ژنتیک نوین
دوره نوزدهم، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۳
صفحه ۱۹۱ - ۱۸۳

شناسایی واریانت‌های مستقر ژن گیرنده استروژن ۲ و ارتباط آن با صفت چندقلوزایی در دو رگ‌های میش‌های نژاد لری–بختیاری و قوچ‌های نژاد رومانوف

Identification of Estrogen Receptor 2 Gene Variants and Its Association with LitterSize in Lori Bakhtiari Ewes × Romanov Rams Crossbred

شکیب سالمی[۱]، علی اسمعیلی کشکوئیه[۱]، آرش جوانمرد[۲]، محمدرضا محمدآبادی*[۱]، مریم خوبیاری[۱]، دیانا شبان جرجندی[۱]، فاطمه ابارقی[۱]

۱- به‌ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد، استاد، استاد، دانشجوی کارشناسی، دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشجوی کارشناسی ارشد، بخش علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، ایران

۲- استاد بخش علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، ایران

Salemi Sh[1], Esmailizadeh Koshkoiyeh A[1], Javanmard A[2], Mohammadabadi M*[1], Khoubyari M[1], Shaban Jorjandy D[1], Abareghi F[1]

1- MSc Student, Professor, Professor, Ba Student, MSc Student, MSc Student, Department of Animal Science, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran

2- Professor, Department of Animal Science, University of Tabriz, Tabriz, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: mrm@uk.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۵/۲۷ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۷/۱۵)

چکیده

امروزه، صفت چندقلوزایی، ازجمله، صفات اقتصادی مهم در پرورش گوسفند می‌باشد که تأثیر مهم و کلیدی را بر بازده تولیدمثلی گله دارد. با این انگیزه تحقیقاتی، هدف از پژوهش حاضر، بهره‌وری از دو تکنیک مولکولی ARMS-PCR و PCR-Sequencing، جهت شناسایی تنوع نوکلئوتیدی در جایگاه ژنی گیرنده استروژن ۲ (ESR2) مرتبط با صفت چندقلوزایی در آمیخته‌های نسل اول حاصل از تلاقی میش‌های نژاد لری-بختیاری و قوچ‌های نژاد رومانوف بود. در پژوهش حاضر، نمونه‌های خون از مجموع تعداد، ۱۱۴ رأس بره آمیخته نسل اول حاصل از تلاقی قوچ نژاد رومانوف و میش لری بختیاری اخذ گردید. سپس، تکثیر ناحیه‌ای ۵۰۰ جفت باز نوکلئوتیدی از ژن ESR2 توسط واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز، دو روش مولکولی ARMS-PCR و توالی‌یابی مستقیم سانگر انجام و نتایج ژنوتیپ ثبت شد. متعاقباً، با استفاده از نرم‌افزارهایی از قبیل پاپ ژن، FinchTV و MAFFT فراوانی ژنوتیپی و آللی و هم‌ردیفی توالی‌های مورد تکثیر انجام شد. در انجام این تحقیق، برای اولین بار، دو جفت آغازگر اختصاصی برای تکثیر دو ناحیه با همپوشانی زیاد طراحی شد و پس از تکثیر و مشاهده دو باند اختصاصی ۵۰۰ و ۳۰۰ جفت بازی، باندهای بزرگ‌تر توالی یابی شدند. نتایج توالی‌یابی با استفاده از نرم‌افزار MAFFT هم‌ردیف شدند و حضور جهش نوکلئوتیدی بررسی مجدد شد. این جهش نوکلئوتیدی از نوع g.73383249T> C :در ناحیه واریانت بین ژنی ژن ESR2 بود که در آن آلل وحشی T و آلل جهش‌یافته C ازنظر ژنتیکی با چندقلوزایی گزارش‌شده در مقالات پیشین، مرتبط هستند. در مجموع، مشاهدات انجام‌یافته نشان دارد که فراوانی‌های ژنوتیپ‌های، TT و TC به‌ترتیب برابر ۰/۷۴ و ۰/۲۶ بودند (مشاهده دو ژنوتیپ). علاوه بر این، ارتباط آماری معنی‌داری بین صفت چندقلوزایی و ژنوتیپ وجود داشت (P<۰/۰۰۱)، به‌طوری که اثر جایگزینی افزایشی آللی آلل C به‌جای آلل T برابر (۰/۰۷۷۱) ۰/۹۰۴ بود (P<۰/۰۰۱). به‌عنوان نتیجه‌گیری نهایی، استفاده از این نشانگر ژنتیکی در پیش انتخاب قوچ رومانوف که حامل آلل CC مرتبط با چندقلوزایی باشد یکی از عواملی است که می‌تواند دامداران را برای افزایش درآمد ناشی از تعداد بره به ازای هر زایش کمک کند.

واژه‌های کلیدی

آمیخته
چندقلوزایی
قوچ رومانوف
گیرنده استروژن
میش لری بختیاری

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

مقدمه

گوسفند، دامی مهم برای تولید گوشت در مناطق گرمسیری، از جمله کشورهای خاورمیانه است و عملکرد اقتصادی آن به توانایی رشد و تولیدمثل بهینه بستگی دارد (Khaltabadi Farahani et al. 2020). کشور ایران، به دلیل تنوع آب و هوایی و وسعت زیاد از تنوع نژادهای گوسفند (حدود ۲۸ نژاد) (Mohammadabadi et al. 2022) و جمعیت (بیش از ۵۰ میلیون رأس) خوبی (Masoudzadeh et al. 2020) برخوردار است که با شرایط اقلیمی خاص مناطق مختلف کشور سازگار شده‌اند.

در سال‌های اخیر، بهبود صفات تولیدمثلی به‌عنوان یکی از اجزای بیولوژیکی مهم در تولید گوسفند، توسط تولیدکنندگان موردتوجه زیادی قرارگرفته است؛ بنابراین، کارایی پرورش گوسفند تا حد زیادی به ظرفیت تولیدمثلی میش بستگی دارد (Khaltabadi Farahani et al. 2020). تعداد بره‌های متولد شده در هر زایش نیز ازجمله صفات تولیدمثلی مهم است که به مقدار زیادی تحت تأثیر قابلیت تولیدمثلی میش‌ها (محدود به جنس بودن) و اثرات محیطی قرار دارد و با وجود ضریب وراثت‌پذیری پایین (چندقلوزایی در تحقیقات قبلی کمتر از ۱۰ درصد گزارش‌شده است) گزارش‌شده برای این صفت، ازجمله صفات کلیدی هدف برای بهبود درآمد گله می‌باشد (Mehvari and Doosti 2017).

علاوه بر پرورش‌دهندگان گوسفند، محققان علوم مهندسی ژنتیک و حیوانات تراریخته در یک سیکل جنسیی استفاده از میش‌های رها کننده چند فولیکول را به میش‌های آزاد کننده تک فولیکول ترجیح می‌دهند. امکان نگهداری ژن خارجی هدف در حیوانات تراریخته بیشتر از یک‌قلوها است و به‌همین دلیل، استفاده از حیوانات مهندسی ژنتیک شده چند قلوزا به‌ویژه در دامپروری مورد توجه محققان علوم تراریخته است (Eghbal saeid et al. 2019). همچنین، تولید گوشت از جمله اهداف اصلی پرورش گوسفند است و از مهم‌ترین صفات مؤثر در تولید گوشت می‌توان به دو بار زایش در سال، چندقلوزایی، سرعت رشد بره اشاره کرد. از طرف دیگر، اکثرا محققان معتقدند افزایش عملکرد تولیدمثلی منجر به کاهش هزینه‌های اقتصادی تولید گوشت می‌شود که این معادله ناشی از افزایش طول مدت آبستنی میش‌های حامل بره‌های متعدد می‌باشد (Mehvari and Doosti 2017). به‌عنوان مثال، هدف اصلی از پرورش گوسفند بومی نژاد لری بختیاری در وهله اول تولید گوشت است. لذا، یکی از راه‌های افزایش سودآوری در این نژاد احتمالاً، افزایش تعداد بره در هر زایمان می‌باشد (Vatankhah and Akhoondi 2015). همچنین، گوسفند نژاد رومانوف ازجمله نژادهایی است که میزان چندقلوزایی در آن بالاست و گزارش‌شده که میزان چندقلوزایی در آن به لحاظ ژنتیکی تحت تأثیر مجموعه‌ای از جایگاه‌های ژنی قابل‌شناسایی می‌باشد. درنتیجه، سریع‌ترین و ساده‌ترین راه بهبود رشد و ترکیب لاشه در بره‌های رومانوف و همچنین افزایش میزان چندقلوزایی در بره‌های لری بختیاری تلاقی این دو نژاد باهم است (Koycegiz et al. 2009).

استراتژی آمیخته‌گری، یک روش رایج برای بهره‌برداری از تفاوت‌های ژنتیکی بین نژادهای مختلف است. در این روش، سعی می‌شود از نژادهای خالص مختلف استفاده شود که هرکدام دارای صفت مناسبی هستند؛ بنابراین، استفاده از روش دورگ‌گیری (به‌ویژه برای نژادهای با ظرفیت ژنتیکی بالا، در مدت‌زمان کوتاه و ایجاد نتیجه با توانایی و مزیت تولید والد برتر) نقش ارزنده‌ای در بهبود و ارتقاء ویژگی‌های نژادهای کم بازده دارد. بنابراین، مهم‌ترین دلایل آمیخته‌گری پرهیز از همخونی، پوشاندن اثر آلل‌های زیان‌آور و مغلوب، استفاده از قدرت هتروزیس و تکمیل نژاد یا ایجاد نژاد جدید با استفاده از تفاوت‌های بین نژادی و ترکیب نقاط قوت آن‌ها برای بهینه‌سازی برتری ژنتیکی صفات مختلف است (Vatankhah and Zakizade 2020).

استفاده از منابع ژنتیکی یکی از راه‌های مهم افزایش تولید در دام‌های مولد است که منجر به افزایش درآمد دامدار به ازای هر رأس مولد می‌شود و نگهداری گوسفند در مزرعه و سیستم نیمه‌باز را اقتصادی می‌کند (Ghita 2010). امروزه، به‌منظور انتخاب و پرورش، ژنتیک مولکولی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است؛ زیرا، استفاده از داده‌های کمی برای طراحی برنامه‌های انتخاب، به‌منظور بهبود صفات تولیدی، نه تنها زمان زیادی می‌برد، بلکه در بیشتر موارد باعث کاهش تنوع و عوامل نامطلوب مانند هموزیگوسیته آلل‌های نامطلوب می‌شود؛ اما تکنیک‌های ژنتیک مولکولی امکان کاهش عوامل نامطلوب و انتخاب دقیق‌تر و دستیابی به پاسخ سریع‌تر را ممکن می‌سازد. شناخت ژن‌های اثر بزرگ یکی از دستاوردهای علم ژنتیک مولکولی است که در فرآیند انتخاب

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

صفات موردنظر موردتوجه قرار می‌گیرد. این ژن‌ها را ژن‌های کاندید می‌نامند. طبق تعریف، اثر یک ژن اصلی زمانی گفته می‌شود که تفاوت بین عملکرد دو فرد هموزیگوت حداقل ۰/۵ انحراف معیار کل واریانس فنوتیپی باشد (Gootwine 2020).

در گوسفند، تنوع ژنتیکی در میزان تخمک‌گذاری، عمدتاً، در برخی از نژادهای مورد بررسی، نشان می‌دهد که بخش مهمی از پدیده چندقلوزایی به‌دلیل تمایز ژن‌های بزرگ مربوط به تولیدمثل و تخمک‌گذاری است. ژن‌های GDF9، BMPR-IB، BMP15 و Fecx ازجمله ژن‌های کاندیدا برای چندقلوزایی هستند، جهش‌های شناسایی‌شده در این ژن‌ها به‌طور قابل‌توجهی باعث کاهش یا افزایش سرعت تخمک‌گذاری در برخی نژادها می‌شود و یا کاملاً بی‌اثر هستند.

روش ARMS-PCR مبتنی بر استفاده از پرایمرهای PCR مختص توالی است که تنها در صورت وجود آلل با توالی نوکلئوتیدی هدف در نمونه، قطعه تکثیر خواهد شد. به دنبال انجام واکنش ARMS، وجود یا عدم وجود محصول PCR برای وجود یا عدم وجود آلل هدف تشخیصی مورد استفاده قرار می‌گیرد. در این روش از دو پرایمر استفاده می‌شود که یک پرایمر الیگونوکلئوتیدی اختصاصی آلل در انتهای ′۵ و یک پرایمر معمولی در انتهای ′۳ می‌باشد. در صورتی‌که پرایمر طراحی شده برای آلل جهش یافته تکثیر شود و باند حاصل از آن بر روی ژل الکتروفورز نمایش یابد، نشان می‌دهد که توالی هدف حاوی آلل جهش یافته است. به‌طور مشابه، اگر پرایمر طراحی شده برای آلل جهش یافته تکثیر پیدا نکند، نشان دهنده وجود توالی DNA طبیعی در آن نقطه خاص می‌باشد (Mohammadabadi et al. 2008). توالی‌یابی DNA به معنای تعیین ترتیب بازهای تشکیل دهنده مولکول DNA است. توالی‌یابی روشن می‌سازد که چه نوع اطلاعات ژنتیکی در هر بخش DNA حمل می‌شود. به‌عنوان مثال، می‌توان از اطلاعات توالی برای تعیین اینکه کدام قسمت از DNA حاوی ژن است و کدام بخش‌ها مربوط به دستورالعمل‌های نظارتی هستند و می‌توانند بر بخش‌های دیگر اثر تنظیمی بگذارند استفاده نمود (Mohammadabadi et al. 2008).

گیرنده استروژن (ER) یک فاکتور رونویسی متعلق به خانواده گیرنده‌های هسته‌ای است که به‌واسطه عملکرد هورمون استروژن در بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیکی و آسیب‌شناختی نقش دارد. دو نوع گیرنده استروژن به نام‌های *ESR1* و *ESR2* وجود دارد که در اندام‌های تولیدمثلی واقع شده‌اند. ژن *ESR2* به‌عنوان ژنی کاندیدا برای باروری بهتر و فیزیولوژی طبیعی در حیوانات اهلی می‌باشد. بنابراین، هدف از مطالعه حاضر بررسی نقش پلی‌مورفیسم ژن *ESR2* در چندقلوزایی آمیخته‌های حاصل از دو نژاد رومانوف و لری بختیاری می‌باشد.

مواد و روش‌ها

ماده‌ی آزمایشی و حیوانات مورداستفاده

در این پژوهش، از مجموع ۱۱٤ رأس آمیخته نسل اول میش لری بختیاری × قوچ نژاد گوسفند رومانوف که در دانشگاه شهید باهنر کرمان (آزمایشگاه اصلاح و ژنتیک) موردبررسی قرارگرفته‌اند، از طریق سیاهرگ وداجی خون‌گیری به‌عمل آمد. شکل ۱ نشان دهنده فنوتیپ دو رگ‌های مربوط به نسل اول تلاقی گوسفندان لری بختیاری و رومانوف است.



شکل ۱- دو رگ‌های مربوط به نسل اول تلاقی گوسفندان نژاد لری بختیاری و نژاد رومانوف

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

استخراج، تعیین کمیت و کیفیت DNA

برای تهیه‌ی نمونه‌ها مقدار ۱۰-۵ سی‌سی خون با استفاده از لوله‌های خلأ، حاوی ماده ضد انعقاد اتیلن دی آمین ترا استیک اسید (EDTA)، از محل سیاهرگ وداجی گرفته شد. نمونه‌های خون تا زمان استخراج DNA در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. استخراج DNA از نمونه‌های خون به روش بافر نمکی با تغییرات جزئی صورت گرفت. سپس، کمیت DNA استخراج‌شده به‌وسیله دستگاه نانودراپ که روش کار آن مبتنی بر جذب طول‌موج نور در محدوده معین (اسپکتوفتومتری) از غلظت مختلف مواد است، سنجیده شد و جهت تعیین کیفیت DNA استخراج‌شده از ژل الکتروفورز آگارز یک درصد استفاده شد.

روش تلفیقی ARMS-PCR و PCR-Sequencing

در این تحقیق از روش Touchdown به‌عنوان روشی برای افزایش اختصاصیت واکنش‌های PCR است استفاده شد. در این روش از یک برنامه چرخشی که در آن دمای اتصال به‌تدریج کاهش می‌یابد (مثلاً ۱-۲ درجه سانتی‌گراد در هر سیکل) استفاده می‌شود. دمای اتصال اولیه باید چندین درجه بالاتر از Tm تخمینی آغازگرها باشد. سپس دمای محل اتصال به‌تدریج کاهش می‌یابد تا زمانی‌که به دمای آستانه محاسبه‌شده آغازگرها یا درجه‌ای پایین‌تر برسد.

چرخه‌های دمایی واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز ARMS به روش Tochdown: واسرشت‌سازی اولیه DNA به مدت ۸ دقیقه در دمای ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد (یک‌بار در کل واکنش)، واسرشت‌سازی ثانویه به مدت ۵۰ ثانیه در دمای ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد، اتصال آغازگرها به مدت ۵۰ ثانیه در بازه‌ی ٦٢ تا ۵۰ درجه‌ی سانتی‌گراد (۰/۵ درجه کاهش دما به ازا هر سیکل) و بسط رشته‌ها به مدت ۵۰ ثانیه در ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به تعداد ٣٤ چرخه، بسط نهایی به مدت ۸ دقیقه در دمای ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد بود. جهت تعیین در این تحقیق با توجه به محل استقرار جهش در ژن *ESR2* (rs423810437) که در کروموزوم شماره ۷ گوسفند مستقر است توالی نوکلئوتیدی قطعه موردنظر از سایت Esemebl استخراج (NM_001009461) و آغازگرهای مناسب با استفاده از نرم‌افزارهای طراحی آغازگر primer3 و Oligo و DNAsis طراحی شد. برای اولین بار، دو جفت آغازگر اختصاصی برای تکثیر دو ناحیه با همپوشانی زیاد طراحی شد. واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز در حجم ۲۵ میکرولیتر بر اساس ۱۰۰ نانوگرم DNA ژنومی، مستر میکس شرکت پارستوس، آب فاقد ریبونوکلئاز، ۰/۹ میکرومولار از هر یک از آغازگرهای رفت‌وبرگشت (جدول ۱) و به روش شیب حرارتی نزولی Tochdown انجام شد.

جدول ۱- خصوصیات آغازگرهای مورد استفاده در واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز

ژن	توالی آغازگرها	طول قطعه (جفت باز)	دمای اتصال (TM)
ESR2	Fwd: 5' TCCACAGGGTGCATCTTGCCA 3' 'Rev: 5' GCGNCTCCAGATCGCAGGGGT 3	۵۰۰	61.1
ESR2	Fwd: 5' CCATATGCCCCTTTGGTCTTCATG 3' 'Rev: 5' TCGGGAGGTGGAGGGTGAAGG 3	۳۰۰	58.2

کیفیت محصول واکنش پلی‌مراز و سنجش تکثیر صحیح توالی موردنظر، از روش ژل الکتروفورز آگارز ۲ درصد و رنگ‌آمیزی با اتیدیوم بروماید به‌همراه نشانگر ۱۰۰ جفت‌بازی شرکت SMOBio استفاده شد. نمونه‌های محصولات نهایی حاصل از تکثیر قطعه بزرگ‌تر در PCR برای توالی‌یابی به روش سانگر (روش توالی‌یابی خاتمه‌ی زنجیره) به شرکت بیومجیک ژن واقع در استان البرز، شهر کرج ارسال شدند. نتایج توالی‌یابی با استفاده از نرم‌افزار MAFFT هم‌ردیف و حضور جهش مجدد بررسی شد. آلل جهش‌یافته با C و آلل وحشی با T نمایش داده شد.

نتایج و بحث

تلفیق PCR-RFLP و PCR-Sequencing

در این تحقیق از ١١٤ رأس بره دو رگ لری بختیاری × رومانوف خون‌گرفته و به آزمایشگاه ارسال شد، اما به دلیل مشکلاتی از جمله

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

لخته شدن خون، ۱۹ نمونه از بین رفت و ۹۵ نمونه DNA استخراج و برای تعیین توالی ارسال شد.

پس از استخراج DNA، کمیت و کیفیت نمونه‌های استخراج‌شده بررسی شد. DNA استخراج‌شده در طول‌موج‌های ۲۳۰، ۲٦۰ و ۲۸۰ نانومتر خوانده شدند و نتایج نشان‌دهنده DNA هایی با غلظت مناسب و بدون آلودگی (پروتئین، الکل، فنل، کربوهیدرات و ...) بود. همچنین، نتایج الکتروفورز روی ژل آگارز ۲٪ نشان داد که کیفیت DNA استخراج‌شده قابل قبول است (شکل ۲الف).

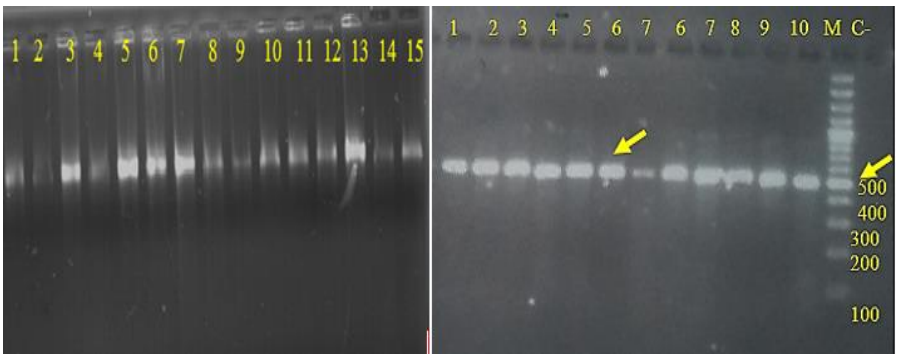
برای تائید تکثیر قطعه ۵۰۰ جفت‌بازی *ESR2* موردنظر، محصولات PCR با استفاده از الکتروفورز ژل آگارز مورد ارزیابی قرار گرفتند (شکل ۲ب). وجود تنها یک باند ۵۰۰ جفت باز نشان‌دهنده تکثیر صحیح قطعه هدف و دقت PCR بود. همچنین، نتایج توالی یابی با استفاده از نرم‌افزارهای Finch TV و Mega 5 آنالیز شدند و نتایج تأییدکننده صحت وجود جهش‌های موجود در ناحیه تعیین‌شده بودند. بدین‌صورت که در تعیین توالی رشته رفت در نرم‌افزار Finch TV تمامی پیک‌ها کاملاً مشخص بوده و انواع پایه‌ها به‌درستی تشخیص داده‌شده‌اند. (شکل ۳). از نرم‌افزار MEGA5 برای خواندن توالی فایل‌های abi و تراز کردن توالی‌های نوکلئوتیدی DNA جهت مقایسه اطلاعات اولیه استفاده شد. همان‌طور که در شکل ٤ مشاهده می‌کنید، پس از تراز کردن توالی‌های به‌دست‌آمده، جهش‌ها در ناحیه تعیین‌شده مشخص شد. پس از مشخص شدن واریانت موردنظر، با توجه به در دسترس بودن تعداد حیوانات دارای واریانت در جمعیت مورد مطالعه و تعداد کل جمعیت، فراوانی آللی به روش مستقیم محاسبه شد.

از ARMS-PCR با کمک آغازگرهای مقاوم برای شناسایی مجدد جهش نقطه‌ای تائید شده توسط توالی یابی استفاده شد. در الکتروفورز روی ژل آگارز، وجود یک باند ۵۰۰ جفت‌باز نشان‌دهنده وجود قطعه هدف و یک باند ۳۰۰ جفت‌باز نشان‌دهنده وجود جهش موردنظر بود (شکل ۵).

پس از مشخص شدن نوع ژنوتیپ‌ها در نتایج ARMS و نوع آلل‌ها در نتایج توالی‌یابی، فراوانی‌های ژنوتیپی و آللی با استفاده از نرم‌افزار R در پکیج popppr محاسبه شدند (شکل ٦).

پس از مشخص شدن مدل آماری موردنیاز، ارتباط بین چندقلوزایی و ژنوتیپ و سن مورد تجزیه‌وتحلیل قرار گرفت. نتایج نشان داد ارتباط معنی‌داری بین چندقلوزایی و ژنوتیپ وجود داشت (P<۰/۰۰۱)، همچنین، ارتباط معنی‌داری بین چندقلوزایی و سن مشاهده نشد. با توجه به اینکه، ارتباط بین چندقلوزایی و ژنوتیپ معنی‌دار (P<۰/۰۰۱) و چندقلوزایی بیشتر در ژنوتیپ TC مشاهده‌شده بود؛ اثر جایگزینی افزایشی آللی در ژنوتیپ به روش مقایسه حداقل میانگین مربعات مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که اثر جایگزینی افزایشی آللی آلل C به‌جای آلل T برابر (۰/۰۷۷۱) ۰/۹۰٤ است (P<۰/۰۰۱).

عملکردهای بیولوژیکی و فیزیولوژیکی استروژن‌ها با اتصال به گیرنده‌های همتای معروف به گیرنده‌های استروژن (ER) انجام می‌شود. دو گیرنده اصلی گیرنده استروژن ۱ (*ESR1*/ERα/ER1) و گیرنده استروژن ۲ (*ESR2*/ERβ/ER2) هستند که به ابر خانواده گیرنده‌های هسته‌ای تعلق دارند (Chen et al. 2019). دو گیرنده استروژن، *ESR1* و *ESR2* در اندام‌های تولیدمثل قرار دارند (Jefferson et al. 2000). پروموتر *ESR1* می‌تواند تولیدمثل فردی را تنظیم کند و در کارایی تخمک‌گذاری، از جمله رشد اندام‌های تولیدمثل و بلوغ سلول‌های فرج نقش دارد.

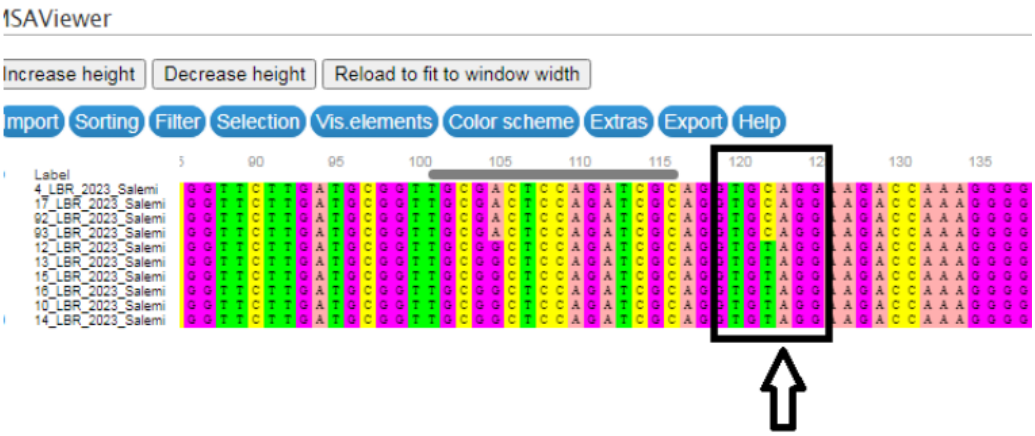


شکل ۲- تعیین کیفیت DNA استخراج‌شده (الف) و الکتروفورز محصولات ژن *ESR2* (ب) روی ژل آگارز

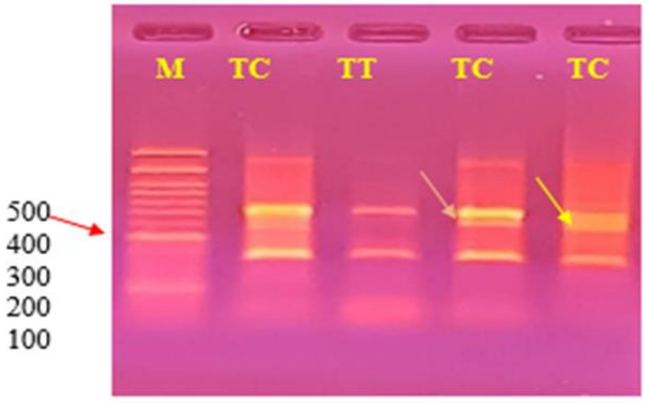
[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]



شکل ۳- نتایج مربوط به تعیین توالی رشته رفت با نرم‌افزار FINCH TV

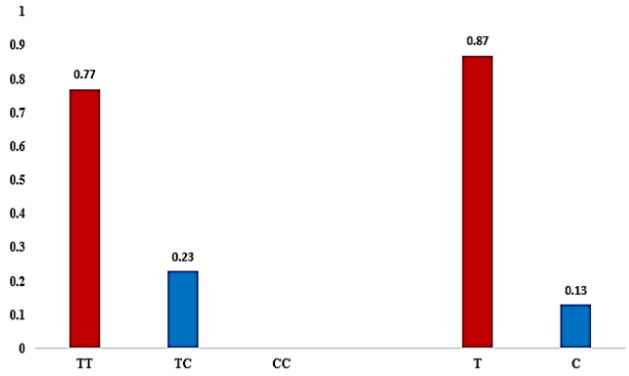


شکل ٤- نتایج مربوط به تعیین توالی رشته رفت با نرم‌افزار MEGA5



شکل ۵- الکتروفورز محصولات ARMS-PCR ژن *ESR2*

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]



شکل ٦- فراوانی ژنوتیپی و آللی ژن *ESR2*

درواقع، استروژن‌ها متعلق به خانواده استروئیدهای غدد جنسی هستند و کلسترول‌ها در تخمدان‌ها، سلول‌های گرانولوزا و اجسام زرد سنتز می‌شوند. بااین‌حال، آن‌ها همچنین در سایر اندام‌ها و بافت‌های غیر گنادی، از جمله قلب، پوست، مغز، بافت و غدد فوق کلیوی تولید می‌شوند (Cui et al. 2013; Knapczyk et al. 2008). در دستگاه تناسلی، استروژن‌ها تخمک‌گذاری، رفتار فحلی، تکثیر رحم، تولید زرده، مواد غددی آندومتر، گنادوتروپین‌ها، رشد دستگاه تناسلی ماده و نر و ویژگی‌های جنسی ثانویه را تنظیم می‌کنند (Safaei et al. 2024; Mohammadabadi 2020; Fuente and Silveyra 2019).

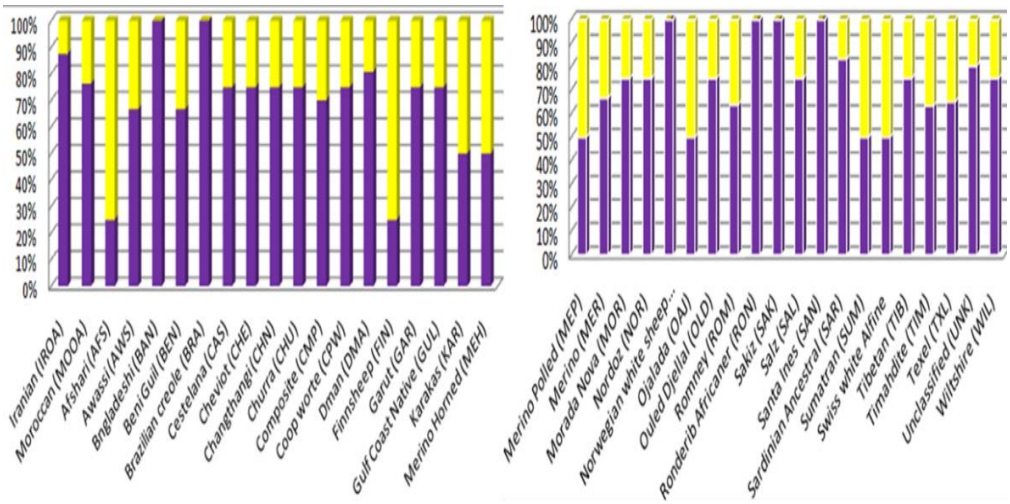
در گوسفند رومانوف، ژن *ESR2* تخمک‌گذاری را فعال می‌کند و بلوغ فولیکول قبل از تخمک‌گذاری را از طریق دوباره تنظیم می‌کند (Karim Rumi et al. 2017; Laliotis et al. 2017). در مطالعات Xu et al (2018) در گوسفند رومانوف، آن‌ها ۷۷ و ۲ پلی‌مورفیسم را در کروموزوم و کل ژنوم شناسایی کردند. پلی‌مورفیسم مهم در کروموزوم ۷ در ژن *ESR2* بود. برای این چندشکلی، تعداد بره در یک زایش میش‌های با ژنوتیپ A/A به‌طور معنی‌داری بیشتر از میش‌های با ژنوتیپ A/G بود (Xu et al. 2018).

در ایتالیا و پرتغال مطالعاتی بر روی تلاقی نژاد رومانوف با نژادهای آلتامورا و مرینو برانکو به‌منظور بهبود عملکرد تولید و تولید انجام شد که نتایج آن حاکی از افزایش چندقلوزایی و برتری در شیردوشی در دورگ‌های نسل اول بود (Freking and Leymaster 2004). در مطالعه‌ای Kenyon et al (2019) اظهار داشتند که میش‌های چندقلوزا و بره‌های آن‌ها پتانسیل بهبود بهره‌وری گله را دارند، اما فقدان اطلاعات قوی در مورد تغذیه و مدیریت بهینه عملکرد آن‌ها را محدود می‌کند. این رابطه در مورد ترکیبات ژنتیکی در اکثر مناطق کشور ما به‌خوبی دیده می‌شود. به‌طوری‌که میش رومانوف با پتانسیل بالا برای چندقلوزایی به‌دلیل نداشتن شرایط محیطی و مدیریتی مناسب، چندقلوزایی در برخی گله‌ها به‌خوبی ظاهر نشد. این محققان اثرات مکان‌یابی، پیاده‌روی، جابجایی، جیره غذایی مناسب در دوران بارداری و شیردهی را ایجاد می‌کنند که از نظر تعداد بره به ازای هر میش، عوامل مؤثر در بهبود بهره‌وری گله هستند (Notter et al. (2018 باروری میش‌ها را برای افزایش کارایی بیولوژیکی و سودمندی گوسفند افزایش داد. آن‌ها بیان می‌کنند که نژادها و ژن‌های بارور با اثرات عمده بر میزان تخمک‌گذاری می‌توانند باروری را تا سطحی که در سیستم‌های پرورش مرتع مطلوب یا پایدار است افزایش دهند.

تعداد زایش بره در یک شکم یک صفت محدود به جنس و فقط صفات آستانه با وراثت‌پذیری کم است که می‌تواند اثر تقسیمات زیاد در جمعیت‌ها باشد. ژن *ESR2* یکی از ژن‌های تأثیرگذار بزرگ است که مهم‌ترین نقش آن رشد و عملکرد دستگاه تناسلی افراد مؤنث است. همچنین این ژن کاندیدای نشانگرهای تولیدمثلی و صفات عملکردی در حیوانات اهلی است (Mohammadabadi 2022). در مطالعه حاضر، پلی‌مورفیسم ژن *ESR2* در نژادهای نسل اول میش لری بختیاری و قوچ رومانوف بومی‌سازی شد که قبلاً با یک مطالعه GWAS ارتباط آن‌ها با صفت چندقلوزایی در رومانوف ثابت‌شده بود (Xu et al. 2018). همچنین با توجه به اینکه برخلاف روش اسنیپ تراشه که فراوانی ژنوتیپی را به‌دست می‌آورد، فراوانی آللی و ارتباط آن با رکورد تولد میش‌ها مشخص‌شده است.

در نتایج این مطالعه، با مطالعات قبلی در همان منطقه با سایر نژادها، همان‌طور که در شکل ۷ نشان داده شده است، نتایج این مطالعه با اکثر نژادهای دیگر مانند MOOA، CAS، CHE و CHNCHU مطابقت داشت و در برخی از آن‌ها مواردی مانند نژادهای AFS و FIN همچنین در نژادهایی مانندBAN ، BRA، RON و SAN پلی‌مورفیسم مشاهده نشد و تنها آلل T در جمعیت ایجاد شد.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]



شکل ۷- مقایسه نتایج مطالعه حاضر با مطالعات پیشین برای ژن مورد مطالعه

در مطالعه حاضر شناسایی واریانت‌های ژن گیرنده استروژن و ارتباط آن با صفت چندقلوزایی در آمیخته‌های نسل اول حاصل از میش‌های لری بختیاری و قوچ‌های رومانوف، با هدف شناسایی و رمزگشایی مکانیزم دوقلوزایی در دو رگه‌های رومانوف و لری بختیاری موردمطالعه قرار گرفت. در قدم اول، پس از مشخص شدن واریانت موردنظر به‌وسیله مطالعات پویش ژنوم، فراوانی آللی به روش مستقیم محاسبه شد. فراوانی آلل‌های SNP موقعیت ۱۲۲ جایگاه ژن *ESR2* برحسب درصد برای آلل T و C به‌ترتیب ۸۷/۲۲ و ۱۲/۷۷ بود. در قدم دوم، پس از طراحی آغازگرهای مناسب ARMES-PCR (برای تشخیص جهش بدون نیاز به انجام تکنیک PCR-sequencing و محاسبه فراوانی‌های ژنوتیپ) ژنوتیپ‌های TTو TC به ترتیب برابر ۰/۷٤ و ۰/۲٦ بودند، ارتباط بین ژنوتیپ و برخی رکودها ازجمله سن در زمان زایش و چندقلوزایی بررسی شد. ارتباط بین سن در زمان زایش و چندقلوزایی معنی‌دار نبود؛ اما ارتباط معنی‌داری بین چندقلوزایی و ژنوتیپ وجود داشت (P<۰/۰۰۱) به‌طوری‌که اثر جایگزینی افزایشی آللی آلل C به‌جای آلل T برابر (۰/۰۷۷۱) ۰/۹۰٤ و بر افزایش چندقلوزایی مؤثر بود (P<۰/۰۰۱).

نتایج مطالعه حاضر بیانگر اثرات مثبت چندشکلی گیرنده استروژن ۲ بر افزایش چندقلوزایی در آمیخته‌های نسل اول حاصل از میش‌های لری بختیاری و قوچ‌های رومانوف بود و به‌عنوان نتیجه‌گیری نهایی، استفاده از این نشانگر در پیش انتخاب قوچ رومانوف که حامل آلل CC مرتبط با چندقلوزایی باشد یکی از عواملی است که می‌تواند دامداران را برای افزایش درآمد ناشی از تعداد بره به ازای هر زایش کمک کند.

از محدودیت‌های این پژوهش می‌توان به تعداد کم نمونه‌های مطالعه شده در هر دو نژاد اشاره کرد. چرا که در صفات تولیدمثلی با وراثت پذیری پایین و در مطالعه جهش‌های از نوع دو اللی تعداد نمونه باید بالا باشد تا اعتبارسنجی نتایج حاصل شود. از محدودیت‌های دیگر مطالعه انجام شده، نقص در رکوردبرداری دقیق و فقدان ثبت اثرات ثابت به‌طور کامل می‌باشد. یکی دیگر از محدویت‌های تحمیل شده بر جمع‌آوری نمونه‌ها این بود که اکثر میش‌ها در گوسفندداری‌ها هورمون‌تراپی می‌شدند، در حالی که در این مطالعه بایستس از میش‌هایی نمونه‌برداری می‌شد که سابقه هورمون‌تراپی حداقل برای دو دوره جنسی قبلی نداشته باشند. نبود بودجه کافی نیز منجر به توالی‌یابی در فرمت فقط " Forward sequencing" شد. در حالی‌که توالی‌یابی رفت و برگشتی می‌توانست به دقت نتایج توالی‌یابی بیافزاید. لذا، توصیه می‌شود که در پژوهش‌های آتی این محدودیت‌ها برطرف شود.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

منابع

Amiri Roudbar M, Abdollahi-Arpanahi R, Ayatollahi Mehrgardi A, Mohammadabadi M, Taheri Yeganeh A, Rosa G (2018) Estimation of the variance due to parent-of-origin effects for productive and reproductive traits in Lori-Bakhtiari sheep. Small Ruminant Research 160:95-102.

Chen C, Gong X, Yang X, Shang X, Du Q, Liao Q, Xie R, Chen Y, Jingyu X (2019) The roles of estrogen and estrogen receptors in gastrointestinal. disease Oncology Letters 18:5673-5680.

Cui J, Shen Y, Li R (2013) Estrogen synthesis and signaling pathways during aging: From periphery to brain. Trends in Molecular Medicine 19:197-209.

Eghbalsaeid Sh, Toghyani M, Ghaedi K, Nasr-esfahani MH (2019) Investigating the major genes affecting ovulation and multiple pregnancy in sheep. Genetics in the 3rd millennium (4):2169-2189. (In Farsi).

Freking B, Leymaster K (2004) Evaluation of Dorset, Finnsheep, Romanov, Texel, and Montadale breeds of sheep: IV. Survival, growth, and carcass traits of F1 lambs. Journal of Animal Science 82:3144-3153.

Fuentes N, Silveyra P (2019) Estrogen receptor signaling mechanisms. Advances in Protein Chemistry and Structural Biology 116:135-170.

Ghita E, Lazar C, Pelmus R, Voicu I (2010) Comparative research on the fattening aptitudes of the growing lambs of local Romanian breeds. Biotechnology in Animal Husbandry 26:13-20.

Gootwine E (2020) Invited review: Opportunities for genetic improvement toward higher prolificacy in sheep. Small Ruminant Research 186:106090.

Jefferson W, Couse J, Banks E, Korach K, Newbold R (2000) Expression of estrogen receptor β is developmentally regulated in reproductive tissues of male and female mice. Biology of Reproduction 62:310-317.

Karim Rumi M, Singh P, Roby K, Zhao X, Iqbal K, Ratri A, Lei T, Cui W, Borosha S, Dhakal P, Kubota K, Chakraborty D, Vivian J, Wolfe M, Soares M (2017) Defining the role of estrogen receptor b in the regulation of female fertility. Endocrinology 158:2330-2343.

Kenyon P, Roca Fraga F, Blumer S, Thompson A (2019) Triplet lambs and their dams–a review of current knowledge and management systems. New Zealand Journal of Agricultural Research 62: 399-437.

Khaltabadi Farahani A, Mohammadi H, Moradi MH (2020) Gene set enrichment analysis using genome-wide association study to identify genes and pathways associated with litter size in various sheep breeds. Animal Production 22:325-335. (In Farsi).

Knapczyk K, Duda M, Durlej M, Galas J, Koziorowski M, Slomczynska M (2008) Expression of estrogen receptor α (ERα) and estrogen receptor β (ERβ) in the ovarian follicles and corpora lutea of pregnant swine. Domestic Animal Endocrinology 35:170-179.

Koycegiz F, Emsen E, Diaz C, Kutluca M (2009) Effects of lambing season, lamb breed and ewe parity on production traits of fat-tailed sheep and their lambs. Journal of Animal and Veterinary Advances 8:195-198.

Laliotis GP, Marantidis A, Avdi M (2017) Association of BF, RBP4, and *ESR2* Genotypes with Litter Size in an Autochthonous Pig Population. Animal Biotechnology 28:138-143.

Mahvari P, Doosti A (2017) Effect of BMP15 gene polymorphism on growth and reproduction traits in Lori-Bakhtiari sheep. Animal Production 19:521-532.

Masoudzadeh S, Mohammadabadi M, Khezri A, Stavetska R, Oleshko V, Babenko O, Yemets Z, Kalashnik O (2020) Effects of diets with different levels of fennel (Foeniculum vulgare) seed powder on DLK1 gene expression in brain, adipose tissue, femur muscle and rumen of Kermani lambs. Small Ruminant Research 193:106276.

Mohammadabadi M (2020) Tissue-specific mRNA expression profile of *ESR2* gene in goat. Agricultural Biotechnology Journal 12:169-184.

Mohammadabadi M, Shaban Jorjandy D, Arabpoor Raghabadi Z, Abareghi F, Sasan H. A, Bordbar F (2022) The role of fennel on DLK1 gene expression in sheep heart tissue. Agricultural Biotechnology Journal 14:155-170.

Mohammadabadi MR (2020) Expression of ESR1 gene in Raini Cashmere goat using Real Time PCR. Agricultural Biotechnology Journal 12:177-192.

Mohammadabadi MR, Baghizadeh A, Hosseini F, Esmailizadeh A (2008) Molecular biology technologies. Farhang Publication, Kerman, Iran, pp.403.

Notter D, Mousel M, Leeds T, Lewis G, Taylor J (2018) Effects of rearing triplet lambs on ewe productivity, lamb survival and performance, and future ewe performance. Journal of Animal Science 96:4944-4958.

Safaei SMH, Mohammadabadi M, Moradi B, Kalashnyk O, Klopenko N, Babenko O, Borshch OO, Afanasenko V (2024). Role of fennel (foeniculum vulgare) seed powder in increasing testosterone and IGF1 gene expression in the testis of lamb. Gene Expression 23:98-105.

vatankhah Mahmoud, Akhundi Ali (2015) The comparison of economic values and relative emphasis of some traits in Lori-Bakhtiari sheep resulted from different ways. Animal Sciences 28:71-82. (in Farsi).

vatankhah Mohammad, Zakizadeh Sonia (2020) A review of crossbreeding in Iranian sheep. Animal Sciences 33:165-176. (in Farsi).

Xu S, Gao L, Xie X, Ren Y, Shen Z, Wang F, Shen M, Eypórsdóttir E, Hallsson J, Kiseleva T, Kantanen J, Li M (2018) Genome-wide association analyses highlight the potential for different genetic mechanisms for litter size among sheep breeds. Frontiers in Genetics 9:118.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]