استفاده از نشانگرهای RAPD برای شناسایی تغییرات ژنتیکی در مرغان ایستگاه تکثیر و اصلاح نژاد مرغ بومی مازندران

علیرضاخان احمدی[۱]، قدرت اله رحیمی[۲]، اردشیر نجاتی جوارمی[۳] و سعید اسماعیل خانیان[۳]

چکیده

به منظور شناسایی واریانس ژنتیکی مرغان ایستگاه تکثیر و اصلاح نژاد مرغ بومی مازندران با استفاده از نشانگرهای RAPD نمونه‌های خون از ۱۰۰ قطعه مرغ و خروس تهیه و DNA آنها به روش بهینه یافتهٔ نمکی (Salting out) استخراج گردید. از ۲۰ آغازگر مورد استفاده در این تحقیق ۱۴ آغازگر توانستند باندهای مناسب و قابل قبولی را تکثیر نمایند. محصولات واکنش زنجیره‌ای پلی مراز (PCR) با استفاده از ژل آگارز ۱/۵٪ الکتروفورز شد. با استفاده از این تعداد آغازگر۱۴۰ باند شناسایی که از این تعداد ۶۳ باند چند شکل و ۷۷ باند یک شکل شناسایی شد. تعداد باندهای شناسایی شده به ازای هر آغازگر بین۱۶-۴ با دامنهٔ تغییرات ۲۱۰۰- ۲۰۰ جفت باز بوده میزان چند شکلی بدست آمده در این جمعیت ۴۵٪ بوده است بیشترین درصد چند شکلی مربوط به آغازگر PR-9 با ۷۲٪ و کمترین درصد چند شکلی مربوط به آغازگر PR-14 با ۱۶٪ نشانداده شد. فراوانی اشتراک باندی (BSF) برای هر آغازگر محاسبه و در دامنهٔ ۰/۹۶-۰/۷۹ بوده است. تشابه ژنتیکی درون جمعیتی (WGS) بعنوان متوسط فراوانی اشتراک باندی و واریانس ژنتیکی محاسبه و مقدار آنها به ترتیب برابر ۰/۸۹ و ۰/۱۱ برآورد شد. در نتیجه سطح بالای چند شکلی بعد از ده نسل انتخاب می‌تواند مبین ارزیابی درست ژنتیکی، راه‌کارهای انتخاب مناسب و هم‌چنین اندازه مؤثر جمعیت می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: مرغ بومی مازندران، RAPD ، واریانس ژنتیکی

مقدمه

تنوع اقلیمی در کشور سبب شده است که حیوانات موجود در هر منطقه طی گذشت زمان با شرایط موجود سازگار شده و تجدید نسل نمایند و به عنوان ذخایر ژنتیکی منطقه محسوب شوند. به دلیل مقاومت بالای حیوانات بومی در برابر شرایط نامساعد محیطی و بیماری‌های رایج هر منطقه، توجه به این حیوانات به منظور حفظ ذخایر ژنتیکی، ممانعت از کاهش تنوع ژنتیکی، شناسایی قابلیت‌های ژنتیکی و اصلاح نژاد آنها نیاز می‌باشد.

۱. عضو هیأت علمی آموزشکده فنی و حرفه‌ای سما، آزادشهر، استان گلستان

۲. استادیار علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مازندران، ساری

۳. اعضای هیأت علمی مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور، کرج

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-04-24]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1386.11.40.27.7]

از آنجائی که تنوع لازمهٔ برنامه‌های اصلاح نژادی می‌باشد، می‌توان این تنوع را با استفاده از تکنیک های موجود در سطح ژنوم بررسی و از آنها به عنوان نشانگرهای مولکولی جهت مطالعه افراد در جمعیت‌های مختلف بهره گرفت. هم‌چنین این نشانگرها سبب افزایش دقت انتخاب به ویژه در سنین جوانی، پیشرفت ژنتیکی و کاهش فاصلهٔ نسل می‌شوند. تکنیک‌های متعددی برای بررسی تنوع در سطح ژنوم وجود دارد که هرکدام دارای مزایا و معایبی هستند که بسته به هدف تحقیق انتخاب می‌شوند. تکنیک RAPD به علت مزایایی همچون سرعت، مقدار کم DNA مورد نیاز، عدم نیاز به مواد رادیو اکتیو، عدم اطلاع از توالی ژنوم هدف و نیز بررسی تنوع در تعداد زیادی از جایگاه‌های ژنی تا به‌حال در گونه‌های مختلفی از حیوانات و گیاهان مورد استفاده قرار گرفته است (۵).

باندهای RAPD به وسیلهٔ یک قطعه اولیگونوکلئوتید کوتاه (۱۰ نوکلئوتیدی) به عنوان آغازگر و DNA ژنومی در یک واکنش زنجیره‌ای پلی مراز (PCR) قابل شناسایی است (۱۴). در واکنش PCR، آغازگر به توالی مکمل خود روی رشتهٔ DNA متصل شده و تکثیر صورت می‌گیرد. چنانچه تغییری در توالی DNA در محل اتصال آغازگر به رشتهٔ DNA اتفاق افتاده باشد (جهش، حذف یا الحاق کروموزومی)، این قطعه قادر به اتصال به رشتهٔ DNA نبوده و تکثیر انجام نمی شود، در صورتی که در توالی DNA فرد دیگر در محل اتصال آغازگر به رشتهٔ DNA تغییری صورت نگرفته باشد، آغازگر به توالی مورد نظر متصل شده و تکثیر صورت می‌گیرد، که به واسطهٔ حضور باند (آلل غالب) و یا عدم حضور باند (آلل مغلوب) در یک جایگاه ژنی بروز می‌نماید.

با توجه به این که نشانگر RAPD جزء نشانگرهایی با توارث غالبیت می‌باشد تشخیص ژنوتیپ‌های هموزیگوت غالب و هتروزیگوت ممکن نیست، زیرا حضور باند روی ژل الکتروفورز به عنوان ژنوتیپ هموزیگوس غالب و هتروزیگوس (+/+، +/-) و عدم حضور باند به عنوان ژنوتیپ هموزیگوس مغلوب (-/-) می‌باشد (۲).

از نشانگر RAPD در مطالعات مختلفی برای آنالیز ساختار ژنتیکی درون نژادها استفاده شده است. در این مطالعات نشان داده شده است که چند شکلی DNA می‌تواند به عنوان یک ابزار قدرتمند برای مطالعهٔ تنوع درون نژادی استفاده شود (۹ و ۱۱). امروزه از این تکنیک در مطالعاتی از قبیل ژنتیک جمعیت، تنوع و ارتباط ژنتیکی، آزمون انساب و غیره در داخل و بین جمعیت‌های مختلف حیوانات استفاده می‌شود. بررسی تنوع ژنتیکی در سطح مولکول DNA می‌تواند در شناسایی روابط ژنتیکی، تلاقی‌های مطلوب و کوتاه نمودن زمان برای ارزیابی ژنتیکی حیوانات مؤثر باشد (۴ و ۱۵).

شارما و همکاران از نشانگر RAPD برای بررسی تنوع ژنتیکی درون و بین شش جمعیت بلدرچین استفاده نموده‌اند. از۲۰ آغازگر مورد استفاده شش آغازگر باندهای چند شکل در این جمعیت‌ها نشان دادند که در مجموع از ۶۰ باند تکثیر شده ۱۹ باند (۳۱/۷٪) چند شکل بوده‌اند. هم‌چنین تشابه ژنتیکی درون جمعیت از ۰/۷۲۶ تا ۰/۸۳۶ و بین جمعیت‌ها از ۰/۷۰۹ تا ۰/۸۰۸ متغیر بوده است (۱۱). از این تکنیک برای برآورد رابطهٔ ژنتیکی بین گونه‌های مختلف طیور توسط شارما و اسمیت و همکاران و تهیه نقشه‌های ژنتیکی توسط لوین و همکاران گزارش شده است (۵، ۹ و ۱۲).

هدف از این تحقیق برآورد تشابه و تنوع ژنتیکی درون جمعیت مرغان ایستگاه تکثیر و اصلاح نژاد مرغ بومی مازندران با استفاده از نشانگرهای RAPD بوده است.

مواد و روش‌ها

نمونه‌گیری

از تعداد ۱۰۰ قطعه مرغ و خروس (به نسبت ۱۱ به یک) مرغان بومی مازندران به صورت تصادفی نمونه‌های خون از طریق ورید زیر بال به وسیلهٔ لوله‌های خلاء حاوی مادهٔ ضد انعقاد (EDTA) (Ethilen Diamin tetra aciticacid) به میزان سه میلی‌لیتر تهیه و برای استخراج DNA به آزمایشگاه بیوتکنولوژی مرکز تحقیقات علوم دامی کشور منتقل شد.

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-04-24]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1386.11.40.27.7]

جدول ۱. توالی آغاز گرهای مورد استفاده در این تحقیق

آغازگر	توالی آغازگر مورد استفاده 5` ⟶ 3`	آغازگر	توالی آغازگر مورد استفاده 5` ⟶ 3`
PR-۱	TCACGATGCA	PR-11	AACGCGTCGG
PR-2	TCTCGATGAA	PR-12	TTCGAGCCAG
PR-3	CGGCCCCTGT	PR-13	GAACGGACTC
PR-4	TGGTCACTGT	PR-14	GTGAGGCGTC
PR-5	GGACTGGAGT	PR-15	GTTGCCAGCC
PR-6	TGGACCGGTG	PR-16	AAAGCTGCGG
PR-7	GGACCCAACC	PR-17	TGAGTGGGTG
PR-8	GGGCTAGGGT	PR-18	TTCCCAGGAT
PR-9	GAAACGGGTG	PR-19	AAGCCTCGTC
PR-10	GACCGCTTGT	PR-20	CGCGGCCATA

تخلیص DNA

DNA ژنومی از ۰/۵ میلی‌لیتر خون کامل با استفاده از روش بهینه یافتهٔ نمکی توسط بافرهای جدا کننده (Sucrose 32M/. ،Tris- HCl 10mM pH=7.5, Triton 100X 1%، $MgCl_2$ 5mM,) و لیز کننده (SDS 10%, NaCl 400mM,Tris- HCl 10mM)، تخلیص و سپس توسط اتانول مطلق رسوب داده شد. بعد از شستشو در اتانول ۷۰٪ در بافر TE (Tris HCl 10mM, EDTA 1mM) حل و بعد از انجام آزمایش‌های کمّی (با استفاده از اسپکتوفتومتر در دو طول موج ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر) و کیفی (ژل آگارز ۰/۸٪) برای واکنش PCR مورد استفاده قرار گرفت (۶).

آغازگرها

در این تحقیق۲۰ آغازگر ۱۰ نوکلئوتیدی که دارای ۴۰ تا ۷۰ درصد بازهای C و G بوده اند استفاده گردید که توالی آغازگرهای مورد استفاده در جدول ۱ نشان داده شد.

واکنش زنجیره‌ای پلی مراز (PCR)

برای تکثیر DNA واکنش PCR در حجم ۲۰ میکرولیتر با استفاده از مواد ذیل شامل

Buffer PCR 1X, $MgCL_2$ 2.5 mM, Primer 0.5µM, dNTPs 200µM, Taq DNA polymerase 1unit, DNA 15ng,

و با سیکل حرارتی ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه برای واسرشت سازی اولیه، ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه، ۳۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه، ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه و با ۴۰ سیکل حرارتی انجام گرفته است. بعد از انجام واکنش برای بررسی محصولات واکنش PCR، الکتروفورز با استفاده از ژل آگارز ۱/۵ ٪ انجام شد. بعد از الکتروفورز، ژل توسط اتیدیوم برو مایاد (با غلظت یک میکرو گرم بر میلی‌لیتر) رنگ آمیزی و باندها در برابر نور ماورای بنفش مشاهده و عکس‌برداری شد (شکل ۱).

آنالیز آماری

ابتدا باندهای به دست آمده نسبت به سایز مارکر مقایسه و وزن مولکولی باندها تعیین گردید. بعد از بررسی و امتیاز دهی باندها و تشکیل ماتریس صفر و یک (به ترتیب عدم حضور و حضور باند در ژل) فراوانی اشتراک باندی (BSF) (Band sharing frequency) به ازای هر آغازگر طبق فرمول پیشنهادی لینج به صورت زیر محاسبه گردید (۶).

$$BSF= 2N_{ab} / (N_a+N_b) \qquad [۱]$$

N_a = تعداد باندهای حاصله برای فرد a

N_b = تعداد باندهای حاصله برای فرد b

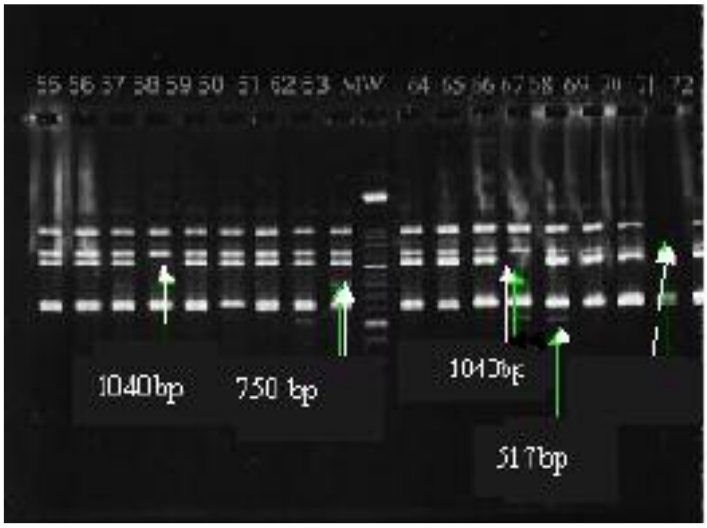
N_{ab} = تعداد باندهای مشترک بین فرد ab

همچنین میزان تشابه ژنتیکی درون جمعیت (WGS) (Within population genetic similarity) بر مبنای متوسط اشتراک باندی، واریانس ژنتیکی (σ^2_G) و شاخص یک‌نواختی باندها (U)[۳] طبق فرمول‌های زیر محاسبه شد.

$$WGS= \frac{1}{N} \sum_{i=1}^{n} BSFi \qquad [۲]$$

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-04-24]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1386.11.40.27.7]



شکل ۱ . باندهای مربوط به آغازگرPR 14 و افراد ۵۵ تا ۷۲

N =تعداد آغازگرهای مورد استفاده

BSF_i = فراوانی i امین اشتراک باندی

$$\sigma_G^2 = 1\text{-}WGS \qquad [۳]$$

$$U = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^{n} Vi \qquad [۴]$$

N =تعداد باندهای امتیاز داده شده برای جمعیت

V_i = فراوانی i امین باند در جمعیت

نتایج و بحث

از ۲۰ آغازگر مورد استفاده در این تحقیق ۱۴ آغازگر توانستند باندهای مناسب و قابل قبولی از DNA ژنومی در این جمعیت تکثیر نمایند. با استفاده از این تعداد آغازگر ۱۴۰ باند شناسایی که متوسط باندهای ایجاد شده به ازای هر آغازگر ۱۰ باند (۷/۱۴٪) بوده است.

از این تعداد باند، ۶۳ (۴۵٪) باند چند شکل و ۷۷ (۵۵٪) باند تک شکل شناسایی شد. آغازگر PR-9 با ۷۲/۷٪ و آغازگرهای PR-14 و PR-15 با ۱۶/۱۶٪ به ترتیب بیشترین و کمترین درصد چند شکلی را نشان دادند. ضمناً آغازگر PR-4 در این جمعیت ۱۰۰٪ باندهای تک شکل تولید نموده است. در این پژوهش بیشترین تعداد باند به وسیلهٔ آغازگر PR-3 با ۱۶ باند (۱۱/۴۳٪) و کمترین تعداد باند با آغازگر PR-5 با ۶ باند (۴/۲۸٪) حاصل شد (جدول۲).

ضریب تشابه و واریانس ژنتیکی درون جمعیت

هدف از محاسبهٔ فراوانی اشتراک باندی برای هر آغازگر در کل جمعیت، به دست آوردن ضریب تشابه ژنتیکی و برآورد واریانس ژنتیکی درون جمعیت از طریق محاسبهٔ متوسط فراوانی اشتراک باندی تولید شده حاصل از تمامی آغازگرها در افراد مورد مطالعه می‌باشد.

بعد از امتیازدهی باندهای حاصل از هر آغازگر برای تمامی افراد جمعیت، فراوانی اشتراک باندی بین افراد برای تمام آغازگرها بر مبنای صفر (عدم حضور باند) و یک (حضور باند) محاسبه شد. مقدار فراوانی اشتراک باندی حاصله بین ۰/۷۹-۰/۹۶ متغیر بوده است (جدول۳).

اسمیت و همکاران میزان فراوانی اشتراک باندی برای چهار نژاد مرغ پلیموت راک، لگهورن، ردایلند قرمز و اروکنا را به ترتیب برابر با ۰/۷، ۰/۷۶، ۸۳/۷ ، ٪ گزارش نمودند (۱۲). این محققین اظهار نمودند بالا بودن شاخص اشتراک باندی در جمعیت اروکنا به دلیل انتخاب تعداد کمی از افراد به عنوان والد نسل بعد می‌باشد. هم‌چنین آنها میزان فراوانی اشتراک باندی بین دو جمعیت بوقلمون (TC و RBC-2) (Random bred & commercial turkey) را به ترتیب برابر ۰/۷۷ و ۰/۷۳ گزارش نمودند (۱۲).

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-04-24]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1386.11.40.27.7]

جدول ۲. توالی، تعداد کل باند شناسایی شده، تعداد باند چند شکل و تک شکل به ازای هر آغازگر

آغازگر	توالی آغازگرها 5` ⟶ 3`	تعداد باند شناسایی شده	تعداد باند چند شکل	تعداد باند تک شکل	درصد چند شکلی	درصد تک شکلی
PR-3	CGGCCCCTGT	۱۶	۸	۸	۵۰	۵۰
PR-4	TGGTCACTGT	۴	۰	۴	۰	۱۰۰
PR-5	GGACTGGAGT	۶	۲	۴	۳۳/۳۴	۶۶/۶۶
PR-6	TGGACCGGTG	۱۱	۵	۶	۴۵/۴۵	۵۴/۵۵
PR-8	GGGCTAGGGT	۱۰	۴	۶	۴۰	۶۰
PR-9	GAAACGGGTG	۱۱	۸	۳	۷۲/۷۲	۲۷/۲۸
PR-10	GACCGCTTGT	۶	۲	۴	۳۳/۳۴	۶۶/۶۶
PR-11	AACGCGTCGG	۱۰	۶	۴	۶۰	۴۰
PR-12	TTCGAGCCAG	۹	۴	۵	۴۴/۴۴	۵۵/۵۶
PR-14	GTGAGGCGTC	۶	۱	۵	۱۶/۶۶	۸۳/۳۴
PR-15	GTTGCCAGCC	۱۲	۲	۱۰	۱۶/۶۶	۸۳/۳۴
PR-16	AAAGCTGCGG	۱۵	۹	۶	۶۰	۴۰
PR-17	TGAGTGGGTG	۷	۲	۵	۲۸/۵۷	۷۱/۴۳
PR-20	CGCGGCCATA	۱۱	۵	۶	۴۵/۴۵	۵۵/۵۴

در تحقیق حاضر تشابه ژنتیکی درون جمعیتی به عنوان متوسط فراوانی اشتراک باندی، برابر با ۰/۸۹ و واریانس ژنتیکی درون جمعیتی برابر ۰/۱۱ برآورد شده است.

میزان بالای تشابه ژنتیکی به دست آمده در این تحقیق (۰/۸۹) در مقایسه با گزارش اسمیت و همکاران در نژاد مرغ اروکنا (۰/۸۳)، شارما و همکاران در جمعیت بلدرچین (۰/۸۱۵) که آنها نیز تعدادی از این آغازگرها را استفاده کرده بودند، به این دلیل است که کلیه آغازگرهای تکثیر شده، حتی آنهایی که کمترین درصد چند شکلی داشتند مورد آنالیز قرار گرفتند، زیرا هدف به دست آوردن نشانگرهای مناسب در این جمعیت بوده است تا در صورت امکان در برنامه‌های اصلاحی استفاده شوند در صورتی که محققین مذکور از میان تعداد زیادی آغازگر، آنهایی که بیشترین چند شکلی را نشان می‌دادند در آنالیز استفاده کردند (۱۱ و ۱۲).

شارما و همکاران میزان تشابه ژنتیکی درون و بین شش جمعیت بلدرچین را با استفاده از داده‌های شش آغازگر RAPD که دارای بیشترین درصد چند شکلی بوده‌اند محاسبه کردند(۱۱). در این مطالعه بیشترین میزان تشابه ژنتیکی (۰/۸۱۵) مربوط به جمعیت WES (White egg shell) بود. علت این تشابه در این مطالعه به توسعهٔ این جمعیت از یک جمعیت پایهٔ کوچک و انتخابی که در هر نسل در این جمعیت انجام می‌شد نسبت دادند.

شاخص یک‌نواختی الگوهای باندی (U) برای این جمعیت برای هر آغازگر محاسبه ومقدار آن بین ۰/۹۳-۰/۶۳ برآورد گردید (جدول۳).

میزان چند شکلی محاسبه شده در جمعیت حاضر با استفاده از ۱۴ آغازگر برابر با ۴۵٪ می باشد این مقدار در مقایسه با مقدار به دست آمده از مطالعه شارما و همکاران در جمعیت بلدرچین (۳۱/۷٪) که برای هشت نسل انتخاب شده است قابل توجه می‌باشد (۱۱). بنابراین وجود تنوع ژنتیکی بالا در این جمعیت بعد از ۱۰ نسل انتخاب در مقایسه با گزارش قبلی می تواند مبین ارزیابی ژنتیکی درست، طراحی راهکار مناسب انتخاب برای کاهش هم خونی و بزرگ بودن اندازه مؤثر جمعیت باشد.

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-04-24]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1386.11.40.27.7]

جدول ۳. میزان شاخص یک‌نواختی (U) و متوسط اشتراک باندی محاسبه شده برای آغازگرهای مورد استفاده

نام آغازگر	ضریب U	میزان BSF	نام آغازگر	ضریب U	میزان BSF
PR-3	۰/۸۴	۰/۸۷	PR-12	۰/۸۲	۰/۸۹
PR-5	۰/۹۳	/۹۰	PR-14	۰/۸۶	۰/۹۴
PR-6	۰/۶۹	۰/۸۷	PR-15	۰/۹۶	۰/۹۶
PR-8	۰/۸۹	۰/۹۳	PR-16	۰/۸۴	۰/۸۹
PR-9	۰/۸۱	۰/۸۶	PR-17	۰/۸۲	۰/۹۲
PR-10	۰/۷۹	۰/۹	PR-20	۰/۸۸	۰/۹
PR-11	۰/۶۳	۰/۷۹			

از آنجایی که لازمهٔ طرح‌های اصلاحی و به نژادی تنوع می‌باشد، لذا به کمک تکنیک RAPD می‌توان اساس چند شکلی DNA را به عنوان شاخصی در تشخیص گونه‌ها، مطالعه ژنتیک جمعیت و برنامه‌های اصلاح نژاد مورد ارزیابی قرار داد. این چند شکلی‌ها هم‌چنین می‌توانند پایه‌ای برای تهیهٔ نقشه‌های پیوستگی ژنی باشند که برای تشخیص جایگاه‌های ژنی و در نهایت تسریع در اصلاح صفات تولیدی مورد استفاده قرار گیرند (۴).

در پایان پیشنهاد می‌گردد با توجه به این که چندین نسل انتخاب در این جمعیت انجام شده است از تعداد آغازگرهای بیشتری برای بررسی تنوع ژنتیکی استفاده شود تا امکان شناسایی تنوع ژنتیکی دقیق‌تر و نشانگر مرتبط با صفت خاصی فراهم شود.

سپاسگزاری

این تحقیق در آزمایشگاه بیوتکنولوژی مؤسسهٔ تحقیقات علوم دامی کشور انجام شده است. بدین وسیله از ریاست محترم مؤسسه، معاونین و کلیهٔ اعضای آن صمیمانه تقدیر و تشکر می‌نمایم. هم‌چنین از معاونت محترم امور دام سازمان جهاد کشاورزی استان مازندران و نیز مدیر محترم ایستگاه تکثیر و اصلاح نژاد مرغ بومی مازندران به خاطر همکاری در این طرح تقدیر و تشکر می‌نماییم.

منابع مورد استفاده

1. Apostolidis, A.P., Z. Mamuris, E. Karkavelia and Alifakiotiz. 2001. Comparison of Greek breeds of horse using RAPD markers. J. Anim. Breed.Genet. 118:47- 56.
2. Bahy, A.A., M. Morsy, M. Ahmed and O. Mahmoud Aly. 2003. Relationship between genetic similarity and some PRoductive traits in local chicken strains. African J. Biotechnol. 2(2):46-47.
3. Cushwa, W.T. and J.F. Medrano 1996. Applications of the RAPD assay for genetic analysis of livestock species. Anim. Biotechnol. 7(1): 11-13.
4. Hadrys, H., M. Black and B. Schier. 1992. Application of random amplified polymorphic DNA (RAPD) in molecular ecology. Mol. Eco.1: 55- 64.
5. Levin, I., L.B. Crittenden and J.B. Dodgson. (1993). Genetic map of the Z chromosome using random amplified polymorphic DNA (RAPD)markers. Genomics 16:224-230.
6. Lynch, M. and B.G. Milligan. 1994. Analysis of population genetic structure with RAPD markers. Mol. Ecol 3:91 - 99.
7. Miller, S.A., D.D. Dyckes and H.F. Polesky. 1988. A simple salting-out PRocedure for extracting DNA from human nucleated cells. Nucleic Acids Res. 16:1215.
8. Plotsky, Y., M.Z.M. Kaiser and S. J. Lamont. 1995. Genetic characterization of highly inbred lines by two DNA

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-04-24]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1386.11.40.27.7]

methods: DNA fingerPRinting and polymerase chain reaction using arbitrary Primers. Anim.Genet. 29: 163- 170.
9. Sharma, D., K.B.C. Appa Rao, H.P. Singh and S.M. Totey. 1998. Random amplified polymorphic DNA (RAPD) for evaluating genetic relationship among guinea fowl varieties. Geneti. Analysis: Bimolecular Engineering.
10. Sharma, D., K.B.C. Appa Rao, R.V. Singh and S.M. Totey. 2001. Genetic diversity among chicken breeds estimated through randomly amplified polymorphic DNA. Anim. Biotechnol. 12: 111-120.
11. Sharma, D., K.B.C. Appa Rao and S.M. Totey. 2000. Measurement of within and between Population genetic variability in quails. British Poultry Science 41:29-32.
12. Smith, E.J., C.P. Jones, and S. Bartlett, et al. 1996. Use of randomly amplified polymorphic DNA markers for the genetic analysis of relatedness and diversity in chicken and Turkeys. Poultry Sci. 75:579-584.
13. Williams, J.G.K., M.K. Hanafey, J.A. Rafalski and S.V. Tingey. 1993. Genetic analysis using random amplified polymorphic DNA markers. Method. Enzymol. 218:704- 740.
14. Xuemei., L., Y. Guanfu. Z. Xiquan and W. Chong. 1996. Analysis of relationships between four fowl breeds in Guangdong with RAPD markers. Anim. Biotechnol. Bull. 5: 63- 66.
15. Zhng, X., C.R. Mcdaniel and J.R. Giamborne. 1995. Random amplified polymorphic DNA comparisons among broiler lines selected for incidence of tibia dyschondroplasia. Poult. Sci. 74: 1253-1258.

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-04-24]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1386.11.40.27.7]