Archive of

Agricultural Biotechnology Journal
p-ISSN 2228-6705
e-ISSN 2228-6500
Shahid Bahonar University of Kerman
Iranian Biotechnology Society

Phylogenetic Analysis of Cytochrome B of Mitochondrial Genome in some Iranian Goat Breeds

Mostafa Ghaderi-Zefrehei

Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Yasouj University, Yasouj, Iran. Email: mghaderi@yu.ac.ir

Houshang Darfarin

MSc Graduated, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Yasouj University, Yasouj, Iran**.** Email**:** Hdarfarin@gmail.com

Farhad Samadian

*Corresponding Author. Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Yasouj University, Yasouj, Iran. Email: farhad.samadian@gmail.com

Azadeh Torabi

Assistant Professor, Department of Agriculture, Payame Noor University, Tehran, Iran. Email: Azadehtorabi@gmail.com

Maryam Shariat

MSc Graduated, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran. Email: Maryamshariat00@gmail.com

Abstract

Objective

Identifying the genetic diversity of native goat breeds of Iran can play an important role in the management and conservation of these breeds. The purpose of the current study was genetic and phylogenetic investigation of mitochondrial genome cytochrome b region in Lori, Pakistani, Zaboli and Adeni goats.

Materials and Methods

Blood samples were collected from 16 goats of each breed 4 blood samples. After extracting DNA, fragment 684 bp of cytochrome b region genome mitochondrial amplified

www.SID.ir

Archive of SID

by primers were designed and fragment amplified after purification was sequenced. Using the DNAsp software was determined in six different haplotypes.

Results

The result of comparative analysis between goat breeds indicates that nucleotide diversity Pakistani and Zaboli breeds 0.35461 and 0.11199 respectively. Tajima D was obtaining 1.06945 that was significant. This confirmed the evolution by natural selection. Results from the analysis of molecular variance indicated that genetic variation was 80% of within and 20% was between populations that indicates high gene flow, migration among the studied populations or little sample size.

Conclusions

Based on a phylogenetic tree analysis, Lori and adni goat form a group with *Capra hircus* and Pakistani and Zabli goats form a separate group. This indicates the goat breeds have a common origin area.

Keywords: Cytochrome b gene, Domestic goat, Genetic Diversity, Phylogeny, Sequencing.

Citation: Ghaderi-Zefrehei M, Darfarin H, Samadian F, Torabi A, Shariat M (2019) Phylogenetic Analysis of Cytochrome B of Mitochondrial Genome in Goat Breeds of Iran. Agricultural Biotechnology Journal 11(4), 19-34.

Agricultural Biotechnology Journal 11(4), 19-34.
DOI: 10.22103/jab.2019.13653.1119
Received: October 23, 2019; Accepted: December 9, 2019
© Faculty of Agriculture and Technology Institute of Plant Production, Shahid Bahonar University of Kerman-Iranian Biotechnology Society

www.SID.ir

Archive of SID

آنالیز فیلوژنتیکی ناحیه سیتوکروم B ژنوم میتوکندری چند نژاد بز بومی ایران

مصطفی قادری زفره‌ای
استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران. ایمیل: mghaderi@yu.ac.ir

هوشنگ دارفرین
فارغ التحصیل کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران. ایمیل: Hdarfarin@gmail.com

فرهاد صمدیان
* نویسنده مسئول. استاد یار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران، ایمیل: farhad.samadian@gmail.com

آزاده ترابی
استادیار، گروه کشاورزی، دانشگاه پیام نور، تهران. ایمیل: Azadehtorabi@gmail.com

مریم شریعت
دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران. ایمیل: Maryamshariat00@gmail.com

تاریخ دریافت: 1397/08/01، تاریخ پذیرش: 1398/9/18

چکیده

هدف: شناسایی تنوع ژنتیکی نژادهای بز بومی ایران، می‌تواند در حفاظت و نگهداری از این نژادها در برنامه‌های مدیریتی نقش بسیار مهمی ایفا کند. لذا این پژوهش با هدف بررسی فیلوژنتیکی توالی نوکلئوتیدی ناحیه سیتوکروم b ژنوم میتوکندری چهار نژاد لری، پاکستانی، زابلی و عدنی انجام شد.

مواد و روش‌ها: نمونه خون 16 رأس بز، از هر نژاد 4 رأس، جمع‌آوری گردید. پس از استخراج DNA، تکثیر قطعه 684 جفت بازی ناحیه سیتوکروم b میتوکندری با آغازگرهای اختصاصی انجام شد و قطعات تکثیر شده پس از خالص‌سازی به صورت رفت و برگشت توالی‌یابی شدند. با نرم‌افزار DNASp شش هاپلوتیپ و 9 جایگاه چندشکل در توالی‌ها تعیین گردید.

نتایج: بیشترین تنوع نوکلئوتیدی مربوط به نژاد پاکستانی 0/35461 و کمترین تنوع نوکلئوتیدی مربوط به نژاد زابلی 0/11199 به دست آمد. مقدار dn/ds نمونه‌های تاجیمای مورد بررسی 1/06945 برآورد شد که موید روند انتخاب طبیعی این ژن در طول دوره تکامل بود. همچنین نتایج حاصل از آنالیز واریانس مولکولی نشان داد 80 درصد تنوع ژنتیکی داخل جمعیتی و 20 درصد بین جمعیتی بود که نشان دهنده جریان ژنی بالا، مهاجرت در بین جمعیت‌های مورد مطالعه و یا تعداد محدود نمونه‌های مورد پژوهش می‌باشد.

www.SID.ir

Archive of SID

نتیجه‌گیری: نتایج آنالیز فیلوژنتیکی نشان داد بزهای نژاد لری و عدنی به همراه *Capra hircus* در یک گروه و بزهای نژاد پاکستانی و زابلی نیز به صورت مجزا گروه تشکیل دادند که این امر نشان دهنده منشا مشترک این نژادها با توجه به منطقه جغرافیایی محل زندگی آن‌ها است.

کلمات کلیدی: بز بومی، تنوع ژنتیکی، توالی‌یابی، ژن سیتوکروم b، فیلوژنی.

مقدمه

نیاز روز افزون به مواد غذایی و لزوم خودکفا شدن موجب شده است تا حفظ ذخایر ژنتیکی با حساسیت بیشتری دنبال شود؛ همچنین باعث گردیده جستجوی راه‌های افزایش محصولات کشاورزی و تولیدات دامپروری در اولویت باشد. لذا استفاده از امکانات بالقوه در راستای بهره‌گیری کامل از شرایط منطقه‌ای هر استان برای رسیدن به توسعه پایدار، از اهداف کلان مدیریتی متولیان امر می‌باشد. کاوش‌های باستان‌شناسی نشان داده است که آثار اولیه مربوط به بز در اطراف مناطق کوهستانی سوئیس در اروپا و یا در اطراف رودخانه نیل در آفریقا به‌دست آمده است، اما بعضی از تحقیقات نشان می‌دهد که آریایی‌ها اولین قومی بودند که به اهلی کردن بز پرداخته‌اند و آثار مربوطه مبین این واقعیت است که بز ابتدا در آسیا و در منطقه خاورمیانه و به‌ویژه در سرزمینی که امروزه قسمتی از کردستان می‌باشد، اهلی شده است (Barazandeh et al. 2012; Moghadaszadeh et al. 2015; Askari et al. 2011; Moghbeli et al. 2013). حدود 30 میلیون راس بز کرکی در سراسر جهان وجود دارد که 4/5 تا 5 میلیون راس از آن‌ها (حدود 20 درصد بزهای جهان) در ایران پرورش داده می‌شوند (Baghizadeh et al. 2009). از طرفی بز یک حیوان چندمنظوره است که علاوه بر تولید شیر، گوشت، پوست و الیاف نقش مهمی در اقتصاد و معیشت پرورش‌دهندگان دارد. همچنین این دام از تنوع نژادی بالایی برخوردار است و قدرت سازگاری بالا و مقاومت زیاد این حیوان در برابر بسیاری از بیماری‌ها و شرایط نامساعد محیطی، باعث شده تا نگهداری و پرورش این دام در شرایط روستایی به ویژه در سطح دامداران خرده‌پا مورد توجه بیشتری قرار گیرد (Rahman et al. 2008). نژادهای بومی در هر کشور به‌عنوان سرمایه ملی و محصولی راهبردی در اقتصاد و رونق آن کشور محسوب می‌شوند. از طرف دیگر، تنوع ژنتیکی در گوسفند و بز به دلیل شدت انتخاب پایین، تعداد زیاد پرورش‌دهندگان و محدودیت استفاده از تلقیح مصنوعی معمولاً بالا می‌باشد (Vajed Ebrahimi et al. 2017). از طرفی با گذشت زمان و کسب آگاهی بیشتر نسبت به اهمیت صفات مختلف، نیازهای جدیدی مطرح می‌شود که متخصصین اصلاح نژاد را بر آن می‌دارد که از ذخیره ژنی دام‌های بومی استفاده نمایند (Vajed Ebrahimi et al. 2016). این مسئله، به خصوص با افزایش تولید محصولات دامی و تولید محصولات پیش‌بینی‌نشده در آینده، لزوم حفظ تنوع ژنتیکی در دام‌های بومی را الزامی ساخته است (Vajed Ebrahimi et al. 2016)، چرا که یک گونه بدون تنوع ژنتیکی کافی قادر به سازگاری با تغییرات محیطی و مبارزه با انگل‌ها نیست (Mohammadabadi et al. 2017). از طرفی در حوزه ژنتیک و اصلاح نژاد، اطلاع از ساختار ژنتیکی جمعیت‌ها می‌تواند

www.SID.ir

Archive of SID

کمک بزرگی به برنامه‌ریزی برای طرح‌های اصلاح نژادی و از همه مهم‌تر، حفظ ذخایر ژنتیکی نماید (Alinaghizadeh et al., 2010; Moghadaszadeh et al. 2015). حفاظت نژادی باید بر اساس داشتن دانش ژرف از منابع ژنتیکی نژادهای خاص باشد، لذا تلاش برای شناسایی و تعیین خصوصیات ژنتیکی نژادهای بومی و محلی بسیار حایز اهمیت است (Shojaei et al. 2010; Zamani et al. 2015). از این رو مطالعه تنوع ژنتیکی نژادهای بومی بز نقاط مختلف ایران، با کمک نمودن به درک منشأ، نحوه تمایز، رابطه ژنتیکی و همچنین نحوه‌ی حفاظت و بهره‌برداری بیشتر از آن‌ها، برای انجام برنامه‌های اصلاح نژادی و افزایش تولید ضروری است. افزایش پژوهش بر روی نژادهای بومی که به مراتع و محیط‌های سخت آب و هوایی سازگار شده‌اند، موجب می‌شود تا این منابع ژنتیکی محافظت، تقویت و مدیریت شوند (Liu et al. 2009).

DNA میتوکندری (mtDNA) در تشخیص گونه‌ها و ترسیم رابطه فیلوژنتیکی دارای مزایایی است که از جمله می‌توان به اندازه کوچک‌تر آن نسبت به DNA ژنومی، توارث مادری، هاپلوئید بودن، عدم وجود نوترکیبی و وجود نواحی حفاظت شده اشاره داشت. بنابراین این ویژگی‌های DNA میتوکندریایی باعث شده است تا استفاده از آن در مطالعات تکاملی متداول باشد (Naderi et al. 2007; Zhao et al. 2011). با شناسایی تفاوت‌های ژنتیکی در توالی ژن‌های موجود در ژنوم میتوکندری، بهتر می‌توان روابط فیلوژنی واقعی را نمایان ساخت. علاوه بر این، رسم درخت فیلوژنی ملاکی برای جداسازی جمعیت‌های خاص، تشخیص گونه‌های در معرض خطر انقراض و بررسی فرایند اهلی‌سازی می‌باشد (Ishida et al. 1994, Naderi et al. 2007, Hall & Carlsbad 2011). اولین بار توالی کامل ژنوم میتوکندری بز با 16715 جفت‌باز و ناحیه Cyt-b با 1139 جفت‌باز گزارش شد (Takada et al. 1997). بیان ژن‌های میتوکندری در مهره‌داران برای تولید انرژی، سوخت و ساز بدن، تعادل و مرگ سلولی ضروری است. در هر سلول هزار الی ده هزار میتوکندری وجود دارد که درون هر میتوکندری 5 تا 10 ژنوم وجود دارد. این ژن‌ها در گونه‌های جانوری 37 ژن را کد می‌کنند که شامل 13 ژن کد کننده زنجیره تنفسی، 22 ژن کد کننده tRNA و دو ژن کد کننده rRNA می‌باشد. ژن سیتوکروم b یکی مهم‌ترین ژن‌های کد کننده DNA میتوکندری است که 1/2 kb طول دارد. به دلیل ساختار شناخته شده و تنوع زیاد این ژن، با بررسی قطعه کوچکی از آن می‌توان گونه‌های مختلف پستانداران و گاوسانان را شناسایی کرد (Tobe and Linacre 2008, Widayanti et al. 2016). لذا توالی ژن سیتوکروم b در مطالعات فیلوژنتیکی به صورت گسترده‌ای در گونه‌های مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرد (Sawaimul et al., 2014). اگر چه پژوهش‌های زیادی روی بزهای ایران انجام شده است (Askari et al. 2008; Askari et al. 2009; Mohammadabadi et al. 2009; Alinaghizadeh et al. 2010; Askari et al. 2010; Hassani et al. 2010; Mohammadabadi. 2012; Tohidi nezhad et al. 2015; Shamsalddini et al. 2016) ولی تاکنون سیتوکروم b ژنوم میتوکندری مربوط به چهار نژاد بز لری، زابلی، پاکستانی و عدنی مطالعه نشده است، لذا، مطالعه حاضر با هدف بررسی و تجزیه و تحلیل ژنتیکی و فیلوژنتیکی ناحیه سیتوکروم bژنوم میتوکندری مربوط به چهار نژاد بز لری، زابلی، پاکستانی و عدنی انجام گرفته است تا ضمن دست‌یابی به اطلاعاتی در خصوص ویژگی‌های ژنتیکی نژادهای بز بومی، توالی‌های به دست آمده در بانک جهانی ژن ثبت شود.

www.SID.ir
Agricultural Biotechnology Journal; Printing ISSN: 2228-6705, Electronic ISSN: 2228-6500

Archive of SID

مواد و روش‌ها

از 16 رأس بز (4 رأس نژاد پاکستانی، 4 رأس زابلی، 4 رأس عدنی و 4 رأس لری سیاه) به طور تصادفی خون‌گیری و استخراج DNA با روش فنل‌کلروفورم انجام شد (Barnett and Larson 2012). توالی حفاظت شده ناحیه 684 bp سیتوکروم b مربوط به ژنوم میتوکندری بزهای بومی، به منظور بررسی فراسنجه‌های ژنتیکی جمعیت مورد بررسی قرار گرفت. همچنین به منظور افزایش ضریب دقت، توالی مورد بررسی مربوط به گونه‌های مختلف بز (جنس *Capra*) دریافت شد تا بر اساس نواحی حفاظت شده بین گونه‌ای، طراحی آغازگر انجام شود. طراحی آغازگر جهت تکثیر ناحیه 684 bp سیتوکروم b با استفاده از نرم افزار Primer Premier v.5 انجام شد (Lalitha 2000) (جدول 1).

جدول 1. مشخصات آغازگرهای طراحی شده جهت تکثیر ناحیه 684 bp سیتوکروم b

Table 1. The primers characteristics designed for amplification 684 bp fragment of Cyt-b region

Sequence 5′-3′ توالی
Forward 5′-CCTCCTGCTCGAACAATAG-3′
Reverse 5′-GGGATGTTCGACTGGCTGTC-3′

به منظور تکثیر ناحیه 684 bp سیتوکروم mtDNA b، واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با دستگاه ترموسایکلر Biometra مدل T-personal در 35 چرخه حرارتی با دمای اتصال 63/5 درجه سلسیوس انجام شد و به منظور تأیید تکثیر ناحیه مورد نظر در طی واکنش PCR، الکتروفورز محصولات PCR بر روی ژل آگارز 1/5 درصد با رنگ‌آمیزی GelRed صورت گرفت. سپس 50 میکرولیتر از محصول PCR با استفاده از کیت geneJET PCR Purification ساخت شرکت Thermo (آمریکا) خالص‌سازی شد و به همراه 50 میکرولیتر از آغازگرهای رفت و برگشت و با غلظت 10 پیکومول، به‌منظور توالی‌یابی به شرکت ماکروژن کره جنوبی ارسال گردید. این نمونه‌ها با استفاده از دستگاه ABI 3130 به روش اتوماتیک سانگر توالی‌یابی شدند. داده‌های حاصل از توالی‌یابی ژن سیتوکروم b ژنوم میتوکندریایی بزهای بومی ایران پس از دریافت، به منظور تصحیح خطاهای توالی‌یابی با نرم‌افزار Chromas Lite 2.4. (MacCarthy 2005) مورد بازبینی قرار گرفتند. بدین منظور توالی‌های حاصل از 16 نمونه از لحاظ کیفیت توالی‌یابی برای هر باز توسط الگوریتم PHRED (Ewing and Green, 1998) مورد آنالیز قرار گرفت و کیفیت توالی‌یابی برای هر باز مشخص شد. توالی‌های با کیفیت پایین، بر اساس انتخاب بلندترین آستانه میانگین خطای کمتر از 0/1 درصد، از دو انتهای قطعات حذف شدند و در نتیجه توالی‌هایی با طول کمی کوتاه‌تر از مقدار مورد انتظار برای نمونه‌ها حاصل شد. جهت تعیین بالاترین همسانی از رویه بلاست نوکلئوتیدی تحت پایگاه NCBI (Sayers et al., 2011) استفاده شد. فراسنجه‌های مربوط به

www.SID.ir

Archive of SID

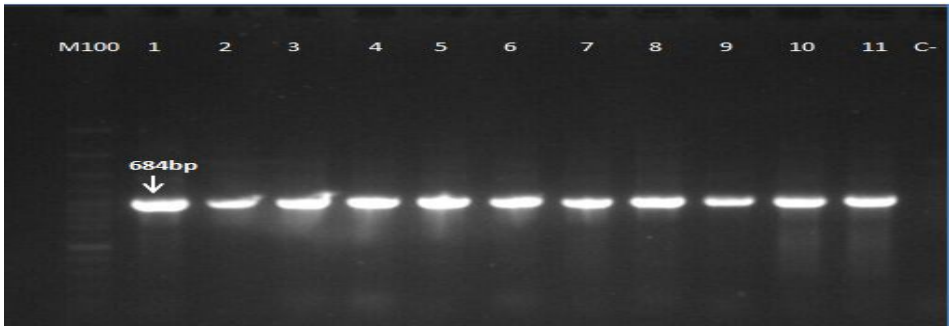
تنوع ژنتیکی شامل تنوع نوکلئوتیدی، تنوع هاپلوتایپی، جایگاه‌های پلی‌مورفیک، تعداد جهش مشاهده شده، متوسط تعداد نوکلئوتیدی و تاجیما D در جمعیت مورد مطالعه به کمک نرم‌افزار Dnasp شناسایی شد (Librado & Rozas 2009). به منظور مقایسه داده‌های این مطالعه با دیگر مطالعات، از توالی‌های ثبت شده در بانک داده NCBI موسوم به توالی‌های مرجع استفاده شد. بدین منظور توالی‌های مربوط به *Capra hircus* دریافت و همردیف‌سازی در سطح نوکلئوتیدی به کمک الگوریتم Clustal نسخه 2 (Larkin et al. 2007) صورت گرفت. با استفاده از روش حداکثر درست‌نمایی، درخت فیلوژنتیکی با بیشترین درست‌نمایی بین هاپلوتایپ‌های مختلف با روش اتصال نزدیک NeighborJoining (NJ) (Saitou & Nei 1987, Tamura et al. 2013) به کمک نرم‌افزار MEGA 6 ترسیم شد و به منظور دستیابی به فراسنجه‌های بهینه، رویه چندگانه مکرر 1000 (بوت استرپ) (Stamatakis, 2006) استفاده شد. آنالیز واریانس ملکولی توسط نرم‌افزار GenALEX (ver 6. 41) به دست آمد. به منظور تعیین ماتریس فواصل ژنتیکی از رویه Create Pairwise Comparison نرم افزار CLC Main Workbench 5.5 استفاده شد.

نتایج و بحث

استخراج DNA از خون در تمام نمونه‌ها با موفقیت انجام شد. نتایج طیف‌سنجی نشان داد DNAهای استخراج شده فاقد شکستگی بودند که موید کیفیت مناسب استخراج DNA و حداقل آسیب وارده به آن طی فرایند آماده‌سازی و استخراج بود. پس از بهینه‌سازی واکنش زنجیره‌ای پلیمراز، تکثیر قطعه 684 جفت‌بازی ناحیه Cyt b با موفقیت انجام شد و کیفیت قطعه اختصاصی تکثیر شده به کمک ژل آگارز 1/5 درصد مورد ارزیابی قرار گرفت (شکل 2). کیفیت توالی‌یابی مشخص کرد به طور میانگین بیش از 97 درصد نوکلئوتیدها صحت توالی‌یابی 99 درصد دارند که این مؤید ضریب اطمینان بالا در نتیجه‌گیری بر اساس توالی‌های به دست آمده می‌باشد. با تجزیه و تحلیل توالی مورد توافق ژن سیتوکروم b در نژاد زابلی وجود دو هاپلوتایپ ثابت شد که محتوای توالی مورد نظر شامل 30/6 درصد آدنین، 25/7 درصد تیمین، 13/8 درصد گوانین، 29/9 درصد سیتوزین بود. مجموع سیتوزین و گوانین 43/7 درصد و مجموع تیمین و آدنین 56/3 درصد به دست آمد. مقادیر جایگزینی مربوط به بازهای پورینی، یعنی گوانین به آدنین 8/67 درصد و آدنین به گوانین 3/99 درصد بود؛ این مقدار برای بازهای پیریمیدینی، یعنی تبدیل سیتوزین به تیمین 11/58 درصد و تیمین به سیتوزین 13/59 درصد محاسبه شد. در نژاد لری وجود سه هاپلوتایپ ثابت شد که محتوای توالی مورد نظر شامل 30/2 درصد آدنین، 26/8 درصد تیمین، 15/5 درصد گوانین، 27/5 درصد سیتوزین بود. مجموع سیتوزین و گوانین 43 درصد و مجموع تیمین و آدنین 57 درصد به دست آمد. مقادیر جایگزینی مربوط به بازهای پورینی گوانین به آدنین 0/14 درصد و آدنین به گوانین 0/07 درصد و برای بازهای پیریمیدینی تبدیل سیتوزین به تیمین 49 درصد و تیمین به سیتوزین 50/44 درصد بود.

www.SID.ir
Agricultural Biotechnology Journal; Printing ISSN: 2228-6705, Electronic ISSN: 2228-6500

Archive of SID



شکل 2. تکثیر قطعه Cyt-b روی ژل آگارز. چاهک‌های شماره 1 تا نشان دهنده قطعه 684 جفت بازی Cyt-b و چاهک c- کنترل منفی و مارکر استفاده شده 100+ شرکت Thermo بود.

Figure 2. Agarose gel electrophoresis of PCR products of Cyt-b region. Wells 1 to 11 are 684 bp fragment of Cyt-b and c- well are negative PCR control and 100+ Marker (Thermo, USA) was used in all of gel electrophoresis.

در نژاد پاکستانی وجود چهار هاپلوتایپ ثابت شد که محتوای توالی مورد نظر شامل 29/3 درصد آدنین، 26/3 درصد تیمین، 16/6 درصد گوانین، 27/9 درصد سیتوزین بود. مجموع سیتوزین و گوانین 44/5 درصد و مجموع تیمین و آدنین 55/6 درصد محاسبه شد. مقادیر جایگزینی مربوط به بازهای پورینی گوانین به آدنین 0/89 درصد و آدنین به گوانین 0/51 درصد و این مقدار برای بازهای پیریمیدینی تبدیل سیتوزین به تیمین 47/86 درصد و تیمین به سیتوزین 50/38 درصد به دست آمد. همچنین در نژاد عدنی (خلیج فارس) وجود سه هاپلوتایپ ثابت شد که محتوای توالی مورد نظرشامل 28/9 درصد آدنین، 24/9درصد تیمین، 18/4 درصد گوانین، 27/9 درصد سیتوزین بود. مجموع سیتوزین و گوانین46/3 درصد و مجموع تیمین و آدنین 53/8 درصد و مقادیر جایگزینی مربوط به بازهای پورینی گوانین به آدنین 2/4 درصد و آدنین به گوانین 1/54 درصد بود. به طوری که این مقدار برای بازهای پیریمیدینی تبدیل سیتوزین به تیمین 44/99 درصد و تیمین به سیتوزین 50/7 درصد محاسبه شد. ترکیب نوکلئوتیدی توالی‌های مورد توافق به دست آمده در همه نژادها نشان داد مجموع آدنین و تیمین 56/4 درصد و مجموع سیتوزین و گوانین 43/6 بود (جدول 1). به طور کلی محتوای AT همیشه بالاتر از مقادیر GC در ژن Cyt b است. این نسبت در جمعیت بزهای اندونزیایی 58:42 محاسبه شد (Pakpahan et al. 2016a) و در بزهای چینی نیز نسبت AT: GC، 56:44 برآورد شد (Chen et al. 2006). این یافته‌ها با اکثر تحقیقاتی که درصد A+T را نسبت به درصد C+G در سیتوکروم b بیشتر گزارش کرده‌اند مطابقت داشت (Chen et al. 2006; Pakpahan et al. 2016a; Pakpahan et al. 2016b). نتایج حاصل از توالی‌یابی انجام گرفته در چهار نژاد بز بومی منجر به شناسایی جایگاه جهش در موقعیت‌های 1، 34، 61، 121، 192، 245، 373، 491، 596 شد. جهش‌های ایجاد شده منجر به ایجاد شش هاپلوتایپ در جمعیت بزهای بومی شد که در نژاد زابلی دو هاپلوتایپ، در نژاد لری سه هاپلوتایپ، در نژاد پاکستانی چهار هاپلوتایپ و در نژاد عدنی سه هاپلوتایپ را نشان داد.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول 1. ترکیب نوکلئوتیدی در چهار نژاد بز مورد بررسی

Table 1. The Nucleotide composition in four goat breeds

پاکستانی Pakistani	عدنی Adeni	زابلی Zaboli	لری Lori	فراوانی نوکلئوتید Nucleotide frequency
29.3	30.2	30.6	30.2	A
26.3	28.7	25.7	26.8	T
16.6	15.8	13.9	15.5	G
27.9	25.2	29.8	27.5	C

اکثر جهش‌های اتفاق افتاده از هفت جهش مشاهده شده، از نوع جهش‌های انتقالی بود که جایگزینی باز A با G در جایگاه 1 و 121 و 245 و جایگزینی باز C با T در جایگاه 61، 192، 373، 491 و 596 را شامل می‌شد. در ناحیه ژنی سیتوکروم b، جهش‌ها اکثرا از نوع جایگزینی C به T بود. تنها یک مورد جهش متقاطع در جایگاه 34 اتفاق افتاده بود که در آن باز C جایگزین باز A شده بود؛ این رخداد می‌تواند به این دلیل باشد که در ردیف توالی DNA زمانی‌که دو نوکلئوتید C و G پشت سر هم قرار می‌گیرند، احتمال متیله شدن نوکلئوتید C وجود داشته که به دنبال آن دی‌آمینه شده و به نوکلئوتید T تبدیل می‌شود که به آن نقاط داغ جهش می‌گویند. علاوه بر این، در زمان همانندسازی در رشته مکمل نیز تبدیل نوکلئوتید G به A رخ می‌دهد (Galtir et al. 2006). در برآورد جایگزینی نوکلئوتیدی نژادهای مورد بررسی با سایر گونه‌های بز در NCBI، مقادیر بالای جایگزینی از نوع پیریمیدینی بود، به طوری که این مقدار برای تبدیل تیمین به سیتوزین 13/2درصد و برای تبدیل سیتوزین به تیمین 11/62درصد به دست آمده است. این مقادیر برای بازهای پورینی کمتر و به ترتیب برای تبدیل آدنین به گوانین و گوانین به آدنین 8/55 درصد و 18/51 درصد بود. نتایج این بررسی با نتایج سایر محققین که بیشتر جانشینی را جانشینی پیریمیدینی گزارش کرده‌اند، مطابقت دارد. علت این تغییرات را احتمالا می‌توان به متیله شدن سیتوزین نسبت داد (Zewdu et al. 2013). سرعت تغییرات نوکلئوتیدی در نواحی مختلف ژنوم میتوکندری متفاوت است و ژن سیتوکروم b یکی از ژن‌هایی است که دارای اطلاعات مناسبی برای شناسایی ارتباط فیلوژنی بین گونه‌هایی است که از نظر مورفولوژیکی خیلی به هم نزدیک هستند (Budisatria et al. 2008; Zhao et al. 2011). میزان وقوع جهش در ژن Cyt b در مقایسه با ناحیه D-Loop و دیگر ژن‌های کدشده میتوکندی متوسط است. در مطالعه حاضر 9 مکان تغییر در توالی 684 جفت بازی شناسایی شد. در پژوهش .Pakpahan et al (2016) 19 محل متغیر در توالی 1140 جفت‌بازی ژن Cyt b یافت شد که این تغییرات ژنتیکی شناسایی شده بسیار کمتر از توالی 1212 جفت‌بازی D-loop میتوکندری (با 68 مکان تغییر و 21 هاپلوتایپ) بود (Pakpahan et al., 2015). پژوهشی دیگر که در آن توالی 879 جفت‌بازی D-loop میتوکندری 30 نمونه در شش جمعیت بز بومی اندونزیایی انجام شد، 50 مکان تغییر ژنتیکی شناسایی شد که شامل 21 جهش جانشینی و 29 جهش جایگزینی بود (Batubara 2011). این تحقیقات نشان می‌دهند ژن Cyt b در مقایسه با منطقه بدون کدگذاری D-loop از حفاظت ژنتیکی بیشتری برخوردار است (Batubara 2011).

www.SID.ir
Agricultural Biotechnology Journal; Printing ISSN: 2228-6705, Electronic ISSN: 2228-6500

Archive of SID

در تحقیق Amer (2004) هیچ جهش معنی‌داری در بزهای بومی عربستان گزارش نشد. در پژوهشی تنوع ژن سیتوکروم b بزهای بومی جاوا در یک قطعه 779 جفت‌بازی بررسی شد (Jiyanto et al. 2014)، نتایج هفت جایگاه متغیر را نشان داد که دو مورد تغییر اسید آمینه‌ای در جایگاه‌های 165 و 215 را به دنبال داشت. هیچ کدام از جهش‌های گزارش شده در مطالعات فوق در بررسی حاضر مشاهده نشد. از آن جایی که تعداد جایگاه‌های چندشکل به تعداد نمونه وابسته می‌باشد، لذا از فراسنجه تنوع نوکلئوتیدی یا هتروزگوسیتی در سطح نوکلئوتید استفاده شد که تحت تاثیر طول DNA و اندازه نمونه نبود (Nei and Kumar 2000). تنوع نوکلئوتیدی بین جمعیت بزهای مورد پژوهش 0/012545 تخمین زده شد. این نتیجه دلالت بر این دارد که ناحیه سیتوکروم b یک ناحیه حفاظت شده است و تغییرات نوکلئوتیدی در آن به ندرت رخ می‌دهد (Eyre-walker and Awadalla 2001). در تحقیق بر روی 14 نژاد بز بومی چینی، تنوع هاپلوئیدی در جمعیت‌های مورد مطالعه بین 0/6 تا 1/0 گزارش شد که بسیار بیشتر از تنوع هاپلوتایپی مشاهده شده در جمعیت بزهای بومی ایران است. همچنین تنوع نوکلئوتیدی بین 0/0015 تا 0/0157 گزارش شد (Chen et al. 2006). تنوع ژنتیکی به دو دلیل از اهمیت بالایی برخوردار است: اول این که تغییرات محیطی همواره در جریان است و تنوع ژنتیکی برای سازگاری جوامع با چنین تغییراتی لازم است و دوم این که فقدان تنوع ژنتیکی غالبا با افزایش همخونی و کاهش سازگاری تولید مثلی همراه است. عوامل متعددی در ایجاد تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های حیوانی نقش دارند که از آن بین می‌توان به جهش، نوترکیبی، مهاجرت، رانش ژنتیکی (در جمعیت‌های‌کوچک) و انتخاب اشاره کرد (Tavakkolian 2018). تنوع نوکلئوتیدی درون جمعیت بزهای مورد پژوهش در نژاد لری، زابلی، عدنی و پاکستانی به ترتیب 0/12526، 0/11199، 0/12609 و 0/35461 تخمین زده شد. تنوع ژنتیکی درون جمعیت‌ها پارامتری مهم و ضروری در تکامل و حفاظت بیولوژیکی گونه‌ها است. بیشترین تنوع نوکلئوتیدی بین نژاد پاکستانی مشاهده شد. بالا بودن تنوع درون‌جمعیتی در نژاد پاکستانی احتمالاً به دلیل سازگاری این نژاد با شرایط موجود در منطقه هرمزگان، کرمان و سیستان و بلوچستان و همچنین تمایل دامداران به تلاقی این نژاد با بزهای بومی منطقه به دلیل تولید شیر زیاد قابل توجیه است. با توجه به فاصله زیاد جغرافیایی بین نژاد پاکستانی و لری و متفاوت بودن شرایط محیطی پرورش این دو نژاد و اهداف تولیدی نسبتاً متفاوت (شیر و گوشت در نژاد پاکستانی) بیشترین فاصله ژنتیکی در بین این دو نژاد، تا حد زیادی قابل توجیه است. پایین بودن تشابه بین جمعیتی در نژادهای بز بومی ایران احتمالاً به دلیل عدم وجود برنامه‌های اصلاحی و پرورش این نژادها با شرایط اقلیمی متفاوت می‌باشد. کمترین تنوع نوکلئوتیدی مربوط به نژاد زابلی بود. علت پایین بودن تنوع نوکلئوتیدی در بزهای زابلی احتمالاً به دو دلیل باشد: 1- کوچکی اندازه نمونه، به نحوی که ممکن است نمونه مطالعه شده بیان‌گر سطح تنوع واقعی در جمعیت بزهای بومی نژاد زابلی نباشد. 2- ممکن است به دلیل پراکنش محدود این نژاد در استان سیستان و بلوچستان باشد و از آن‌جایی که اندازه موثر جمعیت این بز در کشور کم می‌باشد، لذا جمعیت بز زابلی دارای تلاقی خویشاوندی است که این خود می‌تواند باعث کاهش چشمگیر تنوع ژنتیکی شود. بنابراین انتظار می‌رود از این نژاد با ارزش، حفاظت بیشتری صورت به عمل آید. فاصله ژنتیکی در بز پاکستانی 0/041-0/522، در نژاد بز زابلی 0/049-0/141 و نژاد بز لری 0/049- 0/040 بود، در حالی‌که هیچ فاصله ژنتیکی در نژاد بزهای عدنی مشاهده نشد و دورترین فاصله ژنتیکی بین نژاد پاکستانی و نژاد لری است.

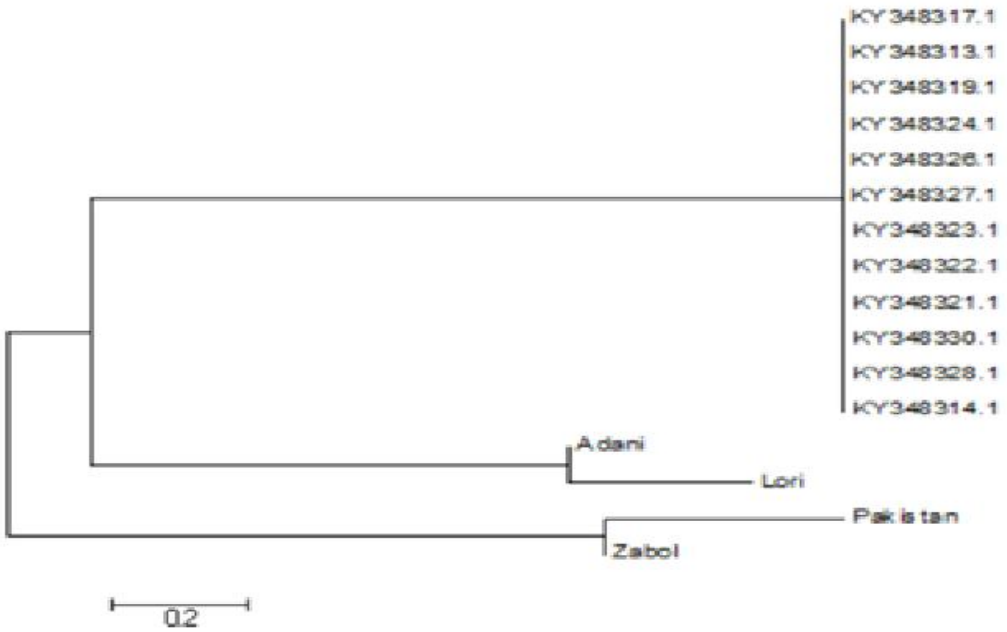
www.SID.ir

Archive of SID

تست تاجیما D به منظور شناسایی هر گونه انحراف از فرضیه صفر تکامل خنثی و شناسایی اثرات انتخاب طبیعی بر ژن‌ها محاسبه شد (Hedayat-Evrigh et al. 2016). مقدار تاجیما D در جمعیت بزهای بومی مطالعه شده منفی 1/627 به دست آمد که نشان‌دهنده‌ی اثر گسترش اخیر جمعیت بز در ایران و یا اثر انتخاب جهت‌دار بر روی این ژن در طول تکامل است. درخت فیلوژنی توالی‌های مورد توافق بزهای بومی نژاد لری، زابلی، عدنی، و پاکستانی با توالی‌های بزهای *Capra hircus* ترسیم شد (شکل 3). نژادهای بز مورد مطالعه در دو گروه قرار گرفتند. بزهای نژاد لری و عدنی به همراه *Capra hircus* در یک گروه و بزهای نژاد پاکستانی و زابلی نیز به صورت مجزا گروه تشکیل دادند. گروه‌بندی درخت فیلوژنی نشان داد هاپلوتیپ‌های *Capra hircus* می‌تواند مربوط به مهاجرت افراد بین جمعیت‌ها باشد که نشان دهنده جریان ژنی ناشی از آمیخته‌گری بین بزهای نژادهای مختلف است که در دام‌ها بسیار معمول می‌باشد. این نتایج تا حد زیادی با نتایج تحقیق .Wang et al (2008) مطابقت دارد که نشان دادند هاپلوتیپ‌های بز *C. aegagrus* با بزهای بومی اندونزیایی در یک گروه قرار دارند. قرار گرفتن نژاد پاکستانی و زابلی در یک گروه احتمالاً به دلیل نزدیک بودن محل پراکنش این دو نژاد و شرایط یکسان آب و هوایی می‌باشد (کشور پاکستان و استان سیستان و بلوچستان) که به طور مشخص از نژاد لری و عدنی جدا شدند. بر اساس تجزیه و تحلیل فیلوژنتیک توالی mtDNA، نشان داده شده است که جمعیت بزهای اندونزی با *C. algagrus*، *C. hircus* و همچنین با بز چینی، بز کره‌ای، بز هندی، بز تایلندی و بز لائوس در یک گروه قرار گرفتند (Pakpahan et al., 2016a). در پژوهشی .Sultana et al (2003) بر اساس توالی Cyt b گزارش کردند بزهای پاکستانی از 4 لاین مختلف به نام A، B، C و D منشا می‌گیرند. آن‌ها همچنین نتیجه گرفتند حداقل چهار گونه کاپرای وحشی ممکن است منشأ بزهای اهلی مدیترانه باشند. بر اساس تجزیه و تحلیل درخت فیلوژنتیک توالی Cyt b در این مطالعه، جمعیت بز اندونزی با *C. algagrus* گروه‌بندی شد و از *C. falconeri* جدا شد. این مطالعه نشان داد بزهای اندونزی رابطه‌ای نزدیک با *C. aegagrus* دارند (Sultana et al., 2003). روش dN/ dS یک روش کارآمد و بسیار مفید جهت تشخیص روند انتخاب طبیعی در طول تکامل برای ژن‌ها می‌باشد (Galtier et al., 2009). اگر این نسبت بیشتر از یک باشد انتخاب مثبت، اگر کمتر از یک باشد انتخاب خالص و اگر برابر یک باشد انتخاب خنثی این ژن را در طی تکامل نشان می‌دهد. مقدار عددی نسبت dN/ dS برای نژاد زابلی، لری، پاکستانی و عدنی به صورت بین جمعیتی1/17 به دست آمد که روند انتخاب مثبت ژن سیتوکروم b در نژادهی مورد بررسی در طی تکامل نشان می‌دهد. این مقدار برای نژاد های مورد بررسی با سایر نژاد های بز در NCBI1/073 به دست آمد که روند انتخاب مثبت این ژن را در طی دوره تکامل را نشان می‌دهد.

www.SID.ir
Agricultural Biotechnology Journal; Printing ISSN: 2228-6705, Electronic ISSN: 2228-6500

Archive of SID



شکل 3. درخت فیلوژنتیک ژن سیتوکروم b بر اساس روش NJ در چهار نژاد مورد بررسی با نژادهای بز *Capra hircus* موجود در بانک جهانی ژن

Figure 3. The Phylogenetic tree of Cyt-b gene based on the NJ method in four goat breeds with *Capra hircus* goat breeds in the World Bank Gene

معمولا در بررسی‌های جمعیتی مقدار Fst شاخص مهمی جهت تعیین تمایز و تفکیک ژنتیکی بین جمعیت‌ها محسوب می شود و بیان‌گر آن است که هر چه میزان جریان ژنی بیشتر باشد، اختلاف ژنتیکی بین جمعیت‌ها کمتر است. نتایج آنالیز واریانس ملکولی نشان داد 80 درصد از تنوع درون جمعیت‌ها وجود داشت ولی تنوع بین جمعیت‌ها پایین و حدود 20 بود که نشان‌دهنده تعداد محدود نمونه‌های مورد پژوهش، جریان ژنی بالا، آمیزش‌های خویشاوندی و مهاجرت در بین جمعیت‌های مورد مطالعه بوده است (Pariset et al. 2012). اگرچه انجام تحقیقات در مقیاس وسیع و با تعداد نمونه بالا برای تعیین توالی نقاطی از DNA میتوکندری به منظور کسب اطلاعات و شناخت دقیق‌تر از نژادهای بومی در حال حاضر مقدور نیست اما انجام تحقیقات در مقیاس کوچک و مقایسه توالی‌های به دست آمده می تواند به اطلاعات ما درباره نژادهای بومی کمک کند و زمینه را برای استفاده بهتر از آن‌ها در برنامه‌های اصلاحی باز کند.

www.SID.ir

Archive of SID

منابع

توحیدی نژاد فاطمه، محمدآبادی محمدرضا، اسمعیلی زاده کشکوئیه علی، نجمی نوری عذرا (1393) مقایسه سطوح مختلف بیان ژن Rheb در بافت های مختلف بز کرکی راینی. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی 6(4)، 35-50.

عسکری ناهید، باقی زاده امین، محمدآبادی محمدرضا (1389) بررسی تنوع ژنتیکی در چهار جمعیت بز کرکی رایینی با استفاده از لوکوس های بین ریز ماهواره ای (ISSR). مجله ژنتیک نوین 5(2)، 56-49.

عسکری ناهید، محمدآبادی محمدرضا، بیگی نصیری محمد تقی، باقی زاده امین ، فیاضی جمال (1387) مطالعه تنوع ژنتیکی بز کرکی راینی بر اساس نشانگرهای ریز ماهواره. مجله دانش کشاورزی و تولید پایدار 18(4)، 164-155.

علی‌نقی‌زاده روح الله ، محمدابادی محمدرضا، زکی زاده سونیا (1389) چند شکلی اگزون2 ژن BMP15 در بز سرخ جبال بارز. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی 2(1)، 80-69

نبی حسنی محمد، اسدی فوزی مسعود، علی اسمعیلی زاده، محمدآبادی محمدرضا (1389) تجزیه ژنتیکی صفات رشد در بز کرکی رائینی با استفاده از مدل حیوانی چند متغیره. مجله علوم دامی ایران 41(4)، 329-323.

References

Alinaghizadeh H, Mohammad Abadi MR, Zakizadeh S (2010) Exon 2 of BMP15 gene polymorphism in Jabal Barez Red Goat. Agric Biotechnol J 2(1), 69-80.

Askari N, Baghizadeh A, Mohammadabadi MR (2008) Analysis of the genetic structure of Iranian indigenous Raini Cashmere goat populations using microsatellite markers. Modern Genetics J 2, 1-4.

Askari N, Mohammadabadi MR, Beigi Nasiri MT, Bagizadeh A, Fayyazi J (2008) Study of genetic diversity of Raini cashmere goats based on micro satellite markers. J Agric Sci Sustainable Prod 18, 155-164.

Baghizadeh A, Bahaaddini M, Mohamadabadi MR. Askari N (2009) Allelic Variations in Exon 2 of Caprine MHC Class II DRB3 Gene in Raeini Cashmere Goat. Am Eurasian J Agric Environ Sci, 6, 454-459.

Barazandeh A, Moghbeli SM, Vatankhah M, Mohammadabadi MR (2012) Estimating non-genetic and genetic parameters of pre-weaning growth traits in Raini Cashmere goat. Trop Anim Health Pro 44, 811-817.

Barnett, RG. Larson (2012) A phenol-chloroform protocol for extracting DNA from ancient samples. Methods Mol Biol 840, 13-19.

Batubara A (2011) Phenotypic and genetic diversity study of some sub-populations of local goat Indonesia and sustainable use strategy. Vol. Ph.D Thesis. Bogor Agricultural University Indonesia.

www.SID.ir
Agricultural Biotechnology Journal; Printing ISSN: 2228-6705, Electronic ISSN: 2228-6500

Archive of SID

Budisatria IGS, Udo HMJ, van der Zijpp AJ et al. (2008) Religious festivities and marketing of small ruminants in Central Java-Indonesia. Asian J Agri Dev 5, 57-73.

Chen S, Fan B, Liu B et al. (2006) Genetic variation of 13 indigenous Chinese goat breeds based on cytochrome b gene sequences. Biochem Genet 44, 87-97.

Ewing B, Green P (1998) Based-Calling of Automated Sequencer Traces Using Phred.II. Error Probabilities. Genome Res 8, 186-194.

Eyre-walker A, Awadalla P (2001) Does human mtDNA recombine. J Mol Evol 53, 430-435.

Galtier N, Nabholz B, Glémin S, Hurst G (2009) Mitochondrial DNA as a marker of molecular diversity: a reappraisal. Mol Ecol 18, 4541-4550.

Gholizadeh M, Mianji G, Zadeh H (2008) Potential use of molecular markers in the genetic improvement of livestock. Asian J Anim Vet Adv 3, 120-128.

Hall, TA, Carlsbad C (2011) BioEdit: An important software for molecular biology. GERF Bull Biosci 2, 60-61.

Hedayat-Evrigh N, Vahedi V, Seyed Sharifi R, Boustan A (2016) Sequencing and identification of single nucleotide polymorphisms of Partial myostatin gene in dromedary and Bactrian camels. J Agric Biotech 8, 119-124.

Ishida N, Hasegawa T, Takeda K et al. (1994) Polymorphic sequence in the D-loop region of equine mitochondrial DNA. Animal genetic 25, 215-221.

Lalitha, S. (2000) Primer premier 5. Biotech Software & Internet Report The Computer Software J Sci 1, 270-272.

Larkin MA, Blackshields G, Brown N et al. (2007) Clustal W and Clustal X version 2.0. Bioinformatics 23, 2947-2948.

Librado P, Rozas J (2009) DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. Bioinformatics 25, 1451-1452.

Liu Y, Cao S, Chen S et al. (2009) Genetic diversity of Chinese domestic goat based on the mitochondrial DNA sequence variation. J Anim Breed Genet 126, 80-89.

Moghadaszadeh M, Mohammadabadi MR, Esmailizadeh Koshkoieh A (2015) Association of Exon 2 of BMP15 Gene with the Litter Size in the Raini Cashmere Goat. Genetics in the 3rd Millennium, 13, 4062-4067.

Mohammadabadi MR (2012) Relationships of IGFBP-3 gene polymorphism with cashmere traits in Raini Cashmere goat. Modern Gen J 7, 115-120 (In Persian).

Mohammadabadi MR, Askari N, Baghizadeh A, Esmailizadeh A (2009) A directed search around caprine candidate loci provided evidence for microsatellites linkage to growth and cashmere yield in Rayini goats. Small Rumin Res 81, 146-51.

Mohammadabadi MR, Esfandyarpoor E, Mousapour A (2017) Using Inter Simple Sequence

www.SID.ir

Archive of SID

Repeat Multi-Loci Markers for Studying Genetic Diversity in Kermani Sheep. J Res Dev 5, 154-157.

Molaei Moghbeli S, Barazandeh A, Vatankhah M, Mohammadabadi MR (2013) Genetics and non-genetics Parameters of body Weight for Post WEANING Traits in Raini Cashmere goats. Trop Anim Health Pro 45, 1519-24.

MacCarthy, C. 2005. Chromas. Technelysium Pty Ltd.

Nabi Hassani M, Asadi Fozi M, Esmailizadeh AK and Mohammadabadi MR (2010) A genetic analysis of growth traits in Raieni Cashmere goat using multivariate animal model. Iranian J Anim Sci 41, 323-329.

Naderi S, Rezaei HR, Taberlet P et al. (2007) Large-scale mitochondrial DNA analysis of the domestic goat reveals six haplogroups with high diversity. Plos One 2, 1-12.

Nei M, Kumar S (2000) Molecular Evolution and Phylogenetics. Oxford University Press, New York.

Pakpahan S, Artama WT, Suparta IG (2016a) Genetic characteristics and relationship in different goat populations of Indonesia based on Cytochrome B gene sequences. Asian J Anim Sci 10, 29-38.

Pakpahan S, Artama WT, Widayanti R, Budisatria IGS (2016b) Molecular phylogenetic of Hutan Sumatera goat (*Sumatran Serow*) and Domestic goat (*Capra hircus*) in Indonesia based on analysis mitochondrial cytochrome b gene. Asian J Anim Vet Adv 11, 331-340.

Pakpahan S, Artama WT, Widayanti R, Suparta IG (2015) Genetic variations and the origin of native indonesian goat breeds based on mtDNA D-loop sequences. Asian J Anim Sci 9, 341-350.

Pariset L, Joost S, Gargani M, Valentini A (2012) Landscape genomics in livestock. In analysis of genetic variation in animals. (No BOOK_CHAP, p. 360) Intech.

Rahman A, Ramli A, Wan Embong W (2008) A review of reproductive biotechnologies and their application in goat. Biotechnology 7(2), 371-384.

Saitou N, Nei M (1987) The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic tree. Mol Biol Evol 4, 406-425.

Sawaimul A, Sahare M, Ali S et al. (2014) Assessment of genetic variability among Indian sheep breeds using mitochondrial DNA cytochrome-b region. Vet World 7, 852-855.

Sayers EW, Barrett T, Benson DA et al. (2011) Database resources of the national center for biotechnology information. Nucleic Acids Res 39, 38-51.

Shamsalddini S, Mohammadabadi MR, Esmailizadeh AK (2016). Polymorphism of the prolactin gene and its effect on fiber traits in goat. Russ J Genet 52(4), 461-465.

Shojaei M, Mohammad Abadi MR, Asadi Fozi M et al. (2010). Association of growth trait and

www.SID.ir

Archive of SID

Leptin gene polymorphism in Kermani sheep. J Cell Mol Res 2, 67-73.

Stamatakis A (2006) RAxML-VI-HPC: maximum likelihood-based phylogenetic analyses with thousands of taxa and mixed models. Bioinformatics 22, 2688-2690.

Sultana S, Mannen H, Tsuji S (2003) Mitochondrial DNA diversity of Pakistani goats. Anim Genet 34, 417-421.

Takada T, Kikkawa Y, Yonekawa H et al. (1997) Benzor (*C. aegagrus*) is a matriarchal candidate for ancestor of domestic goat (*C. hircus*): evidence from the mitochondrial DNA diversity. Biochem Genet 35, 315-326.

Tamura K, Stecher G, Peterson D et al. (2013) MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. Mol Biol Evol 30, 2725-2729.

Tobe S, Linacre A (2008) A multiplex assay to identify 18 European mammal species from mixtures using the mitochondrial cytochrome b gene. Electrophoresis 29, 340-347.

Tohidi nezhad F, Mohammadabadi MR, Esmailizadeh AK, Najmi Noori A (2015) Comparison of different levels of Rheb gene expression in different tissues of Raini Cashmir goat. Agric Biotechnol J 6, 37-50.

Vajed Ebrahimi MT, Mohammad Abadi MR, Esmailizadeh AK (2016). Analysis of genetic diversity in five Iranian sheep population using microsatellites markers. Agric Biotechnol J 7, 143-158 (In Persian).

Vajed Ebrahimi MT, Mohammad Abadi MR, Esmailizadeh AK (2017). Using microsatellite markers to analyze genetic diversity in 14 sheep types in Iran. Archiv fuer Tierzucht (Arch. Anim. Breed) 60, 183-189

Widayanti R, Agustianti T, Kunda RM, Pakpahan S (2016) Phylogenetic relationship of cuscuses (Marsupialia: Phalangeridae) from papua and maluku based on mitochondrial sequences of NADH dehydrogenase sub-unit 1 gene. Biotechnology 15, 17-25.

Zamani P, Akhondi M, Mohammadabadi MR (2015) Associations of Inter-Simple Sequence Repeat loci with predicted breeding values of body weight in sheep. Small Rumin Res 132, 123-127.

Zewdu E, Hailu D, Sang-Wook K et al. (2013) Genetic diversity, population structure and relationships in indigenous cattle populations of Ethiopia and Korean Hanwoo breeds using SNP markers. Front Genet 4, 35.

Zhao Y, Zhang J, Zhao E et al. (2011) Mitochondrial DNA diversity and origins of domestic goats in Southwest China (excluding Tibet). Small Ruminant Res 95, 40-47.

www.SID.ir