Agricultural Biotechnology Journal
p-ISSN 2228-6705
e-ISSN 2228-6500
Shahid Bahonar University of Kerman
Iranian Biotechnology Society

Investigation of Genetic Diversity of Iran Northwest Horses Using Microsatellite Markers

Nemat Hedayat-Evrigh

*Associated Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran. Email: nhedayat@uma.ac.ir

Elham Azadmard

Graduated M.Sc. student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran. Email: Elhame.azad94@gmail.com

Reza Seyed Sharifi

Associated Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran. Email: sharifi_r@uma.ac.ir

Saeid Nikbin

Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran. Email: s_nikbin@uma.ac.ir

Mir Daryush Shakouri

Associated Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran. Email: mdshakouri@uma.ac.ir

Reza Khalkhali-Evrigh

Graduated Ph.D student, Department of Animal Breeding and Genetics, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran. Email: Rezakhalkhali110@gmail.com

Abstract

Objective

The aim of the present study was to investigate genetic diversity in six Iranian horse populations including Ardabil native horses, Ardabil clubs horses and Arab, Drehshoori, Kordi and Qarabakh breeds.

Material and Methods

To perform the present study, 100 horses were sampled. After extraction and quality assessment of DNA, polymerase chain reaction was performed for eight microsatellite markers. Genetic diversity and statistical analysis were performed using GenAlEx 6.5 software. The phylogenetic tree was constructed using microsatellite marker information indicating genetic distances of analyzed horse breeds. Also, STRUCTURE software was used to analysis of genetic structure of Iranian horse populations.

Results

The obtained results showed that the number of observed alleles in Ardabil native horses was 22, while this value for Dareshoori breed was 7.5. The observed heterozygosity was ranged from 0.865 for Kordi to 1 for Qarabakh breed. The average of observed alleles was calculated 13.729. Investigation phylogenetic tree showed that Ardabil native horses and Ardabil clubs horses have low genetic distance.

Conclusion

The investigation of genetic diversity of Iranian horses using eight microsatellite markers indicated that there is significant genetic variation in Iranian horses in the Northwest of Iran. Part of this variation is due to use of uncontrolled mating among breeds.

Keywords: Horse, Genetic diversity, Microsatellite, Genetic structure

Citation: Hedayat-Evrigh N, Azadmard E, Seyed Sharifi R, Nikbin S, Shakouri MD, Khalkhali-Evrigh R (2019) Investigation of Genetic Diversity of Iran Northwest Horses Using Microsatellite Markers. Agricultural Biotechnology Journal 11(4), 35-50.

Agricultural Biotechnology Journal 11(4), 35-50.

DOI: 10.22103/jab.2019.14552.1161

Received: October 30, 2019; Accepted: December 9, 2019

© Faculty of Agriculture and Technology Institute of Plant Production, Shahid Bahonar University of Kerman-Iranian Biotechnology Society

بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت اسب‌های شمالغرب ایران با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره‌ای

نعمت هدایت ایوریق

دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران. ایمیل: nhedayat@uma.ac.ir

الهام آزادمرد

دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران. ایمیل: Elhame.azad94@gmail.com

رضا سیدشریفی

دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران. ایمیل: sharifi_r@uma.ac.ir

سعید نیک‌بین

استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران. ایمیل: s_nikbin@uma.ac.ir

میرداریوش شکوری

دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران. ایمیل: mdshakouri@uma.ac.ir

رضا خلخالی ایوریق

دانش‌آموخته دکتری، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران. ایمیل: Rezakhalkhali110@gmail.com

تاریخ دریافت: 1397/08/08، تاریخ پذیرش: 1398/09/18

چکیده

هدف: هدف مطالعه حاضر، بررسی تنوع ژنتیکی در شش جمعیت اسب ایرانی شامل اسب‌های بومی اردبیل، اسب‌های موجود در باشگاه‌های پرورش اسب اردبیل و نژادهای عرب، دره‌شوری، کردی و قره‌باغ بود.

مواد و روش‌ها: برای انجام مطالعه حاضر، از 100 راس اسب نمونه‌گیری به عمل آمد. پس از استخراج و تعیین کیفی DNA، واکنش زنجیره‌ای پلیمراز برای هشت نشانگر ریزماهواره‌ای مورد مطالعه، صورت گرفت. تنوع ژنتیکی و آنالیزهای آماری با استفاده از نرم‌افزار GenAlEx 6.5 محاسبه شد. درخت فیلوژنیکی با استفاده از اطلاعات نشانگرهای ریزماهواره‌ای رسم گردید که نشانگر فواصل ژنتیکی این اسب‌ها می‌باشد. همچنین ساختار ژنتیکی جمعیت‌های اسب‌های ایرانی با استفاده از نرم‌افزار STRUCTURE مورد آنالیز قرار گرفت.

نتایج: نتایج بدست آمده نشان داد که تعداد آلل‌های مشاهده شده در اسب‌های بومی اردبیل برابر با 22 است در حالیکه این مقدار برای نژاد دره‌شوری 7/5 می‌باشد. هتروزیگوسیتی مشاهده شد در محدوده 0/865 برای نژاد کردی تا 1 برای نژاد قره‌باغ بود. میانگین کل تعداد آلل‌های مشاهده شده برابر با 13/729 محاسبه شد. بررسی درخت فیلوژنتیکی نشان داد که اسب‌های بومی اردبیل و اسب‌های باشگاه‌های پرورش اسب اردبیل دارای فاصله ژنتیکی کمی می‌باشند.

نتیجه‌گیری: بررسی تنوع ژنتیکی اسب‌های ایرانی با استفاده از هشت نشانگر ریزماهواره‌ای، نشان داد که تنوع ژننتیکی قابل توجهی در جمعیت اسب‌های ایرانی در شمالغرب ایران وجود دارد. بخشی از این تنوع به دلیل استفاده از آمیزش‌های کنترل نشده بین نژادی می‌باشد.

کلمات کلیدی: اسب، تنوع ژنتیکی، ریزماهواره، ساختار ژنتیکی

مقدمه

بر اساس شواهد که اسب‌ها در حدود 5500 سال پیش در استپ‌های آسیای غربی اهلی شده و سپس به سرعت در سرتاسر جهان گسترش یافته‌اند (Warmuth et al. 2012). یافته‌های باستان‌شناسی، حضور اسب در ایران را در حدود 3000 سال قبل از میلاد مسیح نشان می‌دهند (Khalili 2009). اعتقاد بر این است که نژادهای اسب مدرن دنیا از چهار تیپ اصلی (پونی تیپ 1 یا Celtic؛ پونی تیپ 2 یا پونی Tundra؛ اسب تیپ 1 یا اسب Plain؛ اسب تیپ 2) که از آمریکای شمالی به آسیا مهاجرت کرده‌اند، مشتق شده‌اند (Mostafavi et al. 2020). به علاوه، فرض بر این است که اسب سبک مدرن باید از اسب تیپ 1 یا تیپ 2 یا از هر دو تیپ منشا گرفته باشد. در بین نژادهای اسب مدرن گوناگون در جهان، گروه ترکمن (قره‌باغ) و پونی کاسپین هم از نظر آناتومیکی (استخوانی) و هم از نظر ساختاری به ترتیب مشابهت بالایی با اسب تیپ 1 و 2 دارند (Mostafavi et al. 2020).

فرضیه پیشنهادی دیگر این است که پونی کاسپین جد پیش‌تیپ[1] عرب است. بنابراین، بر اساس این فرضیه می‌توان این اسب را به عنوان منشا بیشتر اسب‌های مدرن در نظر گرفت (Mostafavi et al. 2020). اسب‌ها یکی از مهمترین و تاثیرگذارترین گونه‌های اهلی شده به دست بشر به شمار می‌آیند. این حیوان در طول تاریخ، به عنوان تامین کننده غذا، وسیله‌ای برای حمل و نقل، مشارکت در کارهای کشاورزی و ورزش مورد استفاده قرار گرفته است (Wade et al. 2009). در کل، 784 نژاد اسب در سرتاسر جهان وجود دارد که از این تعداد، 655 نژاد از نوع محلی، 62 نژاد از نوع منطقه‌ای و 67 نژاد نیز از نوع بین‌المللی می‌باشند (Khadka 2010). براساس آمار ارائه شده توسط FAOSTAT (2017)، کشور آمریکا با دارا بودن حدود 192 میلیون راس اسب، بیشترین تعداد اسب در جهان را به خود اختصاص داده است و ایران نیز با تعداد حدود 132 هزار راس، جز کشورهایی با تعداد متوسط اسب به شمار می‌رود. اسب‌های موجود در ایران شامل نژادهای مختلفی از جمله ترکمن، دره‌شوری، کردی، عرب، سیستانی و اسبچه خزر می‌باشند که تنوع ژنتیکی خوبی را ایجاد کرده‌اند. وجود تنوع ژنتیکی مطلوب در یک گونه و یا یک جمعیت، این شانس را به آن گونه یا آن جمعیت می‌دهد تا در مقابل مخاطرات و تغییرات محیطی، انعطاف بیشتری داشته باشد (Willi et al. 2006). در واقع تنوع ژنتیکی یک عامل مهم برای پیشرفت ژنتیکی و سازگاری به شرایط محیطی به شمار می‌رود (Mousavizadeh et al. 2009). بنابراین کمک به حفظ تنوع ژنتیکی در یک گونه این امکان را فراهم می‌آورد تا با توجه به تغییرات شدید اقلیمی در قرن اخیر، تا حدودی، بقای آن گونه در طبیعت، تضمین شده و از خطر انقراض دور بماند. برآورد تنوع ژنتیکی و شناسایی قابلیت‌های یک گونه، اولین گام برای کمک به حفظ تنوع ژنتیکی و بقای آن گونه به شمار می‌رود. حفاظت از یک گونه باید با استفاده از شناخت عمیق از منابع ژنتیکی آن گونه صورت بپذیرد (Ruzina et al. 2010; Shamsalddini et al. 2016) و در این مسیر، استفاده از تکنیک‌های ملکولی بسیار مهم و برای طبقه‌بندی آن‌ها مفید است (Soufy et al. 2009; Zamani et al. 2015)

یکی از ابزارهای کاربردی که به منظور تعیین سطح تنوع ژنتیکی جمعیت‌های مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرد، به کارگیری نشانگرهای مولکولی می‌باشد (Vajed Ebrahimi et al. 2017). یکی از بهترین نشانگرهای مولکولی برای مطالعه تنوع ژنتیکی در حیوانات مختلف، توالی‌های ریزماهواره‌ای می‌باشد (Mohammadifar and Mohammadabadi, 2011). توالی‌های ریز ماهواره‌ای یکی از متنوع‌ترین قسمت‌های ژنوم موجودات مختلف به شمار می‌روند (Ellegren 2004). این توالی‌ها به صورت تصادفی در سرتاسر ژنوم بیشتر یوکاریوتها پراکنده شده و به مقدار بالایی دارای چند شکلی هستند (Abdul-Muneer 2014). به همین دلایل، توالی‌های ریزماهواره‌ای به طور گسترده‌ای برای مطالعه تنوع ژنتیکی در داخل و بین جمعیت‌های گونه‌های مختلف دام و طیور از جمله گاو (Sun et al. 2008; Sharma et al. 2015)، گوسفند (d'Angelo et al. 2009; Mohammadifar and Mohammadabadi 2011; Huson et al. 2015; Vajed Ebrahimi et al. 2016; Vajed Ebrahimi et al. 2017)، شتر (Ghasemi Meymandi et al. 2015; Patel et al. 2015; Nouairia et al.2015)، بز (Askari et al. 2008; Askari et al. 2009; Bulut et al., 2016; Guang-Xin et al. 2019)، مرغ (Mohammadabadi et al.

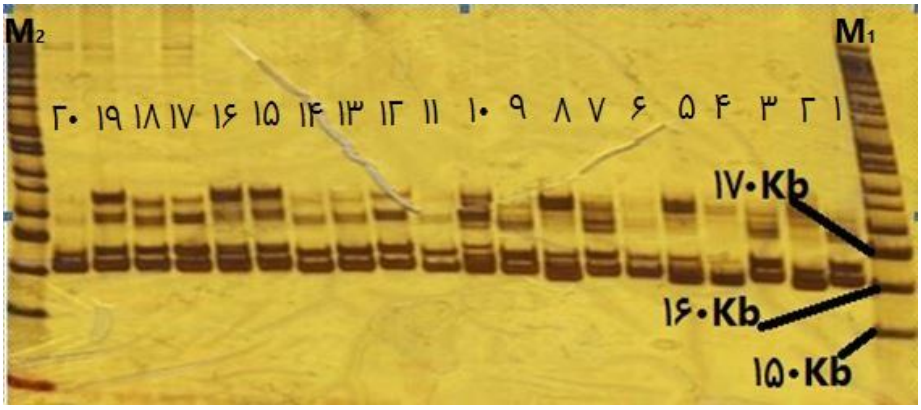
[1] Proto-type

2010) و بلدرچین (Mohammadifar et al. 2009) مورد استفاده قرار می‌گیرند. مطالعات پیشین که به منظور بررسی تنوع ژنتیکی با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره‌ای و در اسب‌های کردی (Ala-Amjad et al. 2017) و ترکمن (Samuzad et al. 2013) پرداخته بودند؛ تنوع بالایی در این جمعیت‌ها را گزارش کردند. پیشتر، تنوع ژنتیکی اسب‌های شهرستان اردبیل که از روستاها و باشگاه‌های پرورش اسب نمونه برداری شده بودند با استفاده از نشانگرهای میتوکندریایی صورت پذیرفته بود که تنوع ژنتیکی بالایی را نیز نشان داد (Hedayat-Evrigh et al. 2018). هدف تحقیق حاضر، استفاده از هشت جایگاه ریزماهواره‌ای به منظور مطالعه تنوع ژنتیکی در اسب‌های شهرستان اردبیل و همچنین تعدادی از اسب‌های نژاد دره‌شوری، عرب، کردی و قره‌باغ بود.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه از تعداد 100رأس اسب شامل 43 راس از نقاط مختلف استان اردبیل اعم از روستاها و عشایر، 25 راس از باشگاه‌های پرورش اسب در اردبیل، 12 راس اسب کردی، 10 راس اسب عرب، 5 راس اسب دره‌شوری و 5 راس اسب قره‌باغ نمونه‌برداری به عمل آمد. نمونه‌گیری از سیاهرگ وداجی و به اندازه 5 میلی‌لیتر انجام گرفت. خون نمونه‌گیری شده، در لوله‌های ونوجکت حاوی EDTA (ماده‌ی ضد انعقاد خون) جمع آوری گردید و بعد از انتقال به آزمایشگاه تا پایان مراحل تحقیق در دمای 20- درجه سانتیگراد در فریزر نگهداری شدند. استخراج DNA با استفاده از کیت استخراج DNA از خون پستانداران (Exegen) متعلق به شرکت GENEALL (سئول، کره‌جنوبی) صورت پذیرفت. از آنجایی که کیفیت DNA استخراج شده همبستگی بالایی با میزان دقت و صحت آنالیزها و محاسبات بعدی دارد، لذا تعیین کیفی DNA در مطالعه حاضر با استفاده از ژل آگارز 0/8 درصد صورت گرفت.

جهت تعیین و تکثیر ژنوتیپ جایگاه‌های ریزماهواره‌ای در اسب‌های نمونه‌گیری شده، از 8 پرایمر مربوط به جایگاه ریزماهواره‌ای مورد مطالعه (جدول 1) و بر اساس توصیه FAO/ISAC استفاده شد (FAO, 2011). محلول PCR در حجم 25 ماکرو لیتر آماده شد که شامل 0/2 میلی‌مول dNTP، 1/2 میلی‌مول $MgCl_2$، 1/5 واحد آنزیم پلیمراز Taq (Ampliqon)، 15 پیکومول از آغازگرهای رفت و برگشت و 100 نانوگرم DNA بود. جهت تعیین ژنوتیپ جایگاه‌های ریزماهوره‌ای، محصول PCR هر جایگاه با 5 میکرولیتر رنگ مخلوط شده و سپس روی ژل اکریل آمید 8% بارگذاری صورت گرفت (شکل 1). پس از اتمام جریان بارگذاری، ژل با روش نیترات نقره رنگ‌آمیزی شده و برای مشاهده و تعیین اندازه باند ایجاده شده برای هر جایگاه، از نرم‌افزار تعیین ژنوتیپ PyElph1.4 استفاده شد.



شکل1.کیفیت اندازه محصول PCR جایگاه‌ها برای تعیین ژنوتیپ نشانگرهای ریزماهواره‌ای

Figure 1. The quality of PCR products for microsatellite markers genotyping

جدول 1. ویژگی‌های آغازگرهای استفاده شده در مطالعه کنونی

Table 1. Characteristic of used primers in current study

نشانگر Marker	آغازگر رفت Forward primer	آغازگر برگشت Backward primer	دمای اتصال Annealing Temperature
HMS07	5-CAGGAAACTCATGTTGATACCATC-3	5-TGTTGTTGAAACATACCTTGACTGT-3	69
COR058	5-GGGAAGGACGATGAGTGAC-3	5-CACCAGGCTAAGTAGCCAAAG-3	58
COR082	5-GCTTTTGTTTCTCAATCCTAGC-3	5-TGAAGTCAAATCCCTGCTTC-3	59
LEX54	5-TGCATGAGCCAATTCCTTAT-3	5-TGGACAGATGACAGCAGTTC-3	55
ASB02	5-CCTTCCGTAGTTTAAGCTTCT-3	5-CACAACTGAGTTCTCTGATAGG-3	55
LEX33	5-TTTAATCAAAGGATTCAGTTG-3	5-TTTCTCTTCAGGTGTCCTC-3	60
HMS03	5-CCAACTCTTTGTCACATAACAAGA-3	5-CCATCCTCACTTTTTCACTTTGTT-3	60
COR071	5-CTTGGGCTACAACAGGGAATA-3	5-CTGCTATTTCAAACACTTGGA-3	58

در مطالعه حاضر، به منظور محاسبه آماره‌هایی مانند تعداد آلل‌های موثر (Ne)، تعداد آلل‌های مشاهده شده (No)، هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Ho)، هتروزیگوسیتی مورد انتظار (He)، میزان جریان ژنی (Nm)، شاخص شانون (Shannon Index) و همچنین آماره‌های F (F_{ST}، F_{IS} و F_{IT}) از نرم‌افزار GenAlEx 6.5 (Peakall and Smouse, 2012) استفاده شد. ترسیم درخت فیلوژنتیکی که به نوعی بیانگر فاصله ژنتیکی بین جمعیت‌های مورد مطالعه می‌باشد، با استفاده از اطلاعات مربوط به هشت نشانگر ریزماهواره‌ای و با کمک نرم‌افزار TreeView (Page 1996) انجام گرفت. از آنجایی که مطالعه ساختار ژنتیکی یک جمعیت، می‌تواند در درک وضعیت ژنتیکی آن جمعیت و میزان اختلاط‌های ژنی و خلوص آن جمعیت اطلاعات ارزنده‌ای را در اختیار محقق قرار دهد لذا از برنامه STRUCTURE (Pritchard et al. 2000) برای نیل به این هدف استفاده شد. این نرم افزار 20

بار برای هر k (2-20) بارگذاری گردید. نتایج در این مطالعه مطابق پیش‌فرض نرم‌افزار با 106تکرار بعد از 105 دوره قلق‌گیری با فرض مدل مختلط، مدل تصحیح فراوانی آللی و با توزیع یکنواخت برای همه کلاسترها به دست آمد.K=4 بهترین پراکنش و توزیع ژنی را در بین جمعیت‌ها نشان می‌دهد.

نتایج و بحث

بررسی آماره های F براساس جایگاه‌های ریزماهواره‌ای نشان داد که آماره‌ی F_{IS} (هم‌خونی کل جمعیت‌ها) در جایگاه COR082 با عدد 0/018 بیشترین مقدار و در جایگاه LEX54 با عدد 0/115- کمترین مقدار را در کل جمعیت‌ها به خود اختصاص دادند. در مورد آماره‌ی F_{ST} (تمایز جمعیت‌ها)، بیشترین و کمترین مقدار مربوط به دو جایگاه ASB02 و COR071 بود که به ترتیب مقادیر 0/058 و 0/033 را نشان دادند، که براساس دسته بندی Wright (1978) حاکی از تمایز ژنتیکی متوسط در جمعیت‌های مورد بررسی بود. آماره‌ی F_{IT} (هم‌خونی در بین جمعیت‌ها) در این جایگاه‌ها نشان داد که بیشترین مقدار این آماره مربوط به جایگاه LEX33 با 0/095 و کمترین مقدار نیز مربوط به جایگاه LEX54 با 0/076- است (جدول 2). مقادیر مثبت F_{IS} می تواند نشانگر احتمال وجود درون‌آمیزی و تولید مثل بین خویشاوندان در جمعیت باشد. میزان F_{ST} در 8 جایگاه، مقادیر مثبتی را نشان داد که می‌تواند نمایانگر تمایز ژنتیکی بین جمعیت‌ها باشد. میانگین F_{ST} برای جایگاه‌های مورد مطالعه (0/044) در واقع بیانگر این امر است که حدود 4/4 درصد از تنوع ژنتیکی موجود، مربوط به آلل‌های منحصر به فرد در بین نژادها و مابقی تنوع (95/6 درصد) نیز مربوط به تنوع داخل جمعیتی در هر نژاد می‌باشد. در این مطالعه، بیشترین چند شکلی، مربوط به جایگاه COR082 با میانگین 16/833 بود و کمترین مقدار چندشکلی نیز در جایگاه COR071 با 10/333 مشاهده شد (جدول 2). همچنین میانگین تعداد آلل مشاهده شده در جمعیت اسب‌های بومی اردبیل برابر با 22 بود در حالیکه این مقدار برای اسب‌های نژاد دره‌شوری مساوی با 7/5 آلل بدست آمد (جدول 3). میانگین تعداد آلل‌های مشاهده شده به ازای هر جایگاه، برابر با 13/729 به دست آمد که نشان از تنوع مناسب در جمعیت‌های مورد مطالعه می‌باشد. یکی از دلایل این امر را می‌توان به انتخاب حیوانات غیر خویشاوند در هنگام نمونه‌گیری و همچنین نشانگرهای مورد مطالعه نسبت داد. جمعیت‌های مورد مطالعه در تحقیق حاضر از نظر تعداد آلل‌های مشاهده شده، در مقایسه با جمعیت اسب‌های کاسپین ایران (8/69؛ Shahsavarian and Rahimi-Mianji, 2010)، اسب‌های تونس (6/794؛ Jemmali et al. 2017)، اسب‌های نژاد هالا در کره‌جنوبی (10/41؛ Seo et al. 2016) و جمعیت اسب‌های مورد مطالعه در بوتان (8/06؛ Dorji et al. 2018) مقدار بیشتری را نشان دادند. هرچند تعداد نمونه‌ها و همچنین نوع نشانگرهای ریزماهواره‌ای مورد مطالعه، در این مقادیر تاثیرگذار هستند. بخشی از بالا بودن این میانگین مربوط به اسب‌های بومی و موجود در باشگاه‌های پرورش اسب اردبیل بود که اسب‌هایی با آمیختگی بالا به شمار می‌روند. عموما این اسب‌ها توسط افرادی نگهداری می‌شوند که به نحوه جفت‌گیری و حفظ اصالت اسب‌ها دقت چندانی ندارند. کمترین تعداد آلل‌های مشاهده شده در مورد نژاد قره‌باغ بود که می‌تواند به دلیل تعداد کم نمونه‌ها در این نژاد باشد.

جدول 2. آماره‌های F و Nm مربوط به نشانگرهای ریزماهواره‌ای مورد استفاده در مطالعه کنونی

Table 2. F-statistics and Nm related to used microsatellites markers in current study

Nm	F_{ST}	F_{IT}	F_{IS}	Na	جایگاه Locus
4.788	0.05	0.012	-0.039	12.333	HMS071
5.313	0.045	0.024	0.073	16	COR058
5.286	0.045	-0.063	0.018	16.833	COR082
6.901	0.035	-0.076	-0.115	11.833	LEX54
4.584	0.058	-0.009	-0.071	16.667	ASB02
5.254	0.045	0.095	0.052	12.167	LEX33
6.340	0.038	-0.043	-0.09	13.667	HMS03
7.392	0.033	-0.052	0.088	10.333	COR071
5.668	0.044	0.005	-0.051	13.727	میانگین (خطای استاندارد)
(0.394)	(0.003)	(0.021)	(0.02)	(0.876	Mean (SE)

شاخص شانون نیز مطابق با تعداد آلل‌های مشاهده شده و مورد انتظار بود به نحوی که مقدار این شاخص برای اسب‌های بومی اردبیل 2/866 و برای نژاد دره‌شوری 1/926 بدست آمد. این شاخص به طور کلی نمایانگر میزان تنوع جایگاه مورد نظر به شمار می‌رود و مقادیر بالای این شاخص نشان دهنده میزان تنوع بالا در آن جایگاه است. نژاد قره‌باغ با مقدار هتروزیگوسیتی مشاهده شده برابر با 1، مقدار بالایی از تنوع را نشان داد و اسب‌های نژاد کردی نیز در مقایسه با دیگر جمعیت‌های مورد مطالعه، مقدار کمتری از هتروزیگوسیتی را (0/865) را نمایان کردند. میانگین هتروزیگوسیتی قابل مشاهده (0/935) و مورد انتظار (0/89) برای اسب‌های ایرانی در مقایسه با اسب‌های چینی (0/6603 برای He و 0/5131 برای Ho؛ Zeng et al. 2019) مقدار بیشتری را نشان دادند. در بین اسب‌های مورد مطالعه، اسب‌های بومی اردبیل (0/931) و اسب‌های نمونه‌گیری شده از باشگاه‌های اردبیل (0/955) میزان هتروزیگوسیتی و تنوع ژنتیکی بالایی را نشان دادند که در تطابق با نتایج مربوط به مطالعه اسب‌های اردبیل با استفاده از نشانگرهای میتوکندریایی بود. به طوریکه تعداد 40 هاپلوتایپ در قالب 9 هاپلوگروه برای این اسب‌ها گزارش شد (Omri-kulankoh et al. 2018)

در یک مطالعه بر روی اسب‌های عرب که در دو گروه اسب‌های عرب خاورمیانه و غربی طبقه‌بندی شده بودند، مقدار میانگین هتروزیگوسیتی در اسب‌های عرب خاورمیانه (0/7) به وضوح از این مقدار در اسب‌های عرب غربی (0/59) بالاتر بود (Khanshour et al. 2013). مقدار هتروزیگوسیتی اسب‌های عرب ایران (نماینده‌ای از خاورمیانه) در این مطالعه بالا گزارش شد که می‌تواند به دلیل تمایل اسب‌داران کشور به استفاده از خون نژاد عرب باشد و از این‌رو میزان اختلاط در این نژاد در کشور بالا است. مقدار

هتروزیگوسیتی مورد انتظار در جمعیت‌های بومی اردبیل و کردی بیشتر از میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده بود؛ این حالت در واقع زمانی رخ می‌دهد که آمیزش‌ها در یک جمعیت، از حالت تصادفی خارج شده باشند.

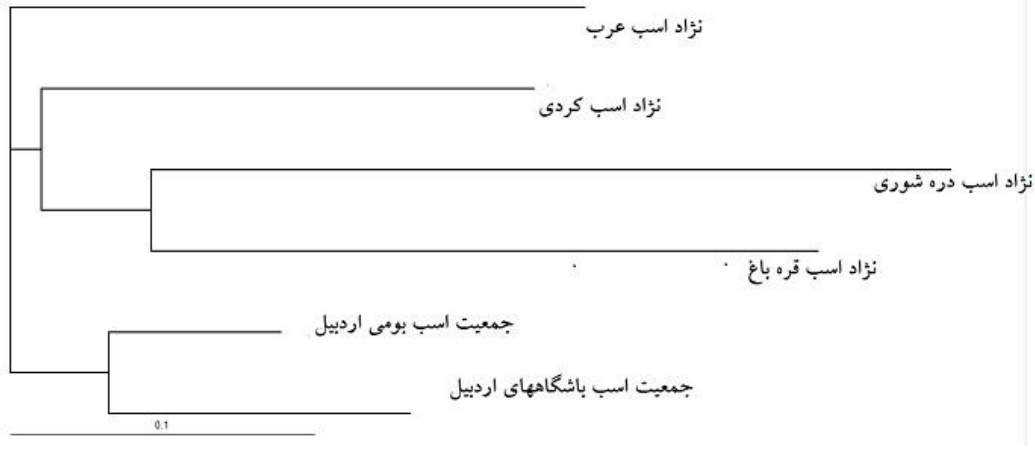
جدول 3. تنوع ژنتیکی در هشت جایگاه ریزماهواره‌ای در جمعیت اسب‌های مورد مطالعه

Table 3. Genetic variation in eight microsatellite loci in under study horse populations

He	Ho	Shannon index	Ne	Na	جمعیت Population
0.931±0.006	0.913±0.019	2.866±0.098	15.588±1.665	22±2.053	بومی اردبیل Ardabil native
0.926±0.007	0.955±0.024	2.773±0.088	14.367±1.289	19.25±1.497	باشگاه‌های اردبیل Ardabil clubs
0.838±0.018	0.95±0.033	1.926±0.085	6.572±0.533	7.5±0.463	دره‌شوری Drehshoori
0.897±0.009	0.865±0.057	2.431±0.083	10.301±0.977	13.125±0.991	کردی Kordi
0.894±0.01	0.925±0.025	2.401±0.091	10.129±1.11	12.75±0.996	عرب Arab
0.853±0.008	1.0±0.0	1.984±0.053	6.932±0.385	7.75±.366	قره‌باغ Qarabakh
0.89±0.007	0.935±0.014	2.397±0.061	10.648±0.648	13.729±0.915	مجموع Total

نتایج آنالیز هشت جایگاه ریزماهواره‌ای در جمعیت‌های مورد مطالعه، نشان داد که جمعیت اسب‌های بومی اردبیل و اسب‌های موجود در باشگاه‌های پرورش اسب اردبیل فاصله ژنتیکی کمی دارند و به طور کلی از چهار جمعیت مورد مطالعه دیگر، دارای فاصله هستند به طوری‌که که آنها را می‌توان در یک کلاس قرار داد (شکل 2). یکی از دلایل مهم فاصله ژنتیکی پایین در بین اسب‌های اردبیل، اختلاط ژنتیکی بین اسب‌های بومی اردبیل و اسب‌های موجود در باشگاه‌های پرورش اسب این شهرستان به دلیل نزدیکی جغرافیایی می‌باشد. درخت رسم شده نشان داد که اسب‌های عرب نیز تا حدودی، جمعیتی جداگانه به شمار می‌روند و نژادهای کردی، دره‌شوری و قره‌باغ نیز در یک خوشه نزدیک به هم قرار گرفتند. مطالعه نشانگرهای ریزماهواره‌ای متفاوت در بین جمعیت اسب‌های

ایرانی، می‌تواند درک بهتر و دقیق‌تری از فواصل و تنوعات ژنتیکی را در اختیار محققین قرار بدهد و اطلاعات ما را در مورد وضعیت این حیوان مهم در کشور بالاتر ببرد.

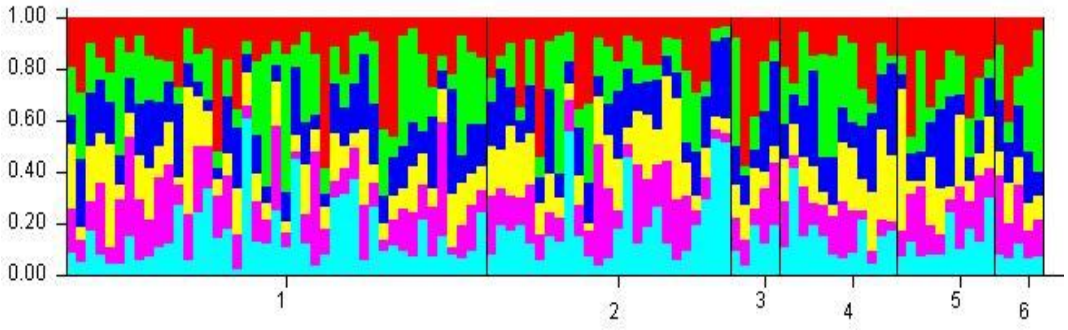


شکل 2. درخت فیلوژنتیکی جمعیت‌های مورد مطالعه؛ بر اساس هشت نشانگر ریزماهواره‌ای

Figure 2. Phylogenetic tree of under study horse populations; based on eight microsatellite markers

به انتقال ژن‌های یک جمعیت به جمعیت دیگر که در اثر فرآیندهایی مانند مهاجرت به وقوع می‌پیوندد، جریان ژنی گفته می‌شود (Ellstrand and Rieseberg, 2016) که مطالعه این پدیده می‌تواند به ما این امکان را بدهد تا دید بازتری از سطح آمیختگی و تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های مورد مطالعه به دست بیاوریم. نتایج حاصل از آنالیز ساختار ژنتیکی جمعیت‌های مورد بررسی با استفاده از نرم‌افزار STRUCTURE نشان داد که جریان ژنی وسیعی در جمعیت‌های اسب ایرانی مورد مطالعه وجود دارد و میزان اختلاط ژنی در داخل هر جمعیت نیز تفاوت چندانی با مقدار و ترکیب اختلاط ژنی در جمعیت‌های دیگر ندارد (شکل 3)، بنابراین نمی‌توان دسته‌بندی دقیقی از لحاظ ژنتیکی در مورد اسب‌های بومی ایران داشته باشیم و لذا تفاوتهای ظاهری منجر به دسته‌بندی‌های نژادی شده است. هر چند اختلاط ژنی باعث ایجاد تنوع بالا در اسب‌های مورد مطالعه شده است اما این امر چندان مطلوب به نظر نمی‌رسد. زیرا با روند در پیش گرفته شده، خلوص نژادی در بسیاری از جمعیت‌های اسبی در کشور در حال کاهش می‌باشد. وحدانی‌مناف و همکاران (2016) نیز در مطالعه‌ای بر روی تنوع ژنتیکی در اسب‌های کردی، بالا بودن تنوع ژنتیکی و آللی در این نژاد را با آمیزش‌های غیر اصولی بین‌نژادی مرتبط دانسته بودند. وجود نژادهای مختلف در کشور یک فرصت استثنایی برای کارهای اصلاحی و حتی ایجاد فرصت‌های مناسب اقتصادی می‌باشد. اما در حال حاضر با بی‌برنامگی در زمینه اصلاح نژاد اسب‌های ایرانی، به نظر می‌رسد این فرصت در حال بدل شدن به یک تهدید جدی می‌باشد. لازم به ذکر است رنگ های مختلف در شکل 4 نشان دهنده Kهای مختلف در حیوانات مورد بررسی می‌باشند. هر فرد بصورت خط عمودی در شکل در نظر گرفته شده که بوسیله رنگ‌های مختلف و اختلاط رنگ‌ها نشان داده شده‌اند. اعداد نمایان شده در محور افقی شکل نیز جمعیت‌های مورد بررسی را نشان

می‌دهند. نتایج مطالعه کنونی مطابق با نتایج مطالعات بررسی تنوع ژنتیکی اسب‌های شمالغرب ایران با استفاده از کروموزوم Y (Hedayat-Evrigh et al. 2019) و میتوکندری (Hedayat-Evrigh et al. 2018) بود که نشان از تنوع بالا و اختلاط در خط پدری و مادری در این اسب‌ها می‌داد.



شکل 3. خوشه‌بندی ساختار ژنتیکی اسب‌های مورد مطالعه با استفاده از نرم‌افزار STRUCTURE؛ محور افقی نشان دهنده جمعیت‌های حاضر در این مطالعه شامل اسب‌های بومی اردبیل (1)، اسب‌های باشگاه‌های اردبیل (2)، نژاد دره‌شوری (3)، نژاد کردی (4)، نژاد عرب (5) و نژاد قره‌باغ (6)

Figure 3. Clustering the genetic structure of under study horses using STRUCTURE software; the horizontal axis represents the present populations in this study including Ardabil native horses (1), Ardabil clubs horses (2), Drehshoori breed (3), Kordi breed (4), Arab breed (5) and Qarabakh breed (6)

نتیجه‌گیری

بررسی تنوع ژنتیکی با استفاده از هشت نشانگر ریزماهواره‌ای و همچنین استفاده از نرم‌افزار STRUCTURE برای بررسی ساختار ژنتیکی جمعیت‌ها در این مطالعه، نشان داد که تنوع ژنتیکی و اختلاط ژنی قابل توجهی در جمعیت اسب‌های ایرانی وجود دارد که بخشی زیادی از این تنوع و اختلاط به دلیل استفاده از آمیزش‌های کنترل نشده بین نژادی می‌باشد. اغلب پرورش دهندگان بومی اسب، بدون توجه به اصالت نریان، از اسب‌هایی با خصوصیات ظاهری خاصی برای باروری مادیان خود استفاده می‌کنند و این مسئله عاملی برای اختلاط ژنی بالا و از بین رفتن خلوص در اسب‌های بومی و همچنین دیگر نژادهای ایرانی شده است. نتایج این مطالعه نشان می دهد که میزان جریان ژنی در بین نژادهای مورد مطالعه به شدت بالا بوده و بی‌برنامگی و عدم مدیریت در این مسئله می‌تواند عواقب بدی برای بسیاری از نژادهای حاضر بخصوص نژادهایی با جمعیت‌های کوچک مانند نژاد قره‌باغ در کشور داشته باشد.

منابع

خلیلی مسعود (1388) اسب و آنچه من می‌دانم. نشر زارع، تهران، ایران، 694

سموزاد محبوبه، نصیری محمدرضا، اسلمی‌نژاد علی‌اصغر، طهمورث‌پور مجتبی، دوستی محمد، غیادی عبدالجلیل (1391) بررسی تنوع ژنتیکی در اسب اصیل ترکمن با استفاده از 4 جایگاه ریزماهوراه. نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران 4، 351-345

عسکری ناهید، محمدآبادی محمدرضا، بیگی‌نصیری محمدتقی، باقی‌زاده امین، فیاضی جمال (1387) مطالعه تنوع ژنتیکی بز کرکی رائینی بر اساس نشانگرهای ریزماهواره. دانش کشاورزی 4، 161-155

علامجدی مطهره، مهربانی یگانه حسن، صادقی مصطفی (1396) بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت اسب کرد ایران با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره‌ای. مجله علوم دامی ایران 3، 342-335

عمری‌کولانکوه مصطفی، هدایت‌ایوریق نعمت، بوستان آزاده، سیدشریفی رضا، واحدی وحید، خلخالی‌ایوریق رضا (1397) شناسایی پاپلوگروه‌های مادری جمعیت اسب‌های استان اردبیل با استفاده از ناحیه کنترل ژنوم میتوکندریایی. فصلنامه علمی پژوهشی محیط زیست جانوری 11، 68-63

قاسمی‌میمندی مهرداد، محمدآبادی محمدرضا، اسمعیلی‌زاده کشکوئیه علی (1394) تنوع ژنتیکی شترهای شمال استان کرمان با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره. فصلنامه تحقیقات تولیدان دامی 4، 45-35

محمدی‌فر آمنه، امیرنیا سیروس، میرزایی حمیدرضا، محمدآبادی رضا (1388) بررسی تنوع ژنتیکی در جمعیت بلدرچین ایستگاه میبد یزد با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره. نشریه علومی دامی (پژوهش و سازندگی) 82، 72

محمدی‌فر آمنه، محمدآبادی محمدرضا (1390) کاربرد نشانگرهای ریزماهواره‌ای برای مطالعه ژنوم گوسفند کرمانی. نشریه علوم دامی ایران 42، 344-337

هدایت‌ایوریق نعمت، خلخالی‌ایوریق رضا، سیدشریفی رضا، عمری مصطفی (1398) تنوع ژنتیکی خط پدری اسب‌های ایرانی با استفاده از توالی‌یابی بخشی از کروموزوم Y. نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران 11(3)

واجدابراهیمی محمدتقی، محمدآبادی محمدرضا، اسمعیلی‌زاده کشکوئیه علی (1394) بررسی تنوع ژنتیکی پمج جمعیت گوسفند ایرانی با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره‌ای. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی 7، 158-143

وحدانی‌مناف محمدامین، مشایخی محمدرضا، حسن‌پور علی، ایوبی محمدرضا (1396) بررسی تنوع ژنتیکی در جمعیت اسب‌های کرد ایران. نشریه پژوهش‌های علومی دامی 27، 102-95

References

Abdul-Muneer P (2014) Application of microsatellite markers in conservation genetics and fisheries management: recent advances in population structure analysis and conservation strategies. Genet Res Int 2014.

Askari N, Baghizadeh A, Mohammadabadi MR (2008) Analysis of the genetic structure of Iranian indigenous Raeni Cashmere goat populations using microsatellite markers. Biotechnol *2*, 1-4.

Bulut Z, Kurar E, Ozsensoy Y, Altunok V, Nizamlioglu M (2016) Genetic diversity of eight domestic goat populations raised in Turkey. BioMed Res Int.

D'Angelo F, Albenzio M, Sevi A, Ciampolini R, Cecchi F, Ciani E, Muscio A (2009) Genetic variability of the Gentile di Puglia sheep breed based on microsatellite polymorphism. J Anim Sci 87, 1205-1209.

Dorji J, Tamang S, Tshewang T et al. (2018) Genetic diversity and population structure of three traditional horse breeds of Bhutan based on 29 DNA microsatellite markers. PloS one 13, e0199376.

Ellegren H (2004) Microsatellites: simple sequences with complex evolution. Nat Rev Genet 5, 435.

Ellstrand NC, Rieseberg LH (2016) When gene flow really matters: gene flow in applied evolutionary biology. Evol Appl 9, 833-836.

FAO (2011) Molecular genetic characterizationof animal genetic resources. Food andAgriculture Organization of the UnitedNations Publ., Rome, Italy. Available from:http://www.fao.org/docrep/014/i2413e/i2413e00.pdf

FAO: FAOSTAT (2017) Food and Agricultural Organisation, Statistical Databases.

Guang-Xin E, Hong QH, Zhao YJ, Ma YH, Chu MX, Zhu L, Huang YF (2019) Genetic diversity estimation of Yunnan indigenous goat breeds using microsatellite markers. Ecol Evol 9, 5916.

Hedayat-Evrigh H, Omri M, Boustan A et al. (2018) Genetic Diversity and Structure of Iranian Horses' Population Based on Mitochondrial Markers. J Equine Vet Sci 64, 107-111.

Huson KM, Haresign W, Hegarty M, Blackmore T, Potter C, McEwan N (2015) Assessment of genetic relationship between six populations of Welsh Mountain sheep using microsatellite markers. Czech J Anim Sci 60, 216-223.

Jemmali B, Haddad MM, Barhoumi N et al. (2017) Genetic diversity in Tunisian horse breeds. Arch Anim Breed 60, 153-160.

Khadka R (2010) Global horse population with respect to breeds and risk status. European Master in Animal Breeding and Genetics. Swedish University of Agricultural Sciences.

Khanshour A, Conant E, Juras R et al. (2013) Microsatellite analysis of genetic diversity and population structure of Arabian horse populations. J Heredity 104, 386-398.

Mohammadabadi MR, Nikbakhti M, Mirzaee HR et al. (2010) Genetic variability in three native Iranian chicken populations of the Khorasan province based on microsatellite markers. Russ J Genet 46, 505-509.

Mousavizadeh A, Mohammad Abadi M, Torabi, A et al. (2009) Genetic polymorphism at the growth hormone locus in Iranian Talli goats by polymerase chain reaction-single strand conformation polymorphism (PCR-SSCP). Iranian J Biotech 7, 51-53.

Nouairia G, Kdidi S, Salah RB, Hammadi M, Khorchani T, Yahyaoui MH (2015) Assessing genetic diversity of three Tunisian dromedary camel (Camelus dromedarius) sub populations using microsatellite markers. Emir J Food Agr 362-366.

Page, RD (1996) Tree View: An application to display phylogenetic trees on personal computers. Bioinformatics 12, 357-358.

Patel AC, Jisha TK, Upadhyay D, Parikh R, Upadhyay M, Thaker R, Das S, Solanki JV, Rank DN (2015) Molecular characterization of camel breeds of Gujarat using microsatellite markers. Livest Sci 181, 85-88.

Peakall R, Smouse PE (2012) GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research – an update. Bioinformatics 28, 2537-2539.

Pritchard J.K., Stephens M, Donnelly, P (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. Genetics 155, 945-959.

Ruzina MN, Shtyfurko TA, Mohammadabadi MR et al. (2010) Polymorphism of the BoLA-DRB3 gene in the Mongolian, Kalmyk, and Yakut cattle breeds. Russ J Genet 46, 456-463.

Seo J-H, Park K-D, Lee H-K et al. (2016) Genetic diversity of Halla horses using microsatellite markers. J Anim Sci 58, 40.

Sharma R, Kishore A, Mukesh M, Ahlawat S, Maitra A, Pandey AK, Tantia MS (2015) Genetic diversity and relationship of Indian cattle inferred from microsatellite and mitochondrial DNA markers. BMC Genetics 16, 73.

Shahsavarani H, Rahimi-Mianji G (2010) Analysis of genetic diversity and estimation of inbreeding coefficient within Caspian horse population using microsatellite markers. Afr J Biotechnol 9.

Shamsalddini S, Mohammadabadi MR, Esmailizadeh AK (2016) Polymorphism of the prolactin gene and its effect on fiber traits in goat. Russ J Genet 52, 405-408.

Soufy B, Mohammadabadi MR, Shojaeyan K et al. (2009) Evaluation of Myostatin gene polymorphism in Sanjabi sheep by PCR-RFLP method. Anim Sci Res 19, 81-89.

Sun W, Lei C, Lei X, Zhang Y (2008) Genetic variation in eight Chinese cattle breeds based on the analysis of microsatellite markers. Genet Sel Evol 40, 681.

Vajed Ebrahimi MT, Mohammadabadi M, Esmailizadeh A. (2017) Using microsatellite markers to analyze genetic diversity in 14 sheep types in Iran. Arch Anim Breed 60, 183-189.

Wade C, Giulotto E, Sigurdsson S et al. (2009) Genome sequence, comparative analysis, and population genetics of the domestic horse. Science 326, 865-867.

Warmuth V, Eriksson A, Bower MA et al. (2012) Reconstructing the origin and spread of horse domestication in the Eurasian steppe. PNAS 109, 8202-8206.

Willi Y, Van Buskirk J, Hoffmann AA (2006) Limits to the adaptive potential of small populations. J Annu Rev Ecol Evol Syst 37, 433-458.

Wright, S (1978) Evolution and the Genetics of Poulations, in: Vol. 4, Variability Within End Among Natural Populations, University of Chicago Press, Chicago, USA.

Zamani P, Akhondi M, Mohammadabadi M (2015) Associations of Inter-Simple Sequence Repeat loci with predicted breeding values of body weight in sheep. Small Rumin Res 132, 123-127.

Zeng L, Chen N, Yao Y, Dang R, Chen H, Lei C (2019) Analysis of Genetic Diversity and Structure of Guanzhong Horse Using Microsatellite Markers. Anim Biotech 30, 95-98.