



Phylogenetic analysis of Afshari sheep population based on HVR and cytb regions of mitochondrial DNA

Pahlevan Afshari K.*

Assistant professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran

place of Research: Biotechnology laboratory, Islamic Azad University branch of Shabestar

Article Info

Article History:

Received 7.30.2022
Revised 8.18.2022
Accept 9.13.2022
Online 9.13.2022

KeyWords:

mtDNA, HVR1 and CytB regions, DNA sequencing, Phylogeny, Afshari sheep

*Corresponding author:

e-mail: kianpahlevanafshar@gmail.com

Abstract

Introduction: Sheep as a domestic animal have played a key role in food resources of Iranian plateau people and this area is known as the origin of this spice. Among the genetic markers mtDNA sequencing is one of the most useful and common methods employed for inferring phylogenetic relationship among closely related species and population and conservation of species.

Aim: This research seeks to determine the sequence of HVR1 and CytB region from the mitochondrial genome of Afshari sheep.

Material and methods: For this study 40 blood samples from unrelated Afshari sheep were collected. The DNA was extracted and the HVR1 and cytb regions of mtDNA were amplified with specific primers using PCR. The HVR1 and cytb of mtDNA of Afshari breed were sequenced, aligned and compared with other breeds from all over the world.

Results: The results showed 3 and 5 haplotype respectively. In addition both loci were high polymorphic.

Conclusion: Sequencing of mitochondrial genome can showed genetic variation and genetic relationship between ovine in the world. For this reason it is powerful and applicable tool to determine the level of genetic diversity.

Cite this article: Pahlavan afshari K. Phylogenetic analysis of Afshari sheep population based on HVR and cytb regions of mitochondrial DNA. Iranian Journal of Biological Sciences. 2022; 17(1): 1-8

doi 10.30495/ZISTI.2022.1964418.1130

DOR 20.1001.1.17354226.1401.17.1.1.1

Publisher: Islamic Azad University of Varamin – Pishva branch

Print ISSN: 1735-4226

Online ISSN: 1727-459X

This is an open access article under the: <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>



آنالیز فیلوژنتیکی جمعیتی از گوسفند افشاری با استفاده از توالی HVR-I و cytB DNA میتوکندری

کیان پهلوان افشاری *

استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین-پیشوا، ورامین، ایران

محل انجام تحقیق آزمایشگاه بیوتکنولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شبستر

اطلاعات مقاله	چکیده
تاریخچه مقاله ارسال ۱۴۰۱/۵/۸ بازنگری ۱۴۰۱/۵/۲۷ پذیرش ۱۴۰۱/۶/۲۲ نماینده ۱۴۰۱/۶/۲۲	مقدمه: در بین نشانگرهای ژنتیکی، توالی یابی ژنوم میتوکندری یکی از بهترین و رایج ترین روشها برای طبقه بندی ژنتیکی جمعیتها و گونه های نزدیک به هم، بررسی امکان اشتقاق گونه های مختلف از یک جد مشترک، مطالعه رابطه فیلوژنی هر موجود با سایر گونه ها و نژادها و دستیابی به راهکارهایی برای حفظ ذخایر ژنتیکی می باشد.
کلمات کلیدی DNA میتوکندری ناحیه HVR1 و CytB تعیین توالی فیلوژنی گوسفند افشاری	هدف: این تحقیق بدنبال تعیین توالی ناحیه HVR1 و CytB از ژنوم میتوکندری گوسفند افشاری می باشد.
* نویسنده مسؤل e-mail: kianpahlevanafshar@gmail.com	مواد و روشها: برای انجام این تحقیق تعداد ۴۰ نمونه خون از هر دو جنس از گوسفندان غیرخویشاوند افشاری جمع آوری شد. پس از استخراج DNA، ناحیه HVR1 و CytB توسط پرایمرهای اختصاصی تکثیر شده و تعیین توالی شدند. توالی های به دست آمده با استفاده از برنامه Chromas Lite ۲.۰۱ تجزیه و تحلیل شد. جهت تعیین بالاترین هومولوژی توالی گوسفند افشاری از رویه Blast تحت پایگاه NCBI استفاده شد.
	نتایج: پس از تعیین توالی، با مقایسه توالی CytB و HVR1 از ژنوم گوسفند افشاری با توالی ناحیه مشابه از ژنوم گوسفندان سایر نژادها از مناطق مختلف جهان به ترتیب ۳ هاپلوتیپ و ۵ هاپلوتیپ مشاهده شد. علاوه بر این هر دو مقرر دارای چندشکلی بالایی بودند.
	نتیجه گیری: تعیین توالی ژنوم میتوکندری به خوبی می تواند تنوع ژنتیکی و ارتباط خویشاوندی گونه های مختلف گوسفندان را نشان دهد. لذا ابزار قدرتمندی است که می تواند برای بررسی تنوع ژنتیکی سایر نژادهای گوسفندی مورد استفاده قرار گیرد.

شیوه آدرس دهی این مقاله: پهلوان افشاری ک*. آنالیز فیلوژنتیکی جمعیتی از گوسفند افشاری با استفاده از توالی HVR-I و cytB DNA میتوکندری. مجله دانش زیستی ایران. ۱۴۰۱: ۱۷: (۱): ۸-۱

doi 10.30495/ZISTI.2022.1964418.1130

DOR 20.1001.1.17354226.1401.17.1.1.1

ناشر: دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین - پیشوا شاپا چاپی: ۱۷۳۵-۴۲۲۶ شاپا الکترونیکی: ۲۷۱۷-۴۵۹X نویسندهگان: © حق مؤلف

مقدمه:

تغییر به نسل‌های بعد منتقل می‌شود (۲). شناسایی توالی این مناطق به عنوان مشخصه ژنتیکی ثابت محسوب می‌شود و به تهیه شناسنامه ژنتیکی و نگهداری خلوص نژادهای بومی کمک می‌کند و با مقایسه گونه‌ها و نژادهای دیگر که در سال‌های مختلف مطالعه شده است و توالی آن‌ها در بانک ژن موجود است، امکان مطالعات فیلوژنتیکی، بررسی اشتقاق گونه‌ها و فاصله نسلی را فراهم می‌کند. از طرفی توالی‌یابی این مناطق شاخص مناسبی را از میزان تنوع موجود در جمعیت ارائه می‌دهد و امکان تشخیص گونه‌ها و نژادها را فراهم می‌کند و به حفظ گونه‌های بومی از خطر انقراض و اختلاط ژنتیکی با سایر نژادها کمک می‌کند (۳).

سیتوکروم B بخشی از ژنوم میتوکندری می‌باشد که شناسایی توالی این منطقه به عنوان مشخصه ژنتیکی ثابت محسوب می‌شود و به تهیه شناسنامه ژنتیکی و نگهداری خلوص نژادهای بومی کمک می‌کند و با مقایسه گونه‌ها و نژادهای دیگر که در سال‌های مختلف مطالعه شده است و توالی آن‌ها در بانک ژن موجود است، امکان مطالعات فیلوژنتیکی، بررسی اشتقاق گونه‌ها و فاصله نسلی را فراهم می‌کند (۴،۵). علاوه بر این، با توجه به این‌که میتوکندری منشأ مادری دارد، این خاصیت باعث تشخیص بهتر اختلافات ژنتیکی در ژنوم میتوکندریایی نسبت به ژنوم هسته شده است. به همین جهت DNA میتوکندری نشانگر خوبی برای تشخیص بین گروه‌هایی است که برای ۱۰۰ تا ۱۰۰۰۰ سال از هم جدا بودند (۶،۷). لذا هدف از مطالعه حاضر تعیین هاپلوטיפ ۴۰ راس گوسفند نژاد افشاری استان زنجان با استفاده از تعیین توالی نواحی HVR۱ و CytB ژنوم میتوکندری می‌باشد.

امروزه بحث‌هایی در مورد مدیریت ذخایر ژنتیکی حیوانات اهلی در سطح جهانی شروع شده است. این بحث‌ها عموماً بر روی استراتژی حفظ نژادهای کمیاب متمرکز شده است و از آنجایی‌که ضرورت ارزیابی و حفظ منابع ژنتیکی به طور گسترده در بیشتر کشورها مورد توجه قرار گرفته است، حفظ دام‌های بومی در هر کشوری از ضروریات می‌باشد. یکی از راه‌های شناسایی این نژادها استفاده از ژنوم میتوکندری است. میتوکندری اندامکی سیتوپلاسمی است که قادر به تولید انرژی برای سلول است دارای DNA حلقوی اختصاصی و مستقل از DNA هسته‌ای است و 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 ۱۶ کیلوگفت باز می‌باشد (۱،۲). امروزه توالی‌یابی بخش‌های مختلف ژنوم میتوکندری به دلیل فراوانی میزان جهش در حدود ۱۰ برابر DNA هسته‌ای و داشتن نواحی حفاظت نشده که هیچ پروتئینی را کد نمی‌کنند و تکثیر با استفاده از پرایمرهای اختصاصی به یکی از کاربردی‌ترین روش‌ها در بررسی‌های تنوع زیستی و ارزیابی بین گونه‌ها و نژادها تبدیل شده است. بررسی شباهت توالی‌ها به کمک تعیین توالی کل ژنوم به پیش بینی محل و عملکرد نواحی کدکننده پروتئین‌ها و نواحی تنظیم رونویسی و دیگر نواحی DNA ژنومی منجر خواهد شد. بخشی از ژنوم میتوکندری، منطقه D-Loop منطقه آغاز همانندسازی ژنوم میتوکندری است و دارای دو ناحیه بسیار متغیر ۱ HVR و ۲ HVR است. این دو منطقه، کدکننده هیچ پروتئینی نیستند و در شروع رونویسی نقشی ندارند و جهش‌های ایجاد شده در آن‌ها بدون

مواد و روش‌ها:

جامعه آماری مورد مطالعه

در این تحقیق از تعداد ۴۰ رأس گوسفند افشاری از مناطق پراکنش آن در استان زنجان نمونه گیری صورت گرفت. نمونه‌های خون به مقدار ۵ میلی‌لیتر از سیاهرگ و داج گردنی، در تیوب‌های حاوی ماده ضدانعقاد EDTA اخذ و بلافاصله به آزمایشگاه بیوتکنولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شبستر انتقال و تا زمان استخراج DNA در فریزر ۲۰°C- نگهداری شدند. استخراج DNA از خون کامل با استفاده از روش اصلاح شده نمکی (۷) انجام شد. پرایمرهای اختصاصی براساس توالی نوکلئوتیدی ناحیه سیتوکروم B و HVR۱ ژنوم میتوکندری گوسفند با استفاده از

نرم‌افزار Primer Premier طراحی شد. طول محصول PCR برای ناحیه HVRI، ۴۳۲ جفت باز و ناحیه cytB به طول ۸۶۳ بود. توالی پرایمرها به شرح زیر است:

Forward(HVRI): ۵'-GAAGTGTGGGGGTACGATTT-۳'

Reverse(HVRI): ۵'-TGTATTGAGGACGGGGTTA-۳'

Forward(cytB): ۵'-CATTCTCCTCTGTAACCCACATCTG-۳'

Reverse(cytB): ۵'-AATGATGTAGGGATGTTCAACTGGC-۳'

واکنش PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر حاوی ۵۰ نانوگرم DNA ژنومیک، ۲/۵ میکرولیتر PCR Buffer ۱۰X، ۰/۲۵ میلی-مولار از هر dNTPs، ۱/۵ میلی-مولار MgCl₂، ۵-۷ پیکومول از هر

۲,۰۱ تجزیه و تحلیل شد. جهت تعیین بالاترین هومولوژی توالی گوسفند افشاری از رویه Blast تحت پایگاه NCBI استفاده شد. مقایسه توالی‌ها و هم‌ردیف کردن آن‌ها با استفاده از رویه ClustalW صورت گرفت. توالی Consensus برای گوسفند افشاری با استفاده از برنامه نرم‌افزاری Bioedit تعیین شد و این توالی توسط برنامه Sequin پایگاه اطلاعاتی NCBI ثبت گردید. جهت رسم نمودار فیلوژنی از رویه Neighbor-joining نرم‌افزار MEGA5 استفاده شد و برای مقایسه فیلوژنی توالی ناحیه HVRI و cytB، یک فیلوژنی با توالی گوسفند افشاری با سایر نژادها در جهان برای تعیین گروه هاپلوטיפی رسم گردید.

پرایمر و ۰/۵ واحد آنزیم Taq DNA polymerase (سیناژن، ایران) صورت گرفت. تکثیر در ۳۲ سیکل، دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه، ۶۳ درجه سانتی‌گراد ۱ دقیقه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه انجام شد. دناتوراسیون اولیه به مدت ۵ دقیقه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد و طویل‌سازی نهایی به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت. سپس محصولات PCR روی ژل آگارز ۱/۵ درصد برده شد و باندها با استفاده از دستگاه ترانس ایلومیناتور مورد بررسی قرار گرفت. در ادامه، نمونه‌ها با هر دو پرایمر مستقیم و معکوس تعیین توالی شدند. توالی‌های به‌دست آمده با استفاده از برنامه Chromas Lite

نتایج:

از هم‌ردیف کردن نمونه‌ها قسمت‌های مشترک بین همه نمونه‌ها را با علامت " " مشخص شدند و قسمت‌های متفاوت با نام نوکلئوتید در آن جایگاه مشخص تعیین گردیدند. نتایج نشان داد هم‌ریف شدن قطعات مورد آنالیز به خوبی صورت گرفته است و نمونه‌ها در سطح ۱۰۰ درصد با هم هم‌پوشانی داشتند. نتایج حاصل از هم‌ریف کردن توالی‌های ناحیه cytB گوسفند افشاری در جدول ۱ آورده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود. ۳ هاپلوטיפ در بین ۴۰ نمونه دیده می‌شود و در بین هاپلوטיפ‌ها ۱۰ جایگاه پلی‌مورف وجود دارد. بیشترین و کمترین فراوانی به ترتیب مربوط به هاپلوטיפ‌های یک و سه با فراوانی ۶۷/۵ درصد و ۲/۵ درصد بود. نتایج حاصل از هم‌ریف کردن توالی‌های ناحیه HVRI گوسفند افشاری در جدول ۲ آورده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، ۵ هاپلوטיפ در بین ۴۰ نمونه دیده می‌شود و در بین هاپلوטיפ‌ها ۳ جایگاه پلی‌مورف وجود دارد. بیشترین و کمترین فراوانی به ترتیب مربوط به هاپلوטיפ‌های دو و یک با فراوانی ۳۰ درصد و ۵ درصد بود.

تحقیق حاضر روی ۴۰ راس گوسفند افشاری به منظور بررسی تنوع ژنتیکی و تعیین هاپلوטיפ نمونه انجام شد. با استفاده از نرم‌افزار Chromas Lite توالی‌های خوانش شده با فرمت ab1 به صوت منحنی و قله‌های رنگی قابل مشاهده درآمدند. سپس، با تغییر میزان کشیدگی قله‌های رنگی صحت خوانش نوکلئوتیدها در تمام توالی‌ها بررسی شد. بررسی‌ها نشان داد قسمت ابتدای توالی به خوبی مورد خوانش قرار نگرفته بود که محل اتصال پرایمر است. این امر معمولاً در توالی‌یابی محصولات PCR که کلون نشده‌اند، دیده می‌شود. توالی‌یابی در سایر نقاط با کیفیت بسیار مناسبی صورت گرفته بود. به طور کلی کیفیت توالی‌یابی مناسب بود که ناشی از خالص‌سازی قطعات تکثیری قبل از ارسال نمونه‌ها می‌باشد. در شکل ۱ نمونه‌ای از گراف‌های تعیین توالی cytB ارائه شده است. شکل ۲ نتیجه هم‌ترازی نمونه‌ها برای ناحیه cytB را نشان می‌دهد. همه نمونه‌ها توسط رویه ClustalW نرم‌افزار BioEdit هم‌ردیف شدند. همان‌طور که در بخشی از توالی‌های هم‌ردیف شده در شکل مشاهده می‌شود، پس

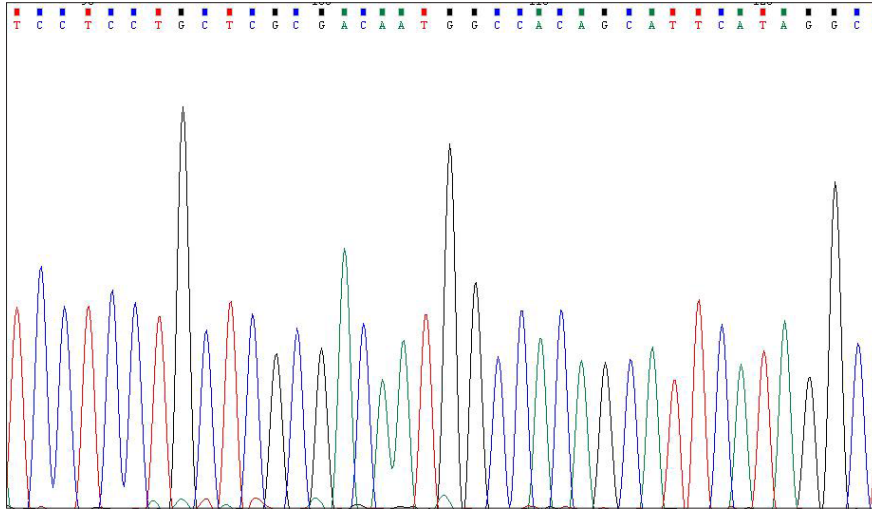
بحث:

در مقیاس کوچک و انتخاب توالی بخش‌هایی از ژن که توالی آنها در بانک ژن موجود است و مقایسه توالی‌های به دست آمده با آنها می‌تواند به اطلاعات ما در باره نژادهای بومی کمک کند و زمینه را برای استفاده بهتر از آنها در برنامه‌های اطلاعاتی باز کند. در مطالعه حاضر، دو ناحیه سیتوکروم B و

در سال‌های اخیر تعیین توالی نقاطی از DNA میتوکندری برای برخی نژادهای گوسفند در ایران به منظور کسب اطلاعات و شناخت دقیق‌تر از نژادهای بومی انجام شده است، اگرچه، انجام تحقیقات در مقیاس وسیع و با تعداد نمونه بالا در حال حاضر مقدور نمی‌باشد، اما انجام تحقیقات

موجود در توالی‌ها شناسایی شد. علت تنوع پایین در این ناحیه، حفاظت شده بودن ناحیه ژنی مذکور است و تغییرات نوکلئوتیدی در این ناحیه به ندرت رخ می‌دهد.

HVRI ژنوم میتوکندری در ۴۰ راس نژاد افشاری استان زنجان تعیین توالی شد. در مطالعه حاضر، ۳ هاپلوتیپ مختلف براساس ۱۰ نوکلئوتید چندشکل (SNP) برای ناحیه cytB



شکل ۱ - بررسی صحت توالی‌یابی نمونه‌ها.

	640	660	680	700	720					
1-mtf	TTTTTGGGGC	TTCTTCACAG	GTTGCCCTTC	ACAGTGCGGG	TGCGGAGTGC	TATTC AAGTG	AAGCCTGGAC	TACACCTGCG	TTGCGTCTTA	720
2-mtf	A	720
3-mtf	720
4-mtf	720
5-mtf	720
7-mtf	720
8-mtf	A	720
9-mtf	720
10-mtf	720
11-mtf	720
12-mtf	720
13-mtf	720
14-mtf	720
15-mtf	A	720
16-mtf	720
17-mtf	720
19-mtf	A	720
20-mtf	A	720
22-mtf	720
23-mtf	A	720
	280	300	320	340	360					
1-mtf	ATGTTCTTCC	CCCAACAAGT	CACCTAACTA	TGAATGGTTA	CAGGACATAC	ATTTAACTAC	CATGTTCTAA	CCCATTGGT	TATGCTCGCC	360
2-mtf	360
3-mtf	360
4-mtf	360
5-mtf	360
7-mtf	360
8-mtf	G	360
9-mtf	360
10-mtf	360
11-mtf	360
12-mtf	360
13-mtf	360
14-mtf	360
15-mtf	G	360
16-mtf	T	360
17-mtf	T	360
19-mtf	360
20-mtf	G	360
22-mtf	360
23-mtf	G	360

شکل ۲- توالی‌های هم‌ردیف شده برای تعیین جایگاه نوکلئوتیدهای متفاوت در نمونه‌ها.

جدول ۱- نوکلئوتیدهای متفاوت در بین نمونه‌های توالی‌یابی شده و تعیین هاپلوتیپ‌های مختلف ناحیه cytB (اعداد بالای ستون‌ها بیانگر جایگاه (شماره) نوکلئوتید متفاوت می‌باشند).

Location											
Haplotype	Frequency from 40	۱۰۶	۱۷۱	۱۷۴	۲۵۴	۲۶۵	۲۹۴	۴۷۵	۵۱۳	۵۹۰	۷۶۶
۱	۲۷	C	T	T	A	G	C	T	C	A	G
۲	۱۲	C	T	T	A	A	T	T	C	A	G
۳	۱	T	C	C	G	A	C	C	T	G	A

جدول ۲- نوکلئوتیدهای متفاوت در بین نمونه‌های توالی‌یابی شده و تعیین هاپلوتیپ‌های مختلف ناحیه cytB (اعداد بالای ستون‌ها بیانگر جایگاه (شماره) نوکلئوتید متفاوت می‌باشند).

Location				
Haplotype	۴۰ Frequency from	۱۳	۲۹	۳۶
۱	۲	G	C	T
۲	۱۲	A	T	A
۳	۸	G	T	A
۴	۱۰	C	C	A
۵	۸	G	C	A

نمونه مطالعه شده بیانگر سطح تنوع واقعی در جمعیت اصلی گوسفندان نژاد افشاری نباشد و دوماً به نظر می‌رسد از آنجایی که اندازه موثر جمعیت^۱ این گوسفند در کشور کم می‌باشد، ایستگاه‌های تحقیقاتی به منظور حفظ این گونه از انقراض، مجبور به تلاقی گوسفندان خویشاوند با هم هستند که این خود می‌تواند باعث کاهش چشمگیر تنوع ژنتیکی شود. لازم به ذکر است که نمونه‌های به دست آمده در مطالعه Pirkhezranian همگی از یک مرکز تحقیقاتی می‌باشد که خود می‌تواند دلیلی برای کم بودن تنوع نوکلئوتیدی باشد. در حالی که در تحقیق حاضر نمونه‌ها در سطح استان پراکنده‌اند (۸).

MohammadHashemi و همکاران مطالعه مشابهی روی گوسفند نژاد مغانی انجام دادند که ۵ هاپلوتیپ و ۹ جایگاه پلی‌مورف شناسایی گردید (۹). Nazari و همکاران مطالعه‌ای را به منظور توالی‌یابی ناحیه بسیار متغیر D-loop میتوکندری (HVR۱) در سه نژاد گوسفند ایرانی لری، لری بختیاری و عربی به منظور

در این مطالعه تعداد ۵ هاپلوتیپ مختلف براساس ۳ نوکلئوتید چندشکل (SNP) برای ناحیه HVR۱ شناسایی شد. در دو جایگاه (موقعیت‌های ۲۹ و ۳۶) جهش جانشینی از نوع انتقالی (حاصل تبدیل پورین به پیریمیدین) و در جایگاه دیگر (موقعیت ۱۳) اضافه شدن نوکلئوتید رخ داده است. همان طور که ملاحظه می‌شود، تمام تغییرات در ۳۶ نوکلئوتید اول رخ داده است.

Pirkhezranian و همکاران نیز ۲۰ راس گوسفند نژاد افشاری مربوط به یک ایستگاه اصلاح نژاد در استان زنجان را برای ناحیه HVRI تعیین توالی کردند. در مطالعه مذکور ۵ هاپلوتیپ برای ناحیه HVRI با سه جایگاه پلی‌مورف شناسایی گردید. هاپلوتیپ‌های دو و چهار با فراوانی ۲۶ درصد و هاپلوتیپ یک با فراوانی ۵ درصد به ترتیب بیشترین و کمترین فراوانی هاپلوتیپ را بخود اختصاص دادند. پایین بودن تنوع نوکلئوتیدی در گوسفندان نژاد افشاری در مطالعه Pirkhezranian احتمالاً دو دلیل می‌تواند داشته باشد: یکی کوچکی اندازه نمونه به نحوی که ممکن است

1. effective population size

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 (۱۰).

Sajjadi Zarjani و همکاران مطالعه مشابهی را روی ۳۰ راس گوسفند از نژادهای مختلف ایران (قزل، مهربان، لک قشقایی، بهمئی، قره گل و کرمانی) انجام دادند. در این مطالعه نیز ناحیه HVRI میتوکندری تعیین توالی شد. در مطالعه مذکور بیشترین تنوع در نژاد مهربان و کمترین تنوع در نژادهای کرمانی و قره گل مشاهده شد. تنوع بالای نژاد مهربان نیز به منشا آن نسبت داده شده است که مانند نژاد لری بختیاری به نژادهای گوسفند چین نزدیک است، زیرا ایران در مسیر جاده ابریشم قرار داشته و گذرگاهی برای عبور گوسفندان از آسیا به اروپا و آفریقا و بالعکس بوده است (۱۱).

Binabaj و همکاران مطالعه‌ای به منظور ارزیابی تنوع ژنتیکی در ۳۰ راس گوسفند نژاد بلوچ انجام دادند. در این مطالعه ۸ هاپلوتیپ مختلف شناسایی شد. علت بالا بودن تنوع ژنتیکی این نژاد احتمالاً جمعیت بالای این نژاد در کشور است که منجر به افزایش میزان جمعیت موثر این نژاد می‌شود. در این مطالعه نژاد بلوچ همانند نژادهای مغانی و افشاری دارای هاپلوتیپ یکسان و کمترین فاصله ژنتیکی را از هم دارا می‌باشند (۱۲).

بررسی تنوع ژنتیکی و فیلوژنتیکی بین نژادهای مذکور و همچنین بررسی ارتباط مادری این نژادها با سایر نژادهای جهانی انجام دادند. در این مطالعه از ۳۳ راس گوسفند بومی خوزستان خونگیری انجام شد. نتایج بررسی پارامترهای ژنتیکی نشان داد که تنوع هاپلوتیپی گوسفند عربی از نژاد لری و لری بختیاری بیشتر است. به طوری که ۹ هاپلوتیپ برای گوسفند عربی (با تنوع هاپلوتیپی ۰/۹۵)، ۳ هاپلوتیپ برای گوسفند لری (تنوع هاپلوتیپی ۰/۶۱۸) و ۷ هاپلوتیپ برای گوسفند لری بختیاری شناسایی شد. در این مطالعه علت تنوع بالا در گوسفند عربی و لری بختیاری و تنوع پایین در گوسفند لری را منشأ و خاستگاه آنها ذکر می‌کنند. دو نژاد عربی و لری به گوسفندان کشورهای ترکیه نزدیک بوده، در حالی که نژاد لری بختیاری به گوسفندان چینی نزدیک است. پژوهش‌هایی که قبلاً انجام شده و روایت‌هایی که راجع به خاستگاه اقوام لر و بختیاری وجود دارد می‌تواند دلالی بر صحت و تایید مطالعه صورت گرفته باشد. به نظر می‌رسد با توجه به نتایج به دست آمده در این تحقیق که گوسفند نژاد لری بختیاری در شاخ‌های نزدیک به شاخه چین قزاقستان و تاجیکستان قرار گرفته است این نظریه که خاستگاه لریهای بختیاری را از مناطق شمال شرق ایران قدیم از جمله کشورهای 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

نتیجه‌گیری:

تعیین توالی ژنوم میتوکندری بخصوص ناحیه D-Loop منجر به شناخت بهتر روابط فیلوژنتیکی و ارتباط ژنتیکی گوسفندان بومی ایران شده است. هر چقدر تعداد نمونه‌های مورد بررسی بیشتر باشد نتایج می‌تواند به واقعیت نزدیکتر باشد.

تقدیر و تشکر:

نویسنده مقاله از کارشناسان آزمایشگاه بیوتکنولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شبستر تشکر و قدردانی می‌نماید.

تعارض منافع:

از طرف نویسنده تعارض منافی گزارش نشده است.

References

1. Galtier N, Nabholz B, Glémin S, Hurst GD. Mitochondrial DNA as a marker of molecular diversity: a reappraisal. *Molecular Ecology*. ;2009 50-4541:(22)18. **DOI:**<https://doi.org/10.1111/j.-1365-294X.2009.04380.x>
2. Rozas J, Ferrer-Mata A, Sánchez-DelBarrio JC, Guirao-Rico S, Librado P, Ramos-Onsins SE, Sánchez-Gracia A. DnaSP 6: DNA sequence polymorphism analysis of large data sets. *Molecular biology and evolution*. 302-3299:(12)34 ;2017. **DOI:**<https://doi.org/10.1093/molbev/msx248>.
3. Lv FH, Peng WF, Yang J, Zhao YX, Li WR, Liu MJ, Ma YH, Zhao QJ, Yang GL, Wang F, Li JQ. Mitogenomic meta-analysis identifies two phases of migration in the history of eastern Eurasian sheep. *Molecular Biology and Evolution*. 33-2515:(10)32 ;2015. **DOI:**<https://doi.org/10.1093/molbev/msv139>
4. Tapio M, Marzanov N, Ozerov M, Činkulov M, Gonzarenko G, Kiselyova T, Murawski M, Viinalass H, Kantanen J. Sheep mitochondrial DNA variation in European, Caucasian, and Central Asian areas. *Molecular Biology and Evolution*. -1776:(9)23 ;2006 83. **DOI:**<https://doi.org/10.1093/molbev/msl043>
5. Rafia P, Tarang A. Sequence variations of mitochondrial DNA displacement-loop in Iranian indigenous sheep breeds. *Iranian Journal of Applied Animal Science*. 8-363:(2)6 ;2016.
6. Reicher S, Seroussi E, Weller JL, Rosov A, Gootwine E. Ovine mitochondrial DNA sequence variation and its association with production and reproduction traits within an Afec-Assaf flock. *Journal of animal science*. 91-2084 :(7)90 ;2012. **DOI:**<https://doi.org/10.2527/jas.4673-2011>.
7. Balloux F, Lugon-Moulin N. The estimation of population differentiation with microsatellite markers. *Molecular ecology*. 65-155:(2)11 ;2002. **DOI:**<https://doi.org/10.1046/j.1083.2001.01436-0962.x>.
8. Pirkhezraeeian Z, Tahmorespour M, Mohammadhashemi A, Pirani N, Azghandi M. Genetic and phylogenetic analyses of HVR-I region of mtDNA in Afshari sheep breed. *Agricultural Biotechnology*. ;2015 71-65 :(1)14
9. Mohammadhashemi A, Pirani N, Nassiri MR, Abbasdolati T, Baghban B. Studying the Partially Sequenced mtDNA Hypervariable Region 1 (HVR1) of Iranian Moghani Sheep. *Ann. Biol. Res.* ;2012 10-2906:(6)3.
10. Nazari M, Mohamadabadi MR, Heidari R. Genetic and phylogenetic analysis of mitochondrial HVR1 region in three breeds of Iranian sheep. *Modern Genetics Journal*. 9-211:(3)14 ;2019.
11. Sajjadi Zarjani Z, Bahraini Behzadi MR, Fardaei M. Genetic and phylogenetic analysis of HVR1 region of mitochondrial genome in six Iranian sheep breeds Conference: 2nd National Congress on Advanced Research in Animal Sciences, 12-11 April 2018. At: Iran, University of Birjand.
12. Binabaj FB, Bihamta G, Pirkhezranian Z. Genetic diversity and phylogenetic analysis of D-loop region of mtDNA in Baluchi sheep breed. *Iranian Journal of Animal Science Research*. 139-131 :(1)10 ;2018. **DOI:**<https://doi.org/10.22067/IJASR.V10I1.63715>.