بسم الله
الرحمن الرحیم

دانشگاه زنجان
دانشکده کشاورزی
گروه علوم دامی

پایاننامه

جهت دریافت درجه کارشناسی ارشد (MSe)

ردیابی والد بره های نر با استفاده از میکرو ساتلایت در گوسفند بلوچی

تحقیق و نگارش:

محمد رضا سلیمانی

اساتید راهنما:

دکتر مرادپاشا اسکندری نسب **دکتر رحیم عصفوری**

اسفند ۹۰

تقدیم به

تنها بهانه‌های زیستنم، پدر و مادر عزیزم

و برادران مهربانم

و تمامی آنانی که در مسیر سرنوشتم

لحظه ای در کنارم ایستادند

و با محبت یاریم نمودند

و بنا به تقدیر عبور کردند،

باشد که بپذیرند.

و تقدیم به تنها بهانه آفرینش...

تقدیر و تشکر

حمد و سپاس خداوند عزوجل که طاعتش موجب قربت است و به شکر اندرش مزید نعمت. خداوندی که سخن وران از ستودن او عاجزند و حسابگران از شمارش نعمت‌های او ناتوانند. خداوندی که افکار ژرف اندیشان، ذات او را درک نمی‌کنند. خداوندی که با قدرت عظیم و شگرف خود عجایب اسرارآمیز و پیچیده‌ای را فرا روی بشر نهاد تا حکمت و دانایی بی‌حد و حصرش را در عرصهٔ گیتی جاری و جلال و عظمت خود را بر مخلوقاتش حاکم نماید

بر خود لازم می‌دانم ضمن تشکر از همهٔ عزیزانی که به هر نحو حتی با یک لبخند که خستگی ام را می کاست مرا در اجرای مطلوب این پایان نامه یاری داده صمیمانه سپاسگذاری نموده و از اینکه امکان ذکر نام آنها میسر نیست عذر خواهی می نمایم .

از اساتید راهنمای بزرگوارم ، جناب آقای دکتر اسکندری نسب و جناب آقای دکتر عصفوری که فرصت انجام این تحقیق را برای من فراهم نمودند، به خاطر لطف و عنایت خاص ایشان و همینطور به خاطر تمامی زحماتی که در طول دوران تحصیل بنده متقبل شده اند، سپاسگذاری می نمایم و منت دار این عزیزان خواهم بود

از جناب دکتر ترنگ ریاست محترم پژوهشکده بیوتکنولوژی شمال کشور که بدون عنایت ایشان این تحقیق انجام نمی شد، از جناب دکتر توحیدفر که از راهنمایی های ایشان در انجام این پایان نامه بسیار بهره مند شدم از جناب دکتر رفیعی که در واقع نگارش متن این پایان نامه بدون کمک ایشان به راحتی میسر نمی شد و در طی مراحل انجام آزمایشات از کمک ایشان بسیار بهره بردم ، دکتر موسوی که در طول اجرای کار آزمیشگاهی از راهنمایی این عزیز بسیار بهره مند شدم تشکر نموده و کمال امتنان را دارم

در پایان درمانده ام که از ماه و خورشید و ستارگان آسمان زندگیم

خانواده ام که در این راه مرا بسیار تحمل نمودند چگونه و با چه کلامی تشکر کنم .

چکیده

در این تحقیق امکان ردیابی پدر بره های نر با استفاده از میکرو ساتلایت در گوسفند بلوچی با استفاده از نشانگرهای اختصاصی کروموزوم Y در گوسفند (SRY M18 و Y2,Y3, Y5, Y6, Y7, Y8, Y9, Y10, Y12, Y13, Y14, Y15, Y16)و میکروساتلایت های اختصاصی کروموزوم Yدرگاوسانان (UMN0907،UMN0307،UMN1203،UMN0304،SRY-HMG،UMN0311، SRY-R2801، MAF45، BM861، INRA057، INRA189، BRY-1، BYM-1) و ۶ جفت پرایمر اختصاصی کروموزوم Y اسب (Eca.YA16، Eca.YE01، Eca.YH12، Eca.YJ10، Eca.YP09 Eca.YM02) مورد بررسی قرار گرفتند. در یک مورد پرایمر های اختصاصی کروموزوم Y اسب برای گوسفند به خوبی تکثیر انجام داد. برای این پرایمر تکثیر به صورت اختصاصی در نر ها قابل بررسی بود.

نمونه های خون مورد نیاز در این تحقیق از ۲۵۰راس گوسفند نژاد بلوچی که از عمده ترین نژادهای پرورش داده شده در نوار شرقی ایران می باشند از خراسان ،بیرجند ،طبس و زابل با استفاده از ونوجکت های ۱۰میلی لیتری حاوی EDTA جمع آوری شدند. استخراج DNA از خون کامل تعداد زیادی از نمونه ها با روش فنول-کلروفرم تعدادی با روش استخراج نمکی و تعدادی نیز با استفاده ار کیت استخراجی صورت گرفت. DNA های استخراج شده تعیین کیفت و کمیت شدند. با استفاده از ژل آگارز ۱درصد،کیفیت DNA و برای بررسی کمیت آنها از دستگاه Nano Drop 2000 وBeckman Coulter استفاده شد. میزان غلظت آلودگی های پروتئینی، RNA و فنولی موجود درDNA استخراج شده تعیین گردید.

برای تکثیر پرایمرها از سه روش PCR به صورت پایه، به صورت Touchdown ودر بعضی موارد برای تعیین دمای انلینگ از برنامه های گرادیان استفاده شد. برای تفکیک قطعات حاصل از تکثیر در PCR ،تکثیر آنها را بر روی ژل آگارز بررسی شد و بعد از مشاهده تکثیر، محصولات PCR برای تفکیک بیشتر بر روی ژل پلی اکریل آمید واسرشته ساز ۶درصد مورد سنجش قرار گرفتند. روش رنگ آمیزی با استفاده از نیترات نقره صورت گرفت. به طور کلی تمام پرایمر های بررسی شده در سه دسته جای گرفتند. آنهایی که تکثیری انجام ندادند آنهایی که تکثیر داشتند به صورت مونومورف بودند و دسته سوم به صورت پلی مورف تکثیر داشتند. نتیجه ای که ازبررسی این پرایمر ها بدست آمد وجود تشابه بسیار بالا بین نر های موجود در گله مورد بررسی است، این نتایج مشابه نتایج بدست آمده در تحقیقات مشابه بود و انتظاری که از وجود نواحی حفاظت شده در کروموزوم Y وجود داشت را کاملا نشان داد و نشان داد این نشانگر ها توانایی تفکیک بین نرها در دام های مورد بررسی را ندارند. از دلایل که برای چنین سطح بالایی از همولوژی می توان ذکر کرد وجود انتخاب در مرکز اصلاح نژاد دام شمال شرق کشور (عباس آباد) برای تولید نسل ها است. لذا ضرورت انجام این تحقیق بر روی سایر نژادهای گوسفند و به خصوص استفاده از گونه های وحشی در ایران را آشکار می‌نماید.

واژه های کلیدی :گوسفند بلوچی، نشانگرهای ریزماهواره ، پلی مورفیسم، ردیابی پدر بره های نر

فهرست مطالب

عنوان	صفحه
فصل اول: مقدمه	۱
۱-۱-بیان مسئله و ضرورت اجرای تحقبق	۲
۱-۲-فرضیه ها	۴
۱-۳- اهداف	۵
فصل دوم:کلیات و بررسی منابع	۶
۲-۱- رده‌بندی گوسفند	۶
۲-۱-۱- جایگاه گوسفند در تقسیم بندی جانوری	۶
۲-۱-۲- پرورش گوسفند در جهان و ایران	۶
۲-۱-۳ تولید گوشت گوسفند در ایران و جهان	۸
۲-۱-۴- طبقه بندی و شناسایی نژادهای گوسفند	۸
۲-۱-۵- تقسیم بندی گوسفندان بر اساس سایر موارد	۹
۲-۲- گوسفند بلوچی	۱۱
۲-۲-۱- خصوصیات ظاهری	۱۲
۲-۲-۲- انواع گوسفندان بلوچی	۱۲
۲-۲-۳- خصوصیات تولیدی	۱۳
۲-۴- توده ایران بلک	۱۳
۲-۵-صفات مهم اقتصادی گوسفند	۱۴
۲-۶- ساختار ژن	۱۴
۲-۷-انواع نشانگرهای ژنتیکی	۱۵
۲-۷-۱- نشانگرهای مورفولوژیکی	۱۵
۲-۷-۲- نشانگرهای فیزیولوژیکی	۱۵
۲-۷-۳- نشانگرهای سیتوژنتیکی	۱۵
۲-۷-۴- نشانگرهای پروتئینی	۱۵
۲-۷-۴-۱- معایب نشانگرهای پروتئینی	۱۶

۲-۸- تقسیم بندی نشانگرهای مولکولی ۱۶
۲-۸-۱- نشانگرهای DNA غیر مبتنی بر PCR ۱۶
۲-۸-۱-۱- چندشکلی قطعات حاصل از هضم (RFLP) ۱۶
۲-۸-۱-۱- ۱-محاسن نشانگر (RFLP) ۱۷
۲-۸-۱-۱-۲- معایب نشانگر (RFLP) ۱۷
۲-۸-۱-۲-تعداد متغیر تکرارهای متوالی ۱۹
۲-۸-۱-۳- ماهوارک‌ها ۱۹
۲-۸-۱-۴- پویش ژنومی نشانه‌های محدود شده (RLGS) ۱۹
۲-۸-۱-۴-۱- مزایای (RLGS) ۲۰
۲-۸-۱-۴-۲- معایب (RLGS) ۲۰
۲-۸-۲- نشانگرهای DNA مبتنی بر PCR ۲۰
۲-۸-۲-۱- تفاوت طول قطعات قابل تکثیر (ALP) ۲۱
۲-۸-۲-۲- تفاوت طول قطعات هضم شده فرآورده‌های واکنش PCR (PBR) ۲۱
۲-۸-۲-۲-۱- مزایای (PBR) ۲۱
۲-۸-۲-۲-۲- معایب (PBR) ۲۱
۲-۸-۲-۳- چند شکلی در آرایش فضایی رشته‌های منفرد DNA ۲۲
۲-۸-۲-۴- تکثیر تصادفی DNA چند شکل (RAPD) ۲۲
۲-۸-۲-۵- چندشکلی تک نوکلئوتیدی (SNP) ۲۳
۲-۸-۲-۶- انگشت نگاری با DNA تکثیر شده (DAF) ۲۳
۲-۸-۲-۷- ریز ماهواره ها ۲۳
۲-۸-۲-۷-۱- خصوصیات عمومی ریز ماهواره ها ۲۴
۲-۸-۲-۷-۲- مزایای ریز ماهواره‌ها ۲۵
۲-۸-۲-۷-۳- معایب ریز ماهواره‌ها ۲۵
۲-۸-۲-۷-۳-۱-آلل های صفر ۲۵
۲-۸-۲-۷-۳-۲- انتخاب مدل جهش مناسب ۲۷
۲-۸-۲-۷-۳-۳- عوامل موثر بر میزان جهش در ریزماهواره ها ۲۷
۲-۸-۲-۷-۳-۴- اشتباهات آلل خوانی ۲۷

۲-۸-۲-۷-۴- اشکال مختلف ریز ماهواره ها ۲۸
۲-۸-۲-۷-۵- تکامل ریز ماهواره ها ۲۹
۲-۸-۲-۷-۶- تشخیص آلل های ریزماهواره ای ۳۰
۲-۸-۲-۷-۷- عوامل موثر بر میزان جهش در ریزماهواره ها ۳۰
۲-۸-۲-۸-کاربردهای ریزماهواره ها ۳۱
۲-۸-۲-۸-۱- تعیین هویت، آزمون انساب ،آنالیز خویشاوندی وتشخیص سرطان ۳۱
۲-۸-۲-۹- تفاوت طول قطعات حاصل از تکثیر(AFLP) ۳۳
۲-۸-۲-۹-۱-مزایای (AFLP) ۳۳
۲-۸-۲-۹-۲- معایب (AFLP) ۳۳
۲-۸-۲-۱۰- موقعیت توالی نشاندار(STS) ۳۴
۲-۸-۲-۱۱- ردیف‌های بیان شده نشاندار (EST) ۳۴
۲-۹- آنزیم‌های محدودالاثر ۳۴
۲-۱۰- چندشکلی یا پلی‌مورفیسم ۳۴
۲-۱۰-۱-مزایای تعیین پلی مورفیسم ۳۵
۲-۱۱- اندازه نمونه مورد نیاز ۳۵
۲-۱۲- روش های نمایان سازی آلل ها پس از الکتروفورز ۳۷
۲-۱۳-مروری بر تحقیقات انجام شده بر روی کروموزوم Y ۳۷
۲-۱۴- تنوع نوکلئوتیدی کروموزوم Y ۴۱
۲-۱۵- میزان جهش در ریزماهواره های کروموزوم Y ۴۲
۲-۱۶- استفاده از کروموزوم Y برای تعیین جنسیت ۴۴
فصل سوم: مواد و روش ها ۵۲
۳-۱- مراحل انجام تحقیق ۵۳
۳-۲- مطالعه و بررسی گله های مختلف ۵۳
۳-۳- نژادهای گوسفند و بز استان خراسان ۵۳
۳-۴- جمعیت مورد مطالعه ۵۴
۳-۵- معرفی مرکز اصلاح نژاد دام شمال شرق کشور(عباس آباد) ۵۴
۳-۶- نژاد بلوچی ۵۵

۳-۷- توده ایران بلک ۵۶
۳-۸- نمونه برداری ۵۶
۳-۹- استخراج DNA ۵۷
۳-۹-۱- روش استخراج اصلاح شده نمکی ۵۸
۳-۹-۲- استخراج DNA از خون کامل به‌روش استاندارد فنل - کلروفرم ۶۱
۳-۹-۳- استخراج DNA از خون کامل با استفاده از کیت شرکت BIO- NEER ۶۴
۳-۹-۳-۱- مزایای استفاده از کیت استخراج DNA ۶۴
۳-۹-۳-۲- مراحل استخراج با کیت ۶۴
۳-۱۰- تعیین کیفیت و کمیت DNA استخراج شده ۶۷
۳-۱۰-۱- استفاده از اسپکتروفتومتر برای تعیین کمیت DNA استخراج شده ۷۰
۳-۱۰-۱-۱- روش کار با دستگاه Beckman Coulter ۷۱
۳-۱۰-۲- دستگاه اسپکتروفتومتری Nano Drop 2000 ۷۲
۳-۱۱- رقیق‌سازی DNA استخراج شده ۷۳
۳-۱۲- انتخاب نشانگرهای ریزماهواره ۷۴
۳-۱۳- اجزاء واکنش PCR ۷۶
۳-۱۴- بهینه سازی شرایط PCR ۷۷
۳-۱۵- برنامه حرارتی دستگاه ترموسایکلر به صورت پایه ۷۹
۳-۱۶- برنامه تاچ‌دان برای PCR ۷۹
۳-۱۷- الکتروفورز با ژل پلی اکریل آمید واسرشته ساز ۸۰
۳-۱۸- تیمار ظرف ژل ۸۱
۳-۱۹- تهیه نمونه‌ها جهت بارگذاری در ژل ۸۴
۳-۲۰- رنگ آمیزی ژل به روش نیترات نقره ۸۴
۳-۲۰-۱- استفاده از محلول تثبیت کننده به منظور تثبیت نوارهای DNA ۸۴
۳-۲۰-۲- رنگ آمیزی ژل با محلول رنگ آمیزی ۸۵
۳-۲۰-۳- آشکار نمودن باندهای روی ژل با استفاده از محلول آشکارساز یا ظاهرکننده ۸۵
۳-۲۰-۴-توقف ظهور باندها با استفاده از محلول تثبیت کننده ۸۵
۳-۲۱- تعیین ژنوتیپ افراد و تجزیه و تحلیل داده‌ها ۸۶

۳-۲۲- معیارهای سودمندی نشانگر ۸۶
۳-۲۳- تجزیه واریانس ملکولی ۸۸
۳-۲۴- آزمون انتساب ۸۹
فصل چهارم: نتایج و بحث ۹۰
۴-۱- کیفیت و کمیت DNA استخراج شده ۹۰
۴-۲- پرایمر BRY-1 ۹۳
۴-۳-پرایمر INRA 057 ۹۴
۴-۴- پرایمر BYM-1 ۹۶
۴-۵- پرایمر SRY-HMG ۹۷
۴-۶-پرایمر INRA 189 ۹۸
۴-۷-پرایمر MAF 45 ۹۹
۴-۸-پرایمر SRY 2801 ۱۰۰
۴-۹-پرایمر SRY M 18 ۱۰۱
۴-۱۰- پرایمر UMN 0304 ۱۰۴
۴-۱۱- پرایمر UMN 0311 ۱۰۵
۴-۱۲-پرایمر UMN 0907 ۱۰۶
۴-۱۳-پرایمر UMN 1203 ۱۰۷
۴-۱۴-پرایمر Y 2 ۱۰۸
۴-۱۵-پرایمر Y 3 ۱۰۹
۴-۱۶-پرایمر Y 8 ۱۱۰
۴-۱۷-پرایمر Y 9 ۱۱۱
۴-۱۸-پرایمر Y 13 ۱۱۲
۴-۱۹- پرایمر BM 861 ۱۱۳
۴-۲۰-پرایمر Eca YM 02 ۱۱۴
۴-۲۱- پرایمر Y10 ۱۱۵
۴-۲۲- پرایمر Y 12 ۱۱۶
۴-۲۳-پرایمر Y 14 ۱۱۷

۴-۲۴-پرایمر Y 15 ۱۱۸
۴-۲۵-پرایمر Y 16 ۱۱۹
۴-۲۶- پیشنهادات ۱۲۳
پیوست الف: ساخت برخی مواد آزمایشگاهی ۱۲۵
پیوست ب: اختصارات ۱۲۸
پیوست پ: کد نژادها, توده نژادها و اکوتیپ های گوسفندان ایران ۱۳۰
منابع ۱۳۸

فهرست جداول و اشکال

عنوان	صفحه

جدول۲-۱- طبقه بندی هشت گونه گوسفند بر اساس تعداد کروموزوم ۹
شکل۲-۱- تقسیم بندی گوسفندان ایرانی ۱۰
تصویر۲-۲- قوچ بلوچی ۱۱
جدول۲-۲- خصوصیات ظاهری انواع گوسفندان بلوچی ۱۲
جدول ۲-۳- صفات تولیدی گوسفندان بلوچی ۱۳
جدول۲-۴- بعضی از خصوصیات مهم گوسفندان ایران بلک ۱۴
شکل۲-۳- انواع نشانگر ها ۱۸
شکل ۲-۴- ناحیه مشترک بین کروموزوم X و Y ۳۸
شکل۲-۵- ناحیه اتوزومی کاذب(PAR)، بخش هتروکروماتین و دو بازوی کروموزوم Y ۳۸
جدول۲-۵- نرخ جهش در ۱۰ جایگاه ریزماهواره های کروموزوم Y انسان ۴۴
تصویر۳-۱- مرکز اصلاح نژاد دام شمال شرق(عباس آباد) ۵۴
تصویر۳-۲- دو قوچ بلوچی ۵۵
تصویر۳-۳- دو قوچ توده ایران بلک ۵۶
تصویر۳-۴- دستگاه Beckman Coulter مدل DU® 530 UV/Visible ۷۰
تصویر۳-۵- کووت های مخصوص کالیبره کردن و قرار گیری DNA مورد سنجش ۷۱
جدول۳-۱. مشخصات آغازگرها ۷۴
تصویر ۳-۶- ترموسایکلرهای ABI GeneAmp® 9700و PC-818S ۷۷
جدول ۳-۲- مخلوط واکنش به منظور انجام PCR ۷۸
شکل ۳-۷-برنامه PCR به صورت پایه ۷۹
جدول ۳-۳-برنامه PCR به روش Touch Down ۷۹
تصویر ۳-۸- ست کامل برای ژل گذاری اکریل آمید ساخت شرکت بایوراد ۸۰
تصویر ۳-۹-نمونه ای از ژل های رنگ آمیزی شده با نیترات نقره ۸۶
جدول ۳- ۴- روش انجام تجزیه واریانس مولکولی ۸۹
تصویر ۴-۱-نمونه ای از استخراج های انجام شده با کیت BIO- NEER ۹۰

تصویر۴-۲-نمونه ای از استخراج های انجام شده با روش اصلاح شده نمکی ۹۱
تصویر۴-۳-نمونه ای از استخراج های انجام شده با روش فنول-کلروفورم ۹۱
تصویر ۴-۴-الگوی باندی پرایمر BRY-1 ۹۳
تصویر ۴-۵-تست ۴ پرایمر و بررسی شرایط آن ها ۹۴
تصویر ۴-۶-قسمتی از ژل INRA 057 ۹۵
تصویر ۴-۷-الگوی باندی پرایمر INRA 057 ۹۵
تصویر ۴-۸-الگوی باندی پرایمر BYM-1 ۹۶
تصویر ۴-۹- الگوی باندی پرایمر SRY-HMG ۹۷
تصویر ۴-۱۰-الگوی باندی پرایمر INRA 189 ۹۸
تصویر ۴-۱۱-الگوی باندی پرایمر MAF 45 ۹۹
تصویر ۴-۱۲-الگوی باندی پرایمر MAF 45 ۱۰۰
تصویر ۴-۱۳ الگوی باندی پرایمر SRY 2801 ۱۰۱
تصویر ۴-۱۴-الگوی باندی پرایمر SRY M 18 ۱۰۲
تصوبر ۴-۱۵-الگوی باندی پرایمر SRY M 18 ۱۰۳
تصویر ۴-۱۶-الگوی باندی پرایمر UMN 0304 ۱۰۴
تصویر ۴-۱۷-الگوی باندی پرایمر UMN 0311 ۱۰۵
تصویر۴-۱۸-الگوی باندی پرایمر UMN 0907 ۱۰۶
تصویر ۴-۱۹-الگوی باندی پرایمر UMN 1203 ۱۰۷
تصویر ۴-۲۰-الگوی باندی پرایمر Y 2 ۱۰۸
تصویر ۴-۲۱-الگوی باندی پرایمر Y3 ۱۰۹
تصویر ۴-۲۲-الگوی باندی پرایمر Y 8 ۱۱۰
تصویر ۴-۲۳-الگوی باندی پرایمرY9 ۱۱۱
تصویر ۴-۲۴-الگوی باندی پرایمر Y 13 ۱۱۲
تصویر ۴-۲۵-الگوی باندی پرایمر BM 861 ۱۱۳
تصویر ۴-۲۶-الگوی باندی پرایمر Eca YM 02 ۱۱۴
تصویر ۴-۲۷-الگوی باندی پرایمر Y10 ۱۱۵

تصویر۴-۲۸-الگوی باندی پرایمر Y 12 ۱۱۶
تصویر ۴-۲۹-الگوی باندی پرایمر Y14 ۱۱۷
تصویر ۴-۳۰-الگوی باندی پرایمر Y 15 ۱۱۸
تصویر ۴-۳۱-الگوی باندی پرایمر Y 16 ۱۱۹
شکل پیوست:الف -نمونه ای از شجره تشکیل داده شده برای گوسفندان مرکز عباس آباد ۱۳۲
شکل پیوست:ب -نمونه ای از شناسنامه تشکیل داده شده برای گوسفندان مرکز عباس آباد ۱۳۳
شکل پیوست :ج –نقشه لینکاژی ژنوم گوسفند ۱۳۴

فصل اول

مقدمه و اهداف

مقدمه:

۱-۱-بیان مسأله و ضرورت اجرای تحقیق

حدود ۸ درصد از کل حیوانات اهلی کره زمین را گوسفندان تشکیل می‌دهند. از سال۱۹۹۴ تا۱۹۶۰، تعداد گوسفندان در دنیا تقریباً به دو برابر افزایش یافته، اما تولیدات گوسفند در تمامی نقاط جهان به یک اندازه توسعه نیافته است. توسعه تولیدات گوسفند در مناطق مختلف دنیا تحت تأثیر شرایط طبیعی و اقتصادی انجام می‌گیرد. شرایط طبیعی مثل ناهمواری‌ها و ارتفاعات عاری از درختان جنگلی مکان مناسب برای پرورش گوسفند به شمار می‌آیند، زیرا به خاطر پوشش ضعیف گیاهی، به جز گوسفند، سایر حیوانات قادر به مصرف علوفه آن نیستند سعادت نوری و همکاران(۱۳۸۲). به دلیل واقع شدن کشور در مدار عرضی ۲۵ تا ۴۹ درجه و مدار طولی ۳۷ تا ۳۹ درجه، اقلیم کشور دارای آب و هوای خشک تا نیمه خشک بوده و نیز قریب به یک چهارم از مساحت کشور دارای آب و هوای خشک است و فاقد پوشش گیاهی مناسب است اسدی خشوئی(۱۳۷۸). در تأمین پروتئین مورد نیاز بدن، اصلی‌ترین منبع گوشت می‌باشد. در هر یک از جوامع انسانی با توجه به ذائقه مردم، نوع خاصی از گوشت بر انواع دیگر ترجیح داده می‌شود. در کشور ایران گوشت گوسفند از این لحاظ دارای بالاترین میزان مصرف می‌باشد و از این رو پرورش و نگهداری آن از اهمیت زیادی برخوردار است. آمار نشان می دهد که در سال ۱۳۸۰ متوسط مصرف گوشت قرمز از سوی یک خانوار شهری ۴۷ کیلوگرم بوده است در حالی که هر خانوار در سال ۱۳۸۷ معادل ۴۰ کیلوگرم گوشت مصرف کرده است. بر اساس برآوردهای وزارت جهاد کشاورزی میزان تولید گوشت قرمز ۹۰۰ تا ۹۵۰ هزار تن در سال است لذا با توجه به اینکه کشور ما از نظر تولید این محصول در سطح ضعیفی می باشد، می توان با استفاده از علم و به کار بستن روش های علمی در عمل تولید را به سطح بسیار بالاتری رساند.

در کشور ایران از بین انواع گوشت ها ،گوشت گوسفند به عنوان یک منبع رایج تامین پروتئین بیشتر از گوشت گاو و بز دارای اهمیت است در حال حاظر بیش از۴۲ درصد کل گوشت قرمز تولیدی که نزدیک به ۲۹۲ هزار تن در سال می‌باشد توسط بیش از ۵۰ میلیون راس گوسفند در قالب ۲۷ نژاد سازگار با شرایط اقلیمی فرهنگی اقتصادی و اجتماعی مناطق مختلف تولید می‌گردد، ولی به علت اینکه این مقدار گوشت تولید شده پاسخ گوی نیاز روز افزون مصرفی نیست افزایش بازدهی در تولید گوسفند از اهمیت خاصی برخوردار است. از طرفی با توجه به کم شدن سطح و مقدار تولید مراتع هر نوع افزایش بازدهی و ارتقاء بهره وری از نهاده ها، افزایش سود آوری و پایداری تولیدی تحت این سیستم را در پی دارد اسدی خشوئی (۱۳۷۸). برای دست یابی به این هدف اجرای برنامه های

اصلاحی ضروری می‌نماید. در برنامه های اصلاح دام مهمترین بخش داشتن پیش زمینه ای از وضعیت شجره ای آن دام است تا بتوان ارزش ارثی یک دام را برای انتخاب یا حذف آن براورد کرد. با توجه به این موضوع که دراغلب مناطق دنیا پرورش گوسفند به صورت چرای آزاد یعنی به همان شکل سنتی اولیه با استفاده از مراتع طبیعی انجام می‌پذیرد ودر ایران هم وضعیت به همین گونه است و با توجه به این مطلب که بیش از ۷۰ درصد گوسفندان با چرای آزاد در ایران تغذیه می‌شوند. از معایب پرورش به صورت چرای آزاد این است که جفت گیری کنترل شده صورت نمی‌گیرد و در اغلب موارد نمی‌توان مشخص نمود که قوچ هایی که در گله رها می‌شوند با کدام میش جفت گیری کرده اند و در واقع بره هایی که به دنیا می‌آیند مشخص نیست که پدرشان کدام یک از قوچ های موجود در گله است. در اصلاح نژادی از پارامترهای اصلی که در نظر گرفته می‌شود میزان ارزش ارثی هر دام است این مقدار یک برآورد است و معمولا نزدیک به مقدار واقعی آن، حال اگر در براورد صورت گرفته مقادیر مجهول یا خطا بالا باشد این برآورد از میزان حقیقی آن دور می‌شود. از دیگر موارد ضرورت انجام این طرح می‌توان به این موضوع اشاره داشت که در مرکز اصلاح نژاد دام کشور پس از گذشت ده سال از اجرای پروژه تولید قوچ و بز نر اصلاح شده (طرح محوری قوچ)مشخص گردید ،به علت عدم ثبت شجره پدری بطور دقیق درگله های تحت پوشش پروژه امکان ارزشیابی ژنتیکی دام های گله مقدور نبوده و انتخاب دام های برتر صرفا براساس انتخاب پارامترهای با دقت کم صورت می‌گرفته است . بنابراین به منظور ثبت دقیق شجره دام ها با شروع فاز دوم پروژه (ده ساله دوم) پروژه ای تحت عنوان تلقیح مصنوعی گوسفند و بز که مکمل پروژه طرح محوری قوچ است به استان های کشور ابلاغ گردید. درحال حاضر پروژه اصلاح نژاد گوسفند و بز کشوردرقالب دو زیر پروژه تحت عناوین زیر پروژه تولید قوچ و بز نر اصلاح شده با همکاری مردم و زیر پروژه تلقیح مصنوعی گوسفند و بز درکلیه استانهای کشور در حال اجرا می باشد.(به نقل از وب سایت رسمی مرکز اصلاح نژاد کشور)

از آنجا که محدود کردن آمیزش ها در سطح گسترده و یا استفاده از تلقیح مصنوعی با وجود ضریب باروری پایین این روش برای گوسفندان و با در نظر داشتن این مطلب که اکثر روش های به کار گرفته شده برای داشتن آمیزش های کنترل شده هزینه و زمان زیادی را بر تولید کنندگان تحمیل می‌کند به طور کلی این گونه برنامه ها مورد استقبال تولید کنندگان نمی‌باشد ممکن است اجرااین طرح نیز موجبات رفع مشکل را فراهم نیاورد.

تشخیص والدین با استفاده از نشانگرهای پلی‌مورفیک هم بارزی مثل میکروساتلایت ها به عنوان روشی برای بازسازی و نگهداری شجره نقش مهمی در برنامه های اصلاح نژادی می‌تواند بازی کند. اختصاص صحیح نتاج به والدین واقعی آنها نقش حیاتی در موفقیت برنامه های اصلاح دارد بنابازی(۱۳۸۱).

امروزه نشانگرهای ملکولی DNA جهت تعیین فواصل ژنتیکی و تنوع موجود در جمعیت ها ابزار بسیار مناسبی محسوب می‌شود، لذا میزان چند شکلی به دست آمده از این نشانگرهای ژنتیکی، یکی از پارامترهای قابل ارزیابی برای مطالعه جمعیت ها و درک تفاوت های ژنتیکی بین آنها محسوب می‌شود. کروموزوم Y (به استثنای ناحیه کاذب) به صورت یک واحد غیر نوترکیب عمل می‌نماید و به صورت هاپلوئیدهای خاص جنس نر مورد بررسی قرار می‌گیرد. تلفیقی از اطلاعات مربوط به کروموزومY (شجره پدری) و اطلاعات مربوط به شجره مادری (mtDNA) می‌تواند اطلاعات کلیدی برای تصمیم گیری در برنامه های اصلاحی در اختیار اصلاح گران قرار دهد.

دلیل انتخاب کروموزوم Y و بررسی امکان وجود چند شکلی برای رد یابی والد نر بره ها و پرهیز از ورود به مقوله توارث خواهری بین کروموزوم های غیر جنسی و این مطلب که هر کدام از بازوهای کروموزوم دارای توارث مستقلی هستند و در سلول های جنسی تعداد nکروموزوم از هر والد به نسل بعد منتقل می‌شوند که در صورت ورود به این کروموزوم های غیر جنسی محاسبات پیچیده ای برای براورد نحوه توارث آنها مطرح خواهد شد که در این تحقیق از آنها اجتناب شده است .

۱-۲ -فرضیه‌ها:

۱. توالی هایی با پلی مورفیسم بالا در کروموزوم Y برای تفکیک قوچ ها در گله وجود دارد.
۲. در بین میکروساتلایت های موجود درکروموزوم Y در نرهای مورد بررسی توالی اختصاصی وجود دارد.
۳. ممکن است توالی از ریز ماهواره ها وجود داشته باشندکه بدون تغییر از پدر به پسر منتقل شده و به صورت انحصاری قابل بررسی باشند.
۴. احتمال تکثیر پرایمر های اختصاصی واقع در کروموزوم Y در گونه های نزدیک به گوسفند سانان (مثل گاو و بز سانان)
۵. احتمال تکثیر پرایمرهای اختصاصی واقع در کروموزوم Y در گونه های دورتر (اسب سانان) با توجه به میزان هم شکلی بالایی که درکروموزوم Y قابل پیش بینی است.

۱-۳ -اهداف:

۱. ردیابی مولکولی توارث ژن های والدی از طریق نشانگرهای موجود در کروموزوم Y گوسفند.

۲. بررسی میزان تشابه ژنتیکی در دام های نر .

۳. افزایش دقت در ثبت شجره گله های تحت پوشش طرح محوری قوچ به منظور پیش بینی نااریب ارزش های اصلاحی.

۴. کاهش هزینه های نظارت جهت انجام جفتگیری های کنترل شده و ثبت رکوردهای مربوطه.

۵. شناسایی پدر بره ها در گله های طرح محوری قوچ .

۶. امکان بررسی تنوع ژنتیکی موجود در جنس نر، ساختار ژنتیکی، فراوانی ژنی و روابط تکاملی بین جمعیت های مورد نظر در بین نرهای گله مورد مطالعه.

فصل دوم

کلیات و بررسی منابع