دانشکده علوم کشاورزی
گروه علوم دامی
(ژنتیک و اصلاح دام)

عنوان:

ارتباط چندشکلی ژن میوستاتین با وزن بدن در گوسفند نژاد قره‌گل ایران با استفاده از روش PCR-RFLP

از:
جلال زارع

استاد راهنما:
دکتر سیدضیاءالدین میرحسینی

استادان مشاور:
دکتر نوید قوی حسین‌زاده
دکتر سید بنیامین دلیر صفت

شهریور ۱۳۹۱

تقدیم به:

معلمان، استادان و معماران باورهایم.

تقدیم به:

خطوط مبهم پیشانی **پدر** فداکارم،

غزل ناب هستی‌ام، استوارترین کوه تاریخ بودنم،

به رسم بوسه‌ای بر دستان باصفایش.

تقدیم به:

شانه‌های بی‌دریغ **مادر** مهربانم، آن شکیبه بی‌ادعا،

زیباترین حکایت زندگی‌ام،

به شوق طنین روح‌انگیز دعای خیرش.

تقدیم به:

پهناوران اقلیم عشق،

برادران و خواهران مهربانم که در عین عطوفت و آسمانی بودن،

والاترین پشتوانه زندگی‌ام هستند.

تقدیر و تشکر

ای هستی بخش وجود مرا بر نعمات بی کرانت توان شکر نیست ذره ذره وجودم برای تو و نزدیک شدن به تو می تپد. الهی مرا مدد کن تا دانش اندکم نه نردبانی باشد برای فزونی تکبر و غرور، نه حلقه ای برای اسارت و نه دست مایه ای برای تجارت بلکه گامی باشد برای تجلیل از تو و متعالی ساختن زندگی خود و دیگران.

با سپاس از سه وجود مقدس:

آنان که ناتوان شدند تا ما به توانایی برسیم

موهایشان سپید شد تا ما رو سفید شویم

و عاشقانه سوختند تا گرما بخش وجود ما و روشنگر راهمان باشند

پدرانمان

مادرانمان

استادانمان

در ابتدا صمیمانه ترین تقدیر ها تقدیم به **خانواده** عزیز و مهربانم که همواره حامی و مشوقم بوده اند و بیمودن روزهای سخت و آسان زندگی ام بدون دعای خیر و برکت وجودشان غیر ممکن بود.

از استاد راهنمای ارجمند و عزیزم آقای دکتر **سید ضیاالدین میر حسینی** که با سعه صدر و صبوری مرا راهنمایی نموده و با ارائه نظرات سازنده و ر، نمودهای بی دریغ شان در پیشبرد این پایان نامه سعی تمام مبذول داشتند، کمال تشکر را دارم.

از اساتید مشاور ارجمند آقایان دکتر **نوید قوی حسین زاده** و مهندس **سید نیامین دلیر صفت** به جهت راهنمایی های علمی شان کمال امتنان را دارم. همچنین بر خود لازم می دانم از مسئولین محترم ایستگاه اصلاح نژاد قره گل سرخس به ویژه آقایان مهندس **ثیان** و مهندس **احمدی** به خاطر همکاری ها و محبت هایشان کمال تشکر و سپاسگذاری را داشته باشم.

از اساتید محترم آقایان دکتر **عبدالاحد شادپرور** و دکتر **سید حسین حسینی مقدم** که زحمت باز خوانی و داوری این مجموعه را به عهده داشتند صمیمانه تشکر و قدردانی می نمایم. از حضور آقای دکتر **شفیعی ثابت** بعنوان نماینده محترم تحصیلات تکمیلی در جلسه دفاع سپاسگذارم. از کلیه اساتید گرانقدر گروه علوم دامی دانشگاه گیلان که در مقطع کارشناسی و کارشناسی ارشد، از محضرشان کسب فیض نمودم تشکر می نمایم.

در پایان یاد و خاطره تمامی دوستان و همکلاسی های عزیز و ارجمندم در دوره کارشناسی و کارشناسی ارشد آقایان: مجتهدی، نوذهی، قیامی، عطایی، بهادری، محجوب، هادی پور، زینالپور، خانزاده، حسین دخت، سالاری، مددزاده و دیگر دوستان که ذکر نام یکایک ایشان در این مجال نمی گنجد را گرامی داشته و برای تمامی آن ها سعادت، سلامت را از خداوند منان خواستارم.

جلال زارع

شهریور ۱۳۹۱

عنوان ..... صفحه

چکیده فارسی ..... ح
چکیده انگلیسی ..... خ
مقدمه ۲

فصل اول- کلیات و مرور منابع

۱-۱- رده‌بندی و تاریخچه گوسفند ۵
۱-۱-۱- خصوصیات و ویژگی‌های گوسفند ۵
۱-۱-۲- اهمیت اقتصادی گوسفند ۶
۱-۱-۳- پرورش گوسفند در ایران و جهان ۶
۱-۱-۴- ارزش جهانی گوشت گوسفند ۷
۱-۱-۵- به‌نژادی صفات تولیدی گوسفند ۷
۱-۲- تنوع ژنتیکی و اهمیت آن ۸
۱-۲-۱- تنوع ژنتیکی در نژادهای بومی ۸
۱-۲-۲- چند شکلی DNA ۹
۱-۲-۳- تکنیک‌های مولکولی و اصلاح دام ۹
۱-۳- تعریف نشانگرهای مولکولی و انواع آن ۱۰
۱-۳-۱- تفاوت طول قطعات تکثیر شده حاصل از هضم (PCR-RFLP) ۱۰
۱-۳-۲- نشانگرهای ژنتیکی و اصلاح دام ۱۱
۱-۳-۳- انتخاب به کمک نشانگر(MAS) ۱۱
۱-۴- ژن‌های کاندیدا و کاربرد آن‌ها ۱۲
۱-۴-۱- ژن‌های موثر بر وزن بدن در گوسفند ۱۳
۱-۴-۱-۱- GDF-8 ..... ۱۴
۱-۴-۱-۲- Calpain,Calpastatin ۱۴
۱-۴-۱-۳- GH,GHR ۱۵
۱-۴-۱-۴- Leptin ۱۵
۱-۴-۱-۵- PIT1 ..... ۱۵
۱-۴-۱-۶- transferrin ۱۶
۱-۴-۱-۷- IGF1 ..... ۱۶

.۱-۵- ژن میوستاتین ۱۷
۱-۵-۱- مکانیسم عمل ژن GDF-8 ..... ۱۷
۱-۵-۲- شناسایی QTL موثر بر عضله مضاعف در گونه‌های مختلف..... ۱۷
۱-۵-۳- مقایسه فیزیولوژیکی حیوانات نرمال و عضله مضاعف(DM) ۱۸
۱-۵-۴- ارزیابی جهش در توالی میوستاتین و نقش آن در تنظیم رشد عضلات..... ۱۹
۱-۵-۵- نقش میوستاتین در تولید گوشت ۲۱
۱-۵-۶- محدودیت‌های کاربرد ژن میوستاتین در اصلاح نژاد ۲۲
۱-۵-۷- چشم‌انداز آینده میوستاتین ۲۳

فصل دوم- مواد و روش‌ها

۲-۱- نمونه‌برداری..... ۲۵
۲-۲- استخراج DNA..... ۲۵
۲-۲-۱- بافرها و محلول‌های مورد استفاده در استخراج ۲۵
۲-۲-۱-۱- بافر جداکننده..... ۲۵
۲-۲-۱-۲- بافر TE ۲۶
۲-۲-۱-۳- بافر لیزکننده..... ۲۶
۲-۲-۱-۴- آنزیم پروتئیناز K ۲۶
۲-۲-۱-۵- Tris Hcl (PH=8)..... ۲۶
۲-۲-۱-۶- EDTA..... ۲۷
۲-۲-۱-۷- Triton X-100..... ۲۷
۲-۲-۱-۸- SDS ۱۰ درصد..... ۲۷
۲-۲-۱-۹- NaCl (5M)..... ۲۷
۲-۲-۱-۱۰- اتانـــول ۷۰ درصد..... ۲۷
۲-۲-۱-۱۱- اتانل مطلق ۲۷
۲-۲-۲- مراحل استخراج از نمونه‌های خون لخته شده ۲۸
۲-۳- ذخیره DNA..... ۲۸
۲-۴- تعیین ویژگی‌های کمی و کیفی ۲۹
۲-۴-۱- تعیین کمیت و کیفیت DNA با ژل الکتروفورز..... ۲۹
۲- ۵- واکنش زنجیره پلی‌مراز (PCR) ۳۱
۲- ۵-۱- بهینه‌سازی شرایط PCR..... ۳۱
۲- ۵-۲- مراحل انجامPCR..... ۳۲
۲- ۵-۳- تنظیم سیکل حرارتی PCR ۳۲
۲-۶- الکتروفورز محصولاتPCR..... ۳۳
۲-۷- هضم محصولPCR با آنزیم *HeaIII*..... ۳۳
۲- ۸- الکتروفورز محصولات هضم شده روی ژل پلی‌اکریل‌آمید ۳۳
۲- ۸-۱- تیمار ظرف ژل ۳۳

۲- ۸-۲- تهیه ژل پلی‌اکریل‌آمید..... ۳۴
۲- ۸-۳- pre-run(آماده سازی ژل) ۳۵
۲- ۸-۴- آماده‌سازی نمونه‌ها جهت بارگذاری در ژل ۳۵
۲-۸-۵- بارگذاری نمونه‌ها و انجام الکتروفورز ۳۶
۲-۸-۶- رنگ آمیزی ژل به روش نیترات نقره..... ۳۶
۲-۸-۶-۱- استفاده از محلول تثبیت کننده به منظور تثبیت نوارهای DNA..... ۳۶
۲-۸-۶-۲- رنگ آمیزی ژل ۳۷
۲-۸-۶-۳- آشکار نمودن باندهای روی ژل با استفاده از محلول آشکارساز یا ظاهر کننده ۳۷
۲-۸-۶-۴- توقف ظهور باندها با استفاده از محلول تثبیت کننده..... ۳۷
۲-۹- آنالیز آماری ۳۷
۲-۱۰- برآورد پارامترهای ژنتیکی صفت وزن ۳۸

فصل سوم- نتایج و بحث

۳-۱- کیفیت استخراجDNA ۴۱
۳-۲- تکثیر ژنGDF-8..... ۴۲
۳-۳- هضم آنزیمی قطعه تکثیر شده ژن GDF- 8 ..... ۴۳
۳-۴- بررسی پارامترهای ژنتیکی..... ۴۷
۳-۵- نتیجه گیری کلی..... ۵۳
پیشنهادات ۵۲

شکل ۲-۱- برنامه حرارتی دستگاه ترموسایکلر ۳۲
شکل ۳-۱- نمونه‌هایی از DNA ژنومی استخراج شده از گوسفندان قره‌گل ۴۱
شکل ۳-۲- نمونه‌ای از محصولات تکثیر شده ژن GDF- 8 ..... ۴۲
شکل ۳-۳- محصول PCR هضم شده اگزون ۳ژن میوستاتین توسط آنزیم محدودالاثر *HaeIII* در گوسفندان قره‌گل ...۴۴

جدول ۲-۱- مواد تشکیل دهنده بافر جداکننده ۲۵
جدول ۲-۲- مواد تشکیل دهنده بافر TE ۲۶
جدول ۲-۳- مواد تشکیل دهنده بافر لیز کننده ۲۶
جدول ۲-۴- مواد تشکیل دهنده بافرTBE ۳۰
جدول ۲-۵- مخلوط واکنش به منظور انجام PCR ۳۱
جدول ۲-۶- مخلوط واکنش به منظور انجام هضم آنزیمی ۳۳
جدول ۲-۷- مواد لازم برای تهیه محلول بایند سیلین ۳۴
جدول ۲-۸- مواد لازم برای تهیه ژل پلی‌اکریل‌آمید۴۰ درصد ۳۴
جدول ۲-۹- مواد لازم برای تهیه ۶۰ میلی لیتر ژل پلی‌اکریل‌آمید۶ درصد ۳۵
جدول ۳-۱- توصیف آماری صفات مورد مطالعه در جمعیت گوسفند قره‌گل ۴۸
جدول ۳-۲ برآورد پارامترهای ژنتیکی صفات وزن بدن در گوسفند نژاد قره‌گل ایران ۵۱

چکیده

ارتباط چند شکلی ژن میوستاتین با وزن بدن در گوسفند نژاد قره‌گل ایران با استفاده از روش PCR-RFLP

جلال زارع

میوستاتین از اعضای خانواده TGF-β است که نقش مهمی در توسعه عضلات اسکلتی ایفا می کند. این ژن که برروی کروموزوم شماره ۲ گوسفند قرار گرفته، که دارای ۳ اگزون و۲ اینترون است. در برخی نژادهای گوسفند جهش در توالی این ژن تأثیر قابل توجهی بر افزایش وزن بدن و صفات لاشه داشته است. این تحقیق با هدف بررسی چندشکلی موجود در اگزون شماره ۳ ژن میوستاتین در گوسفند قره‌گل ایران و ارتباط آن با صفات رشد و با به کارگیری تکنیک RFLP-PCR انجام شد. از صد رأس گوسفند قره‌گل ایستگاه سرخس به طور انفرادی و تصادفی خونگیری به عمل آمد. DNA نمونه‌ها با روش بهینه یافتهclotted blood استخراج شد. با استفاده از یک جفت آغازگر طراحی شده، قطعه ۳۳۷ جفت بازی اگزون ۳ ژن میوستاتین نمونه‌ها تکثیر شد. جهت تشخیص ژنوتیپ‌های ژن میوستاتین، با استفاده از آنزیم محدودالاثر *HaeIII* قطعه تکثیر شده مورد هضم قرار گرفت. تمامی نمونه‌ها در این جایگاه تک‌شکل بودند و ژنوتیپ MM را نشان دادند. بر اساس گزارشات موجود و نتایج این بررسی مشاهده می‌شود که نژادهای ایرانی در جایگاه این ژن دارای چندشکلی بسیار پایینی هستند در صورتی که نژادهای اروپایی فراوانی بالایی از آلل جهش یافته این ژن را نشان می‌دهند. پایین بودن فراوانی این ژن در نژادهای ایرانی از اختصاصات ژنتیکی گوسفندان ایرانی محسوب می‌شود. پارامترهای ژنتیکی صفات وزن تولد (BW)، سه ماهگی (3MW)، شش ماهگی (6MW)، نه ماهگی (9MW) و یک سالگی (YW) در گوسفند ایرانی قره‌گل با استفاده از روش حداکثر درست‌نمایی برآورد شد. از اطلاعات وزن بدن که در طی سال‌های۷۳-۸۸ در ایستگاه اصلاح نژاد قره‌گل واقع در سرخس جمع‌آوری و ثبت شده بود استفاده شد. در این بررسی از ۶ مدل حیوان مختلف استفاده شد. مقدار وراثت‌پذیری مستقیم برای هر یک از صفات BW، 3MW، 6MW، 9MW و YW به ترتیب ۰/۲۰- ۰/۵۸، ۰/۱۰- ۰/۲۷، ۰/۱۴-۰/۲۰، ۰/۱۸-۰/۲۶ و ۰/۱۸-۰/۲۱ برآورد شد. همچنین مقدار وراثت‌پذیری مادری برای هر یک از صفات به ترتیب ۰/۵-۰/۲۲، ۰/۴-۰/۱۱، ۰/۲- ۰/۶، ۰/۲- ۰/۷ و ۰/۱-۰/۰۴ برآورد شد. در مدل های استفاده شده که از اثرات محیطی و ژنتیکی مادری چشم پوشی شد مقدار وراثت‌پذیری مستقیم برای تمام صفات در حد بالایی برآورد شد. نتایج این بررسی نشان داد که مدل ۱ که در آن تنها اثر تصادفی، اثر ژنتیکی خود حیوان در نظر گرفته شده است، برآورد دقیق‌تری برای صفات وزن بدن گوسفند قره‌گل ایران بدست می‌آید.

کلید واژه: میوستاتین، گوسفند قره‌گل، فراوانی، پارامتر ژنتیکی، وراثت‌پذیری

Abstract

Association between polymorphism of myostatin gene with body weight in Persian karakul sheep breed by PCR-RFLP method

Jalal Zare

The myostatin protein is a member of the Transforming Growth Factor-β (TGF-β) that plays an important role in the development of the skeletall muscles. The myostatin gene is located on ovine chromosome 2 (OAR2) and consists of three exons and two introns. In some breeds, mutation of the myostatin gene has a significant effect on the increase of the body weight and carcass traits. This study has been carried out with the objective of polymorphism analysis in the exon ۳ of myostatin in karakul sheep breed, by PCR-RFLP method and its relationship with weight traits issues. Blood samples were randomly collected from 100 Karakul sheep in the Karakul Sheep Breeding Station at Sarakhs. Genomic DNA was extracted by optimized clotted blood method. With a pair of predesigned primers, the 337 bp fragment of the exon 3 of myostatin gene was amplified. The PCR product was digested by HaeIII restriction enzyme to be used to detect genotypes. All samples in this locus were monomorph, with "MM" genotype. According to available reports and this results it is detected that the Iranian breeds have very low level of polymorphism, while the European breeds demonstrate higher level of mutated allel frequency. The lowness of this gene's frequency in Iranian breeds is of the genetic characteristic features of Iranian sheep breeds. Genetic parameters for birth weight (BW), 3-month weight (3MW), 6-month weight (6MW), 9-month weight (9MW) and yearling weight (YW) in Iranian Karakul sheep were estimated using restricted maximum likelihood procedure of Wombat program. The data and pedigree information used in this research were collected at Breeding Station of Karakul sheep (North Khorasan province, Iran) during 1994-2009. Six different animal models were fitted, differentiated by including or excluding maternal effects, with and without covariance between maternal and direct genetic effects. The estimates for direct heritability ranged from 0.2 to 0.58, 0.1 to 0.27, 0.14 to 0.2, 0.18 to 0.26 and 0.18 to 0.21 for BW, 3MW, 6MW, 9MW and YW, respectively. Also, the estimates for maternal heritability ranged from 0.05 to 0.22, 0.04 to 0.11, 0.02 to 0.06, 0.02 to 0.07 and 0.01 to 0.04 for BW, 3MW, 6MW, 9MW and YW, respectively. The direct heritability estimates were substantially higher when maternal effects, either genetic or environmental, were ignored in the model. The results of this study showed that the model with only direct genetic effect (model 1) gave the most accurate estimates for body weight traits in Iranian Karakul sheep.

Key words: myostatin, karakul sheep, genotype, frequency, genetic parameters, heritability

مقدمه

پرورش گوسفند در ایران بیشتر به منظور تولید گوشت، پوست و پشم صورت می‌گیرد که در بین آن‌ها تولید گوشت از اهمیت بیشتری برخوردار است. گوسفند به‌دلیل داشتن خصوصیاتی از جمله، کم توقع بودن از نطر غدایی، تحمل شرایط آب و هوایی سخت، تنوع در محصولات تولیدی و سازگاری با ذائقه و سنت‌های مدهبی مردم ایران از اهمیت بالایی برخوردار است.

کشور ما منابع غنی حیوانی، به‌خصوص گوسفند وجود دارد. جهت شناسایی ژن‌های کنترل کننده صفات تولیدی از طریق ژنتیک مولکولی کارهای جامع صورت نگرفته است. شناسایی ژن‌های کاندیدا در نژادهای بومی گوسفند می‌تواند به اصلاح نژاد و بهبود عملکرد گوسفندان بومی کمک کند.

در حال حاضر اصلاح ژنتیکی صفات مهم اقتصادی در حیوانات اهلی کشورمان عمدتاً متکی به روش‌های ژنتیک کمی است از معایب اصلی این روش‌ها غیر قابل کنترل بودن رخدادهای ژنتیکی در جمعیت‌ها و در بسیاری از موارد بروز عوامل نامطلوب مانند هموزیگوت شدن آلل‌های نامطلوب و کاهش تنوع ژنتیکی است. تکنیک‌های مولکولی شناخت ساختمان و شیوه عمل ژن‌ها را ممکن می‌سازد. استفاده از این اطلاعات نه تنها به کاهش عوارض نامطلوب کمک می‌کند بلکه امکان انتخاب دقیق‌تر و دستیابی به پاسخ انتخاب سریع‌تر را نیز ممکن می‌سازد.

تعیین چند شکلی ژنوتیپی در یک جمعیت می‌تواند با استفاده از نشانگرهای ژنتیکی، در برنامه‌های اصلاح نژادی انتخاب، مورد استفاده قرار گیرد. انتخاب براساس نشانگرهای ژنتیکی (MAS) علاوه بر افزایش سرعت پیشرفت ژنتیکی، باعث افزایش معیار صحت انتخاب و به دنبال آن افزایش پاسخ به انتخاب نیز می‌شود [Beuzen et al., 2000].

میوستاتین از اعضای خانواده TGF-β است، که شامل گروهی از فاکتورهای رشد و تمایز می‌باشد و نقش مهمی در توسعه عضلات اسکلتی ایفا می‌کند. میوستاتین پس از سنتز در عضلهٔ اسکلتی، به گردش خون ترشح می‌شود و در سطح سلول عضلانی از طریق کاهش فاکتور های تنظیمی میوژنیک، تکثیر و تمایز سلول‌ها در میوفیبریل‌های بالغ را مهار می‌کند [McCroskery et al., 2003].

پروپتید میوستاتین ۳۷۶ اسید آمینه دارد که بعد از فرایند پروتئولیک به یک پپتید فعال تبدیل می شود.. سپس به عنوان یک تنظیم کننده منفی در طی رشد عضله عمل می کند. میوستاتین در طی سیکل تکثیر سلول فاز G1 و G2 را بلوکه می‌کند. زمانی که میوستاتین از محیط رشد حذف شود سلول مجدد شروع به تکثیر می کند [Kobolak et al., 2002].

ژن میوستاتین در گوسفند برروی کروموزوم شماره ۲ قرار گرفته است که دارای ۳ اگزون و ۲ اینترون می‌باشد. میوستاتین(GDF-8) از ژن‌های کاندیدای موثر بر افزایش وزن بدن است که تاکنون چندشکلی های زیادی که مرتبط با افزایش وزن بدن می‌باشند در توالی این ژن در گوسفند و سایر گونه‌ها مشاهده شده است. اثر مستقیم جهش میوستاتین

بر روی صفات لاشه دارای اهمیت می‌باشد. بررسی کیفیت گوشت در نژادهای آمیخته به اثر غیر قابل انکار جهش برروی کیفیت گوشت در بره‌های حامل آلل جهش یافته اشاره دارد [Masri et al., 2011].

نژاد قره‌گل یکی از مهم‌ترین نژادهای پوستی دنیا است که کمتر از ۱ در صد گله های گوسفند را در ایران تشکیل می‌دهد. در این مطالعه از تکنیک PCR-RFLP برای تشخیص چند شکلی در اگزون ۳ ژن میوستاتین و ارتباط آن با صفات اقتصادی رشد گوسفند نژاد قره‌گل استفاده شد. در صورت وجود ارتباط بین چندشکلی‌های مشاهده شده در ژن میوستاتین وصفات اقتصادی در این نژاد، شناسایی آلل جهش یافته این ژن می‌تواند به عنوان یک نشانگر برای انتخاب والدین نسل بعد بسیار موثر باشد. با انتخاب افراد دارای آلل مطلوب در طی نسل‌های متوالی، فراوانی آلل مطلوب تا حد مطلوبی افزایش می‌یابد و به این طریق می‌توان ظرفیت تولیدی جمعیت را افزایش داد.

فصل اول

کلیات و مرور منابع

۱-۱- رده‌بندی و تاریخچه گوسفند

گوسفند اهلی (*Ovis aries*) از سلسله حیوانات، شاخه مهره‌داران، رده پستانداران، راسته سم شگافتگان، زیر راسته نشخوارکنندگان، تیره گاو سانان، زیر خانواده بزسانان، جنس اویس و گونه اریس است. طبقه‌بندی در داخل جنس اویس تا حدودی نامشخص بوده و وجود ۴ تا ۸ گونه در این جنس مورد بحث است. بسیاری معتقدند که چون همه این گونه‌ها قادر به آمیزش با هم هستند، پس می‌توانند در یک گونه واحد در نظر گرفته شوند. با وجود انتقادات زیاد، اکثر دانشمندان علوم حیوانی معتقدند که گوسفند اهلی از گوسفند وحشی آسیایی و اروپایی (شامل آرگالی، موفلون و اوریال) منشأ گرفته است. تعداد کروموزوم گروه‌های آسیایی، اروپایی و آمریکایی متفاوت است، به‌طوری که اوریال آسیایی دارای ۵۸ کروموزوم و سایر گروه‌ها دارای ۵۴ کروموزم هستند که ۲۶ جفت آن اتوزوم و یک جفت جنسی است [Franklin et al., 1997].

۱-۱-۱- خصوصیات و ویژگی‌های گوسفند

گوسفند به همراه بز، آهو و گوزن در دسته نشخوارکنندگان کوچک جای می‌گیرد. نشخوارکنندگان توان مصرف خوراک‌های کم کیفیتی که برای انسان و جانداران غیرنشخوارکننده (نظیر خوک‌ها و پرندگان) غیر قابل استفاده هستند، را دارند. انسان گوسفند را برای تولید گوشت، شیر، پشم، پوست و کود نگهداری می‌کند [Gatenby, 1991].

گوسفند در مقایسه با دام‌های دیگر به جیره نگهداری کمتری نیاز دارد و بیشتر خوراک مصرفی را برای تولید، رشد و نمو خود به کار می‌برد. از این رو گوسفند از دیدگاه اقتصادی در بیشتر کشورهای جهان دارای ارزش فراوانی است [سعادت نوری و سیاه منصور، ۱۳۸۲]. گوسفند یک نوع سرمایه به شمار می‌آید. در جاهایی که دسترسی به امکانات بانکی اندک است و کشاورز از داشتن زمین کشاورزی بی‌بهره است، همچون سامانه‌های عشایری، مال و دارایی به شکل دام نگهداری می‌شود. در بسیاری از کشورهای کمتر رشد یافته با اقتصاد ناپایدار، سرمایه‌گذاری در بخش گوسفندداری از آسیب‌های ناشی از افزایش نرخ تورم پیش‌گیری می‌کند [Gatenby, 1991].

سرمایه‌گذاری انجام شده در بخش گوسفنداری به سرعت باز می‌گردد، به گونه‌ای که می‌توان بره‌ها را در هشت ماه پس از آبستنی میش به فروش رساند. همچنین پشم گوسفند را نیز می‌توان به آسانی انبار و نگهداری کرد و در زمان مناسب به بازار فرستاد ولی دیگر فرآورده‌های دامی این ویژگی را ندارند [سعادت نوری و سیاه منصور، ۱۳۸۲]. نگهداری نشخوارکنندگان کوچک مانند گوسفند نسبت به نشخوارکنندگان بزرگ دارای برتری‌هایی هم‌چون، هزینه‌های پایین‌تر، نیاز به خوراک کمتر، خطر پذیری کمتر در مواقع بروز خسارت، نرخ زادآوری بالاتر و بازده نسلی کوتاه‌تر می‌باشد. از این گذشته نگهداری، پرورش و خوردن گوشت گوسفند دارای بازدارنده‌های فرهنگی و مذهبی نیست. برای نمونه مسلمانان و

یهودیان خوک نگهداری نمی‌کنند و گوشت آن را نمی‌خورند. هندیان نیز گاو را کشتار نمی‌کنند. از سوی دیگر گاوداری در مقایسه با گوسفندداری به توان اقتصادی بیشتری نیاز دارد. یک برنامه به‌نژادی برای افزایش بهره‌وری در فرآورده‌های گاو بیشتر به سود کسانی است که از توانمندی بیشتری برخوردارند. ولی یک برنامه برای بهبود و به‌نژادی در گوسفند و بز سودمندی همگانی‌تری دارد همچنین پرورش گوسفند به دلیل نیاز کم به تاسیسات باعث شده پرورش وسیع‌تری داشته باشد [Gatenby, 1991].

۱-۱-۲- اهمیت اقتصادی گوسفند

گوسفند برای تولید پشم، گوشت، شیر و پوست پرورش داده می‌شود و اهمیت این صفات بر حسب شرایط جغرافیایی از منطقه‌ای به منطقه‌ی دیگر متفاوت است. در مقایسه با سایر تولیدات گوسفند، گوشت بیشترین مقدار مصرف را در ایران به خود اختصاص داده است (حدود ۶۰ تا ۷۰ درصد). به همین جهت به پرورش گوسفند از نظر تولید گوشت بیشتر از سایر موارد توجه شده و برای بدست آوردن حداکثر محصول برنامه‌های اصلاح نژادی و تغذیه‌ای خاصی در نظر گرفته شده است.

چگونگی رشد بره در مراحل مختلف ز ندگی یکی ازصفات مهم اقتصادی گوسفند است، این صفت به ویژه در گوسفندان گوشتی اهمیت زیادی دارد، زیرا رشد سریع سبب می‌شود که گوسفندان در سن کمتری به وزن مناسب کشتار برسند [سعادت نوری و سیاه منصور، ۱۳۸۲]. وقتی یک گونه حیوان اهلی بیش از یک محصول تولید می‌کند (مانند گوسفندان دو منظوره‌ای که گوشت و پشم تولید می‌کنند)، سود حاصله بر مبنای بهبود صفات تولیدی، در نتیجه، افزایش سودآوری بیان می‌شوند [Bromley et al., 2000].

۱-۱-۳- پرورش گوسفند در ایران و جهان

آمار منتشر شده توسط سازمان FAO تا سال ۲۰۰۶ نشان می‌دهد که تعداد گوسفندان جهان بیشتر از یک میلیارد راس است که نزدیک به نیمی از آن‌ها در آسیا پرورش می‌یابند. بزرگ‌ترین گله‌های گوسفند در ایران، چین و هند وجود دارند.. تاکنون ۱۱۲۹ نژاد گوسفند در بانک اطلاعاتی ذخایر ژنتیکی دام FAO به ثبت رسیده است. از این تعداد ۹۹۵ نژاد بومی و الباقی تحت عنوان نژاد فرا منطقه‌ای طبقه‌بندی شده‌اند. از مجموع نژادهای گوسفند موجود در دنیا، ۱۲ درصد نژادها در قاره افریقا، ۲۵ درصد در آسیا، ۴۸ درصد در اروپا، ۴ درصد آمریکای لاتین، ۳ درصد در آمریکا و ۸ درصد آن در سایر مناطق پراکنده‌اند. بر اساس اطلاعات منتشر شده تا سال ۲۰۰۶ از این تعداد، ۱۸۰ نژاد منقرض شده و ۹۸ نژاد در خطر انقراض قرار دارند [FAO, 2006].

ایران با ۵۸,۳ میلیون راس گوسفند، دارای تنوع نژادی بالایی است و تاکنون ۲۷ نژاد ایرانی در بانک اطلاعاتی FAO ثبت شده‌اند. به جز نژاد زل تمام نژادهای گوسفند ایران دارای دنبه و پشم ضخیم هستند [FAO, 2006].

۱-۱-۴- ارزش جهانی گوشت گوسفند

محصول گوشت هنوز هم بزرگ‌ترین نسبت را بین تولیدات حیوانی دارد. در صنعت گوشت علاوه بر کمیت، کیفیت نیز دارای اهمیت بالایی است. از این‌رو تحقیقات فیزیولوژیکی و غذایی وسیعی برای نشان دادن اثر اجزای گوشت حتی در سطح ماکرو مولکولی، صورت گرفته است. فاکتور ژنتیکی در بین فاکتورهایی که کیفیت گوشت را تعیین می‌کنند نقش برجسته ای دارد [Kobolak et al., 2002].

تولیدات گوسفند یکی از منابع عمده تولید مواد غذایی در جهان به شمار می‌آید و گوسفند یکی از منابع تولید گوشت است که مصرف آن تا حدودی دارای محدودیت فرهنگی و مذهبی است. درصنعت پرورش گوسفند، صفات ترکیب بدن (در درجه اول توده عضلانی و چربی) از لحاظ اقتصادی دارای اهمیت فراوانی هستند. از این‌رو روش‌های متعددی برای پیش‌بینی ترکیب بدن در گوسفند شناسایی شده است [Lawrie et al., 1998].

وزن زنده به عنوان استاندارد اندازه‌گیری جرم بدن در نظر گرفته شده است، اما به دلیل این‌که این عامل نمی‌تواند بین مراحل مختلف بلوغ فیزیولوژیک تمایز قایل شود، لذا یکی از شاخص‌های ضعیف برای ترکیب بدن محسوب می‌شود [Fortin et al.,1986]. صفات وزن لاشه، وزن بدن، کمیت و کیفیت گوشت، مانند صفات تولید مثلی تاثیر مستقیم بر روی سود دارند [Noelle et al., 2005].

۱-۱-۵- به‌نژادی صفات تولیدی گوسفند

در گوسفند بسیاری از تحقیقات در مورد صفات کمی با هدف بدست آوردن حداکثر تولید، از طریق بهبود ژنتیکی گله انجام می‌شود. یافته‌های ساختار ژنتیکی صفات از طریق افزایش دقت در روش انتخاب باعث افزایش سرعت پیشرفت ژنتیکی می‌شود. با این حال، یافته‌ها در مورد ساختار ژنتیکی صفات مهم تجاری محدود است [Williams et al., 2005].

هدف عمده ژنتیک درک ماهیت تنوع در صفات تولیدی حیوانات است [Lynch and Walsh, 1998]. در چند دهه گذشته آزمایشات زیادی برای کشف جایگاه صفات کمی (QTL)[1] در جمعیت دام، به‌ویژه گوسفند صورت گرفته است. به

1- Quantative trait locus

طور کلی، این آزمایشات در شناسایی مناطق شامل QTL با موفقیت انجام شده‌اند، اما تنوع QTLهای کشف شده در این آزمایشات کم است [Grisart et al., 2002].

۱-۲- تنوع ژنتیکی و اهمیت آن

تفاوت‌های ژنتیکی و مورفولوژیکی (ظاهری) افراد در جمعیت‌های مختلف، به تنوع ژنتیکی تعبیر می‌شود. تنوع ژنتیکی به‌عنوان بالاترین سطح تنوع در گونه‌های مختلف موجود در اکوسیستم شناخته می‌شود [Templeton et al., 1994]. این تنوع معیاری است که برحسب آمارهای جمعیتی، از قبیل تعداد افراد موجود، نسبت رده‌های سنی و جنسیت بیان می‌شود [Hunter et al., 2007]. وجود تنوع در ذخایر ژنتیک حیوانی (AnGR)[1] به عنوان عامل حیاتی در تمام سیستم‌های تولیدی محسوب می‌شود. تنوع ماده‌ی خام برای کارهای اصلاح نژادی و همچنین سازگاری با شرایط مختلف محیط محسوب می‌شود [Hanotte et al., 2006]. تنوع را می‌توان به سه صورت تنوع ژنتیکی، تنوع گونه‌ها و تنوع اکوسیستم بررسی نمود. تنوعی که در توده‌های مختلف افراد می‌بینیم ناشی از ژنتیک و محیط است. تنوع ناشی از ژنتیک، عامل اصلی برای انتخاب محسوب می‌شود، زیرا از طریق ژن‌ها به نسل بعد منتقل می‌شود. مقصود از انتخاب در اصلاح نژاد یعنی شناسایی برترین افراد و آمیزش آن‌ها با یکدیگر، به منظور تشکیل نسل فرزندانی که میانگین تولیدشان از میانگین نسل والدین بالاتر باشد. انتخاب با بیشتر کردن فراوانی ژن‌های افزایشی شایستگی ژنتیکی را بالا می‌برد. اگر تنوع ژنتیکی از میان برود، تفاوت‌های بین افراد جمعیت ناشی از شرایط محیطی است. از این‌رو نمی‌تواند به نسل بعد منتقل شود. انتخاب در چنین جمعیت‌هایی، هیچ تأثیری در نسل آینده نداشته، و سبب بهبود در کارایی نمی‌شود. از اینرو وجود و حفظ تنوع در حیوانات بومی حائز اهمیت فراوان است [Groeneveld et al., 2010].

۱-۲-۱- تنوع ژنتیکی در نژادهای بومی

یکی از علل انقراض گونه‌ها و از بین رفتن ذخایر ژنتیکی، تمایل به داشتن نژادهای اصلاح شده‌ی پرتولید (که جایگزین نژادهای بومی می‌شوند) است [Groeneveld et al., 2010]. از این‌رو بررسی‌های تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های بومی از اهمیت بسیار زیادی برخوردار است. جمع‌آوری اطلاعات در زمینه‌ی تنوع ژنتیکی، به‌عنوان اولین قدم برای حفظ ذخایر ژنتیکی نژادهای مختلف احشام است. به نظر می‌رسد که وجود تنوع ژنتیکی در جمعیت، باعث بیمه نمودن دام‌ها در مقابل

1- Animal Genetic Resources

هر گونه تغییرات در آینده شود [Beigi Nasiri et al., 2007]. وجود تنوع ژنتیکی در نژادهای بومی حائز اهمیت است. زیرا این نژادها بعد از هزاران سال انتخاب طبیعی و گذر از موانع بسیار زیاد و با غلبه بر تمامی ناملایمات و شرایط نامساعد محیطی، همچنان به حیات خویش ادامه داده و به تکثیر و ازدیاد نسل خود پرداخته‌اند. از اینرو، به عنوان سرمایه ملی و محصول استراتژیک در اقتصاد و رونق آن کشور محسوب شده و حفظ و تکثیر آن‌ها از ارزش و اهمیت بالایی برخوردار است [ادریس و خسروی‌نیا، ۱۳۷۹]. همچنین این نژادها به شرایط خاص آن منطقه‌ی بومی و اقلیم خود سازگارند، و بسیاری از آن‌ها در تأمین محصولات بومی آن منطقه، نقش بارزی دارند، و به عنوان میراث فرهنگی یک منطقه خاص به‌حساب می‌آیند [Woelders et al., 2006].

۱-۲-۲- چند شکلی DNA

تغییر در توالی نوکلئوتیدها سبب ایجاد تنوع در ساختمان ژنتیکی یک جمعیت می‌شود. تفاوت در ساختمان ژنومی موجودات سبب بروز تفاوت در جمعیت می‌شود. حضور بیش از یک آلل در یک لوکوس ژنوم موجودات را چند شکلی می‌گویند. چند شکلی به شکل چند شکلی ظاهری، چند شکلی کروموزومی، چند شکلی ایمیونولوژیک، چند شکلی پروتئینی و چند شکلی DNA دیده می‌شود [Nussabaum et al., 2001]. جمعیت‌های چندشکل بر عکس جمعیت‌های یک‌شکل انعکاس دهنده یک خزانه ژنی مطلوب هستند [Hillel et al,. 2003].

چندشکلی در توالی DNA در تشخیص پیوستگی ژنی، تشخیص بیماری‌های ژنتیکی، ارزیابی افرادی که در معرض بیماری‌های قلبی و سرطان قرار دارند و در پزشکی قانونی دارای اهمیت بالایی هستند [Nussabaum et al., 2001].

۱-۲-۳- تکنیک‌های مولکولی و اصلاح دام

استفاده از تکنیک‌های مولکولی به رفع برخی محدودیت‌های رایج در اصلاح دام کمک می‌کند. استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز، توسعه تکنیک‌های توالی‌یابی ژنوم، شناسایی انواع نشانگرهای مولکولی در سطح ژنوم، ارائه نقشه‌های ژنتیکی متراکم از گونه‌های مختلف حیوانات اهلی و پیشرفت‌های حاصله در علوم آمار و کامپیوتر از جمله تکنیک‌هایی است که امروزه در اصلاح دام از آن‌ها استفاده‌های زیادی می‌شود [Montaldo and Meza-Herrera, 1998].

امروزه گسترش تکنیک‌های مولکولی امکان تعیین چند شکلی موجود در نواحی ویژه‌ای از سطح ژنوم را فراهم می‌آورد. این چند شکلی‌ها را می‌توان برای نقشه‌های ژنتیکی و ارزیابی تفاوت‌های موجود بین نشانگرها در بروز صفات ویژه در یک جمعیت به کار رود.