

Genetic diversity of Bahmaei sheep breed using microsatellite analysis

Elaheh Fahimi¹, Mostafa Muhaghegh Dolatabady^{2*} and Javad HabibiZad³

Received: February 11, 2024

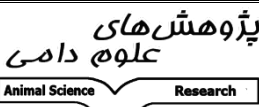

Accepted: September 22, 2024

¹ MSc graduate of Genetics and Animal Breeding, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Yasouj, Yasouj, Iran

² Associate Professor of Animal Science Department, Faculty of Agriculture Science, University of Yasouj, Yasouj, Iran

³ Assistant Professor of Animal Science Department, Faculty of Agriculture Science, University of Yasouj, Yasouj, Iran

* Corresponding author: E mail: mmuhaghegh@yu.ac.ir

 <p>پژوهش‌های علوم دامی Animal Science Research</p>	<p>Journal of Animal Science/vol.34 No.4/ 2024/pp 27-39 https://animalscience.tabrizu.ac.ir</p>	 <p>OPEN ACCESS</p>
<p>© 2009 Copyright by Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran This is an open access article under the CC BY NC license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.0/) DOI: 10.22034/as.2024.60520.1730</p>		

Introduction: Genetic variation in economic traits is the basis of breeding programs in sheep and the lack of diversity in the base population has a limiting effect on selection power to meet unpredictable needs in the future. Generally, microsatellites are considered codominant and highly polymorphic markers and have quickly become one of the best molecular markers to estimate genetic diversity in different livestock species (Baumung et al., 2004). In recent years, several studies have been reported the use of microsatellites to determine genetic diversity, population structure, genetic differentiation and phylogenetic reconstruction with the aim of identifying endangered populations and also developing genetic conservation strategies in sheep (Beketov et al., 2024; Kabasakal, 2023). Therefore, this study aimed to assess the genetic diversity and population genetic structure of the Bahmaei sheep breed in the Kuhgiluyeh and Boyer Ahmad province of Iran using 10 microsatellite markers.

Materials and methods: In this study, blood samples were collected from 20 ewes of the Bahmaei sheep breed in Kohgiluyeh and Boyer Ahmad province. DNA was extracted from samples using the Takapouzist Kit (BiONEER), following the manufacturer's instructions. The genetic variation of obtained samples was investigated using 10 different microsatellite markers. Microsatellite loci were selected from different chromosomes of the genome to reduce the possibility of linkage between the loci and to obtain an appropriate genetic variation estimation due to the same dispersion of markers on different chromosomes. PCR amplification was performed at a reaction volume of 25 μ L. The final concentration of reaction mixtures contained 1 unit Taq DNA polymerase enzyme, 200 μ M of each dNTP, 1.5 mM MgCl₂, 18 pm of each primer, 50 ng DNA, and 2.5 mM 10 \times buffer, for all the microsatellite markers. After performing the PCR, the amplified DNA fragments were separated by 8% polyacrylamide gel electrophoresis. Then, the alleles were characterized by silver nitrate staining. The allele frequencies for all loci, observed (N_a) and effective number of alleles (N_e) per locus, expected (H_e) and observed heterozygosity (H_o), Shannon's information index (I) as a measure of genetic variation, and Deviation from Hardy Weinberg's equilibrium were estimated by Chi-square test and Wright's index (F) using the GenAIEx 6.5 software. The polymorphism information content (PIC) for each locus was estimated using PowerMarker software.

Results and discussion: A total of 108 alleles were found in 10 microsatellite loci. The highest and lowest allele numbers were for BM6444 and ETH10 loci, respectively. In Qashqai Lak sheep, a total of 88 alleles were identified for the same number of 10 loci, and TGLA53 and ETH10 loci showed

the maximum and minimum number of alleles with 15 and 2 alleles, respectively (Salehi and Muhagheh, 2015). The mean observed heterozygosity was more than expected for all loci. Based on the results, the observed heterozygosity at all loci was 1.0. The expected heterozygosity range in the 10 studied loci was from 0.55 to 0.91, the highest of which is related to BM6444, and the smallest is ETH10. The highest unbiased expected heterozygosity was for BM6444 and the lowest was for ETH10. The mean observed, expected, and unbiased expected heterozygosity were 1, 0.81, and 0.83, respectively, indicating a high level of heterozygosity in the analyzed population. The average value of polymorphism information content (PIC) for all loci was 0.79 for 10 microsatellites. The PIC for all investigated markers was higher than 0.5 in 7 breeds of Montenegrin sheep, ranging from 0.60 (INRA172a) to 0.93 (CP49a), so they can be considered to contain high PIC (Marković et al. 2022). In this study, by comparing the Shannon index among the 10 markers, all of which were polymorphic. The highest value of the Shannon index was related to the BM6444 marker with the highest allele number and the lowest value of the Shannon index was for the ETH10 marker with the lowest allele number. The average Shannon index was also high for all loci, indicating the high polymorphism of these loci and confirming the high genetic variation. In two breeds of Bulgarian sheep, the average Shannon index for both populations was 1.79, and the highest and lowest index values were obtained for McM042 and INRA005 loci, respectively (Odjakova et al. 2023). Negative or near zero values of Wright's index for loci indicate that there is a cross between animals whose kinship relationship is less than the average relative relationship of the corresponding population. Tests of genotype frequencies for deviation from the Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) at each locus, revealed a significant departure from HWE for all loci ($p < 0.001$). In 13 Colombian sheep breeds, Hardy-Weinberg equilibrium tests for 11 microsatellite markers showed significant deviations ($P < 0.05$), which indicated heterozygous deficiency in each breed (Ocampo et al. 2016).

Conclusion In this research, the genetic diversity of Bahamei sheep breed was investigated using 10 microsatellite markers. The results of the present research indicate the basic information about the genetic diversity in the Bahamai sheep, one of the native sheep of Kohgiluyeh and Boyer Ahmad provinces. The studied population showed high genetic diversity through the high number of effective alleles, mean number of alleles, heterozygosity and PIC values. Therefore, the results reported in this study can provide useful indicators for developing more in-depth studies with more accurate sampling of sheep and increasing the sample size to determine appropriate conservation and breeding priorities, especially considering its potential economic and cultural importance.

Keywords: Bahmaei sheep, Genetic variation, Microsatellite

تنوع ژنتیکی گوسفند نژاد بهمئی با استفاده از نشانگر ریزماهوره

الهه فهیمی^۱، مصطفی محقق دولت آبادی^{۲*} و جواد حبیبی زاد^۳

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۱/۲۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۷/۱

^۱ فارغ التحصیل کارشناسی ارشد ژنتیک و اصلاح دام، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج

^۲ دانشیار گروه علوم دامی، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج

^۳ استادیار گروه علوم دامی، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج

*مسئول مکاتبه: Email: mmuhaghegh@yu.ac.ir

چکیده:

زمینه مطالعاتی: تنوع ژنتیکی در صفات اقتصادی، اساس برنامه‌های اصلاحی در گوسفند است و نبود تنوع در جمعیت‌های پایه باعث محدودیت قدرت انتخاب برای رفع نیازهای غیر قابل پیش بینی در آینده است. هدف: این مطالعه به منظور ارزیابی تنوع ژنتیکی گوسفند بهمئی استان کهگیلویه و بویراحمد با استفاده از ۱۰ جایگاه ریزماهوره انجام گرفت. روش کار: در این مطالعه از تعداد ۲۰ رأس گوسفند ماده DNA از نمونه خون استخراج و کمیت و کیفیت آن بررسی شد. ژنوتیپ ۱۰ جفت آغازگر جهت بررسی چند شکلی موجود در جمعیت مورد مطالعه تعیین گردید. سپس مقادیر تنوع آلی، شاخص محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC)، هتروزیگوسیتی مورد انتظار، هتروزیگوسیتی مشاهده شده، شاخص شانون و تعادل هاردی واینبرگ محاسبه شد. نتایج: در مجموع ۱۰۸ آلل در ۱۰ جایگاه مورد بررسی شناسایی شد که بیشترین تعداد آلل متعلق به جایگاه BM6444 و کمترین تعداد آلل مربوط به جایگاه ETH10 بود. همچنین، میانگین تعداد آلل برای کل جایگاه‌ها برابر ۱۰/۸ بود. دامنه تعداد آلل موثر برای ریزماهوره‌ها در محدوده ۲/۲۱ الی ۱۱/۲۷ با میانگینی برابر ۶/۵۱ بود. متوسط هتروزیگوسیتی مشاهده شده در همه جایگاه‌ها بیشتر از هتروزیگوسیتی مورد انتظار بود. میانگین محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) ریزماهوره‌ها ۰/۷۹ بود و ریزماهوره‌های ILSTS011 و ETH10 به ترتیب دارای حداکثر و حداقل محتوای اطلاعات چند شکلی بودند. ریزماهوره ETH10 علاوه بر داشتن کمترین تعداد آلل، محتوای اطلاعات چند شکلی حداقل (۰/۴۴) را در بین جایگاه‌ها آشکار ساخت. بیشترین مقدار شاخص شانون مربوط به جایگاه BM6444 با بیشترین تعداد آلل و کمترین مقدار نیز از آن جایگاه ETH10 با کمترین تعداد آلل بود. همچنین میانگین شاخص شانون نیز در جمعیت مورد مطالعه بالا بود (۱/۹۸). آزمون مربع کای به منظور بررسی تعادل هاردی واینبرگ برای تمام جایگاه‌ها در سطح جمعیت انجام شد و نتایج حاصل در تمامی جایگاه‌ها انحراف بسیار معنی‌داری را از تعادل نشان دادند ($P < 0.001$). نتیجه گیری نهایی: بطور کلی، نتایج پارامترهای تنوع برآورد شده بیانگر تنوع بالای جمعیت گوسفند بهمئی مورد مطالعه بود.

واژگان کلیدی: تنوع ژنتیکی، ریزماهوره، گوسفند بهمئی

گوسفند (*Ovis aries*) یکی از قدیمی‌ترین گونه‌های

مقدمه

دامی است که حدود ۱۰۵۰۰ سال قبل در منطقه جنوب

رفت همخونی می‌شود. این نژادها در معرض تغییرات سریعتر در فراوانی ژنی، سرعت بیشتر از دست دادن ژن‌ها و ترکیبات ژنتیکی (هاپلوטיפ) قرار می‌گیرند و تنوع ژنتیکی از دست رفتن را نمی‌توان به راحتی جایگزین کرد (میوزن ۱۹۹۱). از این رو، به منظور حفاظت از تنوع ژنتیکی، اندازه گیری و نظارت بر آن بسیار مهم است.

در سرتاسر جهان، مطالعاتی با استفاده از تکنیک‌های مولکولی مختلف مبتنی بر DNA برای آشکار کردن تنوع ژنتیکی در نژادهای گوسفند و تعریف تنوع درون و بین نژادی انجام شده است. بطور کلی تکنیک‌های متعددی جهت مطالعه تنوع ژنتیکی در یک جمعیت وجود دارد که یکی از رایجترین آنها تعیین ژنوتیپ ریزماهورها در نمونه‌های جمعیت مورد مطالعه می‌باشد. نشانگرهای ریزماهورهای به عنوان سیستم‌های همبارز و بسیار چند شکل شناخته شده و به سرعت به عنوان یکی از بهترین گزینه‌ها در نشانگرهای مولکولی جهت تخمین تنوع ژنتیکی در دام‌های اهلی تبدیل شده اند (بومونگ و همکارانم ۲۰۰۴). در سال‌های اخیر، از نشانگر ریزماهور DNA به طور گسترده‌ای برای مطالعه تنوع ژنتیکی در گوسفند اسپانیایی (آرانز و همکاران ۲۰۰۷)، گوسفند نوع گوشتی در چین (چن و همکاران ۲۰۰۹)، گوسفند قره گل (ننکرانی و همکاران ۲۰۱۱)، گوسفند مرینو (کاباسکال ۲۰۲۳)، و گوسفند توان روسیه (بکتوف و همکاران ۲۰۲۴) مورد استفاده قرار گرفته‌اند. گوسفند نژاد بهمئی یکی از نژادهای بومی استان کهگیلویه و بویراحمد است که در آستانه انقراض قرار داشته و دارای جمعیتی در حدود ۲۰۰۰۰ راس می‌باشد. رنگ بدن گوسفند نژاد بهمئی سفید یکدست با لکه‌های سیاه اطراف چشم و پوزه است. نژاد بهمئی از نوع گوسفندان گوشتی محسوب می‌شود که درصد تشکیل لاشه آن به ۵۰ درصد می‌رسد (غلامی ۱۳۹۴). براساس اطلاعات موجود، تحقیقات بسیار محدودی در زمینه بررسی وضعیت ساختار ژنتیکی در این نژاد صورت

شرقی آناتولی و رشته کوه‌های زاگرس ایران (هلال حاصلخیز یا Fertile Crescent) توسط انسان اهلی شده است (دمیریک و همکاران ۲۰۱۳ و آلبرتو و همکاران ۲۰۱۸). سپس، گوسفندان انسان را در مهاجرت خود از آسیا به اروپا همراهی کردند و متعاقباً در سراسر جهان پراکنده شدند (فوکس و مارون ۲۰۲۱). نژادهای بومی گوسفند پس از هزاران سال در شرایط جغرافیای خاصی سازگار شده‌اند و از نزدیک با فرهنگ و تاریخ آن منطقه گره خورده‌اند بطوری که حفظ و مطالعه تنوع ژنتیکی این نژادها به درک تاریخ بشر کمک خواهد کرد (گندینی و ویلا ۲۰۰۲).

بطور کلی تنوع ژنتیکی به عنوان تنوع آلل‌ها و ژنوتیپ‌های موجود در یک جمعیت تعریف می‌شود (فرانکهام و همکاران ۲۰۰۲). حفظ تنوع ژنتیکی در دام برای بهبود تولید از اهمیت بسیار زیادی برخوردار است و به سرعت می‌تواند چالش‌های آینده از جمله امنیت غذایی، افزایش تقاضا برای محصولات دامی، تغییرات محیطی و بیماری‌های نوظهور را برطرف کند (بارکر ۲۰۰۱، گرونولد و همکاران ۲۰۱۰). هر نژاد دارای مجموعه‌ای منحصر به فرد از ترکیبات ژنی است که علت آن می‌تواند جهش و رانش ژنتیکی، انتخاب مصنوعی و سازگاری با آب و هوا، در دسترس بودن مواد غذایی؛ و بیماری‌ها و انگل‌ها باشد (بارکر ۲۰۰۱). افزایش همگنی نژادهای مختلف با تولید بهبود یافته و صفات تثبیت شده (مانند رنگ پوشش) حاصل ثبت شجره نامه، تشکیل سازمان‌های اصلاح نژادی، پیشرفت در فن‌آوری‌های حمل و نقل حیوانات و انتشار مواد ژنتیکی، و کنترل بیشتر شرایط محیطی می‌باشد (گرونولد ۲۰۱۰). از بین رفتن تنوع ژنتیکی در داخل و بین نژادها نه تنها از منظر فرهنگ و حفاظت، بلکه از نظر کاربرد نیز مضر است زیرا ژن‌های از دست رفته ممکن است در آینده مورد توجه اقتصادی قرار گیرند. در داخل نژادها، نرخ بالای از دست دادن تنوع ژنتیکی منجر به کاهش شانس بقای نژاد به دلیل کاهش سازگاری از طریق پس

شرکت سازنده استخراج و کیفیت آن با استفاده از ژل آگارز ۰/۸ درصد تعیین شد. از ۱۰ جفت آغازگر جهت یافتن چند شکلی در جمعیت مورد مطالعه استفاده گردید. جایگاهها از کروموزومهای متفاوتی از ژنوم انتخاب شدند تا امکان پیوستگی بین جایگاهها کاهش یافته و برآورد مناسبی از تنوع ژنتیکی با توجه به پراکندگی یکسان جایگاهها در کروموزومهای مختلف به دست آورد. مشخصات کل نشانگرها و توالی آغازگرها در جدول ۱ آمده است.

گرفته است. از این رو، هدف از این تحقیق، تعیین تنوع ژنتیکی گوسفند بهمئی در استان کهگیلویه و بویراحمد با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره بوده است.

مواد و روشها

در این مطالعه از تعداد ۲۰ رأس گوسفند ماده از گلهای واقع در شهرستان دهدشت از استان کهگیلویه و بویراحمد نمونه خون تهیه گردید. ماده ژنتیکی با کمک کیت بایونیر (شرکت تکاپوزیست) بر اساس دستورالعمل

Table 1- Primers sequence, allele range and its location

Locus name	Sequence of primers	Allele range (bp)	Chromosome
TGLA53	F-GCTTTCAGAAATAGTTTGCATTCA R- ATCTTCACATGATATTACAGCAGA	126-160	16
SRCRSP3	F- CGGGGATCTGTTCTATGAAC R- TGATTAGCTGGCTGAATGTCC	98-122	10
BM6444	F- CTCTGGGTACAACACTGAGTCC R- TAGAGAGTTTTCCCTGTCCATCC	118-200	2
ILSTS029	F- TGTTTTGATGGAACACAGCC R- RTGGATTTAGACCAGGGTTGG	148-170	3
OarAE54	F- TACTAAAGAAACATGAAGCTCCCA R- GGAAACATTTATTCTTATTCCTGAGTG	115-138	25
MCM527	F- GTCCATTGCCTCAAATCAATTC R- AAACCACTTGACTACTCCCAA	165-187	5
SRCRSP9	F- AGAGGATCTGGAAATGGAATC R- GCACTCTTTTCAGCCCTAATG	99-135	12
ILSTS011	F- GCTTGCTACATGGAAAGTG R- CTAAAAATGCAGAGCCCTACC	250-300	9
MAF70	F- CACGGAGTCACAAAGAGTCAGACC R- GCAGGACTCTACGGGGCCTTTGC	134-168	4
ETH10	F- GTTCAGGACTGGCCCTGCTAACA R- TGATTAGCTGGCTGAATGTCC	200-210	4

روش رنگ آمیزی نیترات نقره انجام شد. سپس با استفاده از نرم افزار UVIDOC HD6 و با توجه به نشانگرهای اندازه، اندازه آللها بر اساس جفت باز محاسبه و ژنوتیپ حیوانات تعیین گردید. اندازه گیریهای متفاوت تنوع ژنتیکی درون نژادی از طریق تعداد آللهای هر جایگاه (N_a)، تعداد آللهای مؤثر هر جایگاه (N_e)، شاخص اطلاعاتی شانون (I)، به عنوان شاخص اندازه گیری تنوع ژنی، متوسط هتروزیگوسیتی مشاهده شده (H_o)، متوسط هتروزیگوسیتی مورد انتظار (H_e) و آزمون

انجام واکنش زنجیره ای پلیمرز به کمک کیت بایونیر (شرکت تکاپوزیست) انجام گرفت. غلظت نهایی مواد در حجم ۲۵ میکرولیتر عبارت بودند از: یک واحد آنزیم DNA پلی مرز Taq، ۲۰۰ میکرومول از هر dNTP، ۲۰۰ میلی مول MgCl₂، ۱۸ پیکومول از هر آغازگر، ۵۰ نانوگرم DNA و بافر استاندارد. پس از انجام مراحل PCR، ژنوتیپ قطعات DNA تکثیر شده در طی انجام الکتروفورز با ژل پلی اکریلامید ۸ درصد از یکدیگر تعیین و پس از تمام شدن زمان ران، نمایان سازی آللهای

شرایطی که همه آلل‌ها دارای فراوانی یکسان بوده ($P \leq 0.01$) و تحت تأثیر آلل‌های نادر قرار نگیرند تعداد آلل‌های مؤثر در یک جمعیت برابر با تعداد آلل‌های واقعی خواهد شد. در مطالعه بررسی تنوع ژنتیکی در گوسفند لک قشقای، در مجموع تعداد ۸۸ آلل در ۱۰ جایگاه مورد بررسی شناسایی شد که جایگاه TGLA53 با ۱۵ آلل و جایگاه ETH10 با ۲ آلل به ترتیب دارای بیشترین و کمترین تعداد آلل بودند (صالحی و محقق ۱۳۹۵). در مطالعه بررسی تنوع ژنتیکی گوسفند نژاد نتلی در آفریقای جنوبی با بررسی تعداد ۱۷ ریزماهواره مختلف، کمترین تعداد آلل برای ETH10 با ۳ آلل گزارش شد (وندروستیزن و همکاران ۲۰۱۹) که با تحقیق حاضر همخوانی دارد. در مطالعه بررسی تعداد ۹ ریزماهواره در پنج نژاد متفاوت گوسفند (شاروله، رومانف، آسف، سافولک و آواسی) دامنه تعداد آلل‌ها برای ریزماهواره از ۳ تا ۹ متغیر بود که کمترین تعداد آلل مربوط به ریزماهواره‌های ILSTS011 و ILSTS5 بود (جوازره و همکاران ۲۰۱۸). در بررسی تنوع ژنتیکی ۱۳ نژاد گوسفند بومی یونان، تعداد ۸ الی ۳۲ آلل برای ۱۰ ریزماهواره شناسایی شد که کمترین تعداد آلل برای ریزماهواره‌های ILSTS011 و oarAE129 بود (لوکوویتیس و همکاران ۲۰۱۶). در مجموع، تعداد ۱۴۴ آلل مختلف برای ۱۶ جایگاه ریزماهواره در نژاد گوسفند مریوس مجارستانی شناسایی شد و از ۵ آلل (ILSTS011، SRCRS001) تا ۱۷ (OarCP49) متغیر بود. (لوکوویتیس و همکاران ۲۰۲۳). تعداد ۲۴۳ آلل مختلف در هفت نژاد گوسفند مونته‌نگرو در ۱۸ جایگاه ریزماهواره شناسایی شد که کمترین و بیشترین تعداد آلل برای جایگاه‌های AE129a و CP94a، به ترتیب با تعداد ۶ و ۲۵ آلل، مشاهده شدند. معمولاً، تنوع در تعداد آلل در بین مطالعات مختلف به دلیل تفاوت نژادی و نشانگرهای مورد استفاده است (مارکوویچ و همکاران ۲۰۲۲). بطور کلی، میانگین تعداد آلل شناسایی شده در هر نژاد یا ژنوتیپ، و هتروزیگوسیتی مورد انتظار،

انحراف از تعادل هاردی واینبرگ از طریق آزمون مربع کای و شاخص رایت (F) با استفاده از نرم‌افزار Genalex نسخه ۶/۵۰۱ محاسبه شد. شاخص محتوای اطلاعات چند شکلی (PIC) با استفاده از نرم‌افزار PowerMarker محاسبه گردید.

نتایج و بحث

تمام ۱۰ جایگاه ریزماهواره بطور موفقیت آمیزی تکثیر شده و مشخص شد که از چند شکلی بالایی برخوردارند. مطابق با تعریف چند شکل بودن یک جایگاه، چند شکلی ژنتیکی را می‌توان وقوع دو یا چند آلل با فراوانی محسوس در یک جایگاه تعریف کرد و جایگاه‌هایی چند شکل هستند که فراوانی رایجترین آلل در آن‌ها کمتر از ۰/۹۹ باشد (هدریک ۱۹۹۵). در این مطالعه ۱۰ جایگاه مورد بررسی همگی از چند شکلی بالایی برخوردار بودند و فراوانی رایجترین آلل در آن‌ها کمتر از ۰/۹۹ بود. از معیارهایی که برای تعیین میزان چند شکلی جایگاه‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد، تعداد آلل واقعی (N_a) و تعداد آلل مؤثر (N_e) هستند که مقادیر این دو معیار به همراه مقادیر محتوای اطلاعات چند شکلی (PIC)، شاخص شانون (I) و شاخص رایت (F) برای این جایگاه‌ها در جدول ۲ آمده است. پس از تعیین ژنوتیپ در مجموع تعداد ۱۰۸ آلل با میانگین ۱۰/۸ در ۱۰ جایگاه شناسایی شد که جایگاه‌های BM6444 و ETH10 با ۱۷ و ۴ آلل به ترتیب دارای بیشترین و کمترین تعداد آلل بودند (جدول ۲). دامنه تعداد آلل مؤثر برای ریزماهواره‌های مورد بررسی در محدوده ۲/۲۱ الی ۱۱/۲۷ با میانگین ۶/۵۱ بود که همگی کمتر از مقادیر واقعی آنها بودند. کمتر بودن تعداد آلل مؤثر از تعداد آلل واقعی در همه‌ی جایگاه‌ها می‌تواند به دلیل وجود آلل‌ها با فراوانی نابرابر در هر جایگاه می‌باشد و در جایگاه‌هایی که تفاوت بین این دو مقدار زیاد است می‌تواند به دلیل وجود فراوانی‌های آلی با پراکندگی بالا در آن جایگاه‌ها باشد (MAF70, ILSTS029, SRCRSP3, TGLA53). در

شاخص‌های خوبی از وضعیت چندشکلی داخل نژادی محسوب می‌شوند (خان و همکاران ۲۰۰۹).

Table1-Genetic diversity of Bahmaei sheep based on 10 microsatellite markers

locus	Na	Ne	PIC	F	I	HWE
ILSTS029	9	4.01	0.72	-0.33	1.70	***
SRCRSP3	15	7.22	0.85	-0.16	2.31	***
ETH10	4	2.21	0.44	-0.83	0.89	***
SRCRSP9	6	4.39	0.89	-0.30	1.60	***
ILSTS011	12	8.70	0.94	-0.13	2.28	***
BM6444	17	11.27	0.92	-0.10	2.61	***
MAF70	12	4.44	0.75	-0.29	1.88	***
TGLA53	12	7.84	0.86	-0.15	2.24	***
oarAE54	13	8.02	0.86	-0.14	2.31	***
MCM527	8	7.02	0.64	-0.17	1.99	***
MEAN	10.8	6.51	0.79	-0.26	1.98	

Na: mean number of alleles, Ne: effective number of alleles; PIC: polymorphic information content; F: wright's index; I: Shannon Index, HWE: significance of the deviation from Hardy-Weinberg equilibrium

تمایز افراد استفاده کرد (تیمایپایه و همکاران ۲۰۰۸). نشانگرهای ژنتیکی با مقادیر PIC کمتر از ۰/۲۵ از اهمیت کمتری برخوردار بوده و آن‌هایی که مقادیر بالاتر از ۰/۵ دارند به عنوان نشانگرهای مناسب در مطالعات ژنتیک جمعیت در نظر گرفته می‌شوند (بوتستین و هماران ۱۹۸۰). در این مطالعه، بیشترین و کمترین مقدار PIC به ترتیب مربوط به جایگاه‌های ILSTS011 و ETH10 با مقادیر ۰/۹۴ و ۰/۴۴ بودند. از این رو، از ۱۰ جایگاه مورد مطالعه در این پژوهش، ۹ جایگاه (به جز جایگاه ETH10) از محتوای اطلاعات چند شکلی بسیار بالایی برخوردار بودند ($PIC > 0/5$). میانگین کلی مقدار PIC برای تعداد ۱۲ ریزماهوره در پنج جمعیت گوسفند قزاقستان برابر با ۰/۷۸ بود، و همه نشانگرها بالاتر از ۰/۵ بودند، که به این معنی است که همه جایگاه‌های ریزماهوره حاوری اطلاعات چند شکلی بسیار بالایی

محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) نشانگرهای ریزماهوره از اهمیت عمده‌ای در انتخاب نشانگرها برای مطالعات تنوع ژنتیکی در نژادها و جمعیت‌ها برخوردار است. در این مطالعه، میانگین محتوای اطلاعات چندشکلی ریزماهوره‌ها ۰/۷۹ بدست آمد و ریزماهوره ILSTS011 حداکثر محتوای اطلاعات چند شکلی (۰/۹۴) را نشان داد. ریزماهوره ETH10 علاوه بر داشتن کمترین تعداد آلل، محتوای اطلاعات چند شکلی حداقل (۰/۴۴) را در بین جایگاه‌ها آشکار ساخت. برآوردهای بالای PIC در این مطالعه، مناسب بودن نشانگرهای مورد استفاده در برنامه‌هایی نظیر کنترل والدین، نقشه برداری پیوستگی و مطالعات چندشکلی ژنتیکی در گوسفندان را اثبات می‌کند. همچنین، مقادیر بالای این شاخص نشان دهنده چندشکلی بالا در یک جایگاه بوده و می‌توان جهت مقایسه نشانگرهای مختلف در تفکیک و

نشانگرهای مختلفی مانند SRCSP5، BM1824، MAF، 214 و ILSTS11 مقادیر F را به ترتیب ۰/۴۰، ۰/۲۲، ۰/۱۸ و ۰/۱۶ نشان دادند در حالی که مقدار این شاخص برای سایر نشانگرهای مورد مطالعه ۰/۱۰ بود (اکامپو و همکاران ۲۰۱۶). در مطالعه ۵ جمعیت گوسفندان قزاقستانی، بالاترین و پایین‌ترین مقادیر F به ترتیب برای نشانگرهای INRA006 (۰/۲۳) و McM527 (۰/۰۱) گزارش شد (دوسی بایف و همکاران ۲۰۱۹). شاخص راییت برای گوسفند کردی، از ۰/۱۸- برای جایگاه BM6526 تا ۰/۳۳ در جایگاه BM6438 متغیر بود (نقویان و همکاران ۱۳۹۳).

شاخص اطلاعاتی (تنوع) شانون (I)، که شاخصی از تنوع ژنتیکی در یک جمعیت است، از ۱/۶ در جایگاه ETH10 تا ۲/۶۱ در نشانگر BM6444 متغیر بود و میانگین مقدار I برای همه نشانگرها ۱/۹۸ به دست آمد. در مطالعه بررسی تنوع ژنتیکی ۳ نژاد هندوستانی متوسط شاخص شانون ۱/۶۳ گزارش شد (جیوتسانا و همکاران ۲۰۱۰). در بررسی تنوع ژنتیکی نژاد کیل پاکستان، مقدار میانگین شاخص شانون ۱/۴۴ به دست آمد (احمد و همکاران ۲۰۱۴). در گوسفند نژاد لک قشقایی، بیشترین و کمترین مقدار شاخص شانون به ترتیب مربوط به نشانگرهای TGLA53 و ETH10 بود (صالحی و محقق ۱۳۹۵). میانگین این شاخص برای تمام نشانگرهای مورد بررسی در گوسفند سنجابی ۱/۱۵ برآورد گردید (سید شریفی و همکاران ۱۳۹۹). در دو نژاد گوسفند بلغاری، میانگین شاخص شانون برای هر دو جمعیت ۱/۷۹ بود، و بیشترین و کمترین مقدار شاخص به ترتیب برای جایگاه های McM042 و INRA005 به دست آمد (ادجاکوا و همکاران ۲۰۲۳). در گوسفندان عراقی، میانگین شاخص شانون برابر ۰/۵۰ بود که بیشترین و کمترین مقدار این شاخص به ترتیب برای ریزماهوره‌های ILSTS5 و OarFCB304 برآورد گردید (یوسیف و همکاران ۲۰۲۳). در این مطالعه، تمام جایگاه‌های مورد بررسی انحراف بسیار معنی‌داری ($P < 0/001$) از تعادل هاردی-واینبرگ

بودند (دوسی بایف و همکاران ۲۰۱۹). محتوای اطلاعات چندشکلی برای همه نشانگرهای بررسی شده در ۷ نژاد گوسفندان مونته‌نگروه بالاتر از ۰/۵ بود که از ۰/۶۰۲ (INRA172a) تا ۰/۹۳۸ (CP49a) متغیر بود، بنابراین می‌توان آنها را حاوی اطلاعات چندشکلی بسیار در نظر گرفت (مارکوویچ و همکاران ۲۰۲۲). محتوای اطلاعات چندشکلی برای همه نشانگرهای ریزماهوری تجزیه و تحلیل شده در گوسفندان بلغاری با میانگین ۰/۷۷۹ و بالاتر از ۰/۵ بود (میهایلوا و همکاران ۲۰۲۳). در گوسفندان بلغاری، pic از ۰/۴۴ برای نشانگر McM042 تا ۰/۸۸ برای INRA005 متغیر بود. میانگین PIC برای ۱۲ نشانگر ریزماهوره ۰/۷۳ بود و هیچ نشانگری به جز جایگاه McM042 با pic کمتر از ۰/۵ وجود نداشت. از این رو، همه جایگاه‌ها بسیار چندشکلی بودند (ادجاکوا و همکاران ۲۰۲۳). در جمعیت گوسفندان آمیخته ایرانی با مرینوس، میانگین pic ۰/۵۳ برآورد شد (کسرای و همکاران ۱۳۹۵).

شاخص راییت (F) در هر جمعیت که انعکاس‌دهنده سیستم آمیزشی (آمیزش تصادفی و غیر تصادفی) در آن است در واقع مقایسه نسبت هتروزیگوسیتی مشاهده شده به هتروزیگوسیتی مورد انتظار بوده و مقدار منفی این شاخص در جمعیت، نشان دهنده بالاتر بودن فراوانی هتروزیگوسیتی مشاهده شده نسبت به هتروزیگوسیتی مورد انتظار درون جمعیت و در نتیجه تصادفی بودن آمیزش‌ها و غیر همخون بودن جمعیت است (میلر و همکاران ۲۰۱۴). مقادیر منفی یا نزدیک به صفر شاخص راییت برای جایگاه‌ها در این مطالعه می‌تواند بیانگر این باشد که آمیزش در این گله بین افرادی است که رابطه خویشاوندی آن‌ها از میانگین رابطه خویشاوندی جمعیت مربوطه کمتر می‌باشد (میلر و همکاران ۲۰۱۴). در مطالعه بررسی تنوع ژنتیکی در نژاد لک قشقایی نیز شاخص راییت برای همین ریزماهوره‌ها منفی گزارش شد (صالحی و محقق ۱۳۹۵). تفاوت در ساختار جمعیت ارزیابی شده توسط شاخص تثبیت راییت در گوسفندان کلمبیایی برای

برای مثال، در گوسفند لک قشقای، تمام جایگاه های مورد بررسی انحراف بسیار معنی داری از تعادل هاردی واینبرگ نشان دادند (صالحی و محقق دولت آبادی، ۱۳۹۵). در گوسفندان بلغاری، نشانگرهای ETH152، INRA063، ETH152 و MAF214 انحراف قابل توجهی از تعادل هاردی- واینبرگ نشان دادند (ادجاکوا و همکاران ۲۰۲۳). تست های تعادل هاردی- واینبرگ ۱۳ نژادگوسفند کلمبیایی برای تعداد ۱۱ نشانگر ریزماهواره تجزیه و تحلیل شده، انحرافات قابل توجهی را نشان داد ($P < 0.05$) که بیانگر کمبود هتروزیگوت در هر نژاد بود (اکامپو و همکاران ۲۰۱۶).

نشان داده اند. افزایش تعداد هتروزیگوتها نسبت به هموزیگوتها و مقادیر منفی شاخص رایت (F) مندرج در جدول ۲ تایید کننده انحراف بسیار معنی دار همه نشانگرها از تعادل هاردی- واینبرگ است. نرخ بالای جهش در ریزماهوارهها و ایجاد آللهای جدید، مهاجرت بویژه در مورد قوچهایی که در فصل جفتگیری از خارج گله وارد می شوند که منجر به ایجاد جریان ژنی می گردند و وجود آللهای خنثی در برخی نشانگرها از مهم ترین دلایل خروج از تعادل هاردی واینبرگ می باشد. انحراف از تعادل هاردی واینبرگ در جایگاههای ریزماهواره ای در مطالعات متعددی گزارش شده است.

Table2- The observed (Ho), expected (He) and unbiased (Uhe) heterozygosity in 10 microsatellites

Locus	Ho	He	Uhe
ILSTS029	1.00	0.75	0.77
SRCRSP3	1.00	0.86	0.88
ETH10	1.00	0.55	0.56
SRCRSP9	1.00	0.77	0.79
ILSTS011	1.00	0.88	0.91
BM6444	1.00	0.91	0.93
MAF70	1.00	0.77	0.79
TGLA53	1.00	0.87	0.89
oarAE54	1.00	0.85	0.90
MCM527	1.00	0.86	0.88

در این مطالعه از ۰/۵۵ تا ۰/۹۱ می باشد که بیشترین و کمترین مقدار آن به ترتیب مربوط به جایگاه های BM6444 و ETH10 بود. بیشترین مقدار هتروزیگوسیتی مورد انتظار ناریب متعلق به جایگاه BM6444 و کمترین آن به جایگاه ETH10 تعلق دارد. میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده، مورد انتظار و مورد انتظار ناریب به ترتیب ۱، ۰/۸۱ و ۰/۸۳ بود که

تنوع درون جمعیتی با تعیین معیارهایی همچون هتروزیگوسیتی مشاهده شده (H_o)، هتروزیگوسیتی مورد انتظار (H_e) و هتروزیگوسیتی مورد انتظار ناریب نیز مورد بررسی قرار گرفت که در جدول ۳ مشاهده می گردد. بر اساس داده های حاصله هتروزیگوسیتی مشاهده شده در تمامی جایگاهها برابر ۱ بود. دامنه هتروزیگوسیتی مورد انتظار در ۱۰ جایگاه مورد بررسی

در جایگاه ILSTS029 برابر ۰/۷۹۹ بود (محمودی ۲۰۱۰). هتروزیگوسیتی مشاهده شده در بزهای آنقوره برای جایگاه‌های MCM527 و SRCRSP9 به ترتیب ۰/۵۷۱ و ۰/۶۵۵ و هتروزیگوسیتی مورد انتظار در این دو جایگاه به ترتیب ۰/۷۰۱ و ۰/۷۰۵ به دست آمد (ویزر و همکاران ۲۰۱۱). هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار در جمعیت بز بومی چینی برای جایگاه TGLA53 به ترتیب ۰/۷۴۴ و ۰/۶۴۶ و هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار را برای جایگاه ILSTS011 به ترتیب ۰/۷۹۶ و ۰/۷۲۸ و همچنین هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار را برای جایگاه MAF70 به ترتیب ۰/۸۷۵ و ۰/۷۶۱ محاسبه شد (لی و همکاران ۲۰۰۲).

نتیجه‌گیری کلی

بر اساس نتایج به دست آمده در تحقیق حاضر، جمعیت مورد بررسی از نژاد گوسفند بهمئی، تنوع ژنتیکی بالایی از نظر تعداد آللهای مؤثر، میانگین تعداد آللهای هتروزیگوسیتی و مقادیر PIC نشان داد. نتایج گزارش شده در این مطالعه می‌تواند شاخص‌های مفیدی برای توسعه مطالعات عمیق‌تر با نمونه‌برداری دقیق‌تر از گوسفندان و افزایش حجم نمونه برای تعیین اولویت‌های اصلاحی و حفاظتی مناسب، به‌ویژه با توجه به آسیب‌پذیری و اهمیت اقتصادی و فرهنگی بالقوه آن فراهم کند.

تشکر و قدردانی

از معاونت پژوهشی دانشگاه یاسوج به خاطر پشتیبانی مالی این تحقیق، تشکر و قدردانی می‌گردد.

نشان‌دهنده‌ی سطح بالایی از هتروزیگوسیتی در جمعیت مورد مطالعه بوده است (جدول-۳). بطور کلی بالا بودن میزان هتروزیگوسیتی مورد انتظار در این مطالعه نشان‌دهنده وجود آللهای متعدد در جایگاه‌های مورد بررسی حتی در فراوانی‌های بسیار کم و همچنین پیروی از تلاقی تصادفی در جمعیت مورد مطالعه می‌باشد. دامنه هتروزیگوسیتی مورد انتظار در ۱۰ ریزماهواره مورد بررسی در نژاد لک قشقایی استان کهگیلویه و بویراحمد از ۰/۵ تا ۰/۹۰۳ متغیر بود و بیشترین و کمترین مقدار به ترتیب مربوط به جایگاه‌های BM6444 و ETH10 بود که با نتایج این مطالعه همخوانی دارند (صالحی و محقق دولت آبادی ۱۳۹۵). مقدار هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار در جایگاه MCM527 در میان اکوتیپ‌های متفاوت گوسفند سنجابی ایرانی به ترتیب ۱ و ۰/۷۵ گزارش شد (شریفی سیدانی و همکاران ۲۰۰۹). هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار در جایگاه ریزماهواره‌ای BM6444 در گوسفند سنجابی به ترتیب ۱ و ۰/۴۴ به دست آمد (سلیمانی و همکاران ۱۳۹۱). در گوسفند زندی، هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار جایگاه BM6444 به ترتیب ۰/۹۸۳ و ۰/۸۲۶ گزارش شد (ننکرانی و همکاران ۲۰۱۱). در بررسی تنوع ژنتیکی گوسفند همدانی، هتروزیگوسیتی مشاهده شده در جایگاه‌های BM6444، ILSTS011، ILSTS029 و MCM527 به ترتیب ۰/۵۹۴، ۰/۴۵۳، ۰/۲۰۳ و ۰/۳۱۳ و هتروزیگوسیتی مورد انتظار در این جایگاه‌ها به ترتیب ۰/۹۱۹، ۰/۸۱۵، ۰/۶۶۷ و ۰/۸۴۸ به دست آمد (الیرازینی و همکاران ۲۰۱۱). هتروزیگوسیتی مشاهده شده، مورد انتظار و متوسط هتروزیگوسیتی در جمعیت گاو وحشی در جایگاه ILSTS029 به ترتیب ۰/۲۵، ۰/۲۳ و ۰/۲۳ گزارش شد (بابر و همکاران ۲۰۰۹). در مطالعه بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت بز لری با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره، هتروزیگوسیتی مورد انتظار

منابع مورد استفاده

- سلیمانی ب، چهارآیین ب و رحیمی میانجی ق، ۱۳۹۱. بررسی چند شکلی نشانگرهای ریزماهوره ای BM6444. INRA135 و oarhh35 مرتبط با ژن اینهیبین در گوسفند سنجابی. پژوهشهای علوم دامی ایران، جلد ۴ شماره ۱، صفحه های ۸۴-۹۰.
- سید شریفی ب، هدایت ایوریق ن، سیف دواتی ج، ساور س، ۱۳۹۹. بررسی ساختار ژنتیکی گوسفند سنجابی با استفاده از نشانگرهای ریزماهوره. فصلنامه علمی فیزیولوژی و تکوین جانوری، جلد ۱۳ شماره ۴، صفحه های ۷۰-۷۱.
- صالحی ز و محقق دولت آبادی م، ۱۳۹۵. تنوع ژنتیکی گوسفند نژاد لک قشقایی در استان کهگیلویه و بویراحمد با استفاده از نشانگرهای ریزماهوره. نشریه پژوهش در نشخوار کنندگان، جلد ۴ شماره ۳، صفحه های ۶-۱.
- کسرای ک، رافت س، شجاع غیاث ج و جوانمرد آ، ۱۳۹۵. آزمون انساب در جمعیت گوسفندهای آمیخته به کمک نشانگرهای ریزماهوره. پژوهش های علوم دامی (دانش کشاورزی)، جلد ۲۴ شماره ۲، صفحه های ۱۵۰-۱۴۱.
- غلامی ح، ۱۳۹۴. راهنمای پرورش گوسفند و بز ویژه طرح بسیج همگام با کشاورزی. گوسفند بهمئی/ <https://sabokdam.com/>
- نقویان س، حسنی س، آهنی آذری م، خان احمدی ع، ساقی د، مامیزاده ن، ۱۳۹۳. مطالعه تنوع ژنتیکی گوسفند کردی شیروان با استفاده از نشانگرهای ریزماهوره و مقایسه ضریب همخونی بدست آمده با استفاده از اطلاعات شجره‌ای. پژوهش های علوم دامی (دانش کشاورزی)، جلد ۲۴ شماره ۱، صفحه های ۱۰۵-۹۳.
- Ahmed Z, Babar ME, Hussain T, Nadeem A, Awan FI, Wajid A, Shah, SA and Ali MM, 2014. Genetic diversity analysis of Kail sheep by using microsatellite markers. *The Journal of Animal and Plant Sciences* 24(5): 1329-1333.
- Al-Barzinji YMS, Lababidi S, Rischkowsky B, Al-Rawi AA, Tibbo M, Hassen H and Baum M, 2011. Assessing genetic diversity of Hamdani sheep breed in Kurdistan region of Iraq using microsatellite markers. *African Journal of Biotechnology* 10: 15109- 15116.
- Alberto FJ, Boyer F, Orozco-terWengel P, Streeter I, Servin B, de Villemereuil P, Benjelloun B, Librado P, Biscarini F, Colli L and Barbato M, 2018. Convergent genomic signatures of domestication in sheep and goats. *Nature Communications* 9:813.
- Arranz JJ, Bayon Y and Primitivo FS, 2001. Genetic variation at microsatellite loci in Spanish sheep. *Small Ruminant Research* 39:3-10.
- Babar ME, Hussain T, Nadeem N, Jabeen R and Javed M, 2009. Genetic Characterization of Azakheli Buffalo Breed of Pakistan Using Microsatellites DNA Markers. *Pakistan Journal of Zoology* 9: 361-366.
- Barker JFS, 2001. Conservation and management of genetic diversity: a domestic animal perspective. *Canadian Journal of Forest Research* 31(4):588-595.
- Baumung R, Simianer H and Hoffmann I, 2004. Genetic diversity studies in farmanimals—a survey. *Journal of Animal Breeding and Genetics* 121: 361-373.
- Beketov SV, Deniskova TE, Dotsev AV, Nikolaeva EA, Zinovieva NA, Selionova MI and Stolpovsky YA, 2024. Populations of Tuvan Shot Fat-Tailed Sheep in the Gene Pool Structure of the Sheep Breeds of the Russian Federation. *Russian Journal of Genetics* 60(1):87-99.
- Botstein R, White L, Skolnik M and Davis RW, 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *The American Journal of Human Genetics* 32: 314-331.
- Chen RJ, Yang ZP, Ji DJ, Qu DY, Li YL, Mao YJ and Huang DL, 2009. Analysis of genetic polymorphism in six meat sheep breeds and genetic distances between them. *Czech Journal of Animal Science* 54:461-467.
- Demirci S, Koban Baştanlar E, Dağtaş ND, Pişkin E, Engin A, Özer F, Yüncü, E, Doğan, ŞA and Togan, I, 2013. Mitochondrial DNA diversity of modern, ancient and wild sheep (*Ovis gmelinii anatolica*) from Turkey: new insights on the evolutionary history of sheep. *PLoS One* 8:e81952.
- Dossybayev K, Orazymbetova Z, Mussayeva A, Saitou N, Zhapbasov R, Makhatov B and Bekmanov B, 2019. Genetic diversity of different breeds of Kazakh sheep using microsatellite analysis. *Archives Animal Breeding* 62(1):305-12.

- Frankham R, Briscoe DA and Ballou JD, 2002. *Introduction to Conservation Genetics*, Cambridge University Press.
- Fuks D and Marom N. 2021. Sheep and wheat domestication in southwest Asia: a meta-trajectory of intensification and loss. *Animal Frontier*: 11:20–9.
- Gandini GC and Villa E, 2003. Analysis of the cultural value of local livestock breeds: A methodology. *Journal of Animal Breeding and Genetics* 120(1): 1–11.
- Groeneveld, LF, Lenstra JA, Eding H, Toro MA, Scherf B, Pilling D, Negrini R, Finlay EK, Jianlin H, Groeneveld E and Weigend S, 2010. Genetic diversity in farm animals—a review. *Animal Genetics*, 41: 6–31.
- Hedrick PW, 1995. Gene flow and genetic restoration: The Florida panther as a case study. *Conservation Biology* 9: 996-1007.
- Jawasreh, KI, Ababneh MM, Ismail ZB, Younes AMEB and Al Sukhni I, 2018. Genetic diversity and population structure of local and exotic sheep breeds in Jordan using microsatellites markers. *Veterinary World* 11(6): 778.
- Jyotsana B, Jakhesara S, Prakash V, Rank DN and Vataliya PH, 2010. Genetic features of Patanwadi, Marwari and Dumba sheep breeds (India) inferred by microsatellite markers. *Small Ruminant Research* 93(1): 57–60.
- Kabasakal A, 2023. Intra-Breed Genetic Diversity and Genetic Bottleneck Tests in a Karacabey Merino Sheep Breeding Farm Using Microsatellite Markers. *KAFKAS Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi*, 29(3).
- Khan MA, Husain SS, Alam MR, Teneva A, Han JL and Faruque MO, 2009. Genetic relationship in different sheep populations of Bangladesh based on microsatellite markers. *Journal of Bangladesh Agricultural University* 7: 291-294
- Li MH, Zhao SH, Bian C, Wang HS, Wei H, Liu B, Yu M, Fan B, Chen SL, Zhu MJ and Li SJ, 2002. Genetic relationships among twelve Chinese indigenous goat populations based on microsatellite analysis. *Genetics Selection Evolution* 34:1-6.
- Loukovitis D, Siasiou A, Mitsopoulos I, Lymberopoulos AG, Laga V and Chatziplis D, 2016. Genetic diversity of Greek sheep breeds and transhumant populations utilizing microsatellite markers. *Small Ruminant Research* 136:238-42.
- Loukovitis D, Szabó M, Chatziplis D, Monori I and Kusza S, 2023. Genetic diversity and substructuring of the Hungarian merino sheep breed using microsatellite markers. *Animal Biotechnology* 34(4):1701-1709.
- Mahmoudi B, 2010. Genetic Diversity of Lori Goat Population Based on Microsatellite Marker. *Asian Journal of Animal Science* 4: 13-19.
- Marković M, Radonjić D, Zorc M, Đokić M and Marković B, 2022. Genetic Diversity of Montenegrin Local Sheep Breeds Based on Microsatellite Markers. *Animals* 12(21): 3029.
- Meuwissen TH, 1991. Reduction of selection differentials in finite populations with a nested full-half sib family structure. *Biometrics* 47(1): 195-203.
- Mihailova Y, Rusanov K, Rusanova M, Vassileva P, Atanassov I, Nikolov V and Todorovska EG, 2023. Genetic Diversity and Population Structure of Bulgarian Autochthonous Sheep Breeds Revealed by Microsatellite Analysis. *Animals* 13(11):1878.
- Miller JM, Malenfant RM, David P, Davis CS, Poissant J, Hogg JT, Festa-Bianchet M and Coltman D, 2014. Estimating genome-wide heterozygosity: effects of demographic history and marker type. *Heredity* 112(3):240-7.
- Nanekarani SH, Amirinia C and Amirmozafari N, 2011. Genetic analyses of Karakul sheep breed using microsatellite markers. *African Journal of Microbiology* 5: 703- 707.
- Ocampo R, Cardona H and Martínez R, 2016. Genetic diversity of Colombian sheep by microsatellite markers. *Chilean Journal of Agricultural Research* 76(1):40-7.

- Odjakova T, Todorov P, Kalaydzhiev G, Salkova D, Dundarova H, Radoslavov G, Hristov P, 2023. A study on the genetic diversity and subpopulation structure of three Bulgarian mountainous sheep breeds, based on genotyping of microsatellite markers. *Small Ruminant Research* 226:107034.
- Sharifi–Sidani E, Amirinia C, Lavaf A, Farasati C and Aminafshar A, 2009. Genetic variation among different ecotypes of the Iranian Sanjabi sheep. *Journal of Animal Veterinary Advances* 8: 1173- 1176.
- Thimmappaiah W, Santhosh G, Shobha D and Melwyn GS, 2008. Assessment of genetic diversity in cashew germplasm using RAPD and ISSR markers. *Sciatica Horticulture* 118: 1-7.
- Van der Westhuizen L, Magwaba T, Grobler JP, Bindeman H, du Plessis C, Van Marle-Köster E and Naser FWC, 2019. Genetic variability in a population of Letelle sheep in South Africa. *South African Journal of Animal Science* 49(2): 281-289.
- Visser C, Marle-Köster EV and Friedrich H, 2011. Parentage verification of South African Angora goats, using microsatellite markers. *South African Journal of Animal Science* 41: 250- 255.
- Yousif AN, Abdullah SM, Shaker AS, Ameen QA, Mohammed MS, Muhammad SJ, Mustafa SM and Aziz CR, 2023. Genetic diversity assessment of some Iraqi Sheep breeds using micro satellite DNA markers. *Tikrit Journal for Agricultural Sciences* 23(3):41-50.