

انتساب افراد به شش جمعیت از مرغان اهلی با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره

نصراله پیرانی^{۱*} و آرزو محمدهاشمی^۲

تاریخ دریافت: 88/3/23 تاریخ پذیرش: 88/10/11

1- دانشیار گروه علوم دامی، دانشگاه تبریز
2- دانشجوی دکتری ژنتیک و اصلاح دام، گروه علوم دامی، دانشگاه فردوسی مشهد

* مسئول مکاتبه: npirany@gmail.com

چکیده

اندازه گیری میزان پراکنش یکی از رویکردهای اصلی در تحقیقات زیستی است. هدف از این تحقیق تعیین سطح تنوع ژنتیکی و انتساب افراد به 6 جمعیت از مرغان اهلی شامل: یک نوع مرغ سنتز شده به نام گیری راجا، گردن لخت، ابریشمی سفید، توده بومی، توده مرغان گوستی و توده تخمگذار تجاری با استفاده از 9 عدد نشانگر ریز ماهواره (ADL158، ADL278، MCW5، MCW29، MCW16، MCW37، MCW69، MCW104 و MCW119) بود. به این منظور تعداد 16 قطعه پرند از هر کدام از جمعیت های ذکر شده خونگیری شد و پس از استخراج DNA قطعات مورد نظر تکثیر شدند. میزان چند شکلی مشاهده شده برای مرغان تخمگذار تجاری و ابریشمی سفید بترتیب 77/8 و 88/89 و برای سایر جمعیتها تا 100 درصد متغیر بود. از نظر میزان تنوع ژنتیکی، نشانگر MCW29 بیشترین و نشانگر MCW37 کمترین تنوع ژنتیکی را نشان دادند. نشانگر MCW5 با تعداد 14 آلل و نشانگر MCW37 با تعداد 3 آلل حاوی بیشترین و کمترین آلل در بین جمعیتهای مورد استفاده در این تحقیق بودند. در بین تمام نشانگر ها MCW5 تنها نشانگر دارای یک آلل اختصاصی منفرد بود. برای مطالعه انتساب افراد به جمعیت های مربوطه از 8 روش مختلف استفاده شد. روش فاصله ژنتیکی بر مبنای فاصله گلدشتاین و همکاران کمترین (74 درصد) و روش کاوالی - اسفورزا واداردز بیشترین (91/7 درصد) درصد انتساب افراد به جمعیتها را نشان دادند.

واژگان کلیدی: انتساب افراد، تنوع ژنتیکی، نشانگرهای ریزماهواره، مرغان اهلی

**Assignment of Individuals to Six Chicken Populations
Using Microsatellite Markers
N Pirany^{*1} and A Mohamad Hashemi²**

Received: June 13, 2009 Accepted: January 9, 2010

¹ Associated Professor and Msc Student, Dept. of Animal Science, University of Tabriz, Iran

² Ph.D Student of Genetics and Animal Breeding, Dept. of Animal Science, Ferdosi University of Mashad, Iran

*Corresponding Author: npirany@gmail.com

Abstract

Determination of dispersion is one of the major challenges in the biological studies. The aim of this study was to determine the genetic diversity and assignment of individuals to 6 chicken populations including a synthetic strain Giriraja, Naked Neck, White silky, Local, commercial broiler and layer using 9 highly polymorphic microsatellite markers (ADL158, ADL278, MCW5, MCW29, MCW16, MCW37, MCW69, MCW104 AND MCW119). The blood samples were taken from 16 birds of each population and after DNA extraction, the samples were amplified using the specific primers for all of the markers. The observed polymorphism of the loci for commercial layers and White silky was 77.8 and 88.89, respectively, and for other populations was 100 percent. Markers MCW29 and MCW37 showed maximum and minimum of genetic diversity, respectively. MCW5 locus had the highest (14) and MCW37 had the lowest (3) alleles over all of the populations. MCW5 was the only marker with just one specific allele. The individuals assignment was done using 8 different methods. Among them, the Goldstein et al's genetic distance showed the lowest (%74.0) and Cavalli-Sforza and Edwards method showed the highest (%91.7) percentage of individuals assignment to populations.

Keyword: Individuals assignment, Chicken, Genetic diversity, Microsatellite markers

مقدمه

امکان پذیر است. برآورد سطح تنوع در حیوانات اهلی و مجموعه های ژنتیکی و تعیین قرابت بین آنها از گذشته دور معمول بوده است. قبل از سال 1970 اندازه گیری تنوع ژنتیکی و رابطه بین واحدهای تاکسونومی بر اساس بیولوژی اندام های جنسی، داده های اکوجغرافیایی و زیست شناسی انجام می شد (ریف 2004). اما وجود عواملی چون پلیوتروپی، رابطه غالب و مغلوبی بین آللهای یک ژن، محدود بودن نشانگر های

امروزه حفظ ذخایر ژنتیکی حیوانات یکی از اهداف مهم جوامع بشری از نظر حفظ تنوع و حیات می باشد. تشخیص نحوه و زمان اشتقاق گونه ها و بخصوص نژاد های مختلف می تواند اطلاعاتی موثق و قابل اطمینان از شرایط مهاجرت، اختلاط، آمیزش و ترکیب جمعیت ها را در اختیار محققین قرار دهد. تمایز بین جمعیت ها و نژادهای مختلف با استفاده از تفاوت در فراوانی آلل ها و یا با استفاده از آلل های اختصاصی هر جمعیت یا نژاد

روش فاصله ژنتیکی³ می باشد. روشهای انتساب افراد در مطالعات ژنتیکی جمعیت به منظور شناسایی افراد و اولاد آنها، مدیریت حیوانات وحشی، بررسی الگوهای مهاجرت، شناسایی شکارهای غیر قانونی حیوانات به کار گرفته می شوند (پتکائو و همکاران 1995؛ کورنت و همکاران 1996؛ مانل 2002). از دیگر کاربردهای انتساب می توان به تشخیص منشأ یک فرد خاص، ارزیابی ساختار جمعیت، تمایز جمعیت ها، مطالعه اکولوژیک نرخ پراکندگی و جریان ژن، شناسایی الگوهای پراکندگی و نسبت افراد یک جمعیت در ترکیب پایه ای اشاره کرد (مانل 2002). انتساب افراد حتی ممکن است از روی لاشه، جنین، اسپرم و یا نمونه خون انجام گیرد (بوچنان و همکاران 1994). به عنوان مثال می توان به ارزیابی تمایز جمعیت ها در ماهی ها (تایلور و همکاران 1994)، زنبور عسل (کورنت همکاران 1996)، خرس های قطبی (پیتکائو و همکاران 1995) و تعیین مهاجرت پذیری در جوامع انسان (رانالا و مانن 1997) اشاره نمود. وجه و تانتیا (2004) با استفاده از 26 نشانگر ریزماهوره توانستند افراد 4 جمعیت از مرغان اهلی هندی را با دقت 100 درصد به جمعیت های مربوطه منسوب نمایند. روزنبرگ و همکاران (2001) نیز در تحقیقی که روی 600 قطعه پرده اهلی متعلق به 20 نژاد با استفاده از 27 نشانگر انجام دادند، توانستند با به کارگیری روشهای گروه بندی ژنتیکی متفاوت افراد را با دقت تقریباً 98 درصد به جمعیت های مربوطه انتساب نمایند. هدف از این تحقیق بررسی نحوه انتساب افراد به جمعیتها و مقایسه روش های مختلف انتساب افراد در 6 جمعیت از مرغان اهلی با استفاده از نشانگرهای ریز ماهوره بود.

مواد و روش ها

جمعیت های مورد استفاده در این تحقیق 6 جمعیت از مرغان اهلی شامل یک نوع سویه سنتز شده، گردن

مورفولوژیکی، اثر متقابل ژنوتیپ و محیط، عدم اطلاع از کنترل ژنتیکی صفات و تغییر در غالبیت و بروز ژن سبب محدودیت در استفاده از نشانگرهای فنوتیپی شده است (فرشادفر 1377). امروزه نشانگرهای مبتنی بر DNA به عنوان ابزاری مفید برای تعیین سطح تنوع ژنتیکی بین ژنوتیپهای گیاهی و جانوری مورد استفاده قرار گرفته اند (مانیفستو و همکاران 2001؛ زانگ و همکاران 2002b). ریز ماهوره ها یکی از نشانگرهای DNA محسوب می شوند که جهت تجزیه و تحلیل تنوع ژنتیکی جمعیت ها و همچنین ویژگی تکاملی گونه ها به کار می روند (جارن و لاگودا 1996؛ ایستوپ و آنگرز 1998). اصطلاح ریزماهوره در ابتدا برای توالی های تکراری دی نوکلئوتیدی شامل CA استفاده می شد (لیت و لاتی 1989؛ وبر و مای 1989)، در صورتی که امروزه اصطلاح ریزماهوره برای توالی های تکرار شده یک تا شش نوکلئوتیدی بکار می رود (تاتز 1989). از آنجا که ریزماهوره ها چند شکلی زیادی را نشان می دهند (لیت ولوتی 1989؛ وبر و مای 1989؛ تاتز 1989)، برای تجزیه و تحلیل در سطح ژنوم موجودات بسیار قابل استفاده هستند (وبر 1990). از مزایای ریز ماهوره ها می توان به کاربرد ساده، چند شکلی بالا، تنوع زیاد، فراوانی ژنومی بالا، پخش یکنواخت در سراسر ژنوم و طبیعت همبازر اشاره کرد (پاول و همکاران 1996). از آنجا که اندازه گیری مستقیم میزان تنوع ژنتیکی یک نژاد در مناطق مختلف جغرافیایی مشکل و زمانبر است (کوینینگ و همکاران 1996) پیشنهاد شده است که در برخی از موقعیتها روش انتساب می تواند جایگزین اندازه گیری پراکنش در محیط های زندگی طبیعی شود که معمولاً توسط به دام انداختن موجودات، علامتگذاری، رها کردن و مطالعه مجدد آنها در زمانهای بعدی شود (کورنت و همکاران 1996). سه روش عمده در انتساب افراد به جمعیت ها وجود دارد که شامل استفاده از فراوانی آلل ها¹، روش مبتنی بر استنباط آماری بیژی² و

² Bayesian

³ Genetic distance

¹ Frequency

مرغان اهلی معرفی شده است. انتخاب نشانگرها بر این اساس بود که 8 عدد از آنها (ADL0158, MCW0005, MCW0037, MCW0069, MCW0016) از بین نشانگرهای پیشنهاد شده برای مطالعه طیور اهلی توسط فائو (FAO/ISAG MoDAD) پیشنهاد شده بودند و یکی از آنها (ADL0158) توسط دانشگاه میشیگان به عنوان یکی از نشانگرهای تست جمعیتا معرفی شده بود (جدول 1). انتهای 5' پرایمر جلوبرنده در تمام نمونه‌ها (بجز در MCW16 که از انتهای 3' علامت گذاری شده بود) با هر کدام از رنگهای فلورسنسی سیستم ABI (FAM آبی، TET سبز و HEX زرد) علامت گذاری شده بود.

لخت، ابریشمی سفید، بومی (محل)، توده مرغان گوشتی تجارتی (Ross 308) و توده مرغان تخمگذار تجارتی (Hy-line W36) می‌باشند. جزئیات مربوط به جمعیت‌های فوق در گزارش قبلی شرح داده شده است (پیرانی و همکاران 2007). اندازه نمونه برای هر جمعیت 16 قطعه و به تعداد مساوی از پرندگان نر و ماده بود. استخراج DNA با استفاده از روش فنل-کلروفورم-ایزوآمیل الکل انجام شد. برای آگاهی از میزان DNA و خلوص آن از الکتروفورز ژل آگارز 0/8 درصد و جهت تعیین کیفیت آن از دستگاه اسپکتروفتومتر استفاده شد.

واکنش PCR

به منظور انجام واکنش PCR، 9 عدد نشانگر دو نوکلئوتیدی با چند شکلی بالا که جهت تعیین تنوع ژنتیکی

جدول 1- مشخصات پرایمرهای مورد استفاده.

نام نشانگر	دمای اتصال	توالی تکراری	محل نشانگر روی کروموزوم یا گروه لینکازی	محدوده اندازه آللهها	تعداد آلل در منابع مختلف
ADL0158	50	(CA)12	9	189-217	6-12
ADL0278	50	(TG)13	8	100-130	3-7
MCW0119	50	(TG)8	*E47, W24	114-180	4-5
MCW0005	55	(TG)14	4	189-259	5-12
MCW0016	55	(TG)16	E2 یا 3	134-163	2-8
MCW0029	55	(TG)29	5	149-194	5-6
MCW0037	50	(TG)8	3	155-159	4
MCW0069	50	(TG)11	E46, W18	145-185	9-3
MCW0104	50	(TG)16	13	191-230	8

* E مربوط به جمعیت East lancing و W مربوط به جمعیت دانشگاه واگنینگ می‌باشد.

دقیقه، 30 چرخه دمایی با دمای واسرشت 95 درجه به مدت 30 ثانیه، دمای اتصال 52 یا 55 درجه به مدت 45 ثانیه، دمای تکثیر 72 درجه به مدت 90 ثانیه و دمای تکثیر نهایی 72 درجه به مدت 10 دقیقه بود.

واکنش زنجیره ای پلی مرز در حجم نهایی 20 میکرولیتر شامل 50 نانوگرم از DNA ژنومی و 6 پیکومول از هر پرایمر جلو برنده و معکوس، 1/5 واحد Taq DNA پلیمرز، بافر یک برابر PCR و 200 میکرومولار از هر کدام از dNTP توسط دستگاه ترموسایکلر PTC-100 انجام شد. برنامه حرارتی شامل دمای واسرشته شدن اولیه 94 درجه به مدت 3

تعیین ژنوتیپ و انتساب افراد

ژنوتیپ هر پرنده توسط دستگاه تعیین توالی DNA (ABI 377) (واقع در آزمایشگاه تعیین توالی DNA مؤسسه تحقیقات علوم هند شهر بنگلور) انجام شد. پس از بارگذاری نمونه ها و اجرای برنامه، تصویر ژل اخذ و با استفاده از نرم افزارهای Genescan و Genotyper موجود در سیستم تعیین توالی آلهها تعیین اندازه شدند. اطلاعات مربوط به آلهها و تنوع ژنتیکی جمعیتها توسط نرم افزار GenAIEx (پیکال و اسموس 2001) و تجزیه و تحلیل چگونگی انتساب هر فرد به جمعیتها مربوطه نیز توسط نرم افزار GeneClass2 (پیری و همکاران 2003) انجام شد. در این تحقیق جهت انتساب افراد به جمعیتها مربوطه از سه روش زیر استفاده شد:

1- روش فراوانی آلی

این روش فرد را به جمعیتی منتسب می‌کند که ژنوتیپ فرد بیشترین احتمال وقوع را در آن جمعیت دارد. در این روش در کل فرض می‌شود که لوکوس‌ها مستقل از یکدیگرند، به طور مستقل تفرق می‌یابند و در تعادل هاردی - واینبرگ هستند (پیتکائو و همکاران 1995).

2- روش بیزی

شبهه روش قبل است اما از روش استنباط آماری بیزی استفاده می‌شود. در این روش احتمال و چگالی فراوانی آلی جمعیت از فراوانی های جمعیت نمونه محاسبه شده و با فرض چگالی احتمالی اولیه یکسان برای فراوانی های آلی هر لوکوس در هر جمعیت احتمال هر فرد به جمعیت فرضی محاسبه می‌شود. جزئیات این

روشها توسط (کوراندرو و همکاران 2003) به طور کامل شرح داده شده است. در این تحقیق از روشهای بیزی رایج شده توسط رانالا و مانتین (1997) و بویدوین و لبران (2001) استفاده شد.

3- روش فاصله ژنتیکی

در این روش انتساب افراد به جمعیتی که کمترین فاصله را با آن دارد صورت می‌گیرد. اطلاعات مورد استفاده ژنوتیپ ها بوده و فواصل هم فواصل ژنتیکی هستند. در این تحقیق از 5 فاصله ژنتیکی زیر استفاده شد:

الف) استاندارد نئی (1972)

ب) حداقل نئی (1973)

ج) ارزش دی نئی (1983)

د) کاوالی - اسفورزا واداردز (1967)

و) گلدشتاین و همکاران (1995)

نتایج و بحث

درصد چند شکلی مشاهده شده مربوط به میانگین کل نشانگرهای مورد استفاده در تحقیق حاضر برای مرغان تخمگذار تجارتي و ابریشمی سفید بترتیب 77/8 و 88/89 و برای سایر جمعیتها تا 100 درصد متغیر بود (جدول 2). کم بودن تعداد نشانگرهای چند شکل در جمعیت مرغ تخمگذار تجارتي که حاصل تلاقی های چند لاین تقریباً خالص می باشد چندان دور از انتظار نبود. این امر در مورد جمعیت سفید ابریشمی که نیز جمعیت تقریباً کوچکی بود و از نظر فیزیولوژیکی اختلاطی با سایر مرغان اهلی نداشت نیز مورد انتظار بود.

جدول 2- درصد چند شکلی مشاهده شده نشانگرهای مورد استفاده در این مطالعه.

جمعیت	گردن لخت	سفید ابریشمی	بومی (محلی)	سنتز شده	تخمگذار تجارتي	گوشتی تجارتي
درصد چند شکلی	100/00	88/89	100/00	100/00	77/78	100/00

آمیز معرفی شده اند و مقدار F_{ST} از اهمیت کمتری برخوردار می باشد (روزنبرگ و همکاران 2001).

در انتساب افراد به جمعیت‌های مربوطه یک نمونه از بین 3 روش مورد استفاده در جدول 4 آورده شده است. این جدول شامل دو بخش است بخش اول شامل میانگین احتمال انتساب افراد به هر کدام از جمعیت‌ها و بخش دیگر شامل تعداد پرنده‌هایی است که به طور صحیح به جمعیت مربوطه و یا سایر جمعیت‌ها منتسب شده‌اند. برای بدست آوردن مقادیر بخش اول، میانگین احتمالات انتساب افراد یک جمعیت خاص به جمعیت‌های فرضی گرفته شده است.

شیوه محاسبه احتمال انتساب هر فرد به جمعیت مربوطه و یا سایر جمعیت‌ها به این صورت است که همانند آزمون هر فرض آماری در صورتی که این احتمال از سطح احتمال فرضی (5 درصد در این تحقیق) کمتر باشد احتمال انتساب رد و در غیر این صورت فرد مزبور به جمعیت فوق منتسب خواهد شد.

دیگر مشخصات مهم نشانگرهای مورد استفاده همچون تعداد آلل مشاهده شده، تعداد آللهای اختصاصی، هتروزیگوسیتی مشاهده شده، مقدار F_{ST} و ترتیب نشانگرها بر اساس هر کدام از شاخصهای موجود در جدول 3 آورده شده است. از نظر میزان تنوع ژنتیکی، نشانگر MCW29 بالاترین (0/783) و نشانگر MCW37 کمترین (0/415) تنوع ژنتیکی را نشان دادند. در صورتی که نشانگر MCW5 با تعداد 14 آلل و نشانگر MCW37 با تعداد 3 آلل حاوی بیشترین و کمترین آلل در بین جمعیت‌های مورد استفاده در این تحقیق بودند.

نشانگر MCW5 تنها نشانگری بود که تنها دارای یک آلل اختصاصی بود. از نظر مقدار F_{ST} نیز نشانگر MCW104 با مقدار 0/271 واجد بیشترین و نشانگر MCW119 با مقدار 0/055 دارای کمترین بودند. از بین شاخصهای فوق، هتروزیگوسیتی مورد انتظار (تنوع ژنتیکی) و تعداد زیاد آللهای یک نشانگر بعنوان گزینه‌های برتر برای ترسیم یک دسته بندی (کلاستر) موفقیت

جدول 3- مشخصات ژنتیکی 9 نشانگر ریزماهواره مورد استفاده در این تحقیق.

نام نشانگر	ترتیب بر اساس مقدار هتروزیگوسیتی	ترتیب بر اساس تعداد آلل	ترتیب بر اساس F_{ST}	هتروزیگوسیتی مورد انتظار	تعداد آلل	تعداد آللهای اختصاصی	F_{ST}
MCW29	1	2	8	0/783	13	0	0/188
MCW5	2	1	6	0/765	14	1	0/135
MCW16	3	6	7	0/743	8	0	0/131
MCW119	4	5	9	0/715	8	0	0/055
ADI278	5	8	5	0/656	5	0	0/144
MCW69	6	3	3	0/628	8	0	0/212
ADI158	7	7	4	0/593	7	0	0/178
MCW104	8	4	1	0/562	8	0	0/271
MCW37	9	9	2	0/415	3	0	0/216
میانگین	-	-	-	0/65	8/22	-	0/16

جدول 4- میانگین احتمال انتساب افراد (تعداد انتساب صحیح افراد) به هر کدام از جمعیت ها با روش های مختلف.

روش بیزی (رانالا و مونتاین 1997)						
جمعیت	گردن لخت	ابریشمی سفید	بومی	سنتز شده	تخمگذار تجارتي	گوشتی تجارتي
گردن لخت	0/396 (14)	0	0/007	0/129 (7)	0	0/007
ابریشمی سفید	0/002 (4)	0/397 (14)	0/002	0	0	0/002
بومی	0/004	0	0/334 (12)	0/016	0	0
سنتز شده	0/078 (6)	0	0/017 (1)	0/328 (14)	0	0/071 (7)
تخمگذار تجارتي	0	0	0/241 (16)	0	0/517 (13)	0/001 (3)
گوشتی تجارتي	0/006	0	0/027 (12)	0/089 (5)	0	0/385 (14)
روش فراوانی آلی (پیتکائو و همکاران 1995)						
گردن لخت	0/386 (14)	0	0/007	0/140 (9)	0	0/009
ابریشمی سفید	0/002	0/379 (13)	0/003	0/001	0	0/002
بومی	0/005 (1)	0	0/324 (10)	0/025 (1)	0	0/002
سنتز شده	0/071 (4)	0	0/016 (1)	0/301 (15)	0	0/064 (7)
تخمگذار تجارتي	0/001	0	0/199 (13)	0/003	0/531 (13)	0/002
گوشتی تجارتي	0/004	0	0/030 (2)	0/077 (6)	0	0/384 (14)
روش فاصله ژنتیکی (کاوالی - اسفورزا و ادواردز 1967)						
گردن لخت	0/339 (13)	0/150 (9)	0/027 (1)	0/283 (12)	0	0/062 (5)
ابریشمی سفید	0/122 (7)	0/390 (14)	0/060 (3)	0/031 (4)	0	0
بومی	0/035 (1)	0/016 (2)	0/255 (9)	0/017 (1)	0/030 (3)	0/002
سنتز شده	0/312 (13)	0/101 (7)	0/007	0/317 (14)	0	0/107 (6)
تخمگذار تجارتي	0	0	0/188 (5)	0	0/439 (12)	0
گوشتی تجارتي	0/088 (9)	0	0/051 (2)	0/101 (8)	0	0/283 (13)

جمعیت گردن لخت 14 قطعه از آنان به خودشان، 6 پرنده به جمعیت سنتز شده و 4 پرنده نیز به جمعیت ابریشمی سفید منتسب شده اند. این در حالی است که هیچ پرنده ای به سایر جمعیتها منتسب نشده است. در تحقیق ویجه و تانتیا (2004) میانگین احتمال انتساب افراد هر کدام از جمعیتها مورد بررسی نیز گزارش شده است. از آنجا که در گزارش آنان افراد هر جمعیت با احتمال 100 درصد به جمعیتها مربوطه منتسب شده بودند مقادیر سطح احتمال خیلی بالاتر از این گزارش بود. این امر با فرضیات ما در مورد رابطه میانگین احتمال بدست آمده با دقت انتساب مطابقت می کند. هر چه این میزان به عدد یک نزدیکتر باشد میزان انحراف فرد از جمعیت مربوطه کمتر خواهد بود.

همانطور که در جدول 4 مشاهده می شود احتمال انتساب با روش پیتکائو و همکاران (1995) میانگین احتمال انتساب افراد جمعیت گردن لخت به خودشان حدود 0/386 می باشد در صورتی که این میزان برای جمعیت های سفید ابریشمی و تخمگذار صفر و برای بومی و گوشتی نزدیک به صفر و برای سویه سنتز شده نیز غیر معنی دار است. از نتایج چنین استنباط می شود که برخی پرنده های موجود در جمعیت گردن لخت با جمعیت سنتز شده تا حدودی واجد شباهت آلی هستند. بخش دوم جدول مربوط به تعداد پرنده هایی است که به طور صحیح به جمعیت مربوطه و یا سایر جمعیتها منتسب شده اند. به عنوان مثال در روش رانالا و مانتین (1997) ملاحظه می شود که از 16 پرنده موجود در

در موارد جنایی و کشته شدن حیوانات منشأ آنان را پیدا نمود (پیتکائو و همکاران 1995؛ کورنت و همکاران 1996). این روشها همچنین می‌توانند در صنایع مربوط به دامپروری از نظر پیدا کردن اجزای سایر حیوانات (مثل انتساب یک لاشه، جنین و اسپرم به نژاد خاصی)، یا انواع نژادهای بکار رفته در تشکیل یک سویه هیبرید کاربرد داشته باشد. مثلاً برخی از محققین (بوچنان و همکاران 1994) توانستند در دامهای اهلی (مثل گاو و گوسفند) و با استفاده از شبیه سازی ژنوتیپی و فراوانی آلی و با استفاده از تعداد 5 تا 21 نشانگر ریزماهواره افراد را با دقت بین 80 تا 100 درصد به جمعیت‌های مربوطه منتسب نمایند که در این مطالعه بجز در یک مورد میزان انتساب افراد به جمعیتها نیز حدود 90 درصد بدست آمد.

در نهایت با توجه به نتایج جدول 5 می‌توان نتیجه گرفت که از بین روشهای مورد استفاده در این تحقیق، از روش‌های مبتنی بر فاصله ژنتیکی، فاصله ژنتیکی کاوالی - اسفورزا و ادواردز (1967) و از بین روش‌های بی‌زی روش رانالا و ماننتین (1997) کارایی بیشتری داشتند.

نتایج حاصل از انتساب صحیح افراد به جمعیت‌های مربوطه از طریق کلیه روشهای فوق در جدول 5 آورده شده است. همانطور که ملاحظه می‌شود این مقادیر از 74 درصد برای فاصله ژنتیکی گلدشتاین و همکاران (1995) تا 91/7 درصد برای فاصله ژنتیک کاوالی - اسفورزا و ادواردز (1967) متغیر بود. بدون در نظر گرفتن فاصله ژنتیکی گلدشتاین و همکاران (1995) میانگین انتساب افراد به جمعیت‌های مربوطه حدود 90 درصد می‌باشد.

در تحقیقی که توسط روزنبرگ و همکاران (2001) بر روی 600 قطعه پرنده اهلی متعلق به 20 نژاد با استفاده از 27 نشانگر انجام شد، آنها توانستند با استفاده از روشهای گروه بندی ژنتیکی متفاوت افراد را با دقت تقریباً 98 درصد به جمعیت‌های مربوطه انتساب نمایند. وقتی آنان فقط 10-8 نشانگر کاملاً چند شکل را به منظور فوق استفاده نمودند دقت انتساب فوق باز بیشتر از 95 درصد بود. ویجه و تانتیا (2004) نیز با استفاده از 26 نشانگر ریزماهواره توانستند افراد 4 جمعیت از مرغان اهلی هندی را با دقت 100 درصد به جمعیت‌های مربوطه انتساب نمایند. با استفاده از روشهای انتساب می‌توان اجداد مهاجرین را پیدا نمود و یا اینکه

جدول 5- میانگین درصد انتساب افراد به جمعیت‌ها با استفاده از روش‌های مختلف.

روش انتساب	درصد انتساب صحیح
بی‌زی	
رانالا و ماننتین (1997)	90/6
بویدوین و لبران (2001)	88/5
فراوانی آل‌ها	
پیتکائو و همکاران (1995)	88/5
فاصله ژنتیکی	
استاندارد نئی (1972)	86/5
حداقل نئی (1973)	90/6
ارزش دی نئی (1983)	90/6
گلدشتاین و همکاران (1995)	74/0
کاوالی - اسفورزا و ادواردز (1967)	91/7

قدردانی

این مقاله با استفاده از اعتبار ویژه پژوهشی (grant) دانشگاه تبریز تهیه گردیده است.

منابع مورد استفاده

فرشادفرع، 1377. کاربرد ژنتیک کمی در اصلاح نباتات، انتشارات دانشگاه رازی کرمانشاه.

- Baudouin L and Lebrun P, 2001. An operational Bayesian approach for the identification of sexually reproduced cross-fertilized populations using molecular markers. Proc. Int. Symp. on Mol. Markers (eds. Doré, Dosba and Baril). Acta Hort 546: 81- 94.
- Buchanan, FC, Adams, LJ, Littlejohn, RP, Maddox, JF And Crawford, AM, 1994. Determination of evolutionary relationships among sheep breeds using microsatellites. Genomics 22:397-403.
- Cavalli-Sforza LL and Edwards AWF, 1967. Phylogenetic analysis: models and estimation procedures. Am J Hum Genet 19: 233-257.
- Corander J, Waldmannb P and Mikko J, 2003. Bayesian analysis of genetic differentiation between populations. Genetics 163: 367–374.
- Cornuet JM, Aulagnier S, Lek S, Franck S and Solignac M, 1996. Classifying individuals among infra-specific taxa using microsatellite data and neural networks. CR Acad Sci III 319: 1167–1177.
- Estoup A and Angers B, 1998. Microsatellites and minisatellites from molecular ecology: theoretical and empirical considerations. Mol Ecol 55-86.
- Goldstein DB, Ruiz Linares A, Cavalli-Sforza LL and Feldman MW, 1995a. An evaluation of genetic distances for use with microsatellite loci. Genetics 139: 463- 471.
- Jarne P and Lagoda PJJ, 1996. Microsatellites, from molecules to populations and back. Trends Ecol Evol 11: 424- 429.
- Koinig WD Vuren DV and Hooge PN, 1996. Detectability, philopatry, and the distribution of dispersal distance in vertebrates. Trend Ecol Evol 11: 514-517.
- Litt M and Luty JA, 1989. A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. Am J Hum Genet 44: 397- 401.
- Manel S, Berthier P and Luikart G, 2002. Detecting poaching: Identifying the origin of individuals using bayesian assignment tests and multi-locus genotypes. Cons Biol 16:650-659.
- Manifesto, MM. Schlatter, A R. Hopp, H E. Suarez, E. Y. and Dubcivsky, J. 2001. Quantitative evaluaton of diversity in wheat germplasm using molecular markers. Crop Sci 41: 682-690.
- Nei M, 1972. Genetic distances between populations. Am Nat 106: 283-292.
- Nei M, 1973. The theory and estimation of genetic distances. In: Genetic structure of populations (ed. Morton NE). University Press of Hawaii, Honolulu 70: 3321-3323.

- Nei M, Tajima F and Tateno Y, 1983. Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data. *J Mol Evol* 19: 153-170.
- Paetkau D, Calvert W, Stirling I and Strobeck C, 1995. Microsatellite analysis of population structure in Canadian polar bears. *Mol Ecol* 4: 347-354.
- Peakall R and Smouse PE, 2001. GenAlEx: Genetic analysis in excel. Population genetic software for teaching and research, Australian National University (<http://www.anu.edu.au/BoZo/GenAlEx/>).
- 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.
- Piry S, Alapetite A, Cornuet JM, Paetkau D, Baudouin L and Estoup A, 2003. GeneClass2: A software for genetic assignment and first generation migrants detection.
- Powell W, Machray GC, Provan J, 1996. Polymorphism revealed by simple sequence repeat. *Plant Sci* 1:215-222.
- Rannala B and Mountain JL, 1997. Detecting immigration by using multilocus genotypes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94: 9197- 9221.
- Reif JC, 2004. Assessing the genetic diversity in corps with molecular markers: theory and experimental results with CIMMYT wheat and maize elite germplasm and genetic. Fakultat Agrawissenschaften. Universitat Hohenheim, Germany.
- Rosenberg NA, Burke T, Feldman MW, Freidlin PJ, Groenen MAM, Hillel J, Mäki-Tanila A, Tixier-Boichard M, Vignal A Wimmers K and Weigend S, 2001. Empirical evaluation of genetic clustering methods using multilocus genotypes from twenty chicken breeds. *Genetics* 159: 699- 713.
- Tautz D, 1989. Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. *Nucleic Acids Res* 17: 6463- 6471.
- Taylor AC, Sherwin WB and Wayne RK, 1994. Genetic variation of microsatellite loci in a bottlenecked species: the northern hairy-nosed wombat *Lasiorhinus krefftii*. *Mol Ecol* 3: 277-290.
- Vijh RK and Tantia MS, 2004. Assignment of individuals to four poultry breeds of India using multilocus genotypes. *Indian J Anim Sci* 74: 73- 76.
- Weber JL, 1990. Informativeness of human (dC-dA)n (dG-dT)n polymorphisms. *Genomics* 7: 524-530.
- Weber JL and May PE, 1989. Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction. *Am J Hum Genet* 44: 388- 396.
- Zhang X, Leung FC, Chan DKO, Grand Y and Wu C, 2002b. Comparative analysis of allozyme, random amplified polymorphic DNA and microsatellite polymorphism on Chinese native chickens. *Poult Sci* 81:1093-1098.

Zhang X, Leung FC, Chan DKO, Grand Y, Wu C, 2002a. Genetic diversity of Chinese native chicken breeds based on protein polymorphism. *Poult Sci* 81:1463-1472.