ارزیابی تنوع ژنتیکی مرغان بومی فارس بر مبنای توالی‌یابی بخشی از ناحیه D-loop ژنوم میتوکندری

مهسا نیکوبین بروجنی[1]، نصرالله پیرانی[2]، فریبا رفیعی بروجنی[3]

1- دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهرکرد

2- دانشیار گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهرکرد (نویسنده مسئول: napirany@gmail.com) شماره تماس: 09130573971)

3- استادیار گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهرکرد

چکیده

طیور بومی به عنوان ذخایر ژنتیکی ملی مطرح هستند و نگهداری آن‌ها از نظر حفظ تنوع زیستی بسیار با اهمیت است. بررسی ژنوم میتوکندری در یک نژاد و مقایسه آن با سایر نژادها می‌تواند شاخص مناسبی از میزان تنوع موجود در آن جمعیت را ارائه دهد. این پژوهش با هدف تعیین توالی بخش بسیار متغیر 1 (HVR-I) از ناحیه D-loop ژنوم میتوکندری مرغ بومی فارس صورت گرفت. به این منظور از تعداد 20 قطعه مرغ بومی فارس به طور تصادفی خون‌گیری انجام شد. پس از استخراج DNA از خون کامل، ناحیه HVR-I با استفاده از آغازگرهای اختصاصی تکثیر و سپس توالی‌یابی شد. در کل 12 عدد توالی با کیفیت مناسب به دست آمد. بعد از تجزیه و تحلیل توالی‌ها، تعداد 3 هاپلوتیپ از بین توالی‌های مورد بررسی مشخص شد که دارای 5 جایگاه چند شکلی تک نوکلئوتیدی (SNP) بودند. این تغییرات به طور عمده از نوکلئوتیدهای شماره 217 تا 446 مشاهده شدند. درخت فیلوژنی پس از اخذ توالی‌های مشابه ژنوم میتوکندری دیگر نژادهای موجود در بانک جهانی ژن ترسیم شد. نتایج فیلوژنی مشخص کرد که مرغان بومی فارس با مرغان بومی کشور آذربایجان، لگهورن سفید، مرغ ابریشمی، مرغ جنگلی خاکستری (سونراتی)، پلیموت راک پرخطدار، مرغ بومی مرندی و مازندرانی ایران در یک دسته قرار دارند. بنابراین می‌توان نتیجه‌گیری کرد که مرغ فارس ممکن است دارای برخی شباهت‌های ژنتیکی با این نژادها باشد.

واژه‌های کلیدی: ژنوم میتوکندری، ناحیه بسیار متغیر 1 (HVR-I)، چندشکلی تک نوکلئوتیدی (SNP)، فیلوژنی

مقدمه

نژادهای بومی، از ذخایر مهم ژنتیکی به شمار می‌روند و از این نظر به عنوان سرمایه‌های ژنتیکی ملی مطرح هستند. استفاده از طیور بومی به عنوان جمعیت مولد ژنتیکی پایه در برنامه‌های اصلاح نژادی طیور کشور و شناخت دقیق و کسب اطلاعات بیشتر در مورد آن‌ها برای حفظ این ذخایر ژنتیکی، ضروری به نظر می‌رسد (9).

امروزه استفاده از ژنوم میتوکندری[1] (mtDNA) یکی از روش‌های کاربردی در بررسی تنوع زیستی و ارزیابی بین گونه‌ها و نژادها محسوب می‌شود (7). میتوکندری اندامکی سیتوپلاسمی است که در بیشتر سلول‌های بدن وجود دارد. این اندامک که قادر به تولید انرژی برای سلول است، دارای DNA حلقوی اختصاصی و مستقل از DNA هسته‌ای است و در گونه‌های جانوری 37 ژن را کد می‌کند که شامل 13 ژن کد کننده زنجیره تنفسی، 22 ژن کد کننده tRNA و 2 ژن کد کننده rRNA است (16).

ژنوم میتوکندری دارای ناحیه‌ای به نام D-loop یا ناحیه کنترلی است که فاقد هر گونه ژن رمزکننده‌ای بوده و بنابراین وقوع هر نوع جهش می‌تواند در آن‌جا تثبیت شود. میزان جهش نوکلئوتیدها در این منطقه حدود 10 برابر DNA هسته‌ای است (1). میزان بالای جهش و وجود تفاوت در افراد مختلف در این ناحیه سبب شده تا توالی‌یابی بخش‌های مختلف این ناحیه از ژنوم میتوکندری جهت تعیین تنوع ژنتیکی و شناسایی منشأ نژادهای مختلف، مورد توجه قرار گیرد. ناحیه D-loop به سه ناحیه کنترلی کاملاً مشخص تقسیم می‌شود: قطعه آغازین یا ناحیه کنترل 1[2] (HVR-I)، قطعه انتهایی یا ناحیه کنترل 3 (HVR-III) و قطعه میانی یا ناحیه کنترل 2 (HVR-II) که در بین دو ناحیه فوق قرار دارد (14).

اولین توالی کامل ژنوم میتوکندری مرغ به طول 16775 جفت باز و همچنین طول قطعات ژنی آن از قبیل ناحیه D-loop به طول 1227 با کد دسترسی X52392 گزارش شده است (3). سپس فومی هیتو و همکاران (6) با مطالعه ناحیه کنترل غیر کدکننده mtDNA پرندگان مختلف به روش RFLP، زیرگونه مرغ جنگلی قرمز (گالوس گالوس) را به عنوان جد مادری تمام نژادهای اهلی مرغ معرفی کردند.

هدف از این مطالعه، تعیین و بررسی توالی نوکلئوتیدهای بخش HVR-I از ناحیه D-loop ژنوم میتوکندری مرغ بومی فارس ایران، تعیین میزان تنوع موجود در این جمعیت و ترسیم رابطه فیلوژنی آن با سایر نژادهای مرغ ثبت شده در بانک جهانی ژن بود.

[1] Mitochondrial DNA

[2] Hyper Variable Region

مواد و روش‌ها

معرفی مرغ بومی فارس

این نژاد، بومی استان فارس بوده که بر اساس نتایج بدست آمده، میانگین کل درصد تخم گذاری، وزن تخم مرغ و تعداد تخم مرغ تولیدی در طی یک دوره تخم گذاری 12 ماهه به ترتیب 6/08 ± 37/32 درصد، 4/74 ± 42/75 گرم و 37/64 ± 140/20 عدد بوده است. همچنین میانگین وزن بدن در سنین 8، 12، 18، 30، 38، 46 و 60 هفتگی به ترتیب 417/99، 641/14، 878/44، 1262/94، 1335/90، 1409/83 و 1542/85 گرم گزارش شده است (10).

جمع آوری نمونه‌ها و استخراج DNA

برای انجام این پژوهش تعداد 20 قطعه مرغ (10 مرغ و 10 خروس) به طور تصادفی از مرکز پرورش مرغ بومی فارس، واقع در شمس‌آباد شیراز مورد استفاده قرار گرفت. اخذ نمونه‌های خون از طریق ورید زیر بالی و با استفاده از سرنگ صورت گرفت، سپس بلافاصله داخل میکروتیوب‌های 1/5 میلی‌لیتری حاوی ماده ضد انعقاد خون EDTA، ریخته و داخل فلاسک محتوی یخ قرار داده شد و تا زمان استخراج DNA در دمای 20- درجه سلسیوس در آزمایشگاه نگهداری شدند. استخراج DNA توسط روش بیلز و همکاران (2) انجام شد. برای آگاهی از میزان DNA استخراج شده و میزان خلوص آن، از الکتروفورز روی ژل آگارز 0/8 درصد و دستگاه اسپکتروفتومتر استفاده شد.

انتخاب آغازگرها و واکنش زنجیره‌ای پلیمراز

در این پژوهش از یک جفت آغازگر اختصاصی رفت و برگشت طراحی شده بر اساس ژنوم میتوکندری (قسمت اول ناحیه D-loop) گونه مرغ اهلی با کد دسترسی (X52392) استفاده شد (3). توالی آغازگرها به شرح زیر است:

F (5'-GGCTTGAAAAGCCATTGTTG-3')
R (5'-CCCCAAAAAGAGAAGGAACC-3')

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز به حجم 20 میکرولیتر شامل 50 نانوگرم DNA ژنومی، 1/5 میلی مولار $MgCl_2$، 0/2 میلی مولار از مخلوط dNTP، 7 پیکومول از هر کدام از پرایمرها، بافر یک برابر PCR، یک واحد آنزیم Taq DNA پلیمراز بود. برنامه حرارتی شامل دمای واسرشته شدن اولیه 94 درجه سانتیگراد به مدت 3 دقیقه، 30 چرخه دمایی با دمای واسرشت 95 درجه سانتیگراد به مدت 30 ثانیه، دمای اتصال 55 درجه سانتیگراد به مدت 45 ثانیه، دمای تکثیر 72 درجه سانتیگراد به مدت 90 ثانیه و دمای تکثیر نهایی 72 درجه سانتیگراد به مدت 10 دقیقه انجام شد. برای اطمینان از تکثیر قطعه مورد نظر، نمونه‌ها و DNA اندازه روی ژل آگارز با غلظت 1/5 درصد الکتروفورز شدند.

تعیین توالی محصولات تکثیرشده

پس از اطمینان از تکثیر ناحیه مورد نظر، محصولات PCR با استفاده از کیت ExoSAP-

IT (شرکت USB آلمان) تخلیص شده و سپس با استفاده از کیت توالی‌یابی (شرکت USB آلمان) توالی‌یابی شدند. بدین منظور محصولات آماده شده روی ژل پلی‌آکریلامید 6 درصد بارگذاری شدند. پس از بررسی اولیه توالی‌های به‌دست آمده، مشخص شد تمامی تغییرات نوکلئوتیدی در فاصله 455-1 جفت باز قرار دارند، بنابراین همین اندازه مبنای مقایسه برای تمامی توالی‌های بدست آمده قرار گرفت.

تجزیه و تحلیل توالی‌ها

کلیه توالی‌های مربوط به مرغ بومی فارس توسط نرم‌افزار BioEdit7 (8) هم‌ردیف شدند و به کمک نرم‌افزار MEGA5 (15) پس از هم‌ردیف‌کردن توالی‌های بدست آمده، نوکلئوتیدهای جایگزین، حذف و یا اضافه شده، تعیین گردید و هاپلوتیپ‌ها نیز مشخص شدند. فاصله درون هاپلوتیپی، تنوع هاپلوتیپی (هتروزیگوسیتی) و تنوع نوکلئوتیدی (π) توسط نرم‌افزار Arlequin3.5 (5) محاسبه شدند. هاپلوتیپ‌های به‌دست آمده با استفاده از برنامه Sequin[1] جهت ثبت در پایگاه اطلاعاتی (NCBI)[2] ارسال شدند. توالی کلی (جامع)[3] مرغ بومی فارس با توالی‌های مشابه در نژاد و سویه‌های مختلف مرغ اهلی اخذ شده از بانک ژن، در ابتدا به کمک نرم افزار MEGA5 (15) هم‌ردیف و سپس درخت فیلوژنی با استفاده از رویه NJ[4] بر پایه ML[5] رسم شد.

نتایج و بحث

پس از بررسی توالی‌های به‌دست آمده، توالی‌یابی در 20 نمونه به خوبی انجام گرفت و فقط هشت نمونه، به علت وجود هتروپلاسمی در 3 نمونه قادر به توالی‌یابی نبودند و یا اینکه فقط در یک جهت توالی‌یابی شدند، به همین دلیل مورد استفاده قرار نگرفتند. به طور متوسط در تمام نمونه‌ها، تعداد 455 نوکلئوتید مورد استفاده قرار گرفتند که از این میان 5 جایگاه چند شکل (SNP) مشاهده شد. این تغییرات به طور عمده از نوکلئوتید شماره 217 تا 446 مشاهده شدند. به طور کلی در نمونه‌های مورد بررسی تعداد 3 هاپلوتیپ مشخص شد (جدول 1).

توالی‌های هاپلوتیپ به‌دست آمده از نمونه‌ها به طول 455 نوکلئوتید در مرکز ملی اطلاعات زیست فن‌آوری (NCBI) با کدهای دسترسی KF973201، KF973202 و KF973204 ثبت شدند.

[1] http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Sequin/[1]
[2] National Center for Biotechnology Information
[3] Consensus

[4] Neighbor-Joining
[5] Maximum Likelihood

جدول 1- SNP و هاپلوتیپ‌های بدست آمده برای نمونه‌های مرغ بومی فارس

		موقعیت SNP				
هاپلوتیپ	فراوانی	217	246	281	306	446
1	7	C	C	A	T	T
2	1	.	T	.	.	.
3	4	T	.	G	C	C

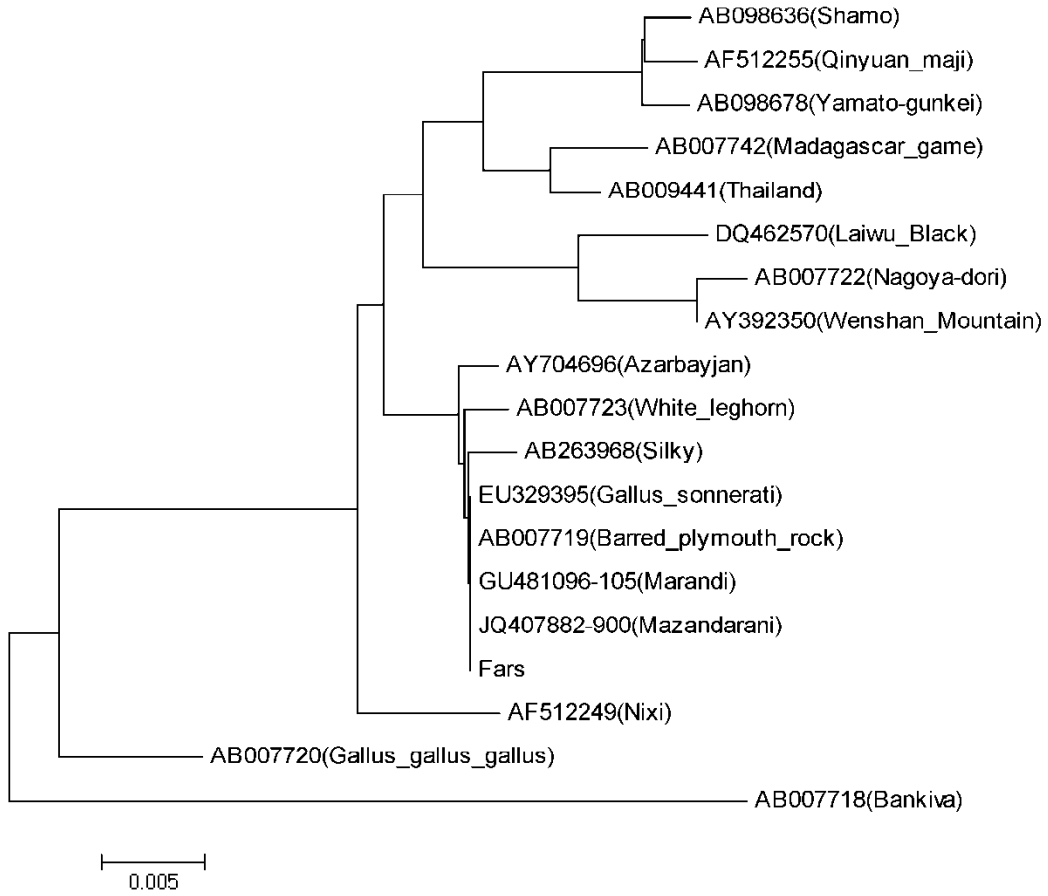
فراوانی نسبی نوکلئوتیدها در توالی تک رشته ناحیه HVR-I توالی کلی (جامع) مرغ فارس به طول 455 نوکلئوتید با توالی ناحیه مشابه در مرغ مازندرانی (12) و مرندی (9) به عنوان دو نژاد ایرانی با توالی ثبت شده در بانک جهانی ژن به ترتیب با کدهای دسترسی JQ7882.1-JQ7900.1 و GU481096-105 در جدول 2 آورده شده است که تفاوت بسیار اندکی در آن‌ها مشاهده می‌شود. با این وجود تنوع نوکلئوتیدی و هاپلوتیپی در مرغ نژاد مرندی بیشتر است که بیانگر وجود تنوع بیشتر در این جمعیت می‌باشد.

جدول 2- تعداد هاپلوتیپ، درصد فراوانی نسبی نوکلئوتیدها، تنوع نوکلئوتیدی و هاپلوتیپی ناحیه HVR-I مرغ فارس، مرندی (9) و مازندرانی (12).

جمعیت	تعداد نمونه	تعداد هاپلوتیپ	A	G	C	T	تنوع نوکلئوتیدی	تنوع هاپلوتیپی
فارس	12	3	29/3	13/1	27/4	30/2	± 0/00313 0/0046	0/59 ± 0/1079
مرندی	10	5	29/2	13/1	27/5	30/2	± 0/00689 0/0115	0/82 ± 0/0969
مازندرانی	19	6	29/2	13/1	27/6	30/2	± 0/00324 0/0051	0/74 ± 0/0085

شکل 3 نمودار فیلوژنی رسم شده توالی کلی بخش HVR-I از ناحیه D-loop مرغ بومی فارس و توالی‌های مشابه از 18 نژاد مرغ موجود در بانک جهانی ژن به همراه کد دسترسی آن‌ها را نشان می‌دهد. همانطور که در شکل مشخص است توالی این ناحیه در مرغ فارس با مرغ بومی مرندی، مازندرانی، پلیموتراک پرخطدار، مرغ جنگلی خاکستری (سونراتی)، بومی آذربایجان، لگهورن سفید و مرغ ابریشمی نزدیکی بیشتری دارد که این امر ممکن است به دلیل مشابهت ژنتیکی مرغ فارس ایران به نژادهای مدیترانه‌ای باشد. در مطالعات سایر پژوهشگران نیز چنین

تشابهاتی وجود دارد مثلاً در مطالعه‌ای که به روش RFLP روی ناحیه غیر کدکننده mtDNA پرندگان مختلف انجام شده است، زیر گونه مرغ جنگلی قرمز (گالوس گالوس) را به عنوان جد مادری تمام نژادهای اهلی مرغ معرفی کردند (6). همچنین در مطالعه دیگری که به منظور بررسی منشا مادری و تعیین روابط فیلوژنتیک 20 نژاد مرغ بومی ژاپنی و بومی اندونزیایی انجام دادند نتیجه گرفتند که بعضی نژادهای منتسب به ژاپن از داخل ژاپن منشأ نگرفته‌اند و نژادهای سایر کشورها، پایه مرغ‌های بومی ژاپنی را تشکیل داده‌اند (11).



شکل 3- نمودار فیلوژنی (نمودار درختی N-J) توالی کلی (جامع) ناحیه تکثیر شده از ژنوم میتوکندری مرغ بومی فارس و برخی از نژادهای مرغ موجود در بانک جهانی ژن به همراه کد دسترسی آن‌ها.

همچنین از کاربردهای ژنوم میتوکندری، می‌توان به تشخیص هم‌زمان گوشت گونه‌های مختلف مثل: گاو، گاو میش، گوسفند و بز در مخلوط گوشت توسط الیاسی و همکاران (4) اشاره کرد.

در مطالعه‌ای تنوع ژنتیکی مرغان بومی 5 ناحیه مجزای سریلانکا بررسی شد. در این پژوهش 140 مرغ بومی برای بررسی ناحیه کنترلی mtDNA مورد استفاده قرار گرفت. در نهایت 44 SNP و 42 هاپلوتیپ در 6 گروه هاپلوئیدی مشخص شدند. توالی D-loop نشان داد که 62 جفت باز از ژنوم میتوکندری مرغ‌های بومی سریلانکا از دست رفته است و مشخص شد که مرغان بومی سریلانکا به شدت به گونه جنگلی قرمز[1] و گونه جنگلی سبز[2] مربوط هستند و ارتباط ژنتیکی کمتری با گونه گالوس لافایتی[3] (مرغ جنگلی سیلان) دارند (13).

پیرانی و همکاران (12) تنوع ژنتیکی 20 قطعه مرغ بومی مازندرانی را با استفاده از توالی‌یابی HVR-I ناحیه میتوکندریایی را بررسی کردند که در نهایت 6 هاپلوتیپ شناسایی شدند که دارای 10 جایگاه چند شکلی SNP بودند. نتایج فیلوژنی مشخص کرد که مرغان بومی مازندران با مرغ مرندی ایران، بومی کشور آذربایجان، لگهورن سفید، پلیموتراک پرخطدار، مرغ ابریشمی، جنگلی، خاکستری (سونراتی) در یک دسته قرار دارند. بنابراین آن‌ها چنین نتیجه گرفتند که مرغ مازندرانی احتمالاً واجد برخی شباهت‌های ژنتیکی با این نژادها می‌باشد.

در پژوهشی دیگر 15 قطعه مرغ بومی مرندی ایران، پس از توالی‌یابی و بررسی تنوع در قطعه HVS-I تعداد 5 هاپلوتیپ مشخص شد. نتایج فیلوژنی مشخص کرد که مرغان بومی مرندی ایران با مرغ بومی کشور آذربایجان، پلیموتراک پرخطدار، لگهورن سفید، مرغ ابریشمی و مرغ جنگلی خاکستری (سونراتی)[4] نزدیکی بیشتری دارد، که این امر ممکن است به دلیل نزدیکی جغرافیایی زیستگاه نژاد مرندی و بومی کشور آذربایجان و همچنین مشابهت ژنتیکی مرغ مرندی ایران با نژادهای مدیترانه‌ای باشد (9).

یاکوب و همکاران (17) 500 جفت باز از ناحیه D-loop میتوکندریایی مرغان بومی عربستان سعودی را توالی‌یابی کردند و به این نتیجه رسیدند که مرغان بومی و گونه گالوس گالوس، یک جفت توالی تکراری با 14 واحد باز در دو رونوشت دارند. و 2 هاپلوتیپ C و T در این مرغ‌ها شناسایی شد. این نتایج نشان داد که نژادهای مرغان بومی به گونه‌های گالوس گالوس و همچنین گالوس گالوس اسپادیکوس[5] و گالوس گالوس بانکیوا[6] ربط دارند.

[1] Gallus gallus
[2] Gallus Various
[3] Gallus Laffayetti
[4] Gallus gallus Sonerati
[5] Gallus gallus Spadiceus
[6] Gallus gallus Bankiva

ورود مرغ‌های اصلاح شده خارجی به کشور موجب بی‌توجهی به ظرفیت تولیدی مرغ‌های بومی شده است. با توجه به سازگاری نژادهای مرغ بومی نسبت به شرایط محل زندگی خود و به کمک شیوه‌های اصلاح نژادی امکان افزایش ظرفیت تولیدی آن‌ها وجود دارد. استفاده از توالی‌یابی بخش HVR-I از ناحیه D-loop ژنوم میتوکندری می‌تواند به عنوان شاخص مناسبی جهت شناسایی نژادها به شمار رود. تشکیل بانک اطلاعات نژادهای بومی به خصوص در مورد نژادهایی که در معرض خطر انقراض قرار دارند، ضروری می‌نماید. همچنین ثبت توالی به‌دست آمده قدمی موثر برای شناساندن این نوع نژادها به متخصصین و دست اندرکاران اصلاح نژاد در سطوح جهانی است. مرغ فارس ایران نژادی بومی و در حال انقراض است که با توجه به شباهت ژنتیکی با نژادهای تجاری، بررسی‌های بیشتر و سرمایه گذاری در جهت استفاده از آن به عنوان نژاد پایه، به رفع خطر انقراض این نژاد و همچنین افزایش قابلیت‌های طیور بومی مورد استفاده در روستاها منجر خواهد شد. منشا مشترک این نژاد با نژادهای مدیترانه‌ای که عموماً دارای خصوصیات تخمگذاری خوبی هستند، می‌تواند گویای توانایی‌های این نژاد برای پرورش به منظور تخمگذاری باشد، از طرفی سازگاری با شرایط بومی و مقاومت به بیماری‌های منطقه‌ای نیز از مزایای این نژاد است.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از مسئولین و دست اندرکاران مرکز پرورش مرغ بومی استان فارس به دلیل در اختیار گذاشتن نمونه‌های خون جهت اجرای پژوهش حاضر و همچنین از آزمایشگاه آقای وایگند[1] به خاطر کمک‌های ارزنده‌شان در تعیین توالی نمونه‌ها تشکر و قدردانی می‌شود.

[1] S.Weigend (Institute of Farm Animal Genetics, Mariensee, Germany)

منابع

1. Anderson, S.A.T., G. Bankier, M. Barrell, A. De Bruijn, J. Couson, I. Drouin, B. Nierlich, F. Roe, PH. Sanger and Young I.G. 1981. Sequence and organization of the human mitochondrial genome. Nature, 290: 457-465.
2. Bailes, S.M., J.J. Devers, J.D. Kirby and D.D. Rhoads. 2007. An expensive, simple protocol for DNA isolation from blood for high-throughput genotyping by polymerase chain reaction or restriction endonuclease digestion. Poultry Science, 86: 102-106.
3. Desjardins, P. and R. Morais. 1990. Sequence and gene organization of the chicken mitochondrial genome. A novel gene order in higher vertebrates. Journal of Molecular Biology, 212: 599-634.
4. Elyasi Zarringhabaie, G.H., N. Pirany and A. Javanmard. 2011. Molecular traceability of the species origin of meats using multiplex PCR. African Journal of Biotechnology, 10: 15461-16465.
5. Excoffier, L., G. Laval and S. Schneider. 2005. Arlequin version 3.0: an integrated software package for population genetics data analysis. Evolutionary Bioinformatics Online, 1: 47-50.
6. Fumihito, A., T. Miyake, S. Sumi, M. Takada, S. Ohno and N. Kondo. 1994. One subspecies of the red jungle fowl (Gallus gallus gallus) suffices as the matriarchic ancestor of all domestic breeds. National Academy of Sciences of the United States of America, 91: 12505-12509.
7. Guha, S., S.P. Goyal and V.K. Kashyap. 2006. Genomic variation in the mitochondrially encoded cytochorome b and 12s RNA genes. Characterization of eight endsngered pecorn species. Animal Genetics, 37: 262-265.
8. Hall, TA. 1999. BioEdit: a user- friendly biological sequence alignment editor and analysis program for windows 95/98/NT. Nucleic Acids Symposium Series, 4: 95-98 .
9. Mohammadipestebik, F., N. Pirany, J. Shodja and A. Mohammadhashemi . 2011. Determination the mtDNA D-loop Sequence in Marandi Native Chicken Population and Its Phylogenic Relationships with Other Breeds. Research Journal of Animal Science, 21: 1-9. (In Persian)
10. Norollahi, H. and M.A. Kamali. 2011. A survey on performance of native poultry in rural areas of Fars. Animal Sciences Journal (Pajouhesh & Sazandegi), 95: 8-12. (In Persian)

11. Oka, T., Y. Ino, K. Nomura, S. Kawashima, T. Kuwayama, H. Hanada, T. Amano, M. Takada, N. Takahata, Y. Hayashi and F. Akishinonomiya. 2007. Analysis of mtDNA sequences shows Japanese native chickens have multiple origins. Animal Genetics, 38: 287–293.
12. Pirany, N., A. Mohammadhashemi, S. Alijani, R. Rezazadeh Goli and S. Ghanbari. 2010. Molecular Analysis of Mazandrani native chicken population based on HVR-I region of Mitochondrial DNA Journal of Agricultural Biotechnology, 1: 53-65. (In Persian)
13. Silva, P., X. Guan, O. Ho-Shing, J. Jones, J. Xu, D. Hui, D. Notter and Smith E. 2008. Mitochondrial DNA-based analysis of genetic variation and relatedness among Sri Lankan indigenous chickens and the Ceylon jungle fowl (Gallus lafayetti). Animal Genetics, 40: 1-9.
14. Sultana, S. and H. Mannen. 2004. Polymorphism and evolutionary profile of mitochondrial DNA control region inferred from the sequences of Pakistani goats. Animal Science Journal, 75: 303-309.
15. Tamura, K., J. Dudley, M. Nei and S. Kumar. 2007. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. Molecular Biology and Evolution, 24: 1596-1599.
16. Wallce, D.C. 1992. Mitochondrial genetics a paradigm for aging and degenerative diseases. Science, 256: 628-632.
17. Yacoub, H.A. and M.M. Fathi. 2013. Phylogenetic analysis using D-loop marker of mtDNA of Saudi native chicken strains. Animal Science Journal, 44: 5-6.

Analysis of Genetic diversity in Fars Native Chicken based on Partial Mitochondrial DNA D-loop Region Sequences

Mahsa Nikoubin Borujeni[1], Nasrollah Pirany[2] and Fariba Rafiei Boroujeni[3]

1. MSc Student of Animal Science, College of Agriculture University
2. Associate Professor, Department of Animal Science Faculty of Agriculture, University of Shahrekord (Corresponding Author: napirany@gmail.com) Tell: 09130573971
3. Assistant Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Shahrekord

Abstract

Native chickens are considered as national genetic resources and their conservation is very important from biodiversity aspects. The study of mitochondrial genome in one breed and comparing it with others can be a useful index about genetic diversity in that population. This study carried out for determining the sequences of mitochondrial high variable 1 (HVR-I) of D-loop region in Fars native chicken. Blood samples were collected randomly from 20 birds. After extracting DNA from whole blood, the HVR-I region was amplified using specific primers then sequenced. Totally, 12 sequences were obtained properly. After analyzing of the sequences, three haplotypes were identified comparison of 5 single nucleotide polymorphic sites (SNP). These changes were mainly observed from nucleotides 217 to 446. After obtaining similar mtDNA sequence from GenBank, phylogenetic tree was drawn. Phylogenetic results indicated the Fars native chickens were clustered with Azerbaijan native, White Leghorn, Silky, Sonneratii, Barred Plymouth Rock, Iranian Marandi and Mazandarani native chickens. Therefore, we conclude that the Fars chicken might has some genetic similarities with these chicken breeds.

Keywords: mitochondrial genome, Highly variable region I (HVR-I), single nucleotide polymorphism (SNP), Phylogenetic