

تعیین ساختار، روابط فیلوژنتیک و تنوع ژنتیکی ناحیه کنترل میتوکندریایی بز عدنی

Phylogenetic structure and Genetic diversity of Adani goat base on mitochondrial control region

مرضیه روحی پور^۱، محمود نظری^{۱*}، محمدتقی بیگی نصیری^۱

۱- به ترتیب دانش آموخته، استادیار، استاد، گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم
کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، اهواز، ایران

Rohi Pour M¹, Nazari M^{*1}, Beygi Nasiri MT¹

1- MS Graduate, Assistant Professor, Professor, Faculty of Animal Science and
Food Technology, Agricultural science and Natural Resources University of
Khuzestan, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: m.nazari@asnrukh.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۹۸/۰۷/۱۵ - تاریخ پذیرش: ۹۹/۰۹/۱۸)

چکیده

بزها گونه‌های اهلی با سازگاری بالا هستند و به عنوان سرمایه‌های ژنتیکی برای بشر در سراسر دنیا مطرح می‌باشند. محافظت و شناسایی تنوع ژنتیکی در این جمعیت‌ها به دلیل خطر کاهش شدید، لازم و ضروری است. بز شیری عدنی یکی از مهم‌ترین نژادهای بومی بز ایران است و در منطقه ساحلی خلیج فارس در استان بوشهر پرورش می‌یابد. علی‌رغم درجه حرارت و رطوبت بالا و کمیت و کیفیت کم مراتع در این مناطق، این نژاد به خوبی با شرایط سخت محیطی سازگار شده است. با توجه به اهمیت حفاظت از نژادهای بومی سازگار با شرایط محیطی سخت، این آزمایش به منظور تجزیه و تحلیل ژنتیکی و بررسی روابط فیلوژنتیکی و شناسایی منشأ مادری این جمعیت با استفاده از توالی ناحیه HVR1 ژنوم میتوکندری انجام شد. برای رسیدن به این هدف، از ۱۲ رأس بز عدنی از استان بوشهر خون‌گیری انجام شد. پس از استخراج DNA، یک قطعه ۹۶۸ جفت‌بازی توسط پرایمرهای اختصاصی با استفاده از روش PCR تکثیر و توالی‌یابی شد. نتایج تنوع ژنتیکی ۱۰ هاپلوטיפ بر اساس ۴۲ جایگاه متفاوت را نشان داد. به علاوه، تنوع هاپلوتیپی و نوکلئوتیدی به ترتیب برابر ۰/۹۵۴ و ۰/۱۲۳ به دست آمد. این نتایج نشان‌دهنده تنوع ژنتیکی بالا در بز عدنی است. نتایج فیلوژنتیکی با استفاده از روش NJ نشان داد که بز عدنی با نژاد عفار از کشور اتیوپی قرابت ژنتیکی بالایی دارد و در هاپلوگروپ A طبقه‌بندی می‌شود که دلیل آن می‌تواند موقعیت جغرافیایی استان بوشهر و واقع شدن آن در کنار خلیج فارس و دریای عمان باشد.

واژه‌های کلیدی

بز عدنی
ژنوم میتوکندری
فیلوژنتیک
HVR1

نژادهای بومی هر کشور به عنوان سرمایه ملی و ذخایر ارزشمند ژنتیکی محسوب می‌شوند. بز اهلی محصولات مفیدی مانند گوشت، شیر و الیاف را برای جامعه انسانی فراهم می‌کند و به همین دلیل این دام یکی از مفیدترین حیواناتی است که تاکنون اهلی شده است (Chen et al. 2005). بز عدنی از محدود دام‌های شیری مناطق گرمسیری کشور بوده که با شرایط اکولوژیکی و بیولوژیکی مناطق ساحلی استان بوشهر سازگاری یافته است. یکی از کاربردی‌ترین راه‌های شناسایی ژنتیکی این نژاد استفاده از تکنیک‌های مولکولی به خصوص استفاده از ژنوم میتوکندریایی است. ژنوم میتوکندریایی در گونه‌های جانوری ۳۷ ژن را کد می‌کند که شامل ۱۳ ژن کدکننده زنجیره تنفسی، ۲۲ ژن کدکننده tRNA و ۲ ژن کدکننده rRNA است و طول تقریبی آن در بز حدود ۱۶۷۰۰ جفت‌باز می‌باشد (Pahlavan Afshari et al. 2016). میتوکندری دارای DNA حلقوی اختصاصی و مستقل از DNA هسته‌ای می‌باشد. توالی ناحیه کنترل در گونه‌های مختلف حیوانات بسیار متفاوت است، اما وجود چندین ناحیه محافظت شده هماهنگی اساسی را در عملکرد نشان می‌دهد و دارای دو ناحیه بسیار متغیر HVR1 و HVR2 است (Riecher et al. 2012). توالی‌های منطقه کنترل برای بررسی تنوع ژنتیکی و روابط تکاملی، در بین گونه‌ها ارزشمند است (Wilson et al. 1985). در تحقیقات بسیاری جهت بررسی تنوع ژنتیکی و روابط تکاملی از ژنوم میتوکندری استفاده شده است (Seyedsharifi and Badbarin 2019; Rohipoor et al. 2020). در بزهای اهلی پنج تبار مادری (A-E) بر اساس اطلاعات حاصل از mtDNA تاکنون تعریف شده است. محققین ۴ هاپلوگروه از A-D را در نژادهای بومی کشور چین شناسایی کرده است که سه تبار اول از نظر فراوانی و توزیع جغرافیایی تقریباً مانند گزارشات قبلی بود (Luikart et al. 2001) ولی تبار D کمیاب و فقط در بزهای محلی هند و پاکستان مشاهده شد (Chen et al. 2005). تبار میتوکندریایی D و E قبلاً در کشور هند شناسایی شده بودند (Joshi et al. 2004). تبار میتوکندریایی F در سال ۲۰۰۶ معرفی شد (Sardina et al. 2006). سپس در یک تحقیق وسیع، ۶ نوع هاپلوگروه با تنوع هاپلوטיפی بالا با نام‌های A، B، C، D، F و G را مشخص کردند (Naderi

et.al. 2007) که پنج مورد از این هاپلوگروه‌ها توسط محققان قبلی در بزهای اهلی شناسایی شده بود (Sardina et al. 2006; Joshi et al. 2004; Luikart et al. 2001). هاپلوگروه G یک گروه جدید بود، که در خاورمیانه و شمال آفریقا نزدیک بین النهرین وجود دارد (Naderi et al. 2007). اگرچه پژوهش‌های زیادی روی بزهای ایران انجام شده است (Rohipoor et al. 2020; Seyedsharifi and Badbarin 2019; Hassani et al. 2010; Tohidi nezhad et al. 2015; Shamsalddini et al. 2016) ولی تاکنون ناحیه D-loop ژنوم میتوکندری در بز عدنی مطالعه نشده است و از ناحیه D-loop ژنوم میتوکندری بز عدنی جهت بررسی تنوع ژنتیکی استفاده نشده است و منشأ مادری بز عدنی مشخص نیست، این مطالعه به تجزیه و تحلیل ساختار ژنتیکی و فیلوژنتیکی ناحیه D-loop بز عدنی پرداخت تا میزان تنوع ژنتیکی و منشأ مادری این نژاد مشخص شود.

مواد و روش‌ها

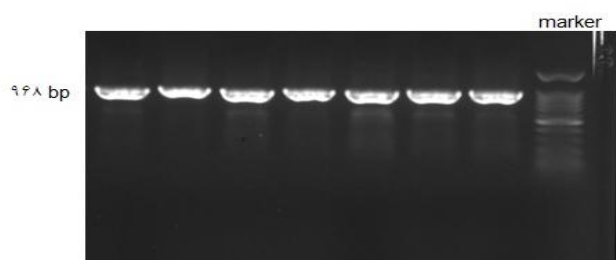
در این تحقیق از ۱۲ رأس بز عدنی استان بوشهر با اطمینان از عدم رابطه خویشاوندی بین افراد، نمونه خون تهیه شد. خون‌گیری از طریق سیاهرگ و داج در تیوب‌های حاوی ماده ضد انعقاد EDTA انجام گرفت. سپس نمونه‌ها در ظرف حاوی یخ جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل شد و تا زمان استخراج DNA در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. استخراج DNA نمونه‌ها توسط کیت Sinaclon DNA PREP 100 انجام گرفت. تعیین کمیت و کیفیت DNA به وسیله دستگاه اسپکتوفتومتر اپندورف مدل ۲۲۳۳۱ انجام شد. در این واکنش ناحیه بسیار متغیر I¹ (HVR 1) از منطقه کنترل ژنوم میتوکندری، با استفاده از آغازگرهای اختصاصی با روش PCR تکثیر شد. برای طراحی این آغازگرها از توالی mtDNA معرفی شده در بانک ژن با کد دسترسی NC005044 استفاده شد. توالی آغازگرهای طراحی شده به این صورت بود:

F:5'-ACTCCACAAGCCTACAGA-3'
R:5'-GGAAAGGTGGAGCGGATG-3'

¹ Hyper variable region 1

نتایج و بحث

استخراج DNA از خون در تمامی نمونه‌ها با موفقیت انجام شد. نتایج طیف‌سنجی نشان داد که DNA استخراج شده از کیفیت مناسبی برخوردار است. الکتروفورز محصولات واکنش زنجیره‌ای پلیمرز بر روی ژل آگارز دو درصد نشان داد که پرایمرهای طراحی شده به‌خوبی فعالیت نموده و قطعه‌ای به‌طول ۹۶۸ جفت‌باز برای ناحیه HVR1 بر روی ژل به‌دست آمد (شکل ۱).



شکل- ۱ محصولات پی.سی.آر تکثیر شده ناحیه HVR1 بر روی ژل آگارز دو درصد.

طول توالی‌های به‌دست آمده مربوط به ناحیه HVR1 ۱۲ نمونه، از ۸۷۱ تا ۸۸۲ جفت‌باز متغیر بود. بنابراین توالی مورد توافق^۳ پس از ویرایش و هم‌ردیفی توالی‌ها با طول ۸۸۲ جفت‌باز برای ناحیه HVR1 بز عدنی تعیین شد. هیچ‌گونه حذف و اضافه‌ای در ۱۲ توالی HVR1 منطقه کنترل مشاهده نشد. توالی‌های HVR1 تا حدود زیادی دارای پلی‌مورفیسم بودند. این توالی‌ها دارای ۱۰ هاپلوטיפ بر اساس ۴۲ جایگاه متفاوت بود. بزرگ‌ترین هاپلوטיפ دارای ۳ فرد و بقیه یعنی ۹ هاپلوטיפ دیگر هر کدام دارای یک فرد بودند. تنوع هاپلوטיפی برابر ۰/۹۵۴ و تنوع نوکلئوتیدی برابر ۰/۱۲۳ در این آزمایش به‌دست آمد. این ۴۲ جایگاه متفاوت، نشان‌دهنده تجمع جهش در طول دوران تکامل می‌باشد که ۴۱ مورد از آن‌ها از نوع جایگزینی انتقالی^۴ بودند، یعنی در همه موقعیت‌ها باز پورین به‌جای پورین و پیریمیدین به‌جای پیریمیدین جایگزین شده است و فقط یک مورد در موقعیت شماره ۶۵، جایگزینی از نوع متقاطع^۵ رخ داده است و نوکلئوتید A جایگزین نوکلئوتید T شده است (جدول ۱).

تکثیر قطعه ۹۶۸ جفت‌بازی توسط واکنش زنجیره‌ای پلیمرز^۱ (PCR) بر اساس روش استاندارد انجام شد. تعداد سیکل‌های انجام واکنش PCR برای هر جفت پرایمر ۳۵ در نظر گرفته شد. اجزای واکنش PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل ۸/۵ میکرولیتر آب استریل، یک میکرولیتر از هر پرایمر، ۲ میکرولیتر از نمونه DNA استخراج شده و ۱۲/۵ میکرولیتر مستر میکس (شرکت پیشگام) بود. برنامه حرارتی عبارت بود از: یک مرحله واسرشت‌سازی اولیه در دمای ۹۴ درجه ۵ دقیقه، ۳۵ سیکل با دمای واسرشت‌سازی ۹۴ درجه به مدت ۳۰ ثانیه، دمای اتصال ۵۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، دمای بسط ۷۲ درجه به مدت ۴۵ ثانیه و یک مرحله بسط نهایی در دمای ۷۲ درجه به مدت ۱۰ دقیقه می‌باشد. الکتروفورز محصولات PCR با استفاده از ژل آگارز ۲ درصد انجام گرفت. مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از محصول واکنش زنجیره‌ای پلیمرز، خالص‌سازی و به‌همراه ۵۰ میکرولیتر از هر یک از آغازگرهای رفت و برگشت، با غلظت ۱۰ پیکومول به‌منظور تعیین توالی به شرکت ماکروژن کره جنوبی ارسال شدند. این نمونه‌ها با استفاده از دستگاه AB13130 به روش اتوماتیک سانگر توالی‌یابی شدند. اطلاعات مربوط به توالی‌های ناحیه HVR1 هر یک از نمونه‌ها با استفاده از روش Clustal W در برنامه Vector NTI، هم‌ردیف شد و توالی مورد توافق به طول ۸۸۲ جفت‌باز به‌دست آمد.

سپس این توالی و توالی‌های استخراج شده از طریق کد دسترسی‌های موجود در پایگاه NCBI مربوط به گونه‌های اهلی و وحشی جهت ویرایش و انجام هم‌ردیفی به نرم‌افزار MEGA6 (Tamura et al. 2013) وارد و درخت فیلوژنی با روش NJ^۲ (اتصال همسایه) و با مدل Maximum Composite Likelihood (Saitou and Nei 1987) و همچنین درصد بازهای آلی رسم شد (Saitou and Nei 1987) و همچنین درصد بازهای آلی نیز به‌کمک نرم‌افزار MEGA6 و بالاخره تنوع هاپلوטיפی و نوکلئوتیدی و تعداد هاپلوטיפ‌ها با استفاده از نرم‌افزار DNAsp 6.1 (Rozas et al. 2017) به‌دست آمد.

³ Consensus

⁴ Transition

⁵ Transversion

¹ Polymerase chain reaction

² Neighbor Joining

جدول ۱- موقعیت‌های نوکلئوتیدی متفاوت در بین نمونه‌های توالی‌یابی شده ناحیه HVR1

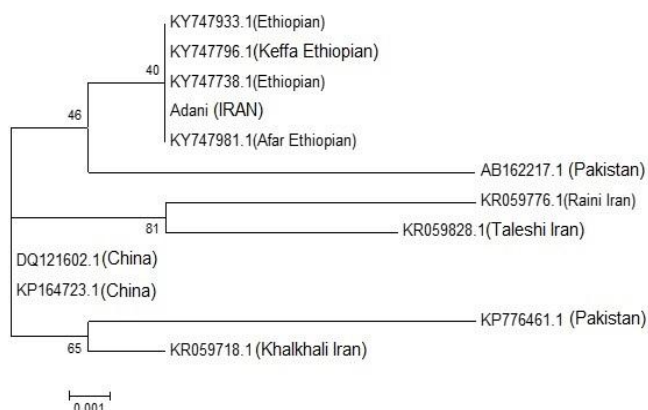
هاپلوتیپ	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰
فراوانی هاپلوتیپ	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۳	۱	۱
۱	۶۳	T	.	.	.	.	.	.	C	.
۲	۶۵	T	.	A	.	.	.	.	.	.
۳	۶۸	A	.	G	.	.	.	.	.	.
۴	۲۰۰	G	.	.	.	.	.	.	A	.
۵	۲۲۳	C	.	.	T	.	.	.	.	.
۶	۲۳۵	T	.	.	.	.	.	.	.	C
۷	۲۴۰	A	.	G	.	.	.	.	.	.
۸	۲۵۷	C	.	.	.	T	.	.	.	.
۹	۲۵۹	G	A	A	A	A	A	A	.	A
۱۰	۲۶۷	G	.	.	A	.	.	.	.	A
۱۱	۲۹۴	T	C	.	.	.	.	.	.	C
۱۲	۲۹۷	A	.	G	.	.	.	.	.	.
۱۳	۳۰۵	A	.	.	.	.	.	G	.	.
۱۴	۳۰۷	T	.	.	.	.	C	.	.	.
۱۵	۳۰۹	G	A	A	A	A	A	A	A	A
۱۶	۳۱۱	T	C	C	C	.	C	C	C	C
۱۷	۳۲۲	G	A	.	.	.	.	.	.	.
۱۸	۳۳۳	A	.	.	.	G	.	.	.	.
۱۹	۳۳۷	G	.	.	.	.	A	.	.	.
۲۰	۳۴۴	G	.	A	.	.	A	A	.	.
۲۱	۳۴۵	T	.	C	.	.	.	.	.	.
۲۲	۳۵۴	T	.	C	.	.	.	.	.	.
۲۳	۳۷۴	T	.	C	.	.	C	C	C	.
۲۴	۳۹۳	T	.	C	.	.	.	.	.	.
۲۵	۳۹۶	T	.	C	.	.	.	.	.	.
۲۶	۳۹۷	G	.	A	.	.	A	A	.	.
۲۷	۳۹۸	C	T	.	T	T	.	T	T	.
۲۸	۴۰۴	T	C	.	.	.	.	.	.	.
۲۹	۴۰۷	G	.	.	A	A	.	A	A	.
۳۰	۴۱۶	A	.	.	.	.	.	G	.	.
۳۱	۴۳۴	T	.	.	.	.	.	.	C	.
۳۲	۴۴۳	A	.	G	G	G	G	G	G	G
۳۳	۴۶۶	C	T	T	T	T	T	T	.	T
۳۴	۴۶۷	T	.	.	C	.	.	C	.	.
۳۵	۴۶۹	C	.	.	.	.	.	T	T	.
۳۶	۵۰۷	T	.	.	.	.	.	C	.	.
۳۷	۵۴۳	A	G	G	G	G	G	G	G	G
۳۸	۵۷۲	A	.	G	.	.	.	.	.	.
۳۹	۶۵۶	C	.	.	.	.	.	T	.	.
۴۰	۷۸۲	G	.	A	.	.	A	.	.	.
۴۱	۷۸۷	C	A	.	.	.	.	.	.	.
۴۲	۸۵۹	A	G	.	G	G	.	G	G	G

موقعیت

گونه که در شکل (۲) ملاحظه می‌شود بز عدنی در کنار نژاد عفار^۳ از کشور اتیوپی قرار گرفته است. لذا بز عدنی احتمالاً با نژاد عفار قرابت ژنتیکی بالایی دارد و از آنجایی که استان بوشهر در کنار خلیج فارس و دریای عمان قرار دارد و از نظر جغرافیایی و بر اساس نقشه جهانی این دریاها به خلیج عدن متصل می‌شوند لذا نتیجه گرفته می‌شود که منشأ بز عدنی بوشهر به خلیج عدن برمی‌گردد. این نتایج به دلایل ذیل منطقی می‌باشد: ۱- با توجه به مطالعات پیشین سایر محققین، انتقال گسترده بزها در طول مهاجرت‌های انسانی در زمان‌های قدیم، رایج بوده است (Chen et al. 2005; Luikart et al. 2001; Ghavami et al. 2016). ۲- کشور اتیوپی نیز در جنوب غربی خلیج عدن واقع شده است. مطابق با این نتایج (Seyedsharifi and Badbarin 2019) از سیتوکروم اکسیداز I جهت رسم درخت فیلوژنتیک استفاده کرده و نشان دادند که نژاد عدنی از دیگر نژادهای کشورهای همسایه همچون پاکستان و چین و عربستان جداست و در خوشه جداگانه‌ای قرار می‌گیرد.

روابط فیلوژنتیکی و تعیین هاپلوگروه بز عدنی

برای تعیین هاپلوگروه بز عدنی، توالی مورد توافق و توالی‌های استخراج شده از NCBI بر اساس کد دسترسی‌های مربوط به هاپلوگروه‌های A, B, C, D, E, F و G استفاده شد.



شکل ۲- درخت فیلوژنی به روش Nj بر اساس ناحیه HVR1 توالی‌های به‌دست آمده از بانک ژن

تنوع میتوکندریایی و ساختار فیلوژنتیکی بزهای اهلی چینی از طریق تعیین توالی قطعه ۴۸۱ جفت‌بازی HVR1 میتوکندری بررسی شد. از ۳۶۸ نمونه توالی HVR1 نواحی کنترل میتوکندریایی به‌دست آمده، هیچ حذف و اضافه‌ای وجود نداشت. توالی‌های HVR1 تا اندازه زیادی چندشکل بود و از توالی‌های ۳۶۸ فرد، ۱۴۶ هاپلوتیپ با ۱۱۹ جایگاه متفاوت مشخص شد (Chen et al. 2005). تعداد بالای هاپلوتیپ در مقایسه با تعداد کل توالی‌ها نشان‌دهنده تنوع بالا در توالی‌های مورد مطالعه بود. این تنوع بالای هاپلوتیپی در ناحیه HVR 1 قبلاً در بزهای هندی نیز گزارش شده است (Joshi et al. 2004). بنابراین نتایج این تحقیق یعنی تنوع هاپلوتیپی ۰/۹۵ و تعداد بالای هاپلوتیپ‌ها در بز عدنی تا حدود زیادی مشابه تحقیقات یاد شده در بزهای هندی و چینی بود و دلالت بر تنوع بالا در جمعیت بز عدنی ایران است. تنوع نوکلئوتیدی نیز برابر ۰/۱۲۳ به‌دست آمد که در محدوده متوسط تنوع نوکلئوتیدی یوکاریوت‌ها که بین ۰/۰۰۲ تا ۰/۰۱۹ می‌باشد قرار دارد (Nei and Kumar 2000).

میانگین ترکیب بازهای توالی HVR1 منطقه کنترل در نمونه‌ها شامل: ۳۰/۲ درصد آدنین، ۲۴/۸ درصد سیتوزین، ۲۸/۸ درصد تیمین و ۱۶/۲ درصد گوانین بود. این نتیجه با نتایج سایر محققین مشابه است. زیرا بر اساس مطالعات پیشین، منطقه کنترل در mtDNA مربوط به زیرخانواده بزسانان^۱ مانند همه زوج سمان^۲ (گاو، گوسفند بز، خوک) و دیگر گونه‌های پستانداران از جمله موش (Bibb et al. 1981)، الاغ (Xu et al. 1996) و نهنگ (Arnason et al. 1991) از نظر مقدار A/T غنی می‌باشد. اما در مورد پریمات‌ها (Foran et al. 1988) مانند خوک آبی (Arnason and Rand 1992) و خرگوش (Mignotte et al. 1990)، منطقه کنترل دارای مقدار A/C بالایی می‌باشد (Sultana and Mannen 2004; Chen et al. 2005).

روابط فیلوژنتیکی و تعیین منشأ بز عدنی بر اساس ناحیه کنترل به‌منظور بررسی روابط فیلوژنتیکی نژادهای مورد مطالعه، نمودار درختی با استفاده از توالی‌های هم‌ردیف شده، رسم شد. همان

^۱ Caprine

^۲ Artiodactyla

^۳ Afar

چندشکلی‌ها مربوط به هاپلوگروه B و C بوده و ۹۳ مورد مربوط به هاپلوگروه A بود.

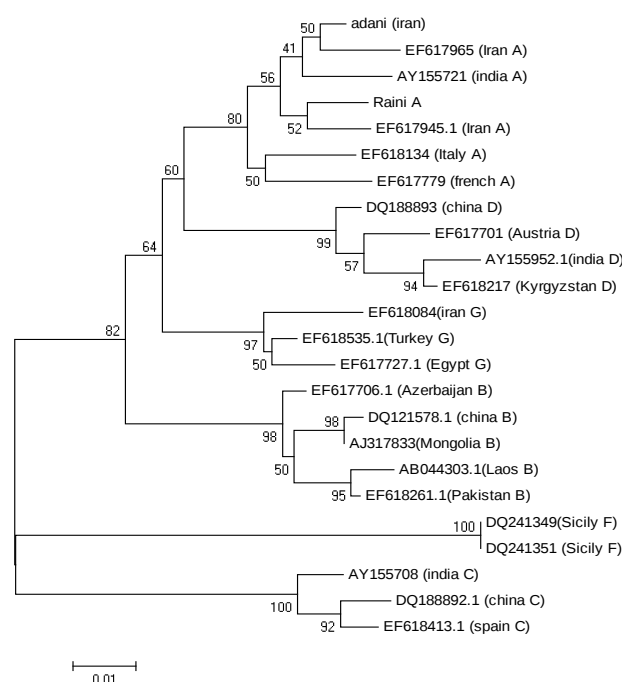
مقایسه توالی ناحیه D-Loop بز عدنی باتوالی‌های مربوط به هاپلوگروه‌های مختلف، این نژاد با کد دسترسی‌های مربوط به هاپلوگروه A در یک گروه قرار گرفت. یافته‌های این تحقیق نیز گسترش جهانی هاپلوگروه A و تنوع بیشتر این هاپلوگروه را تأیید می‌کند (Doro et al. 2014).

مطالعات محققین تاکنون نشان داده است که ساختار جغرافیایی مشخصی در بین نژادهای بز وجود ندارد و این مسئله احتمالاً به دلیل انتقال گسترده بزها در طول مهاجرت جمعیت بشری در زمان‌های قدیم بوده است (Chen et al. 2005; Ghavami et al. 2016). تنوع هاپلوتیپی برابر ۰/۹۵۴ و تنوع نوکلئوتیدی برابر ۰/۱۲۳ در این آزمایش به دست آمد که با نتایج بقیه محققین هم‌خوانی دارد.

مطابق با این نتایج در تحقیقی که به بررسی تنوع ژنتیکی سیتوکروم b بز عدنی پرداخته شده بود میزان تنوع هاپلوتیپی و تنوع نوکلئوتیدی به ترتیب مساوی ۵۷/۰ و ۰۰۲/۰ به دست آمد که نشان‌دهنده تنوع بالا در جمعیت بز عدنی بود (Rohipoor et al. 2020).

در تحقیقی ساختار ژنتیکی و تجزیه فیلوژنتیکی جمعیت بز خلخال با استفاده از ژنوم کامل میتوکندری در بز خلخال بررسی شد. تنوع هاپلوتیپی و نوکلئوتیدی در بز خلخال به ترتیب ۰/۸۳۴ و ۰/۰۰۸ به دست آمد که نشان می‌داد تنوع ژنتیکی در این نژاد زیاد است (Hedayat Evrigh et al. 2017). در تحقیق دیگری تنوع ژنتیکی با استفاده از اطلاعات میتوکندری در بزهای محلی کره، بررسی شد. در این مطالعه، بز محلی کشور کره به صورت ۶ هاپلوتیپ گروه‌بندی شدند و همه بزهای کره‌ای به تبار مادری A تعلق داشتند و فواصل ژنتیکی خیلی کوچک درون این جمعیت تشخیص داده شد که در مقایسه با دیگر کشورهای آسیایی از جمله چین، هند و پاکستان تفاوت‌های ژنتیکی کمی را نشان می‌داد. این نتایج نشان می‌داد که وضعیت همخوانی یا آمیزش‌های خویشاوندی در بزهای کره‌ای در سطح بالایی است و همین امر سبب کاهش تنوع ژنتیکی شده است (Odahara et al. 2006). همچنین بررسی تنوع ژنتیکی و ساختار فیلوژنتیکی بز مرخز با

سپس درخت فیلوژنی با روش NJ ترسیم شد و در نتیجه معلوم شد که بز عدنی در هاپلوگروه A قرار دارد (شکل ۳). این هاپلوگروه، بزرگ‌ترین هاپلوگروه در بین انواع هاپلوگروه‌های موجود در دنیا می‌باشد. درخت فیلوژنتیکی با روش NJ در شکل ۴ نشان می‌دهد که بز عدنی در کنار بزهای ایرانی و هندی به هاپلوگروه A تعلق دارد. مطالعات نشان داده که بیشتر نژادهای بز موجود در ایران در هاپلوگروه A قرار دارند (Rohipoor et al. 2014; Colli et al. 2020).



شکل ۳- درخت فیلوژنی به روش NJ براساس منطقه کنترل بز عدنی و ۲۲ توالی فرانس متعلق به هاپلوگروه A, B, C, D, E, F, G

بررسی انجام شده توسط (Sultana and Mannen 2004) بر روی ۳۰ رأس بز پاکستانی، نشان داد که همه افراد متعلق به تبار مادری A بودند. توپولوژی فیلوژنتیکی در بین تبارهای مادری (میتوکندریایی) در مطالعات قبلی گستردگی و پراکنش وسیع‌تر تبار A را نسبت به تبارهای B, C و D تأیید کرده است (Sultana et al. 2003; joshi et al. 2004). برای بررسی تنوع داخلی هاپلوگروه A و گسترش جهانی آن، توالی کامل ژنوم میتوکندریایی ۲۸ بز از نژاد ساردینی ایتالیا مطالعه شد و ۲۰۶ چندشکلی مربوط به ۳۰ توالی گزارش شد که ۱۱۳ مورد از این

به دلیل انتقال گسترده بزها در طول مهاجرت‌های انسانی در زمان‌های گذشته قابل توجه است.

سپاسگزاری

از مسئولین پژوهشی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان که بودجه این تحقیق را فراهم آورده‌اند تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

Arnason E and Rand DM (1992) Heteroplasmy of short tandem repeats in mitochondrial DNA of Atlantic cod, *Gadus morhua*. *Genetics* 132: 211-220.

Arnason U, Gullberg A, Widegren B (1991) The complete nucleotide sequence of the mitochondrial DNA of the Fin Whale, *Balaenoptera physalus*. *Journal of Molecular Evolution* 43: 556-568.

Bibb MJ, Van Etten RA, Wright CT, Walberg MW, Clayton DA (1981) Sequence and gene organization of mouse mitochondrial DNA, *Cell* 26: 167-180.

Chen SY, Su YH, Wu SF, Sha T, Zhang YP (2005) Mitochondrial diversity and phylo geographic structure of Chinese domestic goats. *Molecular Phylogenetic and evolution* 37: 804-814.

Colli L, Lancioni H, Cardinali I, Olivieri A, Capodiferro MR, Pellicchia M, Rzepus M, Zamani W, Naderi S, Gandini F, Vahidi SM, Agha S, Randi E, Battaglia V, Sardina MT, Portolano B, Rezaei HR, Lymberakis P, Boyer F, Coissac E, Pompanon F, Taberlet P, Ajmone Marsan P and Achilli A (2014) Whole mitochondrial genomes unveil the impact of domestication on goat matrilineal variability. *BMC Genomics* 16: 1115

Doro MG, Piras D, Leoni GG, Casu G, Vaccargiu S, Parracciani D, Novelletto A (2014) Phylogeny and patterns of diversity of goat mtDNA haplogroup A revealed by resequencing complete mitogenomes. *PLoS One* 9:e95969.

Foran DR, Hixson JE, Brown WM (1988) Comparison of ape and human sequences that regulate mitochondrial DNA transcription and D-loop synthesis. *Nucleic Acids Research* 16: 5841-5861.

Ghavami Sh, Naderi S, Imani Harsini J, Rezaei HR (2016) Phylogeography of Wild goat (*Capra aegagrus* Erxleben, 1777) with Using Mitochondrial DNA in Iran. *Journal of Animal Research* 30. (In Farsi).

Hassani MN, Asadi Fozì M, Esmailzadeh AK and Mohammadabadi MR (2010) A genetic analysis of growth traits in Raieni Cashmere goat using multivariate animal model. *Iranian Journal of Animal Science* 41: 323-329 (In Farsi).

استفاده از توالی‌های HVR1 از منطقه D-Loop میتوکندری نشان داد که تنوع ژنتیکی در این نژاد بالاست (Seyedabadi et al. 2016). نتایج فیلوژنتیکی ناحیه D-Loop نشان داد که بز عدنی با نژاد عفار از کشور اتیوپی قرابت ژنتیکی خیلی بالا دارد و از آنجایی که استان بوشهر در کنار خلیج فارس و دریای عمان قرار دارد و از نظر جغرافیایی و بر اساس نقشه جهانی این دریاها به خلیج عدن متصل می‌شود لذا می‌توان نتیجه گرفت که منشأ این نژاد به خلیج عدن در شمال شرقی کشور اتیوپی بر می‌شود و

Hedayat Evrigh N, Karimi V, Seyed Sharifi R, Nikbin S (2017) Invetigation of genetic structure of Khalkhali goat using mitochondrial genome. *Modern Genetic Journal* 12: 217-227 (In Farsi).

Joshi MB, Rout PK, Mandal AK, Tyler-Smith C, Singh L, Thangaraj k (2004) Phylogeography and origin of Indian domestic goats. *Molecular Biology and Evolution* 21: 454-462.

Luikart G, Gielly L, Excoffier L, Vigne JD, Bouvet J, Taberlet P (2001) Multiple maternal origins and weak phylogeographic structure in domestic goats. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 98: 5927-5932.

Mignotte FM, Gueride M, Champagne AM, Mounolou JC (1990) Direct repeats in the non-coding region of rabbit mitochondrial DNA: involvement in the generation of intra and inter-individual heterogeneity. *European Journal of Biochemistry* 194: 561-571.

Naderi S, Rezaei HR, Taberlet P, Zundel S, Rafat SA, Naghash HR, Elbarody MA, Ertugrul O (2007) Large-scale mitochondrial DNA analysis of the domestic goat reveals six haplo-groups with high diversity. *PLoS One* 2: e1012.

Nei M. and Kumar S (2000) *Molecular evolution and phylogenetics*. Oxford University Press.

Odahara S, Chung HJ, Choi SH, Yu SL, Sasazaki S, Mannen H, Park CS, Lee JH (2006) Mitochondrial DNA diversity of Korean native goats. *Asian Australasian Journal of Animal Sciences* 19: 482.

Reicher S, Seroussi E, Weller J I, Rosov A, Gootwine A (2012) Ovine mitochondrial DNA sequence variation and its association with production and reproduction traits within an Afec-Assaf flock. *Journal of Animal* 90: 2084-2091.

Rohipoor M, Nazari M and Beigi Nassiri M.T (2020) Genetic and Phylogenetic Analysis of Adani Goat Population Based on Cytochrome B Gene. *Research on Animal Production* 10: 84-89.

Rozas J, Ferrer-Mata A, Sánchez-DelBarrio JC, Guirao-Rico S, Librado P, Ramos-Onsins SE, Sánchez-Gracia A (2017) DnaSP 6: DNA Sequence Polymorphism Analysis

of Large Datasets. *Molecular Biology Evolution* 34: 3299-3302.

Saitou N and Nei M (1987) The neighbor joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology Evolution* 4: 406-425.

Sardina MT, Ballester M, Marmi J, Finocchiaro R, Van Kaam JB, Portolano B, Folch JM (2006) Phylogenetic analysis of Sicilian goats reveals a new mtDNA lineage. *Animal Genetics* 37: 376-378.

Seyedsharifi R and Badbarin N (2019) Phylogenetic analysis of COXI region in some breeds of Iranian goats. *Journal of Animal Environment* 11: 119-124.

Seyedabadi HR, Pahlevan Afshari K, Abdolmaleki M (2016) Mitochondrial diversity and phylogenetic structure of Marghoz goat population. *Iranian Journal of Applied Animal Science* 6: 679-684.

Shamsalddini S, Mohammadabadi MR and Esmailizadeh AK (2016) Polymorphism of the prolactin gene and its effect on fiber traits in goat. *Russian Journal of Genetics (Genetika)* 52: 461-465.

Sultana S, Mannen H (2004) Polymorphism and evolutionary profile of mitochondrial DNA control region inferred from the sequences of Pakistani goats. *Animal Science Journal* 75: 303-309.

SultanaS, Mannen H, Tsuji S (2003) Mitochondrial DNA diversity of Pakistani goats. *Animal Genetics* 34: 417-421.

Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipski A, Kumar S (2013) MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular Biology Evolution* 30: 2725-2729.

Tohidi nezhad F, Mohammadabadi MR, Esmailizadeh AK and Najmi Noori A (2015) Comparison of different levels of Rheb gene expression in different tissues of Raini Cashmir goat. *Agricultural Biotechnology Journal* 6: 35-50 (In Farsi).

Wilson AC, Cann, RL, Carr SM, George M, Gyllensten UB, Helm-Bychowski KM, Higuchi RJ, Palumbi SR, Prager EM, Sage RD, Stoneking M, (1985) Mitochondrial DNA and two perspectives on evolutionary genetics. *Biological Journal of the Linnean Society* 26: 375-400.

Xu X, Gullberg A, Arnason U (1996) The complete mitochondrial DNA (mtDNA) of the donkey and mtDNA comparisons among four closely related species-pairs. *Journal of Molecular Evolution* 43: 438-446.