

# SID



سرویس های ویژه



سرویس ترجمه تخصصی



کارگاه های آموزشی



بلاگ مرکز اطلاعات علمی



سامانه ویراستاری STES



فیلم های آموزشی

## کارگاه های آموزشی مرکز اطلاعات علمی



مقاله نویسی علوم انسانی

مقاله نویسی علوم انسانی



اصول تنظیم قراردادها

اصول تنظیم قراردادها



آموزش مهارت های کاربردی در تدوین و چاپ مقاله

آموزش مهارت های کاربردی در تدوین و چاپ مقاله

## مطالعه اثر جایگزینی آللی پدری مرتبط با نشانگر Guj0099 روی کروموزوم ۳ برای صفات رشد در بلدرچین ژاپنی

رقیه جباری\*<sup>۱</sup> - علی اسماعیلی زاده<sup>۲</sup> - هادی چراتی<sup>۱</sup>

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد ژنتیک و اصلاح نژاد دانشگاه شهید باهنر کرمان عضو باشگاه پژوهشگران جوان ۲- دانشیار دانشگاه شهید باهنر کرمان

Jabbariroqayeh@yahoo.com

چکیده

هدف از این پژوهش، مطالعه اثر جایگزینی آللی پدری مرتبط با یک جایگاه ژنومی روی کروموزوم ۳ برای صفات رشد در بلدرچین ژاپنی بود. کل جمعیت مورد مطالعه شامل ۴۷۲ پرنده بود. تعیین ژنوتیپ پرندگان برای این نشانگر (نشانگر ریزماهواره Guj0099 در ناحیه سانترومر کروموزوم ۳) با استفاده از واکنش زنجیره ی پلیمرز (PCR) و متعاقب آن الکتروفورز با ژل پلی اکریل آمید انجام شد. صفات مورد مطالعه وزن یک روزگی و اوزان هفتگی از هفته اول تا پنجم بودند. اثر آلل پدری روی وزن سه هفتگی و پنج هفتگی معنی دار بود ( $P < 0.05$ ).

کلید واژه: اثر آللی پدری، نشانگر DNA، وزن زنده

### Study of sire allelic substitution effect associated with Guj0099 marker of Japanese quail chromosome 3 on growth traits

Abstract

The purpose of this study was to estimate the sire allelic substitution effect associated with a genomic region of Japanese quail chromosome 3 on growth traits. The population consisted of 472 birds. According to the linkage map of microsatellite markers on chromosome 3 (Guj0099 microsatellite marker at centromeric region of chromosome 3) Guj0099 marker was selected and all of the birds were genotyped for this marker. The traits studied were weekly live weights at one to five weeks of age. Sire allele effect was significant on live weight at the third and fifth week of age ( $P < 0.05$ ).

Key words: DNA marker, live weight, paternal allele effect

مقدمه

ماهی ریزماهواره ها تقریباً هر ۱۰ kbp، یکبار رخ می دهند. و این در حالی است که ماهوارکها هر ۱۵۰۰ kbp بوقوع می پیوندند. این امر باعث می شود که در مطالعات مربوط به نقشه یابی ژنومی، ریزماهواره ها بسیار کارآمدتر باشند. به نظری می رسد که هر ژنی حداقل یک ریزماهواره داشته باشد که در یک اینترون یا در نواحی ۳ یا ۵ کنار ردیف کد کننده قرار گرفته اند. توزیع ریزماهواره ها در سرتاسر ژنومهای یوکاریوتی کم و بیش یکنواخت است ولیکن در نواحی کد کننده و احتماً لا در تلومرها کمتر یافت می شوند. اسامی مختلفی برای شرح ردیفهای تکراری متوالی بکار برده شده اند که از آن جمله می توان به تکرارهای ردیفی ساده (SSR) و تکرارهای متوالی کوتاه (STR) اشاره نمود. برای پرهیز از سردرگمی، امروزه اصطلاح ریزماهواره بعنوان بهترین تعریف برای این نوع ردیفها پذیرفته شده است [۲]. هدف از این پژوهش، مطالعه اثر جایگزینی آلی پدیری مرتبط با یک جایگاه ژنومی روی کروموزوم ۳ برای صفات رشد در بلدرچین ژاپنی بود.

مواد و روش

طرح آزمایشی، یک طرح سه نسلی ( نسل والدین خالص سویه سفید و وحشی، نسل F1 و نسل F2 ) بود. تعداد ۸ پرنده نر و ۸ پرنده ماده به عنوان نسل والد (P) به تعداد مساوی از دو سویه سفید (S) و وحشی (W) انتخاب و تلاقی دوطرفه بین آنها (نر سفید × ماده وحشی و نر وحشی × ماده سفید) انجام شد. تعداد ۳۴ پرنده از بین پرندگان نسل اول (F1) شامل ۱۷ نتاج (SW) حاصل از تلاقی نر سفید × ماده وحشی و ۱۷ نتاج (WS) حاصل از تلاقی نر وحشی × ماده سفید برای تولید نسل دوم (F2) انتخاب شدند. از تلاقی نرهای SW با ماده های WS و عکس این تلاقی، در حدود ۴۲۲ پرنده مربوط به نسل (F2) تولید شد. جمعیت نقشه یابی تقریباً شامل ۴۷۲ پرنده بود که نمونه خون و DNA مربوطه به تمام این پرندگان و رکوردهای فنوتیپی مربوط به وزن هفتگی حدود ۴۲۲ پرنده F2 جمع

در سالهای اخیر، بلدرچین به عنوان یک پرنده اقتصادی برای تولید تخم و گوشت با عطر و طعم منحصر به فرد در کشورهای مختلف جهان پرورش داده می شود به طوری که مزارع پرورش تجاری بلدرچین در کشورهای مختلف آسیایی، اروپایی و آمریکا گسترش یافته است [۴]. پرورش بلدرچین در ایران نیز از دو دهه گذشته آغاز شده و در سالهای اخیر تمایل برای پرورش این پرنده در حال افزایش است، ولی به دلیل عدم استفاده پرورش دهندگان از روشهای اصلاح نژاد، عملکرد گله-ها (وزن بدن، ضریب تبدیل و ...) کمتر از کشورهای دیگر می-باشد و بازده اقتصادی آن متناسب با وضعیت جهانی نیست. بنابراین با استفاده از برنامه ها و روشهای اصلاح نژاد مناسب و همچنین بهبود شرایط نگهداری این پرنده می توان تولید و سود اقتصادی را در گله های تجاری بلدرچین کشور افزایش داد [۱].

امروزه استفاده از روش های مبتنی بر ژنتیک مولکولی برای مقاصد اصلاح نژاد دام و گیاهان به طور گسترده ای در حال افزایش است. فناوریهای ژنتیک مولکولی، شناخت ساختمان و شیوه عمل ژنها را ممکن می سازند. استفاده از اطلاعات مولکولی امکان انتخاب دقیق تر و دستیابی به پاسخ انتخابی سریع تر را نیز ممکن می سازد انتخاب به کمک نشانگر (MAS) یکی از این روش هاست که با استفاده از نشانگرهای مرتبط با صفات اقتصادی، حیوانات برتر انتخاب می شوند. نشانگرهای مولکولی انواع مختلفی دارند یکی از این نشانگرها ریزماهواره ها هستند که در برنامه های MAS به کار برده می شوند. ریزماهواره ها کوتاهترین ترتیبات متوالی (۱ تا ۶ جفت بازی) می باشند که تعداد واحد تکرار شونده در هر محل از تنها چند باز تا حدود ۳۰ باز متفاوت است. از کشف آنها بیش از ۱۲ سال نمی گذرد. تکرارهای AT معمولترین ریزماهواره ها در تمامی ژنوم ها می باشند. ریزماهواره ها بسیار فراوان بوده و در سرتاسر ژنوم منتشر می باشند. گفته می شود که در گونه های

صفات مورد مطالعه وزن یک روزگی و اوزان هفتگی از هفته اول تا پنجم بودند.

#### بحث و نتایج

با بهینه سازی واکنش PCR دمای مناسب برای اتصال پرایمر به مارکر مورد نظر ۵۵ درجه سانتی گراد بدست آمد. با الکتروفورز محصولات واکنش زنجیره پلی مرز و رنگ آمیزی ژل با نیترات نقره، مشخص شد که مارکر مورد نظر دارای سه آلل می باشد، که محدوده ی اندازه ی باند های مربوط به آلل ها در دامنه ۲۸۴-۲۴۶ جفت باز بود. سپس تعیین ژنوتیپ پدرها و نتایج آنها برای مارکر مورد نظر انجام شد (شکل ۱). اثر آللی پدری روی صفات وزن های یک روزگی (W0)، یک هفتگی (W1)، دو هفتگی (W2)، سه هفتگی (W3)، چهار هفتگی (W4) و پنج هفتگی (W5) مورد بررسی قرار گرفت. اثر جایگزینی آللی پدری مرتبط با نشانگر ریزماهوره Guj0099 روی وزن یک روزگی معنی دار نبود. برای وزن یک هفتگی و دو هفتگی نیز اثر جایگزینی آللی پدری معنی دار نشد. برای وزن سه هفتگی اثر جایگزینی آللی پدری معنی دار بود ( $P < 0.05$ ) که پارامترها و برآورد های مربوط به این صفت در جدول شماره [۱] آورده شده است. میانگین حداقل مربعات و خطای استاندارد وزن سه هفتگی برای تمامی پدرها برآورد شدند [جدول ۲]. اثر جایگزینی آللی پدری برای وزن چهار هفتگی معنی دار نشد. برای وزن پنج هفتگی اثر جایگزینی آللی پدری معنی دار بود ( $P < 0.05$ ) که پارامترها و برآورد ها در جدول شماره [۳] نشان داده شده است. برای همه پدرها میانگین حداقل مربعات و خطای استاندارد این صفت نیز برآورد شد [جدول ۴].

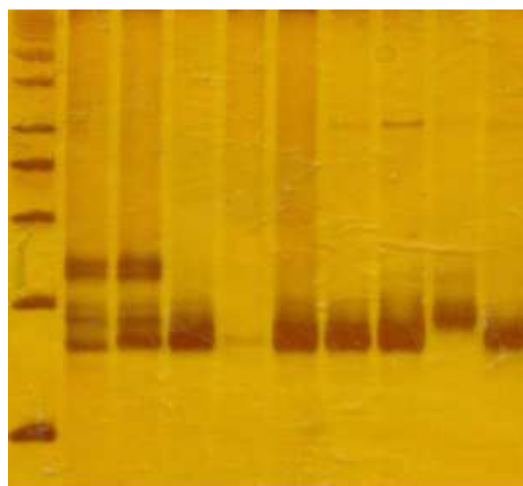
آوری شد. استخراج DNA به روش نمکی - کلروفرم انجام گرفت. با توجه به نقشه پیوستگی نشانگرهای ریزماهوره یک نشانگر روی کروموزوم شماره ۳ (نشانگر ریزماهوره Guj0099 در ناحیه سانترومر کروموزوم ۳) انتخاب و تعیین ژنوتیپ پرندگان برای این نشانگر با استفاده از واکنش زنجیره ی پلیمرز (PCR) انجام شد. برای انجام واکنش، PCR ۱ میکرولیتر DNA، ۰/۵ میکرولیتر DNTTP، ۱ میکرولیتر MgCl2، ۲/۵ میکرولیتر بافر 10x، ۱۶/۵ میکرولیتر آب، ۰/۳ میکرولیتر آنزیم Taq پلیمرز و ۱ میکرولیتر از هر کدام از پرایمرها به ازای هر نمونه ی PCR به کار برده شد. شرایط دمایی لازم برای انجام PCR شامل دناتوراسیون اولیه ۹۵ درجه سانتی گراد برای ۴ دقیقه، ۳۰ سیکل با مرحله دناتوراسیون ۹۴ درجه برای ۳۰ ثانیه، مرحله اتصال ۵۵ درجه برای ۴۵ ثانیه، مرحله سنتز ۶۳ درجه برای ۹۰ ثانیه و سنتز نهایی ۷۲ درجه برای ۹۰ ثانیه بود. مشخصات پرایمر مورد استفاده به صورت زیر بود [۳].

Forward primer (5'-3')	Reverse primer (5'-3')	Size range (bp)	$T_A$ (°C)
CTCTTATCCATCCTTCCCTTC	TTTTTAAGTTTCCCCAGGCAG	246-284	55

محصولات حاصل از PCR بر روی ژل پلی اکریل آمید ۸٪ الکتروفورز شدند. جهت آشکار سازی باندها و رنگ آمیزی ژل از نیترات نقره استفاده شد. پس از تعیین ژنوتیپ پرند ها برای مارکر مورد نظر جهت تجزیه و تحلیل داده ها از نرم افزار SAS استفاده شد. مدل آماری شامل اثرات ثابت پدر، اثر نشانگر داخل پدر، ژنوتیپ، هج و جنس و اثر تصادفی باقیمانده بود.

جدول [۲]: میانگین حداقل مربعات و خطای استاندارد وزن سه هفتگی برای پدرها

SIRE	Standard		
	W3 LSMEAN	Error	Pr >  t
4	88.3634128	1.9519144	<.0001
12	81.6106345	2.1822099	<.0001
32	81.2170057	2.4776234	<.0001
42	88.7829201	4.1684129	<.0001
96	80.9286368	3.2370938	<.0001
209	74.4282982	2.6332476	<.0001
218	76.5366802	3.1446458	<.0001
230	79.1967155	2.0082696	<.0001



شکل [۱]: نحوه تعیین ژنوتیپ پرند هـا برای مارکر Guj0099

جدول [۳]: پارامترها و برآورد های مربوط به وزن پنج هفتگی

Parameter	Standard			
	Estimate	Error	t Value	Pr >  t
SireAllele(SIRE) 4	4.1975405	5.17560439	0.81	0.4182
SireAllele(SIRE) 12	13.3833617	5.80117561	2.31	0.0220
SireAllele(SIRE) 32	-14.9958127	7.31644927	-2.05	0.0416
SireAllele(SIRE) 42	3.4040306	13.95663021	0.24	0.8075
SireAllele(SIRE) 96	-11.1287960	7.60780135	-1.46	0.1449
SireAllele(SIRE) 209	6.2769803	6.35119457	0.99	0.3241
SireAllele(SIRE) 218	7.1254983	7.73247680	0.92	0.3578
SireAllele(SIRE) 230	4.9482760	4.87523061	1.01	0.3112

جدول [۱]: پارامترها و برآورد های مربوط به وزن سه هفتگی

Parameter	Standard			
	Estimate	Error	t Value	Pr >  t
SireAllele(SIRE) 4	2.97090935	3.96017728	0.75	0.4538
SireAllele(SIRE) 12	4.54795508	4.18862068	1.09	0.2786
SireAllele(SIRE) 32	-11.58455027	5.00838778	-2.31	0.0215
SireAllele(SIRE) 42	-8.20110222	8.28210380	-0.99	0.3230
SireAllele(SIRE) 96	-4.11898285	6.34315878	-0.65	0.5167
SireAllele(SIRE) 209	3.53686968	5.29885314	0.67	0.5051
SireAllele(SIRE) 218	0.36700054	6.44129255	0.06	0.9546
SireAllele(SIRE) 230	4.64907264	3.88630384	1.20	0.2327

جدول [ ۴ ]: میانگین حداقل مربعات و خطای استاندارد وزن پنج هفتگی برای پدرها

SIRE	Standard		
	W5 LSMEAN	Error	Pr >  t
4	153.999538	2.557364	<.0001
12	141.592614	3.049360	<.0001
32	148.111083	3.732161	<.0001
42	154.256906	7.098060	<.0001
96	156.256207	3.891233	<.0001
209	147.970719	3.161063	<.0001
218	144.017838	3.768298	<.0001
230	147.751655	2.497670	<.0001

منابع

۱. شکوهمند، م. ۱۳۸۲. بررسی خصوصیات تولیدی و ژنتیکی سه لاین بلدرچین ژاپنی. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه تهران.
2. **Beuzen, N. D., Stear, M. J. and Chang, K. C. 2000.** Molecular markers and their use in animal breeding. *The Veterinary Journal*. 160: 42–52.
3. **Kayang, B. B., Murayama, M. I., Hoshi, T., Matsuo, K. and Takahashi, H. 2002.** Microsatellite loci in Japanese quail and cross-species amplification in chicken and guinea fowl. *Genet. Sel. Evol.* 34: 233–253.
4. **Sharma, D., Appa Rao, K.B. and Totey, S.M. 2000.** Measurement of within and between population genetic variability in quails. *British Poultry Science*. 41: 29-32.

# SID



سرویس های ویژه



سرویس ترجمه تخصصی



کارگاه های آموزشی



بلاگ مرکز اطلاعات علمی



سامانه ویراستاری STES



فیلم های آموزشی

## کارگاه های آموزشی مرکز اطلاعات علمی



مقاله نویسی علوم انسانی

مقاله نویسی علوم انسانی



اصول تنظیم قراردادها

اصول تنظیم قراردادها



آموزش مهارت های کاربردی در تدوین و چاپ مقاله

آموزش مهارت های کاربردی در تدوین و چاپ مقاله