ژنتیک نوین
دوره ششم، شماره ۱، بهار ۱۳۹۰
صفحه ۵۱-۴۵

ارزیابی تنوع ژنتیکی گاوهای هلشتاین و بومی استان کرمان با نشانگرهای ISSR

محمدرضا محمدآبادی*[۱]، مریم قاسمی[۲]

۱- دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان
۲- فارغ التحصیل کارشناسی ارشد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل
* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: mmohammadabadi@yahoo.ca

(تاریخ دریافت: ۸۸/۱۲/۱۷ - تاریخ پذیرش: ۹۰/۳/۱)

چکیده

دستورالعمل‌های زیادی برای نشانگرهای گوناگون توسعه یافته‌اند که سریع هستند و به مقادیر کمی DNA نیاز دارند. ۱۲۰ گاو هلشتاین از ٤ گله واقع در کرمان و ۸۰ گاو بومی از ۵ گله واقع در بم مورد آزمایش قرار گرفتند. هر دو آغازگر ISSR تست شده، به نام $(AG)_9C$ و $(GA)_9C$ باندهای متفاوت زیادی را تولید کردند. بر اساس نتایج این بررسی، نشانگرهای ISSR باندهای قابل مقایسه زیادی تولید می‌کنند، الگوهای انگشت نگاری ISSR قابلیت توارث بالایی دارند. چند شکلی‌ها در بین این ۹ گله تست شده با این نشانگر آشکار بود، همچنین آغازگر $(AG)_9C$ در مقایسه با آغازگر $(GA)_9C$ الگوهای بیشتر و مفیدتری را می‌دهد و مقایسه الگوهای ISSR به طور موفقیت آمیزی می‌تواند برای مطالعه تنوع بین و داخل جمعیت‌های گاو استفاده شود. میانگین تنوع ژنی برای نشانگر $(AG)_9C$ در گله‌های بومی و هلشتاین به ترتیب ۰/۵۷ و ۰/۲۸ و برای نشانگر $(GA)_9C$ به ترتیب ۰/۳۵ و ۰/۱۵ بود. میانگین تعداد جایگاه‌های چند شکل و میانگین درصد چند شکلی در هر جمعیت بر اساس نشانگر $(AG)_9C$ برای گله‌های بومی به ترتیب ۱۵/٦۰ و ٤٤/٦۵ و گله‌های هلشتاین ۱۷/۷۵ و ۵٤/۲۹ و بر اساس نشانگر $(GA)_9C$ برای گله‌های بومی به ترتیب ۸/٤۰ و ۷۰/۰۱ و گله‌های هلشتاین ۱۰/۲۵ و ۸۵/٤۲ به دست آمد. بالاترین درصد چند شکلی بر اساس نشانگر $(AG)_9C$ در گله‌های هلشتاین به میزان ۷٤/۲۹ درصد و در گله‌های بومی ٦۵/۷۱ درصد و نشانگر $(GA)_9C$ در گله‌های هلشتاین به میزان صد درصد و در گله‌های بومی به میزان ۹۱/۷ درصد بود. بنابراین، نشانگرهای ISSR انتخاب خوبی برای انگشت نگاری DNA گاو هستند.

واژه‌های کلیدی

انگشت نگاری DNA،
ژنوم گاو،
ISSR

مقدمه

گاو همچون دایه انسان بوده و هست و هر روز که می‌گذرد، اهمیت این حیوان خارق العاده نزد بشر بیشتر می‌شود (۶) و در تمام نقاط جهان یکی از ارکان اصلی دامپروری و کشاورزی به شمار می‌آید. این حیوان، محصولاتی مانند شیر، گوشت، پوشاک، کود، سوخت و مانند آنها را در اختیار انسان قرار می‌دهد (۴ و ۸). نژادهای گاو بومی ایران، همانند اکثر نژادهای بومی در سایر کشورهای آسیایی، آفریقایی وآمریکای جنوبی، از نظر تولید در مقایسه با

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-07-02]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1390.6.1.6.4]

نژادهای گاو اروپایی و آمریکائی در سطح پایین‌تری واقع‌اند. علیرغم پتانسیل تولید پایین، نژادهای بومی این مناطق بدلیل انتخاب طبیعی و مصنوعی اعمال شده برای سالیان طولانی با شرایط معمولاً نامساعد آب و هوایی محیط زیست‌شان بخوبی تطابق داشته و نسبت به تنش‌های محیطی مختلف و بیماری‌های محیطی مقاومت دارند. از طرف دیگر، پرورش نژادهای اروپایی در مناطق گرمسیری با کاهش رشد، افزایش تلفات و کاهش باروری روبرو بوده است. چنین شرایطی حداکثر توجه و بهره-وری از استعدادهای ژنتیکی گاوهای بومی را در برنامه‌های اصلاح نژادی ایجاب می‌کند (۳). استفاده از نشانگرها در اصلاح دام جایگاه خاصی را به خود اختصاص داده است و استفاده مناسب از آنها باعث افزایش دقت و سرعت در میزان بهبود ژنتیکی دام می‌شود (۵ و ۱۶). بر خلاف نشانگرهای مورفولوژیکی، نشانگرهای DNA تحول عظیمی را در عرصه علوم ایجاد کرده‌اند (۲۵ و ۲۶). یکی از مهمترین کاربردهای نشانگرهای DNA تهیه نقشه‌های ژنتیکی می‌باشد که بر اساس آن می‌توان جایگاه ژنی و کروموزومی ژن‌های تعیین کننده صفات مطلوب (یعنی ترتیب و فاصله ژن‌ها و نشانگرها از یکدیگر بر روی کروموزوم‌ها) را تعیین نمود (۲۴، ۱۸). از اواسط دهه ۱۹۸۰ شناسایی ژنومی و انتخاب با کمک تکنولوژی PCR پیشرفت سریعی کرده است. دستورالعمل‌های زیادی برای نشانگرهای گوناگون توسعه یافته‌اند که سریع هستند و به مقادیر کمی DNA نیاز دارند. از نشانگرهای مبتنی بر PCR که به طور گسترده‌ای مورد استفاده قرار گرفته‌اند می‌توان نشانگرهای RAPD (۳۳)، SSR یا ریزماهواره‌ها (۲۸) و AFLP (۳۲) را نام برد. هر نشانگر مزایا و معایب خودش را دارد. نشانگرهای RAPD خیلی سریع بوده و کار با آنها آسان است، زیرا توالی آغازگرها اختیاری و تصادفی است، اما تکرارپذیری آنها بسیار پایین است (۱۱، ۱۳، ۱٤، ۳۱). نشانگرهای AFLP تکرارپذیری متوسطی دارند، اما کار با آنها سخت است و گران می‌باشند (۱۳)، به علاوه لازم است توالی ژنومی مشخص باشد تا امکان طراحی آغازگرهای آنها فراهم گردد، بنابراین برای مطالعه ژنوم‌هایی که تا کنون بررسی نشده‌اند محدودیت دارند. انتخاب یک نشانگر ملکولی بستگی به تکرارپذیری و سادگی آن دارد. بهترین نشانگرها برای تعیین نقشه ژنومی، انتخاب بر اساس نشانگر، مطالعات فیلوژنتیکی و حفظ محصولات آنهایی هستند که کار با آنها آسان است، به تجهیزات کمتری نیاز دارند و تکرارپذیری آنها بالا است. از سال ۱۹۹٤ یک نشانگر ملکولی جدید به نام ISSR[1] در دسترس است (۳۵). نشانگرهای ISSR نیمه اختیاری[2] هستند و در حضور یک آغازگر مکمل ریزماهواره هدف، با PCR تکثیر می‌شوند. تکثیر در حضور آغازگرهای بدون لنگر[3] را MP-PCR[4] می‌نامند (۱۷). چنین تکثیری به اطلاعاتی در مورد توالی ژنومی نیاز ندارد و منجر به تولید الگوهای چند جایگاهی[5] و با تنوع بالا می‌شود و هر باند مربوط به توالی DNA محصور بین دو ریزماهواره معکوس یکدیگر می‌شود (۲۰، ۳۰، ۳۵). نشانگرهای ISSR، شبیه نشانگرهای RAPD سریع هستند و کار با آنها آسان است، چون طول آغازگرشان بلندتر است تکرارپذیری آنها همچون نشانگرهای SSR بالا است. تغییرپذیری بالا و حساسیت زیاد نسبت به تغییر اجزا واکنش PCR در روش RAPD سبب شده که نشانگرهای ISSR به صورت غالب برای تولید نقشه‌های ژنتیکی مورد توجه قرار گیرند. این مزایا به همراه تکرار پذیری بالا و کاهش تغییر در باندها در تکرارهای مختلف نشان از عملکرد بالای این نشانگرها در بررسی صفات اقتصادی است. امروزه مطالعات بسیار کمی در مورد استفاده از ISSR در تشخیص یا بررسی ژنوتیپ واریته‌های بسیار مهم کشاورزی، به خصوص حیوانات اهلی از جمله گاو و گوسفند منتشر شده است و بیشتر مطالعات با استفاده از این نشانگرها روی گیاهان و حشرات انجام شده است. گلازکو و همکاران (۱۹۹۸) با استفاده از نشانگرهای ISSR، RAPD و چندشکلی پروتئین‌ها تنوع ژنتیکی در گاوهای کوهان‌دار و بدون کوهان آمریکایی و اروپایی را بررسی کردند. آنها نشان دادند که ارزیابی ژنتیکی داخل گونه‌ای با استفاده از نشانگرهای DNA نسبت به تعیین چندشکلی پروتئینی ارجحیت

[1] Inter Simple Sequence Repeat
[2] Semiarbitrary
[3] Nonanchored
[4] Microsatellite-primed PCR
[5] Multilocus

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-07-02]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1390.6.1.6.4]

دارد. در مطالعات بعدی توسط زوبتس و همکاران (۲۰۰۱) چندشکلی ژنتیکی و ملکولی در سه نژاد گاو مورد بررسی قرار گرفت. در این طرح به بررسی اهمیت کاربرد PCR در دسته‌بندی ژنتیکی DNA پرداخته شد و از نشانگرهای RAPD و ISSR برای بررسی چندشکلی و تعیین میزان هتروزایگوسیتی آلل‌ها استفاده شد. اثرات نشانگرهای ISSR برروی تفاوت‌های مخازن ژنی گاو توسط گورودنایا و گلازکو (۲۰۰۳) مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه ساختمان ژنتیکی در ۵ نژاد گاو اکراینی با استفاده از روش ISSR-PCR مورد بررسی قرار گرفت. بررسی چندشکلی DNA گاو با استفاده از نشانگرهای ISSR توسط تریاپیتسیانا و گلازکو (۲۰۰۵) مورد بررسی قرار گرفت. در این طرح تجزیه فامیلی، نشان داده شد که نشانگرهای ISSR در نسل F_0 و نتاج F_1 و F_2 در گاو هلشتاین در ناحیه متغیر ژنتیکی وراثت‌پذیری و چندشکلی بالایی دارند. محمدآبادی و همکاران (۲۰۰۵) از نشانگرهای ISSR برای تعیین تنوع ژنتیکی چند نژاد بومی روسیه استفاده کردند و نشان دادند که این نشانگرها ابزار مفیدی برای این کار می‌باشند و تنوع ژنتیکی بالایی را در این نژادها به دست آوردند. آهنی و همکاران (۱۳۸۶) با این نشانگرها ۱۵ نژاد از گاوهای اروپایی و روسی را مورد بررسی قرار دادند و تنوع ژنتیکی پایینی را گزارش کردند. آنها همچنین کمیت و کیفیت قطعات حاصل از این روش را برای گاو و گاو میش ارزیابی کردند و نشان دادند که از ۵۵ قطعه مشاهده شده ۵۳ قطعه چند شکل بودند. مرادی و همکاران (۱۳۸۶) تنوع ژنتیکی تیپ‌های رنگی بز مرخز را با استفاده از نشانگرهای ISSR ارزیابی کردند و نشان دادند که از آنها برای بررسی ژنوم بز نیز می‌توان استفاده کرد. همچنین نشانگرهای ISSR می‌توانند درصد بالایی از چندشکلی را نسبت به سایر روش‌ها ایجاد کنند. به طور کلی، نشانگرهای ISSR می‌توانند در دسته‌بندی گونه‌ها، تهیه نقشه پیوستگی ژنتیکی، تعیین تنوع ژنتیکی زیر جمعیت‌ها، تشخیص بیماری‌های مختلف سرطان و تومورها و تفکیک زیر گونه‌ها بکار گرفته شوند. همان طور که بیان شد، نشانگرهای ISSR در دام‌های اهلی و بویژه بز، گوسفند و گاو به تعداد انگشت شماری مورد استفاده قرار گرفته‌اند، در صورتی که در موجودات دیگر از قبیل حشرات و گیاهان زیاد استفاده شده‌اند و چند شکلی بالایی را نشان داده‌اند (۱۲، ۱۵، ۱۹، ۲۱، ۲۲، ۲۳، ۲۷). در کشور ما از نشانگرهای ISSR برای مطالعه ملکولی گاوهای بومی، مطالعات بسیار کمی انجام شده و به ویژه گاوهای بومی استان کرمان با این نشانگرها تا کنون مورد بررسی قرار نگرفته‌اند، لذا هدف این مطالعه، بررسی تنوع ژنتیکی گاوهای بومی استان کرمان و هلشتاین با استفاده از نشانگرهای ISSR برای اولین بار بود.

مواد و روش‌ها

در این طرح از ۱۲۰ گاو هلشتاین، در قالب ۴ گله در شهرستان کرمان و ۸۰ گاو بومی در قالب ۵ گله در شهرستان بم خون‌گیری انجام شد. استخراج DNA با استفاده از کیت Diatom DNA Prep به روش گوانیدین–سیلیکاژل و بر اساس دستورالعمل کیت انجام گرفت. راندمان استخراج DNA ی خالص با دستگاه اسپکتروفتومتر آزمون گردید. به جز DNA و آب مقطر، مواد مورد استفاده جهت انجام واکنش‌های PCR، به صورت تیوب‌های آماده تجاری بودند که از شرکت ژن فن آوران تهیه گردیدند. برای انجام هر واکنش، مقدار ۳ میکرو لیتر DNA به ۱۷ میکرولیتر از مخلوط اضافه گردید که برای انجام PCR مورد استفاده قرار گرفت. الیگونوکلئوتیدهای مورد استفاده در این تحقیق شامل دو آغازگر با توالی '5'-AGAGAGAGAGAGAGAGAGC-3 و '5'-GAGAGAGAGAGAGAGAGAC-3' بودند (محمدآبادی و همکاران، ۲۰۰۵). واکنش PCR با استفاده از کیت Universal PCR انجام شد. محتوای هر میکروتیوب شامل یک واحد آنزیم Taq پلی مراز غیر فعال، ۲۰۰میکرومول از هرdNTP و ۲/۵ میلی مول $MgCl_2$ و بافر استاندارد بود. شرایط واکنش PCR عبارت بودند از: واسرشت‌سازی اولیه DNA به مدت ۲ دقیقه و ۹۴ درجه سانتی‌گراد، انجام ۳۰ سیکل با واسرشت سازی DNA طی ۳۰ ثانیه و ۹۴ درجه سانتی‌گراد، اتصال آغازگر به DNA طی ۳۰ ثانیه و ۵۵ درجه سانتی‌گراد و بسط آغازگر طی ۲ دقیقه و ۷۲ درجه سانتی-گراد و بسط انتهایی ۲ دقیقه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد. محصولات PCR در ژل آگارز دو درصد الکتروفورز گردید. ژل به مدت ۱۰ دقیقه در محلول اتیدیوم بروماید رنگ آمیزی و سپس باندها در زیر نور ماوراء بنفش مشاهده شدند. برای خواندن آلل‌ها، عکس-

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-07-02]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1390.6.1.6.4]

های گرفته شده اسکن و با استفاده از نرم افزار Onedscan خوانده، اندازه باندها مشخص و ماتریس صفر و یک تشکیل شد و سپس در نرم‌افزار Excel تنظیم و طبقه‌بندی شدند. در این تحقیق ٤ جمعیت هلشتاین به نام A، B، C و D و ٥ جمعیت بومی به نام M، N، Q، R و T نام‌گذاری شدند. تجزیه جمعیت-های گاوهای بومی و هلشتاین برای هر آغازگر با نرم افزار PopGene (٣٤) جداگانه صورت گرفت و هر آغازگر به صورت جدا در جمعیت‌های بومی و هلشتاین و مجموع دو جمعیت بومی و هلشتاین مورد آزمون قرار گرفت. تعادل هاردی وینبرگ با دو تست کای اسکور[6] و جی اسکور[7] برای هر نشانگر جداگانه مورد آزمون قرار گرفت. از آنجایی که جایگاه‌های ISSR دارای چند شکلی بالایی می‌باشند و شاخص شانون بیانگر میزان تنوع ژنتیکی در هر جمعیت می‌باشد، بنابراین در این مطالعه اقدام به محاسبه شاخص شانون[8] گردید. در این تحقیق همچنین میانگین تنوع ژنی با استفاده از آزمون براون[9] برای هر آغازگر جداگانه برآورد گردید و میانگین تعداد جایگاه‌های چند شکل و میانگین درصد چند شکلی در هر جمعیت محاسبه شد.

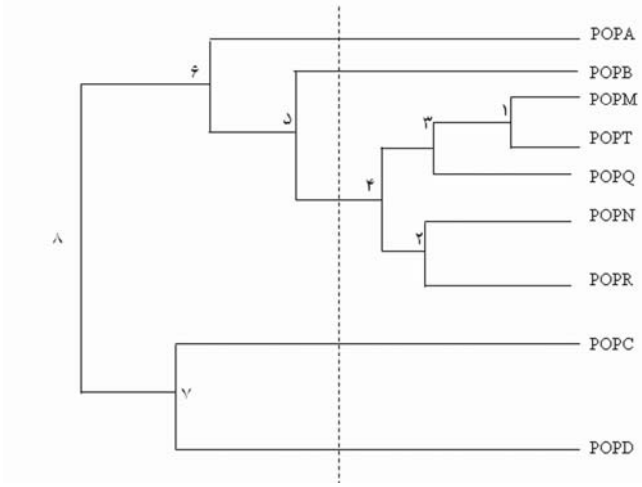
نتایج و بحث

در این تحقیق، فراوانی آلل یک در مورد جمعیت‌های تجزیه شده با آغازگر $(AG)_9C$، در گله A بالاترین و برابر ۰/۷۷، در گله B برابر ۰/٦۲، در گله C برابر ۰/٦۰ و در گله D برابر ۰/٤۲ بود. همچنین این آغازگر در ٥ گله بومی نیز مورد مطالعه قرار گرفت که به ترتیب بالاترین فراوانی آللی در جمعیت M برابر ۸٥ درصد، در جمعیت N برابر ٥۳ درصد، در جمعیت Q برابر ۸۷ درصد، در جمعیت R برابر ٦۲ درصد و در جمعیتT برابر ٥۸ درصد بود. این تجزیه در تمامی جمعیت‌ها با آغازگر $(GA)_9C$ نیز تکرار گردید که بالاترین فراوانی آلل یک در گله A برابر ۸٥ درصد، در گله B برابر ٦۷ درصد، در گله C برابر ۷۳ درصد و در گله D برابر٦۰ درصد به دست آمد. تجزیه تجزیه گله‌های بومی نیز نشان داد که در گله M بالاترین فراوانی آلل یک برابر ۷۸ درصد، در گله N برابر ۸٥ درصد، در گله Q برابر ۱۰۰ درصد، در گله R برابر ۱۰۰ درصد و در گله T برابر ۹۱ درصد است. بر اساس تجزیه کای اسکور برای نشانگر $(AG)_9C$ در جمعیت‌های هلشتاین ۳۰ جایگاه در عدم تعادل و ٥ جایگاه دیگر در تعادل هاردی وینبرگ بودند. این نتایج با تست جی اسکور کاملاً مطابقت داشت. این تجزیه در جمعیت‌های بومی بیانگر ۲۷ جایگاه در عدم تعادل و ۸ جایگاه در تعادل هاردی وینبرگ بود. برای نشانگر $(GA)_9C$ در جمعیت‌های هلشتاین ۱۱ جایگاه در عدم تعادل و تنها یک جایگاه در تعادل بود. در جمعیت‌های بومی در هر ٥ گله عدم تعادل هاردی واینبرگ مشاهده گردید و این نتایج با تست مربع جی مطابقت کامل داشت. عدم تعادل جایگاه-ها می‌تواند نشان دهنده حضور بعضی عوامل بر هم زننده تعادل باشد که دو مورد اصلی آنها یکی مهاجرت، خصوصاً در مورد نرهایی (اسپرم‌هایی) که از خارج گله وارد می‌شوند که یک جریان ژنی ایجاد می‌کنند و دیگری به احتمال زیاد انتخاب می‌باشد. از طرفی روش نمونه‌برداری هم می‌تواند در این عمل دخیل باشد. بیشترین و کمترین شاخص شانون (I)، میانگین تنوع ژنی با استفاده از آزمون براون، میانگین تعداد جایگاه‌های چند شکل، میانگین درصد چند شکلی و بیشترین و کمترین درصد چند شکلی برای نشانگرهای $(AG)_9C$ و $(GA)_9C$ در جمعیت‌های هلشتاین و بومی در جدول ۱ داده شده است. این نتایج بیانگر درصد بالای چند شکلی در تمامی جمعیت‌ها بود. تجزیه تنوع ژنتیکی نئی[10]، که برآوردی از متوسط تنوع ژنتیکی درون زیر جمعیت‌ها است نشان داد که سطح تنوع ژنتیکی در گله‌های هلشتاین تجزیه شده با نشانگر $(AG)_9C$ و $(GA)_9C$ به ترتیب برابر ۰/۲۴ و ۰/۱۹ و در گله‌های بومی تجزیه شده به ترتیب برابر ۰/٥۷ و ۰/٥٦ بود. درخت فیلوژنی نشانگرهای ISSR برای ۹ گله بومی و هلشتاین با استفاده از شاخص ژنتیکی نئی رسم گردید (شکل ۱). براساس خط برش مشاهده می‌شود که چهار گله غیر بومی A، B، C و D به‌صورت جداگانه گروه‌های مجزایی را می-سازند در صورتی که ٥ گله بومی همگی در یک گروه قرار می-گیرند. برخی از گله‌های مورد مطالعه دارای ویژگی‌های بسیار

[6] Squar-Chi
[7] Squar-G
[8] I=Shannon information Index
[9] Brown
[10] Nei

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-07-02]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1390.6.1.6.4]

مطلوبی بودند که از جمله مقاومت به بیماری، سازگاری محیطی و تغذیه‌ای، تولید زیاد و کیفیت بالای محصولات را می‌توان نام برد. استفاده از این خصوصیات در برنامه‌های اصلاحی بسیار مفید و کارا می‌باشد و هم بعنوان منبعی برای ژن‌های مقاومت و هم برای اصلاح نژاد به صورت تجاری مورد استفاده قرار می‌گیرد. در کل با توجه به شاخص‌های بدست آمده می‌توان نتیجه گرفت که تمامی جمعیت‌های مورد مطالعه دارای تنوع ژنتیکی بالایی بوده اما در جمعیت‌های بومی بیشتر از جمعیت‌های غیر بومی می‌باشد. این کاهش تنوع ژنتیکی غالباً با افزایش هم خونی و کاهش سازگاری تولید مثلی همراه است چون در جمعیت‌های بومی اکثراً از یک گاو نر برای چندین گله در طی چندسال استفاده می‌شود. بنابراین، علاوه بر پایین آمدن تعداد آلل موثر، میزان هتروزایگوسیتی نیز کاهش یافته که این امر به نوبه خود موجب کاهش تعداد زادآوری، تولیدات (شیر و گوشت) و باعث افزایش مرگ و میر در بین حیوانات جوان می‌گردد. اخیراً نشانگرهای ISSR به طور گسترده‌ای در مطالعات جمعیتی مورد استفاده قرار می‌گیرند و همان طور که بیان شد این مطالعه اولین گام در راستای استفاده از این نشانگرها برای بررسی چند شکلی جمعیت گاوهای بومی ایران بود. با توجه به اینکه برای کار با این نشانگرها نیازی به دانستن توالی ژنومی دام‌ها از قبل نیست و با توجه به تکرارپذیری بالای آنها و ارزان بودن و نیز سرعت بالای کار با آنها، پیشنهاد می‌شود که بیش از پیش استفاده گردند.



شکل ۱- درخت فیلوژنی نشانگرهای ISSR برای ۹ گله (بومی و هلشتاین) با استفاده از شاخص ژنتیکی نئی

جدول ۱- نتایج بعضی از شاخص‌های محاسبه شده در جمعیت‌های مورد مطالعه

نشانگر		شاخص شانون		میانگین تنوع ژنی با استفاده از آزمون براون	میانگین تعداد جایگاه‌های چند شکل	میانگین درصد چند شکلی	درصد چند شکلی	
		کمترین	بیشترین				کمترین	بیشترین
$(AG)_9C$	بومی	۰/۱۴۶ جمعیت M	۰/۲۸۰ جمعیت Q	۰/۵۷	۱۵/۶۰	۴۴/۶۵	۲۸/۷۵	۶۵/۷۱
	هلشتاین	۰/۱۶۸ جمعیت A	۰/۲۹۰ جمعیت B	۰/۲۸	۱۷/۷۵	۵۴/۲۹	۳۴/۲۹	۷۴/۲۹
$(GA)_9C$	بومی	۰/۱۹۸ جمعیت M	۰/۶۳۰ جمعیت R	۰/۳۵	۸/۴۰	۷۰/۰۱	۴۱/۶۷	۹۱/۷
	هلشتاین	۰/۲۲۰ جمعیت A	۰/۵۴۷ جمعیت D	۰/۱۵	۱۰/۲۵	۸۵/۴۲	۵۰	۱۰۰

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-07-02]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1390.6.1.6.4]

منابع

۱- آهنی آذری م، لازبنی ا ی و سولیموا گ ا (۱۳۸۶) تعیین میزان هتروزایگوسیتی در پانزده نژاد مختلف گاو با روش ISSR-PCR. مجموعه مقالات پنجمین همایش ملی بیوتکنولوژی جمهوری اسلامی ایران.

۲- آهنی آذری م، لازبنی ا ی و سولیموا گ ا (۱۳۸۶) مقایسه کمی و کیفی فراگمنت های ISSR-PCR در گاومیش های مغولی و پانزده نژاد گاو. مجموعه مقالات پنجمین همایش ملی بیوتکنولوژی جمهوری اسلامی ایران.

۳- ترکمن زهی آ، و بیرجندی س (۱۳۷٤) شناسایی و مطالعه مقدماتی گاو دشتیاری. .مرکز تحقیقات منابع طبیعی و امور دام استان سیستان بلوچستان.

٤- ضمیری م ج (۱۳۷٤) تولید مثل در گاو. انتشارات دانشگاه شیراز.

۵- قره یاضی ب (۱۳۷۵) کاربردنشانگرهای DNA در اصلاح نباتات. مجموعه مقالات چهارمین کنگره علوم زراعت و اصلاح نباتات ایران.

۶- محمود زاده ع، و هاشمی م (۱۳۷۰) بهداشت گاوهای شیرده. انتشارات دانشگاه صنعتی اصفهان.

۷- مرادی م ح، رستم زاده ج، رشیدی ا، کریمی ف و وهابی خ (۱۳۸۶) ارزیابی تنوع ژنتیکی تیپ های رنگی بز مرخز با استفاده از نشانگرهای بین ریزماهواره ای. مجموعه مقالات پنجمین همایش ملی بیوتکنولوژی جمهوری اسلامی ایران.

8. Geoffrey C (2006) Genetic diversity and food security. www.cigar.org/ipgri.

9. Glazko V I, Dyman T N, Tarasiuk S I, Dansercoer A, Mammens G, Coopman F, Bouquet Y, Burny A, Renaville R and Portetelle D (1998) Evaluation of genetic variability of 23 bovine microsatellite markers in four Beligian cattle breed. Animal Genetic, 29:161-167.

10. Gorodnaya A V and Glazko A V (2003) ISSR-PCR in Differentiation of cattle breed gene pools. Tsitologiya and Genetika, 1: 61-67.

11. Hansen M, Hallden C and Sall T (1998) Error rates and polymorphism frequencies for three RAPD protocols. Plant Molecular Biology Reproduction, 16: 139-146.

12. Jesse H L and Walker A J (2005) Genetic differentiation among geographic populations of Gonatocerus ashmeadi, the predominant egg parasitoid of the glassy-winged sharpshooter, Homalodisca coagulate. Journal of Insect Science, 5:2-11.

13. Jones C J, Edwards K J, Castaglione S, Winfield M O, Sale F, Van de Wiel C, Bredemeijer G, Buiatti M, Maestri E, Malcevshi A, Marmiroli N, Aert R, Volckaert G, Rueda J, Linacero R, Vazquez A and Karp A (1997) Reproducibility testing of RAPD, AFLP and SSR markers in plants by a network of European laboratories. Molecular Breed, 3:381-390.

14. Karp A, Kresovich S, Bhat K V, Ayada W G and Hodgkin T (1997) Molecular tools in plant genetic resources conservation: a guide to the technologies. IPGRI technical bulletin no 2. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy.

15. Kirk W P, Sheri B C, Shawn P B, Snake C J, Tera M B and Desmond R L (2003) Assessment of Genetic Diversity of Pawpaw (*Asimina triloba*) Cultivars with Intersimple Sequence Repeat Markers. Journal of the American Society for Horticultural Science, 128:521-525.

16. Lande R and Thampson R (1990) Efficincy of marker assisted selection in the improvement of quantitative traits. Genetics, 124: 743-756.

17. Meyer W, Michell T G, Freedman E Z and Vilgalys R (1993) Hybridization probes for conventional DNA fingerprinting used as single primers in polymerase chain reaction to distinguish strain of *Cryptococcus neoformans*. Journal of Clinical Biology, 31: 2274-2280.

18. Mohammadabadi M R, Kovalenko T A, Nasiri M R and Sulimova G E (2005) Inter Simple Sequnce Repeat (ISSR-PCR) for the identification of polymorphism in some native cattle breeds. Proceedings of 3rd Moscow international congress Biotechnology. Moscow, Russia, 14-18 March. 282.

19. Muthusamy V, Gurunathan S, Saladi S V, Bagavathi K C M and Govindaswamy S (2003) Genomic Instability and Tumor-specific Alterations in Oral Squamous Cell Carcinomas Assessed by Inter- (Simple Sequence Repeat) PCR. Clinical Cancer Research, 9: 1057–1062.

20. Nagaoka T and Ogihara Y (1997) Applicability of inter-simple sequence repeat polymorphisms in wheat for use as DNA markers in comparison to RFLP and RAPD markers. Theoretical Applied Genetics, 94: 597-602.

21. Nagaraju J and Goldsmith M R (2002) Silkworm genomics – progress and prospects. Current Science, 83: 415-425.

22. Nagaraju J, Kathirvel M, Subbaiah E V, Muthulakshmi M and Kumar L D (2002) FISSR-PCR: a simple and sensitive assay for highthroughput genotyping and genetic mapping. Molecular and Cellular Probes, 16: 67–72.

23. Nageswara S R, Surendra B N and Saratchandra B (2005) Characterization and phylogenetic relationships among microsporidia infecting silkworm, Bombyx mori, using inter simple sequence repeat (ISSR) and small subunit rRNA (SSU-rRNA) sequence analysis. Genome, 48: 355-366.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-07-02]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1390.6.1.6.4]

24. Paterson A, Lander H, Hewitt E S, Peterson J D, Licoln S and Tanksley S E (1988) Resolution of quantitative traits into Mendelian Factors using a complete linkage map of restrection Fragment length polymorphisms. Nature (London), 335:721-726.
25. Smith J S C and Smith O S (1992) Fingerprinting crop varieties. Advanced Agronomy, 48: 85-140.
26. Strachan T A and Tead P (1996) Human molecular genetics. BIOS Scientific Publishers Ltd., 9 Newtec Place, Magdalen Road, Oxford OX4 1RE, UK.
27. Tang J C O, King Y L, Simon L, Wong J and Srivastava G (2001) Detection of genetic alterations in Esophageal Squamous Cell Carcinomas and Adjacent Normal Epithelia by comparative DNA fingerprinting using Inter-Simple Sequence Repeat PCR. Clinical Cancer Research, 7: 1539–1545.
28. Tautz D (1989) Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. Nucleic Acids Research, 17(16): 6463-6471.
29. Triapitsyna N V and Glazko V I (2005) Polymorphism of DNA. Fragments Flanked by microsattlite loci (ISSR-PCR) in Cattle reprocuced under low-does irradiation condition. Tsitology and Genetics, 39: 41-50.
30. Tsumura Y, Ohba K and Strauss S H (1996) Diversity and inheritance of inter-simple sequence repeat polymorphisms in Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii*) and sugi (*Cryptomeria japonica*). Theoretical Applied Genetics, 92: 40-45.
31. Virk P S, Zhu J, Newbury H J, Bryan G J, Jackson M T and Ford-Lloyd B V (2000) Effectiveness of different classes of molecular markers for classifying and revealing variations in rice (*Oryza sativa*) germplasm. Euphytica, 112: 275-284.
32. Vos P, Hogers R, Bleeker M, Reijans M, Van der Lee T, Hornes M, Frijters A, Pot J, Peleman J, Kuiper M and Zabeau M (1995) AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. Nucleic Acids Research, 23: 4407-4414.
33. Williams J G K, Kubelik A R, Livak K J, Rafalski J A and Tingey S V (1990) DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acids Research, 18: 6231-6235.
34. Yeh F C, Yang R and Boyle T (1999) PopGene version 1.31, Microsoft windows-based free ware for population genetic analysis, University of Alberta. Edmonton, AB, Canada.
35. Zietkiewicz E, Rafalski A and Labuda D (1994) Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. Genomics, 20: 176-183.
Zubets M V, Burkat V P, Sivolap I M, Kuznetsov V E and Lovenchuk I N (2001) Molecular and genetic polymorphism in three cattle breeds. Tsitology and Genetics, 35: 3-11.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-07-02]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1390.6.1.6.4]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1390.6.1.6.4]
[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-07-02]