نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۵، شماره ۱، بهار ۱۳۹۲، ص. ۶۱-۵۶

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 5, No. 1, Spring 2013, p. 56-61

بررسی تنوع ژنتیکی چهار جایگاه میکروساتلایت BMS1915، BMS1350، LGB و ILSTS45 در گوسفندان نژاد بلوچی

رضا ولی زاده[۱]- محمدرضا نصیری[۲*]- علی اصغر اسلمی نژاد[۳]- غلام داشاب[۴]- داوود علی ساقی[۵]- مریم قلی زاده[۶]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۲/۱۵
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۳/۳۰

چکیده

در این مطالعه چندشکلی ۴ جایگاه میکروساتلایتای LGB،BMS1350،BMS1915 و ILSTS45 به منظور تعیین سطح تنوع در جمعیت گوسفندان بلوچی مورد بررسی قرار گرفت. نمونه خون از ۱۸۵ گوسفند نژادبلوچی واقع در ایستگاه اصلاح نژاد عباس آباد مشهد تهیه شد. استخراج DNA با روش گوانیدین تیوسیانات – سیلیکاژل انجام شد. قطعات ژنی مربوط به جایگاه‌های میکروساتلایتای با استفاده از واکنش‌های زنجیره‌ای پلی‌مراز و براساس روش استاندارد تکثیر شدند. محصولات واکنش PCR با استفاده از ژل پلی آکریل آمید ۸٪ و رنگ آمیزی با روش نیترات نقره مورد بررسی قرار گرفت. اندازه آلل‌ها با استفاده از نرم افزار Photo-Capt خوانده شدند. انحراف از تعادل هاردی- واینبرگ در هیچ‌کدام از جایگاه‌های مورد مطالعه مشاهده نشد. (P<۰/۰۰۵). آلل E در جایگاه BMS1915 با فروانی ۰/۵۳، آلل D در جایگاهBMS1350 با فراوانی ۰/۷۱، آلل B در جایگاه LGB با فراوانی ۰/۷۸و آلل A در جایگاه ILSTS45 با فراوانی ۰/۹۱دارای بیشترین فراوانی بودند. دامنه هتروزیگوسیتی از ۰/۸۳ در جایگاه LGB تا ۰/۹۱ در جایگاه BMS1350 متغییر بود. بیشترین مقدار شاخص شانون، ۲/۰۵ مربوط به جایگاه BMS1350 و کمترین مقدار، ۱/۶۵ مربوط به جایگاه LGB بود. با توجه به نتایج به دست آمده از این پژوهش و سایر پژوهش هایی که بر روی این نژاد انجام شده است می توان بیان کرد که با وجود انجام فعالیت‌های اصلاح نژادی در سال های گذشته، جمعیت گوسفندان بلوچی مورد بررسی، از تنوع ژنتیکی بالایی برخوردار هستند.

واژه های کلیدی: چندشکلی، گوسفند بلوچی، نشانگر میکروساتلایت، تنوع ژنتیکی

مقدمه

گوسفند بلوچی در مقایسه با سایر نژادها از پرجمعیت ترین نژادهای گوسفند در ایران به شمار می رود که در بخش‌های وسیعی از کشور شامل نواحی مرکزی و جنوبی استان خراسان، سیستان و بلوچستان، یزد و کرمان پرورش داده می‌شود. گوسفند بلوچی نژادی پشمی- گوشتی است و بسته به منطقه پراکندگی، به نام‌های منگالی، کرمانی، نائینی، یزدی، عراقی و کلکویی شناخته می شود. این نژاد پرجمعیت ترین گوسفند استان خراسان نیز می باشد و بالغ بر ۶۵ درصد کل گوسفندان این استان را تشکیل می دهد (۱). از ویژگی‌های این نژاد می توان به مقاومت بالا به شرایط سخت محیطی، نرخ بالای دوقلوزایی (۱۵-۱۰ درصد) و کیفیت بالای پشم این نژاد اشاره کرد که بر اهمیت آن در بین دیگر نژادها افزوده است. بدین لحاظ، انجام مطالعات ژنتیکی با استفاده از نشانگرهای مولکولی بر روی این نژاد ضروری به نظر می‌رسد. امروزه امکان شناسایی سریع و دقیق ژن‌های کنترل کننده صفات تولیدی با استفاده از تکنولوژی نشانگرهای DNA فراهم شده است. با بهره‌گیری از نشانگرهای میکروساتلایتای علاوه بر افزایش دقت، سرعت اجرای برنامه‌های آزمون نتاج و به گزینی نیز افزایش می‌یابد که از نقطه نظر اقتصادی و کاربردی حائز اهمیت زیادی می‌باشد (۷). میکروساتلایت‌ها کوتاه‌ترین توالی‌های تکراری (۱ تا ۶ جفت بازی) می‌باشند که تعداد واحد تکرارشونده در هر محل از تنها چند باز تا حدود ۳۰ باز متفاوت است. ریزماهواره‌ها بسیار فراوان بوده و در سرتاسر ژنوم منتشر می‌باشند (۲۵). طول فرآورده PCR میکروساتلایت‌ها مطابق با تعداد واحد تکرارشونده در آن محل متفاوت است. جایگاه‌های آغاز[۷] برای واکنش

۱، ۲، ۳ و ۶- به ترتیب استاد، دانشیاران و دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
(*- نویسنده مسئول: Email: nassiryr@gmail.com)
۴- استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل
۵- عضو هیات علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی، مشهد

7- Priming sites

زنجیره‌ای پلیمراز معمولاً در بین اعضای گونه‌های مرتبط حفاظت شده می‌باشند که این امر امکان مقایسه گونه‌ها را از نظر تکاملی بر اساس اندازه تکرارها فراهم می‌کند (۱۱). در دهه گذشته نشانگرهای میکروساتلایت بسیار مورد توجه قرارگرفته‌اند ودانشمندان دریافتند که این توالی‌ها، نشانگرهای مولکولی مفیدی برای آنالیزهای ژنتیکی می‌باشند (۹، ۱۴ و ۲۵).

علت اصلی کاربرد وسیع این نشانگرها قدرت آن‌ها درتجزیه وتحلیل‌های جمعیتی وهمچنین مطالعات اکولوژیکی می‌باشد (۲۶). این نشانگرها به سبب چند شکلی بالا، قابلیت رتبه‌دهی آسان، مقدار پایین DNA مورد نیاز، پراکندگی در سرتاسر ژنوم (۴)، کم هزینه بودن، تعیین ژنوتیپ آسان و هم بارز بودن امکان انجام مطالعات سریع و دقیق را بر روی گوسفند فراهم آورده است (۱). در مطالعه ای که توسط جیلیان و همکاران در ۲۰۰۱سال انجام شد، ۱۰۰۰ جایگاه از جمله مارکرBMS1915 به منظور ارائه یک نقشه ژنی پیشرفته از ژنوم گوسفند مورد استفاده قرار گرفت. همچنین در مطالعه‌ای که هاردنبرگ و همکارانش در سال ۲۰۰۷ به منظور بررسی اثرات ژنتیکی وابسته به سن در صفات ثانویه جنسی در بزهای کوهی بر روی ۳۹ نشانگر میکروساتلایتی انجام دادند از نشانگر BMS1350 نیز استفاده کردند.رانجیت و همکاران نیز در سال ۲۰۱۰ با استفاده از ۲۵ نشانگر میکروساتلایتی از جمله ILSTS45 مطالعه‌ای بر روی بوفالوهای رودخانه هند انجام دادند. در پژوهشی دیگر که در آن از یکی از نشانگرهایی که ما در اینجا مورد بررسی قرار داده‌ایم، استفاده کرده‌اند، وایمن و همکاران در سال ۱۹۹۴ می‌باشند که به منظور تعیین نقشه ژنتیکی و فیزیکی کروموزوم ۱۱ گاو نشانگر LGBرا به همراه ۱۲ نشانگر دیگر مورد مطالعه قرار دادند. هدف از مطالعه ما بررسی سطح تنوع ژنتیکی ۴ جایگاه میکروساتلایت‌ای BMS1915 ،BMS1350،LGBوILSTS45در گوسفندان بلوچی واقع در ایستگاه اصلاح نژاد دام شمال شرق کشور می‌باشد که با وجود مطالعات مختلف در سال های اخیر بر روی گوسفندان بلوچی با استفاده از نشانگرهای میکروساتلایت تاکنون هیچ پژوهشی در زمینه بررسی و مطالعه سطح چند شکلی ژنتیکی این جایگاه‌ها در این جمعیت انجام نشده است.

مواد و روش ها

تعداد ۱۸۵ نمونه خون از گوسفندان بلوچی واقع در مرکز اصلاح نژاد شمال شرق کشور (ایستگاه عباس آباد)، ۲ در لوله‌های حاوی ماده ضدا نعقاد EDTA جمع‌آوری شد. سپس نمونه‌ها تا زمان انجام آزمایش اتدردمای ۲۰- نگهداری شدند. استخراج DNA به روش گوانیدین تیوسیانات – سیلیکاژل با استفاده از کیت DIATOM DNA PREP محصول شرکت ایزوژن روسیه طبق دستور العمل شرکت سازنده صورت گرفت. برای تعیین کمیت و کیفیت DNA استخراج شده از روش ND-2000 نانودراپ اسپکتروفوتومتر استفاده شد. جایگاه های مورد مطالعه روی کروموزم ۳ قرار دارند. توالی آغازگرها برای سه جایگاه از سایت Sheep QTL Database و برای جایگاه BMS1915 با استفاده از نرم افزار Primer Premier v5 طراحی (۲۸) و ساخت پرایمرها توسط شرکت با یونیر کره شمالی (Bioneer; South Korea) انجام شد. توالی پرایمر هر جایگاه، جایگاه ژنی آن ها و طول قطعات تکثیر شده در جدول ۱ نمایش داده شده است.

واکنش PCR به کمک کیت لئوفلیزه Genepak Universal PCR (شرکت IsoGene، روسیه) و در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر در دستگاه ترموسایکلر Biometra مدل T-personal (;Biometra Germany) انجام شد. ترکیبات مورد استفاده در واکنش عبارت بود از یک واحد آنزیم Taq Polymerase، ۲۰ میکرومول از هر dNTP، ۲۰۰ میلی مول MgCl2، ۲۰-۱۰ پیکومول مخلوط پرایمرها، ۱۰۰-۵۰ نانوگرم DNA و بافر استاندارد. الکتروفورز و تفکیک محصولات PCR با استفاده از ژل آکریل آمید ۸٪ انجام شد. رنگ آمیزی به روش نیترات نقره انجام شد.

جدول ۱- توالی پرایمر هر جایگاه، جایگاه ژنی آن ها و طول قطعات تکثیر شده

جایگاه ژنی	شماره کروموزوم	طول قطعات تکثیر شده	توالی آغازگر (3' → 5')	Publication ID	منبع
BMS1350	۳	۱۱۶-۱۴۴	GTGGTAATCGGAAAATGCAA ACTGTTGGGAGAATCACATTTC	9501303	Sheep QTLdb
ILSTS45	۳	۱۶۰-۱۸۰	TTCTGGCAAACTATTCCACC CATGAAAGACACAGATGACC	11435411	Sheep QTL db
LGB	۳	۲۱۰-۲۲۰	TGTGCTGGACACCGACTACAAA AAG GCTCCCGGTATATGACCACCCTC T	11435411	Sheep QTL db
BMS1915	۳	۸۷-۹۷	CCAGTGGGTCAAAGATCTGTATT C TAATGTAGGAGGTTGGGGTAA	11435411	-

جدول ۲- برنامه حرارتی واکنش زنجیره ای پلی مراز برای هر جایگاه

		BMS1350	ILSTS45	LGB	BMS1915
برنامه حرارتی (°C / sec)	واسرشته سازی اولیه	۹۵/۱۸۰	۹۵/۳۰۰	۹۵/۳۰۰	۹۵/۳۰۰
	۱- دمای واسرشته‌سازی	۹۵ / ۳۰	۹۵ / ۴۵	۹۴ / ۴۵	۹۶ / ۳۰
	۲- دمای اتصال آغازگرها	۵۱ / ۴۵	۵۱ / ۴۰	۵۵ / ۴۰	۵۴/۵ / ۴۵
	۳- بسط آغازگرها	۷۲ / ۳۰	۷۲ / ۴۰	۷۲ / ۴۰	۷۲ / ۳۰
	تعداد چرخه‌ها	۳۳	۳۳	۳۳	۳۳
	بسط نهایی	۷۲/۳۰۰	۷۲/۳۰۰	۷۲/۳۰۰	۷۲/۳۰۰

جدول ۳- تعداد آلل واقعی و موثر، هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار، مقدارمحتوی اطلاعات چند شکل، شاخص شانون در هر جایگاه میکروستالایت

جایگاه ژنی	تعدادآلل در هر لوکوس N	تعدادآل‌های موثر Ne	هتروزیگوسیتی مشاهده شده (H_o)	هتروزیگوسیتی مورد انتظار (H_e)	محتوی چند شکلی (PIC)	Shannon index
BMS1350	۱۱	۶/۴۵۲۱	۰/۹۸۰۷	۰/۷۹۴۶	۰/۷۸۲۷	۲/۰۸۷۰
ILSTS45	۷	۵/۲۰۲۹	۰/۸۷۵۰	۰/۶۷۹۸	۰/۷۴۸۲	۱/۷۰۵۷
LGB	۴	۴/۱۱۶۳	۰/۳۶۱۷	۰/۵۶۲۱	۰/۷۴۳۸	۱/۴۴۷۶
BMS1915	۶	۴/۹۲۸۹	۰/۸۴۹۳	۰/۷۷۷۳	۰/۷۶۱۵	۱/۸۱۳۰
میانگین	۷	۵/۱۷۵۰	۰/۷۶۶۶	۰/۷۰۳۴	۰/۷۵۸۸	۱/۷۶۳۳

اندازه قطعات به دست آمده با استفاده از نرم افزار Photo-Capt[UVI03973] (۲۹) با دقت بسیار بالایی تعیین گردید. پارامترها و شاخص‌های آماری از قبیل تعداد آلل در هر لوکوس(N)، تعداد آلل موثر (Ne)، هتروزیگوسیتی مشاهده شده(Ho)، هتروزیگوسیتی مورد انتظار (He) با استفاده از نرم افزار Arlequin3.1 (۹) و شاخص شانون با استفاده از نرم افزار POPGENE (۳۰) محاسبه شدند. شاخص محتوی چند شکل (PIC) با استفاده از نرم افزار HET برآوردشد (۲۶). تمام ۴ جایگاه از نظر انحراف از تعادل هاردی- واینبرگ به کمک آزمون کای مربع (χ^2)[1] مورد بررسی قرار گرفتند.

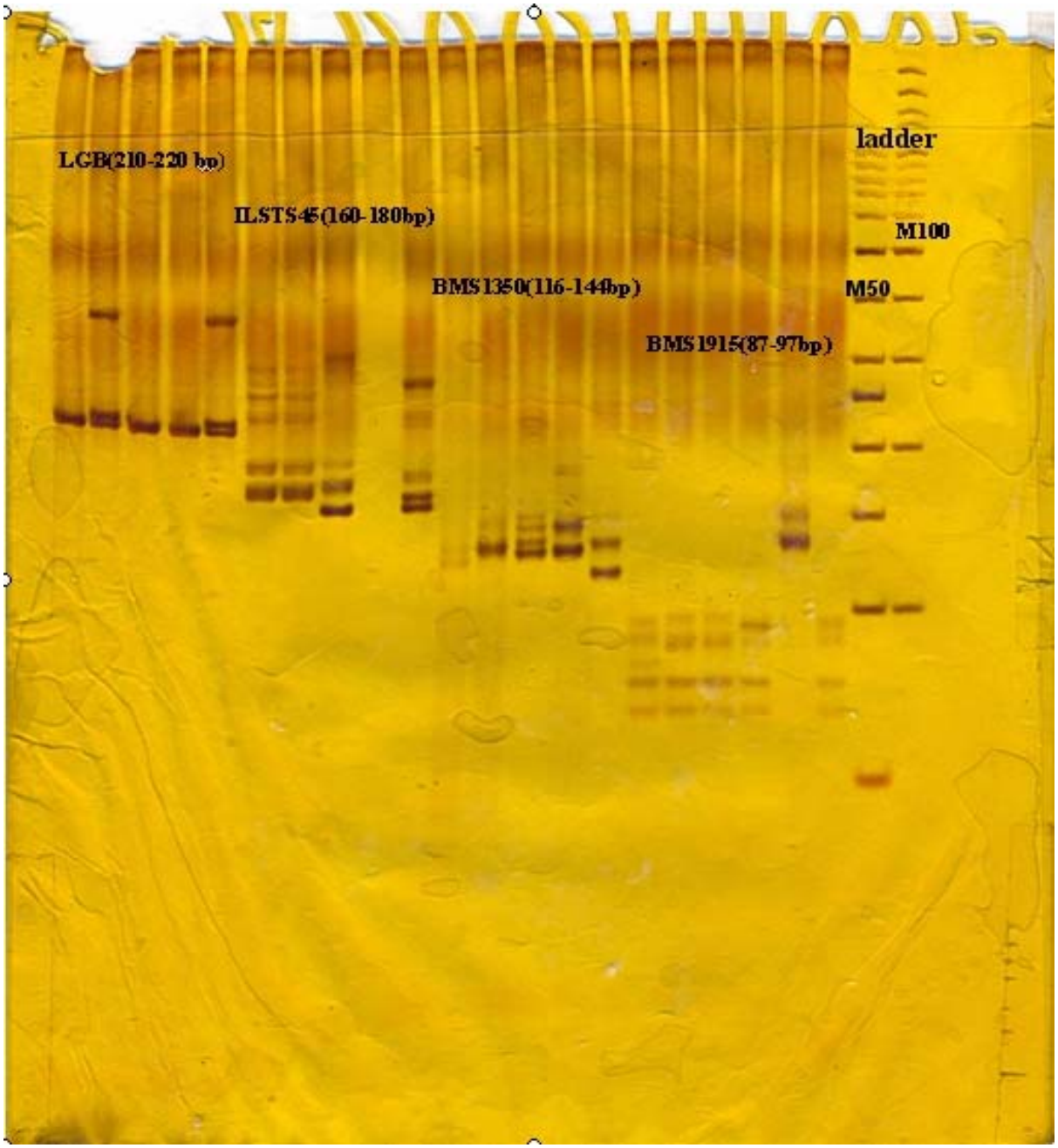
نتایج و بحث

الگوهای باندی قطعات تکثیر شده در شکل ۱ به خوبی انجام واکنش زنجیره ای پلی‌مراز را برای هر چهار جایگاه نشان می‌دهد. نتایج حاصل از آنالیز داده‌ها برای تعداد آلل واقعی در هر لوکوس، تعداد آلل موثر، هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار، شاخص شانون و محتوی چند شکلی برای هر جایگاه در جدول ۳ آورده شده است.

جایگاه BMS1350 دارای ۱۱ آلل و جایگاه LGB، دارای ۴ آلل بود که به ترتیب بیشترین و کمترین فراوانی آللی را داشتند. جایگاه BMS1915 و ILSTS45 به ترتیب دارای ۶ و ۷ آلل بودند. فراوانی ژنوتیپی نیز در این مطالعه برای تمامی جایگاه‌ها محاسبه شد. جایگاه BMS1915 دارای ۹ ژنوتیپ بود که ژنوتیپ BE دارای بیشترین فراوانی معادل ۰/۳۵و ژنوتیپ BB دارای کمترین فراوانی معادل ۰/۰۱ بود. جایگاه BMS1350 دارای ۱۱ ژنوتیپ که فراوانی ژنوتیپ GDبیشترین (۰/۲۳) و فراوانی ژنوتیپ‌های DD,CG,DF کمترین (۰/۰۱) بود. جایگاه ILSTS45 دارای ۱۰ ژنوتیپ و فراوانی ژنوتیپ AD، ۰/۴۷ و ژنوتیپ CD، ۰/۰۱ که به ترتیب بیشترین و کمترین فراوانی ژنوتیپی را در این جایگاه داشتند. جایگاه LGB دارای ۶ ژنوتیپ می‌باشد که ژنوتیپ BB که بیشترین فراوانی را داشت ۰/۴۴ و ژنوتیپ AC که کمترین فراوانی را داشت ۰/۰۲ تخمین زده شد. جایگاه BMS1350 بیشترین هتروزیگوسیتی مورد انتظار (۰/۷۹) و جایگاهLGB کمترین هتروزیگوسیتی مورد انتظار (۰/۵۶) را در بین جایگاه‌ها داشتند. میانگین هتروزیگوسیتی مورد انتظار برای این جایگاه‌ها۰/۷۰ بود. در مطالعه‌ای که اسماعیل خانیان و همکاران در سال ۱۳۸۶ بر روی گوسفندان بلوچی با استفاده از۱۹ جایگاه میکروساتلایت ای انجام دادند، دامنه هتروزیگوسیتی برای جایگاه‌های مورد بررسی را بین ۰/۱ تا ۰/۹۳ گزارش نمودند. میانگین هتروزیگوسیتی این جایگاه ها ۰/۶۵ بود که در مقایسه با جایگاه‌های مورد بررسی ما از تنوع پایین تری برخوردار بوده است.

درمطالعه مذکور دو جایگاه BULG5E و BM1329 فاقد چندشکلی بوده وتمامی جایگاه‌ها درمطالعه فوق درتعادل هاردی- واینبرگ قرارداشتند (P<۰/۰۰۵). جایگاه BMS1350 در مطالعه ما دارای بیشترین هتروزیگوسیتی مشاهده شده و جایگاه LGB دارای کمترین مقدار بودند (به ترتیب ۰/۹۸ و ۰/۳۶).

1- Chi-square



شکل ۱- الگوی باندی برای ٤ جایگاه میکروستالایتی، جایگاهLGBکه طول قطعات تکثیر شده بین ۲۰۰-۲۱۰و دارای ٤ آلل واقعی بود جایگاه ILSTS45 با طول قطعه تکثیر شده بین ١٦٠-١٨٠ که دارای ۷ آلل واقعی و تعداد آلل موثر این جایگاه ۵/۲۰۲۹ بود، جایگاه BMS1350، طول محصول واکنش زنجیره ای پلی مراز برای این جایگاه بین ١١٦- ١٤٤ بود با تعداد آلل واقعی ۱۱، جایگاهBMS1915که این جایگاه با طولی بین ۸۷ تا ۹۷ کوتاهترین قطعه و تعداد آلل واقعی آن ٦ بود.

زاهدی و همکاران (۱۳۸۴)، چندشکلی ۱۲ مارکر میکروساتلایت را در گوسفندان بلوچی ایستگاه عباس آباد مشهد مورد مطالعه قرار دادند. نتایج به دست آمده در این تحقیق نشان داد که دامنه هتروزیگوسیتی مشاهده شده برای جایگاه‌ها بین ۰/۵ در جایگاه BMS1316 و ۰/۷۲ در جایگاه BMS2361 متغیر می‌باشد. مولایی و همکاران (۵) تنوع ژنتیکی شش نژاد از گوسفندهای ایرانی را با استفاده از ده جفت نشانگر میکروساتلایت بررسی کردند. بیشترین و کمترین هتروزیگوسیتی مشاهده شده ۰/۶۹ و ۰/۵۸ بود که به ترتیب

از نژادهـای کبـوده شـیراز و نـژاد عربـی بدسـت آمـد. میـانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شـده در شـش نـژاد برابـر بـا ۰/۶۴ بـود. در مطالعه‌ای که پاریـست و همکـاران (۲۷)، بـر روی ۱۷ گلـه گوسـفند فولک نژاد ایتالیایی با استفاده از ۱۱ مـارکر میکروسـاتلایت‌ای انجـام دادند. میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده درتمام گلـه‌هـای ایـشان ۰/۶۰ و میانگین هتروزیگوسیتی مورد انتظار ۰/۷۵ بود.

در مطالعه حاضر تعداد آلل موثر در جایگاه BMS1350، ۶/۴۵ و تعداد آلل موثر جایگاه LGB، ۴/۱۱ با میانگین۵/۱۷ بود که به ترتیـب بیشترین و کمترینNe را به خـود اختـصاص دادنـد. شـاخص شـانون برای تمام جایگاه در مطالعه ما نشان داد که جایگاه‌های BMS1350 و LGB به ترتیب بیشترین (۲/۰۵) و کمترین (۱/۶۵) مقدار را داشـته که نشان می دهد نشانگرBMS1350 توانسته بخش‌های گسترده‌ای از DNA ژنومی را مورد بررسی قرار دهد. در واقع این شاخص نـشان دهنده مقدار تنوع و پراکندگی میان نشانگرهای مورد استفاده می‌باشد که با توجه به تعداد آلل‌های آن‌ها نتایج به دست آمـده قابـل تـوجیح است. نتایج به دست آمـده بـرای شـاخص شـانون توسـط زاهـدی و همکاران (۱۳۸۴)، نشان داد کـه جایگـاه BMS744 بیـشترین مقـدار شاخص شانون و جایگاه CSSM059 کمترین مقـدار را داشـته اسـت (به ترتیب ۱/۳۵ و۰/۰۰). محتوی چنـد شـکلی(PIC)[1] بـرای جایگـاه BMS1350 و LGB کـه بیـشترین و کمتـرین مقـدار را داشـتند بـه ترتیب۰/۸۳و۰/۷۲ بود و میانگین محتوی چندشکلی برای تمام جایگاه-ها در این مطالعه ۰/۷۸ محاسبه شد. در مطالعه‌ای که توسط ژانـگ و همکاران (۲۰۰۹)، انجام شد محتوی اطلاعات پلـی مورفیـسم (PIC) برای جایگاه BMS1248 از دیگر جایگاه‌ها بالاتر بود (۰/۸۸) و بـرای جایگاه DB6 (۰/۶۹) کمتر بود. در مجموع با بررسـی‌هـای حاصـل از شاخص شانون و محتوی چندشکلی در این پـژوهش بـه ایـن نتیجـه رسیدیم کـه جایگـاه BMS1350 دارای بیـشترین و جایگـاه LGB دارای کمترین تنوع می‌باشند. دانشور آملی و همکاران (۲)، با اسـتفاده از ۱۵ نشانگر ریز ماهواره تنـوع ژنتیکـی در داخـل جمعیـت گوسـفند بلوچی عباس آباد مورد مطالعه قرار دادنـد. نتـایج بـه دسـت آمـده در تحقیق ایشان نشان داد جایگاه‌های میکروساتلایت‌ای مورد بررسی از چند شکلی بالایی درجمعیت گوسفندان بلوچی مورد مطالعه برخـوردار بودند. آن‌ها اظهار نمودند که می توان از چندشکلی بـالای آن‌هـا در مطالعات بعدی، به ویژه برای یافتن جایگاه‌های صفات کمـی اسـتفاده نمود. وجود آلل ها و دامنه آللـی جدیـد در گوسـفند بلـوچی حـاکی از تفاوت ساختار جمعیتی آن ها در مقایسه با نژاد های خارجی می‌باشـد. سایر مطالعات انجام شده بر روی گوسفند بلوچی ایستگاه عبـاس آبـاد نشان دهنده نتایج تقریبا مشابهی از لحاظ انحـراف از تعـادل هـاردی واینبرگ و چند شکل بودن دیگر جایگاه‌ها است (۱، ۲ و ۳). مطالعه ما علاوه بر اینکه نشان داد که جایگاه‌های میکروساتلایت مورد بررسـی دارای چندشـکلی بـالا هـستند، تاییـدی بـر کـار آمـدی اسـتفاده از نشانگرهای میکروساتلایت در مطالعات بررسی سطح تنوع در گوسفند بلوچی نیز بود. هتروزیگوسیتی بالا در جایگـاه‌هـای مـورد مطالعـه در گوسفند بلوچی نشان دهنده تنوع ژنتیکی بالا این جمعیت می باشد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مراتب تشکر و قدردانی خود را از همکـاری صـمیمانه معاونـت پژوهـشی دانـشگاه فردوسـی مـشهد بـه پـاس همکـاری و پشتیبانی مالی این طرح با کد ۴۹۵ پ، ابراز می دارند.

منابع

۱- اسماعیل خانیان، س.، ا. نجاتی خوارزمی، ف. افراز، پ. دانشیار و ص. قنبری. ۱۳۸۶. بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت گوسفند بلوچی بـا اسـتفاده از نشانگرهای میکروساتلایت. مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی

۲- دانـشور آملـی، ع.، س. اسـماعیل خـانی، م. سـنجابی، ا. میرهـادی. ۱۳۸۴. بررسـی پلـی‌مورفیـسم تعـدادی از نـشانگرهای میکروسـاتلایت (microsatellite) در جمعیت گوسفند بلوچی. چهارمین همایش ملی بیوتکنولوژی ایران

۳- زاهدی، ز.، س. اسماعیل خانیان و ر. واعظ ترشیزی. ۱۳۸۷. مطالعه چندشکلی ۱۲ نشانگر ریز ماهواره در گوسفندان بلوچی عبـاس آبـاد مـشهد. پژوهش و سازندگی در امور دام و آبزیان

۴- مهمان‌نواز، ی.، ر. واعظ ترشیزی، ع. صـالحی و ع. شـوریده. ۱۳۸۰. همخـونی و اثـر آن بـر صـفات تولیـدی در گوسـفند نـژاد بلـوچی. اولـین سمینارژنتیک و اصلاح نژاد دام و طیور. ۲-۱ اسفند ماه ۱۳۸۰

۵- مولایی، و.، ر. عصفوری، م. اسکندری نسب، ص. قنبری، م. نیکمرد. ۱۳۸۹. تنوع میکروستلایت در شش نژاد گوسفند ایرانـی. نـشریه پـژوهش های علوم دامی ایران

6- Agha, S. H., F. Pilla, S. Galal, I. Shaat, M. D'Andrea, S. Reale, A. Z. Abdelsalam, M. H. Li. 2008. Genetic diversity in Egyptian and Italian goat breeds measured withmicrosatellite polymorphism. J Anim Breed Genet.

1- polymorphic information content

Jun;125(3):194-200. PubMed PMID: 18479270.
7- Chistiakov, D. A., B. Hellemans, and F. A. M. Volckaert. 2006. Microsatellites and their genomic distribution, evolution, function and applications: A review with special reference to fish genetics. Aquaculture 255(1-4):1-29.
8- Cho, G. J. and B. W. Cho. 2004. Microsatellite DNA typing using 16 markers for parentage verification of the Korean native horse. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences 17(6):750-754.
9- Excoffier L, G. Laval, S. Schneider. 2005. Arlequin ver. 3.0: anintegrated software package for population genetics dataanalysis, EvolBioinform. 1: 47-50 .(Available: http://cmpg.unibe.ch/software/arlequin3.1)
10- Galov, A., K. Byrne, M. Duras-Gomercic, T. Gomercic, Z. Nushol, D. Vincek, I. Kocijan, Z. Tadic, V. Benkovic, I. Basic, and S. M. Funk. 2005. Effectiveness of nine polymorphic microsatellite markers in parentage testing in Posavina, Croatian Coldblood and Lipizzaner horse breeds in Croatia. Livestock Production Science 93(3):277-282.
11- Georgescu, S. E., E. Condac, M. Rebedea, C. D. Tesio, A. Dinischiotu, and M. Costache. 2005. Arabian horses genotyping using seventeen microsatellites. ArchivaZootechnica 8:173-178.
12- Gruszczynska, Joanna., M, Krystyna., Charon, Wiesaw., Oewiderek,Milena. 2002. Microsatellite polymorphism in locus OMHC1 (MHC Class I) in Polish Heath Sheep and Polish Lowland Sheep (¯elazna variety), J. Appl. Genet. 43(2), 2002, pp. 217-222
13- Hartl, D. L. and E. W. Jones. 2009. Genetics: Analysis Of Genes And Genomes. Jones & Bartlett Learning.
14- Hendricks, B. L. and A. A. Dent. 2007. International Encyclopedia of Horse Breeds. University of Oklahoma Press.
15- Hedrick, P. W. 2009. Genetics of Populations. Jones & Bartlett Learning.
16- Jakabova, D., J. Trandzik, J. Chrastina, L. Hudecova, E. Zetochova, J. Bulla, A. Bugarsky, F. Jakab, and P. Kozlik. 2002. Effectiveness of six highly polymorphic microsatellite markers in resolving paternity cases in Thoroughbred horses in Slovakia. Czech Journal of Animal Science 47(12):497-501.
17- Jerry, D. R., B. S. Evans, M. Kenway, and K. Wilson. 2006. Development of a microsatellite DNA parentage marker suite for black tiger shrimp Penaeusmonodon. Aquaculture 255(1-4):542-547.
18- Juras, R., E. G. Cothran, and R. Klimas. 2003. Genetic analysis of three Lithuanian native horse breeds. ActaAgriculturaeScandinavica Section a-Animal Science 53(4):180-185.
19- Juras, R. and E. G. Cothran. 2004. Microsatellites in Lithuanian native horse breeds: usefulness for parentage testing. Biologija (4):6-9.
20- Kavar, T. and P. Dovc. 2008. Domestication of the horse: Genetic relationships between domestic and wild horses. Livestock Science 116(1-3):1-14.
21- Knight, J. C. 2009. Human Genetic Diversity: Functional Consequences for Health and Disease. OxfordUniversity Press.
22- Lee, S. Y. and G. J. Cho. 2006. Parentage testing of Thoroughbred horse in Korea using microsatellite DNA typing. Journal of Veterinary Science 7(1):63-67.
23- Li, X. L, Y. F. Gong, J. W. Zhang, Z. Z. Liu, A. Valentini. 2004. Study on polymorphisms ofmicrosatellites DNA of six Chinese indigenous sheep breeds. Yi ChuanXue Bao. Nov;31(11):1203-10. PubMed PMID: 15651671.
24- Nicholas, F. W. 2009. Introduction to Veterinary Genetics. John Wiley and Sons.
25- Nuchjaree Watcharawongpaiboon1 and Julapark Chunwongse. 2007. Development of microsatellite markers from an enriched genomic library of pumpkin (Cucurbitamoschata L).(www.vilber.com)
26- Ott, J. 1989. Program HET Version 1.10 . Utility programs for analysis of genetic linkage.RockefellerUniversity.NewYork,NY,USA. ftp://linkage.rockefeller.edu/software/utilities
27- Pariset L., M., C. Savarese, I. Cappuccio and A. Valentini. 2003. Use of microsatellites for genetic variation and inbreeding analysis in Sarda sheep flocks of central Italy, J. Anim. Breed. Genet. 120
28- Vinay K. Singh, A.K. Mangalam, S. Dwivedi and S. Naik .1998. "Primer Premier: Program forDesign of Degenerate Primers from a Protein Sequence", BioTechniques 24, 318-319.
29- Yan-hong,Song., Shi, Guo-qing., LIU, Nan., DAI, Rong., REN, Hang-xing.,Liu Guo-qing. 2007. Study on Four Microsatellite DNA Polymorphism in the Region of GDF8 on Chromosome 2 in Meat Sheep Populations, China Animal Husbandry & Veterinary Medicine
30- Yeh, F. C., R. Yang, and C. W. Boyle. 1999. POPGENE. Version 1.31, Microsoft Window–based Freeware for Population Genetic Analysis, University of Alberta, Edmonton, Canada.