تنوع ژنتیکی شش توده بز بومی ایران با استفاده از نشانگرهای RAPD

• **علی جوانروح علی آباد**، کارشناس ارشد بخش بیولوژی، موسسه تحقیقات علوم دامی کشور
• **سعید اسماعیل خانیان**، عضو هیأت علمی مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور،
• **نوید دین پرست**، عضو هیأت علمی انستیتوپاستور ایران،
• **رسول واعظ ترشیزی**، استادیار گروه علوم دامی، دانشگاه تربیت مدرس.

تاریخ دریافت :تیرماه ۱۳۸۱ تاریخ پذیرش: خرداد ماه۱۳۸۳

چکیده

در این تحقیق، جهت بررسی تنوع ژنتیکی نمونه های خون از محل پراکنش شش توده بز ایران جمع آوری شد که شامل:بزمرخز، بز کرکی رائینی، بز کرکی جنوب خراسان، بز سیاه لری، بز نجدی و بز تالی می باشد. استخراج DNA با روش بهینه یافته Salting – Out انجام گرفت. ۱۶ آغازگر جهت یافتن چند شکلی، بررسی شد و از بین آنها تعداد ۱۰ آغازگر که باندهای قوی و چند شکل را در بین افراد نشان می دادند، انتخاب شدند. تکثیر DNA ژنومی با تعداد ۲۰ فرد از هر توده از طریق واکنش زنجیره ای پلیمراز(PCR) صورت گرفت. طول قطعات تکثیر یافته در آغازگرهای مختلف بین ۲۲۰ تا ۲۳۱۰ جفت باز تغییر می کرد. درصد چند شکلی ۰/۵۳۹ برآورد گردید. بر اساس باندهای چند شکل، بیشترین فاصله ژنتیکی بین تودهای سیاه لری و کرکی جنوب خراسان بوده که معادل ۰/۲۲۷ محاسبه شد. همچنین کمترین فاصله ژنتیکی بین تودههای تالی و کرکی رائینی بود که معادل ۰/۰۸۱ محاسبه گردید. درخت فیلوژنی ترسیم شده بر اساس روش Neighbor-Joining، تودههای بز مورد مطالعه را در دو گروه قرار داد: گروه اول شامل تودههای کرکی رائینی، تالی، کرکی جنوب خراسان و نجدی بوده و گروه دوم شامل تودهای مرخز و سیاه لری بود.

کلمات کلیدی: بزهای ایران، تنوع ژنتیکی، چند شکلی، فواصل ژنتیکی، نشانگرهای RAPD

Pajouhesh & Sazandegi No:64 pp: 12-17

Genetic variation among six Iranian goat breeds using RAPD markers.

By: A. Javanrouh Aliabad,Dept. of Biotechnology, Animal Research Institute of Iran (ASRI), Karaj Iran. S. Esmaeelkhanian,Dept. of Biotechnology, Animal Research Institute of Iran (ASRI), Karaj, Iran., N. Dinparast, Dept. of Biotechnology, Pastour Institution of Iran, Tehran, Iran.and R. Vaez Torshizi ,Dept. of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tarbiat Modares,Tehran, Iran.

In order to evaluation of genetic variation of six Iranian goat breeds including : Markhoz (MR), Korki of South Khorasan (KK), Black Lori (BL), Najdi (NJ) and Tali (TL), blood sample were collected from spreading location

Archive of SID
www.SID.ir

of these breeds. DNA extraction was done by modified Salting- Out method (Miller , 1988). Polymorphims were surveyed for 16 RAPD primers and 10 primers were selected for high polymorphism among all of breeds RAPD-PCR were done on 20 individuals per breeds. The length of PCR products were varied from 220bp to 2310bp. The percent of polymorphism were obtained 53/9% . On the base of polymorphic bands, The highest and lowest genetic distance was obtained for Black Lori and Korki of Khorasan (0.237) and Tali and Korki of Raeini (0.081), respectively. The Phylogenetic tree was reconstracted on Neighbor-Joining method and showed two main separated groups, including : Korki of South Khorasan , Tali , Korki of Raeini and Najdi together and Black Lori and Markhoz . This research was showed that RAPD technic is an useful tool for evaluation of genetic variation among of domesticated animals

Key words: Iraninan goats, Genetic variation, Polymorphism, Genetic distance, RAPD Markers

مقدمه

پایه و اساس تنوع ژنتیکی در یک گونه، تغییرات جهشی است که با ایجاد آلل‌های مختلف، اشکال فنوتیپی و ژنوتیپی متفاوت را بوجود آورده است(۱۳). تنوع ژنتیکی در یک گونه، با حداکثر نمودن هتروزیگوسیتی اولیه، ، اندازه جمعیت (N) ،نسبت اندازه مؤثر جمعیت (Ne) به اندازه جمعیت (Ne/N) و حداقل نمودن تعداد نسل افزایش می یابد(۲). نژادهای بومی بدلیل شدت انتخاب پایین، تعداد زیاد پرورش دهندگان و محدودیت استفاده از تلقیح مصنوعی و سایر فناوریهای تولید مثلی، از تنوع ژنتیکی بالائی برخوردارند. از طرفی با گذشت زمان و کسب آگاهی بیشتر نسبت به اهمیت صفات مختلف، نیازهای جدیدی مطرح میشود که متخصصین اصلاح نژاد را بر آن می دارد که از ژنهای بومی استفاده نمایند. این مسئله به خصوص با افزایش تولید محصولات دامی و تولید محصولات پیش بینی نشده در آینده، لزوم حفظ تنوع ژنتیکی در دامهای بومی را الزامی ساخته است (۴). چرا که وجود تنوع ژنتیکی، باعث افزایش پیشرفت ژنتیکی و تطابق پذیری سریعتر خواهد شد. امروزه جهت برآورد تنوع ژنتیکی و تعیین فواصل ژنتیکی بین جمعیتها، از تکنیکهای پیشرفته مولکولی بر اساس تفاوتهای موجود در سطح مولکول DNA استفاده می گردد (۱۷). تکنیک RAPD، یکی از نشانگرهای مولکولی DNA میباشد که در آن از آغازگرهای اختیاری استفاده می شود و نیازی به داشتن اطلاعات از توالی ژنومی نیست (۱۸). سرعت بالا و عدم نیاز به مواد رادیواکتیو در این روش باعث شد که از آن برای تهیه نقشه های ژنتیکی، تعیین هویت، تشخیص نژادی و تعیین تنوع ژنتیکی استفاده شود (۱۷). نشانگرهای RAPD ، انگشت نگاری DNA در چندین مقر را امکان پذیر می سازد. لذا تکنیک RAPD برای بررسی تنوع ژنتیکی در جمعیت های بزرگ ایده آل است. از نشانگرهای RAPD برای تعیین تنوع ژنتیکی در چهار نژاد گاو و دو نژاد گوسفند استفاده شد. تشابه بین نژادی در نژادهای گاو فنلاندی نسبت به گاوهای زبو بیشتر بود(۵). نشانگرهای RAPD جهت بررسی تنوع ژنتیکی در چهار نژاد گاو شامل : هان وو کره، انگوس، شارولە ، هلشتاین مورد استفاده قرار گرفت. بالاترین ضریب شاخص تشابه در بین نژاد هان وو و نژاد هلشتاین برآورد گردید(۳). در ایران توسط آزادی (۱۳۷۸) ، تنوع ژنتیکی در داخل و بین پنج جمعیت گوسفند ایرانی با استفاده از نشانگرهای RAPD مورد مطالعه قرار گرفت. بیشترین فاصله ژنتیکی مربوط به نژادهای مهربان و سنجابی و کمترین فاصله ژنتیکی ، متعلق به نژادهای کردی کردستان و مهربان بود(۱).

توده های بز ایران با اهداف تولیدی همچون، شیر، گوشت، کرک و موهر پرورش می یابند. از طرفی تحقیقات بسیار محدودی در زمینه شناسائی و اصلاح این توده ها انجام گرفته است. هدف از انجام این تحقیق، تخمین تنوع ژنتیکی در داخل و بین شش توده بز بومی ایران (بز مرخز ، بز کرکی جنوب خراسان ، بز کرکی رائینی ، بز سیاه لری ، بز نجدی و بز تالی) با استفاده از یک نشانگر مولکولی DNA بنام RAPD می باشد.

مواد و روشها

نمونه ها از محل پراکنش توده های بز مورد مطالعهٔ از استانهای کردستان، کرمانشاه، خراسان، کرمان، لرستان، خوزستان و هرمزگان تهیه گردید. استخراج DNA با روش بهینه یافته Salting-Out (۹) از نمونه های خون انجام گرفت و میزان کمی و کیفی آن با دو روش، اسپکتوفتومتری و ژل آگارز ۰/۸ درصد انجام گرفت.از ۱۶ آغازگر ۱۰ و ۱۱ بازی جهت یافتن چند شکلی در توده بزهای مورد مطالعه استفاده گردید. آغازگرها به صورت لئوفیلیزه از شرکت TIB MOLBIOL آلمان تهیه گردید. تکثیر DNA ژنومی با تعداد ۲۰ فرد از هر توده از طریق واکنش PCR انجام گرفت. واکنشهای PCR با شرایط زیر انجام شد:

PCR buffer lX, $MgCl_2$ ۳/۵ mm, Primer ۰/۵ µm dNTP ۲۰۰µm, Taq DNA Polymerase 1Unit, DNA ۲۵ ng ژنومی

واکنش PCR با حجم ۲۵ میکرولیتر انجام گرفت و نمونه های مربوط به هر توده با آغازگرهای انتخابی، همراه با دو نمونه مربوط به کنترل منفی و کنترل مثبت PCR گردید. جهت انجام واکنش PCR از ترموسایکلر مدل TGRADIENT ساخت شرکت Biometra، استفاده شد.

مناسب ترین چرخه حرارتی جهت PCR نمونه‌های اصلی برای هر آغازگر به صورت زیر انتخاب گردید:

(۱) ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه (۲) ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه (۳) ۴۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه (۴) ۷۲ درجه‌سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه (۵) ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ دقیقه. مراحل ۲ تا ۴ به تعداد ۴۰ بار تکرار گردید.

Archive of SID
www.SID.ir

جهت الکتروفـورز محصولات PCR و تفکیک قطعات حاصله از ژل آگارز ۱/۵ درصد استفاده شـد. برای رنگ آمیزی ژل از اتیدیوم بروماید استفاده شد. با استفاده از دستگاه UV ترانس لومیناتور از هر ژل عکس جداگانه‌ای تهیه شـد.

جهت تجزیه و تحلیل آماری، در صورت تکثیر و حضور باند امتیاز یک و در صورت عدم حضور باند امتیاز صفر داده شد. برای محاسبه فراوانی سهم باندی [۱](BSF) بین افراد مختلف از فرمول زیر استفاده شد.

$$BSF_{XY} = \frac{2N_{AB}}{N_A + N_B}$$

بـه طوری که N_{AB} تعداد باندهای مشـترک یعنـی دو فرد A و B، N_A تعـداد باندهای حاصله از فرد A و N_B تعـداد باندهای حاصله از فرد B می باشد.

شـاخص یکنواختی داخل جمعیتی [۲](U) بر اسـاس فراوانی باندها، به صورت زیر محاسبه گردید(۷):

$$U = \frac{1}{N}\sum_{i=1}^{N} V_i$$

بـه طوری که Vi فراوانـی iامین باند و N تعداد باندهـای امتیاز داده شده می باشد.

برای محاسـبه ضریب تشـابه بیـن جمعیتـی [۳](BGS) از فرمول زیر استفاده شد (۸).

$$BGS = 1 + \acute{S}_{IJ}$$

به طوری که $\acute{S}_{IJ}$ متوسط فراوانی سهم باندی برای تمام مقایسات افراد جمعیتهـای I و J و SI، ضریب تشـابه داخل جمعیتی در جمعیت I و S_J ضریب تشابه داخل جمعیتی در جمعیت J می‌باشد.

جهـت محاسـبه فاصله ژنتیکـی [۴] بین دو جمعیـت (D) از فرمول زیر استفاده شد (۱۲).

$$D = Ln\left[S'_U / (S_I . S_J)^{\frac{1}{2}}\right]$$

جهت ترسیم درخت فیلوژنی و تجزیه خوشه ای از روش Neighbor-Joining و با اسـتفاده از دو نـرم افزار POPGENE(۲۰) و POPTREE (۱۶) بهره گرفته شد.

نتایج و بحث

تعـداد ۱۰ آغازگر از مجموع ۱۶ آغازگر بکار رفته، باندهای قوی و چند شـکل را در بین افراد نشـان دادند. متوسـط قطعات تکثیر شده به ازاء هر آغازگـر، برابـر ۱۱/۵ قطعه بود. طـول قطعات تکثیر یافتـه در آغازگرهای مختلـف بین ۲۲۰ تـا ۲۳۱۰ جفت باز تغییر می کرد. بـه طور کلی تعداد ۱۱۵ باند از مجموع آغازگرها بدسـت آمد که ۶۲ باند چند شکل و ۵۳ باند یک شکل بوده و لذا درصد قطعات چند شکلی ۰/۵۳۹ برآورد گردید(شکل ۲تا۴). شـاخص یکنواختی درون جمعیتی (U) و تنوع درون جمعیتی در شـش توده بز بومی ایران در جدول۱ نشـان داده شده است. کمترین تنوع درون جمعیتی مربوط به توده مرخز و بیشترین تنوع درون جمعیتی مربوط

جدول ۱: شـاخص یکنواختـی ژنتیکی و تنوع درون جمعیتی در توده های بز بومی

توده‌های بز	مرخز	کرکی جنوب خراسان	کرکی رائینی	سیاه لری	نجدی	تالی
شاخص یکنواختی درون جمعیتی	۰/۷۱۴	۰/۶۸۹	۰/۶۶۵	۰/۷۰۱	۰/۶۷۲	۰/۶۵۷
تنوع درون جمعیتی	۰/۲۸۶	۰/۳۱۱	۰/۳۳۵	۰/۲۹۹	۰/۳۲۸	۰/۳۴۳

جدول ۲: شـاخص تشـابه بیـن جمعیتـی و فواصل ژنتیکـی در توده‌های بـز بومی ایران با اسـتفاده از باندهای چند شکل

توده های بز	مرخز	کرکی جنوب خراسان	کرکی رائینی	سیاه لری	نجدی	تالی
مرخز	۰/۰۰۰	۰/۸۵۰	۰/۸۵۷	۰/۸۲۹	۰/۸۳۹	۰/۸۳
کرکی جنوب خراسان	۰/۱۶۲	۰/۰۰۰	۰/۸۶۳	۰/۷۹۶	۰/۸۱۳	۰/۸۶۱
کرکی رائینی	۰/۱۵۳	۰/۱۴۶	۰/۰۰۰	۰/۸۵۵	۰/۸۶۴	۰/۹۲۲
سیاه لری	۰/۱۸۶	۰/۲۲۷	۰/۱۵۶	۰/۰۰۰	۰/۸۱۰	۰/۸۱۳
نجدی	۰/۱۷۵	۰/۲۰۶	۰/۱۴۵	۰/۲۱۰	۰/۰۰۰	۰/۸۴۰
تالی	۰/۱۸۵	۰/۱۴۹	۰/۰۸۱	۰/۲۰۶	۰/۱۶۶	۰/۰۰۰

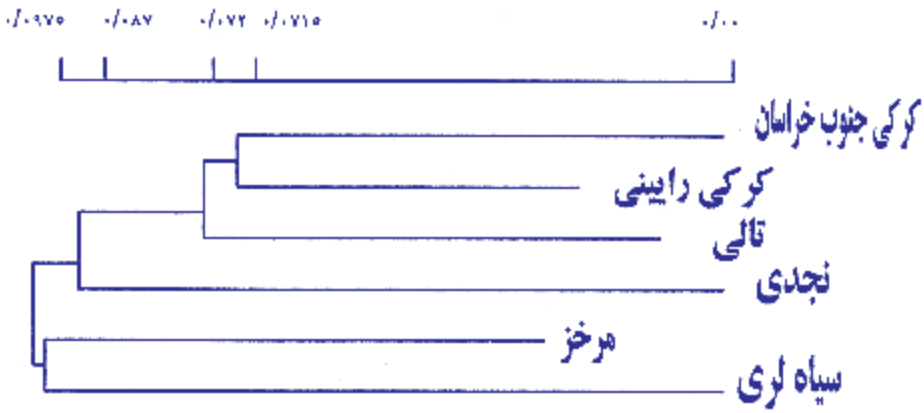
اعداد بالای قطر نشان دهنده شاخص تشابه بین جمعیتی و پایین قطر ماتریس نشان دهنده فواصل ژنتیکی بین توده می‌باشد.

Archive of SID
www.SID.ir

بـه توده تالی به ترتیب، ۰/۲۸۶ و ۰/۳۴۳ می باشـد(جدول-۱). یکنواختی ژنتیکـی بالاتر در توده مرخز احتمالاً به دلیل پراکنش محدود این توده در اسـتانهای کردسـتان وآذربایجان غربی بوده و اندازه جمعیت آن نسبت به تـوده های دیگر دارای کمترین تعداد اسـت و لذا باید از این توده با ارزش حفاظت بیشـتری به عمل آید. بالا بودن تنوع درون جمعیتی در توده تالی احتمالاً به دلیل سـازگاری این توده با شـرایط موجود در منطقه هرمزگان و تمایـل دامداران به تلاقی این توده با بزهـای بومی منطقه به دلیل اندام مناسب و تولید شیر زیاد، قابل توجیه است. چرا که این توده در حدود ۴۰۰ سال پیش وارد هرمزگان شده و به دلیل داشتن صفات مطلوب مورد توجه دامداران منطقه قرار گرفته اسـت. بر اسـاس باندهای چند شکل بیشترین فاصله ژنتیکی بین توده های سـیاه لری و کرکی جنوب خراسـان مشاهده شـده که معادل ۰/۲۲۷ محاسـبه گردید. همچنین کمترین فاصله ژنتیکی بین توده های تالی و کرکی رائینی مشـاهده شده که معادل ۰/۰۸۱ برآورد گردید(جدول ۲).

بـا توجه بـه فاصلـه زیاد جغرافیائـی بین تـوده کرکی جنوب خراسـان و سـیاه لـری (لرسـتان) و متفـاوت بـودن شـرایط محیطـی پرورش این دو توده و اهداف تولیدی نسـبتاً متفاوت (کرک و شیر در توده کرکـی جنـوب خراسـان در مقابل گوشـت شـیر و مـو در توده سـیاه لری)، بیشـترین فاصلـه ژنتیکی در بیـن ایـن دو تـوده، تا حـد زیادی قابل توجیه اسـت. پراکنـش بزهای رائینی در استانهای کرمان، خراسان، یـزد و هرمزگان و کـوچ ایلات بافت کرمـان بـه محل قشـلاق خـود در اسـتان هرمزگان و بالطبع تلاقیهای صورت گرفته این توده با بزهای تالی باعث افزایش تشـابه بیـن جمعیتی و کـم شـدن فاصله ژنتیکـی این دو توده گردیده اسـت. فواصـل ژنتیکی محاسـبه شده در این تحقیق تا حدی با فواصل ژنتیکی در بین نژادهای بز چین با اسـتفاده از نشـانگرهای ریز ماهواره مطابقت داشت. بیشترین و کمتریـن فاصلـه ژنتیکـی در بزهای چین به ترتیـب ۰/۳۳ تا ۰/۰۸۷ تخمین زده شـد (۱۹). همچنین تشابه بین جمعیتی برآورد شده در این تحقیـق (۰/۷۹۶ تـا ۰/۹۲۲)، تا حدی با نتایـج Kantanen و همکاران (۶) همخوانی دارد. آنها تشـابه بین جمعیتی را در چهار نژاد بومی گاو و دو نژاد گوسفند فنلاند، با استفاده از نشانگرهای RAPD ۰/۸۷ تا ۰/۸۹ برآورد کردند. در مطالعه ای که توسـط Mommens و همکاران (۱۰) بر اساس نشانگرهای ریز ماهواره در یک نژاد گاو آفریقایی و پنج نژاد اروپایی (*B. tauruse*) انجام گرفت ، بیشـترین و کمترین فاصله ژنتیکی به ترتیب ۰/۳۰۷ و ۰/۰۴۷ بـرآورد گردید. این نتایج تا حـد زیادی با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. تشـابه بین نژادی در چهار نژاد اصلاح شـده مرغ با استفاده از نشانگرهای RAPD بین ۰/۸۷ تا ۰/۹۸ متغیر بود (۱۵). پایین بودن تشـابه بیـن جمعیتی در توده های بز بومی ایـران احتمالاً به دلیل عـدم وجود برنامه های اصلاحی و پرورش این توده ها با شـرایط اقلیمی متفاوت قابل توجیه می باشد. درخت فیلوژنی ترسیم شده بر اساس روش Neighbor-Joining (۱۴)، تـوده های بز مـورد مطالعه را در دو گروه قـرار داد. گروه اول شـامل توده های کرکی رائینـی ، تالی، کرکی جنوب خراسـان و نجدی و گروه دوم شامل توده های سـیاه لری و مرخز بودند (شـکل ۱).

قرار گرفتن توده های مرخز و سـیاه لری در یک خوشـه احتمالاً به دلیـل نزدیک بودن محل پراکنش این دو توده (لرسـتان و کردسـتان)، قـرار گرفتـن هر دو توده در رشـته کوههای زاگرس که دارای شـرایط تقریباً یکسـان آب و هوایی می باشـند، توجیه پذیر می باشد. همچنین توده های کرکی جنوب خراسـان، کرکی رائینی و تالی به دلیل یکسـان بودن شـرایط آب و هوایی در محل پراکنش هر سه توده (مناطق خشک و کویـری) و نزدیک بودن محل پراکنش این توده‌ها (جنوب خراسـان، کرمـان و هرمزگان) در یک خوشـه قـرار گرفتند. توده نجـدی فاصله ژنتیکی بیشـتری با سه توده کرکی جنوب خراسان، کرکی رائینی و تالی نشان می دهد و می توان این توده را در یک گروه مجزایی قرار داد. ولی تشـابه بیشـتر توده نجدی با سه توده مذکور نسـبت به توده سیاه لری، باوجود همجوار بودن اسـتانهای خوزسـتان و لرسـتان احتمالاً به دلیل شـرایط اقلیمـی کاملاً متفاوت این دو اسـتان و تحمل زیاد توده نجدی در مقابل گرما می‌باشـد.



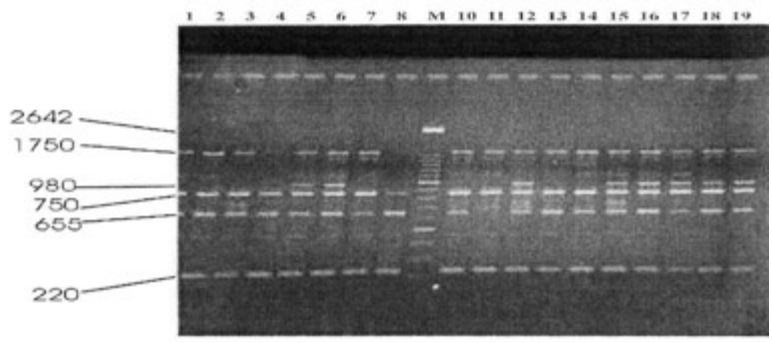
شکل۱: درخت فیلوژنی ترسیم شده با استفاده از فراوانی باندهای چند شکل به روش Neighbor – Joining

پاورقی‌ها

1- Band Sharing Frequency

2- Index of the Uniformity (U)

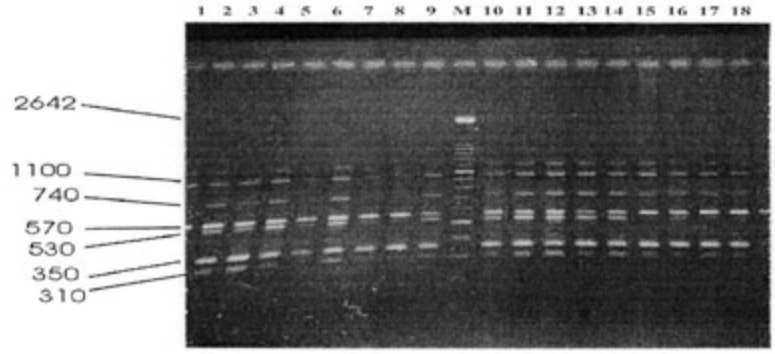
www.SID.ir



شکل۲: الگوی قطعات تکثیر شدهٔ آغازگر RAP۲ در افراد مختلف تودهٔ مرخز (MR)

MR1 تا MR19 افراد مختلف این توده می‌باشد. قطعه ۹۸۰ جفت بازی، در افراد مختلف این توده ، چندشکلی نشان می دهد.

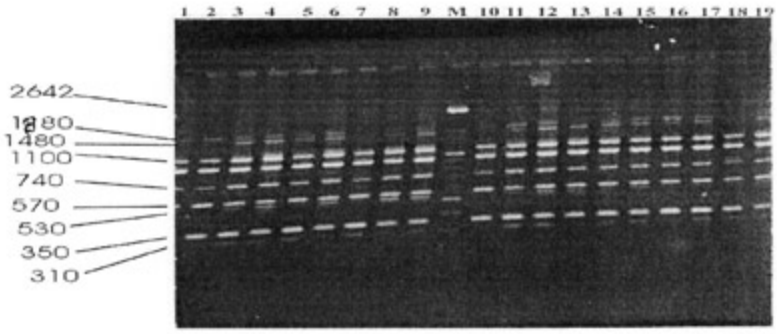
(M: سایز مارکر ۱۰۰bp)



شکل۳: الگوی قطعات تکثیر شدهٔ آغازگر RAP۱۵ در افراد مختلف تودهٔ نجدی (ND).

ND1 تا ND18 افراد مختلف این توده می‌باشند. قطعه ۵۳۰ جفت بازی در افراد مختلف این توده ، چندشکلی نشان می دهد.

(M: سایز مارکر ۱۰۰bp)



شکل۴: الگوی قطعات تکثیر شدهٔ آغازگر RAP۱۵ در افراد مختلف تودهٔ تالی (TL).

TL1 تا TL19 افراد مختلف این توده می‌باشند. قطعات ۱۸۸۰ ، ۱۴۸۰ و ۵۳۰ جفت بازی در افراد مختلف چندشکلی نشان می‌دهند.

(M: سایز مارکر ۱۰۰bp)

Archive of SID

www.SID.ir

3- Between Population Genetic Similarty (BGS)
4- Genetic Distance (D)

منابع مورد استفاده

۱- آزادی، س. ۱۳۸۷. بررسی تنوع ژنتیکی در پنج نژاد گوسفند ایران با استفاده از مارکر RAPD. پایان نامه کارشناسی ارشد علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، ۱۲۵ ص.

2-Barker J.S.F.1994;A global protocol for determining genetic distances among domestic livestock breeds. Proceedings of the 5th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production. University of Guelph , Guelph canada , ON 21: 501 - 508.

3-Byung,W. C. & Y. H.1994;Development of RAPD marker specific for korean cattle(HANWOO). Korean Journal of Animal Science. 36: 206-270.

4-Frankham, R.,1994;Conservation of genetic diversity for animals 5th world Congress on Genetics Applied to Livestock Production. 21: 385 - 392. University of Guelph, Guelph, Ontario, Canada.

5-Gwakisa. P. S., Kemp, S. J. and Teal, A. J. 1994;Characterization of Zebu cattle breeds in Tanzania Using Random Amplified Polymorfic DNA markers. Animal Genetics, 25: 89- 94.

6- Kantanen, J., Vilkki, J., Elo, K. and Tanila, A. M. 1995; Random Amplified polymorphic DNA in cattle and sheep: Application for detecting genetic variation. Animal Genetics, 26: 315-320.

7- Kuhnelein, U., Dawe, Y., Zadworny, D. and Gavora, J. S.1989;DNA fingerprinting: A tool for determining genetic distances between strains of poultry. Theoritical Applied Genetic, 77: 662-672.

8- Lynch, M.1990;The similarity index and DNA fingerprinting. Molecular Biology Evolution, 7: 478-484.

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 Acid Research, 16: 1215.

10-Mommens, G., Peelman, L. J., Zeveren, A., Dieteren, G. and Wissocq, N.1999;Microsatellite variation between an African and five European taurine breeds results in geographical phylogenetic tree with a bison outgroup. Journal of Animal Breeding and Genetic, 116: 325- 330.

11- Nagamine, Y. & Higuchi, M.2001;Genetic distance and classification of domestic animals using genetic markers. Journal of Animal Breeding and Genetic, 118: 101 -109.

12- Nei, M.,1972; Genetic distance between population. American Naturalists, 106: 83 - 291.

13- Notter, D. R.,1998;The importance of diversity in livestock populations of the future. Journal of Animal Science, 77: 61-69.

14- Saitou N. & Nei M.1987;The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. Molecular Biology and Evolution 4,406-425.

15- Smith, E. J., Jones, C. P., Bartlett, J., and Nestor, K. E.1996;Use of Random Amplified polymorphic DNA marker for the genetic analysis of relatedness and diversity in chickens and Turkeys. Poultry Science, 75: 579-584.

16- Takezaki N.2000;POPTREE: Population tree construction. University of advanced studies. Hayama, Kanagawa, Japan.

17- Waugh, R. and Powell, W.1992;Using RAPD markers for crop improvement. Tibtech, 10: 186-191.

18- Williams, J. G. K., Kubelik, A. R., Livak, K. J., Rafalski J. A. and -Tingey S. V.1990; DNA Polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers, Nucleic Acids Research, 18: 6531- 6535.

19- Yang, L., Zhao, S. H., Li: K., Peng, Z. Z. and Montgomery, G. W.1999;Determination of genetic relationships among five indigenous Chinese goat breeds with six microsatellite markers. Animal Genetics, 30: 452-455.

20- Yeh F.C., Yang R. and Boyle T. 1999;POPGENE. Version 1.31. Microsoft- Window–based Freeware for Population Genetic Analysis, University of Alberta. Edmonton, AB, Canada.

Archive of SID

www.SID.ir