

بررسی پلی مورفیسم ۱۷ نشانگر میکروساتلایت در جمعیت گوسفند نژاد بلوچی

وحید رزبان^۱، سعید اسماعیل خانیان^{۲*} و رسول واعظ توشیزی^۳
۱، ۳، دانشجوی کارشناسی ارشد و دانشیار، دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس
۲، استادیار و عضو هیئت علمی مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور
(تاریخ دریافت: ۸۵/۲/۱۳ - تاریخ تصویب: ۸۸/۲/۲۸)

چکیده

گوسفند نژاد بلوچی پر جمعیت‌ترین نژاد گوسفند ایران بوده و گله اصلاحی آن در عباس آباد مشهد قرار دارد. این تحقیق به بررسی میزان پلی مورفیسم ۱۷ جایگاه میکروساتلایت در این جمعیت می‌پردازد. در این مطالعه تنوع ژنتیکی داخل این جمعیت و تعادل هاردی-واینبرگ برای این جایگاه‌ها بررسی گردید. هر جایگاه با ۱۴۵ نمونه DNA، مورد آزمایش قرار گرفت. واکنش PCR برای تمامی جایگاه‌ها بعد از بهینه‌سازی انجام شد و فرآورده‌های PCR روی ژل‌های پلی‌اکریل آمید الکتروفورز شده و با رنگ‌آمیزی نقره باندها آشکار گردید. نتایج نشان داد که به جز دو جایگاه BMS4000, OarAE54 در سایر جایگاه‌ها تکثیر صورت گرفته و دارای چندشکلی بالایی بودند. بیشترین PIC را جایگاه MCM120 (۰/۹۲۳۲) و کمترین مقدار را TGLA387 (۰/۶۸۳۹) داشتند. بالاترین و پایین‌ترین تعداد الل واقعی به ترتیب در جایگاه‌های MCM120 (۲۱ الل) و MCM494, MCM541L (۹ الل) مشاهده شد و بیشترین و کمترین تعداد مؤثر الل به ترتیب متعلق به جایگاه‌های CSRD144 (۱۴/۹۶۶۴) و TGLA387 (۳/۶۲۵۵) بود. میانگین هتروزایگوسیتی بر اساس کل جایگاه‌ها در این جمعیت ۰/۸۷۴۶ محاسبه گردید. تمامی جایگاه‌ها بر اساس آزمون‌های X² و G² از لحاظ تعادل هاردی-واینبرگ در حالت عدم تعادل قرار داشتند و تنها MCM120 با تست G² در تعادل بود. این مطالعه نشان داد که جمعیت گوسفند بلوچی بر اساس جایگاه‌های مورد مطالعه دارای تنوع ژنتیکی بالایی می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: گوسفند بلوچی، پلی مورفیسم، میکروساتلایت، نشانگر ژنتیکی، هتروزایگوسیتی.

مقدمه

تنوع ژنتیکی حیوانات مزرعه‌ای برای برآورده ساختن نیاز به تولید در محیط‌های گوناگون لازم است. تنوع ژنتیکی امکان بهبود ژنتیکی پایدار را فراهم می‌سازد و سازگاری سریع را هنگام تغییر اهداف اصلاح نژادی تسهیل می‌نماید (Notter, 1999).
گوسفند نقش مهمی در کشاورزی مدرن بازی

می‌کند و دارای صفات قابل توارث بسیاری است که دارای اهمیت اقتصادی هستند (Maddox et al., 2001).
گوسفند نژاد بلوچی به تنهایی ۳۰ درصد جمعیت گوسفندان ایران را تشکیل داده و در مناطق گسترده‌ای از ایران از جمله یزد، کرمان، جنوب خراسان و سیستان و بلوچستان پراکنده شده است. این نژاد دارای جثه‌ای کوچک و در نتیجه نسبت سطح به حجم بالایی می‌باشد.

استخراج نمکی^۱ (Miller, 1998) انجام گردید. واکنش‌های PCR به وسیله دو دستگاه ترموسایکلر Eppendorf و Biometra بعد از بهینه‌سازی صورت گرفت. تمام جایگاه‌های استفاده شده در این تحقیق برای اولین بار در ایران مورد آزمایش قرار می‌گیرند بنابراین برای تمامی واکنش‌های PCR اقدام به بهینه‌سازی واکنش گردید. با توجه به اینکه ژل‌های پلی‌آکریل آمید قدرت تفکیک بالایی دارند در این تحقیق از این نوع ژل‌ها و با غلظت ۸ درصد برای تفکیک ال‌ها استفاده شد. دستگاه الکتروفورز مورد استفاده از نوع عمودی دو طرفه مدل^۲ VEU-7704 بوده و تانک‌های آن بوسیله بافر TBE 0.5X پس از نصب ژل پر می‌گردد. در این مطالعه از سه نشانگر اندازه ۷ و VIII و IIIX استفاده شد. برای نمایان‌سازی باندها از یک روش سریع رنگ‌آمیزی نقره^۳ استفاده گردید (Sanguinetti et al, 1994). اساس این روش بر پیوند نقره با DNA و تشکیل رسوبی از نقره فلزی بوسیله فرمالدئید استوار است (Bassam & Caetano-Anolles, 1993). پس از رنگ‌آمیزی برای خواندن ال‌ها ژل رنگ آمیزی شده اسکن گردیده و با استفاده از خط‌کش نرم‌افزار Photoshop فاصله باندها از چاهک‌ها اندازه‌گیری می‌شود. با استفاده از فاصله باندهای نشانگر اندازه و وزن هر باند آن (base pair, bp) یک رابطه رگرسیونی در نرم‌افزار اکسل بین cm و bp به دست می‌آید. با قرار دادن فاصله باندهای مربوط به نمونه‌ها داخل این رابطه می‌توانیم وزن آن ال را به صورت bp به دست آوریم.

تعداد ال مؤثر عکس هموزایگوسیتی مورد انتظار می‌باشد. این معیار بیانگر تعداد ال‌هایی است که هتروزیگوسیتی یکسان ایجاد می‌نمایند در شرایطی که همه ال‌ها دارای فراوانی یکسان بوده و با ال‌های نادر تحت تأثیر قرار نگیرند. این معیار را به این دلیل مورد استفاده قرار می‌دهند که کمتر به اندازه نمونه حساس می‌باشد، تعداد ال مؤثر را اینگونه محاسبه می‌نمایند:

$$n_e = 1 / \sum p_i^2$$

1. Optimized and Modified Salting-out Method
2. Double vertical electrophoresis
3. Rapid Silver Staining

این موضوع یکی از دلایل سازگاری این نژاد با شرایط گرم و خشک ایران است. همچنین گوسفند بلوچی نژادی است که علاوه بر گوشت از نظر تولید پشم هم در وضعیت مناسبی بوده و نژادی دو منظوره محسوب می‌شود. با توجه به مطالب ذکر شده، درحوزه ژنتیک و اصلاح، اطلاع از ساختار ژنتیکی این جمعیت می‌تواند کمک بزرگی به برنامه‌ریزی جهت طرح‌های اصلاح نژادی، و از همه مهمتر، حفظ این ذخیره ژنتیکی باشد. روش‌های مولکولی و استفاده از نشانگرهای ژنتیکی در این زمینه یکی از بهترین گزینه‌ها به حساب می‌آید زیرا با توجه به اطلاعات بالایی که در مورد ساختار ژنتیکی جمعیت ایجاد خواهد نمود می‌تواند نتایجی که از تجزیه و تحلیل رکوردها با روش‌های آماری به دست آمده است را تأیید و تکمیل نماید.

از میان نشانگرهای مولکولی، میکروساتلایت‌ها به عنوان یک کاندید برتر برای بررسی ساختار ژنتیکی جمعیتی از گوسفندان بلوچی انتخاب گردیدند (Tomasco et al, 2002). از دلایل استفاده از میکروساتلایت اختصاصی بودن برای تکثیر تنها یک ناحیه خاص از ژنوم، ایجاد تعداد زیادی ال در هر لوکوس، همباز بودن و کاوش ژنوم با وضوح بالای این نشانگر است که باعث می‌شود این جایگاه‌ها هم برای مطالعات جمعیتی و هم مطالعات مربوط به (Quantitative Trait Loci) QTL مناسب باشند (Queller et al., 1993; Buchanan et al, 1993; Arora et al., 2008). در نهایت پس از انجام آزمایشات و استخراج اطلاعات، می‌توان لوکوس‌های برتر از نظر آنالیز پیوستگی و بررسی تنوع ژنتیکی را جهت مطالعات آینده معرفی نمود.

جمعیت مورد مطالعه متعلق به ایستگاه عباس‌آباد مشهد بوده و از دلایل انتخاب این جمعیت از گوسفند نژاد بلوچی برای این مطالعه، شجره قابل اطمینان و رکوردگیری‌های مناسب روی صفات وزن تولد، وزن یکسالگی، وزن پشم تولیدی و دوقلوزایی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌های خون کامل از سیاهرگ و داج گردن و با استفاده از لوله خلاء دار ۵ میلی‌لیتری حاوی ماده ضد انعقاد EDTA تهیه گردید و استخراج DNA از نمونه‌های خون کامل به روش بهینه شده و تغییر یافته

متفاوت با ویژگی‌های خاص خود می‌باشد.

جدول ۱- دامنه اندازه اللی بدست آمده در هر لوکوس (جفت باز)

جایگاه	دامنه اللی به دست آمده (تحقیق حاضر)	دامنه اللی گزارش شده (Maddox, 2005)
BM121	۱۲۹-۱۴۹	۱۵۲-۲۱۳
BM827	۲۰۴-۲۲۷	۲۰۴-۲۲۴
BM3412	۱۳۵-۱۷۶	۱۳۰-۱۶۴
BM7136	۹۶-۱۳۰	۱۰۰-۱۲۴
BM7237	۱۰۰-۱۳۱	۹۶-۱۲۴
CSRD144	۳۵۴-۴۰۶	۴۵۴-۵۰۲
MAF45	۱۵۱-۱۸۸	۱۴۳-۱۶۵
MCM2	۸۶-۱۲۶	۸۳-۱۱۷
MCM120	۹۶-۱۴۰	۱۰۴-۱۳۸
MCM494	۹۶-۱۱۰	۱۳۱
MCM541L	۱۸۰-۱۹۰	۱۳۶-۱۵۸
OarAE25	۹۳-۱۲۳	۹۴-۱۱۸
OarFCB19	۱۱۱-۱۴۴	۸۷-۲۴۷
OarHH41	۱۲۰-۱۴۹	۱۲۰-۱۴۴
TGLA387	۱۳۳-۲۱۳	-

احتمال برقراری تعادل هاردی-واینبرگ در مورد هر لوکوس با استفاده از نرم‌افزار POPGENE (Yeh et al., 1999) برآورد گردید. تعادل هاردی واینبرگ با دو تست آزمون مربع کای (Chi-squar) و نسبت درستنمایی (G-squar) مورد آزمون قرار گرفت که بر اساس Chi-squar تمامی جایگاه‌ها در حالت عدم تعادل هاردی واینبرگ قرار داشتند به جز MCM120 که با تست G-squar در تعادل قرار داشت. علت عدم تعادل در جایگاه‌ها می‌تواند نشان‌دهنده حضور بعضی عوامل برهم زننده تعادل باشد که دو مورد اصلی آن مهاجرت، خصوصاً در مورد قوچ‌هایی که از خارج گله وارد می‌شوند که منجر به ایجاد جریان ژنی می‌گردند، و احتمالاً انجام انتخاب می‌باشد.

Fendereski (2004) در مطالعه خود بر روی همین جمعیت گزارش کردند که هیچ یک از جایگاه‌ها بر اساس هر دو آزمون در تعادل هاردی واینبرگ نبودند و انحراف معنی‌داری داشتند. همچنین Ghanbari et al. (2002) نیز این جمعیت را در حالت انحراف از تعادل هاردی واینبرگ گزارش کردند.

در این تحقیق پس از مراحل آزمایشگاهی پارامترهای متعددی اندازه‌گیری شد که به شرح زیر می‌باشند.

بطوریکه p_i فراوانی هر یک از ال‌ها می‌باشد. در این مطالعه با استفاده از نرم‌افزار PopGene معیارهای چند شکلی فوق برآورد گردید (Yeh et al., 1999).

محتوای اطلاعات چند شکلی یا PIC^۱ نیز از دیگر مقیاس‌های تعیین درجه پلی مورفیسم یک نشانگر ژنتیکی است. کارآمدی یک نشانگر ژنتیکی برای تجزیه و تحلیل‌های پیوستگی که به میزان چند شکلی آن بستگی دارد توسط این آماره اندازه‌گیری 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 (Buchanan & Theu, 1998). PIC را از طریق فرمول زیر محاسبه می‌کنند.

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^k p_i^2 - \sum_{i=1}^{k-1} \sum_{j=i+1}^k 2p_i p_j^2$$

که در آن k تعداد ال‌ها p_i و p_j فراوانی‌های جمعیتی i و j امین ال‌ها می‌باشند. این معیار هم تحت تأثیر تعداد ال‌های یک جایگاه نشانگر و هم تحت تأثیر فراوانی این ال‌ها قرار دارد.

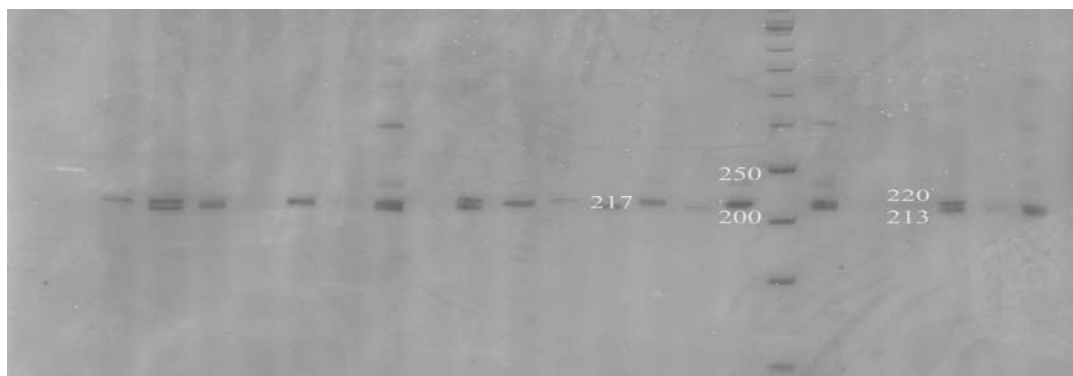
نتایج

از میان ۱۷ جایگاه مورد مطالعه، دو جایگاه BMS4000 و oarAE54 علیرغم انجام واکنش‌های بسیار جهت بهینه‌سازی در جمعیت گوسفندان بلوچی نمونه‌برداری شده تکثیر نشدند و به عنوان یک جایگاه Null در نظر گرفته شدند. دامنه اندازه اللی برای هر جایگاه در جدول ۱ آورده شده است. همچنین به عنوان نمونه در تصویر شماره ۱ ژل و مربوط به لوکوس BM827 آورده شده است.

همانطور که مشاهده می‌شود در تعدادی از جایگاه‌ها دامنه اللی با دامنه گزارش شده تفاوت دارد. این بدان معنی است که جمعیت گوسفندان بلوچی ایران دارای ال‌های جدیدی می‌باشد. البته برخی ال‌های گزارش شده در بعضی جایگاه‌ها نیز در این جمعیت مشاهده نشد. (Fendereski, 2004). با توجه به این مطالب می‌توان نتیجه گرفت که این جمعیت یک منبع ژنتیکی



شکل ۱- مربوط به لوکوس BM121، اندازه باندها بر حسب bp در دو نمونه همراه با size marker (در وسط) آورده شده است.



شکل ۲- مربوط به لوکوس BM827، اندازه باندها بر حسب bp در دو نمونه همراه با size marker (در وسط) آورده شده است.

همانطور که مشاهده می‌شود بیشترین هتروزیگوسیتی متعلق به جایگاه CSRD144 به میزان ۰/۹۳۹۱ و کمترین هتروزیگوسیتی متعلق به TGLA387 به میزان ۰/۷۳۲۷ می‌باشد. بر اساس این جایگاه‌ها متوسط هتروزیگوسیتی ۰/۸۷۴۶ محاسبه گردید که نشان‌دهنده تنوع بالا در این جمعیت است. با مقایسه Ho با He می‌توان افت یا فزونی هتروزیگوسیتی را نسبت به میزان مورد انتظار بررسی کرد. بر این اساس جایگاه‌های MCM541L, MCM494, MCM120, BM121, BM3412, MAF45, OarAE25, BM827 دچار افت هتروزیگوسیتی شده اند در حالی که جایگاه‌های MCM2, BM7136, BM7237, OarHH41, OarFCB19, CSRD144, هتروزیگوسیتی مواجه بودند.

اگر تمام جایگاه‌ها با هم در نظر گرفته شوند در کل، این جمعیت با بررسی جایگاه‌های ذکر شده دارای هتروزیگوسیتی پایین‌تر از میزان مورد انتظار می‌باشد. از معیارهایی که جهت بررسی پلی‌مورفیسم یا چند شکلی، مد نظر قرار می‌گیرند تعداد الل مشاهده شده یا واقعی^۲

هتروزیگوسیتی یا تنوع ژنی^۱ از موارد دیگری بود که مورد آزمون قرار گرفت. تنوع ژنتیکی در یک جایگاه را می‌توان با معیارهایی همچون هتروزیگوسیتی مورد انتظار، هتروزیگوسیتی مشاهده شده و تنوع اللی مشخص نمود (Frankham et al., 2002). میزان هتروزیگوسیتی معمول‌ترین معیار تنوع ژنتیکی در یک جمعیت می‌باشد که به دو صورت هتروزیگوسیتی مشاهده شده (H_0) و هتروزیگوسیتی مورد انتظار یا هاردی-وینبرگ (H_e) گزارش می‌شود (Hedrick, 1999).

Wier (1996) استفاده از تنوع ژنی (D) را بجای هتروزیگوسیتی مورد انتظار مناسب‌تر می‌داند. هر دو معیار معمول تنوع ژنتیکی برای یک جایگاه یا بصورت میانگین چند جایگاه گزارش می‌شوند. در این مطالعه با استفاده از نرم‌افزار PopGene هتروزیگوسیتی مورد انتظار و هتروزیگوسیتی مشاهده شده محاسبه گردید (Yeh, 1999). همچنین با استفاده از نرم‌افزار PIC (Ott, 1988-1992) هتروزیگوسیتی‌های مورد انتظار و مشاهده شده محاسبه و نتایج مشابهی نیز بدست آمد که نتایج حاصل در جدول ۲ آمده است.

2. True number of allele

1. Gene diversity

کمترین الل مؤثر نمی باشند و به ترتیب بیشترین و کمترین الل مؤثر متعلق به جایگاه های CSR144 با ۱۴/۹۶۶۴ و TGLA387 با ۳/۶۲۵۵ الل می باشد. در تمامی جایگاه ها تعداد مؤثر الل کمتر از تعداد الل واقعی است.

دلیل این کاهش این است که تعداد مؤثر الل در حقیقت، تعداد الل با فراوانی مساوی در هر جایگاه است. در جایگاه هایی که تفاوت بین این دو مقدار زیاد می باشد دلیل بر وجود فراوانی های اللی با پراکندگی بالا در آن جایگاه هاست. جایگاه هایی که فراوانی های اللی در آنها تقریباً برای تمام الل ها مشابه باشد تعداد مؤثر الل بیشتری نشان خواهند داد.

و تعداد مؤثر الل^۱ می باشند. تعداد الل واقعی، تعداد الل های مشاهده شده یک جایگاه در جمعیت است. این معیار بشدت تحت تأثیر اندازه نمونه است (Hedrick, 1999).

تعداد واقعی الل و تعداد مؤثر الل به دست آمده در این تحقیق در جدول ۳ نمایش داده شده است.

با ملاحظه نتایج مشخص می شود که بیشترین و کمترین الل واقعی به ترتیب متعلق به جایگاه های MCM120 با ۲۱ الل و MCM494, MCM541L با ۹ الل است در حالیکه این جایگاه ها دارای بیشترین و

1. Effective number of allele

جدول ۲- هتروزایگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار در لوکوس های مطالعه شده

جایگاه	BM827	OarFCB19	CSR144	OarAE25	TGLA387
Ho	۰/۲۱۵۲	۰/۹۰۳۸	۰/۹۸۷۳	۰/۷۸۵۷	۰/۸۱۴۰
He	۰/۸۸۷۴	۰/۸۹۷۱	۰/۹۳۹۱	۰/۸۸۳۹	۰/۷۳۲۷

جایگاه	OarHH41	MAF45	BM7237	BM7136	BM3412
Ho	۰/۹۴۳۸	۰/۸۴۶۹	۰/۹۴۰۰	۱/۰۰۰۰	۰/۷۵۳۸
He	۰/۹۰۲۰	۰/۸۷۸۵	۰/۹۰۰۴	۰/۹۱۱۴	۰/۸۸۳۰

جایگاه	BM121	MCM2	MCM120	MCM494	MCM541L
Ho	۰/۳۳۳۳	۱/۰۰۰۰	۰/۸۷۳۲	۰/۶۹۳۹	۰/۳۵۷۱
He	۰/۸۹۳۶	۰/۹۱۶۶	۰/۹۳۷۸	۰/۸۴۱۶	۰/۸۷۷۶

جدول ۳- na و ne در لوکوس های مورد مطالعه

جایگاه	TGLA387	OarAE25	CSR144	OarFCB19	BM827
na	۱۲	۱۲	۱۸	۱۲	۱۲
ne	۳/۶۲۵۵	۸/۱۶۶۷	۱۴/۹۶۶۴	۸/۹۶۸۵	۸/۴۵۶۶

جایگاه	BM121	BM3412	BM7136	MAF45	OarHH41
na	۱۱	۱۱	۱۵	۱۱	۱۲
ne	۸/۵۴۲۴	۸/۰۷۸۴	۱۰/۳۶۶۷	۷/۹۳۷۲	۹/۷۰۱۲

جایگاه	BM7237	MCM541L	MCM494	MCM120	MCM2
na	۱۳	۹	۹	۲۱	۱۷
ne	۹/۲۰۸۱	۵/۴۸۶۸	۵/۹۸۷۵	۱۳/۸۴۹۵	۱۱/۱۸۶۸

شدند دارای PIC بالایی می‌باشند. همچنین نرم‌افزار POPGENE نیز تعداد لوکوس‌های پلی‌مورف را ۱۵ و درصد جایگاه‌های پلی‌مورف را ۱۰۰ درصد بیان می‌کند.

مقادیر به دست آمده برای PIC در جدول ۴ نشان داده شده است. نتایج این جدول با استفاده از نرم‌افزار PIC (Ott, 1988-1992) محاسبه گردید و نشان می‌دهد که تمامی جایگاه‌هایی که مطالعه

جدول ۴- مقادیر به دست آمده برای PIC در لوکوس‌های مورد مطالعه

جایگاه	MCM120	TGLA387	BM7136	MCM2	CSRD144
PIC	۰/۹۲۳۲	۰/۶۸۳۹	۰/۷۷۰۴	۰/۹۰۴۰	۰/۹۲۰۵
جایگاه	MCM541L	OarAE25	MCM494	BM827	BM3412
PIC	۰/۷۹۵۸	۰/۸۶۵۸	۰/۸۱۲۰	۰/۸۷۰۳	۰/۸۶۶۰
جایگاه	OarHH41	BM7237	BM121	MAF45	OarFCB19
PIC	۰/۸۸۷۸	۰/۸۸۱۵	۰/۸۷۱۶	۰/۸۷۶۶	۰/۸۷۷۸

لوکوس‌ها را جهت نقشه‌یابی و آنالیز QTL می‌باشد. با وجود اینکه کمترین میزان PIC، He، ne متعلق به جایگاه TGLA387 می‌باشد، باید توجه داشت که این لوکوس در مقایسه با جایگاه‌های پلی‌مورف دیگر در رتبه آخر قرار می‌گیرد و با این حال در این ارزیابی همه لوکوس‌ها به جز BMS4000، oarAE54 برای تحقیقات جمعیتی و آنالیز پیوستگی در آینده مناسب تشخیص داده شده و پیشنهاد می‌گردند. این تحقیق نشان می‌دهد که بر اساس لوکوس‌های ذکر شده در این مطالعه، جمعیت گوسفند بلوچی ایستگاه عباس آباد مشهد دارای تنوع ژنتیکی بالایی می‌باشد که 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. همچنین از این تحقیق می‌توان نتیجه گرفت که گوسفند نژاد بلوچی دارای ال‌های خاص این جمعیت می‌باشد زیرا دامنه الی بیشتر لوکوس‌ها با دامنه الی که قبلاً برای این لوکوس‌ها گزارش شده است تفاوت دارد و بنابراین می‌تواند یک ذخیره ژنتیکی متفاوت تلقی شود که برنامه‌ریزی‌های مناسب را برای حفظ آن می‌طلبد و نشانگرهای مولکولی می‌توانند در این زمینه مفید باشند.

PIC در جایگاه TGLA387 کمترین مقدار (۰/۶۸۳۹) را دارد که به علت داشتن تعداد ال کم می‌باشد و MCM120 نیز که بیشترین ال را دارد، دارای بالاترین PIC (۰/۹۲۳۲) هم می‌باشد.

بحث

Daneshyar (2003) و Zahedy (2004) این جمعیت را دارای تنوع بالای ژنتیکی گزارش کردند که مطالعه حاضر نیز آن را تأیید می‌نماید. متوسط هتروزایگوسیتی در این مطالعه از نتایج Fendereski (2004) که متوسط هتروزایگوسیتی را ۰/۹۳۲۹ برآورد کردند کمتر و از مطالعه Ghanbari (2002) که متوسط هتروزایگوسیتی را در این جمعیت را ۰/۴۸۲۸ به دست آوردند بیشتر می‌باشد. Fendereski (2004) و Ghanbari (2002) در همین جمعیت بیشترین و کمترین میزان PIC را به ترتیب ۰/۳۷۵۰ تا ۰/۹۲۰۹ و صفر تا ۰/۸۳۷۸ به دست آوردند.

در کل و با توجه به شاخص‌های به دست آمده مانند هتروزایگوسیتی بالای لوکوس‌های مورد مطالعه می‌توان نتیجه گرفت که این جمعیت دارای تنوع ژنتیکی بالایی می‌باشد. همچنین میزان بالای PIC، He، ne در تحقیق حاضر نشان‌دهنده قابلیت استفاده تعداد زیادی از این

REFERENCES

1. Arora, R., Bhatia, S., Sehrawat, A., Maity, S. B. & Kundu, S. S. (2008), Genetic variability in Jalauni sheep of India inferred from microsatellite data. *Livestock Research for Rural Development*, 20, 1.
2. Bassam, B. J. & Caetano-Anolles, G. (1993), Silver staining of DNA in polyacrylamide gels. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 42, 181-188.
3. Buchanan, F. C. & Theu, T. D. (1998), Intrabreed polymorphic information content of microsatellite in cattle and sheep. *Canadian journal of animal science*, 78, 425-428.
4. Buchanan, F., Littlejohn, R. P., Galloway, S. M. & Crawford, A. M. (1993), microsatellite and associated repetitive elements in the sheep genome. *Mammalian Genome*, 4, 258-264.
5. Daneshyar, P. (2003). *Polymorphism determination of nine microsatellite markers in Baluchi sheep*. M. Sc. Dissertation, Zabol University, Zabol. (In Farsi).
6. Fendereski, A. (2004). *Genetic diversity in Baluchi sheep population using microsatellite markers*. M. Sc. Dissertation, Azad University, Karaj. (In Farsi).
7. Frankham, R., Balllou, J. D. & Brisco, D. A. (2002). *Introduction to conservation genetics*. First published, Cambridge unipress.
8. Ghanbari, S. (2002). *Molecular investigation and polymorphism determination in Baluchi sheep using microsatellite markers*. M. Sc. Dissertation, Zanjan University, Agriculture Faculty, Zanjan. (In Farsi).
9. Hedrick, P. W. (1999). *Genetics of population*. (2nd ed). Jones and Bartlett publishers.
10. Karp, A., Isaac, P. G. & Ingram, D. S. (1998). *Molecular tools for screening biodiversity, plants and animals*. First edition. Chapman and Hall. London.UK.
11. Maddox, J. (2005) *Australian Sheep Gene Mapping*, Department of Veterinary Science, University of Melbourne. From <http://rubens.its.unimelb.edu.au/~jillm/jill.htm>.
12. Maddox, J. F., Davies, K. P., Crawford, A. M., Hulme, D. J., Vaiman, D., Cribiu, E. P., Freking, B. A., Beh, K. J., Cockett, N. E., Kang, N., Riffkin, C. D., Drinkwater, R., Moore, S. S., Dodds, K. G., Lumsden, J. M., van Stijn, T. C., Phua, S. H., Adelson, D. L., Burkin, H. R., Broom, J. E., Buitkamp, J., Cambridge, L., Cushwa, W. T., Gerard, E., Galloway, S. M., Harrison, B., Hawken, R. J., Hiendleder, S., Henry, H. M., Medrano, J. F., Paterson, K. A., Schibler, L., Stone, R.T. & van Hest, B. (2001). An enhanced linkage map of the sheep genome comprising more than 1000 loci. *Genome Research*.
13. Miller, S. A., Dykes, D. D. & Polesky, H. F. (1998). a simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Research*, 16, 1215.
14. Notter, D. R. (1999). the importance of genetic diversity in livestock populations of the future. *Journal of Animal Science*, 77, 161-69
15. Ott, J. (1988-1992). *Program PIC version 1.51 utility programs for detection of polymorphism information content*. From <Ftp://linkage.Rockefeller.Edu/software>.
16. Queller, D. C., Strassmann, J. E. & Hughes, C. R. (1993). Microsatellites and Kinship. *Tree*, 8, 285-288.
17. Sanguinetti, C. J., Neto, E. D. & Simpson, A. J. G. (1994). Rapid silver staining and recovery of PCR product separated on polyacrylamide gels. *Biotechniques*, 17, 915-919.
18. Tomasco, I., Wlasiuk, G. & Lessa, E. P. (2002). Evaluation of polymorphism in ten microsatellite loci in Uruguayan sheep flocks. *Genetics and Molecular Biology*, 25 (1), 37-41.
19. Wier, B. S. (1996). *Genetics data analysis methods for discrete population genetic data*. Sinauer associatios. INC.
20. Yeh, F. C., Yang, R. & Boyle, T. (1999). *Pop Gene version 1.31, Microsoft windows-based free ware for population genetic analysis*, University of Alberta. Edmonton, AB, Canada.
21. Zahedy, Z. (2004). *Investigation of polymorphism on some microsatellite markers in Baluchi sheep*. M. Sc. Dissertation, Agricultural Faculty of Tarbiat Modares University, Tehran. (In Farsi).