



تنوع ژنتیکی شش توده بز بومی ایران با استفاده از نشانگرهای RAPD

- علی جوانروح علی آباد، کارشناس ارشد بخش بیولوژی، موسسه تحقیقات علوم دامی کشور
- سعید اسماعیل خانیان، عضو هیأت علمی مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور،
- نوید دین پرست، عضو هیأت علمی انستیتو پاستور ایران،
- رسول واعظ ترشیزی، استادیار گروه علوم دامی، دانشگاه تربیت مدرس.

تاریخ دریافت: تیرماه ۱۳۸۱ تاریخ پذیرش: خرداد ماه ۱۳۸۳

چکیده

در این تحقیق، جهت بررسی تنوع ژنتیکی نمونه های خون از محل پراکنش شش توده بز ایران جمع آوری شد که شامل بزمرخ، بز کرکی رائینی، بز کرکی جنوب خراسان، بز سیاه لری، بز نجدی و بز تالی می باشد. استخراج DNA با روش بهینه یافته - Salting Out انجام گرفت. ۱۶ آغازگر جهت یافتن چند شکلی، بررسی شد و از بین آنها تعداد ۱۰ آغازگر که باندهای قوی و چند شکل را در بین افراد نشان می دادند، انتخاب شدند. تکثیر DNA ژنومی با تعداد ۲۰ فرد از هر توده از طریق واکنش زنجیره ای پلیمرز (PCR) صورت گرفت. طول قطعات تکثیر یافته در آغازگرهای مختلف بین ۲۲۰ تا ۲۳۱۰ جفت باز تغییر می کرد. درصد چند شکلی ۵۳۹/۰ برآورد گردید. بر اساس باندهای چند شکل، بیشترین فاصله ژنتیکی بین توده های سیاه لری و کرکی جنوب خراسان بوده که معادل ۰/۲۲۷ محاسبه شد. همچنین کمترین فاصله ژنتیکی بین توده های تالی و کرکی رائینی بود که معادل ۰/۰۸۱ محاسبه گردید. درخت فیلوژنی ترسیم شده بر اساس روش Neighbor-Joining، توده های بز مورد مطالعه را در دو گروه قرار داد: گروه اول شامل توده های کرکی رائینی، تالی، کرکی جنوب خراسان و نجدی بوده و گروه دوم شامل توده های مرخ و سیاه لری بود.

کلمات کلیدی: بزهای ایران، تنوع ژنتیکی، چند شکلی، فواصل ژنتیکی، نشانگرهای RAPD

Pajouhesh & Sazandegi No:64 pp: 12-17

Genetic variation among six Iranian goat breeds using RAPD markers.

By: A. Javanrouh Aliabad, Dept. of Biotechnology, Animal Research Institute of Iran (ASRI), Karaj Iran.

S. Esmaeelkhanian, Dept. of Biotechnology, Animal Research Institute of Iran (ASRI), Karaj, Iran., N. Dinparast, Dept. of Biotechnology, Pastour Institution of Iran, Tehran, Iran. and R. Vaez Torshizi, Dept. of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tarbiat Modares, Tehran, Iran.

In order to evaluation of genetic variation of six Iranian goat breeds including : Markhoz (MR), Korki of South Khorasan (KK), Black Lori (BL), Najdi (NJ) and Tali (TL), blood sample were collected from spreading location

of these breeds. DNA extraction was done by modified Salting- Out method (Miller , 1988). Polymorphisms were surveyed for 16 RAPD primers and 10 primers were selected for high polymorphism among all of breeds RAPD-PCR were done on 20 individuals per breeds. The length of PCR products were varied from 220bp to 2310bp. The percent of polymorphism were obtained 53/9% . On the base of polymorphic bands, The highest and lowest genetic distance was obtained for Black Lori and Korki of Khorasan (0.237) and Tali and Korki of Raeini (0.081), respectively. The Phylogenetic tree was reconstructed on Neighbor-Joining method and showed two main separated groups, including : Korki of South Khorasan , Tali , Korki of Raeini and Najdi together and Black Lori and Markhoz . This research was showed that RAPD technic is an useful tool for evaluation of genetic variation among of domesticated animals

Key words: Iraninan goats, Genetic variation, Polymorphism, Genetic distance, RAPD Markers

مواد و روشها

نمونه ها از محل پراکنش توده های بز مورد مطالعه از استانهای کردستان، کرمانشاه، خراسان، کرمان، لرستان، خوزستان و هرمزگان تهیه گردید. استخراج DNA با روش بهینه یافته Salting-Out (۹) از نمونه های خون انجام گرفت و میزان کمی و کیفی آن با دو روش، اسپکتوفتومتری و ژل آگارز ۰/۸ درصد انجام گرفت. از ۱۶ آغازگر ۱۰ و ۱۱ بازی جهت یافتن چند شکلی در توده بزهای مورد مطالعه استفاده گردید. آغازگرها به صورت لئوفیلیزه از شرکت TIB MOLBIOL آلمان تهیه گردید. تکثیر DNA ژنومی با تعداد ۲۰ فرد از هر توده از طریق واکنش PCR انجام گرفت. واکنشهای PCR با شرایط زیر انجام شد:

PCR buffer IX, MgCl_۲ ۳/۵ mm, Primer ۰/۵ μm dNTP ۲۰۰ μm, Taq DNA Polymerase 1Unit, DNA ۲۵ ng ژنومی

واکنش PCR با حجم ۲۵ میکرولیتر انجام گرفت و نمونه های مربوط به هر توده با آغازگرهای انتخابی، همراه با دو نمونه مربوط به کنترل منفی و کنترل مثبت PCR گردید. جهت انجام واکنش PCR از ترموسایکلر مدل TGRADIENT ساخت شرکت Biometra، استفاده شد.

مناسب ترین چرخه حرارتی جهت PCR نمونه های اصلی برای هر آغازگر به صورت زیر انتخاب گردید:

- (۱) ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه
- (۲) ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۱ دقیقه (۳)
- ۴۲ درجه سانتی گراد به مدت ۱ دقیقه (۴) ۷۲
- درجه سانتی گراد به مدت ۱ دقیقه (۵) ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۷ دقیقه. مراحل ۲ تا ۴ به تعداد ۴۰ بار تکرار گردید.

مقدمه

پایه و اساس تنوع ژنتیکی در یک گونه، تغییرات جهشی است که با ایجاد آلل های مختلف، اشکال فنوتیپی و ژنوتیپی متفاوت را بوجود آورده است (۱۳). تنوع ژنتیکی در یک گونه، با حداکثر نمودن هتروزیگوسیتی اولیه، اندازه جمعیت (N)، نسبت اندازه مؤثر جمعیت (Ne) به اندازه جمعیت (Ne/N) و حداقل نمودن تعداد نسل افزایش می یابد (۲). نژادهای بومی بدلیل شدت انتخاب پایین، تعداد زیاد پرورش دهندگان و محدودیت استفاده از تلقیح مصنوعی و سایر فناوریهای تولید مثلی، از تنوع ژنتیکی بالائی برخوردارند. از طرفی با گذشت زمان و کسب آگاهی بیشتر نسبت به اهمیت صفات مختلف، نیازهای جدیدی مطرح میشود که متخصصین اصلاح نژاد را بر آن می دارد که از ژنهای بومی استفاده نمایند. این مسئله به خصوص با افزایش تولید محصولات دامی و تولید محصولات پیش بینی نشده در آینده، لزوم حفظ تنوع ژنتیکی در دامهای بومی را الزامی ساخته است (۴). چرا که وجود تنوع ژنتیکی، باعث افزایش پیشرفت ژنتیکی و تطابق پذیری سریعتر خواهد شد. امروزه جهت برآورد تنوع ژنتیکی و تعیین فواصل ژنتیکی بین جمعیتها، از تکنیکهای پیشرفته مولکولی بر اساس تفاوتیهای موجود در سطح مولکول DNA استفاده می گردد (۱۷). تکنیک RAPD، یکی از نشانگرهای مولکولی DNA میباشد که در آن از آغازگرهای اختیاری استفاده می شود و نیازی به داشتن اطلاعات از توالی ژنومی نیست (۱۸). سرعت بالا و عدم نیاز به مواد رادیواکتیو در این روش باعث شد که از آن برای تهیه نقشه های ژنتیکی، تعیین هویت، تشخیص نژادی و تعیین تنوع ژنتیکی استفاده شود (۱۷). نشانگرهای RAPD، انگشت نگاری DNA در چندین مقرر امکان پذیر می سازد. لذا تکنیک RAPD برای بررسی تنوع ژنتیکی در جمعیت های بزرگ ایده آل است. از نشانگرهای RAPD برای تعیین تنوع ژنتیکی در چهار نژاد گاو و دو نژاد گوسفند استفاده شد. تشابه بین نژادی در نژادهای گاو فنلاندی نسبت به گاوهای زبو بیشتر بود (۵). نشانگرهای RAPD جهت بررسی تنوع ژنتیکی در چهار نژاد گاو شامل: هان وو کره، انگوس، شاروله، هلشتاین مورد استفاده قرار گرفت. بالاترین ضریب شاخص تشابه در بین نژاد هان وو و نژاد هلشتاین برآورد گردید (۳). در ایران توسط آزادی (۱۳۷۸)، تنوع ژنتیکی در داخل و بین پنج جمعیت گوسفند ایرانی با استفاده از نشانگرهای RAPD مورد مطالعه قرار گرفت. بیشترین فاصله ژنتیکی مربوط به نژادهای مهربان و سنجابی و کمترین فاصله ژنتیکی، متعلق به نژادهای کردی کردستان و مهربان بود (۱).

توده های بز ایران با اهداف تولیدی همچون، شیر، گوشت، کرک و موهر پرورش می یابند. از طرفی تحقیقات بسیار محدودی در زمینه شناسائی و اصلاح این توده ها انجام گرفته است. هدف از انجام این تحقیق، تخمین تنوع ژنتیکی در داخل و بین شش توده بز بومی ایران (بز مرخز، بز کرکی جنوب خراسان، بز کرکی رائینی، بز سیاه لری، بز نجدی و بز تالی) با استفاده از یک نشانگر مولکولی DNA بنام RAPD می باشد.

استفاده شد (۸).

$$BGS = 1 + \hat{S}_{IJ}$$

به طوری که \hat{S}_{IJ} متوسط فراوانی سهم باندی برای تمام مقایسات افراد جمعیت‌های I و J و SI، ضریب تشابه داخل جمعیتی در جمعیت I و SJ ضریب تشابه داخل جمعیتی در جمعیت J می‌باشد. جهت محاسبه فاصله ژنتیکی^۴ بین دو جمعیت (D) از فرمول زیر استفاده شد (۱۲).

$$D = \ln \left[\frac{S'_{IJ}}{(S_I \cdot S_J)^{1/2}} \right]$$

جهت ترسیم درخت فیلوژنی و تجزیه خوشه ای از روش Neighbor-Joining و با استفاده از دو نرم افزار POPGENE (۲۰) و POPTREE (۱۶) بهره گرفته شد.

نتایج و بحث

تعداد ۱۰ آغازگر از مجموع ۱۶ آغازگر بکار رفته، باندهای قوی و چند شکل را در بین افراد نشان دادند. متوسط قطعات تکثیر شده به ازاء هر آغازگر، برابر ۱۱/۵ قطعه بود. طول قطعات تکثیر یافته در آغازگرهای مختلف بین ۲۲۰ تا ۲۳۱۰ جفت باز تغییر می کرد. به طور کلی تعداد ۱۱۵ باند از مجموع آغازگرها بدست آمد که ۶۲ باند چند شکل و ۵۳ باند یک شکل بوده و لذا درصد قطعات چند شکلی ۰/۵۳۹ برآورد گردید (شکل ۴ تا ۲). شاخص یکنواختی درون جمعیتی (U) و تنوع درون جمعیتی در شش توده بز بومی ایران در جدول ۱ نشان داده شده است. کمترین تنوع درون جمعیتی مربوط به توده مرخز و بیشترین تنوع درون جمعیتی مربوط

جهت الکتروفورز محصولات PCR و تفکیک قطعات حاصله از ژل آگارز ۱/۵ درصد استفاده شد. برای رنگ آمیزی ژل از اتیدیوم بروماید استفاده شد. با استفاده از دستگاه UV ترانس لومیناتور از هر ژل عکس جداگانه‌ای تهیه شد. جهت تجزیه و تحلیل آماری، در صورت تکثیر و حضور باند امتیاز یک و در صورت عدم حضور باند امتیاز صفر داده شد. برای محاسبه فراوانی سهم باندی (BSF) بین افراد مختلف از فرمول زیر استفاده شد.

$$BSF_{XY} = \frac{2N_{AB}}{N_A + N_B}$$

به طوری که N_{AB} تعداد باندهای مشترک یعنی دو فرد A و B، N_A تعداد باندهای حاصله از فرد A و N_B تعداد باندهای حاصله از فرد B می باشد.

شاخص یکنواختی داخل جمعیتی^۲ (U) بر اساس فراوانی باندها، به صورت زیر محاسبه گردید (۷):

$$U = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N V_i$$

به طوری که V_i فراوانی آمین باند و N تعداد باندهای امتیاز داده شده می باشد.

برای محاسبه ضریب تشابه بین جمعیتی^۳ (BGS) از فرمول زیر

توده‌های بز	مرخز	کرکی جنوب خراسان	کرکی رائینی	سیاه لری	نجدی	تالی
شاخص یکنواختی درون جمعیتی	۰/۷۱۴	۰/۶۸۹	۰/۶۶۵	۰/۷۰۱	۰/۶۷۲	۰/۶۵۷
تنوع درون جمعیتی	۰/۲۸۶	۰/۳۱۱	۰/۳۳۵	۰/۲۹۹	۰/۳۲۸	۰/۳۴۳

جدول ۱: شاخص یکنواختی ژنتیکی و تنوع درون جمعیتی در توده های بز بومی

توده های بز	مرخز	کرکی جنوب خراسان	کرکی رائینی	سیاه لری	نجدی	تالی
مرخز	۰/۰۰۰	۰/۸۵۰	۰/۸۵۷	۰/۸۲۹	۰/۸۳۹	۰/۸۳
کرکی جنوب خراسان	۰/۱۶۲	۰/۰۰۰	۰/۸۶۳	۰/۷۹۶	۰/۸۱۳	۰/۸۶۱
کرکی رائینی	۰/۱۵۳	۰/۱۴۶	۰/۰۰۰	۰/۸۵۵	۰/۸۶۴	۰/۹۲۲
سیاه لری	۰/۱۸۶	۰/۲۲۷	۰/۱۵۶	۰/۰۰۰	۰/۸۱۰	۰/۸۱۳
نجدی	۰/۱۷۵	۰/۲۰۶	۰/۱۴۵	۰/۲۱۰	۰/۰۰۰	۰/۸۴۰
تالی	۰/۱۸۵	۰/۱۴۹	۰/۰۸۱	۰/۲۰۶	۰/۱۶۶	۰/۰۰۰

جدول ۲: شاخص تشابه بین جمعیتی و فواصل ژنتیکی در توده‌های بز بومی ایران با استفاده از باندهای چند شکل

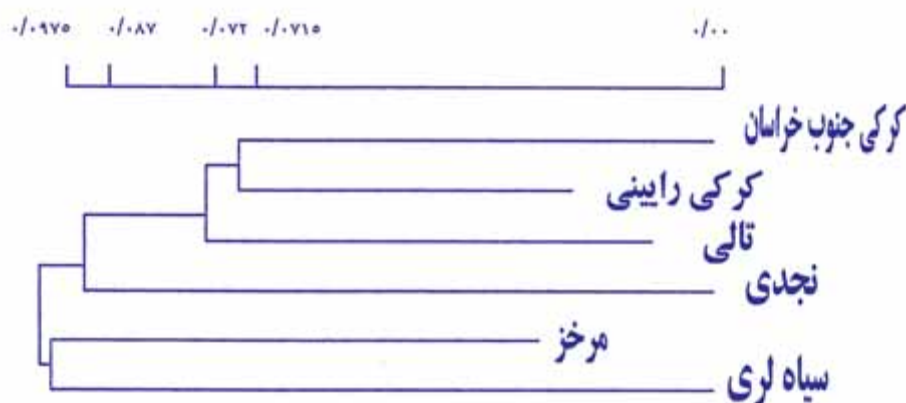
اعداد بالای قطر نشان دهنده شاخص تشابه بین جمعیتی و پایین قطر ماتریس نشان دهنده فواصل ژنتیکی بین توده می‌باشد.

استفاده از نشانگرهای RAPD بین ۰/۸۷ تا ۰/۹۸ متغیر بود (۱۵). پایین بودن تشابه بین جمعیتی در توده های بز بومی ایران احتمالاً به دلیل عدم وجود برنامه های اصلاحی و پرورش این توده ها با شرایط اقلیمی متفاوت قابل توجهی می باشد. درخت فیلوژنی ترسیم شده بر اساس روش Neighbor-Joining (۱۴)، توده های بز مورد مطالعه را در دو گروه قرار داد. گروه اول شامل توده های کرکی رائینی، تالی، کرکی جنوب خراسان و نجدی و گروه دوم شامل توده های سیاه لری و مرخز بودند (شکل ۱).

قرار گرفتن توده های مرخز و سیاه لری در یک خوشه احتمالاً به دلیل نزدیکی بودن محل پراکنش این دو توده (لرستان و کردستان)، قرار گرفتن هر دو توده در رشته کوههای زاگرس که دارای شرایط تقریباً یکسان آب و هوایی می باشند، توجه پذیر می باشد. همچنین توده های کرکی جنوب خراسان، کرکی رائینی و تالی به دلیل یکسان

به توده تالی به ترتیب، ۰/۲۸۶ و ۰/۳۴۳ می باشد (جدول-۱). یکنواختی ژنتیکی بالاتر در توده مرخز احتمالاً به دلیل پراکنش محدود این توده در استانهای کردستان و آذربایجان غربی بوده و اندازه جمعیت آن نسبت به توده های دیگر دارای کمترین تعداد است و لذا باید از این توده با ارزش حفاظت بیشتری به عمل آید. بالا بودن تنوع درون جمعیتی در توده تالی احتمالاً به دلیل سازگاری این توده با شرایط موجود در منطقه هرمزگان و تمایل دامداران به تلاقی این توده با بزهای بومی منطقه به دلیل اندام مناسب و تولید شیر زیاد، قابل توجه است. چرا که این توده در حدود ۴۰۰ سال پیش وارد هرمزگان شده و به دلیل داشتن صفات مطلوب مورد توجه دامداران منطقه قرار گرفته است. بر اساس باندهای چند شکل بیشترین فاصله ژنتیکی بین توده های سیاه لری و کرکی جنوب خراسان مشاهده شده که معادل ۰/۲۲۷ محاسبه گردید. همچنین کمترین فاصله ژنتیکی بین توده های تالی و کرکی رائینی مشاهده شده که معادل ۰/۰۸۱ برآورد گردید (جدول ۲).

با توجه به فاصله زیاد جغرافیائی بین توده کرکی جنوب خراسان و سیاه لری (لرستان) و متفاوت بودن شرایط محیطی پرورش این دو توده و اهداف تولیدی نسبتاً متفاوت (کرک و شیر در توده کرکی جنوب خراسان در مقابل گوشت شیر و مو در توده سیاه لری)، بیشترین فاصله ژنتیکی در بین این دو توده، تا حد زیادی قابل توجه است. پراکنش بزهای رائینی در استانهای کرمان، خراسان، یزد و هرمزگان و کوچ ایلات بافت کرمان به محل قشلاق خود در استان هرمزگان و بالطبع تلاقیهای صورت گرفته این توده با بزهای تالی باعث افزایش تشابه بین جمعیتی و کم شدن فاصله ژنتیکی این دو توده گردیده است. فواصل ژنتیکی



شکل ۱: درخت فیلوژنی ترسیم شده با استفاده از فراوانی باندهای چند شکل به روش Neighbor - Joining

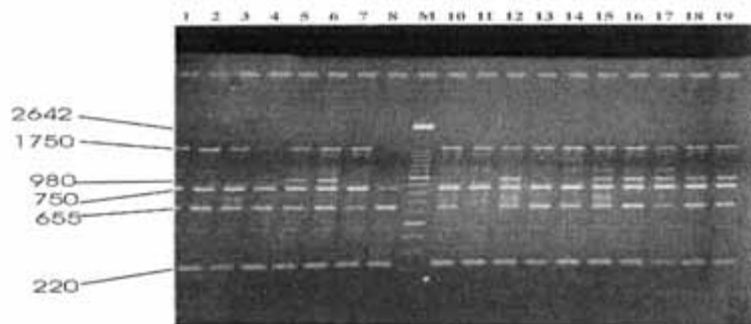
بودن شرایط آب و هوایی در محل پراکنش هر سه توده (مناطق خشک و کویری) و نزدیکی بودن محل پراکنش این توده ها (جنوب خراسان، کرمان و هرمزگان) در یک خوشه قرار گرفتند. توده نجدی فاصله ژنتیکی بیشتری با سه توده کرکی جنوب خراسان، کرکی رائینی و تالی نشان می دهد و می توان این توده را در یک گروه مجزایی قرار داد. ولی تشابه بیشتر توده نجدی با سه توده مذکور نسبت به توده سیاه لری، باوجود همجوار بودن استانهای خوزستان و لرستان احتمالاً به دلیل شرایط اقلیمی کاملاً متفاوت این دو استان و تحمل زیاد توده نجدی در مقابل گرما می باشد.

پاورقی ها

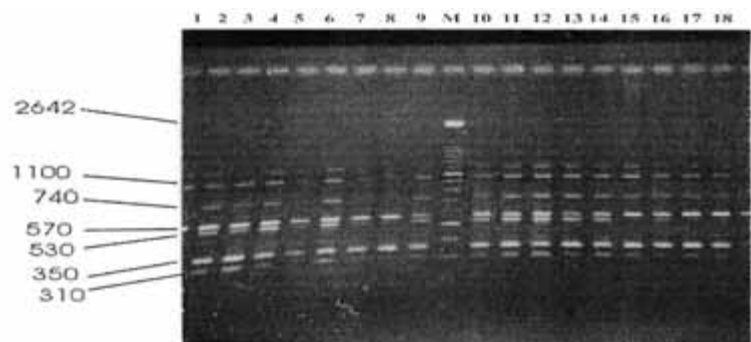
- 1- Band Sharing Frequency
- 2- Index of the Uniformity (U)

محاسبه شده در این تحقیق تا حدی با فواصل ژنتیکی در بین نژادهای بز چین با استفاده از نشانگرهای ریز ماهواره مطابقت داشت. بیشترین و کمترین فاصله ژنتیکی در بزهای چین به ترتیب ۰/۳۳ تا ۰/۰۸۷ تخمین زده شد (۱۹). همچنین تشابه بین جمعیتی برآورد شده در این تحقیق (۰/۷۹۶ تا ۰/۹۲۲)، تا حدی با نتایج Kantanen و همکاران (۶) همخوانی دارد. آنها تشابه بین جمعیتی را در چهار نژاد بومی گاو و دو نژاد گوسفند فنلاند، با استفاده از نشانگرهای RAPD ۰/۸۷ تا ۰/۸۹ برآورد کردند. در مطالعه ای که توسط Mommens و همکاران (۱۰) بر اساس نشانگرهای ریز ماهواره در یک نژاد گاو آفریقایی و پنج نژاد اروپایی (*B. tauruse*) انجام گرفت، بیشترین و کمترین فاصله ژنتیکی به ترتیب ۰/۳۰۷ و ۰/۰۴۷ برآورد گردید. این نتایج تا حد زیادی با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. تشابه بین نژادی در چهار نژاد اصلاح شده مرغ با

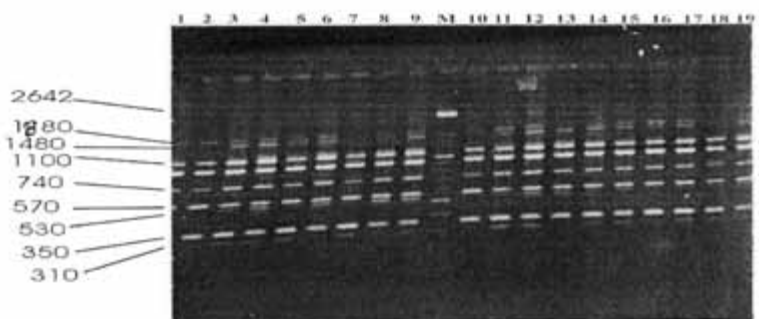
شکل ۲: الگوی قطعات تکثیر شده آغازگر RAP۲ در افراد مختلف توده مرخز (MR) MRI تا MR19 افراد مختلف این توده می باشد. قطعه ۹۸۰ جفت بازی، در افراد مختلف این توده ، چندشکلی نشان می دهد. (M: سایز مارکر ۱۰۰bp)



شکل ۳: الگوی قطعات تکثیر شده آغازگر RAP۱۵ در افراد مختلف توده نجدی (ND) ND1 تا ND18 افراد مختلف این توده می باشند. قطعه ۵۳۰ جفت بازی در افراد مختلف این توده ، چندشکلی نشان می دهد. (M: سایز مارکر ۱۰۰bp)



شکل ۴: الگوی قطعات تکثیر شده آغازگر RAP۱۵ در افراد مختلف توده تالی (TL) TL1 تا TL19 افراد مختلف این توده می باشند. قطعات ۱۸۸۰ ، ۱۴۸۰ و ۵۳۰ جفت بازی در افراد مختلف چندشکلی نشان می دهند. (M: سایز مارکر ۱۰۰bp)



Naturalists, 106: 83 - 291.

13- Notter, D. R., 1998; The importance of diversity in livestock populations of the future. *Journal of Animal Science*, 77: 61-69.

14- Saitou N. & Nei M. 1987; The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution* 4, 406-425.

15- Smith, E. J., Jones, C. P., Bartlett, J., and Nestor, K. E. 1996; Use of Random Amplified polymorphic DNA marker for the genetic analysis of relatedness and diversity in chickens and Turkeys. *Poultry Science*, 75: 579-584.

16- Takezaki N. 2000; POPTREE: Population tree construction. University of advanced studies. Hayama, Kanagawa, Japan.

17- Waugh, R. and Powell, W. 1992; Using RAPD markers for crop improvement. *Tibtech*, 10: 186-191.

18- Williams, J. G. K., Kubelik, A. R., Livak, K. J., Rafalski J. A. and Tingey S. V. 1990; DNA Polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers, *Nucleic Acids Research*, 18: 6531- 6535.

19- Yang, L., Zhao, S. H., Li: K., Peng, Z. Z. and Montgomery, G. W. 1999; Determination of genetic relationships among five indigenous Chinese goat breeds with six microsatellite markers. *Animal Genetics*, 30: 452-455.

20- Yeh F.C., Yang R. and Boyle T. 1999; POPGENE. Version 1.31. Microsoft- Window-based Freeware for Population Genetic Analysis, University of Alberta. Edmonton, AB, Canada.



3- Between Population Genetic Similarity (BGS)

4- Genetic Distance (D)

منابع مورد استفاده

۱- آزادی، س. ۱۳۸۷. بررسی تنوع ژنتیکی در پنج نژاد گوسفند ایران با استفاده از مارکر RAPD. پایان نامه کارشناسی ارشد علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، ۱۲۵ ص.

2- Barker J.S.F. 1994; A global protocol for determining genetic distances among domestic livestock breeds. *Proceedings of the 5th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*. University of Guelph, Guelph Canada, ON 21: 501 - 508.

3- Byung, W. C. & Y. H. 1994; Development of RAPD marker specific for Korean cattle (HANWOO). *Korean Journal of Animal Science*. 36: 206-270.

4- Frankham, R., 1994; Conservation of genetic diversity for animals 5th world Congress on Genetics Applied to Livestock Production. 21: 385 - 392. University of Guelph, Guelph, Ontario, Canada.

5- Gwakisa, P. S., Kemp, S. J. and Teal, A. J. 1994; Characterization of Zebu cattle breeds in Tanzania Using Random Amplified Polymorphic DNA markers. *Animal Genetics*, 25: 89- 94.

6- Kantanen, J., Vilkki, J., Elo, K. and Tanila, A. M. 1995; Random Amplified polymorphic DNA in cattle and sheep: Application for detecting genetic variation. *Animal Genetics*, 26: 315-320.

7- Kuhnelein, U., Dawe, Y., Zadworny, D. and Gavora, J. S. 1989; DNA fingerprinting: A tool for determining genetic distances between strains of poultry. *Theoretical Applied Genetic*, 77: 662-672.

8- Lynch, M. 1990; The similarity index and DNA fingerprinting. *Molecular Biology Evolution*, 7: 478-484.

9- Miller, S.A., Dykes, D. D. and Polesky, H. F. 1988; A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acid Research*, 16: 1215.

10- Mommens, G., Peelman, L. J., Zeveren, A., Dieteren, G. and Wissocq, N. 1999; Microsatellite variation between an African and five European taurine breeds results in geographical phylogenetic tree with a bison outgroup. *Journal of Animal Breeding and Genetic*, 116: 325- 330.

11- Nagamine, Y. & Higuchi, M. 2001; Genetic distance and classification of domestic animals using genetic markers. *Journal of Animal Breeding and Genetic*, 118: 101 -109.

12- Nei, M., 1972; Genetic distance between population. *American*