

بررسی رابطه‌ی چندشکلی ژن DRB2 با تعداد تخم انگل نماتوديروس در دستگاه گوارشی گوسفند نژاد قزل

شهرام حسین زاده^{۱*}، سید عباس رأفت^۲، غلامعلی مقدم^۲، احمد نعمت‌اللهی^۳ و رحمان حاجی‌علیزاده^۱

تاریخ دریافت: ۹۴/۴/۲ تاریخ پذیرش: ۹۴/۱۰/۵

^۱ دانش‌آموخته کارشناسی ارشد دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز

^۲ دانشیار و استاد گروه علوم دامی دانشگاه تبریز

^۳ استاد دانشکده دامپزشکی دانشگاه تبریز

* مسئول مکاتبه: Email: shahram.91@ms.tabrizu.ac.ir

چکیده

زمینه مطالعاتی: انگل‌های گوارشی یکی از دلایل اصلی کاهش تولید اقتصادی گوسفندان می‌باشند. هدف: پژوهش حاضر به منظور بررسی چندشکلی‌های ریز ماهواره‌های اینترون ۵ ژن DRB2 و ارتباط آن با تعداد تخم انگل نماتوديروس در گوسفند نژاد قزل انجام گرفت. روش کار: بدین منظور از ۸۰ رأس بره نر ۴ تا ۶ ماهه خون‌گیری صورت گرفت و نمونه‌های مدفوع از رکتوم بره‌ها جمع‌آوری و شمارش تعداد تخم انگل به روش کلیتون لین انجام شد. استخراج DNA به روش کلروفورم-ایزوآمیل الکل انجام و ناحیه ریز ماهواره‌ای اینترون ۵ ژن DRB2 تکثیر گردید. محصولات حاصل از PCR روی ژل آگارز ۳ درصد الکتروفورز شدند و اندازه آل‌ها با نشانگر اندازه M25 و نرم‌افزار Uvidoc مورد ارزیابی قرار گرفت. با استفاده از رویه‌ی مختلط، اثر ژنوتیپ روی صفت مورد نظر توسط نرم‌افزار SAS بررسی گردید. **نتایج:** آنالیز آماری ارتباط معنی‌داری را بین صفت تعداد تخم انگل نماتوديروس با چندشکلی ژن DRB2 نشان داد، بطوریکه بره‌های دارای ژنوتیپ هموزیگوت ۳۰۰ در ناحیه اینترون ۵ ژن DRB2 به طور معنی‌داری ($P < 0.01$) تعداد تخم انگل کمتری نسبت به بره‌های دیگر داشتند. نتیجه‌گیری نهایی: به عنوان نتیجه، چندشکلی ژنتیکی در این جایگاه می‌تواند به‌عنوان یک ابزار مفید در برنامه‌های انتخاب بر اساس نشانگرها مورد استفاده قرار گیرد.

واژگان کلیدی: انگل نماتوديروس، نژاد قزل، ریز ماهواره، DRB2

مقدمه

چهار قلم تیره‌تر از سایر نقاط بدن می‌باشد. اکثر گوسفندان در زیر گردن منگوله‌دارند. خصوصیات تولیدی: میانگین وزن تولد بره‌ها ۴٫۵ کیلوگرم، میانگین وزن ۶ ماهگی ۳۵ کیلوگرم، میانگین وزن بلوغ ۵۰ کیلوگرم، دوقلو زائی ۲۰ درصد (<http://blog.iran-carpet.com>). انگل و کرم‌های گوارشی یکی از منابع

گوسفند نژاد قزل یکی از نژادهای دنبه‌دار است که منطقه زیست آن در آذربایجان غربی و آذربایجان شرقی و مناطق کوهستانی تبریز می‌باشد. هر چه دنبه از حالت فوق خارج‌شده باشد، به همان اندازه از مطلوبیت گوسفند کاسته می‌شود. رنگ دنبه و سینه و

روی کروموزوم‌های مختلف گوسفند توزیع شده بودند. با این حال، QTL های مربوط به مقاومت انگل در کروموزوم ۳ بیشتر بوده است. در میان انگل‌های مختلف، ۴۴ از ۸۱ QTL کنترل‌کننده مقاومت در برابر گونه‌های همونکوس گزارش شده است. همچنین ۲۰ تا در گونه تریشوسترونژیلا، ۱۱ گونه در نماتودیروس و شش گونه در استرونژیلا گزارش شده است (هو و همکاران ۲۰۱۳). در مجموع از ۲۴۳ توالی ژن انتخاب شده، در میان ۴۱ SNP شناسایی شده، ۲۷ عدد در کروموزوم ۳ با حداکثر تعداد QTL های مربوط به ویژگی مقاومت انگل در گوسفند واقع شده‌اند. از ۱۴ SNP ها باقی مانده، سه عدد در هر یک از کروموزوم ۱ و ۱۲، دو عدد در هر یک از کروموزوم‌های ۱۱، ۱۶ و ۲۷ و یکی در کروموزوم ۸ و ۱۳ قرار دارند (پریسامی و همکاران ۲۰۱۴). به طور قابل توجهی کروموزوم ۳ گوسفند دارای بیشترین تعداد QTL با مقاومت در برابر نماتود دستگاه گوارش است (پریسامی و همکاران ۲۰۱۴). ریز ماهواره‌ها کوتاه‌ترین توالی‌های تکراری (۱ تا ۶ جفت بازی) بوده که تعداد واحد تکرار شونده در هر محل، تنها چند باز تا حدود ۳۰ باز متفاوت است. چندشکلی بالا و آسانی نسبی در اسکور بندی و تجزیه‌ی راحت داده‌های حاصل، از ویژگی‌های مهم نشانگرهای ریز ماهواره است که موجب توسعه مطالعات آن شده است (زان و همکاران ۲۰۰۲) کمپلکس اصلی سازگاری بافتی روی کروموزوم شماره ۲۰ گوسفند قرار دارد. جایگاه MHC دو نوع ژن چندشکلی MHC دارد، ژن Ovar-DRB2 از خانواده شبه ژن‌ها می‌باشد که فاقد اگزون ۱ و ۲ و دارای دو کدون پایان نابجا و سایر جهش‌هایی که در قسمت‌های غیرکاربردی ترجمه می‌شوند (شارون و همکاران ۲۰۰۲). هدف از مبارزه جهت نابودی انگل‌ها نه تنها به خاطر ضرر اقتصادی آن‌ها بلکه به خاطر انتقال آلودگی‌های انگلی به انسان نیز می‌باشد. آلودگی‌های کرمی یکی از شایع‌ترین امراض دامی بوده و علاوه بر مشکلات مستقیمی که در دام‌ها ایجاد

اصلی کاهش تولید گوسفندان در سراسر جهان می‌باشد (هالیدی و همکاران ۲۰۱۲، ریگو و همکاران ۲۰۱۴). متأسفانه صنعت پرورش گوسفند متکی بر افزایش استفاده از مواد ضد انگل برای کنترل انگل است. با این حال، افزایش مقاومت شیمیایی موجب شده تا محققان به دنبال کشف روش‌های کنترل جایگزین باشند (کاپلان و همکاران ۲۰۱۲). در مزارع یونان استفاده از داروهای ضد انگل از قبیل موکسیدین و ایورمکسین، بنزیمادوزل و لوامیزول که به ترتیب باعث کاهش FEC به میزان ۹۱، ۱۰۰، ۵۸، ۸۷ درصد می‌شوند (گوردن و همکاران ۲۰۱۴). از سویی دیگر در اکثر مراتع اصلی پرورش گوسفند در اروپا، نسبت به بنزیمادوزل مقاومت دارویی مشاهده شده است. علی‌الخصوص در یونان (پاپادوپولیس و همکاران ۲۰۱۲) شمال ایرلند (مک ماهان و همکاران ۲۰۱۲) و نروژ (دومک و همکاران ۲۰۱۲) و اسپانیا (مارتینز و همکاران ۲۰۱۳). انگل‌های تریشوریس و نماتودیروس نسبت به اثر دارویی بنزیمادوزل، لوامیزول و لاکتون مقاومت نشان دادند (میتچل و همکاران ۲۰۱۰). بر طبق یافته‌ها، مهم‌ترین نمادهای گوسفندی که به درمان دارویی مقاوم بوده، سیرکومسینکتا، همونکوس کنتورتوس و تریشوریس و به میزان کمتر نماتودیروس می‌باشند (پاپادوپولیس و همکاران ۲۰۱۲). شواهدی توجیه می‌کند که برخی از ژن‌ها، از جمله دو منبع^۱ MHC و^۲ IFN در مقاومت به انگل‌های روده در نژادهای مختلف گوسفند نقش داشته است (براون و همکاران ۲۰۱۳). بین چندشکلی در مجموعه سازگاری بافتی (MHC) و مقاومت گوسفندان به نمادهای گوارشی رابطه وجود دارد (لی و همکاران ۲۰۱۱). پایگاه داده^۳ QTL حیوانات نشان داد که در مجموع ۷۵۳ QTL برای صفات مختلف اقتصادی در گوسفند گزارش شده که در این میان، ۸۱ مورد از این QTL ها مربوط به ویژگی مقاومت به انگل‌ها بودند، که

1- Major Histocompatibility Complex

2- Interferon gamma

3- Quantitative trait loci

می‌کنند، زمینه را برای امراض باکتریایی و ویروسی مساعد کرده و حتی در بسیاری از موارد منجر به مرگ دام‌ها می‌شود. هدف از این پژوهش بررسی ارتباط بین چندشکلی ژن DRB2 و تعداد تخم انگل نامتودیروس در گوسفند نژاد قزل بود.

مواد و روش‌ها

تعداد ۸۰ بره نر و تقریباً هم‌سن (۴ تا ۶ ماهه) نژاد قزل که از ۴ گله (۲۰ رأس از هر گله) دامداران استان آذربایجان شرقی، به‌طور تصادفی انتخاب شدند و نمونه‌گیری در دو نوبت به فاصله یک هفته از هم که شامل نمونه‌های خون و مدفوع بود، انجام شد. نمونه‌های مدفوع نیز از رکتوم گوسفند جمع‌آوری شده و در آزمایشگاه شمارش تعداد تخم انگل به روش کلیتون لین انجام گردید سپس بر طبق فرمول زیر تعداد تخم انگل در گرم (EPG) حساب شد:

$$EPG = [n + (n/6)] \times m$$

n = تعداد تخم انگل شمارش‌شده

m = امتیاز مدفوعی

امتیازدهی وضعیت نمونه‌ی مدفوعی برای هر بره، در فرمول محاسبه‌ی EPG برای هر تخم انگل اعمال شده و امتیازدهی از عدد ۱ تا ۳ بود (اسلامی و بهادری ۱۳۸۲). صفت اصلی برای ارزیابی وضعیت مقاومت در حیوانات تحت چالش انگل‌های مشابه تعداد تخم در مدفوع است (مرادپور و همکاران ۲۰۱۳). برای گوسفند، تعداد تخم در مدفوع به‌طور کلی به‌عنوان یک ابزار برای تعیین کمیت انگل استفاده می‌شود (سینگلتون و همکاران ۲۰۱۳). تعداد ۸۰ نمونه خونی با استفاده از لوله‌های ونوجکت حاوی ماده‌ی ضد انعقاد K3 EDTA از ورید و داج جمع‌آوری گردید و استخراج DNA به روش کلروفرم-ایزوامیل الکل از نمونه‌های خونی انجام گردید (شمس و همکاران ۲۰۱۱). با استفاده از روش اسپکتوفوتومتر و ژل آگارز ۰/۲ درصد کمیت و کیفیت DNA استخراجی مورد بررسی قرار گرفت. تعیین

OLADRB2 F 5`
CTGCCAATGCAGAGACACAAGA 3`
OLADRB2 R 5`
GTCTGTCTCCTGTCTTGTCTCAT 3

چرخه‌های حرارتی PCR نیز به‌قرار زیر صورت پذیرفت؛ ۱- واسرشته سازی اولیه به مدت چهار دقیقه در دمای ۹۵ °C، ۲- واسرشته سازی به مدت ۳۰ ثانیه در دمای ۹۵ °C، ۳- اتصال آغازگر به مدت ۳۰ ثانیه با دمای ۵۹ °C، ۴- مرحله بسط به مدت ۵۰ ثانیه در دمای ۷۲ °C، ۵- تکرار مراحل ۲-۴ به تعداد ۲۵ دور، ۶- مرحله بسط نهایی به مدت ۵ دقیقه در دمای ۷۲ درجه C. پس از انجام مراحل DNA تکثیرشده طی انجام الکتروفورز با ژل آگارز ۳ درصد از یکدیگر تفکیک شده و سپس به‌وسیله رنگ‌آمیزی به روش اتیدیوم بروماید نمایان شدند. همچنین توسط نرم‌افزار UVIDOC باندهای به‌دست‌آمده مورد سنجش قرار گرفته و ارتباط آن‌ها با صفت مقاومت به انگل‌های داخلی که یک صفت آستانه‌ای بوده، بررسی گردید. برای انجام آنالیزهای آماری داده‌های نتایج به‌دست‌آمده به خاطر ماهیت اندازه‌گیری مکرر از رویه‌ی مدل مختلط در نرم‌افزار SAS استفاده شد. در این مدل اثر ژنوتیپ و گله را ثابت در نظر گرفته شد (لایتل و همکاران ۱۹۹۸).

$$Y_{ijk} = \mu + H_i + G_j + LAMB (H \times G)_{ij} + e_{ijk}$$

دامنه آلی به‌دست‌آمده بین ۲۷۴bp تا ۳۱۸ تعیین گردید (شکل-۱)، که آلل ۳۰۰ دارای بیشترین فراوانی بود، که نتایج مربوطه برای جایگاه اینترون ۵ ژن DRB2 در جدول ۱ و ۲ و شکل ۱ آمده است.

H_i = اثر ثابت گله، G_j = اثر ثابت ژنوتیپ،
 $LAMB(H \times G)_{ij}$ = اثر تصادفی حیوان داخل ژنوتیپ
 e_{ijk} = عوامل باقیمانده.

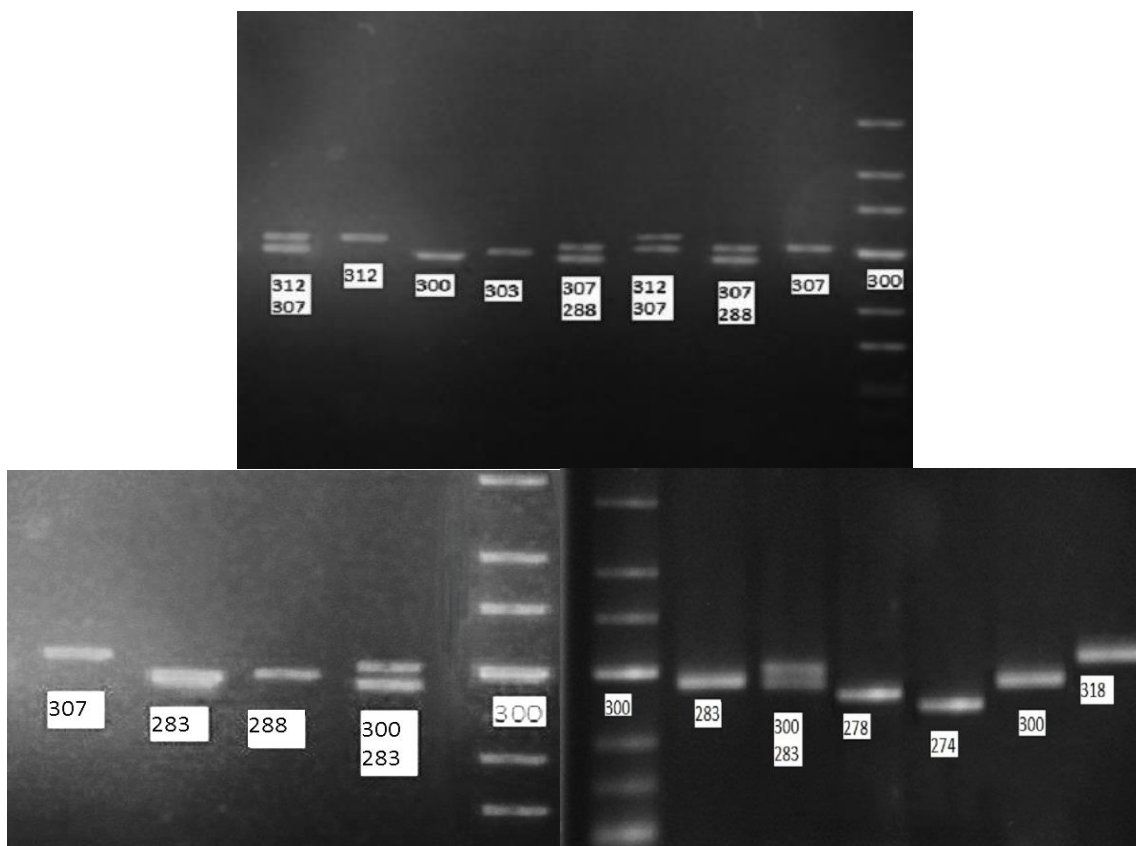
نتایج و بحث

جدول ۱- فراوانی ژنوتیپ‌های ژن DRB2 در گوسفند نژاد قزل

ژنوتیپ	۳۰۷-۳۰۷	۳۰۰-۳۰۰	۲۸۸-۲۸۸	۲۸۳-۲۸۳	۲۸۱-۲۸۱	۲۷۸-۲۷۸	۲۷۴-۲۷۴
فراوانی	۰,۰۷	۰,۱۸	۰,۰۶	۰,۰۷	۰,۰۵	۰,۰۶	۰,۰۵
ژنوتیپ	۲۸۳-۳۰۰	۲۸۸-۳۰۷	۳۱۲-۳۰۷	۳۱۸-۳۱۸	۳۱۲-۳۱۲	۳۱۲-۳۱۸	
فراوانی	۰,۰۷	۰,۰۵	۰,۰۵	۰,۱۲	۰,۰۷	۰,۰۹	

جدول ۲- فراوانی آلی ژن DRB2 در گوسفند نژاد قزل

آلل	۲۷۴	۲۷۸	۲۸۳	۲۸۸	۳۰۰	۳۰۳	۳۰۷	۳۱۲	۳۱۸
فراوانی	۰,۰۴	۰,۰۴	۰,۰۹	۰,۱۳	۰,۱۹	۰,۰۴	۰,۱۳	۰,۱۲	۰,۲۱



شکل-۱ نمونه‌هایی از ال‌های مربوط به ناحیه اینترون ۵ ژن DRB2 در گوسفند نژاد قزل

نشان دادند که چند شکلی ژن‌های MHC نقش مهمی را در ایجاد مقاومت نسبت به انگل همونکوس کنتورتوس بازی کرده و می‌توانند به‌عنوان یک نشانگر در برنامه‌های انتخاب بر اساس نشانگر و اصلاح نژاد برای ایجاد مقاومت نسبت به انگل همونکوس کنتورتوس، مورد استفاده قرار گیرند (فیگوریا و همکاران ۲۰۱۱). در پژوهش حاضر نیز ارتباط معنی‌داری بین چندشکلی اینترون ۵ ژن DRB2 و تعداد تخم انگل نماتودیروس در سطح یک در صد به دست آمد که نشان‌دهنده‌ی میزان تخم انگل کمتر در بره‌های دارای ژنوتیپ هموزیگوت ۳۰۰ در ناحیه اینترون ۵ ژن DRB2 نسبت به بقیه بره‌ها می‌باشد. با توجه به ارتباط معنی‌دار چندشکلی در ژن DRB2 با تعداد تخم انگل می‌توان انتظار داشت که از این چندشکلی به‌عنوان یک نشانگر ژنتیکی در برنامه‌های اصلاح نژاد استفاده گردد.

نتیجه‌گیری کلی

به نظر می‌رسد چندشکلی اینترون ۵ ژن DRB2 ارتباط معنی‌داری با تعداد تخم نماتودیروس در گوسفند داشته و همچنین تنوع قابل ملاحظه‌ی تعداد تخم انگل امکان تغییر ژنتیکی میزان تخم انگل را از طریق انتخاب فراهم می‌سازد. اگرچه صفت مربوط توسط تعداد زیادی ژن کنترل می‌شود ولی بعضی از این ژن‌ها دارای اثرات بیشتری بوده و نقش آن‌ها در مطالعات مختلف به اثبات رسیده است. در پژوهشی که اخیراً روی گوسفند قزل صورت گرفته که ارتباط ژن DRB2 از کلاس II کمپلکس MHC با تعداد تخم انگل‌های گوارشی نشان داده است (حاجی علیزاده و همکاران ۲۰۱۵).

در این تحقیق، تعداد آلل در ناحیه اینترون ۵ ژن DRB2 در نژاد قزل برابر با ۹ آلل با دامنه بین ۲۷۴ تا ۳۱۸ جفت باز به دست آمد که با تعداد آلل به‌دست‌آمده در نژادهای a merino corriedale polworth, southdown suffolk border Leicester, (بلمن و همکاران ۱۹۹۲) با ۱۳ آلل و در نژاد A German Rhonschaf با ۸ (جانسن و همکاران ۲۰۰۲) و در نژاد A Soay برابر با ۶ آلل (پترسون و همکاران ۱۹۹۸) و در گوسفندان پلیبوئی با ۱۵ آلل (فیگوریا و همکاران ۲۰۱۱) مطابقت ندارند. این تفاوت‌ها می‌تواند ناشی از تفاوت بین نژادهای مختلف بوده باشد. در یک آزمایش، چندشکلی ریز ماهواره DRB2 در ناحیه اینترون ۵ را در دو نژاد Heatherhead و Zelaznienska در لهستان بررسی گردیده و تعداد آلل را به ترتیب ۱۱ و ۸ گزارش و اعلام کردند فراوانی آللی در این دو نژاد باهم فرق می‌کند (شارون و همکاران ۲۰۰۲). با این حال صفت فنوتیپی اصلی برای ارزیابی وضعیت مقاومت در حیوانات تحت چالش انگل‌های مشابه اندازه‌گیری تعداد تخم در مدفوع می‌باشد (مک ماهن و همکاران ۲۰۱۳). بنابراین تعداد تخم در مدفوع به‌طورکلی به‌عنوان یک ابزار برای تعیین کمیت انگل گوسفند استفاده می‌گردد (سینگلتون و همکاران ۲۰۱۱). در تحقیقی با استفاده از توالی یابی توسط Ovine 50k SNP Chip ، رابطه‌ی معنی‌داری بین ناحیه‌های ژنی ۱۴، ۱۹، ۲۰ با تعداد تخم انگل شمارش‌شده پیدا گردید و نشان داد که ناحیه‌ی ژنی OAR 20 نزدیک به جایگاه کمپلکس سازگاری بافتی (MHC) قرار دارد (ریگوو و همکاران ۲۰۱۴). در پژوهش‌های انجام‌شده در مکزیک بررسی ارتباط بین ریز ماهواره‌های ژن‌های MHC زیر کلاس I (OMHCI) و زیر کلاس II (OLA DRBI و OLA DRB2) انجام و تعداد تخم انگل در مدفوع گوسفندان پلیبوئی که به‌صورت مصنوعی به انگل همونکوس کنتورتوس آلوده شده بودند، شمارش گردید. نتایج

منابع مورد استفاده

- Bishop S, 2012. Possibilities to breed for resistance to nematode parasite infections in small ruminants in tropical production systems. *Animal* 6(5): 741-747.
- Blattman A and Beh K, 1992. Dinucleotide repeat polymorphism within the ovine major histocompatibility complex. *J Animal Genetics* 2: 392-392.
- Brown E, Pilkington J, Nussey D, Watt K, Hayward A, Tucker and R Pemberton J, 2013. Detecting genes for variation in parasite burden and immunological traits in a wild population: testing the candidate gene approach. *J Molecular Ecology* 22:757-773.
- Charon K, Cieslak D, Gruszczynska J, Kuryl J, Pierzchala M and Swiderek W, 2002. Microsatellite polymorphism of pseudo-gene OLA-DRB2 in intron 5 in two Polish sheep breeds. *Animal Science Papers and Reports* 20: 67-72.
- Domke AVM, Chartier C, Gjerde B, Höglund J, Leine N, Vatn S and Stuen S, 2012. Prevalence of anthelmintic resistance in gastrointestinal nematodes of sheep and goats in Norway. *Parasitol Res* 111: 185-193.
- Figuroa Castillo JA, Medina RDM, Villalobos JMB, Gayosso-Vázquez A, Ulloa-Arvizu R, Rodríguez RA, and Alonso RA, 2011. Association between major histocompatibility complex microsatellites, fecal egg count, blood packed cell volume and blood eosinophilia in Pelibuey sheep infected with *Haemonchus contortus*. *J Veterinary Parasitology* 177: 339-344.
- Geurden T, Hoste H, Jacquiet P, Traversa D, Sotiraki S, Frangipane A, and Privat S, 2014. Anthelmintic resistance and multidrug resistance in sheep gastro-intestinal nematodes in France, Greece and Italy. *J Veterinary Parasitology* 201: 59-66.
- Halliday AM, Lainson F, Yaga R, Inglis NF, Bridgett S, Nath M and Knox DP, 2012. Transcriptional changes in *Teladorsagia circumcincta* upon encountering host tissue of differing immune status. *J Parasitology* 139: 387-405.
- Hajjalizadeh R, Rafat SA, Notter, Shoja J, Moghaddam G and Nematollahi A, 2015. Fecal egg counts for gastro intestinal nematodes are associated with a polymorphism in the MHC-DRB1 1 gene in the Iranian Ghezel sheep breed. *Frontiers in Genetics* 10: 3389
- Hu Z, Park CA, Wu XL and Reecy JM 2013. Animal QTLdb: an improved database tool for livestock animal QTL/association data dissemination in the post-genome era. *J Nucleic Acids Research* 41: D871-D879.
- Janssen M, Weimann C, Gaulty M and Erhardt G, 2002. Associations between infections with *Haemonchus contortus* and genetic markers on ovine chromosome 20. Paper presented at the Proceedings of the 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Montpellier, France, August, 2002. Session 13.
- Kaplan RM and Vidyashankar AN, 2012. An inconvenient truth: global worming and anthelmintic resistance. *J Veterinary Parasitology* 186: 70-78.
- Lee C, Munyard K, Gregg K, Wetherall J, Stear M and Groth D, 2011. The influence of MHC and immunoglobulins A and E on host resistance to gastrointestinal nematodes in sheep. *J Parasitology Research* 2011.
- Littell R, Henry P and Ammerman C, 1998. Statistical analysis of repeated measures data using SAS procedures. *J Animal Science* 76: 1216-1231.
- Martínez-Valladares M, Martínez-Pérez JM, Robles-Pérez D, Cordero-Perez C, Famularo M, Fernandez-Pato N and Rojo-Vázquez FA, 2013. The present status of anthelmintic resistance in gastrointestinal nematode infections of sheep in the northwest of Spain by in vivo and in vitro techniques. *J Veterinary Parasitology* 191:177-181.
- McMahon C, Bartley D, Edgar H, Ellison S, Barley J, Malone F and Fairweather I, 2013. Anthelmintic resistance in Northern Ireland (I): prevalence of resistance in ovine gastrointestinal nematodes, as determined through faecal egg count reduction testing. *J Veterinary Parasitology* 195: 122-130.
- Mitchell E, Hunt K, Wood R and McLean B, 2010. Anthelmintic resistance on sheep farms in Wales. *J Veterinary Record* 166: 650-652.

- Moradpour N, Borji H, Razmi G, Maleki M and Kazemi H, 2013. Pathophysiology of *Marshallagia marshalli* in experimentally infected lambs. *Parasitology* 140:1762-1767.
- Papadopoulos E, Gallidis E and Ptochos S, 2012. Anthelmintic resistance in sheep in Europe: A selected review. *Vet Parasitol* 189: 85-88.
- Paterson S, 1998. Evidence for balancing selection at the major histocompatibility complex in a free-living ruminant. *J Heredity* 89: 289-294.
- Periasamy K, Pichler R, Poli M, Cristel S, Cetrá B, Medus D and Ellahi MB, 2014. Candidate gene approach for parasite resistance in sheep variation in immune pathway genes and association with fecal egg count. *Plos One* 9: e88337.
- Riggio V, Pong WR, Sallé G, Usai M, Casu S, Moreno C and Bishop S, 2014. A joint analysis to identify loci underlying variation in nematode resistance in three European sheep populations. *J Animal Breeding and Genetics*. 131(6):426–436.
- Shams SS, Vahed SZ, Soltanzad F, Kafil V, Barzegari A, Atashpaz S and Barar J, 2011. Highly Effective DNA Extraction Method from Fresh, Frozen, Dried and Clotted Blood Samples. *BioImpacts* 1(3): 183–187.
- Singleton D, Stear M and Matthews L, 2011. A mechanistic model of developing immunity to *Teladorsagia circumcincta* infection in lambs. *Parasitology* 138: 322-332.
- Zane L, Bargelloni L and Patarnello T, 2002. Strategies for microsatellite isolation: a review. *J Molecular Ecology* 11: 1-16.

Investigation of relationship between DRB2 gene polymorphism and Nematodirus parasites in gastrointestinal of Ghezel sheep breed

Sh Hosseinzadeh^{1*}, S A Rafat², Gh Moghaddam², A Nematollahi³ and R Hajjalizadeh¹

Received: June 23, 2015 Accepted: December 26, 2015

¹MSc, Graduated Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

²Associate Professor and Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

³Professor, Department of Veterinary, Faculty of Veterinary Sciences University of Tabriz, Tabriz, Iran

*Corresponding author: E mail: shahram.91@ms.tabrizu.ac.ir

Abstract

BACKGROUND: Parasites and intestinal worms are one of the main causes of the economic decline in the sheep industry. **OBJECTIVES:** This research carried out for consideration of microsatellite polymorphism in the intron 5 of DRB2 gene and its association with the egg numbers of Nematodirus parasite in Ghezel sheep breed. **METHODS:** Blood and fecal samples were obtained from 80 male lambs at the age of 4-6 months. Fecal samples were collected from the lambs' rectum and the number of fecal eggs was calculated by the Clayton Lane technique. The DNA was extracted using Chloroform-Amyl Alcohol; and Microsatellite regions of intron 5 of the DRB2 gene were amplified. PCR products were electrophoresed on 3% Agarose gel. Allele sizes were determined by ladder 25 bp and Uvidoc software. The Proc Mixed was considered for evaluation of genotypes effects on the traits. **RESULTS:** Statistical analysis showed there was significant correlation between the numbers of Nematodirus parasite eggs and the polymorphism of DRB2 gene. Therefore, lambs that had the genotypes 300-300 in intron 5 of DRB2 gene had significantly ($P < 0.01$) lower number of eggs in compare with the others. **CONCLUSIONS:** It was concluded that the polymorphism at this locus can be utilized as a useful tool in the selection programs based on markers.

Keywords: Nematodirus parasites, Ghezel Breed, Microsatellite, DRB2