

بررسی تنوع ژنتیکی یک جمعیت از گوسفندان زندی با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره

شهرام ننه کرانی^{۱*}، سیروس امیری نیا^۲، نور امیر مظفری^۳، رسول واعظ ترشیدی^۴، علی اکبر قره داغی^۵

تاریخ پذیرش: ۸۹/۷/۱۳ تاریخ دریافت: ۸۹/۴/۲۸

چکیده

در مطالعه حاضر تنوع ژنتیکی در گوسفندان زندی با استفاده از پانزده مارکر ریزماهواره بررسی گردید. DNA ژنومی از تعداد ۱۲۰ نمونه خون به روش استخراج نمکی بهینه شده، بدست آمد. همه ۱۵ جایگاه با موقیت تکثیر شدن و همه جایگاهها چند شکلی داشتند. آزمون فراوانی ژنتیپ‌ها برای انحراف از تعادل هاردی - وینبرگ (HWE) در هر لوکوس انجام گردید که بخاطر فروتنی هتروزیگوت‌ها در همه جایگاهها انحراف از تعادل مشاهده شد ($P < 0.001$). پارامترهای تنوع از قبیل تعداد آللها و تنوع ژنی (هتروزایگوستی)، سطح بالائی از مقدار تنوع را بوسیله نشانگرهای ریزماهواره آشکار نمود. در این مطالعه همچنین ملاک‌های دیگر تنوع ژنتیکی شامل ارزش‌های PIC و شاخص شانن محاسبه شدند. میانگین محتوای اطلاعات چندشکلی در جمعیت به ازای تمام جایگاهها، برابر 0.80 ± 0.08 بود که نشان از تغییرپذیری بسیار بالا در جمعیت مورد مطالعه می‌باشد. میانگین شاخص اطلاعات شانن نیز در جمعیت مورد مطالعه بالا بود (0.92 ± 0.09). نتایج پارامترهای تنوع نشان داد که تنوع ژنتیکی در نژاد زندی بالا می‌باشد. همچنین این تحقیق نشان داد که مارکرهای ریزماهواره ابزاری سودمند برای ارزیابی تنوع ژنتیکی در حیوانات اهلی است.

واژگان کلیدی: گوسفند زندی، نشانگرهای ریزماهواره، تنوع ژنتیکی، تعادل هاردی - وینبرگ

گوشت پرورش می‌یابند، اما بعضی از آنها برای صفات ویژه‌ای شناخته شده هستند که می‌توان به نژادهای پوستی اشاره نمود. نژاد زندی یکی از بهترین گوسفندان پوستی ایران محسوب می‌شود، اما بدليل افزایش تقاضا برای گوشت و عدم توجیه اقتصادی تولید پوست، امروزه از این نژاد برای تولید گوشت استفاده می‌شود، چرا که از این لحاظ نیز در حد متوسطی قرار دارد (۲۲). پراکنش آن بیشتر در استان تهران، قم، سمنان و مرکزی بوده و جمعیت آن حدود ۰/۵ میلیون راس برآورد

مقدمه

پرورش گوسفند یکی از بخش‌های مهم دامپروری کشور است. اگرچه همه گوسفندان ایرانی برای تولید

- ۱- دانشجوی دکتری گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، تهران - ایران
 - ۲- بخش بیوتکنولوژی موسسه تحقیقات علوم دامی کشور، کرج
 - ۳- گروه میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران
 - ۴- گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس تهران
 - ۵- بخش اصلاح نژاد موسسه تحقیقات علوم دامی کشور، کرج
- *- پست الکترونیکی نویسنده مسئول: shahramnanekarani@yahoo.com

(۱، ۳، ۴). هدف از این مطالعه ارزیابی تنوع ژنتیکی در جمعیت گوسفندان زنده با توجه به مارکرهای مورد مطالعه می‌باشد.

مواد و روش کار

نمونه‌های خون کامل به میزان ۵ میلی‌لیتر بطور تصادفی از تعداد ۱۲۰ راس حیوان غیر خویشاوند و از هر دو جنس تهیه گردید نمونه‌های انتخاب شده از ایستگاه تحقیقاتی گوسفندان زنده تهران (حوجیر) بدست آمد و استخراج DNA به روش بهینه یافته شیستشوی نمکی انجام گرفت (۲۱). از ۱۵ آغازگر جهت یافتن چندشکلی در جمعیت مورد مطالعه استفاده گردید. جایگاهها از کروموزومهای متفاوتی از ژنوم گوسفند انتخاب شدند تا امکان پیوستگی بین جایگاهها کاهش یافته و برآورده مناسبی از تنوع ژنتیکی با توجه به پراکندگی یکسان جایگاهها در کروموزومهای مختلف بدست آورد (جدول یک). از جایگاه‌های فوق در مطالعات مشابه استفاده گردیده است (۱۱ و ۳). محققان نیز تکثیر DNA با استفاده از ۱۵ جفت آغازگر ریزماهواره‌ای در حجم نهائی ۱۵ میکرولیتر و با شرایط زیر انجام شد.

PCR buffer 1X, MgCl₂ 1.5-4.5mM, Each Primer 0.25µM, dNTPs 200µM,
Taq Polymerase 1U, DNA 100-200ng.

برای انجام واکنش‌ها از دستگاه ترموسایکلر Biometra استفاده گردید و برنامه دمایی کلیه جایگاهها، به این شرح بود: یک سیکل واسرشته سازی ۹۵ درجه سانتیگراد (۵ دقیقه)، ۳۵ سیکل شامل واسرشته سازی ۹۵ درجه (۳۰ ثانیه)، اتصال آغازگر (۳۰ ثانیه)، بسط ۷۲ درجه (۴۵ ثانیه) و یک سیکل بسط نهائی ۷۲ درجه (۵ دقیقه). فرآورده‌های PCR توسط ژل اکریل‌آمید واسرشته ساز ۸٪ الکتروفورز گردید و نمایانسازی آللها به روش رنگ‌آمیزی نیترات نقره انجام شد (شکل ۱). با استفاده از دستگاه Gel-Doc XR ساخت شرکت BioRad تصویر ژل‌ها تهیه گردید.

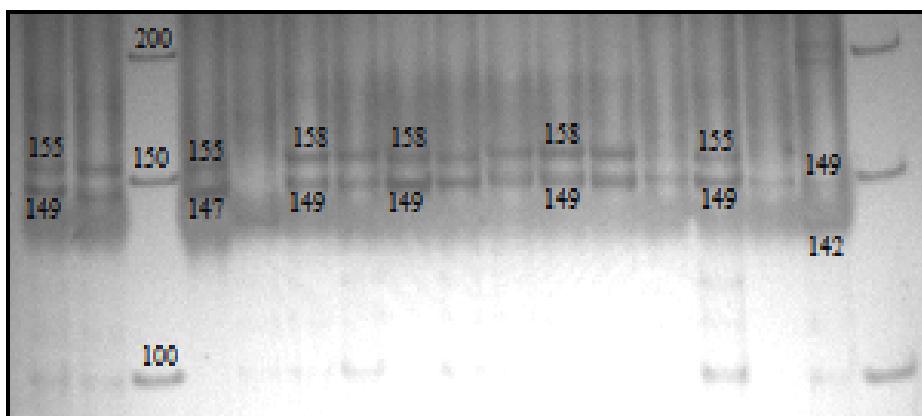
می‌شود. این نژاد می‌تواند بعنوان بهترین گوسفند برای سیستم پرورش عشاپری (کوچرو) محسوب شود (۲). علیرغم تجربه جهانی در زمینه استفاده از اصلاح نژاد در جهت افزایش سودآوری در دامپروری، برنامه‌های مدون اصلاح نژادی در بخش پرورش گوسفند در کشورمان اجرا نشده است. پیشرفت‌های خیلی سریع در زمینه ژنتیک مولکولی، امکان شناسائی سریع و دقیق ژنهای کنترل کننده صفات تولیدی را فراهم کرده است. از طرفی فقدان سیاست اصولی در امر اصلاح نژاد دام در کشور، طبیعت متحرک بخشی از دامداریهای عشاپری و وجود موقعیت جغرافیائی متنوع در کشور از جمله عوامل مهمی است که موجب مخلوط شدن نژادهای مختلف گوسفند ایرانی از گذشته تاکنون شده است و اگر بخواهیم از نژادهای گوسفند ایرانی در برنامه‌های اصلاح نژادی بعنوان مواد ژنتیکی پایه استفاده نمائیم، لازمه آن انجام مطالعاتی در خصوص شناخت دقیق ذخایر ژنتیکی موجود است تا مبنای صحیح تری را برای اجرای برنامه‌های اصلاح نژادی فراهم نمایند. با توجه به اینکه نژاد زنده سازگاری مناسبی نیز با شرایط محیطی منطقه پراکنش خود پیدا کرده است، و از نظر حفظ تنوع ژنتیکی حائز اهمیت می‌باشد، می‌توان از نشانگرهای ژنتیکی برای تعیین ساختار ژنتیکی جمعیت‌های مورد نظر و تعیین میزان تنوع در آنها استفاده نمود. سهولت جداسازی، تشخیص آسان و بویژه تغییرپذیری زیاد ریزماهواره‌ها موجب شده است که ریزماهواره‌ها علیرغم مدت زمان کوتاهی که از کشف آنها می‌گذرد، به ابزاری توانمند جهت تجزیه و تحلیل ژنتیکی جمعیت‌های طبیعی تبدیل شوند (۱۴ و ۲۱). مطالعات زیادی، کارآمدی نشانگرهای ریزماهواره را در مطالعات ژنتیک جمعیت به اثبات رسانده است (۹، ۱۱، ۱۵، ۱۶). در این راستا جمعیت گوسفندان بلوجچی، کردی خراسان، کردی کردستان، مهربان، مغانی، سنجابی، قره‌گل و کبوده شیراز نیز توسط محققین کشورمان مورد مطالعه قرار گرفته است

براساس جفت باز، محاسبه و ژنوتیپ حیوانات تعیین گردید (۲۰).

سپس با استفاده از نرم افزار GELPRO ANALYSER نسخه ۳/۱ و با توجه به نشانگرهای اندازه، اندازه آلهها

جدول ۱- مشخصات آغازگرهای مورد استفاده در تکثیر نشانگرها (Australian Sheep Gene Mapping Web Site1)

نام نشانگر	آغازگرها	موقعیت کروموزومی	کد دسترسی
MCMA2	F:TCACCCAACAATCATGAAAC R:TTAACATCGAGTGTGAATGGG	۱۳	AF098773
MCM63	F:CCCAATTGGCAACAGCTACG R:ATTGGCCTCTCTGTGATGCAC	۹	L37889
BMS460	F:TGCCCCATAGTGTAGTGCTC R:GCCAGCAGAGAATTGTAGCA	۳	G18836
BM1815	F:AGAGGATGATGCCCTCTG R:CAAGGAGACAAGTCAAGTTCCC	۲۰	G18389
OARCP26	F:GGCCTAACAGAATTCAAGATGATGTTGC R:GTCACCATACTGACGGCTGGTTCC	۴	U15698
OARFCB20	F:AAATGTGTTAACGATTCCATACAGTG R:GGAAAACCCCCATATATACCTATAC	۲	L20004
OARAE129	F:AATCCAGTGTGAAAGACTAACATCCAG R:GTAGATCAAGATATAGAATATTTCAACACC	۵	L11051
MAF64	F:AATAGACCATTCAAGAGAACGTTGAC R:CTCATGGAATCAGACAAAAGGTAGG	۱	M62993
BMS332	F:GACAAAACCTTTAGCACAGG R:AATTGCATGGAAAGTTCTCAGC	۲۲	G18841
LSCV38	F:GTTGCAAAGAGCTGGACGTG R:CTGGATGGCAAAGTGTGATTCAAG	۱۲	G40990
BM6444	F:CTCTGGGTACAACACTGAGTCC R:TAGAGAGTTCCCTGTCCATCC	۲	G18444
BMS995	F:AATTCTTCCAACCTCCAGTGC R:ACTTTCAAGCAGGGCTCAC	۱۳	G18766
MCMA26	F:TCTCTGTTCCAGCCTTATTG R:AGAGCTTTAGGACAGCCACC	۱۸	AF098961
BMS678	F:ACCATCTACTGTGCTATGGCTT R:GCAGAAACACAATACTCAGTGC	۲	G18734
OARCP49	F:CAGACACGGCTTAGCAACTAACGC R:GTGGGGATGAATATTCCCTCATAAGG	۱۷	U15702



شکل ۱- الگوی باندی نشانگر OARAE129 پس از الکتروفورز

شاخص شانون با استفاده از نرم‌افزارهای POPGENE نسخه ۱/۳ و GENALEX نسخه ۶ و معیار PIC با استفاده از نرم افزار HET نسخه ۱/۸ برآورد شدند (۱۹، ۲۰ و ۲۲).

نتایج

واکنش‌های PCR برای تمامی آغازگرها به خوبی انجام گردید (شکل ۱). یک آلل اختصاصی در یک جایگاه (BMS460) برای این جمعیت بدست آمد ولی فراوانی قابل ملاحظه‌ای نداشت (۰/۱۴۳). دامنه آللی به دست آمده برای جایگاه‌ها در جدول ۱ مطابق با نتایج Maddox و همکاران (۲۰۰۰) بود (۱۹). براساس آزمون‌های کای مربع و نسبت درست‌نمایی همه نشانگرها انحراف بسیار معنی‌داری را از تعادل هاردی-واینبرگ نشان دادند ($P < 0.001$). نتایج مربوط به پارامترهای جمعیتی ۱۵ نشانگر ریزماهواره در جمعیت گوسفندان زندی که شامل محاسبات تعداد آلل‌های مشاهده شده (Na)، تعداد آلل‌های مؤثر (Ne)، هتروزیگوستی مشاهده شده (Ho)، هتروزیگوستی موردنظر (He)، شاخص رایت (F)، محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC)، و شاخص اطلاعات شanon (I) می‌باشد، در جدول ۲ ارائه شده است. در مجموع BMS460 تعداد ۱۲۰ آلل مشاهده گردید. نشانگرها (MAF64 و MCMA2) و نشانگر MAF64 به ترتیب دارای بیشترین و کمترین تعداد آلل مشاهده شده بود. بیشترین و کمترین تعداد آلل مؤثر نیز به ترتیب مربوط به نشانگرها (MAF64 ۱۰/۴۳) و (MCMA2 ۳/۲۴) بود. بنابراین و همکاران (۱۳۸۱) در مطالعه‌ای بر روی ۵ نژاد از گوسفندان ایران، تعداد آلل مشاهده شده کمتری را برای جایگاه‌های MCMA2، MCMA26 و MAF64 و تعداد آلل مشاهده شده بیشتری را برای جایگاه OARCP26 گزارش کردند.

جایگاه‌های مورد مطالعه از لحاظ تعادل هاردی-واینبرگ به کمک دو آزمون مربع کای‌اسکور و نسبت درست‌نمایی مورد آزمون قرار گرفتند. هتروزایگوستی متوسط (تنوع ژنی) بازاء تمامی جایگاهها با فرمول زیر محاسبه شد:

$$H = \sum_{k=1}^r H_k / r$$

که در آن r تعداد جایگاه‌های مورد بررسی و H_k میزان هتروزایگوستی برای k امین جایگاه می‌باشد (۱۷). با توجه به اینکه حد نهایی هتروزایگوستی برای هر تعادل از آلل‌ها یکسان (برابر با یک) است، معیارهای هتروزایگوستی به افزایش تنوع زیاد حساس نمی‌باشند. این محدودیت، تفکیک بین جمعیتها را با استفاده از جایگاه‌های بسیار متغیر همچون ریزماهواره‌ها (با هتروزایگوستی $0/8$ یا بیشتر) دشوار می‌سازد. در این موارد، استفاده از شاخص اطلاعات شانون برای مقایسه تنوع موجود در ترکیب جمعیت - نشانگر مناسب‌تر است (۱۸). در این پژوهش شاخص اطلاعات شanon (I) با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد (۱۰ و ۱۳):

$$H' = - \sum_i p_i \ln p_i$$

از آماره‌ای موسوم به محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) نیز برای تعیین میزان چندشکلی یک جایگاه استفاده شد:

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

که در آن k تعداد آلل‌ها و p_i و p_j فراوانیهای i و j امین آلل در جمعیت مورد مطالعه می‌باشد (۹). در این مطالعه آزمون‌های تعادل هاردی-واینبرگ، تعداد آلل واقعی و تعداد آلل مؤثر، مقادیر هتروزایگوستی و

جدول ۲- پارامترهای جمعیتی ۱۵ نشانگر ریزماهواره در جمعیت گوسفندان زنده

نشانگر	N _a	N _e	H ₀	H _e	F	PIC	I
MCMA2	۱۲	۱۰/۴۳	۰/۹۷۳	۰/۹۰۴	-۰/۰۷۷	۰/۸۹۶	۲/۴۱
MCM63	۸	۶/۳۲	۱/۰۰۰	۰/۸۴۲	-۰/۱۸۸	۰/۸۲۳	۱/۹۵
BMS460	۷	۶/۲۷	۱/۰۰۰	۰/۸۴۱	-۰/۱۹۰	۰/۸۲۰	۱/۷۹
BM1815	۶	۵/۱۳	۰/۹۹۲	۰/۸۰۵	-۰/۲۳۲	۰/۷۷۶	۱/۷۰
OARCP26	۴	۲/۹۶	۱/۰۰۰	۰/۶۶۲	-۰/۵۱۱	۰/۶۰۱	۱/۲۰
OARFCB20	۶	۴/۸۹	۰/۹۹۱	۰/۷۹۶	-۰/۲۴۶	۰/۷۶۶	۱/۶۸
OARAE129	۶	۵/۰۷	۱/۰۰۰	۰/۸۰۳	-۰/۲۴۵	۰/۷۷۴	۱/۶۹
MAF64	۵	۴/۱۰	۰/۹۶۷	۰/۷۵۶	-۰/۲۷۸	۰/۷۱۵	۱/۶۸
BMS332	۷	۵/۴۹	۰/۹۵۶	۰/۸۱۸	-۰/۱۶۹	۰/۷۹۴	۱/۸۱
LSCV38	۸	۵/۴۸	۰/۹۸۳	۰/۸۱۷	-۰/۲۰۳	۰/۷۹۵	۱/۸۶
BM6444	۸	۵/۷۵	۰/۹۸۳	۰/۸۲۶	-۰/۱۹۱	۰/۸۰۴	۱/۸۹
BMS995	۱۱	۱۰/۱۳	۰/۹۶۶	۰/۹۰۱	-۰/۰۷۲	۰/۸۹۳	۲/۳۵
MCMA26	۱۱	۹/۶۱	۱/۰۰۰	۰/۸۹۶	-۰/۱۱۶	۰/۸۸۷	۲/۳۳
BMS678	۱۲	۱۱/۲۰	۰/۹۷۴	۰/۹۱۱	-۰/۰۷۰	۰/۹۰۴	۲/۴۵
OARCP49	۹	۷/۵۸	۱/۰۰۰	۰/۸۶۸	-۰/۱۵۲	۰/۸۶۸	۲/۱۰
میانگین	۸	۶/۶۹	۰/۹۸۶	۰/۸۳۰	-۰/۱۹۶	۰/۸۰۸	۱/۹۲
خطای معیار	۰/۶۵	۰/۶۵	۰/۰۰۴	۰/۰۱۷	۰/۰۲۸	۰/۰۲۱	۰/۰۹

هاردی-واینبرگ، به دلیل افزایش تعداد هتروزیگوتها نسبت به هموزیگوتها بوده است و مقادیر منفی شاخص رایت (F) مندرج در جدول ۲ تایید کننده آن است. همچنان نرخ بالای جهش در ریز ماهواره‌ها و ایجاد آلل‌های جدید و وجود آلل‌های نول در برخی نشانگرها از مهمترین دلایل خروج آنها از تعادل هاردی-واینبرگ است (۱۴). سایر محققین نیز نتایج مشابهی را در ارتباط با بررسی تعادل هاردی-واینبرگ در نشانگرها مورد نظر بر روی گوسفندان دیگر گزارش نمودند (۷، ۱۱ و ۱۲). نتایج، حاکی از تنوع بالا در داخل جمعیت مورد مطالعه می‌باشد به نحوی که میانگین هتروزیگوتی مورد انتظار در تمامی ترکیبات جایگاه-جمعیت بالا و مناسب (بین ۰/۶۶۲ تا ۰/۹۱۱) می‌باشد. بررسی معیارهای مختلف چندشکلی نیز حاکی از چندشکلی بسیار بالا در جایگاه‌های مورد مطالعه است. بطوری که بر اساس تعریف چندشکلی می‌توان تمام نشانگرهای تکثیر یافته را ۱۰۰ درصد چندشکل در نظر گرفت.

میانگین هتروزیگوتی مشاهده شده و مورد انتظار در جمعیت گوسفندان زنده به ترتیب برابر با ۰/۹۸۶ و ۰/۸۳۰ بود که نشان‌دهنده سطح بالایی از هتروزیگوتی در جمعیت مورد مطالعه بوده است. بیشترین و کمترین ارزش PIC به ترتیب مربوط به جایگاه BMS678 (۰/۹۰۴) و جایگاه OARCP26 (۰/۹۰۰) می‌باشد. ماددوکس و همکاران (۲۰۰۰) مقادیر تقریباً مشابهی را برای دو جایگاه MCMA2 (۰/۸۹) و MCMA26 (۰/۸۶) گزارش نموده‌اند (۱۵). میانگین شاخص اطلاعات شانون نیز در جمعیت مورد مطالعه بالا بود (۰/۰۹ ± ۰/۰۹). همچنین میانگین Fis (مرتبه با ضریب همخونی) در جمعیت زنده برابر با -۰/۱۹۶ بدست آمد.

بحث

انحراف بسیار معنی‌دار همه نشانگرها از تعادل

تشکر و قدردانی

این تحقیق در آزمایشگاه بیوتکنولوژی مرکز تحقیقات علوم دامی کشور انجام شد. از مساعدت تمامی دوستان بخش بیوتکنولوژی مرکز تحقیقات علوم دامی کشور قدردانی می‌نمایم. همچنین از همکاری جناب مهندس سالاری در انجام آزمایشات، صمیمانه تشکر می‌کنم.

منابع

- ۱- بنابازی، م. (۱۳۸۱): بررسی تنوع ژنتیکی در درون و بین پنج جمعیت گوسفند ایرانی با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره. پایان نامه کارشناسی ارشد علوم دامی. دانشکده کشاورزی. دانشگاه تهران. ۱۳۰ ص.
- ۲- توکلیان، ج. (۱۳۷۸) : نگرشی بر ذخایر ژنتیکی دام و طیور ایران. انتشارات موسسه تحقیقات علوم دامی کشور.
- ۳- زاهدی، ز. (۱۳۸۳): بررسی چند شکلی تعدادی از نشانگرهای ریزماهواره در گوسفند بلوجی. پایان نامه کارشناسی ارشد علوم دامی. دانشکده کشاورزی. دانشگاه تربیت مدرس. ۸۹ ص.
- ۴- ننه‌کرانی، ش. (۱۳۸۹): بررسی تنوع ژنتیکی گوسفندان نژاد پوستی ایران با استفاده از برخی نشانگرهای مولکولی ریزماهواره. رساله دکتری تخصصی علوم دامی، ژنتیک و اصلاح نژاد دام. دانشکده کشاورزی. دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران. ۱۵۴ ص.
- 5- Arora, R., Bhatia, S., Sehrawat, A., Maity, S. B. and Kundu, S. S. (2008): Genetic variability in Jalauni sheep of India inferred from microsatellite data. National Bureau of Animal Genetic Resources, P.O.Box129, Karnal-132001, Haryana, India.

میانگین محتوای اطلاعات چندشکلی در جمعیت به ازای تمام جایگاهها، حاکی از میزان تغییرپذیری در جمعیت است. مقدار عددی این ارزش ($0/080$)، نشان از تغییرپذیری بسیار بالا در جمعیت مورد مطالعه است. البته مقادیر زیاد ارزش‌های PIC برای جمعیت زندی و جایگاهها در حدی است که از جایگاه‌های بسیار چندشکل همچون ریزماهواره‌ها انتظار می‌رود. طبق ملاک بوستین و همکاران (۱۹۸۰) تمام نشانگرهای مورد مطالعه در این پژوهش، محتوای اطلاعات چندشکلی بسیار بالائی داشتند ($0/05 > 0/04$). Maddox و همکاران (۲۰۰۰) مقادیر تقریباً مشابهی را برای دو جایگاه MCMA2 (۰/۰۸۹) و MCMA26 (۰/۰۸۶) در مقایسه با جمعیت زندی گزارش نموده‌اند. متوسط شاخص شانن نیز برای تمام جایگاهها بالا بود ($0/09 \pm 0/02$)، که این امر نیز حاکی از چندشکلی فراوان این جایگاهها و تائیدی بر مناسب بودن میزان تنوع می‌باشد. شاخص Fis در هر جمعیت، نشان دهنده کاهش و یا افزایش فراوانی هتروزیگوستی مشاهده شده نسبت به هتروزیگوستی مورد انتظار بوده و انکاس دهنده سیستم آمیرشی (آمیزش تصادفی و غیرتصادفی) در آن است و مقدار منفی این شاخص در جمعیت، نشان دهنده زیادتر بودن فراوانی هتروزیگوستی مشاهده شده نسبت به هتروزیگوستی مورد انتظار در درون جمعیت و در نتیجه غیرهمخون بودن آنها است. منفی بودن این شاخص در جمعیت مورد مطالعه (-۰/۱۹۶)، نشان از عدم همخونی و وجود تنوع به مقدار کافی در جمعیت فوق است.

بطور کلی نتایج پژوهش حاضر، تنوع ژنتیکی مناسبی را در جمعیت گوسفندان زندی نشان می‌دهد. همچنین می‌توان دریافت که نشانگرهای ریزماهواره‌ای ابزاری بسیار توانمند برای مطالعات ژنتیک جمعیت و بررسی تنوع درون و بین جمعیت‌ها می‌باشند.

- 6- Arora, R., Lakhchaura, B. D., Prasad, R. B. and Tantia, M. S. (2004): Genetic diversity analysis of two buffalo populations of northern India using microsatellite markers. *Journal of Animal Breeding and Genetics.* 121: 111-118.
- 7- Arranz, J. J., Bayon, Y. and San Primitivo, F. (2001): Differentiation among Spanish sheep breeds using microsatellites. *Genetic Selection and Evolution* 33, 529-542.
- 8- Botstein, D., White, R. L., Skolnick, M. and Davis, R. W. (1980): Construction of a genetic map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Amer. Journal of Human Genetic.* 32: 314–331.
- 9- Buchanan F.C. and Thue T. D. (1998): Intra breed polymorphic information content of microsatellites in cattle and sheep. *Canadian Journal of Animal Science* 78, 425-428.
- 10- Cornuet, J. M., Piry, S., Luikart, G., Estoup, A. and Solignac, M. (1999): New methods employing multi locus genotypes to select or exclude populations as origins of individuals. *Genetics* 153, 989-2000.
- 11- Diez-Tascon, C., Littlejohn, R. P., Almeida, P. A. R. and Crawford, A. M. (2000): Genetic variation within the merino sheep breed: analysis of closely related populations using microsatellites. *Animal Genetics* 31, 243-251.
- 12- Farid, A., O'Reilly, E., Dollard, C. and Kelsey. Jr. C. R. (2000): Genetic analysis of ten sheep breeds using microsatellite markers. *Canadian Journal of Animal Science* 80, 9-17.
- 13- Hedrick, P. W. (1999): *Genetic of populations*, Second edition. Jones and Bartlett Publishers, Sudbury, MA, USA.
- 14- Hedrick, P. W. (2000): *Genetic of populations*. Second edition. Jones and Bartlett Publishers, Sudbury, MA, USA. Pp 553. ISBN 0 7637 10768. DOI:10.1046/j.1365-2540.2000.0819a.x
- 15- Maddox, J. F., Riffkin, C. D. and Beh, K. J. (2000): Dinucleotide repeat polymorphism at the ovine McMA1, McMA2, McMA5, McMA8, McMA9, McMA11, McMA14, McMA20, McMA24, McMA26 loci. *Animal Genetics* 31, 148-149.
- 16- Media Cybernetics Inc. (1998): GEL-Pro Analyzer software. Version 3.1. Silver Spring MD. USA.
- 17- Miller, S. A., Dykes, D. D. and Polesky, H. F. (1988): A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Research* 16, 1215.
- 18- Monem, M., Kiyanzad, M. R. and Gharahdaghi, A. A. (2006): (Small ruminant breeds of iran) of book Characterization of small ruminant breeds in west asia and north Africa, 3th edition Pp 18-36
- 19- Ott, J. (1989): Program HET Version 1.10 . Utility programs for analysis of genetic linkage. Rockefeller University. New York, NY, USA. <ftp://linkage.rockefeller.edu/software/utilities/>.
- 20- Peakall, R. and Smouse, P. E. (2006): GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Mol Ecol Notes.* 6:288-295.
- 21- Vanhooft, W. F., Hanotte, O., Wenink, P. W., Groen, A. F., Sugimoto, Y. H., Prins, H. T. and Teale, A. (1999): Applicability of Bovine Microsatellite Markers for Population Genetic Studies on African Buffalo (*Syncerus caffer*). *Anim. Genet.* 30: 214-220.
- 22- 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, AB, Canada

