نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۲، شماره ۲، سال ۱۳۸۹، ص. ۱۷۷-۱۷۰

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 2, No. 2, 2010, p. 170-177

ارزیابی گوناگونی ژنتیکی در هشت نژاد گوسفند بومی ایران (*اویس آریس*) با بهره گیری از نشانگرهای ای اف ال پی

اکبرخالق زادگان[1*]- سید ضیاالدین میر حسینی[2] - سید محمد فرهاد وحیدی[3] - سید بنیامین دلیر صفت[4] - هادی زارع[5]

تاریخ دریافت: ۸۸/۵/۲۶
تاریخ پذیرش: ۸۸/۱۲/۹

چکیده

در این پژوهش گوناگونی ژنتیکی هشت نژاد گوسفند ایرانی شامل نژادهای لری‌بختیاری، ماکویی، مغانی، تالشی، شال، زندی، نایینی و کلکویی با بکار گیری روش ای اف ال پی بررسی شد. از ۳۰۹ نمونه بررسی شده ۱۲۱ نوار چندشکل فراهم گردید. میانگین هتروزیگویستی درون نژادی بالا و برابر با ۰/۰۲۵۵ ± ۰/۲۷۹۵ و هتروزیگویستی میان نژادی بسیار پایین و برابر با ۰/۰۱۸۴ بدست آمد.کمترین فاصلهٔ ژنتیکی درمیان دو نژاد لری‌بختیاری و ماکویی (۰/۰۱۵۱) و بیشترین فاصلهٔ ژنتیکی در میان دو نژاد لری بختیاری و تالشی (۰/۰۴۸۶) برآورد گردید. جریان ژنی بسیار بالا و برابر با ۷/۵۶۸۵ برآورد شد. نمودار خوشه‌ای بدست آمده از ماتریس تشابه جاکارد و الگوریتم UPGMA چگونگی ارتباط میان تک تک نمونه‌ها را آشکار کرد. تجزیه به مولفه‌های اصلی نیز نشان داد که نمونه‌ها همبستگی بالایی دارند. نمودار خوشه‌ای بدست آمده از ماتریس فاصلهٔ ژنتیکی با روش نااوریب نی(۱۹۷۸) و الگوریتم یو پی جی ام ای با، بازهٔ جغرافیایی و ویژگی‌های فنوتیپی نژادهای بررسی شده همخوانی میانه‌ای داشت که ممکن است بازتابی از کوچ‌های ناشناخته، وجود جریان ژنی و هم خاستگاه بودن این اندوخته‌های ژنتیکی باشد. همچنین در این بررسی هیچ نشانگر ویژه نژادی یافت نشد.

واژه‌های کلیدی: گوسفند ایرانی، نشانگرهای ای اف ال پی، گوناگونی ژنتیکی

مقدمه

پرورش گوسفند در ایران از دیرینگی بالایی برخوردار است. جایگاه رام شدن گوسفند پهنه کرمانشاه، لرستان و دامنه‌های باختری رشته کوه‌های زاگرس می‌باشد. در ایران سه گونهٔ گوسفند وحشی با ۵۴ تا ۵۸ کروموزوم و دست کم ۲۷ نژاد گوسفند اهلی با ۵۴ کروموزوم یافت می‌شود (۱۸و۲۲). این نژادها درگذر سالیان طولانی با ویژگی‌های زیستگاه خویش سازگار شده‌اند و مادهٔ ژنتیکی پایه برای برنامه‌های به نژادی در این زیستگاه‌ها می‌باشند. بهره گیری از گوناگونی ژنتیکی و پاسداشت اندوخته‌های ژنتیکی از کارهای برجستهٔ به نژادی است. آرمان دانش ژنتیک و به نژادی، بهبود بخشیدن به یک توده از دیدگاه ژنتیکی می‌باشد، که دستاورد آن داشتن جمعیت‌هایی است که از پیشینیان خود برترند. برای رسیدن به این آرمان به دو ابزار برجستهٔ گوناگونی و گزینش نیاز می باشد. پس به نژادی به داشتن گوناگونی ژنتیکی وابسته است. امروزه بی توجهی به حفظ اندوخته‌های ژنتیکی منجر به کاهش گوناگونی ژنتیکی در دام‌های بومی گردیده است. از سوی دیگر بکار گیری روش‌های نوین به نژادی نیز باعث شده تا برخی از ژنوتیپ‌های دلخواه گسترش یابند و به همراه آن گوناگونی ژنتیکی کاهش یابد. اگر در ساختار ژنتیکی دام‌ها تغییرات فراوانی پدید آمده باشد امکان بهره گیری از آن‌ها به گونه‌ای چشمگیر کاهش می‌یابد. برای پاسداری از اندوخته‌های ژنتیکی و حفظ گوناگونی ژنتیکی آگاهی از فراسنجه‌های ژنتیکی در، درون و میان توده‌ها ضروری است (۱و۲).

نشانگرهای ملکولی ابزاری سودمند برای بررسی ساختار جمعیتی، پیوندهای ژنتیکی میان نژادها و برآورد فراسنجه‌های ژنتیک توده می‌باشند. پژوهش‌های ملکولی بر روی گوسفندان ایران از دههٔ ۱۹۷۰ میلادی آغاز گردیده است (۲،۱، ۴،۱۰،۱۶و۲۲).

۱، ۲ و ۵ – به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، دانشیار و دانشجوی سابق کارشناسی ارشد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان
(* – نویسنده مسئول: Email: khaleghzadegan@arianquail.com)
۳– مربی پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی شمال کشور
۴– کارشناس ارشد گروه پژوهشی کرم ابریشم، دانشگاه گیلان

ای اف ال پی[1] نیز یکی از روش‌های ملکولی بسیار نیرومند با تکرار پذیری بالا است که توان بررسی چندین جایگاه ژنی را همزمان با هم دارا می‌باشد. در این روش که بوسیلهٔ وس و همکاران گسترش یافت، شماری از تکه‌های برش خوردهٔ دی ان ای به کمک واکنش-های زنجیره‌ای پلیمراز گزینش شده و جدا می‌گردند. چند شکلی بدست آمده برخاسته از جهش‌های ایجاد شده در توالی‌های جایگاه برشی، توالی‌های کناری جایگاه برشی و جهش‌های ایجاد شده در، درون خود تکه‌های برش خورده است (۲۰ و۲۳). با این روش گوناگونی ژنتیکی بزهای ایتالیایی، گاو، مرغ‌های بومی ونیزی، گربه ماهی و توده‌های کرم ابریشم بومی ایران بررسی گردیده است (۶، ۷، ۸،۱۱،۱۳و۱۴).

این پژوهش به دنبال بررسی ساختار جمعیتی، پیوندهای ژنتیکی و گوناگونی ژنتیکی درون و میان هشت نژادگوسفند ایرانی با بکار گیری نشانگرهای ای اف ال پی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

نژادها و نمونه گیری

برای انجام این پژوهش ۳۰۹ نمونه خون از هشت نژاد گوسفند بومی ایران گردآوری شد. نمونه گیری در خاستگاه هر نژاد، از گله های مردمی که دارای فنوتیپ شناخته شده ویژه هر نژاد بودند، از هر دو جنس نر و ماده و بصورت تصادفی انجام گرفت. نمونه‌های نژاد تالشی و شال از شمال، ماکویی و مغانی از شمال باختری، لری-بختیاری از جنوب باختری و نژادهای نایینی، کلکویی و زندی از مرکز ایران گردآوری شدند.

پردازش‌های ملکولی

استخراج دی ان ای به روش نمکی[2] بهینه شده انجام گرفت(۹).گامه‌های انجام ای اف ال پی بر پایهٔ روش وس و همکاران با اندکی دگرگونی انجام گردید (۶ و۲۳). آنزیم‌های برشی *EcoRI* و*TaqI* همچنین سازگارسازها و آغازگرها از بررسی اجمونه و همکاران (۷) که بر روی بزهای ایتالیایی با استفاده از نشانگرهای ای اف ال پی انجام شده است برگرفته شدند (جدول ۱).

از ۲۴ آمیزهٔ آغازگری در دسترس از هفت آمیزه‌ای که بیشترین و آشکارترین چند شکلی را فراهم نمودند برای پیگیری کار بهره گرفته شد (جدول ۲). جداسازی و آشکار کردن نوارها بر روی ژل پلی اکریل آمید واسرشته ساز ۶٪ و با رنگ آمیزی نیترات نقره انجام گرفت (۲۱). رتبه بندی الگوی انگشت نگاری تنها بر روی نوارهای دارای آشکاری بالا در دامنهٔ اندازهٔ ۵۰ تا ۵۰۰ جفت باز و به گونهٔ چشمی انجام گرفت. بودن نوار در یک جایگاه با یک و نبودن آن با صفر نمایش داده شد.

پردازش‌های آماری

پردازش گروهی داده‌ها با بکارگیری نرم افزار POPGene 1.31 و بررسی ساختار جمعیتی نمونه‌ها با نرم افزار NTSYS Pc 2.02 انجام گرفت (۱۹و۲۴). در پردازش گروهی داده‌ها میانگین هتروزیگویستی کل (HT)، میانگین هتروزیگویستی درون نژادی (HS)، ضریب ناهمگونی ژنی (G_{st})، شمار آلل‌های کارآمد (ne)، جریان ژنی (Nm)، فاصلهٔ ژنتیکی نا اوریب نی(۱۹۷۸) و نمودار خوشه ای با بکارگیری الگوریتم UPGMA[3] بررسی گردید (۱۲،۱۷و۲۴).

برای بررسی ساختار جمعیتی، نمودار خوشه‌ای برای تک تک نمونه‌ها با سه الگوریتم پیوند ساده، یو پی جی ام ای و پیوند کامل و سه ضریب همسانی دایس، جاکارد و برابری ساده کشیده شد. برای بررسی نیکویی برازش خوشه بندی بدست آمده ضریب همبستگی کوفنتیک در میان ماتریس کوفنتیک بدست آمده از خوشه بندی هر الگوریتم با ماتریس همسانی سازندهٔ همان خوشه بندی برآورد گردید. روشی که دارای بالاترین ضریب همبستگی کوفنتیک بود برای پیگیری کار برگزیده شد. با بکارگیری روش تجزیه به مولفه‌های اصلی[4] همبستگی میان متغیرهای پایه و نمودارهای ۲ و ۳ بعدی بر پایهٔ سه مولفهٔ نخست بدست آورده شد (۱۵و۱۹).

نتایج و بحث

از ۳۰۹ نمونه بررسی شده با هفت آغازگر ای اف ال پی در دامنه نواری ۵۰ تا ۵۰۰ جفت بازی ۲۳۵ نوار آشکار درخور رتبه بندی بدست آمد که از این میان ۱۱۴ نوار هم شکل و ۱۲۱ نوار چندشکل بودند. بدین سان در الگوی نواری بدست آمده ۵۱/۵ درصد چند شکلی دیده شد. میانگین چند شکلی به ازای هر آغازگر ۳/۹ ± ۱۷/۲۹ و در دامنهٔ ۱۳ تا ۲۲ بود (جدول ۳).

در میان نشانگرها، میانگین ارزش ضریب ناهمگونی ژنی(G_{st}) برابر ۰/۰۶۲۰ بدست آمد، که نشان می‌دهد از کل ناهمگونی ژنی بدست آمده، تنها ۶/۲ درصد آن میان نژادی و ۹۳/۸ درصد آن درون نژادی بوده است. از میان ۱۲۱ جایگاه بررسی شده تنها در ۲۰ جایگاه ناهمگونی ژنی برآورد شده بالاتر از ۱۰٪ بود و از میان آن‌ها نیز تنها در یک جایگاه ناهمگونی ژنی بالاتر از ۳۰٪ و برابر با ۳۴/۸۴ درصد بدست آمد. این یافته نشان می‌دهد که توان نشانگرهای بدست آمده از آغازگرها برای جداکردن نژادها از یکدیگر پایین بوده است (۷). از

1- Amplified Fragment Length Polymorphism(AFLP)
2 - Salting out

3 -Unweighted Pair Group Method With Arithmetic mean
4 - Principal Component Analysis (PCA)

میان هفت آغازگر بکار رفته آمیزهٔ آغازگری E35-T48 ، ۲۲ جایگاه چند شکل را شناسایی کرد که از این میان سه جایگاه ناهمگونی ژنی بالاتر از ۱۰ درصد، یک جایگاه بالاتر از ۲۰ درصد و یک جایگاه نیز ناهمگونی ژنی بالاتر از ۳۰ درصد داشت.

(جدول ۱)- توالی سازگارسازها و آغازگرهای بکار رفته برای پردازش‌های AFLP

	نام	توالی
سازگارساز *EcoRI*	رشته بالایی	**5'**-CTCGTAGACTGCGTACC
	رشته پایینی	**5'**-AATTGGTACGCAGTCTAC
سازگارساز *TaqI*	رشته بالایی	**5'**-GACGATGAGTCCTGAC
	رشته پایینی	**5'**-CGGTCAGGACTCAT
آغازگرهای *EcoRI*	E01	**5'**-GAC TGC GTA CCA ATT C**A**
	E31	**5'**-GAC TGC GTA CCA ATT C**AAA**
	E32	**5'**-GAC TGC GTA CCA ATT C**AAC**
	E35	**5'**-GAC TGC GTA CCA ATT C**ACA**
	E42	**5'**-GAC TGC GTA CCA ATT C**AGT**
	E43	**5'**-GAC TGC GTA CCA ATT C**ATA**
	E45	**5'**-GAC TGC GTA CCA ATT C**ATG**
آغازگرهای *TaqI*	T01	**5'**-GAT GAG TCC TGA CCG A**A**
	T02	**5'**-GAT GAG TCC TGA CCG A**C**
	T32	**5'**-GAT GAG TCC TGA CCG A**AAC**
	T33	**5'**-GAT GAG TCC TGA CCG A**AAG**
	T48	**5'**-GAT GAG TCC TGA CCG A**CAC**
	T50	**5'**-GAT GAG TCC TGA CCG A**CAT**

(جدول ۲)- بیست و چهار ترکیب آغازگری در دسترس. زیر ۷ آغازگر بکار رفته خط کشیده شده است

	آمیزه‌های آغازگری برای نمونه‌های پیش‌گسترش شده با E01/T01		آمیزه‌های آغازگری برای نمونه‌های پیش‌گسترش شده با E01/T02	
آغازگرها	**T32**	**T33**	**T48**	**T50**
E31	E31/T32	E31/T33	**E31/T48**	E31/T50
E32	E32/T32	E32/T33	E32/T48	E32/T50
E35	E35/T32	**E35/T33**	**E35/T48**	E35/T50
E42	**E42/T32**	E42/T33	E42/T48	E42/T50
E43	**E43/T32**	**E43/T33**	E43/T48	E43/T50
E45	**E45/T32**	E45/T33	E45/T48	E45/T50

(جدول ۳)- درصد چند شکلی و ضریب ناهمگونی ژنی بدست آمده از هر آمیزهٔ آغازگری

آمیزه‌های آغازگری	شمار کل نوارها	شمار نوارهای چند شکل	شمار نوارهای هم شکل	درصد چند شکلی	ناهمگونی ژنی ≤ ۰/۱	ناهمگونی ژنی ≤ ۰/۲	ناهمگونی ژنی ≤ ۰/۳
E35-T48	۳۲	۲۲	۱۰	٪۶۸/۷۵	۳	۱	۱
E42-T32	۲۸	۲۱	۷	٪۷۵	۲	۰	۰
E43-T32	۴۰	۲۱	۱۹	٪۵۲/۵	۲	۰	۰
E45-T32	۳۰	۱۶	۱۴	٪۵۳/۳۳	۳	۱	۰
E43-T33	۴۲	۱۴	۲۸	٪۳۳/۳۳	۱	۱	۰
E35-T33	۳۳	۱۴	۱۹	٪۴۲/۴۲	۴	۰	۰
E31-T48	۳۰	۱۳	۱۷	٪۴۳/۳۳	۱	۰	۰
جمع	۲۳۵	۱۲۱	۱۱۴	-	۱۶	۳	۱

از اینرو این آمیزهٔ آغازگری بیشترین توان را برای شناسایی و جداسازی نژادهای بررسی شده دارا می‌باشد (جدول ۳).

شمار جایگاه‌های چند شکل درون نژادها در دامنهٔ ۱۰۰ جایگاه در نژاد زندی تا ۱۱۴ جایگاه در نژاد لری‌بختیاری متغیر بود (جدول ۴). میانگین شمارآلل‌های کارآمد(ne) در هر جایگاه برای همهٔ نژادها و همهٔ آغازگرها برابر با ۰/۰۳ ± ۱/۵۰۵۸ بود که نزدیکی آن به عدد ۲ که شمار آلل واقعی است، نشان دهندهٔ کارایی خوب آلل‌ها در فراهم کردن چند شکلی بالا و برآورد گوناگونی ژنتیکی می‌باشد. کمترین شمار آلل کارآمد در نژاد تالشی(۰/۰۳ ± ۱/۴۴۷۵) و بیشترین آن در نژاد کلکویی(۰/۰۳ ± ۱/۵۰۲۸) بدست آمد. شمار آلل‌های کارآمد در هر جایگاه با هتروزیگویستی همسانی بالایی نشان داد، به گونه‌ای که کمترین شمار آلل کار آمد و هتروزیگویستی درون گروهی(HS) در نژاد تالشی و بیشترین مقدار آن در نژاد کلکویی دیده شد (جدول ۴).

میانگین هتروزیگویستی کل (HT) برابر ۰/۰۰۲ ± ۰/۲۹۷۹ برآورد گردید که از این مقدار میانگین هتروزیگویستی درون نژادی (HS) بسیار بالا و برابر با ۰/۰۰۲ ± ۰/۲۷۹۵ و هتروزیگویستی میان نژادی(Dst) بسیار پایین و برابر با ۰/۰۱۸۴ بدست آمد.

آزادی و بنابازی (۲و۱) نیز که گوناگونی ژنتیکی پنج نژاد گوسفند بومی ایران را به ترتیب با نشانگرهای رپید و ریز ماهواره بررسی کردند سطح هتروزیگوسیتی درون نژادی را بالا گزارش نمودند. آزادی میانگین هتروزیگویستی درون گروهی را در دامنهٔ ۰/۲۲۲۵ در نژاد کردی کردستان تا ۰/۲۴۱۰ در نژاد مغانی گزارش نمود (۱). بنابازی هتروزیگویستی درون نژادی را بسیار بالا و در دامنهٔ ۰/۷۴۴ در نژاد کردی خراسانی تا ۰/۸۴۷ در نژاد مهربان گزارش نمود (۲). زارع نیز که ویژگی‌های ژنتیکی پنج نژاد گوسفند بومی ایران را با بکار گیری نشانگرهای ویژه کروموزوم Y بررسی کرد هتروزیگوسیتی درون گروهی را بالا و در دامنه ۱۹/۷۸ تا ۲۲/۶ درصد و سطح هتروزیگوسیتی میان گروهی را پایین و برابر ۲/۹ درصد گزارش کرد که با یافته های پژوهش کنونی همخوانی دارد (۳).

میانگین جریانی ژنی (Nm) برای همهٔ جایگاه‌ها و همه نژادها بسیار بالا و برابر با ۷/۵۶۸۵ بدست آمد که بیانگر جریان ژنی گسترده ای در میان هشت نژاد بررسی شده می‌باشد. جریان ژنی بدست آمده، بزرگتر از یک می‌باشد که نشان دهندهٔ کم بودن گوناگونی میان نژادی است (۱۲).

زارع (۳) نیز جریان ژنی را بالاتر از یک و برابر با ۳/۳۹ گزارش نمود. این جریان ژنی بالا ناهمسانی میان نژادی را می‌کاهد و نژادها را به سوی یکی شدن پیش می‌برد. بررسی‌ها و پرس و جوهای بومی در زیستگاه هر نژاد نیز نشان داد که قوچهای نژادهای گوناگون به گستردگی در میان گله‌ها و استان‌های مختلف جابجا می‌شوند.

در دو دههٔ گذشته و به ویژه در سال‌های کم باران برخی از گله داران با انگیزه‌های مالی و برای بدست آوردن درآمد بیشتر به ویژه در نژادهای ریز اندام از قوچهای درشت اندام نژادهای دیگر برای آمیخته گری در گله‌های خود بهره گرفته‌اند.گستردگی و چگونگی این روند مهار شده نبوده و هیچ گونه آگاهی نیز از کارایی و کامیابی این آمیخته‌ها در دسترس نمی‌باشد (۵).

فاصلهٔ ژنتیکی با روش نااوریب نی (۱۹۷۸) نیز در میان نژادها بسیار پایین بدست آمد. کمترین فاصلهٔ ژنتیکی میان دو نژاد لری بختیاری و ماکویی(۰/۰۱۵۱) و بیشترین آن در میان دو نژاد لری-بختیاری و تالشی(۰/۰۴۸۶) برآورد گردید که نشان می‌دهد ناهمسانی میان نژادها بسیار کم است (جدول ۵).

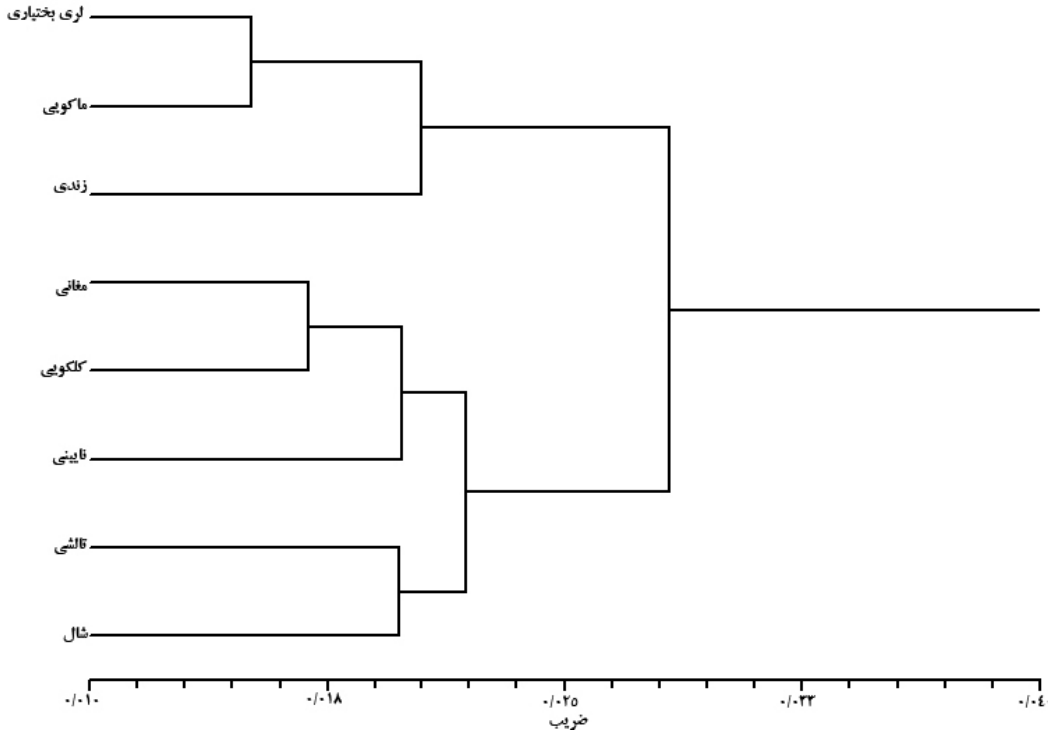
عصفوری نیز با کمک نشانگرهای پروتیینی فاصلهٔ ژنتیکی را در میان ۱۰ نژاد گوسفند بومی ایران پایین و در دامنهٔ ۰/۰۰۳۶ تا ۰/۰۳۴۹۸ گزارش نمود(۴). آزادی نیز فاصلهٔ ژنتیکی را در میان پنج نژاد گوسفند بررسی شده پایین و در دامنهٔ ۰/۰۲۷۰۳ تا ۰/۰۴۲۹۸ گزارش نمود (۱).

(جدول ٤)- شمار جایگاه‌های چند شکل، میانگین± انحراف معیار آلل کار آمد و میانگین± انحراف معیار هتروزیگوسیتی در هر نژاد

میانگین هتروزیگوسیتی درون نژادی	میانگین آلل کار آمد در هر نژاد	شمار جایگاه‌های چند شکل در هر نژاد	شمار نمونه در هر نژاد	نژاد
/۲۹۱۵± ۰/۰۱	۱/۴۹۱۸± ۰/۰۳	۱۱۴	۴۰	لری‌بختیاری
/۲۸۱۳± ۰/۰۱	۱/۴۷۷۶± ۰/۰۳	۱۰۵	۳۸	نایینی
/۲۹۱۶± ۰/۰۱	۱/۵۰۲۸± ۰/۰۳	۱۰۵	۳۷	کلکویی
/۲۸۰۷± ۰/۰۱	۱/۴۸۰۳± ۰/۰۳	۱۰۴	۴۰	مغانی
/۲۶۵۱± ۰/۰۱	۱/۴۴۹۴± ۰/۰۳	۱۰۴	۳۸	شال
/۲۷۵۰± ۰/۰۱	۱/۴۶۸۳± ۰/۰۳	۱۰۳	۴۰	ماکویی
/۲۶۳۰± ۰/۰۱	۱/۴۴۷۵± ۰/۰۳	۱۰۳	۳۸	تالشی
/۲۸۷۴± ۰/۰۱	۱/۴۹۸۸± ۰/۰۳	۱۰۰	۳۸	زندی
-	-	-	۳۰۹	جمع

(جدول ۵)- ماتریس فاصلهٔ ژنتیکی نااوریب نی (۱۹۷۸). آرایه‌های بالای قطر شباهت‌ها و پایین قطر تفاوت‌های میان نژادها را نشان می‌دهد

نژادها	لری بختیاری	ماکویی	مغانی	تالشی	شال	زندی	نایینی	کلکویی
لری بختیاری	۰	۰/۹۸۵۰	۰/۹۷۸۶	۰/۹۵۲۶	۰/۹۶۷۲	۰/۹۸۱۰	۰/۹۶۶۹	۰/۹۷۵۷
ماکویی	۰/۰۱۵۱	۰	۰/۹۸۳۲	۰/۹۷۱۳	۰/۹۷۸۶	۰/۹۷۸۵	۰/۹۸۰۸	۰/۹۷۷۷
مغانی	۰/۰۲۱۶	۰/۰۱۷۰	۰	۰/۹۸۰۳	۰/۹۸۱۵	۰/۹۷۳۷	۰/۹۸۰۶	۰/۹۸۳۳
تالشی	۰/۰۴۸۶	۰/۰۲۹۱	۰/۰۱۹۹	۰	۰/۹۸۰۴	۰/۹۵۵۵	۰/۹۷۸۴	۰/۹۷۲۸
شال	۰/۰۳۳۳	۰/۰۲۱۶	۰/۰۱۸۷	۰/۰۱۹۸	۰	۰/۹۶۳۲	۰/۹۷۹۴	۰/۹۷۷۹
زندی	۰/۰۱۹۲	۰/۰۲۱۸	۰/۰۲۶۷	۰/۰۴۵۵	۰/۰۳۷۵	۰	۰/۹۷۶۳	۰/۹۸۰۸
نایینی	۰/۰۳۳۷	۰/۰۱۹۴	۰/۰۱۹۶	۰/۰۲۱۹	۰/۰۲۰۸	۰/۰۲۴۰	۰	۰/۹۸۰۱
کلکویی	۰/۰۲۴۶	۰/۰۲۲۶	۰/۰۱۶۹	۰/۰۲۷۶	۰/۰۲۲۴	۰/۰۱۹۴	۰/۰۲۰۱	۰



(شکل ۱)- نمودار خوشه‌ای بدست آمده از الگوریتم UPGMA و ماتریس فاصلهٔ ژنتیکی نااوریب نی (۱۹۷۸)

ولی بنابازی فاصلهٔ ژنتیکی را در میان پنج نژاد گوسفند بررسی شدهٔ بسیار بالا و در دامنهٔ ۰/۱۸۰ تا ۰/۵۵۹ گزارش کرد که با یافته‌های این پژوهش و دو پژوهش پیشین همخوانی ندارد (۲). با توجه به این که نژادهای بررسی شده بوسیلهٔ آزادی و بنابازی یکسان هستند این اختلاف چشمگیر می‌تواند به دلیل تفاوت‌های سرشتی نشانگرهای بکار رفته باشد. زارع نیز فاصله ژنتیکی میان پنج نژاد مورد بررسی را پایین و در دامنه ۰/۰۲۴ تا ۰/۰۵۸ و همسانی میان نژادها را بسیار بالا گزارش نمود (۳).

نمودار خوشه‌ای بدست آمده با الگوریتم UPGMA نژادها را در دو دستهٔ بزرگ جای داد. دستهٔ نخست دربرگیرندهٔ سه نژاد لری بختیاری، ماکویی و زندی و دسته دوم در برگیرندهٔ پنج نژاد مغانی، کلکویی، نایینی، تالشی و شال بود (شکل ۱). این درخت با ویژگی‌های فنوتیپی نژادها و بازهٔ جغرافیایی میان آن‌ها همخوانی میانه‌ای دارد.

در نمودار خوشه‌ای بدست آمده دو نژاد شال و تالشی در یک دسته و در کنار هم جای گرفتند اگرچه این دو نژاد از دیدگاه فنوتیپی تفاوت‌ها چشمگیری با هم دارند ولی این یافته با، بازهٔ جغرافیایی میان آن‌ها همخوانی دارد. دو نژاد نایینی و کلکویی نیز در کنار یکدیگر جای گرفتند که با، بازهٔ جغرافیایی میان آن‌ها و همچنین با ویژگی‌های فنوتیپی آن‌ها همخوانی بالایی دارد. دو نژاد ماکویی و لری‌بختیاری نیز در یک دسته و در کنار هم جای گرفتند که با ویژگی‌های جغرافیایی ناسازگار است و تنها اندکی با ویژگی‌های

فنوتیپی همخوانی دارد. ناسازگارترین نژاد در این دسته بندی نژاد زندی است که جایگاه آن هم با ویژگی‌های جغرافیایی و هم با ویژگی های فنوتیپی بسیار ناسازگار است. نژاد زندی کوچک اندام و دارای بدن رنگی است ولی در کنار دو نژاد سنگین وزن و سپید رنگ لری-بختیاری و ماکویی جای گرفته است. درگزارش عصفوری دو نژاد ماکویی و مغانی در یک دسته و در کنار هم جای گرفته‌اند (۵). ولی در این پژوهش نژاد زندی در میان این دو جای گرفته و آن‌ها را از هم جدا کرده است. برای بررسی ساختار جمعیتی داده‌ها ضریب همبستگی کوفنتیک میان ماتریس‌های همسانی دایس، جاکارد و برابری ساده با آزمون مانتل بدست آمد. از این میان ماتریس جاکارد بالاترین ضریب همبستگی کوفنتیک را داشت و از آن برای خوشه بندی تک تک نمونه‌ها بهره گرفته شد (جدول ۶).

خوشه بندی با سه الگوریتم پیوند ساده، یو پی جی ام ای و پیوند کامل بوسیلهٔ ماتریس همسانی جاکارد انجام گرفت. ضریب همبستگی کوفنتیک میان هر سه الگوریتم خوشه بندی و ماتریس همسانی جاکارد بدست آمد که در هر سه روش کمتر از ۷۰٪ بود و نشان می-دهد که نیکویی برازش هر سه روش پایین است (۱۵). از این میان الگوریتم یو پی جی ام ای بالاترین ضریب همبستگی کوفنتیک را داشت و خوشه بندی آن بررسی گردید (جدول ۷).

خوشه بندی تک تک نمونه‌ها با ماتریس همسانی جاکارد و الگوریتم یو پی جی ام ای نشان داد که افراد درون هر نژاد بجای آن که به خوشه بندی شدن با یکدیگر گرایش داشته باشند به پراکنده شدن و دسته بندی شدن با افراد نژادهای دیگر گرایش نشان می دهند.

تجزیه به مولفه‌های اصلی نیز همبستگی بالای میان نمونه‌ها را آشکار کرد به گونه‌ای که سه، مولفهٔ نخست ۵۷/۴۵ درصد از کل تغییرات را توجیه می‌کنند. از این میان مولفهٔ نخست ۵۳/۹۷۵۳ ، مولفهٔ دوم ۲/۰۶۹۰ و مولفهٔ سوم ۱/۴۰۲۷ درصد از تغییرات را توجیه کردند.

در نمودار ۲ بعدی بدست آمده از تجزیه به مولفه‌های اصلی نیز انباشتگی بالایی دیده شد و هیچ گونه گروه بندی ویژه‌ای نیز یافت نشد (شکل ۲). این یافته با نمودار خوشه‌ای بدست آمده همسان است و به خوبی همبستگی بالای این هشت نژاد را نشان می‌دهد.

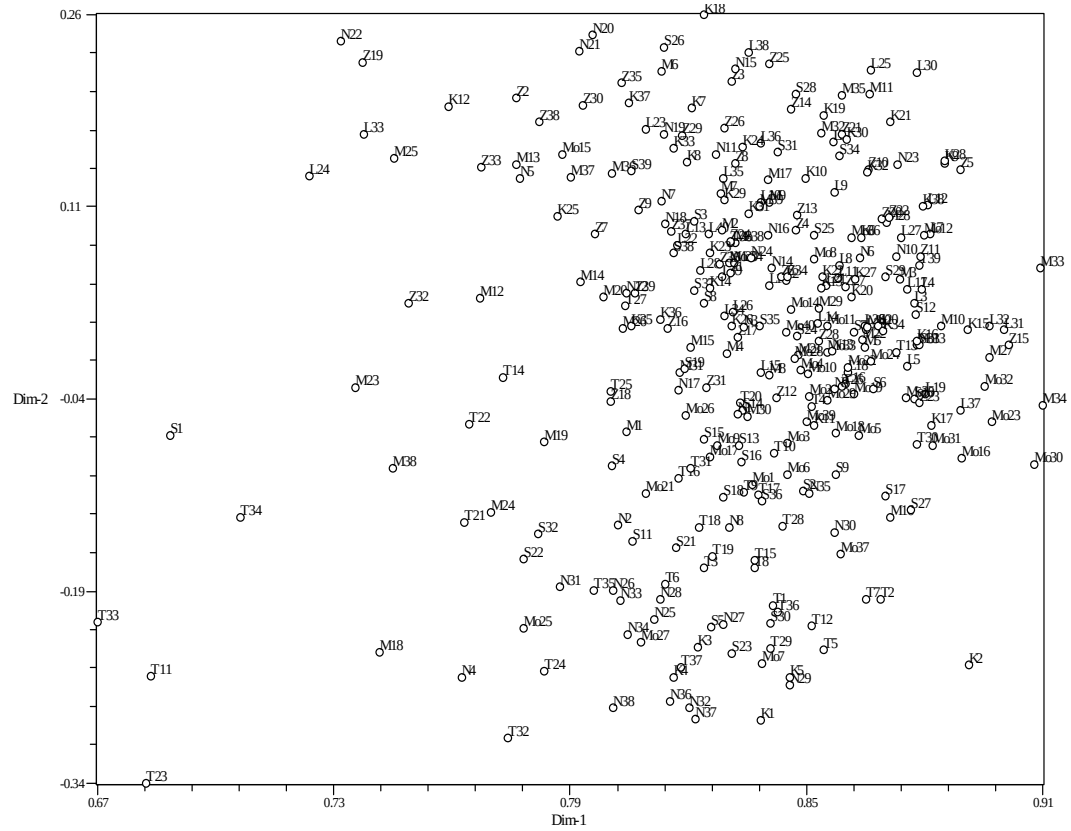
اگر گوناگونی ژنتیکی میان نژادها از بین برود دیگر نمی‌توان آن را بازسازی نمود. هرچند که نتایج بدست آمده در این پژوهش می‌تواند تحت تأثیر روش نمونه گیری تصادفی، کم بودن شمار نمونه‌های مورد بررسی، کم بودن شمار آغازگرهای بکار رفته و سرشت نشانگر بکار گرفته شده قرار گیرد ولی این یافته‌ها هشدار می‌دهد که گوناگونی ژنتیکی میان گوسفندان بومی ایران بسیار اندک است و این نژادها به سوی یکی شدن پیش می‌روند و ادامهٔ این روند به نابودی اندوخته‌های ژنتیکی خواهد انجامید.

(جدول ٦)- ضریب همبستگی کوفنتیک میان ماتریس‌های همسانی بکار رفته

	ماتریس همسانی با ضریب جاکارد	ماتریس همسانی با ضریب دایس	ماتریس همسانی با ضریب برابری ساده
ماتریس همسانی با ضریب جاکارد	۱	-	-
ماتریس همسانی با ضریب دایس	r = ۰/۹۹۷۸۳	۱	-
ماتریس همسانی با ضریب برابری ساده	r = ۰/۹۱۲۱۰	r = ۰/۹۰۷۱۸	۱

(جدول ۷)- ضریب همبستگی کوفنتیک میان ماتریس همسانی جاکارد و سه الگوریتم خوشه بندی بکار رفته

	الگوریتم پیوند ساده	الگوریتم یو پی جی ام ای	الگوریتم پیوند کامل
ماتریس همسانی با ضریب جاکارد	r = ۰/۶۳۰۷۲	r = ۰/۶۶۰۰۱	r = ۰/۳۰۵۲۴



(شکل ۲)- نمودار ۲ بعدی بدست آمده از تجزیه به مولفه‌های اصلی. K نمونه‌های کلکویی، L لری‌بختیاری، M ماکویی، Mo مغانی، N نایینی، S شال، T تالشی، Z زندی

منابع

۱- آزادی، س. ا. ۱۳۷۸. بررسی تنوع ژنتیکی ۵ نژاد گوسفند ایرانی (سنجابی، کردی خراسان، مهربان، مغانی و کردی کردستان) با استفاده از مارکرهای RAPD. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشکده کشاورزی. دانشگاه تبریز.

۲- بنابازی، م. ح. ۱۳۸۱. بررسی تنوع ژنتیکی در درون و بین پنج جمعیت گوسفند ایرانی با استفاده از نشانگرهای ریز ماهواره. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشکده کشاورزی. دانشگاه تهران.

۳- زارع، ه. ۱۳۸۶. تجزیه و تحلیل چند شکلی حاصل از نشانگرهای ریز ماهواره مختص کروموزوم Y در ۵ نژاد گوسفند ایرانی. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشکده کشاورزی. دانشگاه گیلان.

۴- عصفوری، ر. ۱۳۷۶. مارکرهای ژنتیکی در ده نژاد از گوسفندان بومی ایران. مجله پژوهش و سازندگی. ۳۴: ۱۶۵.

۵- وطن خواه، م.، م. مرادی شهر بابک، ا. نجاتی جوارمی، س. ر. میرایی آشتیانی، و ر. واعظ ترشیزی. ۱۳۸۳. مروری بر اصلاح نژاد گوسفند در ایران. مجموعه مقالات اولین کنگره علوم دامی و آبزیان کشور. دانشکده‌های کشاورزی و منابع طبیعی. دانشگاه تهران.

6- Ajmone-Marsan, P., A. Valentini, M. Cassandro, G. Vecchiotti-Antaldi, G. Bertoni, and M. Kuiper. 1997. AFLP™ markers for DNA fingerprinting in cattle. *Animal Genetics*. 28: 418.

7- Ajmone-Marsan, P., R. Negrini, P. Crepaldi, E. Milanesi, C. Gorni, A. Valentini, and M. Cicogna. 2001. Assessing genetic diversity in Italian goat populations using AFLP® markers. *Animal Genetics*. 32: 281.

8- Ajmone-Marsan, P., R. Negrini, E. Milanesi, R. Bozzi, I. J. Nijman, J. B. Buntjer, A. Valentini, and J. A. Lenstra. 2002. Genetic distances within and across cattle breeds as indicated by biallelic AFLP markers. Animal Genetics. 33: 280.

9- Anonymous. 2005. Blood protocol. www.ilri.org.

10- Bunch, T. D., and W. C. Foote. 1976. Chromosomes, hemoglobins and transferring of Iranian domestic sheep. J Hered. 67(3):167.

11- De Marchi, M., C. Dalvit, C. Targhetta, and M. Cassandro. 2005. Assessing genetic diversity in indigenous Veneto chicken breeds using AFLP markers. *Animal Genetics*. 35:1.
12- McDermott, J. M., and B. A. McDonald. 1993. Gene flow in plant pathosystems. Annu. Rev. Phytopathol. 31:353.
13- Mickett, K., C. Morton, J. Feng, P. Li, M. Simmons, D. Cao, R. D. Dunham, and Z. Liu. 2003. Assessing genetic diversity of domestic population of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) in Alabama using AFLP markers. Aquaculture. 228:91.
14- Mirhoseini, S. Z., S. B. Dalirsefat, and M. Pour Khairandish. 2007. Genetic Characterization of Iranian *Bombyx mori* strains by using amplified fragment length polymorphism markers. Econ. Entomol. 100(3): 939.
15- Mohammadi, S. A., and B. M. Prasanna. 2003. Analysis of genetic diversity in crop plant-salient ststistical tools and considerations. Crop Sci. 43:1235.
16- Nadler, C. F., L. Deutsch, and D. M. Lay. 1974. Isoenzyme comparisons of wild Iranian sheep (*Ovis Linnaeus*). Comp Biochem Physiol *B*. 53(1):123.
17- Nei, M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. Proceedings of the National Academy of Science USA. 70(12):3321.
18- Piper, L., and A. Ruvinsky. 1997. The genetic of sheep. CAB International.
19- Rohlf, F.J. 1992. Program numerical taxonomy and multivariate analysis system, version 2.02e. New York.
20- Savelkoul, P. H. M., H. J. M. Aarts, J. Haas, L. Dijkshoorn, B. Duim, M. Otsen, J. L. W. Rademaker, L. Schouls, and J. A. Lenstra. 1999. Amplified fragment length polymorphism analysis: the state and art. Journal of clinical microbiology. 37(10): 3083.
21- Silver sequence™ DNA sequencing system technical manual NO.023. www.promega.com.
22- Valdez, R., C. F. Nadler, and T. D. Bunch. 1978. Evolution of wild sheep in Iran. *Evolution*. 32(1):56.
23- Vos, P., R. Hogers, M. Bleeker, M. Reijans, T. Lee, M. Hornes, A. Frijters, J. Peleman, M. Kuiper, and M. Zabeau. 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research*. 23(21):4407.
24- Yeh, F. C., R. C. Yang, and T. Boyle. 1999. POPGENE version 1.31: Microsoft window-based freeware for population genetic analysis. University of Alberta, Edmonton, Alberta, Canada.