

استعمال تقنية التتابعات الدقيقة (STR) في قياس التنوع الحيوي للجاموس العراقي

اسعد يحيى عايد وطالب احمد جايد وفالح حسن حمد

قسم الانتاج الحيواني، كلية الزراعة، جامعة البصرة، العراق

المستخلص: اجريت الدراسة الحالية في مختبر د. طالب احمد جايد للوراثة الجزيئية، كلية الزراعة، جامعة البصرة، بعد جمع عينات الدم من الجاموس العراقي في محافظة البصرة وذي قار وميسان والنجف الاشرف بواقع 30 عينة لمحافظة البصرة و25 عينة لكل محافظة من المحافظات الباقية ليصل مجموع العينات الى 105 عينة. تهدف الدراسة الى دراسة التنوع الوراثي للجاموس من خلال تقنية التتابعات الدقيقة DNA. استخدم في هذه الدراسة ثلاثة بادئات جزيئية ILSTS005, ILSTS029, ILSTS072. يمكن تلخيص نتائج الدراسة الحالية كما يأتي: حصل تضخم لبادئات تقنية التتابعات الدقيقة ILSTS005 و ILSTS029 و ILSTS072 لعينات الجاموس في جميع مناطق الدراسة. وبلغ عدد الاليلات المشاهد الكلي 21 و 22 و 21 اليل للبادئات على التوالي، بمجموع قدره 64 اليل ومتوسط يساوي 21 اليل. كان معدل تكرار الاليلات بين 0.02 و 0.32 لكل البادئات في جميع مناطق الدراسة. اذ كانت معظم الاليلات نادرة اي ذات تكرار اقل من 0.05. بلغ عدد الاليلات المشتركة بين البصرة وذي قار 25 اليل والبصرة وميسان 27 اليل والبصرة والنجف 30 اليل وميسان وذي قار 22 اليل وذي قار والنجف 33 اليل وميسان والنجف 33 اليل. بلغ متوسط تكرار الاليل الخاص في العشرة المدروسة 0.048 وكان معدل التدفق الجيني بعد التصحيح لحجم العينة المدروسة في كل محافظة 2.25 اليل. وبلغ مدى تكرار الاليل المفقود لمناطق الدراسة 0.000-0.099. تراوحت نسب الخط الاليلي من 80-100%، بينما بلغت نسب التراكيب الوراثية المتماثلة 0-20%. كانت جميع قيم معامل التربية الداخلية Fis للبادئات المدروسة في مناطق الدراسة قيما معنويا عدا البادئ ILSTS072 في محافظة ذي قار التي لم تكن معنوية مما يدل عن عدم وجود تربية داخلية في مختلف المناطق. ولم يلاحظ نقص معنوي في التباين الوراثي نتيجة انعدام التربية الداخلية.

الكلمات المفتاحية: الجاموس العراقي، البادئات الجزيئية، التباين الوراثي، التتابعات الدقيقة DNA.

المقدمة

الممكن التعرف ودراسة التراكيب الوراثية خلال واسمات محددة تسمى الواسمات الجزيئية Zhang *et al.* (12) وان الكشف يتم بتقنية التتابعات الدقيقة، (STR - Short Tandem Repet). لدراسة وراثية العشائر بصورة واسعة لجميع الافراد والانواع الحيوانية لاسيما في الجاموس (13). ان الحيوانات هي ناتج من الانتخاب والتحسين لفترات طويلة منذ تدجينها من قبل الانسان والعملية مستمرة للتوصل الى افضل التراكيب الوراثية التي تنتج كميات عالية من المنتجات *et* Giacomoni

يمثل الجاموس في العراق جزءا مهما من الثروة الحيوانية التي تقدر اعداده ب 285537 حيوان (1). ويمثل مصدرا اقتصاديا مهما جدا للمربين في معظم انحاء العراق لاسيما في المناطق التي ينتشر فيها مثل محافظة البصرة، ذي قار، ميسان، الفرات الاوسط وبغداد حتى الموصل. كما للتحسين الوراثي لهذا الحيوان مردود ايجابي ينعكس على تحسن الانتاج الحيواني لاسيما الاداء التناسلي ونوعية اللحوم والحليب اضافة الى مقاومة الامراض والطفيليات الداخلية والخارجية (5). اصبح من

الكشف عن الحامض النووي الرايبوزي منقوص
الايوكسجين (DNA)

قبل اجراء عملية الكشف عن DNA يجب اجراء
بعض العمليات قبل البدء بعملية الكشف وهي
كالآتي:

تحضير هلام الاكاروز

بعد تحضير الحوض الخاص بهلام الترحيل وغسله
وربط المشط في أحد الاطراف ووضع الريلات على
حافتي الحوض يتم الترحيل على هلام الاكاروز
بتركيز 1 % أي اذابة 0.2 غم من مادة الاكاروز
في 25 مل من محلول 10X TBE ووضعها في
بيكر ثم تسخينها بواسطة المايكروويف لمدة 3
دقائق لحين الحصول على اللون الرائق للمزيج وبعد
ذلك يتم اضافة كمية 1 مايكروليتر من صبغة
Ethidium bromide مع مراعاة رج البيكر
بصورة جيدة لتجانس الصبغة مع المزيج بعدها
يصب الهلام في حوض الترحيل ويترك لغرض
التصلب (11).

الترحيل الكهربائي للكشف عن جينوم الجاموس

العرقي Electrophoresis

للتعرف على نواتج عملية استخلاص DNA
استعملت تقنية الترحيل الكهربائي على هلام
الايكاروز (Agarose gel) إذ غمر حوض هلام
الترحيل في الحوض الرئيسي المحتوي على محلول
الترحيل 10X TBE بعد تصلب الهلام يتم مزج 5
مايكروليتر من ناتج DNA مع 3 مايكروليتر من
صبغة Bromophenol blue ثم يحقن المزيج
في الحفر وبعد انتهاء عملية الحقن يربط الاقطاب
الى جهاز القدرة Power Supply وتثبت قوة
التيار الكهربائي على 80 فولت و 65 ملي امبير
وترك الهلام لحين سريان صبغة Bromophenol
blue من الحفر الى الجانب الآخر وبعد انتهاء
عملية الترحيل تم فحص الهلام في جهاز UV

(6) a. لم يحظى الجاموس بصورة خاصة
والانواع الحيوانية الاخرى في العراق اهتمام كبيراً
كما انها تفتقر الى استخدام السجلات مما يصعب
عملية التحسين الوراثي وتمييز التراكيب الوراثية
واقترنت الدراسات من هذا الجانب والتي
استخدمت الجاموس العراقي على Salih and
Majeed (8) و Jaayid and Dragh (7)
لذا تهدف الدراسة الحالية الى تحديد التراكيب
الوراثية للجاموس العراقي في مناطق مختلفة
باستخدام تقنية PCR-STR ودراسة التباين
الوراثي في المناطق المختلفة في العراق.

المواد وطرائق العمل

اجريت هذه الدراسة في مختبر الدكتور طالب احمد
جايد، كلية الزراعة، جامعة البصرة. جمعت عينات
الدم عشوائياً من الجاموس من مناطق مختلفة
(المجازر الرسمية) من العراق لا توجد بينهم قرابة.
وكان عدد كل من عينات محافظة ميسان والنجف
وذي قار 25 عينة في حين كان عدد عينات
محافظة البصرة 30 عينة.

جمع عينات الدم جمعت عينات الدم بواقع
عينة لكل حيوان وقد روعي في جمع عينات الدم
العناية الكافية لتجنب اي تلوث، لان التلوث يسبب
فشل الحصول على نماذج واضحة وبمقدار 5 مل
لكل عينة باستعمال محقنة طبية سعة 10 مل.
وضعت نماذج الدم في انايب مفرغة من الهواء
تحتوي على مادة مانعة لتخثر الدم Ethylene
Diamine Tetra Acetic Acid EDTA
حفظت مجموعة نماذج الدم بدرجة حرارة - 4 م
لحين اجراء عملية استخلاص DNA.

استخلاص الحامض النووي الرايبوزي منقوص
الايوكسجين (DNA) من الدم.

استخلص DNA من عينات دم الجاموس باستعمال
عدة التشخيص المجهزة من شركة Invitrogen
الامريكية و حسب تعليمات الشركة المصنعة.

bromide ثم تثبت قوة التيار الكهربائي على 85 فولت و 65 ملي امبير لمدة 30 دقيقة، وبعد انتهاء الترحيل يتم فحص الهلام بجهاز UV ليتم معرفة عدد الحزم في الهلام.

تحديد التراكيب الوراثية

استخدمت طريقة (SSCP) لتحديد التراكيب الوراثية لمواقع التتابعات الدقيقة وطبقت الطريقة على ناتج التضخيم حسب (2) Albedran و (4) Barzehkar *et al.* تحضير محلول الدنترة (الحجم الكلي: 25 مل) وكالتالي:

أولاً: 27.75 مل من 99 % Formamide.

ثانياً: 1.25 مل من محلول صبغة 1% Xylene cyanol .

ثالثاً: 10 ملغم من صبغة Bromophenol blue. حضر هلام الاكريلاميد بتركيز 6% حسب طريقة (9) Salem.

النتائج والمناقشة

تضخيم البادئات الوراثية STR Microsatellites حصل تضخيم للبادئات (ILSTS072,ILSTS029,ILSTS005)

للعينات المدروسة في جميع مناطق الدراسة (الاشكال 1، 3، 5). اذ اظهرت نتائج تقنية الترحيل الكهربائي على هلام الاكاروز نجاح عملية تضخيم DNA واعطت حزمة واحدة لكل عينة مع وجود تباينات في احجام المقاطع الجينية الناتجة. فيما اظهرت تقنية الترحيل الكهربائي على هلام متعدد الاكريلاميد نجاح عملية تحليل الحزم بواسطة محلول الدنترة واعطت كل عينة حزمتين تمثل كل حزمة اليل (الاشكال 2،4،6).

لمشاهدة حزم DNA المتداخل مع صبغة Ethidium bromide.

التفاعل السلسلي للبوليميريز لتقنية STR

استعملت البادئات ILSTS072 ، ILSTS 029 و ILSTS005 وتم العمل تحت نفس الظروف الواردة في الفقرة اعلاه، حضرت المواد الخاصة بالتفاعل السلسلي للبوليميريز ووضعت في اناء يحتوي على قطع من الثلج لغرض حمايتها من الحرارة وتم العمل في مكان معقم ونظيف في كابينة خاصة بالـ PCR Cabinete والتي تحتوي على اشعة UV لتعقيم الماصات الدقيقة والأنابيب والنبات مع مراعاة ارتداء القفازات الطبية المعقمة عند العمل. حضر خليط تفاعل PCR في انبوية ابندورف سعة 100 مايكروليتر وكان التركيز النهائي للمكونات 25 مايكروليتر ثم وضعت الانابيب في جهاز الطرد المركزي الصغير (Spin) جدول (1).

تقنية الترحيل الكهربائي لمنتج PCR

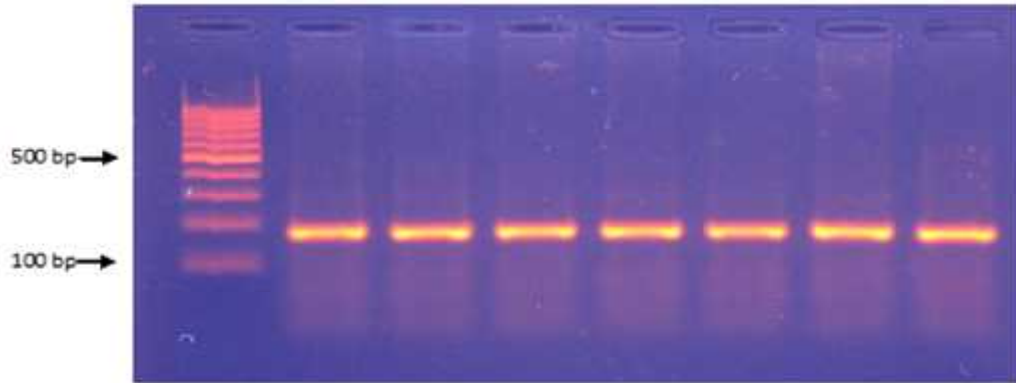
وضع في الحفرة الاولى والأخيرة مؤشر الوزن الجزيئي DNA Marker (100bp) وذلك بمزج 1.5 مايكروليتر من المؤشر الوزن الجزيئي مع 3.5 مايكروليتر من صبغة البروموفينول اما بقية الحفر فوضع بها منتج PCR وبمقدار 5 مايكروليتر ثم مرر منتج PCR على هلام الاكاروز بتركيز 2 % أي اذابة 0.5 غم من مادة الاكاروز في 25 مل من محلول 10X TBE مع اضافة 1 مايكروليتر من صبغة Ethidium

جدول (1): كميات المواد المستعملة في تقنية PCR- STR (مايكروليتر).

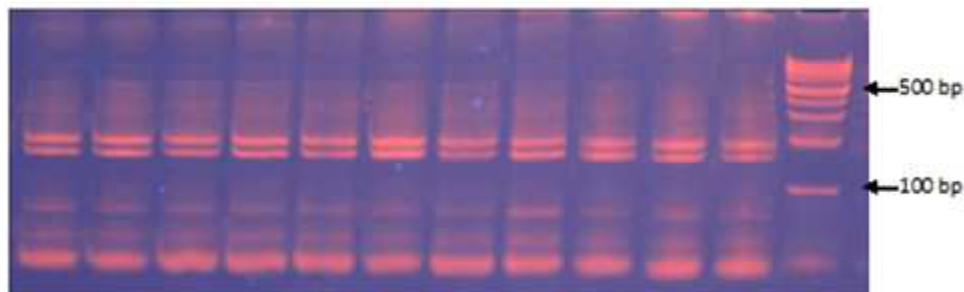
المادة الكيميائية	Master Mix	البادئ	قالب DNA	ماء مقطر	الحجم النهائي
الحجم	12.5	R-1 F-1	5	5.5	25

جدول (2) مكونات هلام الترحيل الكهربائي العمودي الخاصة بتقنية الكشف عن التراكيب الوراثية

المادة	متعدد الاكريلاميد	بز اكريلاميد	امونيوم بير سلفيت	ترس	كلايسين	تيمد(مايكروليتر)
الكمية (غرام)	29	1	10	1.5	7.5	40
يكمل الى 100 مل ماء مقطر						



شكل (1): منتج للبادئ ILSTS005 بصيغة الاثيديوم برومايد والمرحل بجهاز الترحيل الكهربائي الافقي بمادة الأكاروز 3%. لعينات الجاموس العراقي، مؤشر الوزن الجزيئي (100bp).



شكل (2): الترحيل الكهربائي بهلام متعدد الاكريلاميد 6% لنتائج البادئ ILSTS005.

جدول (3): تكرار الاليل للبادئ ILSTS005 في المحافظات المختلفة.

تكرار الاليل في العشيرة الكلية	المحافظة				الاليل
	النجف	ميسان	ذي قار	البصرة	
0.02	0.02	0.04	0.02	0.02	136
0.04	0.02	0.02	0.02	0.10	141
0.02	0.00	0.00	0.10	0.00	150
0.06	0.04	0.06	0.10	0.04	153
0.07	0.01	0.02	0.06	0.08	163
0.06	0.04	0.00	0.00	0.16	170
0.02	0.02	0.02	0.04	0.00	180
0.02	0.02	0.00	0.04	0.02	183
0.07	0.04	0.06	0.00	0.16	187
0.21	0.18	0.18	0.32	0.16	192
0.06	0.08	0.08	0.08	0.02	200
0.08	0.08	0.10	0.00	0.12	211
0.07	0.08	0.10	0.04	0.06	218
0.04	0.06	0.04	0.00	0.04	223
0.09	0.06	0.10	0.22	0.00	232
0.03	0.04	0.04	0.04	0.00	241
0.01	0.02	0.02	0.00	0.00	252
0.01	0.02	0.02	0.00	0.00	257
0.01	0.02	0.02	0.00	0.00	260
0.01	0.02	0.02	0.00	0.00	265
0.01	0.02	0.02	0.00	0.00	281

البادئ ILSTS005

بين البصرة وذي قار و10 اليلات بين البصرة وميسان و12 اليل بين البصرة والنجف و10 اليل بين ذي قار وميسان و11 اليل بين ذي قار والنجف و16 اليل بين ميسان والنجف. وجد اليل خاص لمحافظة ذي قار هو 150 بتكرار يساوي

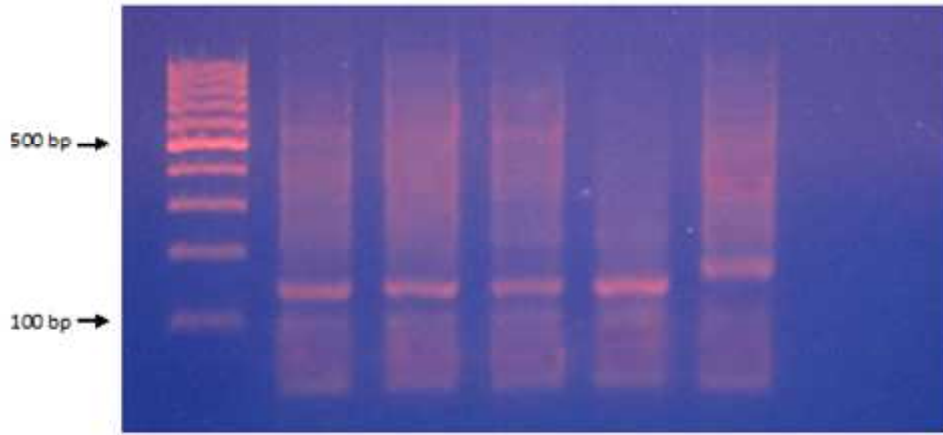
بلغ حجم هذا البادئ 136-281 زوج قاعدي وبعده 21 اليل بواقع 12 اليل في البصرة و12 اليل في ذي قار و18 اليل في ميسان و20 اليل في النجف (جدول، 3). كما بلغ مدى تكرار الاليلات 0.02-0.32. ووجد 8 اليلات مشتركة

يكن هناك اليل مشترك بين ذي قار وميسان، وظهر 10 اليلات بين ذي قار والنجف و 5 اليلات بين ميسان والنجف. وتراوح تكرار اليلات في العشيرة الكلية 0.005-0.140. فيما كان مدى التكرارات في البصرة 0.01-0.24 و ذي قار 0.04-0.24 و ميسان 0.02-0.28 والنجف 0.02-0.16. كان الاليلان 100 و 150 اليلان خاصة لمحافظة ميسان و 193 خاص لمحافظة البصرة ولا توجد اليلات خاصة لمحافظة ذي قار والنجف.

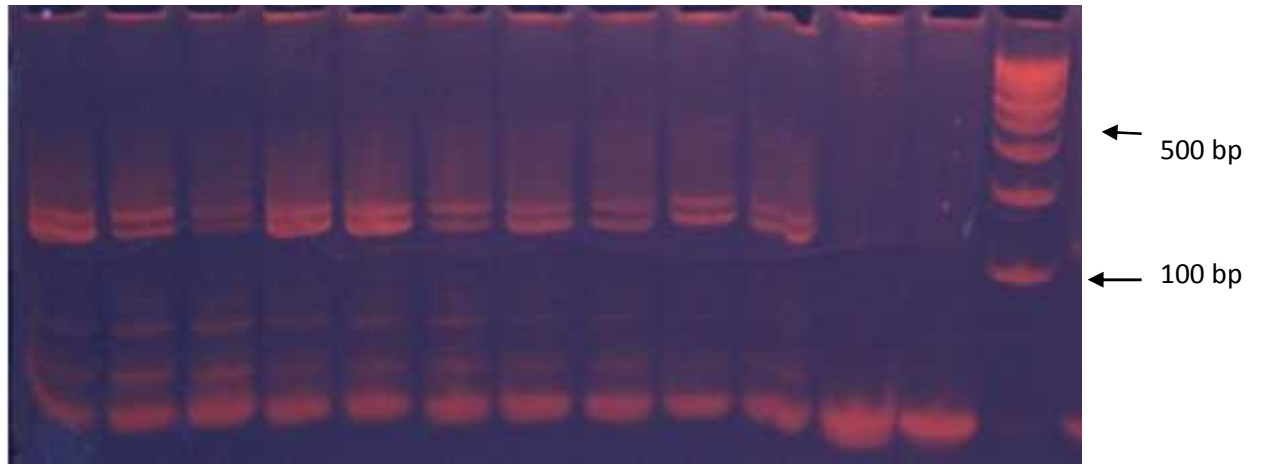
0.10، ولم يظهر اي اليل خاص لكل من المحافظات الاخرى.

البادئ ILSTS029

بلغ حجم البادئ 100-263 زوج قاعدي وبعدد اليلات يساوي 22 اليل توزعت بواقع 12 اليل في البصرة و 10 في ذي قار و 9 في ميسان و 17 في النجف (الجدول، 4). وبلغ مدى تكرار اليلاته 0.02-0.28. ووجد اربعة اليلات مشتركة بين كل من البصرة وذي قار. و 6 اليلات بين البصرة وميسان و 8 اليلات بين البصرة والنجف. فيما لم



شكل (3): منتج التضخيم للبادئ ILSTS029 بصيغة الاثديوم برومايد والمرحل بجهاز الترحيل الافقي بمادة الاكاروز 3%.



شكل (4): الترحيل الكهربائي بهلام متعدد الاكريلاميد 6% لنتائج البادئ ILSTS029.

جدول (4): تكرار الاليل للبادئ ILSTS029 في المحافظات المختلفة.

تكرار الاليل في العشيرة الكلية	المحافظة				الاليل
	النجف	ميسان	ذي قار	البصرة	
0.005	0.00	0.02	0.00	0.00	100
0.005	0.00	0.02	0.00	0.00	105
0.030	0.00	0.02	0.00	0.08	111
0.030	0.00	0.04	0.00	0.06	121
0.050	0.02	0.14	0.00	0.04	135
0.100	0.12	0.28	0.00	0.00	140
0.060	0.04	0.16	0.00	0.04	152
0.060	0.06	0.12	0.00	0.06	164
0.080	0.08	0.02	0.00	0.06	173
0.010	0.02	0.00	0.04	0.00	187
0.006	0.00	0.00	0.00	0.02	193
0.120	0.16	0.00	0.04	0.24	200
0.120	0.12	0.00	0.24	0.12	214
0.140	0.14	0.00	0.22	0.18	223
0.050	0.08	0.00	0.00	0.01	233
0.010	0.02	0.00	0.04	0.00	237
0.010	0.02	0.00	00.0	0.02	238
0.010	0.02	0.00	0.04	0.00	245
0.010	0.02	0.00	0.04	0.00	249
0.020	0.02	0.00	0.08	0.00	254
0.030	0.02	0.00	0.12	0.00	258
0.040	0.04	0.00	0.14	0.00	263

محافظة ميسان والنجف 13 اليل لكل منهما.
وكان مدى تكرار الاليلات في محافظة البصرة
0.02-0.22 وفي محافظة ذي قار 0.02-
0.16 وفي محافظة ميسان 0.04-0.32 وفي
محافظة النجف 0.02-0.26. تميزت ذي قار

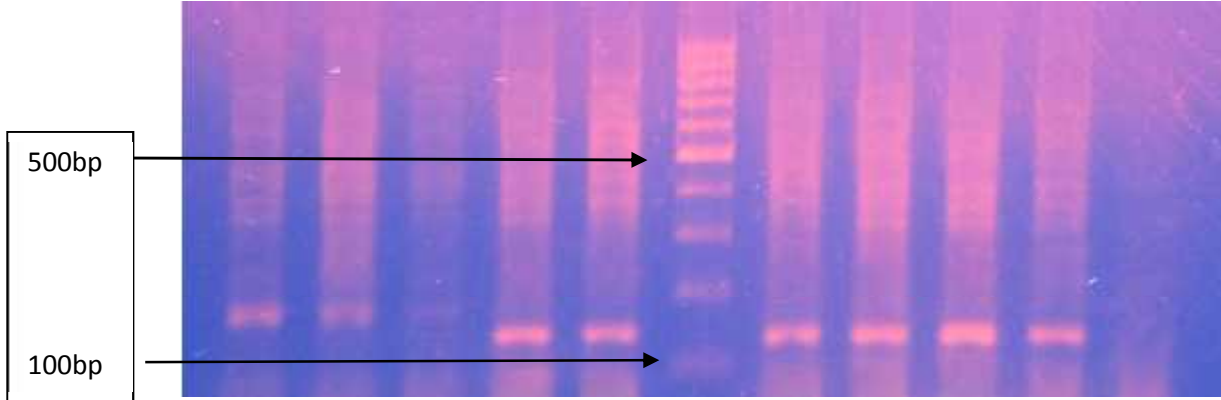
البادئ ILSTS072
بلغ حجم هذا البادئ 100-300 زوج قاعدي بعدد
اليلات يساوي 20 ليل ويتكرر يتراوح 0.02-
0.32 (جدول، 5). كان عدد الاليلات لمحافظة
البصرة 15 اليل ومحافظة ذي قار 18 اليل و

مجلة البصرة للعلوم الزراعية، المجلد 29 (2)، 380 – 390، 2016

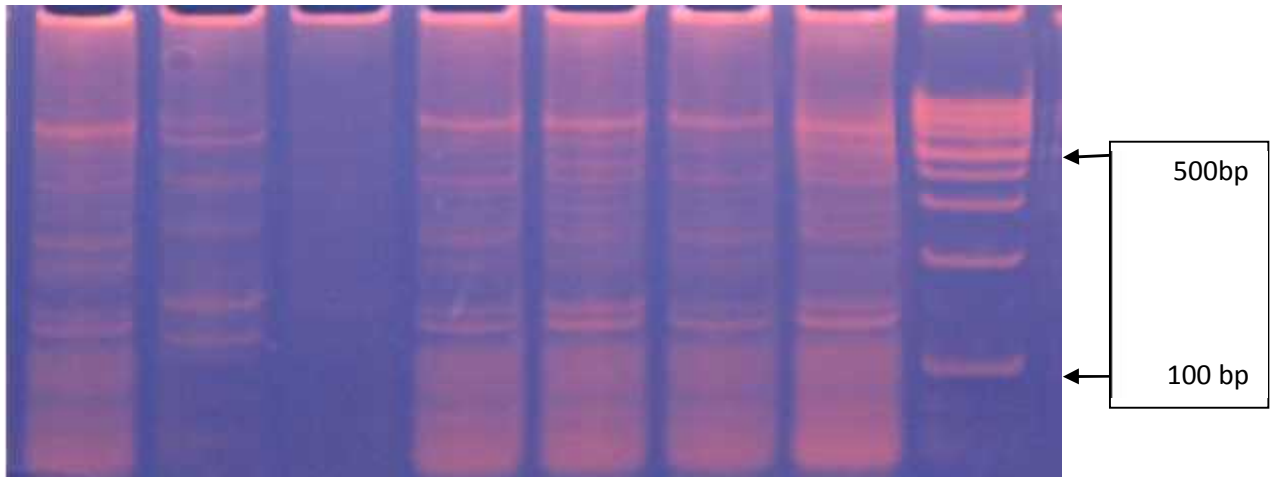
0.04 و 0.08 في محافظة البصرة وذي قار وميسان على التوالي.

بلغ عدد الاليات المشتركة بين البصرة وذي قار 13 اليلا و البصرة وميسان 11 اليل والبصرة والنجف 10 اليلات. فيما كان عدد الاليات المشتركة بين ذي قار وميسان 12 اليل و ذي قار والنجف 12 اليل، وميسان والنجف 12 اليل.

بوجود اليلين خاصين هما 287 و 300 زوج قاعدي بتكرار 0.02 و 0.04 على التوالي. واطهر الاليل 190 اعلى تكرار في محافظة ميسان والذي بلغ 0.32 بينما كان تكراره صفر و 0.08 و 0.10 في محافظة النجف وذي قار والبصرة على التوالي. بينما اظهر الاليل 152 اعلى تكرارا في محافظة النجف (0.26)، فيما كان تكراره 0.12 و



شكل (5): منتج التضخيم للبادئ ILSTS072 بصيغة الاثيديوم برومايد والمرحل بجهاز الترحيل الكهربائي الافقي بمادة الاكاروز 3%.



شكل (6): الترحيل الكهربائي بمادة متعدد الاكريلاميد 6% لنتائج البادئ ILSTS072.

جدول (5): تكرار الاليل للبادئ ILSTS072 في المحافظات المختلفة.

تكرار الاليل في العشيرة الكلية	المحافظة				الاليل
	النجف	ميسان	ذي قار	البصرة	
0.05	0.00	0.00	0.04	0.14	100
0.03	0.08	0.00	0.06	0.00	124
0.05	0.08	0.04	0.06	0.02	137
0.01	0.02	0.00	0.00	0.02	148
0.12	0.26	0.08	0.04	0.12	152
0.08	0.08	0.04	0.04	0.14	160
0.11	0.18	0.06	0.02	0.18	172
0.15	0.14	0.06	0.16	0.22	183
0.12	0.00	0.32	0.08	0.10	190
0.04	0.02	0.04	0.02	0.08	200
0.08	0.02	0.04	0.14	0.12	215
0.09	0.12	0.22	0.04	0.00	225
0.07	0.14	0.08	0.08	0.00	232
0.06	0.18	0.04	0.00	0.04	236
0.10	0.22	0.06	0.06	0.08	240
0.03	0.00	0.06	0.02	0.04	248
0.03	0.00	0.00	0.04	0.06	257
0.02	0.00	0.00	0.02	0.06	277
0.01	0.00	0.00	0.02	0.00	287
0.01	0.00	0.00	0.04	0.00	300

كما تفوقت الدراسة الحالية على دراسة Soysal *et al.* (10) الذين استخدموا 11 بادئ (تتابعات دقيقة) لدراسة التباين الوراثي في جاموس الاناضول التركي، اظهر اربعة منها تشكل وراثي فقط وتباين عدد الاليلات لكل بادئ من 3 (ILSTS005) الى 9 (BM1818) بمتوسط قدره 6.75 اليل للبادئ..

تماثلت نتائج الدراسة الحالية مع نتائج Aminafshar *et al.* (3) الذين وجدوا ان الخلط الاليلي المشاهد لـ 15 بادئ في الجاموس الايراني يساوي 0.9، اذ ان البادئ الذي يظهر مثل هذه القيم مهما لقياس التباين الوراثي لذلك تعتبر البادئات في هذه الدراسة ملائمة لقياس التباين الوراثي.

الاستنتاجات

- horse breed assessed using microsatellite DNA marker Genetic. Mol. Res., 7(1): 261-270.
7. Jaayid, T.A. and Drag, M. A. (2013). Genetic diversity in buffalo population of Iraq using microsatellites marker. J. Agri. Sci. and Tech., 3: 297-301.
8. Salem, Z. G. (2005). Genetic variations in native cattle. M. Sc. Thesis. Al-Azhar University. Egypt. (Abs.).
9. Salih, K. J. and Majeed, M. H. (2012). Cytogenetic study of river and swamp buffalo (*Bubalus bubalus*) in Iraq. Int. J. Cur. Res., 4: 144-146.
10. Soysal, M.I.; Koban, E.; Ozkan, E.; Altunok, V.; Bulut, Z.; Nizamlioglu, M. and Togan, I (2005). Evolutionary relationship among three native and two crossbreed sheep breeds of Turkey: Preliminary results. Revue Méd. Vét., 156 (5): 289-293.
11. 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(22): 6531-6535.
12. Zhang, L.; Zhu, J.; Gu, S.; Sun, Q.; Zhou, G.; Fu, C.; Chen, L.; Li, D.; Liu, S. and Yang, Z. (2006). Genetic diversity of nine population of black goat (*Capra hircus*) in schuan P R China, Zool. Sci., 23: 229-234.
13. Zhang, Y.; Sun, D.; Yu, Y. and Zhang, Y. (2007). Genetic diversity and differentiation of Chinese domestic buffalo based on 30 microsatellite markers. Animal Genetics., 38: 6-17.
- السبب الرئيسي في ارتفاع التنوع الوراثي في الجاموس العراقي ارتفاع في عدد الاليلات للبادئات المدروسة في هذه التقنية على الرغم من انخفاض تكرار كل اليل. على الرغم من التباين الوراثي العالي لجميع البادئات المدروسة ظهر وجود تربية داخلية معنوية في محافظة البصرة للبادئ ILSTS 029 فقط غير ان اختبار النقص الحاصل في الخلط الاليلي لم يكن معنويا لجميع البادئات المدروسة.

المصادر

1. وزارة الزراعة (2014). احصائيات مديرية الزراعة.
2. Al-Badran, A. I. (2003) Studies on the molecular genetics of urinary bladder cancer. Ph.D. thesis, Faculty of Science, University of Panjab, Chandigarh, India. 126pp.
3. Aminafshar, C.; Amirinia, D. and VaezTorshizi, F. (2008). Genetic diversity in buffalo population of Guilan using microsatellite markers. Genet. J., 21: 60-65.
4. Barzehkar, R.; Salehi, A. and Mahjoubi, F. (2009). Polymorphisms of the ovine *leptin* gene and its association with growth and carcass traits in three Iranian sheep breeds. J. Biotechnology, 7(4): 241-246.
5. El-Nahas, S.; Abdel-Tawab, F.; Zahran, M.; Soussa, S.; Rashed, M. and Ali, S. (1998). Gene of river buffalo by somatic cell hybridization. Egypt. J. Genet. Cytol. mapping 27, 169-177.
6. Giacomoni, E H.; Femandez- Stolz, G. P. and Freitas, T. R.O. (2008). Genetic diversity in the pantaniro

**The Use of Microsatellite Technique in Measuring
Biodiversity of Iraqi Buffalo**

Asaad Y. Ayed, Talib A. Jaayid and Falih H. Hamad*

Department of Animal Production, College of Agriculture, University of Basrah, Iraq

*e-mail: falihhamad@yahoo.com

Abstract: The current study was conducted in the laboratory of Dr. Talib Ahmed Jaayid Molecular Genetic, College of Agriculture, University of Basrah. After collecting blood samples from the Iraqi buffalo in the provinces of Basrah (30 samples), DhiQar, Maysan and Najaf (25 samples each), bringing the total samples to 105 samples. The study aimed to study the genetic diversity of the Iraqi buffalo through microsatellite technique (PCR-STR). Primers of PCR-STR technique were ILSTS005, ILSTS029 and ILSTS072. After analyzing the results of the three technologies it can be summarized as follow: All STR markers (ILSTS005, ILSTS029 and ILSTS072) have been amplified in all buffalo samples of all studied areas. Observed allele numbers were 21, 22 and 21 alleles for markers respectively with a total of 63 alleles. The marker ILSTS005 gave highest number of observed alleles in Dhi-Qar (21), Najaf (20) and Maysan (17). Whereas, the marker ILSTS029 showed less number of observed alleles at Maysan province (9 alleles). Allele frequencies ranged from 0.02 to 0.32 for all markers and provinces. Shared alleles between Basra and Dhi-Qar, Basrah and Maysan, Basrah and Najaf, Dhi-Qar and Maysan, Dhi-Qar and Najaf, Maysan and Najaf were 25, 27, 30, 22, 33 and 33 alleles. Special allele mean frequency of studied population was 0.048. While gene flow after adjusted for sample size of each province was 2.25 alleles. Range of missing allele frequency for all studied areas was 0.000-0.099. Range of heterozygosity percent was 80-100%, whereas homozygosity % was 0-20%. All Fis values of studied markers in all provinces were significant except the marker STR072 in Dhi-Qar province which was no significant. This result reflected the absence of inbreeding in all areas and there was no significant deficiency in genetic variation.