بررسی تنوع ژنتیکی شترهای بومی شمال استان کرمان با استفاده از آماره‌های F

محمدرضا محمدآبادی[۱*]، مهرداد قاسمی میمندی[۲]و مهدیه منتظری[۳و۴]

۱ و ۲ و ۳ – به ترتیب استاد، فارغ التحصیل کارشناسی ارشد و دانشجوی دکتری اصلاح نژاد دام دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان ۴- انجمن پژوهشگران جوان، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

*نویسنده مسئول:mrm@uk.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۴/۳/۸ تاریخ پذیرش: ۹۵/۵/۱۴

چکیده

تنوع زیستی یکی از عوامل مهم برای اصلاح‌گران حیوانات اهلی جهت حفظ این ذخایر ژنتیکی محسوب می‌شود. استفاده از نشانگرهای مولکولی در سال‌های اخیر جهت تعیین تنوع ژنتیکی بین جمعیت‌ها کاربرد گسترده‌ای یافته است. در این تحقیق به بررسی تنوع ژنتیکی با استفاده از آماره‌های F در جمعیت شترهای یک کوهانه شمال استان کرمان، با استفاده از ۸ جفت نشانگر ریزماهواره‌ای اتوزومی (YWLL08، VOLP03، VOLP08، YWLL38، CVR01، YWLL44، VOLP32 و VOLP67) پرداخته شد. از سه شهرستان شهربابک، رفسنجان و راور تعداد ۸۱ نمونه خون جمع‌آوری گردید. کل DNA نمونه‌ها با استفاده از روش نمکی بهینه شده استخراج و برای تعیین ژنوتیپ به‌کار گرفته شد. نتایج نشان داد که جایگاه YWLL08 با ۲۱ آلل و جایگاه VOLP32 با ۴ آلل به ترتیب بیشترین و کمترین تعداد آلل واقعی و نیز این جایگاه‌ها با ۱۴/۹ و ۳/۱۱ آلل به ترتیب بیشترین و کمترین تعداد آلل مؤثر را نشان دادند. مقادیر شاخص تثبیت (F_{ST}) برای نشانگرهای YWLL08، VOLP03، VOLP08، YWLL38، CVR01، YWLL44، VOLP32 و VOLP67 به ترتیب ۰/۰۳۶، ۰/۰۸۸، ۰/۰۸۰، ۰/۰۴۵، ۰/۰۵۴، ۰/۰۶۹، ۰/۰۱۴ و ۰/۰۶۰ بدست آمد که نشان دهنده تمایز پایین بین جمعیت‌ها می‌باشد. بیشترین تعداد مهاجرت در جمعیت (NM)، بین جمعیت‌های شهربابک و رفسنجان ۲ (۱۵/۸۳) و کمترین آن بین جمعیت‌های شمشیرآباد و صحرای جهاد (۶/۴۹)، می‌باشد. در مجموع می‌توان نتیجه گرفت که جمعیت شترهای یک کوهانه شمال استان کرمان از تنوع ژنتیکی قابل قبولی برخوردار هستند. هم‌چنین نشانگرهای ریزماهواره مورد مطالعه در این جمعیت‌ها نیز از چند شکلی نسبتا بالایی برخوردار بوده و از آنها می‌توان در مطالعات ژنتیکی استفاده نمود.

کلمات کلیدی: تمایز ژنتیکی- نشانگر ریزماهواره- کرمان- شتر یک کوهانه- آماره F

مقدمه

با توجه به شرایط حاکم بر جغرافیای ایران بیش از ۲۰ درصد مساحت کشور را بیابان‌ها تشکیل می-دهد و با توجه به اهمیت شتر در مناطق خشک و بیابانی و عدم امکان پرورش دام‌های دیگر در این مناطق، شتر می‌تواند مهمترین دام پرورشی در بخش‌های روستایی و ایجاد اشتغال برای مناطق مذکور بوده و در تامین مواد پروتئین حیوانی آنها سهم داشته باشد (هدایت ایوریق و مقصودی ۱۳۹۳). از طرفی پرورش صنعتی شتر امکان اجرای یک برنامه انتخاب برای افزایش بهره‌وری، نیاز به تنظیم و برنامه‌ریزی یک سیستم رکوردبرداری و هم‌چنین ایجاد یک سیستم تولید و بازاریابی مدون را امکان‌پذیر می‌سازد (نوبری و همکاران ۱۳۹۳). در نتیجه می‌توان این‌طور اظهار نمود که کشورمان با دارا بودن انواع نژادهای شتر شامل گوشتی، شیری و جمازی، دارای انعطاف پذیری زیادی در تعیین اهداف اقتصادی و سودآوری می‌باشد، پس وجود نگرانی‌های موجود برای انقراض این حیوان و مورد اهمیت قرار دادن این دام مهم بایستی مورد توجه قرار گیرد. پیشرفت در سیستم‌های حمل و نقل و مکانیزه شدن آن، نه تنها منجر به یکنواختی و کنترل جدی محیط‌های پرورشی شد، بلکه توجه به دام‌های مورد استفاده در سیستم حمل و نقل یعنی اسب و شتر نیز به شدت کاهش یافت. نتیجه همه این پیشرفت‌ها در جنبه‌های گوناگون، جایگزینی نژادهای پر تولید به جای نژادهای بومی و حذف تقریبا کامل دام از سیستم حمل و نقل در سراسر جهان بود. این پیشرفت‌ها نگرانی‌های روز افزونی را در خصوص فرسایش منابع ژنتیکی پدید آورده است (فائو ۲۰۰۷). به دلیل افزایش استاندارهای تولیدی و شرایط موجود، یکنواختی ژنتیکی در نژادهای دامی بیشتر به کار گرفته می-شود و این مسئله باعث کاهش تنوع ژنتیکی در دام‌های اصلاح شده، گردیده است. موفقیت برنامه-های اصلاح نژادی بستگی به میزان تنوع موجود در جمعیت دارد. کاهش تنوع، به دلیل افزایش همخونی بسیاری از صفات تولید مثلی را تحت تاثیر قرار می‌دهد و در نتیجه قدرت انتخاب ژنتیکی را محدود می‌سازد (گلاسکو ۲۰۰۳). شناخت ذخایر ژنتیکی می‌تواند مبنای برای استراتژی‌های اصلاح نژادی و استفاده بهینه از منابع موجود در جهت تولید بیشتر گردد. لذا، به نظر می‌رسد، با توجه به تغییر اهداف اصلاحی، وجود تنوع ژنتیکی باعث افزایش پیشرفت ژنتیکی و تطابق‌پذیری سریع‌تر خواهد شد (فرانخام ۲۰۰۸، بارکر ۱۹۹۴). از طرفی تنوع ژنتیکی یکی از عوامل مهم برای اصلاحگران دام است و کمبود یا فقدان این تنوع قدرت انتخاب‌های آینده را کاهش می دهد، بنابراین آگاهی از تنوع ژنتیکی و مدیریت منابع ژنتیکی به عنوان اجزای مهم برنامه‌های اصلاح دام تلقی می‌شوند (جک و فلیکس ۱۹۹۶). در سال‌های اخیر نشانگرهای ژنتیکی به ابزاری قابل اعتماد و مناسب جهت مطالعات ژنتیکی و تنوع جمعیت‌ها تبدیل شده‌اند. ریزماهواره‌ها به عنوان یکی از بهترین نشانگرها جهت تعیین تنوع ژنتیکی گونه‌های حیوانی معرفی شده است. چون این نشانگرها در سراسر ژنوم پراکنده‌اند و از تنوع بالایی نسبت به نشانگرهای SNP برخوردارند، به عنوان ابزاری مناسب جهت بررسی ساختار و تنوع

ژنتیکی جمعیت‌ها، تست انتساب، نقشه‌یابی ژن‌های موثر بر بیماری‌ها و یا صفات کیفی و کمی، تست والدینی و همچنین ویژگی تکاملی گونه‌های دامی از جمله شتر مفید می‌باشند (واین و مورین ۲۰۰۴، منتظری و همکاران ۱۳۹۲). از این‌رو ضرورت شناسایی تنوع موجود در جمعیت‌های شترهای بومی کشور آشکار بوده اما تاکنون مطالعات محدودی در این مورد صورت گرفته است (شاه-کرمی و همکاران ۱۳۹۱، بصیری و همکاران ۲۰۱۳). پروژه‌های متعددی در دام‌های اهلی خصوصا شتر با استفاده از نشانگر ریزماهواره صورت گرفته است، که برخی از این مطالعات از آماره‌های F برای بررسی تمایز ژنتیکی جمعیت‌ها استفاده نموده‌اند. به عنوان مثال، در مطالعه صورت گرفته بر روی جمعیت‌های شتر یک کوهانه با استفاده از ۱۳ جایگاه ریزماهواره، تمایز ژنتیکی توسط آماره F_{ST} در دامنه‌ی ۰/۰۹۵– ۰/۱۱۶ مشاهده گردید، محققین به این نتیجه رسیدند که تفاوت قابل توجهی بین جمعیت‌های بررسی شده وجود دارد (شولز و همکاران ۲۰۱۰). در مطالعه‌ای دیگر از نشانگرهای ریزماهواره‌ای به منظور بررسی هتروزیگوسیتی شش جمعیت (۱۴۰ نفر) شتر دوکوهان چین و مغولستان استفاده گردید. شاخص تثبیت (F_{ST}) داخل هر کشور، بین دو جمعیت مغولستان و بین چهار جمعیت چینی معنی‌دار نبود (جیانلین و همکاران ۲۰۰۴). نژادهای دام و طیور بومی در هر کشور به عنوان سرمایه ملی و محصول کلیدی مطرح هستند و حفظ و تکثیر این نژادها از ارزش و اهمیت زیادی برخوردار است. جمعیت شترهای کشور به عنوان یکی از نژادهای با ارزش دامی در دهه‌های اخیر به شدت کاهش یافته، در حالی‌که هیچ‌گونه اطلاعاتی در مورد تنوع ژنتیکی این دام وجود ندارد. تحقیق حاضر به دنبال آن است تا تمایز بین جمعیتی موجود در بخشی از شترهای یک کوهانه شمال استان کرمان را به کمک نشانگرهای ریزماهواره بررسی نماید.

مواد و روش ها

در مطالعه حاضر، از سیاهرگ وداج ۸۱ نفر از شترهای یک کوهانه شمال استان کرمان خون گیری صورت گرفت. نمونه‌های خون به صورت کاملا تصادفی از ۵ ناحیه و سه شهرستان جمع-آوری گردید (جدول ۱). در نمونه‌گیری به معیارهایی از قبیل پراکندگی جغرافیایی و تنوع بر اساس ظاهر افراد دقت شد. استخراج DNA از ۵۰۰ میلی لیتر خون با استفاده از روش نمکی انجام گرفت (میلر و همکاران ۱۹۸۸). در این تحقیق جهت ارزیابی DNA استخراج شده از روش الکتروفورز بر روی ژل آگارز با غلظت ۰/۸درصد استفاده شد. در این مطالعه از هشت جفت آغازگر اختصاصی که در مطالعات قبلی برای بررسی تنوع در شتر استفاده شده بودند (ابرکو و همکاران ۱۹۹۸، ساس و همکاران ۲۰۰۰، لانگ و همکاران ۱۹۹۶)، استفاده گردید (جدول ۲). از جمله معیارهایی که در انتخاب جایگاه‌ها در نظر گرفته شد، دارا بودن چندشکلی و هتروزیگوسیتی بالا است. سنتز آغازگرها توسط شرکت تکاپو زیست صورت پذیرفت. سپس واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در طی ۳۵ سیکل با استفاده از دستگاه ترموسایکلر انجام شد که برای هر جایگاه شامل

DNA، ۱/۵ میکرولیتر بافر PCR (۱x)، ۰/۳۷ میکرولیتر $MgCl_2$، ۰/۳ میکرولیتر dNTP، ۱ میکرولیتر از هر آغازگر و ۰/۱۶ میکرولیتر آنزیم Taq پلیمراز بود که در نهایت حجم نهایی واکنش با استفاده از آب دو بار تقطیر به ۲۵ میکرولیتر رسانیده شد.

جدول ۱- تعداد نمونه‌های استفاده شده در جمعیت‌های مورد بررسی

Table 1. Number of used samples in the studied populations

شهرستان City	راور Ravar	راور Ravar	شهربابک Shahare babak	رفسنجان 1 Rafsanjan 1	رفسنجان 2 Rafsanjan 2
ناحیه Region	صحرای جهاد Sahraye Jahad	شمشیرآباد Shamshirabad	رباط Robat	شمس آباد Shamsabad	شمس آباد Shamsabad
تعداد نمونه Number of samples	7	14	21	11	28

صحت انجام PCR با بررسی وجود محصولات تکثیر در ژل آگارز یک درصد صورت گرفت. در مرحله بعد، الکتروفورز عمودی ژل آکریلامید ۸ درصد واسرشته‌ساز با ولتاژ ۲۰۰ تا ۲۵۰ به مدت ۶ ساعت انجام شد و رنگ‌آمیزی ژل‌ها به روش نیترات نقره صورت گرفت. برای بدست آوردن اندازه آلل‌ها از نرم‌افزار فتوشاپ و جهت تعیین انواع آلل‌ها و ژنوتیپ‌ها از نشانگر اندازه و نرم‌افزار Excel استفاده شد.

جدول ۲- مشخصات آغازگرهای استفاده شده

Table 2. Specifications of used primers

توالی آغازگر برگشت (۳َ – ۵َ) Reverse	توالی آغازگر رفت (۳َ – ۵َ) Forward	آغازگر Pimer
CCATGGCATTGTGTTGAAGAC	ATCAAGTTTGAGGTGCTTTCC	YWLL08
CGACAGCAAGGCACAGGA	AGACGGTTGGGAAGGTGGTA	VOLP03
TCGCCAGTGACCTTATTTAGA	CCATTCACCCCATCTCTC	VOLP08
CCTCTCACTCTTGTTCTCCTC	GGCCTAAATCCTACTAGAC	YWLL38
CAGGCAGATATCCATTGAA	GAAGAGGTTGGGGCACTAC	CVRL01
CAGCGAGCACCTGAAAGAA	GTGATCGGAATGGCTTGAAA	VOLP32
GAGAACACAGGCTGGTGAATA	CTCAACAATGCTAGACCTTGG	YWLL44
TGGACCTAAAAGAGTGGAG	TTAGAGGGTCTATCCAGTTTC	VOLP67

به منظور تعیین معیارهایی همچون هتروزیگوسیتی، تعداد آلل واقعی، تعداد آلل موثر، محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC[1]) و شاخص شانون از نرم افزار PopGene32 (یه و همکاران ۱۹۹۹) استفاده گردید. از آنجایی‌که هتروزیگوت‌ها آلل‌های متفاوتی دارند، فراوانی آنها مهم بوده و نشان‌دهنده وجود تنوع می‌باشند. میزان هتروزیگوسیتی معمولترین معیار تنوع ژنتیکی در یک جمعیت می‌باشد که در تحقیق حاضر به دو صورت هتروزیگوسیتی مشاهده شده و هتروزیگوسیتی مورد انتظار (نئی ۱۹۷۲) گزارش شده است. یک جمعیت در هر مرتبه‌ای که تقسیم شود، هتروزیگوسیتی متفاوتی را نشان خواهد داد. میزان تفاوت ژنی تحت تاثیر معیارهایی از قبیل تعداد مهاجرت در جمعیت‌ها (NM)، ضریب هم-خونی در افراد نسبت به جمعیت (F_{IS})، ضریب هم‌خونی در افراد نسبت به کل (F_{IT}) و ضریب هم‌خونی در زیرجمعیت‌ها (F_{ST}) قرار دارد. F_{IT} تفاوت میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده زیر-جمعیت‌ها را نسبت به میانگین هتروزیگوسیتی مورد انتظار کل جمعیت می‌سنجد، ولی F_{IS} تفاوت میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده هر زیر جمعیت را نسبت به میانگین هتروزیگوسیتی مورد انتظار همان زیرجمعیت می‌سنجد (امین افشار ۱۹۹۷). روابط ۱، ۲ و ۳ به ترتیب جهت برآورد F_{IS}، F_{IT} و F_{ST} استفاده شدند (هارت و کلارک ۱۹۸۹).

رابطه ۱: $F_{IS} = (\bar{H}_e - \bar{H}_o)/\bar{H}_e$

رابطه ۲: $F_{IT} = (H_T - \bar{H}_o)/H_T$

رابطه ۳: $F_{ST} = (H_T - \bar{H}_e)/H_T$

همانطور که در رابطه ۴ ملاحظه می‌شود معیار جریان ژنی (سلاتکین و بارتون ۱۹۸۹)، تحت تاثیر مقدار F_{ST} یک جایگاه یا یک جمعیت قرار دارد.

رابطه ۴: $NM = 0/25(1 - F_{st})/F_{st}$

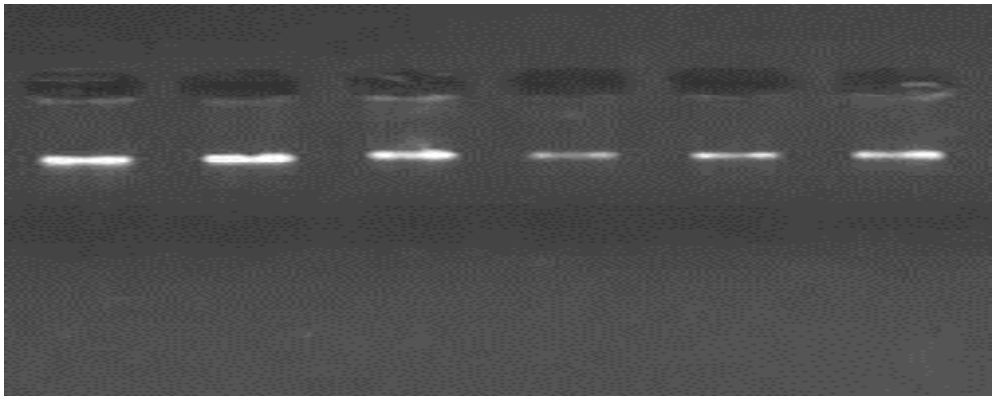
در فرمول‌های بالا، $\bar{H}_e$، $\bar{H}_o$ و H_T به ترتیب متوسط هتروزیگوسیتی مورد انتظار، مشاهده شده و متوسط کل هتروزیگوسیتی مورد انتظار جمعیت-ها می‌باشد. در این مطالعه، مقادیر فوق با استفاده از نرم افزار PopGene32 و GenAlex (پیکال و سموس ۲۰۰۶) بدست آمد.

نتایج و بحث

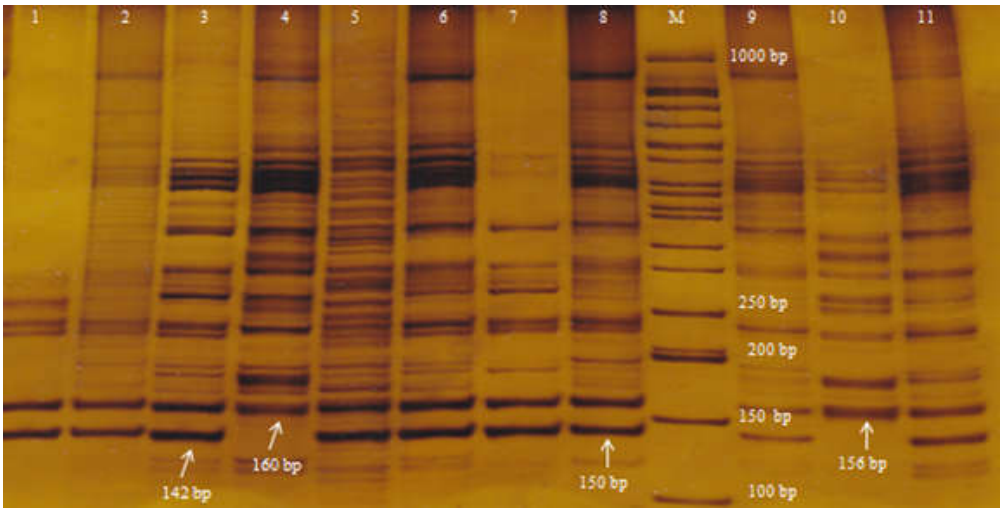
کیفیت DNA از شرایط مطلوبی برای انجام PCR برخوردار بود و هیچ گونه آلودگی مشاهده نشد (شکل ۱). نتایج الکتروفورز عمودی نیز نشان داد که در مجموع تمامی نشانگرهای ریز ماهواره مورد استفاده در این تحقیق از چند شکلی بالایی برخوردار بودند. در این تحقیق جایگاه VOLP03 تعداد ۱۰ آلل با دامنه آللی بین ۲۰۲-۱۴۲ جفت باز نشان داد (شکل ۲). در بررسی صورت گرفته بر روی این جایگاه اندازه‌ی آلل ۲۰۲ جفت باز فقط در جمعیت شترهای شهرستان شهربابک مشاهده گردید. در نتیجه این احتمال وجود دارد که این آلل را بتوان برای بررسی ساختار ژنتیکی، ایجاد شجره و شناسایی افراد این جمعیت استفاده نمود. هم‌چنین بدلیل اینکه وضوح باندهای اصلی در جایگاه VOLP03 بارز است اشتباه آلل خوانی در آن به میزان قابل توجهی کاهش یافته است. لذا استفاده از این جایگاه به عنوان نشانگری کارآمد در

[1] Polymorphism Information Content

سایر پروژه‌های تحقیقاتی ژنومی برای شترهای بومی داخل کشور پیشنهاد می‌شود.



شکل ۱، چند نمونه از DNA استخراج شده شترها روی ژل آگارز
Figure 1, Some samples of extracted DNA from camels on agarose gel



شکل ۲، نمونه‌ای از نتایج تکثیر جایگاه VOLP03 در جمعیت رفسنجان ۲
Figure 2, Some amplified samples of the VOLP03 locus in the Rafsanjan 2 population

با توجه به نتایج جدول ۳، دامنه تعداد آلل از ۴ (جایگاه VOLP32) تا ۲۱ (جایگاه YWLL08) متنوع مشاهده شد. در مطالعه‌ی صورت گرفته بر روی شترهای هند و جنوب آفریقا با ۱۲ جایگاه ریزماهواره، تعداد آلل را از ۲ (VOLP03) تا ۲۵ (YWLL08) گزارش نمودند (بنرجی و همکاران ۲۰۱۲). دو جایگاه فوق (VOLP32 و YWLL08) با ۱۴/۹ و ۳/۱۱ به ترتیب بیشترین و کمترین تعداد آلل مؤثر را نیز نشان دادند. نزدیک بودن مقادیر تعداد آلل مؤثر به تعداد آلل واقعی را می‌توان به انحراف معیار کم بین فراوانی آلل‌های مختلف در این جایگاه‌ها نسبت داد. در مطالعه حاضر چهار جایگاه (VOLP08، YWLL08، YWLL44 و

VOLP67)، در همه جمعیت‌ها چند شکلی بالایی نشان دادند، بنابراین می‌توان گفت که این بومی شمال استان کرمان مناسب‌تر می‌باشند. بعلاوه، مطالعه شاخص شانون، معیار PIC و هتروزیگوسیتی نیز نشان داد که جایگاه‌های YWLL08 و VOLP32 بیشترین و کمترین تنوع را دارا می‌باشند. یکی از معیارهای انتخاب جایگاه‌ها، محتوای اطلاعات چندشکلی می‌باشد. جایگاه‌های استفاده شده در این تحقیق دارای جایگاه‌ها نسبت به بقیه جایگاه‌های مورد بررسی برای تشخیص تست والدینی در جمعیت شترهای PIC بالایی بودند (میانگین ۰/۸۴۳). PIC بالا نشان از مناسب بودن میزان تنوع و تغییر پذیری بالا در جمعیت‌های مورد مطالعه است و نشان دهنده چند شکلی بالای نشانگرها نیز می‌باشد. مجموعا می‌توان پیش بینی نمود که استفاده از این جایگاه‌ها احتمال دستیابی به چندشکلی را در مطالعات بعدی افزایش می‌دهد.

جدول ۳- آماره‌های تعیین میزان چندشکلی برای جایگاه‌های انتخاب شده در جمعیت‌های مورد مطالعه

Table 3. Polymorphism determining statistics for selected sites in the studied populations

جایگاه Position	N_a*	N_e**	I***	PIC&	Exp Het$	Obs Het$$
VOLP08	10	8.85	2.23	0.898	0.892	0.937
CVR01	5	4.35	1.52	0.780	0.775	0.962
YWLL38	7	5.07	1.75	0.819	0.807	0.437
VOLP03	10	8.31	2.17	0.980	0.885	0.974
YWLL08	21	14.9	2.82	0.944	0.939	0.975
YWLL44	10	7.95	2.17	0885	0.881	1.00
VOLP67	11	8.13	2.21	0.887	0.883	1.00
VOLP32	4	3.11	1.24	0.687	0.683	1.00
میانگین Mean	9.75	7.59	2.01	0.843	0.843	0.910
انحراف معیار Standard deviation	5.23	3.66	0.492	0.077	0.082	0.192

* تعداد آلل واقعی، **تعداد آلل موثر، ***شاخص اطلاعاتی شانون، &محتوای اطلاعات چندشکلی $هتروزیگوسیتی مورد انتظار و $$هتروزیگوسیتی مشاهده شده

هتروزیگوسیتی و تعداد آلل‌ها یکی از پارامترهای مهم تنوع ژنتیکی جمعیت‌ها از لحاظ رو به رو شدن با تغییرات محیطی می‌باشند (فرانخام ۲۰۰۸). هم‌چنین مقادیر هتروزیگوسیتی به همراه متوسط آلل مؤثر، حالت و چگونگی تنوع ژنتیکی یک جمعیت را مشخص می‌کند که نشان دهنده تنوع قابل قبول این جایگاه‌ها در جمعیت‌های مورد بررسی است. یکی از دلایل این تنوع، سازگاری جمعیت‌های بررسی شده به شرایط محیطی استان کرمان می‌باشد. مقادیر هتروزیگوسیتی مشاهده شده در تمامی جایگاه‌ها به جزء جایگاه VOLP08 در جمعیت صحرای جهاد، جایگاه YWLL38 در همه جمعیت‌ها به جزء رفسنجان ۱، جایگاه VOLP03 در جمعیت شمشیرآباد و جایگاه YWLL08 در جمعیت رفسنجان ۱ از مقادیر هتروزیگوسیتی مورد انتظار بیشتر می‌باشد. اشتباه در خواندن آلل‌ها، انحراف ژنتیکی تصادفی (عامل تغییر فراوانی آللی در نسل‌های مختلف) و

خطای PCR می‌تواند از علل ایجاد این افزایش باشد. انحراف ژنتیکی تصادفی ممکن به وسیله تحقیق شرایط PCR برای جایگاه‌های ژنی مورد مطالعه بهینه سازی شده بود، به نظر انحراف ژنتیکی تصادفی می‌تواند یکی از عوامل اصلی توجیه کننده افزایش هتروزیگوسیتی در این جایگاه‌ها باشد. تخمین معیارهای F_{ST} به همراه F_{IT}، F_{IS} و NM (جریان ژنی) در جدول ۴ نشان داده شده است. با وجود اینکه این مقادیر به تعادل هاردی-واینبرگ برمی‌گردند، اما بازتابی از هتروزیگوسیتی نیز می‌باشند (ویر و سوکرهام ۱۹۸۴). آماره F_{IS} نشان دهنده کاهش هتروزیگوسیتی فردی به علت آمیزش‌های غیر تصادفی داخل یک زیر جمعیت یا ضریب هم خونی است که می‌تواند مقادیر بین ۱- (همه‌ی افراد هتروزیگوت) تا ۱+ (تمام افراد هموزیگوت) را شامل گردد. هم‌چنین این شاخص انعکاس دهنده سیستم آمیزشی (تصادفی و غیر تصادفی) در جمعیت می‌باشد. مقدار F_{IS} در جایگاه‌های مورد بررسی از ۰/۵۰۷- (جایگاه VOLP32) تا ۰/۴۸۵ (جایگاه YWLL38) تخمین زده شد. در نتیجه با توجه به نتایج ذکر شده در جدول ۴، جایگاه‌های مورد بررسی با میانگین F_{IS}، ۰/۱۳۹- تنوع بالایی نشان دادند. با توجه به گزارشات رایت (رایت ۱۹۷۸)، اگر شاخص تثبیت (F_{ST}) در محدوده ۰/۰۵-۰ باشد تمایز ژنتیکی کم، ۰/۱۵-۰/۰۵ تمایز ژنتیکی متوسط، ۰/۲۵-۰/۱۵ تمایز ژنتیکی زیاد و اگر بالاتر ۰/۲۵ باشد، تمایز ژنتیکی بسیار زیاد می باشد.

مشارکت متفاوت والدین در زمان تکثیر ایجاد شود (لی و همکاران ۲۰۰۹). با توجه به این‌که در این مقادیر شاخص تثبیت برای نشانگرهای YWLL08، VOLP03، VOLP08، YWLL38، CVR01، YWLL44، VOLP32و VOLP67 به ترتیب ۰/۰۳۶، ۰/۰۸۸، ۰/۰۸۰، ۰/۰۴۵، ۰/۰۵۴، ۰/۰۶۹، ۰/۰۱۴ و ۰/۰۶۰ بدست آمد که نشان دهنده تمایز پایین بین جمعیت‌ها می‌باشد. ارزش کل جایگاه‌ها تقریباً ۵ درصد از کل تنوع ژنتیکی را نشان می‌دهد. مقدار بدست آمده شاخص تثبیت در تحقیق حاضر برای پنج جمعیت شترهای شمال استان کرمان ۰/۰۵۷ می‌باشد که نشان دهنده سطوح متوسط تمایز بین پنج جمعیت مورد مطالعه است. در مطالعه‌ای بر روی چهار نژاد شتر هندی (جی سامری، می واری، کاتچی و بی کانری) میانگین میزان شاخص تثبیت و هم خونی را به ترتیب ۰/۰۸ و ۰/۱۵ گزارش نمودند (ویژ و همکاران ۲۰۰۷). در برخی مطالعات نرخ بالای جهش و افزایش تنوع درون جمعیت‌ها را علت کاهش تمایز بین آنها می‌دانند (فوماگالی و همکاران ۲۰۰۲). هم‌چنین، کم بودن تمایز بین جمعیت‌ها می‌تواند به علت وجود جریان ژنی بالا در بین جمعیت‌ها باشد (پینرا و همکاران ۲۰۰۷). احتمالا منفی بودن شاخص هم خونی (۰/۱۳۹-)، نشان دهنده زیادتر بودن هتروزیگوسیتی مشاهده شده نسبت به هتروزیگوسیتی مورد انتظار در برخی جایگاه‌ها و نشان از وجود تنوع کافی در داخل جمعیت‌های مورد بررسی است.

جدول ۴- مقادیر ضرایب تفاوت ژنی در جایگاه‌های مورد بررسی
Table 4. The amount of gene difference coefficients in the studied sites

جایگاه Position	F_{ST}	F_{IS}	F_{IT}	*NM
VOLP08	0.080	-0.099	-0.010	2.48
CVR01	0.054	-0.317	-0.246	4.34
YWLL38	0.045	0.485	0.509	5.21
VOLP03	0.088	-0.231	-0.105	2.56
YWLL08	0.036	-0.084	-0.085	6.77
YWLL44	0.069	-0.235	-0.145	3.33
VOLP67	0.060	-0.202	-0.129	3.90
VOLP32	0.014	-0.507	-0.485	16.8
میانگین	0.057	-0.139	-0.074	4.09

* تعداد مهاجرت در جمعیت‌ها

دامنه F_{ST} که معیاری از فاصله ژنتیکی می‌باشد، از ۰/۰۱۶ بین جمعیت‌های شهربابک و رفسنجان ۲ تا ۰/۰۳۷ بین دو جمعیت راور (شمشیرآباد و صحرای جهاد) مشاهده شد (جدول ۵). F_{ST} یک روش ارزیابی تفرق جمعیتی بر پایه داده‌های چند شکل ژنتیکی می‌باشد و ارزش‌های حاصل از آن بین ۰ (بدون تفاوت) تا ۱ (تفاوت کامل) متغیر می‌باشد و با توجه به اینکه یک روش برآوردگر نااریب است، احتمال بدست آوردن ارزش‌های منفی نیز وجود دارد (آکی ۲۰۰۹). محاسبه F_{ST}های دو به دوی جمعیت‌ها حاکی از آن است که هم‌خونی بین جمعیت‌ها بالا می‌باشد. در نتیجه این امکان وجود دارد که در نسل‌های آینده بدلیل تثبیت آلل‌ها در این جمعیت‌ها، هم‌خونی که باعث افزایش بیماری‌های ژنتیکی نامطلوب می‌شود، افزایش یابد. جریان ژنی که نشان دهنده تغییرات ژن بین جمعیت‌ها می‌باشد، باعث تغییر فراوانی در داخل و بین جمعیت‌ها می‌شود. طبق نتایج جدول ۵، در این بررسی بیشترین تعداد مهاجرت در جمعیت (NM)، بین جمعیت‌های شهربابک و رفسنجان ۲ (۱۵/۸) و کمترین آن بین جمعیت‌های شمشیرآباد و صحرای جهاد (۶/۴۹)، می‌باشد. از آنجا که جریان ژنی به صورت جابجایی و انتقال آلل‌های ژن از یک جمعیت به جمعیت دیگر تعریف می‌شود، لذا مهاجرت به داخل و یا خارج از جمعیت، می‌تواند نقش کلیدی در تغییر فراوانی آلل‌ها در آن جمعیت داشته باشد. البته می‌توان مهاجرت را به عنوان عاملی در شناساندن شکل‌های متنوع ژن به مخزن ژنی تثبیت شده‌ی یک جمعیت نیز دانست.

جدول ۵- مقادیر F_{ST} و NM در جمعیت‌های مورد بررسی
Table 5. FST and NM values in the studied populations

جمعیت population	صحرای جهاد Sahrae Jahad	شمشیرآباد Shamshirabad	شهربابک Shahre babak	رفسنجان ۱ Rafsanjan 1	رفسنجان ۲ Rafsanjan 2
صحرای جهاد Sahraye Jahad	*	6.49	8.49	7.11	11.4
شمشیرآباد Shamshirabad	0.037	*	6.85	8.48	7.44
شهربابک Shahre babak	0.029	0.035	*	11.3	15.8
رفسنجان ۱ Rafsanjan 1	0.034	0.029	0.022	*	10.7
رفسنجان ۲ Rafsanjan 2	0.021	0.032	0.016	0.023	*

مقادیر بالای قطر **NM** و پایین قطر F_{ST}

چندین عامل در میزان جریان ژنی بین جمعیت‌های گوناگون تاثیر گذارند که تحرک یکی از اساسی‌ترین این عوامل می‌باشد. هر اندازه توان حرکت یک جاندار بیشتر باشد، به همان اندازه نسبت توان مهاجرتش نیز افزایش خواهد یافت (مالت ۲۰۰۱). از دلایلی که باعث کاهش مهاجرت بین دو جمعیت شمشیرآباد و صحرای جهاد شده است، می‌توان به موقعیت جغرافیایی شهرستان راور اشاره نمود. تفاوت در شرایط اقلیمی و ایجاد تغییرات ساختار ژنتیکی موجودات در جهت بقا و سازگاری با محیط پیرامون خود، کاهش میزان انتخاب طبیعی در اثر افزایش مهاجرت گونه‌های جدیدتر و در نتیجه تداوم جریان ژنی کاهش تفاوت ژنی بین موجودات را فراهم می‌کند (مالت ۲۰۰۱).

نتیجه‌گیری

با توجه به میانگین میزان جریان ژنی بالا (۹/۴ =Nm) بین جمعیت‌ها و میانگین Fst پایین (Fst=۰/۰۲۵)، به نظر می‌رسد تفاوت کمی بین جمعیت‌های مورد مطالعه وجود دارد. محاسبه F_{ST}های دو به دوی جمعیت‌ها حاکی از آن است که هم‌خونی جمعیت‌ها بالا می‌باشد. نتایج بررسی چندشکلی جایگاه‌ها نیز حاکی از آن است که جایگاه‌های مورد مطالعه از چند شکلی مناسبی در جمعیت‌های مورد مطالعه برخوردار هستند. علاوه بر این، تنوع ژنی در شتر یک کوهانه شمال استان کرمان نشان می‌دهد علیرغم اندازه بسیار کم جمعیت، این گونه هم‌چنان از تنوع داخل جمعیتی قابل قبولی برخوردار است، که می‌تواند به حفظ آن کمک شایانی نماید. با این وجود، برای تعیین ساختار ژنتیکی این جمعیت‌ها لازم است تعداد بیشتری از جایگاه‌های ریزماهواره همراه با تعداد بیشتری فرد بررسی شوند.

منابع

۱. امین افشار، م. ۱۳۸۷. مطالعه فیلوژنتیکی بوفالو با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره. زساله دکتری، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران، تهران، ایران، ۱۴۰ صفحه.

۲. شاه کرمی، س.، افراز، ف.، میرحسینی، س.ض.، بنابازی، م.ح.، اسدراده، ن.، اسدی، ن.، همتی، ب.، قنبری، ا. و رضوی، ک. ۱۳۹۱. مطالعه تنوع ژنتیکی شترهای ایرانی (*Camelus Bacterianus*)، مجله ژنتیک نوین، شماره ۲، صفحات ۲۵۶-۲۴۸.

۳. منتظری، م.، مسعودی، ع.ا.، واعظ ترشیزی، ر. و الهیارخان خراسانی، د. ۱۹۹۲. انتساب افراد به جمعیت-های سگ بومی ایران با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره، مجله بیوتکنولوژی کشاورزی، شماره ۶، صفحات ۱۸۸-۱۷۷.

۴. نوبری، ک.، حسنی، س. و آهنی آذری، م. ۱۳۹۳. اهمیت پرورش شتر در نواحی گرم ایران و استراتژی برای بهبود تولید. مجموعه مقالات کنفرانس ملی اصلاح نژاد شتر در ایران، گنبد کاووس، ایران، صفحات ۱۱۹-۱۱۵.

۵. هدایت ایورق، ن. و مقصودی س.م. ۱۳۹۳. اهمیت پرورش شتر در نواحی گرم ایران و استراتژی برای بهبود تولید. مجموعه مقالات کنفرانس ملی اصلاح نژاد شتر در ایران، گنبد کاووس، ایران، صفحات ۱۱۴-۱۱۰.

6. Akey, J. M. 2009. Constructing genomic maps of positive selection in humans: Where do we go from here? Genome Research. 19: 711-722.
7. Banerjee, P., Joshi, J., Sharma, U., Kumar, R. and Vijh, R. K. 2012. Population differentiation in dromedarian camel: A comparative study of camel inhabiting extremes of geographical distribution international. Journal of Animal and Veterinary Advances. 4: 84-92.
8. Barker, J. S. F. 1994. A global protocol for determining genetic distances among domestic livestock breeds. Proceedings of the 5th world congress on genetics applied to livestock production. 501-508 PP. University of Guelph, Canada.
9. Basiry, A., Zakizade, S., Vakili, R. and Montazertorbati, M. B. 2013. Genetic diversity of the camel's population in Khurasan province using microsatellite marker. Iranian Journal of Biotechnology. 6: 336-340.
10. FAO. 2007. The state of the world's animal genetic resources for food and agriculture. FAO. Rome.
11. Frankham, R. 2008. Genetic adaptation to captivity in conservation programs. Molecular Ecology, 17: 325-333.
12. Fumagalli, L., Snoj, A., Jesensek, D., Balloux, F., Jug, T., Duron, O., Brossier, F., Crivelli A. J. and Berrebi., P. 2002. Extreme genetic differentiation among the remnant populations of marble trout (Salmo marmoratus) in Slovenia. Molecular Ecology. 11: 2711-2716.
13. Glasko, V. 2003. An attempt at understanding the genetic basis of domestication. Animal Science. 2: 109-120.
14. Hart, D.L. and Clark, A.G. 1989. Principles of population genetics. 2nd ed. Sinauer Associates, Sunderland.

15. Jack, E. S. and Felix, C. S. 1996. Genetic marker map construction and their application in plant breeding. Horticulture Science. 31: 729-742.
16. Jianlin, H., Ochieng, J. W., Lkhagva, B. and Hanotte, O. 2004. Genetic diversity and relationship of domestic Bactrian camels (*Camelus bactrianus*) in China and Mongolia. Journal of Camel Practice and Research. 11: 97-99.
17. Lang, K. D. M., Wang Y. and Plante. Y. 1996. Fifteen polymorphic dinucleotide microsatellites in llamas and alpacas. Animal Genetics. 27: 285-294.
18. Li, J., Wang, G. and Bai. Z. 2009. Genetic variability in four wild and two farmed stocks of the Chinese freshwater pearl mussel (*Hyriopsis cumingii*) estimated by microsatellite DNA markers. Aquaculture. 287: 286-291.
19. Mallet, J. 2001. Gene flow. 337-360 pp., University College London Press, England.
20. Miller, S. A., Dykes D. D. and Polesky, H. F. 1988. A simple sating out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. Nucleic Acids Research. 16: 12-15.
21. Nei, M. 1972. Genetic distance between populations. American Naturalist. 106: 283-292.
22. Obreque, V., Coogle, L., Henney, P. J., Bailey, E., Mancilla, R., Garcia-Huidobro, J., Hinrichsen, P. and Cothran. E. G. 1998. Characterization of 10 polymorphic alpaca dinucleotide microsatellites. Animal Genetics. 29: 460-467.
23. Peakall, R. and Smouse, P. E. 2006. GeneAlex version 6.1: Genetic analysis in excel. Population genetic software for teaching and research. Molecular Ecology Notes. 6: 288-295.
24. Pinera, J. A., Blanco, G., Vázquez, E., and Sánchez. J. A. 2007. Genetic diversity of black spot seabream (*Pagellus bogaraveo*) populations Spanish Coasts: a preliminary study. Marine Biology. 1151: 2153-2158.
25. Sasse, J., Mariasegaram, M., Jahabar, M. K., Pullenayegum, R., Kinne B. R. and Werney, U. 2000. Development of a microsatellite parentage and identity verification test for dromedary racing camels. Presented at the 27th International Conference on Animal Genetics, Minneapolis, USA.
26. Schulz, U., Tupac-Yupanqui, I., Martínez, A., Méndez, S., Vicente Delgado, J., Gómez, M., Dunner, S. and Cañón. J. 2010. The Canarian camel: a traditional dromedary population. Diversity. 2: 561-571.
27. Slatkin, M. and Barton, N. H. 1989. A comparison of three indirect methods for estimating average levels of gene flow. Evolution. 43: 1349-1368.
28. Vijh, R. K., Tantia, M. S., Mishra B. and Bharani Kumar, S. T. 2007. Genetic diversity and differntiation of dromedarian camel of India. Animal Biotechnology. 18: 81–90.
29. Wayne, R. K. and Morin, P. A. 2004. Conservation genetics in the new molecular age. Ecological Society of America. 2: 89-97.
30. Weir, B. S. and Cockerham, C.C. 1984. Estimating F-statistic for the analysis of population structure. Evolution. 38: 1358-1370.
31. Wright, S. 1978. Evolution and the genetics of populations. Variability within and among natural populations. University of Chicago Press, Chicago, 93 pp.
32. Yeh, F. C., Yang, R. and Boyle, T. 1999., PopGene: Version 1.31. Microsoft window- based freeware for population genetic analysis. University of Alberta, Edmonton, Canada.

The Study of Genetic Diversity of Camels in North of Kerman Province Using F Statistics

M.R. Mohammadabadi*[1], M. Ghasemi Meymandi[2] and M. Montazeri[3,4]

[1]Professor, [2]Graduate M.Sc., [3]Ph.D. Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran, [4]Young Researchers Society, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.

Correspondence Author: mrm@uk.ac.ir

Received: May. 29, 2015 Accepted: Aug. 04, 2016

Abstract

Genetic variation among the individuals is considered as an important tool for conservation of livestock animals. Application of molecular markers to determine genetic variation between populations has been widely used in recent years. This study conducted to analyze genetic diversity using F statistics in populations of *Camelus dromedaries* in north of Kerman using 8 autosomal microsatellite markers (YWLL08, VOLP03, VOLP08, YWLL38, CVR01, YWLL44, VOLP32 and VOLP67). Eighty-one blood samples were collected from Shahr-e Babak, Rafsanjan and Ravar. Total DNAs of the samples using salting out were extracted and applied for genotyping analysis. The result showed that the highest and the lowest allele number and effective alleles are shown in YWLL08 (21 and 14.9) and VOLP32 (4 and 3.11), respectively. Fixation index (F_{ST}) values for markers YWLL08, VOLP03, VOLP08, YWLL38, CVR01, YWLL44, VOLP32 and VOLP67 was obtained 0.036, 0.088, 0.080, 0.045, 0.054, 0.0698, 0.014 and 0.060, respectively. This result showed that differentiation is low between populations. The highest gene flow obtained between Shahr-e Babak population and Rafsanjan2 samples (15.83) and the lowest gene flow was observed between the two populations of Ravar (6.49). In general, it can be concluded that *Camelus dromedarius* in north of Kerman has approximately high genetic diversity and microsatellite markers have approximately high polymorphism and therefore can be used for genetic studies.

Keywords: Genetic Differentiation- Microsatellite Marker- Kerman- *Camelus Dromedarius*- F