

"Research Paper"**Analysis of the Genetic and Phylogenetic Structure of the Mitochondrial Genome of Wild and Domestic Goat Species****Batol Asghari Esfeden¹, Alireza Khan Ahmadi², Gholam Reza Dashab³ and Elias Lotfi Farokhad⁴**1- PhD Graduated, Department of Animal Science, Zabol University, Zabol, Iran,
(Corresponding author: batol_asghari@yahoo.com)

2- Associate Professor, Department of Animal Science, Gonbad Kavos University, Gonbad Kavos, Iran

3- Assistant Professor, Department of Animal Science, Zabol University, Zabol, Iran

4- PhD student, Department of Animal Science, Gorgan Faculty of Agriculture, Gorgan, Iran

Received: 20 April, 2023 Accepted: 31 July, 2023

Extended Abstract

Introduction and Objectives: DNA Mitochondria is one of the most commonly molecular markers for phylogenetic studies in animals due to its simple genome structure, which presents an ideal model to study evolution and genetic similarity. The aim of the present study was to investigate the divergence and percentage of genetic similarity along with the phylogenetic analysis of the eight species of wild and domestic goat based on the complete sequence of the mitochondrial genome and the separate sequences of 13 protein-coding genes for each genome.

Material and Methods: In the present study, complete mitochondrial genome sequences along with separate sequences of 13 protein-coding genes per each genome from seven wild species of goat including Markhor (*C. falcoeris*), *Capra ibex*, *Capra nubiana*, *Capra pyrenaica*, *Capra sibirica*, *Capra caucasica*, *Capra aegagrus*, and domesticated species of goat (*Capra hircus*) were retrieved from NCBI database and compared to each other. Mitochondrial genomes and genes alignment were accomplished by the MegAlign module of DNASTAR software and compared by the Clustal W method. The Sequence distances sub-section of the MegAlign module of DNASTAR also was used for the analysis of complete genome and gene sequences divergence and similarity percentage. For phylogenetic analysis, complete mitochondrial genomes and protein-coding genes' sequences were aligned using MEGA7 software.

Results: Based on the analysis, it was found that the highest similarity between the nucleotide sequences of the complete genome (99.50) of domestic goat (*Capra hircus*) and wild *Capra aegagrus* goat and the lowest percentage of similarity (93.79) between the nucleotide sequences of the complete genome of the breed *Capra nubiana* with wild goat *Capra sibirica* goat. Also, based on the results of the phylogenetic tree, it was found that domestic goat breeds (*Capra hircus*) and wild *Capra aegagrus* goat are divided into one group and wild *Capra ibex* and *Capra pyrenaica* breeds are divided into another distinct cluster.

Conclusion: In this study, all the results obtained from complete sequences of the mitochondrial genome analysis are consistent with the results obtained from the sequence of 13 protein coding genes per each genome, which indicates the correct clustering of wild and domestic goat breeds. Therefore, mitochondrial genome sequences could be used as a suitable genetic marker for accurate phylogenetic analysis and clustering of different species of goat.

Keywords: Genetic diversity, Goat, Mitochondrial genome, Phylogenetic analysis, Sequencing



"مقاله پژوهشی"

تجزیه و تحلیل ساختار ژنتیکی و فیلوژنتیکی ژنوم میتوکندریایی گونه های وحشی و اهلی بز

بتول اصغری اسفدن^۱, علیرضا خان احمدی^۲, غلامرضا داشاب^۳ و الیاس لطفی فرخد^۴

(batol_asghari@yahoo.com)

- استادیار گروه علوم دامی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران

- دانشگاه گروه علوم دامی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

- دانشجوی دکتری گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی گرگان، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱/۳۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۵/۹

صفحه: ۱۲۰ تا ۱۱۰

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: DNA میتوکندریایی یکی از پرکاربردترین نشانگرهای مولکولی برای مطالعات فیلوژنتیک در حیوانات به علت ساختار ساده ژنوم آن است که یک مدل ایده‌آل برای مطالعه تکامل و شباهت ژنتیکی ارائه می‌دهد. هدف از مطالعه حاضر، شناسایی شباهت‌ها و تفاوت‌های ژنتیکی و فیلوژنتیکی با استفاده از توالی کامل ژنوم میتوکندریایی به همراه توالی‌های جدآگانه^{۱۳} ژن رمزگر پروتئین بهطور جداگانه به ازای هر ژنوم، در بین هشت گونه بز وحشی و بز اهلی بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه توالی‌های کامل ژنوم میتوکندریایی و همچنین توالی^{۱۳} ژن رمزگر پروتئین بهطور جداگانه به ازای هر ژنوم مربوط به هفت نژاد بز وحشی، شامل، (*Capra pyrenaica*, *Capra ibex sibirica*, *Capra caucasica*, *Capra nubiana*, *Capra falcoeris*, *Capra hircus*) (aeagrus) و نژاد بز اهلی (*Capra hircus*) از پایگاه داده‌ها NCBI استخراج شدند. هم‌دیفی چندگانه ژنوم‌ها و توالی نوکلئوتیدی^{۱۳} ژن رمزگر پروتئین به ازای هر ژنوم، با استفاده از نرمافزار DNASTAR و با روش W MegAlign بنام Clustal W انجام شد؛ و برای محاسبه و اگرایی و درصد شباهت ژنتیکی ژنوم‌ها و توالی‌های نوکلئوتیدی از نرمافزار DNASTAR به نام Sequence Distances استفاده شد؛ برای آنالیز فیلوژنتیکی ژنوم کامل میتوکندریایی و توالی^{۱۳} ژن رمزگر با نرمافزار MEGA7 همتراز شدند.

یافته‌ها: بر اساس آنالیزهای انجام شده مشخص شد که بیشترین شباهت در بین توالی‌های نوکلئوتیدی ژنوم کامل میتوکندریایی (۹۹/۵۰%) بین بز اهلی (*Capra sibirica*) و بز وحشی (*Capra aegagrus*) و کمترین درصد شباهت (۹۳/۷۹%) بین نژاد *Capra hircus* با بز وحشی *Capra aegagrus* و بز وحشی *Capra hircus* در یک گروه و نژاد وحشی همچنین، بر اساس نتایج درخت فیلوژنتیکی مشخص شد که نژادهای بز اهلی (*Capra hircus*) و بز وحشی *Capra aegagrus* در یک خوشه متمایز دیگر تقسیم شدند.

نتیجه‌گیری: در این مطالعه، تمام نتایج بدست آمده از آنالیز توالی کل ژنوم میتوکندریایی با نتایج حاصل از توالی^{۱۳} ژن رمزگر پروتئین به ازای هر ژنوم مطابقت داشت که نشان‌دهنده خوبه‌بندی صحیح نژادهای بز وحشی و اهلی می‌باشد؛ بنابراین می‌توان از توالی‌های ژنوم میتوکندری به عنوان یک نشانگر ژنتیکی مناسب در جهت تجزیه و تحلیل دقیق فیلوژنتیک و خوبه‌بندی گونه‌های مختلف بز استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: آنالیز فیلوژنتیکی، بز، تنوع ژنتیکی، توالی یابی ژنوم میتوکندریایی

مقدمه

(۳۱، ۳۳). یکی از کاربردی‌ترین روش‌ها برای تشخیص گونه‌ها و تعیین راسته فیلوژنی بین جمعیت‌ها و گونه‌های نزدیک به هم توالی یابی ژنوم میتوکندری می‌باشد (۱۸). چندشکلی DNA میتوکندریایی به‌طور وسیعی در تشخیص گونه‌ها، ترسیم فیلوژنتیکی و ارزیابی تنوع ژنتیکی درون و بین گونه‌ای مورداستفاده قرار می‌گیرد (۲۴). ژنوم میتوکندری برای اولین بار در دهه ۱۹۸۰ به کمک توالی یابی کامل ژنوم در چندگونه از پستانداران موردمطالعه قرار گرفت (۳۷). از جمله مزایای DNA میتوکندری (mtDNA) در ترسیم روابط فیلوژنتیکی بین گونه‌ها، تعداد زیاد نسخه به ازای هر سلول، کوچک بودن اندازه آن نسبت به DNA هسته‌ای، و راثت‌پذیری مادری، هالپلوتید بودن و درنتیجه انجام نشدن فرایند میوز، عدم وجود نوترکیبی در آن‌ها، سرعت بالای تکامل و وجود نواحی حفاظت نشده مانند D-loop می‌باشد (۴۰). بیان ژن‌های میتوکندریایی به منظور سوخت‌وساز بدن، تولید انرژی و تعادل و مرگ سلولی در مهره‌داران از اهمیت به سزاوی برخوردار است (۱۳). با توجه به اینکه میتوکندری منشأ مادری دارد، این خاصیت باعث تشخیص بهتر اختلافات ژنتیکی در ژنوم میتوکندریایی نسبت به ژنوم هسته شده است. در گونه‌های جانوری ژنوم

گونه‌ها مشخص‌ترین واحدهای زیستی هستند که حفاظت و مدیریت تنوع ژنتیکی در آن‌ها بر اساس یک دانش جامع از ساختار جمعیت شامل تنوع ژنتیکی بین گونه‌ها و داخل گونه‌ها انجام می‌پذیرد. حفاظت از تنوع ژنتیکی عاملی کلیدی برای محافظت از حیات گونه‌ها در طولانی‌مدت است (۳۲). با مقایسه گونه‌ها و نژادهایی که در سال‌های مختلف مطالعه شده است و توالی آن‌ها در بانک ژن موجود است امکان مطالعات فیلوژنتیکی، بررسی انشقاق گونه‌ها و فاصله نسلی فراهم می‌گردد (۱۸). تجزیه و تحلیل فیلوژنتیکی برآورده هستند از اینکه چگونه اعضای یک خانواده در طی دوره تکاملی از هم انشقاق پیداکرده‌اند (۴). این روابط به وسیله مطالعه جهش‌های جایگزینی، حذف، اضافه و جهش با آرایش مجدد تعیین می‌شود که در معرض انتخاب طبیعی قرار گرفته‌اند (۳۰). علاوه بر این تحلیل فیلوژنتیک روابط بین ژن‌ها یا قطعات ژنی را با توجه به تاریخچه مشترک ژن‌ها یا قطعات ژنی امکان‌پذیر می‌کند. با تحلیل فیلوژنتیکی و بررسی روابط تکاملی می‌توان توالی ژن‌ها را در بین جمیعت‌های مختلف مورد مقایسه قرارداد و به دنبال آن تفاوت و شباهت‌های موجود در بین توالی‌ها را شناسایی کرد

اروپایی روسیه است. این نژاد در فهرست قرمز اتحادیه بین المللی حفاظت از طبیعت و منابع طبیعی (IUCN) به عنوان درخطر انقرض ذکر شده است، زیرا جمعیت وحشی آن بین ۵۰۰۰ تا ۶۰۰۰ رأس تخمین زده می شود (۳۹). بز وحشی (*Capra aegagrus*), نام علمی بود که توسط بوهان کریستین پولیکارپ ارکسلن در سال ۱۷۷۷ برای جمعیت بزهای وحشی کوههای قفقاز و توروس پیشنهاد شد. همچنین به نام بز آسیایی غربی، در ترکیه و قفقاز در غرب تا ترکمنستان، افغانستان و پاکستان در شرق یافت می شود و اجداد بز اهلی شناخته می شوند. بزهای اهلی (*C. hircus*) به عنوان یکی از قدیمی ترین دامهای اهلی شده، به دلیل نقش مهمی که در کشاورزی، اقتصاد و فرهنگ از زمان انقلاب کشاورزی داشته اند، به طور گسترده در سراسر جهان پرورش داده می شوند (۴۰).

با در نظر گرفتن مواردی نظیر عدم وجود فرآیندهای نوترکیبی و سرعت بالاتر تکامل و تجمع جهش های مربوط به ژنوم هسته ای، ژنوم میتوکندریایی ابزار مناسبی برای انجام مطالعات تکاملی و رده بندی مهره داران و بی مهرگان می باشد. تعداد مطالعات اندکی روی ژنوم کامل میتوکندریایی گونه های بز صورت گرفته است (۲۰، ۲۸، ۴۱) و بیشتر مطالعات به بررسی بخشی از نواحی ژنوم میتوکندریایی در این گونه بوده است (۳، ۱۶، ۱۹، ۳۵). هدف از مطالعه حاضر، شناسایی شباهت ها و تفاوت های ژنتیکی و درواقع بررسی واگرایی تکاملی بین گونه های مورد مطالعه با بررسی ساختار ژنتیکی و فیلوجنتیکی هشت گونه اصلی شناخته شده از بزهای وحشی و اهلی بر اساس توالی کامل ژنوم میتوکندریایی و توالی های جداگانه ۱۳ بز رمزگر پروتئین به ازای هر ژنوم بود.

مواد و روش ها

داده های ژنوم میتوکندریایی: توالی های کامل ژنوم میتوکندریایی هفت نژاد بز وحشی شامل (*Markhor* (*C. falcoeri*), *Capra pyrenaica*, *Capra nubiana*, *Capra, falcoeri*, *Capra ibex*, *sibirica*, *Capra caucasica*, *Capra aegagrus*) همراه با ژنوم کامل میتوکندریایی نژاد بز اهلی (*Capra hircus*) از پایگاه داده NCBI استخراج شدند. اطلاعات مربوط به ژنوم میتوکندریایی نژادهای مورد مطالعه در جدول ۱ آرائه شده است. علاوه بر توالی های مربوط به ژنوم کامل میتوکندریایی نژادهای مورد مطالعه، توالی مربوط به ۱۳ بز رمزگر پروتئین (CDs) به تفکیک برای هر ژنوم به طور جداگانه ذخیره شدند. این توالی ها شامل ژن های یوبیکوئینون اکسیدور دوکتاز (ND2, ND1, ND4, ND3, ND2, ND1)، NADH، سیتوکروم C اکسیداز (ATP8, ATP6, COX3, COX2, COX1)، NADH دهیدروژناز 4L (ND4L)، سیتوکروم b (CYTB) بودند که به طور جداگانه با یکدیگر مقایسه شدند (جدول ۲). هم ردیفی: هم ردیفی چندگانه ژنوم ها و توالی نوکلئوتیدی ۱۳ بز رمزگر پروتئین به ازای هر ژنوم، با استفاده از نرم افزار DNASTAR نسخه ۷/۱ با نام MegAlign (۹). برای محاسبه واگرایی و درصد شباهت ژنتیکی ژنوم ها و توالی های نوکلئوتیدی از

میتوکندریایی ۳۷ ژن را که شامل ۱۳ ژن که کننده زنجیره تنفسی، ۲۲ ژن که کننده tRNA و ۲ ژن که کننده rRNA می باشد. کد کردن RNA و tRNA نشان دهنده سنتر پروتئین در میتوکندری است. ژنوم میتوکندری به طور مستقل تکثیر، رونویسی و ترجمه می شود (۱۱، ۱۲). اولین توالی کامل ژنوم میتوکندری بز به طول ۱۶۷۱۵ جفت باز و طول قطعات ژنی آن از قبیل ناحیه cyt-b به طول ۱۱۳۹ جفت باز توسط Takada و همکاران گزارش گردید (۳۶). بز (با نام علمی *Capra aegagrus hircus*) یک زیر گونه اهلی شده از راسته جفت سمان (Artiodactyla)، خانواده گاو اوان (Bovidae)، سرده بزهای کوهی (*Capra*) و گونه بز وحشی (*C. aegagrus*) می باشد. گاهی برای تفکیک میان دو جنسیت این جانور جنس ماده آن را «بز» و جنس نر آن را «کل» «بیور» می گویند. گونه های وحشی بز، به علت کوتاه بودن دست و پا، سنگین بودن قسمت جلویی بدن و ساختمان خاص سمه ها، آن ها را قادر ساخته است که به آسانی در شبکه های تند مناطق صخره ای تردد نمایند. از نظر اتحادیه بین المللی حفاظت از طبیعت و منابع طبیعی (IUCN) بز وحشی در رده آسیب پذیر گنجانده شده است و امروزه عوامل تهدید کننده زیستگاه های آن شدت بیشتری یافته اند. گونه های بز وحشی *Markhor* (*C. falcoeri* و *Ibex*) می باشد (۴۰). بز وحشی مارکور (*Markhor* (*falconeri* در سراسر کوهها از کشمیر تا افغانستان یافت می شد، اما اکنون از نظر جمعیت و گستره بسیار کاهش یافته است. مارکور شاخدار (*C. f. falcconeri*) در افغانستان، پاکستان و هند یافت می شود. مارکور (*C. f. megaceros*) در افغانستان و پاکستان زندگی می کند و بز مارکور بخاران (*C. f. heptneri*) در افغانستان، تاجیکستان، ازبکستان و ترکمنستان وجود دارد (۴۰). بز کوهی *Ibex* در اوراسیا، شمال و شرق آفریقا یافت می شود. گونه های بز وحشی که به آن ها *Ibex* می گویند عبارت اند از: بز کوهی آلپ (*Capra ibex*) که در کوههای آلپ اروپا یافت می شود و بزهای کوهی آلپ که در فرانسه، بلغارستان، اتریش، سوئیس، ایتالیا، آلمان و اسلوونی یافت می شود. بز کوهی نوبی (*Capra nubiana*) در خاور میانه، در تپه های دریایی سرخ سودان و همچنین ارتفاعات مصر دیده می شود. بز کوهی اسپانیایی یا ایری بیانی (*Capra pyrenaica*) اکنون به مناطق کوهستانی شبکه جزیره ایری در جنوب پیرنه محدود شده است، اما در گذشته در پیرنه و جنوب فرانسه نیز وجود داشته است. تقریباً ۵۰۰۰۰ بز *Ibex* اسپانیایی در شبکه جزیره ایری وجود دارد. از سوی دیگر، داده های اخیر حاکی از وقوع رویدادهای تلاقی بین بزهای وحشی ایری و بزهای اهلی (*Capra hircus*) است (۱۰). بز کوهی اسپانیایی یا سیری (*Capra sibirica*) یک بز وحشی است که در کوهستان و در بیابان های آسیای مرکزی و شمال غربی هیمالیا زندگی می کند. این نژاد بز به طور گسترده در منطقه ای از کوههای هندوکش در افغانستان تا کوههای سایان در مغولستان پراکنده شده است. بز تور قفقاز غربی (*Capra caucasica ibex* or *west caucasica tur*) یک بز ساکن کوهستان است که بومی نیمه غربی رشته کوههای قفقاز در گرجستان و بخش

۱۱۳

ابتدا توالی‌های کل ژنوم و توالی نوکلئوتیدی ۱۳ ژن رمزگر پروتئین با الگوریتم Clustal W هم‌ردیف شدند و پس از آن با روش آماری Bootstrap و بر اساس ۱۰۰۰ تکرار رسم شدند.

بخش دیگر نرم افزار DNASTAR به نام Sequence Distances استفاده شد.

درخت فیلوزنیکی: جهت ترسیم درخت فیلوزنیکی، روابط تکاملی بین ژنوم و توالی نوکلئوتیدی ۱۳ ژن رمزگر پروتئین از نرم افزار MEGA نسخه ۶ استفاده شد. به همین منظور

جدول ۱- نام علمی گونه‌های مورد مطالعه به همراه شماره دسترسی آن‌ها در پایگاه NCBI با طول ژنوم‌های مذکور (bp)
Table 1. The scientific name of the studied species along with their accession numbers in NCBI with corresponding genomes' length (bp)

Name of the species نام گونه	RefSeq Accession Number شماره دسترسی	Total Base Pairs تعداد جفت باز
<i>Capra hircus</i>	NC_005044,2	16643
<i>Capra nubiana</i>	NC_020624,1	16705
<i>Capra ibex</i>	NC_020623,1	16716
<i>Capra pyrenaica</i>	NC_020625,1	16561
<i>Capra sibirica</i>	NC_020626,1	16583
<i>Capra caucasica</i>	NC_020683,1	16624
<i>Capra falcoeri</i>	NC_020622,1	16640
<i>Capra aegagrus</i>	NC_0208161,1	16625

جدول ۲- نام علمی گونه‌های مورد مطالعه و طول ۱۳ زن مزکر پروتئین (bp)
 Table 2. The scientific name of the studied species and the length of the 13 protein-coding genes (bp)

Species گونه	Genes جنس												
	ND1	ND2	ND3	ND4	ND5	ND6	COX1	COX2	COX3	ATP6	ATP8	NDL4	CYTB
<i>Capra hircus</i>	318	347	115	459	606	175	514	227	261	226	65	98	379
<i>Capra nubiana</i>	318	347	115	459	606	175	514	227	261	226	65	98	379
<i>Capra ibex</i>	318	347	115	459	606	175	514	227	261	226	65	98	379
<i>Capra pyrenaica</i>	318	347	115	459	606	175	514	227	261	226	65	98	379
<i>Capra sibirica</i>	318	347	115	459	606	175	514	227	261	226	65	98	380
<i>Capra caucasica</i>	318	347	115	459	606	175	514	227	261	226	65	98	379
<i>Capra falcoeri</i>	318	347	115	459	606	175	514	227	261	226	65	98	379
<i>Capra aegagrus</i>	318	347	115	459	606	175	514	227	261	226	65	98	379

آنالیز واگرایی و با وجود واگرایی بین توالی نوکلئوتیدی ۱۳ ژن رمزگر در بین حیوانات مورد مطالعه، بیشترین شباهت توالی‌های نوکلئوتیدی ۱۳ ژن رمزگر پروتئین در بین نژاد بز اهلی (*Capra hircus*) و بز وحشی (*Capra aegagrus*) مشاهده شد. به طوری که شباهت ۱۰۰ درصدی برای ژن‌های ND4، ND2، ND1، COX2، COX1، ATP8، ATP6) و شباهت بیش از ۹۹ درصدی برای ژن‌های (NDL4 (ND6، ND5، ND3، CYTB) در بین نژادهای بز اهلی (*Capra aegagrus*) و بز وحشی (*Capra hircus*) به دست آمد.

تجزیه و تحلیل فیلوجنتیکی کل ژنوم میتوکندریالی: بر اساس نتایج درخت فیلوجنتیکی، نژادهای بز اهلی (*Capra*) و بز وحشی (*Capra aegagrus*) در یک گروه قرار گرفته‌اند؛ هم‌جنین نژادهای وحشی (*Capra ibex*) و

نتائج و بحث

هم ردیفی و شباختهای نوکلئوتیدی کل ژنوم میتوکندریایی: بیشترین شباخت در بین توالی‌های نوکلئوتیدی ژنوم کامل، میتوکندریایی (۹۹/۵۰) بین بز اهل، مشاهده *Capra aegagrus* (Capra hircus) شد. هم چنین بر اساس نتایج، کمترین درصد مشابهت توالی نوکلئوتیدی ژنوم کامل میتوکندریایی (۹۳/۷۹) مربوط به توالی نوکلئوتیدی ژنوم *Capra nubiana* با بز وحشی *Capra sibirica* بودند. نتایج مربوط به تجزیه و تحلیل هم ردیفی و شباختهای نوکلئوتیدی توالی کامل ژنوم در شکل ۱ آورده شده است.

هم دریفی و شباهت‌های نوکلئوتیدی ژن‌های رمزگر پروتئین: نتایج مربوط به واگرایی و شباهت توالی نوکلئوتیدی ۱۳ ژن رمزگر در شکل ۳ ترسیم شده است. با توجه به نتایج

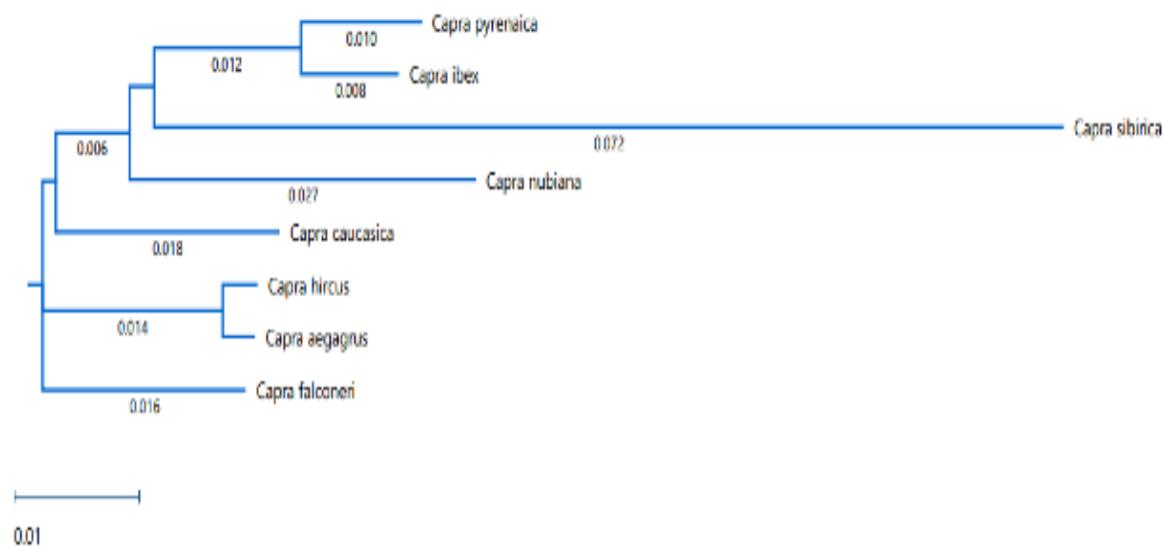
و اگرایی و شباهت های توالی نوکلئوتیدی مطابقت دارند؛ بنابراین تجزیه و تحلیل فیلوژنتیکی مبتنی بر کل ژنوم میتوکندریایی منجر به خوشبندی صحیح نژادهای بز می شود. تجزیه و تحلیل فیلوژنتیکی توالی نوکلئوتیدی ۱۳ ژن رمزگر؛ بر اساس نتایج مربوط به درخت فیلوژنتیکی (*Capra hircus*) و بز وحشی، (*Capra aegagrus*) در یک گروه قرار گرفته اند؛ که این نتایج مطابق با نتایج فیلوژنتیکی کل ژنوم می باشد. نتایج مربوط به خوشبندی درخت فیلوژنتیکی ۱۳ ژن رمزگر پروتئین در شکل ۳ ترسیم شده است.

Capra pyrenaica در یک خوشه متمایز دیگر تقسیم بندی شده اند. نتایج مربوط به خوشبندی درخت فیلوژنتیکی ژنوم کامل میتوکندریایی در شکل ۲ ترسیم شده است. همان گونه که در این شکل مشخص شده است چندین خوشبندی برای توالی کامل ژنوم این حیوانات مشاهده می گردد. اعداد درج شده روی گره ها نشان دهنده درصد های درصد های برای شاخه های داخلی بعد از ۱۰۰۰ تکرار است. طول شاخه ها نیز نشان دهنده تغییرات ژنتیکی است. به عبارت بهتر، هر قدر شاخه ای بلندتر باشد، تغییرات ژنتیکی (یا اگرایی) رخ داده در آن بیشتر است. نتایج درخت فیلوژنتیکی با نتایج مربوط به

	A	B	C	D	E	F	G	H	
A	<i>Capra hircus</i>		99.50	96.26	97.09	97.35	96.63	96.56	93.86
B	<i>Capra aegagrus</i>	0.01		96.28	97.19	97.33	96.62	96.52	93.85
C	<i>Capra nubiana</i>	0.04	0.04		96.24	96.18	96.34	96.16	93.79
D	<i>Capra caucasica</i>	0.03	0.03	0.04		97.21	96.61	96.49	93.81
E	<i>Capra falconeri</i>	0.03	0.03	0.04	0.03		96.62	96.46	93.89
F	<i>Capra ibex</i>	0.03	0.03	0.04	0.03	0.03		98.48	94.14
G	<i>Capra pyrenaica</i>	0.03	0.03	0.04	0.04	0.04	0.02		94.06
H	<i>Capra sibirica</i>	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	

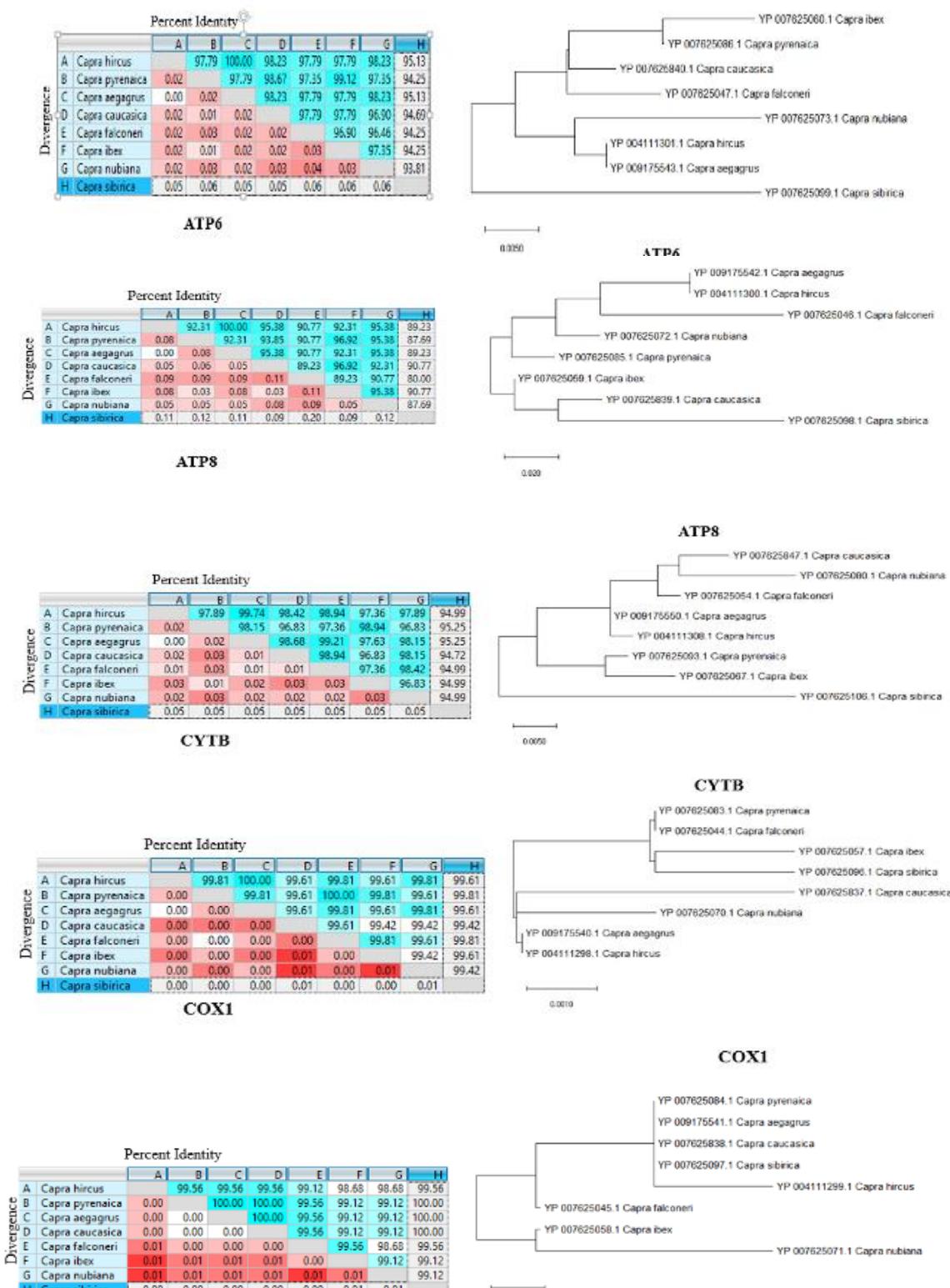
شکل ۱- درصد شباهت و اگرایی ژنوم کامل میتوکندریایی گونه های مورد مطالعه بز

Figure 1. Similarity and divergence percentage of the complete mitochondrial genome of the studied species of goat



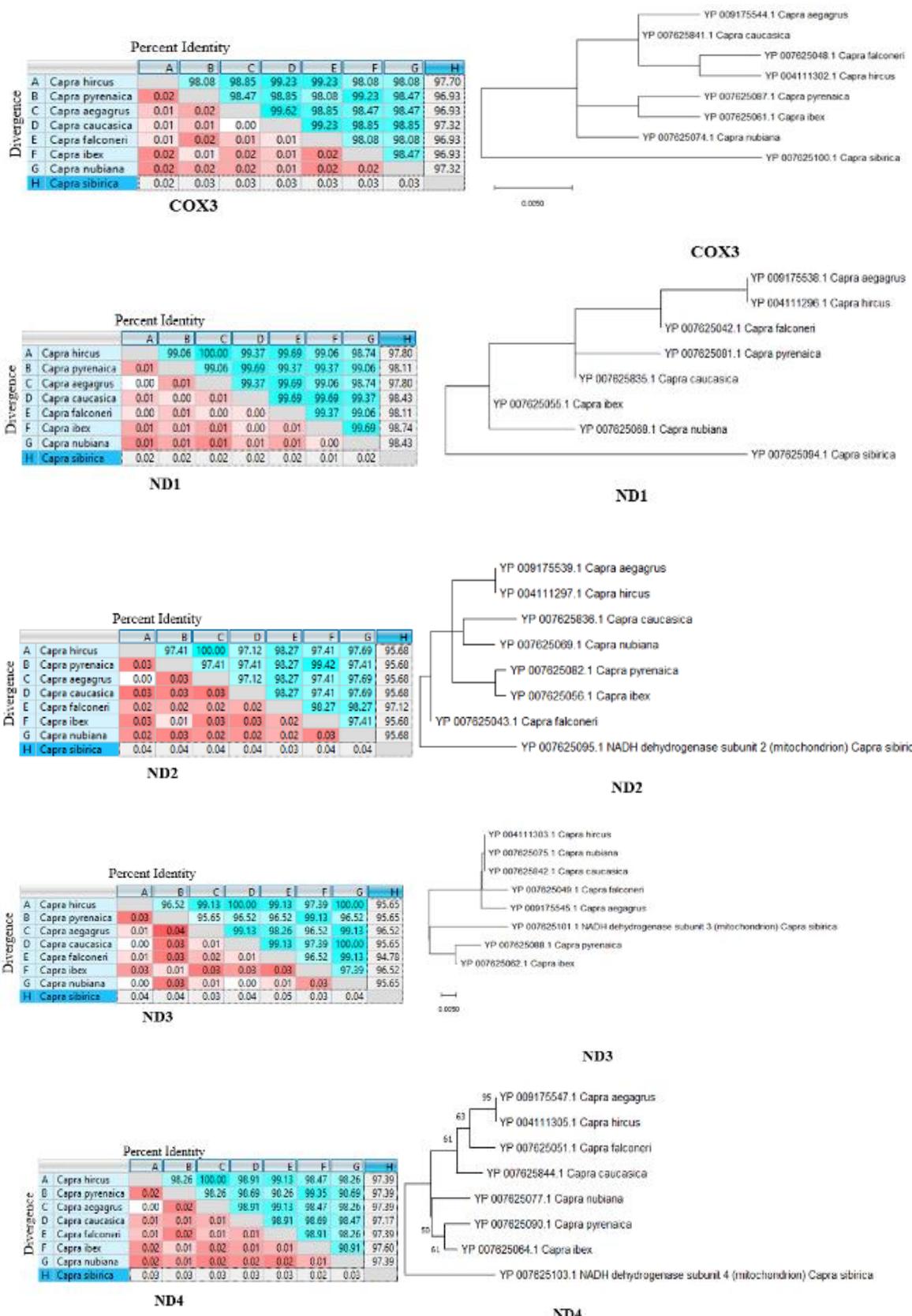
شکل ۲- درخت فیلوژنتیکی حاصل از تجزیه و تحلیل ژنوم کامل میتوکندریایی گونه های مورد مطالعه بز با استفاده از روش حداقل درستنمایی

Figure 2. Phylogenetic tree of the complete mitochondrial genome of the studied species of goat by maximum likelihood method



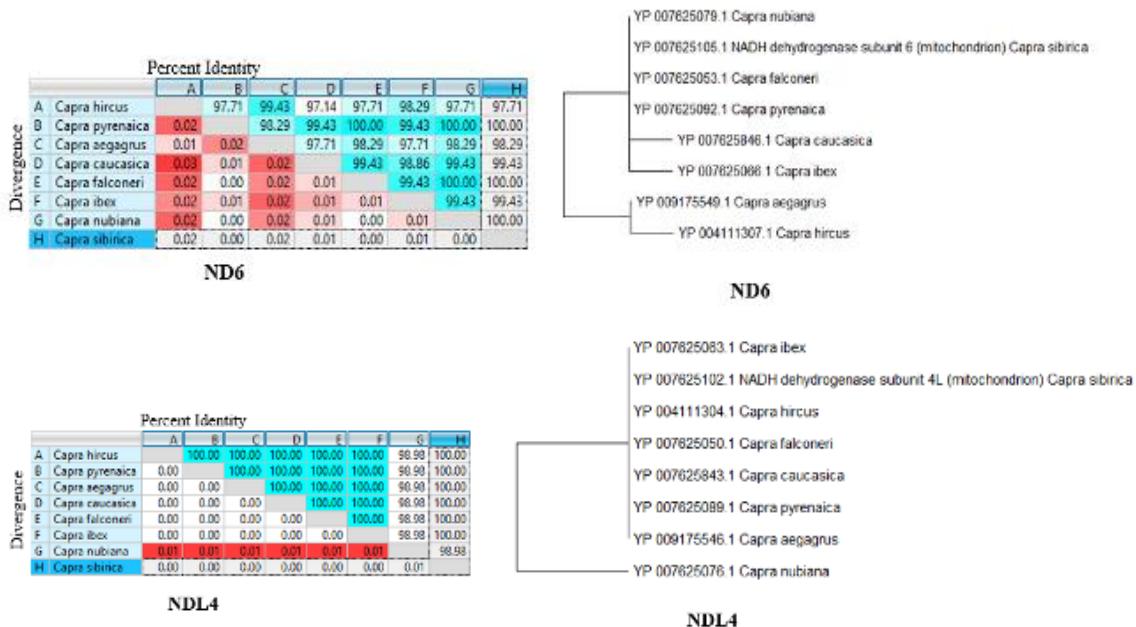
شکل ۳- درصد شباهت، واگرایی و درخت فیلوزنیک، بر مبنای زن‌های COX1، ND6، ND5، ND4، ND3، ND2، ND1، CYTB، ND4L، ATP8، ATP6، COX3، COX2، COX1، COX2، ATP6، ATP8، ND4L، CYTB

[DOI: 10.61186/rap.14.40.110] [DOR: 20.1001.1.22518622.1402.14.40.12.5] [Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2025-06-06]



ادامه شکل ۳- درصد شباهت، واگرایی و درخت فلیوژنتیکی بر مبنای ژن های زن های CYTB، ND4L، ATP8، ATP6، COX3، COX2

Continued Figure 3 Identity percentage, divergence and phylogenetic tree based on ND1، ND2، ND3، ND4، ND5، ND6، COX1، COX2، COX3، ATP6، ATP8، ND4L، CYTB



ادامه شکل ۳- درصد شباهت، واگرایی و درخت فیلوجنتیک، بر مبنای ژن‌های ژن‌های

CYTB, ND4L, ATP8, ATP6, COX3, COX2

Continued Figure 3 Identity percentage, divergence and phylogenetic tree based on ND1, ND2, ND3, ND4, ND5, ND6, COX1, COX2, COX3, ATP6, ATP8, ND4L, CYTB

مانند درزوفیلا و موش منشاً پدری هم گزارش شده است (۸). هنگام لفاح، تمام میتوکندری تحملک از طریق اwooسیت وارد سلول تخم می‌شود و پروتئین‌های درون اwooسیت، میتوکندری اسپرم را از بین می‌برند، درنتیجه وراثت میتوکندری به صورت مادری اتفاق می‌افتد (۱۴). بنابراین اگر مادر دارای جهش در ژنوم میتوکندری‌های خود باشد آن را به تمام فرزندانش (اعم از دختر و پسر) انتقال می‌دهد، اما تنها دخترانش آن را به فرزندانشان منتقل می‌کنند (۱۵). ژنوم میتوکندری دارای دو رشته زنجیره سبک (L) و زنجیره سنگین (H) است. رشته L غنی از پیرimidین (T+C) و رشته H غنی از پورین (G+A) است. ۹ ژن توسط رشته سبک و ۲۸ ژن توسط رشته سنگین حمل می‌شوند (۱۷). اطلاعات ژنتیکی ژنوم میتوکندری برای سنتر تمام پروتئین‌ها و آنزیم‌های موجود در این اندامک کافی نیست (۱۷). فاصله ژنتیکی را به عنوان عیاری از اختلاف بین جمیعت‌ها تعریف می‌کنند که به صورت تابعی از فراوانی ژنی بیان می‌شود و یک معیار آماری استاندارد را (به صورت یک عدد) برای تعیین میزان تفاوت ژنتیکی فراهم می‌کند. اگر هیچ تفاوتی وجود نداشته باشد، فاصله صفر خواهد بود و در صورتی که جمیعت‌ها در هیچ جایگاهی، آلل مشترک نداشته باشند، فاصله میان آن‌ها برابر با حداقل مقدار خود یعنی ۱ خواهد بود. همان‌گونه که در این مطالعه بر اساس ژنوم کامل میتوکندریایی و همچنین توالی ۱۳ ژن رمزگر پروتئین مشخص شد که دو نژاد بز اهلی (*Capra hircus*) و بز وحشی (*Capra aegagrus*) اختلاف ژنتیکی و یا به عبارت دیگر فاصله ژنتیکی کمی دارند و میزان شباهت بین این دو نژاد بسیار بالاست.

روابط تکاملی بین موجودات به وسیله درخت فیلوجنتیک نمایش داده می‌شود. از آنجاییکه تکامل در طول دوره‌های زمانی طولانی که به طور مستقیم قابل مشاهده نیست اتفاق می‌افتد، زیست‌شناسان باید فیلوجنی‌ها را با استنباط روابط تکاملی میان جانداران امروزی بازسازی کنند. امروزه داده‌های مولکولی، شامل پروتئین و رشته‌های DNA، برای تشخیص روابط تبارزایی و ساخت درخت فیلوجنتیک استفاده می‌شود. در مطالعات تکاملی، طبقه‌بندی شامل تشکیل فیلوجنی نیز می‌گردد، درختان فیلوجنتیک مسیرهای تکاملی را نشان می‌دهند و می‌توان از آن‌ها برای درک روابط تکاملی استفاده نمود. به عبارت دیگر هر چه موجودات مورد بررسی مشاهده بیشتری در مولکول‌های توارثی داشته باشند، خویشاوندی نزدیکتری دارند. در بیشتر موجودات از داده‌های مربوط به توالی DNA برای تعیین روابط تکاملی استفاده شده است. از آنجایی که چنین داده‌هایی (در مقایسه با داده‌های مانند داده‌های ریخت شناختی) کمتر تحت تأثیر نتایج انتخاب قرار می‌گیرند، بهتر می‌توانند روابط فیلوجنتیکی واقعی را منعکس نمایند. توالی یابی ژنوم میتوکندری یکی از کاربردی‌ترین روش‌ها برای تشخیص نوع ژنتیکی و تعیین رابطه فیلوجنتیکی بین جمیعت‌ها و گونه‌های نزدیک به هم می‌باشد (۱۸). مقایسه توالی‌های مناطق مختلف ژنوم میتوکندری به دلیل سرعت بالای تکامل ژنوم میتوکندری در مقایسه با ژنوم هسته شواهدی را در مورد تنوع ژنتیکی و منشأ تکاملی گونه‌ها فراهم می‌کند (۲۲).

ژنوم میتوکندری در بیشتر جانوران منشأ مادری دارد و وراثت آن اکثرآ به صورت تک والدی می‌باشد، البته در برخی جانوران

جمعیت وجود دارد که نشان دهنده هم‌خونی بالا در آن‌ها بود (۲۹). در پژوهشی، ۱۳ نژاد بز یومی در کشور چین بر اساس ناحیه سیتوکروم b بررسی شدند (۴۱). بر اساس نتایج این مطالعه مشخص شد که تنوع هاپلوبیتی در این جمعیت‌ها بالا بوده و بزهای چینی از *Capra aegagrus* منشأ گرفته‌اند. هم‌چنین پژوهش‌های زیادی روی بخش‌هایی از ژنوم میتوکندریایی بزهای ایران انجام شده است (۱، ۲، ۵، ۶، ۷، ۲۵، ۲۶، ۳۴، ۳۸).

مطالعات انجام شده بر روی بخشی از ژنوم میتوکندریایی نژادهای مختلف بز بوده است و از آنجاییکه تجزیه و تحلیل بر اساس محدوده‌های کوتاه از ژنوم میتوکندریایی ممکن است درختان تبارشناسی تولید کند که فاقد دقت و توجیه آماری در نتایج حاصله باشد (۳۶)، مطالعه حاضر با هدف بررسی ساختار کل ژنوم میتوکندریایی و ۱۳ ژن رمزگر پروتئین در نژادهای وحشی و اهلی بز انجام شد تا بتوان اطلاعات دقیق‌تر و جامع‌تری از تفاوت‌ها و شباهت‌های این نژادها به دست آورد.

نتیجه‌گیری کلی

در مطالعه حاضر، توالی کامل ژنوم میتوکندریایی و توالی ۱۳ ژن رمزگر پروتئین در بزهای وحشی و اهلی در جهت شناسایی شباهت‌ها و تفاوت‌های ژنتیکی و فیلوژنتیکی مورد بررسی قرار گرفتند. بر اساس نتایج ژنوم کامل میتوکندریایی مشخص شد که بیشترین (۹۹/۵۰) در بین توالی‌های نوکلئوتیدی ژنوم کامل میتوکندریایی، به ترتیب مربوط به بز اهلی (*Capra hircus*) با بز وحشی (*Capra aegagrus*) و کمترین شباهت (۹۳/۷۹) بین بز وحشی (*Capra nubiana*) با بز وحشی (*Capra sibirica*) بودند. هم‌چنین بر اساس نتایج آنالیز درخت فیلوژنتیکی مشخص شد که نژادهای بز اهلی (*Capra aegagrus*) و بز وحشی (*Capra hircus*) در یک گروه و نژادهای بز وحشی (*Capra ibex*) و (*Capra pyrenaica*) در خوش‌منایز دیگر قرار گرفتند. تمام نتایج به دست آمده با نتایج حاصل از توالی ۱۳ ژن رمزگر پروتئین مطابقت دارد که نشان دهنده خوش‌بندی صحیح نژادهای بز وحشی و اهلی می‌باشد.

در آنالیزهای درخت فیلوژنتیکی، وجود تعداد بیشتر شاخه‌های درخت نشان دهنده تنوع ژنتیکی بالاست. تنوع ژنتیکی نزدیک جمعیت‌ها بیانگر منشأ مشترک و یا وجود جریان ژنی میان آن‌ها و یا شرایط زیستگاهی مشابه می‌باشد. در این مطالعه بر اساس آنالیز درخت فیلوژنتیکی کل ژنوم میتوکندریایی و نژادهای بز اهلی (*Capra hircus*) و بز وحشی (*Capra aegagrus*) در یک شاخه قرار گرفته و بیشترین قرابت ژنتیکی را دارا هستند و به عبارت دیگر بیانگر وجود منشأ مشترک و جریان ژنی میان آن‌ها می‌باشد.

میتوژنوم به عنوان یکی از ابزارهای اصلی در انجام مطالعات تکاملی و رده‌بندی مهره‌داران و بی‌مهرگان مورد استفاده قرار می‌گیرد. تاکنون مطالعات زیادی بر روی بخشی از ژنوم میتوکندریایی نژادهای مختلف مربوط به صورت گرفته است. در بز اولین مطالعه‌ای که بر اساس قطعه کوچکی از ناحیه کترنل مرسوم به ناحیه D-Loop با هدف بررسی تکامل ژنتیکی گونه‌ها انجام شد وجود چند خط مادری کاملاً متمایز را مشخص کرد که ساختار ژئوگرافی آن‌ها کمتر از سایر گونه‌ها بود. طی این بررسی مشخص شد که خط مادری نژادهای امروزی بز مربوط به سه جمعیت پایه می‌باشد که امروزه با نام هاپلوتیپ‌های A، B و C شناخته می‌شوند و ۹۱ هزار سال پیش از هم جدا شده‌اند. این امر نشان می‌دهد که بزهای مناطق مختلف جهان یک خط مادری مشترک نداشته و مربوط به تعداد محدودی از بزهای وحشی می‌باشند (۲۳). نتایج این تحقیق نشان داد که هاپلوتیپ A به طور معمول در همه قاره‌ها یافت می‌شود و هاپلوتیپ B نیز احتمالاً از آسیا منشأ گرفته که مطالعات آن را ثابت کرده است (۲۱). در ادامه با مطالعه بزهای بومی پاکستان هاپلوتیپ دیگری با نام هاپلوتیپ D نیز معرفی شده است (۳۵).

در یک مطالعه توالی HVR1 ناحیه D-Loop ژنوم میتوکندری باهدف بررسی ساختار ژنتیکی و تکامل نژادی بزهای کره‌ای انجام شد و نتایج به دست آمده در این تحقیق با توالی بزهای آسیایی مربوط به نژادهای چین، پاکستان، ائوس و هندوستان مقایسه شد. بر اساس نتایج این مطالعه مشخص شد که تنوع ژنتیکی و فاصله ژنتیکی کمی در داخل

منابع

1. Abadi, M.M., N. Askari, A. Baghizadeh and A. Esmailizadeh. 2009. A directed search around caprine candidate loci provided evidence for microsatellites linkage to growth and cashmere yield in Rayini goats. Small Ruminant Research, 81(2-3): 146-151.
2. Alinaghizadeh, R., M. Mohammadabadi and S. Zakizadeh. 2010. Exon 2 of BMP15 gene polymorphism in Jabal Barez Red Goat. Agricultural Biotechnology Journal, 2(1): 69-80.
3. Amills, M., O. Ramírez, A. Tomàs, B. Badaoui, J. Marmi, J. Acosta, A. Sánchez and J. Capote. 2009. Mitochondrial DNA diversity and origins of South and Central American goats. Animal Genetics, 40(3): 315-322.
4. AsghariEsfeden, B., G.R. Dashab, M.H. Banabazi and M. Rokouei. 2021. Analysis of Genetic Differences in Genes Associated with Immune Response Among Purebred and Crossbreed Sistani and Montebeliarde Cow Populations using RNA-Seq Data. Research On Animal Production (Scientific and Research), 12(31), 134-145.
5. Askari, N., Baghizadeh, A. and Mohammadabadi, M. 2008. Analysis of the genetic structure of Iranian indigenous Raeni Cashmere goat populations using microsatellite markers. Biotechnol, 2(3), 1-4.

6. Askari, N., A. Baghizadeh and M. Mohammadabadi. 2010. Study of genetic diversity in four populations of Raeini Cashmere goat using ISSR markers. *Modern Genet J*, 5(2): 49-56.
7. Askari, N., M. Mohammadabadi, M. Beygi Nassiry, A. Baghizadeh and J. Fayazi. 2009. Study of genetic diversity of Raeini Cashmere goat based on microsatellite markers. *Journal of Agricultural Science*, 18(4): 155-161.
8. Bruford, M.W., D.G. Bradley and G. Luikart. 2003. DNA markers reveal the complexity of livestock domestication. *Nature Reviews Genetics*, 4(11): 900-910.
9. Burland, T.G. 1999. DNASTAR's Lasergene sequence analysis software. Bioinformatics methods and protocols, 71-91.
10. Cabrera, A. 1911. The subspecies of the Spanish ibex. *Proceedings of the Zoological Society of London*,
11. Denver, D.R., K. Morris, M. Lynch, L.L. Vassilieva and W.K. Thomas. 2000. High direct estimate of the mutation rate in the mitochondrial genome of *Caenorhabditis elegans*. *Science*, 289(5488): 2342-2344.
12. DiMauro, S. 2004. Mitochondrial diseases. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1658(1-2): 80-88.
13. DiMauro, S. and G. Davidzon. 2005. Mitochondrial DNA and disease. *Annals of medicine*, 37(3): 222-232.
14. Excoffier, L., G. Laval and S. Schneider. 2005. Arlequin (version 3.0): an integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary bioinformatics*, 1, 117693430500100003.
15. Graff, C., D. Clayton and N.G. Larsson. 1999. Mitochondrial medicine—recent advances. *Journal of internal medicine*, 246(1): 11-23.
16. Han, L., H.-X. Yu, D.-W. Cai, H.-L. Shi, H. Zhu and H. Zhou. 2010. Mitochondrial DNA analysis provides new insights into the origin of the Chinese domestic goat. *Small Ruminant Research*, 90(1-3): 41-46.
17. Houshmand, M. 2014. Mitochondrial genome. Fourth National Biotechnology Conference of the Islamic Republic of Iran, Kerman, Iran, 124 pp (In Persian).
18. Hiendleder, S., H. Lewalski, R. Wassmuth and A. Janke. 1998. The complete mitochondrial DNA sequence of the domestic sheep (*Ovis aries*) and comparison with the other major ovine haplotype. *Journal of Molecular Evolution*, 47: 441-448.
19. Hilmia, N., D. Rahmat, M.I.A. Dagong, S.R.A. Bugiwati, S. Sutopo, D.A. Lestari, A. Setiaji, P.R. Matitaputty, S. Sutikno and H. Mannen. 2023. Study of Kosta goat (*Capra hircus*) mitochondrial DNA and their phylogenetic based on whole genome sequensing. *Small Ruminant Research*, 221, 106937.
20. Jia, C. and Z. Wei. 2016. The complete mitochondrial genome of Shaannan White goat (*Capra hircus*). *Mitochondrial DNA Part A*, 27(6): 4086-4087.
21. Joshi, M.B. P.K. Rout, A.K. Mandal, C. Tyler-Smith, L. Singh and K. Thangaraj. 2004. Phylogeography and origin of Indian domestic goats. *Molecular biology and Evolution*, 21(3): 454-462.
22. Lulai, F. 2000. Investigation of genetic diversity of *Barbus capito* fish in Mazandaran and Gilan provinces. M.Sc. Tarbiat Modares University. Tehran, Iran (In Persian).
23. Luikart, G., L. Gielly, L. Excoffier, J.-D.Vigne, J. Bouvet and P.Taberlet. 2001. Multiple maternal origins and weak phylogeographic structure in domestic goats. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(10): 5927-5932.
24. Meadows, J., S. Hiendleder and J. Kijas. 2011. Haplotype relationships between domestic and wild sheep resolved using a mitogenome panel. *Heredity*, 106(4): 700-706.
25. MOHAMMAD, A.M. 2012. Relationships of IGFBP-3 gene polymorphism with cashmere traits in Raini Cashmere goat.
26. Nabi Hasani, M., M. Asadi Fozi, A. Esmaeilzadeh and M.R. MohammadAbadi. 2011. A genetic analysis of growth traits in Raieni Cashmere goat using multivariate animal model. *Iranian Journal of Animal Science*, 41(4): 323-329.
27. Namgail, T. 2006. Winter habitat partitioning between Asiatic ibex and blue sheep in Ladakh, northern India. *Journal of Mountain Ecology*, 8(1): 7-13.
28. Niu, L., J. Hu, H. Zhang, H. Li, X. Duan, L. Wang, L. Li, H. Zhang and T. Zhong. 2016. The complete mitochondrial genome of Boer goat (Bovidae; Caprinae). *Mitochondrial DNA Part A*, 27(2): 1523-1524.
29. Odahara, S., H. Chung, S. Choi, S. Yu, S. Sasazaki, H. Mannen, C. Park and J. Lee. 2006. Mitochondrial DNA diversity of Korean native goats. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 19(4): 482-485.
30. Petersen, D.C., R.H. Glashoff, S. Shrestha, J. Bergeron, A. Laten, B. Gold, E.J. van Rensburg, M. Dean and V.M. Hayes. 2005. Risk for HIV-1 infection associated with a common CXCL12 (SDF1) polymorphism and CXCR4 variation in an African population. *Journal of acquired immune deficiency syndromes* 1999, 40(5): 521.

31. Pitt, D., N. Sevane, E. Nicolazzi, D. MacHugh, S. Park, L. Colli, R. Martinez, M. Bruford and P. Orozco-terWengel. 2018. Domestication of cattle: Two or threeevents? Evolutionary applications, 12 (1): 123-136.
32. Rout, P., K. Thangraj, A. Mandal and R. Roy. 2012. Genetic variation and population structure in Jamunapari goats using microsatellites, mitochondrial DNA, and milk protein genes. The Scientific World Journal, 2012.
33. Sayahzadeh, H. and H. Deldar. 2018. Assessment of genetic diversity and phylogenetic relationship of Iranian indigenous chickens based on mitochondrial D-Loop sequences. Research On Animal Production (Scientific and Research), 8(17): 140-148 (In Persian).
34. Shamsalddini, S., M. Mohammadabadi and A. Esmailizadeh. 2016. Polymorphism of the prolactin gene and its effect on fiber traits in goat. Russian Journal of Genetics, 52: 405-408.
35. Sultana, S., H. Mannen and S. Tsuji. 2003. Mitochondrial DNA diversity of Pakistani goats. Animal Genetics, 34(6): 417-421.
36. Takada, T., Y. Kikkawa, H. Yonekawa, S. Kawakami and T. Amano. 1997. Bezoar (*Capra aegagrus*) is a matriarchal candidate for ancestor of domestic goat (*Capra hircus*): evidence from the mitochondrial DNA diversity. Biochemical Genetics, 35: 315-326.
37. Tamroosi, A., G.R. Dashab, M.H. Banabazi and A. Maghsoudi. 2021. Bioinformatics Study of mtDNA Genes in Two Subspecies of Holstein (*Bos taurus*) and Cholistani (*Bos indicus*) Cattle Using RNA-Seq Data. Research On Animal Production (Scientific and Research), 12(34): 172-184.
38. Tohidi Nezhad, F., M.R. Mohammad Abadi, A. Esmaeili Zadeh and O. Najmi Nouri. 2015. Comparison of different levels of Rheb gene expression in different tissues of Raini Cashmir goat. Agricultural Biotechnology Journal, 6(4): 37-50.
39. Weinberg, P. 2008. *Capra caucasica*. The IUCN Red List of Threatened Species2008, doi: 10.2305/IUCN. UK. 2008. RLTS. T3794A10088217. en.
40. Zeder, M.A., E. Emshwiller, B.D. Smith and D.G. Bradley. 2006. Documenting domestication: the intersection of genetics and archaeology. TRENDS in Genetics, 22(3): 139-155.
41. Zhang, H., X. Duan, H. Li, L. Niu, L. Wang, L. Li, H. Zhang and T. Zhong. 2016. The complete mitochondrial genome of Chinese Tibetan goat (*Capra hircus*). Mitochondrial DNA Part A, 27(2): 1161-1162.