ژنتیک نوین
دوره ششم، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۰
صفحه ۸۲-۷۱

مطالعه تشابه ژنتیکی بر اساس داده‌های شجره‌ای و تعداد محدودی نشانگر ریز ماهواره مولکولی

یحیی محمدی*[۱]، صابر قنبری[۲]، حسن درمانی‌کوهی[۳]، مرتضی ستائی‌مختاری[۴]، علی اسماعیلی‌زاده کشکوئیه[۵]

۱- مربی گروه علوم دامی دانشگاه ایلام
۲- استادیار پژوهشکده فیزیولوژی و بیوتکنولوژی دانشگاه زنجان
۳- استادیار گروه علوم دامی دانشگاه گیلان
۴- مربی گروه علوم دامی دانشگاه جیرفت
۵- دانشیار دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان
* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: Mohamadi_Yahya@yahoo.com

(تاریخ دریافت: ۸۹/۳/۴ - تاریخ پذیرش: ۹۰/۳/۱)

چکیده

هدف از این تحقیق مطالعه همبستگی برآوردهای تشابه ژنتیکی بر اساس داده‌های شجره‌ای و مولکولی بود. بدین منظور از تعداد ۹۵ راس گوسفند افشاری دارای شجره کامل نمونه‌گیری و برای ۱۸ جایگاه میکروساتلایت ریز ماهواره تعیین ژنوتیپ انجام گرفت که در مجموع ۱۰۲ آلل با میانگین ٦ به ازای هر جایگاه مشاهده شد. جایگاه‌های OarJMP58 و MCMA2 با ۹ آلل بیشترین و جایگاه‌های CSSM18، OarAE64 و BM8125 با ٤ آلل کمترین چند شکلی را نشان دادند. میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده برای ۱۷ جایگاه چند شکل معادل ۰/۷۲ برآورد گردید. میانگین ضریب هم نسبی مولکولی (f_M) بر مبنای داده‌های ژنوتیپی برای تمامی جفت‌های متناظر (جفت فرد) معادل ۰/۳٦ برآورد شد. میانگین ضریب خویشاوندی افزایشی (a) به عنوان معیاری از تشابه ژنتیکی بر مبنای اطلاعات شجره‌ای معادل ۰/۰۳۲ برآورد گردید. این ضرایب در قالب ماتریس‌های متقارن برای رسم دندروگرام تشابه ژنتیکی مورد استفاده قرار گرفتند. آنالیز همبستگی برای دو نوع اندازه‌گیری از تشابه ژنتیکی معادل ۰/۲۲محاسبه شد. نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که برآوردهای ساده تشابه ژنتیکی افراد که تنها بر اساس شراکت آللی بر مبنای تعداد محدودی جایگاه بدست آمده است، نمی‌تواند مبنای دقیقی برای بیان روابط و مبنای تصمیم گیری‌های اصلاحی در گله قرار گیرد. این نتیجه ادامه استفاده از داده‌های شجره‌ای را به عنوان مبنای اصلی برآوردها پیشنهاد می‌نماید.

واژه‌های کلیدی

**تشابه ژنتیکی،
گوسفند افشاری،
نشانگر ریز ماهوار**

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1390.6.2.7.7]

مقدمه

آگاهی از ساختار شجره و یا روابط بین افراد در یک جمعیت دامی برای برآورد پارامترهای ژنتیکی (وراثت پذیری و همبستگی ژنتیکی) و پیش بینی ارزش‌های ارثی ضروری است (۲۳ و ۳۰). همچنین این اطلاعات می‌توانند در جلوگیری از کاهش تنوع ژنتیکی و افزایش همخونی موثر بوده و به نوبه خود قابلیت زنده مانی جوامع دامی را تحت تاثیر قرار دهند (۸). دو روش پایه‌ای برای محاسبه خویشاوندی افراد در جمعیت در صورت در دسترس بودن اطلاعات شجره‌ای وجود دارد، که عبارتند از شاخص افزایشی خویشاوندی[1] (a) (۴۱) و ضریب همنسبی[2] (f) که مهمترین روش برای برآورد خویشاوندی است که توسط Malécot در سال ۱۹۴۸ ارائه شده است می‌باشند.

در حالت عدم دسترسی به اطلاعات شجره‌ای نیاز به داشتن برآورد قابل قبولی از روابط واقعی خویشاوندی بین افراد در جمعیت وجود دارد. در این راستا توسعه کیفی و کمی نشانگرهای ژنتیکی امکان استفاده از آنها با هدف مطالعه تنوع موجود در جمعیت‌ها و برآورد روابط ژنتیکی بر مبنای شباهت‌های آللی بین افراد را فراهم آورده است (۲۱، ۲۲، ۳۰ و ۳۸). بهینه‌سازی روش‌ها و بکارگیری نشانگرهای ژنتیکی به خصوصیات تک تک نشانگرها، تعداد نشانگر استفاده شده (پوشش ژنومی)، درجه چندشکلی و نیز جمعیت مورد مطالعه بستگی دارد (۳۵). در این میان مطالعات قبلی کارآمدی نشانگرهای ریزماهواره با هدف انجام مطالعات ژنتیک جمعیت و شناسایی روابط افراد نزدیک به هم را به اثبات رسانده است (٦، ۱۰ و ۳٦). این نشانگرها به سبب چند شکلی بالا، گستردگی در سرتاسر ژنوم، ژنوتیپ‌یابی آسان، توارث همبارز و کم هزینه بودن امکان انجام انواع مطالعات ژنتیکی، روش‌های ساده، سریع و دقیق‌تر را فراهم آورده‌اند. امروزه با کامل شدن نقشه‌های ژنومی برای اغلب دام‌های اهلی تعداد زیادی از نشانگرهای ریزماهواره شناسایی و جایگاه ژنومی آنها بر روی ژنوم گوسفند مشخص شده است (۱۸ و ۲۴) که امکان استفاده از آنها را برای مطالعات دقیق‌تر ژنومی را فراهم می‌آورد (۱۰). علیرغم افزایش تعداد مطالعات در ارتباط با تنوع ژنتیکی در گونه‌های دامی، تعداد گزارشات اندکی از مقایسه تشابهات ژنتیکی بر اساس نوع داده‌های استفاده شده در جمعیت‌های بسته گوسفند برای مقایسه با نتایج تحقیق حاضر وجود دارد. در مورد سایر گونه‌های دامی گزارش‌های در این زمینه وجود دارد. برای مثال Cunningham و همکاران (۲۰۰۱) با هدف مقایسه این برآوردها تشابه مولکولی بین ۲۱۱ اسب نژاد Thoroughbred را بر مبنای ژنوتیپ‌های حاصل از ۱۳ جایگاه ریزماهواره بررسی نمودند. نتایج این محققین ارتباط کاملی بین دو اندازه‌گیری را نشان داد. در مطالعه دیگری ۸ نوع اندازه‌گیری متفاوت از تشابه ژنتیکی با استفاده از داده‌های ۴۹ نشانگر ریزماهواره بر روی ۶۲ راس خوک مقایسه گردید (۳۷). این جمعیت دارای شجره کاملی به عمق ۲۰ نسل بود. این آزمایش میزان همبستگی دو اندازه‌گیری از هم نسبی بر اساس داده‌های مولکولی و شجره‌ای را متوسط به بالا نشان داد. در تحقیقی دیگر Fernandez و Toro (۲۰۰۶) این مقایسه را با سناریوهای مختلفی همچون تعداد متفاوت نشانگرهای ریزماهواره، آلل به ازای هر جایگاه، والدین و عمق شجره شبیه‌سازی و مقایسه نمودند. همه آزمایشات با در نظر گرفتن تفکیک مستقل آللی و تعادل هاردی واینبرگ انجام گرفت. بر طبق این شبیه‌سازی میزان همبستگی برآورد شده با در نظر گرفتن ۵۰ والد، با تعیین ژنوتیپ ۵۰ جایگاه ژنی و ۵ آلل به ازای هر نشانگر و در نظر گرفتن ۵ درصد خطای تعیین ژنوتیپ، معادل ۰/۴۳۶ برآورد شد و همبستگی محاسبه شده با ۱۰ نشانگر و ۵ آلل به ازای هر نشانگر به ۰/۲۵۷ کاهش یافت. هدف از انجام این تحقیق، محاسبه روابط خویشاوندی افراد در یک گله گوسفند نژاد افشاری بر مبنای داده‌های نشانگری و نیز اطلاعات شجره‌ای و مطالعه و همبستگی بین این دو روش بود.

مواد و روش‌ها

جامعه آماری مورد مطالعه

این مطالعه بر روی گله گوسفند افشاری ایستگاه اصلاح نژاد مزرعه دانشگاه زنجان به سبب داشتن شجره قابل اطمینان انجام گردید. تعداد ۹۵ راس گوسفند متولد سال‌های ۸۱ تا ۸۶ به

[1] Additive genetic relationship
[2] Coefficient of coancestry

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1390.6.2.7.7]

صورت کاملا تصادفی برای نمونه‌گیری و انجام آزمایشات بعدی انتخاب شدند. این نمونه شامل ۵ راس قوچ، ۷۱ راس میش شکم‌های اول تا پنجم و ۱۹ راس بره نر و ماده بود. اندازه جمعیت گله مورد تحقیق در زمان نمونه‌گیری ۵۵۷ راس گوسفند بود. برای خون‌گیری و تهیه نمونه‌ها از ونوجکت خلاءدار ۵ سی سی حاوی ماده ضد انعقاد EDTA استفاده شد. خون‌گیری از سیاه رگ وداج صورت گرفت و نمونه‌ها در ظرف محتوی یخ به آزمایشگاه ژنومیکس واقع در پژوهشکده فیزیولوژی و بیوتکنولوژی کشاورزی دانشگاه زنجان منتقل شدند. استخراج DNA از ۲-۱ میلی لیتر خون کامل به روش استخراج نمکی Miller و همکاران (۱۹۹۸) با اندک تغییراتی انجام گرفت.

جایگاه‌های مورد مطالعه:

تعداد ۱۸ جایگاه میکروساتلایت در این تحقیق مورد مطالعه قرار گرفتند که مشخصات آنها در جدول ۱ آمده است. این جایگاه‌ها از روی نقشه پیوستگی گوسفند موجود در بانک اطلاعاتی ژنوم گوسفند در دانشگاه ملبورن (۲۴) از آدرس اینترنتی http://rubens.its.unimelb.edu.au/~jillm/jill.htm انتخاب شدند. بهینه‌سازی شرایط واکنش PCR روی سه عامل مهم، غلظت MgCl2، دمای اتصال پرایمر و برنامه PCR بود و سایر جزئیات واکنش، برای جایگاه‌های مورد مطالعه به صورت زیر بهینه شد: مقدار ۲۵ نانوگرم از DNA ژنومی، ۲۰۰ میکرومولار هرdNTP، ۰/۲۵ میکرومولار هر پرایمر و ۱ واحد آنزیم پلی مراز Taq که با غلظت مطلوب MgCl2 برای هر جایگاه و آب دوبار -

جدول ۱- مشخصات جایگاه‌های مطالعه شده

Locus	Primer Sequence	Reported Allele Size (bp)	Tm °C	Chr	Accession number	Motif	
OarHH55	F:GTTATTCCATATTCTTTCCTCCATCATAAG R: CCACACAGAGCAACTAAAACCCAGC	117-155	62	6	L13693	$(AC)_{24}$	Montgomery et al (1994)
OarAE101	F:TAAGAAATATATTTGAAAAAACTGTATCTC R:TTCTTATAGATGCACTCAAGCTAG	99-123	63	6	L13692	$(GT)_{22}$	Montgomery et al (1994)
BM143	F: ACCTGGGAAGCCTCCATATC R:CTGCAGGCAGATTCTTTATCG	102-128	61	6	G18387	$(GT)_{16}$	Bishop et al (1994)
BMS2508	F: AGGTTGACTTCTGTGTCTTTTC R: GTT TCTTAGGGGAGTGTTGAT T	158	58	6	AF394449	$(TG)_{15}$	Mulsant et al (1998)
LSCV43	F:CCAGAATATAGAGTTTTG TCAAG R:GCCTGATTTGTATTTGTATGAG	110-130	52	6	-	-	Mulsant et al (1998)
CSSM18	F:TGTGCATAATTTGTGTCCGTCCGGA R:AGGAATTCCCTCTAGAAAAGCAGGC	116-134	58	18	U03798	$(AC)_{17}$	Moore et al (1994)
OY3	F:TTTTGGTTTCACTTATTGTTTGAG R:CTCTGTCTAAAGAAGCTTTTCCC	160	57	18	-	-	Freking et al (1998)
MCMA26	F:TCTCTGCTTTCCAGCCTTATTC R:AGAGCTTTTAGGACAGCCACC	188-212	52	18	AF098961	$(GT)_{32}$	Maddox et al (2001)
DYMS1	F:AACAACATCAAACAGTAAGAG R:CATAGTAACAGATCTTCCTACA	159-211	59	20	AJ621046	-	(Buitkamp et al (1996)
OarFCB304	F:CCCTAGGAGCTTTCAATAAAGAATCGG R:CGCTGCTGTCAACTGGGTCAGGG	150-188	63	19	L01535	$(TC)_{22}(AC)_{15}$	Buchanan et al (1993)
OarAE64	F:TGCAAGAAGGGCAGACCTTGGAG R:CAGACCACTCTCTTCCCTCCACG	122-158	55	7	L13869	$(AC)_{25}$	Ede et al (1994)
OarCP26	F:GGCCTAACAGAATTCAGATGATGTTGC R:GTCACCATACTGACGGCTGGTTCC	120-170	55	4	U15698	$(GT)_{27}$	Ede et al (1995)
MCMA2	F:TCCAGGATTCATTATGTAGTAGAGCG R:TTTCAAGTGACTTCTCCCAGAGAC	157-201	52	13	AF098773	$(GT)_{25}$	Maddox et al (2001)
MAF64	F:AATAGACCATTCAGAGAAACGTTGAC R:CTCATGGAATCAGACAAAAGGTAGG	109-141	63	1	M62993	$(GT)_{15}$	Swarbrick et al (1991)
OarJMP58	F:GAAGTCATTGAGGGGTCGCTAACC R:CTTCATGTTCACAGGACTTTCTCTG	133-159	52	26	U35058	$(TG)_{20}$	Lumsden et al (1996)
OarJMP29	F:GTATACACGTGGACACCGCTTTGTAC R:GAAGTGGCAAGATTCAGAGGGGAAG	96-150	58	24	U30893	$(AC)_{23}$	Broom et al (1996)
MAF65	F:AAAGGCCAGAGTATGCAATTAGGAG R:CCACTCCTCCTGAGAATATAACATG	123-135	60	15	M67437	$(AC)_{22}$	Buchanan et al (1991)
BM8125	F:CTCTATCTGTGGAAAAGGTGGG R:GGGGGTTAGACTTCAACATACG	116-122	55	17	G18475	$(AC)_{18}$	Bishop et al (1994)

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1390.6.2.7.7]

تقطیر به حجم ۱۵ میکرولیتر رسید. فرآورده های PCR بعد از واسرشت سازی اولیه در دمای ۹٤ درجه سانتی‌گراد در مدت ۳ دقیقه، بر روی ژل اکریلامید ۸ درصد بار شدند تا در محیط بافری TBE 0.5X با توان ۱۵ وات (٤۰۰ ولت، ۳۵ میلی آمپر) برای مدت ۵ ساعت الکتروفورز شوند. آشکارسازی باندها با روش موسوم به روش سریع رنگ آمیزی نقره انجام شد. باندخوانی با روش اتوماتیک و به کمک نرم افزار One-D-Scan شرکت SCAN ANALYTICS انجام گرفت.

تجزیه و تحلیل مشاهدات

تجزیه آماری برای محاسبه پارامترهای مختلف تنوع ژنتیکی بر اساس تعداد و توزیع آللی بدست آمده برای جایگاه‌های ریزماهواره انجام گرفت. معیارهای تنوع ژنتیکی همچون تعداد موثر آللی(۱۵)، هتروزیگوسیتی (H_E) (۲۹) و هموزیگوسیتی مشاهده شده (H_O) برای جایگاه‌های مورد نظر محاسبه شد. تعیین این مقادیر برای هر جایگاه با استفاده از نرم افزار PopGene3.2 (٤۰) انجام پذیرفت. شاخص محتوای اطلاعات پلی مورفیسم[3] (PIC) (۲) برای جایگاه‌های مورد مطالعه بر اساس فرمول زیر محاسبه شد.

$$PIC = 1 - (\sum_{i=1}^{k} p_i^2) - \sum_{i=1}^{k-1} \sum_{j=i+1}^{k} 2 p_i^2 p_j^2$$

بطوری که p_i و p_j فراوانی‌های آللی مشاهده شده آلل‌های iام و jام در جمعیت هستند. مقادیر *PIC* به منظور ارزیابی مفید بودن یک جایگاه نشانگری در آنالیز پیوستگی محاسبه شدند. به منظور بررسی تعادل هاردی – واینبرگ در جایگاه‌های مورد مطالعه در این جمعیت از دو آزمون مربع کای(χ^2_T) و نسبت درست نمایی (G2T) استفاده گردید(۱۲).

برآورد تشابه ژنتیکی

دو ضریب متفاوت برای بیان شباهت ژنتیکی افراد استفاده می-شود. تعریف معمول‌تر مربوط به ضریب همنسبی است که توسط (Malecot, 1948) ارائه شده است. مطابق تعریف، همنسبی مولکولی[4] بین دو فرد عبارت است از احتمال همسان بودن دو آلل در یک جایگاه ژنی که به صورت تصادفی از دو فرد برداشته شوند. با فرض اینکه همسانی آللی مشاهده شده به صورت همسانی اجدادی باشد در این صورت میانگین همنسبی مولکولی با ضریب همنسبی برابر خواهد بود (۵) و از طریق فرمول زیر قابل محاسبه است:

$$f_{ij,l} = \frac{1}{4}[I_{11} + I_{12} + I_{21} + I_{22}]$$

در صورتیکه آلل x در لوکوس l در فرد i و آلل y در همان لوکوس در فرد j همسان اجدادی باشند Ixy مساوی واحد بود. همنسبی مولکولی بین دو فرد i و j بر اساس چندین جایگاه ژنی به صورت میانگین این ضریب بر روی کل جایگاه‌های بررسی شده از طریق فرمول زیر قابل محاسبه است.

$$f_{ij} = \frac{\sum_{l=1}^{L} f_{ij,l}}{L}$$

در این مطالعه ژنوتیپ‌های حاصل از ۱۸ جایگاه ژنی برای محاسبه همنسبی مولکولی بین تمامی جفت‌های متناظر بین افراد تحت مطالعه با استفاده از نرم افزار MolKin v.2 (۱۴) مورد استفاده قرار گرفت. مقادیر محاسبه شده به صورت ماتریکس متقارن مرتب شده و به عنوان فایل داده برای خوشه بندی و رسم درخت تشابهات ژنتیکی بر اساس الگوریتم UPGMA[5] در نرم افزار NTSYS-pc مورد استفاده قرار گرفت.

تعریف دیگر، رابطه خویشاوندی افزایشی (a) است، که نسبت ژن های مشترک در دو فرد را برآورد می‌کند و معادل دو برابر ضریب هم نسبی است $a=2f$ (۴۱). در این مطالعه روابط خوشاوندی افزایشی بر مبنای استفاده از کلیه اطلاعات حیوانات موجود در شجره برای تمامی افراد تحت بررسی محاسبه شد. برای این منظور از نرم افزار CFC, version 1.0 استفاده شد (۳۰). این مقادیر بصورت ماتریس متقارن مرتب شده و برای خوشه‌بندی و رسم درخت تشابهات ژنتیکی بر اساس الگوریتم UPGMA در نرم افزار NTSYS-pc مورد استفاده قرار گرفت. به منظور مقایسه تشابه ژنتیکی حاصل از دو روش فوق، از روش آزمون مقایسه

[3] Polymorphism information content
[4] Molecular coancestry
[5] Unweighted Pair Group Method using the arithmetic Average

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1390.6.2.7.7]

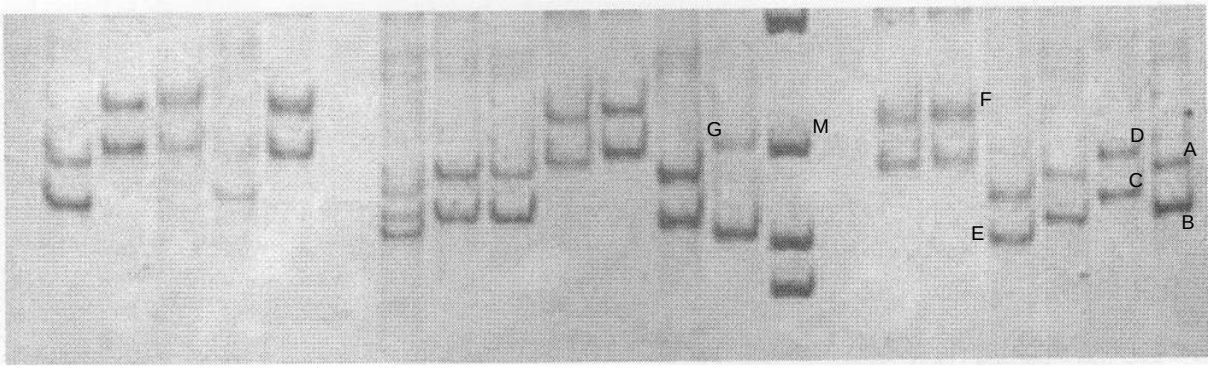
ماتریسی استاندارد شده Mantel[6] استفاده شد. آماره استاندارد شده Z (۲۶) برای مقایسه همبستگی بین اجزاء متناظر دو ماتریس استفاده می‌شود. بدین منظور مقادیر تشابهات ژنتیکی مولکولی و شجره‌ای افراد به صورت متناظر در قالب ماتریس مرتب شده و تحت نرم افزار NTsys-MAXCOMP مقایسه شد. معنی‌داری آماری ضریب همبستگی دو ماتریس با استفاده از توزیع تجربی این ضرایب بر مبنای ۱۰۰۰ تکرار با استفاده از آزمون تبدیل بدست آمد.

نتایج و بحث

صرفنظر از جایگاه یک شکلی، در مجموع ۱۰۲ آلل با میانگین ۶ به ازای هر لوکوس مشاهده شد. جایگاه‌های OarJMP58 و MCMA2 با ۹ آلل بیشترین و جایگاه‌های CSSM18, OarAE64 و BM8125 با ۴ آلل کمترین چندشکلی را نشان دادند. بر اساس نتایج حاصله از دو آزمون χ^2_T و $G2_T$ هیچ یک از جایگاه‌های مورد مطالعه در این جمعیت در تعادل هاردی- واینبرگ نبودند و همه جایگاه‌ها انحراف معنی‌داری از تعادل هاردی – واینبرگ نشان دادند ($P < ۰/۰۰۵$). مهم‌ترین دلیل عدم برقراری تعادل هاردی- واینبرگ در جایگاه‌های مورد مطالعه را می‌توان اعمال انتخاب در گله بر شمرد. جایگاه‌های ریزماهواره را جایگاه‌های خنثی در ژنوم می‌نامند و انتخاب طبیعی تاثیر چندانی در بر هم زدن تعادل این جایگاه‌ها ندارد ولی با توجه به اهداف اصلاحی گله که انتخاب برای هاپلوتیپ‌های خاصی صورت می‌گیرد عدم تعادل چنین جایگاه‌های خنثی نیز توجیه پذیر است. از دیگر علل این عدم تعادل کوچک بودن اندازه گله می‌تواند باشد. میانگین هتروزیگوسیتی مورد انتظار و هتروزیگوسیتی مشاهده شده بعنوان متداولترین پارامترهای اندازه گیری تنوع درون جمعیتی برای جایگاه‌های مطالعه شده محاسبه شد (جدول ۲). جایگاه مارکری OarJMP58 بیشترین میانگین هتروزیگوسیتی (۰/۸۵) و جایگاه CSSM18 کمترین میانگین هتروزیگوسیتی (۰/۶۱) را نشان دادند. میانگین هتروزیگوسیتی مورد انتظار و هتروزیگوسیتی مشاهده شده برای ۱۷ جایگاه بترتیب معادل (SE=0.01) 0.72 و 0.74 (SE= 0.03) برآورد شد.

جایگاه‌های چند شکلی همچون ریزماهواره‌ها را در صورت دارا بودن مقادیر PIC بالاتر از ۰/۵ جزو نشانگرهای دارای محتوای اطلاعاتی زیاد در نظر می‌گیرند (۲). نتایج برآورد شده برای PIC در این مطالعه نشان می‌دهد که اکثریت جایگاه‌ها با دارا بودن مقادیر PIC بالاتر از ۰/۶۵ می‌توانند به نحو موثری در بررسی‌های کاوش ژنومی استفاده شوند. مقایسه نتایج این تحقیق در ارتباط با معیارهای تنوع درون جمعیتی با داده های گزارش شده در بانک-های اطلاعاتی پروژه ژنوم گوسفند بطور کلی کاهش محسوسی را در بیشتر جایگاه‌های مطالعه شده نشان می‌دهد.

[6] Normalized Mantel test



شکل ۱- الگوی باندی حاصل از تکثیر جایگاه میکروساتلایت OarJMP29 در گوسفند افشاری. آلل‌های A=۱۰۸، B=۱۰۴، C=۱۰۶، D=۱۱۰، E=۱۰۲، F=۱۱۶، G=۱۱۴ و M باند ۱۱۲ جفت بازی سایز مارکر در شکل نشان داده شده‌اند.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1390.6.2.7.7]

جدول۲- مقادیر بدست آمده برای معیارهای مختلف تنوع ژنتیکی برای جایگاه‌های مطالعه شده

Locus	*n*	*ne*	*Ho*	H_E	*PIC*	*Observed Allele Size (bp)*
OarHH55	5	2.71	0.63	0.65	0.58	111-127
OarAE101	6	2.94	0.83	0.76	0.70	106-128
BM143	5	2.43	0.65	0.68	0.61	107-117
BMS2508	7	2.38	0.76	0.70	0.65	154-188
LSCV43	7	3.22	0.90	0.76	0.71	101-119
CSSM18	4	2.32	0.40	0.61	0.54	112-118
OY3	6	2.22	0.66	0.68	0.67	118-185
OarFCB304	5	2.43	0.71	0.68	0.62	118-148
OarAE64	4	3.86	0.51	0.62	0.61	116-148
OarCP26	6	2.56	0.82	0.71	0.65	145-201
MCMA2	9	5.21	0.72	0.80	0.78	160-195
MAF64	7	6.11	0.80	0.83	0.81	113-147
OarJMP58	9	7.12	0.91	0.85	0.84	143-178
OarJMP29	7	3.58	0.86	0.72	0.68	90-141
MAF65	5	3.21	0.85	0.69	0.64	129-145
BM8125	4	3.36	0.82	0.70	0.58	112-123
DYMS1	6	5.52	0.74	0.81	0.80	147-210
Mean	6	3.60	0.74	0.72	0.67	-
SD	1.54	1.48	0.13	0.07	0.08	

مقایسه برآوردهای تشابه ژنتیکی

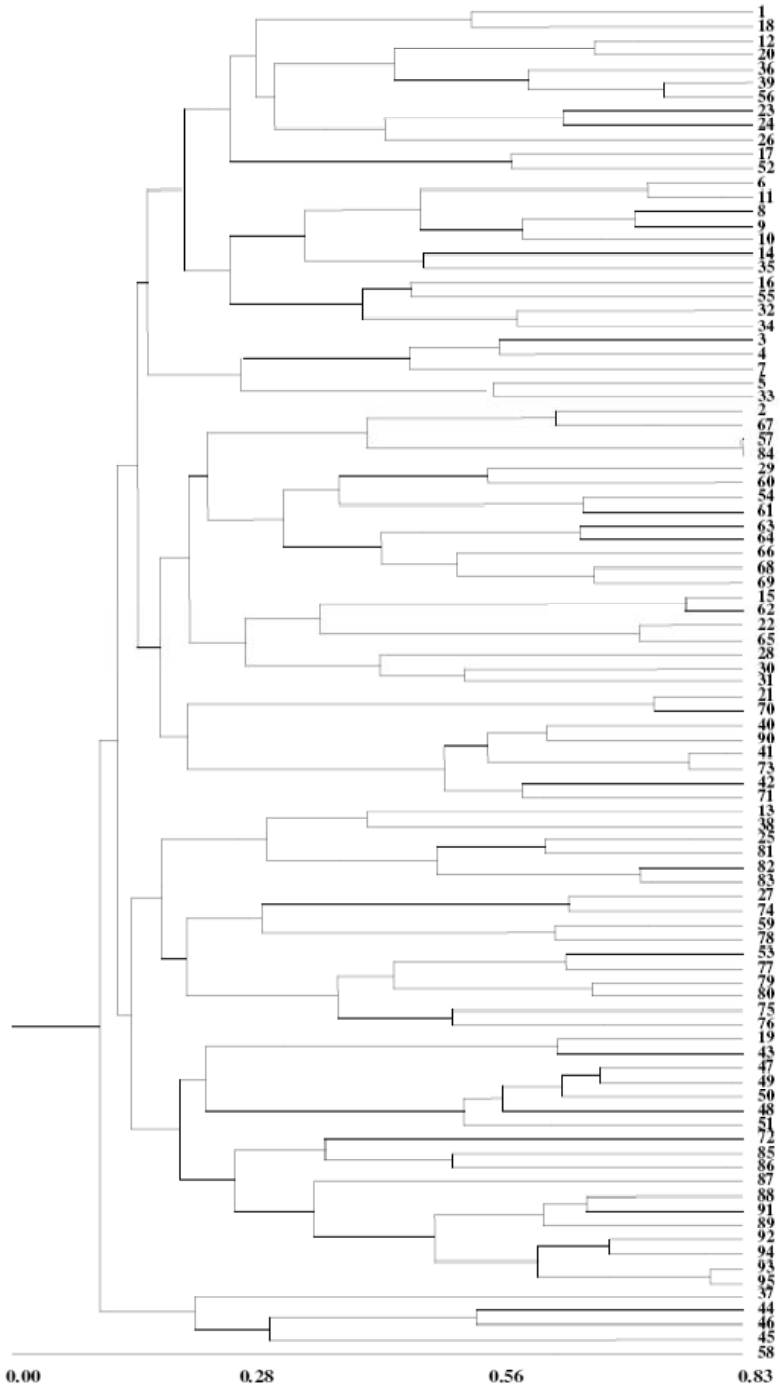
در این مطالعه ضریب هم نسبی مولکولی با استفاده از جایگاه‌های چند شکل برای تمامی جفت‌های متناظر (جفت فرد) در جمعیت محاسبه گردید که بین ۰/۲۷ تا ۰/۸۳ متغیر بود. میانگین ضریب هم نسبی مولکولی محاسبه شده معادل ۰/۳۶ بدست آمد. در مقایسه، ضریب خویشاوندی افزایشی به عنوان معیاری از تشابه ژنتیکی بر مبنای اطلاعات شجره‌ای بین صفر تا ۰/۷۵ متغیر بود. میانگین ضریب خویشاوندی افزایشی معادل ۰/۰۳۲ بود که به میزان قابل توجهی پایین‌تر از ضریب هم نسبی مولکولی می‌باشد. شکل‌های ۲ و ۳ نحوه دسته‌بندی افراد تحت مطالعه را به ترتیب بر حسب داده‌های مولکولی و شجره‌ای نشان می‌دهد.

همبستگی دو نوع اندازه گیری از تشابه ژنتیکی معادل ۰/۲۲ ($P< 0.01$) محاسبه شد. معادله رگرسیونی روابط خویشاوندی افزایشی (a) بر روی همنسبی مولکولی (f_M) به صورت $a = 0.1342\ f_M - 0.0186$ برآورد گردید (شکل ۴).

به منظور مطالعه روند تغییر روابط خویشاوندی بین افراد در طول سال‌های پس از تشکیل گله پایه، میانگین روابط افزایشی خویشاوندی و میانگین ضرایب همنسبی مولکولی برای افراد در هر سال محاسبه و مقایسه گردید. مقادیر میانگین روابط افزایشی خویشاوندی و میانگین ضرایب هم نسبی مولکولی برای سال ۱۳۸۰ به میزان ۰/۰۲۷ و ۰/۳۱ برآورد گردید. در حالیکه این مقادیر برای سال ۱۳۸۶ معادل ۰/۰۳۸ و ۰/۳۷ برآورد شد. بررسی روند تغییرات دو اندازه‌گیری تشابه ژنتیکی بر روی فاکتور زمان روند افزایشی تشابه ژنتیکی بین افراد در این گله را نشان می‌دهد (شکل ۵). با این وجود این افزایش فقط در مورد میانگین روابط افزایشی خویشاوندی معنی‌دار بود.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]

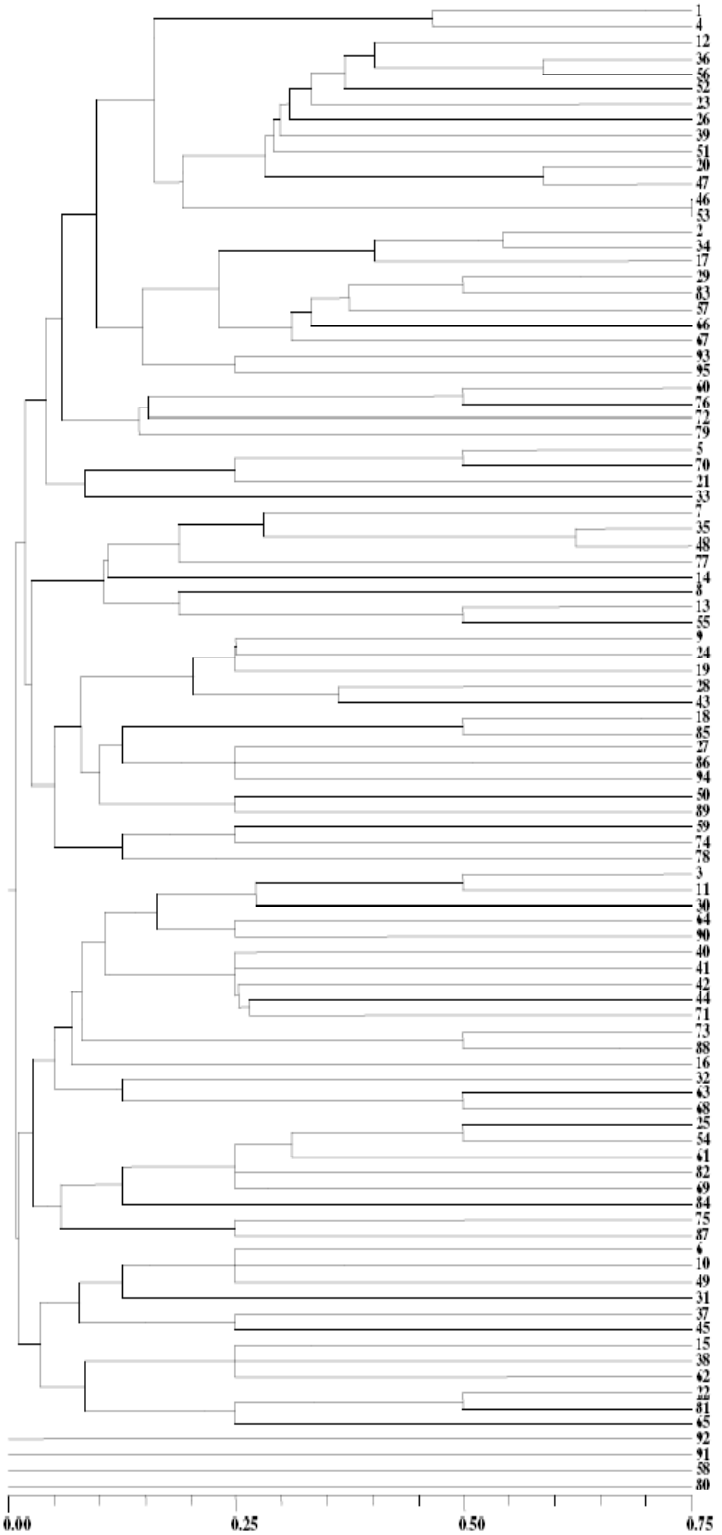
[DOR: 20.1001.1.20084439.1390.6.2.7.7]



شکل ۲- دندروگرام UPGMA هم نسبی مولکولی برای ۹۵ راس گوسفند افشاری بر اساس اطلاعات حاصل از ۱۷ جایگاه چندشکل ریزماهواره

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]

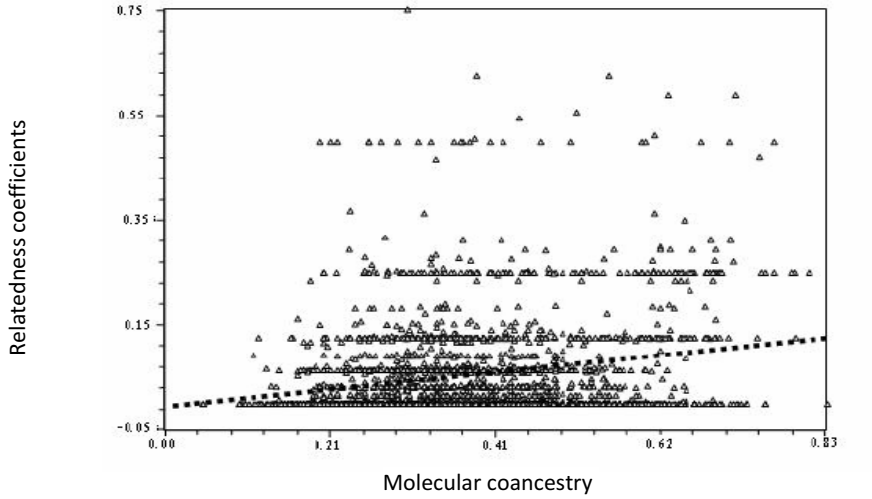
[DOR: 20.1001.1.20084439.1390.6.2.7.7]



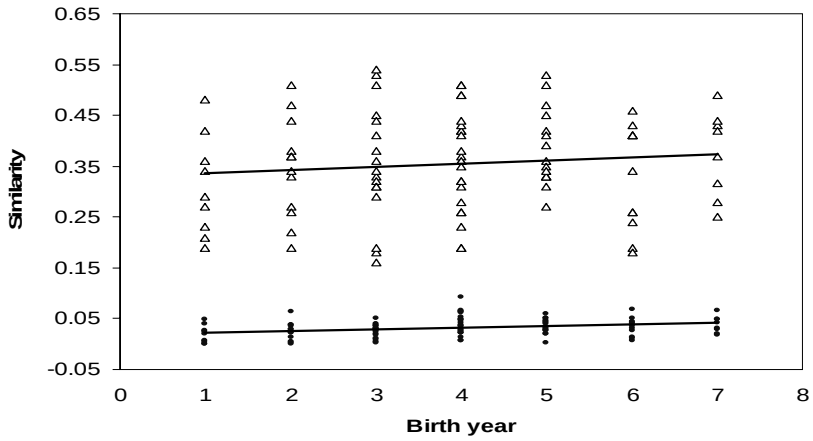
شکل ۳- دندروگرام UPGMA از روابط خویشاوندی مربوط به ۹۵ راس گوسفند افشاری ترسیم شده بر اساس اطلاعات شجره‌ای

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1390.6.2.7.7]



شکل ۴- رابطه بین ضریب هم نسبی مولکولی و ضریب افزایشی خویشاوندی که بر اساس ۴۶۶۵ جفت متناظر از برآوردهای افراد مطالعه شده بدست آمده است. ($r = 0.22, P< 0.01$)



شکل ۵- تغییر در تشابه ژنتیکی در گله مطالعه شده بر اساس ضرایب هم نسبی مولکولی (نقاط تو پر) و رابطه افزایشی خویشاوندی (مثلث توخالی) در طی سال‌های ۱۳۸۶-۱۳۸۰. اعداد ۱ تا ۷ به ترتیب بیانگر سال‌های ۸۰ تا ۸۶ می‌باشند.

مسئله اساسی در بکارگیری نشانگرهای مولکولی برای آنالیز روابط و شباهت‌های ژنتیکی با دقت کافی وجود چند شکلی کافی می‌باشد (۲۲ و ۳۸). در این میان نشانگرهای ریزماهواره با دارا بودن چند شکلی زیاد، همبارز بودن و توزیع مناسب در سطح ژنومی، بسیار کارآمد هستند (۲۳). Slate و همکاران (۲۰۰۴) تعداد ۵۹۰ راس گوسفند نژاد Coopworth با شجره مشخص به عمق ۷ نسل را برای ۱۰۱ جایگاه نشانگری ریزماهواره ژنوتیپ نمودند. نتایج این محققین نشان داد که همبستگی بین دو روش مولکولی و اطلاعات ی برای برآورد تشابه ژنتیکی برابر ۰/۱۷ است. همبستگی مشاهده شده مطالعه حاضر بر روی دو روش اندازه گیری تشابه ژنتیکی با استفاده از ۱۷ نشانگر چندشکل (۱۲ نشانگر غیرپیوسته) در تطابق با مشاهدات Slate و همکاران (۲۰۰۴) و نتایج شبیه سازی Fernandez و Toro (۲۰۰۶) می-باشد. با این وجود، مشاهدات این تحقیق نتایج گزارش شده توسط Cunningham و همکاران (۲۰۰۱) و Toro و همکاران (۲۰۰۲) را تائید نمی‌کند.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1390.6.2.7.7]

برای توضیح پایین بودن همبستگی بدست آمده برای دو اندازه-گیری از تشابه ژنتیکی می‌توان دلایل مختلفی را برشمرد. برای مثال در برآورد تشابه ژنتیکی بر اساس اطلاعات شجره‌ای تنها نسبت‌های مورد انتظار از سهم ژنومی هر یک از والدین مد نظر می‌باشد. در حالیکه نسبت ژن‌های مشترک بین خویشاوندان در حالت واقعی می‌تواند بسیار بیشتر و یا کمتر از مقادیر مورد انتظار باشد. به بیان دیگر اشتراک گذاری ژنی توسط والدین در فرزندان (سهم ژنومی) و متعاقبا در بقیه خویشاوندان همیشه معادل با مقادیر مورد انتظار در تلاقی‌ها نمی‌باشد. گذشته از این تعدادی از شرایط مفروض در برآورد روابط خویشاوندی همیشه نمی‌تواند صادق باشد (۳ و ۲۷) این برآوردها می‌تواند بر اثر فشار انتخاب، سهم نابرابر والدین در تلاقی‌ها، و نیز خویشاوند بودن اجداد فاقد شجره مشخص اریب باشد. عامل دیگر عمق شجره است که می-تواند بر برآوردهای واقعی از شباهت ژنتیکی تاثیر بگذارد. به طوری که با افزایش تعداد نسل پراکنش سهم ژنومی جد مشترک در نتاج متعادل‌تر می‌شود. در مورد تحقیق حاضر کم بودن عمق شجره گله مورد مطالعه نیز می‌تواند دلیلی برای پایین بودن همبستگی بدست آمده برای دو اندازه‌گیری شود. البته مشکلاتی نیز در مورد روش‌های مولکولی وجود دارد. برای مثال آلل‌های هم اندازه نشانگرهای مولکولی همیشه بیانگر همسانی اجدادی نیستند و ممکن است که نماینده آلل‌های همسان غیراجدادی[7] نیز باشند که روش‌های مولکولی قادر به تمییز بین این آلل‌ها و برآورد دقیق شباهت ژنتیکی با مفهوم هم نسبی مولکولی نیستند.

نتیجه گیری

در این تحقیق میزان تنوع درون جمعیتی در گله اصلاحی گوسفند افشاری بررسی شد. گله‌ای که در سال‌های گذشته سیستم جفتگیری بسته‌ای بر روی آن اعمال شده و این شرایط می‌توانسته با کاهش تنوع ژنتیکی موجب افزایش همخونی در گله و کاهش پیشرفت ژنتیکی گردد. نتایج بدست آمده از آنالیز جایگاه‌های ریزماهواره در ارتباط با معیارهای تنوع ژنتیکی همچون هتروزیگوسیتی و نیز بررسی روند تغییر میزان تشابه ژنتیکی در سال‌های گذشته نشان می‌دهد که علیرغم وجود سیستم بسته جفت‌گیری و اصلاحی در گله، هنوز مقدار تنوع ژنتیکی قابل ملاحظه‌ای در گله مورد نظر وجود دارد.

نتایج حاصل از مقایسه برآورد تشابه ژنتیکی بر مبنای شجره و داده‌های مولکولی همبستگی پایینی بین آنها را نشان می‌دهد. این نتیجه نشان می‌دهد که برآوردهای ساده تشابه ژنتیکی افراد که تنها بر اساس شراکت آللی بر مبنای تعداد محدودی جایگاه بدست آمده، نمی‌تواند مبنای دقیقی برای بیان روابط و مبنای تصمیم گیری‌های اصلاحی در گله قرار گیرد. این نتیجه ادامه استفاده از داده‌های شجره‌ای را به عنوان مبنای اصلی برآوردها پیشنهاد می-نماید. بدیهی است که با بهره‌گیری از نشانگرهای ژنتیکی با پوشش گسترده در ژنوم همچون نشانگرهای تک نوکلئوتیدی (SNPs) ممکن است این برآوردها به مقادیر واقعی نزدیک‌تر باشند.

منابع

1. Blouin M.S., Parsons, M., Lacaille, V., Lotz, S. 1996. Use of microsatellites to classify individuals by relatedness. Molecular Ecology. 5: 393-401.
2. Botstein, D., White, R. L., Skolnick, M and David, R. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. Am. J. Hum. Genet. 32: 314-331.
3. Cox T.S., Kiang, Y.T., Gorman, M.B., Rogers, D.M. 1985a. Relationships between coefficient of parentage and genetic similarity indices in the soybean. Crop Sci. 25: 529–532.
4. Cunningham E.P., Dooley J. J., Splan R. K., Bradley, D.G. 2001. Microsatellite diversity, pedigree relatedness and the contributions of founder lineages to thoroughbred horses. Anim. Genet. 32: 360–364.
5. Eding, H., Meuwissen, T. H. E. 2001. Marker-based estimates of between and within population kinships for the conservation of genetic diversity. Journal of Animal Breeding and Genetics. 118(3), 141-159.
6. Estoup A. and Angers, B. 1998. Microsatellites and minisatellites for molecular ecology: theoretical and empirical considerations. In: Advances in Molecular Ecology (ed. Carvalho GR), PP. 55–86. IOS Press, Amsterdam.
7. Falconer, D. S. and Mackay, T. F. C. 1996. Introduction to quantitative genetics. London: Longman.
8. Fernández J., Villanueva, B., Pong -Wong R., Toro, M. A. 2005. Efficiency of the Use of Pedigree and Molecular Marker Information in Conservation Programs. Genetics. 170: 1313–1321.
9. Fernández, J. and Toro, M. A. 2006. A new method to estimate relatedness from molecular markers. Molecular Ecology. 15: 1657–1667.

[7] Identical in state

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1390.6.2.7.7]

10. Goldestein D. and B., Schlötterer, C. 2000. Microsatellites: Evolution and Application, Oxford University Press.
11. Goyache, F., Gutiérrez J. P., Fernández I., Gómez E., Álvarez I., Díez J., Royo L. J. 2003. Monitoring pedigree information to conserve the genetic variability in endangered populations: the Xalda sheep breed of Asturias as an example. J. Anim. Breed. Genet. 120: 95–103.
12. Guo, S.W. and Thompson, E. A. 1992. Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportions for multiple alleles. Biometrics, 48: 361-372.
13. Gutiérrez J. P., Altarriba, J., Díaz C., Quintanilla, R., Cañón, J., Piedrafita, J. 2003. Pedigree analysis of eight Spanish beef cattle breeds. Genet. Sel. Evol. 35: 43–63.
14. Gutiérrez J.P., Goyache, F. 2004. MolKin (version 2.0) A Computer Program for Genetic Analysis of Populations Using Molecular Coancestry Information. Universidad Complutense de Madrid, Spain.
15. Hartl, D. L., Clark, A. G. 1989. Effective allele number. In: Principle of population genetics, 2nd ed. Sinaure Associates, Stunderland, M.A. (eds.), P.P. 125.
16. Hayes, B.J., Goddard, M. E. 2008. Technical note: Prediction of breeding values using marker- derived relationship matrics. J. Anim. Sci. 86: 2089- 2091.
17. Jamieson, A., and Taylor, St. C. S. 1997. Comparison of three probability formulae for parentage exclusion. Animal. Genetics. 28: 397- 400.
18. Jenkins Z.A., Henry, H. M., Galloway, S.M. Dodds, K.G., Montgomery, G.W. 1997. Comparative linkage mapping of genes on sheep chromosome 3 provides evidence of chromosomal rearrangements in the evolution of Bovidae. Cytogenet. Cell Genet. 78: 272-274.
19. Lima M. L. A.., Garcia A. A. F., Oliveira K. M., Matsuoka S., Arizono H., de Souza Jr, C. L., de Souza, A.P. 2002. Analysis of genetic similarity detected by AFLP and coefficient of parentage among genotypes of sugar cane (Saccharumspp). Theor. Appl. Genet. 104: 30–38.
20. Lumsden, J. M., Lord E. A. and Montgomery G.W., 1996. Characterization and linkage mapping of ten microsatellite markers derived from a sheep x hamster cell hybrid. Animal Genetics. 27: 203-206
21. Lynch, M. 1988. Estimation of Relatedness by DNA Fingerprinting. Mol. Biol. Evol, 5(5), 584-599.
22. Lynch, M. and Ritland, K. 1999. Estimation of pairwise relatedness with molecular markers. Genetics, 152: 1753–1766.
23. Lynch, M. and Walsh, J. B. 1998. Genetics and Analysis of Quantitative Traits. Sinauer Associates, Sunderland, MA.
24. Maddox, J.F., Davies, K. P., Crawford, A. M., Hulme, D. J., Vaiman, D., Cribiu, E. P., Freking, B.A., Beh, K. J., Cockett, N. E., Kang, N., Riffkin, C. D., Drinkwater, R., Moore, S. S., Dodds, K.G., Lumsden, J.M., van Stijn, T.C., Phua, S.H., Adelson, D.L., Burkin. H.R., Broom, J.E., Buitkamp, J., Cambridge, L., Cushwa, W.T., Gerard, E., Galloway, S.M., Harrison, B., Hawken, R.J., Hiendleder, S., Henry, H.M., Medrano, J.F., Paterson, K.A., Schibler, L., Stone, R.T., and Van Hest B. 2001. An enhanced linkage map of the sheep genome comprising more than 1000 loci. Genome Research: 11 (7): 1275-1289.
25. Malécot, G. 1948. Les mathematiques de l'heredite´. Masson et Cie, Paris
26. Mantel, N. 1967. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. Cancer Res. 27: 209 – 220.
27. Messemer, M. M., Melchinger A. E., Hermann R.G., Boopenmair, J. 1993. Relationship among early European maize inbreds II. Comparisons of pedigree and RFLP data. Crop Sci. 33: 944–950.
28. Miller, S.A., Dykes D. D. and Polesky H. F. 1998. A simple salting out procedure for extraction DNA from human nucleated cells. Nucleic Acids Research: 16: 1215.
29. Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. Genetics, 89: 583-590.
30. Rohlf, F. J. 1990. NTSYS- pc. Numerical taxonomy and multivariate analysis system. Ver. 2.02. Exeter software, Setauket, New York.
31. Robbert, J. Blonk, W., Komen, H, Kamstra, A., Johan, A. Vandeonak, M. 2009. Estimating breedinhg value with molecular relatedness and reconstructed pedigrees in natural mating populations of common sole, Solea Solea. Genetic, 184: 213. 219.
32. Sargolzaei M., Iwaisaki H., Colleau J. J. 2006. CFC 1.0 A software package for pedigree analysis and monitoring genetic diversity. Nigata University, Japan
33. Slate, J., David P. Dodds K.G., Veenvliet, B.A., Glass, B.C., Broad, T.E, McEwan, J.C. 2004. Understanding the relationship between the inbreeding coefficient and multilocus heterozygosity: theoretical expectations and empirical data. Heredity. 93: 255–265.
34. Sneath, P.H.A., Sokal, R. R. 1973. Numerical taxonomy. Freeman, San Francisco.
35. Sun, G., Wang-Pruski, G., Mayich, M., Jong, H. 2003. RAPD and pedigree-based genetic diversity estimates in cultivated diploid potato hybrids. Theor. Appl. Genet. 107, 110–115
36. Tomasco, I., Wlasiuk, G and E.P. Lessa. 2002. Evaluation of polymorphism in ten microsatellite loci in Uruguayan sheep flocks. Genetics and Molecular Biology, 25 (1): 37-41.
37. Toro, M., Barragán C., Óvilo C., Rodrigáñez J., Rodríguez C., Silió L. 2002. Estimation of co-ancestry in Iberian pigs using molecular markers. Conservation Genetics. 3: 309–320.
38. Wang, J. 2002. An Estimator for Pair wise Relatedness Using Molecular Markers. Genetics. 160: 1203–1215
39. Wang J. 2004. Sibship reconstruction from genetic data with typing errors. Genetics, 166: 1963–1979.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1390.6.2.7.7]

40. Weir, B.S. 1996. Genetic data analysis II. Sinauer Associates, Inc. Publishers. Sunderland, Massachusetts, 445 pp.
41. Wright S. 1922. Coefficients of inbreeding and relationship. American Naturalist, 56, 330-338.
42. Yeh, F.C., Yang, R.C., Boyle, T. 1999. POPGENE, version 1.31. Microsoft windows- based Freeware for population genetic analysis. Molecular Biology and Technology Center, University of Alberta, Canada.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1390.6.2.7.7]