مجله بیوتکنولوژی کشاورزی

علمی-پژوهشی و ISC

بررسی انتساب افراد به جمعیت‌هایی از سگهای بومی ایران با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره

مهدیه منتظری[1]، علی اکبر مسعودی[2*]، رسول واعظ ترشیزی[3]، دامون اللهیار خان خراسانی[4]

[1]دانشجوی کارشناسی ارشد ژنتیک و اصلاح نژاد دام، دانشگاه تربیت مدرس

[2] استادیار گروه علوم دامی، دانشگاه تربیت مدرس

[3]دانشیار گروه علوم دامی، دانشگاه تربیت مدرس

[4]فارغ التحصیل کارشناسی ارشد علوم دامی

تاریخ دریافت: 1391/08/09، تاریخ پذیرش: 1392/06/24

چکیده

تست انتساب در تشخیص منشاء یک فرد، ارزیابی تمایز جمعیتی و پزشک قانونی اهمیت به سزایی دارد. در این تحقیق به بررسی برخی از معیارهای تنوع ژنتیکی، مقایسه روشهای مختلف انتساب و نحوه انتساب افراد به 8 جمعیت از سگ‌های بومی کشور (کردی، سرابی، سنگسری، تازی، بختیاری، بومی کردستان، بومی البرز و بومی خراسان) با استفاده از 13 جفت نشانگر ریزماهواره (C26.73320؛ CXX.6727,10,18؛ FH20609,20؛ FH20169,20؛ FH2790؛ FH2795؛ FH2914؛ FH3053؛ REN59H07؛ REN87O21؛ REN126A15؛ REN144M10؛ REN86G15) پرداخته شد. به این منظور نمونه‌های خون و بافت از جمعیت‌های بومی کشور بدست آمده و استخراج DNA از خون به روش استخراج نمکی و از بافت نیز با استفاده از روش تغییر یافته هضم آنزیمی صورت گرفت. با توجه به نتایج، بیشترین میزان هتروزیگوسیتی در جمعیت کردی (0/72) و کمترین آن در جمعیت سنگسری (0/53) مشاهده شد. برای مطالعه انتساب افراد به جمعیت‌های مربوطه از 7 روش متفاوت استفاده شد. در بین روش‌های مبتنی بر درست‌نمایی، روش بیزی Baudouin & Lebrun (2001) و در بین روش‌های مبتنی بر فاصله ژنتیکی روش حداقل Nei (1973) بیشترین صحت را نشان دادند. مجموعاً نشانگرهای مورد استفاده توانسته‌اند در 73 درصد موارد در انتساب افراد به جمعیت مبداشان موفق عمل نمایند.

کلید واژها: انتساب افراد، تنوع ژنتیکی، نشانگر ریزماهواره، سگ بومی.

* نویسنده مسئول: علی اکبر مسعودی تلفن: 02148292353 E-mail: masoudia@modares.ac.ir

مقدمه

با توجه به عدم ثبت اطلاعات در برخی از جمعیت‌های حیوانی و نامشخص بودن روابط بین افراد در چنین جمعیت‌هایی، استفاده از روش‌های مناسب انتساب فرد به والدین یا جمعیتی که از آن منشاء گرفته، ضروری می‌باشد. هم‌چنین از تست انتساب می‌توان به بررسی الگوهای مهاجرت، تشخیص منشاء یک فرد خاص، ارزیابی ساختار جمعیت، تمایز جمعیت‌ها و پزشک قانونی به طور موثر بهره گرفت (Cornuet *et al*., 1996; Manel *et al*., 2002). اطلاع از سطح تنوع ژنتیکی موجودات اساسی‌ترین جنبه تمام علوم زیستی از قبیل اکولوژی، زیست‌شناسی تکاملی، رده‌بندی، زراعت، اصلاح و حفظ گونه‌های دامی به شمار می‌رود. حیوانات بومی به عنوان سرمایه ملی و استراتژیک هر کشور محسوب می‌شوند و شناخت دقیق این ذخایر ژنتیکی می‌تواند مبنای دقیق‌تری برای استفاده از برنامه‌های اصلاح نژادی در آینده گردد (Mirhoseini, 1996). هم‌چنین حفظ نژادهای بومی به عنوان ذخایر ژنتیکی ارزشمند برای نسل‌های آینده ضروری می‌باشد. با وجود این، ورود دامهای خارجی به کشورهای در حال توسعه از جمله ایران موجب شده است که دامهای بومی عمدتاً مورد بی توجهی قرار گیرند. در این فرایند دام‌های بومی یا به طور کلی حذف و یا محدود شده و از طرفی ممکن است دام‌های بومی به علت تلاقی‌های نسنجیده و ناصحیح، از نظر ژنتیکی خلوص خود را از دست بدهند (Shahbazi Azar & Mirhoseini, 2004). واضح است که شرط لازم برای بهبود در یک جمعیت حیوانی وجود تنوع در آن جمعیت است. با این وجود سگ اهلی یکی از حیواناتی است که دارای بیشترین تنوع در بین گونه‌های اهلی است و این امر آنرا به یک موضوع جالب برای مطالعات علمی تبدیل کرده است. امروزه در مطالعات علمی توجه ویژه‌ای به سگ می‌شود که علت این امر می‌تواند تنوع در ژنتیک، رفتار و فنوتیپ (اندازه، شکل، نوع پوشش و رنگ بدن) این حیوان باشد (Scott & Fuller, 1965; Sutter & Ostrander, 2004; Lindblad *et al*., 2007; Kukekova, *et al*., 2009). سگ از لحاظ حفاظت از افراد جامعه، گله‌های دام، کشف مواد مخدر، مواد منفجره و افراد زنده زیر آوار اهمیت بسزایی دارد. هم چنین بدلیل موقعیت سگ در درخت فیلوژنی، این حیوان را به عنوان الگوی مهمی برای مقایسه آنالیز ژنوم انسان تبدیل کرده است.

استفاده از نشانگرهای ژنتیکی در سالهای اخیر جهت بررسی ساختار ژنتیکی حیوانات کاربرد گسترده‌ای یافته است. در سال‌های اخیر، پروژه‌های متعددی با استفاده از نشانگرهای ژنتیکی صورت گرفته که به تشخیص نژادهای منحصر بفرد کمک کرده و می‌تواند در برنامه‌های حفاظت نژادی استفاده شود. همچنین می‌توان از آنالیزهای انجام شده به کمک نشانگرهای ژنتیکی، ماهیت تنوع ژنتیکی را در بین و داخل نژادها تعیین نمود (Zajc *et al*., 1997; Altet *et al*.,

2001; Lindblad *et al*., 2005). یکی دیگر از کاربردهای عمده نشانگرها، استفاده از آنها در مطالعات مربوط به انتساب افراد در جمعیت‌های دامی می‌باشد. سهولت جداسازی، تشخیص و به ویژه تغییرپذیری زیاد ریزماهواره‌ها موجب شده، ریزماهواره‌ها به ابزاری توانمند جهت تجزیه و تحلیل ژنتیکی جمعیت‌ها تبدیل شوند. جایگاه-های ریزماهواره، جایگاه‌های خنثی هستند که انتخاب طبیعی تاثیر چندانی در بر هم زدن تعادل این جایگاه‌ها ندارد (Rajai, 2004). چون این نشانگرها در سراسر ژنوم پراکنده‌اند، به عنوان ابزاری مناسب جهت بررسی ساختار و تنوع ژنتیکی جمعیت‌ها، تست انتساب، نقشه‌یابی ژن-های موثر بر بیماری‌ها و یا صفات کیفی و کمی، تست والدینی و همچنین ویژگی تکاملی گونه‌های دامی از جمله سگ مفید می‌باشند (Wayne & Morin, 2004). از اینرو ضرورت شناسایی تنوع موجود در جمعیت‌های سگ بومی ایران آشکار بوده اما تاکنون هیچ مطالعه جامعی در این مورد صورت نگرفته است. از آنجا که اندازه‌گیری مستقیم میزان تنوع ژنتیکی یک نژاد در مناطق مختلف جغرافیایی مشکل و زمانبر است (Koining *et al*., 1996)، پیشنهاد شده است که در برخی از موقعیت‌ها، روش انتساب می‌تواند جایگزین اندازه‌گیری پراکنش در محیط‌های زندگی طبیعی شود (Cornuet *et al*., 1996). در مطالعه‌ای از نشانگرهای ریزماهواره‌ای به منظور تست انتساب در 12 نژاد سگ از کشورهای پرتغال، آفریقا و اسپانیا به خوبی استفاده شده است (Pires *et al*., 2009). در مطالعه دیگری محققین با استفاده از همین نشانگرها توانستند افراد جمعیت German Shephard را با دقت 100 درصد به جمعیت مربوطه منتسب کنند (Coutts & Harlry, 2009). همان‌طوریکه در بالا نیز اشاره شد، تشخیص هویت یک موجود از جنبه‌های مختلف علمی و یا اقتصادی می‌تواند حائز اهمیت باشد لذا هدف از تحقیق حاضر، بررسی نحوه انتساب افراد به جمعیت‌ها و مقایسه روش‌های مختلف انتساب افراد در هشت جمعیت از سگ‌های بومی ایران با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره می‌باشد که نتایج حاصل می‌تواند در زمینه‌های مختلف ارزیابی و تشخیص این گونه-های حیوانی که ارزش و کاربردهای متعددی دارند، به کار روند.

مواد و روش‌ها

مطالعه اخیر با استفاده از تعدادی نمونه خون و بافت از برخی جمیعت سگ‌های بومی ایران از جمله جمعیت‌های تازی، کردی، سرابی، سنگسری و بختیاری و همچنین از تعدادی سگ-های آزاد بومی ایران نظیر سگ‌های بومی استان خراسان، کردستان و البرز صورت گرفت. تعداد نمونه مورد استفاده از هر جمعیت در جدول 1 آورده شده است. از آنجائیکه استخراج DNA با کیفیت و خلوص مطلوب، شرط لازم برای به دست آوردن تکرارپذیری بالا برای بیشتر نشانگرهای مولکولی از جمله ریزماهواره‌ها است (Bechmann & Soller, 1987)، پس از

استخراج، کیفیت و کمیت DNA تعیین گردید. برای آگاهی از میزان DNA و خلوص آن از الکتروفورز ژل آگارز 2 درصد و جهت تعیین کیفیت آن از دستگاه اسپکتروفتومتری استفاده شد. در این مطالعه از 13 جفت نشانگر ریزماهواره (C26.73320؛CXX.6727,10,18؛ H20609,20؛ FH20169,20؛ FH2790؛ FH2795؛ FH2914؛ FH3053؛REN59H07؛REN87O21؛ REN126A15؛ REN144M10؛ REN86G15) و آغازگرهای مربوطه استفاده شد (Breen *et al.*, 2001; Guyon *et al.*, 2003; Parker *et al.*, 2007). در انتخاب جایگاه‌ها به ویژگی‌هایی از قبیل هتروزایگوسیتی و چند شکلی بالا بر اساس تعداد آللها و پراکندگی متعدد ژنومی دقت شد. سپس واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در حجم 15 میکرولیتر طی 35 سیکل انجام شد. سیکل حرارتی PCR به صورت مرحله واسرشته سازی اولیه در 95°C به مدت 5 دقیقه، واسرشته سازی در 94°C به مدت 30 ثانیه، اتصال در 58°C-46، به مدت 30 ثانیه، تکثیر در 72°C به مدت 30 ثانیه و تکثیر نهایی در 72°C به مدت 5 دقیقه انجام شد. صحت انجام PCR با بررسی وجود محصولات تکثیر در ژل آگارز 2 درصد صورت گرفت. الکتروفورز عمودی ژل آکریلامید 6 درصد واسرشته‌ساز با ولتاژ 100 تا 300 به مدت 18 ساعت انجام شد و رنگ‌آمیزی ژلها به روش نیترات نقره صورت گرفت. برای بدست آوردن اندازه آلل‌ها از نرم‌افزار فتوشاپ و جهت تعیین انواع آلل‌ها و ژنوتیپ‌ها از نشانگر اندازه[1] و نرم‌افزار Excel (2007) استفاده گردید. از آنجاییکه هتروزیگوت‌ها آلل‌های متفاوتی دارند، فراوانی آنها مهم بوده و نشان‌دهنده وجود تنوع می‌باشند. میزان هتروزایگوسیتی معمولترین معیار تنوع ژنتیکی در یک جمعیت می‌باشد که در تحقیق حاضر به دو صورت هتروزایگوسیتی مشاهده شده (رابطه 1) و هتروزایگوسیتی مورد انتظار (رابطه 2)، (Nei, 1973) گزارش شده است.

رابطه 1:

$$H_o = \frac{\sum N_{ij}}{N}$$

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

رابطه 2:

$$H_e = 1 - \sum_{i=1}^{n} p_i^2$$

که در آن عبارت $\sum_{i=1}^{n} p_i^2$ فراوانی مورد انتظار هموزیگوت‌ها می‌باشد و p_i فراوانی i امین آلل در یک جایگاه معین می‌باشد.

تعداد آللهای واقعی[2] (n_a)، تعداد آللهای مشاهده شده یک جایگاه در یک جمعیت است. از آنجاییکه این معیار اغلب به شدت تحت تاثیر اندازه نمونه است، مقایسه بین جمعیت‌هایی با اندازه نمونه متفاوت باید با احتیاط صورت گیرد. گاهی اوقات نیز از تعداد آلل موثر[3] (n_e) استفاده می‌شود که عکس هموزایگوسیتی مورد انتظار

[1] Size Marker

[2] Number of Actual Allels

[3] Number of Effective Alleles

می‌باشد (Hartl & Clark, 1989). تعداد آلل موثر با رابطه 3 محاسبه می‌شود.

رابطه 3: $n_e = {}^{1}/_{\sum p_i^2}$

در این رابطه P_i فراوانی آللی برای جایگاه مورد نظر است.

در این تحقیق جهت انتساب افراد به جمعیت‌های مربوطه از دو روش مبتنی بر درست‌نمایی، روش بیزی Baudouin & Lebrun (2001) و روش بیزی Mountain & Rannala (1997)، روش فراوانی آللی Paetkau *et al.* (1995) و روش مبتنی بر فاصله ژنتیکی استاندارد Nei (1972)، حداقل Nei (1973)، ارزش دی Nei (1983) و Edwards & Cavalli-Sforza (1967) استفاده گردید. تست انتساب با استفاده از رابطه 4 برآورد می‌گردد.

رابطه 4: $A_{XY} = \frac{1}{n_X}\sum_{X}^{1}[\log_{10}\left(\frac{Pr_X(g_i)}{Pr_Y(g_i)}\right)]$

در این رابطه X و Y، جمعیت‌های مورد نظر، n_X اندازه جمعیت X، g_i ژنوتیپ فرد i و Pr_X و Pr_Y احتمال ژنوتیپ در دو جمعیت X و Y می‌باشند.

به منظور بررسی معیارهایی همچون هتروزایگوسیتی، تعداد آلل واقعی و تعداد آلل موثر از نرم افزار PopGene32 استفاده گردید. تجزیه و تحلیل چگونگی انتساب هر فرد به جمعیت‌های مربوطه نیز توسط نرم‌افزار GeneClass2 (Piry *et al.*, 2003) انجام شد.

نتایج و بحث

در تحقیق حاضر، معیارهای تنوع نشانگرهای مولکولی بررسی شده و با استفاده از روش‌های مختلف، انتساب افراد به جمعیت‌های مربوطه مورد آزمون قرار گرفت. نتایج حاکی از آن است که جایگاه FH20609,20 با 9 آلل و جایگاه FH3053 با 4 آلل به ترتیب بیشترین و کمترین تعداد آلل را نشان دادند که به دنبال آن جایگاه‌های فوق با 5/93 و 2/44 به ترتیب بیشترین و کمترین تعداد آلل مؤثر را داشتند. مطالعه شاخص شانون و معیار PIC (محتوای چند شکلی) نیز نشان داد که جایگاه FH3053 دارای کمترین تنوع و جایگاه FH20609,20 دارای بیشترین تنوع در بین جایگاه‌های مورد مطالعه می‌باشد. در کل نشانگرهای ریزماهواره با متوسط 0/73 هتروزایگوسیتی مورد انتظار، در جمعیت‌های مورد بررسی تنوع آللی و ژنوتیپی بالایی را نشان دادند. بیشترین و کمترین تنوع درون جمعیتی، که برای هر جمعیت به صورت متوسط هتروزایگوسیتی مورد انتظار در همه جایگاه‌ها برآورد گردید، به‌ترتیب در جمعیت‌های کردی (0/72) و سنگسری (0/53) بدست آمد.

جدول 1- تعداد نمونه های استفاده شده در جمعیت‌های مورد بررسی.

Table 1- The number of the samples used in the current study.

جمعیت Population	سرابی Sarabi	کردی Kurdish	تازی Tazi	بختیاری Bakhtiari	سنگسری Sangsari	بومی کردستان Kurdestan native	بومی البرز Alborz native	بومی خراسان Khurasan native
تعداد نمونه (Sample Size)	20	12	8	15	6	11	15	10

تفاوت اندک بین مقدار حداکثر و حداقل نشان می‌دهد که تنوع درون جمعیتی برای جمعیت‌های مورد مطالعه کم است. هم‌چنین با توجه به متوسط هتروزایگوسیتی در دو جمعیت سرابی و بختیاری (0/68 و 0/66) می‌توان نتیجه گرفت که این دو جمعیت، شباهت ژنتیکی زیادی با یکدیگر دارند. مطالعات متعدد در جمعیت‌های سگهای خارجی تنوع قابل ملاحظه‌ای را در این جمعیت‌ها نشان می‌دهد.

بر اساس نتایج مطالعه‌ای در سال 2003، هتروزایگوسیتی برای نژاد German Shephard، 0/55 گزارش شده است (Cho & Cho, 2003). در بررسی صورت گرفته توسط Parra *et al.* (2008) بر روی 5 نژاد، متوسط هتروزایگوسیتی برای نژاد German Shephard (0/64)، English Pointer (0/5)، English Setter (0/52)، Deutsch Drahthaar (0/62) و Epagneal Breton (0/65) گزارش شده است. در مقایسه با برخی نژادهای خارجی می‌توان گفت که تنوع درون جمعیتی اکوتیپ‌های سگهای بومی کشور مناسب است و با وجود اینکه تعداد حیوانات این جمعیت‌ها کاهش چشمگیری را داشته است، ولی با توجه به اطلاعات فوق هنوز تنوع ژنتیکی کافی در جمعیت‌ها برای استفاده در برنامه‌های اصلاحی و طراحی تلاقی‌های مناسب جهت حفظ این جمعیت‌های بومی وجود دارد.

قدرت آزمون انتساب به تعداد نشانگرهای مورد استفاده، اندازه نمونه در جمعیت، تنوع ژنتیکی، ارزش PIC و میزان فاصله ژنتیکی بین جمعیت‌ها بستگی دارد (Guinand *et al.*, 2004; Fan *et al.*, 2004). هر قدر فاصله ژنتیکی بین جمعیت‌ها کمتر باشد، باید تعداد نمونه‌ها را افزایش داد تا دقت آزمون بیشتر شود (Rafie *et al.*, 2012). تاثیر این فاکتورها در تست انتساب در گونه‌هایی مانند طیور و گاو نیز گزارش شده است (Maudet, 2001; Paetkau *et al.*, 2004). نتایج حاصل از انتساب صحیح افراد به جمعیت-های مربوطه از طریق کلیه روش‌های مبتنی بر فاصله ژنتیکی و روش‌های مبتنی بر درست‌نمایی در جدول 2 آورده شده است. همانطوریکه مشخص است این مقادیر از 70/1 درصد برای روش بیزی Mountain & Rannala (1997) تا 76/3 درصد برای روش حداقل Nei (1973) متغیر و میانگین انتساب افراد به جمعیت‌های مربوطه 73 درصد می‌باشد. پس می‌توان نتیجه گرفت که نشانگرهای مورد استفاده توانسته‌اند در حدود 73 درصد موارد، در انتساب افراد به جمعیت مبداشان موفق عمل نمایند. همانطوریکه

ذکر شد قدرت انتساب به ارزش PIC و هتروزایگوسیتی نشانگرها بستگی دارد. بنابراین بالا بودن درصد میانگین انتساب می‌تواند به این علت باشد که اکثر نشانگرهای ریزماهواره مورد استفاده در این مطالعه تنوع آللی، هتروزایگوسیتی و ارزش PIC بالایی را نشان دادند. در یک تحقیق صورت گرفته میانگین انتساب افراد به جمعیت‌های مورد مطالعه 13 درصد گزارش شده است، که دلیل پایین بودن این نسبت‌ها، کوچک بودن اندازه جمعیت‌ها و تعداد جایگاه‌های مورد بررسی بوده است (Pires *et al*., 2009).

یک نمونه از انتساب افراد به جمعیت‌های مربوطه در جدول 3 آورده شده است. این جدول شامل دو بخش است بخش اول شامل میانگین احتمال انتساب افراد به هر کدام از جمعیت‌ها و بخش دیگر شامل تعداد حیواناتی است که به طور صحیح به جمعیت مربوطه و یا سایر جمعیت‌ها منتسب شده‌اند. همانطوریکه در جدول 3 مشاهده می‌شود احتمال انتساب افراد جمعیت سرابی به خودشان 0/439 می‌باشد در صورتی که این میزان برای جمعیت‌های بومی البرز، بومی خراسان و بومی کردستان صفر و برای بقیه جمعیت‌ها نیز معنی‌دار است ($p<0.05$). از نتایج چنین استنباط می‌شود که برخی از سگ‌های جمعیت بختیاری با جمعیت کردی تا حدودی واجد شباهت آللی هستند. به عنوان مثال از 20 فرد در جمعیت سرابی، 19 فرد از آنان به خودشان، 5 سگ به جمعیت کردی و 1 فرد نیز به جمعیت بختیاری منتسب شده‌اند. این در حالی است که هیچ سگی به سایر جمعیت‌ها منتسب نشده است. در کل نتایج نشان می‌دهد که افراد جمعیت کردی به همه جمعیت‌ها شباهت ژنتیکی دارند که احتمالاً اختلاط مواد ژنتیکی این جمعیت با جمعیت‌های دیگر در طول زمان می‌تواند دلیل این شباهت ژنتیکی باشد. با توجه به نتایج مذکور می‌توان گفت که به دلایل متعددی از قبیل قرار گرفتن ایران در مسیر جاده ابریشم و جابجایی حیوانات در این شاهراه تجاری، دارا نبودن جایگاه خاص در تولیدات دامی و بی اعتنایی به نگه‌داری این حیوان، تفکرات مذهبی و دینی در رابطه با سگ و عدم توجه به پرورش و حفظ این ذخایر بومی ارزشمند هیچگونه کنترلی برای تلاقی‌ها و نگه‌داری این حیوانات در منطقه بومی خود وجود نداشته است و به مرور زمان باعث اختلاط ژنتیکی این جمعیت‌ها شده است. با نگاهی به فنوتیپ متفاوت و پراکنش اکوتیپ‌هایی از سگها از جمله سگ تازی از کشورهای آسیای میانه تا کشورهای آسیای غربی موارد فوق الذکر بیشتر می‌تواند مورد تایید باشد. با توجه به اهمیت این حیوان در مطالعات متنوع ژنتیکی و تکاملی از یک طرف و توسعه تکنیک‌های مطالعاتی ژنوم از قبیل SNP-Chip از طرف دیگر، بررسی کل ژنوم سگهای بومی کشور در مقایسه با نمونه‌های خارجی می‌تواند دستاوردهای جدیدی از قرابت، خویشاوندی و تکامل این حیوانات را در اختیار بشر قرار دهد. دستیابی به اطلاعات فوق برای کمک به مشکلات پیش‌رو در جامعه امروزی از قبیل دستیابی به حیواناتی با

قابلیت‌های خاص مانند حیوانات توانمند در کشف اجساد زیر آوار و یا پیدا کردن مواد مخدر و مواد منفجره می‌تواند مثمر ثمر باشد. در انتها با توجه به نتایج بدست آمده می‌توان گفت که در بین روشهای مبتنی بر درست نمایی، روش بیزی Baudouin & Lebrun (2001) و در بین روشهای مبتنی بر فاصله ژنتیکی روش حداقل Nei (1973) بیشترین صحت انتساب را برای نمونه‌های مطالعه شده نشان می‌دهند که می‌تواند در مطالعات بررسی انتساب افراد در سگهای بومی کشور مورد استفاده قرار گیرند.

سپاسگزاری

تحقیق حاضر با حمایت مالی پلیس مبارزه با مواد مخدر ناجا انجام شده است که بدین وسیله از همکاری صمیمانه آنها تقدیر و تشکر شایسته بعمل می آید.

جدول 2- صحت انتساب افراد به جمعیت‌ها با استفاده از روش‌های مختلف.

Table 2- Correct assignment of the individuals to the populations using different methods.

روش آزمون انتساب Assignment test method	درصد انتساب صحیح Percentage of the correct assignment
روش بیزی (Bayesian Method)	
Baudouin & Lebrun (2001)	72.2
Rannala and Mountain (1997)	70.1
فراوانی آللی (Allelic Frequency)	
Paetkau *et al*. (1995)	71.1
قاصله ژنتیکی (Genetic Distance)	
Nei Standard (1972)	72.2
Nei Minimum (1973)	76.3
Nei DNA (1983)	75.3
Cavalli-Sforza & Edwards (1967)	75.3

جدول 3- میانگین انتساب افراد (تعداد انتساب صحیح افراد) به جمعیت‌های مربوطه با روش بیزی.

Table 3- Average individual assignment (number of correct assignment) to the respective populations using Bayesian method.

جمعیت Population	سرابی Sarabi	بختیاری Bakhtiari	بومی البرز Alborz native	کردی Kurdish	بومی خراسان Khurasan native	بومی کردستان Kurdestan native	تازی Tazi	سنگسری Sangsari
سرابی	0.439(19)	0.013(1)	0	0.031(5)	0	0	0.005(0)	0.0009(0)
بختیاری	0.023(1)	0.392(15)	0.065(1)	0.060(4)	0.001(0)	0	0.004(0)	0.003(0)
بومی البرز	0.006(0)	0.028(0)	0.386(0)	0.045(4)	0.0008(0)	0	0.003(0)	0.004(0)
کردی	0.006(1)	0.001(0)	0	0.481(12)	0.028(0)	0.0002(0)	0.008(0)	0.005(0)
بومی خراسان	0.0004(0)	0.004(0)	0.0005(0)	0.191(7)	0.541(10)	0.002(0)	0.019(1)	0.003(0)
بومی کردستان	0.032(0)	0.004(0)	0.002(0)	0.048(7)	0.004(0)	0.447(11)	0.008(0)	0.003(0)
تازی	0.0002(0)	0.001(0)	0	0.097(5)	0.001(0)	0	0.568(8)	0.005(0)
سنگسری	0.005(0)	0.016(1)	0.014(0)	0.145(4)	0.005(0)	0	0.021(0)	0.563(6)

منابع

Altet L, Francino O, Sanchez A (2001). Microsatellite polymorphism in closely related dogs. Journal Hered 92: 276-278.

Baudouin L, Lebrun P (2001). An operational Bayesian approach for the identification of sexually reproduced cross-fertilized populations using molecular markers. Acta Horticulturae 546: 81-94.

Bechmann JS, Soller M (1987). Molecular markers in the genetic improvement of farm animals. Biotechnology 5: 573-576.

Breen M, Jouquand S, Renier C, Mellersh CS, Hitte C, Holmes NG, Cheron A, Suter N, Vignaux F, Bristow AE, Priat C, McCann E, Andre C, Boundy S, Gitsham P, Thomas R, Bridge WL, Spriggs HF, Ryder EJ, Curson A, Sampson J, Ostrander EA, Binns MM, Galibert F (2001). Chromosome-specific single-locus FISH probes allow nchorage of an 1800-marker integrated radiation-hybrid/linkage map of the domestic dog genome to all chromosomes. Genome Research 11: 1784-1795.

Cavalli-Sforza LL, Edwards AWF (1967). Phylogenetic analysis: models and estimation procedures. The American Journal of Human Genetics 19: 233-257.

Cho GJ, Cho BW (2003). Validation of microsatellite markers for routine canine parentage testing in korea. Genetics 25: 103-108.

Cornuet JM, Aulagnier S, Lek S, Franck S, Solignac M (1996). Classifying individuals among infra-specific taxa using microsatellite data and neural networks. Biological Journals and Abbreviations 319: 1167–1177.

Coutts NJ, Harley EH (2009). Comparative populationgenetic of the German Shepherd dog in South Africa. South African Journal of Science 105: 132-135.

Fan B, Chen YZ, Moran C, Zhao SH, Liu B, Yu M, Zhu MJ, Xiong TA, Li K (2004). Individual-breed assignment analysis in swine populations by using microsatellite markers. Journal of Animal Science 18: 1529-1534.

Guinand B, Scribner KT, Topchy A, Page KS, Punch W, Burnhum-Curtis MK (2004). Sampling issues affecting accuracy of likelihood-based classification using genetical data. Environmental Biology of Fishes 69: 245-259.

Guyon R, Lorentzen TD, Hitte C, Kim L, Cadieu E, Parker HG, Quignon BP, Lowe JK, Renier C, Vignaux F.O, DeFrance HB, Gloux S, Mahairas GG, Andre C, Galibert C, Ostrander EA (2003). A 1-Mb resolution radiation hybrid map of the canine genome. PNAS 100: 5296–5301.

Hartl DL, Clark AG (1989). Principles of population genetics. 2nd ed. Sinauer Associates, Sunderland, MA.

Koinig WD, Vuren DV, Hooge PN (1996). Detectability, philopatry, and the distribution of dispersal distance in vertebrates. Trends in Ecology & Evolution 11: 514-517.

Kukekova AV, Vorobieva NV, Beklemisheva VR, Johnson JL, Temnykh SV, Yudkin DV, Trut LN, Andre C, Galibert F, Aguirre G D (2009). Chromosomal mapping of canine-derived BAC clones to the red fox and American mink genomes. Journal of Heredity 100: S42.

Lindblad K, Wade CM, Mikkelsen TS, Karlsson EK, Jaffe DB (2005). Genome sequence, comparatative analysis and haplotype structure of the domestic dog. Nature. 438: 803-819.

Lindblad-Toh K, Wade CM, Mikkelsen TS, Karlsson EK, Jaffe DB, Kamal M, Clamp M, Chang JL, Wayne RK, Ostrander EA (2007). Lessons learned from the dog genome. Genetics 23: 557-567.

Manel S, Berthier P, Luikart G (2002). Detecting poaching: Identifying the origin of individuals using bayesian assignment tests and multi-locus genotypes. Biological Journals and Abbreviations 16: 650-659.

Maudet C (2001). Diversities characterization genetique des races bovine set caprices originaires de la region Rhone-Alps. Docteur. University Joseph Fourier, Grenoble, France.

Mirhosieni SZ (1996). The Study of genetic diversity Iranian Silkworm using Protein and DNA markers. Ph.D thesis. Department of animal science, Tarbiat Modares University, Iran .

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.

Nei M (1972). Genetic distances between populations. American Naturalist 106: 283-292.

Nei M, Tajima F, Tateno Y (1983). Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data. Journal of Molecular Evolution 19: 153-170.

Paetkau D, Slade R, Burden M, Estoup A (2004) Genetic assignment methods for the direct, real-time estimation of migration rate: a simulation-based exploration of accuracy and power. Molecular Ecology 13: 55–65.

Paetkau D, Calvert W, Stirling I, Strobeck C (1995). Microsatellite analysis of population structure in Canadian polar bears. Molecular Ecology 4: 347-354.

Parker HG, Kukekova AV, Akey DT, Goldstein O, Kirkness EF, Baysac KC, Mosher DS, Aguirre GD, Acland GM, Ostrander EA (2007). Breed relationships facilitate fine-mapping studies: A 7.8-kb deletion cosegregates with Collie eye anomaly across multiple dog breeds. Genome Research 17: 1562–1571.

Parra D, Mendez S, Canon J, Dunner S (2008). Genetic differentiation in pointing dog breeds inferred from microsatellites and mitochondrial DNA sequence. Animal Genetics 39: 1–7.

Pires AE, Amorim IR, Ginja C, Gomes M, Godinho I, Simoes F, Oom M, Petruoci F, Matos J, Bruford MW (2009). Molecular structure in peripheral dog breed: Portuguese native breeds as a case study. Animal Genetics 40: 383-392.

Piry S, Alapetite A, Cornuet JM, Paetkau D, Baudouin L, Estoup A (2003). GeneClass2: A software for genetic assignment and first generation migrants detection.

Rafie F, Tarang A, Amirinia C, Nejati Javaremi A, Mirhoseini SZ, Seighalani R, Sharafi A (2012). The use of microsatellite marker for assignment tests in hours populations of Iran. Of 5th Iranian Congress of Animal Science. The University of Esfahan. Sept. 6-8, 2012. pp. 1000-1005.

Rajai MA (2004). The study genetic diversity in japanese quail using microsatellite markers. Msc.Thesis. Department of animal science, Tarbiat Modares University, Iran.

Rannala B, Mountain JL (1997). Detecting immigration by using multilocus genotypes. Proceeding of the National Academy of Sciences. USA 94: 9197- 9221.

Scott JP, JL, Fuller (1965). Genetics and the social behavior of the dog. University of Chicago press publisher, Chicago, USA.

Shahbazi Azar S, Mirhosieni SZ (2004). The Study of genetic diversity native fowl from Isfahan, Fars and Yazd using microsatellite markers. Of 4th National Biotechnology Congress of Iran.

Sutter NB, Ostrander EA (2004). "Dog star rising: the canine genetic system." Nature Reviews Genetics 5: 900-910.

Wayne RK, Morin PA (2004). Conservation genetics in the new molecular age. Ecological Society of Amrica 2: 89-97.

Zajc I, Cathryn SM, Sampson J (1997).Variability of canine microsatellites within and between different dog breeds. Mammalian Genome 8: 182-185.

Assignment of Individuals to the Iranian Native Dog Populations Using Microsatellite Markers

Montazeri M.[1], Masoudi A.A. [2*], Vaez Torshizi R.[3], Allahyar Khan Khorasani D.[4]

[1] Student, Department of Animal Science, Tarbiat Modares University, Iran.
[2]Assistant Professor, Department of Animal Science, Tarbiat Modares University, Iran.
[3]Associate Professor, Department of Animal Science, Tarbiat Modares University, Iran.
[4] Graduate Student of Animal Science

Abstract

Assignment test is applied to identify the origin of a specific individual, population differentiation and medical forensic cases. Therefore, this study conducted to analyze some genetic variation criteria, comparison of the different assignment methods and assignment of individuals to eight populations of Iranian native dogs using 13 autosomal microsatellite markers (C26.73320; CXX.6727,10,18; FH20609,20; FH20169,20; FH2790; FH2795; FH2914; FH3053; REN59H07; REN87O21; REN126A15; REN144M10 and REN86G15). The blood and tissue samples were taken from the dogs and total DNAs of the samples were extracted using salting out or enzymatic digestion methods. The results indicated that the least and the most diversity for Sangsari population (0.53) and Kurdish population (0.72), respectively. The individual's assignment was done using 7 different methods. Among the methods base on the likelihood, the Baudouin and Lebrun method and among the methods base on the genetic distance, Nei minimum method showed the highest accuracy. Totally, markers used in this study could assign the individuals to their source population with 73 % accuracy.

Keyword: *Individuals assignment, Genetic diversity, Microsatellite markers, Iranian dog native.*

* Corresponding Author: Masoudi A. A. Tel: 02148292353 E-mail: masoudia@modares.ac.ir