰/۰۲	۰/۰۴±۰/۰۲	-۰/۲±۰/۰۲	۰/۰۶±۰/۰۳	۰/۳۲±۰/۱۴	۰/۳۶±۰/۰۳
P Value	۰/۰۳۵*	۰/۷۰	۰/۳۵	۰/۲۸	۰/۴۵	۰/۷۶	۰/۵۵

(a، b وc میانگین‌های هر ردیف با حروف غیرمشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P <۰/۰۵)

جدول ۵- تخمین پارامتر های ژنتیکی صفات رشد (r_{am}: همبستگی بین اثرات ژنتیکی افزایشی حیوان و ژنتیک مادری، σ^2_a: واریانس اثرات افزایشی ژنتیکی حیوان، σ^2_m: واریانس اثرات ژنتیکی مادری، σ^2_e: واریانس باقیمانده، σ^2_p: واریانس فنوتیپی)

صفت	h^2	m^2	r_{am}	σ^2_a	σ^2_m	σ^2_e	σ^2_p
وزن تولد	۰/۱۹ ± ۰/۰۸	۰/۱۲ ± ۰/۰۴	۰/۵	۰/۶۳	۰/۱۲	۰/۱۵	۰/۶۸
وزن از شیرگیری	۰/۲۰ ± ۰/۰۹	۰/۰۷ ± ۰/۰۷	۰/۱۹	۰/۴۰	۰/۶۵	۶/۲۰	۵/۱۳
وزن ۶ ماهگی	۰/۲۳ ± ۰/۰۳	۰/۰۳ ± ۰/۰۴	۰/۲۶	۰/۵۶	۰/۹۵	۹/۱۶	۱۰/۱۹
وزن ۹ ماهگی	۰/۲۱ ± ۰/۰۲	۰/۰۲ ± ۰/۰۱	۰/۳۱	۰/۳۶	۱/۱۹	۱۴/۲۰	۱۳/۶۲
وزن یک‌سالگی	۰/۲۹ ± ۰/۰۵	۰/۰۱± ۰/۰۲	۰/۶۹	۰/۴۸	۰/۶۰	۱۶/۱۵	۲۸/۳۳

منابع

۱- اسکندری نسب، م. پ.، م. سلمانی ایزدی، ر. واعظ ترشیزی. ۱۳۸۱. برآورد پارامترهای ژنتیکی اوزان بدن در گوسفند بلوچی: مولفه های واریانس و پارامترهای تجزیه یک صفتی. مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی، سال نهم، شماره دوم. صفحه ۱۷۸-۱۶۹.

2- Bassam, B. J., C. G. Anolles, and P. A. Gresshoff. 1991. Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrylamid gels. Anal. Biochem. 19: 680-830.

3- Bastos, E., A. Cravador, J. Azevedo, and H. Guedes. 2001. Single Strand Conformation Polymorphism (SSCP) detection in six genes in Portuguese Indigenous sheep breeds Churra da Terra Quente. Biotechnol. Agron. Soc. Environ. 5: 7-15.

4- Bathaei, S. S. and P. L. Leroy. 1999. Growth and mature weight of Mehraban Iranian fat-tailed sheep. Small Ruminant Research, 22: 155-162.

5- Boom, R., C. J. A. Sol, and M. Salimans. 1990. Rapid and simple method for purification of nucleic acids. J. Clin. Microbial. 28: 495-503.

6- Chung, H. Y. 2001. Studies on the effects of the calpain family of genes on meat tenderness, carcass, and growth traits in beef cattle. PhD thesis. The Ohio State University.

7- Chung, H., B. Choi, G. Jang, K. Lee, H. Kim, S. Yoon, S. Im, M. Davis, and H. Hines. 2007. Effect of variants in the ovine skeletal muscle specific calpain gene on body weight. J. Appl. Genet. 48: 61-68.
8- Combaret, L., D. Bechet, A. Claustre, D. Taillandier, I. Richard, and D. Attaix. 2003. Down-regulation of genes in the lysosomal and ubiquitin-proteasome proteolytic pathways in calpain-3-deficient muscle. Int. J. Biochem. Cell. Biol. 35: 676–684.
9- Dargelos, E., C. Moyen, S. Dedieu, P. Veschambre, S. Poussard, K. Vuillier-Devillers, J. J. Brustis, and P. Cottin. 2002. Development of an inducible system to assess p94 (CAPN3) function in cultured muscle cells. J. Biotechnol. 96: 271–279.
10- Dekkers, J. C. M. and F. Hospital. 2002. The use of molecular genetics in improvement of agricultural populations. Nat. Rev. Genet. 3:22–32.
11- Falconer, D. S. and T. F. C. Mackay. 1996. Introduction to quantitative genetics, 4th ed., Harlow, Essex, UK, Longman, 274–283.
12- Forrest, R., J. G. H. Hickford, A. Hogan, and C. Frampton. 2003. Polymorphism at the β3-adrenergic receptor locus: Associations with birth weight, growth rate, carcass composition and cold survival. Anim. Genet. 34: 19–25.
13- Meyer, K. 1989. Restricted maximum likelihood to estimate variance components for animal models with several random effects using a derivative–free algorithm. Genet. Select. Evol. 21: 317-340.
14- Meyer, K. 1997. Estimates of genetic parameters for weaning weight of beef cattle accounting for direct-maternal environmental covariances. Livest. Prod. Sci. 3: 187-199.
15- Mousa, E., L. D. Van Vleck, and K. A. Leymaster. 1999. Genetic parameters for growth traits for a composite terminal sire breed of sheep. J. Anim. Sci. 77: 1659-1665.
16- Nonneman, D. and M. Koohmaraie. 1999. Molecular cloning and mapping of the bovine and ovine skeletal muscle-specific calpains. Anim. Genet. 30: 456-458.
17- Tahmoorespur, M., M. Vafaye Valeh, M. R. Nassiry, A. Heravy Mousavi, and M. Ansary. 2009. Association of the polymorphism in the 5’ flanking region of the ovine IGF-I gene with growth traits in the Baluchi sheep. S. Afr. J. Anim. Sci. 39: 97-101.
18- Tosh, J. J. and R. A. Kemp. 1994. Estimation of variance components for lamb weights in three sheep populations. J. Anim. Sci. 72: 1184-1190.
19- Yazdi, M. H., G. Engstrom, A. Nasholm, K. Johansson, H. Jorjani, and L. E. Liljedahl. 1997. Genetic parameters for lamb weight at different ages and wool production in Baluchi sheep. Anim. Sci. 65: 247-255.
20- Zhou, H., J. G. H. Hickford, and Q. Fang. 2006. Single nucleotide polymorphisms of the ovine calpain3 (CAPN 3) gene. Molecular & Cellular Probes 31: 78-79.