بررسی تنوع ژنتیکی یک جمعیت از گوسفندان زندی با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره

شهرام ننه‌کرانی[1*]، سیروس امیری‌نیا[2]، نور امیرمظفری[3]، رسول واعظ‌ترشیذی[4]، علی‌اکبر قره‌داغی[5]

تاریخ دریافت: ۸۹/۴/۲۸ تاریخ پذیرش: ۸۹/۷/۱۳

چکیده

در مطالعه حاضر تنوع ژنتیکی در گوسفندان زندی با استفاده از پانزده مارکر ریزماهواره بررسی گردید. *DNA* ژنومی از تعداد ۱۲۰ نمونه خون به روش استخراج نمکی بهینه شده، بدست آمد. همه ۱۵ جایگاه با موفقیت تکثیر شدند و همه جایگاه‌ها چند شکلی داشتند. آزمون فراوانی ژنوتیپ‌ها برای انحراف از تعادل هاردی – وینبرگ *(HWE)* در هر لوکوس انجام گردید که بخاطر فزونی هتروزیگوت‌ها در همه جایگاه‌ها انحراف از تعادل مشاهده شد *(P<0.001)*. پارامترهای تنوع از قبیل تعداد آللها و تنوع ژنی (هتروزایگوسیتی)، سطح بالائی از مقدار تنوع را بوسیله نشانگرهای ریزماهواره آشکار نمود. در این مطالعه همچنین ملاک‌های دیگر تنوع ژنتیکی شامل ارزش‌های *PIC* و شاخص شانن محاسبه شدند. میانگین محتوای اطلاعات چندشکلی در جمعیت به ازای تمام جایگاه‌ها، برابر ۰/۸۰۸ بود که نشان از تغییرپذیری بسیار بالا در جمعیت مورد مطالعه می‌باشد. میانگین شاخص اطلاعات شانون نیز در جمعیت مورد مطالعه بالا بود (۰/۰۹ ± ۱/۹۲). نتایج پارامترهای تنوع نشان داد که تنوع ژنتیکی در نژاد زندی بالا می‌باشد. همچنین این تحقیق نشان داد که مارکرهای ریزماهواره ابزاری سودمند برای ارزیابی تنوع ژنتیکی در حیوانات اهلی است.

واژگان کلیدی: گوسفند زندی، نشانگرهای ریزماهواره، تنوع ژنتیکی، تعادل هاردی ـ وینبرگ

مقدمه

پرورش گوسفند یکی از بخش‌های مهم دامپروری کشور است. اگرچه همه گوسفندان ایرانی برای تولید گوشت پرورش می‌یابند، اما بعضی از آنها برای صفات ویژه‌ای شناخته شده هستند که می‌توان به نژادهای پوستی اشاره نمود. نژاد زندی یکی از بهترین گوسفندان پوستی ایران محسوب می‌شود، اما بدلیل افزایش تقاضا برای گوشت و عدم توجیه اقتصادی تولید پوست، امروزه از این نژاد برای تولید گوشت استفاده می‌شود، چرا که از این لحاظ نیز در حد متوسطی قرار دارد (۲۲). پراکنش آن بیشتر در استان تهران، قم، سمنان و مرکزی بوده و جمعیت آن حدود ۰/۵ میلیون راس برآورد

۱- دانشجوی دکتری گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، تهران- ایران
۲- بخش بیوتکنولوژی موسسه تحقیقات علوم دامی کشور.کرج
۳- گروه میکروبیولوژی، داشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران
۴- گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس تهران
۵- بخش اصلاح نژاد موسسه تحقیقات علوم دامی کشور،کرج
*- پست الکترونیکی نویسنده مسئول: shahramnanekarani@yahoo.com

Archive of SID
www.SID.ir

می‌شود. این نژاد می‌تواند بعنوان بهترین گوسفند برای سیستم پرورش عشایری (کوچرو) محسوب شود (۲).

علیرغم تجربه جهانی در زمینه استفاده از اصلاح نژاد در جهت افزایش سودآوری در دامپروری، برنامه‌های مدون اصلاح نژادی در بخش پرورش گوسفند در کشورمان اجرا نشده است. پیشرفت‌های خیلی سریع در زمینه ژنتیک مولکولی، امکان شناسائی سریع ودقیق ژنهای کنترل کننده صفات تولیدی را فراهم کرده است. از طرفی فقدان سیاست اصولی در امر اصلاح نژاد دام در کشور، طبیعت متحرک بخشی از دامداریهای عشایری و وجود موقعیت جغرافیائی متنوع در کشور ازجمله عوامل مهمی است که موجب مخلوط شدن نژادهای مختلف گوسفند ایرانی از گذشته تاکنون شده است و اگر بخواهیم از نژادهای گوسفند ایرانی در برنامه‌های اصلاح نژادی بعنوان مواد ژنتیکی پایه استفاده نمائیم، لازمه آن انجام مطالعاتی در خصوص شناخت دقیق ذخایر ژنتیکی موجود است تا مبنای صحیح‌تری را برای اجرای برنامه‌های اصلاح نژادی فراهم نمایند. با توجه به اینکه نژاد زندی سازگاری مناسبی نیز با شرایط محیطی منطقه پراکنش خود پیدا کرده است، و از نظر حفظ تنوع ژنتیکی حائز اهمیت می‌باشد، می‌توان از نشانگرهای ژنتیکی برای تعیین ساختار ژنتیکی جمعیت‌های مورد نظر و تعیین میزان تنوع در آنها استفاده نمود. سهولت جداسازی، تشخیص آسان و بویژه تغییرپذیری زیاد ریزماهواره‌ها موجب شده است که ریزماهواره‌ها علیرغم مدت زمان کوتاهی که از کشف آنها می‌گذرد، به ابزاری توانمند جهت تجزیه و تحلیل ژنتیکی جمعیتهای طبیعی تبدیل شوند (۱٤ و ۲۱). مطالعات زیادی، کارآمدی نشانگرهای ریزماهواره را در مطالعات ژنتیک جمعیت به اثبات رسانده است (۹، ۱۱، ۱۵، ۱٦). در این راستا جمعیت گوسفندان بلوچی، کردی خراسان، کردی کردستان، مهربان، مغانی، سنجابی، قره‌گل و کبوده شیراز نیز توسط محققین کشورمان مورد مطالعه قرار گرفته است (۱، ۳، ٤). هدف از این مطالعه ارزیابی تنوع ژنتیکی در جمعیت گوسفندان زندی با توجه به مارکرهای مورد مطالعه می‌باشد.

مواد و روش کار

نمونه‌های خون کامل به میزان ۵ میلی‌لیتر بطور تصادفی از تعداد ۱۲۰ راس حیوان غیر خویشاوند و از هر دو جنس تهیه گردید نمونه‌های انتخاب شده از ایستگاه تحقیقاتی گوسفندان زندی تهران (خوجیر) بدست آمد و استخراج DNA به روش بهینه یافته شستشوی نمکی انجام گرفت (۲۱). از ۱۵ آغازگر جهت یافتن چندشکلی در جمعیت مورد مطالعه استفاده گردید. جایگاهها از کروموزومهای متفاوتی از ژنوم گوسفند انتخاب شدند تا امکان پیوستگی بین جایگاهها کاهش یافته و برآورد مناسبی از تنوع ژنتیکی با توجه به پراکندگی یکسان جایگاهها در کروموزومهای مختلف بدست آورد (جدول یک). از جایگاه‌های فوق در مطالعات مشابه استفاده گردیده است (۱و ۳). محققان نیز تکثیر DNA با استفاده از ۱۵ جفت آغازگر ریزماهواره‌ای در حجم نهائی ۱۵ میکرولیتر و با شرایط زیر انجام شد.

PCR buffer 1X, MgCl2 1.5-4.5mM, Each Primer 0.25µM, dNTPs 200µM,
Taq Polymerase 1U, DNA 100-200ng.

برای انجام واکنش‌ها از دستگاه ترموسایکلر Biometra استفاده گردید و برنامه دمائی کلیه جایگاهها، به این شرح بود: یک سیکل واسرشته سازی ۹۵ درجه سانتیگراد (۵ دقیقه)، ۳۵ سیکل شامل واسرشته‌سازی ۹۵ درجه (۳۰ ثانیه) ، اتصال آغازگر (۳۰ ثانیه) ، بسط ۷۲ درجه (٤۵ثانیه) و یک سیکل بسط نهائی ۷۲ درجه (۵ دقیقه). فرآورده‌های PCR توسط ژل اکریل‌آمید واسرشته ساز ۸٪ الکتروفورز گردید و نمایان‌سازی آللها به روش رنگ‌آمیزی نیترات نقره انجام شد (شکل ۱). با استفاده از دستگاه Gel-Doc XR ساخت شرکت BioRad تصویر ژل‌ها تهیه گردید.

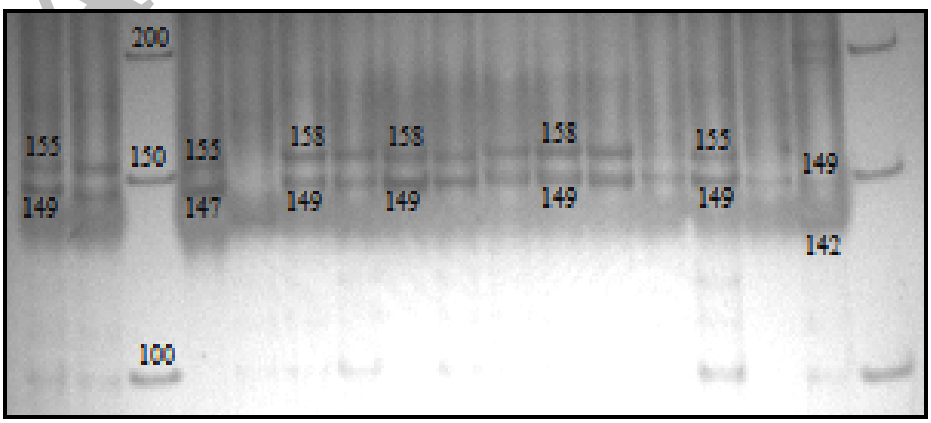
Archive of SID

www.SID.ir

سپس با استفاده از نرم افزار GELPRO ANALYSER نسخه ۳/۱ و با توجه به نشانگرهای اندازه، اندازه آللها براساس جفت باز، محاسبه و ژنوتیپ حیوانات تعیین گردید (۲۰).

جدول ۱- مشخصات آغازگرهای مورد استفاده در تکثیر نشانگرها (Australian Sheep Gene Mapping Web Site1)

نام نشانگر	آغازگرها	موقعیت کروموزومی	کد دسترسی
MCMA2	F:TCACCCAACAATCATGAAAC R:TTAAATCGAGTGTGAATGGG	۱۳	AF098773
MCM63	F:CCCAATTTGGCAACAGCTACG R:ATTGGCCTCTCTCTGATGCAC	۹	L37889
BMS460	F:TGCCCCATAGTGTAGTGCTC R:GCCAGCAGAGAATTGTAGCA	۳	G18836
BM1815	F:AGAGGATGATGGCCTCCTG R:CAAGGAGACAAGTCAAGTTCCC	۲۰	G18389
OARCP26	F:GGCCTAACAGAATTCAGATGATGTTGC R:GTCACCATACTGACGGCTGGTTCC	۴	U15698
OARFCB20	F:AAATGTGTTTAAGATTCCATACAGTG R:GGAAAACCCCCATATATACCTATAC	۲	L20004
OARAE129	F:AATCCAGTGTGTGAAAGACTAATCCAG R:GTAGATCAAGATATAGAATATTTTTCAACACC	۵	L11051
MAF64	F:AATAGACCATTCAGAGAAACGTTGAC R:CTCATGGAATCAGACAAAAGGTAGG	۱	M62993
BMS332	F:GACAAAACCCTTTTAGCACAGG R:AATTGCATGGAAAGTTCTCAGC	۲۲	G18841
LSCV38	F:GTTGCAAAGAGCTGGACGTG R:CTGGATGGCAAAGTGATTCAG	۱۲	G40990
BM6444	F:CTCTGGGTACAACACTGAGTCC R:TAGAGAGTTTCCCTGTCCATCC	۲	G18444
BMS995	F:AATTCTTCCAACCTCCAGTGC R:ACTTTTCAAGCAGGGCTCAC	۱۳	G18766
MCMA26	F:TCTCTGCTTTCCAGCCTTATTC R:AGAGCTTTTAGGACAGCCACC	۱۸	AF098961
BMS678	F:ACCATCTACTGTGCTATGGCTT R:GCAGAAACACAATACTCAGTGC	۲	G18734
OARCP49	F:CAGACACGGCTTAGCAACTAAACGC R:GTGGGGATGAATATTCCTTCATAAGG	۱۷	U15702



شکل ۱- الگوی باندی نشانگر OARAE129 پس از الکتروفورز

Archive of SID
www.SID.ir

جایگاههای مورد مطالعه از لحاظ تعادل هاردی–واینبرگ به کمک دو آزمون مربع کای‌اسکور و نسبت درست‌نمائی مورد آزمون قرار گرفتند. هتروزایگوسیتی متوسط (تنوع ژنی) بازاء تمامی جایگاهها با فرمول زیر محاسبه شد:

$$H = \sum_{k=1}^{r} H_k \Big/ r$$

که در آن r تعداد جایگاههای مورد بررسی وHK میزان هتروزایگوسیتی برای k امین جایگاه می‌باشد (۱۷). با توجه به اینکه حد نهایی هتروزایگوسیتی برای هر تعدادی از آللها یکسان (برابر با یک) است، معیارهای هتروزایگوسیتی به افزایش تنوع زیاد حساس نمی‌باشند. این محدودیت، تفکیک بین جمعیتها را با استفاده از جایگاههای بسیار متغیر همچون ریزماهواره‌ها (با هتروزایگوسیتی ۰/۸ یا بیشتر) دشوار می‌سازد. در این موارد، استفاده از شاخص اطلاعات شانون برای مقایسه تنوع موجود در ترکیب جمعیت - نشانگر مناسبتر است (۱۸). در این پژوهش شاخص اطلاعات شانون (I) با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد (۱۰ و ۱۳):

$$H' = -\sum_i p_i \ln p_i$$

از آماره‌ای موسوم به محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) نیز برای تعیین میزان چندشکلی یک جایگاه استفاده شد:

$$PIC = 1 - (\sum_{i=1}^{k} p_i^2) - \sum_{i=1}^{k-1} \sum_{j=i-1}^{k} 2 p_i^2 p_j^2$$

که در آن k تعداد آللها و pi و pj فراوانیهای i و j اُمین آلل در جمعیت مورد مطالعه می‌باشد (۹). در این مطالعه آزمون‌های تعادل هاردی– واینبرگ، ، تعداد آلل واقعی و تعداد آلل مؤثر، مقادیر هتروزایگوسیتی و شاخص شانون با استفاده از نرم‌افزارهای POPGENE نسخه ۱/۳ و GENALEX نسخه ٦ و معیار PIC با استفاده از نرم افزار HET نسخه ۱/۸ برآورد شدند (۱۹، ۲۰ و ۲۲).

نتایج

واکنش‌های PCR برای تمامی آغازگرها به خوبی انجام گردید (شکل ۱). یک آلل اختصاصی در یک جایگاه (BMS460) برای این جمعیت بدست آمد ولی فراوانی قابل ملاحظه‌ای نداشت (۰/۱٤۳). دامنه آللـــی به دست آمده برای جایگاه‌ها در جدول ۱ مطابق با نتایج Maddox و همکاران (۲۰۰۰) بود (۱۹).

براساس آزمون‌های کای‌مربع و نسبت درست‌نمایی همه نشانگرها انحراف بسیار معنی‌داری را از تعادل هاردی–واینبرگ نشان دادند (P<۰/۰۰۱). نتایج مربوط به پارامترهای جمعیتی ۱۵ نشانگر ریزماهواره در جمعیت گوسفندان زندی که شامل محاسبات تعداد آللهای مشاهده شده (Na)، تعداد آللهای موثر (Ne)، هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Ho)، هتروزیگوسیتی مورد انتظار (He)، شاخص رایت (F)، محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC)، و شاخص اطلاعات شانن (I) می‌باشد، در جدول ۲ ارائه شده است. در مجموع تعداد ۱۲۰ آلل مشاهده گردید. نشانگرهای (BMS460 و MCMA2) و نشانگر MAF64 به ترتیب دارای بیشترین و کمترین تعداد آلل مشاهده شده بود. بیشترین و کمترین تعدادآلل موثر نیز به ترتیب مربوط به نشانگرهای MCMA2 (۱۰/٤۳) و MAF64 (۳/۲٤) بود. بنابازی و همکاران (۱۳۸۱) در مطالعه‌ای بر روی ۵ نژاد از گوسفندان ایران، تعداد آلل مشاهده شده کمتری را برای جایگاههای MCMA2، MCMA26 و MAF64 و تعداد آلل مشاهده شده بیشتری را برای جایگاه OARCP26 گزارش کردند.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۲- پارامترهای جمعیتی ۱۵ نشانگر ریزماهواره در جمعیت گوسفندان زندی

نشانگر	N_a	N_e	H_o	H_e	F	PIC	I
MCMA2	۱۲	۱۰/۴۳	۰/۹۷۳	۰/۹۰۴	−۰/۰۷۷	۰/۸۹۶	۲/۴۱
MCM63	۸	۶/۳۲	۱/۰۰۰	۰/۸۴۲	−۰/۱۸۸	۰/۸۲۳	۱/۹۵
BMS460	۷	۶/۲۷	۱/۰۰۰	۰/۸۴۱	−۰/۱۹۰	۰/۸۲۰	۱/۷۹
BM1815	۶	۵/۱۳	۰/۹۹۲	۰/۸۰۵	−۰/۲۳۲	۰/۷۷۶	۱/۷۰
OARCP26	۴	۲/۹۶	۱/۰۰۰	۰/۶۶۲	−۰/۵۱۱	۰/۶۰۱	۱/۲۰
OARFCB20	۶	۴/۸۹	۰/۹۹۱	۰/۷۹۶	−۰/۲۴۶	۰/۷۶۶	۱/۶۸
OARAE129	۶	۵/۰۷	۱/۰۰۰	۰/۸۰۳	−۰/۲۴۵	۰/۷۷۴	۱/۶۹
MAF64	۵	۴/۱۰	۰/۹۶۷	۰/۷۵۶	−۰/۲۷۸	۰/۷۱۵	۱/۶۸
BMS332	۷	۵/۴۹	۰/۹۵۶	۰/۸۱۸	−۰/۱۶۹	۰/۷۹۴	۱/۸۱
LSCV38	۸	۵/۴۸	۰/۹۸۳	۰/۸۱۷	−۰/۲۰۳	۰/۷۹۵	۱/۸۶
BM6444	۸	۵/۷۵	۰/۹۸۳	۰/۸۲۶	−۰/۱۹۱	۰/۸۰۴	۱/۸۹
BMS995	۱۱	۱۰/۱۳	۰/۹۶۶	۰/۹۰۱	−۰/۰۷۲	۰/۸۹۳	۲/۳۵
MCMA26	۱۱	۹/۶۱	۱/۰۰۰	۰/۸۹۶	−۰/۱۱۶	۰/۸۸۷	۲/۳۳
BMS678	۱۲	۱۱/۲۰	۰/۹۷۴	۰/۹۱۱	−۰/۰۷۰	۰/۹۰۴	۲/۴۵
OARCP49	۹	۷/۵۸	۱/۰۰۰	۰/۸۶۸	−۰/۱۵۲	۰/۸۶۸	۲/۱۰
میانگین	۸	۶/۶۹	۰/۹۸۶	۰/۸۳۰	−۰/۱۹۶	۰/۸۰۸	۱/۹۲
خطای معیار	۰/۶۵	۰/۶۵	۰/۰۰۴	۰/۰۱۷	۰/۰۲۸	۰/۰۲۱	۰/۰۹

میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار در جمعیت گوسفندان زندی به ترتیب برابر با ۰/۹۸٦ و ۰/۸۳۰ بود که نشان‌دهنده سطح بالایی از هتروزیگوسیتی در جمعیت مورد مطالعه بوده است. بیشترین و کمترین ارزش PIC به ترتیب مربوط به جایگاه BMS678 (۰/۹۰٤) و جایگاه OARCP26 (۰/٦۰۱) می‌باشد. مادوکس و همکاران (۲۰۰۰) مقادیر تقریبا مشابهی را برای دو جایگاه MCMA2 (۰/۸۹) و MCMA26 (۰/۸٦) گزارش نموده‌اند (۱۵). میانگین شاخص اطلاعات شانون نیز در جمعیت مورد مطالعه بالا بود (۰/۰۹ ± ۱/۹۲). همچنین میانگین Fis (مرتبط با ضریب همخونی) در جمعیت زندی برابر با ۰/۱۹٦- بدست آمد.

بحث

انحراف بسیار معنی‌دار همه نشانگرها از تعادل هاردی-واینبرگ، به دلیل افزایش تعداد هتروزیگوتها نسبت به هموزیگوتها بوده است و مقادیر منفی شاخص رایت (F) مندرج در جدول ۲ تایید کننده آن است. همچنین نرخ بالای جهش در ریز ماهواره‌ها و ایجاد آللهای جدید و وجود آللهای نول در برخی نشانگرها از مهمترین دلایل خروج آنها از تعادل هاردی-واینبرگ است (۱٤). سایر محققین نیز نتایج مشابهی را در ارتباط با بررسی تعادل هاردی-واینبرگ در نشانگرهای مورد نظر بر روی گوسفندان دیگر گزارش نمودند (۷، ۱۱ و ۱۲).

نتایج، حاکی از تنوع بالا در داخل جمعیت مورد مطالعه می‌باشد به نحوی که میانگین هتروزیگوسیتی مورد انتظار در تمامی ترکیبات جایگاه-جمعیت بالا و مناسب (بین ۰/٦٦۲ تا ۰/۹۱۱) می‌باشد. بررسی معیارهای مختلف چندشکلی نیز حاکی از چندشکلی بسیار بالا در جایگاه‌های مورد مطالعه است. بطوری که بر اساس تعریف چندشکلی می‌توان تمام نشانگرهای تکثیر یافته را ۱۰۰ درصد چندشکل در نظر گرفت.

Archive of SID

www.SID.ir

میانگین محتوای اطلاعات چندشکلی در جمعیت به ازای تمام جایگاه‌ها، حاکی از میزان تغییرپذیری در جمعیت است. مقدار عددی این ارزش (۰/۸۰۸)، نشان از تغییرپذیری بسیار بالا در جمعیت مورد مطالعه است. البته مقادیر زیاد ارزش‌های PIC برای جمعیت زندی و جایگاهها در حدی است که از جایگاههای بسیار چندشکل همچون ریزماهواره‌ها انتظار می‌رود. طبق ملاک بوتستین و همکاران (۱۹۸۰) تمام نشانگرهای مورد مطالعه در این پژوهش، محتوای اطلاعات چندشکلی بسیار بالائی داشتند (PIC > ۰/۵) (۸). Maddox و همکاران (۲۰۰۰) مقادیر تقریبا مشابهی را برای دو جایگاه MCMA2 (۰/۸۹) و MCMA26 (۰/۸٦) در مقایسه با جمعیت زندی گزارش نموده‌اند. متوسط شاخص شانن نیز برای تمام جایگاهها بالا بود (۰/۰۹ ± ۱/۹۲)، که این امر نیز حاکی از چندشکلی فراوان این جایگاهها و تائیدی بر مناسب بودن میزان تنوع می‌باشد. شاخص Fis در هرجمعیت، نشان‌دهنده کاهش و یا افزایش فراوانی هتروزیگوسیتی مشاهده شده نسبت به هتروزیگوسیتی مورد انتظار بوده و انعکاس دهنده سیستم آمیزشی (آمیزش تصادفی و غیرتصادفی) در آن است و مقدار منفی این شاخص در جمعیت، نشان دهنده زیادتر بودن فراوانی هتروزیگوسیتی مشاهده شده نسبت به هتروزیگوسیتی مورد انتظار در درون جمعیت و در نتیجه غیرهمخون بودن آنها است .منفی بودن این شاخص در جمعیت مورد مطالعه (۰/۱۹٦-)، نشان از عدم همخونی و وجود تنوع به مقدار کافی در جمعیت فوق است.

بطور کلی نتایج پژوهش حاضر، تنوع ژنتیکی مناسبی را در جمعیت گوسفندان زندی نشان می‌دهد. همچنین می‌توان دریافت که نشانگرهای ریزماهواره‌ای ابزاری بسیار توانمند برای مطالعات ژنتیک جمعیت و بررسی تنوع درون و بین جمعیت‌ها می‌باشند.

تشکر و قدردانی

این تحقیق در آزمایشگاه بیوتکنولوژی مرکز تحقیقات علوم دامی کشور انجام شد. از مساعدت تمامی دوستان بخش بیوتکنولوژی مرکز تحقیقات علوم دامی کشور قدردانی می‌نمایم. همچنین از همکاری جناب مهندس سالاری در انجام آزمایشات، صمیمانه تشکر می‌کنم.

منابع

۱- بنابازی، م. (۱۳۸۱): بررسی تنوع ژنتیکی در درون و بین پنج جمعیت گوسفند ایرانی با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره. پایان نامه کارشناسی ارشد علوم دامی. دانشکده کشاورزی. دانشگاه تهران. ۱۳۰ص.

۲- توکلیان، ج. (۱۳۷۸) : نگرشی بر ذخائر ژنتیکی دام و طیور ایران .انتشارات موسسه تحقیقات علوم دامی کشور.

۳- زاهدی، ز. (۱۳۸۳): بررسی چند شکلی تعدادی از نشانگرهای ریزماهواره در گوسفند بلوچی. پایان نامه کارشناسی ارشد علوم دامی. دانشکده کشاورزی. دانشگاه تربیت مدرس. ۸۹ ص.

٤- ننه‌کرانی، ش. (۱۳۸۹): بررسی تنوع ژنتیکی گوسفندان نژاد پوستی ایران با استفاده از برخی نشانگرهای مولکولی ریزماهواره. رساله دکتری تخصصی علوم دامی، ژنتیک و اصلاح نژاد دام. دانشکده کشاورزی. دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران. ۱٥٤ ص.

5- Arora, R., Bhatia, S., Sehrawat, A., Maity, S. B. and Kundu, S. S. (2008): Genetic variability in Jalauni sheep of India inferred from microsatellite data. National Bureau of Animal Genetic Resources, P.O.Box129, Karnal-132001, Haryana, India.

Archive of SID

www.SID.ir

6- Arora, R., Lakhchaura, B. D., Prasad, R. B. and Tantia, M. S. (2004): Genetic diversity analysis of two buffalo populations of northern India using microsatellite markers. Journal of Animal Breeding and Genetics. 121: 111-118.

7- Arranz, J. J., Bayon, Y. and San Primitivo, F. (2001): Differentiation among Spanish sheep breeds using microsatellites. Genetic Selection and Evolution 33, 529-542.

8- Botstein, D., White, R. L., Skolnick, M. and Davis, R. W. (1980): Construction ofa genetic map in man using restriction fragment length polymorphisms. Amer. Journal of Human Genetic. 32: 314–331.

9- Buchanan F.C. and Thue T. D. (1998): Intra breed polymorphic information content of microsatellites in cattle and sheep. Canadian Journal of Animal Science 78, 425-428.

10- Cornuet, J. M., Piry, S., Luikart, G., Estoup, A. and Solignac, M. (1999): New methods employing multi locus genotypes to select or exclude populations as origins of individuals. Genetics 153, 989-2000.

11- Diez-Tascon, C., Littlejohn, R. P., Almeida, P. A. R. and Crawford, A. M. (2000):Genetic variation within the merino sheep breed: analysis of closely related populations using microsatellites. Animal Genetics 31, 243-251.

12- Farid, A., O`Reilly, E., Dollard, C. and Kelsey. Jr. C. R. (2000): Genetic analysis of ten sheep breeds using microsatellite markers. Canadian Journal of Animal Science 80, 9-17.

13- Hedrick, P. W. (1999): Genetic of populations, Second edition. Jones and Bartlett Publishers, Sudbury, MA, USA.

14- Hedrick, P. W. (2000): Genetic of populations. Second edition. Jones and Bartlett Publishers, Sudbury, MA, USA. Pp 553. ISBN 0 7637 10768. DOI:10.1046/j.1365-2540.2000.0819a.x

15- Maddox, J. F., Riffkin, C. D. and Beh, K. J. (2000): Dinucleotide repeat polymorphism at the ovine McMA1, McMA2, McMA5, McMA8, McMA9, McMA11, McMA14, McMA20, McMA24, McMA26 loci. Animal Genetics 31, 148-149.

16- Media Cybernetics Inc. (1998): GEL-Pro Analyzer software. Version 3.1. Silver Spring MD. USA.

17- Miller, S. A., Dykes, D. D. and Polesky, H. F. (1988): A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. Nucleic Acids Research 16, 1215.

18- Monem, M., Kiyanzad, M. R. and Gharahdagi, A. A. (2006): (Small ruminant breeds of iran) of book Characterization of small ruminant breeds in west asia and north Africa, 3th edition Pp 18-36

19- Ott, J. (1989): Program HET Version 1.10 . Utility programs for analysis of genetic linkage. Rockefeller University. New York, NY, USA. ftp://linkage.rockefeller.edu/software/utilities/.

20- Peakall, R. and Smouse, P. E. (2006): GENALEX 6: genetic analysis in Excel.Population genetic software for teaching and research. Mol Ecol Notes. 6:288-295.

21- Vanhooft, W. F., Hanotte, O., Wenink, P. W., Groen, A. F., Sugimoto, Y. H., Prins, H. T. and Teale, A. (1999): Applicability of Bovine Microsatellite Markers for Population Genetic Studies on African Buffalo (Syncerus caffer). Anim. Genet. 30: 214-220.

22- Yeh, F. C., Yang, R. and Boyle, T. (1999): POPGENE. Version 1.31. Microsoft Window–based Freeware for Population Genetic Analysis, University of Alberta. Edmonton, AB, Canada

Archive of SID

www.SID.ir

Archive of SID

www.SID.ir