

"Research Paper"

Analysis of the Genetic and Phylogenetic Structure of the Mitochondrial Genome of Wild and Domestic Goat Species

Batol Asghari Esfedan¹, 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. falcoeri*), *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 فرخند^۴

۱- دکتری گروه علوم دامی، دانشگاه زابل، زابل، ایران، (نویسنده مسوول: batol_asghari@yahoo.com)

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

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

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

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

صفحه: ۱۱۰ تا ۱۲۰

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 ایده آل برای مطالعه تکامل و تشابه ژنتیکی ارائه می دهد. هدف از مطالعه حاضر، شناسایی شباهت ها و تفاوت های ژنتیکی و فیلوژنتیکی با استفاده از توالی کامل ژنوم میتوکندریایی به همراه توالی های جداگانه ۱۳ ژن رمزگر پروتئین به طور جداگانه به ازای هر ژنوم، در بین هشت گونه بز وحشی و بز اهلی بود.

مواد و روش ها: در این مطالعه توالی های کامل ژنوم میتوکندریایی و همچنین توالی ۱۳ ژن رمزگر پروتئین به طور جداگانه به ازای هر ژنوم مربوط به هفت نژاد بز وحش، شامل (*Capra aegagrus*) و نژاد بز اهلی (*Capra hircus*) از پایگاه داده NCBI استخراج شدند. هم ردیفی چندگانه ژنوم ها و توالی نوکلئوتیدی ۱۳ ژن رمزگر پروتئین به ازای هر ژنوم، با استفاده از نرم افزار DNASTAR با نام MegAlign و با روش Clustal W انجام شد؛ و برای محاسبه واگرایی و درصد شباهت ژنتیکی ژنوم ها و توالی های نوکلئوتیدی از بخش دیگر نرم افزار DNASTAR به نام Sequence Distances استفاده شد؛ برای آنالیز فیلوژنتیکی ژنوم کامل میتوکندریایی و توالی ۱۳ ژن رمزگر با نرم افزاری MEGA7 هم تراز شدند.

یافته ها: بر اساس آنالیزهای انجام شده مشخص شد که بیشترین شباهت در بین توالی های نوکلئوتیدی ژنوم کامل میتوکندریایی (۹۹/۵۰) بین بز اهلی (*Capra hircus*) و بز وحشی (*Capra aegagrus*) و کمترین درصد شباهت (۹۳/۷۹) بین نژاد *Capra nubiana* با بز وحشی *Capra sibirica* وجود دارد. همچنین، بر اساس نتایج درخت فیلوژنتیکی مشخص شد که نژادهای بز اهلی (*Capra hircus*) و بز وحشی *Capra aegagrus* در یک گروه و نژاد وحشی *Capra ibex* و *Capra pyrenaica* در یک خوشه متمایز دیگر تقسیم بندی شده اند.

نتیجه گیری: 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 نشان دهنده خوشه بندی صحیح نژادهای بز وحشی و اهلی می باشد؛ بنابراین می توان از توالی های ژنوم میتوکندری به عنوان یک نشانگر ژنتیکی مناسب در جهت تجزیه و تحلیل دقیق فیلوژنتیک و خوشه بندی گونه های مختلف بز استفاده کرد.

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

مقدمه

گونه ها مشخص ترین واحدهای زیستی هستند که حفاظت و مدیریت تنوع ژنتیکی در آن ها بر اساس یک دانش جامع از ساختار جمعیت شامل تنوع ژنتیکی بین گونه ها و داخل گونه ها انجام می پذیرد. حفاظت از تنوع ژنتیکی عاملی کلیدی برای محافظت از حیات گونه ها در طولانی مدت است (۳۲). با مقایسه گونه ها و نژادهایی که در سال های مختلف مطالعه شده است و توالی آن ها در بانک ژن موجود است امکان مطالعات فیلوژنتیکی، بررسی انشقاق گونه ها و فاصله نسلی فراهم می گردد (۱۸). تجزیه و تحلیل فیلوژنتیکی برآوردی هستند از اینکه چگونه اعضای یک خانواده در طی دوره تکاملی از هم انشقاق پیدا کرده اند (۴). این روابط به وسیله مطالعه جهش های جایگزینی، حذف، اضافه و جهش با آرایش مجدد تعیین می شود که در معرض انتخاب طبیعی قرار گرفته اند (۳۰). علاوه بر این تحلیل فیلوژنتیک روابط بین ژن ها یا قطعات ژنی را با توجه به تاریخچه ی مشترک ژن ها یا قطعات ژنی امکان پذیر می کند. با تحلیل فیلوژنتیکی و بررسی روابط تکاملی می توان توالی ژن ها را در بین جمعیت های مختلف مورد مقایسه قرارداد و به دنبال آن تفاوت و شباهت های موجود در بین توالی ها را شناسایی کرد

(۳۱،۳۳). یکی از کاربردی ترین روش ها برای تشخیص گونه ها و تعیین رابطه فیلوژنی بین جمعیت ها و گونه های نزدیک به هم توالی یابی ژنوم میتوکندری می باشد (۱۸). چندشکلی DNA میتوکندریایی به طور وسیعی در تشخیص گونه ها، ترسیم فیلوژنتیکی و ارزیابی تنوع ژنتیکی درون و بین گونه های مورد استفاده قرار می گیرد (۲۴). ژنوم میتوکندری برای اولین بار در دهه ۱۹۸۰ به کمک توالی یابی کامل ژنوم در چندگونه از پستانداران مورد مطالعه قرار گرفت (۳۷). از جمله مزایای DNA میتوکندری (mtDNA) در ترسیم روابط فیلوژنتیکی بین گونه ها، تعداد زیاد نسخه به ازای هر سلول، کوچک بودن اندازه آن نسبت به DNA هسته ای، وراثت پذیری مادری، هاپلوئید بودن و در نتیجه انجام نشدن فرایند میوز، عدم وجود نوترکیبی در آن ها، سرعت بالای تکامل و وجود نواحی حفاظت نشده مانند D-loop می باشد (۴۰). بیان ژن های میتوکندریایی به منظور سوخت و ساز بدن، تولید انرژی و تعادل و مرگ سلولی در مهره داران از اهمیت به سزایی 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 گونه های جانوری ژنوم

اروپایی، روسیه است. این نژاد در فهرست قرمز اتحادیه بین‌المللی حفاظت از طبیعت و منابع طبیعی (IUCN) به‌عنوان درخطر انقراض ذکر شده است، زیرا جمعیت وحشی آن بین ۵۰۰۰ تا ۶۰۰۰ رأس تخمین زده می‌شود (۳۹). بز وحشی (*Capra aegagrus*)، نام علمی بود که توسط یوهان کریستین پولیکارپ ارکسلین 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 می‌شود و اجداد بز اهلی شناخته می‌شوند. بزهای اهلی (*C. hircus*) به‌عنوان یکی از قدیمی‌ترین دام‌های اهلی شده، به دلیل نقش مهمی که در کشاورزی، اقتصاد و فرهنگ از زمان انقلاب کشاورزی داشته‌اند، به‌طور گسترده در سراسر جهان پرورش داده می‌شوند (۲۷).

با در نظر گرفتن مواردی نظیر عدم وجود فرآیندهای نوترکیبی و سرعت بالاتر تکامل و تجمع جهش‌های مربوط به ژنوم هسته‌ای، ژنوم میتوکندریایی ابزار مناسبی برای انجام مطالعات تکاملی و رده‌بندی مهره‌داران و بی‌مهرگان می‌باشد. تعداد مطالعات اندکی روی ژنوم کامل میتوکندریایی گونه‌های 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 شباهت‌ها و تفاوت‌های ژنتیکی و درواقع بررسی واگرایی تکاملی بین گونه‌های مورد مطالعه با بررسی ساختار ژنتیکی و فیلوژنتیکی هشت گونه اصلی شناخته شده از بزهای وحشی و اهلی بر اساس توالی کامل ژنوم میتوکندریایی و توالی‌های جداگانه ۱۳ ژن رمزگر پروتئین به ازای هر ژنوم بود.

مواد و روش‌ها

داده‌های ژنوم میتوکندریایی: توالی‌های کامل ژنوم میتوکندریایی هفت نژاد بز وحشی شامل (*C. Markhor*، *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 ارائه شده است. علاوه بر توالی‌های مربوط به ژنوم کامل میتوکندریایی نژادهای مورد مطالعه، توالی مربوط به ۱۳ ژن رمزگر پروتئین (CDS) به تفکیک برای هر ژنوم به‌طور جداگانه ذخیره شدند. این توالی‌ها شامل ژن‌های یوبیکوئینون اکسیدوکتاز (ND1، ND2، ND3، ND4، ND5 و ND6)، ژن‌های NADH، سیتوکروم C اکسیداز (COX1، COX2، COX3)، ATP سنتاز (ATP6 و ATP8)، NADH دهیدروژناز 4L (ND4L)، سیتوکروم b (CYTB) بودند که به‌طور جداگانه با یکدیگر مقایسه شدند (جدول ۲).

هم‌ردیفی: هم‌ردیفی چندگانه ژنوم‌ها و توالی نوکلئوتیدی ۱۳ ژن رمزگر پروتئین به ازای هر ژنوم، با استفاده از نرم‌افزار DNASTAR نسخه ۷/۱ با نام MegAlign و به‌وسیله نرم‌افزار Clustal W انجام شد (۹). برای محاسبه واگرایی و درصد شباهت ژنتیکی ژنوم‌ها و توالی‌های نوکلئوتیدی از

میتوکندریایی ۳۷ ژن را کد می‌کند که شامل ۱۳ ژن کد کننده زنجیره تنفسی، ۲۲ ژن کد کننده tRNA و ۲ ژن کد کننده rRNA می‌باشد. کد کردن tRNA و rRNA نشان‌دهنده سنتز پروتئین در میتوکندری است. ژنوم میتوکندری به‌طور مستقل تکثیر، رونویسی و ترجمه می‌شود (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). بُز (با نام علمی *Capra aegagrus hircus*) یک زیرگونه اهلی شده از راسته جفت‌سمان (*Artiodactyla*)، خانواده گاوان (*Bovidae*)، سرده بزهای کوهی (*Capra*) و گونه بز وحشی (*C. aegagrus*) می‌باشد. گاهی برای تفکیک میان دو جنسیت این جانور جنس ماده آن را «بُز» و جنس نر آن را «کَل» «یوور» می‌گویند. گونه‌های وحشی بز، به علت کوتاه بودن دست‌وپا، سنگین بودن قسمت جلویی بدن و ساختمان خاص سم‌ها، آن‌ها را قادر ساخته است که به‌آسانی در شیب‌های تند مناطق صخره‌ای تردد نمایند. از نظر اتحادیه بین‌المللی حفاظت از طبیعت و منابع طبیعی (IUCN) بز وحشی در رده آسیب‌پذیر گنجانده شده است و امروزه عوامل تهدیدکننده زیستگاه‌های آن شدت بیشتری یافته‌اند. گونه‌های بز وحشی شامل *Ibex* و *Markhor* (*C. falcoeri*) می‌باشد (۴۰). بز وحشی مارکور (*Markhor*)، قبلاً در سراسر کوه‌ها از کشمیر تا افغانستان یافت می‌شد، اما اکنون از نظر جمعیت و گستره بسیار کاهش یافته است. مارکور شادخار (*C. f. falcoeri*) در افغانستان، پاکستان و هند یافت می‌شود. مارکور (*C. f. megaceros*) در افغانستان و پاکستان زندگی می‌کند 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 می‌شود. گونه‌های بز وحشی که به آن‌ها *Ibex* می‌گویند عبارت‌اند از: بز کوهی آلپ (*Capra ibex*) که در کوه‌های آلپ اروپا یافت می‌شود و بزهای کوهی آلپ که در فرانسه، بلغارستان، اتریش، سوئیس، ایتالیا، آلمان و اسلونی یافت می‌شود. بز کوهی نوبی (*Capra nubiana*) در خاورمیانه، در تپه‌های دریای سرخ سودان و همچنین ارتفاعات مصر دیده می‌شود. بز کوهی اسپانیایی یا ایبریایی (*Capra pyrenaica*) اکنون به مناطق کوهستانی شبه‌جزیره ایبری در جنوب پیرنه محدود شده است، اما در گذشته در پیرنه و جنوب فرانسه نیز وجود داشته است. تقریباً ۵۰۰۰ بز *Ibex* اسپانیایی در شبه‌جزیره ایبری وجود دارد. از سوی دیگر، داده‌های اخیر حاکی از وقوع رویدادهای تلاقی بین بزهای وحشی ایبری و بزهای اهلی (*Capra hircus*) است (۱۰). بز کوهی آسیایی یا سبیری (*Capra sibirica*) یک بز وحشی است که در کوهستان و در بیابان‌های آسیای مرکزی و شمال غربی هیمالیا زندگی می‌کند. این نژاد بز به‌طور گسترده در منطقه‌ای 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

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 نرم‌افزار DNASTAR به نام Sequence Distances استفاده شد.

درخت فیلوژنتیکی: جهت ترسیم درخت فیلوژنتیکی، روابط تکاملی بین ژنوم و توالی نوکلئوتیدی ۱۳ ژن رمزگر پروتئین از نرم‌افزار 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 مزبور (bp)
Table 1. The scientific name of the studied species along with their accession numbers in NCBI with corresponding genomes' length (bp)

Name if the sDECies 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 ژن رمزگر پروتئین (bp)
Table 2. The scientific name of the studied species and the length of the 13 protein-coding genes (bp)

Species گونه‌ها	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

نتایج و بحث

هم‌ردیفی و شباهت‌های نوکلئوتیدی کل ژنوم میتوکندریایی: بیشترین شباهت در بین توالی‌های نوکلئوتیدی ژنوم کامل، میتوکندریایی (۹۹/۵۰) بین بز اهلی، (*Capra hircus*) و بز وحشی *Capra aegagrus* مشاهده شد. همچنین بر اساس نتایج، کمترین درصد شباهت توالی نوکلئوتیدی ژنوم کامل میتوکندریایی (۹۳/۷۹) مربوط به توالی نوکلئوتیدی نژاد *Capra nubiana* با بز وحشی *Capra sibirica* بودند. نتایج مربوط به تجزیه و تحلیل هم‌ردیفی و شباهت‌های نوکلئوتیدی توالی کامل ژنوم در شکل ۱ آورده شده است.

هم‌ردیفی 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

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، NDL4 و شباهت بیش از ۹۹ درصدی برای ژن‌های ND6، ND5، ND3، CYTB در بین نژادهای بز اهلی (*Capra hircus*) و بز وحشی *Capra aegagrus* به دست آمد.

تجزیه و تحلیل فیلوژنتیکی کل ژنوم میتوکندریایی: بر اساس نتایج درخت فیلوژنتیکی، نژادهای بز اهلی (*Capra hircus*) و بز وحشی *Capra aegagrus* در یک گروه قرار گرفته‌اند؛ همچنین نژادهای وحشی *Capra ibex* و

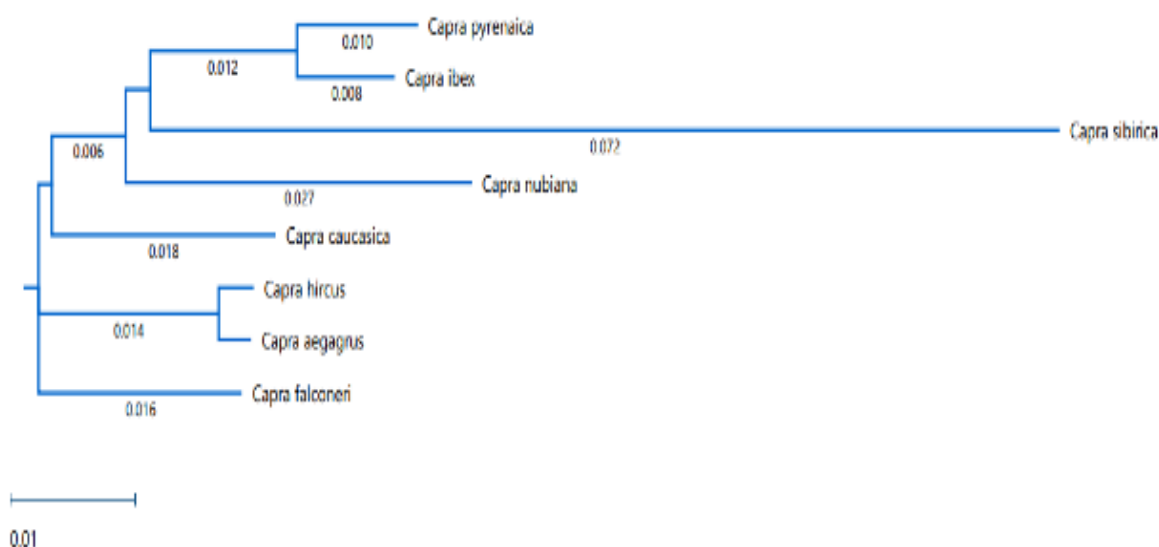
واگرایی و شباهت های توالی نوکلئوتیدی مطابقت دارند؛ بنابراین تجزیه و تحلیل فیلوژنتیکی مبتنی بر کل ژنوم میتوکندریایی منجر به خوشه بندی صحیح نژادهای بز می شود. **تجزیه و تحلیل فیلوژنتیکی توالی نوکلئوتیدی ۱۳ ژن رمزگر:** بر اساس نتایج مربوط به درخت فیلوژنتیکی ۱۳ ژن رمزگر پروتئین، نژادهای بز اهلی (*Capra hircus*) و بز وحش، *Capra aegagrus* در یک گروه قرار گرفته اند؛ که این نتایج مطابق با نتایج فیلوژنتیکی کل ژنوم می باشد. نتایج مربوط به خوشه بندی 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 خوشه بندی درخت فیلوژنتیکی ژنوم کامل میتوکندریایی در شکل ۲ ترسیم شده است. همان گونه که در این شکل مشخص شده است چندین خوشه بندی برای توالی کامل ژنوم این حیوانات مشاهده می گردد. اعداد درج شده روی گره ها نشان دهنده درصد های Bootstrap 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 واگرایی) رخ داده در آن بیشتر است. نتایج درخت فیلوژنتیکی با نتایج مربوط به

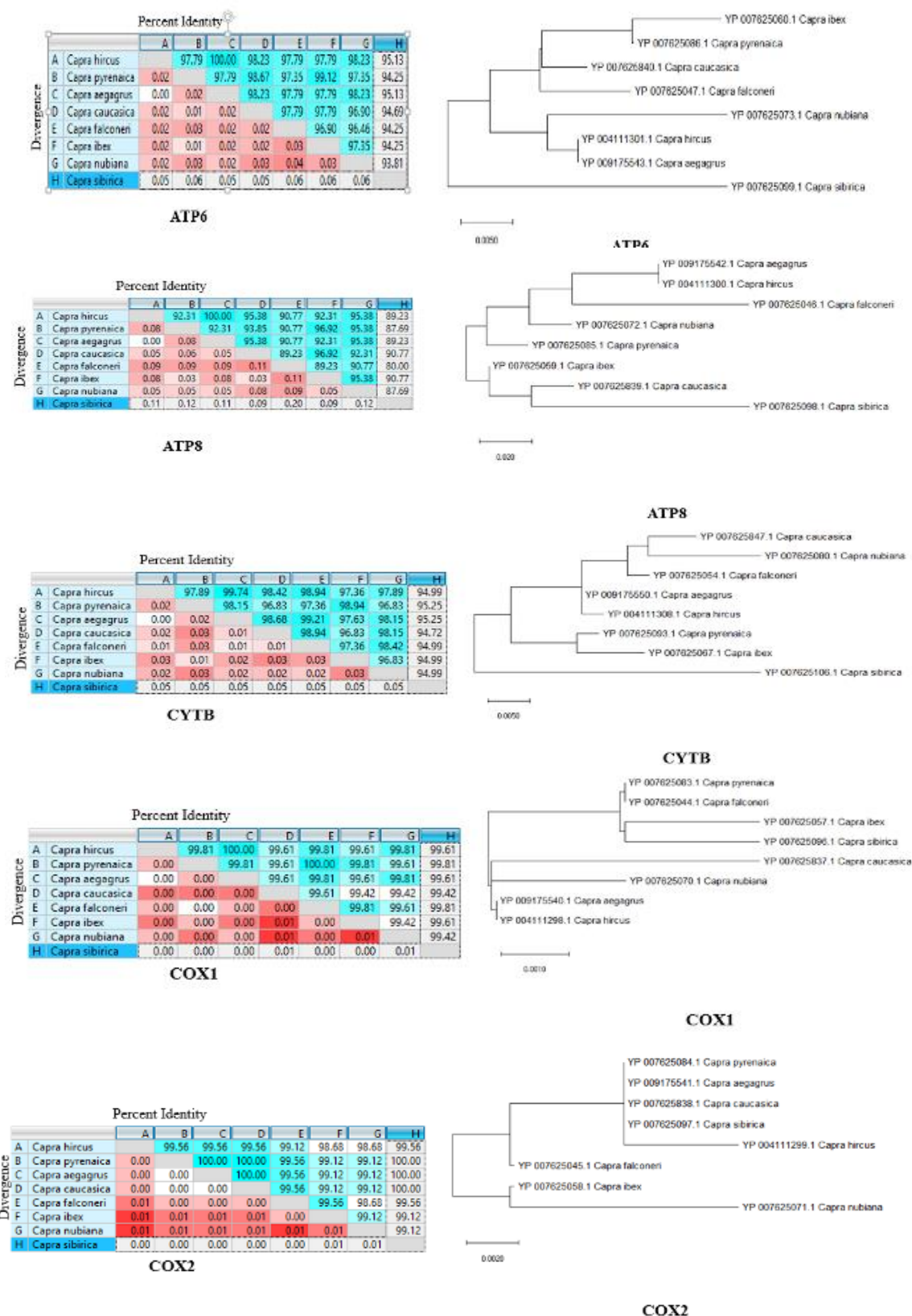
		A	B	C	D	E	F	G	H
A	<i>Capra hircus</i>		99.50	96.26	97.09	97.35	96.63	96.56	93.86
B	<i>Capra aegagrus</i>	0.01		96.28	97.19	97.33	96.62	96.52	93.85
C	<i>Capra nubiana</i>	0.04	0.04		96.24	96.18	96.34	96.16	93.79
D	<i>Capra caucasica</i>	0.03	0.03	0.04		97.21	96.61	96.49	93.81
E	<i>Capra falconeri</i>	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 واگرایی 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



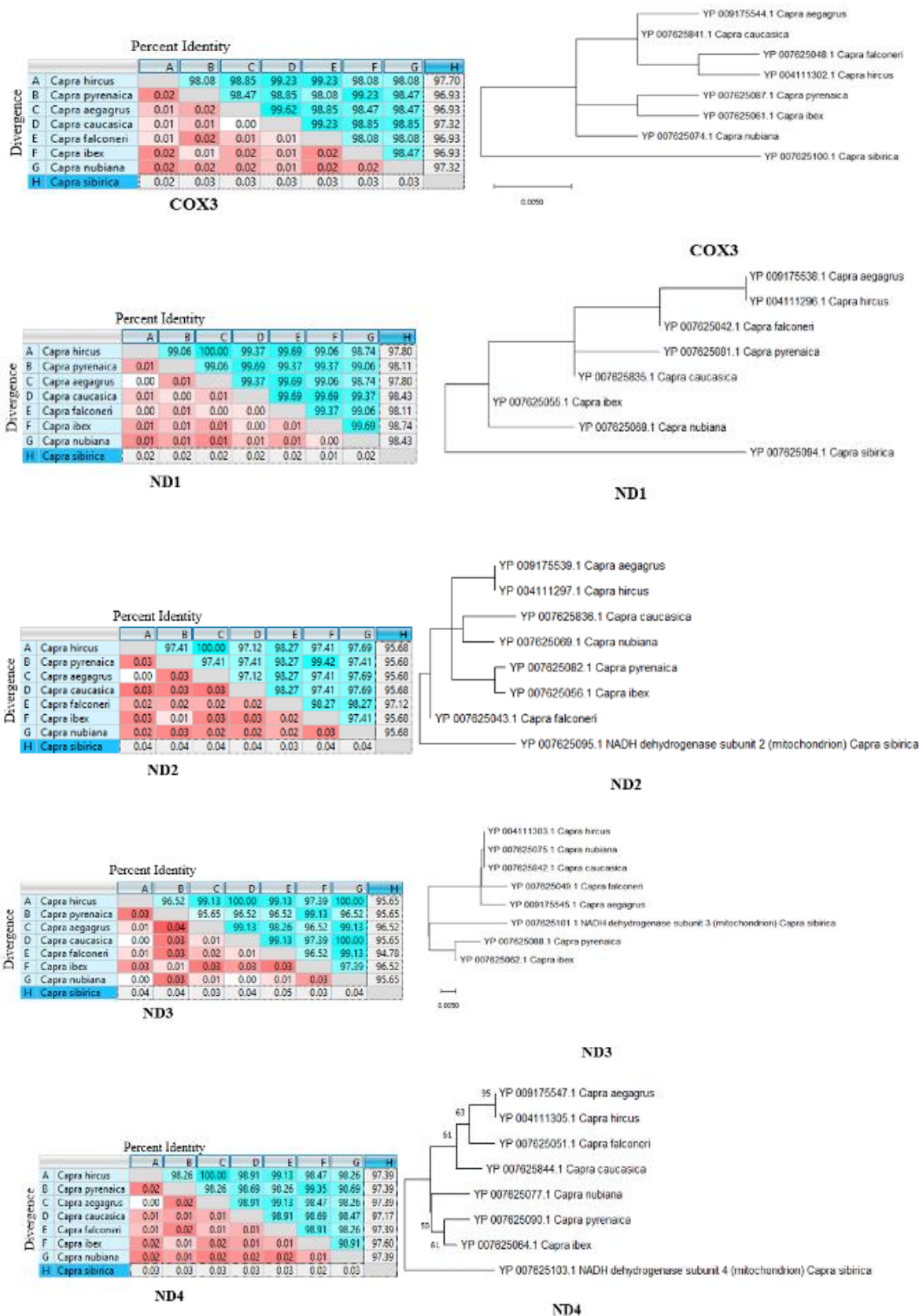
شکل ۲- درخت فیلوژنتیکی حاصل از تجزیه و تحلیل ژنوم کامل میتوکندریایی گونه های مورد مطالعه بز با استفاده از روش حداکثر درستنمایی
Figure 2. Phylogenetic tree of the complete mitochondrial genome of the studied species of goat by maximum likelihood method



شکل ۳- درصد شباهت، واگرایی و درخت فیلوژنتیک، بر مبنای ژنهای ND1، ND2، ND3، ND4، ND5، ND6، COX1،

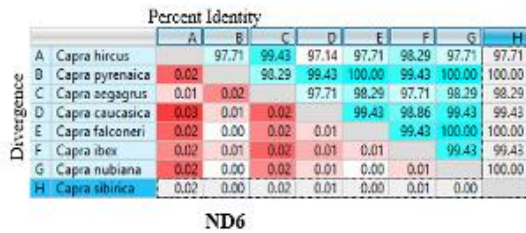
CYTb، ND4L، ATP8، ATP6، COX3، COX2

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 فیلوژنتیکی بر مبنای ژن های ND1، ND2، ND3، ND4، ND5، ND6، COX1، COX2، COX3، COX4، ATP6، ATP8، ND4L، CYTB

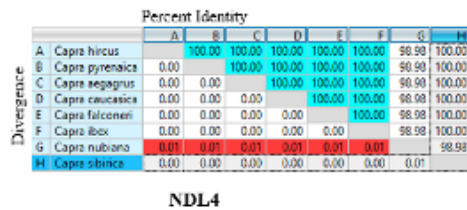
Continued Figure 3 Identity percentage, divergence and phylogenetic tree based on ND1, ND2, ND3, ND4, ND5, ND6, COX1, COX2, COX3, ATP6, ATP8, ND4L, CYTB



ND6



ND6



ND4L



ND4L

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

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 منشأ پدری هم گزارش شده است (۸). هنگام لقاح، تمام میتوکندری تخمک از طریق اووسیت وارد سلول تخم می‌شود و پروتئین‌های درون اووسیت، میتوکندری اسپرم را از بین می‌برند، در نتیجه وراثت میتوکندری به صورت مادری اتفاق می‌افتد (۱۴). بنابراین اگر مادر دارای جهش در ژنوم میتوکندری‌های خود باشد آن را به تمام فرزندان (اعم از دختر و پسر) انتقال می‌دهد، اما تنها دخترانش آن را به فرزندان منتقل می‌کنند (۱۵). ژنوم میتوکندری دارای دو رشته زنجیره سبک (L) و زنجیره سنگین (H) است. رشته L غنی از پیریمیدین (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 سنتز تمام پروتئین‌ها و آنزیم‌های موجود در این اندامک کافی نیست (۱۷). فاصله ژنتیکی را به عنوان معیاری از اختلاف بین جمعیت‌ها 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 جمعیت‌ها در هیچ جایگاهی، آلل مشترک نداشته باشند، فاصله میان آن‌ها برابر با حداکثر 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 به عبارت دیگر فاصله ژنتیکی کمی دارند و میزان شباهت بین این دو نژاد بسیار بالاست.

روابط تکاملی بین موجودات به وسیله درخت فیلوژنتیک نمایش داده می‌شود. از آنجایی که تکامل در طول دوره‌های زمانی طولانی که به طور مستقیم قابل مشاهده نیست اتفاق می‌افتد، زیست‌شناسان باید فیلوژنی‌ها 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 فیلوژنتیک استفاده می‌شود. در مطالعات تکاملی، طبقه‌بندی شامل تشکیل فیلوژنی نیز می‌گردد، درختان فیلوژنتیک مسیرهای تکاملی را نشان می‌دهند و می‌توان از آن‌ها برای درک روابط تکاملی استفاده نمود. به عبارت دیگر هر چه موجودات مورد بررسی شباهت 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 داده‌هایی مانند داده‌های ریخت‌شناختی) کمتر تحت تأثیر نتایج انتخاب قرار می‌گیرند، بهتر می‌توانند روابط فیلوژنتیکی واقعی را منعکس نمایند. توالی یابی ژنوم میتوکندری یکی از کاربردی‌ترین روش‌ها برای تشخیص تنوع ژنتیکی و تعیین رابطه فیلوژنتیکی بین جمعیت‌ها 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 اکثراً 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 بومی در کشور چین بر اساس ناحیه سیتوکروم b بررسی شدند (۴۱). بر اساس نتایج این مطالعه مشخص شد که تنوع هاپلوئیدی 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 باشند (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 hircus*) و بز وحشی *Capra aegagrus* در یک گروه و نژادهای بز وحشی *Capra ibex* و *Capra pyrenaica* در خوشه متمایز دیگر قرار گرفتند. تمام نتایج به‌دست‌آمده با نتایج حاصل از توالی ۱۳ ژن رمزگر پروتئین مطابقت دارد که نشان‌دهنده خوشه‌بندی صحیح نژادهای بز وحشی و اهلی می‌باشد.

در آنالیزهای درخت فیلوژنتیکی، وجود تعداد بیشتر شاخه‌های درخت نشان‌دهنده 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 هم‌چنین توالی ۱۳ ژن رمزگر پروتئین، مشخص شد که 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 بز صورت گرفته است. در بز اولین مطالعه‌ای که بر اساس قطعه کوچکی از ناحیه کنترل 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 هاپلوטיפ‌های 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 معدودی از بزهای وحشی می‌باشند (۲۳). نتایج این تحقیق نشان داد که هاپلوטיפ A به‌طور معمول در همه قاره‌ها یافت می‌شود و هاپلوטיפ B نیز احتمالاً از آسیا منشأ گرفته که مطالعات آن را ثابت کرده است (۲۱). در ادامه با مطالعه بزهای بومی پاکستان هاپلوטיפ دیگری با نام هاپلوטיפ 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 به‌دست‌آمده در این تحقیق با توالی بزهای آسیایی مربوط به نژادهای چین، پاکستان، التوس 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. Esmailzadeh. 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 sequencing. *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. Haplogroup 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 three events? *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. Esmaili 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 Species 2008, 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.