Archive of SID

مجله پژوهش‌های علوم دامی/ جلد ۱۹ شماره ۱/ سال ۱۳۸۸

بررسی تنوع و رابطه ژنتیکی شش توده مرغ بومی ایران با استفاده از نشانگرهای RAPD

نصراله پیرانی[1*]، قربان الیاسی زرین قبایی[2] و اکبر تقی زاده[1]

تاریخ پذیرش: 88/2/27

1- گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

2- بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی آذربایجان شرقی

* مسئول مکاتبه E-mail: npirany@gmail.com

چکیده

هدف از انجام این تحقیق مطالعه تنوع و تعیین رابطه ژنتیکی ۶ توده از مرغان بومی کشور با استفاده از ۱۰ عدد نشانگر RAPD بود. در مجموع تعداد ۱۵۶ نمونه خون از هر کدام از جمعیت‌های بومی فارس، بومی مازندران، دشتیاری، لاری، مرندی و گردن لخت جهت اندازه‌گیری شاخصهای تنوع درون و بین نژادی مورد استفاده قرار گرفتند. جهت مقایسه توانایی‌های بالقوه این جمعیت‌ها، نمونه‌های DNA از دو سویه پر تولید تجاری یعنی مرغ مادر گوشتی و تخمگذار نیز استفاده گردید. تعداد نوارهای حاصله از ۹ تا ۱۵ نوار و با میانگین ۱۲ عدد متغیر بود. درصد چندشکلی نوارها از ۶۸/۱ تا ۹۴/۳ برای نشانگرها و از ۶۹/۴ تا ۸۵/۹ برای جمعیتها متغیر بود و متوسط آن برای جمعیتها و نشانگرها ۷۹/۶ درصد بود. متوسط هتروزیگوسیتی به طور کلی پایین (۰/۲۷) و از ۰/۲۴ برای جمعیت بومی فارس تا ۰/۳۰ برای جمعیت مرندی متغیر بود. فاصله ژنتیکی نیز از ۰/۰۱۹۴ (بین جمعیت مرندی و دشتیاری) تا ۰/۰۷۱۶ (بین سویه مادر تخمگذار و گردن لخت) متغیر بود. در دندروگرام ترسیم شده سه گروه ژنتیکی حاصل شد، گروه اول شامل مرغ مادر گوشتی، مرغ بومی فارس و لاری؛ گروه دوم شامل مرغ مادر تخمگذار، دشتیاری و بومی مازندران و گروه سوم نیز شامل مرندی و گردن لخت بود. در نتیجه نشانگرهای RAPD توانستند تا حدی جمعیت‌های مورد مطالعه را گروه‌بندی نمایند.

واژه‌های کلیدی: تنوع ژنتیکی، توده مرغ بومی ایران، چندشکلی ژنتیکی، نشانگر RAPD

Genetic diversity and Genetic Relationship of 6 Iranian Native Chicken Populations Using RAPD Markers

N Pirany[1*], Gh Elyasi Zarringhabaie[2] and A Taghizadeh[1]

[1]Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
[2]East Azerbaijan Research Center for Agriculture and Natural Resources
*Corresponding author: E-mail: npirany@gmail.com

Abstract

The aim of the present study was to assess the genetic variation and establish the relationship amongst the six Iranian native chicken populations using 10 RAPD DNA markers. A total of 156 unrelated DNA samples from Fars, Mazandrani, Dashtiari, Lari, Mrandi and Naked neck chicken

www.SID.ir

Archive of SID

populations were genotyped to estimate within and between breed genetic diversity indices. To compare the productive potential of native chicken populations, the DNA samples from two commercially productive chicken strains namely maternal layer and egg type chickens were also used. Numbers of bands were varied from 9 to 15 with average of 12. Polymorphic percentage of bands for loci ranged from 68.1 to 94.3 and for populations from 69.4 to 85.9 and its average over loci and population was 79.6. Average genetic heterozygosity was low (0.27) and varied from 0.24 for Fars population to 0.30 for Marandi. The genetic distance obtained ranged from 0.0194 (between Mazandrani and Dashtiari)) to 0.0716 (between Maternal egg strain and Necked neck). The phylogenetic tree showed three main clusters, the first one included maternal meat type, Fars and Lari; second included maternal egg type, Dashtiari and Mazandrani; while the third cluster included Marandi and Nacked neck. It can be concluded that the RAPD markers in this study could nearly group the studied populations.

Keywords: Genetic diversity, Genetic polymorphism, Iranian native chicken, RAPD markers

مقدمه

توده‌های بومی در هر کشور بعنوان یک سرمایه ملی و محصول کلیدی مطرح می‌باشند که حفظ و تکثیر آنها از ارزش و اهمیت بسیاری برخوردار است، زیرا این موجودات بعد از هزاران سال انتخاب طبیعی و گذر از موانع بسیار و با غلبه بر تمامی ناملایمات و شرایط نامساعد محیطی همچنان به حیات خویش ادامه داده و به تکثیر و ازدیاد نسل پرداخته‌اند. مرغان بومی با هزینه بسیار پایین در شرایط روستایی، درآمد قابل توجهی تولید می‌نمایند. بنابراین حفظ این نژادها و برنامه ریزی جهت افزایش تولید و سودآوری آنها امری بسیار ضروری می‌باشد(کیانی منش و همکاران ۱۳۸۰). مرغان بومی علاوه بر اهمیتی که در بهبود اقتصاد خانوارهای روستایی دارند، یک ذخیره مهم ژنتیکی هستند که حفاظت از آنها برای نسل‌های آینده نیز ضروری است (زهری ۱۳۴۹)، چرا که در بسیاری موارد با گذشت زمان و پیشرفت علم و آگاهی بیشتر نسبت به اهمیت اقتصادی صفات مختلف، نیازهای جدید مطرح می‌شود که متخصصین اصلاح نژاد را بر آن می‌دارد که از ژنوم توده های بومی استفاده نمایند. لزوم حفظ ذخایر ژنتیکی طیور بومی و نیز استفاده از این موجودات به عنوان مواد ژنتیکی پایه در برنامه‌های اصلاح نژادی طیور کشور، کسب اطلاعات و شناخت دقیقتر از این حیوانات را ضروری می‌سازد (میرحسینی ۱۳۶۹).

امروزه حفظ ذخایر ژنتیکی از اهداف مهم اصلاح نژادی محسوب می‌شود (توکلیان ۱۳۷۸). در سالهای اخیر جهت تعیین تنوع ژنتیکی جمعیت‌ها و حیوانات حفاظت شده، نشانگرهای مولکولی کاربرد گسترده‌ای پیدا کرده‌اند، لذا میزان چندشکلی بدست آمده از این نشانگرها، یکی از پارامترهای قابل ارزیابی برای مطالعه جمعیت‌ها و درک تفاوت‌های ژنتیکی بین آنهاا محسوب می‌شود (شهبازی آذر بریس ۱۳۸۲). در این میان نشانگرهای مولکولی که قادر هستند تفاوتهای ژنتیکی را در سطح مولکول DNA مشخص نمایند، وسیله مطمئن‌تری برای دستیابی به تفاوتهای ژنتیکی موجودات محسوب می‌شوند، لذا محققین زیادی در دنیا از این روش‌ها برای اهداف مختلف استفاده می‌کنند. نشانگرهای RAPD، یکی از نشانگرهای DNA محسوب می‌شوند

www.SID.ir

Archive of SID

که در آن از آغازگرهای تصادفی استفاده می‌شود. مطالعات زیادی با استفاده از این نشانگر در مرغان اهلی انجام شده است. از جمله زانگ و همکاران (۲۰۰۲ الف) چندشکلی موجود در آلوآنزیم‌ها، RAPD و نشانگرهای ریزماهواره را جهت بررسی تنوع موجود بین پنج جمعیت از مرغان بومی کشور چین مورد استفاده قرار دادند. دو لاین از مرغان گوشتی که دارای رشد سریع بودند و یک لاین از مرغان تخمگذار نیز در مطالعه فوق مورد استفاده قرار گرفتند. کمترین میانگین هتروزیگوسیتی با آلوآنزیم‌ها (۰/۲۲۰۹)، هتروزیگوسیتی متوسط از RAPD (۰/۲۶۳۲) و بیشترین مقدار از آن نشانگرهای ریزماهواره‌ای بود (۰/۷۵۹۱). زانگ و همکاران (۲۰۰۲ ب) در مطالعه دیگری با همان ترکیب جمعیتی بجای آلوآنزیم‌ها نشانگرهای پروتئینی را در کنار نشانگرهای RAPD و ریزماهواره‌ها بکار بردند که در نتیجه تنوع حاصل از چندشکلی پروتئینی تمایز قابل مشخصی را بین جمعیت‌های بومی با لاین‌های گوشتی نشان نداد.

میرحسینی و دهقانزاده (۱۳۸۲) تنوع ژنتیکی مرغان بومی ایستگاه اصلاح نژاد مرغ بومی استان فارس را با استفاده از نشانگرهای RAPD مورد بررسی قرار دادند. آنها DNA ژنومی را با استفاده از ۱۰ آغازگر تصادفی ۱۰ نوکلئوتیدی تکثیر نمودند. از مجموع آغازگرهای مورد استفاده تعداد ۱۳۰ نوار بدست آمد که تعداد ۶۳ عدد از نوارها (۴۸/۵ درصد) چندشکل بودند. طول قطعات تکثیر یافته در آغازگرهای مختلف بین ۲۳۷ تا ۳۲۴۰ جفت باز متغیر بوده است و شاخص تنوع ژنتیکی در این جمعیت به میزان ۰/۱۶ برآورد گردید. در تحقیق دیگری توسط دهقانزاده و میرحسینی (۱۳۸۳الف) تنوع ژنتیکی ۳ جمعیت مرغان بومی جمع‌آوری شده از استانهای مازندران، یزد و آذربایجان غربی با استفاده از نشانگرهای RAPD مورد بررسی قرار گرفت. تعداد باندهای چندشکل در کل جمعیتها حدود ۶۳/۸۴ برآورد شد. متوسط درصد چندشکلی در بین جمعیتها از ۴۶/۴ برای جمعیت مازندرانی تا ۵۳/۵ برای جمعیت یزدی متغیر بوده است. این مقدار برای جمعیت آذربایجان غربی ۵۲/۰ درصد برآورد شده است. در نهایت نتیجه گرفته شد که تنوع موجود در بین توده مرغان بومی کشور پایین است و خطر انقراض این جمعیتها را تهدید می‌کند.

خان‌احمدی و همکاران (۱۳۸۶) نیز به منظور شناسایی واریانس ژنتیکی مرغان ایستگاه تکثیر و اصلاح نژاد مرغ بومی مازندران از نشانگرهای RAPD استفاده کرده‌اند. میزان چندشکلی حدود ۴۵ درصد بدست آمد. این محققین در نهایت چنین نتیجه گرفته‌اند که سطح بالای چندشکلی بعد از ده نسل انتخاب نتیجه ارزیابی درست ژنتیکی، راه کارهای انتخاب مناسب و همچنین اندازه مؤثر جمعیت بوده است. تحقیق حاضر به منظور پوشش تعدادی از کاستی‌های تحقیقات پیشین به منظور مطالعه تنوع ژنتیکی بین و درون ۶ جمعیت از توده مرغان بومی کشور (گردن لخت، مرندی، دشتیاری، بومی فارس، بومی مازندران، لاری) به همراه دو سویه از مرغان مادر تخمگذار و گوشتی که به صورت صنعتی گوشت و تخم‌مرغ کشور را تولید می‌نمایند انجام شده است.

مواد و روش‌ها

برای انجام این تحقیق تعداد ۸ جمعیت از مرغان اهلی مورد استفاده قرار گرفت که از این تعداد، ۶ جمعیت مربوط به توده مرغان بومی کشور (۱۹ مرغ بومی فارس، ۲۰ مرغ بومی مازندران، ۲۳ مرغ دشتیاری، ۱۲ مرغ گردن لخت، ۲۳ مرغ لاری و ۱۵ مرغ مرندی) و دو جمعیت از سویه‌های تجاری گوشتی[1] و تخمگذار[2] (۲۰ مرغ مادر گوشتی و ۲۴ مرغ تخمگذار) بود. از هر پرنده حدود ۱ میلی‌لیتر خون با استفاده از سرنگ از طریق

[1] Ross 308
[2] Hy-Line

www.SID.ir

Archive of SID

ورید زیر بالی گرفته شد و بلافاصله داخل تیوبهای ۱/۵ میلی‌لیتری که محتوی ماده ضد انعقاد خون (EDTA) بودند ریخته شد و تا زمان استخراج DNA در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد قرار گرفتند. استخراج DNA به روش بیلز و همکاران (۲۰۰۷) از ۱۰-۵ میکرولیتر خون انجام شد. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز به حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر و ۳۵ چرخه با استفاده از ۱۰ عدد اغازگر (جدول ۱) و با ترکیب ۱/۵ میلی‌مولار $MgCl_2$، ۱/۵ واحد آنزیم *Taq* DNA Polymerase، ۲۰۰ میکرومولار dNTP's، ۱۰۰ نانوگرم DNA هدف، ۴۰ پیکومول آغازگر و بافر واکنش ۱ برابر انجام شد. بدین منظور برنامه حرارتی شامل واسرشت کردن نمونه‌ها ۹۴ درجه سانتیگراد به مدت ۱ دقیقه، اتصال آغازگر در ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۱ دقیقه و بسط DNA در ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۱/۵ دقیقه و بسط نهایی به مدت ۱۰ دقیقه برای هر کدام از نمونه‌ها مورد استفاده قرار گرفت.

محصولات تکثیر شده بر روی ژل آگارز ۱/۵% الکتروفورز و با اتیدیوم برماید رنگ آمیزی شده سپس عکسبرداری و امتیاز دهی گردیدند (مقیاس صفر و یک). جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزارPOPGENE (یه و همکاران ۱۹۹۹) استفاده شد. خصوصیات مربوط به آللها از قبیل تعداد باندهای چندشکل و تک‌شکل، تعداد آلل و همچنین تنوع ژنتیکی (نئی ۱۹۷۳) و تعادل هاردی- واینبرگ برای هر آلل و جمعیت، محاسبه گردید و در نهایت فاصله و شباهت ژنتیکی ناریب (نئی ۱۹۷۸) برآورد شد و درخت فیلوژنتیکی با روش UPGMA[1] و با استفاده از نرم افزار TREEVIEW (پیج ۱۹۹۶) ترسیم گردید. درختهای فیلوژنتیک با استفاده از کل داده‌ها و همچنین با حذف اطلاعات مربوط به آغازگرهایی که دارای داده‌های گم شده زیادی بودند انجام شد.

جدول 1- نام و توالی آغازگرهای مورد استفاده در این تحقیق

آغازگر	توالی ('3 — '5)	آغازگر	توالی ('3 — '5)
M2	GCACTGAGTA	E1	GAAACGGGTG
M18	GCTAGCTACTG	E5	AGGCCCCTGT
M25	CTCAGGCTATGC	E6	ATGCCCCTGT
M26	CGAACCTGATC	E7	AAAGCTGCGG
M27	GCTTGCAGATC	E8	ACCCCGAAG

نتایج و بحث

تمام آغازگرهای مورد استفاده در این تحقیق توانستند نوارهای مناسب و قابل قبولی از DNA ژنومی را در جمعیتهای مورد بررسی تکثیر نمایند. تعداد نوارهای حاصله از ۹ (آغازگرهای E7 و M27) تا ۱۵ عدد (آغازگرهای E1 و E5 و M25) متغیر بود. در مجموع نیز ۱۲۰ نوار حاصل شد که به طور متوسط ۱۲ نوار به ازای هر آغازگر ایجاد شد. درصد چندشکلی برای هر آغازگر و جمعیت از ۳۰ تا ۱۰۰ درصد متغیر بود (جدول ۲). درصد چندشکلی آغازگرها از ۶۸/۱ تا ۹۴/۳ و برای جمعیتها نیز از ۶۹/۴ تا ۸۵/۹ متغیر بود. میانگین درصد چندشکلی برای کل جمعیتها و آغازگرها نیز ۷۹/۶ بدست آمد. در تکنیک RAPD میزان تکثیر DNA ژنومی کاملا تصادفی بوده و بستگی به میزان مشابهت توالی انتخاب شده با DNA ژنومی دارد. تعداد نوارهای حاصله نه تنها به توالی آغازگر مورد استفاده بلکه به شرایط واکنش هم بستگی دارد. تعداد نوارهای حاصله توسط این نشانگر در گزارشات سایر محققین نیز در همین محدوده می‌باشد مثلا دهقانزاده و میرحسینی(۱۳۸۳ب) با استفاده از ۱۰ آغازگر RAPD در پنج جمعیت از مرغان بومی کشور (مازندران، اصفهان، فارس، یزد و آذربایجان غربی) تعداد نوارها را از ۴ تا ۱۹ (متوسط ۱۳) و درصد چندشکلی را ۶۶/۱۵ گزارش نموده‌اند. خان‌احمدی و همکاران (۱۳۸۶) از ۱۴ آغازگر تصادفی استفاده شده برای مطالعه تنوع ژنتیکی مرغان بومی مازندران تعداد ۶ تا ۱۶ (متوسط ۱۰) نوار بدست آوردند و چندشکلی در جمعیت را ۴۵ درصد گزارش نمودند. در صورتی که خسروی‌نیا و همکاران

[1]Unweighted Pair Group Average Method

www.SID.ir

Archive of SID

(۲۰۰۵)، در ۵ جمعیت از مرغان سنتز شده در کشور هند تعداد ۳ تا ۶ عدد نوار (متوسط ۴/۳۳) را با استفاده از ۱۰ آغازگر تصادفی بدست آوردند و میزان چندشکلی در جمعیتها را نیز ۵۰ درصد گزارش کردند.

یکی از اهداف ژنتیک جمعیت توصیف میزان تنوع ژنتیکی در جمعیت و مطالعه چگونگی تداوم این تنوع می‌باشد. تنوع ژنتیکی ممکن است در سطوح مختلفی اندازه گیری شود اما از منظر مولکولی این مقدار عبارت از تنوع آللی در جایگاههای ژنی است که توسط روش الکتروفورز تعیین می‌شوند. ژنوم موجودات عالی همانند مرغ دارای جایگاههای ژنی بسیار زیادی می‌باشند و برای اندازه‌گیری دقیق مقدار تنوع ژنتیکی بهتر است تمام این جایگاهها بررسی شوند. این امری تقریبا محال بوده و در عمل تنها بخش کوچکی از ژنوم مورد مطالعه قرار می‌گیرد. شاخص دیگری که می‌تواند بیانگر مقدار تنوع ژنتیکی باشد همان متوسط هتروزیگوسیتی یا تنوع ژنی می‌باشد. این شاخص تحت تاثیر چندشکلی آللها قرار نگرفته بلکه متاثر از فراوانی آللها می‌باشد (نئی ۱۹۸۷).

جدول 2- کل نوارهای مشاهده شده و درصد چندشکلی در هر جمعیت و آغازگر

آغازگر	کل نوارها	بومی فارس	بومی مازندران	مادر گوشتی	دشتیاری	لاری	مادر تخمگذار	مرندی	گردن لخت	میانگین
E1	15	81/2	100/0	100/0	93/7	93/7	93/7	87/5	62/5	89/1
E5	15	86/8	80/0	100/0	86/6	86/6	93/3	93/3	73/3	87/5
E6	10	50/0	80/0	70/0	90/0	70/0	80/0	90/0	90/0	72/5
E7	9	88/9	66/7	88/9	88/9	44/4	88/9	88/9	33/3	73/6
E8	10	30/0	70/0	80/0	100/0	80/0	100/0	80/0	40/0	72/5
M2	14	85/7	78/6	92/8	85/7	78/6	78/6	85/7	83/7	83/9
M18	10	60/0	60/0	70/0	70/0	70/0	80/0	80/0	70/0	70/0
M25	15	60/0	73/3	66/7	60/0	60/0	73/3	73/3	80/0	68/3
M26	13	100/0	92/3	92/3	100/0	100/0	93/3	93/3	84/6	94/3
M27	9	55/5	55/5	77/8	77/8	55/6	77/8	88/9	55/5	68/1
میانگین جمعیت	12	71/9	77/7	85/1	85/1	76/0	85/9	85/9	69/4	79/6

میانگین هتروزیگوسیتی برای جمعیت بومی فارس برای کل آغازگرها مقدار ۰/۲۴ بدست آمد (جدول ۳). این جمعیت توسط دهقانزاده و میرحسینی (۱۳۸۳ب) نیز مورد مطالعه قرار گرفته است که آنان با استفاده از همین تعداد نشانگر تنوع ژنتیکی درون جمعیتی را ۰/۱۶ برآورد کردند. این محققین دلیل پایین بودن میزان تنوع ژنتیکی را به قدمت تشکیل این جمعیت در بین ایستگاههای مرغ بومی نسبت دادند که در آنها انتخاب ژنتیکی نیز صورت می‌پذیرد. پایین بودن تعداد جمعیت اولیه و نیز انتخاب برای حیوانات با تولید برتر و نیز تعداد نسلهای آمیزشی این جمعیت‌ها نیز از سایر دلایل بالا بودن تشابه ژنتیکی درون جمعیتی آنها ذکر شده است.

میانگین هتروزیگوسیتی برای جمعیت بومی مازندران برای کل آغازگرها مقدار ۰/۲۷ بدست آمد. این جمعیت توسط دهقانزاده و میرحسینی (۱۳۸۳ب) نیز مورد مطالعه قرار گرفته است. آنان با استفاده از همین تعداد نشانگر تنوع ژنتیکی درون جمعیتی را ۰/۱۵۶ برآورد کردند. تنوع ژنتیکی درون این جمعیت توسط نشانگرهای ریزماهواره (شهبازی اذربریس و میر

www.SID.ir

Archive of SID

حسینی ۱۳۸۴) و RAPD (دهقانزاده و میر حسینی ۱۳۸۳الف، خان‌احمدی و همکاران ۱۳۸۶) نیز بررسی شده است. با نشانگرهای ریزماهواره میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار به ترتیب ۰/۶۲۶۷ و ۰/۷۲۷۵ و میانگین هموزیگوسیتی به ترتیب ۰/۳۷۳۳ و ۰/۲۷۲۵ گزارش شد، در صورتی که این مقادیر با استفاده از نشانگرهای RAPD از ۰/۱۱ (خان‌احمدی و همکاران ۱۳۸۶) تا ۰/۱۵۶ (دهقانزاده و میرحسینی ۱۳۸۳ب) گزارش شده است. چنانکه ملاحظه می‌شود مقادیر تنوع ژنتیکی مشاهده شده در این تحقیق برای این جمعیت یک سوم مقادیر گزارش شده توسط نشانگرهای ریزماهواره و حدود ۲ برابر مقادیر گزارش شده توسط نشانگرهای RAPD است که توسط سایر محققین گزارش شده است. مقادیر بالای تنوع ژنتیکی توسط نشانگرهای ریزماهواره توسط سایر محققین نیز گزارش شده است (جن هوا و همکاران ۲۰۰۲). دلایل چندی برای این تفاوتها ذکر شده است که عبارتند از: ۱- استفاده از کل نشانگرها (چندشکل و یک‌شکل) در تجزیه و تحلیل‌های مربوط به نشانگرهای RAPD در صورتیکه نشانگرهای ریزماهواره از نظر ماهیتی عمدتا چندشکل هستند ۲- هر کدام از انواع نشانگرها چندشکلی‌های متفاوتی از سطح DNA را بیان می‌کنند، مثلا تفاوت در واحدهای تکراری در ریزماهواره‌ها باعث تنوع آللی می‌شود در صورتی که در RAPD این امر در نتیجه جهش‌های نوکلئوتیدی و یا حذف و اضافه شدنها بوجود می آید.

مقادیر هتروزیگوسیتی از ۰/۲۱ برای آغازگر M25 تا حداکثر ۰/۳۶ برای آغازگر M26 متغیر بود. همانطور که در جدول ۳ ملاحظه می‌شود میانگین کل هتروزیگوسیتی برای کل جمعیتها و آغازگرهای مورد استفاده ۰/۲۷ بدست آمد. این مقدار از میزان تنوع ژنتیکی گزارش شده توسط دیگر محققین کشور کمتر ولی خیلی نزدیک به گزارش زانگ و همکاران (۲۰۰۲ الف) می‌باشد. آنان میزان هتروزیگوسیتی در میان ۸ جمعیت از مرغان کشور چین را با استفاده از نشانگرهای RAPD (در مقایسه با آلوآنزیم‌ها (۰/۲۲۰۹) و نشانگرهای ریزماهواره‌ای (۰/۷۵۹۱)) به میزان متوسط ۰/۲۶۳۲ اعلام کردند که تقریباً نزدیک به نتایج حاصل از این تحقیق می‌باشد.

جدول 3- میانگین هتروزیگوسیتی برای آغازگر و جمعیت‌های مورد بررسی

جمعیت	E1	E5	E6	E7	E8	M18	M2	M25	M26	M27	میانگین جمعیت
بومی فارس	0/27	0/26	0/14	0/30	0/14	0/22	0/28	0/17	0/39	0/21	0/24
بومی مازندران	0/34	0/23	0/25	0/24	0/21	0/24	0/31	0/23	0/38	0/23	0/27
مادر گوشتی	0/34	0/32	0/22	0/28	0/23	0/31	0/32	0/20	0/37	0/27	0/29
مادر تخمگذار	0/31	0/23	0/33	0/30	0/28	0/26	0/35	0/20	0/37	0/29	0/29
دشتیاری	0/35	0/24	0/19	0/09	0/28	0/23	0/27	0/15	0/38	0/21	0/25
لاری	0/28	0/20	0/28	0/29	0/27	0/29	0/26	0/24	0/35	0/33	0/28
مرندی	0/28	0/31	0/33	0/32	0/26	0/29	0/32	0/23	0/34	0/35	0/30
گردن لخت	0/21	0/28	0/33	0/16	0/09	0/29	0/32	0/27	0/34	0/21	0/26
میانگین آغازگر	0/30	0/26	0/26	0/25	0/22	0/27	0/30	0/21	0/36	0/26	0/27

نتایج حاصل از بررسی تعادل هاردی - واینبرگ جمعیتها در جدول ۴ آورده شده است. حداقل و حداکثر

www.SID.ir

Archive of SID

تعداد و درصد نوارهایی که در حالت تعادل نبودند به ترتیب از ۱ تا ۸ و ۸ تا ۵۷ درصد متغیر بود. آغازگرهای M25 و M2 به ترتیب با ۴۰ و ۵۷ درصد بیشترین عدم تعادل در تعداد کل باندهای حاصله را نشان دادند. عوامل متعددی از جمله دیپلوئید بودن حیوان، عدم تداخل نسلها، متفاوت بودن فراوانیهای آللی در نرها و ماده‌ها، تصادفی بودن آمیزشها، بزرگ بودن جمعیت، عدم وجود مهاجرت و انتخاب در ثابت بودن فراوانی‌های آللی و ژنوتیپی از نسلی به نسل بعد نقش دارند (نئی ۱۹۸۷). بررسی وجود تعادل در هنگام استفاده از نشانگرهای RAPD کمتر مورد توجه قرار گرفته و در گزارش سایر محققین کمتر به چشم می‌خورد.

جدول 4- نتیجه آزمون تعادل هاردی - واینبرگ برای آغازگرهای مورد استفاده

آغازگر	تعداد نوار	تعداد نوار در عدم تعادل	درصد عدم تعادل	آغازگر	تعداد نوار	تعداد نوار در عدم تعادل	درصد عدم تعادل
E1	15	3	20	M18	10	3	30
E5	15	4	27	M2	14	8	57
E6	10	3	30	M25	15	6	40
E7	9	3	33	M26	13	1	8
E8	10	3	30	M27	9	2	22

ماتریس شباهت و فاصله ژنتیکی نااریب نئی (۱۹۷۸) بین جمعیتهای مورد بررسی در جدول ۵ آورده شده است. کمترین شباهت ژنتیکی (۰/۹۳۰۹) بین جمعیتهای مادر تخمگذار و مرغان گردن لخت و بیشترین مقدار (۰/۹۸۰۸) بین جمعیت بومی مازندران و دشتیاری مشاهده شد.

با استفاده از فاصله ژنتیکی نااریب محاسبه شده، درختهای فیلوژنی با استفاده از روش UPGMA و برای کل دادها ترسیم شد (شکل ۱). جمعیتهای مورد مطالعه در دو گروه کلی قرار گرفتند، گروه اول شامل جمعیت گردن لخت و جمعیت مرغان مادر تخمگذار که با فاصله و بطور جداگانه قرار گرفته‌اند. گروه دوم شامل بقیه جمعیتهای مورد مطالعه است که درون آنها نیز روابط دیگری برقرار است. در این گروه دو جمعیت بومی مازندران و جمعیت دشتیاری با فاصله ژنتیکی کم (۰/۰۱۹۴) در کنار هم قرار گرفته، جمعیت بومی فارس و مرغان لاری نیز در کنار همدیگر گروه دیگری را تشکیل دادند. در مرتبه بعد مرغان مرندی با پیوستن به جمعیتهای بومی مازندران و دشتیاری یک گروه سه تایی تشکیل دادند.

با توجه به اینکه آغازگرهای E7 و M27 دارای بیشترین داده گم شده (تکثیر نشده) بودند لذا جهت جبران این نقص روابط فیلوژنتیکی بدون استفاده از این دو آغازگر نیز انجام شد که نتایج در شکل ۲ آورده شده است. در این حالت دندروگرامهای ترسیم شده تفاوتهایی با حالتی که از تمام اطلاعات استفاده شده بود نشان داد. همانند حالت قبل، مرغان دشتیاری و بومی مازندران مجدداً در یک گروه و همچنین مرغان بومی فارس و مرغان لاری هم با همدیگر قرار گرفتند. به طور کلی در این حالت سه گروه کاملا مشخص دیده شد:

۱- مرغان مادر گوشتی با پیوستن به گروه بومی فارس و لاری تشکیل یک گروه دادند.

۲- مرغان مادر تخمگذار با پیوستن به گروه بومی مازندران و دشتیاری تشکیل گروهی دیگر را دادند.

www.SID.ir

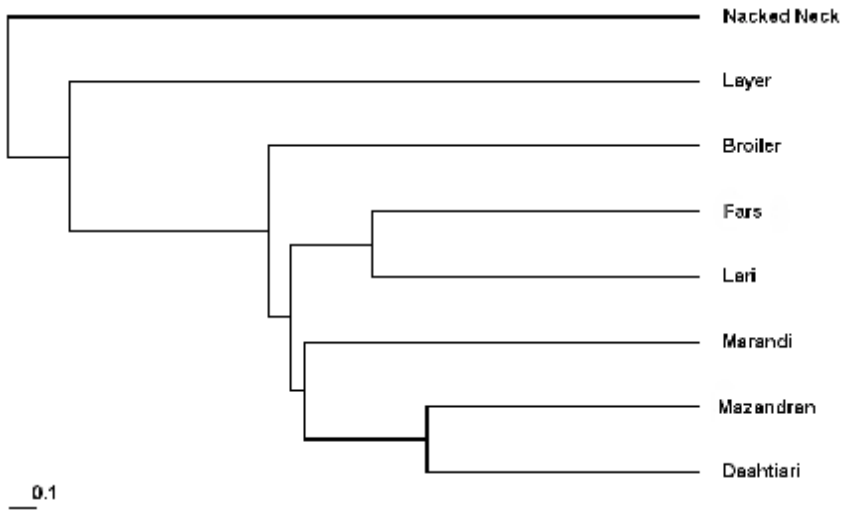
Archive of SID

۳- مرغان مرندی و گردن لخت نیز در یک گروه جداگانه قرار گرفتند.

بررسی برخی نتایج حاصله با اطلاعات موجود و ویژگیهای نژادی هر جمعیت قابل توجیه است ولی برای برخی نتایج در این مرحله پاسخی وجود نداشته و لازم است تاریخچه نژادی هر جمعیت مورد بررسی دقیق تری قرار گیرد و یا اینکه منتظر کسب اطلاعات بیشتر از طریق سایر یافته‌های مولکولی بود. مثلا پیوستگی نزدیک مرغان بومی فارس و لاری می‌تواند به این طریق توجیه شود که هر دو جمعیت در استان فارس قرار داشته و ممکن است که مرغان بومی فارس واجد مجموعه‌ای از ژنهای مرغان لاری (که از نظر فنوتیپی قابل تشخیص هستند) باشند. اما موردی که فعلا جوابی برای آن وجود ندارد شباهت دو جمعیت مرغان بومی مازندران و دشتیاری با همدیگر می‌باشد. اگر چه این دو جمعیت از لحاظ جغرافیایی فاصله زیادی از همدیگر دارند و بر اساس تئوریهای تکاملی بایستی فاصله ژنتیکی زیادی نیز با همدیگر داشته باشند ولی در این تحقیق به هم نزدیک می‌باشند. البته شباهت جمعیتهای دور از هم در برخی از مطالعات نیز گزارش شده است مثلا در مطالعه

جدول 5- ماتریس اندازه گیری نااریب شباهت (بالای قطر) و فاصله ژنتیکی (پایین قطر)

جمعیت‌ها	بومی فارس	بومی مازندران	مادر گوشتی	مادر تخمگذار	دشتیاری	لاری	مرندی	گردن لخت
بومی فارس	****	0/9753	0/9654	0/9587	0/9707	0/9769	0/9686	0/9376
بومی مازندران	0/0250	****	0/9754	0/9666	0/9808	0/9693	0/9650	0/9697
مادر گوشتی	0/0352	0/0249	****	0/9479	0/9657	0/9754	0/9667	0/9585
مادر تخمگذار	0/0422	0/0340	0/0535	****	0/9732	0/9377	0/9526	0/9309
دشتیاری	0/0297	0/0194	0/0349	0/0272	****	0/9693	0/9796	0/9551
لاری	0/0233	0/0312	0/0249	0/0643	0/0312	****	0/9740	0/9475
مرندی	0/0319	0/0356	0/0338	0/0486	0/0206	0/0263	****	0/9640
گردن لخت	0/0645	0/0307	0/0424	0/0716	0/0459	0/0539	0/0366	****



شکل 1- دندروگرام خوشه‌ای ترسیم شده بر اساس فاصله ژنتیکی نئی (1978) با استفاده از کل داده‌ها

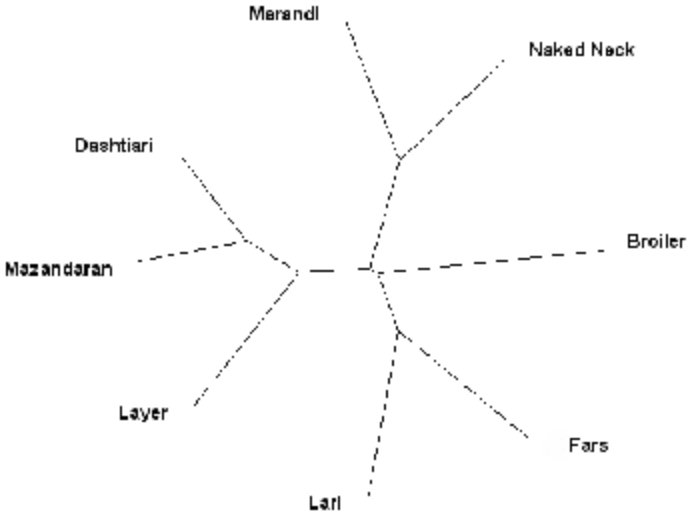
www.SID.ir

Archive of SID

دهقانزاده و میر حسینی (۱۳۸۳ب) که با استفاده از نشانگرهای RAPD انجام شده بود دو جمعیت یزدی و آذربایجان غربی نیز در یک گروه قرار گرفته بودند. از دلایل قرار گرفتن مرغان مادر گوشتی در گروه مرغان لاری و بومی فارس می‌توان به این نکته اشاره نمود که مرغان گوشتی ترکیب ژنتیکی خالصی نبوده و از نژادهای کورنیش به عنوان والد پدری و پلیموت راک به عنوان والد مادری بوجود می‌آیند (کرافورد ۱۹۹۰) و از طرفی بر اساس شواهد فنوتیپی توده مرغان لاری شباهت زیادی به نژاد کورنیش دارند که این امر می‌تواند به عنوان یکی از دلایل شباهت این دو جمعیت مورد استناد قرار گیرد. دلیل شباهت مرغان بومی مازندران و در نتیجه مرغان دشتیاری با مرغان مادر تخمگذار نیز احتمالا به سابقه تاریخی این جمعیتها بخصوص بومی مازندران بر می‌گردد که ممکن است به نحوی با سویه‌های تخمگذار اختلاط ژنتیکی حاصل شده باشد. شباهت توده مرغان بومی با سایر نژادها و سویه‌های تجاری در کشورهای دیگر نیز گزارش شده است (پیرانی و همکاران ۲۰۰۷). در مطالعه دهقانزاده و میرحسینی (۱۳۸۳ ب) نیز جمعیتهای مرغ اصفهان، فارس، یزد و آذربایجان غربی در یک گروه قرار گرفتند در صورتی که مرغ بومی مازندران به تنهایی در گروه جداگانه‌ای قرار گرفته بود. با توجه به نتایج بدست آمده از این تحقیق مشخص شد که برخی از نژادهای بومی کشور (در صورت خلوص ژنتیکی) از نظر ژنتیکی شباهتهایی با برخی از سویه‌های پر تولید وارداتی دارند، لذا در صورت طراحی برنامه‌های اصلاح نژادی امکان پیشرفت ژنتیکی در بین آنها وجود دارد.

سپاسگزاری

این مقاله با حمایت مالی اعتبار ویژه پژوهشی(grant) دانشگاه تبریز تهیه گردیده است.



شکل 2- دندروگرام شعاعی ترسیم شده بر اساس فاصله ژنتیکی نئی (1978) با استفاده از روش UPGMA و پس از حذف داده‌های مربوط به آغازگرهای E7 و M27

منابع مورد استفاده

توکلیان ج، ۱۳۷۸. نگرشی بر ذخایر ژنتیکی دام و طیور بومی ایران. مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور، کرج.

www.SID.ir

Archive of SID

خان احمدی ع، رحیمی ق، نجاتی جوارمی ا و اسماعیل خانیان س، ۱۳۸۶. استفاده از نشانگرهای RAPD برای شناسایی تغییرات ژنتیکی در مرغان ایستگاه تکثیر و اصلاح نژاد مرغ بومی مازندران. علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی. سال یازدهم، شماره چهلم (ب) صفحات ۳۳۷-۳۳۱.

دهقانزاده هـ و میرحسینی س ض، ۱۳۸۳الف. بررسی تنوع ژنتیکی مرغان بومی استان‌های مازندران، یزد و آذربایجان غربی با استفاده از نشانگر RAPD. مجموعه مقالات اولین کنگره علوم دامی و آبزیان کشور، کرج.

دهقانزاده هـ و میرحسینی س ض، ۱۳۸۳ب. بررسی تنوع ژنتیکی مرغان بومی ایران با استفاده از نشانگرهای RAPD پژوهش و سازندگی. شماره ۶۲ (بهار). صفحات ۹-۲.

زهری م، ۱۳۴۹. بررسی نژادهای بومی در ایران، نامه دامپزشکی، جلد۲۶، شماره۴.

شهبازی آذر بریس ص، ۱۳۸۲. بررسی تنوع ژنتیکی پنج جمعیت از مرغان بومی ایران با استفاده از نشانگرهای چندشکلی ریزماهواره. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان.

شهبازی آذر بریس ص و میرحسینی س ض، ۱۳۸۴. تنوع ژنتیکی مرغان بومی اصفهان، فارس و یزد با استفاده از نشانگرهای ریز ماهواره. مجموعه مقالات چهارمین همایش ملی بیوتکنولوی کشور، کرمان.

کیانی منش ح م، نجاتی جوارمی ا و کمالی م ع، ۱۳۸۰. برآورد پارامترهای ژنتیکی و محیطی صفات مهم اقتصادی در مر غان بومی فارس. پژوهش و سازندگی، شماره۵۳، ص:۹-۶.

میرحسینی س ض، ۱۳۶۹. تخمین پتانسیل ژنتیکی مرغ بومی ایران در شرایط نیمه صنعتی و مقایسه آن با شرایط روستایی. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس.

میرحسینی س ض و دهقانزاده هـ ۱۳۸۲. بررسی تنوع ژنتیکی مرغ بومی فارس با استفاده از نشانگر RAPD. مجموعه مقالات سومین همایش ملی بیوتکنولوژی کشور، مشهد.

Bailes SM, Devers JJ, Kirby JD and Rhoads DD, 2007. An expensive, simple protocol for DNA isolation from blood for high-throughput genotyping by polymerase chain reaction or restriction endonuclease digestion. Poult. Sci. 86: 102-106.

Crawford RD, 1990. Origin and history of poultry species, in: Poultry Breeding and Genetics (ed. Crawford R.D.). Elsevier, New York, pp. 317-329.

Genhua Y, Yang, L, Fan C, Serena C, Lian Chuhan L and Laszlo O, 2002. Comparison of three marker systems for assessing genetic diversity in Asian arowana (Scleropages formosus). Electrophoresis, 23:1025-1032.

Khosravinia H, Murthy HNN, Ramesha KP and Govindaiah MG, 2005. Multi trait selection with restriction for cutup carcass value in broiler chicken: genetic relatedness of lines involved based on randomly amplified polymorphic DNA. Asian-Aust. J Anim Sci 18:1535-1541.

Nei M, 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. Proc Natl Acad Sci USA 70:3321-3323.

www.SID.ir

Archive of SID

Nei M, 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. Genetics 89:583-590.

Nei M, 1987. Molecular Evolutionary Genetics. Columbia University Press, New York, 512P.

Page RDM, 1996. TREEVIEW: An application to display phylogenetic trees on personal computers. Comput. Appl Biosci 12: 357-358.

Pirany N, Romanov MN, Ganpule SP, Devegowda G and Prasad DT, 2007. Microsatellite analysis of genetic diversity in Indian chicken populations. J Poult Sci 44:19-28.

Yeh FC, Yang RC and Boyle T, 1999. POPGENE version 1.31. Microsoft windows-based freeware for population genetic analysis. Release 1.31. University of Alberta, Edmonton, Canada.

Zhang X, Leung FG, Chan DKO, Yang G and Wu C, 2002a. Comparative analysis of allozyme, random amplified polymorphic DNA, and microsatellite polymorphism on Chinese native chickens. Poult Sci 81:1093-1098.

Zhang X, Leung FG, Chan DKO, Yang G and Wu C, 2002b. Genetic diversity of Chinese native chicken breeds based on protein polymorphism, randomly amplified polymorphic DNA, and microsatellite polymorphism. Poult Sci 81:1463-1472.

www.SID.ir