

The Genetic and Phylogenetic Analysis of the D-Loop Region in Mitochondrial Genome of Najdi Goat

Ameneh Bashiri

M.S. graduate of Animal genetic and Breeding, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural science and Natural Resources University of Khuzestan, Iran. Email: bashiri1396@gmail.com

Hedaiat Allah Rooshanfekr

Professor, Department of Animal Science, Faculty of Animal science and Food Technology, Agricultural Science and Natural Resources University of Khuzestan, Ahvaz, Iran. Email: roshanfekr_hd@yahoo.com

Fatemeh Salabi

*Assistant Professor, Department of Venomous Animals and Anti-venom Production, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Ahvaz-Iran. Tel: 09167354902, Email: F.salabi@rvsri.ac.ir

Abstract

Objective

The analysis of mitochondrial DNA has been a potent tool in our understanding of evolution, owing to characteristics such as high copy number, apparent lack of recombination, high substitution rate and maternal mode of inheritance. This study aims to carry out genetic and phylogenetic analysis on the D-Loop region of the mitochondrial genome in Najdi goats and to evaluate the relations between Najdi goats and other goat breeds available in Iran and around the world.

Materials and methods

12 blood samples from unrelated Najdi goats from various areas of Khuzestan Province were collected. After extraction of DNA, a 968 nucleotide fragment of the D-loop region of the mitochondrial genome was amplified and sequenced. Then, the fragments were compared to

the other breeds submitted in NCBI database. Finally, a phylogenetic tree was constructed using MEGA6 software.

Results

The results showed that the Najdi goat breed classified into A Haplogroup and has the lowest genetic distance with the breeds of Chinese and Pakistani goats. The results of genetic variation led to the identification of 20 mutations with 5 Haplotypes in Najdi goat population. Moreover, the haplotype, nucleotide diversities and the average number of pairwise differences were estimated as 0.727, 0.009 and 0.540, respectively; which indicates a high diversity in the Najdi goat. The results obtained from Tajima's D show that in the population of the Najdi goat, a balanced natural selection is going on and the frequency of rare alleles in this population is very low.

Conclusions

The genetic diversity of Najdi goats has increased over the years, while the number of livestock in Khuzestan province has decreased. The increase in genetic diversity could be due to crossbreed of this breed with Pakistani breeds and so on. The result of these crossbreeding in the near future will be the extinction of Najdi goats, and this issue requires more attention from the authorities.

Keywords: D-loop region, Najdi goat, mitochondrial genome, phylogenetic tree.

Citation: Bashiri A, Roshanfekar H, Salabi F (2020) The Genetic and Phylogenetic Analysis of the D-Loop Region in Mitochondrial Genome of Najdi Goat. *Agricultural Biotechnology Journal* 12 (3), 45-66.

Agricultural Biotechnology Journal 12 (3), 45-66.

DOI: 10.22103/jab.2020.13666.1121

Received: June 18, 2019; Accepted: August 16, 2020

© Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman-Iranian Biotechnology Society

تجزیه و تحلیل ژنتیکی و فیلوژنتیکی ناحیه D-loop ژنوم میتوکندری بز نجدی

آمنه بشیری

دانش آموخته ژنتیک و اصلاح دام گروه علوم دامی - دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی - دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان - اهواز - ایران. ایمیل: bashiri1396@gmail.com

هدایت اله روشنفکر

استاد گروه علوم دامی - دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی - دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان - اهواز - ایران. ایمیل: roshanfekr_hd@yahoo.com

فاطمه ثعلبی

*نویسنده مسئول، استادیار سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی - موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی شعبه اهواز، گروه جانوران سمی و تولید پادزهر - اهواز، ایران. تلفن ۰۹۱۶۷۳۵۴۹۰۲. ایمیل: F.salabi@rvsri.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۳/۲۸، تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۵/۲۶

چکیده

هدف: تجزیه و تحلیل DNA میتوکندری به دلیل ویژگی‌هایی مانند تعداد کپی بالا، عدم نوترکیبی، نرخ جایگزینی بالا و وراثت مادری، یک ابزار قدرتمند در درک ما از تکامل بوده است. هدف از این مطالعه تجزیه و تحلیل ژنتیکی و فیلوژنتیکی ناحیه D-loop ژنوم میتوکندری در بز نژاد نجدی و همچنین بررسی ارتباط این نژاد با سایر نژادهای موجود در ایران و جهان بود.

مواد و روش‌ها: ۱۲ نمونه خون بز نجدی غیرخویشاوند از نقاط مختلف استان خوزستان تهیه شد. پس از استخراج DNA یک قطعه ۹۶۸ جفت نوکلئوتیدی ناحیه D-loop ژنوم میتوکندری تکثیر و توالی‌یابی شد. سپس با توالی نوکلئوتیدی نژادهای دیگر ثبت شده در پایگاه NCBI مورد مقایسه قرار گرفت. در نهایت درخت فیلوژنتیک با استفاده از نرم‌افزار MEGA6 ترسیم گردید.

نتایج: نتایج نشان داد که نژاد بز نجدی در هاپلوگروپ A قرار می‌گیرد و با نژادهای بز چینی و پاکستانی کمترین فاصله ژنتیکی را دارد. نتایج آنالیز تنوع ژنتیکی در جمعیت بز نجدی منجر به شناسایی ۲۰ جهش با ۵ هاپلوتیپ مختلف گردید. همچنین میزان تنوع

هاپلوتیپی، نوکلئوتیدی و تعداد متوسط نوکلئوتیدهای مختلف (Tajima's D) به ترتیب ۰/۷۲۷، ۰/۰۰۹ و ۰/۵۴ برآورد شد که نشان‌دهنده تنوع بالا در این نژاد است. محاسبه شاخص تاجیما D نشان می‌دهد که در جمعیت بز نجدی، انتخاب طبیعی متعادل در حال انجام است و فراوانی آل‌های کمیاب درون این جمعیت‌ها کم است.

نتیجه‌گیری: تنوع ژنتیکی بز نجدی در طی سالهای متمادی افزایش یافته است و این در حالی است که تعداد این دام در استان خوزستان کاهش یافته است. افزایش تنوع ژنتیکی می‌تواند به دلیل آمیخته‌گری این نژاد با نژادهای پاکستانی و غیره باشد. نتیجه این تلاقی‌گری‌ها در آینده‌ای نزدیک انقراض بز نجدی خواهد بود و این موضوع توجه بیشتر مسئولان را می‌طلبد.

کلمات کلیدی: ناحیه D-loop، بز نجدی، ژنوم میتوکندری، درخت فیلوژنتیک

مقدمه

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 به دست 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; Mohammadi et al. 2020; Moghadaszadeh et al. 2015; Askari et al. 2011; Moghbeli et al. 2013). حدود ۳۰ میلیون راس بز کرکی در سراسر جهان وجود دارد که ۴/۵ تا ۵ میلیون راس از آن‌ها (حدود ۲۰ درصد بزهای جهان) در ایران پرورش داده می‌شوند (Baghizadeh et al. 2009). یکی از نژادهای مهم بز که در استان‌های غرب و جنوب غربی به ویژه استان خوزستان پرورش می‌یابد نژاد نجدی است. بز نجدی یک نژاد دو منظوره شیری و گوشتی است که تولید اصلی آن شیر است. دفعات زایش این نژاد دو بار در سال و اغلب زایش‌ها با دوقلو زایی توأم است (Haji Seyyed Javadi et al. 2009). نژادهای بومی در هر کشور به‌عنوان سرمایه ملی و محصولی استراتژیک در اقتصاد و رونق آن کشور محسوب می‌شوند. از طرف دیگر، به دلیل شدت انتخاب پایین، تعداد زیاد پرورش‌دهندگان و محدودیت استفاده از تلقیح مصنوعی در گوسفند و بز، معمولاً از تنوع ژنتیکی بالایی برخوردارند (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).

طرفی در حوزه ژنتیک و اصلاح، اطلاع از ساختار ژنتیکی جمعیت‌ها می‌تواند کمک بزرگی برای برنامه ریزی برای طرح‌های اصلاح نژادی و از همه مهمتر، حفظ ذخایر ژنتیکی باشد (Alinaghizadeh et al. 2010; Moghadaszadeh et al. 2015). حفاظت باید بر اساس دانش عمیقی از منابع ژنتیکی نژادهای خاص باشد، لذا تلاش برای شناسایی و تعیین خصوصیات ژنتیکی نژادهای بومی و محلی بسیار اهمیت دارد (Shojaei et al. 2010; Zamani et al. 2015). میتوکندری اندامکی سیتوپلاسمی است که در بیشتر سلول‌های بدن وجود دارد و قادر به تولید انرژی برای سلول است. این اندامک 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 (Mohammadi et al. 2020). کد کردن tRNA و rRNA نشان‌دهنده سنتز پروتئین در میتوکندری است (Wallace 1992). DNA میتوکندری فقط منشا مادری دارد و امکان دورگه شدن DNA میتوکندری با DNA هسته سلول وجود ندارد به همین خاطر در بررسی‌های فیلوژنی و بررسی انشقاق گونه‌ها، با در دست داشتن تفاوت‌های موجود در توالی DNA میتوکندری هر موجود می‌توان رابطه فیلوژنی آن را با گونه‌ها و نژادهای خارج از دسترس که توسط دیگر محققین و حتی در سال‌های متفاوت مطالعه شده است مقایسه نموده و اطلاعات گسترده‌ای به دست آورد (Colombo et al. 2002).

ژنوم میتوکندری برای دو دهه است که به عنوان مارکر مولکولی در ژنتیک جمعیت استفاده می‌شود. نرخ جهش بالا و سیر تکاملی آن ۵ تا ۱۰ برابر سریع‌تر از DNA سلولی است (Xingbo et al. 2000). ژنوم میتوکندری حاوی ناحیه بسیار متغیر بنام (D-loop) Displacement-loop است که پروتئینی کد نمی‌کند و با فرکانس بسیار زیادی حدود ۱۰ برابر DNA هسته‌ای تمایل به جهش دارد. به دلیل اینکه این ناحیه ژن رمزکننده پروتئین ندارد در نتیجه، جهش می‌تواند در آنجا تجمع یابد. این ناحیه همانندسازی DNA میتوکندری را با تنظیم فعالیت پروتئین‌ها و آنزیم‌های مختلف کنترل می‌کند (Reicher et al. 2012). توالی ناحیه کنترل میتوکندری به دلیل تکامل سریع آن برای بررسی تنوع ژنتیکی و ارزیابی روابط میان گونه‌ها بسیار ارزشمند است. در یک مطالعه جهانی که برای بررسی تنوع mtDNA بز اهلی انجام شد سه هاپلوتیپ اصلی شامل A و B و C شناسایی شد. هاپلوتیپ A عمومی و فراگیرترین تبار در همه کشورها بود. هاپلوتیپ B در شبه قاره هند، مغولستان و آسیای جنوب شرقی و هاپلوتیپ C در نمونه‌های کوچک از مונگولیا (مغولستان)، سوئیس و جمهوری اسلوانی یافت شد (Luikart et al. 2001). در بزهای اهلی پنج هاپلوتیپ مادری (A-E) بر اساس اطلاعات حاصل از mtDNA تاکنون تعریف شده است. در تحقیقی ۴ هاپلوگروه از A-D را در نژادهای بومی کشور چین شناسایی کردند که سه هاپلوتیپ اول از نظر فراوانی و توزیع جغرافیایی تقریباً مانند گزارش (Luikart et al. 2001) بود ولی هاپلوتیپ D کمیاب و فقط در بزهای محلی هند و پاکستان مشاهده گردید (Chen et al. 2005). پس از آن (Sultana et al. 2003) هاپلوتیپ میتوکندریایی C را در پاکستان مشاهده کرد و Joshi et

al. (2004) هاپلوتیپ میتوکندریایی D و E را در کشور هند شناسایی کردند. بالاخره در یک تحقیق وسیع Naderi et al. (2007) ۶ نوع هاپلوگروه با تنوع هاپلوتیپی بالا با نام‌های A، B، C، D، F و G را مشخص کردند که پنج مورد از این هاپلوگروه‌ها توسط محققان قبلی در بزهای اهلی شناسایی شده بود و تنها هاپلوگروه G یک گروه جدید بود، که در خاورمیانه و شمال آفریقا نزدیک بین‌النهرین وجود دارد. اگرچه پژوهش‌های زیادی روی بزهای ایران انجام شده است (Askari et al. 2009; Rohipoor et al. 2020; Mohammadabadi et al. 2009; Alinaghizadeh et al. 2010; Askari et al. 2010; Nabi Hassani et al. 2010; Mohammadabadi 2012; Tohidi nezhad et al. 2015; Shamsalddini et al. 2016) ولی تاکنون ناحیه D-loop ژنوم میتوکندری در بز نجدی مطالعه نشده است، لذا هدف از انجام این پژوهش، تجزیه و تحلیل ژنتیکی و فیلوژنتیکی ناحیه D-loop ژنوم میتوکندری در بز نجدی و همچنین بررسی ارتباط آن‌ها با سایر نژادهای موجود در ایران و جهان و تعیین هاپلوگروه بز نجدی بود.

مواد و روش‌ها

در پژوهش حاضر از نقاط مختلف استان خوزستان به تعداد ۱۲ نمونه خون از ورید وداج بز نجدی گرفته شد. همه‌ی نمونه‌ها در نهایت درون لوله‌های حاوی ماده ضد انعقاد EDTA قرار گرفته و سپس بر روی یخ قرار داده شدند و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان استخراج DNA در آزمایشگاه مرکزی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان نگهداری شدند. DNA نمونه‌ها توسط کیت سیناکلون (ایران) استخراج گردید و تعیین کیفیت DNA استخراج شده با استفاده از الکتروفورز روی ژل آگارز ۱٪ صورت گرفت. برای تکثیر قطعه مورد نظر از واکنش زنجیره‌ای PCR استفاده شد. توالی آغازگرهای استفاده شده در این پژوهش در جدول ۱ آمده است (Seyedabadi et al. 2016). واکنش زنجیره‌ای پلیمرز با حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر و ۳۵ چرخه با استفاده از یک جفت آغازگر و با ترکیب ۱۲/۵ میکرولیتر از مستر میکس Master Mix 1.5، ۲ میکرولیتر نمونه DNA، ۸/۵ میکرولیتر آب استریل و آغازگرهای رفت و برگشت هر کدام ۱ میکرولیتر انجام شد. برنامه حرارتی در جدول ۲ ارائه شده است.

جدول ۱. مشخصات پرایمر تکثیر ناحیه‌ی D-loop

Table 1. Primer Specification for D-loop Duplication

نام	توالی آغازگر	اندازه محصول (جفت باز)	دمای اتصال
Name	Primer sequence	Product size	Annealing temperature
Hvr1-F	5'-ACTCCACAAGCCTACAGA-3'	968	58
Hvr1-R	5'-GGAAAGGTGGAGCGGATG-3'	968	58

جدول ۲- برنامه حرارتی واکنش زنجیره‌ای پلیمرز

Table 2. PCR Thermal program

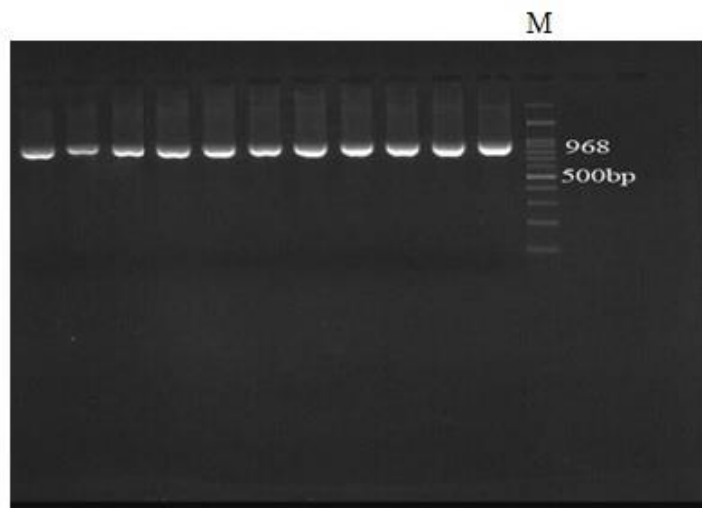
سیکل مراحل PCR	درجه حرارت	زمان
PCR cycle	Temperature	Time
واسرشته‌سازی اولیه (Initial denaturation)	95	5 دقیقه
واسرشته‌سازی (Denaturation)	95	4 دقیقه
اتصال آغازگر (Annealing)	58	4 دقیقه
بسط (Extention)	72	4 دقیقه
بسط نهایی (Final extention)	72	5 دقیقه

کیفیت محصولات PCR با استفاده از تکنیک الکتروفورز افقی و در نهایت ژل آگارز ۲ درصد سنجیده شد. به این منظور الکتروفورز محصولات PCR به مدت ۱ ساعت و ۳۰ دقیقه با ولتاژ ۱۱۰ ولت انجام شد. در نهایت برای مشاهده باندها، از دستگاه ژل داگ استفاده شد. برای ویرایش توالی‌های DNA از نرم‌افزار Bio edit v7.1.9 (Hall 1999) و جهت هم‌ردیفی از نرم‌افزار MEGA6 (Tamura et al. 2013) استفاده شد. برای تعیین مؤلفه‌های مختلف ژنتیکی DNA در درون جمعیت مورد مطالعه و همچنین پارامترهایی مانند مجموع جهش‌ها، تعداد هاپلوتیپ‌ها، تنوع هاپلوتیپی (ژنی) و واریانس هاپلوتیپی از نرم‌افزار DNAsp (Rozas et al. 2017) استفاده شد. درخت‌های فیلوژنتیک با استفاده از روش پیوند همجواری (NJ) و روش حداکثر

درست‌نمایی (ML) با ۱۰۰۰ بوت استرپینگ، توسط نرم‌افزار MEGA6 ترسیم گردیدند. جهت تعیین هاپلوگروه بز نجدی از هر هاپلوگروه ثبت شده در سایت NCBI، ۵ نمونه انتخاب شد و توسط نرم‌افزار MEGA6 درخت ترسیم گردید.

نتایج و بحث

استخراج DNA از ۱۰۰ میکرو لیتر خون کامل برای هر نمونه از بز نجدی با موفقیت صورت گرفت. DNA بدست آمده به وسیله ژل آگارز ۱ درصد مورد ارزیابی قرار گرفت. DNA استخراج شده از خون کامل نشان دهنده‌ی کیفیت مطلوب DNA استخراج شده بود. با انجام گرادیانت دمایی توسط دستگاه ترموسایکلر مناسب‌ترین دما برای اتصال آغازگر ۵۸ درجه سانتی‌گراد تشخیص داده شد. محصولات PCR تکثیر شده بر روی ژل آگارز نشان داد که نتایج آن نشانگر کیفیت و کمیت مناسب محصولات PCR مناسب است و PCR به درستی انجام شده است (شکل ۱).



شکل ۱- نتیجه تکثیر قطعه (D- Loop) بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد. M: مارکر ۱۰۰ bp

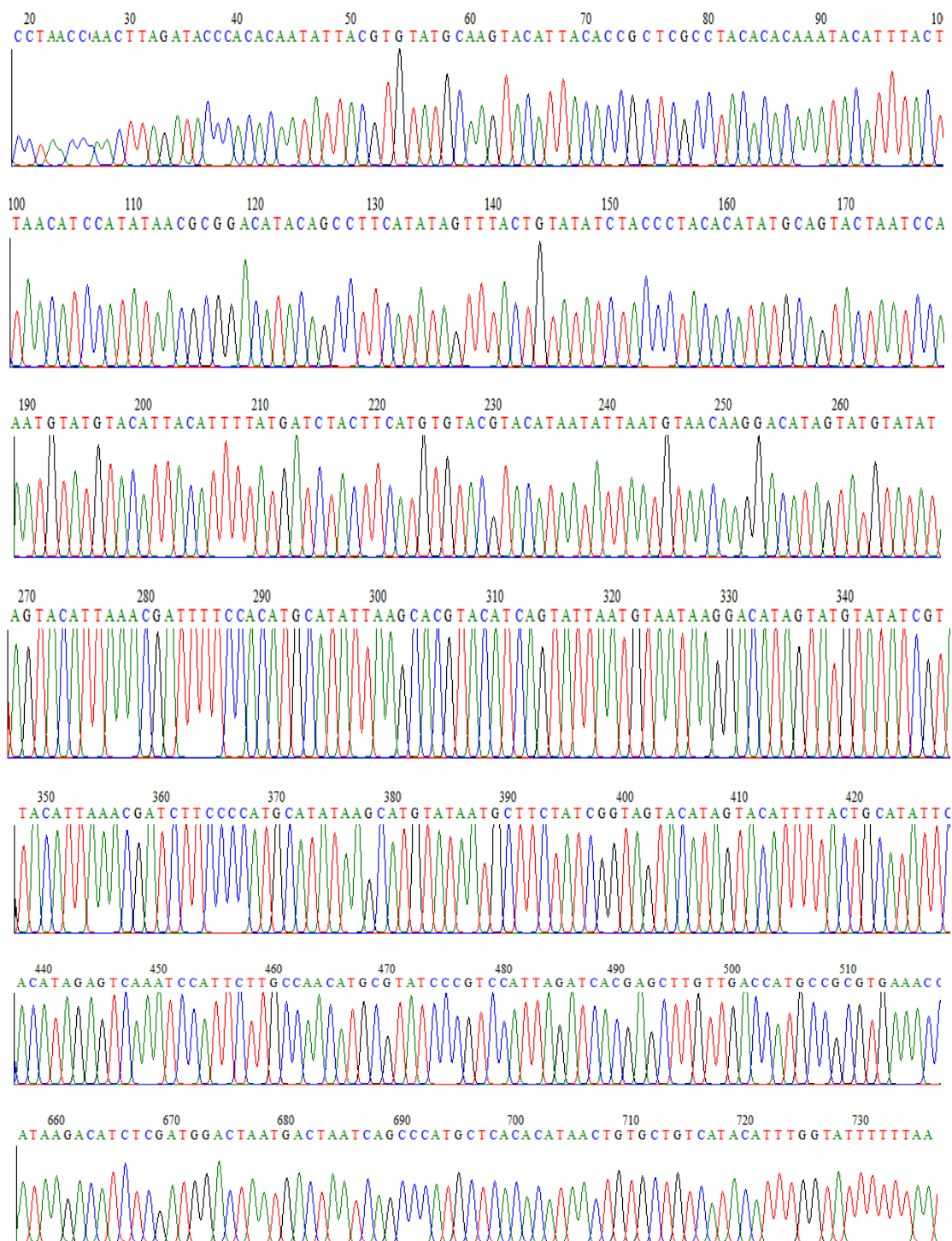
Figure 1. The results of D-loop Proliferation on the 1.5% Agarose gel. M: size marker 100bp

برای تعیین توالی، نمونه‌ها به شرکت تکاپو زیست ارسال شدند. در نهایت توالی‌ها بوسیله‌ی نرم‌افزار Bio Edit، خوانده و ویرایش شد. اطلاعات مربوط به توالی‌های Hvr1 هر یک از نمونه‌ها با استفاده از روش Clustal W در برنامه Vector NTI (Lu and Moriyama 2004) 11، هم‌ردیف گردید و توالی مورد توافق یا مشترک "consensus" بدست آمد (شکل ۲). نتایج نشان داد هم‌ردیف شدن قطعات مورد آنالیز به‌خوبی صورت گرفته است و نمونه‌ها در سطح ۱۰۰ درصد با یکدیگر همپوشانی

داشتند. طول قطعه تکثیر شده، ۹۶۸ جفت باز بوده، که بعد از ویرایش یک توالی مورد توافق ایجاد شد. طول توالی مورد توافق ۸۷۲ جفت نوکلئوتید بدست آمد. طی پژوهش انجام شده، ۱۲ نمونه از نژاد بز نجدی مورد بررسی قرار گرفت که طی آن با بررسی ناحیه‌ای به طول ۸۷۲ جفت نوکلئوتید از D-Loop میتوکندری نژاد مذکور نتایج زیر به دست آمد. از ۸۷۲ جایگاه موجود در توالی جمعیت بز نجدی تعداد ۲۳ جایگاه چندشکل (Polymorphic) و ۸۴۹ جایگاه تک شکل (Monomorphic) به دست آمد. مجموع جهش‌ها ۲۰ و تعداد هاپلوتیپ‌های بدست آمده ۵ عدد بود. هاپلوتیپ‌های بز نجدی در جدول ۳ آمده است. تنوع ژنی یا هاپلوتیپی و واریانس تنوع هاپلوتیپی نیز مورد بررسی قرار گرفت که به ترتیب مقدار ۰/۷۲۷ و ۰/۱۲۸۴ به دست آمد. در طی بررسی توالی‌های بز نجدی یک جایگاه حذف و اضافه (In Del) مشاهده شد. تنوع نوکلئوتیدی ۰/۰۰۹ و میانگین اختلاف نوکلئوتیدی (K) ۷/۹۵۵ محاسبه شد که در محدوده متوسط تنوع نوکلئوتیدی یوکاریوت‌ها که بین ۰/۰۰۲ تا ۰/۰۱۹ می‌باشد قرار دارد (Nei and Kumar 2000). همچنین جایگاه متنوع مرکب و میانگین تعداد اختلاف نوکلئوتیدها (Tajimas'D) به ترتیب ۱۲ و ۰/۵۴۰۵۵ به دست آمد. محاسبه شاخص تاجیما D نشان می‌دهد که در جمعیت بز نجدی، انتخاب طبیعی متعادل در حال انجام است و فراوانی آلل‌های کمیاب درون این جمعیت‌ها کم است.

Consensus sequence

CCTAACCCAACCTTAGATACCCACACAAACGCCAACACCACACAATATTACGTGTAT
 GCAAGTACATTACACCGCTCGCCTACACACAAATACATTTACTAACATCCATATAA
 CGCGGACATAACAGCCTTCATATAGTTTACTGTATATCTACCCTACACATATGCAGTA
 CTAATCCAGCATAAACGTAATGTATGTACATTATTTTATGATCTACTTCATGTGC
 ACGTACATAATATTAATGTAACAAGGACATAATATGTATATAGTACATTAAACGAT
 TTTCCACATGCATATTAAGCACGTACATCAGTATTAATGTAATAAGGACATAGTAT
 GTATATTGTACATTAACGATCTTCCTCATGCATATAAGCATGTATAATGCTTCTAT
 TGGCAGTACATAGTACATTTTACTGCATATTCGTACATGGCACATAGAGTCAAATCC
 ATTCTTGCCAACATGCGTATCCCGTCCACTAGATCACGAGCTTGTTGACCATGCCGC
 GTGAAACCAGCAACCCGCTTGGCAGGGATCCCTCTTCTCGCTCCGGGCCCATTAAC
 CGTGGGGGTAGCTATTTAATGAACTTTATCAGACATCTGGTTCTTTCTTCAGGGCCA
 TCTCACCTAAAATCGCCCCTCTTCCTCTTAAATAAGACATCTCGATGGACTAATG
 ACTAATCAGCCCATGCTCACACATAACTGTGCTGTCATACATTTGGTATTTTTAAT
 TTTCGGGGATGCTTGGACTCAGCTATGGCCGTCTGAGGCCCGACCCGGAGCATAA
 ATTGTAGCTGGACTTAACTGCATCTTGAGCATCCCCATAATGGTAGGCATGGGCATT
 GCAGTTAATGGTCACAGGACATA



شکل ۲- توالی مورد توافق و توالی نوکلئوتیدی Hvr 1 میتوکندری یکی از نمونه های بز نجدی.

Figure 2. Consensus sequence and nucleotide sequence of mitochondrial hyper variable region 1 (HVR1) in one of the samples of Najdi goat.

معیار فاصله ژنتیکی، تعداد جایگزینی‌های نوکلئوتیدی در هر جایگاه بین توالی‌ها می‌باشد. همانطور که در شکل ۳ مشخص شده است، کمترین میزان فاصله ژنتیکی بین بز نجدی و نژادهای پاکستانی بود. این نزدیکی نشان دهنده‌ی روابط فیلوژنتیکی است که می‌تواند بیانگر منشأ مشترک و یا وجود جریان ژنی میان آن‌ها و یا شرایط زیستگاهی مشابه باشد. در مطالعه‌ی Gorkhali et al. (2014) مقایسه توالی بزهای نپال با توالی گزارش شده در کشورهای همسایه (بوتان، پاکستان، هندوستان و چین) را انجام داد که این مطالعه به منظور بررسی تنوع ژنتیکی بزهای بومی نپال بر روی ناحیه D- Loop ژنوم میتوکندریایی ۹۳ حیوان از بزهای بومی نپال بر روی ناحیه D- Loop ژنوم میتوکندریایی ۹۳ حیوان از بزهای بومی نپال صورت گرفت و نشانگر وجود جریان ژنی گسترده بین کشورهای همسایه است که با نتایج حاصل شده از این پژوهش تا حدی مطابقت دارد.

جدول ۳. هاپلو تیپ‌های بز نجدی

Table 3. Najdi goat haplotypes

	1	3	4	32	52	106	129	172	227	259	286	314	336	366	388	389	397	416	426	459	461	482	779	851
1	-	c	t	c	g	t	c	c	c	g	t	g	a	c	t	g	c	t	c	t	t	c	c	g
2
3
4	.	.	.	t	a	c	t	t	t	a	.	a	g	t	.	.	.	c	t	.	c	t	.	a
5	c	t	a	.	.	c	t	t	.	a	c	.	g	t	.	.	t	.	t	.	c	.	.	.
6	c	t	a	.	.	c	t	t	.	a	c	.	g	t	.	.	t	.	t	.	c	.	.	.
7	c	t	a	.	.	c	t	t	.	a	c	.	g	t	.	.	t	.	t	.	c	.	.	.
8	c	t	t	t	c	a	.	.	t	c	c	.	t	.
9	c	t	t	.	a	c	.	g	t	.	.	t	.	t	.	c	.	.	.
10
11
12

در شکل ۴ درخت فیلوژنی برای بز نجدی به همراه سایر نژادهای بز موجود در جهان ترسیم شده است. در ترسیم درخت فیلوژنی از الگوریتم NJ و ۱۰۰۰ بوت استرپ استفاده شد. نتایج رسم درخت فیلوژنتیک نشان داد که نژاد بز نجدی و نژادهای بز چینی در یک شاخه قرار گرفتند که حاکی از وجود بیشترین تشابه در بین این نژادها است. این نتایج با پژوهش Chen et al. (2006) که به منظور تعیین روابط فیلوژنتیک ۱۴ نژاد بز بومی چینی انجام گرفت تا حدی مطابقت دارد. در این پژوهش محققان نتیجه گرفتند که اکثر نژادهای بومی چین در یک گروه قرار گرفته و منشأ آن‌ها از بزهای بومی آسیای مرکزی می‌باشد و این امر شاید به علت اختلاط نژادی باشد. جهت ترسیم درخت فیلوژنیک و تعیین هاپلوگروپ از هر هاپلوگروپ ثبت شده در سایت NCBI ۵ نمونه انتخاب شد. تاکنون شش نوع هاپلوگروپ با تنوع هاپلو تیپی بالا با نام‌های A, B, C, D, F و G برای بز شناسایی شده است (Naderi et al. 2007). هر هاپلوگروپ مجموعه‌ای از هاپلو تیپ‌هایی است که یک جد مشترک دارند، اما هاپلو تیپ‌ها،

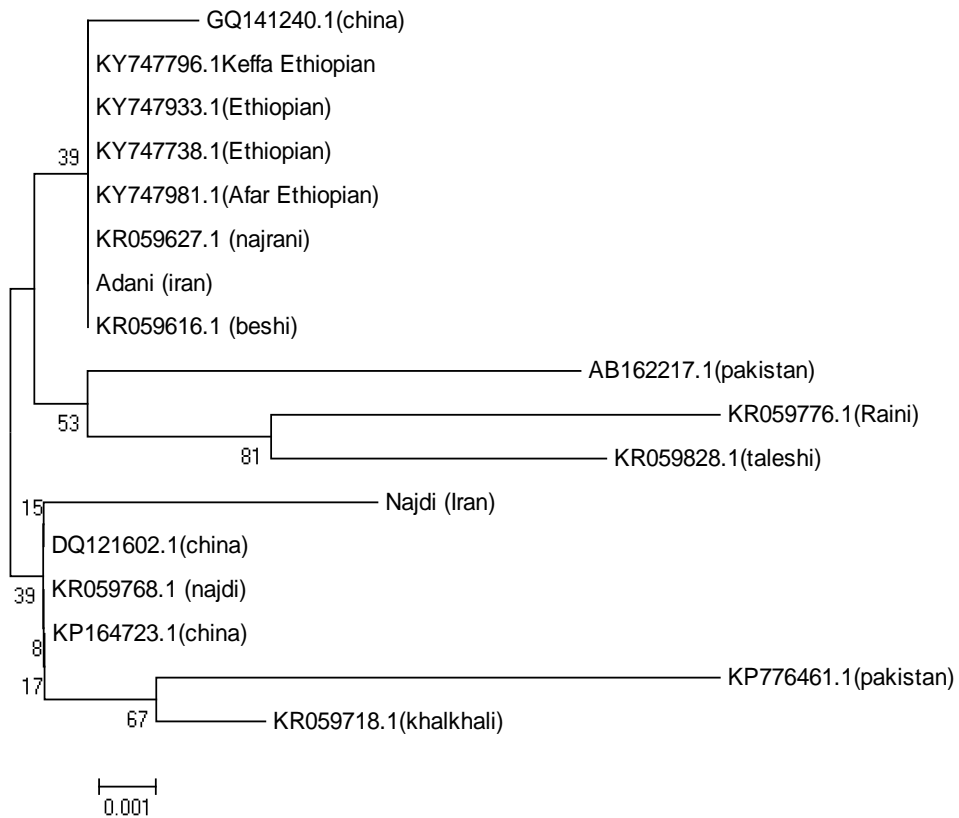
گونه‌های مختلف یک توالی هستند که مجموعه‌ای منظم از نوکلئوتیدهای جایگزین در مناطق چند شکلی (Polymorphism) آن‌ها را نمایان کند (Baca & Molak 2008).

Adani (iran)		0.000	0.000	0.002	0.004	0.004	0.005	0.005	0.005	0.003	0.002	0.002	0.002	0.000	0.000	0.000	0.000
KR059627.1 (najrani)	0.000		0.000	0.002	0.004	0.004	0.005	0.005	0.005	0.003	0.002	0.002	0.002	0.000	0.000	0.000	0.000
KR059616.1 (beshi)	0.000	0.000		0.002	0.004	0.004	0.005	0.005	0.005	0.003	0.002	0.002	0.002	0.000	0.000	0.000	0.000
KR059768.1 (najdi)	0.002	0.002	0.002		0.005	0.003	0.005	0.005	0.004	0.003	0.003	0.000	0.000	0.002	0.002	0.002	0.002
AB162217.1 (pakistan)	0.010	0.010	0.010	0.012		0.006	0.007	0.006	0.006	0.006	0.005	0.005	0.005	0.004	0.004	0.004	0.004
Najdi (iran)	0.008	0.008	0.008	0.006	0.018		0.006	0.006	0.005	0.004	0.004	0.003	0.003	0.004	0.004	0.004	0.004
KP776461.1 (pakistan)	0.014	0.014	0.014	0.012	0.024	0.018		0.007	0.007	0.005	0.005	0.005	0.005	0.005	0.005	0.005	0.005
KR059776.1 (Raini)	0.014	0.014	0.014	0.012	0.020	0.018	0.024		0.005	0.006	0.005	0.005	0.005	0.005	0.005	0.005	0.005
KR059828.1 (taleshi)	0.012	0.012	0.012	0.010	0.018	0.016	0.022	0.014		0.005	0.005	0.004	0.004	0.005	0.005	0.005	0.005
KR059718.1 (khalkhali)	0.006	0.006	0.006	0.004	0.016	0.010	0.012	0.016	0.014		0.004	0.003	0.003	0.003	0.003	0.003	0.003
GQ141240.1 (china)	0.002	0.002	0.002	0.004	0.012	0.010	0.016	0.016	0.014	0.008		0.003	0.003	0.002	0.002	0.002	0.002
DQ121602.1 (china)	0.002	0.002	0.002	0.000	0.012	0.006	0.012	0.012	0.010	0.004	0.004		0.000	0.002	0.002	0.002	0.002
KP164723.1 (china)	0.002	0.002	0.002	0.000	0.012	0.006	0.012	0.012	0.010	0.004	0.004	0.000		0.002	0.002	0.002	0.002
KY747981.1 (Afar_Ethiopian)	0.000	0.000	0.000	0.002	0.010	0.008	0.014	0.014	0.012	0.006	0.002	0.002	0.002		0.000	0.000	0.000
KY747738.1 (Ethiopian)	0.000	0.000	0.000	0.002	0.010	0.008	0.014	0.014	0.012	0.006	0.002	0.002	0.002	0.000		0.000	0.000
KY747933.1 (Ethiopian)	0.000	0.000	0.000	0.002	0.010	0.008	0.014	0.014	0.012	0.006	0.002	0.002	0.002	0.000	0.000		0.000
KY747796.1 Keffa_Ethiopian	0.000	0.000	0.000	0.002	0.010	0.008	0.014	0.014	0.012	0.006	0.002	0.002	0.002	0.000	0.000	0.000	

شکل ۳. فاصله ژنتیکی بین بز نجدی و بقیه بزهای اهلی. مقادیر فاصله ژنتیکی در بخش پایینی جدول و

مقادیر خطای استاندارد محاسبه در بخش فوقانی جدول گزارش شده است

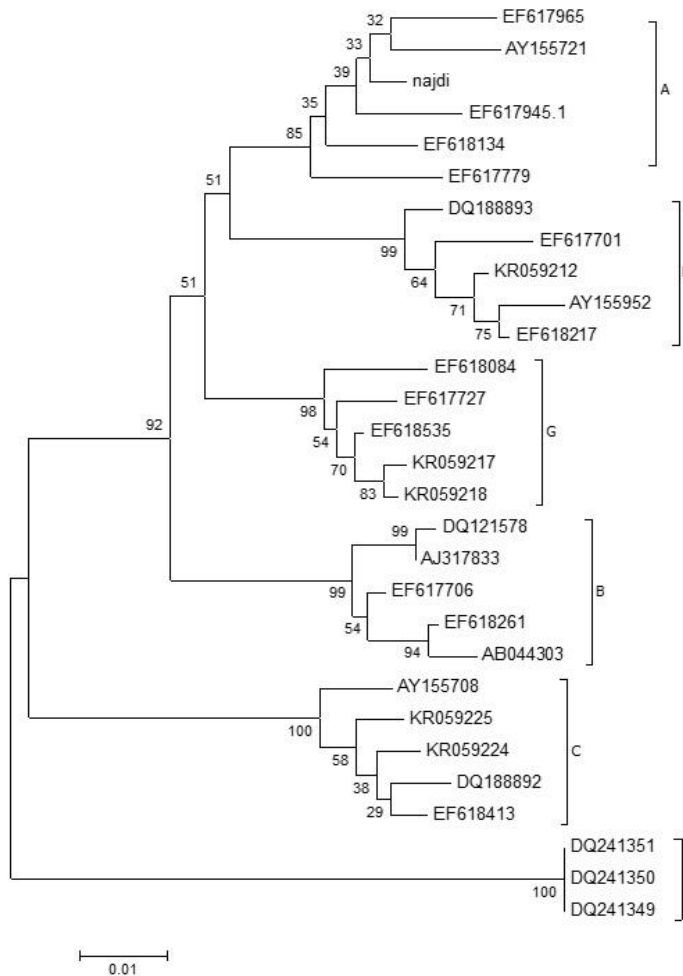
Figure 3. Genetic distance between Najdi goat and other breeds. The genetic distance values in the lower part of the table and the values of the standard error calculation are reported in the upper part of the table



شکل ۴. درخت فیلوژنتیک رسم شده بر اساس توالی ناحیه HVR1 در نژاد بز نجدی به روش NJ

Figure 4. Phylogenetic tree based on the sequence of HVR1 region of Najdi goat breed using NJ method

همانطور که در شکل ۵ مشاهده می شود بز نجدی در گروه هاپلوتیپی A قرار گرفت که این نتایج با مطالعه Mazdarani et al. (2014) که توالی ژنوم میتوکندریایی مربوط به بزهای دوران نوسنگی در جایگاه باستانی منطقه کیاسیز در مرکز زاگرس در ایران را مورد بررسی قرار دادند مطابقت دارد. آنها استخوان های مربوط به پنج حیوان دوران نوسنگی از این جایگاه باستانی در ساحل رودخانه سیمره در استان لرستان را مطالعه کردند. توالی HVR1 در این بزها ۵۳۴ تا ۶۳۲ جفت باز را شامل شده و با توالی بزهای امروزی ۹۹ درصد شباهت داشت که نشان دهنده محافظت بالای این توالی در بزهای دوره نوسنگی بود. هر پنج توالی مربوط به دوره نوسنگی همگی مربوط به هاپلوگروپ A بود که نشان می دهد انفجار اولیه تبار غالب در هزاره ۹ قبل از میلاد اتفاق افتاده است. علاوه بر این دو نمونه بررسی شده از جایگاه باستانی قبرستان دشت قزوین نیز مربوط به هاپلوگروپ A بود (Fernandez et al. 2005).



شکل ۵. تعیین گروه‌های هاپلوتایپی به روش NJ

Figure 5. Determination of haplotype groups using the NJ method

پیدایش هاپلوگروپ A بز در این منطقه جغرافیایی حاکی از آن است که نسل A بز پس از طی فرآیند اهلی‌سازی ابتدایی در غرب ایران (به ویژه زاگرس مرکزی) درون فلات مرکزی ایران منتشر شده است. این فرآیند ناشی از این است که گروه‌های انسانی در جهت ایفای اقتصاد معیشتی‌شان، بز را جابجا کرده‌اند (Porter 1996). در یک مطالعه‌ای بررسی ساختار ژنتیکی و تکامل نژادی بزهای کره‌ای با مطالعه توالی HVR1 ناحیه D-100p ژنوم میتوکندری انجام شد و نتایج به دست آمده در پژوهش آنها با توالی بزهای آسیایی مربوط به نژادهای چین، پاکستان، لائوس و هندوستان مقایسه شد. ۱۹ بز کره‌ای که در شش هاپلوتیپ گروه‌بندی شده بودند همگی مربوط به هاپلوگروپ A بودند. تنوع ژنتیکی و فاصله ژنتیکی کمی در داخل جمعیت مشاهده شد که نشان‌دهنده هم‌خونی بالا در آنها بود (Odahara et al. 2006).

هاپلو گروه A، بزرگ‌ترین هاپلوگروه در بین انواع هاپلوگروه‌های موجود در دنیا می‌باشد. درخت فیلوژنتیکی با روش NJ در شکل ۵ نشان داد که بز نجدی به هاپلوگروه A تعلق دارد. یافته‌های این تحقیق نیز گسترش جهانی هاپلوگروه A و تنوع بیشتر این هاپلوگروه را تأیید می‌کند (Doro et al. 2008). بیشتر نژادهای بز موجود در ایران در هاپلوگروه A قرار دارند (Rohipoor et al. 2014; Colli et al. 2020) و تحقیقات مختلف بر روی بز نجدی با روشهای ژنتیکی مختلف این موضوع را تأیید می‌کند و بز نجدی را جز هاپلوگروه A قرار دادند (Colli et al. 2014). بررسی انجام شده 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). 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). در تحقیق دیگری تنوع ژنتیکی با استفاده از اطلاعات میتوکندری در بزهای محلی کره، بررسی گردید. در این مطالعه، بز محلی کشور کره به صورت ۶ هاپلوتیپ گروه‌بندی شدند و همه بزهای کره‌ای به تبار مادری A تعلق داشتند (Odahara et al. 2006). در این تحقیق تنوع هاپلوتیپی برابر ۰/۷۲۷ و تنوع نوکلئوتیدی برابر ۰/۰۰۹ محاسبه گردید که با گزارشات دیگر محققین همخوانی دارد. در گزارشی که بررسی تعیین تبار مادری بز عدنی پرداخته شده بود میزان تنوع هاپلوتیپی و نوکلئوتیدی بز عدنی ۰/۵۷ و ۰/۰۰۲ ارائه گردید (Rohipoor et al. 2020). در تحقیقی ساختار ژنتیکی و تجزیه فیلوژنتیکی جمعیت بز خلخال با استفاده از ژنوم کامل میتوکندری در بز خلخال بررسی گردید. تنوع هاپلوتیپی و نوکلئوتیدی در بز خلخال به ترتیب ۰/۸۳۴ و ۰/۰۰۸ به دست آمد (Karimi et al. 2017).

اما مقایسه تنوع هاپلوتیپی و نوکلئوتیدی از سال ۱۳۸۳ تا ۱۳۹۹ هجری شمسی (۲۰۰۴-۲۰۲۰ میلادی) نشان می‌دهد این دو معیار افزایش یافته است و تنوع در این توده بومی افزایش است. بررسی تنوع ژنتیکی ۶ توده بز بومی (مرخز-نجدی-کرکی جنوب خراسان-سیاه لری-تالی-کرکی رائینی) ایران با استفاده از تکنیک RAPD نشان داد که نژاد نجدی از نژادهای دیگر جداست و در گروه دیگری جا می‌گیرد و تا حدودی به مرخز نزدیک است. تنوع درون جمعیتی برای بز نجدی در آن سالها بسیار پایین و حدود ۰/۳۳ برآورد گردید (Javanrouh Aliabad et al. 2014). چندین سال بعد محققین دیگر تنوع ژنتیکی و ارتباط فیلوژنتیک ۶ بز (مرخز-نجدی-تالشی-خلخال-نایینی-بومی آباد و ترکی قشقایی) ایران را با استفاده از میکروسلایت بررسی کردند و نشان دادند که بز نجدی تا حدودی نزدیک به بز مرخز است و از همه نژادهای دیگر فاصله بسیار زیادی دارد. این محققین تنوع ژنتیکی نژاد نجدی را کمتر از بقیه نژادها و ۰/۶۱ برآورد کردند (Vahidi et al. 2014). اما تنوع هاپلوتیپی محاسبه شده در این تحقیق (۰/۷۲۷) نشان می‌دهد که تنوع در این نژاد از سال ۲۰۰۴ تا ۲۰۲۰ افزایش یافته است. با در نظر گرفتن این موضوع

که تعداد بزهای نجدی در طی این سالها کاهش یافته است می توان نتیجه گرفت این افزایش تنوع در نتیجه آمیخته گری این نژاد با نژادهای دیگر ایجاد شده است. در سال های گذشته مسئولین جهادکشاورزی نسبت به این آمیخته گری هشدار دادند (Haji Seyed Javadi et al. 2009). گزارشات سازمان جهاد کشاورزی استان خوزستان نشان می دهد که در سالهای اخیر تلاقی گری شدیدی بین این بز و بزهای تالی، پاکستانی و بز محلی (بز موبند) استان خوزستان، انجام شده و بدلیل تیپ و هیکل بزرگ آنها و نیز تولید گوشت بیشتر مورد استقبال تعدادی از بزداران قرار گرفته است. آنها اعلام کردند نتیجه این تلاقی گری ها در آینده ای نزدیک ممکن است موجب انقراض بز نجدی شده و زنگ خطری است که باید به هر شکل ممکن، از انقراض این ذخیره ژنتیکی جلوگیری و جهت خالص سازی این بز اقدام شود. مسئولین سازمان جهاد کشاورزی استان خوزستان پیشنهاد کردند مروجان و دامداران عزیز از تلاقی گری این بز با بزهای دیگر از جمله بزهای پاکستانی و بز سیاه مو بلند لری جدا اجتناب نمایند. زیرا با دورگ گیری بدون برنامه لطمات جبران ناپذیری بر صفات مثبت تولیدی این دام (از جمله تولید شیر) وارد می گردد.

نتیجه گیری: با توجه به نتایج حاصله از این پژوهش، می توان گفت شناسایی توالی ناحیه کنترل ژنوم میتوکندریایی به عنوان مشخصه ژنتیکی ثابت هر نژاد، به حفظ نژادهای بومی هر منطقه کمک می کند. بررسی روابط ژنتیکی و فیلوژنتیکی نژادهای مختلف بزهای ایران، کمک شایانی به حفظ و پرورش این نژادها می نماید. نژاد بز نجدی متعلق به گروه هاپلوتایپی A می باشد و در دسته بزهای چینی و پاکستانی قرار گرفته است که این امر می تواند به دلایل بسیار از جمله اختلاط نژادی و آمیخته گری صورت گرفته باشد. به نظر می رسد خلوص نژادی بز نجدی از بین رفته باشد و این موضوع توجه بیشتر مسئولان را می طلبد تا جلوی از بین رفتن این نژاد گرفته شود.

سپاسگزاری

از مسئولین پژوهشی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان که هزینه این تحقیق را تامین نمودند و همچنین از مسئولین موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی شعبه اهواز جهت تهیه نمونه و قسمتی از کارهای آزمایشگاهی همکاری نمودند تشکر بعمل می آید.

منابع

توحیدی نژاد فاطمه، محمدآبادی محمدرضا، اسمعیلی زاده کشکوئیه علی، نجمی نوری عذرا (۱۳۹۳) مقایسه سطوح مختلف بیان ژن Rheb در بافت های مختلف بز کرکی راینی. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی ۶، ۵۰-۳۵.

- جوانروح علی آبادی علی، اسماعیل خانیان سعید، دین پرست نوید، واعظ ترشیزی رسول (۱۳۸۳) تنوع ژنتیکی شش توده بز بومی ایران با استفاده از نشانگرهای RAPD. پژوهش و سازندگی ۶۴، ۱۷-۱۲.
- روحی پور مرضیه، نظری محمود، بیگی نصیری محمدتقی (۱۳۹۸) تجزیه و تحلیل ژنتیکی و فیلوژنتیکی بز عدنی بر اساس ژن سیتوکروم b. پژوهشهای تولیدات دامی ۱۰، ۸۹-۸۴.
- عسکری ناهید، محمدآبادی محمدرضا، بیگی نصیری محمدتقی، باقی زاده امین، فیاضی جمال (۱۳۸۷) مطالعه تنوع ژنتیکی بز کرکی رائینی بر اساس نشانگرهای ریزماهوره. مجله دانش کشاورزی ۱۸، ۱۶۱-۱۵۵.
- عسکری ناهید، باقی زاده امین، محمدآبادی محمدرضا (۱۳۸۹) بررسی تنوع ژنتیکی در چهار جمعیت بز کرکی رائینی با استفاده از لوکوس های بین ریزماهوره (ISSR). فصلنامه ژنتیک نوین ۵، ۵۶-۴۹.
- علی نقی زاده روح الله، محمدآبادی محمدرضا، زکی زاده سونیا (۱۳۸۹) چند شکلی اگزون ۲ ژن BMP15 در بز سرخ جبال بارز. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی ۲، ۸۰-۶۹.
- کریمی عوری وحیده، هدایت ابوریق نعمت، سیدشریفی رضا، نیک بین سعید (۱۳۹۶) بررسی ساختار ژنتیکی و تجزیه فیلوژنتیکی جمعیت بز خلخالی با استفاده از ژنوم میتوکندری. فصلنامه ژنتیک نوین ۱۲، ۲۲۷-۲۱۷.
- محمدی پسته بیگ فاطمه، پیرانی نصرالله، شجاع جلیل، محمد هاشمی آرزو (۱۳۹۰) تعیین توالی بخش HVS-I از ناحیه D-Loop ژنوم میتوکندری جمعیتی از مرغ بومی مرنندی و ترسیم رابطه فیلوژنی آن با سایر مرغان اهلی. فصلنامه پژوهش های علوم دامی ۲۱، ۹-۱.
- محمدی غزال، نظری محمود، محمدآبادی محمد، حیدری راضیه (۱۳۹۸) آنالیز ژنتیکی و فیلوژنتیکی ناحیه HVR1 میتوکندری در سه نژاد گوسفند ایرانی. فصلنامه ژنتیک نوین ۱۴، ۲۱۷-۲۰۹.
- محمدآبادی محمدرضا (۱۳۹۱) ارتباط چند شکلی ژن ۳ IGFBP با مقدار تولید کرک در بز کرکی رائینی. فصلنامه ژنتیک نوین ۷، ۱۱۵-۱۲۰.
- مقدس زاده محبوبه، محمدآبادی محمد، اسمعیلی زاده کشکوئیه علی (۱۳۹۵) چند شکلی اگزون ۲ ژن BMP15 و ارتباط آن با چندقلوزایی در بز کرکی رائینی. مجله ژنتیک در هزاره سوم ۱۳، ۴۰۶۷-۴۰۶۲.
- نبی حسنی محمد، اسدی فوزی مسعود، اسمعیلی زاده علی، محمدآبادی محمدرضا (۱۳۸۹) تجزیه ژنتیکی صفات رشد در بز کرکی رائینی با استفاده از مدل حیوانی چند متغیره. مجله علوم دامی ایران ۴۱، ۳۲۹-۳۲۳.

References

- Alinaghizadeh R, Mohammad Abadi MR, Zakizadeh S (2010) Exon 2 of BMP15 gene polymorphism in Jabal Barez Red Goat. *Agric Biotec J* 2, 69-80 (In Farsi).
- Askari N, Mohammadabadi MR, Beygi Nassiry MT, Baghizadeh A and Fayazi J (2009) Study of Genetic Diversity of Raeini Cashmere Goat Based on Microsatellite Markers. *J. Agric. Sci* 18, 155-161 (In Farsi).
- Askari N, Baghizadeh A and Mohammadabadi MR (2010) Study of genetic diversity in four populations of Raeini Cashmere goat using ISSR markers. *Mod Gene J* 5, 49-56 (In Farsi).
- Askari N, Mohammadabadi MR and Baghizadeh A (2011) ISSR markers for assessing DNA polymorphism and genetic characterization of cattle, goat and sheep populations. *Iranian J. Biotec* 9, 222-229.
- Baca M, Molak M (2008) Research on ancient DNA in the Near East. *Bioarc Near East* 39-61.
- Baghizadeh A, Bahaaddini M, Mohammadabadi MR & Askari N (2009) Allelic Variations in Exon 2 of Caprine MHC Class II DRB3 Gene in Raeini Cashmere Goat. *American-Eurasian J. Agric Envir Sci* 6, 454-459.
- Barazandeh A, Moghbeli SM, Vatankhah M and Mohammadabadi MR (2012) Estimating non-genetic and genetic parameters of pre-weaning growth traits in Raini Cashmere goat. *Trop Anim Hfalth Pro* 44, 811-817.
- Colli L, Lancioni H, Cardinali I, Olivieri A, Capodiferro MR, Pellecchia 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 Gen* 16, 1115
- Chen SY, Su YH, Wu SF et al. (2005) Mitochondrial diversity and phylogeographic structure of Chinese domestic goats. *Mole Phylogen Evol* 37, 804-814.
- Chen S, Fan B, Liu B, Yu M et al. (2006) Genetic variations of 13 indigenous Chinese goat breed based on cytochrome b gene sequences. *Biochem Genet* 44, 87-97.
- Colombo F, Marchisio E, Pizzini A, Cantoni C (2002) Identification of the goose species (*Anser anser*) in Italian mortara salami by DNA sequencing and a polymerase chain reaction with an original primer pair. *Meat Sci* 61, 261-294.
- Doro MG, Piras D, Leoni GG et al. (2014) Phylogeny and patterns of diversity of goat mtDNA haplogroup A revealed by resequencing complete mitogenomes. *PLoS One* 9, e95969.

- Fernandez H, Taber let P, Mashkour M et al. (2005) Assessing the origin and diffusion of domestic goats using ancient DNA. Paper presented at the first steps of animal domestication: new archaeozoological approaches. Proceedings of the 9th conference of the international council of Archaeozoology, Durham, August 2005.
- Gorkhali N (2014) Mitochondrial DNA diversity in Npalese goats. 10th World congress on Genetic Applied to livestock Production 14, 940-945.
- Hall TA (1999) BioEdit: A user friendly biological sequence alignment editor and analysis program for windows 95/98/NT. Nucl Acids Symp Ser 41, 95-98.
- Haji Seyyed Javadi SMM, Javadi MA, Abazi M, Ehbali M (2009) Atlas of sheeps and goats breeds of the Iran and World. Sarva Publishers. Tehran. Iran. 152P.
- Javanrouh Aliabad A, Esmailkhanian S, Dinparast N and Vaez Tarshizi R (2004) Genetic variation among six Iranian goat breeds using RAPD markers. Pajouhesh Sazandegi 64, 12-17 (In Farsi).
- Joshi MB, Rout PK, Mandal AK et al. (2004) Phylogeography and origin of Indian domestic goats. Mol Bio Evo 21, 454-462.
- Karimi V, Hedayat Evrigh N, Seyed Sharifi R, Nikbin S (2017) Investigation of genetic structure of Khalkhali goat using mitochondrial genome. Mod Gen J 12, 217-227 (In Farsi).
- Kim KH, Lee JH (2002) Phylogenic relationships of Asian and European pig breed determined by mitochondrial DNA D-loop sequence polymorphism. Anim Gen 33, 19-25.
- Luikart G, Gielly L, Excoffier L et al. (2001) Multiple maternal origins and weak phylogeographic structure in domestic goats. Proceedings of the National Academy of Sciences 98, 5927-5932.
- Lu G, and Moriyama E (2004) "Vector NTI, a balanced all-in-one sequence analysis suite". Brief. Bioinformatics 5, 378-388.
- Mazdarani F, Akbari M, fard R et al. (2014) Molecular identification of *Capra hircus* in east China Sabz, an Iranian pre-pottery Neolithic site, central Zagros, based on mtDNA. J Anim Plant sci 24, 945-950.
- 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 (In Farsi).
- Mohammadabadi MR (2012) Relationships of IGFBP-3 gene polymorphism with cashmere traits in Raini Cashmere goat. Mod Gen J 7, 115-120 (In Farsi).

- 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 Repeat Multi-Loci Markers for Studying Genetic Diversity in Kermani Sheep. *J Res Dev* 5, 154-157.
- Mohammadi G, Nazari M, Mohammadabadi MR, Heidari R (2020) Genetic and phylogenetic analysis of mitochondrial HVR1 region in three breeds of Iranian sheep. *Mod Gen J* 14, 209-217.
- 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, 1519-1524.
- Nabi Hassani M, Asadi Fozzi 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 (In Farsi).
- 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, e 1012.
- Nei M, Kumar S (2000) *Molecular evolution and phylogenetics*. Oxford university press.
- Odahara S, Chung H, Choi S et al. (2006) Mitochondrial DNA diversity of Korean native goats. *Asian Australian J Anim Sci* 19, 482-485.
- Porter v (1996). *Goats of the world*, farming press, Ipswich, UK. 12
- Reicher S, Seroussi E, Weller JI et al. (2012) Ovine mitochondrial DNA sequence variation and its association with production and reproduction traits within an Afec-Assaf flock. *J Anim* 90, 2084-2091.
- Rohipoor M, Nazari M ,Beigi Nassiri M.T (2020). Genetic and Phylogenetic Analysis of Adani Goat Population Based on Cytochrome B Gene. *Res Anim Pro* 10, 84-89 (In Farsi).
- Rozas J, Ferrer-Mata A, Sánchez-DelBarrio JC et al. (2017) DnaSP 6: DNA Sequence Polymorphism Analysis of Large Datasets. *Molr Bio Evo* 34, 3299-3302.
- Seyedabadi HR, Pahlevan Afshari, K, Abdolmaleki M (2016) The genetic characteristics of Marghos goat based on Cytochrome B gene. *Iran. J. Appl. Anim. Sci* 6, 679-684.
- Shamsalddini S, Mohammadabadi MR , Esmailizadeh AK (2016) Polymorphism of the prolactin gene and its effect on fiber traits in goat. *Russ J Genet* 52, 461–465.

- Shojaei M, Mohammad Abadi MR, Asadi Fozi M et al. (2010) Association of growth trait and Leptin gene polymorphism in Kermani sheep. *J Cell Mol Res* 2, 67-73.
- Sultana S, Mannen H, Tsuji S (2003) Mitochondrial DNA diversity of Pakistani goats. *Anim Genet* 34, 417-421.
- Tamura K, Stecher G, Peterson D et al. (2013) MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Mol Bio Evo* 30, 2725-2729.
- 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. *Biocatal. Agric. Biotechnol* 6, 35-50 (In Farsi).
- Vahidi SM, Tarang AR, Naqvi A et al. (2014). Investigation of the genetic diversity of domestic *Capra hircus* breeds reared within an early goat domestication area in Iran *Genet Selec Evo* 46, 27
- Vajed Ebrahimi MT, Mohammad Abadi MR, Esmailizadeh AK (2016) Analysis of genetic diversity in five Iranian sheep population using microsatellites markers. *J Agric Biotechnol* 7, 143-158.
- Vajed Ebrahimi MT, Mohammad Abadi MR, Esmailizadeh AK (2017) Using microsatellite markers to analyze genetic diversity in 14 sheep types in Iran. *Arch Anim Breed* 60, 183-189.
- Wallce DC (1992). Mitochondrial genetics: a paradigm for aging and degenerative diseases. *Sci* 256, 628-632.
- Xingbo Z, Mingxing C, Ning L, Changxin W (2000) Paternal inheritance of mitochondrial DNA in the sheep. *Sci China* 44, 321-326.
- 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.

