



دانشگاه گورگان  
فصلنامه علمی و پژوهشی

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

## تنوع ژنتیکی گوسفند نژاد لک قشقایی در استان کهگیلویه و بویر احمد با استفاده از نشانگرهای ریزماهوره

زینب صالحی<sup>۱</sup>، \*مصطفی محقق دولت آبادی<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> دانشجوی کارشناسی ارشد و <sup>۲</sup> 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 می باشد 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 کهگیلویه و بویر احمد با استفاده از نشانگر ریزماهوره بود.

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

**یافته ها:** 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 جایگاه ها بیشتر از هتروزیگوسیتی مورد انتظار بود. میانگین محتوای اطلاعات چند شکلی

\*نویسنده مسئول: [mmuhaghegh@yu.ac.ir](mailto: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 ( $P < 0/01$ ).

**نتیجه‌گیری:** به‌طورکلی نتایج فراسنجه‌های تنوع برآورد شده نشان می‌دهد که گوسفند لک قشقایی دارای تنوع ژنتیکی قابل توجهی بر اساس تنوع آلیلی و تنوع ژنی می‌باشد. اگرچه، جهت حفظ تنوع ژنتیکی در گله‌های این نژاد برنامه‌های راهبردی در تلاقی‌گری باید به کار گرفته شود.

**واژه‌های کلیدی:** تنوع ژنتیکی، گوسفند لک قشقایی، ریزماهوره،

## مقدمه

نژادهای بومی در هر کشور به عنوان یک سرمایه ملی و محصولی استراتژیک در اقتصاد و رونق آن کشور محسوب می شوند 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 ناملازمات و شرایط نامساعد محیطی دامهای بومی همچنان به حیات خویش ادامه داده و به تکثیر نسل خود پرداخته اند (ادریس و خسروی نیا، ۲۰۰۰). نژادهای بومی به دلیل 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 می شود که متخصصین اصلاح نژاد را بر آن می دارد 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 تطابق پذیری سریعتر خواهد شد (جوانروح علی آباد، ۲۰۰۶). موفقیت برنامه اصلاح نژادی بستگی به میزان تنوع ژنتیکی موجود در جمعیت دارد. تنوع ژنتیکی ماده اصلی اصلاح دام است و کمبود این تنوع رشد ژنتیکی حاصل از انتخاب را کاهش می دهد (بارکر، ۱۹۹۷). پایه و براساس تنوع ژنتیکی در یک گونه، تغییرات جهشی است که با ایجاد آلل های مختلف شکل های فنوتیپی و ژنوتیپی متفاوتی را به وجود می آورد (ناتر، ۱۹۹۹). امروزه برای برآورد تنوع ژنتیکی و تعیین فواصل ژنتیکی درون جمعیت ها از تکنیک های پیشرفته مولکولی که بر اساس تفاوت ها در سطح DNA می باشند، استفاده می شود (سالاری و همکاران، ۲۰۱۰). مطالعات زیادی، کارآمدی نشانگرهای ریزماهورهای 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، قره گل 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 داده اند. از ابزارهای ژنتیکی کارآمد می توان به نشانگرهای ریزماهورهای اشاره نمود که پژوهشگران از چند شکلی زیاد آنها به منظور تجزیه و تحلیل ژنتیکی و بررسی تنوع نژادی، تفاوت های بین گونه ها، تعیین منشاء اجدادی و پیگیری روابط مورفولوژیکی و رفتاری در سطوح مختلف جوامع، مطالعات شجره ای برای شناسایی

پیوستگی ژنتیکی با ژن‌های عامل بیماری‌های خطرناک وراثتی و ژن‌های موثر بر صفات 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 به خصوص 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 خورشاوند 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 و کیفیت 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 پلیمرز به کمک کیت لیوفیلزه بایونیر (شرکت تکاپوزیست) انجام گرفت. غلظت نهایی مواد در حجم ۲۵ میکرو لیتر عبارت بودند از: یک واحد آنزیم DNA پلیمرز از *Taq*، ۲۰۰ میکرومول از هر *dNTP*، ۲۰۰ میلی مول  $MgCl_2$ ، ۱۸ پیکومول از هر آغازگر، ۵۰ نانومول *DNA* و بافر استاندارد. دمای اتصال آغازگرها در جدول ۱ آمده است و در آغازگرهای *TGLA53*، *SRCSRSP3* و *OarAE54* از برنامه دمایی Touchdown PCR استفاده شد. پس از انجام مراحل PCR قطعات DNA تکثیر شده در طی انجام الکتروفورز با ژل پلی‌اکریلامید ۸ درصد از

یکدیگر تفکیک شده و پس از تمام شدن زمان ران، نمایان سازی آلل‌ها به روش رنگ آمیزی نیترات 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 نرم‌افزار PowerMarker (لیو و موس، ۲۰۰۵) محاسبه گردید.

جدول ۱- آغازگرهای ریزماهواره، توالی، اندازه و جایگاه آنها

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

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

|                         |    |    |         |   |          |
|-------------------------|----|----|---------|---|----------|
| سلامون و همکاران، ۲۰۱۲  | 56 | 5  | Ovine   | F -GTCCATTGCCTCAAATCAATTC<br>R- AAACCACTTGACTACTCCCAA         | MCM527   |
| ابراهیم و همکاران، ۲۰۱۰ | TD | 12 | Caprine | F -AGAGGATCTGGAAATGGAATC<br>R- GCACTCTTTTCAGCCCTAATG          | SRCRSP9  |
| سلامون و همکاران، ۲۰۱۲  | 55 | 9  | Bovine  | F -GCTTGCTACATGGAAAAGTG<br>R- CTA AAAATGCAGAGCCCTACC          | ILSTS011 |
| غازی و همکاران، ۲۰۱۳    | 60 | 4  | Ovine   | F -<br>CACGGAGTCACAAAGAGTCAGACC<br>R- GCAGGACTCTACGGGGCCTTTGC | MAF70    |
| سلامون و همکاران، ۲۰۱۲  | 65 | 5  | Bovine  | F -GTTCAGGACTGGCCCTGCTAACA<br>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 انعکاس دهنده 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 جایگاه‌های مورد بررسی در این مطالعه انحراف بسیار معنی‌داری ( $P < 0/001$ ) از تعادل هاردی- واینبرگ نشان داده‌اند. انحراف بسیار معنی‌دار همه نشانگرها از تعادل هاردی- واینبرگ به دلیل 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 آل‌های جدید، وجود آل‌های نول در برخی نشانگرها و مهاجرت بویژه در مورد قوچ‌هایی که در فصل جفت‌گیری 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 آل با فراوانی محسوس در یک جایگاه تعریف کرد. جایگاه‌هایی چند شکل هستند که فراوانی معمول‌ترین آل 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 آل در آنها کمتر از ۰/۹۹ بود. معیارهای دیگری که برای تعیین میزان چند شکلی جایگاه مورد استفاده قرار می‌گیرد، تعداد آل واقعی (آل‌های واقعی در حقیقت تعداد آل‌های 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 آل‌های واقعی مختلفی برای یک جایگاه معین بدست آید) و تعداد آل موثر (این معیار بیانگر تعداد آل‌هایی است که هتروزیگوسیتی یکسان ایجاد می‌کنند. در شرایطی که همه آل‌ها دارای فراوانی یکسان بوده و با آل‌های نادر ( $P \leq 0.01$ ) تحت تاثیر قرار نگیرند، تعداد آل‌های موثر در یک جمعیت برابر تعداد آل‌های واقعی خواهد بود) هستند که مقادیر این دو معیار به همراه مقادیر محتوای اطلاعات چند شکلی (میزان PIC نیز به عنوان 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 راییت (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 می‌شود. این ضریب نصف همان احتمال وجود دو آل همولوگ در افراد است که یکسان اجدادی باشند. به عبارت دیگر می‌توان گفت مقادیر منفی یا نزدیک به صفر شاخص راییت برای جایگاه‌ها بیانگر این می‌باشد که آمیزش بین افرادی است که رابطه خویشاوندی

آنها از میانگین رابطه خویشاوندی جمعیت مربوطه کمتر می‌باشد) برای این جایگاه‌ها 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 نتایج 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  | دامنه آللی گزارش شده   | جایگاه   | دامنه آللی مشاهده شده  | دامنه آللی گزارش شده   | جایگاه   |
|------------------------|------------------------|----------|------------------------|------------------------|----------|
| Observed allele ranges | Reported Allele ranges | Loci     | Observed allele ranges | Reported Allele ranges | 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 به طور 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 به ترتیب 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 ( $PIC > 0.5$ ).

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 می‌تواند 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 ( $P \leq 0.01$ ) 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 طوری که 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 ( $N_a$ ) and effective ( $N_e$ ) allele per locus, Shannon Index (I), polymorphism information content (PIC) and Wright's Index (F)

| F      | PIC   | I     | $N_e$  | $N_a$ | جایگاه<br>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          |

بر اساس داده‌های حاصله هتروزیگوسیتی مشاهده شده در تمامی جایگاه‌ها برابر ۱ 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 مورد انتظار ناریب متعلق به جایگاه BM6444 و کمترین آن از آن جایگاه ETH10 می‌باشد. میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده، مورد انتظار و مورد انتظار ناریب به ترتیب ۱، ۰/۷۹۱ و ۰/۸۱۲ بود که نشان‌دهنده‌ی سطح بالایی از هتروزیگوسیتی در جمعیت مورد مطالعه بوده است (جدول ۴). شریفی سیدانی (۲۰۰۹)، در مطالعه تنوع ژنتیکی در میان اکوتیپ‌های متفاوت گوسفند سنجابی ایرانی هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار در جایگاه MCM527 را به ترتیب ۱ و ۰/۷۵ گزارش نمودند. سلیمانی و همکاران (۲۰۱۲)، در مطالعه بررسی چند شکلی نشانگرهای ریزماهواره‌ای در گوسفند سنجابی هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار را در جایگاه ریزماهواره‌ای BM6444 به ترتیب ۱ و ۰/۴۴ گزارش نمودند.

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

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

| Uhe   | He    | Ho | جایگاه<br>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 مورد انتظار در گوسفند زندی در جایگاه BM6444 را به ترتیب ۰/۹۸۳ و ۰/۸۲۶ و شاخص رایت در این جایگاه را منفی گزارش نموده‌اند. ال- برزینجی و همکاران (۲۰۱۱)، در بررسی تنوع ژنتیکی گوسفند همدانی، هتروزیگوسیتی

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 به ترتیب ۰/۹۱۹، ۰/۸۱۵، ۰/۶۶۷ و ۰/۸۴۸ گزارش کردند. ال جوماه و همکاران (۲۰۱۲)، شاخص رایب 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 نسبتاً 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 بدین ترتیب که با نمونه‌گیری 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 کاملاً 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 هتروزیگوسیتی 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 ابزاری بسیار توانمند برای مطالعات ژنتیک جمعیت و بررسی تنوع درون جمعیت می‌باشند. از چند شکلی بالای جایگاه‌های ریزماهواره‌ای مورد بررسی در این مطالعه می‌توان در مطالعات بعدی، به ویژه برای یافتن جایگاه‌های صفات کمی استفاده 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., Esmaeilkhani, S., Miraei Ashtiani, S.R., and Moradi Shahrababak, M., 2007. Genetic 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 protein coding 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., Esmaelkhanian, 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., Esmailkhanian, 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<sup>1</sup> and \*M. Muhagheh-Dolatabady<sup>2</sup>

<sup>1</sup>M.Sc. Student and, <sup>2</sup>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; mmuhagheh@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