ژنتیک نوین
دوره چهاردهم، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۸
صفحه ۲۱۹ -۲۱۱

آنالیز ژنتیکی و فیلوژنتیکی ناحیه‌ی HVR1 میتوکندری در سه نژاد گوسفند ایرانی

Genetic and phylogenetic analysis of mitochondrial HVR1 region in three breeds of Iranian sheep

غزال محمدی اهوازی[۱]، محمودنظری*[۱]، محمدرضا محمدآبادی[۲]، راضیه حیدری[۳]

۱- به‌ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد، استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران
۲- استاد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران
۳- استادیار، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، ایران

Mohamadi Ahvazi Gh[1], Nazari M*[1], Mohamadabadi MR[2], Heidari R[3]

1. MSc Student, Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Animal science and 1-Food Technology, Agricultural Science and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran
2. Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran
3. Assistant Professor, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Iran

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

(تاریخ دریافت: ۹۷/۱۱/۱۳ - تاریخ پذیرش: ۹۸/۹/۲۷)

چکیده

هدف از انجام این پژوهش توالی‌یابی ناحیه بسیار متغیر D-loop میتوکندری (HVR1) در سه نژاد گوسفند ایرانی (لری، لری‌بختیاری و عربی) به‌منظور بررسی تنوع ژنتیکی و فیلوژنتیکی بین نژادهای مذکور و هم‌چنین بررسی ارتباط مادری این نژادها با سایر نژادهای جهانی بود. آنالیز فیلوژنیک با استفاده از یک قطعه ٦٢٣ نوکلئوتیدی نواحی بسیار متغیر D-loop میتوکندری (HVR1) از ۳۳ راس گوسفند بومی خوزستان (شامل ۱۲ راس گوسفند عربی، ۱۱ راس گوسفند لری و ۱۰ راس گوسفند لری‌بختیاری) انجام شد. پس از استخراج DNA، ناحیه HVR1 میتوکندری با استفاده از PCR تکثیر شد. سپس محصولات PCR توالی‌یابی و آنالیز نتایج با استفاده از نرم‌افزارهای بیوانفورماتیکی انجام گرفت. درخت فیلوژنتیک نشان داد که نژاد لری و عربی متعلق به گروه هاپلوتایپی B و نژاد لری‌بختیاری متعلق به گروه هاپلوتایپی A می‌باشند که این موضوع می‌تواند به‌دلیل متفاوت بودن خاستگاه زیستی این نژادها باشد. جدول تجزیه واریانس مولکولی تنوع بین جمعیتی را ٤ درصد و تنوع درون جمعیتی را ٩٦ درصد محاسبه نمود. هم‌چنین، بیش‌ترین و کم‌ترین تنوع هاپلوتیپی در نژاد عربی و لری به‌ترتیب ۰/۹۵ و ۰/٦۱ محاسبه شد. بعلاوه، مقدار F_{ST} محاسبه شده شان داد که بین گوسفند لری و لری‌بختیاری بیش‌تر (۰/۱٤٦) و بین نژاد عربی و لری کم‌تر (۰/۰۰۹) تفاوت ژنتیکی وجود دارد. نتایج نشان‌دهنده وجود تنوع بالا در این نژادهاست و این موضوع می‌تواند در اصلاح نژاد و پرورش این دام‌ها تاثیرگذار باشد.

واژه‌های کلیدی

تنوع
لری و لری بختیاری
میتوکندری
نژادهای عربی
HVR1

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2024-04-17]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1398.14.3.3.1]

مقدمه

تنوع موجود در ذخایر ژنتیکی حیوانات امکان بقا و حیات آن‌ها در یک محدوده وسیع و گسترده را امکان پذیر می‌کند. اهلی کردن گوسفند حدود ۱۰۰۰۰- ۱۱۰۰۰ سال پیش در منطقه گسترده‌ای از کوه‌های زاگرس شمالی ایران تا جنوب شرقی آناتولی ترکیه رخ داده است. آسیای صغیر و منطقه خاورمیانه ارتباط جغرافیایی مهمی بین قاره آسیا و اروپا ایجاد می‌کند. به این دلیل گونه‌های این مناطق سطح بالایی از جریان ژن، اختلاط و تمایز در طول زمان اهلی شدن را منعکس می‌کنند (Meadows et al. 2011). گوسفند به لحاظ اقتصادی یکی از حیوانات اهلی مهم در ایران و هم‌چنین در سایر نقاط جهان است (Guo et al. 2005). خصوصیات ژنتیکی نژادهای مختلف گوسفند، اولین گام برای جمع آوری اطلاعات پایه (مبنا) برای بهبود راندمان تولید در این صنعت است.در بررسی‌های مربوط به مبدا و زیستگاه بسیاری از گونه‌ها مانند گاو، اسب، گوسفند و ... می‌توان از ژنوم میتوکندری استفاده کرد (Chen et al. 2005). از آنجایی‌که DNA میتوکندریایی تنوع هاپلوتیپی را در بین گونه‌ها نشان می‌دهد، می‌تواند ابزاری مفید برای تعیین روابط فیلوژنتیکی در سطح گونه باشد (Avise et al. 1987).

میتوکندری یک اندامک درون سلولی حیوانی دارای دی‌انآ است، نرخ جهش بالا و سیر تکاملی آن ۵ تا ۱۰ برابر سریعتر از دی‌انآ سلولی است (Reicher et al. 2012; Colombo et al. 2004). جایگاه ژنوم میتوکندری در ماده زمینه‌ای یا چسبیده به غشای داخلی آن است و بیش‌تر از طریق سیتوپلاسم اووسیت به ارث می‌رسد (Gyllensten et al. 1991). تعداد نوکلِوتیدهای ژنوم میتوکندری حدود ۱٦٦۱٦ گزارش شده‌است (Hiendleder et al. 1998) که دارای دو ناحیه کدکننده و غیرکدکننده می‌باشد (Wang et al. 2007).

در گونه‌های جانوری ژنوم میتوکندریایی ۳۷ژن را کد می‌کند که شامل ۱۳ ژن کدکننده زنجیره تنفسی، ۲۲ ژن کدکننده tRNA و ۲ ژن کدکننده rRNA می‌باشد (Zhao et al. 2004). کدکردن tRNA و rRNA نشان‌دهنده سنتز پروتئین در میتوکندری است (Wallce 1992). میتوکندری دارای دی‌انآی حلقوی اختصاصی می‌باشد و حاوی ناحیه بسیار متغیر به‌نام Displacement-loop یا D-loop است که پروتئینی کد نمی‌کند و با فرکانس بسیار زیادی حدود ۱۰ برابر دی‌انآ هسته‌ای تمایل به جهش دارد. چون این ناحیه ژن رمز کننده پروتئین ندارد (Jazin et al. 1998) در نتیجه جهش می‌تواند در آنجا تجمع یابد. این ناحیه همانندسازی را به‌وسیله تنظیم فعالیت پروتئین‌ها و آنزیم‌های مختلف که به‌وسیله ژن‌های هسته کد می‌شوند، کنترل می‌کند. این توالی در گونه‌های مختلف بسیار متفاوت است و دارای دو ناحیه بسیار متغیر HVR1 و HVR2 است (Sultana and Mannen 2004). دی‌انآی میتوکندری تنها از طریق مادر منتقل می‌شود و به‌خاطر سیر تکاملی سریع آن، این توالی در بررسی تنوع ژنتیکی و ارزیابی روابط بین گونه‌ها بسیار ارزشمند است. توالی دی‌انآ میتوکندری تنها در اثر جهش‌های تصادفی اشتباهات در کپی‌برداری تغییر می‌کند اگر این جهش‌ها به میزان نسبتا ثابتی وجود داشته باشند، با مقایسه‌ی بین دی‌انآ دو جمعیت می‌توان وجود وجه مشترک میان آن‌ها و هم‌چنین فاصله نسلی را بررسی کرد.

مطالعات متعددی با استفاده از این روش صورت گرفته است که از این میان می‌توان به مطالعه قسمتی از توالی منطقه بسیار متغیر (HVR1) دی‌انآ ی میتوکندری در گوسفند مغانی ایران (Mohammad Hashemi et al. 2012)، تجزیه و تحلیل منطقه D-loop میتوکندری گوسفندان بومی ایران (Rafia and Tarang 2016)، تنوع ژنتیکی گوسفندان وحشی و اهلی غرب کشور با استفاده از بررسی دی‌انآ میتوکندری (Gohari 2011)، آنالیز ژنتیکی وفیلوژنتیکی ناحیه HVR1 ژنوم میتوکندری در شش نژاد گوسفند بومی (Sajjadi Zarjani et al. 2016)، روابط ژنتیکی میان نژادهای گوسفند شین بش، قزل، هرکی، شال و زندی با استفاده از دی‌انآ میتوکندری و مارکرهای ریزماهواره (Javanroh Aliabad et al. 2014)، بررسی ناحیه ژنوم میتوکندری گوسفندان ایرانی (Javadmanesh et al. 2017)، بررسی ناحیه HVR1 از ژنوم میتوکندری در گوسفندان شال و سنگسری ایران (Mohammad Hashemi et al. 2011)، تنوع ژنتیکی و فیلوژنتیکی ناحیه D-loop میتوکندری در نژاد گوسفند وحشی و گوسفند کرمانی (Dehghani et al. 2017) و شناسایی دو مرحله مهاجرت در تاریخ گوسفند اوراسیای شرقی (Lv et al. 2016) اشاره کرد.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2024-04-17]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1398.14.3.3.1]

هدف از انجام این پژوهش توالی‌یابی ناحیه HVR1 از D-loop ژنوم میتوکندری در سه نژاد گوسفند ایرانی (لری، لری‌بختیاری و عربی) به‌منظور بررسی تنوع ژنتیکی و فیلوژنتیکی بین نژادهای مذکور و هم‌چنین بررسی ارتباط مادری این نژادها با سایر نژادهای جهانی بود.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش، نمونه‌های خون از ورید وداج ۳۳ راس گوسفند (نژاد عربی ۱۲ نمونه، لری ۱۱ نمونه و لری‌بختیاری ۱۰ نمونه) از نقاط مختلف استان خوزستان گرفته شد. جهت استخراج DNA از از کیت Sinaclon/pure DNA PREP 50 استفاده شد. برای تعیین کیفیت DNA استخراج شده از ژل اگارز یک درصد استفاده شد. برای تکثیر ناحیه HVR1 از D-loop ژنوم میتوکندری به‌طول ٦٢٣ جفت‌باز، از یک جفت آغازگر معرفی شده در جدول ۱ استفاده شد (Sajjadi Zarjani et al. 2016).

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر و ۳۵ چرخه با استفاده از یک جفت آغازگر و با ترکیب ۱۲/۵ میکرولیتر Master Mix ۱/۵، 2 میکرولیتر نمونه DNA، ۵/۸ میکرولیتر آب استریل و آغازگرهای رفت و برگشت هرکدام ۱ میکرولیتر انجام شد. برنامه حرارتی شامل دمای واسرشته‌سازی اولیه ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، دمای واسرشته‌سازی ثانویه ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵۰ ثانیه، دمای اتصال ۵۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵۰ ثانیه، دمای تکثیر ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه و دمای تکثیر نهایی ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه بود. واکنش PCR در دستگاه ترموسایکلر PeQLab 2x Gradient انجام شد. کیفیت محصولات PCR با استفاده از ژل آگارز ۲ درصد و الکتروفورز سنجیده شد. به این صورت که ٤ میکرولیتر از محصول PCR را با ۱ میکرولیتر بافر بارگذاری مخلوط کرده و در چاهک‌ها ریخته شد. هم‌چنین مقدار ۲ میکرولیتر مارکر ۱۰۰ جفت‌بازی در یکی از چاهک‌های ژل بارگذاری شد. الکتروفورز محصولات PCR به مدت ۱ ساعت و ۵۰ دقیقه با ولتاژ ۱۱۰ ولت انجام شد.

در نهایت بعد از بررسی همه نمونه‌ها بر روی ژل افقی، برای تعیین توالی، تک تک نمونه‌ها به شرکت تکاپوزیست و از آن‌جا به خارج از کشور فرستاده شد. طول قطعه تکثیر، bp ٦٢٣ بوده، که بعد از ویرایش یک توالی مورد توافق به طول bp ٥٦٨ به‌دست آمده شد.

پس از تعیین توالی نمونه‌ها به روش سانجر توسط شرکت تکاپوزیست، جهت ویرایش توالی‌ها و تعیین پارامترهای مختلف ژنتیکی به‌ترتیب از نرم‌افزارهای Bio edit و DNAsp استفاده شد. هم‌چنین جهت برآورد پارامترهایی ژنتیک جمعیت نظیر AMOVA از نرم‌افزار بیوانفورماتیکی Gen Alex 6.3 استفاده شد. در نهایت توالی مشترک هر سه نژاد مورد مطالعه را با استفاده از نرم‌افزار Vector NTI 11 به‌دست آورده شد و با نژادهای موجود در بانک NCBI هم‌ردیف و در نهایت درخت فیلوژنتیک حاصل توسط نرم‌افزار MEGA6 رسم شد. درخت‌های فیلوژنتیک با استفاده از روش پیوند همجواری (NJ) با ۱۰۰۰ بوت‌استرپ، توسط نرم‌افزار MEGA6 ترسیم شدند.

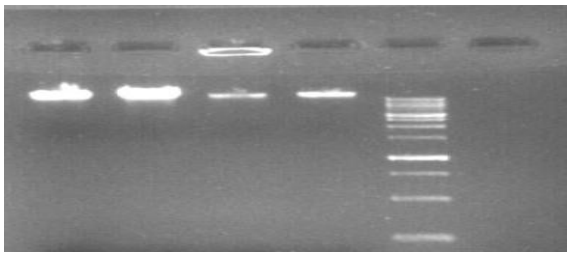
نتایج و بحث

استخراج DNA از تمام نمونه‌ها با موفقیت صورت گرفت. درخشندگی و وضوح باندها به‌علت غلظت زیاد DNA در محلول استخراج شده می‌باشد (شکل ۱). الکتروفورز محصولات تکثیر شده بر روی ژل آگارز ۲ درصد نشان داد که آغازگر به‌خوبی فعالیت نموده و قطعه اختصاصی را برای تمامی نمونه‌ها به‌خوبی تکثیر نموده است (شکل ۲).

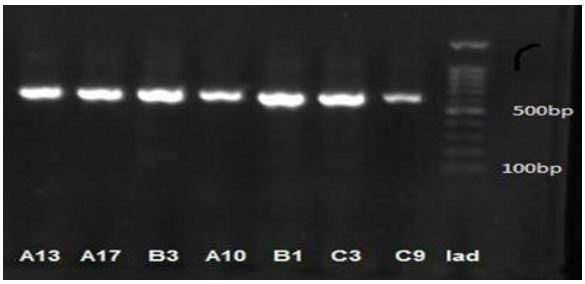
جدول ۱- توالی آغازگرهای مورد استفاده برای تکثیر ناحیه HVR1 از D-loop میتوکندری

	توالی آغازگر	اندازه محصول (جفت‌باز)	دمای اتصال (درجه سانتی‌گراد)
Hvr1	F:CTTGACCGTACATAGTACATG	٦٢٣	٥٥
Hvr1	R: TTATGTATGTGACCCAGGTG		

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2024-04-17]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1398.14.3.3.1]



شکل ۱- نتایج استخراج DNA بر روی ژل آگارز.



شکل ۲- نتیجه تکثیر قطعه D-loop روی ژل آگارز.

از ٥٦٨ جایگاه موجود در توالی جمعیت گوسفند عربی تعداد ۲۰ جایگاه پلی مورفیک (Polymorphic) و ٥٤٨ جایگاه مونومورفیک (Monomorphic) به‌دست آمد. مجموع جهش‌ها ۲۰ و تعداد هاپلوتیپ‌های به‌دست آمده ۹ عدد بود. در جدول ۲ هاپلوتیپ‌های نژاد عربی آورده شده‌است. هم‌چنین تنوع ژنی یا هاپلوتیپی و واریانس تنوع هاپلوتیپی مورد بررسی قرار گرفت که به‌ترتیب مقدار ۰/۹۵۵ و۰/۰۰۲۱۸ به‌دست آمد. در طی بررسی توالی‌های نژاد عربی هیچ جایگاه حذف و اضافه (In Del) مشاهده نشد. تنوع نوکلئوتیدی ۰/۰۱۲٤۸ و انحراف استاندارد تنوع هاپلوتیپی و میانگین اختلاف نوکلئوتیدی (K) به‌ترتیب ۰/۰٤۷ و ۷/۰۹۱ محاسبه شد. همچنین جایگاه متنوع مرکب (Parsimony) و میانگین تعداد اختلاف نوکلئوتیدها (Tajimas'D) به ترتیب ۱۱ و ۰/۳۱۰٤۸ به‌دست آمد.

ازکل ٥٦٨ جایگاه مورد بررسی در نژاد گوسفند لری ۲۰ جایگاه پلی‌مورفیک (Polimorphic)، ٥٤٨ جایگاه مونومورفیک (Monomorphic)، ۱۱ جایگاه متنوع مرکب (Parsimony) و تعداد ۲۱ جهش مشخص شد. علاوه‌براین در طی بررسی نژاد مذکور تعداد ۵ هاپلوتیپ به‌دست آمد. در جدول ۳ هاپلوتیپ‌های به‌دست آمده از نژاد گوسفند لری آورده شده‌است. تنوع ژنی یا هاپلوتیپی ۰/٦۱۸ و واریانس تنوع هاپلوتیپی ۰/۰۲۷۰۱ محاسبه شد. هم‌چنین در نژاد گوسفند لری هیچ جایگاه حذف یا اضاف (InDel) مشاهده نشد. تنوع نوکلئوتیدی، انحراف استاندارد تنوع هاپلوتیپی و میانگین اختلاف نوکلئوتیدی (K) به‌ترتیب ۰/۰۱۱۲۳، ۰/۱٦٤ و ٦/۱٤٥ به‌دست آمد. هم‌چنین میانگین تعداد اختلاف نوکلئوتیدها (Tajimas'D) در جمعیت نژاد مذکور۰/٦٤۹۳۲- برآورد شد.

جدول ۲- هاپلوتیپ‌های به‌دست آمده از گوسفند نژاد عربی

	6	12	14	18	66	67	71	103	117	126	179	187	363	371	381	400	411	415	424	516
1	G	T	T	T	C	A	A	T	C	C	C	C	T	G	G	C	T	C	G	C
2	A	.	C	C	T	G	G	C	T	T	T	T	.	.	.	T	C	T	A	T
3	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.
4	A	C	.	C	T	G	.	.	T	.	T	T	C	.	.	.	C	.	A	.
5	A	C	.	C	T	G	.	.	T	.	T	T	.	.	.	.	C	.	A	.
6	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
7	A	C	.	C	T	G	.	.	T	.	T	T	.	.	.	.	C	.	A	.
8	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
9	A	C	.	C	T	G	.	.	T	.	T	T	.	.	.	T	C	.	A	.
10	A	C	.	C	T	G	.	.	T	.	T	T	.	.	.	T	C	.	A	.
11	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	A	A	.	.	.	.	.
12	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.

رنگ‌های مشابه درون جدول یک نوع هاپلوتیپ را نشان می‌دهد.

از ٥٦٨ جایگاه مورد بررسی ۱۳ جایگاه پلی‌مورفیک (Polimorphic)، ٥٥٥ جایگاه منومورفیک (Monomorphic) و تعداد ۹ جایگاه متنوع مرکب (Parsimony) مشخص شد. هم‌چنین مجموع ۱۳ جهش و ۷ هاپلوتیپ در نژاد مذکور به‌دست آورده شد. هاپلوتیپ‌های نژاد گوسفند لری‌بختیاری در جدول ٤ آورده شده‌است. تنوع ژنی یا هاپلوتیپی و واریانس تنوع هاپلوتیپی به‌ترتیب ۰/۹۱۱۱ و ۰/۰۰٥۹۸ برآورد شد. در طی بررسی توالی‌های نژاد لری‌بختیاری هیچ جایگاه حذف یا اضافه (InDel) مشاهده نشد. همچنین تنوع نوکلئوتیدی و انحراف استاندارد تنوع هاپلوتیپی به‌ترتیب ۰/۰۰۹٥۹ و ۰/۰۷۷ محاسبه شد. میانگین اختلاف نوکلئوتیدی (K) و میانگین تعداد اختلاف نوکلئوتیدها (Tajimas'D) در جمعیت مورد بررسی به‌ترتیب ٥/۲٤٤ و ۰/٦٤۲۷۹ به‌دست آمد.

نتایج بررسی پارامترهای ژنتیکی نشان داد که تنوع هاپلوتیپی گوسفند عربی از نژاد لری و لری‌بختیاری بیش‌تر است همانطور که در قسمت‌های قبلی گفته شد تنوع هاپلوتیپی گوسفند عربی ۰/۹٥ به‌دست آمد. کم‌ترین مقدار تنوع هاپلوتیپی مربوط به گوسفند لری (۰/٦۱۸) می‌باشد.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2024-04-17]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1398.14.3.3.1]

با بررسی توالی سه نژاد گوسفند عربی، لری و لری‌بختیاری مشخص شد که بیش‌ترین باز آلی به کار رفته در قطعه مورد بررسی تیمین با میانگین ۳۰/۷ و کم‌ترین باز آلی، گوانین با میانگین ۱۶/۹ بوده است. هم‌چنین جهش‌ها اکثرا از نوع جایگزینی T→C بودند. نسبت جهش‌های جایگزینی انتقال به تقاطع در ژنوم میتوکندری سه نژاد مورد مطالعه بیشتر بود و این نسبت نزدیک به ۹۰ درصد مشخص شد. در این مطالعه جهش‌های جایگزینی انتقال بیش‌تری نسبت به تقاطع در ناحیه مورد سنتز مشخص شد که این نتایج با نتایج تحقیقات Sajjadi Zarjani et al. (2016) Galtier et al. (2006) مطابقت داشت. با بررسی نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل واریانس مولکولی مشخص شد که تنوع درون جمعیت‌ها بسیار بالا و حدود ۹۶ درصد از تنوع کل را شامل می‌شود ولی تنوع بین جمعیت‌ها پایین بود و حدود ٤ درصد محاسبه شد (جدول ۵). نتایج به‌دست آمده از تجزیه و تحلیل واریانس مولکولی بین نژادهای گوسفند مورد مطالعه می‌تواند نشان دهنده این باشد که آمیزش‌های خویشاوندی، مهاجرت در بین جمعیت‌های مورد نظر و یا حتی وجود یک جریان ژنی بالا وجود داشته است (جدول ۵).

نتایج به‌دست آمده از برآورد F_{ST} نشان داد که گوسفند لری و لری‌بختیاری بیش‌ترین تنوع و تفاوت ژنتیکی را دارند و این مقدار برابر با ۰/۱٤٦ بود. هم‌چنین کم‌ترین مقدار F_{ST} با مقدار عددی ۰/۰۰۹ بین نژاد عربی و لری به‌دست آمد. نتایج نشان می‌دهد که احتمالا نژاد لری و لری‌بختیاری از هم دور نگه داشته شده‌اند و کمتر بین آن‌ها تلاقی صورت گرفته است.

جدول ٤- هاپلوتیپ‌های گوسفند نژاد لری‌بختیاری

جایگاه نمونه	6	12	18	66	67	71	179	187	214	371	400	411	424
1	A	C	C	T	G	A	T	T	A	G	C	C	A
2	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
3	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.
4	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.
5	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.
6	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
7	.	T	T	C	A	.	C	C	.	.	.	T	G
8	.	T	T	C	A	.	C	C	.	.	.	T	G
9	G	T	T	C	A	.	C	C	.	.	.	T	.
10	G	T	T	C	A	.	C	C	G	.	.	T	.

رنگ‌های مشابه درون جدول یک نوع هاپلوتیپ را نشان می‌دهد.

جدول ۵- تجزیه و تحلیل واریانس مولکولی در ۳ نژاد مورد مطالعه

منبع تغییر	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	مولفه های واریانس	درصد تغییرات
بین جمعیت ها	۲	۸/۷۹٤	٤/۳۹۷	۰/۱۱۵	٤٪
درون جمعیت ها	۳۰	۹۳/۹۹٤	۳/۱۳۳	۳/۱۳۳	۹٦٪
کل	۳۲	۱۰۲/۷۸۸	-	۳/۲٤۸	۱۰۰٪

هم‌چنین نتایج برآورد D_a نشان داد که گوسفند لری و عربی دارای نوکلئوتیدهای شبیه به هم و دارای کمترین جایگزینی نوکلئوتیدی (۰/۰۰۰۱۲) هستند. بیش‌ترین جایگزینی نوکلئوتیدی صورت گرفته (۰/۰۰۱۷۹) بین نژاد لری و لری‌بختیاری بوده است (جدول ٦).

درخت فیلوژنی سه نژاد گوسفند عربی، لری و لری‌بختیاری به‌همراه سایر گوسفندان موجود در جهان (JN574232.1, JN574282.1, KF677132.1, JN574270.1, KF677148.1, AY091498.1, AY091500.1, KX344417.1, KX344277.1, KX344229.1, AY829400.1, AY829416.1, AY829402.1, KF677254.1 and KJ026465.1) ترسیم شده است (شکل ٤). در ترسیم درخت فیلوژنی از الگوریتم NJ و ۱۰۰۰ بوت‌استرپ

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2024-04-17]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1398.14.3.3.1]

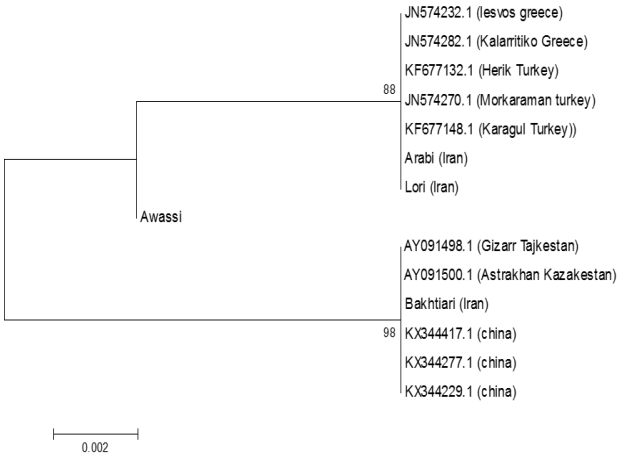
استفاده شد. نتایج رسم درخت فیلوژنتیک نشان داد که نژاد گوسفند عربی و نژاد گوسفند لری در یک شاخه قرار گرفتند که حاکی از بیش‌ترین تشابه در بین این دو نژاد است. احتمالا به‌علت پراکنش نزدیک دو نژاد گوسفند عربی و لری در استان خوزستان که فاصله نزدیکی جهت آمیزش این دو نژاد می‌باشد می‌تواند دلیلی بر قرار گرفتن این دو نژاد در یک زیرشاخه باشد.

هم‌چنین گوسفند نژاد لری‌بختیاری در شاخه‌ای دورتر از شاخه دو نژاد فوق قرار گرفت. همان‌طور که در شکل ٤ مشاهده می‌شود گوسفند نژاد لری‌بختیاری، تاجیکستان، چین و قزاقستان در یک گروه قرار گرفتند. قرار گرفتن نژاد لری‌بختیاری در گروه گوسفندان چینی می‌تواند به‌علت موقعیت کشور ایران در قدیم در مسیر جاده ابریشم باشد و ممکن است در گذشته کشور ایران به عنوان گذرگاهی برای عبور گوسفندان از آسیا به اروپا و آفریقا و یا برعکس بوده باشد (Sajjadi Zarjani et al. 2016).

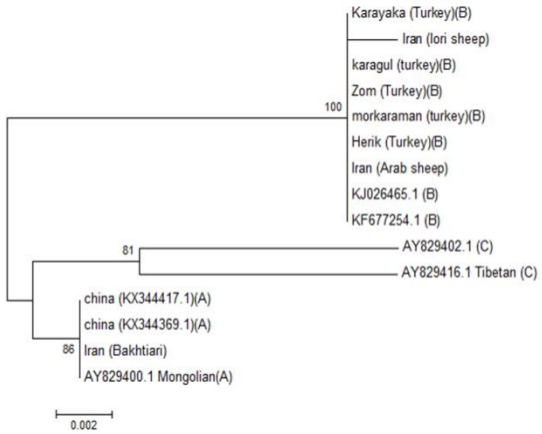
جدول٦- نتایج حاصل از تمایز ژنتیکی

جمعیت ۱	جمعیت ۲	G_{ST}	F_{ST}	D_{XY}	D_a
عربی	لری‌بختیاری	۰/۰۰۰۶۵	۰/۰۳۳۶۹	۰/۰۱۰۹۱	۰/۰۰۰۳۷
عربی	لری	۰/۰۵۹۲۳	۰/۰۰۹۵۲	۰/۰۱۲۲۲	۰/۰۰۰۱۲
لری‌بختیاری	لری	۰/۱۳۴۲۵	۰/۱۴۶۵۳	۰/۰۱۲۲۰	۰/۰۰۱۷۹

تاکنون در گوسفندان اهلی ۵ گروه هاپلوتایپی A، B، C، D و E تشخیص داده شده‌است. همانطورکه در شکل ۵ مشاهده می‌شود، نژاد گوسفند عربی و لری در دسته گروه گوسفندان ترکیه (B) و نژاد لری‌بختیاری در دسته گروه گوسفندان چینی (A) قرار گرفت. در مطالعه‌ای که قبلا توسط (Shafagh 2007) انجام شد گوسفند نژاد مغانی و گوسفند نژاد بلوچی در گروه هاپلوتایپی A قرار گرفتند، که گواهی بر تعلق گوسفندان ایرانی به این گروه هاپلوتایپی است. علاوه براین در تحقیقی که سجادی زرجانی در ٦ نژاد گوسفند بومی (مهربان، قره گل، کرمانی، لک قشقایی، قزل و بهمئی) انجام داد به این نتیجه رسید که کلیه گوسفندان مورد مطالعه به‌جز مهربان در گروه هاپلوتیپی A قرار گرفتند که گواه دیگری بر این مدعاست (Sajjadi Zarjani et al. 2016). هم‌چنین در تحقیقی که پیش‌تر توسط Mohammad Hashemi et al. (2011) بر روی نژادهای گوسفند بومی شال و سنگسری انجام داد مشخص شد که این نژادها در گروه هاپلوتیپی A قرار گرفتند که گواهی دیگر بر تایید تعلق بسیاری از گوسفندان ایرانی به این گروه هاپلوتیپی می‌باشد.



شکل ٤- درخت فیلوژنتیک رسم شده بر اساس توالی ناحیه HVR1 سه نژاد گوسفند ایرانی (لری، عربی و لری‌بختیاری) و سایر نژادها به روش NJ



شکل ٥- تعیین گروه‌های هاپلوتایپی با استفاده از روش NJ.

همچنین تحقیقی با هدف بررسی تنوع ژنوم میتوکندری توسط تاپیو و همکاران بر روی گوسفندان اروپایی، آسیایی و کاسکازین صورت گرفت که نتایج آن پژوهش این بود که بیش‌تر گوسفندان آسیایی در گروه هاپلوتیپی A (۲۲ درصد) و B (۷۱ درصد) قرار می‌گیرند (Tapio et al. 2006).

علاوه بر موارد فوق‌الذکر مطالعه‌ای در رابطه با مراحل مهاجرت در اوراسیای شرقی انجام شد. همانطورکه در شکل ٦ مشاهده

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2024-04-17]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1398.14.3.3.1]

می‌شود مسیر مهاجرت گوسفند از ترکیه به سمت اروپا و از طریق ایران به‌سمت چین صورت گرفته است که این به‌دلیل موقعیت کشور ایران در زمان قدیم و گذرگاهی برای عبور گوسفندان قابل توجیه است. یافته‌های آن‌ها نشان داد که منطقه فلات مغولی می‌تواند یک مرکز ثانویه پراکندگی باشد، که به‌عنوان یک مرکز حمل ونقل اروپایی به‌کار گرفته می‌شود. که گوسفندان از شرق میانه از طریق این منطقه به چین (خطوط A، B و C) و شبه قاره هند (C و B) مهاجرت می‌کردند. که این یافته‌ها توجیه دیگری بر صحت این مدعا می‌تواند باشد (LV et al. 2015).

شکل ٦- دو مرحله مهاجرت در تاریخ گوسفند اوراسیای شرقی.

با توجه به نقشه فوق نژادهای گوسفند ابتدا در نواحی کشور ترکیه ساکن بوده‌اند و بعد از آن به اروپا، آسیا و کشورهایی مانند چین مهاجرت صورت گرفته است. طبق نقشه علاوه‌بر مهاجرت اولیه یک مهاجرت ثانویه رخ داده است و گوسفندان از چین به نواحی شرق کشور ایران مهاجرت کردند. نتایج این تحقیق نشان داد که گوسفند لری‌بختیاری از شرق ایران وارد و در مناطق امروزی ساکن شده‌است. طبق نقشه فوق و دو مرحله مهاجرت صورت گرفته می‌تواند دلیلی دیگر بر صحت قرارگیری گوسفند لری‌بختیاری در گروه هاپلوتایپی A باشد. احتمالا این تفاوت ظاهری و قرارگیری نژادهای گوسفند لری‌بختیاری و لری در دو شاخه جدا را می‌توان در خاستگاه متفاوت قبایل لر و بختیاری جستجو کرد. منابع بسیاری وجود دارد که نشان می‌دهد قوم بختیاری از شرق ایران به طرف غرب ایران مهاجرت کرده‌اند و در باختر (کرمانشاه امروزی) ساکن شده‌اند، در حالی‌که قوم لر که در لرستان ساکن هستند از آسیای صغیر به طرف شمال ایران و سپس غرب ایران مهاجرت کرده‌اند و در آنجا ساکن شده‌اند (Grugni et al. 2012; Dehkhoda 2016; Yar-Shater 1982).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج به‌دست آمده از درخت فیلوژنتیک نشان داد که گوسفند لری‌بختیاری در شاخه‌ای دورتر از شاخه‌ی گوسفند لری قرار دارد. بدین صورت که گوسفند لری‌بختیاری در گروه گوسفندان چین، تاجیکستان و قزاقستان و گوسفند لری و عربی در گروه گوسفندان ترکیه قرار گرفتند.

به‌طور کلی مطالعات مربوط به بررسی روابط خویشاوندی و تعیین اصالت نژادی برای مدیریت جمعیت دام‌های اهلی از جمله گوسفند مفید می‌باشد. در این پژوهش با ارزیابی ناحیه HVR1 از ژنوم میتوکندری گوسفندان نژاد عربی، لری و لری‌بختیاری نشان داده شد که دو نژاد عربی و لری به گوسفندان کشورهای ترکیه نزدیک بوده و در گروه هاپلوتیپی B قرار می‌گیرند در حالی‌که نژاد لری‌بختیاری به گوسفندان چینی نزدیک بوده و در هاپلوتایپ A قرار گرفت. پژوهش‌هایی که قبلا انجام شده و روایت‌هایی که راجع به خاستگاه اقوام لر و بختیاری وجود دارد می‌تواند دلایلی بر صحت و تایید مطالعه صورت گرفته باشد. به‌نظر می‌رسد با توجه به نتایج به‌دست آمده در این تحقیق که گوسفند نژاد لری‌بختیاری در شاخه‌ای نزدیک به شاخه چین قزاقستان و تاجیکستان قرار گرفته است این نظریه که خاستگاه لرهای بختیاری را از مناطق شمال شرق ایران قدیم از جمله کشورهایی همچون قزاقستان و تاجیکستان می‌داند را تقویت می‌کند. به نظر نمی‌رسد که قوم بختیاری از عراق و یا ترکیه به ایران مهاجرت کرده باشند. در حالی که قرار گرفتن نژاد لری در کنار نژادهای ترکیه و یونان نظریه کوچ کردن قوم لر از آسیای صغیر به طرف شمال ایران و سپس غرب ایران (باختر) را تایید می‌کند و آن‌را تقویت می‌کند.

نتایج بررسی تنوع ژنتیکی نشان داد که تنوع در گوسفند عربی و لری‌بختیاری بالاست در صورتی‌که تنوع در گوسفند لری کم شده‌است و متخصصان اصلاح نژاد می‌بایستی به این موضوع بیشتر دقت کنند تا تنوع در این نژاد افزایش یابد و از هم‌خونی در این نژاد جلوگیری به‌عمل آید.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2024-04-17]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1398.14.3.3.1]

سپاسگزاری

از کلیه مسئولین پژوهشی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان به‌دلیل همکارای صمیمانه‌شان تشکر به‌عمل می‌آید.

منابع

Avise JC, Arnold J, Ball RM, Bermingham E, Lamb T, Neigel JE, Reeb CA, Saunders NC, (1987) Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. Annual Review Ecology Systematics 18:489-522.

Chen SY, Su YH, Wu SF, Sha T, Zhang YP (2005) Mitochondrial diversity and phylogeographic structure of Chinese domestic goats. Molecular Phylogenetics and Evolution 37: 804-814.

Colombo F, Marchisio E, Pizzini A, Cantoni C (2004) Identification of the goose species (Anser ancer) in Italian mortara salami by DNA sequencing and a polymerase chain reaction with an original primer pair. Journal of Meat Science 61: 261-294.

Dehghani GM, Ayatollahi Mehrgardi A, Esmailizadeh KA (2017) The study of d-loop mitochondrial region with the objective of investigating the genetic and phylogenetic diversity in wild sheep and comparing it with Kermani sheep. Modern Genetics Journal 12: 649-653. (In Farsi).

Dehkhoda A (2016) "Atabakan Lorestan". Dehkhoda Dictionary. Reconstituted on January 21: 2016.

Galtier N, Enard D, Radondy Y, Bazin E, Belkhir K (2006) Mutation hot spots in mammalian mitochondrial DNA. Genome Research 16: 215-222.

Gohari H (2011) Genetic diversity of wild and domestic sheeps in the west of country using mitochondrial DNA. Dissertation, university of Zanjan, Iran. (In Farsi).

Guo J, Dul X, Ma YH., Guan WJ, Li HB, Zhao QJ, Li X. Rao SQ (2005) Anovel maternal lineage revealed in sheep. Animal Genetic 36: 331-336.

Grugni V, Battaglia V, Hooshiar Kashani B, Parolo S, Al-Zahery N, Achilli A, Olivieri A, Gandini F, Houshmand M, Sanati MH, Torroni A, Semino O (2012). Ancient migratory events in the Middle East: New clues from the Y-chromosome variation of modern Iranians. PLoS ONE. 7: e41252.

Gyllensten U, Wharton D, Josefsson A, Wilson AC, (1991). Maternal inheritance of mitochondrial DNA in mice. Nature 352:255-257.

Hiendleder S, Mainz K, Plante Y, Lewalski H (1998) Analysis of mitochondrial DNA indicates that domestic sheep are derived from two different ancestral maternal sources: no evidence for contributions from Urial and Argali sheep. Journal Heredity 89: 113-120.

Javadmanesh A, Nassiri MR, Azghandi M (2017) Sequencing of HVR-III region of mtDNA in Iranian sheep breeds. Journal of Animal Science Researches 27: 133-141. (In Farsi).

Javanroud Aliabad A, Amirinia C, Ali Abbasi M, Khodamoradi S, Emrani H, Banabazi H, Seyedabadi H, Asadi N (2014) Genetic relationships among Shin Bash, Ghezel, Harki, Shal and Zandi sheep breeds by using mtDNA and microsatellite markers. Animal Science Research Institute-ASRI. (http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=IR2015002630).

Jazin E, Soodyall H, Jalonen P, Lindholm E, Stoneking M, Gyllensten U (1998) Mitochondrial mutation rate revisited: hot spots and polymorphism. Nature Genetics. 18: 109-110.

Lv FH, Peng WF, Yang J, Zhao YX, Li WR, Liu MJ, Ma YH, Zhao QJ, Yang GL, Wang F, Li JQ, Liu Y G, Shen ZQ, Zhao ShG, Hehua E, Gorkhali NA, Vahidi F, Muladno M, Naqvi AN, Tabell J, Touru TL, Bruford MW, Kantanen J, Han JL, Li MH (2015) Mitogenomic Meta-analysis identifies two phases of migration in the history of eastern Eurasian sheep. Molecular Biology Evolution 32: 2515-2533.

Meadows JRS, Hiendleder S, Kijas JW (2011) Haplogroup relationships between domestic and wild sheep resolved using a mitogenome panel. Heredity 106: 700-706.

Mohammad Hashemi A, Pirani N, Nassiri MR, Abbassi Daloii T, Baghban Kohnegroz B (2012) Studying the partially sequenced mtDNA hypervariable region 1 (HVR1) of Iranian Moghani sheep. Annals of Biological Research 6: 2906-2910.

Mohammad Hashemi A, Tahmoorespour M, Pirany N (2011) Phylogenetic analyses of HVR1 region of mtDNA in Iranian Shall and Sangsari native sheep breeds. The 7th National Biotechnology Congress of Islamic Republic of Iran. (In Farsi).

Rafia P, Tarang A (2016) Sequence variations of mitochondrial DNA displacement-loop in Iranian indigenous sheep breeds. Iranian Journal of Applied Animal Science 6: 363-368.

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

Sajjadi Zarjani Z, Bahreini Behzadi MR, Fardaei M (2016) Genetic and phylogenetic analysis of six Iranian sheep breeds based on mtDNA HVR1 sequences. Journal of Ruminant Research 4:17-34 (In Farsi).

Shafagh Motlagh A (2007) Study the D-loop and HVR I regions of mtDNA in some wild and domestic breeds of sheep and goat in Iran. Dissertation, University of Mashhad, Iran.

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

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2024-04-17]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1398.14.3.3.1]

Tapio M, Marzanov N, Ozerov M, Inkulov M, Gonzarenko G, Kiselyova T, Murawski M, Viinalass H, Kantanen J (2006) Sheep mitochondrial DNA variation in European, Caucasian, and Central Asian areas. Molecular Biology Evolution 23: 1776-1783.

Wallce DC (1992) Mitochondrial genetics Aparadigm for aging and degenertive diseases. Science 256: 628-632.

Wang X, Chen H, Lei CZ (2007) Genetic Diversity and Phylogenetic Analysis of the mtDNA D-loop Region in Tibetan Sheep. Asian-Australasian Journal Animal Sciences 3: 313-315.

Yar-Shater E (1982) Encyclopædia Iranica. London: Routledge and Kegan Paul. V, p. 617a.

Zhao X, Li N, Guo W, Hu X, Liu Z, Gong G, Wang A, Feng J, Wu C (2004) Further evidence for paternal inheritance of mitochondrial DNA in the sheep. Heredity 93: 399-403.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2024-04-17]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1398.14.3.3.1]