دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشهای تولیدات دامی

"مقاله پژوهشی"

بررسی تنوع ژنتیکی اسب عرب و تیره‌های مختلف آن با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره

سجاد بادبرین[۱]، رضا سیدشریفی[۲] و حامد فلاحی[۳]

۱- عضو هیات علمی، بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان کرمانشاه، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرمانشاه، ایران، (نویسنده مسوول: s.badbarin@areeo.ac.ir)
۲- استاد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
۳- دانشجوی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۲/۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۳/۱۸
صفحه: ۱۵۸ تا ۱۶۵

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: در بین نژادهای اسب کشور، اسب عرب بیشترین جمعیت را دارد. اسب عرب زیبا و مقاوم در برابر شرایط سخت محیطی است و بیشتر در مناطق جنوبی کشور پرورش داده می‌شود. با توجه به جمعیت زیاد این نژاد در کشور، تیره‌های مختلفی از آن پدید آمده است که ممکن است از نظر ژنتیکی تفاوت‌هایی داشته باشند. اطلاع از این تفاوت‌ها در مدیریت ذخایر ژنتیکی و حفظ آن اهمیت زیادی دارد. هدف پژوهش حاضر بررسی میزان تنوع ژنتیکی اسب عرب و تیره‌های مختلف آن در ایران می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در پژوهش حاضر تنوع ژنتیکی نه تیره اسب عرب ایران شامل تیره‌های کهیلان، عبیان، حمدانی، صگلاویه، جلفان، خرسان، ملیحه، نسمانی و ودنه بررسی شد. تشخیص تیره‌ها بر اساس اطلاعات کتاب تبارنامه اسب عرب فدراسیون سوارکاری جمهوری اسلامی ایران انجام گرفت. کلیه نمونه‌ها با استفاده از ۱۲ نشانگر ریزماهواره توصیه شده توسط انجمن ژنتیک حیوانی (ISAG) تعیین ژنوتیپ شدند. الکتروفورز قطعات تکثیر شده DNA توسط دستگاه ژنتیک آنالایزر ۳۱۳۰ انجام شد. آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم افزارهای GENALEX نسخه ۲/۰ و NTSYS نسخه ۲/۰۲ انجام شد.

یافته‌ها: در مجموع ۱۰۰ آلل با استفاده از این تعداد نشانگرها روی ۲۵۱ رأس اسب عرب شناسایی شد. نشانگرهای ASB17 با میانگین ۷/۲۲ آلل و HTG4 با میانگین ۴/۷۷ آلل در میان تمام تیره‌ها به ترتیب دارای بیشترین و کمترین تعداد آلل بودند. بیشترین و کمترین میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده در نشانگر AHT4 با میانگین ۰/۷۸۶ و نشانگر ASB23 با میانگین ۰/۶۳۱ آلل در تمام تیره‌های مورد بررسی مشاهده شد. همچنین بیشترین و کمترین میانگین هتروزیگوسیتی مورد انتظار به ترتیب در نشانگرهای AHT4 با ۰/۷۸۴ آلل و ASB2 با ۰/۵۹۸ آلل برآورد شد. میانگین شاخص شانون برای همه جایگاه‌ها برابر با ۱/۴۲۷ به‌دست آمد. آزمون تجزیه به مولفه‌های اصلی، گروه‌بندی خاصی ناشی از جدا شدن جمعیتی تیره‌های مختلف اسب عرب، مشاهده نشد و همه اسب‌ها در یک ناحیه روی محور مختصات قرار گرفتند.

نتیجه‌گیری: به کمک نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر می‌توان درک بیشتری از ساختار ژنتیکی تیره‌های مختلف اسب عرب داشت. همچنین نتایج این تحقیق می‌تواند به پرورش دهندگان اسب برای مدیریت تنوع ژنتیکی و اصلاح نژاد آنها کمک کند. از آنجا که تنوع ژنتیکی نسبتاً زیادی در درون تیره‌های مختلف اسب عرب وجود دارد، بنابراین پتانسیل خوبی برای اجرای برنامه‌های اصلاح نژادی جهت بهبود کارایی و جلوگیری از انقراض آنها فراهم می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: ژنتیک جمعیت، ذخایر ژنتیکی، نژادهای بومی، هتروزیگوسیتی

مقدمه

اسب‌ها از جمله پستاندارانی هستند که به‌دلیل سرعت، استقامت و قدرت بالا نقش زیادی در شکل گیری تمدن انسان‌ها داشته است. امروزه نژادهای مختلفی از اسب وجود دارند که از جنبه‌های مختلف مانند زیبایی، استقامت، قدرت و ... از یکدیگر تمایز پیدا کرده‌اند (۲۰). اسب عرب یکی از زیباترین اسب‌های جهان است که به دلیل زیبایی و شکوه، علاقمندان زیادی در سرتاسر جهان دارد (۱۸). از خصوصیات اسب‌های عرب شکل سر متمایز و دم بلند است، به همین دلیل شناسایی آن نسبتاً ساده است. اسب عرب کاربردهای متنوعی از جمله شرکت در مسابقات زیبایی، کورس، درساژ و استقامت دارد. در درون نژاد اسب عرب ایران تیره‌های مختلفی وجود دارد که معمولا با استفاده از مشخصه‌های مورفولوژیکی و ژنتیکی از یکدیگر متمایز می‌شوند (۱۹). از مهمترین تیره‌های آن می‌توان به کهیلان، حمدانی، صگلاویه، جلفان، عبیان و ... اشاره کرد (۱). عامل اصلی تمایز تیره‌ها و نژادهای مختلف، جهش‌های ایجاد شده در طی سالیان متمادی است که تحت شرایط مختلف محیطی هر نژاد در درون آن نژاد حفظ شده است. درک تنوع ژنتیکی و روابط بین جمعیت‌های دامی یک موضوع رایج برای پرورش دهندگان و اصلاح‌گران است. اندازه‌گیری شاخص‌های مربوط به تنوع ژنتیکی یک جمعیت درک خوبی از تاثیر عوامل مختلف انسانی و محیطی، رانش ژنتیکی صورت گرفته، نوترکیبی ایجاد شده، قابلیت سازگاری و ... را روی جمعیت مورد مطالعه فراهم می‌کند (۲۲). یکی از روش‌های بررسی تنوع ژنتیکی استفاده از نشانگرهای دی ان ای و مخصوصا نشانگرهای ریزماهواره است. نشانگرهای ریزماهواره زیرمجموعه‌هایی از توالی‌های تکراری نکلئوتیدها هستند که در مناطقی از ژنوم قرار دارند. این نشانگرها به‌دلیل چند شکلی بالا، پراکندگی در سطح ژنوم، مکان کروموزومی مشخص و همبارز بودن، کاربرد بسیار زیادی در مطالعه تنوع ژنتیکی موجودات مختلف داشته‌اند، به طوری‌که در ۲۰ سال گذشته پرمصرف‌ترین نشانگر برای تعیین ژنوتیپ گیاهان و جانوران بوده‌اند (۲۴). ریزماهواره‌ها هم در پروکاریوت‌ها و هم در یوکاریوت‌ها یافت می‌شوند. این توالی‌ها به‌طور گسترده در سراسر ژنوم هسته‌ای و غیر هسته‌ای توزیع شده‌اند. متخصصین در سال‌های اخیر با استفاده از نشانگرهای ژنتیکی، ساختار ژنتیکی جمعیت‌های دامی و گیاهی را بررسی نموده‌اند و از آن به‌عنوان یک ابزار دقیق و قابل اعتماد یاد کرده‌اند. تاکنون، تحقیقات زیادی به‌منظور بررسی تنوع ژنتیکی اسب‌های عرب در سراسر جهان انجام شده است. از جمله این تحقیقات می‌توان به بررسی تنوع ژنتیکی به‌ویژه در

اسب‌های عرب اسپانیایی (۶)، عرب سوریه (۱۳)، عرب لهستانی (۸) و عرب مصر (۱۶) اشاره کرد. خانشور و همکاران (۱۲) تنوع ژنتیکی هفت جمعیت اسب عرب را با استفاده از ۱۵ نشانگر ریزماهواه مورد بررسی قرار دادند. جمعیت‌های مورد بررسی شامل سه جمعیت خاورمیانه‌ای که نزدیک به خاستگاه تاریخی این نژاد، از جمله سوریه، ایرانی و عربستان سعودی بودند با چهار جمعیت از کشورهای اروپایی و آمریکایی مقایسه شدند. نتایج به طور مشخصی سطح بالاتری از تنوع ژنتیکی را در جمعیت‌های خاورمیانه‌ای نسبت به جمعیت‌های غربی نشان دادند. مکنوم و همکاران (۱۵) با هدف بررسی رابطه ژنتیکی بین نژاد اسب‌های عرب بیابانی، اسب‌های عرب مصری و اسب‌های عرب لهستانی از نشانگر ریزماهواره استفاده کردند. نتایج تحقیق ایشان مشخص نمود که این سه جمعیت دارای سطوح بالایی از جریان ژنی هستند یا اینکه منشاء یکسانی دارند.

جباری و همکاران (۱۱) با استفاده از چهار نشانگر ریزماهواره تنوع ژنتیکی ۵۰ رأس اسب عرب ایران را مورد بررسی قرار دادند. تعداد آلل‌های مشاهده شده برای هر جایگاه از ۵ تا ۹ آلل متغیر بود. متوسط هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار به ترتیب برابر با ۰/۴۸۰ و ۰/۶۸۵ محاسبه شد. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که این نژاد تنوع ژنتیکی بالایی در مقایسه با سایر نژادهای اسب دارد. عبدلی و همکاران (۱) با استفاده از ۱۱ نشانگر ریزماهواره تنوع ژنتیکی نژادهای عرب، کاسپین، دره شوری، کرد و ترکمن را بررسی کردند. بیشترین و کمترین مقدار میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده به ترتیب مربوط به اسب‌های ترکمن (۰/۶۸) و عرب (۰/۶۲) بود. نتایج تحقیقات آنها نشان دهنده تنوع ژنتیکی بالا در درون جمعیت‌های مورد مطالعه بود. بهروزی نیا و همکاران (۴) تنوع ژنتیکی اسب‌های ترکمن مناطق ترکمن صحرا و جرگلان را با استفاده از پنج نشانگر ریزماهواره بررسی کردند. میانگین هتروزیگوسیتی مورد انتظار در جمعیت‌های ترکمن صحرا و جرگلان به‌ترتیب برابر با ۰/۶۹ و ۰/۶۷ بود. آنها با استفاده از اطلاعات هتروزیگوسیتی بیان کردند که همخونی بالایی ناشی از آمیزش‌های کنترل نشده در میان این جمعیت‌ها وجود دارد. سموزاد و همکاران (۲۱) با استفاده از ۴ نشانگر ریزماهواره تنوع ژنتیکی اسب‌های ترکمن را مورد بررسی قرار دادند. در این تحقیق میانگین هتروزیگوسیتی مورد انتظار برای نشانگرهای استفاده شده برابر با ۰/۸۴ محاسبه شد. با توجه به اینکه مطالعات بررسی تنوع ژنتیکی شناخت خوبی از ساختار ژنتیکی افراد مورد بررسی را فراهم می‌کند و تاکنون تحقیقی در این زمینه روی تیره‌های اسب عرب کشور انجام نشده است. هدف پژوهش حاضر بررسی میزان تنوع ژنتیکی اسب عرب و تیره‌های مختلف آن در ایران می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در مجموع ۲۵۱ رأس از نه تیره اسب عرب ایران شامل کهیلان (۲۸ نمونه)، عبیان (۲۷ نمونه)، حمدانی (۲۹ نمونه)، صگلاویه (۲۶ نمونه)، جلفان (۲۸ نمونه)، خرسان (۲۹ نمونه)، ملیحه (۲۶ نمونه)، نسمانی (۲۹ نمونه) و ودنه (۲۹ نمونه) در مناطق پرورش آنها به‌صورت تصادفی و حتی الامکان غیرخویشاوند طی سال‌های ۱۳۹۳ تا ۱۳۹۵ نمونه مو تهیه شد. تشخیص تیره‌ها بر اساس اطلاعات کتاب تبارنامه اسب عرب فدراسیون سوارکاری جمهوری اسلامی ایران انجام گرفت (۳). استخراج DNA از ریشه مو به روش نمکی و مطابق با روش آلبرت و همکاران (۲) انجام گرفت. کمیت و کیفیت DNA استخراج شده با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری نانودراپ ۱۰۰۰ تعیین گردید. کلیه اسب‌ها برای ۱۲ نشانگر ریزماهواره توصیه شده توسط انجمن ژنتیک حیوانی (ISAG) در این تحقیق تعیین ژنوتیپ شدند (جدول ۱). به‌منظور شناسایی قطعات تکثیر شده DNA به کمک دستگاه ژنتیک آنالایزر، آغازگرهای پیشرو با استفاده از یک رنگ فلورسنتی نشان‌گذاری شدند. چرخه‌های واکنش PCR شامل واسرشته‌سازی اولیه به‌مدت ۵ دقیقه (۹۵ درجه سانتی گراد)، مراحل چرخه‌ای در ۳۰ مرحله شامل واسرشته‌سازی به مدت ۳۰ ثانیه (۹۴ درجه سانتی‌گراد)، اتصال به‌مدت ۴۰ ثانیه در دمای اتصال مخصوص هر نشانگر و بسط به‌مدت ۶۰ ثانیه (۷۲ درجه سانتی‌گراد) و همچنین بسط نهایی به‌مدت ۵ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد انجام گرفت. الکتروفورز قطعات تکثیر شده DNA در دستگاه ژنتیک آنالایزر (Genetic analyzer 3130) و به‌کمک لوله‌های موئین انجام گرفت. با استفاده از مقیاس استاندارد GeneScan500LIZ در طول الکتروفورز و توسط نرم‌افزار GeneMapper V4.0 اندازه قطعات DNA تعیین شد.

جدول ۱- مشخصات نشانگرهای مورد استفاده در این مطالعه

Table 1. The specification of Markers used in this study

نام نشانگر	کروموزوم	دمای اتصال	محدوده آللی	شماره ثبت
AHT4	۲۴	۵۸	۱۶۴-۱۴۴	Y07733
AHT5	۸	۵۸	۱۴۴-۱۲۶	Y07732
ASB17	۱۵	۵۸	۱۲۹-۸۷	X93531
ASB2	۲	۵۴	۲۵۰-۲۱۶	X93516
ASB23	۳	۵۸	۲۱۱-۱۷۵	Y93537
HMS3	۹	۵۸	۱۷۰-۱۴۸	X74632
HMS6	۴	۵۸	۱۶۹-۱۵۱	X74635
HMS7	۱	۵۸	۱۸۵-۱۶۵	X74636
HTG10	۲۱	۵۴	۱۱۵-۹۵	AF169294
HTG4	۹	۵۵	۱۳۹-۱۲۷	AF169165
LEX33	۴	۵۸	۲۱۷-۲۰۳	AF075635
VHL20	۳۰	۶۰	۱۰۵-۸۷	X75970

میانگین هتروزگوسیتی مشاهده شده با استفاده از رابطه ۱ محاسبه شد:

$$Ho=\sum N_{ij}/N \quad \text{(رابطه ۱)}$$

در این رابطه N_{ij}: تعدادافراد هتروزگوت برای آن جایگاه و N: تعداد کل جایگاه‌های مورد بررسی است. یکی از مهمترین معیارها جهت ارزیابی تنوع ژنتیکی نژادهای مختلف، هتروزیگوسیتی مورد انتظار است که برآوردی از میزان تنوع ژنتیکی برای نشانگرهای مورد بررسی در آن نژاد را فراهم می‌کند (رابطه ۲).

$$uHe=2n/2n\text{-}1(1\text{-}\sum P_{ii}^2) \quad \text{(رابطه ۲)}$$

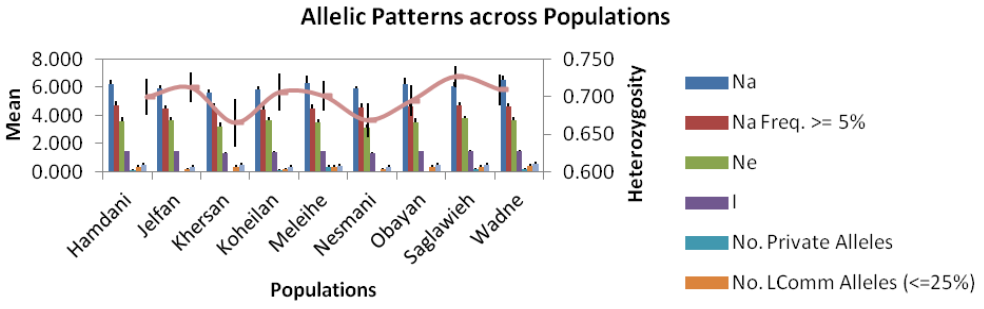
در این رابطه P_{ii} فراوانی آلل‌های هموزیگوت نشانگرهای ریزماهواره مورد بررسی می‌باشد. از دیگر شاخص‌ها که برای بررسی تنوع ژنتیکی استفاده می‌شود، شاخص شانون است. توصیه شده است که برای بررسی تنوع ژنتیکی نشانگرهای با تنوع زیاد علاوه بر هتروزیگوسیتی، از این شاخص نیز استفاده شود (رابطه ۳).

$$I=-\sum_i^k P_i \ln P_i \quad \text{(رابطه ۳)}$$

در این رابطه Pi: فراوانی آلل iام و k: مجموع تعداد آلل‌های مشاهده شده در آن جایگاه می‌باشد. تعداد آلل‌های مشاهده شده (Na) و موثر (Ne)، هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Ho) و مورد انتظار (He)، شاخص شانون (I)، ضریب درون آمیزی (F) و همچنین تنوع ژنتیکی بین و درون تیره‌ها با استفاده از روش آنالیز واریانس مولکولی (AMOVA) به کمک نرم‌افزار GENALEX نسخه ۲/۰ محاسبه شد (۱۷). به‌منظور ارزیابی دقیق‌تر تشابه ژنتیکی بین تیره‌های مختلف، به‌کمک نرم‌افزار NTSYS نسخه ۲/۰۲ چندین دندروگرام با استفاده از ضرایب Dice، Jaccard و Simple Matching ترسیم شد. سپس میزان انطباق دندروگرام رسم شده با ماتریس تشابه، میزان ضریب همبستگی کوفنتیک برای هریک از ضرایب مورد بررسی محاسبه شد. از آنجا که دندروگرام رسم شده بر اساس ضریب Jaccard بیشترین میزان همبستگی (r=0.86) را نشان داد، بنابراین دندروگرام نهایی بر اساس ضریب تشابه Jaccard و الگوریتم UPGMA ترسیم شد.

نتایج و بحث

تمام نشانگرهای مورد استفاده در این پژوهش، چند شکل بودند. الگوی آللی نشانگرهای مورد استفاده در تیره‌های مختلف مورد بررسی در شکل ۱ نشان داده شده است. در تحقیق حاضر ۲۵۱ رأس اسب عرب کشور بررسی شد که در مجموع تعداد ۱۰۰ آلل در ۱۲ نشانگر مورد بررسی، شناسایی شد. میانگین بیشترین و کمترین تعداد آلل مشاهده شده به‌ترتیب در جایگاه ASB17 با ۷/۲۲۲ آلل و HTG4 با ۴/۷۷۸ آلل مشاهده شد. همچنین بیشترین و کمترین تعداد آلل موثر به‌ترتیب در جایگاه AHT4 (۴/۷۶۲) و ASB2 (۲/۵۶۷) محاسبه شد (جدول ۲). میانگین کل تعداد آلل مشاهده شده و موثر برای تمام نشانگرها و تمام افراد مورد بررسی به‌ترتیب برابر با ۶/۰۷۴ و ۳/۵۱۹ بود. با توجه به اختلاف نسبتاً زیاد این دو شاخص معلوم می‌شود که نشانگرهای استفاده شده از نظر تعداد آلل نمایان شده، کارایی متوسطی برای محاسبه تنوع ژنتیکی داشته‌اند، زیرا بالاتر بودن میانگین تعداد آلل مورد انتظار، نشان دهنده اثر بهتر نشانگرها در نشان دادن چندشکلی و تخمین تنوع ژنتیکی است (۱۴). میانگین تعداد آلل‌های موثر برای هر نشانگر در این تحقیق مشابه تحقیقات مکنوم و همکاران (۱۵) در جمعیت‌های مختلف اسب عرب بود، اما کمتر از مقادیر محاسبه شده توسط عبدلی و همکاران (۱) و خانشور و همکاران (۱۲) در جمعیت اسب‌های عرب ایران بود. به‌طور کلی، تفاوت تعداد آلل‌ها در جمعیت‌ها به عوامل مختلفی مانند تعداد افراد مورد بررسی، مجموعه نشانگرهای ریزماهواره انتخاب شده و همچنین ساختار جمعیت مورد مطالعه بستگی دارد. بنابراین تحقیق حاضر مشابه با تحقیقات پیشین، نشان دهنده کارایی نشانگرهای استفاده شده در این پژوهش جهت تنوع ژنتیکی اسب‌ها و بخصوص اسب عرب می‌باشد (۱،۷،۱۲). بیشترین تعداد آلل مشاهده شده در تحقیق ما مربوط به نشانگر ASB17 و برابر با ۷/۲۲۲ اندازه‌گیری شد، در حالی که بیشترین تعداد آلل موثر مربوط به نشانگر AHT4 و برابر با ۴/۷۶۲ محاسبه شد. در تحقیقات قبلی روی اسب‌های بومی کشور، برای نشانگر ASB17 تعداد آلل‌های نسبتاً زیادی گزارش شده است (۱،۱۱)، بنابراین از آنجایی که در این تحقیق برای این نشانگر نیز تعداد آلل مشاهده شده و موثر نسبتاً مناسبی به دست آمد، بنابراین این جایگاه می‌تواند نشانگر بسیار خوبی برای پی بردن به ساختار ژنتیکی اسب عرب باشد.



شکل ۱- الگوی آللی ترسیم شده توسط نرم‌افزار GenALEX برای تیره‌های مختلف اسب عرب
Figure 1. Allelic pattern drawn by GenALEX software for different strains of Arabian horses

بیشترین هتروزیگوسیتی مشاهده شده مربوط به نشانگر AHT4 (۰/۷۸۶) و کمترین هتروزیگوت مشاهده شده مربوط به نشانگر ASB23 (۰/۶۳۱) بود. از آنجا که نشانگرهای با چند شکلی بالا اطلاعات بیشتری برای بررسی تنوع ژنتیکی فراهم می‌کنند، بنابراین نشانگر AHT4 در این پژوهش بیشترین میزان اطلاعات را فراهم کرده است. میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار برای تمام نشانگرهای مورد استفاده در این تحقیق به ترتیب برابر با ۰/۷۰۸ و ۰/۶۹۸ برآورد گردید (جدول ۲). نزدیکی این مقادیر به عدد ۱ نشان دهنده مناسب بودن نشانگرهای استفاده شده برای بررسی تنوع ژنتیکی اسب‌های بومی کشور است. جایگاه‌های AHT5، ASB2، ASB23، HMS6، HMS7، LEX33 و VHL20 هتروزیگوسیتی مشاهده شده بالاتری را نسبت به مقادیر مورد انتظار نشان دادند، در حالی که برای بقیه جایگاه‌ها، هتروزیگوسیتی مشاهده شده کمتر از مقادیر مورد انتظار بود. در کل جمعیت مورد مطالعه، میانگین مقادیر هتروزیگوسیتی مشاهده شده کمتر از مقادیر هتروزیگوسیتی مورد انتظار بود. بیشترین تفاوت بین این دو مقدار در این پژوهش برای جایگاه HMS7 مشاهده شد. این نشانگر بالاترین میزان جریان ژنی و کمترین میزان شاخص تثبیت رایت (F) را نیز نشان داد. این نتایج ممکن است به‌دلیل تنوع ژنتیکی بالای در درون اسب‌های مورد مطالعه و ناهمگونی کافی بین این حیوانات باشد (۱۸).

میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده در تحقیق ما (۰/۷۰۸) مشابه دیگر تحقیقات روی اسب‌های عرب بود که قبلاً توسط خانشور و همکاران (۱۳)، باربر و همکاران (۵) و دی استاتیو و همکاران (۷) گزارش شده بود، اما نسبت به گزارش‌های ارائه شده توسط گلوواتزکی و همکاران (۹)، ایوانزیک و همکاران (۱۰)، لوئیس و همکاران (۱۴)، و ون دو گور و همکاران (۲۳) بالاتر بود. کم بودن مقادیر هتروزیگوت‌ها در اسب عرب مدرن قبلا توسط تحقیقات مختلف گزارش شده است (۱۸). در جمعیت‌های اسب عرب اصلاح شده، مقادیر هتروزیگوسیتی مشاهده شده کمتر از ۰/۶۷ گزارش شده است، در حالی که در جمعیت‌های سنتی و بومی بین ۰/۶۸ تا ۰/۷۲ متغیر بوده است (۱۸). جمعیت‌های مدرن و اصلاح شده به طور کلی مقادیر کمتری از تنوع را نشان می‌دهند. بنابراین بیشتر بودن مقادیر هتروزگوسیتی در تحقیق حاضر می تواند به‌دلیل بومی بودن و قدمت این نژاد در کشور ما باشد.

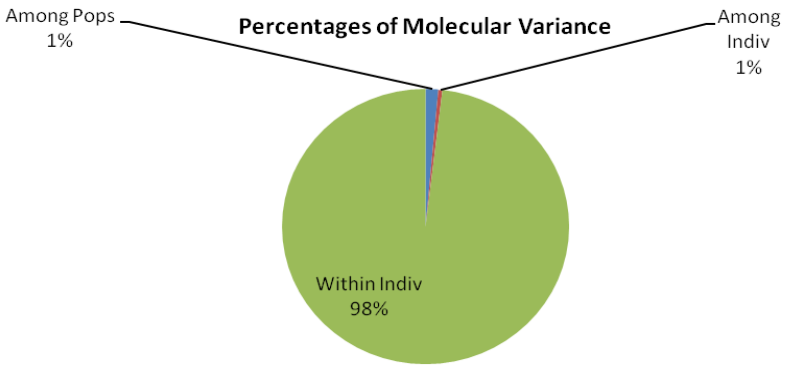
بیشترین و کمترین مقدار شاخص شانون برابر با ۱/۶۹۱ و ۱/۲۷۶ به‌ترتیب مربوط به نشانگرهای AHT4 و ASB2 محاسبه شد (جدول ۲). تنوع ژنتیکی یکی از مهمترین پارامترهایی است که برای توصیف یک اکوسیستم استفاده می‌شود. شاخص شانون نیز همانند هتروزیگوسیتی مشاهده شده، میزان تنوع ژنتیکی را نشان می‌دهد. این شاخص با در نظر گرفتن یکنواختی گونه‌ها، تنوع گونه‌ها را اندازه‌گیری می‌کند. به این ترتیب غنا و فراوانی گونه‌ها را در نظر می‌گیرد. از آنجا که برای محاسبه آن از لگاریتم استفاده می‌شود، بنابراین حداکثر مقدار برای این شاخص وجود ندارد. با این حال، در هنگام عدم وجود تنوع، حداقل مقدار آن می‌تواند صفر باشد. میانگین شاخص شانون در کل جمعیت مورد مطالعه برابر با ۱/۴۲۷ محاسبه شد. در پژوهش حاضر جریان ژنی بالایی (۹/۹۵۶) بین تیره‌های مورد بررسی محاسبه شد. جریان ژنی موجب انتقال آلل‌ها از یک جمعیت به جمعیت دیگر می‌شود و نقش کلیدی در تغییر فراوانی آلل‌ها دارد. وجود جریان ژنی بالا بین تیره‌های مورد بررسی، نشان می‌دهد که اختلاط زیادی بین این تیره‌ها صورت گرفته و انتخاب سیلمی‌ها برای تشکیل نسل بعد بر اساس تیره آن سیلمی صورت نگرفته است.

جدول ۲- تجزیه و تحلیل تعداد آلل‌های مشاهده شده (Na)، تعداد آلل‌های موثر (Ne)، شاخص شانون (I)، هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Ho)، هتروزیگوسیتی مورد انتظار (He)، هتروزیگوسیتی نااریب نئی (uHe)، شاخص رایت (F) و جریان ژنی (Nm) برای نشانگرهای مورد مطالعه.

Table 2. Analysis of number of observed alleles (Na), number of effective alleles (Ne), Shannon index (I), observed heterozygosity (Ho), expected heterozygosity (He), non-odd heterozygosity (uHe), Wright index (F) and gene flow (Nm) for the studied microsatellite markers.

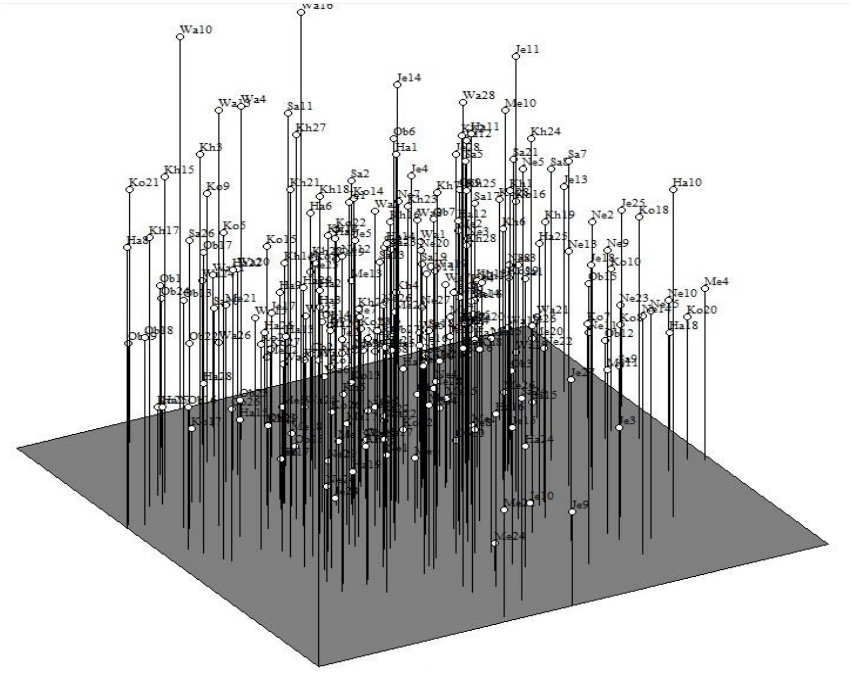
تمام جمعیت‌ها	Mean (Na)	Mean (Ne)	Mean (I)	Mean (Ho)	Mean (He)	Mean (uHe)	Mean (F)	Mean (Nm)
AHT4	۶/۸۸۹	۴/۷۶۲	۱/۶۹۱	۰/۷۸۶	۰/۷۸۴	۰/۷۹۹	۰/۰۰۰	۷/۶۲۵
AHT5	۵/۶۶۷	۲/۹۱۵	۱/۳۲۰	۰/۶۷۰	۰/۶۴۸	۰/۶۶۰	−۰/۰۳۰	۱۴/۲۳۵
ASB17	۷/۲۲۲	۴/۰۱۹	۱/۵۹۷	۰/۷۳۷	۰/۷۴۶	۰/۷۵۹	۰/۰۱۰	۹/۹۹۰
ASB2	۶/۴۴۴	۲/۵۶۷	۱/۲۷۶	۰/۶۳۶	۰/۵۹۸	۰/۶۰۹	−۰/۰۶۳	۱۰/۵۶۰
ASB23	۶/۷۷۸	۲/۵۹۲	۱/۲۸۸	۰/۶۳۱	۰/۶۰۱	۰/۶۱۲	−۰/۰۵۲	۱۲/۱۰۳
HMS3	۵/۵۵۶	۳/۲۲۳	۱/۳۳۳	۰/۶۴۳	۰/۶۸۴	۰/۶۹۶	۰/۰۶۲	۷/۵۳۷
HMS6	۵/۷۷۸	۴/۲۱۶	۱/۵۵۱	۰/۷۷۳	۰/۷۶۰	۰/۷۷۴	−۰/۰۱۸	۸/۹۸۸
HMS7	۵/۴۴۴	۳/۴۳۷	۱/۳۹۲	۰/۷۸۲	۰/۷۰۶	۰/۷۱۹	−۰/۱۰۸	۲۲/۳۷۳
HTG10	۶/۳۳۳	۳/۸۶۳	۱/۴۹۴	۰/۷۰۵	۰/۷۳۶	۰/۷۵۰	۰/۱۴۳	۷/۵۸۶
HTG4	۴/۷۷۸	۳/۲۷۰	۱/۳۰۴	۰/۶۷۴	۰/۶۸۶	۰/۶۹۹	۰/۰۲۱	۴/۹۷۴
LEX33	۵/۴۴۴	۳/۰۵۷	۱/۲۸۰	۰/۶۸۳	۰/۶۶۵	۰/۶۷۷	−۰/۰۲۳	۶/۲۰۳
VHL20	۶/۵۵۶	۴/۳۰۷	۱/۶۰۴	۰/۷۷۵	۰/۷۶۲	۰/۷۷۶	−۰/۰۱۵	۷/۳۰۰
میانگین کل	۶/۰۷۴	۳/۵۱۹	۱/۴۲۷	۰/۷۰۸	۰/۶۹۸	۰/۷۱۱	−۰/۰۱۵	۹/۹۵۶

آنالیز واریانس مولکولی یکی از معیارهای تقسیم تنوع ژنتیکی به مقادیر بین و داخل نژادها به کار می‌رود. با استفاده از این روش، تنوع ژنتیکی درون افراد ۹۸ درصد، تنوع ژنتیکی بین تیره‌ها ۱ درصد و تنوع ژنتیکی بین افراد ۱ درصد محاسبه شد. این موضوع نشان می‌دهد که تنوع ژنتیکی محاسبه شده بیشتر در درون نژاد بوده و بین تیره‌های مورد بررسی تفاوت ژنتیکی خاصی وجود ندارد (شکل ۲).



شکل ۲- نمودار آنالیز واریانس مولکولی
Figure 2. Molecular analysis of variance diagram

تجزیه بر اساس مولفه‌های اصلی (PCA) با استفاده از نرم‌افزار NTSys V2.02 انجام گرفت و با سه مولفه اول که بیشترین درصد تنوع را توجیه می‌کردند، نمودار سه بعدی محل قرار گرفتن تمام افراد روی آن ترسیم شد. آنالیز تجزیه به مولفه‌های اصلی تمایز ژنتیکی تیره‌های مورد بررسی را تایید نکرد. نمودار سه بعدی پراکنش افراد مورد بررسی به کمک آزمون تجزیه به مولفه‌های اصلی برای سه عامل اول در شکل ۳ ارائه شده است. در این نمودار تمایز خاصی مربوط به افراد زیر تیره‌ها مشاهده نشد. بنابراین بر اساس نتایج به دست آمده کل افراد مورد بررسی گروه‌بندی مجزایی نشان ندادند و همه اسب‌ها در یک ناحیه روی محور مختصات ترسیم شده گروه‌بندی شدند.



شکل ۳- نمودار سه بعدی پراکنش افراد مورد بررسی به کمک آزمون تجزیه به مولفه‌های اصلی
Figure 3. Three-dimensional diagram of the distribution of the individuals using the principal component analysis test

نتیجه‌گیری کلی

نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که جمعیت نمونه برداری شده از تیره‌های مختلف اسب عرب کشور تنوع ژنتیکی بالایی دارند. هنگامی که تمام پارامترهای مشاهده شده در نظر گرفته شوند، می‌توان نتیجه گرفت که نشانگرهای AHT4، ASB17 و VHL20 چند شکلی بالاتری و نشانگر ASB2 کمترین چند شکلی را در جمعیت اسب عرب نشان می‌دهند. از نتایج پژوهش حاضر می‌توان به درک بیشتر از ساختار جمعیت و وضعیت فعلی تنوع ژنتیکی جمعیت مورد بررسی اشاره کرد. همچنین، نتایج این تحقیق ممکن است به پرورش دهندگان اسب برای مدیریت تنوع ژنتیکی و اصلاح نژاد آنها در هنگام طراحی استراتژی‌های اصلاح نژادی برای گله خود کمک کند.

منابع

1. Abdoli, M., M.B. Zandi, M.T. Harkinezhad and M. Khalili. 2020. Genetic structure survey of Iranian native horse breeds by microsatellite markers. Journal of Animal Production, 23(2): 155-163 (In Persian).
2. Alberts, C.C., J.T. Ribeiro-Paes, G. Aranda-Selverio, J.R. Cursino-Santos, V.R. Moreno-Cotuli, A.L.D. Oliveira, W.F.M.M. Porchia, W.F. Santos and E.B. Souza. 2010. DNA extraction from hair shafts of wild Brazilian felids and canids. Genetics and Molecular Research, 9: 2429-2435.
3. Anonymous. 2015. Studbook of Iranian Arab horses, Equestrian Federation of the Islamic Republic of Iran. Tehran, Iran (In Persian).
4. Behroozinia, S., S.Z. Mirhoseini, F. Afraz, A. Sohrabi, S.A. Mohammadi, S. Shahbazi and S.B. Dalirsefat. 2011. Genetic characterization of two Iranian Turkoman horse populations from Turkoman Sahra and Turkoman Jergelan regions. Iranian Journal of Animal Science Research, 3(1): 63-66 (In Persian).
5. Berber, N., S. Gaouar, G. Leroy, S. Kdidi, N. Tabet Aouel and N. Saidi Mehtar. 2014. Molecular characterization and differentiation of five horse breeds raised in Algeria using polymorphic microsatellite markers. Journal of Animal Breeding and Genetics, 131(5): 387-394.
6. Cervantes, I.R. Baumung, A. Molina, T. Druml, J.P. Gutierrez, J. Solkner and M. Valera. 2009. Size and shape analysis of morphofunctional traits in the Spanish Arab horse. Livestock Science, 125(1): 43-49.
7. Di Stasio L., G. Perrotta, M. Blasi and C. Lisa. 2008. Genetic characterization of the Bardigiano horse using microsatellite markers. Italian Journal of Animal Science, 7(2): 243-250.
8. Glazewska, I. and T. Jezierski. 2004. Pedigree analysis of Polish Arabian horses based on founder contributions. Livest Production Science, 90(2): 293-298.
9. Glowatzki-Mullis, M.L., J. Muntwyler, W. Pfister, E. Marti, S. Rieder, P.A. Poncet and C. Gaillard. 2005. Genetic diversity among horse populations with a special focus on the Franches-Montagnes breed. Animal Genetics, 37(1): 33-39.
10. Iwanczyk, E., R. Juras, G. Cholewinski and E.G. Cothran. 2006. Genetic structure and phylogenetic relationships of the Polish heavy horse. Journal of Applied Genetics. 47(4): 353-359.
11. Jabbari, S., M.R. Mashayekhi, A. Hasanpour and B. Shirmohammadly. 2020. Evaluation of the genetic diversity of Iranian Arabian horses. Iranian Journal of Animal Science Research, 11(4): 478-481 (In Persian).
12. Khanshour, A., E. Conant, R. Juras and E.G. Cothran. 2013a. Microsatellite analysis of genetic diversity and population structure of Arabian horse populations. Journal of Heredity, 104: 386-398.
13. Khanshour, A.M., E.K. Conant, R. Juras and E.G. Cothran. 2013b. Microsatellite analysis for parentage testing of the Arabian horse breed from Syria. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 37: 9-14.
14. Luis, C., R. Juras, M.M. Oom and E.G. Cothran. 2007. Genetic diversity and relationships of Portuguese and other horse breeds based on protein and microsatellite loci variation. Animal Genetics, 38(1): 20-27.
15. Machmoum, M., I. Boujenane, R. Azelhak, B. Badaoui, D. Petit and M. Piro. 2020. Genetic Diversity and Population Structure of Arabian Horse Populations Using Microsatellite Markers. Journal of Equine Veterinary Science, 93: 103200.
16. Othman, O.E., K.F. Mahrous and H.I. Shafey. 2017. Mitochondrial DNA genetic variations among four horse populations in Egypt. Journal of Genetic Engineering and Biotechnology, 15(2): 469-474.
17. Peakall, R. and P.E. Smouse. 2012. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research – an update. Bioinformatics, 28: 2537-2539.
18. Rukavina, D., D. Hasanbasic, A. Durmic Pasic, B. Kalamujic and A. Zahirovic. 2016. Genetic diversity of Arabian horse from Stud Borike (Bosnia and Herzegovina) using microsatellite markers. Research & Reviews: Journal of Veterinary Sciences, 2(1): 21-25.
19. Sadeghi, R., M. Moradi-Shahrbabak, S.R.M. Ashtiani, F. Schlamp, E.J. Cosgrove and D.F. Antczak. 2019. Genetic diversity of Persian arabian horses and their relationship to other native iranian horse breeds. Journal of Heredity, 110(2): 173-182.
20. Saedi, A., S. Hassani, F. Shadkam, J. Pishkar and H. Karimi Birgani. 2022. An investigation on the effects of environmental factors on biometric traits in the head and neck of Thoroughbred horses in Golestan province. Research on Animal Production, 12(34): 148-155 (In Persian).
21. Samoozad, M., M.R. Nassiry, A.A. Aslaminejad, M. Tahmoorespur, M. Doosti, A.J. Ghiadi and S. Ghovvati. 2012. Study of Genetic Diversity in Iranian Turkmen Horse by Four Microsatellite Markers. Iranian Journal of Animal Science Research, 4(4): 345-351 (In Persian).

22. Shakeri, R., A. Javanmard, K. Hasanpur, M.A. Abbasi, S.M. Mazlom, M. Khansefid and M. Rahimi Varposhti. 2021. Assessment of genetic diversity within Holstein population using bovine SNP chip data. Research on Animal Production, 12(32): 140-149 (In Persian).
23. Van de Goor, LHP., W.A. Van Haeringen and J.A. Lenstra. 2011. Population studies of 17 equine STR for forensic and phylogenetic analysis. Animal Genetics, 42(6): 627-633.
24. Vieira, M.L.C., L. Santini, A.L. Diniz and C.F. Munhoz. 2016. Microsatellite markers: what they mean and why they are so useful. Genetics and Molecular Biology, 39(3): 312-328.

Investigation the Genetic Diversity of Arabian Horses and their Different Strains Using SSR Markers

Sajjad Badbarin[1], Reza Seyed Sharifi[2] and Hamed Falahi[3]

1- Academic staff member, Animal Sciences Research Department, Kermanshah Province Agriculture and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Kermanshah, Iran, (Corresponding author: s.badbarin@areeo.ac.ir)
2- Professor, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Mohaghegh Ardabili University, Ardabil, Iran
3- Veterinary student, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Tabriz branch, Tabriz, Iran
Received: 26 April, 2022 Accepted: 8 June, 2022

Extended Abstract

Introduction and Objective: Among the country's horse breeds, the Arabian horse has the largest population. Arabian horses are very beautiful and resistant to harsh environmental conditions and are mostly bred in the southern regions of the country. Due to the large population of this breed in the country, it has given rise to several genera that may be genetically distinct. Knowing these differences is important in managing and conserving genetic resources. The aim of this study was to investigate the genetic diversity of Arabian horses and their different breeds in Iran.

Material and Methods: In the present study, the genetic diversity of nine Iranian Arabian horse breeds including Kahilan, Abyan, Hamdani, Saglavieh, Julfan, Khersan, Maliha, Nasmani and Vedeneh was investigated. The identification of the strais was based on the information in the studbook of the Arabian horse that has been published by the Equestrian Federation of Iran. All samples were genotyped using 12 microsatellite markers recommended by the international society of animal genetics (ISAG). Electrophoresis of amplified DNA fragments was performed by 3130 genetic analyzers. Data analysis was performed using GENALEX version 2.0 and NTSYS version 2.02 softwares.

Results: A total of 100 alleles were identified using this number of markers on 251 Arabian horses. ASB17 marker with an average of 7.22 alleles and HTG4 marker with an average of 4.77 alleles showed the highest and lowest number of alleles among all strains, respectively. The highest and lowest heterozygosity was observed in AHT4 marker with a mean of 0.786 and ASB23 marker with a mean of 0.631 allele in all studied strains. Also, the highest and lowest mean heterozygositys were calculated in AHT4 markers with 0.784 alleles and ASB2 with 0.598 alleles, respectively. The average Shannon index for all markers was 1.427. The principal component analysis test showed no specific grouping due to the demographic separation of different Arabian horse strains, and all horses were located in one area on the coordinate axis.

Conclusion: The results of the present study showed a better understanding of the genetic structure of different strains of Arabian horses. The results of this research can also help horse breeders to manage their genetic diversity and breeding. Because there is relatively large genetic diversity within different strains of Arabian horses, there is good potential for breeding programs to improve performance and prevent their extinction.

Keywords: Genetic resources, Heterozigosity, Local breeds, Population genetic