ژنتیک نوین
دوره ششم، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۰
صفحه ۲۳-۱۵

# ارتباط چندشکلی‌های تک نوکلئوتیدی T/C و A/C از ژن *PPARGC1A* با ترکیب و تولید شیر در گاوهای هلشتاین ایران

**مجید پسندیده*[۱]، محمدرضا محمدآبادی[۲]، علیرضا ترنگ[۳]، علی اسماعیلی‌زاده کشکوئیه[۲]، رامین صیقلانی[۳]، سعید انصاری مهیاری[٤]، رضا پسندیده[٥]**

۲،۱- کارشناس ارشد و دانشیار دانشگاه شهید باهنر کرمان

۳- استادیار، پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی، منطقه شمال (رشت)

٤- استادیار، دانشگاه صنعتی اصفهان

٥- دانشجوی دوره کارشناسی ارشد ژنتیک و اصلاح نژاد دانشگاه فردوسی مشهد

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی:Majidpasandideh@gmail.com

(تاریخ دریافت: ۸۹/۷/۲۷ - تاریخ پذیرش: ۹۰/۳/۱)

## چکیده

**بسیاری از مطالعات، وجود QTL هایی روی کروموزوم ٦ گاو گزارش کرده‌اند که بر صفات تولیدی شیر موثر است. ژن *PPARGC1A* به عنوان یک ژن کاندیدا برای مقدار چربی شیر تشخیص داده شده است، زیرا این ژن نقش اساسی در متابولیسم چربی، گلوکز و انرژی ایفا می-نماید. در این تحقیق، استخراج DNA از نمونه‌های خون جمع‌آوری شده از ۳۹۸ راس گاو هلشتاین از استان‌های تهران و اصفهان انجام شد. برای استخراج DNA از روش نمکی استفاده گردید. سپس SNPT>C در موقعیت ۱۸۹۲ و SNPA>C در موقعیت ۳۳۵۹ از ژن *PPARGC1A* به روش PCR-RFLP تعیین ژنوتیپ شدند. فراوانی ژنوتیپ‌های TT، TC و CC در موقعیت نوکلئوتیدی ۱۸۹۲ به‌ترتیب ۱۲، ٦٥ و ۲۳ درصد و همچنین فراوانی ژنوتیپ‌های AA، AC و CC در موقعیت نوکلئوتیدی ۳۳٥۹ به ترتیب ۳۸، ٥۲ و ۱۰ درصد محاسبه شد. با استفاده از آزمون مربع کای، حالت تعادل برای جمعیت‌ها بررسی شد. ژنوتیپ‌های هر دو جایگاه از تعادل هاردی-واینبرگ انحراف نشان دادند. در این مطالعه، ژنوتیپ‌های موقعیت c.1892T>C با صفات درصد چربی تصحیح شده بر اساس دوبار دوشش در روز، ارزش اصلاحی تولید شیر، ارزش اصلاحی درصد چربی شیر، تولید پروتئین شیر تصحیح شده براساس ۳۰٥ روز و تولید پروتئین شیر تصحیح شده بر اساس وزن بلوغ ارتباط معنی‌دار نشان دادند. ارتباط معنی داری بین ژنوتیپ‌های موقعیت c.3359A>C با دو صفت درصد چربی تصحیح شده بر اساس دوبار دوشش در روز و ارزش اصلاحی درصد چربی شیر مشاهده شد. ارتباط معنی‌دار بین چندشکلی‌های تک نوکلئوتیدی با صفات شیر، فرصت مناسبی برای استفاده از برنامه‌های انتخاب به‌کمک مارکر در گاو شیری فراهم می‌آورد.**

**واژه‌های کلیدی**

**چندشکلی تک نوکلئوتیدی، گاو هلشتاین، PCR-RFLP، *PPARGC1A*.**

[ Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-03 ]

[ DOR: 20.1001.1.20084439.1390.6.3.2.4 ]

## مقدمه

نقشه‌یابی و تعیین خصوصیات ژن‌های کنترل کننده صفات مهم مانند تولید شیر، سلامتی و ورم پستان، عرصه‌ای مهم در تحقیقات گونه‌های حیوانی فراهم آورده است. در گاو شیری بیشترین تاکید بر تشخیص QTLهایی است که عهده‌دار تولید شیر و یا پروسه-های فیزیولوژیکی موثر بر صفات تولیدی شیر مانند مقدار شیر، مقدار چربی و پروتئین شیر و درصد چربی و پروتئین شیر می-باشند (۵). نقشه‌یابی ژن‌ها مرحله‌ای اساسی برای تحقیق در مورد جایگاه‌های صفات کمی موثر بر صفات تولیدی در دام می‌باشد. مرحله بعد تشخیص ژن یا آللی است که موجب ایجاد یک فنوتیپ خاص در جمعیت می‌شود (۲). هدف از انتخاب به کمک مارکر این است که انتخاب در سطح DNA جایگزین انتخاب بر مبنای فنوتیپ شود (۱۶). انتخاب به کمک مارکر توانایی افزایش فراوانی آلل مطلوب در جمعیت را دارد (۱۲). همچنین در گاوشیری می‌توان از انتخاب به‌کمک مارکر به عنوان انتخاب اولیه گوساله‌های نر (قبل از پروژنی تست) استفاده کرد و از این طریق باعث افزایش شدت انتخاب، کاهش فاصله نسل و افزایش کارایی ژنتیکی در جمعیت شد (۹). بسیاری از مطالعات روی کروموزوم-های گاو شیری، QTL های موثر بر صفات تولیدی شیر را کشف کرده‌اند. از این میان، کروموزوم ٦ گاو، بیشترین تعداد QTL را نشان داده است (۵). در بین ژن‌هایی که از نقشه‌یابی مقایسه‌ای منطقه کروموزومی گاو با کروموزوم‌های انسان تشخیص داده شده است، ژن‌های *PPARGC1A*[1] و *DGAT1* کاندیداهای اصلی QTL موثر بر سنتز چربی شیر معرفی شده‌اند (۱۷).

ژن *PPARGC1A* (که PGC-1α نیز نامیده می‌شود) عضوی از خانواده فعال کننده‌های کمکی رونویسی می‌باشد که نقش اساسی در تنظیم متابولیسم انرژی ایفا می‌نماید (۸). این ژن نقش کلیدی در فعال‌سازی گیرنده‌های مختلف هورمون‌های هسته‌ای و همچنین در رونویسی فاکتورهای تنظیمی تعادل انرژی دارد. نشان داده شده است که این ژن نقش میانجی‌گری در بیان ژن‌های دخیل در متابولیسم اکسیداسیون و گلوکونئوژنز ایفا می‌نماید (۱۳). ژن *PPARGC1A* در روی کروموزوم شماره ۵ موش، کروموزوم شماره ٤ انسان و کروموزوم شماره ٦ گاو مکان‌یابی شده است و پروتئینی شامل ۷۹۷ اسید آمینه در موش یا ۷۹۸ اسید آمینه در انسان را کد می‌نماید (۸). این ژن از ۱۳ اگزون تشکیل شده است که شامل ٦٢٦١ جفت باز می‌باشد. در مجموع ۱۱ جایگاه چندشکلی در طول این ژن تشخیص داده شده است. ژن *PPARGC1A* وظیفه قابل توجه‌ای در بافت‌های متابولیسم چربی، گلوکز و تعادل انرژی دارد و در انسان و موش قادر به هماهنگ کردن پروسه‌های متابولیکی در کبد و بافت‌های چربی و ماهیچه می‌باشد (۸). نقش بالقوه *PPARGC1A* در متابولیسم غدد پستانی می‌باشد. با توجه به نقش اساسی ژن *PPARGC1A* در متابولیسم گلوکز، چربی و انرژی، احتمالا این ژن پروسه‌های متابولیکی را در طول دوره شیردهی در گاوهای شیری تنظیم می‌کند و توانایی فراهم آوردن نیازهای متابولیکی حیوان را در دوره شیردهی دارد (۱۷).

در یک تحقیق، تنوع ژنتیکی لوکوس *PPARGC1A* در موقعیت-های c.1892T>C (واقع در اینترون ۹) و c.3359A>C (واقع در ناحیه غیر قابل ترجمه ′۳) در گاوهای هلشتاین دو جمعیت UW[2] و CDDR[3] مورد بررسی قرارگرفت (۵) چندشکلی تک نوکلئوتیدی T/C فقط در جمعیت UW تعیین ژنوتیپ شد. این جانشینی تک نوکلئوتیدی با هیچ‌یک از صفات تولیدی شیر ارتباط معنی‌دار نشان نداد. چندشکلی تک نوکلئوتیدی A/C در هر دو جمعیت مورد مطالعه قرار گرفت. بر اساس این تحقیق، جانشینی تک نوکلئوتیدی A>C اثر معنی‌دار بر مقدار شیر در جمعیت UW، بر درصد پروتئین در هر دو جمعیت UW و CDDR و بر سلول-های سوماتیک در جمعیت CDDR نشان داد. اثرات غالبیت برای هیچ‌یک از صفات مورد مطالعه معنی‌دار گزارش نشد (٤). در تحقیقی دیگر، ارتباط معنی‌دار موقعیت c.1892T>C با مقدار چربی شیر مشخص شد اما این جانشینی با مقدار شیر و درصد چربی آن ارتباط معنی‌دار نشان نداد. ارتباط موقعیت c.3359A>C با صفات مورد بررسی، در سطح ۰/۰۵ معنی‌دار نبود (۱۷). مطالعه‌ای روی گاوهای نژاد جرسی نشان داد که تفاوت معنی-داری بین ژنوتیپ‌های موقعیت‌های c.1892T>C و c.3359A>C

[1] Peroxysome proliferator-activated receptor-γ coactivator-1α

[2] University of Wisconsin

[3] Cooperative Dairy DNA Repository



[ Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-03 ]

[ DOR: 20.1001.1.20084439.1390.6.3.2.4 ]

از ژن *PPARGC1A* با صفات ترکیب و تولید شیر وجود ندارد (۷). یک تحقیق روی گاوهای نژاد فریزین-هلشتاین لهستان، ارتباط معنی‌دار بین ژنوتیپ‌های SNPT>C در موقعیت ۱۸۹۲ با مقدار پروتئین شیر و نیز نرخ برگشت ناپذیری[1] در تلیسه‌ها گزارش کرده است. در این مطالعه، SNPA>C در موقعیت ۳۳۵۹ با هیچ‌یک از صفات مورد بررسی ارتباط معنی‌دار نشان نداد (٦). با بررسی SNPT>C در موقعیت ۱۸۹۲ در گاوهای گوشتی ایالات متحده، عدم وجود ارتباط معنی‌دار بین این جانشینی تک نوکلئوتیدی با صفات لاشه مورد بررسی مشخص شد (۱۸). در یک تحقیق، ارتباط چندشکلی تک نوکلئوتیدی T>C در موقعیت ۱۸۹۲ از ژن *PPARGC1A* در گاوهای فریزین-هلشتاین هلند مورد بررسی قرارگرفت. ارتباط ژنوتیپ‌های این چندشکلی با درصد چربی شیر معنی‌دار گزارش شد (۱۵). به دلیل نتایج ضد و نقیضی که برای تاثیر QTL های واقع در وسط کروموزوم ٦ گزارش شده است، می‌بایست جمعیت‌های دیگر از گاو هلشتاین در سایر کشورها، مورد ارزیابی قرارگیرد (۲). با توجه به این مسئله و به دلیل اهمیت صنعت تولید شیر و نیز نقش کلیدی ژن *PPARGC1A* در متابولیسم انرژی، چربی و گلوکز، انجام چنین مطالعه‌ای ضروری به نظر رسید. به این‌منظور در این تحقیق، ارتباط چندشکلی تک‌نوکلئوتیدی T>C در موقعیت ۱۸۹۲ و نیز چندشکلی تک نوکلئوتیدی A>C در موقعیت ۳۳۵۹ از ژن *PPARGC1A* با صفات ترکیب و تولید شیر در گاوهای هلشتاین ایران مورد بررسی قرار گرفت.

## مواد و روش‌ها

این تحقیق روی ۳۹۸ راس گاو ماده هلشتاین گاوداری‌های استان‌های تهران و اصفهان انجام شد. نمونه‌گیری خون از ۱۰ گاوداری این دو استان (هر استان ۵ گاوداری) با استفاده از لوله-های خونگیری حاوی EDTA انجام شد. سپس استخراج DNA از نمونه‌های خون به روش نمکی[2] انجام شد (۱۰). برای بررسی کیفی DNA از ژل الکتروفورز یک درصد استفاده شد. واکنش PCR برای تکثیر قطعه ۱۹۵ جفت بازی واقع در اینترون ۹ ژن *PPARGC1A* و نیز تکثیر قطعه ۳۵۷ جفت‌بازی واقع در ناحیه غیر قابل ترجمه ′۳ (3′UTR) از این ژن (در برگیرنده دو جهش مربوطه) انجام پذیرفت. توالی آغازگرهای پیشرو و پسرو برای تکثیر قطعه ۱۹۵ جفت بازی در مکان ۱۸۹۲ ژن *PPARGC1A* به صورت زیر بود (٤).

1892F 5′-CATAGCCGGCGCCCCAGGTAAGATGCACGTTGGC-3′
1892R 5′-CTGGTACTCCTCGTAGCTGTC-3′

همچنین توالی آغازگرهای پیشرو و پسرو برای تکثیر قطعه ۳۵۷ جفت‌بازی در مکان ۳۳۵۹ ژن *PPARGC1A* به صورت زیر بود (٤).

3359F 5′-GCGAGCACGGTGTTACATTACTAAGGAGAGTTGGCTAG-3′
3359R 5′-GTTGTGTTGCACTCAATGGAC-3′

واکنش تکثیر در حجم ۲۰ میکرولیتر شامل ۱۰۰ نانوگرم از DNA ژنومی، ۰/٦ پیکومول از هر آغازگر، ۰/۲میلی‌مولار dNTPS، ۲ میکرولیتر PCR بافر 10X، ۲ میلی مولار $MgCl_2$ و ۱/۵ واحد آنزیم Taq پلیمراز صورت پذیرفت. چرخه‌های واکنش PCR به این صورت برنامه ریزی شد: دناتوراسیون اولیه در دمای ۹٤ درجه سانتی‌گراد به مدت ٤ دقیقه، ۳۵ سیکل شامل دناتوراسیون در دمای ۹٤ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵۰ ثانیه، اتصال به روش تاچ‌دان[3] از دمای ٦۰ تا ۵۵ درجه سانتی‌گراد (۰/۵ درجه سانتی گراد کاهش به ازای هر سیکل) به مدت ۵۰ ثانیه، سنتز در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵۰ ثانیه و سنتز نهایی در دمای۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ دقیقه. با انجام این واکنش، قطعات ۱۹۵ و ۳۵۷ جفت‌بازی از این ژن تکثیر شد. سپس برای تعیین ژنوتیپ در مکان T>C، محصولات PCR با آنزیم برشی *Hae*III(BsuRI) و برای تعیین ژنوتیپ در مکان *A/C*، محصولات PCR با آنزیم برشی *Nhe*I مورد هضم واقع شدند (٤). ترکیب واکنش‌گرهای هضم آنزیمی برای موقعیت c.1892T>C، به صورت ۱۰ میکرولیتر محصول PCR، یک میکرولیتر بافر R(10X) و ۰/۲ میکرولیتر آنزیم *Hae*III(10U) استفاده شد که به مدت ۵ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در دستگاه Dry Bath انجام شد. همچنین برای هضم آنزیمی در موقعیت c.3359A>C، ۱۰ میکرولیتر محصول PCR، یک میکرولیتر بافرTango(10X) و ۰/۲ میکرولیتر آنزیم *Nhe*I(10U) به مدت ۳ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در دستگاه Dry Bath قرار داده شد. نمونه‌های هضم شده روی ژل آگارز ۲٪ الکتروفورز شدند و ژل با اتیدیوم بروماید

[1] Non-return rate
[2] Salting out
[3] Touchdown



[ Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-03 ]
[ DOR: 20.1001.1.20084439.1390.6.3.2.4 ]

رنگ‌آمیزی شد. در چندشکلی تک نوکلئوتیدی T>C، آلل T (برش نخورده) به‌وسیله باند ۱۹۵ جفت بازی و آلل C (برش خورده) توسط باند ۱۶۳ جفت بازی تشخیص داده شد. همچنین در چندشکلی تک‌نوکلئوتیدی A>C، آلل A (برش نخورده) به وسیله باند ۳۵۷ جفت بازی و آلل C (برش خورده) توسط باند ۳۱۹ جفت‌بازی تشخیص داده شد. با توجه به ژنوتیپ‌های به دست آمده، فراوانی‌های آللی و ژنوتیپی، هتروزیگوسیتی مشاهده شده و قابل انتظار و تعادل هاردی- واینبرگ با کمک نرم افزار Pop Gene به دست آورده شد (۱۹). همچنین در این تحقیق، عدم تعادل پیوستگی (LD) بین دو جایگاه، با محاسبه آماره $r^2$ برآورد شد (۳).

برای بررسی ارتباط ژنوتیپ‌ها با صفات تولید و ترکیب شیر، مدل آماری زیر با استفاده رویه GLM[1] در نرم افزار SAS[2] مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت (۱٤).

$$Y_{ijkmnr} = \mu+G_i+H(S)_{ij}+M_{ijk}+N_{ijkm}+C_{ijkmn}+e_{ijkmnr}$$

فاکتورها در این مدل عبارتند از:

Yijkmnr: بردار مشاهدات شامل: MILK (تولید شیر تصحیح شده براساس ۳۰۵ روز)، MILK2X (تولید شیر بر اساس دوبار دوشش در روز)، MILKME (تولید شیر تصحیح شده بر اساس وزن بلوغ)، FAT2X (تولید چربی تصحیح شده بر اساس دوبار دوشش در روز)، FATP2X (درصد چربی شیر تصحیح شده بر اساس دوبار دوشش در روز)، PRO305 (تولید پروتئین تصحیح شده بر اساس ۳۰۵ روز)، PROPER305 (درصد پروتئین تصحیح شده بر اساس ۳۰۵ روز) و PROME (تولید پروتئین تصحیح شده بر اساس وزن بلوغ) بود.

μ: اثر میانگین، G: اثر ژنوتیپ، H: اثر گله (داخل استان نست[3] شده است)، M: اثر سال تولد، N: اثر ماه تولد، C: اثر اولین سال زایش.ارتباط چندشکلی‌های تک نوکلئوتیدی ژن *PPARGC1A* و ارزش‌های اصلاحی تولید شیر (BVM)، تولید چربی شیر (BVF) و درصد چربی شیر (BVFP) نیز با استفاده از یک مدل آماری شامل اثر ژنوتیپ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

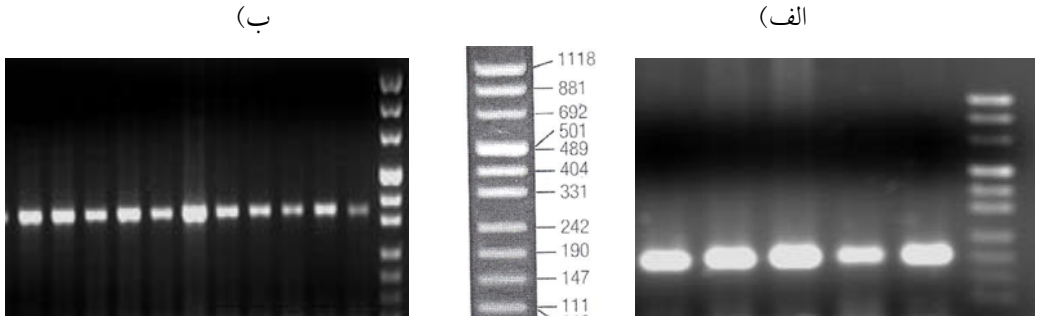
## نتایج و بحث

در مرحله بررسی کیفی DNA استخراج شده با استفاده از ژل آگارز یک درصد، نمونه‌هایی که باند روشن با وضوح کامل ایجاد کردند مورد قبول قرار گرفتند. محصولات به‌دست آمده از واکنشPCR، جهت حصول اطمینان از تکثیر قطعات مورد نظر از ژن *PPARGC1A*، روی ژل آگارز دو درصد الکتروفورز شدند. نمونه‌های تکثیر شده، باند روشن و واضحی در موقعیت‌های ۱۹۵ و ۳۵۷ جفت‌بازی ایجاد کردند که برای ادامه تحقیق انتخاب شدند (شکل ۱). با توجه به قطعات حاصل از برش آنزیم، ژنوتیپ‌های افراد در هر موقعیت تعیین شد. با استفاده از آنزیم *Hae*III در موقعیت c.1892T>C، سه نوع ژنوتیپ TT، TC و CC مشخص شد. قطعه برش نخورده ۱۹۵ جفت‌بازی، بیانگر ژنوتیپ TT می‌باشد و دو قطعه ۱۶۳ و ۳۲ جفت‌بازی، بیانگر ژنوتیپ CC است. همچنین سه قطعه ۱۹۵، ۱۶۳ و۳۲ جفت بازی، نشان‌دهنده ژنوتیپ TC می‌باشد. با تاثیر آنزیم *Nhe*I در موقعیت c.3359A>C، ژنوتیپ‌های AA، AC و CC تشخیص داده شد. قطعه برش نخورده ۳۵۷ جفت‌بازی، بیانگر ژنوتیپ AA می باشد و دو قطعه ۳۱۹ و ۳۸ جفت‌بازی، بیانگر ژنوتیپ CC است. همچنین سه قطعه ۳۵۷، ۳۱۹ و۳۸ جفت‌بازی، نشان‌دهنده ژنوتیپ AC می‌باشد. قابل ذکر است که قطعات ۳۲ و ۳۸ جفت‌بازی، به علت کوچک و سبک بودن، در ژل آگارز مشاهده نشدند (شکل ۲). در موقعیت c.1892T>C، از بین ۳۹۸ فرد تعیین ژنوتیپ شده، ٤٦ فرد ژنوتیپ TT، ۲۵۹ فرد ژنوتیپ TC و ۹۳ فرد ژنوتیپ CC را نشان دادند. در مورد موقعیت c.3359A>C، از بین ۳۹۸ فرد تعیین ژنوتیپ شده، ۱۵۱ فرد ژنوتیپ AA، ۲۰۷ فرد ژنوتیپ AC و ٤۰ فرد ژنوتیپ CC نشان دادند. مقادیر محاسبه شده فراوانی‌های آللی و ژنوتیپی، هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار و نیز مربع کای در جدول ۱ آورده شده است. قابل ذکر است که عدم تعادل پیوستگی بین چندشکلی تک نوکلوتیدی c.1892T>C و c.3359A>C با استفاده از آماره $r^2$، برابر با ۰/۸۵۷۲ محاسبه شد.

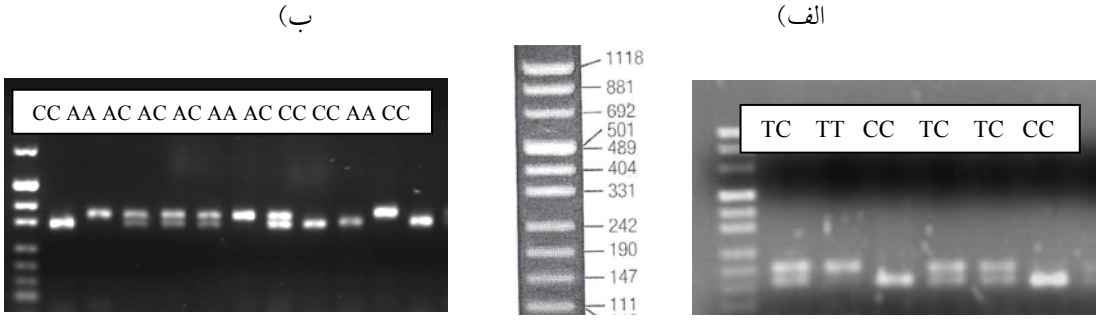
[1] General linear model
[2] Statistical analysis system
[3] Nest



[ Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-03 ]
[ DOR: 20.1001.1.20084439.1390.6.3.2.4 ]




شکل ۱- نتایج تکثیر الف) قطعه ۱۹۵ جفت بازی و ب) قطعه ۳۵۷ جفت بازی ژن *PPARGC1A* پس از الکتروفورز بر روی ژل آگارز دو درصد و رنگ آمیزی با اتیدیوم بروماید را نشان می‌دهند.




شکل ۲- الف) هضم آنزیمی قطعه ۱۹۵ جفت بازی با آنزیم *Hae*III و ب) هضم آنزیمی قطعه ۳۵۷ جفت بازی با آنزیم *Nhe*I را نشان می‌دهند.

جدول ۱- نتایج حاصل از تعیین ژنوتیپ جمعیت در موقعیت‌های c.1892T>C و c.3359A>C از ژن *PPARGC1A* را نشان می‌دهد.

| آماره | شاخص | هتروزیگوسیتی | | فراوانی ژنوتیپی | | | فراوانی آللی | | SNP |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Shannon | Nei | Exp[2] | Obs[1] | CC | TC | TT | C | T | $\chi^2$c.1892T>C |
| ۰/۴۴ | ۰/۵۶ | ۰/۱۲ | ۰/۲۳ | ۰/۶۵ | ۰/۴۹ | ۰/۴۹ | ۰/۶۸ | ۸/۵۱* | |
| Shannon | Nei | Exp | Obs | CC | AC | AA | C | A | $\chi^2$c.3359A>C |
| ۰/۶۴ | ۰/۳۶ | ۰/۳۸ | ۰/۱۰ | ۰/۵۲ | ۰/۴۶ | ۰/۴۶ | ۰/۶۵ | ۶/۰۱* | |

۱- هتروزیگوسیتی مشاهده شده

۲- هتروزیگوسیتی مورد انتظار

ارتباط معنی‌داری بین ژنوتیپ‌های موقعیت c.1892T>C از ژن *PPARGC1A* با صفات درصد چربی تصحیح شده بر اساس دوبار دوشش در روز (P<۰/۰۵)، ارزش اصلاحی تولید شیر (P<۰/۰۵)، ارزش اصلاحی درصد چربی شیر (P<۰/۰۱)، تولید پروتئین شیر تصحیح شده براساس ۳۰۵ روز (P<۰/۰۵) و تولید پروتئین شیر تصحیح شده براساس وزن بلوغ (P<۰/۰۵) مشاهده شد. به‌طوری که افراد با ژنوتیپ TT دارای درصد چربی تصحیح شده براساس دوبار دوشش بالاتری (به‌ترتیب ۰/۰۸ و ۰/۰۹ درصد) نسبت به افراد دارای ژنوتیپ TC و CC می‌باشند. افراد با ژنوتیپ CC ارزش اصلاحی تولید شیر بیشتری (به‌ترتیب ۳۷/۴۸ و ۲۱۸/۰۲) نسبت به افراد دارای ژنوتیپ TC و CC می‌باشند. همچنین افراد دارای ژنوتیپ TT ارزش اصلاحی درصد چربی شیر بیشتری (به‌ترتیب ۰/۰۵۶۸ و ۰/۰۸۰۹) نسبت به ژنوتیپ‌های TC و CC داشتند. در مورد صفت تولید پروتئین شیر تصحیح شده براساس ۳۰۵ روز، افراد دارای ژنوتیپ TC نسبت به سایر افراد بالاتر بودند و مقدار پروتئین شیر تصحیح شده بر اساس ۳۰۵ روز بیشتری (به‌ترتیب ۱۵/۹۹ و ٤/٦٦ کیلوگرم) نسبت به افراد دارای ژنوتیپ TT و CC داشتند. همچنین این افراد، ۱۷/۹۲ کیلوگرم پروتئین شیر تصحیح شده بر اساس وزن بلوغ بیشتری نسبت به افراد دارای ژنوتیپ TT نشان دادند. افراد دارای ژنوتیپ CC نیز به مقدار ۱۳/۰۵ کیلوگرم پروتئین شیر تصحیح شده بر اساس وزن بلوغ بیشتری نسبت به افراد دارای



[ Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-03 ]
[ DOR: 20.1001.1.20084439.1390.6.3.2.4 ]

ژنوتیپ TT داشتند. ارتباط معنی‌دار بین ژنوتیپ‌های این موقعیت با سایر صفات مورد مطالعه مشاهده نشد (جدول ۲). ارتباط معنی‌دار بین ژنوتیپ‌های موقعیت c.3359A>C از ژن *PPARGC1A* با دو صفت درصد چربی تصحیح شده بر اساس دو بار دوشش در روز (P<۰/۰۱) و ارزش اصلاحی درصد چربی شیر (P<۰/۰۱) مشاهده شد. به‌طوری که افراد با ژنوتیپ AA درصد چربی تصحیح شده براساس دوبار دوشش بالاتری (به‌ترتیب ۰/۱۳ و ۰/۱٤ درصد) نسبت به افراد با ژنوتیپ AC و CC نشان دادند. همچنین افراد با ژنوتیپ AA، ارزش اصلاحی درصد چربی شیر بیشتری (به‌ترتیب ۰/۰۲۹۵ و ۰/۰٤۱۲) نسبت به افراد با ژنوتیپ AC و CC نشان دادند. ارتباط معنی‌دار بین ژنوتیپ‌های این موقعیت با سایر صفات مورد مطالعه مشاهده نشد (جدول ۳). پیشرفت قابل توجه‌ای در بهبود ژنتیکی جمعیت‌های دامی، با استفاده از انتخاب مصنوعی برای صفات کمی ایجاد شده است. بیش‌تر این انتخاب‌ها بر مبنای فنوتیپ ظاهری حیوان و بدون در نظر گرفتن ساختار ژنتیکی انجام شده است. با این‌حال، پیشرفت علم ژنتیک مولکولی در جمعیت‌های دامی منجر به شناخت ساختار ژنتیکی صفات کمی شده است (۱).

جدول ۲- میانگین حداقل مربعات و اشتباه استاندارد برای صفات شیر، در ژنوتیپ‌های مختلف موقعیت c.1892T>C از ژن *PPARGC1A* را نشان می‌دهد.

| c.1892T>C | TT(n= ۴۶) | TC(n= ۲۵۹) | CC(n= ۹۳) | *p* value |
|---|---|---|---|---|
| MILK | ۶۹۰۲/۳۶±۶۱۱/۶۶ | ۷۸۰۰/۸۵±۴۷۹/۱۶ | ۷۳۱۸/۲۹±۵۰۷/۹۱ | ۰/۱۲۵۴ |
| MILK2X | ۶۸۷۶/۱۰±۲۸۵/۴۰ | ۷۳۴۹/۵۸±۲۲۳/۵۸ | ۷۲۹۱/۴۳±۲۳۶/۹۹ | ۰/۳۱۲۴ |
| MILKME | ۷۹۸۷/۸۰±۳۲۶/۸۰ | ۸۵۲۴/۶۷±۲۵۶/۰۱ | ۸۴۹۰/۲۷±۲۷۱/۳۶ | ۰/۲۵۹۹ |
| FAT2X | ۲۱۹/۵۰±۱۰/۵۶ | ۲۳۴/۵۵±۸/۲۷ | ۲۲۴/۷۴±۸/۷۳ | ۰/۳۸۸۱ |
| FATP2X | $^{a}$۳/۲۹ ±۰/۱۰۳۹ | $^{b}$۳/۲۱±۰/۰۸۱۳ | $^{c}$۳/۱۰±۰/۰۸۵۸ | ۰/۰۲۱۰ * |
| BVM | $^{c}$-۱۶۷/۹۴±۸۹/۷۳ | $^{b}$۱۲/۶۰±۵۸/۸۴ | $^{a}$۵۰/۰۸±۷۲/۵۲ | ۰/۰۲۴۷ * |
| BVF | ۱/۳۶±۳/۰۷ | ۳/۶۹±۲/۰۱ | ۳/۴۰±۲/۴۸ | ۰/۸۹۲۱ |
| BVFP | $^{a}$۰/۰۹۱۲±۰/۰۲۲۹ | $^{b}$۰/۰۳۴۴±۰/۰۱۵۰ | $^{b}$۰/۰۱۰۳±۰/۰۱۸۵ | ۰/۰۰۰۱ ** |
| PRO305 | $^{c}$۲۰۷/۲۷±۹/۱۸ | $^{a}$۲۲۳/۲۶±۶/۹۶ | $^{b}$۲۱۸/۶۰±۷/۴۴ | ۰/۰۳۸۲ * |
| PROPER305 | ۳/۰۹±۰/۰۴۸۶ | ۳/۰۶±۰/۰۳۶۸ | ۳/۰۴±۰/۰۳۹۴ | ۰/۵۱۵۰ |
| PROME | $^{c}$۲۴۰/۶۵±۱۰/۵۰ | $^{a}$۲۵۸/۵۷±۷/۹۶ | $^{ab}$۲۵۳/۷۰±۸/۵۲ | ۰/۰۴۰۶ * |

MILK (تولید شیر تصحیح شده براساس ۳۰۵ روز)، MILK2X (تولید شیر بر اساس دوبار دوشش در روز)، MILKME (تولید شیر تصحیح شده بر اساس وزن بلوغ)، BVM (ارزش اصلاحی تولید شیر)، BVF (ارزش اصلاحی تولید چربی شیر)، BVFP (ارزش اصلاحی درصد چربی شیر)، FAT2X (تولید چربی تصحیح شده بر اساس دوبار دوشش در روز)، FATP2X (درصد چربی شیر تصحیح شده بر اساس دوبار دوشش در روز)،PRO305 (تولید پروتئین تصحیح شده بر اساس ۳۰۵ روز)، PROPER305 (درصد پروتئین تصحیح شده بر اساس ۳۰۵ روز) و PROME (تولید پروتئین تصحیح شده بر اساس وزن بلوغ).

جدول ۳- میانگین حداقل مربعات و اشتباه استاندارد برای صفات شیر، در ژنوتیپ‌های مختلف موقعیت c.3359A>C از ژن *PPARGC1A* را نشان می‌دهد.

| c.3359A>C | AA(n= ۱۵۱) | AC(n= ۲۰۷) | CC(n= ۴۰) | p value |
|---|---|---|---|---|
| MILK | ۷۲۹۷/۳۸±۵۰۶/۷۴ | ۷۶۵۶/۷۱±۴۵۷/۳۹ | ۷۴۹۵/۵۷±۶۴۲/۶۶ | ۰/۱۴۸۰ |
| MILK2X | ۷۲۱۶/۳۲±۲۶۳/۹۳ | ۷۳۲۵/۹۲±۲۲۲/۲۷ | ۷۲۵۷/۹۲±۳۰۰/۴۸ | ۰/۷۸۲۵ |
| MILKME | ۸۳۷۹/۱۲±۲۷۱/۲۳ | ۸۵۱۱/۱۴±۲۵۴/۴۵ | ۸۴۶۴/۳۷±۳۴۳/۹۸ | ۰/۷۹۲۵ |
| FAT2X | ۲۳۲/۲۹±۸/۷۳ | ۲۲۷/۶۷±۸/۲۰ | ۲۳۳/۷۶±۱۱/۱۰ | ۰/۶۳۶۷ |
| FATP2X | a۳/۲۷±۰/۰۸۴۶ | b۳/۱۴±۰/۰۷۹۵ | b۳/۱۳±۰/۱۰۷۷ | ۰/۰۰۹۲ ** |
| BVM | -۴۴/۱۲±۶۶/۰۵ | ۸/۷۳±۶۰/۰۸ | ۹۴/۰۷±۹۶/۱۱ | ۰/۲۲۹۳ |
| BVF | ۳/۰۳±۲/۲۴ | ۳/۰۹±۲/۰۴ | ۴/۸۷±۳/۲۷ | ۰/۸۷۰۷ |
| BVFP | a۰/۰۵۴۵±۰/۰۱۶۹ | b۰/۰۲۴۹±۰/۰۱۵۴ | c۰/۰۱۳۳±۰/۰۲۴۶ | ۰/۰۰۴۳ ** |
| PRO305 | ۲۱۸/۵۲±۷/۴۲ | ۲۲۱/۷۵±۶/۸۳ | ۲۲۹/۷۹±۹/۹۴ | ۰/۳۸۲۱ |
| PROPER305 | ۳/۰۷±۰/۰۳۹۱ | ۳/۰۷±۰/۰۳۵۹ | ۳/۰۶±۰/۰۵۲۳ | ۰/۱۸۹۳ |
| PROME | ۲۵۳/۴۸±۸/۴۸ | ۲۵۷/۰۹±۷/۸۱ | ۲۶۶/۳۴±۱۱/۳۷ | ۰/۳۶۶۶ |

[ Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-03 ]

[ DOR: 20.1001.1.20084439.1390.6.3.2.4 ]

در این تحقیق ژنوتیپ‌های چندشکلی تک نوکلئوتیدی c.1892T>C و c.3359A>C از ژن *PPARGC1A*، به روش PCR-RFLP تعیین شد و سپس ارتباط آن‌ها با صفات ترکیب و تولید شیر در گاوهای هلشتاین ایران مورد بررسی قرار گرفت. به دلیل نقش کلیدی ژن *PPARGC1A* در پاسخ‌های بیولوژیکی مانند گرمازایی سازشی، بیوژنز میتوکندریایی و متابولیسم چربی، گلوکز و انرژی، برای این تحقیق انتخاب شد (۷). دلیل دیگر برای انتخاب این ژن، نتایج حاصل از مطالعات QTL بود به‌طوری‌که این تحقیقات نشان داده بودند که یک QTL در نزدیکی ژن *PPARGC1A* در ناحیه سانترومر از کروموزوم ٦ گاو قرار گرفته است که بر صفات ترکیب و تولید شیر موثر می‌باشد (٤، ٥، ١١، ١٧).

در تحقیق حاضر، بیشترین فراوانی ژنوتیپی در موقعیت c.1892T>C از ژن *PPARGC1A*، برای ژنوتیپ TC و کم‌ترین فراوانی برای ژنوتیپ TT مشاهده شد. این نتایج با یافته‌های Khatib و همکاران (۲۰۰۷) مطابقت دارد. با این‌حال، نتایج این مطالعه، با نتایج Weikard و همکاران (۲۰۰۵) و Kowalewska و همکاران (۲۰۱۰) که بیش‌ترین فراوانی ژنوتیپی در این موقعیت را به‌ترتیب برای CC و TC و کم‌ترین فراوانی ژنوتیپی را به‌ترتیب برای TT و CC گزارش کردند، تفاوت نشان داد. نتایج این تحقیق با یافته‌های Komisarek و همکاران (۲۰۰۹)، White و همکاران (۲۰۰۷) و Schennink و همکاران (۲۰۰۹) که بیش‌ترین فراوانی آللی در موقعیت c.1892T>C را برای آلل C به‌دست آوردند مشابهت دارد. در این مطالعه بیش‌ترین فراوانی ژنوتیپی در موقعیت c.3359A>C از ژن *PPARGC1A*، برای ژنوتیپ AC و کم‌ترین فراوانی برای ژنوتیپ CC محاسبه شد. Khatib و همکاران (۲۰۰۷) و Weikard و همکاران (۲۰۰۵) بیش‌ترین فراوانی ژنوتیپی را در این موقعیت، برای ژنوتیپ AC به دست آوردند و Kowalewska و همکاران (۲۰۱۰) کم‌ترین فراوانی ژنوتیپی را برای ژنوتیپ CC مشاهده کردند. از این نظر، نتایج تحقیق حاضر با مطالعات قبلی مطابقت دارد. اما تفاوت‌هایی نیز بین نتایج حاصل از این تحقیق با مطالعات قبل مشاهده شد، به طوری‌که Khatib و همکاران (۲۰۰۷) و Weikard و همکاران (۲۰۰۵) کم‌ترین فراوانی ژنوتیپی را برای ژنوتیپ AA به دست آوردند و Kowalewska و همکاران (۲۰۱۰) بیش‌ترین فراوانی ژنوتیپی را برای این ژنوتیپ مشاهده کردند. قابل توجه است که فراوانی‌های آللی به دست آمده در موقعیت c.3359A>C در این تحقیق، با نتایج Komisarek و همکاران (۲۰۰۹) که فراوانی‌های آللی را به صورت A=۰/٦٤ و C=۰/۳٦ گزارش کردند، یکسان است. با استفاده از آزمون مربع کای ($\chi^2$)، انحراف ژنوتیپ‌ها از تعادل هاردی- واینبرگ، در هر دو موقعیت مورد بررسی مشخص شد. از دلایل احتمالی این انحراف از تعادل، می‌توان به نمونه-گیری از جمعیت که خود نوعی انتخاب است و نیز تلاقی‌های غیر تصادفی اشاره کرد که هر دو از عوامل بر هم‌زننده تعادل می‌باشند.

در این مطالعه، ارتباط معنی‌داری بین ژنوتیپ‌های موقعیت c.1892T>C از ژن *PPARGC1A* با صفات درصد چربی تصحیح شده بر اساس دوبار دوشش در روز (P<۰/۰۵)، ارزش اصلاحی تولید شیر (P<۰/۰۵)، ارزش اصلاحی درصد چربی شیر (P<۰/۰۱)، تولید پروتئین شیر تصحیح شده براساس ۳۰۵ روز (P<۰/۰۵) و تولید پروتئین شیر تصحیح شده بر اساس وزن بلوغ (P<۰/۰۵) مشاهده شد. درحالی‌که Weikard و همکاران (۲۰۰۵) ارتباط معنی‌دار موقعیت c.1892T>C از ژن *PPARGC1A* را با مقدار چربی شیر گزارش کردند اما این جانشینی با مقدار شیر و درصد چربی آن ارتباط معنی‌دار نشان نداد. در مطالعه Khatib و همکاران (۲۰۰۷) و Kowalewska و همکاران (۲۰۱۰) این جانشینی تک‌نوکلئوتیدی با هیچ‌یک از صفات تولیدی شیر ارتباط معنی‌دار نشان نداد. Komisarek و همکاران (۲۰۰۹) ارتباط معنی-داری بین ژنوتیپ‌های SNPT>C با مقدار پروتئین شیر و نیز نرخ برگشت‌ناپذیری در تلیسه‌ها مشاهده کردند و نشان دادند افراد با ژنوتیپ TT مقدار پروتئین بیش‌تری در شیر تولید می‌کنند. در تحقیق حاضر، ارتباط معنی‌داری بین ژنوتیپ‌های موقعیت c.3359A>C از ژن *PPARGC1A* با دو صفت درصد چربی تصحیح شده بر اساس دوبار دوشش در روز (P<۰/۰۱) و ارزش اصلاحی درصد چربی شیر (P<۰/۰۱) مشاهده شد. Khatib و همکاران (۲۰۰۷) ارتباط معنی‌دار اثر افزایشی SNPA>C با افزایش درصد پروتئین شیر و کاهش مقدار شیر را گزارش کردند. Weikard و همکاران (۲۰۰۵) نشان دادند که افراد دارای ژنوتیپ



[ Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-03 ]
[ DOR: 20.1001.1.20084439.1390.6.3.2.4 ]

CC در موقعیت c.3359A>C در مقایسه با افراد دارای ژنوتیپ AA و AC مقدار چربی شیر کمتری دارند اما نتایج به سطح معنی‌داری ۵ درصد نرسید. بنابراین Weikard و همکاران (۲۰۰۷) پیشنهاد کردند که ارتباط بین SNPA>C در موقعیت ۳۳۵۹ با مقدار چربی شیر ممکن است به علت عدم تعادل پیوستگی (LD) بین جایگاه‌های c.1892T>C و c.3359A>C باشد. Kowalewska و همکاران (۲۰۱۰) ارتباط معنی‌داری بین ژنوتیپ‌های موقعیت c.3359A>C با صفات ترکیب و تولید شیر مشاهده نکردند.

بر اساس نتایج به‌دست آمده در این تحقیق و نیز نقش کلیدی ژن *PPARGC1A* در متابولیسم چربی، گلوکز و انرژی و پروسه‌های متابولیکی در کبد و بافت‌های چربی و ماهیچه، به نظر می‌رسد تنوع در منطقه غیرکدکننده این ژن، با تاثیر بالقوه روی پردازش mRNA اولیه[1] و کارایی ویرایش[2]، و یا تاثیر بر روی سطح mRNA، ممکن است باعث افزایش نیاز غدد پستانی به گلوکز در پیک دوره شیردهی شود. خصوصاً در گاوهای شیری پرتولید، تنظیم تولید گلوکز و استفاده از آن در کبد، بافت چربی و ماهیچه اسکلتی و دیگر بافت‌ها مسئله‌ای مهم به‌شمار می‌رود. همچنین در این تحقیق، با محاسبه فراوانی هاپلوتیپ‌ها بین جفت جایگاه‌ها، آماره $r^2$ و در نتیجه مقدار عدم‌تعادل پیوستگی (LD) بین چندشکلی‌های تک نوکلئوتیدی برآورد شد. از آن‌جا که عدم تعادل پیوستگی بین دو موقعیت c.1892T>C و c.3359A>C برابر با ۸۵۷۲ درصد محاسبه شد می‌توان نتیجه گرفت که تاثیر معنی‌دار این دو جایگاه به علت عدم تعادل پیوستگی بالا با یکدیگر می‌باشد. احتمال دیگر برای توجیه ارتباط تنوع T>C در موقعیت ۱۸۹۲ و نیز تنوع A>C در موقعیت ۳۳۵۹ با صفات ترکیب و تولید شیر، عدم تعادل پیوستگی احتمالی این جایگاه‌ها با چندشکلی‌های تک نوکلئوتیدی تشخیص داده نشده در ژن *PPARGC1A* می‌باشد. در این تحقیق، ارتباط آلل T در موقعیت c.1892T>C با افزایش درصد چربی تصحیح شده بر اساس دوبار دوشش در روز و ارزش اصلاحی درصد چربی شیر و نیز ارتباط آلل C با افزایش ارزش اصلاحی تولید شیر و نیز افزایش تولید پروتئین شیر تصحیح شده براساس ۳۰۵ روز و تولید پروتئین تصحیح شده بر اساس وزن بلوغ مشخص شد. همچنین مشخص شد که آلل A در موقعیت c.3359A>C باعث افزایش درصد چربی تصحیح شده بر اساس دوبار دوشش در روز و ارزش اصلاحی درصد چربی شیر می‌شود.

به‌طور خلاصه، وجود ارتباط معنی‌دار بین این چندشکلی‌های تک نوکلئوتیدی با صفات ترکیب و تولید شیر، فرصت مناسبی برای استفاده از برنامه‌های انتخاب به کمک مارکر (MAS)[3] در گاوهای شیری فراهم می‌آورد. از دلایل تفاوت در نتایج حاصل از این تحقیق با مطالعات مشابه، می‌توان به تفاوت پتانسیل ژنتیکی افراد مورد مطالعه و نیز اختلاف در اندازه نمونه اشاره نمود. بنابراین پیشنهاد می‌شود که چندشکلی‌های تک‌نوکلئوتیدی در این ژن، در نژادهای دیگر گاو شیری با تعداد نمونه بیش‌تر نیز بررسی شود.

[1] Pre-mRNA
[2] Splicing
[3] Marker Assisted Selection

## منابع

1. Dekkers JCM and Hospital F, 2002. The use of molecular genetics in the improvement of agricultural populations. Nat. Rev. Genet. 3: 22-32.
2. De Koning DJ, 2006. Conflicting candidates for cattle QTLs. Trends Genet. 22: 301-305.
3. Hill WG and Robertson A, 1968. Linkage Disequilibrium in Finite Populations. Theor. Appl. Genet. 38: 226-231.
4. Khatib H, Zaitoun I, Wiebelhaus-Finger J, Chang YM and Rosa GJM, 2007. The association of bovine PPARGC1A and OPN genes with milk composition in two independent Holstein cattle populations. J. Dairy Sci. 90: 2966-2970.
5. Khatkar MS, Thomson PC, Tammen I and Raadsma HW, 2004. Quantitative trait loci mapping in dairy cattle: Review and meta-analysis. Genet. Sel. Evol. 36: 163-190.
6. Komisarek J and Dorynek Z, 2009. Effect of ABCG2, PPARGC1A, OLR1 and SCD1 gene polymorphism on estimated breeding values for functional and production traits in Polish Holstein-Friesian bulls. J. Appl. Genet. 50: 125-132.
7. Kowalewska I, Kulig H and Kmiec M, 2010. Associations between the bovine PPARGC1A gene and milk production traits. Czech J. Anim. Sci. 55: 195-199.
8. Liang H and Ward w, 2006. PGC-1α : a key regulator of energy metabolism. Adv. Physiol. Educ. 30: 145-151.



[ Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-03 ]
[ DOR: 20.1001.1.20084439.1390.6.3.2.4 ]

9. Mackinnon MJ and Georges MAJ, 1998. Marker-assisted preselection of young dairy sires prior to progeny-testing. Livest. Prod. Sci. 54: 229-250.
10. Miller SA, Dykes DD and Polesky HF, 1988. A simple salting-out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. Nucleic Acids Res. 16: 1215-1220.
11. Olsen HG, Lien S, Gautier M, Nilsen H, Roseth A, Berg PR, Sundsaasen KK, Svendsen M and Meuwissen TH, 2005. Mapping of a milk production quantitative trait locus to a 420-kb region on bovine chromosome 6. Genetics 169: 275-283.
12. Pollak EJ, 2005. Application and impact of new genetic technologies on beef cattle breeding: a 'real world' perspective. Aust. J. Exp. Agric. 45: 739-748.
13. Puigserver P, Wu Z, Park CW, Graves R, Wright M and Spiegelman BM, 1998. A cold-inducible coactivator of nuclear receptors linked to adaptive thermogenesis. Cell 92: 829-839.
14. 1SAS Institute. 1999. SAS OnlineDoc, Version 8. SAS Institute Inc., Cary, NC.
15. Schennink A, Bovenhuis H, Leon-Kloosterziel KM, Arendonk AM and Visker MHP, 2009. Effect of polymorphisms in the FASN, OLR1, PPARGC1A, PRL and STAT5A genes on bovine milk-fat composition. Anim. Genet. 40: 909-916.
16. Soller M, 1994. Marker assisted selection-An overview. Anim. Biotechnol. 3: 193-201.
17. Weikard R, Kuhn C, Goldammer T, Freyer G and Schwerin M, 2005. The bovine PPARGC1A gene: Molecular characterization and association of an SNP with variation of milk fat synthesis. Physiol. Genomics 21: 1-13.
18. White SN, Casas E, Allan MF, Keele JW, Snelling WM, Wheeler TL, Shackelford SD, Koohmaraie M and Smith TPL, 2007. Evaluation in beef cattle of six deoxyribonucleic acid markers developed for dairy traits reveals an osteopontin polymorphism associated with postweaning growth. J. Anim. Sci. 85: 1-10.
19. Yeh FC, Yang R and Boyle T, 1999. Pop Gene version 1.31, Microsoft windows-based free ware for population genetic analysis, University of Alberta. Edmonton, AB, Canada.

[ Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-03 ]

[ DOR: 20.1001.1.20084439.1390.6.3.2.4 ]