نشریه علوم دامی
(پژوهش و سازندگی)

شماره ۱۰۳، تابستان ۱۳۹۳
ص‌ص: ۶۱~۷۰

مطالعه تنگنا و تنوع ژنتیکی در جمعیت بز رائینی

بوسیله نشانگرهای ریزماهواره

- **بیژن محمودی** (نویسنده مسئول)

دانشجوی دکترای تخصصی، دانشگاه دولتی باکو

- **مرتضی دلیری**

استادیار، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فن آوری

- **رامین حبیبی**

دانشجوی دکترای تخصصی، دانشگاه زابل

تاریخ دریافت : بهمن ماه ۹۱ تاریخ پذیرش : خرداد ماه ۹۲

شماره تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۱۳۸۱۵۶۴۲

Email: bizhan.mahmoudi@gmail.com

چکیده:

مطالعه حاضر به منظور تجزیه و تحلیل ژنتیکی در جمعیت بزهای رائینی کرمان جهت حفاظت، برنامه ریزی پایدار و بهره برداری، که نهایتا می تواند منجر به بهبود وضعیت امرار معاش پروش دهندگان شود، انجام شده است. جمعیت های بز ایران به عنوان یکی از ذخایر ارزشمند منابع بزهای جهان شناخته شده اند. مطالعه تنوع ژنتیکی در جمعیت بز رائینی با استفاده از سیزده نشانگر ریزماهواره انجام شد. در ٦٠ بز نمونه برداری شده، تعداد کل آلل های مشاهده شده ۹۲ آلل با میانگین ۷/۰۸ آلل در هر جایگاه و دامنه بین ٤ آلل در ریزماهواره MAF64 و ۱۰ آلل در ریزماهواره BM121 برآورد گردید. مقادیر هتروزایگوتی مشاهده شده، محتوای اطلاعات چندشکلی، شاخص شانون و هتروزیگوتی مورد انتظار به ترتیب ۰/۸۰۸، ۰/۷٦، ۱/۷۲و ۰/۷۹٦ برآورد گردید که نشان دهنده وجود تنوع ژنتیکی بالا در این جمعیت می باشد. پنج جایگاه از سیزده جایگاه مورد مطالعه در تعادل هاردی واینبرگ بود. میانگین همخونی (Fis) برابر ۰/۰۱٦- بود و از ۱۳ جایگاه فقط چهار جایگاه دارای Fis مثبت و بقیه منفی بودند. فرضیه وجود تنگنای ژنتیکی مورد آزمون قرار گرفت که نتیجه نشان از عدم وجود تنگنای ژنتیکی برای جمعیت مذکور در سالهای اخیر را تایید کرد.

واژه‌های کلیدی: تنگنای ژنتیکی، تنوع ژنتیکی، ریزماهواره ، بز رائینی.

Animal Sciences Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 103 pp: 61-70

Genetic variability and bottleneck analysis in Raeini goat population by microsatellite markers

Bizhan Mahmoudi[1] , Morteza Dalir[2] and Ramin Habibi[3]

*1-Department of genetic, Faculty of Biology, Baku State University, Baku, Azerbaijan and Organization of Agriculture Jahad, Meshkin Shahr, Iran., 2-Department of Animal Science, National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology, Tehran, Iran. 3-Department of Animal Science, College of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran.*Corresponding Author:BizhanMahmoudi,Tel:+989113815642,*

Email: bizhan.mahmoudi@gmail.com

Received: February 2013 **Accepted: June 2013**

Assessing genetic biodiversity and population structure of minor populations through the information provided by neutral molecular markers, allows determination of their extinction risk and to design strategies for their management and conservation. Analysis of microsatellite loci is known to be highly informative in the reconstruction of the historical processes underlying the evolution and differentiation of animal populations. Iranian goat populations are recognized as an invaluable component of the world's goat genetic resources. The aim of this work is to study the genetic status of Raeini goat population through the analysis of molecular data from 13 microsatellites markers. The mean expected heterozygosity across loci within populations ranged from 0.716 to 0.852. Genetic diversity measures revealed a good status of biodiversity in the Raeini goat population. The observed number of alleles ranged from 4 (ILSTS022) to 10 (BM121) with a total of 92 alleles and mean of 7.08 alleles across loci. The overall heterozygosity, PIC and Shannon index values were 0.808, 0.76 and 1.719 indicating high genetic diversity. Only 5 out of 13 loci were in Hardy-Weinberg equilibrium. The mean Fis was -0.016. Only 4 loci had positive Fis values and 9 loci had negative values. Genetic bottleneck hypotheses were also explored. Our data suggest that the Raeini goats have not experienced a genetic bottleneck in the recent past.

Key words: Bottleneck, Diversity, Microsatellites, Raeini goat.

مقدمه:

پایه و اساس تنوع ژنتیکی در یک گونه، تغییرات جهشی است که با ایجاد آلل‌های مختلف، اشکال فنوتیپی و ژنوتیپی متفاوت را بوجود آورده است (Notter، ۱۹۹۸). تنوع ژنتیکی در یک گونه، با حداکثر نمودن هتروزیگوسیتی اولیه، اندازه جمعیت، نسبت اندازه موثر جمعیت به اندازه جمعیت و حداقل نمودن تعداد نسل افزایش می‌یابد (Barker، ۱۹۹۴). نژادهای بومی به دلیل شدت انتخاب پایین، تعداد زیاد پرورش دهندگان و محدودیت استفاده از تلقیح مصنوعی و سایر فناوریهای تولید مثلی، از تنوع ژنتیکی بالایی برخوردارند. از طرفی با گذشت زمان و کسب آگاهی بیشتر نسبت به اهمیت صفات مختلف، نیازهای جدیدی مطرح می‌شود که متخصصین اصلاح نژاد را بر آن می‌دارد که از ژنهای بومی استفاده نمایند. این مسئله به خصوص با افزایش تولید محصولات دامی و تولید محصولات پیش بینی نشده در آینده، لزوم حفظ تنوع ژنتیکی در دام‌های بومی را الزامی ساخته است (Frankham، ۱۹۹۴).

چرا که وجود تنوع ژنتیکی، باعث افزایش پیشرفت ژنتیکی و تطابق پذیری سریعتر خواهد شد. امروزه جهت برآورد تنوع ژنتیکی و تعیین فواصل ژنتیکی بین جمعیت‌ها، از تکنیک‌های پیشرفته مولکولی بر اساس تفاوت‌های موجود در سطح مولکول DNA استفاده می گردد (Visser و همکاران، ۲۰۰۴). عمده‌ترین نشانگر DNAای که برای مطالعه تنوع ژنتیکی در گونه‌های اهلی مورد استفاده قرار گرفته ریزماهواره‌ها می باشد. نشانگرهای ریز ماهواره‌ای، که توالی‌های کوتاه پشت سر هم یا STRs[1] و یا SSRs[2] هم نامیده می شوند، از مارکر های ژنتیکی می باشد که در طول چند سال اخیر به یک ابزار مناسبی برای پاسخ دهی به سوالات در زمینه ژنتیک جمعیت تبدیل شده‌اند. این ابزار فرصت مطالعه تنوع ژنتیکی و تمایز را در بین جمعیت‌های نسبتاً نزدیک به هم فراهم می‌نماید. از نشانگرهای ریزماهواره‌ای در سطح وسیعی برای تعیین تنوع و فاصله ژنتیکی نژادهای بز در دنیا استفاده شده است (عسکری و

همکاران، ۱۳۸۸، Iamartino و همکاران، ۲۰۰۵، Kemp و همکاران، ۱۹۹۵و Li و همکاران، ۲۰۰۸). کارایی ریزماهواره‌ها برای تخمین تنوع ژنتیکی بین جمعیت‌هایی که رابطه خویشاوندی نزدیکی دارند در مطالعات زیادی به اثبات رسیده است، اخیراً تعداد زیادی از نشانگرهای ریزماهواره‌ای گاوی در گوسفند و بز مورد استفاده قرار گرفته، به طوری که با مطالعه تنوع ژنتیکی در هشت نژاد بز سوئیسی با استفاده از ۲۰ ریز ماهواره گاوی مشخص شد که میانگین هتروزیگوسیتی در جمعیت بزهای اهلی (۰/۵۸ -۰/۵۱) بالاتر از بزهای نژاد ایبکس[3] (۰/۱۷) و بزوا[4] (۰/۱۹) می باشد و ۰/۲۷ درصد از تنوع ژنتیکی در کل جمعیت مربوط به تنوع ژنتیکی بین جمعیت‌ها می‌باشد (Visser و همکاران، ۲۰۰۴). با استفاده از ۱۸ نشانگر ریزماهواره‌ای تنوع ژنتیکی در بزهای کالاهاری[5] بررسی شده و میانگین تعداد آلل‌ها و هتروزیگوسیتی به ترتیب ۷/۷۷ و ۰/۶۳ به دست آمد که حاکی از چند شکلی مناسب می باشد (Kotze و همکاران، ۲۰۰۴). با استفاده از ریزماهواره‌ها تنوع ژنتیکی در شش نژاد بز ایتالیایی بررسی شده و میانگین تعداد آلل‌ها و هتروزیگوسیتی به ترتیب ۷/۳ و ۰/۷۱ به دست آمد (Iamartino و همکاران، ۲۰۰۵). بز کرکی رائینی نیز با این نشانگرها و نشانگر RAPD[6] مورد بررسی قرار گرفته و میانگین هتروزیگوسیتی بر اساس نشانگرهای ریز ماهواره‌ای ۰/۸۰ و RAPD برابر ۰/۳۳۵ برآورد گردید (جوانروح و همکاران، ۱۳۸۳ و عسکری و همکاران، ۱۳۸۸).

توفیق برنامه‌های اصلاح نژادی بستگی به میزان تنوع موجود درجمعیت دارد، فقدان تنوع، قدرت انتخاب ژنتیکی را محدود می‌سازد، شناخت دقیق ذخایر ژنتیکی می‌تواند مبنای دقیق‌تری برای برنامه‌های اصلاح-نژادی در آینده و به نتیجه رسیدن در زمان کوتاه‌تر و استفاده بهینه از منابع موجود در جهت تولید بیشتر گردد. با توجه به اینکه نژادهای بومی در هر کشوری به عنوان یک سرمایه ملی و محصول استراتژیک مطرح می باشند، حفظ و تکثیر این نژادها از ارزش و اهمیت بسیاری برخوردار است، چرا که بعد از هزاران سال انتخاب طبیعی و گذر از موانع بسیار و غلبه بر تمامی ناملایمات و شرایط نامساعد محیطی همچنان به حیات خویش ادامه داده و به تکثیر و ازدیاد نسل پرداخته‌اند. به همین منظور در این پژوهش هدف به دست آوردن برخی اطلاعات در مورد خصوصیات نژادی در جمعیت بز رائینی می‌باشد. بر پایه همین اصل تنوع ژنتیکی و وقوع تنگنای ژنتیکی با استفاده از ۱۳ نشانگر ریزماهواره در جمعیت مذکور مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روشها:

تعداد جمعیت بزهای رائینی ۵ میلیون راس می‌باشد که به رنگهای سفید، قرمز، قهو ه‌ای روشن و تیره وجود دارد (جوانروح و همکاران،۱۳۸۳) اکثر بزهای رائینی دارای شاخ بوده و سطح بدن آنها پوشیده از کرک و مو و نسبت کرک به مو ۳۰ به ۷۰ می باشد. از نظر تولید گوشت نیز این جمعیت قابل توجه است، طول بدن بز نر ۴/۷۴ $\pm$ ۵۷ سانتی متر و طول بدن بز ماده ۴/۷۳ $\pm$ ۵۳ می‌باشد. این بزها در مناطق کوهستانی استان کرمان و همچنین در مناطقی از استان‌های همجوار نگه‌داری می‌شوند. نمونه‌ها به صورت تصادفی از روستاهای محل پرورش این بز و از هر روستا ۳ الی ۴ نمونه خون جمع‌آوری گردید و با همکاری پرورش-دهندگان تلاش گردید تا نمونه‌های انتخاب شده خویشاوند نباشند. بزهای نمونه‌برداری شده از استان کرمان به عنوان نماینده‌هایی از جمعیت های بز رائینی که اطلاعات فنوتیپی و توزیع جغرافیایی آنها در دسترس بود مورد استفاده قرار گرفتند. نهایتاً برای جمعیت مذکور، تعداد ۶۰ راس نمونه‌برداری شدند. نمونه‌های خون از رگ‌های وریدی با استفاده از سرنگ‌های با حجم ۱۰ میلی لیتر که حاوی EDTA بود، جمع آوری شد. سپس استخراج DNA به روش بهینه شده و تغییر یافتهٔ نمکی از خون کامل انجام پذیرفت (Miller و همکاران، ۱۹۸۸).

در هر مورد از نمونه‌برداری به منظور جلوگیری از اختلاط خونی و DNA برای هر یک از جانوران از سرنگ های جداگانه استفاده گردید. نمونه های خونی به منظور ترکیب با EDTA سه تا پنج بار بصورت رفت و برگشتی تکان داده شدند. لوله‌ها به دقت بر چسب زده شدند و در دمای اتاق نگهداری گردیدند تا برای استخراج DNA آماده گردند.

در تحقیق حاضر از ۱۳ جایگاه ریز ماهواره ای شامل (BM121، BM4621، ILSTS005، ILSTS022، ILSTS029، ILSTS033، ILSTS034، LSCV36، MAF64، oarAE133، oarFCB304، oarJMP23و TGLA122) استفاده گردید. تمامی آغازگرهای استفاده شده برای تکثیر جایگاه‌ها، ساخت شرکت TIB MOLBIOL کشور آلمان بود. در خصوص انتخاب آغازگرها، آنهایی که بتوانند علاوه بر تکثیر از پلی‌مورف نیز برخوردار باشد، نخستین چیزی بود که در این تحقیق مورد توجه قرار گرفت. در جدول ۱ توالی آغازگرهای جایگاه های مذکور نشان داده شده است .در این مطالعه از بافر PCR، dNTPs (10mM dNTP Mix)، آنزیم تک پلیمراز و $Mgcl_2$ استفاده شد. DNA ژنومی که از نمونه های خون استخراج شده بود بعنوان الگو در واکنشهای PCR استفاده گردید. جهت بهینه‌سازی

جایگاه‌ها، غلظت مواد به شرح جدول ۲ بدست آمد. با در نظر گرفتن اندازه آلل‌ها و قدرت تفکیک ژل‌های پلی آکریل آمید مختلف، ژل پلی آکریل آمید غیر واسرشته ساز ۸٪ برای تفکیک آلل‌های مورد نظر بکار برده شد. تمام واکنش‌های PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر در سیستم ترموسایکلر Gene AMP PCR system 9700 انجام گرفت . GeneScan TAMRA به عنوان استاندارد سایز در هر لاین مورد استفاده قرار گرفت. آنالیزها با استفاده از تنوعات آللی حاصل از ۱۳ جایگاه ریز ماهواره‌ای بدست آمد. تنوع ریز ماهواره‌ای شامل تعداد آلل‌های هر جایگاه، میانگین تعداد آلل‌های جایگاه‌ها، تعداد آلل‌های موثر در هر جایگاه، هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار و شاخص شانون و همچنین آزمون هاردی واینبرگ با استفاده از نرم افزار GeneAlex محاسبه گردید(Peakall و Smouse، ۲۰۰۶). محتوای اطلاعات چند شکلی با استفاده از روش بوتستین و همکاران (Botstein و همکاران، ۱۹۸۰) توسط نرم افزار HET ver 1.8 محاسبه گردید(Ott، ۲۰۰۱). آماره F_{is} جهت محاسبه ضریب هم خونی با استفاده از نرم افزار FSTAT ver1.25 (Goudet، ۱۹۹۵) محاسبه گردید.

برای تعیین اینکه آیا جمعیت تعداد جایگاه‌های معنی‌داری با هتروزایگوسیتی برآورد شده بیش از انتظار را نشان می‌دهد یا خیر، سه آزمون تست معنی‌داری، تست تفاوت استاندارد شده و تست خط معنی-دار ویلکاکسون با نرم افزار BOTTLENECK انجام شد(Piry و همکاران، ۱۹۹۹).

جدول ۱- مشخصات ۱۳ جایگاه ریزماهواره مورد مطالعه

Locus	Primer sequence	Type of repeat	Chromosome No.
BM121	TGGCATTGTGAAAAGAAGTAAAA CTAGCACTATCTGGCAAGCA	$(TC)_{18}$	۱۶
BM4621	CAAATTGACTTATCCTTGGCTG TGTAACATATGGGCTGCATC	$(CA)_{14}$	۶
ILSTS005	GGAAGCAATGAAATCTATAGCC TGTTCTGTGAGTTTGTAAGC	$(nn)_{39}$	۱۰
ILSTS022	AGTCTGAAGGCCTGAGAACC CTTACAGTCCTTGGGGTTGC	$(GT)_{21}$	۳
ILSTS029	TGTTTTGATGGAACACAGCC TGGATTTAGACCAGGGTTGG	$(CA)_{19}$	۳
ILSTS033	TATTAGAGTGGCTCAGTGCC ATGCAGACAGTTTTAGAGGG	$(CA)_{12}$	۱۲
ILSTS34	AAGGGTCTAAGTCCACTGGC GACCTGGTTTAGCAGAGAGC	$(GT)_{29}$	۵
LSCV36	GCACACACATACACAGAGATGCG AAAGAGGAAAGGGTTATGTCTGGA	$(CA)_{16}$	۱۹
MAF64	AATAGACCATTCAGAGAAACGTTGAC CTCATCGAATCAGACAAAAGGTAGG	$(TG)_{13}$	۱

ادامه جدول ۱			
OarAE133	AGCCAGTAGGCCCTCACCAGG CCAACCATTGGCAGCGGGAGTGTGG	$(TG)_{24}$	Ann
OarFCB304	CCCTAGGAGCTTTCAATAAAGAATCGG CGCTGCTGTCAACTGGGTCAGGG	$(CT)_{11}(CA)_{15}$	۱۹
OarJMP23	GTATCTTGGGAGCCTGTGGTTTATC GTCCCAGATGGGAATTGTCTCCAC	-	۲۷
TGLA122	AATCACATGGCAAATAAGTACATAC CCCTCCTCCAGGTAAATCAGC	$(CA)_{21}$	۲۱

جدول ۲: شرایط بهینه PCR برای جایگاه‌ها

غلظت نهایی	اجزاء واکنش
۱X	بافر PCR
۳/۵-۶ mM	$Mgcl_2$
۰/۲۵ µM	هر یک از آغازگرها
۲۰۰ µM	dNTPs
۰/۵ unit/reaction	آنزیم تک پلیمراز
۱۰۰-۲۰۰ ng/reaction	الگو DNA
متغیر	dd H_2O
۲۵ µl	حجم نهایی واکنش

نتایج و بحث:

میزان پارامترهای مختلف تنوع ژنتیکی و همچنین مقادیر آماره F_{is} و نتایج آزمون تعادل هاردی واینبرگ در جدول ۳ ارایه شده است. تعداد آلل مشاهده شده از هر جایگاه ریزماهواره‌ای از ۴ (MAF64) تا ۱۰ (BM121) متفاوت بود همچنین میانگین کل آلل‌های مشاهده شده در جایگاه های مورد مطالعه برابر ۷/۰۸ بود (جدول ۳). تعداد آلل‌های مشاهده شده در هر مکان ژنی از تعداد آلل‌های موثر (که از ۳/۴۳ تا ۶/۳۹ متغیر بود) بیشتر بود . شاخص تنوع شانون ۱/۷۲ برآورد گردید که نشان دهنده تنوع ژنتیکی بالا در جمعیت مورد تحقیق می‌باشد.

محتوی اطلاعات چند شکلی (PIC) نشان داد که جایگاه‌های ژنی مورد مطالعه در تحقیق حاضر از نظر محتوای اطلاعات چندشکلی که مقدار آن بین ۰/۶۷ الی ۰/۸۳ برآورد شد، ارزشمند می‌باشند. چنانچه مقدار PIC در یک جایگاه ژنی بالاتر از ۰/۵ باشد گفته می‌شود آن جایگاه دارای سودمندی بالاتری می‌باشد (Botstein و همکاران، ۱۹۸۰). میانگین کل محتوای چند شکلی در جمعیت رائینی ۰/۷۶ می‌باشد که این مقدارتقریباً برابر با مقدار برآورد شده در بزهای نژاد چینی (۰/۷۵ الی ۰/۸) (Yang و همکاران، ۱۹۹۹) بوده، ولی بیشتر از مقادیر مشاهده شده در بزهای نژاد مهسانی[۷] با مقدار ۰/۶۵ (Aggarwal و همکاران، ۲۰۰۷) و جمعیت‌های بز زالاوادی[۸]، گهیلوادی[۹] و سورتی[۱۰] به ترتیب با مقادیر ۰/۵۶، ۰/۶۴ و ۰/۶۰ (Fatima و همکاران، ۲۰۰۸) می‌باشد. همچنین میانگین هتروزایگوسیتی مشاهده شده بیشتر از هتروزایگوسیتی مورد

انتظار بود (جدول ۳). میانگین هتروزایگوسیتی مورد انتظار (تنوع ژنتیکی) از ۰/۷۱۶ (ILSTS033) تا ۰/۸۵۲ (BM121 و BM4621) متغیر بود. همچنین نتایج نشان داد که میانگین کل تنوع ژنتیکی در جایگاههای ژنی ۰/۷۹۶ می باشد که حاکی از وجود تنوع بالا در جایگاههای مورد مطالعه بود. تنوع ژنتیکی بالا در داخل یک جمعیت می‌تواند ناشی از هم‌پوشانی نسل‌ها، اختلاط جمعیت‌های با پراکنش جغرافیایی مختلف و انتخاب طبیعی باشد (Toro و Mäki-Tanila، ۲۰۰۷). تعداد ۸ جایگاه از ۱۳ جایگاه ژنی مورد مطالعه از نظر انحراف از تعادل هاردی واینبرگ، تفاوت معنی‌داری از خود نشان دادند و در تعادل نبودند. ضریب F_{is} معیار انحراف هتروزیگوسیتی از مقادیر مورد انتظار در تعادل هاردی واینبرگ بر حسب کاهش یا افزایش هتروزایگوسیتی است، تحت عناوین شاخص تثبیت و ضریب همخونی شناخته می شود و دامنه آن بین ۱- الی ۱ می‌باشد. دو عامل میزان خویشاوندی در تلاقی‌ها و طول دوره تلاقی‌های خویشاوندی بر مقدار F_{is} موثر می باشد.

F_{is} منفی نشان دهنده افزایش هتروزیگوتها و F_{is} مثبت نشان دهنده کاهش هتروزیگوت ها در جمعیت است. همانطور که در جدول ۳ مشاهده می گردد میانگین مقدار F_{is} در جمعیت رائینی ۰/۰۱۶- می‌باشد که نشان می‌دهد این جمعیت در معرض خطر کاهش نسبی هتروزیگوت‌ها در مقابل افزایش هموزیگوت‌ها نیست. میانگین F_{is} در ۱۱ نژاد بز آسیایی ۰/۱۹۲ با محدوده ۰/۰۹۰ الی ۰/۳۳۳ (Barker و همکاران، ۲۰۰۱) و در ۴۵ نژاد بز اروپا ۰/۱۰ گزارش شده است (Canon و همکاران، ۲۰۰۶). این ضریب برای سه نژاد مصری و دو نژاد ایتالیایی ۰/۰۹۶ (Agha و همکاران، ۲۰۰۸)، برای یازده نژاد سوئیسی ۰/۰۱۴ (Glowatzki-Mullis و همکاران، ۲۰۰۸) و در شش نژاد پرتغالی ۰/۰۷ (Bruno-de-Sousa و همکاران، ۲۰۱۱)، در پنج نژاد بورکینافاسو ۰/۰۵ (Traore و همکاران، ۲۰۰۹) و در جمعیت بزهای خالدار کرواسی[11] برابر ۰/۰۲ (Ramlijak Jelena و همکاران، ۲۰۱۱) گزارش شده است.داده‌های ریزماهواره‌ای همچنین برای آنالیز آماری این که آیا این جمعیت در سال‌های اخیر در معرض تنگنای ژنتیکی قرار گرفته اند یا نه، مورد استفاده قرار گرفتند. واژه تنگنا در یک جمعیت اشاره به کاهش چشمگیر و ناگهانی در اندازه جمعیت چه در طی چند نسل محدود یا در طی دوره زمانی طولانی‌تر دارد(Frankham و همکاران، ۲۰۰۲). این پدیده می‌تواند بدلیل بلایای محیطی، همه‌گیر شدن بیماری‌ها، بهره‌برداری بیش از اندازه از جمعیت، تکه تکه شدگی زیستگاه و یا تخریب زیستگاه اتفاق افتد. وقوع تنگنا برای یک جمعیت می‌تواند عواقب ناخوشایندی نظیر کاهش اندازه جمعیت موثر، افزایش همخونی، از بین رفتن تنوع ژنتیکی و تثبیت ژنهای نهفته مضر را داشته باشد که این عوامل ریسک انقراض گونه را افزایش خواهد داد(Luikart و همکاران، ۱۹۹۸). برای این که اندازه قبلی جمعیت و همچنین سطوح تنوع ژنتیکی آنها به ندرت شناخته شده است بدین جهت روش‌هایی که برای شناخت تنگنای ژنتیکی مورد استفاده قرار می گیرد مفید خواهد بود. کورنت و لیوکارت روش های کمی را برای آنالیز داده‌های ریزماهواره‌ای جهت آزمون وقوع تنگنای ژنتیکی در نسل‌های اخیر توضیح دادند (Cornuet و Luikart، ۱۹۹۶). هر جمعیتی که در سال‌های اخیر دچار تنگنای ژنتیکی شده باشد میزان هتروزایگوسیتی را از میزان مورد انتظار در اکثر مکان‌های ژنی بیشتر نشان می دهد. به همین منظور سه آزمون با عناوین آزمون معنی‌داری (sign test)، آزمون تفاوت‌های استاندارد شده (standardized differences test) (Cornuet و Luikart، ۱۹۹۶) و آزمون خط معنی‌داری (Wilcoxon sign-rank test) (Luikart و همکاران، ۱۹۹۸) وجود دارد که در هر سه آزمون مدلهای آللی نامحدود (IAM) ، جهش گام به گام (SMM)، و مدل دوفازی (TPM) مورد ارزیابی قرار می‌گیرد. در جمعیت بز رائینی، تعداد مورد انتظار جایگاه های ژنی با هتروزایگوسیتی اضافی برابر ۷/۶۷ (در مدل IAM) و ۷/۷۴ (در مدل TPM) بود که کمتر از تعداد مکان های ژنی با هتروزیگوسیتی اضافی مشاهده شده (۱۳ مکان ژنی در مدل های IAM و TPM) بود. بنابراین فرض صفر که بر اساس آن جمعیت در تعادل موتاسیون-رانش (Mutation-drift) می باشند، رد می‌گردد. در مدل SSM تعداد جایگاه‌های ژنی با هتروزیگوسیتی اضافی مورد انتظار (۷/۷۶) بصورت معنی داری کمتر از تعداد جایگاههای ژنی با هتروزیگوسیتی اضافی مشاهده شده نبود. در آزمون تفاوت‌های استاندارد شده، جمعیت مذکور تنوع ژنی اضافی معنی داری را در سه مدل IAM (۴/۸۳۶) ، TPM (۳/۹۲۲) و SMM (۲/۱۳۵) نشان داد. داده‌های مثبت در آماره T2 نشان دهنده بروز تنوع ژنی اضافی در اثر کاهش اندازه موثر جمعیت می باشد و داده های منفی نشان دهنده گسترش جمعیت بدون مهاجرت بعضی از آلل‌های نادر در جمعیت می‌باشد. با استفاده از آزمون خط معنی‌داری (آزمون غیر پارامتریک) ارزش‌های احتمال تحت سه مدل مورد بررسی به ترتیب ۰/۰۰۰۰۶ (IAM) ، ۰/۰۰۰۰۶ (TPM) و ۰/۰۱۰۷۴ (SMM) نشان دهنده عدم پذیرش فرض صفر (P<۰/۰۵) می

باشد(جدول ۴).آزمون مد تغییر (Mode-Shift) به عنوان روش دوم جهت تشخیص تنگنای ژنتیکی در جمعیت ذکر شده مورد استفاده قرار گرفت. این روش یک شاخص کیفی است که برای توزیع فراوانی آلل-ها ارایه شده است که جمعیت دارای تنگنا را از جمعیت پایدار جدا می-کند، در جمعیت‌هایی که تنگنای ژنتیکی را تجربه نکرده باشند انتظار می‌رود که بخش بزرگی از فراوانی آلل‌ها اختصاص به آلل‌های با فراوانی پایین یابد (Luikart و Cornuet، ۱۹۹۷). در صورت وجود تعادل میان جهش و رانش(Mutation-Drift Equilibrium) منحنی توزیع فراوانی آلل‌ها به شکل L (L-shaped) خواهد بود. قرارگیری جمعیت در تنگنا سبب کاهش آلل‌های نادر و افزایش آلل‌هایی می‌شود که از فراوانی زیاد و متوسطی برخوردارند. بدین ترتیب، تغییر در شکل منحنی توزیع فراوانی آلل‌ها سبب بروز یک یا چند مد (Mode Shifted) در نمودار می‌شود که می‌تواند نشانه‌ای از کاهش ناگهانی اندازه جمعیت باشد. در جمعیت رائینی همانطور که در شکل ۱ مشاهده می شود توزیع فراوانی آللی به شکل "L" می باشد، در تفسیر این نمودار می‌توان گفت که آلل‌های با فراوانی اندک درصد بالایی از تعداد آلل-های موجود در این جمعیت را تشکیل می‌دهند. بنابراین نتیجه این آزمون نشان می دهد که جمعیت بز رائینی تنگنای ژنتیکی را در سال‌های اخیر تجربه نکرده است.حفاظت، شناسایی و استفاده پایدار از این تنوع ژنتیکی فوق العاده که در بز رائینی ایران مشاهده می شود برای موفقیت هر برنامه بهنژادی و یا بیوتکنولوژی امری حیاتی است. تنوع ژنتیکی موجودات زنده سرمایه گرانبهایی است که طی قرون و اعصار پدیده آمده و حاصل تجربه‌ای بسیار طولانی از برهم کنش ژنوتیپ و محیط می‌باشد که از زمان‌های گذشته به نسل کنونی به ارث رسیده است. آنچه مهم و قابل تامل است این که تنوع موجود در دامهای بومی یک امر کاملا منحصر به فرد و بسیار ارزشمند می باشد و به هیچ وجه قابل جایگزین شدن نیست زیرا اگر چه بیوتکنولوژی مدرن می تواند در اصلاح نژادها کمک کند ولی هرگز قادر به ایجاد تنوع از دست رفته نیست.

جدول ۳ - تعداد آلل مشاهده شده، تعداد آلل موثر، شاخص شانون، محتوای اطلاعات چند شکلی، هتروزایگوتی مشاهده شده، هتروزایگوتی مورد انتظار، ضریب همخونی و تعادل هاردی واینبرگ در جایگاه های مورد مطالعه

Locus name	Na	Ne	I	PIC	Ho	He	Fis	HWE
BM121	۱۰	۶/۳۹۴	۲/۰۳۴	۰/۸۳	۰/۶۹۴	۰/۸۵۲	۰/۱۸۷	۰/۰۰۰***
BM4621	۸	۶/۳۸۶	۱/۹۵۴	۰/۸۲	۰/۸۱۶	۰/۸۵۲	۰/۰۴۲	۰/۰۰۰***
ILSTS005	۷	۴/۸۵۱	۱/۷۳۴	۰/۷۷	۰/۸۵۷	۰/۸۰۲	-۰/۰۶۹	۰/۳۳۲Ns
ILSTS022	۴	۳/۵۳۹	۱/۳۱۸	۰/۶۷	۰/۸۱۶	۰/۷۲۵	-۰/۱۲۸	۰/۰۹۹Ns
ILSTS029	۹	۵/۳۳۶	۱/۸۷۵	۰/۷۹	۰/۸۳۷	۰/۸۲۱	-۰/۰۱۹	۰/۰۰۰***
ILSTS033	۶	۳/۴۳۰	۱/۴۴۹	۰/۶۷	۰/۷۱۴	۰/۷۱۶	۰/۰۰۲	۰/۷۰۰Ns
ILSTS034	۶	۵/۳۰۶	۱/۷۲۸	۰/۷۹	۰/۸۵۷	۰/۸۲۰	-۰/۰۴۶	۰/۰۰۰***
LSCV36	۷	۴/۹۴۵	۱/۷۷۴	۰/۷۷	۰/۸۳۷	۰/۸۰۶	-۰/۰۳۹	۰/۰۰۰***
MAF64	۴	۳/۶۸۰	۱/۳۴۳	۰/۶۸	۰/۸۱۶	۰/۷۳۶	-۰/۱۱۱	۰/۳۷۰Ns
OarAE133	۵	۴/۴۱۴	۱/۵۴۱	۰/۷۴	۰/۷۳۵	۰/۷۸۱	۰/۰۶	۰/۴۲۳Ns
OarFCB304	۹	۶/۱۴۹	۱/۹۹۹	۰/۸۲	۰/۸۹۸	۰/۸۴۶	-۰/۰۶۲	۰/۰۰۰***
OarJMP23	۹	۴/۷۸۸	۱/۸۳۵	۰/۷۷	۰/۸۳۷	۰/۷۹۹	-۰/۰۴۷	۰/۰۰۰***
TGLA122	۸	۴/۶۱۳	۱/۷۵۸	۰/۷۵	۰/۷۹۶	۰/۷۹۱	-۰/۰۰۶	۰/۰۰۰***
میانگین	۷/۰۸	۴/۹۱	۱/۷۲	۰/۷۶	۰/۸۰۸	۰/۷۹۶	-۰/۰۱۶	

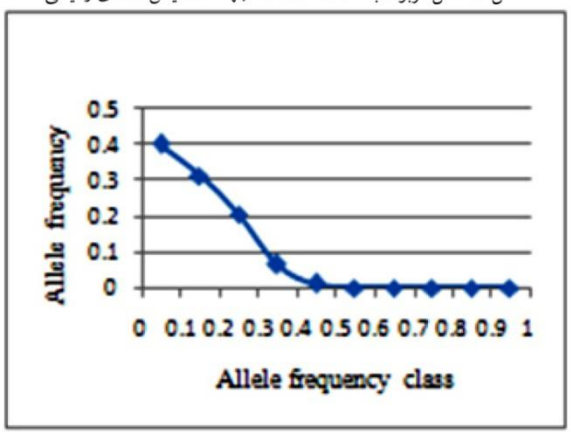
محتوای اطلاعات چند شکلی :PIC ; شاخص اطلاعات شانون :I ; تعداد آلل موثر :Ne ; تعداد آلل مشاهده شده :Na

معنی دار در سطح احتمال ۰/۰۰۱:*** ; معنی دار نیست :Ns

جدول ٤- نتایج آنالیزهای انجام شده با نرم افزار Bottleneck جهت بررسی وقوع تنگنا

		جمعیت تحت تعادل موتاسیون – رانش (mutation-drift equilibrium)		
		تحت مدل آللی نامحدود	تحت مدل دو فازی	تحت مدل موتاسیون ناپیوسته
تست معنی داری	تعداد جایگاههای مورد انتظار با هتروزیگوتی برآورد شده بیش از حد انتظار (Heterozygosity Exp. Excess)	۷/۶۷	۷/۷۴	۷/۷۶
	تعداد جایگاههای با هتروزیگوتی برآورد شده کمتر از حد انتظار (Heterozygosity Deficit)	۰	۰	۴
	تعداد جایگاههای با هتروزیگوتی برآورد شده بیشتر از حد انتظار (Heterozygosity Excess)	۱۳	۱۳	۹
	احتمال	۰/۰۰۱۰۴	۰/۰۰۱۱۸	۰/۳۲۵۸۰
تست تفاوت استاندارد شده	تعداد جایگاه های فیت شده	۱۳	۱۳	۱۳
	مقدار T_2	۴/۸۳۶	۳/۹۲۲	۲/۱۳۵
	احتمال	۰	۰	۰
تست ویلکاکسون	تعداد جایگاه های فیت شده	۱۳	۱۳	۱۳
	احتمال در توزیع یک طرفه برای Heterozygosity Excess	۰/۰۰۰۰۶	۰/۰۰۰۰۶	۰/۰۱۰۷۴

شکل ۱: شکل مربوط به Mode-Shift جهت تشخیص تنگنای ژنتیکی



پاورقی:

1- Short Tandem Repeats
2- Simple Sequence Repeats
3- Ibex
4- Bozava
5- Kalahari
6- Random Amplified polymorphic DNA
7- Mehsani
8- Zalawadi
9- Gohilwadi
10- Surti
11- Croatian Spotted Goat

منابع:

۱- جوانروح علی آباد، ع.، اسماعیل خانیان، س.، دین پرست، ن. و واعظ ترشیزی، ر. ۱۳۸۳. تنوع ژنتیکی شش توده بز بومی ایران با استفاده از نشانگرهای RAPD. پژوهش و سازندگی در امور دام وآبزیان. ۶۴: ۱۲-۱۷.

۲- عسکری، ن.، محمد آبادی، م.، بیگی نصیر، م. ت.، باقی زاده، الف. و فیاضی، ج.۱۳۸۸. مطالعه تنوع ژنتیکی بز کرکی رایینی بر اساس نشانگر های ریز ماهواره. مجله کشاورزی. ۴ (۱۸): ۱۵۵-۱۶۱.

3- Aggarwal, R., Dixit, S.P., Verma, N.K., Ahlawat, S., Kumar, Y., Kumar, S., Chander, R. and Singh, K.P. (2007). Population genetics analysis of Mehsana goat based on microsatellite markers. Current science. 92:1133-1137.

4- Agha, S.H., Pilla, F., Galal, S., Shaat, I., D'Andrea, M., Reale, S., Abdelsalman, A.Z. and Li, M.H. (2008). Genetic diversity in Egyptian and Italian goat breeds measured with microsatellite polymorphism. Journal of Animal Breeding and Genetics. 125:194-200.

5- Barker, J.S.F. (1994). A global protocol for determining genetic distances among domestic livestock breeds. Proceedings of the 5th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production. University of Guelph , Guelph canada , 21:501-508.

6- Barker, J.S.F., Tan, S.G., Moore, S.S., Mukherjee, T.K., Matheson, J.L., Selvaraj, O.S. (2001). Genetic variation within and relationships among populations of Asian goats (Capra hircus). Journal of Animal Breeding and Genetics. 118:213-234.

7- Botstein, D., White, R.L., Skolnick, M. (1980). Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. American Journal of Human Genetic. 32:314-331.

8- Bruno-de-Sousa, C., Martinez, A.M., Ginja, C., Santos-Silva, F., Carolino, M.I., Delgado, J.V. and Gama, L.T. (2011). Genetic diversity and population structure in Portuguese goat breeds, Livestock Science. 135:131-139.

9- Canon, J., Garcia, D., Garcia-Atance, M.A., Obexer- Ruff, G., Lenstra, J.A., Ajmone-Marsan, P., Dunner, S. and Econogene Consortium. (2006). Geographical partitioning of goat diversity in Europe and the Middle East. Animal Genetics. 37:327-334.

10- Cornuet, J.M. and Luikart, G. (1996). Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data. Genetics. 144:2001-2014.

11- Fatima, S., Bhong, C.D., Rank, D.N. and Joshi, C.G. (2008). Genetic variability and bottleneck studies in Zalawadi Gohilwadi and Surti goat breeds of Gujarat (India) using microsatellites. Small Ruminant Research. 77:58-64.

12- Frankham, R. (1994). Conservation of genetic diversity for animals 5th world Congress on Genetics Applied to Livestock Production. University of Guelph, Guelph, Ontario, Canada. 21:385 -392.

13- Frankham, R., Ballou, J.D. and Briscoe, D.A., (2002). Introduction to Conservation Genetics.Cambridge University Press, Cambridge, UK.

14- Glowatzki-Mullis, M.L., Muntwyler, J., Baumle, E. and Gaillard, C. (2008). Genetic diversity measures of Swiss goat breeds as decision-making support for conservation policy. Small Ruminant Research.74:202-211.

15- Goudet, J. (1995). FSTAT (version 1.2). A computer program to calculate F-statistics. Journal of Heredity. 86:485-486.

16- Iamartino, D., Bruzzone, A., Lanza, A, Blasi, M. and Pilla, F. (2005). Genetic diversity of southern Italian goat population assessed by microsatellite markers. Small Ruminant Research. 57:249-255.

17- Kemp, S.J., Hishida, O.J., Wambugu, A. and Longeri, M.L. (1995). A panel of polymorphic bovine, ovine and caprine microsatellite markers. Animal Genetics. 26:299-306.

18- Kotze, A., Swart, H., Grobler, J. P. and Nemaangani, A. (2004). A genetic profile of the Kalahari Red goat breed, from Southern Africa. South African. Journal of Animal Science. 34(suppl.1):120-124.

19- Li, J.Y., Chen, H., Lan, X.Y., Kong, X.J. and Min, L.J. (2008). Genetic diversity of five Chinese goat breeds assessed by microsatellite markers. Czech Journal of Animal Science. 53:315–319.
20- Luikart, G. and Cornuet, J.M. (1997). Empirical evaluation of a test for identifying recently bottlenecked populations from allele frequency data. Conservation Biology. 12:228-237.
21- Luikart, G.L., Allendorf, F.W., Cornuet, J.M. and Sherwin, W.B. (1998). Distortion of allele frequency distributions provides a test for recent population bottlenecks. Journal of Heredity. 89:238–247.
22- Miller, S.A., Dykes, D.D. and Polesky, H.F. (1988). A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. Nucleic Acids Research. 16:1215.
23- Notter, D. R. (1998). The importance of diversity in livestock populations of the future. Journal of Animal Science. 77:61-69.
24- Ott, J. (2001). Program Het version 1.8. Utility programs for analysis of genetic linkage. Rockefeller University. New York, NY, USA.
25- Peakall, R. and Smouse,P.E.(2006). GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. Molecular Ecology Notes. 6:288-295.
26- Piry, S., Luikart, G. and Cornuet, J.M. (1999). BOTTLENECK: A computer program for detecting recent reductions in the effective population size using allele frequency data. Journal of Heredity. 90:502-503.
27- Ramlijak J., Mioc, B., Curkovic, M., Pavic, V., Ivankovic, A. and Medugorac, I. (2011). Genetic Diversity measures of the Croatian Spotted goat. Acta Veterinaria (Beograd). 61:373-382.
28- Toro, M. and Mäki-Tanila A. (2007). Genomics reveals domestication history and facilitates breed development. Edited by: Oldenbroek K. Utilization and Conservation of Farm Animal Genetic Resources. Wageningen, the Netherlands.
29- Traore, A., Álvarez, I., Tamboura, H.H., Fernández, I., Kaboré, A., Royo Gutierrez, J.P., Sangare, M., Ouedraogo-Sanou, G., Toguyeni, A., Sawadogo, L. and Goyache, F. (2009). Genetic characterisation of Burkina Faso goats using microsatellite polymorphism. Livestock Science. 123:322-28.
30- Visser, C., Hefer, C.A., Van Marle-Koster, E. and Kotze, A. (2004). Genetic variation of three commercial and three indigenous goat populations in South Africa. Journal of Animal Science. 34(suppl.1):145-153.