بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت گوسفند بلوچی با استفاده از نشانگرهای ریز ماهواره

سعید اسماعیل خانیان[۱]، اردشیر نجاتی جوارمی[۲]، فضل‌ا... افراز[۲]، پیمان دانشیار[۳] و صابر قنبری[۴]

چکیده

در این مطالعه به منظور تعیین سطح تنوع ژنتیکی در جمعیت گوسفند بلوچی از ۱۹ جایگاه ریزماهواره‌ای استفاده شد. نمونه‌های خون کامل از تعداد ۱۵۶ راس گوسفند بلوچی در ایستگاه اصلاح دام شمال شرق کشور (عباس‌آباد- مشهد) تهیه و استخراج DNA به روش استخراج نمکی بهینه شده انجام شد. تمام نشانگرهای مورد استفاده به غیر از نشانگر UNC5C جایگاه‌های مربوطه را تکثیر کردند. محصولات PCR با استفاده از الکتروفورز ژل پلی آکریل آمید واسرشته ساز ۸٪ تفکیک و رنگ آمیزی به روش نیترات نقره سریع انجام شد. فراوانی‌های آللی و ژنوتیپی به روش شمارش مستقیم به‌دست آمد و برآورد معیارهای مختلف تنوع درون جمعیتی و معیارهای چندشکلی برای هر نشانگر برآورد شد. آزمون تعادل هاردی- واینبرگ نشان داد که این جمعیت به‌جز در جایگاه OarAE101، در سایر جایگاه‌ها انحراف معنی‌داری از حالت تعادل داشت (P< ۰/۰۰۵). دامنه هتروزیگوسیتی (تنوع ژنی) برای این جایگاه‌ها بین ۰/۱ تا ۰/۹۳ متفاوت بود. هم‌چنین دو جایگاه BM1329 و BULG5E یک شکل بودند. در مجموع نتایج حاکی از چند شکل بودن اکثر نشانگرهای مورد مطالعه بود که امکان استفاده از آنها را در مطالعات بعدی در این جمعیت تأیید می‌کند.

واژه‌های کلیدی: گوسفند بلوچی، چند شکلی، نشانگرهای ریزماهواره، هتروزیگوسیتی

مقدمه

گوسفند بلوچی به سبب ویژگی‌های ژنتیکی خاص از جمله دوقلوزایی بالا و نیز به سبب پراکندگی گسترده در منطقه شرق کشور، عمده ترین نژاد گوسفند منطقه شرق کشور به شمار می‌آید. ۲۹٪ از گوسفندان ایران را این نژاد تشکیل می‌دهد (۲). این نژاد در کلیه شهرستان‌های استان سیستان و بلوچستان و بخش عمده ای از استان خراسان پراکنده بوده و در استان‌های کرمان، اصفهان و یزد نیز پرورش داده می‌شود. بدین ترتیب ضرورت انجام مطالعات ژنتیکی جدید در این جمعیت به کمک نشانگرهای مولکولی مناسب از جمله ریزماهواره‌ها به علل ذکر شده و به منظور شناسائی منابع ژنتیکی گوسفندان ایران و هم‌چنین جهت بالا بردن راندمان تولید مثل از طریق انتخاب

۱. استادیار بیوتکنولوژی، مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور، کرج

۲. استادیاران ژنتیک و اصلاح نژاد دام، مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور، کرج

۳. کارشناس ارشد علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل

۴. کارشناس ارشد ژنتیک و اصلاح نژاد دام، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1386.11.41.31.3]

به‌وسیله مارکرها کاملا محسوس می‌باشد. مطالعات در ایران کارآمدی نشانگرهای ریزماهواره‌ای را برای انجام مطالعات ژنتیک جمعیت در گوسفند به اثبات رسانده است(۱، ۴، ۵، ۶ و ۷). این نشانگرها به سبب چند شکلی بالا، گستردگی در سرتاسر ژنوم، کم هزینه بودن، ژنوتیپ‌یابی آسان و مهم‌تر از همه توارث همبارز امکان انجام انواع مطالعات ژنتیکی ساده، سریع و دقیق‌تر را فراهم آورده‌اند. در این مطالعه سعی گردیده است تا با تعیین ویژگی‌ها و خصوصیات ژنتیکی این گوسفندان در ۱۹ جایگاه ریزماهواره چندشکل‌ترین این جایگاه‌ها شناسایی و با برآورد معیارهای مختلف، تنوع درون جمعیتی (تنوع ژنی) و نیز میزان چندشکلی جایگاه‌های مذکور در جمعیت گوسفند بلوچی مورد مطالعه تعیین گردد و با معرفی جایگاه‌های چند شکل مناسب زمینه برای مطالعات ژنتیکی بعدی فراهم شود. این مطالعه روی جمعیت گوسفند بلوچی ایستگاه اصلاح نژاد شمال شرق کشور (عباس‌آباد- مشهد) به سبب داشتن شجره قابل اطمینان و وجود رکوردهای متفاوت برای صفات تولیدی انجام شد.

مونت‌گومری و همکاران تفرق ژن Fec B را در ۱۲ خانواده برولا- مرینو شامل ۳۷۹ نتاج ماده بررسی کردند(۱۵). در این تحقیق دو نشانگر ریزماهواره OarAE101 و OarHHO55 پیوسته با این ژن معرفی شدند. یکی از محققین جایگاه OarFCB304 راگزارش نمود(۷). استون و همکاران جایگاه BMS460 را ۹ آللی گزارش نمودند و محل آن را نیز کروموزم شماره ۳ تعیین کردند(۲۰). یکی دیگر از محققین فراوانی نشانگرهای میکروساتلایت OarAE101 و BM1329 را پیوسته با ژن FecB در گوسفند برولا- مرینوی گوسفندان مرینوی مجارستان تعیین نمود که به ترتیب دارای ۵ آلل و ۴ آلل بودند(۵). فرید و همکاران تنوع ژنتیکی ۲۷۵ گوسفند از ۱۰ نژاد را با استفاده از ۱۰ جایگاه ریزماهواره ارزیابی نمودند(۱۱). نتایج نشان داد در نژادهایی که تحت انتخاب شدید قرار داشته‌اند کاهش مؤثری در تنوع ژنتیکی جایگاه‌های مورد مطالعه وجود ندارد. مادوکس و همکاران جایگاه‌های MAF64، OarC26، MCMA2، MCMA26، OarHHO55، BMO143 ، BM1329 را گزارش نمودند(۱۳). مولسانت و همکاران جایگاه‌های BMS2508، LSCU43U ، Bulge5، 471U و300U را گزارش کردند(۱۶).

مواد وروش‌ها

گله مورد مطالعه، گله شماره دو مرکز اصلاح نژاد شمال شرق کشور (عباس آباد) می‌باشد که در مجموع شامل حدود۵۰۰ راس گوسفند بلوچی است.

نمونه‌های خون کامل به میزان ۱۰ میلی‌لیتر از ورید وداج و با استفاده از لوله خلاء دار ۵ میلی‌لیتری حاوی ماده ضد انعقاد Na_2EDTA از تعداد۸۵ رأس میش و ۱۵ راس قوچ و ۵۶ راس بره تهیه گردید. نمونه‌گیری به طور تصادفی صورت گرفت.

استخراج DNA به روش استخراج نمکی میلر و همکاران (۱۴) انجام شد. برای این منظور دیواره سلولی توسط بافر جدا کننده (1% Trinton 100X ، 0.32 M Sucrose، 5mM $MgcL_2$، 10mM Tris-HcL، PH=7.5) و محتویات هسته توسط بافر لیز کننده هسته آزاد شد (400mM NaCl2، 10mM Tris-HCL، 2mM Na2EDTA، PH=8.2) پروتئین‌های کروموزوم با استفاده از آنزیم پروتئیناز K جدا شده و DNA خالص به‌دست آمد. کمّیت و کیفیت DNA استخراج شده با دو روش ژل اگارز ۰/۸٪ و اسپکتروفتومتر بررسی شد. در انتخاب نشانگرها سعی شد جایگاه‌های ژنی میکروساتلایت ها با توجه به نتایج مطالعات دیگران انتخاب گردند. با توجه به حضور یک ژن بزرگ اثر مؤثر بر صفت دو قلوزایی بر روی کروموزوم شماره شش، تقریباً نیمی از جایگاه‌ها (۱۰ جایگاه) روی این کرموزوم در نظر گرفته شدند. جایگاه‌های مذکور در فاصله ۰/۱ تا ۲۰ سانتی مورگانی در دو طرف مکان احتمالی ژن مزبور انتخاب گردیدند. مشخصات جایگاه‌های مورد مطالعه در جدول ۱ آورده شده است. توالی آغاز گرهای لازم برای تکثیر جایگاه‌های انتخاب شده براساس مطالعات دیگران تهیه و به شرکت‌هایTIB ، MWG آلمان سفارش داده شد.

واکنش‌های زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) برطبق روش استاندارد

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-04-20]

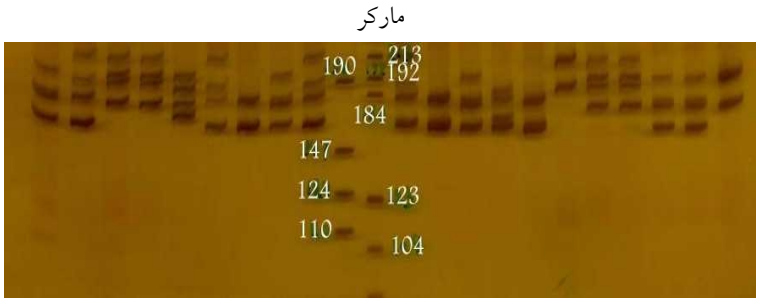
[DOR: 20.1001.1.24763594.1386.11.41.31.3]

جدول ۱ . مشخصات پرایمرها و جایگاه‌های ژنی مورد مطالعه

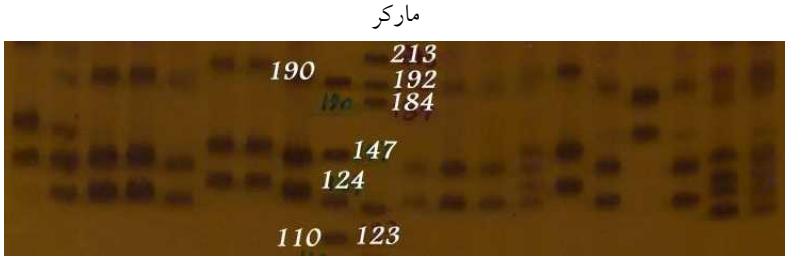
مأخذ	واحدتکرار شونده	کروموزوم	توالی آغازگرها (5´-3´)	نام جایگاه
17	-	6	GGG GGT TCC TTG TAG GTT TGT G GGA AGT GCA GAG AGT CCC ATA C	300U
17	-	6	CCA GAA TAT AGA GTT TTG TCA AG GCC TGA TTT GTA TTT GTA TGA G	LSCV0043
16	-	6	GTT ATT CCA TAT TCT TTC CTC CAT CAT AAG C CCA CAC AGA GCA ACT AAA ACC CAG C	OarHH55
17	(TG)14	6	TTT CTG GGA TTA CAA AAT GCT C TTT CTT AGG GGA GTG TTG ATT C	BMS2508
6	(TG)16	6	ACC TGG GAA GCC TCC ATA TC CTG CAG GCA GAT TCT TTA TCG	BM143
17	-	6	CTA CAA TAA ATA ATG AGG TGA AA TGA GTA GAG ACA AAG CTA TAA A	471U
16	(CA)12	6	TAA GAA ATA TAT TTG AAA AAA CTG TAT CTC CC TTC TTA TAG ATG CAC TCA AGC TAG G	OarAE101
6	(AC)18	6	TTG TTT AGG CAA GTC CAA AGT C AAC ACC GCA GCT TCA TCC	BM1329
17	-	6	CAC AAA CAT TCG GAC ATG ACC TGA GGA GGG CAC ATC CAT TG	BULGE5E
6	(GT)14	1	TTG AGC ACA GAC ACA GAC TGG ACT GAA TGC CTC CTT TGT GC	BM6438
6	(GT)16	2	CTC TGG GTA CAA CAC TGA GTC C TAG AGA GTT TCC CTG TCC ATC C	BM6444
21	(AC)20	3	TGC CCC ATA GTG TAG TGC TC GCC AGC AGA GAA TTG TAG CA	BMS460
21	(GT)16	2	ACC ATC TAC TGT GCT ATG GCT T GCA GAA ACA CAA TAC TCA GTG C	BMS678
22	(TG)13	1	AAT AGA CCA TTC AGA GAA ACG TTG AC CTC ATG GAA TCA GAC AAA AGG TAG C	MAF64
14	(AC)28	13	TCA CCC AAC AAT CAT GAA AC TTA AAT CGA GTG TGA ATG GG	McMA2
14	(GT)31	18	TCT CTG CTT TCC AGC CTT ATT C AGA GCT TTT AGG ACA GCC ACC	McMA26
7	(TC)6GC [(TC)4GC]2 (TC)11(AC)15	7	CCC TAG GAG CTT TCA ATA AAG AAT CGG CGC TGC TGT CAA CTG GGT CAG GG	OarFCB304
11	(CA)11CG(CA) 15	4	GGC CTA ACA GAA TTC AGA TGA TGT TGC GTC ACC ATA CTG ACG GCT GGT TCC	OarCP26
17	-	6	ATC CTC ACC CTT CAA ACA G CTG GGG AGT TTT CTC TGA C	UNC5C

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1386.11.41.31.3]



شکل ۱ . الگوی باند برای جایگاه MCMA2



شکل ۲ . الگوی باند برای جایگاه BMS460

در دستگاه ترموسایکلر Biometra انجام گردید. غلظت اجزای واکنش به شرح زیر می‌باشد:

۵۰ نانوگرم از DNA ژنومی گوسفند، ۲۰۰ میکرومولار از مخلوط dNTPs، ۰/۲۵ میکرومولار از هر آغازگر، بافر PCR با غلظت 1X و یک واحد از آنزیم Taqپلیمراز (ساخت شرکت Fermentase). فرآورده‌های PCR با استفاده از ژل آکریل آمید واسرشته‌ساز ۸٪ تفکیک شد. ژل‌ها به روش رنگ آمیزی نیترات نقره سریع رنگ آمیزی شد (۱۹). اندازه باندهای به دست آمده از روی نشانگرهای اندازه (نشانگرهای شماره V وVIII ساخت شرکت Roche آلمان) تعیین و ژنوتیپ هر فرد در هر جایگاه مستقیماً از روی ژل به‌دست آمد. فراوانی‌های ژنوتیپی و آللی به روش شمارش مستقیم تعیین گردید. جایگاه‌های مختلف از نظر تعادل‌هاردی – واینبرگ با دو آزمون مربع کای و نسبت درست نمایی (۱۲) و با استفاده از نرم افزار POPGENE، (۲۱) مورد آزمون قرار گرفتند (P<۰/۰۰۵). هتروزیگوسیتی مورد انتظار ناریب، (۱۷) به عنوان معیار تنوع درون جمعیتی با استفاده از نرم‌افزار Het برآورد گردید (۱۷ و ۱۸). هم‌چنین معیارهای مختلف چند شکلی مانند تعداد آلل واقعی (n)، تعداد آلل موثر (ne) با استفاده از نرم افزار POPGENE و محتوای اطلاعات چندشکلی یا PIC (Polymorphic Information Content) با استفاده از نرم افزار Het برآورد گردید.

نتایج و بحث

تکثیر در تمامی جایگاه‌ها به‌جز جایگاه UNC5C موفقیت آمیز بود. شکل ۱ و ۲ الگوی باندی تکثیر جایگاه‌های MCMA2 و BMS460 را نشان می‌دهد. علل احتمالی عدم تکثیر در جایگاه UNC5C را می‌توان به وجود جهش در یک یا هر دو مکان اتصال آغازگرها در جمعیت مورد مطالعه ذکر کرد. مولسانت و همکاران (۲۰۰۱) تعداد الل این جایگاه را ۷ آلل گزارش نمود(۱۶). به جز جایگاه OarAE101، سایر جایگاه‌ها با هر دو آزمون مربع کای و نسبت درست نمایی انحراف معنی داری از تعادل‌هاردی واینبرگ نشان دادند (P < ۰/۰۰۵). این وضعیت برای گله تحت انتخاب کاملاً منطقی به نظر می‌رسد. مهمان نواز و همکاران همخونی در این گله را بسیار پائین گزارش نمودند و علت آن را وجود انتخاب و جفت‌گیری کنترل شده عنوان کرده‌اند(۳). جدول ۲ نتایج حاصل از هرجایگاه شامل دامنه اندازه

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1386.11.41.31.3]

جدول ۲ . تعداد الل، معیارهای چند شکلی و تعداد الل واقعی و موثر در جایگاه‌های مورد مطالعه

جایگاه	دامنه اندازه آللی (bp)	هتروزیگوسیتی مورد انتظار ناریب Nei (He)	محتوای اطلاعات چند شکلی (PIC)	تعداد آلل واقعی (n)	تعداد آلل موثر(ne)
300U	۱۲۶–۱۵۹	۰/۸۵	۰/۸۴	۹	۶/۸۹
LSCV0043	۱۱۳–۱۴۲	۰/۷۲	۰/۶۸	۶	۳/۵۶
QarHH55	۹۷–۱۱۸	۰/۷۳	۰/۶۸	۷	۳/۶۸
BMS2508	۱۵۳–۱۹۴	۰/۷۱	۰/۶۶	۶	۳/۴۸
BM143	۱۰۵–۱۱۹	۰/۷۳	۰/۶۹	۶	۳/۶۸
471U	۱۹۲–۱۹۴	۰/۵۰	۰/۳۷	۲	۱/۹۹
OarAE101	۱۰۲–۱۱۲	۰/۱۰	۰/۱۰	۲	۱/۱۱
BM1329	۱۷۰	–	–	۱	۱
BULGE5E	۱۳۳	–	–	۱	۱
BM6438	۲۷۱–۳۲۳	۰/۸۹	۰/۸۸	۱۲	۸/۸۵
BM6444	۱۲۰–۱۷۸	۰/۹۳	۰/۹۲	۱۵	۱۴
BMS460	۱۲۴–۱۸۹	۰/۹۱	۰/۹۱	۱۸	۱۱/۴
BMS678	۹۷–۱۸۱	۰/۸۵	۰/۸۳	۱۰	۶/۴
MAF64	۱۰۹–۱۵۱	۰/۸۸	۰/۸۷	۱۲	۸/۷
McMA2	۱۵۹–۱۹۹	۰/۹۰	۰/۹۰	۱۲	۱۰
McMA26	۱۸۴–۲۱۸	۰/۹۱	۰/۹۰	۱۲	۱۰
OarFCB304	۱۱۶–۱۷۶	۰/۸۵	۰/۸۳	۱۰	۶/۶
OarCP26	۱۵۴–۱۹۶	۰/۹۱	۰/۹۰	۱۳	۱۰/۳
UNC5C	–	–	–	–	–

آللی، تعداد آلل واقعی (n) و موثر (ne)، میزان اطلاعات چند شکلی (PIC) و هتروزیگوسیتی مورد انتظار ناریب Nei (He) را نشان می‌دهد. دامنه اندازه آللی برخی از جایگاه‌های مورد مطالعه همچون BM1329 خارج از محدوده‌های گزارش شده در مطالعات قبلی بود. واین امر احتمالاً به خاطر تفاوت جمعیت حاضر از جمعیت‌های مورد مطالعه دیگران است مادوکس و همکاران دامنه اللی جایگاه BM1329 را bp ۱۷۰–۱۵۶ و Chu and Wang (۲۰۰۲) دامنه اللی همین جایگاه را bp ۱۸۰–۱۶۰ گزارش نموده‌اند(۱۳).

مولسانت و همکاران این جایگاه را چند شکل گزارش نمودند. جایگاه‌های Buge5E و BM1329 یک شکل بودند (۱۳۳bp bp ۱۷۰). اندازه‌های آللی برای جایگاه‌های 471U و 300U به‌ترتیب ۱۹۴–۱۹۲ و ۱۵۹–۱۲۶ به‌دست آمد که این اندازه‌ها برای اولین بارگزارش شده است(۱۶). این جایگاه‌ها توسط همین محققین نیز مطالعه شده‌اند گرچه درمقاله آنها اندازه اللی گزارش نشده است.

جایگاه‌های BM6444 و OarAE101 به ترتیب بیشترین و کمترین هتروزیگوسیتی مورد انتظار (۰/۱ و ۰/۹۳) و تعداد آلل موثر (۱/۱ و۱۴) را داشتند (جدول۲) . اما از نظر تعداد آلل واقعی جایگاه BMS460 با ۱۸ آلل و جایگاه‌های OarAE101 و471U با دو آلل به‌ترتیب بیشترین و کمترین تعداد آلل واقعی را دارا بودند (بدون در نظر گرفتن جایگاه‌های تک شکل).

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1386.11.41.31.3]

بیشترین و کمترین PIC نیز به ترتیب مربوط به جایگاه‌های BM6444 (۰/۹۲) و OarAE101 (۰/۱۰) بود. مادوکس و همکاران مقدار PIC را برای جایگاه‌های BM6444 به‌میزان ۰/۸۸ گزارش نمودند(۱۳).

متوسط هتروزیگوسیتی مورد انتظار نااریب Nei ومتوسط PIC در تمام جایگاه‌های مورد مطالعه با و بدون احتساب جایگاه‌های تک شکل بالا می‌باشد (۰/۶۹، ۰/۶۶ و۰/۷۷، ۰/۷۵). در اکثر مطالعات این مقادیر برای جایگاه‌های ریز ماهواره‌ای معمولاً بیش از ۰/۸ ذکر گردیده است، مادوکس (۱، ۸، ۱۰ و ۱۳) که نشان دهنده وجود چند شکلی بالا در این نشانگرها در مقایسه با سایر نشانگرهاست.

هتروزیگوسیتی بالای جایگاه‌های مورد مطالعه در جمعیت گوسفند بلوچی حاکی از حفظ تنوع بالای درون جمعیتی علی‌رغم انجام کارهای اصلاح نژادی بر روی این گله به‌علل شیوه‌های مدیریتی و اصلاحی برنامه ریزی شده می‌باشد که توانسته است میزان همخونی را کاهش و تنوع را در سطح قابل قبولی حفظ نماید(۳)

مطالعه حاضر نشان داد که اکثر ریزماهواره‌های مورد مطالعه با چند شکلی بالا و مناسب شرایط استفاده در مطالعات آتی در این جمعیت وسایر جمعیت‌های گوسفند ایرانی را دارا می‌باشند و می‌توان از آنها در مطالعاتی مانند مکان یابی ژن‌های مهم اقتصادی مانند ژن دوقلوزایی در همین جمعیت استفاده نمود. لازم به ذکر است این مطالعه با به‌کارگیری ۱۹ جایگاه ریز ماهواره‌ای و ۱۵۶ نمونه اشکال عمده در سایر مطالعات جمعیتی با استفاده از نشانگرهای DNA، یعنی کم بودن تعداد جایگاه و نمونه‌های مورد مطالعه را برطرف نموده و بنابراین می‌توان با اطمینان بالاتری به نتایج حاصل از آن استناد نمود و با اضافه نمودن جایگاه‌های جدید به این مطالعه بر اعتبار نتایج آن افزود. در نهایت می‌توان گفت این مطالعه بار دیگر کارآمدی ریز ماهواره‌ها را به عنوان نشانگر برگزیده برای مطالعات جمعیتی تأیید می‌نماید.

سپاسگزاری

این تحقیق در آزمایشگاه ژنتیک مولکولی بخش بیوتکنولوژی مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور انجام شد. از همراهی و همکاری تمامی دوستان و همکاران در آزمایشگاه بخش بیوتکنولوژی مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور تشکر می‌نمائیم.

منابع مورد استفاده

۱. بنابازی، م. ح. ۱۳۸۱. بررسی تنوع ژنتیکی در درون و بین پنج جمعیت گوسفند ایرانی با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره. پایان‌نامه کارشناسی ارشد علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران.

۲. توکلیان، ج. ۱۳۷۸. *نگرشی بر ذخایر ژنتیکی دام و طیور بومی ایران*. مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور، کرج.

۳. مهمان‌نواز، ی.، ر. واعظ ترشیزی، ع. صالحی و ع. شوریده. ۱۳۸۰. همخونی و اثر آن بر صفات تولیدی در گوسفند نژاد بلوچی. اولین سمینار ژنتیک و اصلاح نژاد دام، طیور و آبزیان کشور. ۱-۲ اسفندماه ۱۳۸۰. دانشگاه تهران.

4. Arranz, J.J., Y. Bayon and F. San Primitivo. 2001. Differentiation among spanish sheep breeds using microsatellites. Genet. Selection and Evol. 33: 529-542.
5. Arnyasi, M., A. Zsolnai, L. Fesus and A. Javor. 1999. The frequency of allels of the OarAE101 and BM1329 microsatellite markers linked to the FecB gene in the Hungarian prolific Merino sheep. Scientific conference at the Hungarian Acad. of Sci. 48:708-710.
6. Buchanan, F.C., L.J. Adams, R.P. Littlejohn, J.F. Maddox and A.M. Crawford. 1994. Determination of evolutionary relationships among sheep breeds using microsatellites. Genom. 22: 397-403.
7. Buchanan F.C. and A.M. Crawford. 1993. Ovine microsatellites at the OarFCB11, OarFCB128, OarFCB193, OarFCB266 and OarFCB304 loci. Anim. Gene. 24:145.
8. Buchanan F.C. and T.D. Thue. 1998. Intrabreed polymorphic information content of microsatellites in cattle and sheep. Can. J. Anim. Sci. 78:425-428.

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1386.11.41.31.3]

9. Chu, Mx, J.Z.Wang and A.G. Wang. 2002. Genetic polymorphisms of five microsatellite loci in small Tail Han sheep. Chines J. Anim. Sci. 29:502-506
10. Ede, A.J., C.A. Pierson and A.M. Crawford. 1995. Ovine microsatellites at the OarCP9, OarCP16, OarCP20, OarCP21, OarCP23 and OarCP26 loci. Anim. Genet. 26:129-131.
11. Farid, A., E. O`Reilly, C. Dollard and Jr. C.R. Kelsey. 2000. Genetic analysis of ten sheep breeds using microsatellite markers. Can. J. Anim. Sci. 80: 9-17.
12. Hedrick, P. W. 1999. Genetic of Populations. Second ed., Jones and Bartlett Pub., Sudbury, MA, USA.
13. Maddox, J.F., K.P. Davis, A.M. Crawford, D.J. Hulme, D.V. Viaman, E.O. Cribiu, B.A. Ferking, K.J. Beh, N. Kang, C.D. Riffkin. S.S. Moore. K.G.Dodds. J.M. Lumsden. 2001. An enhanced linkage mapof the sheep genome comprising more than 1000 loci. Genome Res. 11:1275-1289.
14. Miller, S.A., D.D. Dykes and H.F. Polesky. 1988. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. Nucleic Acids Res. 16:1215.
15. Montgomery, G.W., A.M.Crawford, J.M.Penty, A.J. Ede, H.M.Henry, C.A.Pierson, E.A. Lord and S.M. Galloway. 1993. The ovine booroola fecundity gene (FecB) is linked to markers from a region of humanchromosome 4q. Nature Gene. 4:410-414.
16. Mulsant, P., F.Lecerf, S. Fabre, L.Schibler, P.Monget, I.Lannebic, C.Pisselet, J.Riquet, D.Monniaux, I. callebaut, E. Cribiu, J.Thimonier, J.Teyssier, L.Bodin, Y.Cognie, N. Chitour and E. Jean-Michel. 2001. Mutation in bone morphogenetic protein receptor-IB is associated with increased ovulation rate in booroola merino ewes. PNAS 98:5104-5109.
17. Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. Gene. 89:583-590.
18. Ott, J. 1989. Program HET. Version 1.10, Utility programs for analysis of genetic linkage. Rockefeller University. New York.
19. Sanguinetti, C.J., E.D. Neto and A.J.G. Simpson. 1994. Rapid silver staining and recovery of PCR product separated on polyacrylamide gels. Biotechniques 17:915-919.
20. Stone, R.T., J.C. Pulido, G.M. Duyk, S.M. Kappes, J.W. Keele and C.W. Beatti. 1995. A small-insertbovine genomic library highly enriched for microsatellite repeat sequences. Mammailian Genome 6:714-724.
21. 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.

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1386.11.41.31.3]