دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشهای تولیدات دامی

مطالعه ژن‌های کاندیدا مؤثر بر صفات دنبه در محدوده مشخصی از کروموزوم شماره ۵ در گوسفندان لری بختیاری و زل با روش PCR-SSCP

مظاهر صفدریان[۱]، سیدحسن حافظیان[۲]، قدرت رحیمی میانجی[۳] و ایوب فرهادی[۴]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، (نویسنده مسوول: safdarian2014@gmail.com)
۲، ۳ و ۴- دانشیار، استاد و استادیار گروه علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
تاریخ دریافت: ۹۴/۲/۵ تاریخ پذیرش: ۹۴/۷/۲۱

چکیده

کیفیت گوشت و ترکیب لاشه از مهم‌ترین صفات اقتصادی در گوسفند به شمار می‌روند. چربی بدن و دنبه از جمله عوامل تأثیرگذار بر کیفیت لاشه و گوشت تولیدی در هر نژاد بوده و وقوع جهش در توالی ژن‌های کنترل‌کننده این صفات می‌تواند عملکرد حیوان و بالطبع ارزش ارثی را تحت تأثیر قرار دهد. هدف از این مطالعه بررسی چند شکلی برخی نواحی از ژن‌های *SAR1B*، *SEC24A* و *VDAC1* در منطقه ژنومی کاندیدا برای صفات چربی و دنبه روی کروموزوم شماره ۵ گوسفند بود. نمونه‌های خون به طور تصادفی از تعداد ۳۰۰ رأس گوسفند لری بختیاری و ۱۰۰ رأس گوسفند زل جمع‌آوری شد و استخراج DNA به روش نمکی بهینه یافته انجام شد. واکنش‌های زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) برای تکثیر قطعه‌های ۴۷۸، ۵۷۹ و ۳۴۸ جفت بازی ژن‌های مورد مطالعه با استفاده از جفت آغازگرهای اختصاصی، و تعیین ژنوتیپ نمونه‌ها با تکنیک SSCP انجام شد. نتایج به دست آمده سه الگوی باندی A، B و C را برای ژن *SAR1B* در گوسفند لری بختیاری نشان داد، اما این جایگاه ژنی در گوسفند زل تک شکل بود. برای ژن *SEC24A* در هر دو نژاد سه الگوی باندی A، B و C، اما جایگاه *VDAC1* در دو نژاد تک شکل بود. تأثیر الگوهای باندی ژن *SAR1B* بر ویژگی‌های دنبه معنی‌دار (P <۰/۰۰۱) بود، به طوری که الگوی باندی A بیشترین مقادیر مشاهده شده برای محیط بالا، محیط پایین، ارتفاع و وزن دنبه را نشان داد. الگوهای مختلف باندی ژن *SEC24A* به طور معنی‌داری با ویژگی‌های دنبه در ارتباط بود (P <۰/۰۰۱) و الگوی باندی B بیشترین مقادیر را نشان داد. با توجه به تک شکل بودن جایگاه ژنی *SAR1B* در نژاد بدون دنبه زل و چند شکل بودن آن در نژاد دنبه‌دار لری بختیاری و همچنین چند شکل بودن جایگاه ژنی *SEC24A* در هر دو نژاد مورد مطالعه، این جایگاه‌های نشانگری را می‌توان به عنوان ژن‌های کاندیدای احتمالی مؤثر بر ویژگی‌های دنبه در نژادهای گوسفند دنبه‌دار مطرح کرد. مطالعه بیشتر نواحی دیگر (اگزون، اینترون و نواحی تنظیمی) این دو ژن و ارتباط آنها با صفات دنبه برای تأیید نتایج پیشنهاد می‌شود.

واژه‌های کلیدی: گوسفند، صفات دنبه، *SAR1B*، *SEC24A*، *VDAC1*

مقدمه

داشتن دنبه از ویژگی‌های اکثر گوسفندان از جمله نژادهای بومی ایران است که نقش بیولوژیکی و اصلی آن ذخیره انرژی و استفاده از آن در شرایط محدودیت غذایی است. شرایط اقلیمی، سیستم‌های پرورشی باز و خرید دام بر اساس وزن زنده در سال‌های اخیر تولید کنندگان گوسفند را در بسیاری از مناطق ناخواسته به دلیل همبستگی بالای بین وزن دنبه و وزن بدن به سمت انتخاب برای دنبه بزرگ‌تر سوق داده است. بنابراین، به نظر می‌رسد که شرایط اقلیمی و نیازهای بشری هر دو باعث انتخاب در جهت افزایش اندازه دنبه در این نژادها طی نسل‌های طولانی شده است. ولی در حال حاضر در بسیاری از کشورها، تولید و فروش گوشت گوسفند به منظور برآورده کردن نیاز مصرف‌کنندگان برای چربی کمتر به علت ارتباط بین سطوح بالای چربی‌های اشباع شده حیوانی در رژیم غذایی و بیماری های قلبی عروقی یکی از چالش‌های اساسی برای صنعت گوسفندداری شده است. به طوری که شایستگی نسبی نژادهای مختلف گوسفند بر اساس تولید گوشت و نسبت کم چربی و استخوان در لاشه تعیین می‌شود (۱۰،۱۵). چربی و اسیدهای چرب، خواه در بافت‌های چربی و یا داخل عضله ذخیره شده باشند، نقش مهمی در جنبه‌های مختلف کیفیت گوشت و ارزش تغذیه‌ای آن بازی می‌کنند.

مصرف‌کنندگان لاشه با چربی کمتر را می‌پسندند. بنابراین پرورش نیز باید به سمتی حرکت کند که بتواند لاشه‌هایی با گوشت بیشتر و چربی کمتر تولید و تحویل مصرف‌کننده نماید. در حال حاضر بیشتر تلاش‌ها روی راندمان تبدیل غذایی برای کاهش چربی متمرکز است که در این راستا باید پایین آوردن قیمت تمام شده، بالا رفتن راندمان تولید، دفع ضایعات نیتروژنی کمتر به محیط زیست و کاهش فشار چرا بر مراتع نیز مد نظر قرار گیرد. امیدوارکننده‌ترین استراتژی برای دستکاری و بهبود ترکیب لاشه در گوسفند که از پذیرش عمومی نیز برخوردار باشد، انتخاب ژنومیک است. در حال حاضر شناسایی ژن‌های عمده و جایگاه صفات کمی که انباشت چربی بدن و دنبه را کنترل می‌کنند راه را برای بهبود روش‌های فوق و تولید با مقبولیت بیشتر برای مصرف‌کننده هموار می‌کند. یکی دیگر از راه کارهای کاهش چربی بدن و دنبه و رسیدن به بهره‌وری بیشتر و تولید گوشت با کیفیت بهتر، استفاده از نژادهای بدون دنبه برای تلاقی با نژادهای سنگین وزن و دنبه‌دار ایرانی و تولید آمیخته‌هایی تجاری می‌باشد. هدف از اجرای این پروژه بررسی رفتار یک سری از ژن‌های کاندید موثر بر سنتز و متابولیسم چربی در دو نژاد گوسفند لری بختیاری و زل بوده است.

میوویسن و گودارد (۱۲) گزارش کردند کیفیت گوشت و ترکیبات لاشه تولید شده از مهم‌ترین صفات اقتصادی در گوسفند و گاو به شمار می‌روند. جهش در توالی ژنی این صفات می تواند عملکرد حیوان و بالطبع ارزش ارثی را تحت تأثیر قرار دهد. اگر چه ژن‌های کنترل‌کننده این صفات به سختی قابل شناسایی می‌باشند ولی با پیشرفت تکنیک‌های

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-11-02]
[DOI: 10.29252/rap.8.17.99]

ژنتیک ملکولی که بیشتر روی آنالیز ژنومی متمرکز شده است این امکان را برای ارزیابی ژنتیکی صفات اقتصادی مهم در حیوانات مزرعه فراهم می‌آورد. این تکنولوژی‌ها اجازه جداسازی و نقشه یابی محل‌های ویژه از ژنوم که صفات کمی را کنترل می‌کنند را فراهم می آورند. مارکرها و ژن‌های همبسته از جمله استراتژی‌های مناسب برای بهبود ژنتیکی این صفات می باشند (۲۳).

مرادی و همکاران (۱۳) در گوسفند لری بختیاری و زل در مجموع سه منطقه ژنومی روی کروموزوم‌های ۵، ۷ و X مرتبط با ذخیره چربی را شناسایی کردند که دو منطقه ژنومی در کروموزوم ۵ و X بیانگر انتخاب در جهت افزایش فراوانی جهش های مؤثر بر اندازه دنبه در طی هزاران سال پس از اهلی شدن این حیوانات بوده است که فراوانی آنها تا مرحله‌ی تثبیت شدن نیز پیش رفته است. از طرفی، بررسی منطقه کاندیدا روی کروموزم ۷ نیز حاکی از شواهد آشکاری از انتخاب و افزایش هموزیگوسیتی به نفع نژاد بدون دنبه بوده است. آن‌ها در پژوهش خود مشخص کردند که احتمال این که ژن‌های مؤثر بر دنبه و چربی بدن در نژادهای دنبه‌دار در مناطق مشخصی از کروموزوم‌های فوق باشد، بسیار زیاد است. نتایج این مطالعات و انجام کارهای تحقیقاتی دیگر برای کاهش چربی دنبه در طی سال‌های اخیر در کشور، لزوم مطالعه ژن‌های مستقر بر نواحی مشخص شده روی کروموزوم‌های فوق را آشکار می‌کند. کروموزوم شماره ۵ دارای سه SNP با نشانه‌های انتخاب مثبت و معنی‌دار به نام‌های s55322.1، OAR5_47175489.1 و AR5_47263230.1 (۱۴) و به ترتیب در موقعیت‌های ۴۳۱۲۸۶۲۰، ۴۳۱۵۴۱۰۷ و ۴۳۲۳۶۶۷۱ نوکلئوتیدی قرار داشتند. برای تعیین ژن‌های کاندیدای مؤثر بر ویژگی های دنبه محدوده ۲ مگابازی اطراف این SNPها مورد کاوش قرار گرفت.

ژن *SAR1B*[1] روی کروموزوم شماره ۵ (فاصله بین توالی ۴۳۴۹۹۵۱۶ تا ۴۳۵۲۴۴۶۵ نوکلئوتیدی) (۱)، دارای نقش اساسی در جابجایی شیلومیکرون‌ها که حاوی چربی و کلسترول است، به جریان خون پس از هضم غذایی می‌باشد. در انسان افراد دارای ژنوتیپ هموزایگوس مغلوب قادر به انتقال شیلومیکرون‌ها به جریان خون نبوده و بنابراین دچار بیماری به نام اندرسون می‌شوند. زیرا با عدم انتقال شیلومیکرون‌ها به جریان خون تجمع این ذرات به جریان خون مختل و بنابراین متابولیسم چربی در بدن با اشکال مواجه شده، بدن با کمبود چربی و بویژه ویتامین‌های محلول در چربی مواجه می‌شود (۲۲). این ژن دارای ۶ اگزون می‌باشد که با فاصله تقریبی ۲۶۰ هزار نوکلئوتید با چند شکلی تک نوکلئوتیدی (SNP) دارای نشانه‌های انتخاب مثبت (۱۴) برای صفت دنبه در گوسفند لری بختیاری قرار دارد.

ژن *SEC24A*[2] دارای ۲۷ اگزون بوده و در فاصله بین توالی ۴۳۵۲۳۷۸۸ تا ۴۳۶۰۰۵۴۴ نوکلئوتیدی (۱) از کروموزوم شماره ۵ گوسفند قرار دارد. فاصله تقریبی بین جایگاه فوق در ژن یاد شده با SNPهای دارای نشانه‌های انتخاب مثبت (۱۵) حدود ۲۸۰ هزار نوکلئوتید می‌باشد (۱). یکی از پروتئین‌های کد شده توسط این ژن، پروتئین پوششی نوع II (COPII)[3] می‌باشد که باعث پوشش وزیکول‌های انتقال‌دهنده مواد از شبکه آندوپلاسمی به جسم گلژی است. شبکه آندوپلاسمی دارای وظایف مختلفی در بدن از جمله سنتز چربی و متابولیزم کربوهیدرات می‌باشد. در سیتوپلاسم به عنوان عامل محرک انتقال چربی محسوب می‌شود (۵). ژن *VDAC1*[4] دارای وظایفی در غشاء پلاسمایی و تنظیم حجم سلول می‌باشد. این ژن دارای ۸ اگزون و موقعیت این ژن روی کروموزوم شماره ۵ گوسفند در فاصله بین توالی نوکلئوتیدی ۴۳۰۲۹۰۴۱ تا ۴۳۰۴۵۴۳۷ می‌باشد (۱). هر سه ژن فوق در گاو روی کروموزوم شماره ۷ و در انسان و گوسفند روی کروموزوم شماره ۵ مستقر می‌باشند.

با توجه به اینکه تاکنون تحقیقی در رابطه با ارتباط این ژن‌ها با تولید چربی و دنبه در گوسفندان دنبه‌دار در دنیا انجام نشده است، لذا هدف از پژوهش حاضر بررسی چند شکلی ژن‌های موجود در محدوده ژنومی کروموزوم ۵ مرتبط با ویژگی های دنبه در گوسفندان لری بختیاری و زل به روش PCR-SSCP است.

مواد و روش‌ها

نمونه‌گیری و استخراج DNA

برای انجام این پژوهش از تعداد ۳۰۰ رأس گوسفند نژاد لری بختیاری (گوسفند دنبه‌دار) دارای شجره ایستگاه اصلاح نژاد شولی شهرکرد و ۱۰۰ رأس از گوسفندان زل مازندران (گوسفند بدون دنبه) خون‌گیری به عمل آمد. خون از سیاهرگ وداجی گردن به میزان ۵ میلی‌لیتر و با استفاده از لوله‌های خلأ دار آغشته به اتیلن دی آمین تترا استیک اسید نیم مولار، با PH برابر ۷/۵ تا ۸ (EDTA) گرفته شد. نمونه‌های خون تهیه شده برای استخراج DNA با حفظ شرایط زنجیره سرد به آزمایشگاه ژنتیک مولکولی گروه علوم دامی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری منتقل شده و تا زمان استخراج DNA در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. استخراج DNA به روش نمکی بهینه یافته انجام و DNAهای استخراج شده در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. کمیت و کیفیت DNAهای استخراج شده نیز با روش الکتروفورز روی ژل آگارز ۱ درصد تعیین شدند.

صفات مورد مطالعه در نژاد دنبه‌دار لری بختیاری

برای انجام این تحقیق روی تعداد ۳۰۰ گوسفند لری بختیاری انتخاب شده برای خونگیری، ویژگی‌های دنبه نیز اندازه‌گیری شد. این ویژگی‌ها شامل محیط بالای دنبه، محیط پایین دنبه و ارتفاع دنبه بود که با استفاده از متر نواری روی هر کدام از گوسفندان اندازه‌گیری شدند. در جدول زیر اطلاعات مربوط به این ویژگی‌ها ارائه شده است. وزن دنبه در این گوسفندان با استفاده از معادلات تابعیت محاسبه شده برای این گوسفند (۲۰) برآورد گردید.

1- Secretion Associated, Ras Related GTPase 1B
2- SEC24 family member A
3- Coat Protein Complex II
4- Voltage-Dependent Anion Channel

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-11-02]
[DOI: 10.29252/rap.8.17.99]

جدول ۱- آماره های توصیفی ابعاد دنبه و وزن آن در گوسفند لری بختیاری
Table 1. Descriptive statistics of fat tail dimensions and weights in Lori-Bakhtiari sheep breed

آماره‌های توصیفی ← / ابعاد دنبه↓	تعداد نمونه	ماکزیمم	مینیمم	میانگین (±se)
محیط بالای دنبه (cm)	۲۹۵	۸۷	۳۵	۵۶/۰۱ ±۰/۶
محیط پایین دنبه (cm)	۲۹۵	۸۲	۲۸	۴۸/۲۰ ±۰/۶
ارتفاع دنبه (cm)	۲۹۵	۴۱	۱۴	۲۳/۳۰ ±۰/۴
وزن دنبه (kg)	۲۹۵	۸/۲	۰/۱	۳/۳۰ ±۰/۱

تکثیر قطعه مورد نظر با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR)

با توجه به محدوده‌های یاد شده روی کروموزوم شماره ۵ و کشف ژن‌های جدید مرتبط با متابولیسم چربی بدن در این نواحی و بررسی‌های بیوانفورماتیکی با استفاده از پایگاه داده‌ای NCBI[1] و سایت وابسته به این پایگاه (GeneCards) ژن‌های مورد نظر در این پژوهش شامل *SAR1B, VDAC1, SEC24A* انتخاب شدند. آغازگرهای اختصاصی با استفاده از نرم‌افزار Oligo7 (۱۷) طراحی شدند (جدول ۲). توسط آغازگرهای اختصاصی قطعاتی با اندازه‌های ۴۷۸، ۳۴۸ و ۵۷۹ جفت باز به ترتیب از ژن‌های *SAR1B*، *VDAC1* و *SEC24A* که در برگیرنده‌ی اگزون ۱، ۵ (بخشی از اینترون ۴ و ۶) و ۱۹ در ژن‌های فوق بوده اند مورد تکثیر قرار گرفتند.

جدول ۲- آغازگرها و شرایط اختصاصی هر کدام از آنها برای تکثیر قطعات DNA
Table 2. The primers and their special conditions for DNA amplification

نام ژن	توالی (3′.....5′)	دما (°C)	درصد GC	طول قطعه (bp)
SAR1B	F- GTGTCCTTTCCAGATGGTCG	۵۸/۳	۵۵/۰	۴۷۸
	R- TCCCCAAGCTAAGAACCG	۵۷/۴	۵۵/۰	
VDAC1	F- ACGTTAGTGTGAAGCTGG	۵۴/۰	۵۰/۰	۳۴۸
	R- TGACTTTGCCTTCCTACTC	۵۶/۰	۴۷/۴	
SEC24A	F- GGTAGTCTTCTTCTCTGAACG	۵۵/۷	۵۵/۰	۵۷۹
	R- CATTTAGAACCTGCAAGCTG	۵۵/۰	۵۵/۰	

شرایط دمائی و زمانی PCR در جدول ۳ نشان داده شد. مخلوط واکنش PCR در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر و با ترکیب ۱/۵ میکرولیتر DNA ژنومی با غلظت ۱۰۰ نانوگرم، ۱ میکرولیتر از هر آغازگر با غلظت ۵ پیکومول، ۱۰ میکرولیتر از مستر PCR ساخت شرکت آریا طوس و ۶/۵ میکرولیتر آب دیونیزه بهینه گردید. برای اطمینان از صحت عملکرد تکثیر، محصولات PCR روی ژل آگارز یک درصد الکتروفورز شدند (۲).

آزمون SSCP برای محصولات PCR

تعیین ژنوتیپ نمونه‌ها به روش PCR-SSCP با استفاده از الکتروفورز عمودی روی ژل پلی‌اکریل‌آمید ۱۲٪ و رنگ‌آمیزی با نیترات نقره انجام گرفت. ۵ میکرولیتر بافر بارگذاری مخصوص SSCP (شامل فرمامید ۹۸٪، EDTA ۵ مولار، برموفنل بلو ۱۰٪) با ۵ میکرولیتر محصول PCR مخلوط شد و سپس در دستگاه ترموسایکلر به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شد تا رشته‌های DNA واسرشت شوند. نمونه‌های واسرشت شده به مدت ۱۰ دقیقه روی یخ قرار گرفتند تا از پیوند دوباره رشته‌های مکمل جلوگیری شود. برای مشاهده الگوهای باندی از تانک الکتروفورز عمودی شرکت BioRad با صفحات شیشه‌ای به ابعاد ۰/۱ × ۲۵ × ۳۰ سانتی‌متر و ژل پلی اکریل آمید ۸٪ استفاده شد. به این ترتیب که مخلوط محصول PCR و بافر بارگذاری مخصوص SSCP درون چاهک‌های ژل بارگذاری شدند. سپس الکتروفورز نمونه‌ها به مدت ۱۸ ساعت و با اختلاف پتانسیل ۳۰۰ ولت در دمای چهار درجه سانتیگراد و با بافر TBE (۰/۵X) انجام گرفت. در نهایت رنگ‌آمیزی ژل برای مشاهده الگوهای باندی و تعیین ژنوتیپ به روش نیترات نقره انجام شد.

جدول ۳- دما و زمان در هر یک از مراحل واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR) برای ژن‌های مختلف
Table 3. Temperature and time in each step of PCR for different genes

نام ژن	شرایط مراحل← / ↓	واسرشته سازی اولیه (۱)	واسرشته سازی (۲)	اتصال آغازگرها (۳)	تکثیر (۴)	بسط یکنواخت (۵)
SAR1B	دما (^{o}C)	۹۵	۹۵	۶۲	۷۲	۷۲
	زمان (ثانیه)	۳۰۰	۴۵	۴۵	۴۵	۴۲۰
VDAC1	دما (^{o}C)	۹۵	۹۵	۵۴	۷۲	۷۲
	زمان (ثانیه)	۳۰۰	۴۵	۴۵	۴۵	۴۲۰
SEC24A	دما (^{o}C)	۹۵	۹۵	۵۷	۷۲	۷۲
	زمان (ثانیه)	۳۰۰	۴۵	۴۵	۴۵	۴۲۰

*: مرحله‌ی ۲ الی ۴ به تعداد ۳۳ چرخه تکرار گردید

1- National Centre for biotechnology Information

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-11-02]

[DOI: 10.29252/rap.8.17.99]

تجزیه و تحلیل آماری

مدل مورد استفاده برای بررسی ارتباط الگوهای حاصل از ژن‌های تحت بررسی با صفات یا ویژگی‌های دنبه، در زیر آورده شد. این مدل برای صفات محیط بالا، محیط پایین و ارتفاع دنبه و وزن دنبه برآورد شده توسط معادلات تابعیت برای گوسفند نژاد لری بختیاری (۲۰) و با کمک رویه Mixed نسخه ۸ نرم‌افزار SAS (۱۸) انجام گرفت. از آزمون چند دامنه‌ای دانکن نیز برای مقایسه میانگین‌ها استفاده شد.

رابطه (۱)

$$Y_{ijkl}= \mu + R_i + G_j + S_k + A_l + e_{ijkl}$$

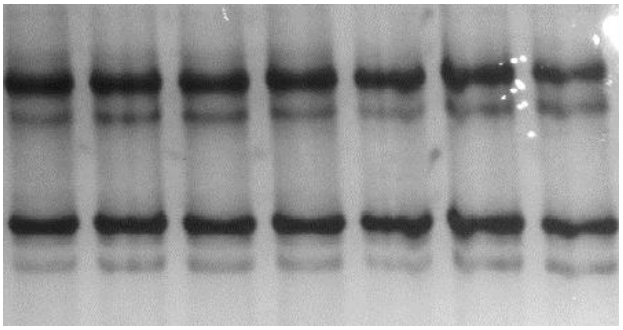
که در این مدل Y_{ijkl} هر یک از مشاهدات مربوط بـه صـفات، μ میانگین هر صفت در جامعه، R_i اثر تصادفی پـدر (۱، ۲، ...، ۶۶)، G_j اثر j امین الگوی باندی (۳ سطح) مربوط به هـر ژن، S_k اثر k امین جنس (دو سطح) حیوان، A_l اثر گـروه سـنی (۶ سطح) حیوان و e_{ijkl} اثر باقیمانده می‌باشد.

برای تعیین فراوانی الگوهای باندی در هر کدام از جایگاه های ژنی مورد نظر از نرم‌افزار POPGENE نسخه ۱/۳۲ (۱۶) استفاده شد. مقایسه بین فراوانی الگوهای باندی مشاهده شده در دو نژاد با استفاده از تست دقیق فیشر و با کمک نسخه ۸ نرم‌افزار SAS (۱۸) انجام شد.

نتایج و بحث

قطعه مربوط به اگزون شماره ۵، بخشی از اینترون ۴ و ۶ ژن *VDAC1* با طول ۳۴۸ جفت باز توسط آغازگرهای اختصاصی تکثیر شد. قطعه تکثیر شده فوق با استفاده از روش SSCP مورد آزمون قرار گرفت و پس از رنگ آمیزی با نیترات نقره، مشخص شد این جایگاه برای هر دو نژاد لری بختیاری و زل تک شکل و با الگوی باندی مشابه است (شکل ۱). بنابراین با توجه به تک شکل بودن جایگاه و عدم اختلاف بین دو نژاد از نظر این جایگاه امکان اینکه این قطعه از ژن فوق در بروز ویژگی‌های دنبه دخالت داشته باشد بسیار ضعیف می‌باشد. فاصله تقریبی بین جایگاه فوق در ژن یاد شده با SNPهای دارای نشانه‌های انتخاب مثبت (۱۴) حدود ۱۱۰ هزار نوکلئوتید می‌باشد.

نتیجه تکثیر مثبت قطعه ۵۷۹ جفت بازی مربوط به اگزون شماره ۱۹ ژن *SEC24A* و آزمون آن با استفاده از روش SSCP نشان داد که این جایگاه در هر دو نژاد مورد بررسی دارای سه الگوی باندی به شرح جدول ۴ است (شکل ۲).



شکل ۱– الگوی باندی مشاهده شده برای ژن *VDAC1* در دو نژاد زل و لری بختیاری (هر دو نژاد یک شکل بودند)
Figure 1. SSCP banding pattern for *VDAC1* gene in Zel and Lori-Bakhtiari sheep breeds (Both breeds were monomorph)

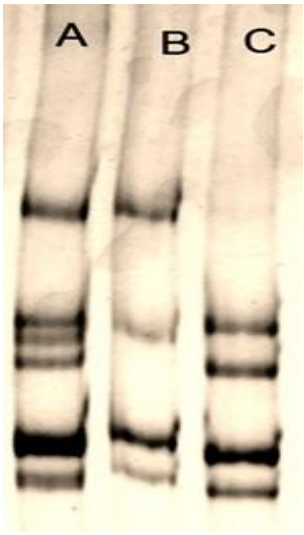
جدول ۴– فراوانی الگوهای باندی مشاهده شده در جایگاه *SEC24A* در هر یک از نژادهای گوسفند زل و لری بختیاری
Table 4. The number and frequency (percentage) of banding patterns in exon 19 of *SEC24A* gene in Zel and Lori-Bakhtiari sheep breeds

الگوهای باندی← / نژاد↓	A		B		C	
	فراوانی	درصد	فراوانی	درصد	فراوانی	درصد
زل	۲۱	۲۸	۲۴	۳۲	۳۰	۴۰
لری بختیاری	۱۱۲	۳۹	۱۱۷	۴۰	۶۰	۲۱
مجموع	۱۳۳	۳۶	۱۴۱	۳۹	۹۰	۲۵

با توجه به نتایج به دست آمده در مجموع فراوانی الگوهای باندی A، B و C در دو نژاد فوق به ترتیب برابر با ۳۶، ۳۹ و ۲۵ در صد می‌باشد. بالاترین درصد مربوط به الگوی A و پایین ترین آن مربرط به الگوی B بود. در داخل نژادها فراوانی الگوهای باندی کاملاً برعکس یکدیگر به طوری که الگوی A در نژاد لری بختیاری ۳۹ و الگوی B، ۲۱ درصد بود. ولی این نسبت در گوسفند نژاد زل برعکس و فراوانی الگوی B بیشتر بود. اختلاف بین فراوانی الگوهای باندی در دو نژاد از نظر آماری معنی‌دار بود ($P <$ ۰/۰۰۱). بررسی تأثیر الگوهای باندی مختلف ژن *SEC24A* بر ویژگی‌های دنبه و وزن دنبه در گوسفند لری بختیاری نیز در جدول ۵ نشان داده شد. این ژن که در موقعیت ۲۸۰ هزار بازی از SNP دارای نشانه انتخاب مثبت (۱) و روی کروموزوم ۵ قرار دارد دارای ۳ الگوی باندی بوده است که علاوه بر معنی‌دار بودن اثر عوامل ثابت بر ویژگی‌های دنبه، تأثیر الگوی باندی بر این ویژگی‌ها نیز معنی‌دار به دست آمد ($P <$ ۰/۰۰۱). همان طور که در جدول ۵ مشاهده می‌شود میانگین حداقل مربعات ویژگی‌های دنبه در الگوی باندی B بالاترین مقدار و در الگوی A کمترین مقدار را دارا می‌باشد.

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-11-02]

[DOI: 10.29252/rap.8.17.99]



شکل ۲- الگوهای باندی مشاهده شده برای ژن *SEC24A* در دو نژاد زل و لری بختیاری
Figure 2. SSCP banding patterns for *SEC24A* gene in Zel and Lori-Bakhtiari sheep breeds

تحقیقاتی که روی موش و انسان صورت گرفته نشان می‌دهد هر کدام از خانواده‌های ژن *SEC* دارای چند کپی می‌باشند. مثلاً ژن *SEC24A* دارای ۴ کپی بوده که از ژن‌های مختلف اجدادی مشتق شده‌اند (۴). چن و همکاران (۵) گزارش کردند در موش‌های با ژن *SEC24A* خاموش، رشد بدن به طور نرمال اتفاق می افتد. در این موش‌ها کاهش ۴۵ درصدی سطح کلسترول خون مشاهده شد زیرا به واسطه خاموش بودن این ژن، آنها قادر به جذب و حمل و نقل پروتئین ترشحی دیگری به نام *PCSK9*[1] که تنظیم‌کننده سطح کلسترول خون می‌باشد، نبودند. آنها این ژن را به عنوان یک پتانسیل درمانی بالقوه برای کاهش سطح کلسترول خون و دیگر بیماری‌های مرتبط با بالا بودن سطح کلسترول پیشنهاد کردند. با توجه به این نتایج از آنجایی که این مطالعه اولین مطالعه در مورد چند شکلی این ژن و ارتباط آن با صفات و ویژگی‌های دنبه می‌باشد، پژوهش‌های موافق و مخالفی با نتایج بدست آمده در این پژوهش موجود نمی‌باشد و در توجیه این نتایج می‌توان گفت با توجه به این که این ژن در منطقه‌ی کاندیدای گزارش شده برای چربی توسط مرادی و همکاران (۱۴) قرار دارد می‌تواند به عنوان یک ژن با اثرات عمده باشد. دلیل احتمالی دیگر وجود پیوستگی بین این ژن و QTLهای گزارش شده موثر بر صفات چربی موجود در نزدیکی این ژن می‌باشد (۱۱).

جدول ۵- مقایسه‌ی میانگین حداقل مربعات (±SE) اثر سه الگوی باندی ژن *SEC24A* بر ویژگی‌های دنبه در گوسفند نژاد لری بختیاری
Table 5. Least squares means (±se) for the effect of three banding patterns of *SEC24A* gene on fat-tail characteristics in Lori-Bakhtiari sheep

صفت↓ الگوی باندی ←	A	B	C
محیط بالای دنبه (cm)	۶۱/۵^{c} *± ۰/۷	۶۳/۸^{b} ± ۰/۸	۶۶/۲^{a} ± ۰/۹
محیط پایین دنبه (cm)	۵۳/۲^{c} ± ۰/۶	۵۴/۶^{b} ± ۰/۷	۵۷/۳^{a} ± ۰/۸
ارتفاع دنبه (cm)	۲۶/۲^{c} ± ۰/۴	۲۷/۵^{b} ± ۰/۴	۲۸/۶^{a} ± ۰/۵
وزن دنبه (kg)	۴/۲^{c} ± ۰/۱	۴/۵^{b} ± ۰/۱	۴/۹^{a} ± ۰/۱

*: حروف مشابه در هر ردیف نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار آماری است

کوکت و همکاران (۶) گزارش کردندکه بیش از ۱۰ ژن روی ترکیب لاشه در گوسفند تأثیر گذار می‌باشند که از آن جمله می‌توان به ژن *CLPG* (Callipyge) و ژن Carwell روی کروموزم ۱۸ گوسفند اشاره کرد که باعث افزایش توده عضلانی و کاهش چربی در لاشه می شوند. همچنین ژن Double Muscling روی کروموزوم شماره ۲ که باعث هیپرتروفی عضلانی می‌شود. این محققین وجود QTLهای دیگری روی کروموزوم‌های ۱، ۳، ۴، ۱۸ که باعث کاهش چربی بدن و پشت و افزایش رشد عضلانی می‌شوند را تأیید کردند. برزه‌کار و همکاران (۳) در نژاد شال که یک نژاد دنبه‌دار ایرانی است وجود یک SNP در موقعیت ۱۱۳ ژن لپتین و تغییر در نوکلئوتید G←A را که باعث افزایش وزن لاشه سرد، درصد چربی لاشه و درصد دنبه می‌شود را گزارش کردند. گان شان کوان و همکاران (۸) نیز از وجود یک SNP دیگر با همبستگی بالا با صفت ذخیره چربی در دنبه در موقعیت فیزیکی ۵۹۳۸۳۶۳۵ کروموزوم X گوسفند خبر دادند. این محققین با روش PCR-SSCP نشان دادند که فراوانی آلل T در گوسفندان دنبه‌دار و فراوانی بالای آلل C در گوسفندان بدون دنبه در جایگاه آللی یاد شده دلیل وجود چند شکلی در این جایگاه می‌باشد.

ژو و همکاران (۲۴) گزارش کردند که بین ذخیره چربی در دنبه و دو SNP کشف شده در مکان‌های ۵۹۵۷۱۳۶۴ و ۵۹۹۱۲۵۸۶ از کروموزوم X گوسفندان دنبه‌دار و بدون دنبه همبستگی وجود دارد. ژنوتیپ TT در جایگاه ۵۹۵۷۱۳۶۴ و

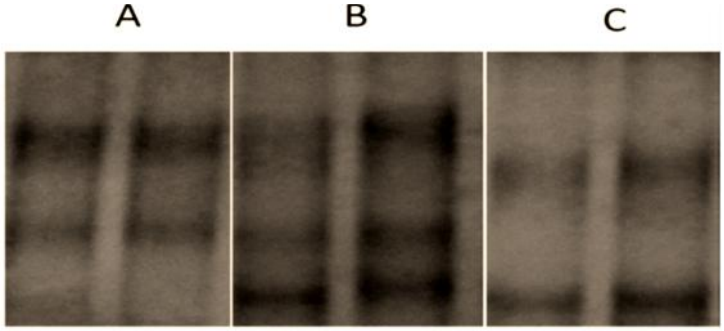
1- Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-11-02]
[DOI: 10.29252/rap.8.17.99]

ژنوتیپ GG در جایگاه ۵۹۹۱۲۵۸۶ از کروموزوم X به عنوان ژنوتیپ برتر در نژادهای بدون دنبه مشاهده شد و هاپلوتایپ‌های CA و TA در نژادهای دنبه‌دار که وفور آنها ۸۸٪ گزارش شد. سان و همکاران (۱۹) نیز مطالعات GWAS را برای شناسایی ژن‌های کنترل‌کننده کیفیت گوشت تولیدی و چربی محوطه شکمی در طیور را انجام دادند. در این مطالعه ۱۴ ژن جدید درگیر در صفات چربی داخل عضلانی عضله سینه، روشنی گوشت، وزن و درصد چربی محوطه شکمی شناسایی شد.

در پژوهش حاضر تکثیر قطعه ۴۷۸ جفت بازی مربوط به اگزون شماره ۱ و بخشی از اینترون شماره ۱ ژن *SAR1B* نیز انجام و آزمون آن با استفاده از روش SSCP نشان داد که این جایگاه در نژاد لری بختیاری که نژادی دنبه‌دار است پلی‌مورف (شکل ۳) و دارای ۳ الگوی باندی A، B و C و در نژاد زل که نژاد بدون دنبه است، تک شکل و دارای یک الگوی باندی C بود (شکل ۳). در نژاد لری بختیاری درصد فراوانی الگوهای باندی A، B و C به ترتیب ۲۸/۵، ۴۸/۵ و ۲۳ در صد به دست آمد. علاوه بر معنی‌دار بودن اثر عوامل ثابت سن و جنس و اثر تصادفی پدر بر ویژگی‌های دنبه، تأثیر الگوهای باندی فوق بر این ویژگی‌ها مثبت و معنی‌دار به دست آمد ($P < ۰/۰۰۱$) که نتایج آن در جدول ۶ ارائه شده است.

با توجه به جدول ۶ ویژگی های دنبه در الگوی باندی A این جایگاه دارای بالاترین مقدار و در الگوی باندی B کمترین مقدار را دارا می‌باشند. پیشرفت در توالی یابی ژنوم حیوانات مزرعه‌ای و یافتن ارتباط بین پلی مورفیسم DNA و صفات کمی از مهم‌ترین کشفیات علوم بیولوژی در قرن حاضر است. تاکنون هزاران مارکر ژنتیکی نقشه‌یابی و چندین QTL کشف شده است که برای انتخاب مفید واقع شده‌اند.



شکل ۳- الگوهای باندی مشاهده شده برای ژن *SAR1B* در دو نژاد زل (فقط الگوی C مشاهده شد) و لری بختیاری (هر سه الگوی باندی مشاهده شد)

Figure 3. SSCP banding patterns for *SAR1B* gene in Zel (only C banding pattern) and Lori-Bakhtiari (three banding patterns) sheep breeds

جدول ۶- مقایسه‌ی میانگین حداقل مربعات (±SE) اثر سه ژنوتیپ ژن *SAR1B* بر ویژگی‌های دنبه در گوسفند نژاد لری بختیاری

Table 6. Least square means (±se) for the effect of three banding patterns of *SAR1B* gene on fat-tail characteristics in Lori-Bakhtiari sheep

صفت↓ الگوی باندی ←	A	B	C
محیط بالای دنبه (cm)	۶۷/۸^{a} *± ۰/۷	۶۲/۳^{b} ± ۰/۷	۵۹/۸^{c} ± ۰/۸
محیط پایین دنبه (cm)	۵۹/۰^{a} ± ۰/۶	۵۳/۰^{b} ± ۰/۶	۵۰/۲^{c} ± ۰/۷
ارتفاع دنبه (cm)	۲۹/۳^{a} ± ۰/۴	۲۶/۲^{b} ± ۰/۴	۲۴/۴^{c} ± ۰/۵
وزن دنبه (kg)	۵/۱^{a} ± ۰/۱	۴/۲^{b} ± ۰/۱	۳/۸^{c} ± ۰/۱

*: حروف مشابه در هر ردیف نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار آماری است

با توجه به تک شکل بودن جایگاه ژنی *SAR1B* در نژاد بدون دنبه زل و پلی مورف بودن در نژاد دنبه‌دار لری بختیاری و نقش این ژن در انتقال شیلومیکرون‌ها بعد از صرف غذا به جریان خون و فعال شدن متابولیسم چربی در بدن، این جایگاه نیز می تواند به عنوان یکی از کاندیدای مؤثر بر ویژگی‌های دنبه در نژادهای گوسفند دنبه‌دار مطرح شود. یکی دیگر از ژن‌های دارای اثر افزایشی روی ماهیچه ران، درصد لاشه سرد و لاشه با درصد چربی کمتر، ژن کالپاژ می‌باشد درای اثر منفی روی تردی گوشت است (۷). همچنین می‌توان به جایگاه کنترل‌کننده صفات کمی به نام Carwell در نژاد دورست پول استرالیایی اشاره کرد که عمق ماهیچه راسته را تا ۲/۵ سانتی‌متر افزایش داده و قیمت لاشه را نیز ۱۵٪ بالامی برد. علاوه بر ژن‌های مؤثر بر صفات چربی و ویژگی‌های دنبه QTLهایی نیز اخیراً در گوسفندان گوشتی کشف شده که روی ترکیبات لاشه اثرگذار هستند (۱۱). تعداد QTLهای مؤثر روی گوشت و صفات لاشه در گوسفند در حال افزایش است. شناسایی این ژن‌ها یا نشانگرهای ژنتیکی که به نوعی با صفات اقتصادی همبسته هستند می‌توانند باعث افزایش رشد ژنتیکی آن صفات شوند (۹).

در پایان با توجه به رفتار متفاوت ژنتیکی ژن *SAR1B* در دو نژاد دنبه‌دار و بدون دنبه مورد مطالعه در پژوهش حاضر و با توجه به چند شکل بودن جایگاه ژنی *SEC24A* در دو نژاد، بررسی کامل مولکولی نواحی مختلف ژنی (اگزون، اینترون و نواحی تنظیمی) این دو ژن و ارتباط آن‌ها با صفات دنبه با تعداد نمونه‌های بیشتر پیشنهاد می‌شود.

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-11-02]

[DOI: 10.29252/rap.8.17.99]

منابع

1. Archibald, A.L., N.E. Cockett, B.P. Dalrymple, T. Faraut, J.W. Kijas, J.F. Maddox, J.C. McEwan, V.Hutton Oddy, H.W. Raadsma, C. Wade, J. Wang, W. Wang and X. Xun. 2010. International Sheep Genomics Consortium: The sheep genome reference sequence: a work in progress. Animal Genetics, 41: 449-453.
2. Asadi, A., H. Moradi Shahrbabak, P. Azizi, S. Elahian and S. Abbasi. 2015. Investigation of Polymorphism in Exon 4 of GH Gene and Its Association with Growth Traits in Kermani Sheep using PCR- SSCP. Research on Animal Production, 6(12): 139-144 (In Persian).
3. Barzehkar, R., A. Salehi and F. Mahjoubi. 2009. Polymorphisms of the ovine leptingene and its association with growth and carcass traits in three Iranian sheep breeds. Iranian Journal of Biotechnology, 7: 241-246 (In Persian).
4. Bianchi, P., E. Fermo, C. Vercellati, C. Boschetti, W. Barcellini and A. Iurlo. 2009. Congenital dyserythropoietic anemia type II (CDAII) is caused by mutations in the SEC23B gene. Human Mutation, 30: 1292-1298.
5. Chen, X.W., H. Wang, K. Bajaj, P. Zhang, Z.M. Meng, D. Ma, Y. Bai, H.H. Liu, E. Adams, A. Baines, G. Yu, M.A. Sartor, B. Zhang, Z. Yi, J. Lin, S.G. Young, R. Schekman and D. Ginsburg. 2013. SEC24A deficiency lowers plasma cholesterol through reduced PCSK9 secretion. elife.elifesciences.org
6. Cockett, N.E., M.A. Smith, C.A. Bidwell, K. Segers, T.L. Hadfield, G.D. Snowder, M. Goerges and C. Charlier. 2005. The callipyge mutation and other genes that affect muscle hypertrophy in sheep. Genetic Selection Evolution, 37: S65-S81.
7. Freking, B.A., J.W. Keele, S.D. Shackelford, T.L. Wheeler, M. Koohmaraie, M.K. Nielsen and K.A. Leymaster. 1999. Evaluation of the ovine callipyge locus: III. Genotypic effects on meat quality traits. Journal of Animal Science, 77: 2336-2344.
8. GAN, S.Q., Z. Wei, S. Min, L. Huan, Y. Jing-Quan, L. Yao-Wei, G. Lei, L. Shou-Ren and W. Xin-Hua. 2013. Correlation analysis between polymorphism of the 9383635th locus on X chromosome and fat-tail trait in sheep. Hereditas, 10: 1209-1218.
9. Ge, W., M.E. Davis, H.C. Hines, K.M. Irvin and R.C.M. Simmen. 2001. Association of a genetic marker with blood serum insulin-like growth factor-I concentration and growth traits in Angus cattle. Journal of Animal Science, 79: 1757-1762.
10. Gokdal, O., H. Ulker, F. Karakus, F. Cengiz, C. Temur and H. Handil. 2004. Growth, feedlot performance and carcass characteristics of Karakas and crossbred lambs (F1)(Ile de France x Akkaraman (G1) x Karakas) under rural farm conditions in Turkey. South African Journal of Animal Science, 34: 223-232.
11. Karamichou, E., R. Richardson, G. Nute, K. Gibson and S. Bishop. 2006. Genetic analyses and quantitative trait loci detection, using a partial genome scan, for intramuscular fatty acid composition in Scottish Blackface sheep. Journal of Animal Science, 84: 3228-3238.
12. Meuwissen, T.H.E. and M.E. Goddard. 1996. The use of marker haplotypes in animal breeding schemes. Genetics Selection Evolution, 28: 161-176.
13. Moradi, M.H., A. Nejati-Javaremi, M. Moradi-Shahrbabak and J.C. McEwan. 2011. Genomic scan of selective sweeps in thin and fat tail sheep breeds for identifying of candidate regions associated with fat deposition. PhD Thesis, Tehran University, Karadj, Iran. 95 pp (In Persian).
14. Moradi, M.H., A. Nejati-Javaremi, M. Moradi-Shahrbabak, K.G. Dodds and J.C. McEwan. 2012. Genomic scan of selective sweeps in thin and fat tail sheep breeds for identifying of candidate regions associated with fat deposition. BMC Genetics, 13: 10-25.
15. Negussie, E., O. Rottmann, F. Pirchner and J. Rege. 2003. Patterns of growth and partitioning of fat depots in tropical fat-tailed Menz and Horro sheep breeds. Meat science, 64:491-498.
16. POPGENE. 1999. Version 1.32: the user friendly software for population genetic analysis. Molecular Biology and Biotechnology Centre, University of Alberta, Edmonton, AB, Canada.
17. Oligo7. 2009. Version 7. OLIGO Primer Analysis Software. Molecular Biology Insights, Inc., Cascade, CO, USA. http://www.oligo.net/
18. SAS Institute. 2000. Statistical Analysis System User's Guide. Statistics (8th Edition) SAS Institute Inc. North Carolina, USA.
19. Sun, Y., G. Zhao, R. Liu, M. Zheng, Y. Hu, D. Wu, L. Zhang, P. Li and J. Wen. 2013. The identification of 14 new genes for meat quality traits in chicken using a genome-wide association study. BMC Genomics, 14: 458-464.
20. Vatankhah, M., M. Moradi-Shahrbabak, A. Nejati-Javaremi, S.R. Miraie Ashtiani and R. Vaez Torshizy. 2006. Investigation on fat-tail dimension and its relationship with Lori-Bakhtiari sheep's tail weight. Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources, Tenth year, No. III (B), autumn (In persian).
21. Wang, Q., H. Li, N. Li, L. Leng, Y. Wang and Z. Tang. 2006. Identification of single nucleotide polymorphism of adipocyte fatty Acid-Binding protein gene and its association with fatness traits in the chicken. Poultry Science, 85: 429-434.
22. Xia, W. and S.F.A. Grant. 2013. The genetics of human obesity. Annals of New York Academy of Science, 1281: 178-190.
23. Zerehdaran, S., S. Alijani and M. Salehinasab. 2016. Detecting Major Genes for Some Economic Traits in Native Fowl of Yazd Province using Different Statistical Methods. Research on Animal Production, 7(13): 163-170 (In Persian).
24. Zhu, X., N. Niu, Y. Liu, T. Du, D. Chen and X. Wang. 2006. Improvement of the sensitivity and resolution of PCR-SSCP analysis with optimized primer concentrations in PCR products. Journal of genetics, 85: 233-243.

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-11-02]

[DOI: 10.29252/rap.8.17.99]

Study of Candidate Genes Affecting Fat-Tail Traits in Specific Region of Chromosome 5 in Lori-Bakhtiari and Zel Sheep by PCR-SSCP

Mazaher Safdarian[1], Hasan Hafezian[2], Ghodrat Rahimi Mianji[3] and Ayob Farhadi[4]

1- Graduated M.Sc. Student Department of Animal Science, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University (Corresponding author: safdarian2014@gmail.com)
2, 3 and 4- Associate Professor, Professor and Assistant Professor Department of Animal Science, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University
Received: April 25, 2015 Accepted: October 13, 2015

Abstract

Meat quality and carcass composition are the most important economic traits in sheep. Body fat and fat-tail are key factors affecting carcass quality and meat production in each breed, and mutations in sequences of the genes that control these traits can affect the animal performance and therefore the breeding value. The aim of this study was to investigate the polymorphism in some regions of *SAR1B*, *SEC24A* and *VDAC1* genes in candidate genomic regions for fat traits on ovine chromosome 5. Blood samples were collected randomly from 300 Lori-Bakhtiari and 100 Mazandaran sheep and DNA was extracted using modified salting out method. Polymerase chain reaction (PCR) was performed for amplification of 478, 579 and 348 bp fragments of studied genes using specific primer pairs and genotyping of samples was done by SSCP technique. The obtained results showed three banding patterns of A, B and C for *SAR1B* marker site in Lori-Bakhtiari sheep but it was monomorph in Zel sheep. For *SEC24* gene, three banding patterns of A, B and C were observed in both sheep breeds, but *VDAC1* was monomorph in both sheep breed. The effect of banding patterns of *SAR1B* gene on fat-tail characteristics were significant ($P<0.001$), so that the A banding pattern showed highest measurement of the upper and lower, height and weight of fat-tail. The band patterns of *SEC24A* gene significantly associated with fat-tail characteristics, and banding pattern of B showed highest values. Considering the monomorphic pattern of *SAR1B* gene in Zel sheep and polymorphic pattern in fat-tailed Lori-Bakhtiary sheep, and also polyomorphic patterns of *SEC24A* gene in both breeds, these two marker site could be considered as potential candidate genes affecting fat tail characteristic in fat-tailed sheep breeds. More studies on different parts of these genes (exon, intron, regulatory regions) and their association with fat-tail traits is recommended for confirmation if the results.

Keywords: Fat-tail traits, *SAR1B, SEC24A*, Sheep, *VDAC1*

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-11-02]

[DOI: 10.29252/rap.8.17.99]