



## تنوع ژنتیکی شترهای شمال استان کرمان با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره

مهرداد قاسمی میمندی<sup>۱</sup>، محمدرضا محمدآبادی<sup>۲\*</sup>، علی اسمعیلی زاده کشکوئیه<sup>۳</sup>

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان

۲- دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان

۳- استاد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان

(تاریخ دریافت: ۹۳/۵/۱۸ - تاریخ پذیرش: ۹۳/۱۱/۷)

### چکیده

در این پژوهش تنوع ژنتیکی جمعیت شترهای یک کوهانه شمال استان کرمان با استفاده از پنج جفت نشانگر ریزماهواره‌ای *YVLL08*، *YVLL38*، *CVR01* و *VOLP03*، *VOLP08* مطالعه شد. از شترهای شهرستان‌های شهرابک، رفسنجان و راور تعداد ۸۱ نمونه خون (۵ جمعیت) گرفته شد. *DNA* به روش فنل کلروفورم استخراج و PCR انجام شد. جایگاه *YVLL08* با ۱۴ آلل و جایگاه *CVR01* با ۵ آلل به ترتیب بیشترین و کمترین تعداد آلل واقعی و نیز این جایگاه‌ها با ۱۰/۵۴ و ۴/۳۵ آلل به ترتیب بیشترین و کمترین مؤثر را نشان دادند. بیشترین میزان هتروزیگوسیتی مورد انتظار در جایگاه *YVLL08* (۰/۹۱۰۸) و کمترین آن مربوط به جایگاه *CVR01* (۰/۷۷۵۴) بود. تمامی جایگاه‌های مورد بررسی در این جمعیت انحراف از تعادل هاردی واینبرگ را نشان دادند. محتوای اطلاعات چندشکلی در دامنه ۰/۷۸۰۱-۰/۹۱۶۵ به دست آمد. مقادیر شاخص تثبیت برای نشانگرهای *YVLL08*، *YVLL38*، *VOLP08*، *VOLP03* و *CVR01* به ترتیب ۰/۰۳۶، ۰/۰۸۹، ۰/۰۷۳، ۰/۰۴۶، ۰/۰۵۴ و ۰/۰۵۶ به دست آمد که نشان‌دهنده تمایز خیلی زیاد بین جمعیت‌ها است. نتایج نشان داد که جمعیت شترهای شمال استان کرمان تنوع ژنتیکی نسبتاً بالایی دارند که همین امر یکی از مهم‌ترین دلایل سازگاری آنها به تغییرات شدید محیطی کرمان است. لذا ضروری است این تنوع ژنتیکی و این دام با ارزش را حفظ نمود.

**واژه‌های کلیدی:** تنوع ژنتیکی، شتر یک کوهانه، نشانگرهای ریزماهواره

## مقدمه

حفاظت از تنوع ژنتیکی یکی از اجزاء مهم برنامه‌های مدیریت بسیاری از گونه‌ها است و در نهایت تنوع ژنتیکی این اجزاء را به گونه‌ها می‌دهد که در برابر تغییرات شرایط محیطی سازگاری پیدا کنند. برنامه‌های اصلاحی برای مدیریت مؤثر منابع بیولوژیکی باید تنوع درون و بین جمعیت‌ها را محاسبه و بکار گیرند (O'Connell and Wright, 1997). استفاده دقیق از نشانگرهای مولکولی برای ارزیابی تنوع ژنتیکی و شناسایی صفات مهم اقتصادی در حیوانات بر اساس نمونه‌های مختلف به اثبات رسیده است (Baumung et al., 2004; Zamani et al., 2013). نشانگرهای مولکولی اطلاعات مربوط به تنوع آلی در یک جایگاه ژنی را فراهم می‌نمایند. افزایش دسترسی به نشانگرهای مولکولی در حیوانات مزرعه‌ای امکان ارزیابی تنوع ژنتیکی، تشخیص ژن‌ها و همچنین ژن‌های مؤثر بر صفات اقتصادی را فراهم می‌نمایند. عمده نشانگرهایی که در مطالعات تنوع ژنتیکی مورد استفاده قرار می‌گیرد نشانگرهای ریزماهوره می‌باشند (Hiendleder, 2003; Askari et al., 2011; Shojaei et al., 2011). شترسانان شامل خانواده جهان قدیم (Camelini) و جهان جدید (Lamini) هستند. خانواده جهان قدیم شامل دو گونه *Camels dromedaries* (شتر یک کوهانه) و *Camels Bactrianus* (شتر دوکوهانه) است (Stanley et al., 1994). بر اساس آمار منتشره به‌وسیله سازمان خواربار جهانی در سال ۲۰۱۰ در جهان ۲۴۶۶۴۲۲۸ نفر شتر وجود دارد که بیش‌ترین جمعیت آن در قاره آفریقا (۲۰۹۵۹۰۱۵ نفر، ۸۵ درصد) است (FAO, 2010). در ایران ۱۵۰۰۰۰ نفر شتر یک‌کوهانه وجود دارد که این تعداد شتر ۵۶ درصد از جمعیت شتر جهان را شامل می‌شود (FAO, 2011) و در نواحی سیستان و بلوچستان، خراسان، کرمان، یزد، هرمزگان، کهکیلویه و بویراحمد، اصفهان، سمنان، خوزستان، بوشهر، قم، گلستان، تهران، فارس، آذربایجان شرقی و غربی، ایلام، قزوین و اردبیل پراکنده می‌باشند (وزارت جهاد کشاورزی، ۱۳۷۱). شترهای موجود در ایران به ۵ اکوتیپ کلکوهی، ترکمنی، بلوچی، جماز و دوکوهانه تقسیم می‌شوند (خدایی، ۱۳۸۶). در تقسیم‌بندی دیگر به‌وسیله محققان، شتر یک-کوهانه به انواع تیپ گوشتی، شیری و دومنظوره تقسیم-

بندی شده است. شتر نواحی کرمان، شتری یک‌کوهانه بوده و تیپ دو منظوره گوشتی - شیری دارد. در تحقیقی که روی تنوع ژنتیکی نژاد بومی کنیا و نژادهای بومی پاکستان و عربستان با ۱۴ نشانگر ریز ماهوره انجام شد، تجزیه‌های ژنتیکی نشان داد که شترهای بومی کنیا از جمعیت شترهای عربی و پاکستان مجزا هستند. همچنین نژادهای بومی کنیا دارای تنوع پایین‌تری نسبت به سایر نژادها می‌باشند (Mburu, 2003). در پژوهشی دیگر که روی تنوع ژنتیکی و ارتباط بین چهار نژاد شتر هندی با ۲۳ جایگاه ریزماهوره انجام شد، مشخص گردید که نژاد می‌واری<sup>۱</sup> و جی‌سالمری<sup>۲</sup> با توجه به انتخاب صفات خاص، متمایز از سایر نژادها بودند (Vijh et al., 2007). تعداد ۹ جمعیت شتر در جزایر قناری با استفاده از ۱۳ نشانگر ریزماهوره مورد مطالعه قرار گرفتند و نشان داده شد که متوسط هتروزیگوتی مورد انتظار در کل جایگاه‌ها از ۰/۵۸ (برای شترهای با منشاء کنیا) تا ۰/۶۳ (برای شترهای با منشاء عربی) متغیر است (Schulz et al., 2010). چهار جمعیت از شترهای بی-کوهان آمریکای جنوبی در منطقه پاتاگونیا آرژانتین با استفاده از ۱۴ نشانگر ریزماهوره مطالعه شدند و متوسط هتروزیگوتی مورد انتظار در کل جایگاه‌ها از ۰/۶۶ تا ۰/۷۴ متغیر بود (Mate et al., 2005).

به منظور بررسی تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های شتر ایران، تاکنون جمعیت شتر دوکوهانه با استفاده از ۷ نشانگر ریزماهوره مورد بررسی قرار گرفته است که نتایج نشان داد تمامی این جایگاه‌ها داری چندشکلی بودند و همچنین از تعادل هاردی واینبرگ انحراف معنی‌داری داشتند (شاه کرمی و همکاران، ۲۰۱۲). در تحقیق حاضر به منظور تعیین ساختار و تنوع ژنتیکی شترهای تک‌کوهانه ایران، برای اولین بار از نشانگرهای ریزماهوره برای شترهای شمال استان کرمان استفاده شده است.

## مواد و روش‌ها

در مطالعه حاضر، از سیاهرگ و داج ۸۱ نفر از شترهای یک-کوهانه در ۵ جمعیت از شترهای شهرستان‌های شهربابک، راور و رفسنجان خون‌گیری شد. نقشه پراکنش شترهای استان کرمان در شهرهای مختلف بر اساس اطلاعات

<sup>1</sup> Mewari<sup>2</sup> Jaisalmeri

(9.0، ۳۰ میلی مول KCl و ۱/۵ میلی مول  $MgCl_2$  و در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر انجام شد. واکنش زنجیره‌ای پلیمرز در طی ۳۵ سیکل با استفاده از دستگاه *Mastercycler gradient* شامل مرحله واسرشته‌سازی اولیه در  $95^{\circ}C$  به مدت ۱۰ دقیقه، واسرشته‌سازی در  $94^{\circ}C$  به مدت ۴۵ ثانیه، اتصال در  $60-50^{\circ}C$  به مدت ۸۰ ثانیه، تکثیر در  $72^{\circ}C$  به مدت ۶۰ ثانیه و تکثیر نهایی در  $72^{\circ}C$  به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد. لازم به ذکر است برای جلوگیری از ایجاد باندهای غیر تخصصی برای پرایمرهای مختلف از دمای اتصال بهینه استفاده شد. الکتروفورز عمودی روی ژل آکرلامید ۸ درصد واسرشته‌ساز با ولتاژ ۲۰۰ تا ۲۵۰ به مدت ۶ ساعت انجام شد و رنگ‌آمیزی ژل-ها به روش نیترا نقره صورت گرفت. سپس اندازه آلل‌ها، انواع آلل‌ها و ژنوتیپ‌ها به دست آمد. از آنجائیکه هتروزیگوت‌ها آلل‌های متفاوتی دارند، فراوانی آنها مهم بوده و نشان‌دهنده وجود تنوع هستند. میزان هتروزیگوسیته، معمول‌ترین معیار تنوع ژنتیکی در یک جمعیت است و در تحقیق حاضر به دو صورت هتروزیگوسیته مشاهده شده (رابطه ۱) و هتروزیگوسیته مورد انتظار (رابطه ۲)، گزارش شده است (Nei, 1973).

موجود در شکل ۱ ارائه شده است. از یک جمعیت واقع در دهستان رباط واقع در شهرستان شهر بابک تعداد ۲۱ نمونه، از روستای صحرای جهاد و شمشیر آباد واقع در شهرستان راور به ترتیب ۷ و ۱۴ نمونه و از دو جمعیت واقع در روستای شمس‌آباد شهرستان رفسنجان ۱۱ و ۲۸ نمونه جمع‌آوری شد. نمونه‌های خون حاوی ماده ضد انعقاد *EDTA* (با غلظت  $1/5 \text{ mg/ml}$ ) در فلاسک دارای یخ به آزمایشگاه منتقل و تا زمان استخراج DNA، در دمای  $-20^{\circ}C$  درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. DNA با استفاده از روش فنل کلروفرم استخراج و سپس کیفیت آن تعیین شد. برای آگاهی از میزان DNA و خلوص آن از الکتروفورز روی ژل آگارز ۲ درصد استفاده شد. در این مطالعه از ۵ جفت نشانگر ریزماهوری *YWLL08*، *VOLP08*، *VOLP03*، *CVR01* و *YWLL38* استفاده شد (جدول ۱). این نشانگرها از مطالعات قبلی انتخاب شدند و آنهایی که بیشترین تنوع را نشان داده بودند استفاده شدند (شاه کرمی و همکاران، ۲۰۱۲؛ Sasse et al., 2000; Obreque et al., 1998; Lang et al., 1996; Schulz et al., 2010). واکنش PCR با استفاده از کیت شرکت تکاپو زیست شامل ۳ میکرولیتر DNA، یک میکرولیتر از هر آغازگر، یک واحد پلیمرز *Taq*، ۲۵۰ ماکرومول dNTPs، ۱۰ میلی مول *Tris-Hcl* ( $pH =$

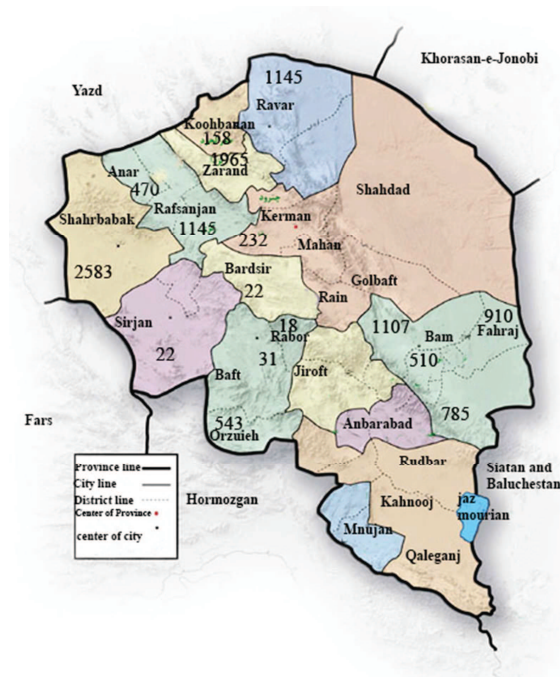


Fig. 1. Dispersion map of camels in different cities of Kerman province. Numbers show camels in each city  
شکل ۱- نقشه پراکنش شترهای استان کرمان در شهرهای مختلف. اعداد نشان دهنده تعداد شتر (به نفر) در هر شهرستان

می‌باشند

جدول ۱- توالی‌های پرایمرهای پنج نشانگر ریزماهواره  
Table 1. Primer sequences of 5 microsatellite markers

| Marker | Primer sequences 5'-3'                         | Reference                      | Genebank accession number | Fragment length (bp) |
|--------|------------------------------------------------|--------------------------------|---------------------------|----------------------|
| YWLL08 | ATCAAGTTTGAGGTGCTTTCC<br>CCATGGCATTGTGTTGAAGAC | (Lang <i>et al.</i> , 1996)    | ----                      | (113-195bp)          |
| VOLP03 | AGACGGTTGGGAAGGTGGTA<br>CGACAGCAAGGCACAGGA     | (Obreque <i>et al.</i> , 1998) | AF305228                  | (141-201bp)          |
| VOLP08 | CCATTACCCCATCTCTC<br>TCGCCAGTGACCTTATTTAGA     | (Obreque <i>et al.</i> , 1998) | AF305230                  | (90-128bp)           |
| YWLL38 | GGCCTAAATCCTACTAGAC<br>CCTCTCACTCTTGTTCCTC     | (Lang <i>et al.</i> , 1996)    | ----                      | (155-207bp)          |
| CVRL01 | GAAGAGGTTGGGGCACTAC<br>CAGGCAGATATCCATTGAA     | (Sasse <i>et al.</i> , 2000)   | AF217601                  | (204-246bp)          |

اطلاعات محتوای چندشکلی (PIC) نیز با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد:

$$PIC = \frac{N(1 - \sum p_i^2)}{n-1} \quad \text{رابطه (۵)}$$

در این رابطه،  $N$  تعداد نمونه‌ها و  $p_i$  فراوانی آلل  $i$  ام است. شاخص تثبیت<sup>۳</sup> ( $F_{ST}$ ) کسری از واریانس کل است که مربوط به تفاوت‌های بین زیر جمعیت‌ها است. اگر این شاخص ۱ باشد، زیرجمعیت‌ها آلل مشترک ندارند و اگر صفر باشد فراوانی‌های آللی در تمام زیرجمعیت‌ها یکسان هستند. بر اساس مطالعات انجام شده مقادیر بین ۰-۰/۰۵ نشان دهنده تمایز ژنتیکی کم، ۰/۱۵-۰/۰۵ تمایز متوسط، ۰/۲۵-۰/۱۵ تمایز زیاد و مقادیر بزرگتر از ۰/۲۵ نشان دهنده تمایز خیلی زیاد بین جمعیت‌ها است. تمامی شاخص‌های مربوطه از قبیل تعداد آلل واقعی، تعداد آلل موثر، هموزیگوسیتی، هتروزیگوسیتی، شاخص شانون، شاخص نئی و غیره با استفاده از نرم‌افزار PopGene محاسبه شدند.

### نتایج و بحث

کیفیت  $DNA$  از شرایط مطلوبی برای انجام  $PCR$  برخوردار بود و هیچ گونه آلودگی مشاهده نشد (شکل ۲). نتایج  $PCR$  (شکل ۳) نشان داد که در مجموع، تمامی نشانگرهای ریزماهواره مورد استفاده در این تحقیق از چندشکلی بالایی برخوردار بودند (جدول ۲).

$$H_0 = \frac{\sum N_{ij}}{N} \quad \text{رابطه (۱)}$$

در این رابطه  $N_{ij}$  ( $j \neq i$ ) تعداد افراد هتروزیگوت،  $i$  و  $j$  نوع آلل‌ها در جایگاه ژنی مورد مطالعه و  $N$  تعداد کل افراد در جمعیت مورد مطالعه است.

$$H_e = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2 \quad \text{رابطه (۲)}$$

که در آن عبارت  $\sum_{i=1}^n p_i^2$  فراوانی مورد انتظار هموزیگوت‌ها و  $p_i$  فراوانی  $i$  امین آلل در یک جایگاه معین می‌باشند. تعداد آلل‌های واقعی ( $na$ )<sup>۱</sup>، تعداد آلل‌های مشاهده شده یک جایگاه در یک جمعیت است. از آنجائیکه این معیار اغلب به شدت تحت تأثیر اندازه نمونه است، مقایسه بین جمعیت‌هایی با اندازه نمونه متفاوت باید با احتیاط صورت گیرد. گاهی اوقات نیز از تعداد آلل مؤثر<sup>۲</sup> ( $ne$ ) استفاده می‌شود که عکس هموزیگوسیتی مورد انتظار است (Hartl and Clark, 1989). تعداد آلل مؤثر با رابطه ۳ محاسبه می‌شود.

$$n_e = \frac{1}{\sum p_i^2} \quad \text{رابطه (۳)}$$

که در این رابطه  $p_i$  فراوانی آللی برای جایگاه مورد نظر است. شاخص اطلاعاتی شانون نیز با استفاده از رابطه زیر تعیین شد (Lewontin, 1974):

$$H' = -\sum_i p_i \ln p_i \quad \text{رابطه (۴)}$$

<sup>3</sup> Fixation Index

<sup>1</sup> Number of actual alleles

<sup>2</sup> Number of effective alleles

جدول ۲- فراوانی آللی پنج نشانگر ریزماهواره در شترهای شمال استان کرمان

Table 2. Allele frequency of five microsatellite markers for camels of the north of Kerman province

| Locus<br>Allele | <i>YWLL08</i><br>(113-195bp) | <i>VOLP03</i><br>(141-201bp) | <i>VOLP08</i><br>(90-128bp) | <i>YWLL38</i><br>(155-207bp) | <i>CVR01</i><br>(204-246bp) |
|-----------------|------------------------------|------------------------------|-----------------------------|------------------------------|-----------------------------|
| A               | 0.0370                       | 0.1667                       | 0.1250                      | 0.0250                       | 0.0750                      |
| B               | 0.1914                       | 0.0962                       | 0.1125                      | 0.1375                       | 0.1750                      |
| C               | 0.0617                       | 0.1282                       | 0.1000                      | 0.3187                       | 0.2437                      |
| D               | 0.0556                       | 0.1282                       | 0.0875                      | 0.1750                       | 0.3063                      |
| E               | 0.0864                       | 0.1026                       | 0.1062                      | 0.1750                       | 0.2000                      |
| F               | 0.0864                       | 0.1154                       | 0.1812                      | 0.1000                       | *                           |
| G               | 0.0432                       | 0.1410                       | 0.0563                      | 0.0688                       | *                           |
| H               | 0.0802                       | 0.0705                       | 0.1125                      | *                            | *                           |
| I               | 0.0803                       | 0.0384                       | 0.0688                      | *                            | *                           |
| J               | 0.1049                       | 0.0128                       | 0.0500                      | *                            | *                           |
| K               | 0.0741                       | *                            | *                           | *                            | *                           |
| L               | 0.0494                       | *                            | *                           | *                            | *                           |
| M               | 0.0185                       | *                            | *                           | *                            | *                           |
| N               | 0.0309                       | *                            | *                           | *                            | *                           |

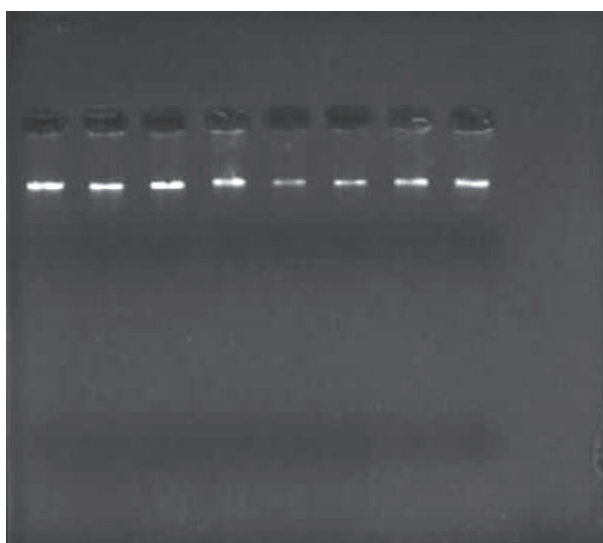


Fig. 2. Some sample of extracted DNA from camel blood on agarose gel  
 شکل ۲- چند نمونه از DNA استخراج شده شترها روی ژل آگارز

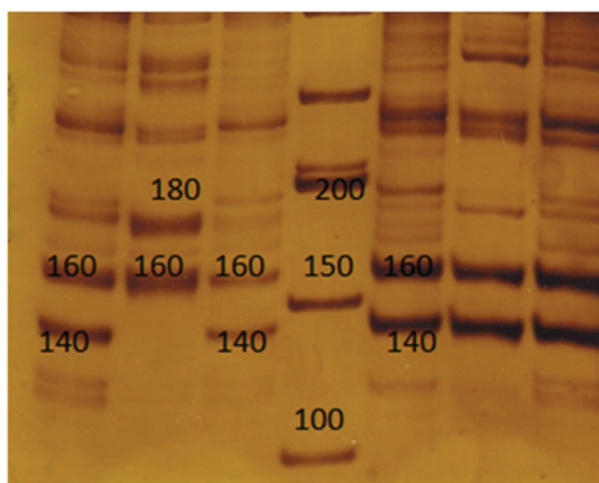


Fig. 3. PCR results of some samples using VOLP03 marker. Middle line is size marker (ladder) and 6 other lanes are studied samples

شکل ۳- نتایج PCR چند نمونه با نشانگر VOLP03. چاهک وسط نشانگر اندازه و ۶ چاهک دیگر نمونه ها هستند

با تعداد آلل بیش‌تر میزان هتروزیگوسیتی بیش‌تری نیز مشاهده می‌شود. همچنین جایگاه *YWLL08* بیش‌ترین (۰/۹۱۶۵) و جایگاه *CVR01* کم‌ترین (۰/۷۸۰۱) مقدار محتوای اطلاعات چند شکلی را دارا می‌باشند (شکل ۴). در تحقیقی که به منظور بررسی تنوع ژنتیکی و ارتباط بین چهار نژاد شتر یک کوهانه هندی جی‌سامری، می‌واری، بی‌کانری<sup>۱</sup> و کاجی<sup>۲</sup> با ۲۳ جایگاه ریز ماهواره صورت گرفت مشخص شد که دو نژاد می‌واری و جی‌سامری با توجه به انتخاب صفات خاص متمایز از سایر نژادها بودند (Vijh *et al.*, 2007). برای نشانگر VOLP03 مقدار محتوای اطلاعات چند شکلی و هتروزیگوسیتی مورد انتظار به‌ترتیب ۰/۴۶۰ و ۰/۵۱۵ بود (Mehta *et al.*, 2007)، در حالی که در مطالعه حاضر این مقادیر به‌ترتیب ۰/۸۹۱ و ۰/۸۸۵ به‌دست آمد. برای نشانگر VOLP08 این مقادیر در یک پژوهش به ترتیب ۰/۴۵۳ و ۰/۵۰۰ (Mehta *et al.*, 2007) و در پژوهشی دیگر به‌ترتیب ۰/۵۲۶ و ۰/۶۰۵ بود (Gautam *et al.*, 2004)، اما در این مطالعه مقادیر مربوطه به‌ترتیب ۰/۸۸۷ و ۰/۸۹۲ محاسبه شدند. برای نشانگر *YWLL08* مقدار محتوای اطلاعات چند شکلی و هتروزیگوسیتی مورد انتظار در مطالعات مختلف به‌ترتیب ۰/۷۶۵ و ۰/۷۹۶ (Mehta *et al.*, 2007)، ۰/۶۵۶ و ۰/۸۱۸ (Lang *et al.*, 1996) و ۰/۹۱۶ و ۰/۹۱۱ (مطالعه حاضر) گزارش شده است. برای نشانگر

بیش‌ترین و کم‌ترین تعداد آلل مشاهده شده (واقعی) مربوط به جایگاه ژنی *YWLL08* (۱۴ آلل) و جایگاه ژنی *CVR01* (۵ آلل) بود. در تحقیقی که روی جمعیت شتر در جزایر قناری انجام شد تعداد آلل برای دو جایگاه مزبور به ترتیب ۲۱ و ۲۲ گزارش شد (Schulz *et al.*, 2010). بیش‌ترین و کم‌ترین تعداد آلل مؤثر به‌ترتیب مربوط به جایگاه‌های *YWLL08* (۱۰/۵۴) و *CVR01* (۴/۳۵) بود (جدول ۳). تعادل هاردی واینبرگ در جمعیتی صادق است که عامل‌های بر هم زننده تعادل نظیر جهش، انتخاب طبیعی و جفت‌گیری‌های غیرتصادفی وجود نداشته باشد و جمعیت به اندازه کافی بزرگ باشد. تمامی جایگاه‌های مورد بررسی با استفاده از آزمون  $X^2$  و  $G^2$  انحراف از تعادل هاردی واینبرگ را نشان دادند. این انحرافات می‌تواند ناشی از کوچک بودن اندازه جمعیت مورد بررسی و یا استفاده از شترهای نر از جمعیت‌های دیگر جهت آمیزش (مهاجرت) باشد. در تحقیقی که روی هفت جمعیت از شترهای کنیا با ۱۴ نشانگر صورت گرفت نتایج حاکی از وجود تعادل هاردی واینبرگ در تمامی جایگاه‌ها بود (Mburu *et al.*, 2003). یکی از رایج‌ترین دستاوردهای نشانگرهای مولکولی برای ارزیابی تنوع آلل، هتروزیگوسیتی است. مقادیر مختلف هتروزیگوسیتی در جدول ۳ نشان داده شده است. بیش‌ترین میزان هتروزیگوسیتی مورد انتظار مربوط به جایگاه *YWLL08* (۰/۹۱۰۸) و کم‌ترین آن مربوط به جایگاه *CVR01* (۰/۷۷۵۴) بود. نتایج حاکی از آن است که در جایگاه‌های

<sup>1</sup> Bikaneri

<sup>2</sup> Kutchi

معرف تنوع ژنتیکی در شترهای ایرانی مطالعه شده از تمامی شترهای مورد مطالعه در تحقیقات دیگر بالاتر است.

YWLL38 نیز مقدار محتوای اطلاعات چند شکلی و هتروزیگوسیتی مورد انتظار در مطالعات مختلف به ترتیب ۰/۴۵۱ و ۰/۵۵۲ (Mehta *et al.*, 2007)، ۰/۲۱۹ و ۰/۴۰۶ (Lang *et al.*, 1996) و ۰/۸۱۳ و ۰/۸۰۸ (مطالعه حاضر) گزارش شده است که نشان می‌دهد میزان شاخص‌های

جدول ۳- تعداد آلل مشاهده شده، تعداد آلل موثر، هتروزیگوسیتی مشاهده شده، هتروزیگوسیتی مورد انتظار، میانگین

هتروزیگوسیتی و PIC (محتوای اطلاعات چندشکل) برای ۵ نشانگر ریز ماهواره در شترهای شمال استان کرمان

Table 3. Observed number of alleles, effective number of alleles, observed heterozygosity, expected heterozygosity, Mean- heterozygosity and PIC (polymorphic information content) for 5 microsatellite markers in camels of the north of Kerman province

| Locus   | Observed number of alleles | Effective number of alleles | Observed heterozygosity | Expected heterozygosity | Mean-heterozygosity | PIC    |
|---------|----------------------------|-----------------------------|-------------------------|-------------------------|---------------------|--------|
| YWLL08  | 14                         | 10.5482                     | 0.9753                  | 0.9108                  | 0.8688              | 0.9165 |
| VOLP03  | 10                         | 8.3172                      | 0.9744                  | 0.8854                  | 0.8008              | 0.8907 |
| VOLP08  | 10                         | 8.8398                      | 0.9375                  | 0.8925                  | 0.8192              | 0.8868 |
| YWLL38  | 7                          | 5.0733                      | 0.4375                  | 0.8079                  | 0.7626              | 0.8129 |
| CVR01   | 5                          | 4.3582                      | 0.9625                  | 0.7754                  | 0.7209              | 0.7801 |
| Mean    | 9.2                        | 7.4273                      | 0.8574                  | 0.8544                  | 0.7944              | 0.8574 |
| St. Dev | 3.4205                     | 2.6214                      | 0.2352                  | 0.0592                  | 0.0561              | 0.0579 |

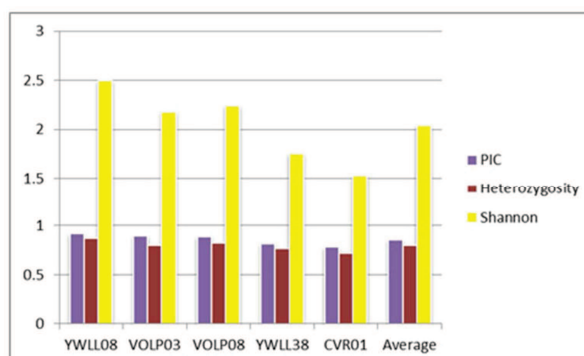


Fig. 4. Comparison of PIC values with genetic diversity parameters (heterozygosity and Shannon index)

شکل ۴- مقایسه مقادیر PIC با پارامترهای تنوع ژنتیکی (هتروزیگوسیتی و شاخص اطلاعات شانون)

مطالعه در شمال استان کرمان است که نشان از تنوع بالای این شترها و اهمیت ژنتیکی آنها دارد.

مقادیر شاخص تثبیت برای نشانگرهای YWLL08, VOLP03, VOLP08, YWLL38 و CVR01 به ترتیب ۰/۰۳۶، ۰/۰۸۹، ۰/۰۷۳، ۰/۰۴۶، ۰/۰۵۴ و ۰/۰۵۶ به دست آمد که تمایز خیلی زیاد بین جمعیت‌ها را نشان می‌دهد. با مقایسه بین هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار می‌توان دریافت که در تمامی جایگاه‌ها فزونی هتروزیگوستی وجود دارد و خطری از بابت افت هتروزیگوسیتی در جمعیت‌های مورد تحقیق وجود ندارد و می‌توان از این جمعیت‌ها به عنوان یک ذخیره ژنتیکی مناسب برای اهداف مختلف در پروژه‌های اصلاحی استفاده کرد. لیکن توصیه می‌شود افرادی که حامل آلل‌های نادر هستند باید در آمیزش‌ها بیشتر شرکت داده شوند تا از همخونی احتمالی در آینده جلوگیری شود و نیز با جابجا کردن افراد بین گله‌ها و یا تلقیح مصنوعی باید واریانس ژنتیکی را افزایش داد تا خزانه ژنی این جمعیت‌ها باارزش‌تر شود.

نتایج این پژوهش نشان داد که میزان شاخص‌های معرف تنوع ژنتیکی در شترهای ایرانی مطالعه شده از تمامی شترهای مورد مطالعه در تحقیقات دیگر بالاتر است که نشان‌دهنده ارزش ژنتیکی این حیوانات در ایران است. به منظور بررسی‌های جامع‌تر ضروری است که نشانگرهای بیشتری مورد مطالعه قرار گیرند و نمونه‌های جمعیت‌های دیگر موجود در سایر مناطق نیز مطالعه شوند تا با درجه اطمینان بالاتری بتوان در این خصوص نتیجه‌گیری نمود.

### سپاسگزاری

تحقیق حاضر با حمایت اتحادیه شرکت‌های تعاونی کشاورزی دامداران استان کرمان انجام شده است که بدین وسیله از همکاری صمیمانه آنها تقدیر و تشکر شایسته به عمل می‌آید.

درخت فیلوژنی حیوانات مطالعه شده در شکل ۵ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود شترهای شهرباک با راور بیشترین فاصله ژنتیکی را دارند و شترهای رفسنجان هم کمترین فاصله ژنتیکی را دارا هستند که با توجه به فاصله جغرافیایی و خصوصیات فنوتیپی منطقی به نظر می‌رسد (شکل ۱). در تحقیقی که روی جمعیت شترهای یک کوهانه کنیا و شبه جزیره عربستان و نژاد بومی پاکستان با استفاده از ۱۴ نشانگر ریزماهواره صورت گرفت، تجزیه‌های ژنتیکی نشان داد که شترهای بومی کنیا از جمعیت شترهای بومی عربی و پاکستانی جدا هستند و شترهای بومی کنیا (با هتروزیگوتی مورد انتظار ۰/۵۸۳) نسبت به شترهای عربی (با هتروزیگوتی مورد انتظار ۰/۵۹۴) و پاکستانی (با هتروزیگوتی مورد انتظار ۰/۵۹۳) تنوع کمتری دارند (Mburu *et al.*, 2003).

در پژوهشی بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت شتر دوکوهانه ایران با استفاده از ۷ نشانگر ریزماهواره نشان داد که جایگاه‌های مورد مطالعه چندشکلی مناسبی دارند و متوسط هتروزیگوسیتی مورد انتظار و مشاهده شده به ترتیب ۰/۴۸۹ و ۰/۷۱۴ و محتوای اطلاعات چند شکلی برابر ۰/۵۵۷ گزارش شد. همچنین تمامی این جایگاه‌های ژنی از تعادل هاردی وینبرگ انحراف معنی‌داری داشتند (شاه کرمی و همکاران، ۲۰۱۲)، که با نتایج پژوهش حاضر با متوسط هتروزیگوسیتی مورد انتظار و مشاهده شده به ترتیب ۰/۸۵۷ و ۰/۸۵۴ و محتوای اطلاعات چند شکلی برابر ۰/۸۵۷ همخوانی داشت. با استفاده از ۱۶ نشانگر ریزماهواره در عربستان سعودی تنوع ژنتیکی شتر یک کوهانه نژاد *Majaheem* بررسی شد. متوسط هتروزیگوسیتی مورد انتظار و مشاهده شده به ترتیب ۰/۶۵۲ و ۰/۶۶۵ و محتوای اطلاعات چند شکلی در دامنه-۱ ی ۰/۷۶۸-۰/۳۴۰ گزارش شد که نشان‌دهنده تنوع ژنتیکی بالا در این نژاد است (Mahmoud *et al.*, 2013)، اما این تنوع کمتر از تنوع مشاهده شده در شترهای مورد



Fig. 5. Phylogenetic tree of one-humped camels of the north of Kerman province.

شکل ۵- درخت فیلوژنی مربوط به شترهای تک کوهانه شمال استان کرمان.

## فهرست منابع

- خدایی س. ع. ۱۳۸۶. اصول پرورش شتر. تهران، پرتو واقعه، ۱: ۳۴-۳۲.
- شاه کرمی س.، افراز ف.، میرحسینی س. ض.، بنابازی ح.، اسدزاده ن.، اسدی ن.، همتی ب.، قنبری الف. و رضوی ک. ۱۳۹۱.
- بررسی تنوع ژنتیکی شترهای دو کوهانه ایران. ژنتیک نوین، ۷(۲): ۲۴۸-۲۵۶.
- وزارت جهاد کشاورزی. ۱۳۷۱. جهاد کشاورزی در آینه آمار. معاون امور دام، وزارت جهاد کشاورزی. تهران، ایران.
- www.maj.ir
- Askari N., Mohammad Abadi M. R. and Baghizadeh A. 2011. ISSR markers for assessing DNA polymorphism and genetic characterization of cattle, goat and sheep populations. *Iranian Journal of Biotechnology*, 9: 222-9.
- Baumung R., Simianer H. and Hoffmann I. 2004. Genetic diversity studies in farm animals – a survey. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 121: 361-373.
- FAO. 2010. FAO Statistic Division.
- FAO. 2011. FAOSTAT: Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rom, 2013, from <http://faostat.fao.org>.
- Gautam L., Mehta S. C., Gahlot R. S. and Gautam K. 2004. genetic characterization of Jaisalmeri camel using microsatellite markers. *Indian Journal of Biotechnology*, 3: 457-459.
- Gharabash A. M., Ahmadi M. and Akbarpour H. 2009. Turkman one-humped camel and its products in Golestan province, In: *The Regional conferences of camel research priorities*, Research Institute, Mashhad Branch, Khorasan Razavi, Iran., pp 15-16.
- Hartl D. L. and Clark A. G. 1989. *Principles of population genetics*. 2<sup>nd</sup> ed. Sinauer Associates, Sunderland, MA.
- Hiendleder S., Thomsen H., Reinsch N., Bennewitz J., Leyhe-Horn B., Looft C., Xu N., Medjugorac I., Russ I., Kühn C., Brockmann G. A., Blümel J., Brenig B., Reinhardt F., Reents R., Averdunk G., Schwerin M., Förster M., Kalm E. and Erhardt G. 2003. Mapping of QTL for body conformation and behavior in cattle. *Journal of Heredity*, 94: 496-506.
- Khodai S. A. 2004. The report on camel production systems and the socio-economics of camel herders in the Islamic Republic of Iran. Cardn/Acsad/Camel/P107/2002, Deputy for Livestock Affairs Directorate of Animal Breeding, Iran, 4-10.
- Lang K. D. M., Wang Y. and Plante Y. 1996. Fifteen polymorphic dinucleotide microsatellites in llamas and alpacas. *Animal Genetics*, 27: 285-294.
- Lewontin R. C. 1974. *The genetic basis of evolutionary change* Columbia. Univ. press. New York
- Mahmoud A. H., AlShaikh M. A., Aljummah R. S. and Mohammed O. B. 2013. Genetic characterization of Majaheem camel population in Saudi Arabia based on microsatellite markers. *Research Journal of Biotechnology*, 8 (4)
- Mate M. L., Bustamante A., Giovambattista G., de Lamo D., von Thüngen J., Zambelli A. and Vidal-Rioja L. 2005. Genetic diversity and differentiation of guanaco populations from Argentina inferred from microsatellite data. *Animal Genetics*, 36: 316-321.
- Mburu D. N., Ochieng J. W., Kuria S. G., Jianlin H., Kaufmann B., Rege J. E. O. and Hanotte O. 2003. Genetic diversity and relationships of indigenous Kenyan camel (*Camelus dromedarius*) populations: implications for their classification. *International Society for Animal Genetics. Animal Genetics*, 34: 26-32
- Mehta S. C., Goyal A. and Sahani M. S. 2007. Microsatellite markers for genetic characterization of Kachahhi camel. *Indian Journal of Biotechnology* 6: 336-339.
- Nei M. 1973. The theory and estimation of genetic distances. In: *Genetic structure of populations* (ed. Morton NE). University Press of Hawaii, Honolulu 70: 3321-3323.

- 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.
- O'connell M. and Wright J. M. 1997. Reviews in Fish Biology and Fisheries. *Microsatellite DNA in fishes*, 7: 331-363.
- Sarhadi F., Niasari Naslaji M., Arab M., Khaki M. and Asadzadeh N. 2012. Comparison of growth trend and fleece weight between dormedary (Kalkoei breed) and crossbred (Bactrain \* Dormedary) camel. ARN:IR2011009026. International Information System for the Agricultural Sciences and Technology. AGRIS, FAO. Available online at: <http://www.agris.fao.org>.
- Sasse J., Mariasegaram M., Jahabar Ali M. K., Pullenayegum, R., Kinne, B. R., 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, St Paul/Minneapolis, MN, USA.
- Schulz U., Yupanqui I. T., Martinez A., Mendez S., Delgado J. V., Gomez M., Dunner S. and Canon J. 2010. The canarian Camel: A Traditional Dromedary Population. *Diversity*, 2: 561-571.
- Shojaei M., Mohammad Abadi M. R., Asadi Fozi M., Dayani O. and Khezri A. 2011. Association of growth trait and Leptin gene polymorphism in Kermani sheep. *Journal of Cell and Molecular Research*, 2: 67-73.
- Stanley H. F., Kadwell M. and Wheeler J. C. 1994. Molecular evolution of the family Camelidae: a mitochondrial DNA study. *Proceeding of the Royal Society of London, B*, 256: 1-6.
- Vijh R. K., Tania M. S., Mishra B. and Bharani Kumar S. T. 2007. Genetic Diversity and Differentiation of Dromedarian Camel of India. Division of Animal Genetics, National Bureau of Animal Genetic Resources, Karnal, Haryana, India, 04.
- Zamani P., Akhondi M., Mohammadabadi M. R., Saki A. A. and Ershadi A. 2013. Genetic variation of Mehraban sheep using two intersimple sequence repeat (ISSR) markers. *African Journal of Biotechnology*, 10: 1812-1817.

## Genetic variation of camels in the North of Kerman province using microsatellite markers

M. Ghasemi Meymandi<sup>1</sup>, M. R. Mohammadabadi<sup>2\*</sup>, A. K. Esmailizadeh<sup>3</sup>

1. MSc Student of Animal Science Department, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman.

2. Associate Professor of Animal Science Department, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman

3. Professor of Animal Science Department, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman

---

(Received: 9-8-2014 – Accepted: 27-1-2015)

---

### Abstract

This study investigated genetic variation within indigenous *Camelus dromedarius* in north of Kerman province using five microsatellite markers (*VOLP03*, *VOLP08*, *YWLL08*, *YWLL38* and *CVR01*). The blood samples were collected from 81 camels of Shahr Babak, Rafsanjan and Ravar (5 populations). Phenol - chloroform extraction method was used to isolate the DNA. The highest and the lowest allele number and effective alleles are shown in *YWLL08* (14 and 10.54) and *CVR01* (5 and 4.35), respectively. The expected heterozygosity varied from 0.9108 (*YWLL08*) to 0.7754 (*CVR01*). The Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) test showed that all loci deviated from HWE ( $P < 0.05$ ). Polymorphism information content ranged from 0.7801 to 0.9165. Fixation index (FST) values for markers *YWLL08*, *VOLP03*, *VOLP08*, *YWLL38* and *CVR01* was obtained respectively 0.036, 0.089, 0.073, 0.046, 0.054 and 0.056 that indicates the distinction is too much between the populations. The results of the current study indicated that the *Camelus dromedarius* in the North of Kerman province populations have a relatively high genetic variation, which makes them compatible to drastic environmental changes existing in Kerman province. Therefore, it is essential to maintain this genetic diversity and this valuable animal.

**Keywords:** Genetic variation, *Camelus dromedarius*, Microsatellite markers

---

\*Corresponding author: mmohammadabadi@yahoo.ca