نشریه علوم دامی
شماره ۱۰۱، زمستان ۱۳۹۲
(پژوهش و سازندگی)

بررسی تنوع ژنتیکی گاوهای بومی مازندران و گاوهای هلشتاین با استفاده از نشانگر ISSR-PCR

• **سمیه پاشایی** (نویسنده مسئول)
دانشجوی دکتری علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
• **مجتبی آهنی آذری**
عضو هیئت علمی گروه علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
• **سعید حسنی**
عضو هیئت علمی گروه علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
• **علیرضا خان احمدی**
عضو هیئت علمی گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس
• **حسن سلطانلو**
عضو هیئت علمی گروه بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

تاریخ دریافت: آذر ماه ۱۳۹۰ تاریخ پذیرش: دی ماه ۱۳۹۱
تلفن تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۸۹۴۰۲۳۱۵
Email: pashaei_597@yahoo.com

چکیده

آگاهی از سطح تنوع ژنتیکی نژادهای بومی اطلاعات مهمی جهت مدیریت منابع بومی برای جلوگیری از کاهش ناشـــی از همخونی و نیز حفظ تنوع ژنتیکی فراهم می آورد. هدف از این پژوهش، ارزیابی تنوع ژنتیکی گاوهای بومی مازندران و مقایســـه آن با نژاد هلشتاین با استفاده از نشانگرهای بین ریزماهواره ای (ISSR) بود. در این طرح از تعداد ۷۱ رأس گاو مازندرانی و ۱۰۴ رأس گاو هلشتاین نمونه گیری به عمل آمد. نمونه های DNA به روش استخراج نمکی تغییر یافته، استخراج شدند. برای انجام PCR از پرایمر C ۹ (AG) استفاده شد. بررسی الگوی باندی نشـــان داد که تعداد ۳۰ (۹۳/۷۵ درصد) و ۲۴ (۷۵درصد) باند چندشکل به ترتیب در نژادهای مازندرانی و هلشتاین وجود داشته است. میانگین تعداد آلل مؤثر، تعداد آلل مشاهده شده، شاخص شانون و شاخص تنوع ژنی نئی در گاو بومی به طور معنی داری ($p<۰/۰۵$) بیشتر از گاو هلشتاین بود. سطح پایین تر تنوع در گاوهای هلشتاین ممکن است به دلیل اجرای برنامه های انتخاب شدید و تلقیح مصنوعی باشد. به هر حال گاوهای نژاد بومی کمتر تحت تأثیر انتخاب مصنوعی قرار گرفته اند.

کلمات کلیدی: تنوع ژنتیکی، ISSR، گاو مازندرانی، گاو هلشتاین، نشانگر

Animal Sciences Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 101 pp:22-28

Study on genetic diversity of Mazandarni native and Holstein cattle using ISSR-PCR marker

By:Pashaei, S. (Corresponding Author; Tel: +989189402315), Ph.D Student of Animal Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources. Ahani Azari, M. and Hasani, S. Department of Animal Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources. Khanahmadi, A.R. Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University. Soltanloo, H. Department of Biotechnology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Received: December 2011 **Accepted: January 2013**

The aim of this study was to investigate genetic diversity in Mazandaranian native cattle in compared to Holstein breed, using Inter microsatellite (ISSR) markers. A total of 175 animals, including 71 Mazandaranian and 104 cattle of Holstein breed were screened. The extraction of DNA samples were carried out using modified salting out method. (AG)9C was used as ISSR primer in PCR reaction. Analyzing of banding patterns showed 30 (93.75%) and 24 (75%) polymorphic bands in native and Holstein herds, respectively. Genetic variation indices, including observed number of alleles, effective number of alleles, Shannon index and Nei's gene diversity in indigenous cattle were higher than in Holstein. Lower level of diversity in Holstein cattle may be of the consequence of applying intensive selection programs and artificial insemination; however native cattle have been less affected by artificial selection. Knowledge of genetic diversity in indigenous breeds provides important information for management of native resources in order to avoid inbreeding depression and maintain genetic variability.

Keyword: Genetic diversity, ISSR, Mazandarani cattle, Holstein cattle, Marker

Archive of SID

مقدمه

نژادهای بومی علی رغم پتانسیل تولیدی پائین، معمولاً با شرایط نامساعد آب و هوایی محیط زیستشان به خوبی تطابق دارند و نسبت به تنش های محیطی مختلف و بیماریها مقاومت دارند. از طرف دیگر پرورش نژادهای اصیل در مناطق گرمسیری منجر به کاهش رشد، افزایش تلفات و کاهش باروی این نژادها شده است. در چنین شرایطی حداکثر توجه و بازنگری جهت بهره وری از استعدادهای ژنتیکی گاوهای بومی در برنامه های اصلاح نژاد ضروری است. طبق آمارهای فائو[1] در دهه های گذشته تعداد و تنوع ژنتیکی بسیاری از نژادها کاهش یافته است. در سال ۲۰۰۰ بیش از ۶۳۰۰ نژاد دام اهلی شناسایی شدند. از این میان بیش از ۱۳۰۰ نژاد منقرض شده اند و یا هم اکنون در معرض خطر انقراض قرار دارند (Hoffman و Scherf, ۲۰۰۵). علاوه بر این، امروزه تلاش هایی که برای ایجاد نژادهای پر تولید از طریق انتخاب و آمیزش بین نژادها صورت می گیرد، سبب کاهش تنوع ژنتیکی نژادهای بومی شده است. کاهش تنوع ژنتیکی نیز منجر به یکنواختی خزانه ژنی این نژادها خواهد شد. لذا مطالعه تنوع ژنتیکی دام ها با استفاده از روش های نوین ضروری به نظر می رسد. از سال ۱۹۹۴ یک روش مولکولی جدید تحت عنوان نشانگر بین ریزماهواره ای یا ISSR[2] بوجود آمد (Bornet و Branchard، ۲۰۰۱). ISSR نشانگرهای نیمه انتخابی[3] هستند که به وسیله PCR در حضور یک آغازگر که مکمل ریزماهواره هدف است، تکثیر می یابند. چنین تکثیری چند ژنگاهی و غالب بوده و چندشکلی بالایی ایجاد می کند. علاوه بر این، نیاز به آگاهی از توالی ژنوم ندارد (Nogaoka و Ogihara، ۱۹۹۷). Glazko و همکاران (۱۹۹۹) تفاوت های ژنتیکی بین سه گونه *Bos taurus*، *Bison bonasus* و *Bison bison* را با استفاده از چند نوع نشانگر ژنتیکی بررسی کردند. آنها مشخص کردند که ارزیابی روابط ژنتیکی بین گونه ای با نشانگرهای ژنتیکی- مولکولی همچون PCR-ISSR و PCR–RAPD[4] به خوبی امکان پذیر است. Gorodnaya و Glazko(۲۰۰۳) با استفاده از تکنیک PCR-ISSR خزانه ژنی چند نژاد گاو را بررسی کرده واز نظر تنوع ژنتیکی با هم مقایسه کردند. Gorodnaya و Glazko (۲۰۰۶) همچنین ساختار ژنتیکی ۵ نژاد گاو اکراینی را با همین تکنیک بررسی نمودند تا روابط ژنتیکی بین این نژادها وسطح هتروزیگوسیتی آنها را مشخص نمایند. نتایج بررسی آنها نشان داد که این تکنیک، یک روش مناسب جهت مقایسه تنوع ژنتیکی نژادهای مختلف گاواست. بر اساس یافته های Souframanien و Gopalkrishna (۲۰۰۴) که مبتنی بر آنالیز مقایسه ای بین نشانگرهای ISSR

www.SID.ir

وRAPD بود مشـــخص گردید که نشـــانگرهای ISSR نسبت به RAPD کارایی بالاتری داشته وچندشکلی بیشتری ایجاد می کنند. Mohammadabadi و همـــکاران (۲۰۰۷) گـــزارش کردند که بر اســـاس نشانگرهایISSR و RFLP، میانگین شاخص شانون، تعداد آلل موثر و شاخص نئی در گاوهای بومی کرمان بیشتر از نژاد هلشتاین بود. Moradi و همکاران (۲۰۰۷) برای اولین بار از نشانگرهای بین ریزماهواره ای جهـــت ارزیابی تنوع ژنتیکی تیپ های رنگی بز مرخز استفاده نمودند و گزارش دادند که بیشترین و کمترین تنوع ژنتیکی بـــه ترتیب در تیپ هـــای رنگی قهوه ای تیره و مشـــکی وجود دارد. Ahani Azari و Lazebny(۲۰۰۷) میزان هتروزیگوســـیتی را با اســـتفاده از دو آغازگر C ۹ (AG) و C ۹ (GA) در ۱۵ نژاد گاو بررســـی نمودند. نتایج تحقیق آنان سطح پائین هتروزیگوسیتی را در این نژادها نشـــان داد. Kol و Lazebny (۲۰۰۶) برای اولین بار با استفاده از تکنیک ISSR سطح هتروزایگوسیتی جمعیت گوزن های شـــمالی ساکن در جنوب سیبری را بررسی کردند. این افراد پیشنهاد دادند که رویکرد مورد اســـتفاده می تواند بـــه عنوان یک ابزار مفید برای کنترل تنوع ژنتیکی در جمعیت های گوزن شـــمالی اســـتفاده گردد. علی رغم ویژگی های مطلوبی که برای این نشـــانگر ذکر شد و نیز استفاده گســـترده آن در گیاهان، هنوز تعداد پژوهش های انجام شده با استفاده آن در حیوانات اندک است. با توجه به اهمیت آگاهی ازمیزان تنوع ژنتیکی حیوانات اهلی، لازم است بیش از پیش روشهای مولکولی به خدمت گرفته شـــوند که با توجه به مزیت های این روش انتظـــار می رود کاربرد آن در مطالعات ژنوم جانوران نیز به ســـرعت فراگیر شـــود. در این بررســـی با به کار بردن روش ISSR-PCR که با هدف آنالیز ســـاختار ژنتیکی گاوهای بومی مازندرانی و مقایســـه آن با نژاد هلشـــتاین صورت گرفت، کمیـــت وکیفیت قطعات حاصله مورد مطالعه قرار گرفت. بعلاوه شـــاخص های هتروزایگوســـیتی که نشـــان دهنده میـــزان تنوع ژنتیکی در ســـطح ژنوم ایـــن حیوانات می باشند برآورد شده و مورد مقایسه قرار گرفت.

مواد و روش ها

در این پژوهش از تعداد ۱۰۴ رأس گاو نژاد هلشتاین و ۷۱ رأس گاو بومی مازندرانی متعلق به روســـتای ســـابق محله واقع در بخش گلوگاه اســـتان مازندران به طور تصادفی نمونه گیری شد. خونگیری از ناحیه ورید دمی و به میزان ۶ میلی لیتر انجام شد. نمونه های خون بـــه لوله های حاوی ۰/۶ میلی لیتر EDTA ۰/۵ مولار انتقال یافت و روی یخ به آزمایشگاه ژنتیک گروه علوم دامی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان منتقل شد و تا زمان استخراج DNA در دمای ۲۰- درجه ســـانتیگراد نگهداری شد. جهت استخراج DNA از روش استخراج نمکی بهینه یافته (Miller, Dykes و Polesky, ۱۹۸۸) استفاده شد. نمونه های DNA در بافر TE حل شده و در فریزر ۲۰- درجه سانتیگراد ذخیره شدند. جهت تعیین کمیت و کیفیت DNA، از دو روش اســـپکتروفتومتری و الکتروفـــورز بـــر روی ژل آگارز یک درصد استفاده شد. در روش اســـپکتروفتومتری میزان ۳ میکرولیتر DNA بـــا ۲۹۷ میکرولیتر محلول TE مخلـــوط گردیده و غلظت و همچنین کیفیت آن با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر BRITE-Technologies (مدل BT۶۰۰، کانادا) ارزیابی شد. در روش دوم، نمونـــه هـــای DNA باغلظت نامعلوم همراه بـــا DNA فاژ لامبدا بر روی ژل آگارز یک درصد الکتروفورز شـــدند. بعد از رنگ آمیزی ژل با اتیدیوم برماید شـــدت قطعات با باندهای مربوط به لامبدا مقایسه شدند. در این تحقیق برای انجام PCR از کیت PCR شرکت سیناژن و یک پرایمر ۱۹ بازی (AGAGAGAGAGAGAGAGAGC) اســـتفاده گردید. واکنش PCR در حجم نهایـــی ۲۵ میکرولیتر در دستگاه ترموسایکلرشـــرکت Biometraساخت کشور آلمان انجام گردید. چرخه های حرارتی PCR شامل ۳ مرحله بود. مرحله اول واسرشت در دمای ۹۴ درجه سانتیگراد به مدت ۲ دقیقه، مرحله دوم در ۳۵ ســـیکل تکرار می شـــد که شامل ۳ بخش بود. واسرشـــت در دمای ۹۴ درجه به مـــدت ۳۰ ثانیه، اتصال در دمـــای ۵۵ درجه به مدت ۳۰ ثانیـــه و تکثیر در دمای ۷۲ درجـــه به مدت ۲ دقیقه. در مرحله ســـوم نیز تکثیر نهایی در دمـــای ۷۲ درجه و بـــه مدت ۲ دقیقه صورت گرفت. ســـپس محصولات PCR روی ژل پلی اکریلامید ۶ درصد در دســـتگاه ژل اسکن تفکیک شدند و برای تعیین اندازه قطعات از نشانگر استاندارد bp DNA Ladder GeneRuler™ 100 Plus استفاده شد. تصاویر حاصل از دستگاه ژل اسکن، با استفاده از نرم افزار One-Dscan ارزیابی شدند و اندازه باندها تعیین شد. برای ایجاد فایل باینری در Excel در صورت وجود باند، عدد یک و در غیاب آن صفر منظور می گردید. جهت بررسی آماری و مطالعه تنوع درون و بین جمعیتی از نرم افزار POPGene V۱/۳۱ (Yeh , Yang, Timothy, Ye , Judy ,۱۹۹۷) اســـتفاده گردید و تعداد آلل مؤثر، شـــاخص شانن و فواصل ژنتیکی نئی برآورد شدند. تعداد آلل مشاهده شده ساده ترین شاخص برای اندازه گیری تنوع درون جمعیتی اســـت. این شـــاخص نشان دهنده تعداد آلل های موجود در یک جایگاه صرفنظر از فراوانی آنها درون جمعیت هاســـت. در واقع انـــدازه گیری بهتر مقدار (n-۱) است، چون در این صورت است که تنوع موجود در یک جمعیت منومورف (یک شـــکل یا بدون تنوع) صفر خواهد بود. به منظور محاسبه تعداد آلل مشاهده شده از معادله ۱ استفاده گردید.

معادله ۱:

$$na = \frac{\Sigma xi}{N}$$

این پارامتر به شمارش تعداد آلل ها با فراوانی غیر صفر می پردازد کـــه در آن xi تعداد آلل های موجـــود در جایگاه iام و N تعداد کل جایگاه هاست.

برای محاسبه تعداد آلل مؤثر از معادله ۲ استفاده شد.

معادله ۲:

$$ne = 1/\Sigma_i Pi^2$$

Archive of SID

این پارامتر اطلاعاتی در مورد تأثیر نسبی آلل ها و نحوه توزیع آنها را ارائه می دهد که در آن Pi فراوانی iامین آلل می باشد.

تابع شاخص اطلاعاتی شانن (Shannon و Weaver, ۱۹۴۹) که معیاری برای اندازه گیری تنوع ژنتیکی است و توسط لوینتون ارائه گردیده بصورت معادله ۳ می باشد.

معادله ۳:

$$I = -\sum_{i} Pi \ln(Pi)$$

فاصله ژنتیکی استاندارد نئی (Nei, ۱۹۷۸) نیز از معادله ۴ به دست می آید.

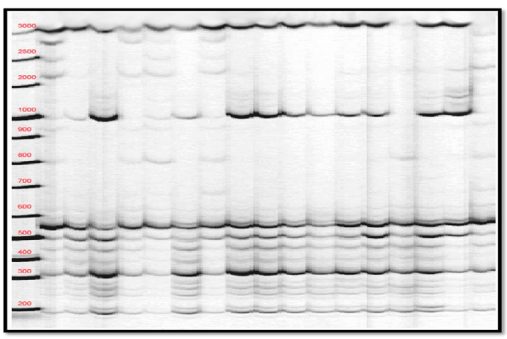
معادله ۴:

$$D = -\ln\left[\frac{(\sum_{j}^{r}\sum_{ih}^{mi} x_{ij} y_{ij})}{\sqrt{(\sum_{j}^{r}\sum_{i}^{mi} x^{2}_{ij})(\sum_{j}^{r}\sum_{i}^{mi} y^{2}_{ij})}}\right]$$

Xij و **yij** فراوانی iامین آلل در jامین جایگاه در جمعیت **x** و y ، mj تعداد آلل ها در لوکوس j و r تعداد جایگاه-هاست. لگاریتم طبیعی این معیار برای ژنوتیپ های کاملا خویشاوند صفر است.

نتایج

قطعات AG-ISSR: در این تحقیق ۱۷۵ رأس گاو از دو نژاد هلشتاین و مازندرانی ارزیابی شدند. نتایج نشان داد که پرایمر C ۹ **(AG)** توانایی تکثیر بر روی DNA گاوهای مورد بررسی را داراست و از آن می توان جهت ارزیابی تنوع ژنتیکی این نژاد ها استفاده نمود. در این پژوهش در مجموع ۳۲ باند کاملا مشخص و با وضوح بالا مشاهده گردید (شکل ۱).



شکل ۱- قطعات AG-ISSR حاصل از الکتروفورز محصولات PCR در دستگاه ژل اسکن در دو گله گاو

اندازه قطعات حاصل بین ۱۰۰ تا ۲۳۴۰ جفت باز(bp) متغیر بود. همانطور که در جدول ۱ نشان داده شده است، نژادهای هلشتاین و بومی مازندرانی به لحاظ نوع و فراوانی قطعات تفاوت داشتند. تعداد ۳۰ و ۲۴ قطعه چند شکل به ترتیب در دو گله مازندرانی و هلشتاین مشاهده شد. تعداد آلل های یک شکل (فراوانی = ۱) در گله مازندرانی یک قطعه و در گله هلشتاین ۷ قطعه بود. فراوانی ژنی مربوط به ۲۵ قطعه AG-ISSR در دو نژاد متفاوت بود ($p<۰/۰۵$). قطعه شماره ۱۱ (۳۳۰-۳۱۵ جفت باز) تنها در نژاد هلشتاین و قطعه شماره ۲۱ (۷۴۰-۷۳۰ جفت باز) فقط در گله مازندرانی مشاهده شد. نسبت قطعات پلی چند شکل AG-ISSR در گله مازندرانی و هلشتاین به ترتیب ۰/۹۳ و ۰/۷۵ بود.

جهت بررسی تنوع درون جمعیتی، چهار پارامتر تعداد آلل مشاهده شده (Na)، تعداد آلل موثر (Ne)، تنوع ژنی نئی(h) و شاخص اطلاعاتی شانن(I) با استفاده از نرم افزار POPGENE ارزیابی شدند. همانطور که در جدول ۳ نشان داده شده است، شاخص های تنوع ژنتیکی برای نشانگر AG-ISSR در گاوهای بومی به طور معنی داری (در سطح احتمال ۵ درصد) بالاتر از گاوهای هلشتاین بود.

بحث

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که دو نژاد گاو از نظر اندازه و فراوانی ژنی نشانگر AG-ISSR با هم متفاوتند. قطعات مشابه زیادی در هر دو نژاد مشاهده گردید اما فراوانی متفاوتی داشتند. بر اساس فراوانی آللی که در جدول ۱ مشخص شده است، میزان پلی مورفیسم قطعات در نژاد هلشتاین کمتر از مازندرانی بود که ممکن است به دلیل تنوع ژنتیکی پایین تر این نژاد خارجی باشد. تحقیقات Pashaei و همکاران (۲۰۰۹) با استفاده از نشانگر GA-ISSR که یکی دیگر از آغازگرهای پر کاربرد در زمینه تنوع ژنتیکی می باشد نیز این نتایج را تایید می نماید. لازم به ذکر است که در پژوهش آنان با استفاده از آغازگر C ۹ (GA) ، تنها تعداد ۱۵ قطعه مشاهده گردید. در حالی که در پژوهش اخیر که با استفاده از آغازگر C ۹ (AG) صورت گرفت، تعداد ۳۲ قطعه شناسایی شد. بنابراین آغازگر C ۹ (AG) سودمندتر بوده و استفاده از آن در مطالعات تنوع ژنتیکی توصیه می گردد. از طرف دیگر، تنوع ژنی نئی در گاوهای مازندرانی (۰/۳۲) بیشتر از گاوهای هلشتاین (۰/۲۸) بود، که نشان دهنده سطح پایین تر تنوع ژنتیکی در نژاد هلشتاین است. این امر می تواند به دلیل به کار گیری انتخاب شدید به همراه پرورش خویشاوندی و استفاده گسترده از اسپرم های نژاد هلشتاین برای ایجاد نژادهای پرتولید باشد. این موضوع در سطح جهانی سبب کاهش تعداد حیوانات و تنوع ژنتیکی سایر نژادها نیز گردیده است (Hoffman و Scherf, ۲۰۰۵). برآورد ضریب تنوع ژنتیکی شانن نیز نشان داد که مقدار این پارامتر برای گاوهای بومی مازندرانی و نژاد هلشتاین به ترتیب برابر با ۰/۴۸و ۰/۴۱ بود. Abadi و همکاران (۲۰۰۷) به بررسی مقایسه ای تنوع ژنتیکی گاوهای بومی کرمان و گاوهای نژاد هلشتاین پرداختند. نتایج آنان نیز نشان داد که تنوع ژنتیکی

Archive of SID

جدول ۱- اندازه و فراوانی ژنی قطعات حاصل از نشانگر AG-ISSR

قطعه	اندازه (جفت باز)	فراوانی		قطعه	اندازه (جفت باز)	فراوانی	
		مازندرانی	هلشتاین			مازندرانی	هلشتاین
AG-۱	۱۳۰-۱۰۰	۰/۲۲۲	۱/۰۰۰	AG-۱۷	۵۸۰-۵۶۵	۰/۸۳۲	۰/۸۳۰
AG-۲	۱۸۷-۱۸۰	۰/۱۴۴	۱/۰۰۰	AG-۱۸	۶۰۵-۵۹۰	۰/۴۴۳	۰/۸۳۰
AG-۳	۱۹۶-۱۹۲	۰/۸۸۱	۱/۰۰۰	AG-۱۹	۶۳۰-۶۱۵	۰/۵۷۲	۰/۵۳۰
AG-۴	۲۰۵-۱۹۹	۰/۵۴۰	۰/۳۵۷	AG-۲۰	۶۸۰-۶۷۰	۰/۲۲۲	۰/۸۶۱
AG-۵	۲۳۵-۲۲۵	۰/۱۵۲	۰/۸۳۰	AG-۲۱	۷۴۰-۷۳۰	۰/۰۰۷	۰/۰۰۰
AG-۶	۲۵۰-۲۴۰	۰/۶۶۴	۰/۶۰۸	AG-۲۲	۸۲۰-۸۰۰	۰/۲۳۱	۰/۷۰۶
AG-۷	۲۷۰-۲۶۰	۰/۱۶۹	۰/۵۵۱	AG-۲۳	۹۶۰-۹۴۰	۰/۳۹۵	۰/۸۳۰
AG-۸	۲۸۵-۲۸۰	۰/۶۴۴	۰/۷۶۰	AG-۲۴	۱۰۳۰-۱۰۰۰	۰/۶۲۵	۰/۸۰۴
AG-۹	۲۹۵-۲۹۰	۰/۳۵۰	۰/۵۰۰	AG-۲۵	۱۰۷۰-۱۰۵۰	۰/۱۶۱	۰/۲۴۰
AG-۱۰	۳۱۰-۳۰۰	۰/۰۲۱	۰/۶۰۸	AG-۲۶	۱۱۰۰-۱۰۹۰	۰/۳۰۸	۰/۸۰۴
AG-۱۱	۳۳۰-۳۱۵	۰/۰۰۰	۰/۹۰۲	AG-۲۷	۱۱۴۰-۱۱۱۰	۰/۰۸۱	۰/۷۲۳
AG-۱۲	۳۷۰-۳۵۰	۰/۸۸۱	۰/۵۵۱	AG-۲۸	۱۱۷۰-۱۱۵۰	۰/۰۳۶	۰/۶۷۵
AG-۱۳	۴۱۰-۳۹۰	۰/۲۶۸	۰/۷۸۱	AG-۲۹	۱۳۸۰-۱۳۰۰	۰/۴۴۳	۰/۶۹۰
AG-۱۴	۴۷۰-۴۴۰	۰/۶۲۵	۱/۰۰۰	AG-۳۰	۱۵۴۰-۱۵۲۰	۰/۳۲۹	۰/۷۰۶
AG-۱۵	۵۱۰-۴۹۰	۰/۷۹۴	۱/۰۰۰	AG-۳۱	۱۸۴۰-۱۸۱۰	۰/۴۰۷	۰/۸۶۱
AG-۱۶	۵۵۵-۵۳۵	۱/۰۰۰	۱/۰۰۰	AG-۳۲	۲۳۴۰-۲۲۸۰	۰/۷۹۴	۱/۰۰۰

جدول ۳- میانگین پارامترهای تنوع ژنتیکی در دو نژاد هلشتاین و مازندرانی

نژاد	n	Na	Ne	h	I
مازندرانی	۷۱	۱/۹۴	۱/۵۴	۰/۳۲	۰/۴۸
هلشتاین	۱۰۴	۱/۷۵	۱/۴۷	۰/۲۸	۰/۴۱
خطای استاندارد	-	۰/۰۴۶	۰/۰۴۳	۰/۰۲۲	۰/۰۳۰

گاو بومی کرمان بیشتر از گاو هلشتاین می باشد. بنابراین با نتایج تحقیق ما در مورد پایین بودن تنوع ژنتیکی گاو هلشتاین مطابقت دارد. Azari و همکاران (۲۰۰۷) گزارش دادند که شاخص های تنوع ژنتیکی در نژادهای *Bos taurus* و *Bos indicus* بیشتر از هلشتاین می باشد. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که به دلیل اجرای برنامه های درون آمیزی و انتخاب مستمر در گاوهای هلشتاین، تنوع ژنتیکی آنها کاهش یافته است.

لازم به ذکر است که هرچند بر اساس نتایج به دست آمده، تنوع ژنتیکی در گاوهای بومی مازندرانی به طور معنی-داری بیشتر از گاوهای نژاد هلشتاین بود، اما در مجموع مقادیر ضرایب به دست آمده در مورد این نژاد نیز پایین می باشد. این امر ممکن است به دلیل انجام آمیزش های خویشاوندی توسط پرورش دهندگان این نژاد بومی باشد که سبب افزایش هم خونی و کاهش تنوع ژنتیکی آنها شده است. از طرف دیگر پرورش این گاوها به صورت صنعتی نبوده و گاوداران محلی به دلایل اقتصادی در گله های خود اقدام به پرورش تعداد معدودی گاو نر می نمایند که برای آمیزش تمام افراد گله مورد استفاده قرار می گیرند. گاوهای محلی بسیار با ارزش بوده و باید به عنوان منابع عظیم ژنتیکی حفظ شوند. کاهش تنوع ژنتیکی حیوانات و یکسان شدن خزانه ژنی آنان می تواند در آینده سبب بروز برخی مشکلات غیر قابل پیش بینی گردد، چرا که امکان پیش گویی نیازهای آتی بشر به نوع فراورده های دامی دشوار بوده و از طرفی کاهش تنوع ژنتیکی، مقاومت حیوانات به بیماریها را نیز کاسته و بیش از پیش آنها را در معرض انقراض قرار می دهد. با توجه به موارد فوق، حفظ حداکثر تنوع ژنتیکی دام ها ضرورت داشته و لازمه آن انجام مطالعات مستمر ژنتیکی خصوصاً در سطح مولکولی می باشد. در همین راستا انجام چنین مطالعاتی بر روی دیگر دام های بومی نیز توصیه می گردد.

پاورقی ها

1- FAO
2- Inter simple sequence repeat
3- Semiarbitrary
4- Random Amplified Polymorphic DNA

منابع مورد استفاده

1-Ahani Azari, M. Lazebny, O. E. and Sulimova, G. E. (2007) Quantititative and qualitative comparison of ISSR-PCR fragments in Mongolian Yaks and fifteen cattle breeds. The 5th National Biotechnology Congress of Iran. kerman-Iran. 24-26 November 2007.

2- Bornet, B. and Branchard, M. (2001) Nonanchored Inter Simple Sequence Repeat (ISSR) Markers: Reproducible and specific tools for genome fingerprinting. *Plant Molecular Biology Reporter*. Vol, 19, pp: 209-215.

3- FAO. (2000) Global project for the maintenance of domestic animal genetic diversity (MODAD). http://www.fao.org/dad-is/.

4- Glazko, V. I. Dyman, T. N. Tarasiuk, S. I. and Dubin, AV. (1999) The polymorphism of proteins, RAPD-PCR and ISSR-PCR markers in European and American bison and cattle. *Tsitol Genet.* Vol, 33, pp: 30-39.

5- Gorodnaia, A. V. and Glazko, V. I. (2003) ISSR-PCR in differentiation of gene pools of cattle breeds. *J. Cyto. Genet*. Vol, 37, No, 1. pp:61-67.

6- Gorodnaya, A. V. and Glazko, V. I. (2006) Population-genetic study of the polymorphism of structural genes and ISSR-PCR markers in some cattle breeds. *Cytology and Genomics* . Vol, 40, No,1. pp: 49-57.

7- Hoffman, L. and Scherf, B. (2005) Animal genetic resources- time to worry? *Liv. Rep*. pp: 57-74.

8- Kol, N. V. and Lazebny, O. E. (2006) Polymorphism of ISSR-PCR markers in Tuvinian population of Reindeer Rangifer tarandusl. *Russian Journal of Genetics*. Vol, 42, No,12. pp: 1022-7954.

9- 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 Res*. Vol, 16, pp: 1215-1219.

10- Mohammad Abadi, M. Esmailizadeh, A. Pholadi, M. Soflaei, M. Mohammadi, A, Ghasemi, M. and Baghizadeh, A. (2007) Molecular comparative analysis of native and Holstein cows genome of Kerman province using ISSR and RFLP markers. The 5th National Biotechnology Congress of Iran. Tehran-Iran. 24-26 November 2007.

11- Moradi, M. Rostamzadeh, J. Rashidi, A. Karimi, F and Vahabi, KH. (2007) Evaluation of genetic diversity of Morkhoz goat color types by using inter microstatelite markers (ISSR). The 5th National Biotechnology Congress of Iran. Tehran-Iran. 24-26 November 2007.

12- Nei, M. (1978) Estimation of average hetrozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*. Vol, 89, pp: 583-590.

13- Nogaoka, T. and Ogihara, Y. (1997)Applicability of inter-simple sequence repeat polymorphisms in wheat for use as DNA markers in comparison to RFLP and RAPD markers. *Theor.Appl.Genet*. Vol, 94, pp: 597-602.

14- ONE-Scan Version 1.31. Copyright © 1994-1997. One-Dimensional gel analysis Scanalytics divition of CSP. Inc. Scanalyticas attach processor system.

15- Pashaei, S. Ahani Azari, M. Hasani, S. Khanahmadi, A.

Archive of SID

and Rostamzadeh, J. (2009) Genetic diversity in Mazandarani native cattle: A comparison with Holstein cattle, using ISSR marker. *Pak. J. Biol. Sci*. Vol, 12, No, 9. pp: 717-721.
16- Shannon, CE. and Weaver, W. (1949) The mathematical theory of communication. Univ. Of Illinois Press, Urbana.
17- Souframanien, J. and Gopalkrishna, T. (2004) A comparative analysis of genetic diversity in blackgram genotypes using RAPD and ISSR markers. *Theor. Appl. Genet* . Vol, 109, No, 8. pp:1687-1693
18- Yeh, F. C. Yang, R. C. Timothy, B. J. Ye, Z. and Judy, M. (1997) Pop Gene, the user-friendly shareware for population genetic analysis. *J. Mol. Bio*. Biotech. Center Univ. Alberta.

SID