نشریه پژوهش در نشخوارکنندگان
جلد چهارم، شماره سوم، ۱۳۹۵
http://ejrr.gau.ac.ir

تنوع ژنتیکی گوسفند نژاد لک قشقایی در استان کهگیلویه و بویراحمد با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره

زینب صالحی[۱]، *مصطفی محقق دولت‌آبادی[۲]

[۱]دانشجوی کارشناسی ارشد و [۲]دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج

تاریخ دریافت: ۹۳/۱۰/۰۱؛ تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۸/۱۸

چکیده

سابقه و هدف: تعیین تنوع ژنتیکی پیش نیاز هر برنامه اصلاحی جهت بهبود تولید در حیوانات اهلی می‌باشد و موفقیت در هر برنامه اصلاح نژادی بستگی به میزان تنوع ژنتیکی موجود در جمعیت مورد نظر دارد. از این رو هدف از این پژوهش بررسی تنوع ژنتیکی گوسفند لک قشقایی در استان کهکیلویه و بویر احمد با استفاده از نشانگر ریزماهواره بود.

مواد و روش: در این مطالعه، تنوع ژنتیکی گوسفند با استفاده از ۱۰ جایگاه ریزماهواره‌ای مورد بررسی قرار گرفت. سپس مقادیر تنوع آللی، شاخص محتوی اطلاعات چند شکلی، هتروزیگوسیتی مورد انتظار، هتروزیگوسیتی مشاهده شده، شاخص شانون و تعادل هاری وینبرگ با استفاده از نرم‌افزارهای Genalex و PowerMarker محاسبه گرد.

یافته‌ها: در مجموع ۸۸ آلل در ۱۰ جایگاه مورد بررسی در این مطالعه شناسایی شد که بیشترین تعداد آلل متعلق به جایگاه TGLA53 و کمترین تعداد آلل مربوط به جایگاه ETH10 بود. بیشترین مقدار شاخص شانون مربوط به جایگاه TGLA53 با بیشترین تعداد آلل و کمترین مقدار نیز از آن جایگاه ETH10 با کمترین تعداد آلل بود. همچنین میانگین شاخص شانون نیز در جمعیت مورد مطالعه بالا (۱/۸۲۹) بود. متوسط هتروزیگوسیتی مشاهده شده در همه جایگاه‌ها بیشتر از هتروزیگوسیتی مورد انتظار بود. میانگین محتوای اطلاعات چند شکلی

*نویسنده مسئول: mmuhaghegh@yu.ac.ir

در جمعیت به ازای تمام جایگاه‌ها برابر با ۰/۷۶ بود. آزمون مربع کای به منظور بررسی تعادل هاردی- واینبرگ برای تمام جایگاه‌ها در سطح جمعیت انجام شد و نتایج حاصل در تمامی جایگاه‌ها انحراف بسیار معنی‌داری را از تعادل نشان دادند (P<۰/۰۱).

نتیجه‌گیری: به‌طورکلی نتایج فراسنجه های تنوع برآورد شده نشان می‌دهد که گوسفند لک قشقایی دارای تنوع ژنتیکی قابل توجهی بر اساس تنوع آللی و تنوع ژنی می‌باشد. اگرچه، جهت حفظ تنوع ژنتیکی در گله‌های این نژاد برنامه های راهبردی در تلاقی گری باید به کار گرفته شود.

واژه‌های کلیدی: تنوع ژنتیکی، گوسفند لک قشقایی، ریزماهواره،

مقدمه

نژادهای بومی در هر کشور به‌عنوان یک سرمایه ملی و محصولی استراتژیک در اقتصاد و رونق آن کشور محسوب می‌شوند که حفظ و نگهداری این نژادها از ارزش و اهمیت بسیاری برخوردار است. پس از هزاران سال انتخاب طبیعی و گذر از موانع بسیار زیاد و با غلبه بر تمامی ناملایمات و شرایط نامساعد محیطی دام‌های بومی همچنان به حیات خویش ادامه داده و به تکثیر نسل خود پرداخته‌اند (ادریس و خسروی‌نیا، ۲۰۰۰). نژادهای بومی به‌دلیل شدت انتخاب پایین، تعداد زیاد پرورش دهندگان و محدودیت استفاده از تلقیح مصنوعی و سایر فناوری‌های تولید مثلی، از تنوع ژنتیکی بالایی 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 می‌دارد که از ژن‌های بومی استفاده نمایند. این مسئله بخصوص با افزایش تولید محصولات دامی و تولید محصولات پیش بینی نشده در آینده، لزوم حفظ تنوع ژنتیکی در دام‌های بومی را الزامی ساخته است چرا که وجود تنوع ژنتیکی، باعث افزایش پیشرفت ژنتیکی و تطابق‌پذیری سریعتر خواهد شد (جوانروح علی‌آباد، ۲۰۰۶). موفقیت برنامه اصلاح نژادی بستگی به میزان تنوع ژنتیکی موجود در جعیت دارد. تنوع ژنتیکی ماده اصلی اصلاح دام است و کمبود این تنوع رشد ژنتیکی حاصل از انتخاب را کاهش می‌دهد (بارکر، ۱۹۹۷). پایه و براساس تنوع ژنتیکی در یک گونه، تغییرات جهشی است که با ایجاد آلل‌های مختلف شکل‌های فنوتیپی و ژنوتیپی متفاوتی را به وجود می‌آورد (ناتر، ۱۹۹۹). امروزه برای برآورد تنوع ژنتیکی و تعیین فواصل ژنتیکی درون جمعیت‌ها از تکنیک‌های پیشرفته مولکولی که بر اساس تفاوت‌ها در سطح DNA می‌باشند، استفاده می‌شود (سالاری و همکاران، ۲۰۱۰). مطالعات زیادی، کارآمدی نشانگرهای ریزماهواره‌ای را در مطالعات ژنتیک جمعیت به اثبات رسانده است (بوچانان و همکاران، ۱۹۹۸ و مادوکس و همکاران، ۲۰۰۰). در این راستا گوسفندان بلوچی، کردی خراسان، کردی کردستان، مهربان، مغانی، سنجابی، قره‌گل و کبوده شیراز نیز توسط محققین کشورمان مورد مطالعه قرار گرفته است (بنابازی و همکاران، ۲۰۰۷؛ زاهدی و همکاران، ۲۰۰۸؛ ننه کرانی و همکاران، ۲۰۱۰). استفاده از نشانگرهای DNA در بررسی و تعیین تنوع ژنتیکی گیاهان و حیوانات نسبت به نشانگرهای مورفولوژیکی و پروتئینی کارایی بیشتری از خود نشان داده‌اند. از ابزارهای ژنتیکی کارآمد می‌توان به نشانگرهای ریزماهواره‌ای اشاره نمود که پژوهشگران از چند شکلی زیاد آنها به‌منظور تجزیه و تحلیل ژنتیکی و بررسی تنوع نژادی، تفاوت‌های بین گونه‌ها، تعیین منشاء اجدادی و پیگیری روابط مورفولوژیک و رفتاری در سطوح مختلف جوامع، مطالعات شجره‌ای برای شناسایی

پیوستگی ژنتیکی با ژن‌های عامل بیماری‌های خطرساز وراثتی و ژن های موثر برصفات اقتصادی، شناسایی اختلافات بین افراد مختلف یک جمعیت و شناخت اصول تکامل و انشعاب جوامع و غیره در حیوانات و گیاهان بهره می‌گیرند (سالاری و همکاران، ۲۰۱۰). بر این اساس، این تحقیق به منظور تعیین تنوع ژنتیکی گوسفند لک قشقایی در استان کهگیلویه و بویراحمد با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره‌ای انجام شده است.

مواد و روش‌ها

گوسفند لک قشقایی در استان کهگیلویه و بویراحمد، ۴۸ درصد ترکیب گوسفندان را تشکیل داده به دلیل داشتن مقاومت زیاد در مقابل کمبود علوفه و عادت داشتن به راهپیمایی زیاد و چرا در مراتع فقیر و تخریب یافته و مقاومت در برابر بیماری‌ها به‌خصوص بروسلوز و نیز مقاومت به تغییرات آب و هوایی، نژاد مناسب عشایر این استان می‌باشد. بیشترین پراکنش گوسفند لک قشقایی در محدوده شهرستان‌های گچساران و بویراحمد می‌باشد. در این مطالعه از تعداد ۲۰ راس گوسفند (عدم وجود نمونه خالص و با توجه به اینکه تعداد ۱۰ جایگاه از نظر تنوع ژنتیکی در این نژاد بررسی شد) ماده غیر خویشاوند از گله‌ای (این گله دارای گوسفند ماده بوده است) واقع در شهرستان گچساران از استان کهگیلویه و بویراحمد نمونه خون تهیه گردید. ماده ژنتیکی با کمک کیت شرکت تکاپوزیست (BiONEER, South Korea) براساس دستورالعمل شرکت سازنده استخراج وکیفیت آن با استفاده از ژل آگارز ۰/۸ درصد تعیین شد. از ۱۰ جفت آغازگر جهت یافتن چند شکلی در جمعیت مورد مطالعه استفاده گردید. جایگاه‌ها از کروموزوم‌های متفاوتی از ژنوم انتخاب شدند تا امکان پیوستگی بین جایگاه‌ها کاهش یافته و برآورد مناسبی از تنوع ژنتیکی با توجه به پراکندگی یکسان جایگاه‌ها در کروموزوم‌های مختلف بدست آورد. مشخصات کل نشانگرها و توالی آغازگرها در جدول ۱ آمده است. انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمراز به کمک کیت لیوفیلزه بایونیر (شرکت تکاپو زیست) انجام گرفت. غلظت نهایی مواد در حجم ۲۵ میکرو لیتر عبارت بودند از: یک واحد آنزیم DNA پلی مراز *Taq*، ۲۰۰ میکرومول از هر dNTP، ۲۰۰ میلی مول $MgCL_2$، ۱۸ پیکومول از هر آغازگر، ۵۰ نانوگرم DNA و بافر استاندارد. دمای اتصال آغازگرها در جدول ۱ آمده است و در آغازگرهای TGLA53، SRCRSP3، OarAE54 و SRCRSP9 از برنامه دمایی Touchdown PCR استفاده شد. پس از انجام مراحل PCR قطعات DNA تکثیر شده در طی انجام الکتروفورز با ژل پلی اکریلآمید ۸ درصد از

یکدیگر تفکیک شده و پس از تمام شدن زمان ران، نمایان سازی آلل‌ها به روش رنگ آمیـزی نیتـرات نقره انجام شد.

اندازه‌گیری‌های متفاوت تنوع ژنتیکی درون نژادی از طریق شمار آلل‌های هر جایگاه (N_a)، تعداد آلل‌های موثر هر جایگاه (N_e)، شاخص اطلاعاتی شانون (I)، به عنوان شاخص اندازه‌گیری تنوع ژنی، متوسط هتروزیگوسیتی مشاهده شده (H_o)، متوسط هتروزیگوسیتی مورد انتظار (H_e) و آزمون انحراف از تعادل هاردی واینبرگ از طریق آزمون مربع کای و شاخص رایت (F) با استفاده از نرم‌افزار Genalex نسخه ۶.۵۰۱ (پیکال و اسموس، ۲۰۰۵) محاسبه شد. شاخص محتوای اطلاعات چند شکلی با استفاده از نرم افزارPowerMarker (لیو و موس، ۲۰۰۵) محاسبه گردید.

جدول۱- آغازگرهای ریزماهواره، توالی، اندازه و جایگاه آنها

Table 1. Microsatellite markers, their sequences, size rang and location

منبع Reference	دما Tm	کروموزوم Chromosome	منشا Origin	توالی آغازگرهای رفت (F) و برگشت (R) Sequence of primers	جایگاه Loci
ال زارعی و همکاران، ۲۰۱۳	TD	16	Bovine	F-GCTTTCAGAAATAGTTTGCATTCA R- TCTTCACATGATATTACAGCAGA	TGLA53
لاوسون هندلی و همکاران، ۲۰۰۷	TD	10	Caprine	F -CGGGGATCTGTTCTATGAAC R- TGATTAGCTGGCTGAATGTCC	SRCRSP3
بیشاپ و همکاران، ۱۹۹۴	58	2	Bovine	F -CTCTGGGTACAACACTGAGTCC R- TAGAGAGTTTCCCTGTCCATCC	BM6444
بابار و همکاران، ۲۰۰۹	55	2	Bovine	F -TGTTTTGATGGAACACAGCC R- RTGGATTTAGACCAGGGTTGG	ILSTS029
پنتی و همکاران، ۱۹۹۳	TD	25	Ovine	F -TACTAAAGAAACATGAAGCTCCCA R- GGAAACATTTATTCTTATTCCTGAGTG	OarAE54

سالامون و همکاران، ۲۰۱۲	56	5	Ovine	F -GTCCATTGCCTCAAATCAATTC R- AAACCACTTGACTACTCCCCAA	MCM527
ابراهیم و همکاران، ۲۰۱۰	TD	12	Caprine	F -AGAGGATCTGGAAATGGAATC R- GCACTCTTTTCAGCCCTAATG	SRCRSP9
سالامون و همکاران، ۲۰۱۲	55	9	Bovine	F -GCTTGCTACATGGAAAGTG R- CTAAAATGCAGAGCCCTACC	ILSTS011
غازی و همکاران، ۲۰۱۳	60	4	Ovine	F - CACGGAGTCACAAAGAGTCAGACC R- GCAGGACTCTACGGGGCCTTTGC	MAF70
سالامون و همکاران، ۲۰۱۲	65	5	Bovine	F -GTTCAGGACTGGCCCTGCTAACA R- TGATTAGCTGGCTGAATGTCC	ETH10

نتایج و بحث

شاخص رایت (F) در هر جمعیت نشان دهنده‌ی کاهش و یا افزایش فراوانی هتروزیگوسیتی مشاهده شده نسبت به هتروزیگوسیتی مورد انتظار بوده و انعکاس‌دهنده سیستم آمیزشی (آمیزش تصادفی و غیر تصادفی) در آن است و مقدار منفی این شاخص در جمعیت، نشان دهنده زیادتر بودن فراوانی هتروزیگوسیتی مشاهده شده نسبت به هتروزیگوسیتی مورد انتظار درون جمعیت و در نتیجه غیر همخون بودن جمعیت است. پس از تعیین ژنوتیپ در مجموع ۸۸ آلل در ۱۰ جایگاه شناسایی شد که جایگاه TGLA53 با ۱۵ آلل دارای بیشترین تعداد آلل و جایگاه ETH10 با ۲ آلل دارای کمترین تعداد آلل بودند. به منظور بررسی تعادل هاردی واینبرگ در جایگاه‌های مورد مطالعه در این جمعیت از آزمون مربع کای استفاده گردید. تمام جایگاه های مورد بررسی در این مطالعه انحراف بسیار معنی‌داری (P< ۰/۰۰۱) از تعادل هاردی- واینبرگ نشان داده‌اند. انحراف بسیار معنی‌دار همه نشانگرها از تعادل هاردی- واینبرگ به‌دلیل افزایش تعداد هتروزیگوت‌ها نسبت به هموزیگوت‌ها بوده است و مقادیر منفی شاخص رایت (F) مندرج در جدول ۳ تایید کننده آن است. همچنین نرخ بالای جهش در

ریزماهواره‌ها و ایجاد آلل‌های جدید، وجود آلل‌های نول در برخی نشانگرها و مهاجرت بویژه در مورد قوچ‌هایی که در فصل جفت گیری از خارج گله وارد می‌شوند و منجر به ایجاد جریان ژنی می‌گردند از مهمترین دلایل خروج آنها از تعادل هاردی- واینبرگ است. انحراف از تعادل هاردی- واینبرگ در جایگاه‌های ریزماهواره‌ای در مطالعات متعددی گزارش شده است (ال نهاس، ۲۰۰۸؛ امین افشار و همکاران، ۲۰۰۸؛ شریفی سیدانی و همکاران، ۲۰۰۹؛ ننه کرانی و همکاران، ۲۰۱۱).

مطابق با تعریف چند شکل بودن یک جایگاه، چند شکلی ژنتیکی را می‌توان وقوع دو یا چند آلل با فراوانی محسوس در یک جایگاه تعریف کرد. جایگاه‌هایی چند شکل هستند که فراوانی معمول‌ترین آلل در آنها کمتر از ۰/۹۹ یا کمتر از ۰/۹۵ باشد (هدریک، ۱۹۹۷). در این مطالعه ۱۰ جایگاه مورد بررسی همگی از چند شکلی بالایی برخوردار بودند و فراوانی معمول‌ترین آلل در آنها کمتر از ۰/۹۹ بود. معیارهای دیگری که برای تعیین میزان چند شکلی جایگاه مورد استفاده قرار می‌گیرد، تعداد آلل واقعی (آلل‌های واقعی در حقیقت تعداد آلل‌های مشاهده شده در هر جایگاه ژنی است. این معیار به شدت تحت تاثیر اندازه نمونه بوده به همین جهت این امکان وجود دارد که در آزمایشات گوناگون با تعداد نمونه‌های متفاوت تعداد آلل‌های واقعی مختلفی برای یک جایگاه معین بدست آید) و تعداد آلل موثر (این معیار بیانگر تعداد آلل‌هایی است که هتروزیگوسیتی یکسان ایجاد می‌کنند. در شرایطی که همه آلل‌ها دارای فراوانی یکسان بوده و با آلل‌های نادر ($P \leq ۰/۰۱$) تحت تاثیر قرار نگیرند، تعداد آلل‌های موثر در یک جمعیت برابر تعداد آلل‌های واقعی خواهد بود) هستند که مقادیر این دو معیار به همراه مقادیر محتوای اطلاعات چند شکلی (میزان PIC نیز به‌عنوان یک معیار برای تعیین سودمندی نشانگرها به ازای تمامی جایگاه‌ها محاسبه می‌شود. PIC همان هتروزیگوسیتی است به استثنای افراد هتروزیگوسیتی که همان ژنوتیپ والد خود را به ارث برده‌اند و بنابراین بر اطلاعات چند شکلی نمی‌افزایند. اگر محتوای اطلاعات چند شکلی بالای ۰/۷۵ باشد آن جایگاه بیشتر مفید خواهد بود).، شاخص شانون (I) و شاخص رایت (معیار انحراف هتروزیگوسیتی از مقادیر مورد انتظار HWE برحسب کاهش یا افزایش هتروزیگوسیتی است. تحت عناوین شاخص تثبیت، ضریب هم تباری (q) و ضریب همخونی (F) شناخته می شود. این ضریب نصف همان احتمال وجود دو آلل همولوگ در افراد است که یکسان اجدادی باشند. به عبارت دیگر می‌توان گفت مقادیر منفی یا نزدیک به صفر شاخص رایت برای جایگاه‌ها بیانگر این می‌باشد که آمیزش بین افرادی است که رابطه خویشاوندی

آنها از میانگین رابطه خویشاوندی جمعیت مربوطه کمتر می‌باشد) برای این جایگاه ها در جدول ۳ آمده است.

با مقایسه شاخص شانون در بین ۱۰ جایگاه مورد بررسی در این مطالعه که همه چند شکل بودند بیشترین مقدار شاخص شانون (I) مربوط به جایگاه TGLA53 و کمترین مقدار نیز از آن جایگاه ETH10 بود. متوسط شاخص شانون نیز برای تمامی جایگاه‌ها بالا بود که این امر نیز حاکی از چند شکلی فراوان این جایگاه‌ها و تاییدی بر بالا بودن میزان تنوع ژنتیکی می‌باشد. شاخص محتوای اطلاعاتی چند شکلی (PIC) یکی دیگر از معیارهای مهم بررسی چند شکلی DNA می‌باشد. این شاخص انعکاس دهنده این احتمال می‌باشد که نتاج یک والد یک آلل کمیاب را در یک جایگاه حمل می‌کند که اجازه به استنتاج ژنوتیپ والدینی در یک جایگاه خواهد داد.

جدول ۲- دامنه آللی گزارش شده و مشاهده شده هر جایگاه

Table 2. Reported and observed allele range in each loci

دامنه آللی مشاهده شده Observed allele ranges	دامنه آللی گزارش شده Reported Allele ranges	جایگاه Loci	دامنه آللی مشاهده شده Observed allele ranges	دامنه آللی گزارش شده Reported Allele ranges	**جایگاه** Loci
136-188	135-178	MCM527	112-170	142-166	TGLA53
100-125	99-135	SRCRSP9	155-230	111-197	SRCRSP3
283-342	250-300	ILSTS011	128-202	118-200	BM6444
135-178	135-178	MAF70	142-191	131-187	ILSTS029
200-236	190-220	ETH10	103-165	105-145	OarAE54

نشانگرهای ژنتیکی با مقادیر PIC کمتر از ۰/۲۵ از اهمیت کمتری برخوردار بوده و آن‌هایی که مقادیر بالاتر از ۰/۵ دارند به‌طور مجزا در مطالعات ژنتیک جمعیت مفید در نظر گرفته می‌شوند (بوتستین و همکاران ۱۹۸۰). بیشترین و کمترین مقدار PIC مربوط به جایگاه‌های BM6444 و ETH10 که به‌ترتیب دارای این مقادیر ۰/۸۹۹ و ۰/۳۷۵ هستند. طبق ملاک بوتستین و همکاران (۱۹۸۰)، از ۱۰ جایگاه مورد مطالعه در این پژوهش، ۹ جایگاه (به جز جایگاه ETH10) از محتوای اطلاعات چند شکلی بسیار بالایی برخوردار هستند (PIC> ۰/۵).

همان‌طور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود بیشترین تعداد آلل موثر در ۱۰ جایگاه مورد بررسی در این مطالعه به جایگاه BM6444 تعلق دارد و کمترین تعداد آلل موثر در جایگاه ETH10 مشاهده شد.

تمام اندازه‌های آلل موثر از تعداد آلل واقعی در ۹ جایگاه به جز یک جایگاه (ETH10) کمتر می‌باشد، که دلیل کاهش تعداد آلل موثر در جمعیت وجود تعداد آلل با فراوانی نابرابر در هر جایگاه می‌باشد و در جایگاه‌هایی که تفاوت بین این دو مقدار زیاد است می تواند به دلیل وجود فراوانی‌های آللی با پراکندگی بالا در آن جایگاه‌ها می‌باشد (ILSTS029, SRCRSP3, TGLA53, MCM527). در شرایطی که همه آلل‌ها دارای فراوانی یکسان بوده و با آلل‌های نادر (P ≤۰/۰۱) تحت تاثیر قرار نگیرند تعداد آلل‌های موثر در یک جمعیت برابر با تعداد آلل‌های واقعی خواهد شد (ETH10). بررسی معیارهای مختلف چند شکلی نیز حاکی از چند شکلی بسیار بالا در جایگاه‌های مورد مطالعه است به طوری‌که بر اساس تعریف چند شکلی می‌توان تمام جایگاه‌های تکثیر یافته را ۱۰۰ درصد چند شکل در نظر گرفت. تنوع درون جمعیتی با تعیین معیارهایی همچون هتروزیگوسیتی مشاهده شده (H_o)، هتروزیگوسیتی مورد انتظار (H_e) و هتروزیگوسیتی مورد انتظار نااریب مورد بررسی قرار گرفت که در جدول ۴ مشاهده می‌گردد.

جدول ۳-مقدار آلل واقعی (N_a) و آلل موثر(N_e)، شاخص شانون (I)، شاخص محتوای اطلاعات چند شکلی (PIC) و شاخص رایت (F)

Table 3. Numbers of absolute (Na) and effective (Ne) allele per locus, Shannon Index (I), polymorphism information content (PIC) and Wright's Index (F)

F	PIC	I	N_e	N_a	جایگاه Loci
-0.108	0.895	2.493	10.256	15	TGLA53
-0.229	0.788	1.682	4.624	7	SRCRSP9
-0.163	0.845	2.155	7.143	12	SRCRSP3
-0.102	0.899	2.429	10.811	12	BM6444
-0.187	0.824	2.011	6.352	10	ILSTS029
-0.194	0.819	1.983	6.154	9	OarAE54
-0.418	0.658	1.493	3.390	8	MCM527
-0.276	0.754	1.682	4.624	7	ILSTS011
-0.320	0.721	1.580	4.124	6	MAF70
-1.000	0.375	0.693	2	2	ETH10

براساس داده‌های حاصله هتروزیگوسیتی مشاهده شده در تمامی جایگاه‌ها برابر۱ بود. دامنه هتروزیگوسیتی مورد انتظار در ۱۰ جایگاه مورد بررسی در این مطالعه از ۰/۵ تا ۰/۹۰۳ می‌باشد که بیشترین مقدار مربوط به جایگاه BM6444 و کمترین آن متعلق به جایگاه ETH10 می‌باشد. بیشترین

مقدار هتروزیگوسیتی مـور انتظـار نااریـب متعلـق بـه جایگـاه BM6444 و کمتـرین آن از آن جایگـاه ETH10 می‌باشد. میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده، مورد انتظار و مورد انتظار نااریب به ترتیب ۱، ۰/۷۹۱ و ۰/۸۱۲ بود که نشاندهنده‌ی سطح بالایی از هتروزیگوسـیتی در جمعیـت مـورد مطالعـه بـوده است (جدول ۴). شریفی سیدانی (۲۰۰۹)، در مطالعـه تنـوع ژنتیکـی در میـان اکوتیـپ‌هـای متفـاوت گوسفند سنجابی ایرانی هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار در جایگاه MCM527 را بـه‌ترتیـب ۱ و۰/۷۵ گزارش نمودند. سلیمانی و همکاران (۲۰۱۲)، در مطالعـه بررسـی چنـد شـکلی نشـانگرهای ریزمـاهواره‌ای در گوسـفند سـنجابی هتروزیگوسـیتی مشـاهده شـده و مـورد انتظـار را در جایگـاه ریزماهواره‌ای BM6444 به‌ترتیب ۱ و ۰/۴۴ گزارش نمودند.

جدول ۴- هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Ho)، مورد انتظار (He) و نااریب (Uhe)

Table 4. Observed (Ho), expected (He) and unbiased heterozygosity (Uhe)

Uhe	He	Ho	جایگاه Loci
0.926	0.903	1	TGLA53
0.835	0.814	1	SRCRSP9
0.882	0.860	1	SRCRSP3
0.931	0.908	1	BM6444
0.868	0.843	1	ILSTS029
0.859	0.838	1	OarAE54
0.723	0.705	1	MCM527
0.804	0.784	1	ILSTS011
0.777	0.758	1	MAF70
0.513	0.500	1	ETH10
0.812	0.791	1	MEAN

ننه‌کرانی و همکاران (۲۰۱۱)، هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مـورد انتظـار در گوسـفند زنـدی در جایگاه BM6444 را به ترتیـب ۰/۹۸۳ و ۰/۸۲۶ و شـاخص رایـت در ایـن جایگـاه را منفـی گـزارش نموده‌اند. ال- برزینجی و همکاران (۲۰۱۱)، در بررسی تنوع ژنتیکی گوسفند همدانی، هتروزیگوسـیتی

مشاهده شده در جایگاه‌های BM6444، ILSTS011، ILSTS029 و MCM527 را به ترتیب ۰/۵۹۴، ۰/۴۵۳، ۰/۲۰۳ و ۰/۳۱۳ و هتروزیگوسیتی مورد انتظار در این جایگاه‌ها را به‌ترتیب ۰/۹۱۹، ۰/۸۱۵، ۰/۶۶۷ و ۰/۸۴۸ گزراش کردند. ال جوماه و همکاران (۲۰۱۲)، شاخص رایت را در ۵ جایگاه ILSTS011، ILSTS029، OarAE54، BM6444 و TGLA53 مثبت و در ۳ جایگاه SRCRSP3، ETH10 و MAF70 منفی گزارش شد.

با مشاهده هتروزیگوسیتی مورد انتظار برای این جایگاه‌ها می‌توان دریافت که ۴ عدد از ۱۰ جایگاه هتروزیگوسیتی پایین‌تر از ۰/۸ دارند و این مقدار عددی نشان دهنده‌ی چند شکلی نسبتا بالا در جایگاه‌های مزبور می‌باشد. از سوی دیگر بالا بودن مقدار هتروزیگوسیتی مشاهده شده (۱) در ۱۰ جایگاه مورد بررسی در این مطالعه می‌توان به نحوه نمونه‌گیری نیز ربط داد بدین‌ترتیب که با نمونه گیری از حیوانات غیر خویشاوند می‌توان حداکثر مقدار تنوع موجود در این جمعیت را بر اساس این شاخص‌ها شناسایی نمود.

تفاوت‌های زیادی در رابطه با تعداد آلل و مقادیر PIC بین مطالعات قبلی و مطالعه حاضر مشاهده می‌شود. این تفاوت‌ها را نمی‌توان با دلایل خاصی تفسیر نمود چرا که از سویی روش‌های مطالعه در تحقیقات مختلف متفاوت است و از سوی دیگر به دلیل این که با ریزماهواره‌ها سروکار داریم وجود چند شکلی زیاد در این نوع نشانگرها بعید نیست. هم‌چنین تفاوت‌ها و شباهت‌های گزارش شده در مطالعات مختلف نیز به دلیل تفاوت‌ها در جمعیت‌های مورد بررسی بوده و تفاوت در تعداد و نوع آلل‌های حاصل از مطالعات مختلف کاملا طبیعی می‌باشد لذا ارزش‌های PIC بایستی برای هر مطالعه، محاسبه و گزارش گردد و مقادیر مربوطه خاص آن مطالعه می‌باشند، ولی از مطالعات قبلی می‌توان به عنوان راهنمایی برای انتخاب جایگاه‌های دارای چند شکلی و مفید برای مطالعات شجره‌ای مد نظر سود برد.

نتیجه‌گیری

به‌طورکلی نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهد که گوسفند لک قشقایی دارای تنوع ژنتیکی قابل توجهی بر اساس تنوع آللی (با میانگین شمار آلل‌های هر لوکوس ۸/۷) و تنوع ژنی (با میانگین هترو زیگوسیتی مورد انتظار ۰/۷۹۰) می‌باشد. همین امر می‌تواند قابلیت اصلاح نژاد بر پایه انواع اهداف اصلاحی را فراهم نماید و به این ترتیب بهبود صفات تولیدی و اقتصادی را به شکل پایدار امکان پذیر

سازد و می‌توان دریافت که نشانگرهای ریزماهواره‌ای ابـزاری بسـیار توانمنـد بـرای مطالعـات ژنتیـک جمعیت و بررسی تنوع درون جمعیت می‌باشند. از چند شکلی بالای جایگاه‌های ریزمـاهواره‌ای مـورد بررسی در این مطالعه می‌توان در مطالعات بعدی، به ویژه برای یافتن جایگاه‌های صفات کمی اسـتفاده نمود.

منابع

1. Al-Barzinji, Y.M.S., Lababidi, S., Rischkowsky, B., Al-Rawi, A.A., Tibbo, M., Hassen, H., and Baum, M. 2011. Assessing genetic diversity of Hamdani sheep breed in Kurdistan region of Iraq using microsatellite markers. Afri. J. Biotechnol. 10: 15109- 15116.
2. Aljumaah, R.S., Musthafa, M.M., Al-Shaikh, M.A., Badri, M.O., and Hussein, M.F. 2012. Genetic diversity of Ardi goat based on microsatellite analysis. Afr. J. Biotechnol. 11: 16539- 16545.
3. Aminafshar, M., Amirinia, C., and Torshizi, R.V. 2008. Genetic diversity in buffalo population of guilan using microsatellite marker. J. Anim. Vet. Adv. 7: 1499-1502.
4. Babar, M.E., Hussain, T. Nadeem, N. Jabeen, R., and Javed, M. 2009. Genetic Characterization of Azakheli Buffalo Breed of Pakistan Using Microsatellites DNA Markers. Pak. J. Zool. 9: 361-366.
5. Banabazi, M.H., Esmaeilkhanian, S., Miraei Ashtiani, S.R., and Moradi Shahrbabak, M., 2007. Gentic Variation Within and Between Five Iranian Sheep Populations Using Microsatellite Markers. Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources, Water and Soil Science. 10: 481-488. (In Persian)
6. Barker, J.S.F., Moore, S.S., Hetzel, D.J.S., Evans, D., Tan, S.G., and Byrne, K. 1997. Genetic diversity of Asian water buffalo (Bubalus bubalis): microsatellite variation and a comparison with proteincoding loci. J. Anim. Genet. 28: 103-115.
7. Bishop, M.D., Kappes, S.M., Keel, J.W., Stone, R.T., and Sunde, S.L.F. 1994. A genetic linkage map for cattle. Genetics. 136: 619-639.
8. Botstein, R., White, L., Skolnik, M., and Davis, R. W. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. Am. J. Hum. Genet. 32**:** 314–331.
9. Buchanan, F.C., and Thue, T.D. 1998. Intra breed polymorphic information content of microsatellites in cattle and sheep. Canadian J. Anim Sci. 78: 425-428.
10. Edriss, M.A., and Khosravinia, H. 2000. An Introduction to Animal Breeding. Isfahan University of Technology. Press, 233. (In Persian)

11. EL-Zarei, M.F. 2012. A new set of multiplex PCR suitable for genomic studies in Saudi sheep Breeds. J. Agri& Vete sci. 6: 17- 25.
12. Ghazy, A., Mokhtar, S., Eid, M., Amin, A., Elzarei, A., Kizaki, K., and Hashizume, k. 2013. Genetic Diversity and Distances of Three Egyptian Local Sheep Breeds Using Microsatellite Markers. Research in Zoology. 3: 1- 9.
13. Hedrick, P.W. 1995. Gene flow and genetic restoration: the Florida panther as a case study. Conserv. Biol. 9:996-1007.
14. Ibrahim, M., Ahmad, S., Ahmad Swati, Z., and Sajjad Khan, M. 2010. Genetic diversity in Balkhi, Hashtnagri and Michni sheep populations using SSR markers. African J. Biotechnology. 9: 7617-7628.
15. In Persian: Javanrouh Aliabad, A., Esmaeelkhanian, S., Dinparast, N., and Vaez Torshizi, R. 2006. Genetic variation among six Iranian goat breeds using RAPD markers. Karaj, Pajouhesh and Sazandegi. 64: 12-17.
16. Liu, K., and Muse, S.V. 2005. PowerMarker: an integrated analysis environment for genetic marker analysis. Bioinformatics. 21: 2128- 2129.
17. Lawson Handley, L.J., Byrne, K., Santucci, F., Townsend, S., Taylor, M., Bruford, M.W., and Hewitt, G.M. 2007. Genetic structure of European sheep breeds. J. Heridity, 99: 620- 631.
18. Maddox, J.F., Riffkin, C.D., and Beh, K.J. 2000. Dinucleotide repeat polymorphism at the ovine McMA1, McMA2, McMA5, McMA8, McMA9, McMA11, McMA14, McMA20, McMA24, McMA26 loci.J. Anim Gen. 31: 148- 149.
19. Nanekarani, S.H., Amirinia, C., Amirmozafari, N., Vaez Torshizi, R., and Gharahdaghi, A.A. 2010. Genetic variation among Pelt sheep population using microsatellite markers. African J. Biotechnol. 9: 7437-7445.
20. Nanekarani, S. H., Amirinia, C., and Amirmozafari, N. 2011. Genetic analyses of Karakul sheep breed using microsatellite markers. African J. Microbiol. Res. 5: 703- 707.
21. Notter, D.R. 1998. The importance of diversity in livestock populations of the future. J. Anim Sci. 77: 61-69.
22. Peakall, R., and Smouse, P.E. 2005. GENALEX 6: genetic analysis in Excel.Population genetic software for teaching and research. Mol Ecol Notes. 6:288- 295.
23. Penty, J.M., Henry, M.H., Ede, A.J., and Crawford, A.M. 1993. Ovine microsatellites at the OarAE16, OarAE54, OarAE57, OarAE119 and OarAE129 loci.J. Anim Gen., 24: 219- 230.
24. Salari, A., Amirinia, C., Gharedaghi, A.A., Shiri, S.A., and Khadarzadeh, S. 2010. Analysis of genetic diversity in Khorasan Kordi sheep using microsatellite markers.J. Anim Sci. Res. J. 7: 11- 17.
25. Salamon, D., Gutierrez-Gil, B., Kostelic, A., Gorjanc, G., Kompan, D., and Dzidic, A. 2012. Preliminary study on the genetic diversity of the istrian sheep,

Lika and krk Pramenka sheep populations using microsatellite markers.J. Anim Scie Days. 3: 125-129.
26. Sharifi–Sidani, E., Amirinia, C. Lavaf, A. Farasati, C., and Aminafshar, A. 2009. Genetic variation among different ecotypes of the Iranian Sanjabi sheep. J. Anim Vet. Adv. 8: 1173- 1176.
27. Solimani, b., Chharayyn, B., and Rahimi, G.H. 2012. Analysis of polymorphism microsatellite markers INRA135, BM6444 and oarhh35 related with inhibin gene in Sanjabi sheep. Iranian .J. Anim Sci. Res. 1: 85- 90. (In Persian)
28. Zahedi, Z., Esmaeilkhanian, S., and Vaez Torshizi, R., 2008. Assessment of genetic variation on balouchi of Abbasabad station of Mashhad. Pajouhesh and Sazandegi. 78: 39-46. (In Persian)

Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
J. of Ruminant Research, Vol. 4(3), 2016
http://ejrr.gau.ac.ir

Genetic Variation of Lac Ghashghaei sheep breed in the Kuhgiloyeh and Boyer Ahmad province using microsatellite markers

Z. Sallehi[1] and *M. Muhaghegh-Dolatabady[2]
[1]M.Sc. Student and, [2]Assistant prof, Dept. of Animal Science, Faculty of Agriculture, Yasouj University, Yasouj
Received: 12/22/2014; Accepted: 11/08/2016

Abstract

Background and objectives: The determination of genetic variability is a prerequisite for any breeding program towards the improvement of livestock productivity and a successful breeding strategy depend on amount of genetic variation in the population. Therefore, the aim of this study was to evaluate the genetic diversity of Lac Ghashghaei sheep breed in the Kuhgiloyeh and Boyer Ahmad province using microsatellite markers.

Materials and methods: In this study, the genetic variation of Lac Ghashghaei sheep was studied using 10 microsatellite markers. Then, allele diversity, PIC, HE, HO, Shannon index and Hardy-Weinberg equilibrium were calculated using Genalex and PowerMarker softwares.

Results: A total of 88 alleles were found in 10 loci that highest and lowest allele numbers were for TGLA53 and ETH10, respectively. The highest value of Shannon index related to TGLA53 marker with highest allele number and lowest value of Shannon index was for ETH10 marker with lowest allele number. In addition, the average value of Shannon index was also high (1.829) for this population. The mean observed heterozygosity was more than expected ones for all loci. The average value of polymorphism information content (PIC) value for all loci in analyzed population was 0.76 for 10 microsatellites. Test of genotype frequencies for deviation from the Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) at each locus, revealed a significant departure from HWE all loci ($p<0.01$).

Conclusion: In general, the results of estimated parameters for genetic variation revealed that the population of Lac Ghashghaei sheep breed in this study contains

*Corresponding author; mmuhaghegh@yu.ac.ir

high genetic variation. However, in order to maintain the genetic diversity of each breed, breeding strategies should be implemented within each herd.

Keywords: Genetic variation, Lac Ghashghaei sheep, microsatellite