



بررسی چندشکلی تعدادی از نشانگرهای ریزماهواره (Microsatellite) در یک جمعیت از گوسفندان بلوچی

عبدالرضا دانشور آملی^۱، سعید اسماعیل خانیان^۲، محمدرضا سنجابی^۳ و سید احمد میرهادی^۴

۱- دکتری، جهاد دانشگاهی، مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران، بانک سلولهای انسانی و جانوری، تهران، ایران، (نویسنده مسؤول: daneshvaramoli@gmail.com)

۲- دانشیار، موسسه تحقیقات علوم دامی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

۳- استادیار، سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، پخش تحقیقات دام، طیور و آبزیان، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۹۵/۸/۴ تاریخ پذیرش: ۹۵/۸/۱۲

صفحه: ۹۶ تا ۱۰۳

چکیده

نظر به اهمیت حفظ و نگهداری نژادهای بومی به عنوان ذخایر ژنتیکی گشور، نژاد گوسفند بلوچی به عنوان پرجمعیت‌ترین نژاد گوسفند ایرانی و داشتن شجره قابل اطمینان، انتخاب شد. در این تحقیق با استفاده از ۱۵ نشانگر ریزماهواره (TGLA231, OarVH110, McMA10, McMA1, McM214, McM139 McM63, LSCV38, LSCV36, KD101, BMS2721, BMS995, BMS332, BM1815, BM737) تنوع ژنتیکی در یک جمعیت از گوسفند بلوچی مورد بررسی قرار گرفت. تعداد ۱۴۰ دام از ایستگاه عباس‌آباد مشهد به صورت تصادفی انتخاب شدند. پس از انجام واکنش‌های PCR، جایگاه McM139 به هیچ‌کدام از شرایط بهینه‌سازی تکثیر جواب نداد. جایگاه LSCV38 به علت داشتن آلل صفر زیاد و عدم وجود آلل مورد استفاده قرار نگرفت. بقیه جایگاه‌ها در جمعیت مورد مطالعه چندشکل بودند. تعداد آلل‌های مشاهده شده از ۶ آلل در جایگاه‌های BMS332، BM737، BMS36، OarVH110 تا ۱۲ آلل در جایگاه McMA10 و آلل مؤثر از ۳/۵۱ در جایگاه McM63 تا ۸/۶۶ در جایگاه LSCV36 با ۱۲ آلل و به مقدار (۰/۸۹۰) با OarVH110 با ۷۱۸ (۰/۰) با ۷ آلل مشاهده شد. بیشترین محتوای اطلاعاتی چندشکلی (PIC) در جایگاه OarVH110 (۰/۸۷۳) و کمترین مقدار این معیار در جایگاه LSCV36 (۰/۰۶۹) بود. بیشترین و کمترین مقدار شاخص شانون به ترتیب برای جایگاه OarVH110 (۰/۲۱) و LSCV36 (۰/۱۴۷) برآورد شد. با توجه به نتایج، جایگاه‌های ریزماهواره مورداستفاده از چندشکلی بالایی در جمعیت گوسفند بلوچی بخوردار بودند و می‌توان از چندشکلی بالایی آنها در مطالعات بعدی، به ویژه برای یافتن جایگاه‌های صفات کمی استفاده نمود. وجود آلل‌ها و دامنه آللی جدید در این نژاد حاکی از تفاوت ساختار جمعیتی آنها در مقایسه با گوسفندان نژادهای خارجی است.

واژه‌های کلیدی: گوسفند بلوچی، تنوع ژنتیکی، نشانگرهای ریزماهواره

در مطالعه‌ای از ۱۸ جایگاه ریزماهواره بر روی ۶ نژاد گوسفند بومی اسپانیا استفاده گردید. بالاترین تنوع در نژاد مرینو و کمترین آلل در نژاد لاتوكسا مشاهده شد. بالاترین تنوع آللی در TGLA13، MAF70 و کمترین آن در ADCYC، Oarcp34، Oarecp34 محققین در پژوهشی دیگر با استفاده از ۱۰ جایگاه ریزماهواره به بررسی بر روی نژاد کوریدال^۱ گوسفند اروگوئه پرداختند. جایگاه‌های دارای چندشکلی بالا، حدوداً بین ۷ تا ۱۵ آلل را نشان می‌دادند. این مطالعه اولین گزارش پلی مورفیسم ریزماهواره‌ها در نژاد کوریدال است (۷).

در پژوهشی در ایران تنوع ژنتیکی در درون و بین پنج جمعیت گوسفند ایرانی (سنگابی، کردی کردستان، کردی خراسان، مهریانی و معانی) با استفاده از شش جفت آغازگر Rizmaهواره‌ها OarCP26، MAF64، McMA26، McMA2 (Rizmaهواره‌ها OarFCB304، OarAE64) مورد بررسی قرار گرفت. تمامی جایگاه‌ها در همه جمعیت‌ها کاملاً چندشکل بودند به جزء جمعیت معانی برای جایگاه McMA2. همچنین بیشترین و کمترین تنوع درون جمعیتی، که برای هر جمعیت به صورت متوسط هتروزایگوستی مورد انتظار همه جایگاه‌ها برآورد گردید، به ترتیب مربوط به جمعیت‌های مهریانی (۰/۰۸۴۷) و کردی خراسان (۰/۰۷۴۴) بود (۸).

مقدمه

یکی از اهداف علم ژنتیک و اصلاح نژاد استفاده از تنوع ژنتیکی و حفظ ذخایر ژنتیکی برای رسیدن به جمعیت‌هایی در آینده است که از جمعیت‌های قبلي برتر باشد، به صورتی که بتوان از آنها میزان تولید و راندمان بیشتری را دریافت کرد و نیازهای انسان را به صورت مطلوب‌تری تأمین نمود. چنین افزایشی در راندمان تولید از طریق انتخاب داخل نژادها یا دور جفتی و آمیخته گری تأمین می‌گردد (۱).

برای انجام مطالعات تنوع ژنتیکی می‌توان از نشانگرهای مولکولی استفاده کرد. این نشانگرها تفاوت در ترتیب نوکلئوتیدی DNA را مشخص نموده و با شناسایی تنوع در سطح DNA تفاوت صحیح ژنتیکی بین دو موجود را مشخص می‌نمایند (۳).

ریزماهواره‌ها به عنوان یک نشانگر ژنتیکی بالارزش با داشتن خصوصیاتی چون توزیع وسیع در اکثر گونه‌های مهره‌داران و پراکنده‌گی یکنواخت در سراسر زنوم و چندشکلی بالا در سال‌های اخیر به طور وسیعی مورداستفاده قرار گرفته‌اند و در تهیه نقشه‌های ژنومی، انگشت‌نگاری DNA، تعیین هویت و تعیین محل بسیاری از ناهنجاری‌های ژنتیکی، مطالعه آثار هم‌خونی و همچنین در آنالیز همبستگی‌ها و درجه تعییرپذیری خصوصیات فردی در درون و بین جمعیت‌ها مفید هستند (۳-۵).

دام از گله شماره ۲ با ۱۵ نشانگر ریزماهواره مورد بررسی قرار گرفتند. ترکیب جنسی این دامها شامل تعداد ۷۰ رأس میش، ۵۵ رأس بره نر و ماده و ۱۵ رأس قوچ بود.

جایگاه‌های مورد مطالعه از کروموزوم‌های متفاوتی از ژنوم گوسفند انتخاب شدند تا امکان پیوستگی بین جایگاه‌ها کاهش یافته و بتوان برآورد مناسبی از تنوع ژنتیکی با توجه به پراکندگی یکسان جایگاه‌ها در کروموزوم‌های مختلف به دست آورد (جدول ۱).

استخراج DNA از نمونه خون‌هایی که در لوله‌های خلاuderar حاوی ماده خدانعقاد Na₂EDTA به صورت فریزشده نگهداری می‌شدند به روش استخراج نمکی بهینه‌سازی شده در آزمایشگاه بیوتکنولوژی موسسه تحقیقات علوم دامی کشور انجام گرفت (۱۲). اجزاء واکنش PCR شامل بافر dNTPs با غلظت ۱X، آغازگرها هر کدام با غلظت μM ۰/۲۵، ۰/۵ ng/reaction با غلظت Taq DNA با غلظت ۰/۵ μM MgCl₂ و آنزیم ۱۵۰ ng/reaction انتخاب شد که حجم نهایی واکنش به کمک آب مقطر به ۱۵ μl رسید. غلظت MgCl₂ و دمای اتصال آغازگر (Annealing) برای هر آغازگر بهینه‌سازی شد.

برای انجام واکنش PCR از دستگاه ترموسایکلر Biometra(T-Gradient) استفاده گردید. برنامه دمایی مورد استفاده برای جایگاه McM214 مطابق با برنامه مرجع و Touch down در نظر گرفته شد (۱۳). برنامه دمایی بقیه جایگاه‌ها به صورت زیر انجام شد:

در مطالعه‌ای دیگر تنوع ژنتیکی در گوسفند بلوچی با استفاده از ۷ جایگاه ریزماهواره مورد بررسی قرار گرفت. جایگاه‌های مورد مطالعه بین ۴ تا ۷ آل و به طور متوسط ۵/۵ آل را نشان دادند. شاخص اطلاعات چند شکل (PIC) در این مطالعه به طور متوسط ۰/۶۵ بروآورد شد. نتایج این تحقیق نشان داد که جمعیت مورد مطالعه از تنوع ژنتیکی خوبی برخوردار است (۹).

علاوه‌بر موارد فوق، مطالعات دیگری نیز در زمینه بررسی تنوع آللی ژن‌های مؤثر در صفات عملکردی گوسفندان بومی انجام شده است (۱۰، ۱۱). لذا با توجه به اهمیت نژادهای بومی و مطالعه بر روی آنها، گوسفند بلوچی به عنوان پرجمعیت‌ترین نژاد گوسفند ایرانی، انتخاب گردید. در این تحقیق چندشکلی ۱۵ جایگاه ریزماهواره به منظور شناسایی جایگاه‌های مناسب و همچنین تنوع ژنتیکی، در یک جمعیت از گوسفندان بلوچی مورد بررسی و آنالیز قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

در ایستگاه پرورش گوسفند بلوچی عباس آباد مشهد دو گله به طور مجزا نگهداری می‌شوند، که به منظور کاهش هم‌خونی جایه‌جایی قوچ بین این دو گله و یا ورود قوچ از روستاها نیز اتفاق می‌افتد. به منظور بررسی عملکرد برنامه اصلاح نژادی و تلاقی گری، گوسفندان یکی از گله‌ها به طور تصادفی انتخاب شدند. برای اینکه بتوان از نظر آماری اطلاعات دقیقی از وضعیت تنوع ژنتیکی در این گله و همچنین چندشکلی نشانگوها بدست آورده، تعداد ۱۴۰ رأس

جدول ۱- شماره کروموزوم، دمای اتصال و محدوده باند جایگاه‌های ریزماهواره ای مورد مطالعه در گوسفندان بلوچی

Table 1. Microsatellite chromosome number, annealing temp (°C) and size range in Baluchi Sheep

نام جایگاه	شماره کروموزوم	دماه اتصال(سانتی گراد)		محدوده طول باند مشاهده شده (bp)
		اعلام شده	بهینه شده	
BM737	۲۴	۵۴	۵۵	۱۲۶-۱۴۴
BM1815	۲۰	۵۵	۵۵	۱۴۶-۱۷۴
BMS332	نامعلوم	۵۷	۵۷	۱۴۶-۱۷۲
BMS995	۱۳	۵۸	۵۹	۱۲۸-۱۶۴
BMS2721	۷	۵۷	۵۸	۱۵۲-۱۸۲
KD101	۸	۵۵	۵۵	۱۵۳-۱۸۷
LSCV36	۱۱	۵۴	۵۵	۱۱۵-۱۵۹
LSCV38	۱۲	۵۴	۵۴	باند مشاهده نشد
McM63	۹	۵۵	۵۴	۱۳۰-۱۸۰
McM139	۷	۵۵	--	باند مشاهده نشد
McM214	۶	۵۵	۵۵	۷۵-۱۰۵
McMA1	۲۳	۵۲	۵۴	۱۴۰-۱۶۸
McMA10	۹	۵۲	۵۴	۹۴-۱۳۴
OarVH110	۲۱	۵۵	۵۵	۱۱۶-۱۶۰
TGLA231	۱۷	۶۰	۶۰	۱۱۰-۱۵۶

(Shannon) به عنوان معیارهای بررسی تنوع ژنتیکی به کمک نرم افزارهای POPGENE و HET برآورد شدند.^(۱۵,۱۴)

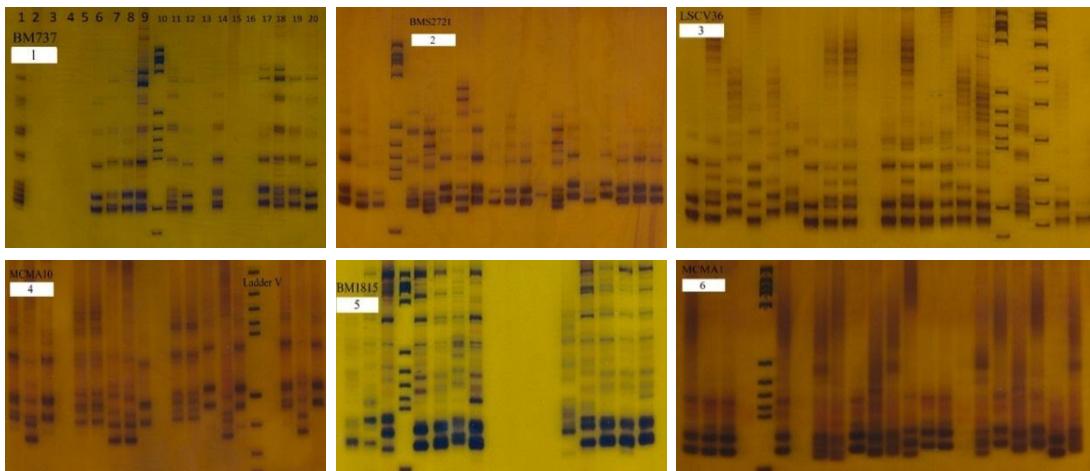
نتایج و بحث

کلیه جایگاههای ریزماهواره به جز دو جایگاه چندشکلی بالایی را نشان دادند. جایگاه McM139 به هیچ کدام از شرایط بهینه سازی صورت گرفته در حین واکنش جواب نداده و تکثیری انجام نگرفت که علت احتمالی آن می تواند نقص در ساخت آغازگرها و یا جهش های احتمالی در محل اتصال آغازگرها در جمعیت مورد مطالعه باشد که مورد بررسی قرار نگرفت. همچنین، جایگاه LSCV38 به علت عدم وجود خوبی تکثیر و مورد آنالیز قرار گرفتند (شکل ۱).

- ۱- پیش و اسرشته سازی^۱ (۹۵ درجه سانتی گراد، ۴ دقیقه)
- ۲- و اسرشته سازی^۲ (۹۵ درجه سانتی گراد، ۳۰ ثانیه)
- ۳- اتصال آغازگر^۳ (دما متغیر، جدول ۱، ۳۰ ثانیه)
- ۴- گسترش^۴ (۷۲ درجه سانتی گراد، ۳۰ ثانیه)
- ۵- گسترش نهایی^۵ (۷۲ درجه سانتی گراد، ۵ دقیقه) مراحل ۲ تا ۴ با ۳۵ تکرار انجام گرفت.

به علت تفاوت خیلی کم فواصل آل های ریزماهواره و امکان تظاهر این تفاوت ها، سیستم الکتروفوروز عمودی و ژل پلی اکریلامید ۰.۸٪ استفاده شد. سپس ژل ها به روش قلبایی نیترات نقره سریع رنگ آمیزی شده و کلیه باندها به کمک نشانگر اندازه شماره V و VIII شرکت Roche با استفاده از نرم افزار Excel برای تبدیل سانتی متر به جفت باز اندازه گیری شدند.

جایگاههای مورد مطالعه از لحاظ تعادل هاردی- واینبرگ به کمک دو آزمون کای اسکوئر (χ^۲) و نسبت درست نمایی (G2) مورد آزمون قرار گرفتند. همچنین، تعداد آل های واقعی و مؤثر، مقادیر هتروزایگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار، محتوای اطلاعات چندشکل PIC^۳ و شاخص اطلاعات شانون



شکل ۱- الگوی باندی در جایگاههای ۱.BM737, ۲.BMS2721, ۳.LSCV36, ۴.MCMA10, ۵.BM1815, ۶.MCMA1

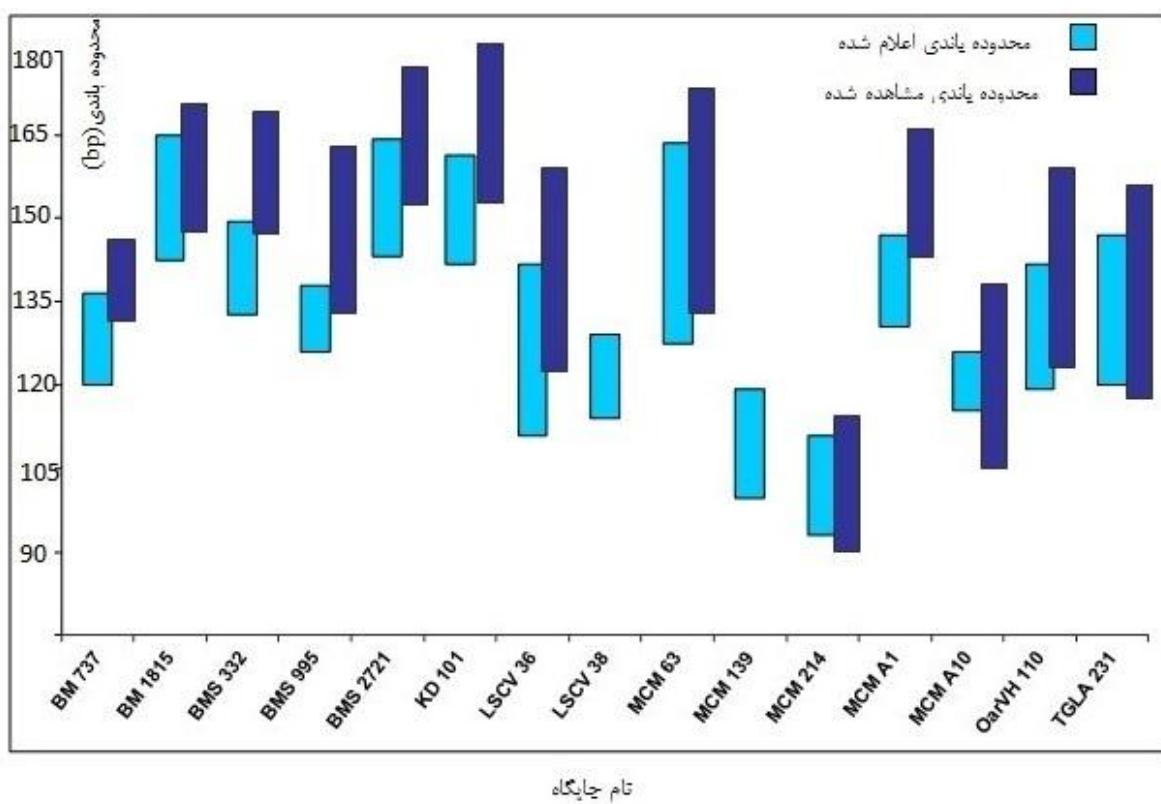
Figure 1. Samples band size in microsatellite loci 1.BM737, 2.BMS2721, 3.LSCV36, 4.MCMA10,

5.BM1815, 6.MCMA1

و سیع ترین دامنه آللی در جایگاههای مورد مطالعه در جایگاه McM63 (۱۶۸-۱۲۰ bp) و تعداد ۱۴ آلل گزارش شد (۱۸). در این مطالعه نیز وسیع ترین دامنه آللی در همین جایگاه در ۱۸۰-۱۳۰ bp و تعداد ۱۲ آلل که ۶ آلل آن جدید است، مشاهده شد و محدود ترین دامنه آللی در جایگاه MCMA10 (۱۱۸-۱۰۴ bp) و تعداد ۸ آلل توسط Hulme و همکاران گزارش شد، اما در این مطالعه محدود ترین دامنه آللی در جایگاه BM737 (۱۲۶-۱۴۴ bp) مشاهده شد (۱۳). Stone و BM1815، BM737 همکارانش (۱۹۹۵) برای جایگاههایی LSCV36 ۶ آلل را گزارش کردند (۲۰، ۱۹). در پژوهشی برای جایگاه LSCV36 تعداد ۸ آلل و برای جایگاه BMS995 ۶ آلل را مطالعه حاضر تعداد ۷ آلل مشاهده شد (۲۱).

برای بررسی میزان انحراف از تعادل هاردی- واینبرگ از هر دو آزمون استفاده شد و نتایج آنها در سطح احتمال ۵ درصد یکسان بود. نتایج نشان داد که هیچ کدام از جایگاهها در هیچ یک از آزمون ها انحرافی از این تعادل نشان ندادند ($p > 0.05$). این نتایج با مطالعه دیگری که بر روی گوسفند بلوچی انجام گرفت، همخوانی دارد (۱۷).

بیشترین تعداد آلل واقعی در جایگاه McM63 به تعداد ۱۲ آلل و کمترین آلل در جایگاههای BMS332، BM737، MCMA10 به تعداد ۶ آلل مشاهده شد. همچنین، بیشترین تعداد آلل مؤثر در جایگاه OarVH110 با ۸/۶۶ و کمترین آن در جایگاه LSCV36 با ۲/۵۱ آلل محاسبه شد. در نمودار ۱ محدوده باندی (bp) اعلام شده در مقالات مرجع که حاصل مطالعه بر روی نژادهای خارجی است با مقادیر مشاهده شده در این مطالعه مقایسه شده که در کلیه جایگاهها محدوده باندی مشاهده شده بزرگ تر است.



نمودار ۱- مقایسه دامنه طول باندهای مشاهده شده در گوسفند بلوچی با مقادیر اعلام شده در منابع مرجع
Figure 2. Allele range comparison between Baluchi sheep and source references

مقادیر هتروزایگوستی مشاهده شده (H_0) و موردنظر مطابعه با (H_e) در هر جایگاه به عنوان معیاری از تنوع درون جمعیتی به همراه میانگین و انحراف معیار آن محاسبه گردید (جدول ۲). هتروزایگوستی بالای جایگاه‌های مورد مطالعه در جمعیت گوسفند بلوچی حاکی از حفظ تنوع بالای درون جمعیتی علی‌رغم کارهای اصلاح نژادی صورت گرفته بر روی این گله است.

در یک تحقیق Davies و همکاران برای جایگاه KD101 هتروزایگوستی ۸۶٪ با ۱۱ آلل را گزارش کردند که در این مطالعه که بر روی گوسفند بلوچی انجام گرفته، این جایگاه در کلیه جایگاه‌ها، تعداد آلل و مقدار هتروزایگوستی به دست آمده در بین این دو مطالعه متفاوت بود (۲۳).

محدوده باندی مشاهده شده در جایگاه‌های مورد مطالعه با محدوده باندی گزارش شده در مقالات مرجع مقایسه شده و تفاوت‌هایی را نشان می‌دهد. (نمودار ۱) محدوده باندی مشاهده شده در کلیه جایگاه‌ها بزرگ‌تر است که این به معنای بزرگ‌تر بودن اندازه آلل‌های جایگاه‌های مورد مطالعه در جمعیت گوسفند بلوچی نسبت به نژادهای خارجی است و این نکته می‌تواند تفاوت ساختاری را در بین این نژادها نشان دهد که نیازمند تحقیق و بررسی بیشتری است.

در مطالعه دیگری بر روی گوسفند برای جایگاه McMA1 تعداد ۱۲ آلل با دامنه (۱۲۴-۱۴۶ bp) گزارش شده، در حالی که در مطالعه حاضر برای این جایگاه تعداد ۸ آلل با محدود (۱۴۰-۱۶۸ bp) گردید (۲۲).

جدول ۲- تعداد آلل‌های واقعی و مؤثر، هتروزایگوستی مشاهده شده و مورد انتظار، PIC و شاخص شanon در گوسفند بلوجی
Table 2. Number of real and effective alleles, observed and expected heterozygosity, Polymorphism Information Content (PIC) and Shannon index of Baluchi sheep

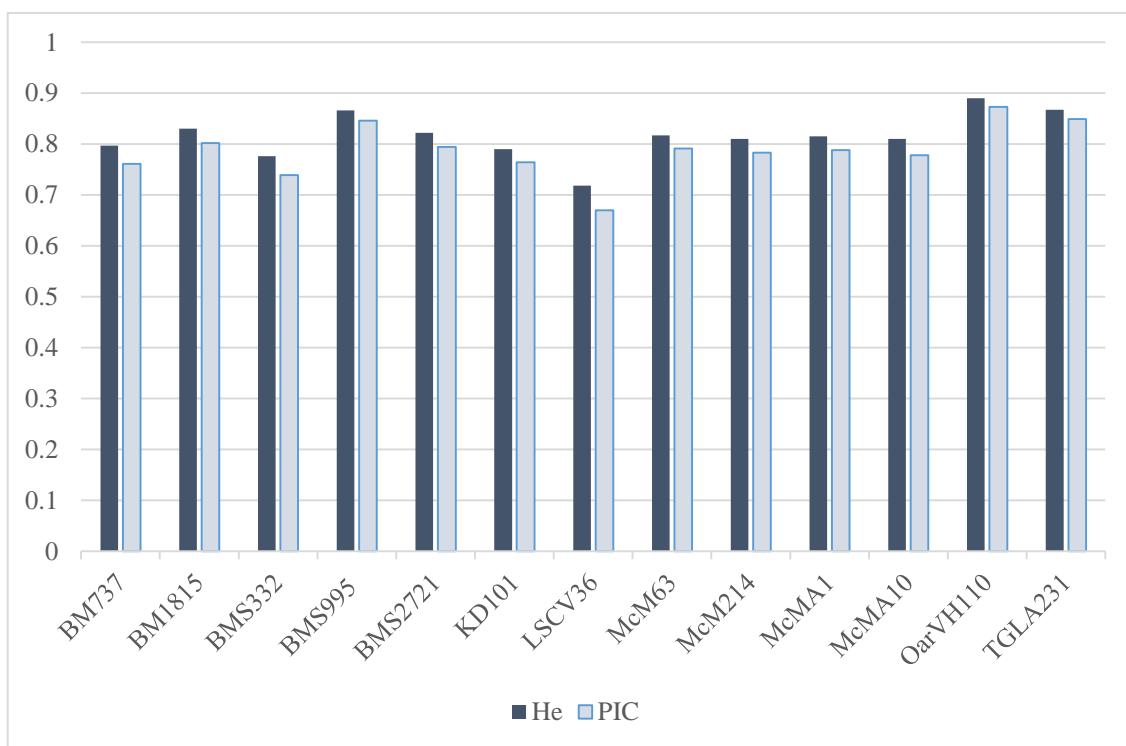
نام جایگاه	تعداد آلل		هتروزایگوستی		PIC	شاخص اطلاعات Shannon
	n	n_e	H_o	H_e		
BM737	۶	۴/۸۳	۰/۹۸۸	۰/۷۹۷	۰/۷۶۱	۱/۶۵
BM1815	۹	۵/۷۲	۰/۹۸۸	۰/۸۳۰	۰/۸۰۲	۱/۸۶
BMS332	۶	۴/۳۹	۰/۶۵۶	۰/۷۷۶	۰/۷۳۹	۱/۶
BMS995	۹	۷/۲۳	۰/۶۵۵	۰/۸۶۶	۰/۸۴۶	۲/۰۷
BMS2721	۹	۵/۵	۰/۸۸۹	۰/۸۲۲	۰/۷۹۴	۱/۸۴
KD101	۹	۴/۷۱	۰/۹۸۵	۰/۷۹۰	۰/۷۶۴	۱/۸۳
LSCV36	۷	۳/۵۱	۰/۹۷۰	۰/۷۱۸	۰/۶۷۰	۱/۴۷
McM63	۱۲	۵/۳۵	۰/۸۷۳	۰/۸۱۷	۰/۷۹۱	۱/۹۸
McM214	۸	۵/۱۸	۰/۹۰۲	۰/۸۱۰	۰/۷۸۳	۱/۸۳
McMA1	۸	۵/۳۱	۰/۸۳۶	۰/۸۱۵	۰/۷۸۸	۱/۸۱
McMA10	۶	۵/۱۷	۰/۹۸۲	۰/۸۱۰	۰/۷۷۸	۱/۷
OarVH110	۱۰	۸/۶۶	۱/۰۰	۰/۸۹۰	۰/۸۷۳	۲/۲۱
TGLA231	۱۰	۷/۳۵	۰/۹۶۰	۰/۸۶۷	۰/۸۴۹	۲/۱
میانگین	۸/۳۸	۵/۶۱	۰/۹۰	۰/۸۱۶	۰/۷۸۷	۱/۸۴
انحراف معیار	۱/۸۰	۱/۳۸	۰/۱۲۰	۰/۰۴۳	۰/۲۱	

تعداد آلل‌های واقعی (n)، آلهای مؤثر (n_e)، هتروزایگوستی مشاهده شده (Ho)، هتروزایگوستی مورد انتظار (He)

در پژوهشی بر روی گوسفند مرینوس برای جایگاه‌های McMA10McMA1، KD101، OarVH110 و ۰/۸۳۰، ۰/۸۷۰ گزارش شد که از مقادیر به دست آمده در این مطالعه که به ترتیب ۰/۷۷، ۰/۷۸ و ۰/۷۶ می‌باشدن بالاتر بود (۲۳، ۲۲).

در یک پژوهش بر روی سه گله گوسفند مرینوس در استرالیا، از نشانگر McMA10 برای یافتن یک پانل مارکری برای انجام آزمون‌های تعیین هویت و شجره استفاده شد. محدوده آللی این جایگاه (۱۱۸ bp - ۱۰۴) و مقدار PIC در سه گله ۰/۷۸، ۰/۷۴ و ۰/۶۴ گزارش گردید. در این تحقیق مقادیر بالایی از تعداد آلل و هتروزایگوستی برای این جایگاه به دست آمد که نشان می‌دهد، این جایگاه برای انجام آزمون‌های تعیین والدین مناسب است (۲۴).

محتوا اطلاعاتی پلی‌مورفیک PIC به عنوان یکی دیگر از معیارهای تعیین‌کننده تنوع ژنتیکی با استفاده از فراوانی آلل برای هر جایگاه ریزماهواره به طور جداگانه محاسبه شد (جدول ۲) همان‌طور که نتایج نشان می‌دهد بیشترین مقدار PIC متعلق به جایگاه OarVH110 (۰/۸۷۳) که خود بیشترین آلل را نیز دارد است. مقایسه مقادیر PIC و هتروزایگوستی در هر جایگاه نشان می‌دهد که جایگاه‌های با هتروزایگوستی بالا، PIC بالایی نیز دارند و مقادیر PIC، با توجه به اینکه افراد هتروزایگوتی که همان ژنوتیپ والد خود را به ارث می‌برند در اطلاعات پلی‌مورفیک وارد نمی‌کند، از مقادیر هتروزایگوستی متناظرشان کمتر می‌باشند و هر چه افرادی که ژنوتیپ یابی می‌شوند غیرخوبشانند باشند، تفاوت PIC از هتروزایگوستی کمتر می‌شود (نمودار ۲).



نمودار ۲- مقایسه مقادیر PIC و هتروزایگوستی مورد انتظار برای کلیه جایگاه‌های ریزماهواره
Figure 3. Comparison between PIC and expected heterozygosity values in all microsatellites loci

قرار گرفت. در این مطالعه ۱۴۰ نفر شتر آپاکا با ۶۹ نشانگر ریزماهواره آنالیز شدند. تعداد یازده آل از چهارده آلل مشاهده در جایگاه‌های LCA68 (۲۰۵-۲۰۳-۲۰۱-۱۹۹-۲۰۷) و LCA90 (۱۱۰-۱۱۲) VOLP59 (۱۸۹)، LCA90 (۱۱۰) و VOLP59 (۱۸۹) ارتباط و اثر مثبت (کاهش قطر الیاف) نشان دادند. همچنین، فقط سه آل در جایگاه‌های LCA68 (۱۹۵) و LCA90 (۲۴۹-۲۳۱) اثر منفی (افزایش قطر الیاف) را نشان دادند (۲۵). لذا در صورتی که سیستم پرورش گوسفند در ایران صنعتی شده و رکوردهای صفات اقتصادی مربوط به افزایش وزن، کیفیت لاشه، تولید شیر و ضخامت الیاف ثبت شود، با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره می‌توان نسبت به تعیین ارزش ژنتیکی هر دام اقدام نمود و برنامه‌های اصلاح نژادی و تلاقی گری مناسبی را داخل و بین نژادهای بومی کشور در راستای ارتقاء عملکرد نژادهای بومی کشور تدوین نمود.

تشکر و قدردانی

این تحقیق در بخش بیوتکنولوژی موسسه تحقیقات علوم دامی کشور انجام گرفته و بدین‌وسیله از کلیه اعضاء هیئت‌علمی و کارکنان این موسسه و همچنین از اساتید گروه علوم دامی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج و مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران که هر کدام به نحوی در انجام این تحقیق یاری نمودند، قدردانی به عمل می‌آید.

شاخص اطلاعات شانون به عنوان آخرین معیار جهت برآورد سطح تنوع ژنتیکی مورد استفاده قرار گرفت. با توجه به اینکه مقادیر هتروزایگوستی برای هر تعداد آلل حد نهائی یک را دارا است. به کمک این معیار که شامل مقادیر بالاتر از یک و دو هم می‌شود و حداکثر آن برابر $\ln(n)$ است می‌توان مقایسه بهتری بین جایگاه‌هایی که دارای هتروزایگوستی ۰/۸ یا بالاتر هستند انجام داد. مقادیری که برای شاخص اطلاعات شانون به دست آمد، تفاوت جایگاه‌های با هتروزایگوستی بالا را به خوبی نشان داد.

نتایج جمعیت بیانگر این مطلب است که، جایگاه‌های ریزماهواره مورد استفاده از چندشکلی بالایی در جمعیت گوسفند بلوچی برخوردار هستند و می‌توان از چندشکلی بالای آنها در مطالعات بعدی، بهره‌وری برای یافتن جایگاه‌های صفات کمی استفاده نمود.

همچنین وجود آلل‌ها و دامنه آللی جدید در گوسفند بلوچی و سایر نژادهای گوسفند ایرانی (۸، ۹)، حاکی از تفاوت ساختار ژنتیکی جمعیتی آنها در مقایسه با نژادهای خارجی است. نتایج هتروزایگوستی جایگاه‌هایی مورد مطالعه در جمعیت گوسفند بلوچی، نشان داد که این جمعیت علیرغم به‌گزینی‌های انجام شده برای صفات مختلف، همچنان از تنوع بالایی برای جایگاه‌های ریزماهواره برخوردار است.

در مطالعه‌ای ارتباط نشانگرهای ریزماهواره با صفت ضخامت الیاف پشم شتر آپاکا (ویکوگنا پاکوس) مورد بررسی

منابع

- Ruane, J. 1999. A critical review of the value of genetic distance studies in conservation of animal genetic resources. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 116(5): 317-323.
- Amanlo, H. 2000. *Genetic and Animal Breeding*. Iran: Zanjan University.
- Dodgson, J.B., H.H. Cheng and R. Okimoto. 1997. DNA marker technology: a revolution in animal genetics. *Poultry Science*, 76(8): 1108-1114.
- Schlötterer, C. 2000. Evolutionary dynamics of microsatellite DNA. *Chromosoma*, 109(6): p. 365-371.
- Amoli, A.D., M. Aminafshar, S.A.S. Fazeli, N.E.J. Kashan and K.J. Khaledi. 2017. Isolation and characterization of Microsatellite markers from Endangered Species *Camelus bactrianus*. *Iranian Journal of Applied Animal Science (IJAS)*, 7(4): 693-698.
- Arranz, J., Y. Bayon and F. San Primitivo. 2001. Genetic variation at microsatellite loci in Spanish sheep. *Small Ruminant Research*, 39(1): 3-10.
- Tomasco, I., G. Wlasiuk and E. Lessa. 2002. Evaluation of polymorphism in ten microsatellite loci in Uruguayan sheep flocks. *Genetics and Molecular Biology*, 25(1): 37-41.
- Banabazi, M.H., S. Esmaeilkhani, S.M. Ashtiani and M.M. Shahrabak. 2007. Gentic Variation Within and Between Five Iranian Sheep Populations Using Microsatellite Markers. *JWSS- Isfahan University of Technology*, 10(4): 481-488.
- Dashab, G.R., A. Aslaminejad, M.R. Nasirri, A. Esmailizadeh and D.A. Saghi. 2011. Analysis of genetic diversity and structure of Baluchi Sheep by microsatellite markers. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 14(3).
- Gholizadeh, M. and M. Najafi. 2017. Association of genetic variation in exon 1 and 3 of FSHB gene with litter size in Baluchi Sheep. *rap*, 8(16): 177-182.
- Hosseinzadeh, S. and S.A. Rafat. 2017. Investigation of Relationship between DRB2 Gene Polymorphism and egg number of Marshallagia Marshalli Parasites in Gastrointestinal of Ghezel Sheep Breed. *Research on Animal Production*, 8(16): 152-157.
- Miller, S., D. Dykes and H. Polesky. 1988. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic acids research*, 16(3): 1215.
- Hulme, D., A. Smith, J. Silk, J. Redwin and K. Beh. 1995. Polymorphic sheep microsatellites at the McM2, McM131, McM135, McM136, McM140, McM200, McM214, McM373, McM505, McM507 and McM512 loci. *Animal genetics*, 26(5): 369a-370.
- Ott, J. 1989. Program HET Version 1.10. Utility programs for analysis of genetic linkage. *Rockefeller University*, New York, USA, 20.
- Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, 89(3): 583-590.
- Georges, M. and J.M. Massey. 1992. Polymorphic DNA markers in Bovidae. *World Intellectual Property Organization*.
- Esmaeelkhani, S. and R.V. Torshizi. 2007. Microsatellite variation in one breed of Iranian sheep with 12 markers. *Pakistan journal of biological sciences: PJBS*, 10(24): 4455-4460.
- Nanekarani, S., C. Amrinia, N. Amirmozafari, R.V. Torshizi and A.A. Gharahdaghi. 2010. Genetic variation among pelt sheep population using microsatellite markers. *African Journal of Biotechnology*, 9(44): 7437-7445.
- Bishop, M.D., S.M. Kappes, J.W. Keele, R.T. Stone, S. Sunden, G.A. Hawkins, S.S. Toldo, R. Fries, M.D. Grosz, and J. Yoo. 1994. A genetic linkage map for cattle. *Genetics*, 136(2): 619-639.
- Stone, R., J. Pulido, G. Duyk, S. Kappes, J. Keele and C.W. Beattie. 1995. A small-insert bovine genomic library highly enriched for microsatellite repeat sequences. *Mammalian Genome*, 6(10): p. 714-724.
- Poissant, J., A. Shafer, C. Davis, J. Mainguy, J. Hogg, S. Coté and D. Coltman. 2009. Genome-wide cross-amplification of domestic sheep microsatellites in bighorn sheep and mountain goats. *Molecular Ecology Resources*, 9(4): 1121-1126.
- Maddox, J., C. Riffkin and K. Beh. 2000. Dinucleotide repeat polymorphism at the ovine McM1, McM2, McM4, McM5, McM8, McM9, McM11, McM14, McM20, McM24, McM26 loci. *Animal genetics*, 31(2): 148-148.
- Davies, K. and J. Maddox. 1997. Genetic linkage mapping of three anonymous ovine EST microsatellites: KD101, KD103 and KD721. *Animal genetics*, 28(6): 455-456.
- Al-Atiyat, R.M. 2015. The power of 28 microsatellite markers for parentage testing in sheep. *Electronic Journal of Biotechnology*, 18(2): 116-121.
- Paredes, M., A. Membrillo, J. Gutiérrez, I. Cervantes, P. Azor, R. Morante, A. Alonso-Moraga, A. Molina, and A. Muñoz-Serrano. 2014. Association of microsatellite markers with fiber diameter trait in Peruvian alpacas (*Vicugna pacos*). *Livestock Science*, 161: 6-16.

Investigation of Polymorphism of Some Microsatellite Markers in Baluchi Sheep Population

Abdolreza Daneshvar Amoli¹, Saeid Esmaelkhanian², Mohammad Reza Sanjabi³ and Seyed Ahmad Mirhadi²

1- Ph.D. Human and Animal Cell Bank, Iranian Biological Resource Center (IBRC), Academic Center for Education, Culture and Research (ACECR), Tehran, Iran

2- Associate Professor, Department of Animal Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran

3- Assistant Professor, Department of Animal, Poultry & Aquatic Sciences, Iranian Research Organization for Science and Technology, Tehran, Iran

Received: October 25, 2016 Accepted: June 2, 2019

Abstract

Due to the importance of conservation and preserving indigenous breeds, Baluchi sheep as the most populous breed of Iranian sheep with reliable pedigree was selected. In this study genetic variations were analyzed with 15 microsatellites markers (BM737, BM1815, BMS332, BMS995, BMS2721, KD101, LSCV36, LSCV38, McM63, McM139, McM214, McMA1, McMA10, OarVH110, TGLA231) in a population of Baluchi sheep. Whole blood samples were randomly collected from 140 sheep at Abbas Abad Breeding Station (Mashhad). After PCR reactions, McM139 locus wasn't amplified and LSCV38 locus was ignored for many null Alleles. Thirteen microsatellites loci were %100 polymorphic. Number of alleles, observed and expected heterozygosity, polymorphic information content (PIC) and Shannon index were calculated. Highest and lowest allele numbers was observed in OarVH110 locus with 12 alleles and 6 alleles in BM737, BMS332, McMA10, respectively. Effective number of allele was between 3.51 (LSCV36) to 8.66 (OarVH110). The highest and the lowest heterozygosity belonged to 0.89 (OarVH110) and 0.71 (LSCV36), respectively. OarVH110 locus indicated the highest PIC (0.873) and LSCV36 locus indicated the lowest PIC (0.669). The highest and lowest Shannon index were belonged to 2.21 (OarVH110) and 0.66 (LSCV36), respectively. These results verify high efficiency of microsatellites marker for screening of population's structure in Iranian native sheep and in future study for QTL mapping. So, presence of new alleles and allele range indicates difference between Baluchi sheep population structure with foreign Sheep breeds.

Keywords: Baluchi Sheep, Genetic Variation, Microsatellite Marker