

مطالعه فیلوژنتیک جمعیت گوسفند وحشی (*Ovis orientalis*)

در منطقه تنگ صیاد و کرای

- کاوان نیکدل : دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین- پیشوا
 - سیامک یوسفی سیاهکلودی*: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین- پیشوا
 - قباد عسگری جعفرآبادی: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین- پیشوا
- تاریخ دریافت: آذر ۱۳۸۸ تاریخ پذیرش: فروردین ۱۳۸۹

چکیده

در تحقیق حاضر مطالعه فیلوژنتیک جمعیت گوسفند وحشی تنگ صیاد (استان چهارمحال و بختیاری) و کرای (استان خوزستان) با استفاده از ۵ نشانگر ریزماهورهای (BM6444،MCM63،MCMA2،LSCV38،OARAE129) در سال ۱۳۸۸ به مدت یکسال انجام شد. واکنش‌های PCR برای تمامی ۵ نشانگر مورد مطالعه بخوبی انجام و هر نشانگر مورد بررسی قرار گرفت. در جمعیت گوسفند وحشی دو منطقه مورد مطالعه، نشانگرهای OARAE129، LSCV38، MCM63 انحراف بسیار معنی داری را از تعادل هاردی-واینبرگ نشان دادند و ۶۰ درصد جایگاه‌ها پلی مورف که شامل ۳ نشانگر LSCV38، MCM63، OARAE129 می‌باشد و ۲ نشانگر MCMA2، BM6444 مونومورف بودند. پایین بودن میانگین تعداد آلل به ازای هر جایگاه (۱/۶ آلل) نشاندهنده پایین بودن سطح تنوع ژنتیکی در گوسفندان وحشی مورد نظر می‌باشد. برای محاسبه فاصله ژنتیکی بین دو جمعیت گوسفند وحشی از شاخص Nie (۱۹۸۷ و ۱۹۷۲) استفاده گردید که براساس آن جمعیت گوسفند وحشی منطقه تنگ صیاد و کرای دارای تشابه ژنتیکی بالایی (۰/۹۶۱۵) و (۰/۹۷۷۱) و فاصله ژنتیکی پایینی (۰/۰۳۹۲) و (۰/۰۲۳۲) داشتند. بوجود سطح متوسط هتروزیگوسیت مشاهده شده نیز نشاندهنده خطری است که آینده و بقای این حیوان وحشی را تهدید می‌کند.

کلمات کلیدی: گوسفند وحشی، نشانگرهای ریزماهور، تنوع ژنتیکی، هتروزیگوسیتی، فاصله ژنتیکی

مقدمه

بنابراین بدون بهره‌گیری از ابزاری مانند تست‌های مولکولی مبتنی بر PCR و تست DNA امکان برآورد صحیح از شاخص‌های ژنتیک جمعیت وجود ندارد. در این میان برای مطالعات ژنتیک جمعیت نشانگرهای ریزماهوره بدلیل دارا بودن ویژگی‌های خاص نسبت به سایر نشانگرها مناسبتر هستند. تحقیق حاضر درصدد آن است تا اختلاف ژنتیکی احتمالی بین

با توجه به پیشرفت چشمگیر علم بیوتکنولوژی در سالهای اخیر و دقت بسیار بالای تکنیک‌های مولکولی مبنی بر تست DNA، تنوع زیستی و ژنتیکی در جمعیت‌های حیات وحش را بخوبی می‌توان بررسی و نتیجه‌گیری کرد. در حال حاضر محققین بخوبی از نشانگرهای مولکولی از قبیل RAPD، Microsatellite، RFLP و... در زمینه بررسی تنوع زیستی در گله‌های اهلی و وحشی استفاده می‌نمایند و به نتایج قابل توجهی نیز دست یافته‌اند.



درجه و ۱۷ دقیقه عرض شمالی واقع شده است. از نظر آب و هوایی به سه اقلیم خشک و سرد؛ نیمه خشک و سرد و نیمه مرطوب و سرد تقسیم می‌شود.

منطقه کرای

منطقه حفاظت شده کرای در ارتفاعات کوه سیاه واقع در شمال استان خوزستان در ۲۵ کیلومتری غرب شهرستان مسجد سلیمان و ۳۵ کیلومتری جنوب شرقی شهرستان شوشتر با طول جغرافیایی ۴۹ درجه تا ۴۹ درجه و ۲۳ دقیقه طول شرقی و عرض جغرافیایی ۳۱ درجه و ۳۵ دقیقه تا ۳۱ درجه و ۵۹ دقیقه عرض شمالی قرار دارد.

این منطقه حدود ۴۰ هزار هکتار وسعت دارد و منطقه‌ای کوهستانی و صعب‌العبور و دارای ناهمواری‌های فراوان است که این ناهمواری‌ها دنباله غربی سلسله جبال زاگرس می‌باشد. منطقه شکار ممنوع کرای با هدف احیا جمعیت حیات وحش و با توجه به پتانسیل‌ها و ارزش‌های آن به منطقه حفاظت شده کرای ارتقا یافت.

با توجه به اینکه امکان خون‌گیری یا اخذ بافت از گوسفند وحشی وجود نداشت، نمونه‌های مدفوع با هماهنگی بعمل آمده از طریق سازمان حفاظت محیط زیست و زیر نظر گرفتن گله‌های گوسفند وحشی مناطق مورد نظر به کمک کارشناسان و محیط‌بانان تهیه و جمع‌آوری گردید که تعداد ۱۱ نمونه مدفوع مورد قبول از نظر مربوط بودن به این گونه در منطقه تنگ صیاد و ۴ نمونه مدفوع در منطقه کرای جهت استخراج DNA جمع‌آوری و بلافاصله در تیوپ‌های مخصوص بوسیله الکل خالص فیکس و در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری و جهت استخراج DNA به آزمایشگاه ارسال شد. اجرای دستورالعمل مناسب جهت استخراج DNA از سلول‌های موجود واجد سرگین، حائز اهمیت ویژه‌ای است که در این پژوهش توسط خدرزاده و همکاران (۱۳۸۹) پروتکل مشخصی ابداع گردید که این پروتکل یک روش مناسب، کم هزینه و بدون نیاز به فنل بوده که جهت استخراج DNA از سرگین نشخوارکنندگان اهلی و وحشی دارای کارآمدی بالایی است. سپس با توجه به تحقیقات بعمل آمده و مطالعات مختلف، ۵ نشانگر از نشانگرهای ریز ماهواره‌ای موجود که دارای بالاترین میزان چند شکلی بودند انتخاب شدند. آغازگرهای این نشانگرها از شرکت متابیون کشور آلمان تهیه و مورد استفاده قرار گرفت که مشخصات آغازگرهای مورد استفاده در تکثیر نشانگرها در جدول ۱ آماده است.

گوسفند‌های وحشی مناطق تنگ صیاد و کرای و نیز روابط تکاملی را به کمک نشانگر ریزماهواره بررسی نماید.

هدف علمی از این تحقیق، بررسی فیلوژنتیک گوسفند‌های وحشی در مناطق تنگ صیاد و کرای و هدف کاربردی آن بررسی جمعیت گوسفند‌های وحشی همین مناطق از طریق ژنتیک مولکولی است.

Bancroft و همکاران (۱۹۹۵) چند شکلی پروتئینی و جایگاه‌های ریزماهواره‌ای را در جمعیتی از گوسفند Soay که در یک جزیره جدا افتاده و مدیریت نشده بود، بررسی نمودند. Arranz و همکاران (۱۹۹۸) ۵ نژاد گوسفند بومی اسپانیا که مرینو نیز در بین آنها بود را به همراه گوسفند آواسی (بعنوان نژاد مرجع) برای ۱۶ ریزماهواره ژنوتیپ‌یابی نمودند.

Peter و همکاران (۲۰۰۷) با استفاده از ۳۱ نشانگر ریزماهواره، ساختار جمعیتی و تنوع ژنتیکی ۵۷ نژاد اروپایی و خاورمیانه‌ای از ۱۵ کشور را مورد بررسی قرار دادند. Farid و همکاران (۱۹۹۸) تغییرپذیری ژنتیک در ۲۷۵ گوسفند از ۱۰ نژاد (۵ نژاد بریتانیایی، ۳ نژاد اروپایی شمالی، نژاد Red Masai و نژاد Texel) را با استفاده از ۱۰ جایگاه ریزماهواره‌ای ارزیابی نمودند. عصفوری (۱۳۷۱) تنوع موجود در ۱۰ توده ژنتیکی گوسفندان ایران را برای ۱۰ جایگاه نشانگرهای بیوشیمیایی چند شکل بررسی نمود.

مواد و روشها

منطقه تنگ صیاد

این منطقه در بخش شرقی شهرستان شهرکرد و بخش غربی شهرستان بروجن در استان چهارمحال و بختیاری واقع است. این منطقه دارای مساحتی به وسعت حدود ۲۷ هزار هکتار می‌باشد که حدود ۲۱۶۰۰ هکتار آن منطقه حفاظت شده و ۵۴۰۰ هکتار آن پارک ملی است. تنگ صیاد به واسطه دارا بودن تعداد زیادی تپه ماهور، زیستگاه مناسبی برای گونه قوچ و میش وحشی است. کوهستان‌های جنوبی منطقه دارای صخره‌های صعب‌العبور است که زیستگاه پلنگ و کل و بز با جمعیتی قابل توجه است. در سال ۱۳۷۴ بخشی از آن به پارک ملی تنگ صیاد تبدیل گردید و تنگ صیاد را به دو منطقه پارک ملی و منطقه حفاظت شده تقسیم کرد.

تنگ صیاد در موقعیت جغرافیایی ۵۰ درجه و ۵۹ دقیقه تا ۵۱ درجه و ۹ دقیقه طول شرقی و ۳۲ درجه و ۳ دقیقه تا ۳۲



جدول ۱: مشخصات آغازگرهای مورد استفاده در تکثیر نشانگرها

نام نشانگر	آغازگرها (۵' → ۳')	دمای اتصال (درجه سانتیگراد)	کد دسترسی ^۱
BM6444	F...5'CTCTGGGTACAACACTGAGTCC R...5'TAGAGAGTTTCCCTGTCCATCC	۵۵	G18444
MCM63	F...5'CCCAATTTGGCAACAGCTACG R...5'ATTGGCCTCTCTCTGATGCAC	۵۵	L37889
MCMA2	F...5'TCACCCAACAATCATGAAAC R...5'TTAAATCGAGTGTGAATGGG	۵۲	AF098773
LSCV38	F...5'GTTGCAAAGAGCTGGACGTG R...5'CTGGATGGCAAAGTGATTCAG	۵۴	G40990
OARAE129	F...5'AATCCAGTGTGTGAAAGACTAATCCAG R...5'GTAGATCAAGATATAGAATATTTTCAACACC	۵۲	L11051

1-<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>

پیدا نمود و خروج از تعادل هاردی-واینبرگ تأیید کننده آن است.

در مجموع جمعیت گوسفند وحشی دو منطقه تنگ صیاد و کرایبی ۶۰ درصد جایگاه‌ها پلی‌مورف بود که شامل ۳ نشانگر BM6444، LSCV38، MCM63، OARAE129 و ۲ نشانگر BM6444، MCMA2 مونومورف بود.

تعداد متوسط آلل به ازای هر نشانگر ۱/۶ آلل بود. بیشترین تعداد آلل مشاهده شده در نشانگرهای LSCV38، MCM63 و OARAE129 می‌باشد (۲ آلل) و کمترین تعداد مربوط به نشانگرهای BM6444 و MCMA2 (۱ آلل) است. در بین نشانگرها، بیشترین و کمترین تعداد آلل موثر بر ترتیب در کل دو جمعیت مربوط به MCM63 (۲ آلل) و BM6444 و MCMA2 دارای (۱ آلل) بودند.

سطح تنوع نشان داده شده توسط تعداد آللهای موجود برای هر جایگاه در این مطالعه را می‌توان بعنوان معیاری از تنوع ژنتیکی در نظر گرفت که اثر مستقیمی بر تمایز در داخل یک گونه دارد (۶). پایین بودن میانگین تعداد آلل به ازای هر جایگاه (۱/۶ آلل) نشاندهنده پایین بودن سطح تنوع ژنتیکی در گوسفندان وحشی مورد مطالعه می‌باشد.

بیشترین مقدار I (شاخص اطلاعات شانن) در بین نشانگرهای مورد مطالعه در کل، مربوط به نشانگر MCM63 (۰/۶۹۳۱) می‌باشد که با توجه به تعداد آلل بیشتر در این مورد (۲ آلل)، منطقی به نظر می‌رسد. کمترین مقدار نیز از آن نشانگرهای BM6444، MCMA2 (۰/۰۰) است که با توجه به کم بودن تعداد آللهای در این دو نشانگر (۱ آلل)، قابل توجیه است (جدول ۲).

پس از تکثیر نشانگرهای مورد مطالعه، به منظور مشاهده آللهای تکثیر شده از ژلهای پلی‌اکریل آمید ۸ درصد استفاده شد. پس از الکتروفورز برای نمایان‌سازی باندها از روش سریع رنگ‌آمیزی نقره استفاده گردید و تصویر ژل توسط دستگاه Gel-Doc XR تهیه (شکل ۱) و سپس با نرم‌افزار POPGENE نسخه ۱/۳۲ آنالیزهای مربوطه صورت گرفت.

نتایج

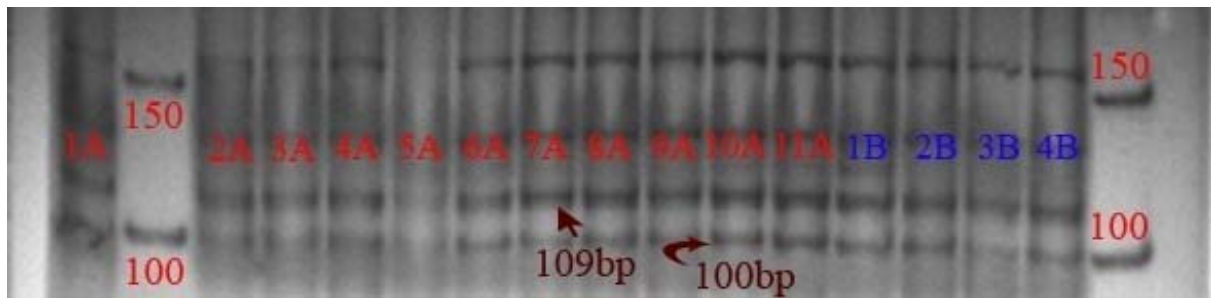
غلظت DNA استخراج شده حدود ۷۰ تا ۱۲۰ نانوگرم در میکرولیتر محاسبه شد. همچنین DNA عاری از آلودگی به RNA بود که نشان می‌دهد DNA استخراج شده از خلوص بالایی برخوردار است، البته نسبت ۲۶۰/۲۸۰ در نمونه‌های استخراج شده که در محدوده ۱/۸ تا ۲ قرار داشت این امر را تصدیق می‌کند.

واکنشهای PCR برای تمامی ۵ نشانگر مورد مطالعه بخوبی انجام شد و هر نشانگر مورد بررسی قرار گرفت و دامنه اندازه آللهای تکثیر شده در آنها با گزارش ثبت شده در سایت NCBI مطابقت داشت.

در کل جمعیت گوسفند وحشی دو منطقه تنگ صیاد و کرایبی، نشانگرهای MCM63، LSCV38، OARAE129 انحراف بسیار معنی‌داری را از تعادل هاردی-واینبرگ نشان دادند و دو نشانگر BM6444 و MCMA2 مورد مطالعه مونومورف بودند.

بزرگ بودن اندازه جمعیت یک شرط ضروری برای در تعادل قرار داشتن می‌باشد. لذا با توجه به اینکه اندازه دو جمعیت گوسفند وحشی مورد مطالعه کوچک و تعداد نمونه‌های اخذ شده اندک بود، تعداد هتروزیگوت‌ها نسبت به هموزیگوت‌ها افزایش





شکل ۱: الگوی باند برای نشانگر MCM63 (A) آللهای مربوط به جمعیت تنگ صیاد و (B) آللهای مربوط به جمعیت کرابی متوسط I برای تمام نشانگرها نیز پایین می‌باشد و حاکی از چند شکلی اندک این نشانگرهاست. هنگامی که I در سطح نشانگرها ارزیابی می‌گردد معیار مناسبی را نیز برای ارزیابی چند شکلی و میزان تغییرپذیری جایگاه‌های مورد مطالعه فراهم می‌نماید.

جدول ۲: تعداد آلل مشاهده شده (na)، تعداد آلل موثر (ne) و شاخص اطلاعات شانن (I) برای ۵ نشانگر همراه با میانگین و انحراف معیارهای مربوطه در کل جمعیت گوسفند وحشی دو منطقه تنگ صیاد و کرابی

شاخص اطلاعات شانن I	تعداد آلل موثر ne	تعداد آلل مشاهده شده na	نشانگر
.	۱	۱	BM6444
۰/۶۹۰۹	۱/۹۹۱۲	۲	LSCV38
۰/۶۹۳۱	۲	۲	MCM63
.	۱	۱۰	MCMA2
۰/۶۷۰۰	۱/۹۱۲۲	۲	OARAE129
۰/۴۱۰۸	۱/۵۸۰۷	۱/۶	میانگین
۰/۳۷۵۱	۰/۵۳۱۲	۰/۵۴۷۷	انحراف معیار

جدول ۳: تنوع ژنی مورد انتظار و مشاهده شده برای جایگاه‌های مختلف همراه با انحراف معیارهای مربوطه برای ۵ نشانگر همراه با میانگین و انحراف معیارهای مربوطه در کل جمعیت گوسفند وحشی دو منطقه تنگ صیاد و کرابی

متوسط هتروزیگوسیتی	هتروزیگوسیتی مورد انتظار	هتروزیگوسیتی مشاهده شده	نشانگر
ناریب نی (N-He)	(H _e)	(H _o)	
.	.	.	BM6444
۰/۴۹۷۹	۰/۵۱۴۹	۰/۹۳۳۳	LSCV38
۰/۵۰۰۰	۰/۵۱۷۲	۱	MCM63
.	.	.	MCMA2
۰/۳۵۹۴	۰/۴۹۴۷	۰/۷۸۵۷	OARAE129
۰/۲۷۱۵	۰/۳۰۵۴	۰/۵۴۳۸	میانگین
۰/۲۵۴۳	۰/۲۷۸۹	۰/۵۰۲۴	انحراف معیار

ژنتیکی پایینی (۰/۰۳۹۲) و (۰/۰۲۳۲) بودند، کم بودن فاصله ژنتیکی می‌تواند ناشی از نزدیک بودن مناطق پراکنش این دو جمعیت باشد.

برای محاسبه فاصله ژنتیکی بین دو جمعیت گوسفند وحشی از شاخص Nie (۱۹۷۲ و ۱۹۷۸) استفاده گردید. دو جمعیت گوسفند وحشی منطقه تنگ صیاد و کرابی براساس این سنجش دارای تشابه ژنتیکی بالایی (۰/۹۶۱۵) و (۰/۹۷۷۱) و فاصله

بحث

در این تحقیق ارزیابی کارآمدی ریزماهورها برای مطالعات ژنتیک جمعیتی روی جمعیت گوسفند وحشی مناطق تنگ صیاد و کرایبی صورت گرفته است. از طرف دیگر در این تحقیق نسبت به استخراج DNA از مدفوع اقدام گردید که جز محدود پروژیهایی بود که به این طریق از گوسفند وحشی استخراج DNA صورت گرفت و موفقیت آمیز بود.

Bancroft و همکاران (۱۹۹۵) چند شکلی پروتئینی و جایگاه‌های ریزماهورهای را در جمعیتی از گوسفند Soay که در یک جزیره جدا افتاده و مدیریت نشده بود، بررسی نمودند. این مطالعه میزان هتروزیگوسیتی پروتئینی این گوسفند را در قیاس با سایر گونه‌های پستاندار و سایر نژادهای گوسفند و با توجه به سابقه ژنتیکی این گوسفند مورد بحث قرار داده است. Airanz و همکاران (۱۹۹۸) ۵ نژاد گوسفند بومی اسپانیا که مرینو نیز در بین آنها بود، را به همراه گوسفند آواسی (بعنوان نژاد مرجع) برای ۱۶ ریزماهوره ژنوتیپ‌یابی نمودند. بیشترین تنوع ژنتیکی در گوسفند مرینو و کمترین در گوسفند آواسی بود. Peter و همکاران (۲۰۰۷) با استفاده از ۳۱ نشانگر ریزماهوره، ساختار جمعیتی و تنوع ژنتیکی ۵۷ نژاد اروپایی و خاورمیانه‌ای از ۱۵ کشور را مورد بررسی قرار دادند. میانگین هتروزیگوسیتی ناریب مورد انتظار در محدوده ۰/۶۳ در نژاد British Exmoor Hom تا ۰/۷۷ در نژاد Albanian Ruda قرار داشت. نژادهای گوسفندان شمال غرب اروپا و خاورمیانه نسبت به نژادهای شمال شرقی و غرب اروپا تنوع کمتری دارند. Farid و همکاران (۱۹۹۸) تغییرپذیری ژنتیک در ۲۷۵ گوسفند از ۱۰ نژاد (۵ نژاد بریتانیایی، ۳ نژاد اروپایی شمالی، نژاد Red Masai و نژاد Texel) را با استفاده از ۱۰ جایگاه ریزماهوره‌ای ارزیابی نمودند. نتایج نشان داد در نژادهایی که تحت انتخاب شدید قرار داشته‌اند، کاهش موثری در تغییرپذیری ژنتیکی وجود ندارد. تغییرپذیری ژنتیکی کم در نژاد Romanov احتمالاً بخاطر آن است که تعداد کمی از این دام به آمریکای شمالی وارد گردیده است. عصفوری (۱۳۷۱) تنوع موجود در ۱۰ توده ژنتیکی گوسفندان ایران را برای ۱۰ جایگاه نشانگرهای بیوشیمیایی چند شکل بررسی نمود. به هنگام بررسی همزمان تمام جایگاه‌ها، تفاوت معنی‌داری بین نژادها بدست آمد که حاکی از جدایی ژنتیکی آنها می‌باشد. با استفاده از فراوانی‌های ژنی، فواصل ژنتیکی بین نژادها برآورد و مورد بررسی قرار گرفت.

تعیین سطح پلی‌مورفیسم در جمعیت گوسفند وحشی مناطق مورد مطالعه به کمک نشانگرهای ریز ماهوره بخوبی انجام گرفت. به کمک سطح پلی‌مورفیسم موجود، سطح هموزیگوسیتی، هتروزیگوسیتی و تعداد آلل‌ها برآورد گردیدند. نتایج نشان دادند که

هتروزیگوسیتی مشاهده شده که شاخص خوبی برای وجود تنوع ژنتیکی می‌باشد، در گله گوسفند وحشی مناطق تنگ صیاد و کرایبی از سطح نسبتاً مناسبی برخوردار است ($H_o = 0/5438$). البته سطح هتروزیگوسیتی مورد انتظار به میزان ($H_e = 0/3054$) بدست آمد. وجود سطح متوسط هتروزیگوسیت مشاهده شده نشان‌دهنده خطری است که آینده و بقای این حیوان وحشی را تهدید می‌کند. این شاخص‌ها بخوبی نشان می‌دهند که تنوع ژنتیکی در این جمعیت در حال کاهش است.

منابع

- ۱- خدرزاده، ص.؛ یوسفی‌سیاهکلرودی، س. و منتظمی، ش.، ۱۳۸۹. ابداع مناسبترین پروتکل استخراج DNA ژنومی از سرگین در راستای مطالعات ژنتیکی گونه‌های وحشی و در خطر انقراض. یازدهمین کنگره ژنتیک ایران، ۱ الی ۳ خرداد ۱۳۸۹، دانشگاه شهید بهشتی، تهران.
- ۲- عصفوری، ر.، ۱۳۷۶. مارکرهای ژنتیکی در ده نژاد از گوسفندان بومی ایران. مجله پژوهش و سازندگی، شماره ۳۴، صفحات ۱۵۶ تا ۱۶۲.
- 3-Arranz, J.J., Bayon, Y. and Primitivo, F.S., 1998. Genetic relationships among Spanish sheep using microsatellites. *Anim. Genet.* 29:435-440.
- 4- Bancroft, D.R., Pemberton, J.M. and King, P., 1995. Extensive protein and microsatellite variability in an isolated, cyclic ungulate population. *Heredity*, 74:326-336.
- 5- Buchanan, F.C., Adams, L.J., Littlejohn, R.P., Maddox, J.F. and Crawford, A.M., 1994. Determination of evolutionary relationships among sheep breeds using microsatellites. *Genomics*, 22:397-403.
- 6-Farid, A., Almudevar, A., Dollard, C. and Reilly, E.O., 1998. Classification of crossbred animals using microsatellites. 6th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production. Armidale, NSW, Australia.
- 7-Peter, C., Bruford, M., Perez, T., Dalamitra, S., Hewitt, G., Erhardt, G. and The ECONOGENE Consortium, 2007. Genetic diversity and subdivision of 57 European and Middle-Eastern sheep breeds. *Anim. Genet.* 38:37-44.



A phylogenetic study of Tangsayad and Karayi wild sheep (*Ovis orientalis*) populations

- **Kavan Nikdel:** Islamic Azad University, Varamin–Pishva Branch
- **Siamak Yousefi *:** Islamic Azad University, Varamin–Pishva Branch
- **Qobad Asgari Jafarabadi:** Islamic Azad University, Varamin–Pishva Branch

Received: December 2009

Accepted: April 2010

Keywords: Wild sheep, Microsatellite markers, Genetic diversity, Heterozygosity, Genetic distance

Abstract

The phylogenetic study of Tangsayad and Kerayi wild sheep populations was conducted by using 5 microsatellite markers (BM6444, MCM63, MCMA2, LSCV38, and OARAE129). The PCR responses for all 5 markers were done truly and each marker was checked. The OARAE129, LSCV38, MCM63 markers showed a meaningful deviation from Hardy-Weinberg equilibrium in wild sheep populations, and 60% of Poly Morf locus which contains 3 LSCV38, MCM63, OARAE129 markers, and the two MCMA2 and BM6444 markers were Mono Morf. Low average of Allel for any locus (1.6 Allel) showed the low genetic diversity of wild sheep. Nie (1972, 1978) indicators were used to obtain the genetic distance between two wild sheep populations, which showed the high genetic similarity (0.9615) and (0.9771) and low genetic distance (0.0392) and (0.0232) in Tangsayad and Karayi wild sheep populations. Observing the average heterozygosity showed that life and the future of these animals are in danger.

