**مجله تحقیقات دام و طیور**
**جلد چهارم/ شماره چهارم/ زمستان ۱۳۹۴ (۴۵-۳۹)**

# چندشکلی ژن کالپاستاتین (CAST) و بررسی ارتباط آن با وزن تولد و کرک در بزهای راینی کرمان

**عباس شیبک*[۱] نیما یساری[۲] و محمّد باقر منتظر تربتی[۳]**

۱- کارشناس آزمایشگاه بیوتکنولوژی دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند ۲- دانش آموخته ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد کاشمر
۳- استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند
*نویسنده مسؤول: a.shibak@yahoo.com

**تاریخ دریافت:۹۴/۰۲/۲۰** **تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۴/۰۷**

**چکیده**

هدف از این پژوهش مطالعه چندشکلی ژن کالپاستاتین (CAST) و بررسی ارتباط آن با صفات وزن تولد و وزن کرک در بزهای راینی کرمان بود. بدین منظور از ۱۰۸ رأس بز راینی استان کرمان به طور تصادفی خونگیری انجام گرفت. DNA با روش نمکی بهینه یافته استخراج شد و قطعه‌ای به طول ۲۴۷ جفت باز از اگزون شماره ۶ این ژن با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR) تکثیر شد. تفاوت فرم فضایی رشته‌های منفرد (SSCP) با استفاده از ژل آکریل آمید و رنگ آمیزی نیترات نقره به دست آمد. در نمونه مورد مطالعه برای ژن CAST سه الگوی AA، AB و CC به ترتیب با فراوانی‌های ۰/۴۲۶ و ۰/۲۸ و ۰/۲۹۶ مشاهده شد. جمعیت مورد نظر برای این ژن در تعادل هاردی - وینبرگ قرار نداشت. وزن تولد و سال بر صفت کرک اثر معنی دار نداشتند اما اثر ژنوتیپ بر وزن تولد معنی‌دار بود ($P < ۰/۰۵$). نتایج نشان داد که آلل C نسبت به آلل های A و B دارای اثر معنی داری بر وزن تولد بود؛ و از این رو می‌تواند به عنوان یک نشانگر مولکولی در انتخاب به کمک نشانگر (MAS) در نظر گرفته شود.

**کلمات کلیدی:** چندشکلی، ژن کالپاستاتین، وزن تولد، کرک، بز راینی کرمان

نگارنده پاسخگو: عباس شیبک. آدرس: بیرجند، دانشگاه بیرجند، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، گروه علوم دامی

**مقدمه**

کشور ایران با توجه به محدودیت منابع غذایی دام، امکان افزایش تعداد دام را در خود ندارد و از این رو جهت افزایش کیفیت و کمیت تولیدات دامی و خودکفایی، علم ژنتیک و اصلاح نژاد برای بالا بردن راندمان در هر واحد تولیدی، نقش مهمی را بر عهده خواهد داشت. روش‌های اصلاحی معمول در حیوانات مبتنی بر معیارهای فنوتیپی می‌باشد که با توجه به اطلاعات دقیق از ژنتیک مندلی، ژنتیک جمعیت و ژنتیک کمی همراه با روش‌های پیچیده تجزیه و تحلیل آماری گسترش یافته‌اند. این روش‌ها هر چند در ایجاد پیشرفت ژنتیکی برای صفات گوناگون موفق بوده‌اند، اما معایبی را در دراز مدت به دنبال دارند که از آن جمله می‌توان کاهش تنوع ژنتیکی، تثبیت آلل‌های معیوب و همچنین افزایش همخونی را نام برد. انتخاب براساس اطلاعات ژنتیکی حیوان، این خطرات را کاهش می‌دهد و سبب شده است که در چند دهه اخیر، علاقه قابل ملاحظه‌ای جهت کاربرد تکنیک‌های ژنتیک مولکولی در سطح نشانگرهای مهم DNA، به وجود آید. استفاده از این نشانگرها برای ارتقاء بیشتر سهولت و کارآمدی انتخاب و اصلاح‌نژاد حیوانات مزرعه‌ای در صفات قابل توارث نرخ رشد، وزن بدن، ویژگی لاشه، مقدار خوراک مصرفی و همچنین تولید شیر و ترکیبات آن، پیشرفت چشمگیری داشته و باعث افزایش دقت و سرعت در تعیین ارزش‌های اصلاحی دام شده است (لاند و تامپسون، ۱۹۹۰).

از آن جا که گوشت گوسفند و بز یکی از مهم ترین منابع تامین پروتئین برای بشر است، باید تحقیقات گسترده‌ای در زمینه کمیت و کیفیت گوشت این حیوانات، انجام گیرد. از چند دهه گذشته تحقیقاتی درباره سازوکارهای بهبود کیفیت گوشت و به ویژه در مورد دام‌های گوناگون و نژادهای مختلف انجام شده است. از نظر مصرف کنندگان، تردی گوشت یکی از مهم-ترین خصوصیات کیفیت گوشت است (مورگان و همکاران، ۱۹۹۱).

کوهمرایی و همکاران (۱۹۸۷) مهم‌ترین عامل در تنوع تردی گوشت را تفاوت در میزان و مقدار تجزیه پروتئین‌های فیبرهای عضلانی اصلی پس از کشتار دام می‌دانند. نتایج این مطالعات نشان می‌دهد که از بین تمام سامانه‌های پروتئولیز کننده داخلی ماهیچه اسکلتی، فقط سامانه آنزیمی کالپاین[1] در تردی گوشت دخالت دارد.

سیستم کالپاین متشکل از سه مولکول، $ca^{2+}$-کالپاین (m و μ) و کالپاستاتین است که در بسیاری از فرایندهای پاتوبیولوژیکی و فیزیولوژیکی درگیر می‌باشد (گل و همکاران، ۲۰۰۳). به نظر می‌رسد در عضله، سیستم کالپاین‌ها درگیر تجزیه میوفیبریل هستند و اعتقاد بر این است که این سیستم در تردی گوشت پس از کشتار از طریق تجزیه میوفیبریل‌ها و پروتئین‌های وابسته به آن نقش دارد (کوهمرایی، ۱۹۹۲؛ کهمرایی، ۱۹۹۶). کالپاستاتین، که یک ممانعت کننده‌ی ویژه کالپاین‌ها است که از فعالیت کالپاین پس از مرگ بافت، ممانعت می‌کند و نرخ و توسعه ترد شدن بافت را بعد از مرگ، تنظیم می‌نماید (زائو و همکاران، ۲۰۰۷). از طرفی در زمان حیات بافت، افزایش فعالیت کالپاستاتین موجب کاهش فعالیت کالپاین می‌شود که باعث افزایش نرخ رشد ماهیچه اسکلتی می‌گردد (گل و همکاران، ۱۹۹۲). نتایج تحقیقات، نشان می‌دهد که انتخاب حیوانات دارای فعالیت کالپاستاتین کمتر، می‌تواند منجر به افزایش تردی گوشت گردد (ویپل و همکاران، ۱۹۹۰؛ شاکلفورد و همکاران، ۱۹۹۴).

ژن CAST در گاو، در فاصله ۱۱۷/۸ سانتی مورگانی کروموزوم BTA7 نقشه‌یابی شده (بیشاپ و همکاران، ۱۹۹۳) و ارتباط‌های زیادی میان تنوع ژن CAST با صفات کیفیت گوشت و لاشه در گاو (کاساس و همکاران، ۲۰۰۶؛ اسچنکل و همکاران، ۲۰۰۶) و خوک (سیوبانو و همکاران، ۲۰۰۴) گزارش شده است. همچنین مطالعات متعددی در مورد ارتباط ژن کالپاستاتین با صفت وزن بدن و افزایش وزن روزانه در گوسفند (پالمر و همکاران، ۱۹۹۹؛ طهمورث‌پور و همکاران، ۲۰۰۵) گزارش شده است. بنابراین ژن CAST، تبدیل به یک ژن کاندیدای عالی برای کنترل صفات گوشت در دام‌های مزرعه شده است.

پیشرفت چشمگیر ژنتیک مولکولی در چند دهه اخیر، شناسایی مکان، ساختار و وظیفه ژن‌هایی که ممکن است بر روی صفاتی خاص دارای اثرات بزرگ باشند را تسهیل نموده است. یکی از شیوه‌های شناسایی این ژن‌ها، بررسی چندشکلی DNA در سطح ژن‌های کاندید مهم بر صفت و تاثیرگذار بر فنوتیپ است. شرکت کردن محصولات این ژن‌ها در فرایندهای فیزیولوژیکی منجر به بیان صفت می‌شود در حالیکه اشکال مختلف چندشکلی یک ژن با تنوع صفت در ارتباط است. از این رو کاربرد این روش در انتخاب به کمک نشانگر، به منظور انتخاب افراد برتر برای صفاتی خاص و پیشرفت ژنتیکی، حائز اهمیت است (گریگولا-کانیا، ۲۰۱۲).

1. Calpain

تنوع ژنتیکی ژن کالپاستاتین در بسیاری از گونه مطالعه شده اما در بز تحقیقات اندکی گزارش شده است. کشور ایران از لحاظ آب و هوا و وجود مراتع تنک مستعد پروش این نوع دام است. بز راینی کرمان وزن متوسط دارد و با شرایط استان کرمان به خوبی تطابق یافته و پرورش داده می‌شود. این نژاد به واسطه تولید کرک مرغوب و کیفیت بالا از ارزش اقتصادی بالایی در بازارهای جهانی برخوردار است. از طرفی کم‌تر با روش‌های ملکولی مورد تحقیق قرار گرفته است و از نظر ژن کالپاستاتین نیز تا کنون بررسی و مطالعه‌ای روی این نژاد انجام نشده است. بنابراین هدف از این مطالعه تعیین چندشکلی ژن کالپاستاتین (CAST) و بررسی ارتباط آن با صفت وزن تولد و وزن کرک در بزهای راینی کرمان بود.

## مواد و روش

### جمعیت مورد مطالعه

در پژوهش حاضر، به طور تصادفی از ۱۰۸ راس بزهای راینی کرمان واقع در ایستگاه بز کرکی شهرستان بافت، توسط ونژکت‌های حاوی EDTA خون‌گیری به عمل آمد و تا زمان استخراج DNA در دمای ۲۰ - درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

### استخراج DNA

استخراج DNA با استفاده از روش نمکی بهینه یافته[1] انجام شد (ایرانپور و اسماعیل‌زاده، ۲۰۱۰). برای ارزیابی کمیّت و کیفیّت DNA نمونه‌های استخراج شده، از روش مبتنی بر اسپکتوفتومتری استفاده شد. نمونه‌های DNA برای انجام واکنش PCR به غلظت ۱۵۰-۱۰۰ ng/µl رسانیده و در ۲۰- نگهداری شدند.

### تکثیر ژن CAST

برای تکثیر قطعه ۲۴۷ جفت بازی اگزون شماره ۶ این ژن، از واکنش زنجیره‌ای پلی مراز (PCR) استفاده گردید و توالی هر یک از آغازگرهای اختصاصی که توسط نرم افزار Primer 3 طراحی و استفاده شد در ذیل آورده شده است:

CAST F: 5'- GGA GCA GCA CTT CTG ATC ACC GGT -3'
CAST R: 5'- TGG GGC CCA ATG ACG CCA TCG ATG -3'

واکنش PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر ($Mgcl_2$، ۲ میلی مولار، dNTPs ۰/۴ میلی مولار، هر یک از آغازگرهای رفت و برگشت ۰/۴ پیکومول، ۱/۵ واحد از Taq DNA پلیمراز، PCR Buffer 10X ۲/۵ میکرولیتر، ۱ میکرولیتر DNA با غلظت ng/µl ۱۵۰-۱۰۰) و با برنامه‌ی حرارتی ۹۴ درجه سانتی‌گراد جهت واسرشت سازی اولیه‌ی DNA به مدت ۶۰ ثانیه، واسرشت سازی ثانویه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد جهت اتصال آغازگرها به مدت ۳۰ ثانیه، دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد جهت بسط آغازگرها به مدت ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد برای بسط نهائی به مدت۳۰۰ ثانیه و به تعداد ۳۵ چرخه انجام شد. صحت طول قطعه به دست آمده از محصولات PCR با استفاده از ژل آگارز ۱ درصد صورت گرفت (شکل ۱).

### تعیین ژنوتیپ‌ها با استفاده از روش SSCP

جهت انجام SSCP، ۴ میکرولیتراز محصولات تکثیر شده با ۸ میکرولیتر بافر بارگذاری (SSCP dye) مخلوط شد و برای مدت ۱۰ دقیقه درون ترموسایکلر با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. سپس، بلافاصله پس از خارج کردن، میکروتیوب‌ها روی یخ قرار گرفتند تا از تشکیل مجدد DNA دو رشته‌ای جلوگیری شود. بعد از گذشت ۷-۵ دقیقه ۱۲ میکرولیتر از مخلوط محصولات PCR و بافر بارگذاری SSCP با استفاده از سیستم الکتروفورز عمودی حاوی بافر TBE (1X) و با ولتاژ ۱۱۰ به مدت ۸-۶ ساعت روی ژل آکریل آمید غیرواسرشته ساز ۱۰ درصد در دمای ۴ درجه سانتی گراد الکتروفورز گردید. برای مشاهده ژنوتیپ‌ها از رنگ آمیزی نیترات نقره استفاده شد (باسام و همکاران، ۱۹۹۱).

### تجزیه و تحلیل ژنتیک جمعیت

پارامترهای مربوط به ژنتیک جمعیت از قبیل فراوانی ژنی و ژنوتیپی، مقدار هتروزیگوسیتی و تعادل هاردی وینبرگ در جمعیت، شاخص‌های نئی، شانون و محتوای اطلاعات چندشکلی به وسیله نرم افزارهای Pop Gene V32 و Power Marker V3.2 محاسبه شد.

### تجزیه تحلیل ژنتیک کمی

ارتباط آماری بین ژنوتیپ‌های مشاهده شده با وزن بدن و وزن کرک در بزهای راینی کرمان با استفاده از رویه مختلط نرم افزار SPSS مورد بررسی قرار گرفت. مدل آماری مورد استفاده عبارت است از:

1. Salting out method

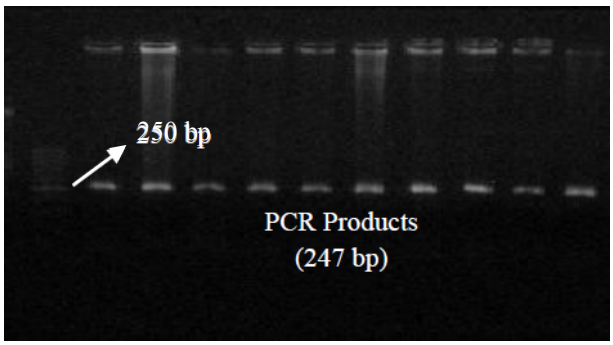
$$Y_{ijkl} = \mu + G_i + D_j + S_k + Y_l + e_{ijkl}$$

در این مدل:

- $Y_{ijkl}$ = اثر فنوتیپی صفت (وزن تولد و وزن الیاف)
- $\mu$ = اثر میانگین جامعه
- $G_i$ = اثر ثابت ژنوتیپ
- $D_i$ = اثر ثابت تیپ تولد
- $S_k$ = اثر ثابت جنس
- $Y_l$ = اثر ثابت سال چینش الیاف
- $e_{ijkl}$ = خطای باقی مانده

## نتایج و بحث

بعد از بدست آورن شرایط بهینه PCR، تکثیر قطعه ۲۴۷ جفت بازی از اگزون شماره ۶ ژن کالپاستاتین به وسیله آغازگرهای اختصاصی آن انجام شد و صحت طول قطعه تکثیر شده، به وسیله ژل آگارز یک درصد و نشانگر M500 تایید گردید (شکل ۱).

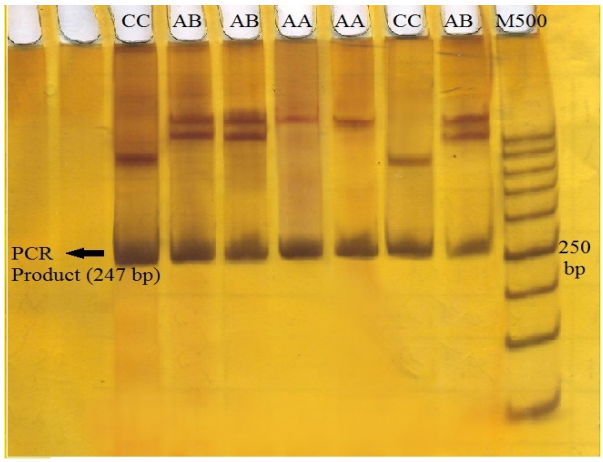



شکل ۱- صحت طول قطعه تکثیر شده از ژن کالپاستاتین با نشانگر M500 و ژل آگارز ۱ درصد

چندشکلی ژن کالپاستاتین بزهای راینی به وسیله نشانگر SSCP انجام شد و برای جمعیت تحت مطالعه ۳ الگوی باندی روئیت شد (شکل ۲). بر اساس الگوهای مشاهده شده، سه نوع ژنوتیپ AA، AB و CC به ترتیب با فراوانی ۰/۴۲۶، ۰/۲۵۹ و ۰/۳۱۵ مشاهده و برآورد گردید (جدول ۱).

**جدول ۱- فراوانی‌های ژنی و ژنوتیپی مربوط به ژن CAST**

| فراوانی ژنی | | | فراوانی ژنوتیپی | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| A | B | C | AA | AB | CC | $X^2$ |
| ۰/۵۶۴ | ۰/۱۳۹ | ۰/۲۹۶ | ۰/۴۲۶ | ۰/۲۸ | ۰/۲۹۶ | ۵۸/۴۶ |




شکل ۲- الگوها و ژنوتیپ‌های ژن CAST به همراه نشانگر M500

پارامترهای مربوط به ژنتیک جمعیت و معیارهای مربوط به چندشکلی ژن CAST با استفاده از نرم افزار Pop Gene 32 و Power Meker V3.2 محاسبه شد که در جدول‌های ۱ و ۲ ارائه شده است.

آزمون کای اسکوار نشان داد که جمعیت مورد مطالعه برای این جایگاه ژنی در تعادل هاردی وینبرگ قرار ندارد که این امر می‌تواند به دلیل کوچک بودن جمعیت و اعمال برنامه‌های انتخاب یا مهاجرت ژنی از طریق سایر نژادها در این جمعیت باشد. میانگین شاخص شانون (I) و نئی (Nei) به ترتیب ۰/۹۵ و ۰/۵۷ برآورد گردید که نشان دهنده تنوع بالایی در این جمعیت است. همچنین این جایگاه ژنی از چندشکلی بالایی (PIC > 0.5) برخوردار بود (جدول ۲).

**جدول ۲- پارامترهای تنوع ژنتیکی ژن CAST**

| پارامترهای تنوع ژنتیکی | مقدار |
|---|---|
| آلل واقعی (Na) | ۳ |
| آلل موثر (Ne) | ۲/۳۴ |
| هتروزیگوتی مشاهده شده | ۰/۲۷۸ |
| هموزیگوتی مشاهده شده | ۰/۷۲۲ |
| هتروزیگوتی مورد انتظار | ۰/۵۸ |
| هموزیگوتی مورد انتظار | ۰/۴۲ |
| میانگین هتروزیگوتی | ۰/۵۷۸ |
| شاخص نئی (Nei) | ۰/۵۷۸ |
| شاخص شانون (I) | ۰/۹۵ |
| محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) | ۰/۵۶۷ |

مقادیر میانگین و خطای استاندارد مربوط به ژنوتیپ‌های ژن CAST مربوط به صفت وزن بدن هنگام تولد و صفت وزن کرک سالیانه جدول ۳ آورده شده است. نتایج نشان داد که چندشکلی‌های مشاهده شده در سطح قطعه ۲۴۷ جفت بازی تکثیر شده از اگزون شماره ۶ ژن CAST ، بر روی صفت وزن بدن هنگام تولد (P <۰/۰۵) اثر معنی‌دار آماری داشت و بر روی وزن کرک دارای اثر معنی دار نبود. با توجه به اثر ژنتیکی مستقیم ژن CAST بر رشد عضله اسکلتی، معنی دار بودن آن بر وزن تولد از پیش مورد انتظار بود چرا که به غیر از واریانس ژنتیکی موثر بر صفت وزن تولد، محیط رحم و اثرات مادری نیز بر صفت مربوطه دخیل بوده است. اما معنی دار نبودن ژن CAST را بر وزن کرک می‌توان به این علت ذکر کرد که علاوه بر واریانس ژنتیکی، اثرات محیطی نیز از قبیل اثرات مادر، تغذیه، شرایط آب و هوایی و ... بر این صفت اثر گذار بوده است.

**جدول ۳- میانگین (و خطای استاندارد) مربوط به صفات وزن بدن و وزن کرک بر اساس ژنوتیپ‌های CAST**

| جایگاه | ژنوتیپ | وزن بدن (kg) | وزن کرک (kg) |
|---|---|---|---|
| CAST | AA | ۲/۳۸۷$^{a}$ (۰/۰۶۸) | ۰/۴۵۸ (۰/۰۳۴) |
| | AB | ۲/۲۵۰$^{ab}$ (۰/۰۸۹) | ۰/۳۷۸ (۰/۰۴۴) |
| | CC | ۲/۶۲۹$^{ac}$ (۰/۰۸۰) | ۰/۴۳۱ (۰/۰۴۰) |
| | P-Value | ۰/۰۰۸$^{**}$ | ۰/۳۶۸$^{ns}$ |

زائو و هیکفورد (۲۰۰۷) یک SNP از نوع نا متناجس (A→C) در نوکلئوتید ۷۶ اگزون ۶ ژن کاپاستاتین در بزهای بوئر گزارش کردند که موجب تغییر اسید آمینه سرین به آرژنین در پروتئین حاصل از این ژن شده است که معنی‌دار بودن این تغییر هنوز ناشناخته می‌باشد.

شارما و همکاران (۲۰۱۲) به بررسی تنوع‌های بین نژادی و چندشکلی‌های مهم ژن CAST بزهای هندی پرداختند که در سطح این ژن، ۱۴۲ تغییر نسبت به توالی مربوط به گاو (NW_001495281.2) که فقط ۱۰ SNP تا کنون گزارش شده است، گزارش نمودند. همچنین این محققین یک SNP در اگزوه ۳، دو SNP در اینترون ۵، شش SNP در بخشی از اینترون ۷ و یک SNP نیز در بخشی از اینترون ۸ کشف کردند. گوی-لینگ و همکاران (۲۰۰۹) نیز یک SNP نامتناجس (A216C) در یک قطعه ۲۵۰ جفت بازی ژن کالپاستاتین نژادهای بز بوئر، لایوو بلک، لوبی وایت، هیبرید لوبی وایت × بوئر و بزهای کشمیر سفید کشف نمودند و سه ژنوتیپ AA، AC و CC را در نژادهای بوئر، لایوو بلک و لوبی وایت، و دو ژنوتیپ AA و AC در هیبرید لوبی وایت × بوئر و بزهای کشمیر سفید مشاهده نمودند. نتایج این محققین از لحاظ تعداد ژنوتیپ در نژادهای بوئر، لایوو بلک و لوبی وایت و غالب بودن آلل A در بین همه این نژادها بجز لوبی وایت با نتایج این تحقیق مطابقت داشت. این SNP در نژادهای بوئر، لایوو بلک، لوبی وایت، هیبرید لوبی وایت × بوئر در تعادل هاری-وینبرگ بود که با نتایج این تحقیق مطابقت نداشت. اما مطابق با نتایج این تحقیق، این جهش در نژاد بزهای کشمیر سفید خارج از تعادل هاردی- وینبرگ بود. بررسی این SNP با صفات کرک کشمیر، وزن بدن هنگام تولد و افزایش وزن روزانه از تولد تا شیرگیری اثر معنی داری را نشان نداد که در مورد صفت کرک با نتایج این تحقیق مطابقت داشت اما در مورد صفت وزن بدن هنگام تولد مطابقت نداشت.

چندشکلی در سطح DNA نقش کلیدی در تنوع ژنتیک حیوانات دارد. اغلب تحقیقات مربوط به نشانگرهای ژنتیکی به کار رفته در اصلاح نژاد دام، بر روی آنالیز چندشکلی‌ها یا جهش‌های ژنتیکی واقع در ژن‌های ساختاری مهم و پیوستگی این ژن‌ها با جایگاه صفت کمی (QTL) صورت گرفته است. در دهه گذشته، تعدادی از ژن‌های کاندید بالقوه برای خصوصیات کمی و کیفی گوشت شناسایی شده است. بررسی چندشکلی و مطالعه ارتباط آن با صفات تولیدی مهم می‌تواند کمک زیادی در امر انتخاب و پیشرفت ژنتیکی در کوتاه‌ترین فاصله ممکن شود. در بین ژن‌های کاندید، به نظر می‌رسد که ژن CAST با توجه به داشتن نقش مهم در تردی گوشت پس از کشتار و همچنین در رشد عضله در زمان حیات، خوش آتیه باشد.

با توجه به اینکه حفظ ذخایر ژنتیکی منطقه یکی از مهمترین برنامه‌های تداوم ژنتیکی هر کشوری می‌باشد و با اهمیت ظرفیت ژنتیکی بالقوه توده‌های بومی کشور، انجام اینگونه مطالعات و بررسی همه جانبه ژن‌های کاندید مهم و تأثیر گذار بر صفات اقتصادی اجتناب ناپذیر است. نژاد بز راینی در کرمان تنوع بسیار خوبی دارد و به عنوان یک نژاد دو منظوره در منطقه پرورش داده می‌شود. این نژاد علاوه بر تولید گوشت، بخشی از کرک ایران را تامین می‌کند که در صنعت نساجی از اهمیت خاصی برخوردار است. از نظر تولید کرک چین با تولید ۵۰۰۰-۴۰۰۰ تن کرک رتبه اول، مغولستان با تولید ۳۰۰۰-۲۰۰۰ تن کرک رتبه دوم و ایران با تولید ۱۵۰۰-۱۲۰۰ تن کرک رتبه سوم را در جهان دارا هستند. این نژاد مهم کرکی ایران دارای تنوع ژنتیکی بسیار بالایی است و پتانسیل انجام کارهای بسیار مهم اصلاح نژادی و بیوتکنولوژیکی را دارد. اما متأسفانه به دلیل عدم توجه کافی رو به نابودی می رود (محمد آبادی، ۱۳۹۱). بنابراین علاوه بر

افزایش تولید گوشت، باید افزایش تولید کمی و کیفی کرک این نژاد نیز مورد توجه خاص قرار گیرد.

## نتیجه‌گیری

در اصلاح نژاد دام، تنوع عامل اصلی انتخاب و پیشرفت ژنتیکی است. چندشکلی در سطح DNA نقش کلیدی در تنوع ژنتیک حیوانات دارد. در این تحقیق، ژن CAST چندشکلی بالایی را نشان داد (PIC > 0.5) که نشان دهنده تنوع آللی بالایی است. به هرحال، در انتخاب به کمک نشانگرهای ژنتیکی، می‌بایست پویش ژنتیکی وسیع‌تری در سطح DNA حیوانات مزرعه انجام شود. از طرفی باید با حفظ توده‌های ژنتیکی بومی کشور، در جهت افزایش توان تولیدی این دام‌ها که با محیط و بیماری‌های منطقه تطابق کاملی یافته‌اند، مطالعات بیشتری صورت پذیرد.

## منابع


محمدآبادی، م.، ۱۳۹۱. وضعیت اقتصادی و ژنتیکی بز کرکی راینی. دوازدهمین کنگره ژنتیک ایران، تهران.

Bassam, B.J., Anolles, G.C. and Gresshoff, P.M, 1991. Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide gels. Analytical Biochemistry. 196: 80-83.

Bishop, M.D., Koohmaraie, M., Killefer, J. and Kappes, S., 1993. Rapid communication: Restriction Fragment Length Polymorphisms in the Bovine Calpastatin Gene. Journal of Animal Science. 71: 2277.

Casas, E., White, S.N., Wheeler, T.L., Shackelford, S.D., Koohmaraie, M., Rile, D.G., Chale, C.C., Johnson, D.D. and Smith, P.L., 2006. Effects of calpastatin and μ-calpain markers in beef cattle on tenderness traits. Journal of Animal Science. 84: 520–525.

Ciobanu, D.C., Bastiaansen, J.W., Longergan, S.M., Thomsen, H., Dekkers, J.C., Plastow, G.S. and Rothschild, M.F., 2004. New alleles in calpastatin gene are associated with meat quality traits in pigs. Journal of Animal Science. 82: 2829-2839.

Goll, D.E., Thompson, V.F., Li, H., Wei, W. and Cong, J., 2003. The calpain system. Physiol Rev. 83:731-801.

Goll, D.E., Thompson, V.F., Taylor, R.G. and Ouali, A., 1992. The calpain system and skeletal muscle growth. Canadian Journal of Animal Science. 78:503–5012.

Gregula- Kania, M. 2012. Effect of calpastatin gene polymorphism on lamb growth and muscling. Animal Science. 12(1): 63–72.

Gui-Ling, C., Biao, L., Hui, T., Pei-Rong, T., Jian-Min, W. and Yun-Liang, J. 2009. Identification of polymorphism in the goat callipyge gene (CLPG) and its associations with production traits. Chinese Journal of Agricultural Biotechnology 6(3): 235–240.

Iranpur, V. and Esmailizadeh, M.A.K., 2010. Rapid Extraction of High Quality DNA from Whole Blood Stored at 4ºC for Long Period. Journal of Biological Methods.

Koohmaraie, M., 1996. Biochemical factors regulating the toughening and tenderization process of meat. Meat Science. 43: 193–201.

Koohmaraie, M., 1992. The role of Ca2+-dependent proteases (calpains) in post mortem proteolysis and meat tenderness. Biochimie. 74: 239–245.

Lande, R. and Thampson, F., 1990. Efficiency of marker assisted selection in the improvement of quantitative traits. Genetics. 124: 743-756.

Morgan, J.B., Savell, J.W., Hale, D.S., Miller, R.K., Griffin, D.B., Cross, H.R. and Shackelford, S.D., 1991. National beef tenderness survey. Journal of Animal Science. 69:3274-3283.

Palmer, B.R., Morton, J.D. and Roberts, N., 1999. Marker assisted selection for meat quality and the ovine calpastatin gene. Proc NZ Society Animal Production. 59: 266-268.

Palmer, B.R., Roberts, N., Hickford, J.G.H. and Bickerstaffe, R., 1998. PCR-RFLP for MspI and NcoI in the ovine calpastatin gene. Jornal of Animal Science. 76: 1499-1500.

Schenkel, F.S., Miller, S.P., Jiang, Z., Mandell, B.I., Ye, X., Li, H., Wilton, W.J., 2006. Association of single nucleotide polymorphism in the calpastastin gene with carcass and meat quality traits of beef cattle. Journal of Animal Science. 84: 291–299.

Shackelford, S.D., Koohmaraie, M., Cundiff, L.V., Gregory, K.E., Rohrer, G.A. and Savell, J.W., 1994. Heritabilities and phenotypic and genetic correlations for bovine postrigor calpastatin activity, intramuscular fat content, Warner Bratzlewr Shear force, retail product yield, and growth rate. Journal of Animal Science. 72: 857-863.

Sharma, R., Maitra, A., Pandey, A.K., Singh, L.V. and Mishra, B.P., 2013. Single Nucleotide Polymorphisms in Caprine Calpastatin Gene. Russian Journal of Genetics. 49(4): 441–447.

Tahmoorespur, M., Nassiry, M.R. and Javadmanesh, A., 2007. Calpastatin gene polymorphism in Baluchi and Kurdi sheep by SSCP. Agricultural Biotechnology conference Iran. 51.

Whipple, G., Koohmaraie, M., Dikeman, M.E., Crouse, J.D., Hunt, M.C. and Klemm, R.D., 1990. Evaluation of attributes that affect longissimus muscle tenderness in Bos taurus and Bos indicus cattle. Journal of Animal Science. 68:2716-2728.

# Polymorphism CAST gene and its association with birth weight and cashmere wool traits in Kerman Raini goat

**A. Shibak[*1], N. Yasari[2] and M.B Montazaretorbati[3]**

1- Expert of Biotechnology Laboratory of the Faculty University of Birjand, 2- MSc Graduated of Islamic Azad University of Kashmar and 3- Assistant Professor, Department of Animal Science, University of Birjand

*Corresponding Author Email: shibak@yahoo.com

**Submitted: 10 May 2015** **Accepted: 27 June 2016**

**Abstract**

The objective of this research was to study polymorphism of CAST gene and its association with birth weight and cashmere traits in Kerman Raini goat. Blood samples were randomly collected from 108 Kerman Raini goats. DNA was extracted by salting out method and a fragment length of 247 bp of exon 6 of the gene using polymerase chain reaction (PCR) was amplified. SSCP obtained by acrylamide gel and stained with silver nitrate. Three patterns AA, AB and AC were detected for CAST gene with frequencies of 0.426, 0.28 and 0.296, respectively. The population deviated from Hardy–Weinberg equilibrium. Birth weight and year of shearing had no significant effects on cashmere wool but the effect of genotype was significant on birth weight ($P<0.05$). The results indicated that allele C had significant effect on birth weight so that it can be a molecular marker in marker assistance selection (MAS).

**Keywords:** Polymorphism, Calpastatin gene, Birth weight, Cashmere wool, Kerman Raini goat