

بررسی چند شکلی ۳۰ نشانگر ریزماهوره در بز مرخز

سجاد بادبرین^۱، رضا سید شریفی^۲، حسن خمیس آبادی^۱، جواد احمد پناه^۱

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. badbarin1688@yahoo.com

۲- عضو هیات علمی، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی. اردبیل. ایران.

تاریخ دریافت: ۹۸/۹/۱۵ تاریخ پذیرش: ۹۹/۹/۳۰

چکیده

زمینه و هدف: استفاده از نشانگرهای مولکولی و به ویژه نشانگرهای ریزماهوره به دلیل ویژگی‌های برتر آن‌ها اطلاعات بسیار ارزشمندی از ساختار ژنتیکی موجود مورد مطالعه را فراهم می‌کند. این اطلاعات می‌تواند جهت حفاظت از موجود در خطر انقراض و یا بررسی مکان ژن‌های تاثیر گذار بر صفات کمی (QTL) مورد استفاده قرار گیرد. هدف از این پژوهش تأکید بر اهمیت نشانگرهای ریزماهوره برای مطالعات تنوع ژنتیکی در بز مرخز و استفاده از آن‌ها در استراتژی‌های حفاظت است.

روش کار: در این مطالعه از ۲۴۰ بز مرخز در استان کردستان به صورت تصادفی خونگیری شد. استخراج DNA از نمونه خون کامل و به روش نمکی انجام گرفت. سپس با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) تنوع ژنتیکی ۳۰ نشانگر ریزماهوره مورد بررسی قرار گرفت. آلل‌های هر فرد با استفاده از روش رنگ آمیزی نیترات نقره نمایان شد. پارامترهای ژنتیکی مربوط به ساختار ژنتیکی بز مرخز با استفاده از نرم افزار POPGENE محاسبه شد.

یافته‌ها: به جز نشانگر INRA040، تمام نشانگرهای استفاده شده به خوبی تکثیر شدند. از میان نشانگرهای تکثیر شده، نشانگر MCM136 چند شکلی پایینی نشان داد اما دیگر نشانگرها چندشکلی بالایی داشتند. نشانگرهای ILSTS030 با آلل ۶ و نشانگر MCM136 با آلل ۳ به ترتیب بیشترین و کمترین تعداد آلل را تولید کردند. نشانگر ILSTS030 (۰/۷۵۰۴) بیشترین و نشانگر MCM136 (۰/۱۵۸) کمترین میزان هتروزیگوسیتی مورد انتظار را نشان دادند.

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد نشانگرهای ریزماهوره ابزاری مفید و قابل اعتماد برای شناسایی نژادهای بز است و استفاده از آن‌ها می‌تواند راه حلی برای حفاظت از نژادهای در خطر انقراض باشد.

واژه‌های کلیدی: بز مرخز، ساختار ژنتیکی، نشانگرهای ریزماهوره.

مقدمه

ژنتیکی (تنوع و چندشکلی آلل‌ها و ژنوتیپ‌های موجود در یک جمعیت) زمینه لازم را برای فرآیندهای سازگاری و تکامل جمعیت‌ها با شرایط ناسازگار محیطی فراهم می‌کند. حفظ تنوع ژنتیکی دام‌های بومی، نکته کلیدی برای بقای طولانی مدت اکثر گونه‌هاست و این حفاظت باید بر اساس اطلاعات جامع مربوط به ساختار ژنتیکی جمعیت‌ها، انجام شود (۱۹). در میان حیوانات اهلی که برای تهیه غذا استفاده می‌شوند، گوسفند و بز اولین حیواناتی هستند که به دست انسان‌ها اهلی شده‌اند. بزها اصولاً کم توقع بوده

حیوانات اهلی سهم بسیار مهمی در تامین غذا و منابع پروتئینی انسان‌ها دارند. هم چنین حدود ۳۰ تا ۴۰ درصد از ارزش اقتصادی بخش کشاورزی جهان را تامین می‌کنند. با این وجود بسیاری از این منابع ژنتیکی در حال فرسایش هستند. بنابر گزارش سازمان خواربار و کشاورزی ملل متحد (FAO) منابع ژنتیکی حیوانات اهلی در جهان به سرعت در حال کاهش و انقراض هستند. از این رو لازم است مکانیزمی فوری برای حفظ و حراست از منابع ژنتیکی و استفاده پایدار از آن‌ها به ویژه در کشورهای در حال توسعه طراحی و اجرا شود (۱۰). تنوع

و در مقابل محصولات متنوعی تولید می‌کنند، بنابراین یکی از مناسب‌ترین دام‌های اهلی هستند که می‌توانند از مراتع و پس چرهای زراعی تغذیه نموده و پروتئین حیوانی تولید کنند (۱۶). بعضی از دانشمندان معتقدند که آریایی‌ها ابتدا به اهلی کردن بز پرداخته و استان کردستان مهد پرورش بز بوده است. صنعت پرورش گوسفند و بز در اقتصاد ملی کشور نقش قابل ملاحظه‌ای دارد، به طوری که بخش عمده‌ای از تولیدات گوشت قرمز، شیر و پشم از این صنعت تأمین می‌شود اما این حرفه در کشور به دلایل مختلف در مسیر غیر اقتصادی شدن و حذف تدریجی از چرخه تولید قرار گرفته است. اهمیت پرورش بز در ایران در درجه اول به خاطر تولید گوشت و در درجه دوم شیر می‌باشد، اما بزهای دنیا ابتدا از نظر تولید شیر و سپس تولید گوشت و مو اهمیت دارند. از مهم‌ترین نژادهای صوفی در دنیا می‌توان نژادهای آنقوره و کشمیر را نام برد. بز مرخز (آنقوره ایرانی) یکی از ذخایر ژنتیکی با ارزش کشور است که در مناطق غرب کشور و بیشتر در استان کردستان پرورش داده می‌شوند. تولید ۹۰ لیتر شیر در یک دوره شیردهی، ۹۵ درصد باروری، ۲۶ درصد دوقلو زایی، ۸۰ درصد راندمان تولید الیاف، ۱۴ سانتی متر میانگین طول تار الیاف و ۲۷ میکرون میانگین قطر تار الیاف از خصوصیات این نژاد است (۱). روش معمول و اصلی بهبود ژنتیکی دام‌ها با استفاده از علم اصلاح نژاد بر اساس تعیین اهداف اصلاح نژاد و شناسایی دقیق حیوانات برتر از نظر ژنتیکی با استفاده از مدل دام برای تولید نسل بعد می‌باشد. در مدل دام با استفاده از منابع اطلاعاتی خود دام و خویشاوندانش ارزش ارثی آن دام تخمین زده می‌شود (۱۲). شناسایی پتانسیل‌های ژنتیکی، اصلاح درون نژادی بزها و انتقال دستاوردهای اصلاحی حاصل به گله‌های بومی از طریق توزیع بزهای اصلاح شده، همگی عواملی هستند که می‌تواند سبب ایجاد یک

تحول بزرگ در بخش پرورش و نگهداری بز شود. بهبود ژنتیکی دام‌ها از طریق اصلاح نژاد، بر انتخاب افراد برتر متمرکز شده است. توسعه روش‌های آماری موجب افزایش دقت انتخاب افراد برتر برای تشکیل نسل بعد و متعاقب آن افزایش کمی و کیفی تولیدات دامی شده است. با وجود این که، اطلاعات موجود در مورد ساختار و عملکرد ژنوم می‌تواند در برنامه‌های اصلاح نژادی مختلف مورد استفاده قرار گیرد اما به دلیل کمی بودن صفات مهم اقتصادی و کنترل آن‌ها به وسیله چندین ژن و تاثیر شدید عوامل محیطی روی آن‌ها، مطالعه ژنتیکی صفات کمی بسیار مشکل است. در صورتی که بتوان با اعمال روش‌های مناسب، تعداد ژن‌ها، جایگاه ژنومی و سهم هر یک از آن‌ها را در کنترل تنوع فنوتیپی این صفات مشخص نمود، شاید بتوان همانند صفات تک ژنی به اصلاح این صفات پرداخت. مکان‌های ژنی صفات کمی (QTL) ناحیه‌های از ژنوم هستند که بخشی از واریانس فنوتیپی صفات کمی مشاهده شده را توجیه کند (۱۱). برای جستجوی QTL ابتدا باید ژنوتیپ افراد مورد بررسی از نظر تعداد زیادی نشانگر ژنتیکی تعیین شده و نقشه پیوستگی ژنتیکی این جمعیت‌ها تهیه و در خاتمه از روش‌های آماری مناسب برای ارتباط دادن بین ارزش‌های فنوتیپی و ژنوتیپی افراد جمعیت استفاده شود. استفاده از این روش اصلاح نژادی (انتخاب به کمک نشانگر) می‌تواند منجر به افزایش صحت انتخاب به دلیل وارد کردن اطلاعات بیشتر در معادله انتخاب شود. اولین قدم برای استفاده از این تکنولوژی تعیین ژنوتیپ حیوانات مورد مطالعه بر اساس نشانگرهای ژنتیکی می‌باشد. نشانگرهای ریزماهواره شامل مناطق تکراری از ژنوم هستند که به طور پشت سر هم تکرار می‌شوند. طول این واحدهای تکراری بین ۲ تا ۴ جفت باز است که به تعداد ۵ تا ۲۰ مرتبه تکرار می‌شوند. از آن جا که تعداد این واحدهای تکرار شونده بین افراد

تکاملی جمعیت‌های مختلف آن در هر منطقه متفاوت است. این پدیده احتمالاً به دلیل سازگاری با شرایط مختلف محیطی موجود در منطقه پراکنش آن‌ها باشد. در این جمعیت نتایج به دست آمده از نشانگرهای ریزماهواره با نتایج حاصل از داده‌های مورفولوژیکی تطابق داشت. هم چنین داده‌های ژنتیکی در این تحقیق نشان داد که نژادهای با شباهت فنوتیپی بیشتر، شباهت ژنتیکی بیشتری نیز داشتند. هم چنین دو جمعیت کاناری و گومرا اختلاف زیادی از نظر ژنتیکی نداشتند و نمی‌توان آن‌ها را جمعیت‌های جدا از هم دانست بلکه باید آن‌ها را متعلق به یک نژاد در نظر گرفت. در مجموع پیشنهاد شد که استفاده از نشانگرهای ریزماهواره یکی از روش‌های کارآمد در بررسی ساختار ژنتیکی بزها می‌باشد (۱۵). در تحقیقی با استفاده از ۱۵ نشانگر ریزماهواره ساختار ژنتیکی و روابط فیلوژنتیک شش نژاد بز در کشور چین بررسی شد. در مجموع ۱۷۲ آلل در ۳۴۷ نمونه از نژادهای بز شیری مورد مطالعه شناسایی شد. میانگین تعداد آلل‌های موثر ۴/۹۲ آلل به دست آمد. نتایج این تحقیق نشان داد که یک رابطه ژنتیکی نزدیک بین بزهای وندنگ و لائوشان و هم چنین گوانگژونگ و زینونگ وجود دارد. این نزدیکی ژنتیکی با تاریخ شکل‌گیری و توزیع جغرافیایی این نژادها مطابقت داشت. این تحقیق نشان داد که اتخاذ استراتژی‌های مدیریت ژنتیکی مانند انتخاب افراد با رابطه ژنتیکی کمتر و انتخاب چند صفتی، در حفظ تنوع ژنتیکی نژادهای بومی چین مفید بوده است. در مجموع نتایج این تحقیق نشان داد که نژادهای بزهای شیری بومی در کشور چین دارای تنوع ژنتیکی بالایی هستند (۲۱). لذا پژوهش حاضر با هدف بررسی میزان تنوع ژنتیکی بزهای مرخز استان کردستان با استفاده از ۳۰ نشانگر ریزماهواره صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

موجود در یک جمعیت متفاوت است، تعداد زیادی آلل در آن جمعیت مشخص ایجاد می‌شود. نشانگرهای ریزماهواره به دلیل چندشکلی بالا، هم بارز بودن، مکان کروموزومی مشخص، قرار گرفتن در نواحی نا رمزگر ژنوم، سادگی و هزینه نسبتاً پایین، کاربرد بسیار زیادی در تهیه نقشه‌های پیوستگی پیدا کرده‌اند (۸). با توجه به این که مهم ترین قدم به منظور مکان‌یابی QTLها، تعیین ژنوتیپ افراد مورد بررسی با استفاده از نشانگرهای ژنتیکی می‌باشد، بنابراین این نشانگرها اطلاعات بسیار با ارزشی در اختیار متخصص مربوطه قرار داده و در صورت شناخت اولیه از نحوه تکثیر آن‌ها و برآورد پارامترهای مربوطه، مکان‌یابی QTL با سهولت بیشتری انجام خواهد گرفت. تاکنون چندین تحقیق با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره روی بزهای کشور انجام گرفته است. هر چند تعداد نشانگرهای بررسی شده در این تحقیقات محدود بوده است، اما بیشتر آن‌ها نشان دهنده سطح بالای تنوع ژنتیکی در میان بزهای بومی کشور است. تحقیقی که با هدف بررسی چند شکلی هشت نشانگر ریزماهواره روی بزهای نژاد رائینی انجام گرفت، نشان داد که تنوع ژنتیکی نسبتاً بالا برای جایگاه‌های بررسی شده وجود داشت (۳). هم چنین هتروزیگوسیتی محاسبه شده برای بزهای سرخ جبال بارز با استفاده از هشت نشانگر ریزماهواره نشان دهنده سطح نسبتاً بالا تنوع ژنتیکی در این جمعیت بود (۴). در نژادهای خارجی نیز تحقیقات بسیار زیادی روی محاسبه تنوع ژنتیکی بزها با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره انجام گرفته است. از جمله این تحقیقات می‌توان به بررسی تنوع ژنتیکی ۳۹۳ بز بومی کاناری در کشور اسپانیا به وسیله ۲۷ نشانگر ریزماهواره اشاره نمودند. در آن تحقیق میانگین تعداد آلل به ازای هر نشانگر برابر با ۵/۹۱ آلل و تنوع ژنتیکی در فاصله ۰/۲۹ تا ۰/۸۴ محاسبه شد. ایشان بیان کردند که ساختار ژنتیکی جمعیت بز کاناری پیچیده بوده و مسیر

BASE =goat انتخاب گردید. تمام نمونه های گرفته شده برای ۳۰ نشانگر ریزماهواره تعیین ژنوتیپ شدند (جدول ۱). جفت آغازگرهای لازم برای تکثیر جایگاه های مزبور از شرکت Generay Biotech خریداری شدند. با استفاده از دستگاه ترموسایکلر Biometra ساخت کشور آلمان مراحل چرخه ای تکثیر DNA انجام گرفت. چرخه های واکنش PCR شامل واسرشته سازی اولیه به مدت ۵ دقیقه (۹۵ درجه سانتی گراد)، مراحل چرخه ای در ۳۰ مرحله شامل واسرشته سازی به مدت ۳۰ ثانیه (۹۴ درجه سانتی گراد)، اتصال به مدت ۴۰ ثانیه در دمای اتصال مخصوص هر نشانگر و بسط به مدت ۶۰ ثانیه (۷۲ درجه سانتی گراد) و هم چنین بسط نهایی به مدت ۵ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد انجام گرفت. با در نظر گرفتن اندازه آلل ها و قدرت تفکیک ژل های پلی اکریل آمید مختلف، از ژل پلی اکریل آمید ۶ درصد برای تفکیک آلل های مورد نظر استفاده و با استفاده از روش رنگ آمیزی قلیایی سریع باندها نمایان شد (۶). باندها با استفاده از نشانگرهای اندازه PUC MIX MARKER 8 به عنوان معیار، اندازه گیری شد (Thermo Scientific SM0303). پس از عکس برداری، تصویر ژل ها در کامپیوتر ذخیره و سپس با استفاده از نرم افزار Gel-Pro Analyzer 4.0 اندازه باندها تعیین شد (Media Cybernetics, Silver Spring, MD, USA). در نرم افزار Gelpro دو نقطه هم سطح در دو سمت ژل تعریف شده و بر اساس اندازه های فوق تعداد آلل ها و ژنوتیپ دام مورد نظر مشخص گردید. الگوهای نواری بر اساس وجود و یا عدم وجود باندها امتیازدهی شد. از آن جا که ریزماهواره ها توارث هم بارز دارند، هموزیگوت و هتروزیگوت بودن هر فرد با توجه به مشاهده یک یا دو باند مشخص گردید. آماره های که ساختار ژنتیکی بز مرخز برای جایگاه های مورد مطالعه را نشان می دهند عبارتند از

اندازه نمونه یکی از عوامل مهم تأثیرگذار بر دقت برآورد پارامترهای تنوع ژنتیکی جمعیت است. اندازه های کوچک نمونه اغلب منجر به خطاهای قابل توجهی مخصوصاً در مورد تعداد آلل های موثر و هتروزیگوسیتی مورد انتظار دارد. از آن جا که این پارامترها، پارامترهای بسیار مهمی جهت برآورد تنوع ژنتیکی یک جمعیت است، بنابراین جمعیت تا حدودی بزرگ باشد تا صحت برآوردها بیشتر باشد. بنابراین با توجه به امکانات موجود تعداد ۲۴۰ بز مرخز در استان کردستان و به صورت تصادفی و حتی الامکان غیرخویشاوند از گله های مردمی انتخاب شدند. خون گیری از سیاهرگ و داج و با استفاده از لوله های شیشه ای خلاء دار حاوی EDTA انجام گرفت. DNA به روش نمکی استخراج شد (۱۳). کمیت و کیفیت DNA استخراج شده با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری نانودراپ ۱۰۰۰ تعیین گردید. برای این منظور حجم معینی از DNA ژنومی با بافر TE رقیق شده، سپس شدت نور تابیده شده به نمونه ها در داخل دستگاه اسپکتروفتومتری در طول موج های ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر یادداشت شد. نسبت بین این دو جذب (A260 / A280) معیاری از خلوص DNA را نشان می دهد. هم چنین هر واحد جذب در طول موج ۲۶۰ نانومتر متناظر با ۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر از DNA ژنومی می باشد (۱۸). غلظت DNA استخراج شده با استفاده از آب مقطر به ۵۰ نانوگرم بر میکرولیتر رسانده شد. با توجه به این که هدف این تحقیق بررسی پلی مورفیسم نشانگرهای ریزماهواره و استفاده از این اطلاعات جهت مطالعات بعدی به خصوص مکان یابی QTL ها بود، بنابراین تعداد نشانگرهای ژنتیکی به گونه ای انتخاب شد که سطح بیشتری از ژنوم بز مرخز را تعیین ژنوتیپ کنند. نشانگرهای مورد استفاده در تحقیق حاضر با توجه به تحقیقات پیشین (۷) و نقشه ژنومی بز به آدرس <http://dga.jouy.inra.fr/cgi-bin/lgbc/main.pl?>

معیار محاسبه تنوع ژنتیکی در یک جمعیت مقادیر هتروزیگوسیتی مورد انتظار است که برآوردی از میزان تنوع ژنتیکی برای نشانگرهای مورد بررسی در درون آن جمعیت را فراهم می‌کند (رابطه ۳).

رابطه ۴:

Nei's Unbiased Heterozygosity

$$= \frac{2n}{2n-1} (1 - \sum p_{ii}^2)$$

در این رابطه P_{ii} فراوانی آلل‌های هموزیگوت نشانگر ریزماهواره مورد نظر می‌باشد.

نتایج

در این تحقیق با استفاده از ۳۰ جفت آغازگر ریزماهواره تنوع ژنتیکی و میزان پلی مورفیسم ۲۴۰ راس بز مرخز واقع در استان کردستان بررسی گردید. این آغازگرها از شش کروموزوم بز انتخاب شدند به طوری که روی کروموزوم ۱ هشت جفت و روی کروموزوم ۱۳ دو جفت آغازگر وجود داشت. از ۳۰ نشانگر ریزماهواره مورد استفاده در این تحقیق، ۲۹ نشانگر تکثیر مناسبی نشان دادند (شکل ۱) و تنها نشانگر INRA040 هیچ گونه تکثیری نشان نداد. الگوهای نواری آغازگر چهار آغازگر برای هشت فرد یکسان از بز مرخز در شکل ۱ نشان داده شده است. با بررسی آلل‌ها مشاهده شد که برخی از نشانگرها در بعضی از افراد هیچ گونه تکثیری نشان ندادند که می‌تواند به علت جهش‌های انفرادی آن افراد در آن مکان ژنی باشد. از میان ۲۹ نشانگر تکثیر شده در مجموع ۱۲۳ آلل و به طور میانگین تعداد ۴/۱ آلل برای هر نشانگر مشاهده شد. بیشترین تعداد آلل مشاهده شده در جایگاه ژنی ILSTS030 (۶ آلل) و کمترین تعداد آلل در جایگاه ژنی MCM136 (۳ آلل) مشاهده شد (جدول ۲). میانگین تعداد آلل‌های موثر یا مورد انتظار در همه مکان‌های ژنی برابر با ۲/۷۳ به دست آمد. بیشترین و کمترین تعداد آلل مورد انتظار به ترتیب مربوط به نشانگرهای BM3205 (۳/۸۷۷۹) و MCM136 (۱/۰۱۵۹) به دست آمد. بنابراین

تعداد آلل‌های مشاهده شده (Na)، تعداد آلل‌های موثر (Ne)، هموزیگوسیتی مشاهده شده ($H(o)$)، هتروزیگوسیتی مشاهده شده ($H(e)$)، هموزیگوسیتی مورد انتظار ($H(e)$)، هتروزیگوسیتی مورد انتظار نی (Nei) و شاخص اطلاعات شانون (I) که با استفاده از نرم افزار POPGENE برآورد گردیدند. مطالعه انواع تغییرات در جوامع مشخص کننده وسعت تنوع ژنتیکی می‌باشد. راه‌های مختلفی برای بررسی تنوع ژنتیکی یک جمعیت وجود دارد که ساده‌ترین آن اندازه‌گیری فراوانی آلل‌ها یا ژنوتیپ‌ها می‌باشد. آلل‌های مشاهده شده در حقیقت تعداد آلل‌های موجود 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 مختلفی برای یک جایگاه معین بدست آید. معیار دیگری که منعکس کننده تعداد آلل‌ها است، تعداد آلل‌های موثر می‌باشد. این معیار بیانگر تعداد آلل‌هایی است که هتروزیگوسیتی یکسان ایجاد می‌کنند (رابطه ۱).

$$\text{رابطه ۱: } ne = 1 / \sum p_i^2$$

در این رابطه P_i فراوانی هریک از آلل‌ها و \sum جمع فراوانی‌های به دست آمده را نشان می‌دهد. هم چنین میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده با استفاده از رابطه ۲ محاسبه شد.

$$\text{رابطه ۲: } H_{eto} = \sum N_{ij} / N$$

در این رابطه N تعداد جایگاه‌های مورد بررسی، H_o میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده برای هر جایگاه و N_{ij} تعداد افراد هتروزیگوت برای جایگاه مورد نظر می‌باشد. فراوانی هتروزیگوت‌ها از این جهت اهمیت دارد که هر هتروزیگوت ناقل آلل‌های متفاوتی است و این نشان دهنده وجود تنوع است. به همین دلیل معمول‌ترین

مشاهده شده مربوط به نشانگر MCM136 بود. بنابراین نشانگرهای فوق در این پژوهش بیشترین میزان اطلاعات و نشانگر MCM136 کمترین میزان اطلاعات مورد نظر را فراهم کرده‌اند.

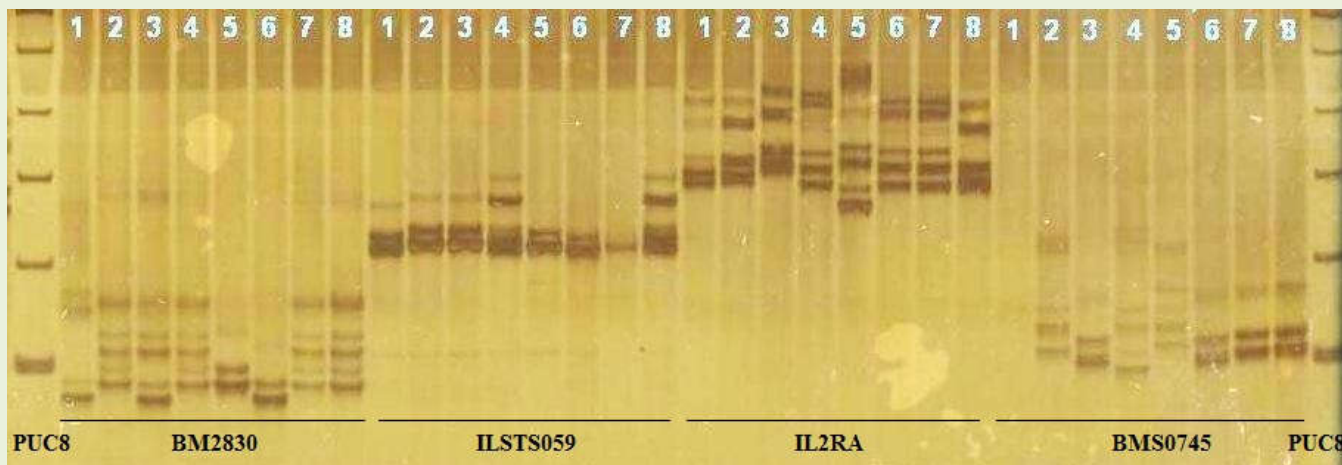
احتمالاً نشانگر BM3205 نسبت به سایر نشانگرها تنوع بیشتری دارد. بیشترین هتروزیگوسیتی مشاهده شده مربوط به نشانگرهای ILSTS004، BM1312، ILSTS034 و BMS1920 و کمترین هتروزیگوسیتی

جدول ۱- نام نشانگر مورد استفاده، میزان پوشش و طول کروموزوم‌های بررسی شده

توالی برگشت	توالی رفت	دامای اتصال	کروموزوم	نام نشانگر
5-TAGTGTGTATTAGGTTTCTCC-3	5-CTTAAAATCTGTCTTCTTCC-3	۴۶/۴	۱	ILSTS004
5-ATTTTATCTCAGGTCCTTTTATC-3	5-ATAACACAAAAAGTGGAAAACACTC-3	۵۲/۷	۱	BM4307
5-GCTCGGGCACATCTTCTTAGCAAC-3	5- CGAGTTTCTTCTCGTGGTAGGC-3	۶۱/۴	۱	INRA011
5-GGAATGTTACTGAACCTCTCCG-3	5-CCATGTGCTGCAACTATGAC-3	۵۳/۸	۱	BM1312
5-GCTGTTCGGAAGTGATGTAG-3	5-GACTTCTCCCAGTAGGCTGG-3	۵۳/۴	۱	LSCV06
5-TATAATATTGCTATCTGGAAATCC-3	5-TTATTTTTCAGTGTTTCTAGAAAAC-3	۴۸/۵	۱	CSSM32
5-TTGTGAGCAACTTCTGTATCTTT-3	5-TGTTTTAAGCCACCCAATTATTTG-3	۵۳/۴	۱	CSSM19
5-TGCCCTATTTTAAACAGTCTGC-3	5-TCTTGCTTCTTCCAAATCTC-3	۵۲/۴	۱	BM3205
5-CTCTGCCCTGGGATGATTG-3	5-TCAGTCTGGAGGAGAGAAAAC-3	۵۴/۲	۲	INRA040
5-CTTAGACAACAGGGGTTTGG-3	5-CTGCAGTTCTGCATATGTGG-3	۵۲/۱	۲	ILSTS030
5-AGAGGATTACACCAATCACC-3	5-TTCGTTCTCATAGTGCTGG-3	۵۱/۵	۲	ILSTS082
5-CAGGTGTATAGCCAAGTGATTC-3	5-GACAACCAACAAGGACAACAAG-3	۵۳/۶	۲	LSCV37
5-CGAGATCAGAGCACTTGTC-3	5-GCAGAGGAGGTTTTCAGATTC-3	۵۳/۲	۲	IDVGA64
5-AACTACAAGTTGATATATCTATCAC-3	5-GCAAGCAGGTTCTTTACTAGCACC-3	۶۱/۱	۲	OarFCB011
5-GACCTGACCCTTACTCTTCACTC-3	5-AAGTTAATTTTCTGGCTGAAAACCC-3	۵۸	۵	OarFCB005
5-GAGGTGTCTGAGGGAAGAG-3	5-CTCCTTACCATCCCGATTAG-3	۵۰/۸	۵	LSCV25
5-TCACCAACATGAGATAGTGTGC-3	5-GTAATGTAGCCTTTTGTGCCG-3	۵۴/۲	۵	BMS1248
5-GACCTGGTTTAGCAGAGAGC-3	5-AAGGGTCTAAGTCCACTGGC-3	۵۴/۱	۵	ILSTS034
5-TGAGTCCTGTCACCATCAGC-3	5-AATGGGCGTATAAACACAGATG-3	۵۴	۵	BM2830
5-CGACTTGTGTTGTTCAAAGC-3	5-AGTATGGTAAGGCCAAAGGG-3	۵۲/۲	۱۳	ILSTS059
5-GATATGCCTTGGAGAAGGTAGCGTAT-3	5-AGCAGAGGTACAGGTGGTAAGCA-3	۵۹/۳	۱۳	IL2RA
5-TGCAAGCTGTGAGGAGGAG-3	5-TAGGGACTTGTTACCCGTGG-3	۵۴/۵	۱۹	BMS0745
5-ATGACTCAATGACCAACTGACC-3	5-TCCCACCTACTTGAAAATTG-3	۵۳	۱۹	BMS1920
5-CTTATGTGTGTTTGTCTACAG-3	5-GAGTTTTTCAGAGCCTTCAGC-3	۵۲	۱۹	LSCV36
5-GGGAGAAGACATTTAACTCCTCACT-3	5-AGAATCAACTGAATTCAAAATCCA-3	۵۵	۱۹	McM210
5-TTTACCAGACAGTTTAGTTTTGAGC-3	5-AAGGATTCTGTCTGATACCACTTAG-3	۵۴/۶	۱۹	MAP2
3-CATCAGGTTGGCAGAGTCG-3	5-CAGGCTCCATGTTGGACAC-3	۵۳/۸	۲۴	BMS2526
5-GACTCTCTAGCACTTTATCTGTGT-3	5-CCAAGTTTAGTACTTGTAAGTAGA-3	۵۲/۳	۲۴	CSSM31
5-GAGTTGGAAATGACTGAAGCG-3	5-GCTGCTGGAAATGTAAAAGG-3	۵۲/۸	۲۴	BMS1332
5-AAAGAGGAAAGGTTATGTCTGGA-3	5-GCACACACATACACAGAGATGCG-3	۵۷/۳	۲۴	MCM136

جدول ۲- آماره‌های توصیف کننده تنوع ژنی در نشانگرهای مورد بررسی

نام نشانگر	تعداد آلل مشاهده شده	تعداد آلل مورد انتظار	هتروزیگوسیتی مشاهده شده	هتروزیگوسیتی مورد انتظار	تنوع ژنی	شاخص شانون
ILSTS004	۴	۲/۶۲۲۷	۱	۰/۶۲۰۳	۰/۶۱۸۷	۱/۰۵۰۸
BM4307	۳	۲/۵۳۵۱	۰/۹۴۷۹	۰/۶۰۷۱	۰/۶۰۵۵	۱/۰۰۸۸
INRA011	۵	۲/۷۲۲۸	۰/۹۹۴۸	۰/۶۳۴۴	۰/۶۳۲۷	۱/۰۸۵۱
BM1312	۵	۲/۸۷۷۳	۱	۰/۷۴۴۲	۰/۷۴۲۱	۱/۳۹۱۸
LSCV06	۴	۲/۵۲۷۲	۰/۷۴۷۳	۰/۶۰۶۰	۰/۶۰۴۳	۱/۰۰۹۹
CSSM32	۴	۲/۰۴۹۵	۰/۹۶۸۸	۰/۵۱۳۴	۰/۵۱۲۱	۰/۷۶۱۶
CSSM19	۳	۲/۰۴۹۴	۰/۹۷۳۸	۰/۵۱۳۴	۰/۵۱۲۱	۰/۷۵۳۰
BM3205	۵	۳/۸۷۷۹	۰/۹۸۹۱	۰/۷۴۴۲	۰/۷۴۲۱	۱/۴۱۹۵
ILSTS030	۶	۳/۹۷۲۶	۰/۹۹۴۳	۰/۷۵۰۴	۰/۷۴۸۳	۱/۴۶۵۷
ILSTS082	۵	۲/۷۹۹۶	۰/۹۰۹۱	۰/۶۴۴۶	۰/۶۴۲۸	۱/۱۹۶۷
LSCV37	۳	۲/۴۷۸۷	۰/۸۷۰۸	۰/۵۹۸۲	۰/۵۹۶۶	۰/۹۹۹۵
IDVGA64	۳	۲/۱۹۱۹	۰/۹۷۳۷	۰/۵۴۵۲	۰/۵۴۳۸	۰/۸۵۰۸
OarFCB011	۳	۲/۶۷۴۸	۰/۹۹۴۷	۰/۶۲۷۸	۰/۶۲۶۱	۰/۴۱۲۰
OarFCB005	۵	۳/۳۰۷۲	۰/۹۴۰۵	۰/۶۹۹۵	۰/۶۹۷۶	۰/۳۰۴۰
LSCV25	۵	۳/۰۴۳۳	۰/۹۷۴۲	۰/۶۷۳۶	۰/۶۷۱۴	۱/۲۷۶۳
BMS1248	۴	۳/۱۳۷۲	۰/۹۸۹۳	۰/۶۸۳۱	۰/۶۸۱۲	۱/۲۵۰۲
ILSTS034	۳	۲/۵۳۸۱	۱	۰/۶۰۷۶	۰/۶۰۶۰	۱
BM2830	۵	۳/۶۲۵۸	۰/۹۷۸۹	۰/۷۲۶۱	۰/۷۲۴۲	۱/۳۸۱۴
ILSTS059	۳	۲/۶۳۶۳	۰/۹۲۱۱	۰/۶۲۲۳	۰/۶۲۰۷	۱/۰۳۳۶
IL2RA	۴	۲/۶۰۵۷	۰/۹۷۳۸	۰/۶۱۷۸	۰/۶۱۶۲	۱/۰۷۳۷
BMS0745	۵	۳/۲۸۳۰	۰/۹۸۹۴	۰/۶۹۷۲	۰/۶۹۵۴	۱/۳۱۲۸
BMS1920	۴	۲/۸۹۰۲	۱	۰/۶۵۵۸	۰/۶۵۴۰	۱/۱۹۷۱
LSCV36	۳	۲/۷۱۶۴	۰/۹۴۵۹	۰/۶۳۳۶	۰/۶۳۱۹	۱/۰۴۰۶
McM210	۵	۱/۸۵۹۴	۰/۵۱۳۷	۰/۴۶۳۴	۰/۴۶۲۲	۰/۹۱۱۹
MAP2	۵	۲/۹۶۱۳	۰/۸۲۰۲	۰/۶۶۴۲	۰/۶۶۲۳	۱/۲۸۸۷
BMS2526	۴	۲/۷۷۴۵	۰/۸۸۷۷	۰/۶۴۱۳	۰/۶۳۹۶	۱/۱۰۵۵
CSSM31	۵	۲/۸۴۰۸	۰/۹۲۲۷	۰/۶۴۹۸	۰/۶۴۸۰	۱/۲۰۹۳
BMS1332	۴	۲/۵۷۹۵	۰/۹۶۲۶	۰/۶۱۴۰	۰/۶۱۲۳	۱/۰۴۶۳
MCM136	۳	۱/۰۱۵۹	۰/۰۱۵۸	۰/۰۱۵۷	۰/۰۱۵۷	۰/۰۵۱۱
میانگین	۴/۱۰۳۴	۲/۷۳۰۸	۰/۹۰۳۵	۰/۶۱۴۳	۰/۶۱۴۳	۱/۰۳۰۶



شکل ۱: الگوی بانندی نشانگرهای BM2830، ILSTS059، IL2RA، BMS0745 برای هشت فرد بز مرخز و نوار سمت راست و چپ نشانگر اندازه PUC8 می باشد.

شانون به عنوان یکی از شاخص‌های نشان دهنده تنوع ژنتیکی در این حالت می تواند مورد استفاده قرار گیرد. حد نهایی این شاخص برابر با $\ln(n)$ می باشد، بنابراین حساسیت بیشتری در زمانی که نشانگرها چند شکلی بیشتری نشان می دهند، دارد. میانگین شاخص شانون برای همه جایگاه‌ها برابر با $1/0.306$ به دست آمد. بیشترین مقدار شاخص شانون مربوط به نشانگر موثر (3/9726/آلل) و تعداد آلل مشاهده شده (5 آلل) در این مورد منطقی به نظر می رسد. کم ترین مقدار شاخص شانون مربوط به جایگاه MCM136 (0/0.511) بود که با توجه به این که افراد مورد مطالعه برای این جایگاه‌ها کمترین تعداد آلل موثر (1/0.159) و مشاهده شده را دارند، قابل توجه است. هم چنین نتایج حاصل از این شاخص با نتایج حاصل از هتروزیگوسیتی‌ها (از نظر بیشترین و کمترین مقدار) متناسب بود.

بحث و نتیجه گیری

نژادهای بومی به علت تکامل در منطقه پراکنش خود طی چندین هزار سال، به عنوان سرمایه و محصول کلیدی آن منطقه مطرح هستند. تنوع ژنتیکی موجود در جمعیت‌ها و نژادهای حیوانات اهلی منبع ارزشمندی در

میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده تمام نشانگرهای مورد استفاده در این تحقیق به نسبت بالا و برابر با $0/9035$ برآورد گردید (جدول ۲). نزدیکی این عدد به ۱ نشان می دهد که میزان هتروزیگوسیتی برآورد شده در اکثر نشانگرها بالا بوده و نشانگرهای ریزماهواره مورد استفاده در این پژوهش، نشانگرهای خوبی برای بررسی تنوع در سطح DNA بز مرخز هستند. هتروزیگوسیتی مورد انتظار ناریب یا تنوع ژنی نئی در برای هر نشانگر در جدول ۲ خلاصه شده است. دامنه آن بین $0/0157$ تا $0/7483$ بود که کم ترین مقدار مربوط به نشانگر MCM136 و بیشترین مقدار آن مربوط به نشانگر ILSTS030 بود. میانگین تنوع ژنی ناریب محاسبه شده برابر با $0/6143$ بود که نشان دهنده سطح متوسط روبه بالای این پارامتر می باشد. این حالت می تواند ناشی از کاهش جمعیت بز مرخز باشد. چون حد نهایی هتروزیگوسیتی برابر با یک می باشد، بنابراین مقادیر هتروزیگوسیتی به افزایش تنوع زیاد حساس نیست، مقایسه این مقادیر به عنوان معیار تنوع درون جمعیتی برای نشانگرهای بسیار چندشکل هم چون ریزماهواره‌ها (که در اکثر موارد هتروزیگوسیتی حدود $0/8$ یا بالاتر دارند) صحیح نبوده و این تفاوت‌های میان آن ها اطلاعات دقیقی را بیان نمی کنند. لذا، شاخص اطلاعات

آن را یکی از معیارهای نشان دهنده میزان چند شکلی و هتروزیگوسیتی دانست. هرچه میانگین تعداد آلل مورد انتظار بیشتر باشد، نشان دهنده اثر خوب تر آلل‌ها در نشان دادن چندشکلی و تخمین تنوع ژنتیکی است. میانگین تعداد آلل‌های مورد انتظار در همه مکان‌های ژنی برابر با $2/7308$ به دست آمد که این امر نشان دهنده اثر خوب آلل‌ها در نشان دادن چند شکلی و برآورد تنوع ژنتیکی می‌باشد. از طرفی در تمامی جایگاه‌ها تعداد آلل موثر کمتر از تعداد آلل مشاهده شده بود. دلیل این کاهش این است که تعداد آلل موثر در حقیقت، تعداد آلل با فراوانی مساوی در هر جایگاه است. در جایگاه‌هایی که تفاوت این دو مقدار زیاد باشد، دلیل بر وجود فراوانی‌های آلی با پراکندگی بالا در آن جایگاه‌هاست. جایگاه‌هایی که فراوانی‌های آلی در آنها تقریباً برای تمام آلل‌ها مشابه باشد، تعداد آلل موثر بیشتری نشان خواهند داد. در نشانگرهای ریزماهواره هرچه میانگین تعداد آلل موثر به تعداد آلل‌های مشاهده شده نزدیک‌تر باشد نشان دهنده اثر خوبتر آلل‌ها در نشان دادن چندشکلی و تخمین تنوع ژنتیکی است. در تحقیقات پیشین با توجه به اندازه جمعیت، تعداد نشانگر و نوع نشانگرهای ریزماهواره، میانگین تعداد آلل متفاوتی گزارش شده است، به طوری که در بزهای آبقوره آفریقای جنوبی به طور میانگین تعداد $8/8$ آلل مشاهده شد (۲۰). هم چنین در مورد نژادهای بز ایرانی راینی تعداد $5/38$ آلل، تالی تعداد $4/85$ آلل و سرخ جبال بارز تعداد $5/67$ آلل مشاهده شده است (۱۴،۴). مقایسه تعداد، نوع و دامنه آلل‌های حاصل از پژوهش حاضر با مطالعات قبلی نشان می‌دهد که در بز مرخز برخی از آلل‌هایی که در مطالعات قبلی گزارش شده بودند، در جمعیت مورد مطالعه مشاهده نشد. این امر می‌تواند در اثر کاهش شدید جمعیت بزهای مرخز طی سالیان اخیر باشد. با کاهش جمعیت، طبیعتاً یک سری از ژن‌های مفید در درون آن جمعیت نیز از دست خواهد

سیستم‌های پرورش آن‌ها به حساب می‌آید. از آن جا که برای بهبود ژنتیکی دام‌ها تنوع ژنتیکی زیادی لازم است، بنابراین اطلاع از تنوع ژنتیکی، یک نیاز اساسی جهت طراحی برنامه‌های اصلاح نژاد دام است. تاکنون از نشانگرهای ژنتیکی به طور گسترده‌ای برای مطالعه تنوع ژنتیکی استفاده شده است. علاوه بر این، پلی‌مورفیسم تعیین شده توسط این نشانگرها یکی از پارامترهای ارزشمند برای مطالعه جمعیت‌ها و مکان‌یابی QTL‌های کنترل کننده صفات کمی است. QTL‌ها نواحی ژنومی هستند که بخشی از واریانس فنوتیپی صفات مشاهده شده را توجیه می‌کنند. مکان‌یابی QTL یکی از روش‌هایی است که در دهه‌های اخیر برای مطالعه ژنتیکی صفات کمی توسعه یافته است. در این روش تفرق همزمان صفات کمی و نشانگرهای مولکولی بررسی می‌شود و در نهایت مکان QTL‌ها روی ژنوم شناسایی می‌گردد. از اینرو می‌توان از نتایج آن در برنامه‌های انتخاب به کمک نشانگر (MAS) استفاده نمود. اگر QTL‌های موثر بر صفات شناسایی شوند و نشانگرهای ژنتیکی همبسته با این QTL‌ها مشخص گردند، برنامه‌های اصلاح نژادی برای صفات با وراثت پذیری پایین که معمولاً بسیار مشکل و پرهزینه‌اند، آسانتر شده و به جای انتخاب و تلاقی‌های مبهم و بعضاً نادرست، با استفاده از انتخاب به کمک نشانگر برنامه‌های اصلاحی جهت‌دار دنبال می‌گردند. بنابراین بررسی پلی‌مورفیسم نشانگرهای ریزماهواره که نشانگرهای کلیدی جهت مکان‌یابی QTL هستند، علاوه بر فراهم آوردن شناخت تنوع ژنتیکی آن موجود، می‌تواند زمینه را برای مکان‌یابی QTL‌های آن هموارتر نماید. تعداد آلل‌های مورد انتظار در هر جایگاه ژنی با درصد چند شکلی در آن جایگاه رابطه مستقیم دارد. این ضریب از معکوس مقدار هتروزیگوسیتی در یک جایگاه محاسبه شده و می‌توان

در سال ۲۰۰۶ با استفاده از ۱۱ نشانگر ریزماهواره میزان هتروزیگوسیتی سه نژاد بز سانن، آلپاین و نژاد بومی موگزنوتو را به ترتیب ۰/۷۰، ۰/۷۰ و ۰/۵۰ برآورد نموده‌اند. در این پژوهش مشخص گردید که استفاده از نشانگرهای ریزماهواره به دلیل هتروزیگوسیتی بالا یکی از نشانگرهای کارآمد در تشخیص هتروزیگوسیتی و در نتیجه در تجزیه QTL به ویژه در بز مرخز می‌باشد. برای اندازه‌گیری تنوع ژنتیکی شاخص‌های زیادی معرفی شده‌اند، اما شاخصی که برای اندازه‌گیری میزان تنوع استفاده خواهد شد، بهتر است که هم میزان کمی تنوع و هم چگونگی توزیع افراد در درون آن جمعیت را منعکس کند. به طور معمول، مقدار تنوع با افزایش تعداد گونه‌ها و هم چنین یکنواختی افراد در درون آن جمعیت‌ها، افزایش می‌یابد. به عنوان مثال، جامعه‌ای با تعداد زیادی گونه که به طور مساوی توزیع شده باشند تنوع بیشتری نسبت به جامعه‌ای با تعداد کمی گونه و توزیع غیریکنواخت افراد در درون این گونه‌ها دارد. شاخص اطلاعات شانون رابطه‌ای است که از نظریه اعداد گرفته شده است. این شاخص هم یکنواختی پخش گونه‌ها و هم تعداد مطلق آن‌ها را محاسبه می‌کند. هنگامی که شاخص شانون در سطح جمعیت‌ها بررسی می‌شود معیار خوبی را برای ارزیابی چند شکلی و تغییر پذیری جایگاه‌های بررسی شده فراهم می‌کند. به دلیل این که حداکثر مقدار شاخص شانون برابر با $\ln(n)$ می‌باشد، این شاخص برای اندازه‌گیری تنوع جایگاه‌های بسیار متغیر مانند نشانگرهای ریزماهواره می‌تواند بسیار مفید باشد. نژادگشتی و همکاران در سال ۱۳۸۴ که به بررسی تنوع ژنتیکی بز رائینی کرمان با استفاده از ۱۰ نشانگر ریزماهواره پرداختند، میانگین شاخص شانون را برای همه نشانگرها برابر با ۱/۷۹۴۶ محاسبه نمودند. آن‌ها بیان کردند که این شاخص، شاخص مناسبی برای ارزیابی چند شکلی و تنوع جایگاه‌های بررسی شده فراهم می‌آورد. محمدآبادی

رفت. تنوع ژنتیکی به وجود آمده در موجودات که حاصل هزاران سال انتخاب طبیعی و مصنوعی است، سرمایه بسیار با ارزشی است که به مرور زمان به وجود آمده است و به راحتی قابل جایگزینی نیست. بنابراین کاهش تنوع آلل‌ها که بیان‌گر کاهش تنوع ژن‌ها و صفات مهم این نژاد می‌باشد، می‌تواند تهدید جدی برای از بین رفتن ذخیره ژنتیکی بز مرخز کشور باشد. هتروزیگوسیتی یکی از شاخص‌های بررسی چندشکلی نشانگرها می‌باشد که مشخص می‌کند اگر در یک جایگاه ژنی و یک جمعیت دو آلل به صورت تصادفی انتخاب شوند، احتمال این که این دو آلل مثل هم نباشند، چقدر است. از دلایل بالا بودن هتروزیگوسیتی مشاهده شده می‌توان به سازگاری بز مرخز با شرایط موجود در منطقه کردستان و هم چنین خاصیت تغییر پذیری ذاتی نشانگرهای ریزماهواره نسبت به سایر قسمت‌های ژنوم اشاره کرد. میزان هتروزیگوسیتی مورد انتظار برابر با ۰/۶۱۴۳ به دست آمد. تفاوت بین مقدار مورد انتظار و مشاهده شده می‌تواند به این دلیل باشد که با توجه به کاهش شدید تعداد بزهای مرخز در سال‌های اخیر و احتمال افزایش هم‌خونی، یک‌سری از جایگاه‌ها دارای آلل‌های با فراوانی بسیار کم در میان جمعیت مذکور بوده‌اند. میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره در نژادهای مختلف بز بومی ایران نسبتاً بالا گزارش شده است. Mahmoudi و همکاران در سال ۲۰۰۹ با استفاده از ۱۳ نشانگر ریزماهواره تصادفی، میانگین هتروزیگوسیتی در جمعیتی از بزهای مرخز را ۰/۸۱۴ محاسبه نمودند. Sadeghi و همکاران در سال ۲۰۰۹ نیز میانگین این شاخص در بز رائینی را ۰/۸۰۵ و محمدآبادی و همکاران در سال ۱۳۹۰ مقدار آنرا در بز سرخ جبال بارز برابر با ۰/۸۲۰ گزارش نمودند. در تحقیقات صورت گرفته روی بزهای دیگر کشورها نیز میزان هتروزیگوسیتی عموماً بالاتر از ۰/۵۰ محاسبه شده است. De Araujo و همکاران

پدیده می‌تواند به دلیل کاهش شدید اندازه جمعیت بز مرخز و از دست رفتن بعضی از آلل‌های مفید این نژاد باشد.

و همکاران در سال ۱۳۹۰ نیز مقدار این شاخص را در جمعیتی از بز سرخ جبال بارز را ۱/۸۷۰۵ برآورد نمودند. نتایج پژوهش حاضر از نظر مقدار شاخص شانون، همانند تعداد آلل مشاهده شده، تعداد آلل موثر و مقدار هتروزیگوسیتی، کمتر از مطالعات محققین دیگر بود. این

منابع

8. Chambers, GK., Macavoy, ES. (2000). Microsatellites: consensus and controversy. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 126; 455-476.

۱-رشیدی، ا.، امام جمعه، ن.، میرائی آشتیانی، س. ر.، رحیمی، ش.، واعظ ترشیزی، و. ر. ۱۳۷۹. برآورد مؤلفه‌های واریانس-کواریانس و پارامترهای ژنتیکی صفات وزن بدن در بزهای مرخز. *علوم کشاورزی ایران*. ۳۰: ۴۶۲-۴۵۵.

9. De Araujo, AM., Guimaraes, SEF., Machado, TMM. (2006). Genetic diversity between herds of Alpine and Saanen dairy goats and the naturalized Brazilian moxoto breed. *Genetic and Molecular Biology*, 29; 67-74.

۲-سالاری، ا.، امیری نیا، س.، قره داغی، ع. ا.، شیر، س. ا.، خدرزاده، ص. ۱۳۸۹. بررسی تنوع ژنتیکی گوسفند کردی خراسان با استفاده از نشانگرهای ریز ماهواره. *مجله دانش و پژوهش علوم دامی*. ۷: ۱۷-۱۱.

10. FAO. (2000). Conserving and developing farm animal diversity. In *State of the world animal genetic resources*. <http://www.fao.org/news/2000/001201-e.htm>.

۳-عسگری، ن.، محمدآبادی، م. ر.، بیگی نصیری، م. ت.، باقی زاده، ا.، فیاضی، ج. ۱۳۸۷. مطالعه تنوع ژنتیکی بز کرکی راینی بر اساس نشانگرهای ریز ماهواره. *دانش کشاورزی*. ۱۸(۴): ۱۵۵-۱۶۱.

11. Geldermann, H. (1975). Investigation on inheritance of quantitative character in animals by gene markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 46; 319-330.

۴-محمدآبادی، م. ر.، شهابی، ا.، نوشری، ع. ر.، عسگری، ن.، دیانی، ا.، خضری، ا. ۱۳۹۰. مطالعه تنوع ژنتیکی بز سرخ جبال بارز با استفاده از نشانگرهای ریز ماهواره. *نشریه علوم دامی ایران*. ۴۲(۲): ۱۳۱-۱۲۵.

12. Henderson, CR. (1975). Best linear unbiased estimation and prediction under a selection model. *Biometrics*, 31; 423-447.

۵-نژاد گشتی، م.، اسماعیل خانیان، س.، میرهادی، س. ا.، همتی، و. ب. ۱۳۸۴. بررسی تنوع ژنتیکی بز راینی کرمان با استفاده از ۱۰ جایگاه ریز ماهواره ای. *چهارمین همایش ملی بیوتکنولوژی جمهوری اسلامی ایران*. کرمان.

13. Luis, A., Salazar, M., Hirata, H., Cavalli, AS., Machado, MO., Rosario, DC. (1998). Optimized Procedure for DNA isolation from fresh and cryopreserved clotted human blood useful in clinical molecular testing. *Clinical Chemistry*, 44; 1748-1750.

6. An, ZW., Xie, LL., Cheng, H., Zhou, Y., Zhang, Q., He, XG., Huang, HS. (2009). A silver staining procedure for nucleic acids in polyacrylamide gels without fixation and pretreatment. *Analytical Biochemistry*, 391(1); 77-79.

14. Mahmoudi, B., Daliri, M., Babayev, MS., Sadeghi, R. (2009). Genetic analysis of markhoz goats based on micro satellite markers. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 8(9); 1815-1815.

7. Cano, EM., Marrube, G., Roldan, DL., Bidinost, F., Abad, M., Allain, D. (2007). QTL affecting fleece traits in Angora goats. *Small Ruminant Research*, 71; 158-164.

15. Martinez, AM., Acosta, J., Vegapla, JL., Delgado, JV. (2006). Analysis of the genetic structure of the canary goat populations using microsatellites. *Small Ruminant Research*, 57; 249-255.

16. Nomura, K., Yonezawa, T., Mano, S., Kawakami, S., Shedlock, AM., Hasegawa, M. (2013). Domestication Process of the goat revealed by an analysis of the nearly complete

Sciences of the United States of America, 105(46); 17659-64.

17.Sadeghi, R., Mahmoudi, B., Babayev, BS., Rameshknia, Y., Daliri, M. (2009). Genetic analysis in Tali goats based on 13 microsatellite markers. *Research Journal of Biological Sciences*, 4(6); 734-737.

18.Samuel, M., Lu, M., Pachuk, CJ., Satishchandran, C. (2003). A spectrophotometric method to quantify linear DNA. *Analytical Biochemistry*, 313(2); 301-306.

mitochondrial protein-encoding genes. *Proceedings of the National Academy of*

19.Sheriff, O., Alemayehu, K. (2018). Genetic diversity studies using microsatellite markers and their contribution in supporting sustainable sheep breeding programs: A review. *Cogent Food and Agriculture*, 4; 1-9.

20.Visser, C., Van Marle-Koster, E., Bovenhuis, H., Crooijmans, RPMA. (2011). QTL for mohair traits in South African Angora goats. *Small Ruminant Research*, 100; 8-14.

21.Wang, GZ., Chen, SS., Chao, TL., Ji, ZB., Hou, L., Qin, ZJ., Wang, JM. (2017). Analysis of genetic diversity of Chinese dairy goats via microsatellite markers. *Journal of Animal Science*, 95(5); 2304-2313..



Investigation of Polymorphism of Markhoz Goat Microsatellite Markers

S. Badbarin¹, R. Seyed Sharifi², H.Khamis Abadi¹, J. Ahmadpanah¹

1. Assistant Professors, Animal Science Department, Kermanshah Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Kermakshah, Iran.

badbarin1688@yahoo.com

2. Associate Professor in Animal Science, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

Received: 2020.5. 12

Accepted: 2020.20.12

Abstract

Introduction & Objective: The use of molecular markers, especially microsatellite markers provides very valuable information about the existing genetic structure under study. This information can be used to protect an endangered species or to investigate the location of genes affecting quantitative traits (QTL). The purpose of this study was to emphasize the importance of microsatellite markers for the study of genetic diversity in Markhoz goats and their use in conservation strategies.

Material and Method: In this study, blood samples were taken from 240 Markhoz goats in Kurdistan province randomly. DNA extraction from whole blood samples was performed by salting out method. Then, the genetic diversity of 30 microsatellite markers was investigated using polymerase chain reaction (PCR). Alleles of each individual were identified using silver staining method. Genetic parameters related to the genetic structure of Markhoz goat were calculated using POPGENE software.

Results: The quality of sperm parameters in copper sulfate with a concentration of 200 mg / kg decreased significantly (Except for INRA040 marker, all markers used were well amplified. Among the amplified markers, MCM136 showed low polymorphism but other markers had high polymorphism. ILSTS030 markers with 6 alleles and MCM136 markers with 3 alleles produced the highest and lowest number of alleles, respectively. ILSTS030 marker showed the highest (0.7504) and MCM136 marker showed the lowest (0.0158) expected heterozygosity.

Conclusion: Microsatellite markers seem to be a useful and reliable tool for identifying goat breeds and their use can be a solution to protect endangered breeds.

Keywords: Genetic Structure, Markhoz Goats, Microsatellite Markers.