

## بررسی تنوع ژنتیکی در چهار جمعیت بز کرکی رائینی با استفاده از

### لوکوس‌های بین ریزماهورهای (ISSR)

ناهید عسکری<sup>۱</sup>، امین باقی‌زاده\*<sup>۲</sup>، محمدرضا محمدآبادی<sup>۳</sup>

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد ژنتیک و اصلاح نژاد دام، دانشگاه کشاورزی

و منابع طبیعی رامین اهواز

۲- استادیار، گروه بیوتکنولوژی، پژوهشکده علوم محیطی، مرکز بین‌المللی

علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی کرمان

۳- استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان

\* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: amin\_4156 @ yahoo.com

(تاریخ دریافت: ۸۷/۹/۱۳ - تاریخ پذیرش: ۸۹/۳/۳۰)

## چکیده

در این پژوهش تنوع ژنتیکی چهار جمعیت بز کرکی رائینی با استفاده از نشانگرهای بین ریزماهورهای (ISSR) مورد بررسی قرار گرفت. نمونه‌های خون از ۷۰ رأس حیوان غیر خویشاوند ایستگاه اصلاح نژاد بز کرکی رائینی شهرستان بافت استان کرمان گرفته شد و استخراج DNA با استفاده از روش اصلاح شده نمکی صورت گرفت. سپس واکنش زنجیره‌ای پلیمرز با استفاده از دو آغازگر  $P_1: (AG)_n C$  و  $P_2: (GA)_n C$  انجام شد، هر دو جایگاه مورد بررسی چندشکل بودند که نشان دهنده کارآیی این جایگاه‌ها در بررسی تنوع ژنتیکی بز می‌باشد. نتایج حاصل نشان داد که تمامی چهار جمعیت بز کرکی رائینی از تنوع بالایی برخوردار می‌باشند (دامنه تنوع بر اساس شاخص Nei بین ۰/۰۲ و ۰/۹۸۱) و دست اندرکاران برنامه‌های اصلاحی در جمعیت مذکور می‌توانند در کنار اجرای این برنامه‌ها به حفظ تنوع ژنتیکی گله توجه داشته باشند تا این ذخایر ژنتیکی به عنوان سرمایه‌های ملی کشور حفظ گردند.

## مقدمه

بز کرکی رائینی یکی از مهمترین نژادهای بز در ایران است که به واسطه تولید کرک مرغوب و کیفیت بالا از ارزش اقتصادی بالایی در بازارهای جهانی برخوردار است. زیستگاه اصلی این حیوان حاشیه کویر و اطراف یزد تا حدود راین کرمان و قست شرقی استان فارس است (۳). در ایستگاه اصلاح نژاد بز کرکی رائینی پرورش و توزیع بزهای نر انتخابی در بین دامداران مهمترین هدف بوده و انتخاب دام‌ها بر اساس رنگ کرک بدن و فنوتیپ ظاهری انجام و بزهای رنگی از گله حذف می‌شوند (۱). در سال‌های گذشته برنامه مدون اصلاح نژادی، ارتباط منطقی با دامداران، انتخاب دام‌های برتر و پرورش دام‌های ممتاز و تبادل آنها

## واژه‌های کلیدی

بز کرکی رائینی،

چندشکلی،

نشانگرهای بین ریزماهورهای،

ISSR

## مواد و روش‌ها

نمونه برداری از ایستگاه بز کرکی راینی واقع در شهرستان بافت استان کرمان انجام شد. در این ایستگاه سالیانه تعداد محدودی حیوان نر داشتی به منظور تولیدمثل نگهداری می‌شود به این صورت که هر یک از جمعیت‌های موجود در این ایستگاه، فرزندان متعلق به یک حیوان نر متفاوت می‌باشند. در این پژوهش نمونه‌های خون کامل از سیاهرگ و داج گردن ۷۰ رأس حیوان غیر خویشاوند با استفاده از لوله خلأ دار ۵ میلی‌لیتری حاوی ماده ضد انعقاد EDTA تهیه گردید، این حیوانات متعلق به چهار جمعیت متفاوت بودند به این صورت که از جمعیت‌های شماره ۲ و ۳ هر کدام ۱۵ نمونه خون و از جمعیت‌های ۱ و ۴ هر کدام ۲۰ نمونه خون تهیه گردید. سپس این نمونه‌ها بر روی یخ به آزمایشگاه منتقل شده و تا زمان استخراج DNA در ۲۴- درجه سانتیگراد نگهداری شدند. با توجه به مشکلاتی که در روش اصلی استخراج نمکی وجود داشت، استخراج DNA از نمونه‌های خون کامل به روش بهینه شده و تغییر یافته نمکی انجام گردید (۱۵). در این روش از یک بافر جدا کننده برای رسوب دادن گلبول‌های سفید بجای جداسازی لایه نازک حاوی گلبول‌های سفید، که کاری بسیار دشوار و ظریف می‌باشد، استفاده شد. همچنین به منظور جلوگیری از مخلوط شدن فاز حاوی DNA با رسوبات تشکیل شده به هنگام جداسازی فازها و حذف هر گونه آلودگی از قبیل پروتئین و نمک‌های اضافی از کلروفرم استفاده گردید و محلول استات سدیم نیز جهت متراکم‌تر نمودن کلاف DNA در مرحله جمع‌آوری رشته‌های DNA به کمک میله شیشه‌ای به کار برده شد.

استخراج DNA با کیفیت و خلوص مطلوب، شرط لازم برای به‌دست آوردن تکرار پذیری زیاد برای بیشتر نشانگرهای مولکولی است (۶). در برخی از مطالعات ژنومی از جمله کار با نشانگر بین ریزماهورای کیفیت DNA اهمیت زیادی دارد و به خلوص بالایی نیاز است. مقدار DNA مورد تکثیر نیز مهم است از این رو پس از استخراج لازم است کیفیت و کمیت DNA استخراج شده تعیین گردد. تعیین کیفیت و کمیت DNA به روش اسپکتروفتومتری انجام شد. نمونه‌های مطلوب که نسبت

که موجب بالا رفتن فراوانی ژن‌های مطلوب در گله‌های مردمی می‌شود وجود نداشته است (۲). متأسفانه تاکنون تحقیقات مولکولی انگشت شماری روی بز کرکی راینی انجام شده است. امید است نتایج حاصل از این تحقیق در رابطه با استفاده از نشانگرهای بین ریزماهورای در بررسی تنوع ژنتیکی بز کرکی راینی در آینده مورد استفاده قرار گیرد.

یکی از عوامل مؤثر در موفقیت یک پروژه اصلاحی، آگاهی از میزان تنوع ژنتیکی در سطح مولکول DNA است. کاهش تنوع ژنتیکی باعث افزایش هم خونی شده و بسیاری از صفات تولیدمثلی را تحت تأثیر قرار داده و باعث کاهش عملکرد آنها می‌شود. این مسائل به علت کاهش مخزن ژنی مورد نیاز، امنیت غذایی جامعه را تهدید می‌کنند، بنابراین ضرورت نگهداری منابع ژنتیکی حیوانی به خصوص در کشورهای در حال توسعه روشن است (۱۰ و ۱۴).

توالی آغازگرهای ISSR از روی ناحیه ریزماهورای طراحی می‌شوند و دارای پتانسیل بسیار خوبی جهت انگشت نگاری DNA و مطالعه جمعیت‌ها، تعیین نقشه ژنوم و نشان‌گذاری صفات اقتصادی می‌باشند (۵ و ۶ و ۱۳). نشانگرهای ISSR از جمله نشانگرهای با توارث غالب هستند ولی از آنجا که تمامی توالی ژنوم در فواصل بین جایگاه‌های ریزماهورای مورد بررسی قرار می‌گیرد نه فقط یک جایگاه خاص کروموزومی، بنابراین می‌توان از این نشانگر در بررسی تنوع و محاسبه هتروزایگوسیتی استفاده کرد و چندشکلی آنها با وجود و یا عدم وجود باند بررسی نمود (۸ و ۱۱) و الگوهای محصولات واکنش زنجیره‌ای پلیمرز به دست آمده از این نشانگرها مختص گونه هستند (۷ و ۱۶). اولین مطالعات منتشر شده با استفاده از این نشانگر در گونه‌های زراعی صورت گرفته و گزارشات زیادی در استفاده از نشانگرهای ISSR در گونه‌های حیوانی وجود ندارد (۱۷). ولی با توجه به مزایای این نشانگر در رابطه با بررسی تنوع ژنتیکی، در این پژوهش از آن استفاده شده است و این پژوهش اولین بررسی روی گونه بز با این نشانگرها می‌باشد.

گزارشات نسبت به هتروزیگوسیتی مشاهده شده ترجیح داده می‌شود (۹). هتروزیگوسیتی مشاهده شده را به صورت زیر محاسبه می‌شود:

$$H_o = \frac{\sum N_{ij}}{N}$$

آنالیز برآورد Gst (متوسط تنوع ژنتیکی بین جمعیت‌ها) بر اساس فاصله ژنتیکی مبتنی بر شاخص Nei صورت گرفت و کلاستر مربوطه رسم گردید. کلاستر مربوط به توزیع افراد جمعیت‌های مورد مطالعه با استفاده از ضریب تشابه دایس و روش UPGAM با استفاده از نرم افزار NTSYS تهیه گردید. همچنین پلات‌های دو بعدی و سه بعدی حاصل از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی نیز رسم شد.

### نتایج و بحث

DNA استخراج شده دارای کیفیت خوب و فاقد آلودگی‌های rRNA، پروتئینی و نمکی بود. واکنش‌های زنجیره‌ای پلیمرز با دو جفت آغازگر صورت گرفت و نتایج حاصله نشان داد که هر دو آغازگر توانایی تکثیر روی DNA بز کرکی راینی را دارند. به طوری که از مجموع ۲۰ نوار مشاهده شده، تعداد ۸ نوار مربوط به آغازگر (AG)<sub>9</sub>C و ۱۲ نوار مربوط به آغازگر (GA)<sub>9</sub>C بود (شکل ۱) که دامنه توزیع باندها در بین جمعیت‌ها بر اساس دقیق-ترین فاصله مشاهده شده بین همه افراد موجود در هر جمعیت و تعدادی از افراد هر جمعیت بر اساس درصد افرادی که دارای باند مربوطه می‌باشند در جدول ۱ و جدول ۲ نشان داده شده است، مشاهده می‌شود که آغازگر (GA)<sub>9</sub>C میزان چند شکلی بیشتری را نشان می‌دهد ولی در مجموع می‌توان از هر دوی این آغازگرها در مطالعات چندشکلی داخل نژادی و تمایز گله‌ها، خانواده‌ها و لاین‌های مختلف استفاده کرد، چرا که جایگاه‌های ISSR دارای چند شکلی بالایی می‌باشند.

شاخص شانون بیانگر میزان تنوع ژنتیکی در هر جمعیت می‌باشد، در این مطالعه شاخص شانون محاسبه گردید (جدول ۳). همانطور که مشاهده می‌شود، بیشترین شاخص شانون (I) برای آغازگر (AG)<sub>9</sub>C مربوط به گله چهارم به میزان ۰/۸۴ و کمترین مقدار آن

۰/۲۸/۰/۲۶ آنها بین ۱/۸ تا ۲ بود انتخاب و در غیر این صورت استخراج DNA مجدداً انجام می‌پذیرفت. دو جایگاه بین ریزماهورای در این تحقیق مورد بررسی قرار گرفتند که توالی آنها به صورت ریز است:



این آغازگرها از شرکت ژن فن‌آوران به صورت لیوفیلیز و غیرحساس به دما دریافت و طبق دستورالعمل کارخانه سازنده با آب دوبار تقطیر رقیق گردیدند. پس از حل کردن و رقیق ساختن طبق دستورالعمل مربوطه در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. واکنش زنجیره‌ای پلیمرز با استفاده از PCR Master Kit شرکت سینا ژن انجام گرفت، به این صورت که واسرشت ابتدایی در ۹۴ درجه سانتی‌گراد و واسرشت چرخه اصلی، اتصال و بسط به ترتیب در ۹۴، ۵۵ و ۷۲ درجه سانتی‌گراد در ۳۵ سیکل و بسط انتهایی در ۷۲ درجه سانتی‌گراد انجام شد. الکتروفورز محصولات واکنش زنجیره‌ای پلیمرز با استفاده از ژل آگارز ۲ درصد انجام گرفته و بعد از رنگ‌آمیزی با اتیدیوم بروماید، ژل اسکن و آلل خوانی با استفاده از نرم‌افزار Uvidoc صورت گرفت. بعد از شناسایی اندازه نوارها، تنظیم و طبقه‌بندی داده‌ها برای هر فرد در نرم‌افزار اکسل انجام شد و داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار POP-Gene3.2 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند (۱۸). شاخص شانون که بیانگر میزان تنوع ژنتیکی در هر جمعیت می‌باشد، در این مطالعه محاسبه گردید. میزان هتروزیگوسیتی معمول‌ترین معیار تنوع ژنتیکی در یک جمعیت می‌باشد که به دو صورت هتروزیگوسیتی مشاهده شده ( $H_o$ ) و هتروزیگوسیتی مورد انتظار یا هاردی-واینبرگ ( $H_e$ ) گزارش می‌شود (۱۲) اگر در یک جایگاه بیش از ۲ آلل وجود داشته باشد هتروزیگوسیتی مورد انتظار برابر خواهد بود با:

$$H_e = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2$$

که در آن  $\sum p_i^2$  مجموع فراوانی ژنوتیپ‌های هموزیگوت است و  $p_i$  فراوانی  $i$  امین الل در جایگاه می‌باشد. هتروزیگوسیتی مورد انتظار ( $H_e$ ) چون کمتر تحت تأثیر نمونه‌برداری است لذا در

پلات‌ها افراد به صورت شماره نمایش داده شده‌اند). بررسی و مقایسه انجام شده بین درخت فیلوژنی و پلات‌های رسم شده نشان می‌دهد که افراد جمعیت‌های موجود در زیرگروه‌های مشخص شده در درخت فیلوژنی (شکل ۳) و پلات‌های شکل ۴ با هم متفاوت می‌باشند که این خود، نشان دهنده کارا بودن آغازگرهای انتخاب شده در بررسی تنوع بین افراد موجود در جمعیت‌های مورد بررسی می‌باشد و پیشنهاد می‌شود که از این آغازگرها در مطالعات چندشکلی بین دیگر نژادهای بز کشور نیز استفاده شود.

نتایج حاصل نشان می‌دهد که تمامی چهار جمعیت بز کرکی راینی از تنوع بالایی برخوردار می‌باشند که با نتایج حاصل از بررسی تنوع ژنتیکی بز کرکی راینی بر اساس آنالیز ریزماهواره همخوانی دارد و بر این اساس نیز میزان میانگین هتروزیگوسیتی به دست آمده برای جایگاه‌های مورد بررسی در این جمعیت ۰/۸۰ محاسبه شده است (۴). ولی از آنجا که تا کنون گزارشی مبنی بر استفاده از نشانگرهای ISSR در گونه بز منتشر نشده نمی‌توان مقایسه بین نژادهای مختلف را بررسی نمود.

به طور کلی، در این پژوهش مشخص شد که جمعیت بز کرکی راینی از تنوع ژنتیکی نسبتاً بالایی برخوردار است و دست اندرکاران برنامه‌های اصلاحی جمعیت مذکور می‌توانند در کنار اجرای این برنامه‌ها به حفظ تنوع ژنتیکی این نژاد توجه داشته باشند تا این ذخایر ژنتیکی به عنوان سرمایه‌های ملی کشور حفظ گردند.

#### سپاسگزاری

از مرکز بین‌المللی علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی کرمان جهت تخصیص اعتبار و در اختیار قرار دادن امکانات آزمایشگاهی تشکر و قدردانی می‌شود.

مربوط به جمعیت اول به میزان ۰/۶۷ می‌باشد. همچنین بیشترین مقدار این شاخص برای آغازگر C و GA) مربوط به جمعیت اول به میزان ۰/۸۳ و کمترین مقدار آن مربوط به جمعیت دوم به میزان ۰/۸۷ برآورد گردید. مقدار هموزایگوسیتی مشاهده شده، هموزایگوسیتی مورد انتظار، هتروزیگوسیتی مشاهده شده، هتروزیگوسیتی مورد انتظار، میانگین هتروزیگوسیتی، تعداد آلل مشاهده شده و تعداد آلل مؤثر برای دو آغازگر C و AG) و آغازگر C و GA) (جدول ۳) در هر یک از چهار جمعیت نشان می‌دهد که در رابطه با آغازگر C و AG)، جمعیت چهارم و در رابطه با آغازگر C و GA) جمعیت دوم و در مجموع با استفاده از هر دو آغازگر جمعیت چهارم بالاترین میزان تنوع را دارند. برای آغازگر C و AG) بیشترین تعداد آلل مربوط به جمعیت چهارم و برای آغازگر C و GA) مربوط به جمعیت دوم و در مجموع استفاده از هر دو آغازگر نیز جمعیت چهارم بالاترین تعداد آلل را دارا بود.

آنالیز برآورد  $G_{st}$  (متوسط تنوع ژنتیکی بین جمعیت‌ها) بر اساس شاخص Nei صورت گرفت و مشخص گردید که سطح تنوع ژنتیکی بین چهار جمعیت بر اساس نشانگرهای ISSR دارای دامنه‌ای بین ۰/۰۲۰ و ۰/۹۸۱ می‌باشد که اعداد مربوطه در جدول ۴ در دو طیف مذکور نشان داده شده است. همچنین درخت فیلوژنی با استفاده از فاصله ژنتیکی Nei به صورت کلاستر رسم گردید (شکل ۲). با توجه به فاصله ژنتیکی بین چهار جمعیت مورد بررسی و بر اساس روش‌ها و معیارهای آماری گروه بندی، تفکیک جمعیت‌ها صورت پذیرفت. بر این اساس جمعیت سوم و جمعیت چهارم جمعیت‌های مجزایی را می‌سازند و جمعیت‌های اول و دوم در یک کلاستر قرار می‌گیرند و دارای شباهت‌های ژنتیکی بیشتری می‌باشند (شکل ۲). تجزیه و تحلیل نتایج مربوط به افراد چهار جمعیت مورد مطالعه با استفاده از دو آغازگر ISSR با استفاده از ضریب تشابه دایس و روش UPGAM با استفاده از نرم افزار NTSYS نیز انجام گرفت و درخت فیلوژنی مربوطه (شکل ۳) رسم گردید. خط برش در فاصله ژنتیکی ۰/۶۵ زده شد که بر این اساس افراد مورد بررسی در پنج گروه قرار می‌گیرند همچنین با استفاده از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی، پلات دو بعدی و سه بعدی (شکل ۴) در نرم افزار NTSYS رسم شد (در این

جدول ۱- دامنه باندهای مشاهده شده برای آغازگر (AG) و C

دامنه باند مشاهده شده	جمعیت اول*	جمعیت دوم*	جمعیت سوم*	جمعیت چهارم*
۳۹۰-۴۱۰	-	۲۰	-	۵
۴۲۰-۴۴۰	-	۶/۶۷	۶/۶۷	۱۰
۷۱۰-۷۸۰	۹۵	۸۰	۹۳/۳۳	۸۵
۷۹۰-۸۴۰	۹۰	۹۳/۳۳	۶۶/۶۷	۹۰
۸۵۰-۹۰۰	۱۵	۱۳/۳۳	۲۶/۶۷	۱۵
۱۰۱۰-۱۰۴۰	۹۵	۱۰۰	۹۳/۳۳	۵۰
۱۰۵۰-۱۱۰۰	-	-	۲۰	۲۵
۱۹۱۰-۲۱۰۰	۸۵	۱۰۰	۸۶/۶۷	۸۰

\* درصد افراد هر جمعیت که دارای باند مربوطه می‌باشند.

جدول ۲- دامنه باندهای مشاهده شده برای آغازگر (GA) و C

دامنه باند مشاهده شده	جمعیت اول*	جمعیت دوم*	جمعیت سوم*	جمعیت چهارم*
۲۲۰-۲۵۰	۵	۶/۶۷	-	۳۰
۲۶۰-۳۰۰	۸۵	۸۰	۱۰۰	۷۰
۳۱۰-۳۴۰	-	۲۶/۶۷	-	۱۰
۳۹۰-۴۱۰	۱۵	۶/۶۷	۱۳/۳۳	۴۰
۴۲۰-۴۴۰	۹۰	۸۰	۸۰	۹۰
۵۰۰-۵۴۰	۲۰	۱۳/۳۳	-	۱۵
۸۰۰-۹۹۰	۸۰	۱۰۰	۷۳/۳۳	۵۰
۱۰۰۰-۱۰۴۰	۹۵	۷۳/۳۳	۸۶/۶۷	۷۵
۱۱۱۰-۱۱۴۰	۱۰	۶/۶۷	۲۶/۶۷	۳۰
۱۹۱۰-۲۱۰۰	۹۰	۲۶/۶۷	۴۰	۶۵
۲۲۱۰-۲۳۰۰	۱۰	۶/۶۷	۸۶/۶۷	۳۰
۲۶۱۰-۲۷۰۰	۵	۳۳/۳۳	-	۲۰

\* درصد افراد هر جمعیت که دارای باند مربوطه می‌باشند.

جدول ۳- پارامترهای ژنتیکی محاسبه شده بر اساس هر دو آغازگر

جمعیت	Obs_Hom	Obs_Het	Exp_Hom	Exp_Het	Nei	Ave_Het	Na	Ne	I
۱	۰/۰۶	۰/۹۴	۰/۴۸	۰/۵۲	۰/۵۱	۰/۵۱	۲/۶۰	۲/۰۷	۰/۷۶
۲	۰/۰۶	۰/۹۴	۰/۴۶	۰/۴۴	۰/۵۲	۰/۵۲	۲/۷۰	۲/۱۸	۰/۸۱
۳	۰/۰۴	۰/۹۶	۰/۴۵	۰/۵۵	۰/۵۳	۰/۵۳	۲/۶۵	۲/۱۹	۰/۸۲
۴	۰/۰۵	۰/۹۵	۰/۴۳	۰/۵۷	۰/۵۶	۰/۵۶	۲/۹۰	۲/۳۴	۰/۹۱
میانگین	۰/۰۵	۰/۹۵	۰/۴۶	۰/۵۲	۰/۵۳	۰/۵۳	۲/۷۱	۲/۲۰	۰/۸۳

Na = تعداد آلل مشاهده شده

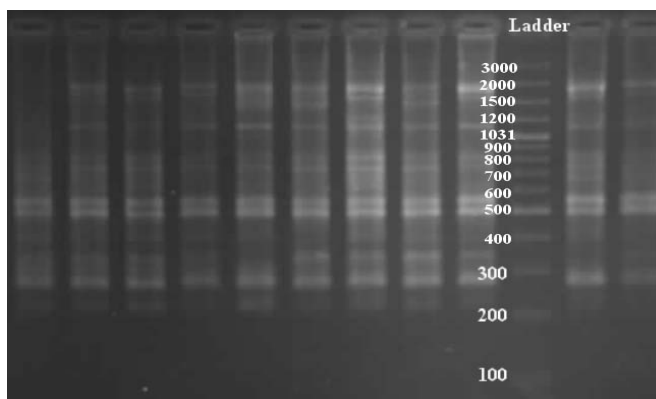
Ne = تعداد آلل مؤثر

I = شاخص شانون

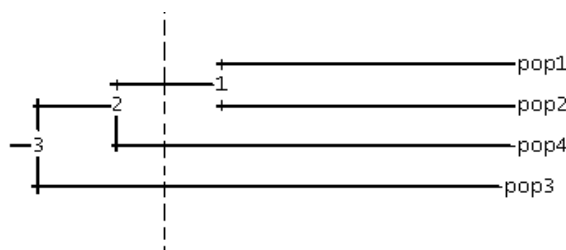
Nei = هتروزایگوسیتی مورد انتظار بر اساس شاخص Nei

جدول ۴- فاصله ژنتیکی بر اساس شاخص Nei

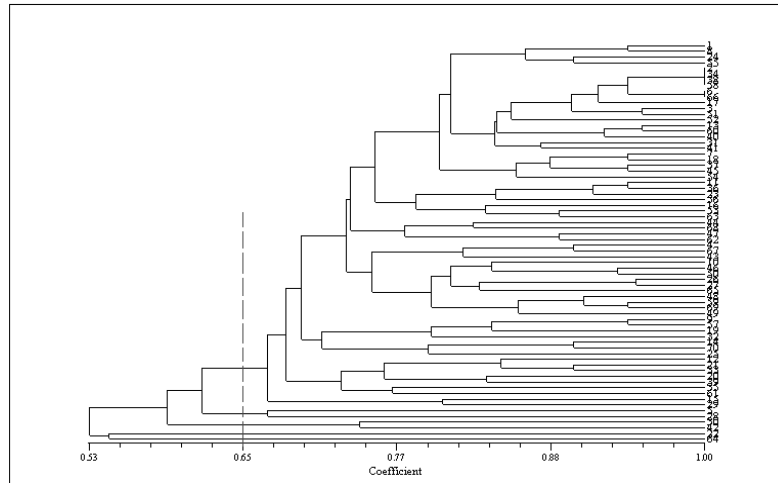
جمعیت ۱	جمعیت ۲	جمعیت ۳	جمعیت ۴
جمعیت ۱	۰/۹۸۱	۰/۹۷۲	۰/۹۷۹
جمعیت ۲	-	۰/۹۶۷	۰/۹۷۰
جمعیت ۳	۰/۰۳۰	-	۰/۹۷۱
جمعیت ۴	۰/۰۳۱	۰/۰۳۰	-



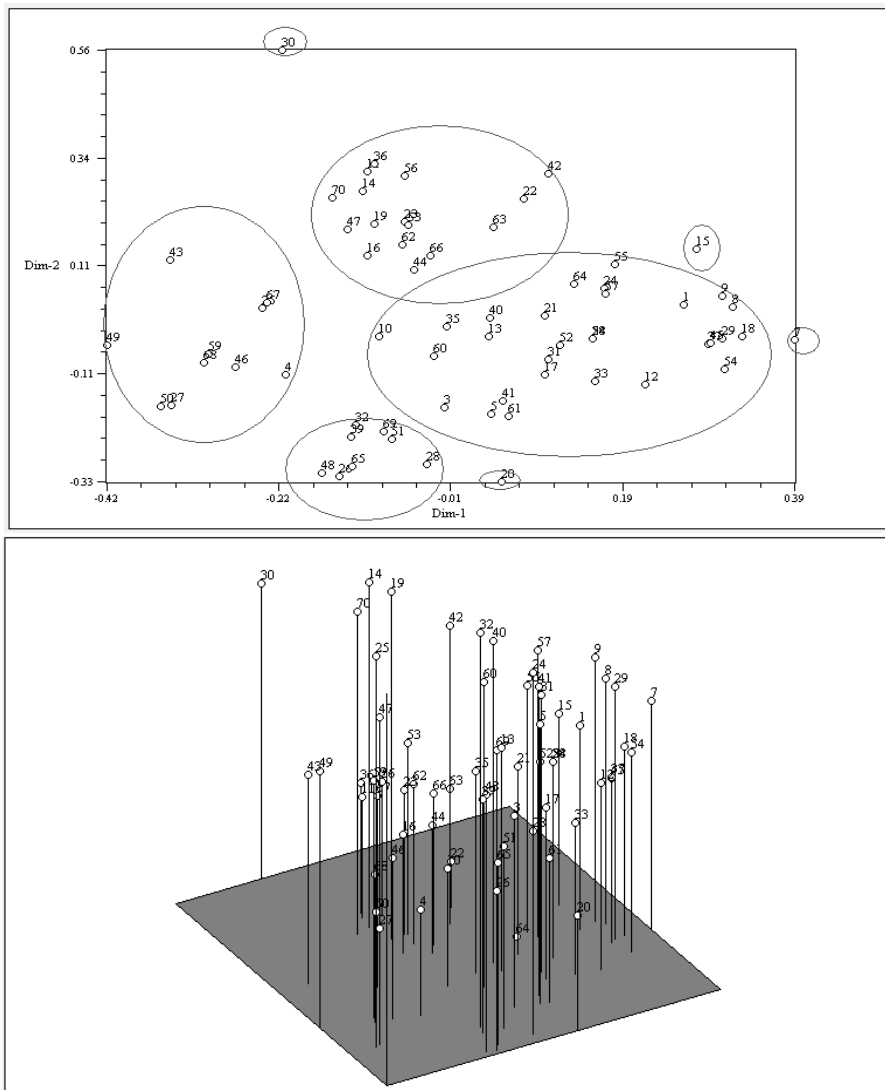
شکل ۱- نمونه واکنش زنجیره‌ای پلیمرز مربوط به آغازگر C و GA بر روی ژل آگارز ۲ درصد



شکل ۲- درخت فیلوژنی با استفاده از فاصله ژنتیکی Nei به صورت کلاستر



شکل ۳- درخت فیلوژنی، نشان دهنده میزان تشابه بین افراد با روش دایس و تجزیه خوشه‌ای براساس روش UPGAM



شکل ۴- پلات‌های دو بعدی و سه بعدی حاصل از تجزیه مولفه‌های اصلی با استفاده از داده‌های مولکولی آغازگرهای (ISSR)

منابع

14. Ma RZ, Beaver JE, Da Y, Green CA and Russ I. (1996). A male linkage map of the cattle (*Bos Taurus*) genome. Journal of Heredity. (in press)
15. Miller SA, Dykes DD and Polesky HF. (1998). A simple salting out procedure for extraction DNA from human nucleated cells. Nucleic Acids Research. 16:1255.
16. NTSYS pc. Numerical taxonomy system. version 2.2 for windows 98/NT/2000/xp.
17. Reddy MP, Sarla N and Siddiq EA. (2002). Inter Simple Sequence Repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. Kluwer Academic Publishers Euphytica 128:9-17.
18. Yeh FC; Yang R and Boyle T. (1999). POPGENE. Version 1.31. Microsoft Window-based Freeware for Population Genetic Analysis, University of Alberta. Edmonton, AB, Canada
- ۱- اسدی‌فوزی. م. ۱۳۷۴. بررسی عوامل موثر بر صفات فولیکولهای پوست بز کرکی رائینی. پایان‌نامه کارشناسی ارشد علوم دامی. دانشکده کشاورزی. دانشگاه تربیت مدرس
- ۲- ابراهیمی. ا. ۱۳۸۰. بررسی برخی از صفات تولیدی بز کرکی رائینی استان کرمان. پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد علوم دامی. مرکز آموزش عالی امام خمینی.
- ۳- امامی‌مبیدی. م. ع. ۱۳۷۱. برآورد پارامترهای ژنتیکی برخی از صفات اقتصادی در بز کرکی رائینی. پایان‌نامه کارشناسی ارشد علوم دامی. دانشکده کشاورزی. دانشگاه فردوسی مشهد.
- ۴- عسکری. ن. ۱۳۸۶. بررسی تنوع ژنتیکی بز کرکی رائینی با استفاده از آنالیز ریزماهواره. پایان‌نامه کارشناسی ارشد ژنتیک و اصلاح نژاد دام. دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی. دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین
- ۵- نقوی م؛ قره یاضی ب؛ حسینی سالکده ق؛ ۱۳۸۴. نشانگرهای مولکولی. انتشارات دانشگاه تهران.
6. Beckmann, J.S., M. Soller. (1987). Molecular Markers in the genetic improvement of Farm animals. Biotechnology 5:573.
7. Borent, B., M. Branchard. (2001). Nonanchored Inter Simple Sequence Repeat (ISSR) marker: Reproducible and Specific tools for genome finger printing plant Molecular biology Reporter 19:209 – 215.
8. Drink water, R.D., J.S. Hetzel. (1991). Application of Molecular biology to understanding genotype-environment interaction in livestock production. In: Proc. of an Intraction symposium on nuclear techniques in animal production and health. IAEA, FAO. Vienna, 15-19 April :437-452
9. Frankham, R., Balllou, J.D. and Brisco, D.A. (2002) Introduction to conservation genetics, First published, Cambridge unipress
10. Glazko V, (2003) An attept at understanding the genetic basis of domestication. Animal science., 2:109-120
11. Glazko VI, Dyman. TN, Tarasiuk SI and Dubin AV. (1995) The polymorphism of protein, RAPD – PCR and ISSR-PCR marker in European Amrican bison and cattle.
12. Hedrick, P.W. (1999) Genetics of population, 2nd edition, Jones and Bartlett publishers.
13. Lord EA, Davis GH, Doods KG, Henry HM, Lumsden JM and Montgomery GW. (1998). Identification of Booroola carries using Microsatellit Markerrs. 6th world congress of Genetics Applied to livestock production. Armidale, NSW, Australia, 27:19-27