

بررسی تنوع ژنتیکی چهار جایگاه میکروساتلایت BMS1915، BMS1350، LGB و ILSTS45 در گوسفندان نژاد بلوچی

رضا ولی زاده^۱ - محمدرضا نصیری^{۲*} - علی اصغر اسلمی نژاد^۳ - غلام داشاب^۴ - داوود علی ساقی^۵ - مریم قلی زاده^۶

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۲/۱۵

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۳/۳۰

چکیده

در این مطالعه چندشکلی ۴ جایگاه میکروساتلایت ای ILSTS45 و LGB، BMS1350، BMS1915 به منظور تعیین سطح تنوع در جمعیت گوسفندان بلوچی مورد بررسی قرار گرفت. نمونه خون از ۱۸۵ گوسفند نژاد بلوچی واقع در ایستگاه اصلاح نژاد عباس آباد مشهد تهیه شد. استخراج DNA با روش گوانیدین تیوسیانات - سیلیکاژل انجام شد. قطعات ژنی مربوط به جایگاه‌های میکروساتلایت‌ای با استفاده از واکنش‌های زنجیره‌ای پلی‌مرز و براساس روش استاندارد تکثیر شدند. محصولات واکنش PCR با استفاده از ژل پلی آکریل آمید ۸٪ و رنگ آمیزی با روش نیترا نقره مورد بررسی قرار گرفت. اندازه آلل‌ها با استفاده از نرم افزار Photo-Capt خوانده شدند. انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ در هیچ‌کدام از جایگاه‌های مورد مطالعه مشاهده نشد. ($P < 0.05$). آلل E در جایگاه BMS1915 با فراوانی ۰/۵۳، آلل D در جایگاه BMS1350 با فراوانی ۰/۷۱، آلل B در جایگاه LGB با فراوانی ۰/۷۸ و آلل A در جایگاه ILSTS45 با فراوانی ۰/۹۱ دارای بیشترین فراوانی بودند. دامنه هتروزیگوسیتی از ۰/۸۳ در جایگاه LGB تا ۰/۹۱ در جایگاه BMS1350 متغییر بود. بیشترین مقدار شاخص شانون، ۲/۰۵ مربوط به جایگاه BMS1350 و کمترین مقدار، ۱/۶۵ مربوط به جایگاه LGB بود. با توجه به نتایج به دست آمده از این پژوهش و سایر پژوهش‌هایی که بر روی این نژاد انجام شده است می‌توان بیان کرد که با وجود انجام فعالیت‌های اصلاح نژادی در سال‌های گذشته، جمعیت گوسفندان بلوچی مورد بررسی، از تنوع ژنتیکی بالایی برخوردار هستند.

واژه‌های کلیدی: چندشکلی، گوسفند بلوچی، نشانگر میکروساتلایت، تنوع ژنتیکی

مقدمه

بالای دو قلو زایی (۱۵-۱۰ درصد) و کیفیت بالای پشم این نژاد اشاره کرد که بر اهمیت آن در بین دیگر نژادها افزوده است. بدین لحاظ، انجام مطالعات ژنتیکی با استفاده از نشانگرهای مولکولی بر روی این نژاد ضروری به نظر می‌رسد. امروزه امکان شناسایی سریع و دقیق ژن‌های کنترل کننده صفات تولیدی با استفاده از تکنولوژی نشانگرهای DNA فراهم شده است. با بهره‌گیری از نشانگرهای میکروساتلایت‌ای علاوه بر افزایش دقت، سرعت اجرای برنامه‌های آزمون نتاج و به‌گزینی نیز افزایش می‌یابد که از نقطه نظر اقتصادی و کاربردی حائز اهمیت زیادی می‌باشد (۷). میکروساتلایت‌ها کوتاه‌ترین توالی‌های تکراری (۱ تا ۶ جفت بازی) می‌باشند که تعداد واحد تکرار شونده در هر محل از تنها چند باز تا حدود ۳۰ باز متفاوت است. ریزماهورها بسیار فراوان بوده و در سرتاسر ژنوم منتشر می‌باشند (۲۵). طول فرآورده PCR میکروساتلایت‌ها مطابق با تعداد واحد تکرار شونده در آن محل متفاوت است. جایگاه‌های آغاز^۷ برای واکنش

گوسفند بلوچی در مقایسه با سایر نژادها از پرجمعیت‌ترین نژادهای گوسفند در ایران به شمار می‌رود که در بخش‌های وسیعی از کشور شامل نواحی مرکزی و جنوبی استان خراسان، سیستان و بلوچستان، یزد و کرمان پرورش داده می‌شود. گوسفند بلوچی نژادی پشمی - گوشتی است و بسته به منطقه پراکندگی، به نام‌های منگالی، کرمانی، نائینی، یزدی، عراقی و کلکویی شناخته می‌شود. این نژاد پرجمعیت‌ترین گوسفند استان خراسان نیز می‌باشد و بالغ بر ۶۵ درصد کل گوسفندان این استان را تشکیل می‌دهد (۱). از ویژگی‌های این نژاد می‌توان به مقاومت بالا به شرایط سخت محیطی، نرخ

۱، ۲، ۳ و ۶ - به ترتیب استاد، دانشیاران و دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

* نویسنده مسئول: (Email: nassiry@gmail.com)

۴ - استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل

۵ - عضو هیات علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی، مشهد

مطالعه سطح چند شکلی ژنتیکی این جایگاه‌ها در این جمعیت انجام نشده است.

مواد و روش‌ها

تعداد ۱۸۵ نمونه خون از گوسفندان بلوچی واقع در مرکز اصلاح نژاد شمال شرق کشور (ایستگاه عباس آباد)، ۲ در لوله‌های حاوی ماده ضد انعقاد EDTA جمع‌آوری شد. سپس نمونه‌ها تا زمان انجام آزمایش اتردمای ۲۰- نگهداری شدند. استخراج DNA به روش گوانیدین تیوسیانات - سیلیکاژل با استفاده از کیت DIATOM DNA PREP محصول شرکت ایزوژن روسیه طبق دستور العمل شرکت سازنده صورت گرفت. برای تعیین کمیت و کیفیت DNA استخراج شده از روش ND-2000 نانودراپ اسپکتروفوتومتر استفاده شد. جایگاه‌های مورد مطالعه روی کروموزوم ۳ قرار دارند. توالی آغازگرها برای سه جایگاه از سایت Sheep QTL Database و برای جایگاه BMS1915 با استفاده از نرم افزار Primer Premier v5 طراحی (۲۸) و ساخت پرایمرها توسط شرکت با یونیر کره شمالی (Bioneer; South Korea) انجام شد. توالی پرایمر هر جایگاه، جایگاه ژنی آن‌ها و طول قطعات تکثیر شده در جدول ۱ نمایش داده شده است.

واکنش PCR به کمک کیت لئوفلیزه Genepak Universal PCR (شرکت IsoGene، روسیه) و در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر در دستگاه ترموسایکلر Biometra مدل T-personal (Biometra; Germany) انجام شد. ترکیبات مورد استفاده در واکنش عبارت بود از یک واحد آنزیم Taq Polymerase، ۲۰ میکرومول از هر dNTP، ۲۰۰ میلی مول MgCl₂، ۲۰-۱۰۰ میکرومول مخلوط پرایمرها، ۱۰۰-۵۰ نانوگرم DNA و بافر استاندارد. الکتروفورز و تفکیک محصولات PCR با استفاده از ژل آکریل آمید ۸٪ انجام شد. رنگ آمیزی به روش نیترات نقره انجام شد.

زنجیره‌های پلیمرز معمولاً در بین اعضای گونه‌های مرتبط حفاظت شده می‌باشند که این امر امکان مقایسه گونه‌ها را از نظر تکاملی بر اساس اندازه تکرارها فراهم می‌کند (۱۱). در دهه گذشته نشانگرهای میکروساتلایت بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند و دانشمندان دریافته‌اند که این توالی‌ها، نشانگرهای مولکولی مفیدی برای آنالیزهای ژنتیکی می‌باشند (۹، ۱۴، ۲۵).

علت اصلی کاربرد وسیع این نشانگرها قدرت آن‌ها در تجزیه و تحلیل‌های جمعیتی و همچنین مطالعات اکولوژیکی می‌باشد (۲۶). این نشانگرها به سبب چند شکلی بالا، قابلیت رتبه‌دهی آسان، مقدار پایین DNA مورد نیاز، پراکندگی در سرتاسر ژنوم (۴)، کم هزینه بودن، تعیین ژنوتیپ آسان و هم بارز بودن امکان انجام مطالعات سریع و دقیق را بر روی گوسفند فراهم آورده است (۱). در مطالعه ای که توسط جیلیان و همکاران در ۲۰۰۱ سال انجام شد، ۱۰۰۰ جایگاه از جمله مارکر BMS1915 به منظور ارائه یک نقشه ژنی پیشرفته از ژنوم گوسفند مورد استفاده قرار گرفت. همچنین در مطالعه‌ای که هاردنبرگ و همکارانش در سال ۲۰۰۷ به منظور بررسی اثرات ژنتیکی وابسته به سن در صفات ثانویه جنسی در بزهای کوهی بر روی ۳۹ نشانگر میکروساتلایتی انجام دادند از نشانگر BMS1350 نیز استفاده کردند. رانجیت و همکاران نیز در سال ۲۰۱۰ با استفاده از ۲۵ نشانگر میکروساتلایتی از جمله ILSTS45 مطالعه‌ای بر روی بوفالوهای رودخانه هند انجام دادند. در پژوهشی دیگر که در آن از یکی از نشانگرهایی که ما در اینجا مورد بررسی قرار داده‌ایم، استفاده کرده‌اند، وایمن و همکاران در سال ۱۹۹۴ می‌باشند که به منظور تعیین نقشه ژنتیکی و فیزیکی کروموزوم ۱۱ گاو نشانگر LGB را به همراه ۱۲ نشانگر دیگر مورد مطالعه قرار دادند. هدف از مطالعه ما بررسی سطح تنوع ژنتیکی ۴ جایگاه میکروساتلایتی BMS1915، BMS1350، LGB و ILSTS45 در گوسفندان بلوچی واقع در ایستگاه اصلاح نژاد دام شمال شرق کشور می‌باشد که با وجود مطالعات مختلف در سال‌های اخیر بر روی گوسفندان بلوچی با استفاده از نشانگرهای میکروساتلایت تاکنون هیچ پژوهشی در زمینه بررسی و

جدول ۱- توالی پرایمر هر جایگاه، جایگاه ژنی آن‌ها و طول قطعات تکثیر شده

منبع	Publication ID	توالی آغازگر (3' → 5')	طول قطعات تکثیر شده	شماره کروموزوم	جایگاه ژنی
Sheep QTLdb	9501303	GTGGTAATCGGAAAATGCAA ACTGTTGGGAGAATCACATTTC	۱۱۶-۱۴۴	۳	BMS1350
Sheep QTL db	11435411	TTCTGGCAAATATTCCACC CATGAAAGACACAGATGACC TGTGCTGGACCCGACTACAAA	۱۶۰-۱۸۰	۳	ILSTS45
Sheep QTL db	11435411	AAG GCTCCCGGTATATGACCACCCTC T	۲۱۰-۲۲۰	۳	LGB
-	11435411	CCAGTGGGTCAAAGATCTGTATT C TAATGTAGGAGGTTGGGGTAA	۸۷-۹۷	۳	BMS1915

جدول ۲- برنامه حرارتی واکنش زنجیره ای پلی مرز برای هر جایگاه

BMS1915	LGB	ILSTS45	BMS1350	
۹۵/۳۰۰	۹۵/۳۰۰	۹۵/۳۰۰	۹۵/۱۸۰	واسرشته سازی اولیه
۹۶ / ۳۰	۹۴ / ۴۵	۹۵ / ۴۵	۹۵ / ۳۰	۱- دمای واسرشته‌سازی
۵۴/۵ / ۴۵	۵۵ / ۴۰	۵۱ / ۴۰	۵۱ / ۴۵	۲- دمای اتصال آغازگرها
۷۲ / ۳۰	۷۲ / ۴۰	۷۲ / ۴۰	۷۲ / ۳۰	۳- بسط آغازگرها
۳۳	۳۳	۳۳	۳۳	تعداد چرخه‌ها
۷۲/۳۰۰	۷۲/۳۰۰	۷۲/۳۰۰	۷۲/۳۰۰	بسط نهایی

جدول ۳- تعداد آلل واقعی و موثر، هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار، مقدار محتوی اطلاعات چند شکل، شاخص شانون در هر جایگاه میکروستالات

Shannon index	محتوی چند شکلی (PIC)	هتروزیگوسیتی مورد انتظار (H_e)	هتروزیگوسیتی مشاهده شده (H_o)	تعداد آلل‌های موثر N_e	تعداد آلل در هر لوکوس N	جایگاه ژنی
۲/۰۸۷۰	۰/۷۸۲۷	۰/۷۹۴۶	۰/۹۸۰۷	۶/۴۵۲۱	۱۱	BMS1350
۱/۷۰۵۷	۰/۷۴۸۲	۰/۶۷۹۸	۰/۸۷۵۰	۵/۲۰۲۹	۷	ILSTS45
۱/۴۴۷۶	۰/۷۴۳۸	۰/۵۶۲۱	۰/۳۶۱۷	۴/۱۱۶۳	۴	LGB
۱/۸۱۳۰	۰/۷۶۱۵	۰/۷۷۷۳	۰/۸۴۹۳	۴/۹۲۸۹	۶	BMS1915
۱/۷۶۳۳	۰/۷۵۸۸	۰/۷۰۳۴	۰/۷۶۶۶	۵/۱۷۵۰	۷	میانگین

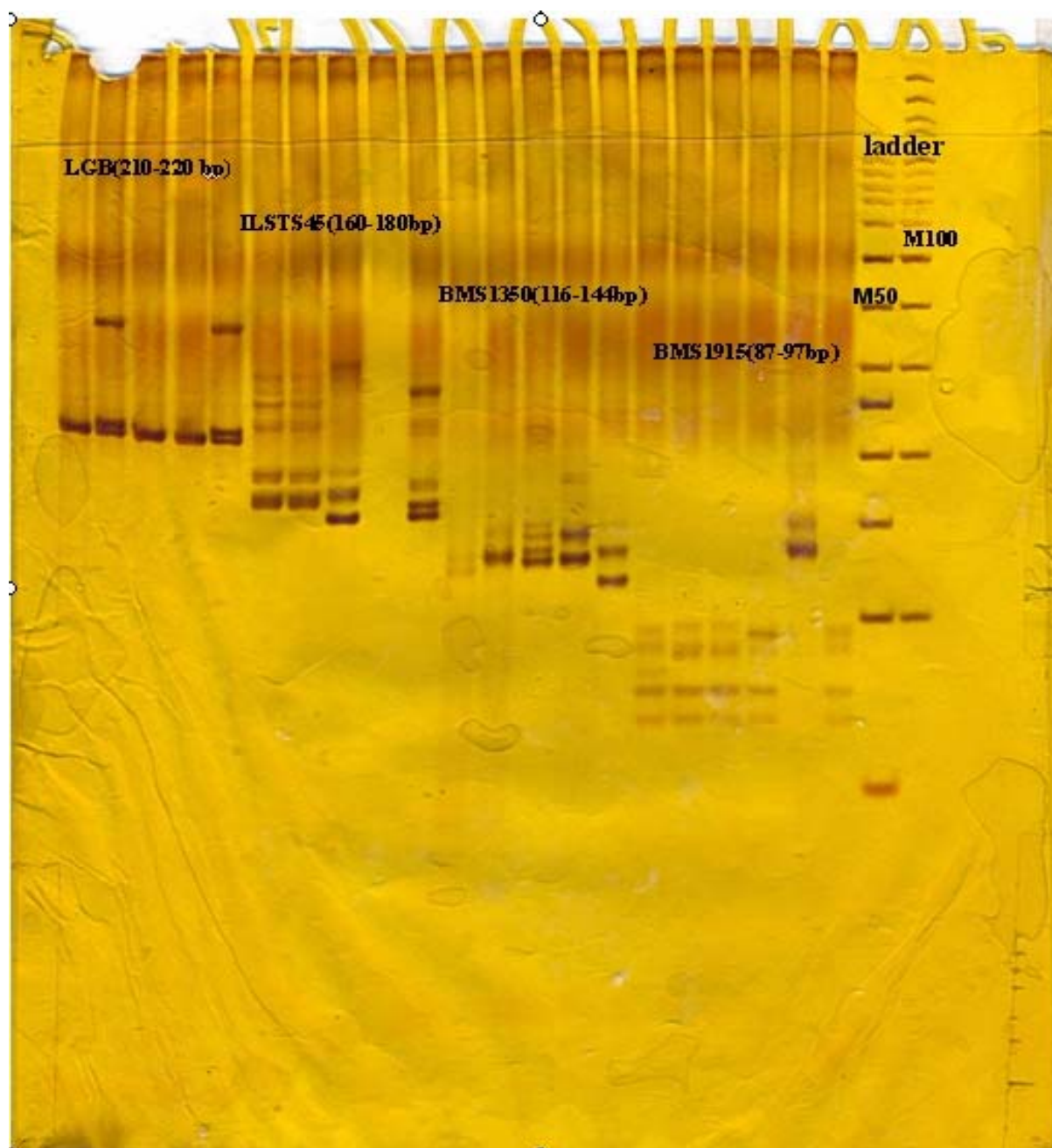
BMS1915 دارای ۹ ژنوتیپ بود که ژنوتیپ BE دارای بیشترین فراوانی معادل ۰/۳۵ و ژنوتیپ BB دارای کمترین فراوانی معادل ۰/۰۱ بود. جایگاه BMS1350 دارای ۱۱ ژنوتیپ که فراوانی ژنوتیپ GD بیشترین (۰/۲۳) و فراوانی ژنوتیپ‌های DD, CG, DF کمترین (۰/۰۱) بود. جایگاه ILSTS45 دارای ۱۰ ژنوتیپ و فراوانی ژنوتیپ AD، ۰/۴۷ و ژنوتیپ CD، ۰/۰۱ که به ترتیب بیشترین و کمترین فراوانی ژنوتیپی را در این جایگاه داشتند. جایگاه LGB دارای ۶ ژنوتیپ می‌باشد که ژنوتیپ BB که بیشترین فراوانی را داشت ۰/۴۴ و ژنوتیپ AC که کمترین فراوانی را داشت ۰/۰۲ تخمین زده شد. جایگاه BMS1350 بیشترین هتروزیگوسیتی مورد انتظار (۰/۷۹) و جایگاه LGB کمترین هتروزیگوسیتی مورد انتظار (۰/۵۶) را در بین جایگاه‌ها داشتند. میانگین هتروزیگوسیتی مورد انتظار برای این جایگاه‌ها ۰/۷۰ بود. در مطالعه‌ای که اسماعیل خانیان و همکاران در سال ۱۳۸۶ بر روی گوسفندان بلوچی با استفاده از ۱۹ جایگاه میکروستالات ای انجام دادند، دامنه هتروزیگوسیتی برای جایگاه‌های مورد بررسی را بین ۰/۱ تا ۰/۹۳ گزارش نمودند. میانگین هتروزیگوسیتی این جایگاه‌ها ۰/۶۵ بود که در مقایسه با جایگاه‌های مورد بررسی ما از تنوع پایین تری برخوردار بوده است. در مطالعه مذکور دو جایگاه BULG5E و BM1329 فاقد چندشکلی بوده و تمامی جایگاه‌ها در مطالعه فوق در تعادل هاردی-واینبرگ قرار داشتند ($P < 0.05$). جایگاه BMS1350 در مطالعه ما دارای بیشترین هتروزیگوسیتی مشاهده شده و جایگاه LGB دارای کمترین مقدار بودند (به ترتیب ۰/۹۸ و ۰/۳۶).

اندازه قطعات به دست آمده با استفاده از نرم افزار Photo-Capt [UVI03973] (۲۹) با دقت بسیار بالایی تعیین گردید. پارامترها و شاخص‌های آماری از قبیل تعداد آلل در هر لوکوس (N)، تعداد آلل موثر (N_e)، هتروزیگوسیتی مشاهده شده (H_o)، هتروزیگوسیتی مورد انتظار (H_e) با استفاده از نرم افزار Arlequin3.1 (۹) و شاخص شانون با استفاده از نرم افزار POPGENE (۳۰) محاسبه شدند. شاخص محتوی چند شکل (PIC) با استفاده از نرم افزار HET برآورد شد (۲۶). تمام ۴ جایگاه از نظر انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ به کمک آزمون کای مربع (χ^2) مورد بررسی قرار گرفتند.

نتایج و بحث

الگوهای باندهای قطعات تکثیر شده در شکل ۱ به خوبی انجام واکنش زنجیره ای پلی مرز را برای هر چهار جایگاه نشان می‌دهد. نتایج حاصل از آنالیز داده‌ها برای تعداد آلل واقعی در هر لوکوس، تعداد آلل موثر، هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار، شاخص شانون و محتوی چند شکلی برای هر جایگاه در جدول ۳ آورده شده است.

جایگاه BMS1350 دارای ۱۱ آلل و جایگاه LGB، دارای ۴ آلل بود که به ترتیب بیشترین و کمترین فراوانی آللی را داشتند. جایگاه BMS1915 و ILSTS45 به ترتیب دارای ۶ و ۷ آلل بودند. فراوانی ژنوتیپی نیز در این مطالعه برای تمامی جایگاه‌ها محاسبه شد. جایگاه



شکل ۱- الگوی بانندی برای ۴ جایگاه میکروساتلایتی، جایگاه LGB که طول قطعات تکثیر شده بین ۲۰۰-۲۱۰ و دارای ۴ آلل واقعی بود جایگاه ILSTS45 با طول قطعه تکثیر شده بین ۱۶۰-۱۸۰ که دارای ۷ آلل واقعی و تعداد آلل موثر این جایگاه ۵/۲۰۲۹ بود، جایگاه BMS1350، طول محصول واکنش زنجیره ای پلی مرز برای این جایگاه بین ۱۱۶-۱۴۴ بود با تعداد آلل واقعی ۱۱، جایگاه BMS1915 که این جایگاه با طولی بین ۸۷ تا ۹۷ کوتاهترین قطعه و تعداد آلل واقعی آن ۶ بود.

BMS1316 و ۰/۷۲ در جایگاه BMS2361 متغیر می‌باشد. مولایی و همکاران (۵) تنوع ژنتیکی شش نژاد از گوسفندهای ایرانی را با استفاده از ده جفت نشانگر میکروساتلایت بررسی کردند. بیشترین کمترین هتروزیگوسیتی مشاهده شده ۰/۶۹ و ۰/۵۸ بود که به ترتیب

زاهدی و همکاران (۱۳۸۴)، چندشکلی ۱۲ مارکر میکروساتلایت را در گوسفندان بلوچی ایستگاه عباس آباد مشهد مورد مطالعه قرار دادند. نتایج به دست آمده در این تحقیق نشان داد که دامنه هتروزیگوسیتی مشاهده شده برای جایگاه‌ها بین ۰/۵ در جایگاه

شاخص شانون و محتوی چندشکلی در این پژوهش به این نتیجه رسیدیم که جایگاه BMS1350 دارای بیشترین و جایگاه LGB دارای کمترین تنوع می‌باشند. دانشور آملی و همکاران (۲)، با استفاده از ۱۵ نشانگر ریز ماهواره تنوع ژنتیکی در داخل جمعیت گوسفند بلوچی عباس آباد مورد مطالعه قرار دادند. نتایج به دست آمده در تحقیق ایشان نشان داد جایگاه‌های میکروساتلازیت‌ای مورد بررسی از چند شکلی بالایی در جمعیت گوسفندان بلوچی مورد مطالعه برخوردار بودند. آن‌ها اظهار نمودند که می‌توان از چندشکلی بالای آن‌ها در مطالعات بعدی، به ویژه برای یافتن جایگاه‌های صفات کمی استفاده نمود. وجود آلل‌ها و دامنه آللی جدید در گوسفند بلوچی حاکی از تفاوت ساختار جمعیتی آن‌ها در مقایسه با نژاد‌های خارجی می‌باشد. سایر مطالعات انجام شده بر روی گوسفند بلوچی ایستگاه عباس آباد نشان دهنده نتایج تقریباً مشابهی از لحاظ انحراف از تعادل هاردی واینبرگ و چند شکل بودن دیگر جایگاه‌ها است (۱، ۲ و ۳). مطالعه ما علاوه بر اینکه نشان داد که جایگاه‌های میکروساتلازیت مورد بررسی دارای چندشکلی بالا هستند، تاییدی بر کار آمدی استفاده از نشانگرهای میکروساتلازیت در مطالعات بررسی سطح تنوع در گوسفند بلوچی نیز بود. هتروزیگوسیتی بالا در جایگاه‌های مورد مطالعه در گوسفند بلوچی نشان دهنده تنوع ژنتیکی بالا این جمعیت می‌باشد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مراتب تشکر و قدردانی خود را از همکاری صمیمانه معاونت پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد به پاس همکاری و پشتیبانی مالی این طرح با کد ۴۹۵ پ، ابراز می‌دارند.

از نژادهای کبوده شیراز و نژاد عربی بدست آمد. میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده در شش نژاد برابر با ۰/۶۴ بود. در مطالعه‌ای که پاریست و همکاران (۲۷)، بر روی ۱۷ گله گوسفند فولک نژاد ایتالیایی با استفاده از ۱۱ مارکر میکروساتلازیت‌ای انجام دادند. میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده در تمام گله‌های ایشان ۰/۶۰ و میانگین هتروزیگوسیتی مورد انتظار ۰/۷۵ بود.

در مطالعه حاضر تعداد آلل موثر در جایگاه BMS1350، ۶/۴۵ و تعداد آلل موثر جایگاه LGB، ۴/۱۱ با میانگین ۵/۱۷ بود که به ترتیب بیشترین و کمترین Ne را به خود اختصاص دادند. شاخص شانون برای تمام جایگاه در مطالعه ما نشان داد که جایگاه‌های BMS1350 و LGB به ترتیب بیشترین (۲/۰۵) و کمترین (۱/۶۵) مقدار را داشته که نشان می‌دهد نشانگر BMS1350 توانسته بخش‌های گسترده‌ای از DNA ژنومی را مورد بررسی قرار دهد. در واقع این شاخص نشان دهنده مقدار تنوع و پراکندگی میان نشانگرهای مورد استفاده می‌باشد که با توجه به تعداد آلل‌های آن‌ها نتایج به دست آمده قابل توجیح است. نتایج به دست آمده برای شاخص شانون توسط زاهدی و همکاران (۱۳۸۴)، نشان داد که جایگاه BMS744 بیشترین مقدار شاخص شانون و جایگاه CSSM059 کمترین مقدار را داشته است (به ترتیب ۱/۳۵ و ۰/۰۰). محتوی چند شکلی (PIC) برای جایگاه BMS1350 و LGB که بیشترین و کمترین مقدار را داشتند به ترتیب ۰/۸۳ و ۰/۷۲ بود و میانگین محتوی چندشکلی برای تمام جایگاه‌ها در این مطالعه ۰/۷۸ محاسبه شد. در مطالعه‌ای که توسط ژانگ و همکاران (۲۰۰۹)، انجام شد محتوی اطلاعات پلی مورفیسم (PIC) برای جایگاه BMS1248 از دیگر جایگاه‌ها بالاتر بود (۰/۸۸) و برای جایگاه DB6 (۰/۶۹) کمتر بود. در مجموع با بررسی‌های حاصل از

منابع

- اسماعیل خانیان، س.، ا. نجاتی خوارزمی، ف. افراز، پ. دانشیار و ص. قنبری. ۱۳۸۶. بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت گوسفند بلوچی با استفاده از نشانگرهای میکروساتلازیت. مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی
- دانشور آملی، ع.، س. اسماعیل خانی، م. سنجابی، ا. میرهادی. ۱۳۸۴. بررسی پلی‌مورفیسم تعدادی از نشانگرهای میکروساتلازیت (microsatellite) در جمعیت گوسفند بلوچی. چهارمین همایش ملی بیوتکنولوژی ایران
- زاهدی، ز.، س. اسماعیل خانیان و ر. واعظ ترشیزی. ۱۳۸۷. مطالعه چندشکلی ۱۲ نشانگر ریز ماهواره در گوسفندان بلوچی عباس آباد مشهد. پژوهش و سازندگی در امور دام و آبزیان
- مهمان نواز، ی.، ر. واعظ ترشیزی، ع. صالحی و ع. شوریده. ۱۳۸۰. همخونی و اثر آن بر صفات تولیدی در گوسفند نژاد بلوچی. اولین سمینار ژنتیک و اصلاح نژاد دام و طیور. ۱-۲ اسفند ماه ۱۳۸۰
- مولایی، و.، ر. عصفوری، م. اسکندری نسب، ص. قنبری، م. نیکمرد. ۱۳۸۹. تنوع میکروساتلازیت در شش نژاد گوسفند ایرانی. نشریه پژوهش‌های علوم دامی ایران
- Agha, S. H., F. Pilla, S. Galal, I. Shaat, M. D'Andrea, S. Reale, A. Z. Abdelsalam, M. H. Li. 2008. Genetic diversity in Egyptian and Italian goat breeds measured with microsatellite polymorphism. J Anim Breed Genet.

- Jun;125(3):194-200. PubMed PMID: 18479270.
- 7- Chistiakov, D. A., B. Hellemans, and F. A. M. Volckaert. 2006. Microsatellites and their genomic distribution, evolution, function and applications: A review with special reference to fish genetics. *Aquaculture* 255(1-4):1-29.
 - 8- Cho, G. J. and B. W. Cho. 2004. Microsatellite DNA typing using 16 markers for parentage verification of the Korean native horse. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 17(6):750-754.
 - 9- Excoffier L, G. Laval, S. Schneider. 2005. Arlequin ver. 3.0: an integrated software package for population genetics data analysis, *EvolBioinform.* 1: 47-50. (Available: <http://cmpg.unibe.ch/software/arlequin3.1>)
 - 10- Galov, A., K. Byrne, M. Duras-Gomercic, T. Gomercic, Z. Nushol, D. Vincek, I. Kocijan, Z. Tadic, V. Benkovic, I. Basic, and S. M. Funk. 2005. Effectiveness of nine polymorphic microsatellite markers in parentage testing in Posavina, Croatian Coldblood and Lipizzaner horse breeds in Croatia. *Livestock Production Science* 93(3):277-282.
 - 11- Georgescu, S. E., E. Condac, M. Rebedea, C. D. Tesio, A. Dinischiotu, and M. Costache. 2005. Arabian horses genotyping using seventeen microsatellites. *ArchivaZootechnica* 8:173-178.
 - 12- Gruszczynska, Joanna., M, Krystyna., Charon, Wiesaw., Oewiderek, Milena. 2002. Microsatellite polymorphism in locus OMHC1 (MHC Class I) in Polish Heath Sheep and Polish Lowland Sheep (elazna variety), *J. Appl. Genet.* 43(2), 2002, pp. 217-222
 - 13- Hartl, D. L. and E. W. Jones. 2009. *Genetics: Analysis Of Genes And Genomes.* Jones & Bartlett Learning.
 - 14- Hendricks, B. L. and A. A. Dent. 2007. *International Encyclopedia of Horse Breeds.* University of Oklahoma Press.
 - 15- Hedrick, P. W. 2009. *Genetics of Populations.* Jones & Bartlett Learning.
 - 16- Jakabova, D., J. Trandzik, J. Chrastina, L. Hudcovova, E. Zetochova, J. Bulla, A. Bugarsky, F. Jakab, and P. Kozlik. 2002. Effectiveness of six highly polymorphic microsatellite markers in resolving paternity cases in Thoroughbred horses in Slovakia. *Czech Journal of Animal Science* 47(12):497-501.
 - 17- Jerry, D. R., B. S. Evans, M. Kenway, and K. Wilson. 2006. Development of a microsatellite DNA parentage marker suite for black tiger shrimp *Penaeus monodon*. *Aquaculture* 255(1-4):542-547.
 - 18- Juras, R., E. G. Cothran, and R. Klimas. 2003. Genetic analysis of three Lithuanian native horse breeds. *Acta Agriculturae Scandinavica Section a-Animal Science* 53(4):180-185.
 - 19- Juras, R. and E. G. Cothran. 2004. Microsatellites in Lithuanian native horse breeds: usefulness for parentage testing. *Biologija* (4):6-9.
 - 20- Kavar, T. and P. Dovc. 2008. Domestication of the horse: Genetic relationships between domestic and wild horses. *Livestock Science* 116(1-3):1-14.
 - 21- Knight, J. C. 2009. *Human Genetic Diversity: Functional Consequences for Health and Disease.* Oxford University Press.
 - 22- Lee, S. Y. and G. J. Cho. 2006. Parentage testing of Thoroughbred horse in Korea using microsatellite DNA typing. *Journal of Veterinary Science* 7(1):63-67.
 - 23- Li, X. L., Y. F. Gong, J. W. Zhang, Z. Z. Liu, A. Valentini. 2004. Study on polymorphisms of microsatellites DNA of six Chinese indigenous sheep breeds. *Yi Chuan Xue Bao.* Nov;31(11):1203-10. PubMed PMID: 15651671.
 - 24- Nicholas, F. W. 2009. *Introduction to Veterinary Genetics.* John Wiley and Sons.
 - 25- Nuchjaree Watcharawongpaiboon and Julapark Chunwongse. 2007. Development of microsatellite markers from an enriched genomic library of pumpkin (*Cucurbitamoschata* L.). (www.vilber.com)
 - 26- Ott, J. 1989. Program HET Version 1.10. Utility programs for analysis of genetic linkage. Rockefeller University, New York, NY, USA. <ftp://linkage.rockefeller.edu/software/utilities>
 - 27- Pariset L., M., C. Savarese, I. Cappuccio and A. Valentini. 2003. Use of microsatellites for genetic variation and inbreeding analysis in Sarda sheep flocks of central Italy, *J. Anim. Breed. Genet.* 120
 - 28- Vinay K. Singh, A.K. Mangalam, S. Dwivedi and S. Naik. 1998. "Primer Premier: Program for Design of Degenerate Primers from a Protein Sequence", *BioTechniques* 24, 318-319.
 - 29- Yan-hong, Song., Shi, Guo-qing., LIU, Nan., DAI, Rong., REN, Hang-xing., Liu Guo-qing. 2007. Study on Four Microsatellite DNA Polymorphism in the Region of GDF8 on Chromosome 2 in Meat Sheep Populations, China *Animal Husbandry & Veterinary Medicine*
 - 30- Yeh, F. C., R. Yang, and C. W. Boyle. 1999. POPGENE. Version 1.31, Microsoft Window-based Freeware for Population Genetic Analysis, University of Alberta, Edmonton, Canada.