

بررسی تنوع ژنتیکی مرغ‌های بومی استان خوزستان با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره

• **مریم بنوان کیا (نویسنده مسئول)**

کارشناسی ارشد ژنتیک و اصلاح دام، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان.

• **هدایت ... روشنفکر**

دانشیار دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان.

• **جمال فیاضی**

دانشیار دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان.

تاریخ دریافت: شهریور ۹۲ تاریخ پذیرش: فروردین ۹۳

شماره تماس نویسنده مسئول: ۰۹۳۳۶۸۱۸۷۴۲

• **مرتضی چاجی**

دانشیار دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان.

Email: Maryam.benvankia@yahoo.com

چکیده

در مطالعه حاضر تنوع ژنتیکی ۱۰۰ قطعه مرغ بومی از ۵ منطقه در استان خوزستان شامل (آبادان، دزفول، شوشتر، اهواز و ایذه) با استفاده از ۶ نشانگر ریزماهواره مورد بررسی قرار گرفت. DNA، با استفاده از روش استخراج نمکی از نمونه‌های خون جمع آوری شده، استخراج شد. واکنش‌های PCR برای تمامی جایگاه‌ها به خوبی صورت گرفت و مشخص شد که همه جایگاه‌ها از چند شکلی بالایی برخوردار هستند. مقدار فراوانی جایگاه‌های مورد مطالعه بین ۰/۰۰۵ تا ۰/۲۴۷ بدست آمد. جمعاً ۱۰۳ آلل مشاهده شد. میانگین PIC به میزان ۰/۸۹۸ برآورد شد. میانگین هتروزیگوسیتی در کل جمعیت ۰/۹۴۸ با بیشترین میزان ۰/۹۷ در جمعیت آبادان و با کمترین میزان ۰/۹۲ در جمعیت شوشتر برآورد شد. بنابراین آبادان بالاترین و شوشتر پایین‌ترین تنوع را نشان دادند. درخت فیلوژنتیک حاصل از فاصله ژنتیکی D_A به روش UPGMA ترسیم گردید که در این روش شوشتر قدیمی‌ترین جمعیت شناخته شد. در کل، سطح بسیار بالایی از تنوع ژنتیکی در این مطالعه شناسایی شده است.

Animal Science Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 105 pp: 273-282

Investigation Genetic Diversity Native Chicken of Khuzestan Using Microsatellite Markers.

By: *Benvankia, M. (M.Sc) Animal Science Genetic and Animal Breeding (Corresponding Author; Tel: +989336818742), Roshanfekr, H.A. Associate Professor., Fayazi, J. Associate Professor., Chaji, M. Associate Professor, Khuzestan Ramin Agricultural and Natural Resources University.*

Received: August 2013

Accepted: March 2014

The variation within a population of 100 pieces of native chicken from 5 regions of Khuzestan province (Abadan, Dezful, Shushtar, Ahvaz, Izeh) were analyzed by using 6 microsatellite markers, in the present study. The DNA was extracted by using Salting Out method from blood samples collected. The PCR reactions for all locuses were performed and it was found that all of them are highly polymorphic. The frequency of studied locuses was obtained from 0.247 to 0.005. A total of 103 alleles were detected. The average of PIC rate was estimated (0.898). Average hetero-zygosity in whole population (0.948) detected Abadan, with the most level (0.97), and Shushtar with the lowest one (0.92). So Abadan and Shushtar have shown the highest and lowest levels, respectively. The Phylogenetic tree resulted from D_A genetic distance was drawn by UPGMA method, that Shushtar known as the oldest population. The High level of genetic variation identified in this study, generally.

Key words: Native Chicken, Hetero-zygosity, Polymorphism Information Content, Genetic Distances,

مقدمه

استفاده شدند، که تنوع بالایی در این مرغ‌ها مشاهده شد (۴). رابطه و تنوع ژنتیکی جمعیت مرغ‌های بومی استان خراسان با استفاده از چهار جفت نشانگر ریزماهورای مورد بررسی قرار گرفت. میزان تنوع درون جمعیتی، در این جمعیت ۰/۷۴ گزارش شد که ممکن است ناشی از هم‌خونی پایین در این جمعیت باشد (۱۰). در تحقیقی دیگر، به منظور شناسایی چند شکلی جمعیت مرغ بومی سیستان، ۳۰ قطعه مرغ بومی به صورت تصادفی انتخاب و با استفاده از ۵ نشانگر ریزماهورای مورد بررسی قرار گرفت. تمامی جایگاه‌های مورد مطالعه از چند شکلی مناسبی برخوردار بودند (۱). هدف از این تحقیق، بررسی وضعیت تنوع ژنتیکی مرغ‌های بومی در استان خوزستان، تعیین توانمندی نشانگرهای ریزماهورا در بررسی تنوع ژنتیکی و کمک به برنامه‌های اصلاح نژادی در مرغ بومی کشور بوده است.

مواد و روش‌ها**نمونه برداری و انجام واکنش PCR^۱**

جهت انجام این بررسی، از ۱۰۰ قطعه مرغ بومی به صورت کاملاً تصادفی، در ۵ منطقه از استان خوزستان (آبادان، دزفول، شوشتر،

تاریخ طولانی اهلی شدن و انتخاب برای صفات مهم از نظر انسان، سبب ایجاد تنوع زیستی وسیعی در بین گونه‌ها و نژادهای مختلف طیور شده است. خواسته‌های تجاری و فشار انتخاب، سبب ایجاد خطر از دست رفتن مخزن ژنتیک طبیعی این پرندگان شده، به همین دلیل، فعالیت‌های وسیعی در زمینه حفظ و نگهداری ژنوم طبیعی طیور انجام شده است (۱۳). در شرایط کنونی، روستاییان به نژادهای مقاوم با تولید مطلوب و منطبق با شرایط اقلیمی مختلف، نیاز دارند (۱۵). پلی مورفیسم بالا و آسانی نسبی در درجه بندی و تجزیه داده‌های حاصل، از ویژگی‌های مهم نشانگرهای ریزماهورا است که موجب توسعه مطالعات آن شده است (۱۶). در یک بررسی جمعیت مرغ‌های بومی از ۷ منطقه متفاوت در شمال اتیوپی مورد مطالعه قرار گرفتند. تنوع و تفاوت ژنتیکی جمعیت، با استفاده از نشانگرهای ریزماهورا تعیین گردید. سه لاین از مرغ‌های بومی آفریقای جنوبی و دو سویه مرغ تجاری برای مقایسه در نظر گرفته شدند. در تمام جمعیت‌ها تنوع ژنتیکی مطلوبی مشاهده شد (۶). در مطالعه‌ای در برزیل ۲۰ جایگاه میکروساتلایت با پتانسیل بالا برای مطالعات تنوع، در توده‌های مرغ‌های بومی برزیل

مورد استفاده قرار گرفته است که مشخصات آنها در جدول ۱ آورده شده است. آغازگرها از شرکت تکاپوزیست و به صورت لیوفلیزه (غیر حساس به دما) خریداری و طبق دستورالعمل کارخانه با آب دو بار تقطیر رقیق گردیدند. پس از حل کردن و رقیق ساختن آغازگرها طبق دستورالعمل مربوطه، در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شدند.

اهواز، ایذه) به میزان ۳ میلی لیتر خون از ورید و داج گرفته شد و به آرامی به لوله‌های خلأدار حاوی ماده ضد انعقاد خون^۲ ریخته شد و سپس، نمونه‌های جمع‌آوری شده به آزمایشگاه مرکزی دانشگاه رامین خوزستان ارسال گردید. در آزمایشگاه، پس از استخراج DNA به روش استخراج نمکی^۳، DNA جمع‌آوری شده رقیق گشته و به فریزر منتقل گردید. در این مطالعه ۶ جایگاه ریزماهواره

جدول ۱- مشخصات جایگاه‌های مورد مطالعه

جایگاه	جایگاه کروموزومی	دامنه آللی	توالی پرایمر	منابع
LEI0166	۳	۲۴۸-۳۶۴	R:TATCCCCTGGCTGGGAGTTT	Gibbs et al.1997
LEI0192	۶	۲۵۴-۳۷۰	R:GTCATTACTGTTATGTTTATTGC	Mcconnel et al.1999
LEI0217	۱	۱۸۲-۲۷۴	R:AAATTACTGAGGCACAGGAG	Mcconnel et al.1999
LEI0237	۲	۲۷۲-۳۸۴	R:CTTCAACTATAAAGCATAGCTG	Mcconnel et al.1999
LEI0258	۱۶	۱۹۷-۲۷۵	R:AGCTGTGCTCAGTCCTCAGTGC	Mcconnel et al.1999
MCW0213	۱۳	۲۸۱-۳۲۱	R:GACAAGTCAACAACCTGCCAG	Crooijmans et al.1997

بدست آمد. بر حسب نوع آغازگر دمای اتصال آغازگرها بین ۵۸- ۴۶ درجه سانتیگراد متفاوت بود. مراحل واسرشت سازی تا بسط بر حسب نوع آغازگر ۳۵-۳۰ بار تکرار گردید.

پس از آزمایشات غلظت‌های مختلف اجزای PCR، شرایط بهینه به دست آمد. تکثیر DNA ژنومی از طریق واکنش زنجیره ای پلیمرز انجام گردید. بعد از آزمایش دما و برنامه‌های مختلف، برنامه حرارتی مناسب برای آغازگرهای مورد مطالعه طبق جدول ۲

جدول ۲- چرخه‌های حرارتی PCR

مراحل PCR	درجه حرارت	زمان
واسرشت سازی اولیه	۹۵	۵ دقیقه
واسرشته سازی	۹۵	۴۵ ثانیه
اتصال آغازگر	دمای اتصال مربوط به آغازگر	۴۵ ثانیه
بسط	۷۲	۴۵ ثانیه
بسط نهایی	۷۲	۱۰ دقیقه
نگهداری	۴	۲۰ دقیقه

آمدند و سپس از نرم افزارهای HET 1.8 (۲)، Gene Alex 6.3 (۱۲) و Pop tree2 (۱۴) استفاده شد.

نتایج

فراوانی آللی

در این تحقیق، اعداد به دست آمده از نرم افزار UV DOC وارد Excel شد و از طریق نرم افزار Gene Alex 6.3 مقدار فراوانی جایگاه‌های مورد مطالعه محاسبه شد. مقدار هر آلل با حروف لاتین در جدول ۳ نشان داده شده است.

در این تحقیق جهت آشکارسازی تفاوت قطعات DNA از الکتروفورز ژل پلی اکریل آمید ۸٪ استفاده گردید.

از هر نمونه ۸ ماکرو لیترو و به همراه ۱ ماکرو لیترو لدر در چاهک بارگذاری و با ولتاژ ۱۸۰ و جریان ۱۰۰ میلی آمپر به مدت ۲ تا ۳ ساعت الکتروفورز گردید. بعد از ظاهر شدن باندها بر روی ژل، توسط یک دوربین از این ژل‌ها عکس گرفته شد.

سپس با استفاده از نرم افزار UV DOC دامنه آللی به دست آمد که این اعداد در واقع اعداد مورد نیاز جهت آنالیزها به شمار می‌-

جدول ۳- فراوانی آللی برای ۶ جایگاه ریزماهواره

MCW0213	LEI0258	LEI0237	LEI0217	LEI0192	LEI0166	جایگاه
۳۸۰-۱۵۰	۳۸۰-۱۵۰	۳۸۰-۱۳۰	۲۹۰-۱۰۰	۳۸۰-۱۴۰	۳۵۰-۱۸۰	آلل / اندازه آللی
-	-	-	۰/۰۴۵	-	-	A
-	-	-	۰/۰۱۷	-	-	B
-	-	۰/۰۱۱	۰/۰۲۸	-	-	C
-	-	-	۰/۰۳۴	۰/۰۱۱	-	D
-	۰/۱۰۱	۰/۰۵۰	۰/۰۸۰	۰/۰۷۴	-	E
-	۰/۰۶۲	۰/۰۰۶	۰/۰۸۵	۰/۰۲۶	-	F
-	۰/۰۵۱	۰/۰۱۷	۰/۰۴۰	۰/۰۴۲	-	G
-	۰/۰۵۱	۰/۰۳۹	۰/۱۵۹	۰/۰۵۸	۰/۰۰۵	H
۰/۰۵۳	۰/۱۱۸	۰/۰۲۲	۰/۱۰۲	۰/۰۸۴	۰/۰۲۲	I
۰/۰۷۱	۰/۰۷۳	۰/۰۷۸	۰/۱۷۰	۰/۲۴۷	۰/۱۰۹	J
۰/۱۰۰	۰/۰۴۵	۰/۰۷۸	۰/۰۶۸	۰/۱۰۵	-	K
۰/۱۰۰	۰/۰۱۷	۰/۰۵۶	۰/۰۲۸	۰/۰۴۷	۰/۰۳۸	L

ادامه جدول ۳

MCW0213	LEI0258	LEI0237	LEI0217	LEI0192	LEI0166	جایگاه
۳۸۰-۱۵۰	۳۸۰-۱۵۰	۳۸۰-۱۳۰	۲۹۰-۱۰۰	۳۸۰-۱۴۰	۳۵۰-۱۸۰	آلل / اندازه آللی
۰/۰۷۶	۰/۰۹۶	۰/۰۶۷	۰/۰۵۷	۰/۰۵۳	۰/۰۴۹	M
۰/۰۴۱	۰/۰۱۱	۰/۰۶۷	۰/۰۲۳	۰/۱۰۰	۰/۱۳۰	N
۰/۱۱۸	۰/۰۶۲	۰/۰۷۲	۰/۰۳۴	۰/۰۴۲	۰/۱۱۴	O
۰/۰۶۵	۰/۰۴۵	۰/۱۱۱	۰/۰۱۷	۰/۰۰۵	۰/۱۱۴	P
۰/۱۲۹	۰/۱۰۷	۰/۰۶۷	۰/۰۱۱	۰/۰۳۷	۰/۰۹۲	Q
۰/۱۲۹	۰/۰۹۶	۰/۱۲۲	-	۰/۰۴۷	۰/۲۰۷	R
۰/۰۴۱	۰/۰۲۸	۰/۰۶۷	-	۰/۰۱۱	۰/۰۸۷	S
۰/۰۲۴	۰/۰۰۶	۰/۰۲۲	-	-	-	T
۰/۰۲۴	۰/۰۱۷	۰/۰۱۷	-	-	۰/۰۳۳	U
۰/۰۰۶	۰/۰۰۶	۰/۰۰۶	-	-	-	V
۰/۰۱۸	۰/۰۰۶	۰/۰۰۶	-	-	-	W
-	۰/۰۰۶	۰/۰۲۲	-	۰/۰۱۱	-	X
۰/۰۰۶	-	-	-	-	-	Y

نتایج محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC)^۴

محتوای اطلاعات چند شکلی به عنوان معیار دیگری برای چند شکلی جایگاه‌ها به ازای کل جمعیت‌ها و با استفاده از فراوانی آللی که توسط نرم افزار Gene Alex 6.3 به دست آمده بود و وارد کردن این فراوانی‌ها در نرم افزار Het 1.80 محاسبه گردید و نتایج حاصله در جدول ۴ خلاصه شده است.

جدول ۴- نتایج محتوای چند شکلی در همه جمعیت (PIC)

جایگاه	LEI0166	LEI0192	LEI0217	LEI0237	LEI0258	MCW0213	میانگین
PIC	۰/۸۶۹	۰/۸۸۰	۰/۸۹۷	۰/۹۲۴	۰/۹۱۷	۰/۹۰۳	۰/۸۹۸

هتروزیگوسیتی مشاهده شده و هتروزیگوسیتی مورد انتظار

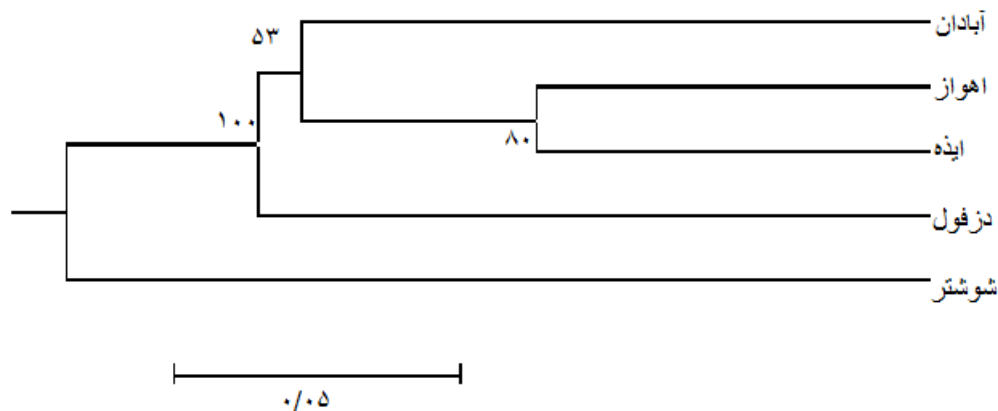
تنوع درون جمعیتی یا تنوع ژنی به صورت هتروزیگوسیتی مشاهده شده و هتروزیگوسیتی مورد انتظار به عنوان شاخص اصلی تنوع درون جمعیتی، در هر جایگاه و برای هر جمعیت به همراه میانگین‌ها در جدول ۵ خلاصه شده است. تعیین این مقادیر برای هر جایگاه در این جمعیت با استفاده از نرم افزار Gene Alex 6.3 انجام گرفته است.

جدول ۵- نتایج تنوع ژنی یا هتروزیگوسیتی (مشاهده شده و مورد انتظار) موجود در ۵ جمعیت

جمعیت	آبادان	دزفول	شوشتر	اهواز	ایذه
جایگاه	He	Ho	He	Ho	He
	۱	۱	۱	۱	۱
	۰/۸۵۵	۰/۹۴۴	۰/۸۸۹	۰/۸۰۵	۰/۸۴۱
	۱	۱	۱	۱	۱
	۰/۸۳۸	۰/۸۹۵	۰/۸۹۹	۰/۸۷۶	۰/۷۸۵
	۱	۱	۱	۱	۱
	۰/۸۷۷	۰/۸۵۸	۰/۸۵۸	۰/۸۷۶	۰/۸۸۲
	۰/۸۴۲	۰/۸۹۵	۰/۹۴۱	۰/۷۸۹	۰/۹۰۱
	۱	۱	۱	۱	۱
	۰/۹۱۴	۰/۹۰۱	۰/۸۸۹	۰/۸۸۹	۰/۸۶۷
MCW0213	۱	۱	۱	۱	۱
	۰/۸۸۲	۰/۸۷۰	۰/۸۸۲	۰/۸۷۹	۰/۸۴۰
میانگین	۰/۹۷	۰/۸۷۶	۰/۸۸۵	۰/۸۷۴	۰/۸۵۲

درخت فیلوژنیک

فیلوژنی حاصل از معیار فاصله ژنتیکی D_A از طریق روش UPGMA با استفاده از نرم افزار Pop tree ترسیم گردیده است.



درخت فیلوژنیک حاصل از فاصله ژنتیکی D_A که به روش UPGMA تشکیل گردیده است

بحث

P در جایگاه LEI0192 مشاهده شد. جایگاه LEI0237 و LEI0258 با بیشترین تعداد آلل کارایی بهتری را از خود نشان دادند. تعداد کل آلل مشاهده شده برای جایگاه LEI0166، ۱۲ آلل بود که با نتایج دینگ و همکاران (۲۰۰۹) با تعداد ۳ آلل در مرغ‌های بومی چین و بنگلادش، چن و همکاران (۲۰۰۸) با تعداد ۶ آلل در مرغ‌های بومی چین، زانتی و همکاران (۲۰۱۰) با تعداد ۳ آلل در مرغ‌های بومی ایتالیا، کلیمنتینو و همکاران (۲۰۱۰) با تعداد ۸ آلل در مرغ‌های بومی برزیل مغایرت داشت. در این بررسی

سودمندی یک نشانگر ژنتیکی، به تعداد و فراوانی آللی آن مربوط می‌شود که این فاکتورها در میزان هتروزیگوسیتی و چند شکلی آن تأثیر دارند. فراوانی آللی به دلیل استفاده از داده‌های خام نمونه‌های تصادفی از ژنوم بوده و معیار مناسبی در بررسی تنوع ژنتیکی با استفاده از نشانگرها می‌باشد (۸). در این تحقیق جمعاً ۱۰۳ آلل مشاهده شد بیشترین فراوانی آللی با میزان ۰/۲۴۷ مربوط به آلل J در جایگاه LEI0166 و کمترین فراوانی آللی با میزان ۰/۰۰۵ مربوط به آلل H در جایگاه LEI0166 و مربوط به آلل

۰/۹۰۱ تا حدود زیادی مطابقت داشت. میزان PIC برای جایگاه LEI0258، ۰/۹۱۷ برآورد شد که با نتایج کلیمنتینو و همکاران (۲۰۱۰) به میزان ۰/۹۰۶ تا حدود زیادی مطابقت داشت. میزان PIC برای جایگاه MCW0213، ۰/۹۰۳ برآورد شد که با نتایج کلیمنتینو و همکاران (۲۰۱۰) با میزان ۰/۸۹۹ تا حدود زیادی مطابقت داشت و با نتایج هاسن و همکاران (۲۰۰۷) در مرغ‌های بومی اتیوپی به میزان ۰/۷۵ مغایرت داشت. در نهایت میانگین PIC نهایی به میزان ۰/۸۹۸ در کل جایگاه‌ها و جمعیت‌ها محاسبه شد. طبق جدول، جایگاه‌های LEI0237 با میزان PIC ۰/۹۲۴ و جایگاه LEI0258 با میزان PIC ۰/۹۱۷، بیشترین میزان PIC را در بین جایگاه‌ها داشته‌اند و توانسته‌اند بهتر از بقیه آغازگرهای استفاده شده فاصله ژنتیکی نمونه‌ها را مشخص کنند و می‌توانند در مطالعات بعدی نیز به عنوان آغازگرهایی که در تشخیص تنوع ژنتیکی مناسب هستند مورد استفاده قرار گیرند و جایگاه LEI0166 دارای کمترین میزان PIC (۰/۸۶۹) می‌باشد و توصیه می‌شود از این آغازگر در مطالعات بعدی استفاده نگردد. دلیل بالابودن ارزش PIC بالاتر از ۰/۷ خصوصاً در جایگاه‌های LEI0237 و LEI0258، دلیلی مشهود بر چند شکلی زیاد این جایگاه‌ها و از طرفی بیانگر کارآمدی بالای آن‌ها در تمایز ژنوتیپ‌های موجود در جمعیت‌ها می‌باشد. دلیل تفاوت را می‌توان به تفاوت در نشانگرهای مورد استفاده و همچنین تفاوت در نمونه‌های مورد بررسی نسبت داد. تعداد آلل در هر لوکوس از جمله پارامترهایی است که در تحلیل و تجزیه داده‌ها محاسبه می‌گردد. تنوع درون جمعیتی یا تنوع ژنی به صورت هتروزیگوسیتی مشاهده شده و هتروزیگوسیتی مورد انتظار به عنوان شاخص اصلی تنوع درون جمعیتی، در هر جایگاه و برای هر جمعیت به همراه میانگین‌ها در جدول ۵ خلاصه شده است. تعیین این مقادیر برای هر جایگاه در این جمعیت با استفاده از نرم افزار GeneALEx6.3 انجام گرفت.

با در نظر گرفتن کلیه جایگاه‌ها به ازاء جمعیت‌ها بیشترین میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده به میزان ۱ می‌باشد که در این تحقیق، در جایگاه‌های LEI0166, LEI0192, LEI0217, LEI0237, LEI0258

برای جایگاه LEI0192 ۱۷ آلل مشاهده شد، که با نتایج کلیمنتینو و همکاران (۲۰۱۰) در مرغ‌های بومی برزیل با تعداد ۱۷ آلل مطابقت داشت. برای جایگاه LEI0217 ۱۷ آلل مشاهده شده بود که با نتایج کلیمنتینو و همکاران (۲۰۱۰) با تعداد ۱۵ آلل در مرغ‌های بومی برزیل تقریباً مطابقت داشت. تعداد آلل مشاهده شده برای جایگاه LEI0237 ۲۱ آلل بود که با نتایج کلیمنتینو و همکاران (۲۰۱۰) با تعداد ۱۷ آلل در مرغ بومی برزیل مغایرت داشت. برای جایگاه LEI0258 تعداد آلل مشاهده شده ۲۰ آلل بود که با نتایج کلیمنتینو و همکاران (۲۰۱۰) با تعداد ۱۸ آلل در مرغ بومی برزیل تقریباً مطابقت داشت. تعداد آلل مشاهده شده برای جایگاه MCW0213 ۱۶ آلل مشاهده شد که با نتایج کلیمنتینو و همکاران (۲۰۱۰) با تعداد ۱۳ آلل در مرغ‌های بومی برزیل، و نتایج هاسن و همکاران (۲۰۰۷) در مرغ‌های بومی اتیوپی با تعداد ۲۰ آلل مغایرت داشت. بنابراین جایگاه LEI0237 و LEI0258 با بیشترین تعداد آلل کارایی بهتری را از خود نشان دادند. محتوای چند شکلی، همبستگی مثبتی با تعداد آلل در هر لوکوس از خود نشان می‌دهد و حتی می‌توان با استفاده از تعداد آلل‌های تولید شده در هر لوکوس و در هر ژنوتیپ، میزان ناخالصی را محاسبه کرد. با توجه به جدول، میزان PIC در جایگاه LEI0166، ۰/۸۶۹ به دست آمد که با نتایج کلیمنتینو و همکاران (۲۰۱۰) در مرغ‌های بومی برزیل با میزان ۰/۶۶۵ و با نتایج دینگ و همکاران (۲۰۰۹) در مرغ بومی چین و بنگلادش با میزان ۰/۳۴۴۳، لوژیانگ و همکاران (۲۰۰۶) در مرغ‌های بومی چین و الوفسو و همکاران (۲۰۰۶) در مرغ‌های بومی چین با میزان ۰/۶۹۳۱ مغایرت داشت. میزان PIC برای جایگاه LEI0192 به میزان ۰/۸۸۰ به دست آمد که با نتایج کلیمنتینو و همکاران (۲۰۱۰) در مرغ‌های بومی برزیل با میزان ۰/۸۹۱ و با نتایج لوژیانگ و همکاران (۲۰۰۶) در مرغ‌های بومی چین با میزان ۰/۸۸۳ مطابقت داشت. میزان PIC برای جایگاه LEI0217 میزان ۰/۸۹۷ برآورد شد که با نتایج کلیمنتینو و همکاران (۲۰۱۰) با میزان ۰/۸۵۷ تا حدود زیادی مطابقت داشت. میزان PIC برای جایگاه LEI0237، ۰/۹۲۴ برآورد شد که با نتایج کلیمنتینو و همکاران (۲۰۱۰) به میزان

میانگین هتروزایگوسیتی مورد انتظار به میزان ۰/۸۹۹ مربوط به جایگاه LEI0237 و جایگاه LEI0258 به میزان ۰/۸۹۳ و کمترین میانگین هتروزایگوسیتی مورد انتظار به میزان ۰/۸۴۸ مربوط به جایگاه LEI0166 بود. با توجه به جدول ۵، میانگین هتروزایگوسیتی مشاهده شده برای جایگاه LEI0166 به میزان ۰/۹۶ برآورد شده است که با نتایج کلیمنتینو و همکاران (۲۰۱۰) با میزان ۰/۷۲۳ و نتایج لوژیانگ و همکاران (۲۰۰۶) با میزان ۰/۵۸ در مرغ‌های بومی چین مغایرت داشت. این میانگین، برای جایگاه LEI0192، به میزان ۰/۹۴ برآورد شده است که با نتایج کلیمنتینو و همکاران (۲۰۱۰) در مرغ‌های بومی برزیل به میزان ۰/۹۲۲ تا حدود زیادی مطابقت داشت و با نتایج هانگ (۲۰۱۰) به میزان ۰/۴۰ و نتایج لوژیانگ و همکاران (۲۰۰۶) با میزان ۰/۷۷ در مرغ‌های بومی چین مغایرت داشت، برای جایگاه LEI0217 به میزان ۰/۹۹ برآورد شده است که با نتایج کلیمنتینو و همکاران (۲۰۱۰) در مرغ‌های بومی برزیل به میزان ۰/۸۸ مغایرت داشت، برای جایگاه LEI0237 به میزان ۰/۸۹ برآورد شده است که با نتایج کلیمنتینو و همکاران (۲۰۱۰) در مرغ‌های بومی برزیل به میزان ۰/۹۳۱ مغایرت داشت. برای جایگاه LEI0258 به میزان ۰/۹۳ برآورد شده است که با نتایج کلیمنتینو و همکاران (۲۰۱۰) در مرغ‌های بومی برزیل به میزان ۰/۹۷ برآورد شده است که با نتایج کلیمنتینو و همکاران (۲۰۱۰)، در مرغ‌های بومی برزیل ۰/۹۲۹ تا حدود زیادی مطابقت و با نتایج هاسن و همکاران (۲۰۰۷) در مرغ‌های بومی اتیوپی با میزان ۰/۷۹ مغایرت داشت. در این تحقیق افزایش هتروزایگوسیتی مشاهده شده نسبت به هتروزایگوسیتی مورد انتظار وجود داشته که دلیل مشهودی بر تصادفی بودن آمیزش‌ها می‌باشد. میانگین هتروزایگوسیتی مشاهده شده نهایی در تمام جایگاه‌ها به میزان ۰/۹۴۶ برآورد شد. در دندروگرام حاصل از فاصله ژنتیکی D_A که به روش UPGMA ترسیم شده است، در مرحله اول دو شاخه تشکیل شده است که در شاخه اول شوشتر به تنهایی قرار دارد و به عنوان قدیمی‌ترین جمعیت محسوب می‌شود و شاخه بالایی نیز به چند شاخه تقسیم

LEI0258, MCW0213 در جمعیت آبادان و در جایگاه‌های LEI0217, LEI0258, MCW0213 در جمعیت دزفول، در جایگاه‌های LEI0166, LEI0192, MCW0213 در جمعیت شوشتر، و در جایگاه‌های LEI0217, LEI0258 و LEI0237, LEI0237 در جمعیت اهواز و در جایگاه‌های LEI0166 و LEI0217 در جمعیت ایذه مشاهده شد که حاکی از تنوع ژنتیکی بالای در این جمعیت‌ها می‌باشد. کمترین هتروزایگوسیتی مشاهده شده به میزان ۰/۷۸۹ در جایگاه‌های LEI0237 و LEI0258 در جمعیت شوشتر مشاهده شد که حاکی از تنوع ژنتیکی کمتر در این جمعیت می‌باشد. بیشترین هتروزایگوسیتی مورد انتظار به میزان ۰/۹۱۶ مربوط به جایگاه LEI0237 در جمعیت شوشتر و کمترین هتروزایگوسیتی مورد انتظار به میزان ۰/۷۸۵ مربوط به جایگاه LEI0192 در جمعیت ایذه بود. با توجه به دامنه موجود در بین بیشترین و کمترین میانگین هتروزایگوسیتی، چند شکلی فراوانی جایگاه‌های مزبور تصدیق گشته و وجود این مقادیر از جایگاه‌های ریزماهورای قابل انتظار است. در ردیف آخر جدول ۵، میانگین هتروزایگوسیتی مشاهده شده و میانگین هتروزایگوسیتی مورد انتظار برای تک تک جمعیت‌ها محاسبه و مشخص شد که بیشترین میانگین هتروزایگوسیتی مشاهده شده به میزان ۰/۹۷ در جمعیت آبادان و کمترین هتروزایگوسیتی مشاهده شده به میزان ۰/۹۲ در جمعیت شوشتر مشاهده شد. همچنین، بیشترین میانگین هتروزایگوسیتی مورد انتظار در جمعیت‌های دزفول به میزان ۰/۸۸۵ و جمعیت آبادان به میزان ۰/۸۷۶ بود. کمترین میانگین هتروزایگوسیتی مورد انتظار به میزان ۰/۸۵۲ مربوط به جمعیت ایذه بود. بنابراین آبادان دارای بالاترین تنوع ژنتیکی و شوشتر دارای کمترین تنوع ژنتیکی می‌باشد. با لحاظ شدن میانگین هتروزایگوسیتی مشاهده شده و هتروزایگوسیتی مورد انتظار کلیه جایگاه‌ها در جدول ۵، بیشترین میانگین هتروزایگوسیتی مشاهده شده (۰/۹۹) در جایگاه LEI0217 و کمترین میانگین هتروزایگوسیتی مشاهده شده (۰/۸۹) مربوط به جایگاه LEI0237 بود. همچنین بیشترین

4. Clementino, C.S., Barbosa, F.J.V., Carvalho, A.M.F., Costa-Filho, R.A.R., Silva, G.R., Campelo, E.G., Britto, F.B and Diniz, F.M. 2010. Chicken Microsatellite DNA loci for population studies Brazilian ecotypes. *International Journal of Poultry Science*. 9 (12): 1100-1106.

5. Ding, F., Zhang, G., Wang, J., Li, Y., Zhang, L., Wei, Y., Wang, H., Zhang, L and Hou, Q. 2010. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 23(2):154-161.

6. Hassen, H., Naser, F. W. C. de Kock, A and Marle-Köster, E. 2009. Study on the genetic diversity of native chickens in northwest Ethiopia using microsatellite markers. *African journal of biotechnology*. 8(7):1347-1353.

7. Huang, z and Liao, x. 2010. Cross-species amplification and characterization of microsatellite DNA loci from *Gallus gallus* in *Bambusicola thoracica*. *Chinese Birds*, 1(1):74-76.

8. Labate, J. A. 2000. Software for population genetic analysis of molecular marker data, *Crop Science*. 40(6):1521-1528.

9. Lujiang, Q., Xianyao, L., Guifang, X., Kuanwei, C., Hongjie, Y., Longchao, Z., Guiqin, W., Zhuocheng, H., Guiyun, X and Ning, Y. 2006. Evaluation of genetic diversity in Chinese indigenous chicken breeds using microsatellite markers. *Science in China Series C: Life Sciences*. 49 (4) 332-341.

10. Nikbakhti, M., Mirzaei, H., Afsharian Shandiz, M., Mohammadi Abadi, M., Saghi, D.A. 2009. Investigation Genetic Diversity Native Chicken Of Province Razavi Khorasan Using Microsatellite Markers. *Animal Sciences Pajouheshes Journal Iran*. Version 1.No 2. Pp: 19-25. In Farsi.

11. Olowofeso, O., Wang, J.Y., Dai, G. J., Yang, Y., Mekki, D. M and Musa, H. H. 2005. Measurement of genetic parameters within and between haime chicken populations using microsatellite markers. *Poultry Science*. 4(3):143:148.

شد که در این شاخه دزفول با فاصله ژنتیکی ۱۰۰ درصد نسبت به جمعیت‌های آبادان، ایذه و اهواز قرار گرفته که با توجه به موقعیت جغرافیایی دو جمعیت، این فاصله منطقی به نظر می‌رسد. اهواز و ایذه روی یک شاخه با فاصله ژنتیکی ۸۰ درصد از هم قرار دارند که با توجه به موقعیت جغرافیایی دو جمعیت، این فاصله نیز منطقی به نظر می‌رسد. فاصله ژنتیکی آبادان نسبت به اهواز و ایذه ۵۳ درصد هست. در این روش شوشتر قدیمی‌ترین جمعیت است و بعد از آن به ترتیب دزفول، ایذه، اهواز و آبادان قدیمی‌ترین جمعیت‌ها محسوب می‌شوند.

نتیجه‌گیری کلی

به طور کلی معیارهای ارزیابی شده جهت بررسی تنوع ژنتیکی مانند تعداد آلل، هتروزیگوسیتی و میزان PIC نشان داد تنوع در این طیور در حد بسیار مطلوبی قرار دارد.

پاورقی‌ها

- 1-PCR: Polymeras Chain Reaction
- 2-EDTA
- 3-Salting-out Method
- 4-PIC: Polymorphism Information Content

منابع

1. Alipanah, M., Amiri, Z., Torkamanzehi, A. 2010. Genetic diversity in native chicken from sistan region using microsatellite markers. *Animal Science Journal (Pajouhesh and sazandegi)* No 86 PP:66- 73. In Farsi.
2. Botstein, D., White, R. L., Skolnik, M and davis, R. W. 1980. Construction of a genetic linkage map in map using restriction fragment lent polymorphism. *Am. J. hum. genet.* 32:314-331.
3. Chen, G., Bao, W., Shu, J., Ji, C., Wang, M., Eding, H., Muchadeyi, F and Weigend, S. 2008. Assessment of population structure and genetic diversity of 15 chinese indigenous chicken breeds using microsatellite markers. *Animal Science and Technology College, Yangzhou Universty, Yangzhou; 225009. Jiangsu, China.*

12. Peakall, R and Smouse, P. 2005. Gene ALE x 6: genetic analysis in excel. Population genetic softwar teaching and research. Molec.Ecol. Notes(in press).

13. Romanov, M N and Weigend, S. 2003. Analysis of genetic relationships between various populations of domestic jungle fowl using microsatellite markers. *Poultry Sci.* 80: 1057-1063.

14. Takezaki, N., Nei, M. and Tamura, K. 2010. Software for constructing population trees from allele frequency data and computing other population statistics with windows interface. *Mol. Biol.* 27(4): 747-752.

15. Tavakkolian, J 1999. An introduction to genetic resources of native farm animal in Iran. with assistance of central research natural resources and provinces animal precept and provinces staff. Karaj animal science research institute. In Farsi.

16. Zane, L., Borgelloni, L. and Patariollo, T. 2002. Strategies for microsatellite isolation: a review. *Molecular Ecology.* 11: 1-16.

17. Zanetti, E., Dalvit, C., De Marchi, M., Dal Zotto, R and Cassandro, M. 2007. Genetic characterisation of Italian chicken breeds using a panel of twenty microsatellite markers.

.....

Archive of SID