

## بررسی چند شکلی نشانگرهای ریزماهوره ای BM6444، INRA135 و oarhh35 مرتبط با ژن اینهیبین در گوسفند سنجابی

بیژن سلیمانی<sup>\*۱</sup> - برومند چهارآیین<sup>۲</sup> - قدرت اله رحیمی میانجی<sup>۳</sup>

تاریخ دریافت: ۹۰/۳/۱۵

تاریخ پذیرش: ۹۰/۱۲/۲۰

### چکیده

هدف از تحقیق حاضر شناسایی میزان پلی مورفیسم در نشانگرهای ریزماهوره ای BM6444، INRA135 و oarhh35 مرتبط با ژن اینهیبین در گوسفند سنجابی بود. برای این منظور به طور تصادفی از ۱۰۰ راس (۷۸ میش و ۲۲ قوچ) ایستگاه تحقیقات دامپروری مهرگان کرمانشاه خونگیری به عمل آمد. با استفاده از روش نمکی بهینه یافته نمونه های DNA استخراج شدند. از واکنش زنجیره ای پلی مرز و جفت آغازگرهای اختصاصی جایگاه-های ریز ماهوره ای برای تکثیر قطعه های مورد آزمایش استفاده گردید. در این آزمایش برای شناسایی ژنوتیپ های حاصل از روش رنگ آمیزی نیترات نقره و ژل پلی اکریل آمید با درصد های مختلف برای هر نشانگر استفاده گردید. ژنوتیپ های مشاهده شده به کمک نرم افزارهای Popgene نسخه ۱/۳۲ و Cervus نسخه ۲ آنالیز گردیدند. نتایج نشان دادند که نشانگر BM6444 چند شکل بوده و ۴ آلل و ۴ ژنوتیپ به ترتیب با فراوانی های (AD: ۰/۳۲، CD: ۰/۱۸، AB: ۰/۱۲، BC: ۰/۳۸) و (A: ۰/۱۸، B: ۰/۳۸، C: ۰/۳۱، D: ۰/۱۲) آلل های موثر در این جایگاه به ترتیب ۰/۶۲ و ۳/۴۲ بودند. برای نشانگر ریز ماهوره ای INRA135، ۶ آلل با فراوانی های (E: ۰/۱۱، F: ۰/۱۹) و (A: ۰/۲۱، B: ۰/۲۵، C: ۰/۲۱، D: ۰/۰۹) و سه ژنوتیپ با فراوانی های (BD: ۰/۲۹، CD: ۰/۲۷، AB: ۰/۴۲) مشاهده گردید. شاخص چندشکلی (PIC) و تعداد آلل های موثر در این جایگاه به ترتیب ۰/۷۲ و ۵/۲۱ بودند. در ریزماهوره oarhh35 نتایج نشان دادند که این نشانگر نیز چند شکل بوده و ۳ آلل با فراوانی های (A: ۰/۲۹، B: ۰/۲۸، C: ۰/۴۲) و دو ژنوتیپ با فراوانی های (AB: ۰/۳۲، BC: ۰/۶۸) را در بر می گیرد. شاخص چندشکلی (PIC) و تعداد آلل های موثر برای oarhh35 نیز به ترتیب ۰/۷۱ و ۲/۴۸ بودند.

واژه های کلیدی: گوسفند سنجابی، اینهیبین، چند شکلی، نشانگر ریزماهوره، BM6444، INRA135، oarhh35

### مقدمه

زیر واحد B (INHBB) ژن اینهیبین B تقریباً در فاصله ۳۹ سانتی مورگانی از ژن اینهیبین A و بین نشانگرهای BMS1126 و BMS2626 نیز روی بازوی بلند کروموزوم ۲ قرار دارد. زیر واحد A ژن اینهیبین B (INHBA) روی کروموزوم ۴ بین نشانگرهای ریزماهوره ای OARCP26 و BMS719 نقشه یابی شده است که می توان در شکل ۱ موقعیت این ژن را مشاهده کرد.

نواحی مختلف کروموزومی برای ژن اینهیبین (شامل INHA، INHBA و INHBB) در آزمایشگاه ساخته شدند و همچنین عملکرد آنها مورد بررسی قرار گرفت (۶ و ۱۲). در گونه هایی مانند گوسفند (۱۱)، گاو (۶)، و بز (۱۶ و ۱۷)، جلوگیری (ممانعت) از فعالیت ژن اینهیبین باعث تغییر در توسعه فولیکولهای تخمدانی می شود.

گوسفند سنجابی یکی از نژادهای سنگین وزن و دنبه دار کشور می باشد، در این گوسفندان رنگ صورت به سه فرم کزل، کلول و

اینهیبین عضو خانواده فاکتورهای رشد تغییر شکل دهنده بتا بوده و دارای اثرات مهمی بر نرخ تخمکریزی در پستانداران می باشد (۱۰). این هورمون در کنترل توسعه فولیکول های تخمدانی پستانداران از طریق مکانیسم فیدبک منفی روی FSH نقش دارد (۱۵). هیندلر و همکاران (۱۳)، نشان دادند که جایگاه ژن اینهیبین A در گوسفند روی کروموزوم ۲ در بازوی بلند این کروموزوم (q) و بین نشانگرهای ریزماهوره ای BM6444 و INRA135 قرار دارد. در صورتی که،

۱- دانشجوی دکتری و استاد گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

\*- نویسنده مسئول: (Email:solimani80@yahoo.com)

۲- دانشیار بخش تحقیقات دامپزشکی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی کرمانشاه

عنوان ژنی مهم و کاندید برای چندقلوزایی در گوسفندان ایرانی مشخص و میرم است. لذا در این طرح از سه نشانگر ریزماهوره‌ای متصل به جایگاه ژن اینهیبین استفاده شد تا رفتار جایگاه‌های مورد نظر را در جمعیت گوسفند سنجابی مورد مطالعه قرار داده و در نهایت بتوانیم از اطلاعات بدست آمده در برنامه‌های اصلاح نژادی آتی در این نژاد استفاده نمود.

### مواد و روش‌ها

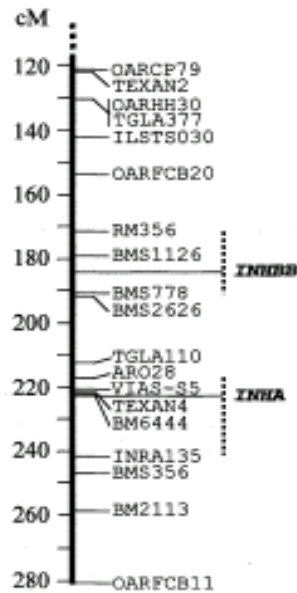
برای انجام این پژوهش از گوسفندان سنجابی (متشکل از ۷۸ میش و ۲۲ قوچ) ایستگاه تحقیقات دامپروری مهرگان کرمانشاه استفاده شد. به این منظور به طور تصادفی از حیوانات مورد نظر خونگیری به عمل آمد. برای جلوگیری از انعقاد خون از ماده ضد انعقاد سترات سدیم به نسبت ۱ به ۵ استفاده گردید. سپس از طریق زنجیره سرد نمونه‌ها به آزمایشگاه بیوتکنولوژی و ژنتیک مولکولی، گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری منتقل شدند. و پرایمرهای مربوطه استفاده شد که توالی آنها در جدول ۱ آمده است. حجم مخلوط مورد استفاده در PCR،  $25\mu\text{l}$  بود که شامل:  $2/5\ \mu\text{l}$  Buffer 10X PCR،  $1/5\ \mu\text{l}$ ،  $1/75\ \mu\text{l}$  DNA،  $1\ \text{MgCl}_2\ \text{mM}$ ،  $0/2\ \mu\text{l}$ ،  $25\ \mu\text{l}$  dNTPs،  $0/2\ \mu\text{l}$ ،  $2\ \text{Mm}$  و  $1\ \mu\text{l}$  Taq polymerase DNA و ۱۵ پیکو مول از هر یک از پرایمرها استفاده شد.

زردی می باشد. پشم این نژاد کرمی رنگ می باشد. هدف اصلی پرورش این نژاد برای تولید گوشت است. یکی از محصولات اصلی این نژاد روغن معروف کرمانشاهی می باشد. گوسفند سنجابی در استان کرمانشاه به صورت سنتی و عشایری توسط ایل سنجابی در نواحی کوزران، ماهیدشت، سومار، نفت شهر و گیلانغرب از توابع استان پرورش داده می شود. باتوجه به اینکه میزان باروری در این نژاد و به طور کلی تمام نژادهای کشور ما پایین تر از ۱۰۰ درصد می باشد، بنابراین بایستی مطالعات گسترده ای روی ژنهای مرتبط با باروری انجام گیرد (۴).

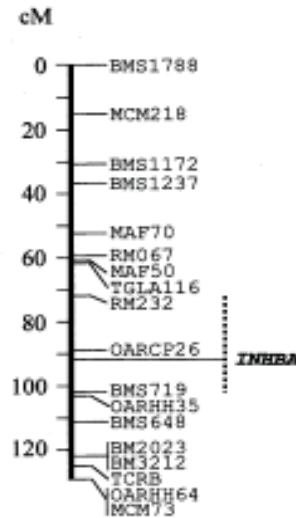
سلیمانی و همکاران (۱)، با مطالعه ژن GDF9 با استفاده از روش PCR-SSCP در گوسفند سنجابی نشان دادند این ژن پلی مورف می باشد و دارای اثر معنی داری روی باروری می باشد. سلیمانی و همکاران (۲)، به کمک روش PCR-SSCP نشان دادند که ژن BMP15 دارای اثر معنی داری روی میزان باروری نژاد سنجابی می باشد زیرا میانگین میزان باروری در بعضی ژنوتیپها بالاتر بود. فرهادی و همکاران (۳)، با مطالعه خود روی برخی از نشانگرهای ریزماهوره‌ای مرتبط با ژن اینهیبین را در گوسفندان سنجابی انجام دادند. آنها نشان دادند که نشانگرهای ریزماهوره‌ای مرتبط با ژنهای اینهیبین و اکتیوین دارای میزان پلی مورفیسم بالایی در گوسفندان نژاد سنجابی هستند.

با توجه به تاثیر بسزای هورمون اینهیبین در افزایش نرخ تخمک‌ریزی و در نتیجه افزایش بهره‌زایی ضرورت مطالعه این ژن به

Sheep Chromosome 2q



Sheep Chromosome 4



شکل ۱- محل ژن اینهیبین روی کروموزوم های ۲ و ۴ در گوسفند (۱۵)

جدول ۱- توالی پرایمرهای مورد نظر برای تکثیر نشانگرهای ریزماهوره ای مرتبط با ژن اینهیبین

| شماره بانک ژن | توالی پرایمر  | نشانگر ریزماهوره |
|---------------|---|------------------|
| G18837        | F-5'-CACTTGATGCTGAAAGTAGAC-3<br>R-5'-GGGTACAATCCCCTCATACTCC-3 | BM6444           |
| G18422        | F-5'-CACTTGATGCTGACTGAGAC-3<br>R-5'-GGGTACAATCATCTCATACTC-3   | INRA135          |
| L12554        | F-5'-CATGATGCTGAAAGTAAC-3<br>R-5'-GGCAATCCCCTCATACTCC-3       | OARHH35          |

جدول ۲- شرایط لازم برای انجام PCR و تکثیر قطعه‌های مورد نظر در نشانگرهای ریزماهوره ای

| تعداد سیکل | بسط نهایی به دقیقه | بسط (توسعه) به دقیقه | اتصال به ثانیه  | واسرشته سازی اولیه | نشانگر ریزماهوره |
|------------|--------------------|----------------------|-----------------|--------------------|------------------|
| ۳۲         | ۴ دقیقه - 72°C     | ۱ دقیقه - 72°C       | ۳۰ ثانیه - 61°C | ۳ دقیقه - 94°C     | BM6444           |
| ۳۰         | ۶ دقیقه - 72°C     | ۱ دقیقه - 72°C       | ۳۶ ثانیه - 62°C | ۳ دقیقه - 94°C     | INRA135          |
| ۳۰         | ۴ دقیقه - 72°C     | ۱ دقیقه - 72°C       | ۳۵ ثانیه - 60°C | ۳ دقیقه - 94°C     | OARHH35          |

شرایط دمایی PCR برای تکثیر تمام قطعات ژنی در جدول ۲ آورده شده است. برای مشاهده آلل‌ها و ژنوتیپ‌های احتمالی نشانگرهای ریزماهوره ای BM6444، INRA135 و oarhh35 به ترتیب از ژل پلی اکریل آمید ۸٪، ۶٪، ۵٪ و رنگ آمیزی نترات نقره استفاده شد. همچنین برای آنالیز ژنتیکی ژنوتیپ‌ها در این تحقیق از نرم افزارهای Popgene نسخه ۱/۳۲ و Cervus نسخه ۲ استفاده شد (۲۰). در این تحقیق میزان شاخص چند شکلی<sup>۱</sup> (PIC) در جایگاه‌های ریزماهوره ای بر اساس فراوانی‌های آللی مشاهده شده محاسبه شد (۹).

## نتایج

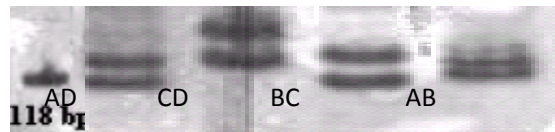
در نشانگرهای ریزماهوره ای BM6444، INRA135 و oarhh35 اندازه قطعات تکثیر شده در گوسفند سنجابی به ترتیب در محدوده ۱۲۶-۷۸، ۸۳-۶۲ و ۱۶۳-۱۱۳ جفت باز قرار داشتند (اشکال ۱ و ۲). در این پژوهش از نشانگر وزنی SM0251 استفاده گردید. نتایج نشان داد که نشانگر ریز ماهوره ای BM6444 چند شکل بوده و ۴ آلل با فراوانی‌های (A: ۰/۱۸، B: ۰/۳۸، C: ۰/۳۱، D: ۰/۱۲) و چهار ژنوتیپ با فراوانی‌های (AB: ۰/۳۸، BC: ۰/۱۲، CD: ۰/۱۸، AD: ۰/۳۲) را در بر می‌گیرد. در نشانگر ریزماهوره ای INRA135 ۶ آلل با فراوانی‌های (A: ۰/۱۹، B: ۰/۱۱، C: ۰/۲۱، D: ۰/۰۹، E: ۰/۲۵، F: ۰/۲۱) و سه ژنوتیپ با فراوانی‌های (AB: ۰/۴۲، BC: ۰/۲۷، CD: ۰/۲۹) مشاهده گردید. در نهایت برای نشانگر oarhh35 ۳ آلل با فراوانی‌های (A: ۰/۲۹، B: ۰/۲۸، C: ۰/۴۲) و دو ژنوتیپ با فراوانی‌های (AB: ۰/۳۲، BC: ۰/۶۸) مشخص گردید. با استفاده از آزمون کای اسکور معلوم گردید که نمونه‌های مورد مطالعه در این پژوهش برای نشانگرهای مختلف از تعادل هاردی-وینبرگ انحراف داشتند. شاخص‌های ژنتیک جمعیت نیز در جدول ۳ آورده شده‌اند.

## بحث و نتیجه گیری

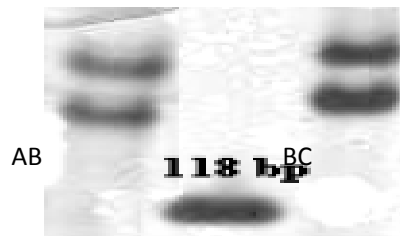
ژنوتیپ‌های مشاهده شده به کمک نرم افزارهای Popgene نسخه ۱/۳۲ و Cervus نسخه ۲ آنالیز گردیدند. در نشانگر ریزماهوره ای BM6444 میزان هتروزایگوسیتی (۰/۵۶) و ارزش PIC (۰/۶۲) بدست آمد که نشان داد این نشانگر می‌تواند اطلاعات مفیدی را برای ما بازگو کند. نتایج تحقیق حاضر با نتایج آرانز و همکاران (۸)، مطابقت دارد. آنها با مطالعه خود روی چند نژاد گوسفند در اسپانیا (چورا، لاتکسا، مانچکو، رازا آراگونازا، کاستلینا و مریوس) نشان دادند که نشانگر ریز ماهوره ای BM6444 در گوسفندان مورد مطالعه پلی مورفیسیم و شاخص هتروزایگوسیتی بالایی را از خود نشان دادند. البته تعداد آلل، تعداد آلل موثر و شاخص هتروزایگوسیتی در مطالعه محققین فوق بالاتر از داده های حاصل از گوسفند سنجابی بود.

در نشانگر ریز ماهوره ای oarhh35 میزان هتروزایگوسیتی (۰/۶۸) و ارزش PIC (۰/۷۱) بدست آمده حاکی از چند شکل بودن این نشانگر در گوسفند سنجابی بود. در مطالعه ای که توسط ایوانا توماسکو و همکاران (۱۴)، روی سه نژاد مختلف از گوسفندان وول پاپ، مریوس و کوریدال انجام گرفت ۱۰ آلل مشاهده شد و میزان PIC نیز به ترتیب برای این گوسفندان ۰/۷۱، ۰/۷۵ و ۰/۶۲ به دست آمد. میزان هتروزایگوسیتی مشاهده شده در گوسفندان کوریدال (۰/۶۲) کمتر از گوسفندان سنجابی بود اما در گوسفندان مریوس (۰/۷۵) و وول پاپ (۰/۷۲) بیشتر از این نژاد بودند.

در مطالعه سان و همکاران (۱۹)، روی گوسفندان هو برای نشانگر ریزماهوره ای oarhh35 تعداد آلل های مشاهده شده، تعداد آللهای موثر، میزان هتروزایگوسیتی و PIC به ترتیب ۵، ۲/۹۷ و ۰/۶۶ به دست آمد، آللهای مشاهده شده در آن پژوهش در دامنه ۱۴۱-۱۲۱ جفت بازی قرار داشتند که با مشاهدات مطالعه اخیر روی گوسفند سنجابی متفاوت بود.



شکل ۱- نمونه ای از ژنوتیپ‌های مشاهده شده در نشانگر ریز ماهواره‌ای BM6444. برای بررسی ژنوتیپ‌های مختلف نشانگر ریز ماهواره ای BM6444 روی ژل پلی‌اکریل آمید ۸٪ روی ژل پلی‌اکریل آمید از نشانگر وزنی SM0251 استفاده شد.



شکل ۲- نمونه ای از ژنوتیپ‌های مشاهده شده در نشانگر ریز ماهواره‌ای oarhh35. برای بررسی ژنوتیپ‌های مختلف نشانگر ریز ماهواره ای oarhh35 روی ژل پلی‌اکریل آمید ۵٪ از نشانگر وزنی SM0251 استفاده شد.

جدول ۳- شاخص‌های ژنتیک جمعیت در نشانگر ریز ماهواره‌ای BM6444

| نشانگر  | Na | Ne   | Ho(O) | H(O) | HO(E) | H(E) | PIC  |
|---------|----|------|-------|------|-------|------|------|
| BM6444  | ۴  | ۳/۴۲ | ۰     | ۱    | ۰/۴۴  | ۰/۵۶ | ۰/۶۲ |
| INRA135 | ۶  | ۵/۲۱ | ۰     | ۱    | ۰/۶۵  | ۰/۶۷ | ۰/۷۲ |
| OARHH35 | ۳  | ۲/۴۸ | ۰     | ۱    | ۰/۳۵  | ۰/۶۸ | ۰/۷۱ |

Na: تعداد آلله‌ها، Ne: تعداد آلله‌های موثر، Ho(O): هموزایگوسیتی مشاهده شده، H(O): هتروزایگوسیتی مشاهده شده،

HO(E): هموزایگوسیتی مورد انتظار، H(E): هتروزایگوسیتی مورد انتظار و PIC: میزان چند شکلی.

ریز ماهواره‌ای oarhh35 روی میزان باروری در گوسفندان سنجابی بررسی نشد.

در نشانگر ریز ماهواره INRA135 با توجه به میزان هتروزایگوسیتی (۰/۶۷) و شاخص PIC (۰/۷۲) می‌توان گفت که این ریز ماهواره چند شکل بوده و می‌تواند به کمک سایر نشانگرهای ریز ماهواره‌ای ژن اینه‌بین برای نقشه یابی کامل این ژن استفاده شود. با توجه به اینکه نشانگرهای ریز ماهواره‌ای BM6444، INRA135 و OARHH35 به زیر واحد آلفا ژن اینه‌بین B (INHBA)، زیر واحد بتا ژن اینه‌بین B (INHBB) و ژن اینه‌بین A در کروموزوم‌های شماره ۲ و ۴ لینک می‌باشد، بنابراین احتمال اینکه این ریز ماهواره‌ها روی باروری در نژاد مورد مطالعه موثر باشد تقویت پیدا می‌کند.

برای اینکه جمعیتی در تعادل باشد بایستی انتخاب صورت نگیرد، متوسط (جهش) و مهاجرت رخ ندهد، آمیزش تصادفی باشد، اندازه جمعیت بزرگ باشد و در نهایت اثر رانش تصادفی نیز وجود نداشته باشد. اما، با توجه به اینکه در این تحقیق تعداد نمونه‌های مورد

نتایج تحقیق اخیر با نتایج آرورا و اس باتیها (۷)، تقریباً مطابقت داشت، در مطالعه آنها برای نشانگر ریز ماهواره ای OarHH35 تعداد آلله‌های مشاهده شده، آلله‌های موثر، میزان هتروزایگوسیتی مشاهده شده، میزان هتروزایگوسیتی مورد انتظار و میزان PIC به ترتیب ۸، ۵/۲، ۰/۸۱، ۱ و ۰/۷۸ به دست آمد. سودهی و همکاران (۱۸)، با مطالعات خود روی گوسفندان نالی و چولکای هندی برای نشانگر OarHH35 نشان دادند که با توجه به شاخص PIC میزان پلی مورفیسم گوسفندان نالی بالا در صورتی که در نژاد چولکا پایین بود. با توجه به اینکه این شاخص در گوسفندان سنجابی بالا بود بنابراین می‌توان گفت مانند گوسفندان نالی هندی نژاد سنجابی نیز برای این نشانگر پلی مورفیسم بالایی را از خود نشان داد. آنا و همکاران (۵)، با مطالعه خود روی نشانگر ریز ماهواره ای oarhh35 نشان دادند که این مارکر دارای اثر بسیار مهمی روی باروری در بز می‌باشد، اما منحصرًا ارتباط این نشانگر در باروری گوسفند بررسی نشده است. به دلیل اینکه رکوردهای مناسبی از صفات باروری و تولید مثلی گوسفندان سنجابی در دسترس نبود بنابراین ارتباط نشانگر

مورفیسیم و هتروزیگوسیتی بالا بود بنابراین در صورتی که در گوسفندان سنجایی رکوردهای زایش در دسترس باشند می‌توان با ژنوتیپهای مشاهده شده از نشانگرهای ریزماهوره‌ای BM6444، INRA135 و oarhh35 ارتباط داده و بهترین نظر خود را برای افزایش میزان باروری به بهترین ژنوتیپ‌ها معطوف کنیم. البته لازم به یاد آوری است که تنها این نشانگرها بر باروری تاثیر ندارند بلکه ژنهای دیگری نیز روی این صفت مهم نقش مهمی را ایفا می‌کنند.

### تشکر و قدردانی

از اعضای محترم هیئت علمی، مسئول آزمایشگاه ژنتیک مولکولی و بیوتکنولوژی دام گروه علوم دامی دانشکده علوم دامی و شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری و مسئولین محترم مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی کرمانشاه به ویژه بخش تحقیقات دامپروری و ایستگاه تحقیقات مهرگان که در انجام این تحقیق ما را یاری دادند کمال سپاسگزاری را داریم.

آزمایش محدود بودند با استفاده از آنالیز کای مرجع معلوم گردید که نمونه های مورد مطالعه در تعادل هاردی-وینبرگ قرار نداشتند. با توجه به اینکه برای این نشانگرهای ریزماهوره ای تاکنون تحقیقی مبنی بر طول قطعه و میزان هتروزیگوسیتی و همچنین شاخص میزان چند شکل بودن روی گوسفند انجام نشده است، بنابراین نمی توان نتایج حاصل از این پژوهش را به سایر گوسفندان موجود در کشور تعمیم داد.

با توجه به اطلاعات به دست آمده از این پژوهش می توان بیان کرد که نشانگرهای ریزماهوره‌ای BM6444، INRA135 و oarhh35 در گوسفندان سنجایی دارای میزان هتروزیگوسیتی و پلی مورفیسیم بالایی می باشند که نشان دهنده تنوع آنها در نژاد سنجایی می باشد. با توجه به اینکه نشانگرهای یاد شده به ژنهای اینهیبین و فولیستاتین لینک می باشند بنابراین اگر نظر خود را منحصر به این ژنها معطوف کنیم احتمالا نتایج بسیار مطلوبی حاصل گردد، زیرا این ژنها با باروری ارتباط بسیار نزدیکی دارند و در بالا بردن میزان باروری در گوسفند مفید میباشند. از آنجایی که در این نشانگرها میزان پلی

### منابع

- ۱- سلیمانی ب.، ق. رحیمی میانجی، و ب. چهارآیین. ۱۳۸۹. بررسی میزان اثر ژن DGF9 روی دوقلوزایی و صفات وزنی در گوسفند سنجایی، فصلنامه علمی - پژوهشی ژنتیک نوین، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران. دوره پنجم، شماره ۱، بهار ۱۳۸۹، صفحه ۵۹-۵۳.
- ۲- سلیمانی ب.، ق. رحیمی میانجی، و ب. چهارآیین. ۱۳۹۰. بررسی اثر پلی مورفیسیم در اگزون ۲ ژن BMP15 روی دوقلوزایی و صفات وزنی در گوسفند سنجایی، مجله علمی - پژوهشی زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه تهران، جلد ۲۴، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۰، صفحه ۷-۱.
- ۳- فرهادی ا.، ق. رحیمی میانجی، ب. چهارآیین، و ز. انصاری. ۱۳۸۷. شناسایی چند شکلی های موجود در چهار نشانگر ریز ماهوره ای مرتبط با ژنهای اکتیوین، اینهیبین و فولیستاتین در گوسفندان نژاد سنجایی کرمانشاه. پایان نامه کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه مازندران.
- ۴- مولاییان ح. ۱۳۸۵. گزارش نهایی مطالعه صفات مختلف در گوسفند سنجایی ایستگاه تحقیقات دامپروری مهرگان کرمانشاه. بخش تحقیقات دامپروری، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی کرمانشاه. ۶۰ صفحه.
- 5- Anna, R., and R. Tadeusz. 2010. Evaluating the usefulness of polymorphism of 7 microsatellite DNA markers for genetic diversity studies of sheep .Ann. Anim. Sci., Vol. 10, No. 4: 373-378.
- 6- Ansari, H. A., P. D. Pearce, D. W. Maher, A. A. Malcolm, N. J. Wood, S. H. Phusa, and T. E. Broad. 1994. Regional mapping of loci from human chromosomes 2q to sheep chromosome 2q. Genomics 22:122-124.
- 7- Arora, R., and S. Bhatia. 2004. Genetic structure of Muzzafarnagri sheep based on microsatellite analysis. Small Rum. Res. 54., 227-230.
- 8- Arranz, J. J., Y. BayoAn, and F. San Primitivo. 2001. Genetic variation at microsatellite loci in Spanish sheep. Small Rum. Res. 39, 3-10.
- 9- Botstein, D., R. L. White, M. Skolnick, and R. W. Davis. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism. Am. J. Human Genet. 32: 314-331.
- 10- Campbell, B. K., and D. T. Baird. 2001. Inhibin A is a follicle stimulating hormone-responsive marker of granulosa cell differentiation, which has both autocrine and paracrine action in sheep. J. Endocrinol. 169: 333-345.
- 11- D'Alessandro A., G. Martemucci, and N. Laffaldano. 1999. Active immunization with a synthetic fragment of pig inhibin a-subunit increases ovulation rate and embryo production in superovulated ewes but season affects its efficiency. J. Reprod Fertil; 115:185-91.
- 12- Goldammer T., M. M. Brunner, S. Hiendleder, C. Jager, and M. Schwerin. 1995. Comparative mapping of sheep inhibin subunit  $\beta_B$  to chromosome 2 in sheep and cattle by fluorescence in situ hybridization. Anim Genet 26:199-200.
- 13- Hiender, S., K. G. Doods, and R. Wassmuth. 2000. Linkage mapping of the ovine  $\alpha$ -inhibin (INHA),  $\beta_A$ -

- inhibin/activin (INHBA), and  $\beta_B$ -inhibin/activin (INHBB) genes. *Americ. Gen. Associ.*: 343-345.
- 14- Ivanna, T., G. Wlasiuk, and E. P. Lessa. 2002. Evaluation of polymorphism in ten microsatellite loci in Uruguayan sheep flocks. *Genetics and Molecular Biol.*, 25, 1, 37-41.
  - 15- Medan, M. S., T. Takedomi, Y. Aoyagi, M. Konishi, S. Yazawa, G. Watanabe, and K. Taya. 2006. The effect of active immunization against inhibin on gonadotrophin secretion and follicular dynamics during the estrous cycle in cows. *Reprod. Develop.* 52: 107-113.
  - 16- Padilla, G., P. G. Knight, and W. Holtz. 2008. Superovulation and embryo collection in nulliparous Boer goat does immunized against a recombinant ovine  $\alpha$ -subunit inhibin. *Small Rumin Res*; 74:159-64.
  - 17- Sasaki, K., M. S. Medan, G. Watanabe, S. Sharawy, and K. Taya. 2006. Immunization of goats against inhibin increased follicular development and ovulation. *J Reprod Dev*; 52:543-50.
  - 18- Sodhi M., M. Mukesh, and S. Bhatia. 2006. Characterizing Nali and Chokla sheep differentiation with microsatellite markers. *Small Rum. Res.*, 65., 185-192.
  - 19- Sun, W., H. Chang, Hassan H. M. & Mingxing Chu. 2010. Study on relationship between microsatellite polymorphism and producing ability on litter size trait of Hu sheep in China. *Afr. Jou. Bio.*, Vol. 9(50), 8704-8711.
  - 20- Yeh, F. C., T. Boyle, Y. Rongcai, Z. Ye, and J. M. Xian. 1999. POPGENE Version 1.31. A Microsoft Window Based Freeware for Population Genetic Analysis. University of Alberta, Edmonton.