

تجزیه و تحلیل ژنتیکی و فیلوژنتیکی بز عدنی بر اساس ژن سیتوکروم b

مرضیه روحی پور^۱، محمود نظری^۲ و محمدتقی بیگی نصیری^۳

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و فناوری مواد غذایی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی، خوزستان، اهواز، ایران
 ۲- استادیار دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی، گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و فناوری مواد غذایی، خوزستان، اهواز، ایران
 (نویسنده مسوول: m.nazar@asnruk.ac.ir)
 ۳- استاد دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی، گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و فناوری مواد غذایی، خوزستان، اهواز، ایران
 تاریخ دریافت: ۹۷/۱۲/۲ تاریخ پذیرش: ۹۸/۸/۱۱
 صفحه: ۸۴ تا ۸۹

چکیده

شناسایی و تعیین خصوصیات ژنتیکی به منظور حفاظت از تنوع ژنتیکی عامل مهمی در جهت محافظت از حیات گونه‌ها است. این تحقیق با هدف، شناسایی خصوصیات ژنتیکی جمعیت بز عدنی بر اساس تفاوت‌های ژن سیتوکروم b و تعیین روابط فیلوژنتیکی آن با گونه‌های اهلی و وحشی بز موجود در پایگاه اطلاعاتی NCBI انجام شد. از ۱۲ راس بز عدنی خونگیری به عمل آمد و استخراج DNA با استفاده از کیت سینکلون انجام شد. ناحیه موردنظر (۸۹۲ جفت باز) توسط آغازگرهای اختصاصی به روش PCR تکثیر و توالی‌یابی شد. تعداد ۵ هاپلوטיפ بر اساس ۱۲ جایگاه چند شکل شناسایی شد. جهش‌ها همه از نوع انتقالی و خاموش بودند. میزان تنوع هاپلوטיפی، تنوع نوکلئوتیدی و میانگین تفاوت‌ها نوکلئوتیدی به ترتیب مساوی ۰/۰۵۷، ۰/۰۰۲ و ۲/۲۷۳ به دست آمد. این نتایج نشان‌دهنده تنوع بالا در جمعیت بز عدنی است. نتایج فیلوژنتیکی با استفاده از روش اتصال همسایه (NJ) نشان داد که بز عدنی در شاخه کاپرا هیرکوس قرار می‌گیرد و بز کاپرا ایگروس در شاخه نزدیک‌تری به گروه بزهای کاپرا هیرکوس و بز عدنی نسبت به کاپرا آیکس قرار دارد. قرار گرفتن بز عدنی و بز اهلی کاپرا هیرکوس در یک شاخه، به دلیل پراکندگی نژادهای مختلف این گونه در سراسر جهان منطقی است.

واژه‌های کلیدی: ژن سیتوکروم b، بز عدنی، درخت فیلوژنی، کاپرا هیرکوس، هاپلوטיפ

مقدمه

بزهای بومی از نظر فرهنگی، اجتماعی و اقتصادی دارای اهمیت هستند. علاوه بر تولید گوشت، شیر و پوست بزهای بومی در مراسم‌های سنتی و شعائر مذهبی نیز مورد استفاده قرار می‌گیرند (۲۵).

بز عدنی از محدود دام‌های شیری مناطق گرمسیری کشور بوده که با شرایط اکولوژیکی و بیولوژیکی مناطق ساحلی استان بوشهر سازگاری یافته است. طول دوره شیردهی این دام تقریباً ۴ ماه و کل تولید شیر آن بین ۱۲۰ تا ۱۸۰ کیلوگرم می‌باشد. بز عدنی می‌تواند هر ۸ ماه یکبار زایش، داشته باشد. دوقلوژی در این بز متداول بوده به طوری که ۶۰ تا ۷۰ درصد دوقلوژی در دام‌های بیش از ۳ شکم زایش مشاهده می‌شود.

وجود تنوع ژنتیکی، لازمه انجام برنامه اصلاح نژادی و بهره‌گیری از توان تولیدی حیوانات و گیاهان در هر منطقه است (۹)، بنابراین حفاظت از تنوع ژنتیکی عاملی کلیدی برای محافظت از حیات گونه‌ها در طولانی مدت است (۱۹). پایین بودن تنوع ژنتیکی باعث افزایش هم‌خونی می‌شود و به دنبال آن مشکلات ناشی از افزایش آلل‌های مضر را خواهد داشت (۷). مطالعه تنوع در درک منشأ، تمایز، رابطه ژنتیکی، حفاظت و بهره‌برداری از نژادهای بومی مفید خواهد بود (۱۴).

استفاده از نشانگرهای مولکولی و به‌ویژه ریزماهورها و چندشکلی‌های تک نوکلئوتیدی روی ژنوم کامل و ژنوم میتوکندریایی یکی از ابزارهای توانمند برای بررسی تنوع ژنتیکی است (۱۱). از مشخصه‌های مهم DNA میتوکندریایی هاپلوئید بودن، داشتن توارث مادری، دارا بودن نرخ جهش بالا

در مقایسه DNA هسته‌ای و هم‌چنین فقدان نوترکیبی است (۱).

در سال‌های اخیر محققین از ژن‌های مختلفی برای شناسایی گونه‌ها استفاده کرده‌اند. سیتوکروم b یکی از اجزاء کمپلکس III زنجیره تنفس است (۱۲). طول ژن سیتوکروم b، ۱۱۴۰ جفت باز و یک توالی پایدار است که به‌عنوان آغازگرهای عمومی نیز پیشنهاد شده است (۲۳). ژن سیتوکروم b یکی از مهم‌ترین ژن‌های کدکننده در mtDNA است که به دلیل ساختار و توالی مشخص، نداشتن نوترکیبی به‌طور وسیعی در مطالعات فیلوژنتیکی در گونه‌های مختلف به‌کار رفته است (۱۰، ۱۲).

در تحقیقات زیادی تنوع ژنتیکی بر اساس سیتوکروم b مورد بررسی قرار گرفته است. در پژوهشی، ۱۰۰ راس بز خلخال بر اساس ژن سیتوکروم b، مورد مطالعه قرار گرفت. در این مطالعه، ۵ جهش با ۶ هاپلوטיפ مختلف شناسایی شد. میزان تنوع هاپلوטיפی و تنوع نوکلئوتیدی به ترتیب ۰/۶۴۴ و ۰/۰۰۲ به دست آمد. (۶). در تحقیق دیگری ۱۳ نژاد بومی در کشور چین بر اساس ناحیه سیتوکروم b بررسی شدند (۵). نتایج آزمایش نشان داد که تنوع هاپلوئیدی در این جمعیت‌ها بالا بوده و نشان داده‌شد که بزهای چینی از کاپرا ایگروس منشأ گرفته‌اند. و بعداً به ۲ تبار تقسیم‌بندی شدند همان‌گونه که قبلاً توسط لوئی کارت و همکاران (۱۵) تأیید شده بود.

هم‌چنین مطالعه روی دو نژاد گوسفند پاکستانی تالی و لوهی بر اساس توالی کامل سیتوکروم b نشان داد که ۴ هاپلوטיפ از نژاد لوهی و ۵ هاپلوטיפ از نژاد تالی وجود دارد (۳). پاک‌پهان و همکاران (۱۸) ساختار ژنتیکی و روابط

توالی‌های استخراج شده از طریق کد دسترسی‌های موجود در پایگاه NCBI مربوط به گونه‌های اهلی و وحشی جهت ویرایش و انجام هم‌ردیفی به نرم‌افزار MEGA6 (۲۴) وارد و درخت فیلوژنی با روش NJ^۱ (اتصال همسایه) و با مدل Maximum Composite Likelihood رسم شد (۲۱) و همچنین درصد بازهای آلی نیز به کمک نرم‌افزار MEGA6 (۲۴) و تنوع هاپلوتیپی و نوکلئوتیدی و تعداد هاپلوتیپ‌ها با استفاده از نرم‌افزار DNAsp 6.1 (۲۰) به‌دست آمد.

نتایج و بحث

نتایج طیف‌سنجی نشان داد که DNA های استخراج شده از کیفیت مناسبی برخوردار بودند. الکتروفورز محصولات واکنش زنجیره‌ای پلیمرز روی ژل آگارز ۰.۲٪ نشان داد که آغازگرهای طراحی شده به خوبی فعالیت نموده و قطعه ای به طول ۸۹۲ جفت باز برای ژن سیتوکروم b روی ژل به‌دست آمد.

تغییرات ناحیه ژن سیتوکروم b در بزهای عدنی

با تجزیه و تحلیل‌های انجام گرفته تعداد ۵ هاپلوتیپ بر اساس ۱۲ جایگاه چندشکل شناسایی شدند (جدول ۱). میزان تنوع هاپلوتیپی در جمعیت حاضر ۰/۵۷ برآورد شد که بیانگر سطح بالای تنوع در جمعیت بز عدنی است. این نتایج با نتایج ارائه شده توسط چن و همکاران (۵) که میزان تنوع هاپلوتیدی را بین ۰/۰۶ تا ۱/۰ گزارش نمودند همخوانی دارد. تنوع نوکلئوتیدی و میانگین تفاوت‌های نوکلئوتیدی به‌ترتیب مساوی ۰/۰۰۲ و ۲/۲۷۳ به‌دست آمد که در محدوده متوسط تنوع نوکلئوتیدی در یوکاریوت‌ها که بین ۰/۰۰۲ تا ۰/۰۱۹ است قرار گرفت (۱۶). نتایج به‌دست آمده با نتایج دیگر محققین همخوانی دارد (۲۶). دولتی و همکاران نیز میزان تنوع نوکلئوتیدی را برای بز خلخال ۰/۰۰۲ گزارش نمودند (۶). شاید علت پایین بودن تنوع نوکلئوتیدی را بتوان در اهمیت سیتوکروم b برای سلول جستجو کرد. سیتوکروم b یکی از مهمترین پروتئین‌هایی است که در تنفس سلولی نقش ایفا می‌کند و تغییرات کوچک در اثر جهش می‌تواند اثر مخربی بر ساختار و عملکرد پروتئین ایجاد کند به‌همین دلیل ساختار سیتوکروم b در طول زمان محافظت شده باقی‌مانده است.

بر اساس جدول (۱)، می‌توان نتیجه گرفت که ۸ نمونه همگی دارای یک توالی مشابه هستند و تشکیل بزرگترین هاپلوتیپ را داده‌اند و چهارنمونه دیگر نیز هرکدام حامل یک هاپلوتیپ خاص بودند. جهش‌ها همه از نوع انتقالی و خاموش (بی‌معنی)^۴ بودند که تأثیری بر نوع اسیدآمین‌ها ندارند. در جهش انتقالی باز پورین جایگزین باز پورین و پیریمیدین جایگزین باز پیریمیدین شده بود و ۹ مورد از آن‌ها جایگزینی T به‌جای C و ۲ مورد C به‌جای T مشاهده گردید و فقط در جایگاه ۵۴، باز آلی A جایگزین G شده بود (جدول ۱).

فیلوژنتیکی ۹ جمعیت بز بومی اندونزی را بر اساس سیتوکروم b مورد بررسی قرار دادند. پژوهش حاضر به‌منظور تجزیه و تحلیل ژنتیکی و فیلوژنتیکی بز عدنی بر اساس ژن سیتوکروم b و بررسی ارتباط آن با گونه‌های اهلی و وحشی، انجام شد.

مواد و روش‌ها

در این آزمایش از ۱۲ رأس بز عدنی استان بوشهر با اطمینان از عدم رابطه خویشاوندی بین افراد، نمونه خون تهیه شد. خونگیری از طریق سیاهرگ و داج گردنی در تیوب‌های حاوی ماده ضد انعقاد EDTA^۱ انجام گرفت. سپس نمونه‌ها به آزمایشگاه منتقل شدند و تا زمان استخراج DNA در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شدند. استخراج DNA نمونه‌ها توسط کیت Sinaclon DNA PREP 100 انجام گرفت. تعیین کمیت و کیفیت DNA به‌وسیله دستگاه اسپکتوفتومتر (اپیندورف مدل ۲۲۳۳۱) انجام شد. در این واکنش ژن سیتوکروم b مربوط به mtDNA با استفاده از آغازگرهای اختصاصی (۲) با روش PCR تکثیر شد. توالی آغازگرهای این تحقیق به‌صورت زیر بود:

5'-CGATACATACACGCAAACGGGA-3' F و
3'-AGAAGGTTGTTTCAATGGTGC-3' R: تکثیر
قطعه ۸۹۲ جفت بازی توسط واکنش PCR دستگاه ترمال سایکلر Thermal cycler Mini بر اساس روش استاندارد انجام شد. تعداد سیکل‌های انجام واکنش PCR برای هر جفت آغازگر ۳۵ در نظر گرفته شد. اجزای واکنش PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل ۸/۵ میکرولیتر آب استریل، ۱ میکرولیتر از هر آغازگر، ۲ میکرولیتر از نمونه DNA استخراج شده و ۱۲/۵ میکرولیتر Mastermix 1.5 می‌باشند لازم به ذکر است که در این آزمایش از Master mix 1.5 محصول شرکت پیشگام که مخلوطی آماده از بافر NH_4^+ ، MgCl₂، dNTP و آنزیم تک پلیمرز بود، استفاده شد، برنامه حرارتی عبارت بودند از: یک مرحله واسرشت‌سازی اولیه در دمای ۹۴ درجه ۵ دقیقه، ۳۵ سیکل با دمای واسرشت‌سازی ۹۴ درجه به‌مدت ۳۰ ثانیه، دمای اتصال ۵۸ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳۰ ثانیه، دمای بسط ۷۲ درجه به‌مدت ۴۵ ثانیه و یک مرحله بسط نهایی در دمای ۷۲ درجه به‌مدت ۱۰ دقیقه انجام شد. الکتروفورز محصولات PCR با استفاده از ژل آگارز ۱٪ و رنگ‌آمیزی آن با ماده سیف استین^۲ صورت گرفت. مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از محصول واکنش زنجیره‌ای پلیمرز، خالص‌سازی و به‌همراه ۵۰ میکرولیتر از هر یک از آغازگرهای رفت و برگشت، با غلظت ۱۰ پیکومول به‌منظور تعیین توالی به شرکت MacroGene کره جنوبی ارسال شدند. این نمونه‌ها با استفاده از دستگاه AB13130 به روش اتوماتیک سانگر توالی‌یابی شدند.

اطلاعات مربوط به توالی‌های ژن سیتوکروم b هر یک از نمونه‌ها با استفاده از روش Clustal W در برنامه Vector NTI 11 (۸)، هم‌ردیف شدند و توالی مورد توافق به طول ۸۰۷ جفت باز به‌دست آمد. سپس داده‌های این توالی و

1- Ethylene Diaminete Traacetic Acid

2- Safe stain

3- Neighbor Joining

4- Nonsense mutation

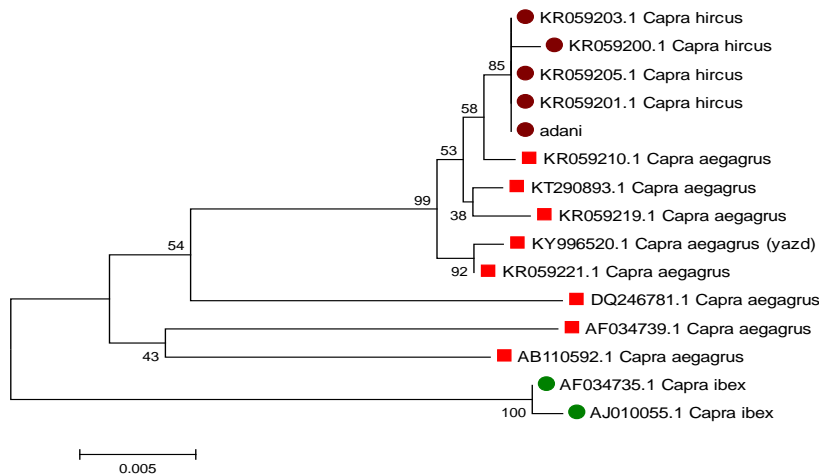
جدول ۱- موقعیت‌های نوکلئوتیدی متفاوت توالی ژن سیتوکروم b در بین نمونه‌های بز عدنی
Table 1. Different base positions of Cytochrome b sequence among Adani goats

شماره هاپلوتیپ	۵۴	۶۳	۱۲۳	۲۸۲	۳۴۲	۴۵۳	۵۴۰	۵۴۳	۵۷۶	۵۸۹	۶۴۸	۶۸۱
هاپلوتیپ ۱	g	c	c	c	c	c	c	c	c	t	c	t
هاپلوتیپ ۲	t	.	.	.
هاپلوتیپ ۳	a	t	.	t	t	t	.	.	.	c	.	.
هاپلوتیپ ۴	.	.	t	.	.	.	t	t	.	.	t	.
هاپلوتیپ ۵	c

مقدار C+G است و این اعداد تقریباً با نتایج پاک‌پهان و همکاران (۱۸) روی سیتوکروم b بز نژاد اندونزیایی به میزان ۴۲/۵۸ مطابقت دارد و اندکی با نتایج آزمایش چن و همکاران (۵) که مقدار C+G/A+T را معادل ۴۴/۵۶ به دست آوردند متفاوت است. به طور کلی در ژن سیتوکروم b مقدار A+T بیشتر از مقدار C+G است که با محققین دیگر هم‌خوانی دارد (۵).

بررسی رابطه فیلوژنی بز عدنی بر اساس ژن سیتوکروم b
به منظور بررسی رابطه فیلوژنی بز عدنی با بزهای کاپرا هیرکوس، کاپرا ایبکس و کاپرا ایگاگروس، درخت فیلوژنی توالی مورد توافق سیتوکروم b این نژاد به همراه توالی‌های ذخیره شده بزهای ذکر شده در NCBI با روش آماری Maximum Likelihood و روش NJ و تست بوت استرپ با تکرار ۱۰۰۰، ترسیم شد (شکل ۱).

مطالعه سیدآبادی و همکاران (۲۲) روی میتوکندری و عبدالملکی و همکاران (۲) روی سیتوکروم b ۴۰ راس بز مرخز، تعداد ۴ هاپلوتیپ بر اساس ۴ نوکلئوتید چندشکل شناسایی نمودند و جهش‌ها همه از نوع خاموش بودند و از این نظر مشابه نتیجه این آزمایش می‌باشد. بالا بودن میزان جهش‌های انتقالی نسبت به تقاطعی در این آزمایش با مطالعه سایر محققین روی سیتوکروم b بز و سایر گونه‌های دامی از جمله گوسفند (۳) مرغ (۱) شتر (۱۱) و بز (۵) مطابقت دارد. در این تحقیق علاوه بر بررسی تنوع توالی تکثیر شده، درصد ترکیب نوکلئوتیدی توالی‌های هر یک از نمونه‌ها محاسبه شد. میانگین فراوانی نوکلئوتیدها عبارتند از: آدنین: ۳۰/۷، گوانین: ۱۳/۵، سیتوزین: ۲۹/۲ و تیمین: ۲۶/۶. مقدار A+T و مقدار C+G به ترتیب مساوی ۵۷/۳ و ۴۲/۷ به دست می‌آید که با توجه به نتایج سایر محققین مقدار A+T بیشتر از



شکل ۱- درخت فیلوژنی با تست بوت‌سترپ ۱۰۰۰ ناحیه سیتوکروم b
Figure 1. Phylogenetic tree based on Cytochrome b gene using bootstrap test base on 1000 replications

نتایج فیلوژنی، نشان داد که بز عدنی در شاخه کاپرا هیرکوس قرار می‌گیرد و بز کاپرا ایگاگروس با کد دسترسی KR059210 نزدیک به گروه بزهای کاپرا هیرکوس و بز عدنی قرار دارد و همه آن‌ها از یک جد مشترک منشأ می‌گیرند و با هم ارتباط خویشاوندی دارند. ولی هاپلوتیپ‌های بز ایگاگروس با کد دسترسی‌های دیگر در ساختار فیلوژنی وضعیت ثابت و پایداری نداشته و تشکیل گروه‌های مختلف را می‌دهند و این می‌تواند نشان‌دهنده مهاجرت افراد گونه

ایگاگروس بین جمعیت‌ها و جریان ژن بین آن‌ها باشد که این جریان ژن معلول آمیخته‌گری بین بزهای نژادهای مختلف است. بزهای ایبکس نیز به طور مجزا در یک گروه قرار گرفته‌اند. این نتایج با مطالعه دولتی و همکاران (۴) روی سیتوکروم b بز خلخال مطابقت دارد زیرا در مطالعه ایشان نیز بز خلخال با بز هیرکوس در یک گروه قرار گرفت و بزهای ایگاگروس در بین گروه‌های مختلف پراکنده شدند. تنوع نوکلئوتیدی برابر ۰/۰۰۲ و تنوع هاپلوتیپی برابر ۰/۵۷ در این

نتایج حاصل از این تحقیق می‌تواند برای مطالعات بررسی تکامل و فیلوژنتیکی این نژاد و سایر نژادها مورد استفاده محققین قرار بگیرد و به آنان کمک کند تا بهتر بتوانند روابط ژنتیکی بین نژادهای بز بومی و خارجی را درک نمایند.

تشکر و قدردانی

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

آزمایش، با پارامترهای به‌دست آمده در مطالعه دولتی و همکاران با تنوع نوکلئوتیدی ۰/۰۰۲ و تنوع هاپلوتیپی ۰/۶۴۴ خیلی نزدیک می‌باشد از آنجائیکه بر اساس مطالعات پیشین سایر محققین از زمان شروع اهلی‌سازی، تبادل و انتقال حیوانات اهلی تحت تأثیر مهاجرت‌های انسانی و تجارت بوده است و این امر باعث جریان ژن در بین نقاط جغرافیایی مختلف و تغییرات آماری و پراکندگی کنونی بیش از ۳۰۰ نژاد مختلف از کاپرا هیرکوس در سراسر جهان شده است (۱۷). بنابراین، نزدیکی بز عدنی به بز اهلی گونه هیرکوس کاملاً مستدل و منطقی است.

منابع

- Ahmadian, K., G. Rahimi Mianji, H. Sayahzadeh and H. Deldar. 2017. Assessment of genetic diversity and phylogenetic relationship of Iranian indigenous chickens based on mitochondrial D-Loop sequences. *Research on Animal Production*, 8(17): 140-148 (In Persian).
- Abdolmaleki, M., H.R. Seyedabadi and K. Pahlevan Afshari. 2016. The genetic characteristics of Marghos goat based on Cytochrome B gene. *Animal Science Journal*, 113: 135-140 (In Persian).
- Babar, M.E., T. Hussain, H. Sadia, S. Nadeem, M.Z. Kamran and N. Badshah. 2014. Mitochondrial cytochrome b gene based phylogeny of Lohi and Thalli sheep breed of Pakistan. *The Journal of Animal and Plant Sciences*, 24: 1260-1262.
- Budisatria, I.G.S., H.M.J. Udo, A.J. van der Zijpp, E. Baliarti and T.W. Murti. 2008. Religious festivities and marketing of small ruminants in central Java-Indonesia. *Asian Journal of Agriculture and Development*, 5(2): 58
- Chen, S., B. Fan, B. Liu, M. Yu, S. Zhao, Z. Mengjin, X. Tongan and L. Kui. 2006. Genetic variations of 13 indigenous Chinese goat breeds based on cytochrome b gene sequences. *Biochemical Genetic*, 44: 89-99.
- Dolati, V., N. Evrigh, S. Nikbin and R. Behmaram. 2017. Phylogenetic analyzing of Khalkhali goats using cytochrome b gene. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 9(3): 75-86 (In Persian).
- Evrigh, N., V. Karimi, R. Seyed Sharifi and S. Nikbin. 2017. Investigation of genetic structure of Khalkhali goat using mitochondrial genome. *The Journal of Modern Genetic*, 12(2): 217-227 (In Persian).
- Guoqing, L., and E. Moriyama. 2004. "Vector NTI, a balanced all-in-one sequence analysis suite". *Briefings in Bioinformatics*, 5(4): 378-388.
- Gholizadeh, M., G. Rahimi-Mianji and H. SayahZadeh. 2008. Potential use of molecular markers in the genetic improvement of livestock. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, 3: 120-128.
- Giuffra, E., J.M.H. Kijas, V. Amarger, O. Carlborg, J.T. Jeon and L. Andersson. 2000. The origin of the domestic pig: independent domestication and subsequent introgression. *Genetics*, 154: 1785-1791.
- Hemati, B., M. H. Banabazi, S. Shahkarami, E. Mohandesan and P. Burger. 2017. Genetic diversity within Bactrian camel population of Ardebil province. *Research on Animal Production*, 8(16): 192-197 (In Persian).
- Howell, N. 1989. Evolutionary conservation of protein regions in the proton motive cytochrome b and their possible roles in redox catalysis. In: *Journal. Molecular. Evolution*, 29(2): 157169.
- Irwin, D.M., T.D. Kocher and A.C. Wilson. 1991. Evolution of the cytochrome b gene of mammals. *Journal Molecular Evolution*, 32: 128-144.
- Liu, Y.P., S.X. Cao, S.Y. Chen, Y.G. Yao and T.Z. Liu. 2009. Genetic diversity of Chinese domestic goat based on the mitochondrial DNA sequence variation. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 126: 80-89.
- Luikart, G., L. Gielly, L. Excoffier, J. Vigne, J. Bouvet and P. Taberlet. 2001. Multiple maternal origin and weak phylogeographic structure in domestic goats. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 98: 5927-5932.
- Nei, M. 1987. *Molecular Evolution Genetics*. Columbia University Press, New York.
- Naderi, S., H.R. Rezaei, P. Taberlet, S. Zundel, S.A. Rafat, H.R. Naghash, M.A. El-Barody, O. Ertugrul, F. Pompanon and E. Consortium. 2007. Large-scale mitochondrial DNA analysis of the domestic goat reveals six haplogroups with high diversity. *PLoS One*, 2(10): e1012.
- Pakpahan, S., W. Tunas Artama, R. Rini Widayanti and G. Gede Suparta. 2016. Genetic characteristics and relationship in different goat populations of Indonesia based on cytochrome b gene sequences. *Asian Journal of Animal Sciences*, 10(1): 29-38.

19. Rout, P., K. Thangraj, A. Mamdal and R. Roy. 2012. Genetic variation and population structure in Jamunapari goats using microsatellites, mitochondrial DNA, and milk protein genes. *The Scientific World Journal*, 2: 9-12.
20. Rozas, J., A. Ferrer-Mata, J.C. Sánchez-DelBarrio, S. Guirao-Rico, P. Librado, S.E. Ramos-Onsins and A. Sánchez-Gracia. 2017. DnaSP 6: DNA sequence polymorphism analysis of large datasets. *Molecular Biology Evolution*, 34(12): 3299-3302.
21. Saitou, N. and M. Nei. 1987. The neighbor joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology Evolution*, 4(4): 406-425.
22. Seyedabadi, H.R., K. Pahlevan Afshari and M. Abdolmaleki. 2016 Mitochondrial diversity and phylogenetic structure of Marghoz goat population. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 6(30): 679-684.
23. Sepehri, B and H.R. Seyedabadi. 2015. Molecular analysis of Khalkhali goat population based on cyt b region of Mitochondrial DNA. *Journal of Biological Forum*, 7(1): 1311-1316.
24. Tamura, K., G. Stecher, D. Peterson, A. Filipski and S. Kumar. 2013. MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular Biology Evolution*, 30: 2725-2729.
25. Zhao, Y., J. Zhang, E. Zhao, X. Zhang, X. Liu and N. Zhang. 2011. Mitochondrial DNA diversity and origins of domestic goats in Southwest China (excluding Tibet). *Small Ruminant Research*, 95(1): 40-47.

Genetic and Phylogenetic Analysis of Adani Goat Population Based on Cytochrome B Gene

Marzieh Rohipoor¹, Mahmood Nazari² and Mohamad Tagi Beigi Nassiri³

-
- 1- M.Sc. Graduated, Department of Animal Science, Faculty of Animal science and Food Technology, Agricultural Science and Natural Resources University of Khuzestan, Ahvaz, Iran
 - 2- Assistant Professor Department of Animal Science, Faculty of Animal science and Food Technology, Agricultural Science and Natural Resources University of Khuzestan, Ahvaz, Iran
 - 3- Professor Department of Animal Science, Faculty of Animal science and Food Technology, Agricultural Science and Natural Resources University of Khuzestan, Ahvaz, Iran
-
- Received: February 21, 2019 Accepted: November 2, 2019
-

Abstract

Identification of genetic characteristics is an important factor for preservation of species life. The aim of this study was to identify the genetic characteristics of the Adani goat populations based on the cytochrome b (Cyt b) gene and to detect its phylogenetic relationships with the domestic and wild goat species using NCBI database. Blood samples were taken from 12 Adani goat and subsequently DNA was extracted using Sinaclon kit. The target area (892 base pair) was proliferated by specific primers using polymerase chain reaction (PCR) method and then sequenced. By analyzing the sequences, 5 haplotypes were identified based on 12 polymorphic sites. All mutation sites were transition and nonsense. The haplotype and nucleotide diversity and the average of a different nucleotide based on Cyt b region were estimated 0.57, 0.002 and 2.273, respectively. These results indicated high genetic variation in Adani goat. Using the NJ phylogenetic test results indicated that the Adani goat was located in the *C. hircus* branch and *C. Aegagrus* was in closer to them in compare with *C. ibex*. The placement of *Capra hircus*'s goats and Adani goats in a similar branch is rational because of the dispersion of various races of this species throughout the world.

Keywords: Cytochrome b Gene, Adani Goat, Phylogeny, Haplotype