



RESEARCH PAPER

OPEN ACCESS

Genetic similarities and phylogenetic analysis of wild and domesticated species of sheep based on mitochondrial genome

F. Rabiei¹, R. Abdoli^{2*}, F. Rafeie³, N. Ghavi Hosseini-Zadeh⁴

1. Former MSc Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran
2. Assistant professor, Iran Silk Research Centre, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Gilan, Iran
3. Assistant professor, Department of Biotechnology, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran
4. Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran

(Received: 05-06-2022 – Accepted: 23-07-2022)

Introduction: Mitochondrial DNA (mitogenome) is a small and extra-chromosomal DNA, located in the cytoplasm and presents an ideal model to study evolution and genetic similarity. Classical phylogenetics is based on the morphological characteristics of the organisms, while in modern approaches, the phylogenetic distance and its related comparative methods are estimated based on observed genetic diversity in the studied genetic sequences. The aim of the present study was to investigate the divergence and percentage of genetic similarity along with the phylogenetic analysis of the seven main known species of wild and domestic sheep based on the complete sequence of the mitochondrial genome and the separate sequences of 13 protein-coding genes for each genome.

Materials and methods: In the present study, complete mitochondrial genome sequences along with separate sequences of 13 protein-coding genes (including *NADH ubiquinone oxidoreductase* (*ND1*, *ND2*, *ND3*, *ND4*, *ND5*, and *ND6*), *cytochrome c oxidase* (*COX1*, *COX2*, and *COX3*), *ATP synthase* (*ATP6* and *ATP8*), *NADH dehydrogenase 4 L* (*ND4L*), and *cytochrome b* (*CYTB*)) per each genome from six wild species of sheep including Asian Mouflon (*Ovis orientalis*), Bighorn (*Ovis canadensis*), Argali (*Ovis ammon*), Urial (*Ovis vignei*), Snow (*Ovis nivicola*), Dall (*Ovis dalli*), and domesticated species of sheep (*Ovis aries*) were retrieved from NCBI database and compared to each other. Mitochondrial genomes and genes' alignment were accomplished by the MegAlign module of DNASTAR software and compared by the Clustal W method. The Sequence Distances sub-section of the MegAlign module of DNASTAR also was used for the analysis of complete genome and gene sequences divergence and similarity percentage. For phylogenetic analysis, complete mitochondrial genomes and protein-coding genes' sequences were aligned using MEGA7 software. Based on the alignment, phylogenetic tree was constructed using the maximum likelihood method. The percentage of replicate trees of 1000 replicates of bootstrap test was used to represent the evolutionary history for the studied sheep species.

Results and discussion: The results obtained from sequence distance analysis showed high genetic similarity (99.8 %) between *Ovis orientalis* and *Ovis aries*. Also, the lowest similarity (95 %) was observed between *Ovis aries* and *Ovis dalli*. In phylogenetic analysis, two main clusters, each with different sub-clusters were identified. Domesticated species of sheep (*Ovis aries*) along with *Ovis orientalis*, *Ovis vignei*, and *Ovis ammon* wild species of sheep formed distinct cluster, and *Ovis nivicola*, *Ovis dalli*, and *Ovis Canadensis* fell in a same cluster. In terms of all 13 protein-coding genes (including *NADH ubiquinone oxidoreductase* (*ND1*, *ND2*, *ND3*, *ND4*, *ND5*, and *ND6*), *cytochrome c oxidase* (*COX1*, *COX2*, and *COX3*), *ATP synthase* (*ATP6* and *ATP8*), *NADH dehydrogenase 4 L* (*ND4L*) and *cytochrome b* (*CYTB*)), the results obtained from sequence distance similarity analysis and phylogenetic trees were

* Corresponding author: ramin.abdoli.ramin.abdoli@gmail.com



similar to the sequences of the complete mitochondrial genomes. More than 99% of the genetic similarity for ND1, ND2, ND5, ND6, COX1, COX2, COX3, and ATP6 genes and 100% of the genetic similarity for ND3, ND4, ND4L, ATP8, and CYTB genes between domestic sheep (*Ovis aries*) and Mouflon (*Ovis orientalis*) sheep species were found. Also, similar to the results obtained from the comparison of the complete mitochondrial genome, the domestic sheep species (*Ovis aries*) showed the least genetic similarity with the Dall (*Ovis dalli*) and Bighorn (*Ovis canadensis*) wild sheep species in all 13 protein-coding genes. Similar to the results of phylogenetic analysis of complete mitochondrial genomes, domestic sheep species (*Ovis aries*) together with *Ovis orientalis* wild sheep were placed in the same sub-cluster and *Ovis vignei* and *Ovis ammon* species were placed in other distinct sub-clusters. In addition, the *Ovis nivicola*, *Ovis dalli*, and *Ovis canadensis* wild species fell in another main cluster, and in this cluster, *Ovis dalli* and *Ovis canadensis* were placed in a similar sub-cluster and *Ovis nivicola* in another distinct sub-cluster.

Conclusions: In previous studies, small parts of the mitochondrial genome (such as a part of the control region or cytochrome b gene) have been considered to show the genetic differences and phylogenetic relationships between different species and breeds of sheep. In the present study, the complete sequences of the mitochondrial genome along with the complete sequences of 13 protein-encoding genes per each genome in seven main species of wild and domestic sheep have been considered for examining genetic similarity and divergence and phylogenetic analysis for the first time. Based on the results obtained from the present study, mitochondrial genome sequences could be used for accurate phylogenetic analysis and clustering of different species of sheep.

Keywords: Phylogenetic tree, Genetic similarity, Sheep, Mitogenome

How to cite this article:

Rabiei F., Abdoli R., Rafeie F. and Ghavi Hossein-Zadeh N. 2022. Genetic similarities and phylogenetic analysis of wild and domesticated species of sheep based on mitochondrial genome. Animal Production Research, 11(3): 1-13. doi: 10.22124/AR.2022.22429.1709



مقاله پژوهشی

شباختهای ژنتیکی و تجزیه و تحلیل تبارشناختی گونه‌های وحشی و اهلی گوسفند بر اساس ژنوم میتوکندریایی

فاطمه ریبعی^۱، رامین عبدالی^{۲*}، فرجاد رفیعی^۳، نوید قوی حسین زاده^۴

- ۱- دانشآموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا
۲- استادیار، مرکز تحقیقات ابریشم کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و تربیت کشاورزی، گیلان، ایران
۳- استادیار، گروه بیوتکنولوژی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان
۴- استاد، گروه علوم دامی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۳/۱۵ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۵/۰۱)

چکیده

در مطالعه حاضر، توالی‌های کامل ژنوم میتوکندریایی همراه با توالی‌های جداگانه ۱۳ ژن رمزگر پروتئین به ازای هر ژنوم از شش گونه گوسفند وحشی شامل *Ovis ammon* Argali، *Ovis canadensis* Bighorn، *Ovis orientalis* Asian Mouflon و *Ovis vignei* استخراج و گوسفند وحشی *Ovis dalli* Dall و گونه گوسفند اهلی (*Ovis aries*) از بانک اطلاعاتی NCBI باشد. نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل فاصله توالی‌ها نشان‌دهنده بیشترین شباهت ژنتیکی (۹۹/۸ درصد) بین گوسفند وحشی *Ovis orientalis* و گوسفند اهلی (*Ovis aries*) بود. کمترین شباهت ژنتیکی (۹۵ درصد) بین گوسفند اهلی (*Ovis aries*) و گوسفند وحشی *Ovis dalli* مشاهده شد. در تجزیه و تحلیل تبارشناختی، دو خوش‌های اصلی، هر کدام با زیرخوشهای متفاوت شناسایی شدند. گوسفند گونه اهلی (*Ovis aries*) همراه با گوسفندان وحشی *Ovis ammon* و *Ovis vignei* و *Ovis orientalis* در یک خوش‌های مشابه خواسته‌ای متمایزی تشکیل دادند و گوسفندان گونه وحشی *Ovis dalli* و *Ovis canadensis* و *Ovis nivicola* در قرار گرفتند. نتایج حاصل از تمامی ۱۳ ژن رمزگر پروتئین با نتایج حاصل از توالی‌های کامل ژنوم‌های میتوکندریایی، مشابه بودند. بر اساس نتایج حاصل از مطالعه حاضر، توالی‌های ژنوم میتوکندریایی می‌توانند برای تجزیه و تحلیل تبارشناختی دقیق و خوبه‌بندی گونه‌های متفاوت گوسفند مورد استفاده قرار گیرند.

واژه‌های کلیدی: درخت تبارشناسی، شباهت ژنتیکی، گوسفند، میتوژنوم

* نویسنده مسئول: ramin.abdoli.ramin.abdoli@gmail.com

مقدمه

گوسفند (Ovis canadensis) Bighorn، گونه‌ای از گوسفندان بومی آمریکای شمالی است (Wilson and Reeder, 2005). واگرایی این گونه از نزدیک‌ترین جد آسیایی آن یعنی گونه Snow (Ovis nivicola) Snow حدود ۶۰۰۰۰ سال پیش رخ داده است (Ramey, 1993). گوسفندان Snow، گونه‌ای از گوسفندان وحشی از مناطق کوهستانی در شمال شرقی سیبری هستند. در آمریکای شمالی، گوسفندان وحشی به دو گونه تقسیم می‌شوند: گوسفندان Bighorn که زیستگاه آنها از جنوب غربی کانادا تا مکزیک را شامل می‌شود و گوسفندان Dall که در آلاسکا و شمال غربی کانادا پراکنده هستند (Ovis dalli) Dall Mouflon (Loehr et al., 2006). گونه Ovis orientalis (gemelini) که با نام علمی *Ovis orientalis* هم شناخته می‌شود، یک گوسفند وحشی بومی منطقه آسیای میانه شامل شرق ترکیه، ارمنستان، آذربایجان و ایران است. تصور می‌شود این گونه، جد تمام نژادهای گوسفند اهلی (Ovis aries) نوین است (Hiendleder et al., 2002). گوسفندان اهلی به احتمال زیاد از نسل گونه وحشی Mouflon اروپا و آسیا بوده و ایران به عنوان حلقه جغرافیایی مرکزی در فرآیند اهلی‌سازی گوسفند محسوب می‌شود (Alberto et al., 2018). گوسفند Argali (Ovis ammon) در ارتفاعات غرب آسیای شرقی، هیمالیا، تبت و کوههای آلتای زندگی می‌کند و بزرگ‌ترین گونه گوسفندان وحشی را شامل می‌شود (Mallon et al., 2014). گونه Urial (Ovis vignei)، گوسفند وحشی بومی آسیای مرکزی و جنوبی بوده و همراه با گونه Argali در لیست International Union for Conservation of Nature (IUCN) قرمز (Harris and Reading, 2008) به عنوان گونه‌های در معرض خطر دسته‌بندی شده‌اند (Tackmann et al., 2011).

تاکنون پژوهش‌های زیادی به بررسی روابط تبارشناختی گونه‌ها و نژادهای مختلف گوسفند بر اساس توالی‌های ژنوم میتوکندریایی پرداخته‌اند، اما هیچ از این پژوهش‌ها، ژنوم کامل را مورد بررسی قرار نداده و نتایج بیشتر آنها تنها بر اساس توالی‌های ژنتیکی برخی ژن‌های رمزگر مانند ژن سیتوکروم b و نواحی کنترلی (Meadows et al., 2007) یا ناحیه D-Loop ژنوم میتوکندریایی (Liu et al., 2016) است. همچنین در نوع گونه‌های مورد بررسی نیز تفاوت‌هایی وجود دارد (Meadows et al., 2011).

رویکردهای مقایسه‌ای تبارشناختی به مطالعه تاریخچه تکاملی موجودات زنده، تنوع، ارتباطات بین گونه‌ها و الگوهای تغییرات جمعیتی می‌پردازند (Yang and Rannala, 2012; Cornwell and Nakagawa, 2017). رویکردهای تبارشناختی کلاسیک بر اساس ویژگی‌های ریخت‌شناسی موجودات زنده استوار هستند ولی در رویکردهای نوین، تجزیه و تحلیل فاصله تبارشناختی و روش‌های مقایسه‌ای مرتبط با آن‌ها بر اساس تنوع ژنتیکی مشاهده شده در توالی‌های ژنتیکی مورد مطالعه قرار می‌گیرند (Abdoli et al., 2018). توالی‌های ژنتیکی DNA مورد استفاده در مطالعات تبارشناختی می‌توانند شامل کروموزومی یا DNA خارج کروموزومی (نظیر ژنوم میتوکندری) باشند. مشابه ژنوم هسته‌ای، ژنوم میتوکندریایی از DNA دو رشته‌ای تشکیل شده و ژن‌های متفاوتی را رمزگذاری می‌کند. این ژنوم از ویژگی‌های متمایز و جالبی نظیر تغییرپذیری به دلیل نرخ جهش بالا، حلقوی بودن، اندازه کوچک ۱۴ تا ۱۹ کیلوبازی (عموماً حدود ۱۶ کیلوباز به عنوان میانگین در حیوانات) و نحوه وراثت (که کاملاً از مسیر مادر است) برخوردار است (Chail and Craig, 2008). تاکنون ژنوم میتوکندریایی و توالی‌های ژنتیکی آن به طور گسترده برای بررسی‌های تبارشناختی مرتبط با منشأ نژادی در Cieslak et al., 2010; Lenstra et al., 2012; Ludwig et al., 2013; Pramod et al., 2018 Chandra et al., 2006; Abdoli et al., 2022) جمعیت‌ها و سیستماتیک مولکولی حشرات است.

Caprine Ovis و از خانواده نشخوارکنندگان Bodidae است (Grubb, 2005) در حال حاضر هفت گونه گوسفند (با زیرگونه‌های متعدد) شناخته شده است که به انواع وحشی شامل گوسفندان Argali (با نام علمی Ovis ammon)، گوسفندان Bighorn (با نام علمی Ovis canadensis)، گوسفندان Dall (با نام علمی Ovis dalli)، گوسفندان Mouflon (با نام علمی Ovis vignei)، گوسفندان Snow (با نام علمی Ovis nivicola)، گوسفندان (با نام علمی Ovis orientalis) گوسفندان Urial (با نام علمی Ovis aries) و نوع اهلی گوسفندان (با نام علمی Ovis aries) دسته‌بندی شده‌اند (Wilson and Reeder, 2005).

کلمه کلیدی ژنوم کامل میتوکندریایی (complete genome) در قسمت جستجوی پایگاه داده‌ای NCBI مورد کاوش قرار گرفتند. در ادامه، توالی‌های نوکلئوتیدی کامل ۱۳ ژن رمزگر پروتئین (CDS) به تفکیک برای هر ژنوم در صفحه مربوط به توالی کامل ژنوم میتوکندریایی هر گونه یافت شده و به طور جدآگانه ذخیره شدند. این توالی‌ها شامل ژن‌های *NADH* یوبیکوئینون/اکسیدوردوکتاز (*ND1*, *ND2*, *ND3*, *ND4*, *ND5* و *ND6*)، *ATP6* سنتاز سیتوکروم *c*/اکسیداز (*COX1*, *COX2* و *COX3*)، *ATP8* دهیدروژناز *L* (*ND4L*) ۴ و *ATP6* و سیتوکروم *b* (*CYTB*) بودند که به طور جدآگانه با یکدیگر مقایسه شدند (جدول ۲). به طور کلی، ژنوم میتوکندریایی دارای ۳۷ ژن است که در این ۳۷ ژن، ۱۳ مورد برای پروتئین‌ها (پلی‌پپتیدها)، ۲۲ مورد برای tRNA‌ها و دو مورد برای زیربخش‌های کوچک و بزرگ rRNA‌ها هستند. این الگو در میان بیشتر پرسلوی‌ها مشاهده شده است (Craig, 2008).

هدف از مطالعه حاضر، بررسی واگرایی و درصد شباهت ژنتیکی همراه با تجزیه و تحلیل تبارشناختی هفت گونه اصلی شناخته شده از گوسفندان وحشی و اهلی بر اساس توالی کامل ژنوم میتوکندریایی و توالی‌های جداگانه ۱۳ ژن رمزگر پروتئین به ازای هر ژنوم بود.

مواد و روش‌ها

داده‌های ژنوم میتوکندریایی: توالی‌های کامل ژنوم میتوکندریایی شش نژاد گوسفند وحشی شامل Asian (*Ovis canadensis*) Bighorn, (*Ovis orientalis*) Mouflon (*Ovis*) Snow, (*Ovis vignei*) Urial, (*Ovis ammon*) Argali (*Ovis dalli*) Dall, (*Ovis nivicola*) همراه با ژنوم کامل میتوکندریایی نژاد گوسفند اهلی (*Ovis aries*) از پایگاه داده NCBI در RefSeq استخراج شدند شماره‌های (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/refseq>). دسترسی داده‌های مذبور همراه با اندازه هر ژنوم در جدول ۱ ارائه شده است. برای این منظور، نام علمی هر گونه همراه با

جدول ۱- نام علمی گونه‌های مورد مطالعه به همراه شماره دسترسی آنها در پایگاه NCBI با طول ژنوم‌های مذبور (bp)
Table 1. The scientific name of the studied species along with their accession numbers in NCBI with corresponding genomes' length (bp)

Name of the species	RefSeq Accession Number	Total Base Pairs
<i>Ovis aries</i>	NC_001941.1	16616
<i>Ovis orientalis</i>	NC_026063.1	16617
<i>Ovis ammon</i>	NC_020656.1	16613
<i>Ovis canadensis</i>	NC_015889.1	16463
<i>Ovis nivicola</i>	NC_039431.1	16471
<i>Ovis dalli</i>	NC_039432.1	16464
<i>Ovis vignei</i>	NC_026064.1	16697

جدول ۲- نام علمی گونه‌های مورد مطالعه و طول ۱۳ ژن رمزگر پروتئین مذبور (bp)
Table 2. The scientific name of the studied species and the length of the 13 protein-coding genes (bp)

Species	Genes												
	ND1	ND2	ND3	ND4	ND5	ND6	COX1	COX2	COX3	ATP6	ATP8	ND4L	CYTB
<i>Ovis aries</i>	955	1042	346	1378	1821	528	1545	684	784	679	201	297	1140
<i>Ovis orientalis</i>	955	1042	346	1378	1821	528	1545	684	784	679	201	297	1140
<i>Ovis ammon</i>	955	1042	346	1378	1821	528	1545	684	784	679	201	297	1140
<i>Ovis canadensis</i>	956	1042	346	1378	1821	528	1545	684	784	681	201	297	1140
<i>Ovis nivicola</i>	956	1042	357	1378	1821	528	1545	684	784	681	207	297	1140
<i>Ovis dalli</i>	956	1042	347	1378	1821	528	1545	684	784	681	201	297	1140
<i>Ovis vignei</i>	955	1042	346	1378	1821	528	1545	684	784	679	201	297	1140

گونه گوسفند اهلی (*Ovis aries*) و گونه گوسفند وحشی Mouflon (با نام علمی *Ovis orientalis*) یافت شد. همچین *Ovis aries* بر مبنای همین نتایج، گونه گوسفند اهلی (*Ovis aries*) کمترین شباهت ژنتیکی (۹۵/۱ درصد) را با گونه گوسفندان وحشی Dall (با نام علمی *Ovis dalli*) و Bighorn (با نام علمی *Ovis canadensis*) داشت. نتایج حاصل از معیار واگرایی نیز یافته‌های بالا را تأیید می‌نمایند.

تجزیه و تحلیل تبارشناختی: نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل تبارشناختی، دو خوشه اصلی را در ابتدای درخت تبارنما نشان داد که هر کدام به چند زیر خوشه دیگر تقسیم شده‌اند (شکل ۲). در نخستین خوشه جدا شده، ابتدا گونه گوسفند وحشی *Ovis ammon* جدا شده و سپس در یک زیر خوشه دیگر، نخست گونه گوسفند وحشی *Ovis vignei* و پس از آن، گوسقند نژاد اهلی (*Ovis aries*) همراه با گونه گوسفند وحشی *Ovis orientalis* در آخرین زیر خوشه قرار گرفته‌اند. در دومین خوشه جدا شده، ابتدا گونه گوسفند وحشی *Ovis canadensis* و *Ovis dalli* جدا شده و سپس *Ovis nivicola* در یک زیر خوشه متمایز قرار گرفتند (شکل ۲). بنابراین به نظر می‌رسد که تجزیه و تحلیل تبارشناختی بر اساس ژنوم‌های کامل میتوکندریایی منتج به خوشبندی صحیح گونه‌های گوسفند مورد مطالعه شده است.

همردیفی: همردیفی چندگانه ژنوم‌ها و توالی‌های نوکلئوتیدی ۱۳ ژن رمزگر پروتئین به ازای هر ژنوم که به طور جداگانه همراه با نام علمی و شماره دسترسی گونه مربوطه در بخش EditSeq ذخیره شده بودند، با استفاده از بخش دیگری از نرم افزار DNASTAR نسخه ۷/۱ با نام MegAlign و به وسیله ابزار Clustal W انجام شد (Burland, 2005). همچنین با استفاده از بخش Sequence Distances در نرم افزار DNASTAR، واگرایی و درصد شباهت ژنتیکی ژنوم‌ها و توالی‌های نوکلئوتیدی محاسبه شدند.

درخت تبارشناستی: برای تجزیه و تحلیل تبارشناختی، ژنوم‌های کامل میتوکندریایی و توالی‌های نوکلئوتیدی رمزگر پروتئین‌ها با استفاده از نرم افزار Tamura et al., (MEGA11) ۲۰۲۱ (2021) همردیف شده و درختهای تبارشناستی با استفاده از روش حداقل‌تر درست نمایی با درصد پشتیبانی بوت استرپ بر اساس ۱۰۰۰ تکرار ترسیم شدند.

نتایج

همردیفی و شباهت ژنتیکی ژنوم میتوکندریایی: نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل همردیفی نوکلئوتیدی به لحاظ شباهت توالی‌های ژنوم کامل میتوکندریایی گونه‌های گوسفندی مورد مطالعه در شکل ۱ ارائه شده است. بیشترین شباهت در توالی‌های نوکلئوتیدی ژنوم کامل میتوکندریایی (۹۹/۸ درصد) بین

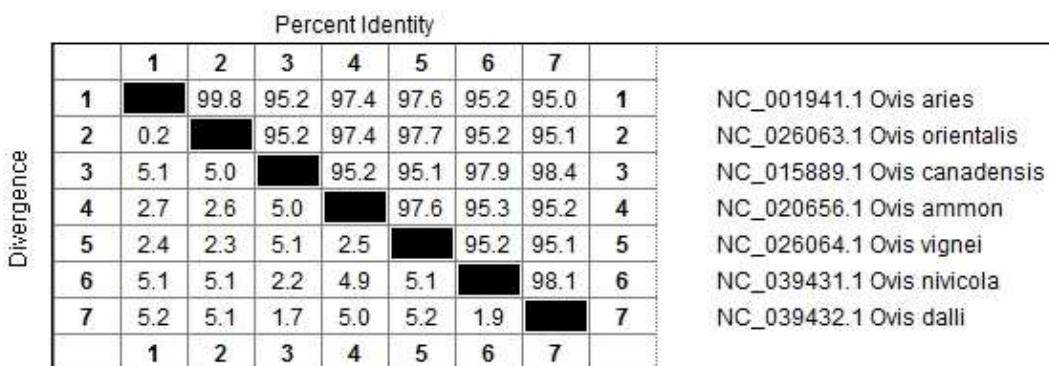
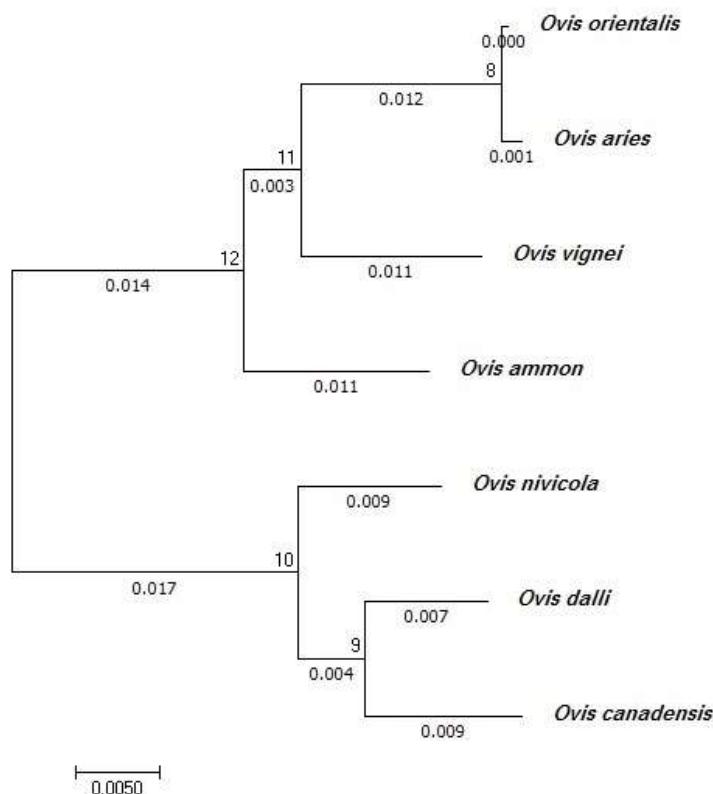


Fig. 1. Similarity and divergence percentage of the complete mitochondrial genome of the studied species of sheep
شكل ۱- درصد شباهت و واگرایی ژنوم کامل میتوکندریایی گونه‌های مورد مطالعه گوسفند



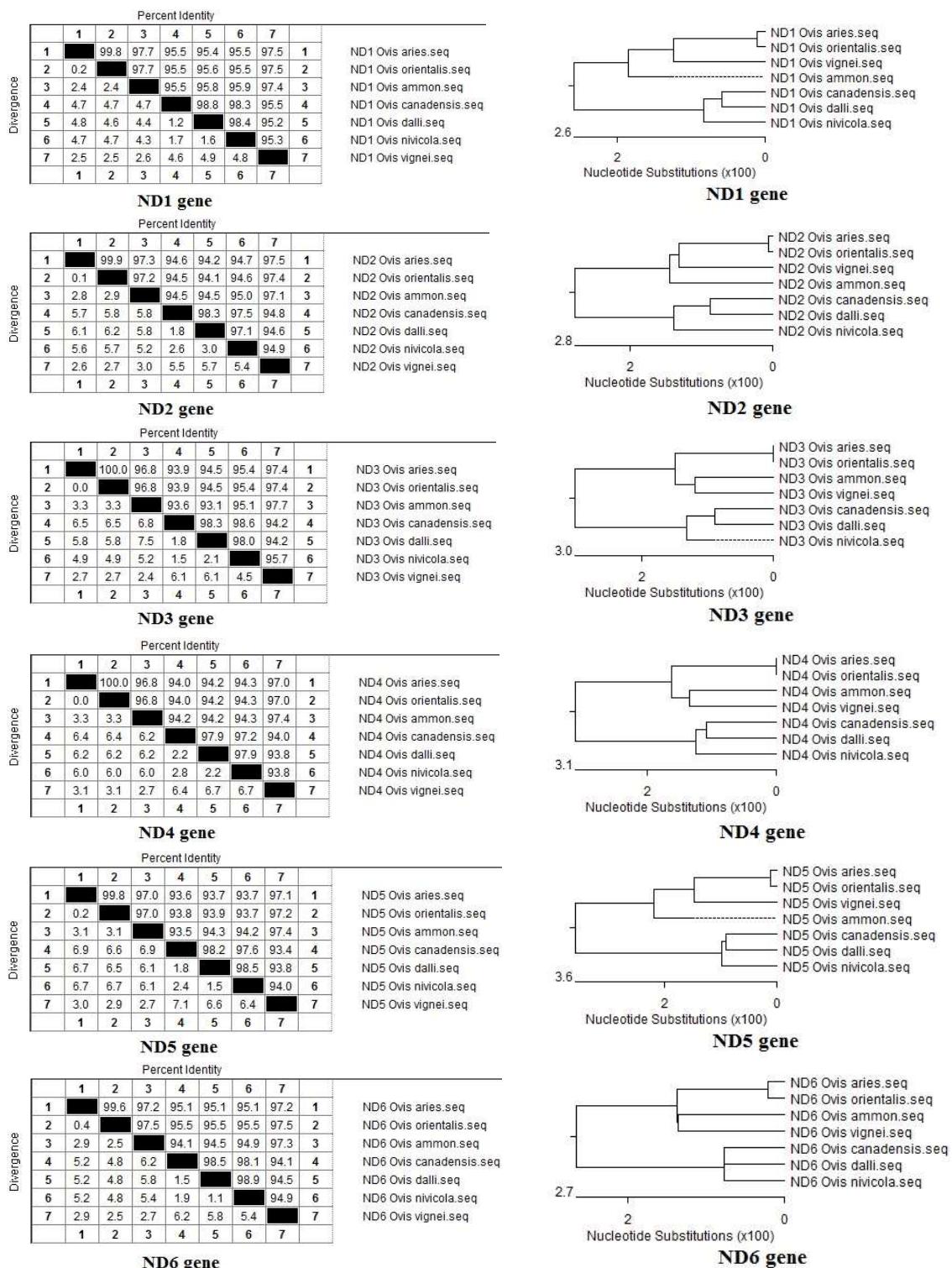
Complete mitochondrial genome

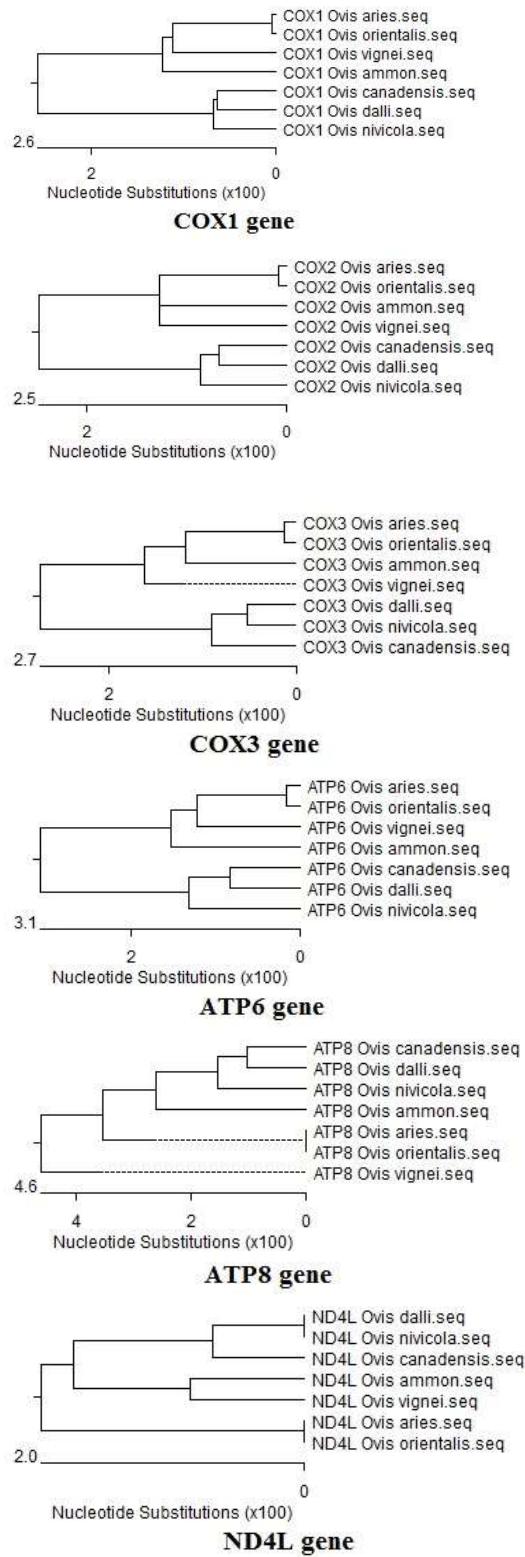
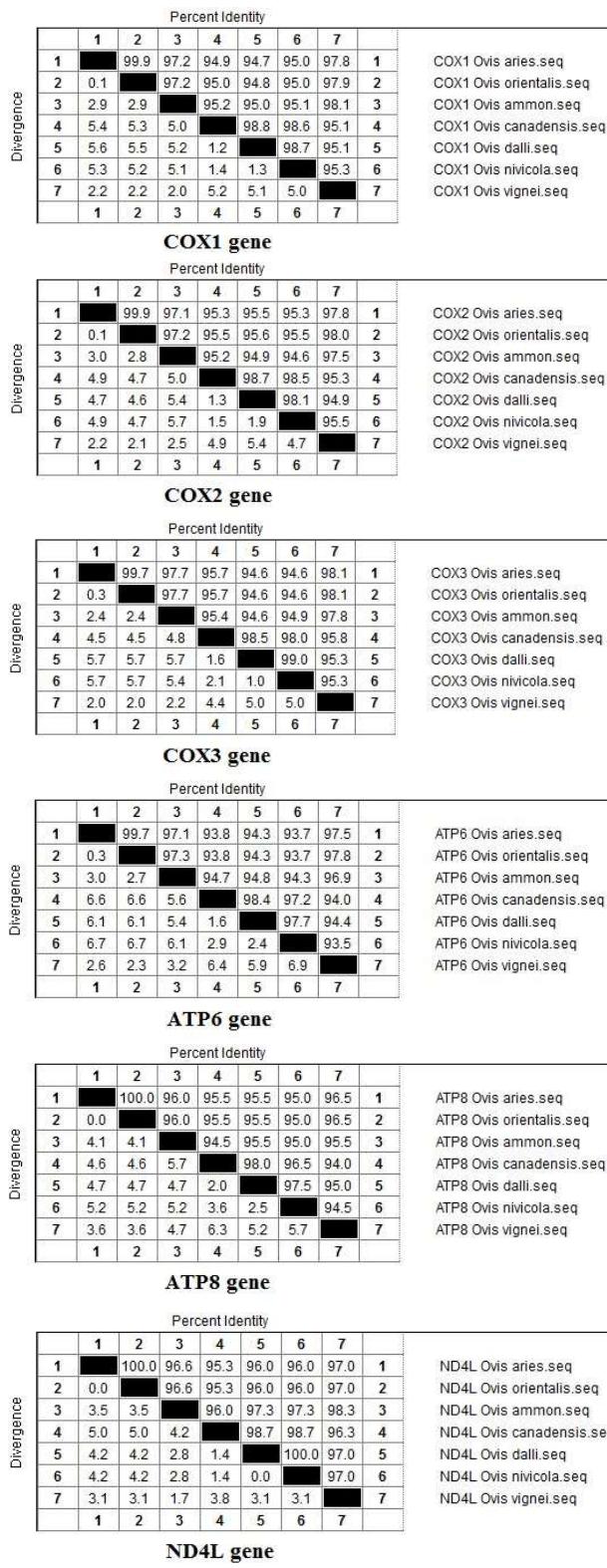
Fig. 2. Molecular phylogenetic tree of the complete mitochondrial genome of the studied species of sheep by maximum likelihood method. Numbers at the nodes represent the bootstrap percentages for interior branches after 1000 replications. Branch lengths indicate genetic change. In other words, the longer the branch, the more genetic change (or divergence) has occurred

شكل ۲- درخت تبارنما مولکولی حاصل از تجزیه و تحلیل ژنوم کامل میتوکندریایی گونه‌های مورد مطالعه گوسفند با استفاده از روش حداکثر درستنمایی. اعداد درج شده روی گره‌ها نشان‌دهنده درصد های بوتاستراپ برای شاخه‌های داخلی بعد از ۱۰۰۰ تکرار است. طول شاخه‌ها نیز نشان‌دهنده تغییرات ژنتیکی است. به عبارت بهتر، هر قدر شاخه‌ای بلندتر باشد، تغییرات ژنتیکی (یا واگرایی) رخ داده در آن بیشتر است

برای ژن‌های *CYTB*, *ATP8*, *ND4L*, *ND4*, *ND3* و *ND1* بین گونه گوسفند اهلی (*Ovis aries*) و گونه گوسفند وحشی *Mouflon* (*Ovis orientalis*) یافت شد. همچنین مشابه با نتایج حاصل از مقایسه ژنوم کامل میتوکندریایی، گونه گوسفند اهلی (*Ovis aries*) کمترین شباهت ژنتیکی را با گونه گوسفندان *Ovis canadensis* (Bighorn Dall) و وحشی *Ovis dalli* (Ovis canadensis) داشت. در کلیه ۱۳ ژن رمزگر پروتئین نشان داد.

هم‌ردیفی، بررسی شباهت ژنتیکی و تجزیه و تحلیل تبارشناختی ژن‌های رمزگر پروتئین‌ها: علی‌رغم وجود واگرایی بین توالی‌های ژن‌های رمزگر پروتئینی مورد مطالعه، نتایج حاصل برای تمامی ژن‌ها، مشابه نتایج حاصل از مقایسه ژنوم‌های کامل میتوکندریایی بود (شکل ۳). شباهت ژنتیکی بیش از ۹۹ درصد برای ژن‌های *ND1*, *ND2*, *ND5*, *ND6*, *COX1*, *COX2*, *COX3* و شباهت ژنتیکی ۱۰۰ درصدی برای ژن‌های *ATP6* و *ATP8* داشت.





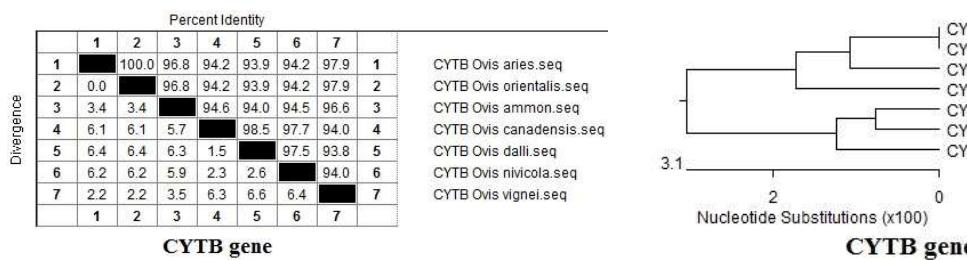


Fig. 3. Identity percentage, divergence and phylogenetic tree based on *ND1*, *ND2*, *ND3*, *ND4*, *ND5*, *ND6*, *COX1*, *COX2*, *COX3*, *ATP6*, *ATP8*, *ND4L* and *CYTB* genes

شکل ۳- درصد شباهت، واگرایی و درخت تبارنمایی بر مبنای ژن‌های *CYTB* و *ND4L*, *ATP8*, *ATP6*, *COX3*, *COX1*, *ND6*, *ND5*, *ND4*, *ND3*, *ND2*, *ND1*

است که معمولاً بین ۱۵ تا ۲۰ کیلو باز طول داشته و شامل ۳۷ زیر واحد عملکردی است که ۱۳ واحد از آنها، ژن رمزگر پروتئین‌ها (PCGs) بوده و ۲۲ واحد آن، RNA ناقل (tRNA) rRNA و دو واحد دیگر، RNA ریبوزومی (12S و 16S) هستند (da Silva *et al.*, 2020). با در نظر گرفتن مواردی نظیر عدم وجود فرآیندهای نوترکیبی و سرعت بالاتر تکامل و تجمع جهش‌های اصلی در انجام مطالعات تکاملی و به عنوان یکی از ابزارهای اصلی در انجام مطالعات تکاملی و رده‌بندی مهره‌داران و بی‌مهرگان مورد استفاده قرار می‌گیرد (Boore, 1999; Brown *et al.*, 1979) استفاده از توالی DNA میتوکندریایی در مطالعات تکاملی به ویژه در مورد گوسفند، نتایج قابل توجهی را به همراه داشته و پژوهش‌های متعددی در رابطه با توالی‌ایابی کامل ژنوم میتوکندریایی در نژادهای مختلف گوسفند نظیر گوسفندان Hu چین (2016), Fan *et al.*, (2016), گوسفند نژاد Texel (Fan *et al.*, 2016), گوسفندان نژاد Qiao (Qiao, 2016), گوسفندان نژاد Alpine Merino (and Gao, 2016) Brake *et al.*, (2020) و گوسفند نژاد آواسی اردن (Brake *et al.*, 2020) انجام شده است. (2021)

در پژوهش‌های پیشین، بخش‌های کوچکی از ژنوم میتوکندریایی (بخش از ناحیه کنترلی یا ژن سیتوکروم b) برای نشان دادن تفاوت‌های ژنتیکی و روابط تبارشناختی بین گونه‌ها و نژادهای مختلف گوسفند مورد بررسی قرار گرفته‌اند (Wu *et al.*, 2003; Tapio *et al.*, 2006)، که نتایج حاصل از آنها باعث شناسایی پنج گروه هاپلوتایپی در گوسفندان اهلی در بررسی‌های جهانی توالی‌های میتوکندریایی شده است (Meadows *et al.*, 2011).

مشابه نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل تبارشناختی ژنوم‌های کامل میتوکندریایی، گونه گوسفند اهلی (*Ovis aries*) همراه با گوسفند وحشی (*Ovis orientalis*) در یک زیر خوشه و گونه‌های (*Ovis ammon* و *Ovis vignei*) در زیر خوشه‌های متمایز دیگر قرار گرفتند. علاوه بر این، گوسفندان گونه خوشه اصلی دیگری واقع شدند و در خوشه مزبور نیز (*Ovis canadensis* و *Ovis dalli*) در یک زیر خوشه مشابه و *Ovis canadensis* در زیر خوشه متمایز دیگری قرار گرفتند.

بحث

تکامل را می‌توان به عنوان توسعه یک شکل زیستی از سایر اشکال موجود یا منشأ آن به شکل فعلی از راه انتخاب طبیعی و تغییرات در طول نسل‌ها تعریف کرد (Roy *et al.*, 2014). روش‌های تجزیه و تحلیل تبارشناختی می‌توانند به عنوان یک ابزار بیوانفورماتیک بسیار قابل اعتماد و مهم برای پرداختن به این فرآیندهای زیستی مختلف در نظر گرفته شوند. اهمیت تجزیه و تحلیل تبارشناختی در تجلی ساده آن و مدیریت آسان داده‌ها نهفته است. در همین راستا، پیشرفت‌های کنونی فن‌آوری‌های توالی‌ایابی با توان بالا، تجزیه و تحلیل تبارشناختی را در قالبی جدید با عنوان فیلوجنومیک مطرح کرده است. فیلوجنومیک، از ادغام تبارشناصی با داده‌های ژنومی ایجاد شده و به رویکردی قدرتمند برای مطالعه سیستماتیک و تکامل گونه‌ها تبدیل شده است (Behura, 2015). ژنوم میتوکندریایی (میتوژنوم) در بیشتر موجودات متازوئن (Metazoan) یک مولکول DNA دو رشته‌ای کوچک

بررسی روابط تبارشناختی سه نژاد گوسفند ایتالیایی مشتق شده از نژاد مرینو بر اساس ژنوم کامل میتوکندریایی و ناحیه کنترلی نیز نشان دهنده پیچیدگی عمیق و نزدیکی ژنتیکی Lancioni *et al.*, 2013 آنها به گوسفندان مرینو اسپانیایی بوده است (al., 2013).

در گوسفندان ایرانی نیز پژوهش‌های مشابهی به منظور بررسی تنوع ژنتیکی و تجزیه و تحلیل تبارشناختی ناحیه D-Loop و منطقه کنترلی (CR) ژنوم میتوکندریایی در گوسفندان بلوجی و زندی انجام شده است که نتایج حاصل گوسفندان بلوجی و زندی انجام شده است که نتایج حاصل نشان دهنده وجود فاصله ژنتیکی متفاوت با سایر نژادهای ایرانی بوده است (Pirkhezranian *et al.*, 2017; Bahri, Binabaj *et al.*, 2018). همچنین، نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل ژنتیکی و تبار شناختی سه نژاد گوسفند بومی ایران (تالشی، شال و ماکویی) بر اساس ناحیه HVRI D-Loop حاکی از وجود تنوع درون جمعیتی ۱۰۰ درصدی و تنوع بین جمعیتی صفر درصدی بود، که بیانگر وجود تنوع بسیار بالا در این نژادها است (Nazari and Mohammadi Ahvazi, 2022).

نتیجه‌گیری کلی

در مطالعه حاضر، شباهت‌های ژنتیکی و تجزیه و تحلیل تبارشناختی هفت گونه اصلی وحشی و اهلی گوسفند بر اساس ژنوم کامل میتوکندریایی و توالی ۱۳ ژن رمزگر پروتئین به ازای هر ژنوم مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از مقایسه ژنوم‌های کامل میتوکندریایی و ۱۳ ژن رمزگر پروتئین مشابه بوده و ضمن تأیید نتایج حاصل از بررسی شباهت‌های ژنتیکی، نشان دادند که در نتایج حاصل از تحلیل‌های تبارشناختی، دو خوشه اصلی، هر کدام با زیر خوشه‌های متفاوت، شناسایی شدند. گونه گوسفند اهلی (*Ovis aries*) با گونه‌های گوسفندان وحشی و گونه‌های گوسفندان وحشی *Ovis ammon* در یک خوشه و گونه‌های گوسفندان وحشی *Ovis canadensis* و *Ovis dalli nivicola* در خوشه جداگانه دیگر قرار گرفتند. با توجه به نتایج حاصل از پژوهش حاضر، توالی‌های ژنوم میتوکندریایی می‌توانند برای بررسی تبارشناختی دقیق و خوشبندی گونه‌های متفاوت گوسفند مورد استفاده قرار گیرند.

اساس محدوده‌های کوتاه از ژنوم میتوکندریایی ممکن است درختان تبارشناستی تولید کند که قادر استحکام آماری در نتایج حاصله باشند (Meadows *et al.*, 2011). از این رو، در پژوهش حاضر، توالی‌های کامل ژنوم میتوکندریایی همراه با توالی‌های کامل ۱۳ ژن رمزگر پروتئین به ازای هر ژنوم در هفت گونه اصلی گوسفند وحشی و اهلی برای بررسی شباهت و اگرایی ژنتیکی و تجزیه و تحلیل تبارشناختی مدنظر قرار گرفتند. در همین رابطه، در پژوهشی با گونه‌های بررسی شده مشابه با مطالعه حاضر که تنها بر اساس مقایسه توالی‌های ژن سیتوکروم b میتوکندریایی صورت گرفته است، سه گروه از گوسفندان (*Ovis*) شناسایی شده‌اند که شامل گونه‌های Pachyceriforms سیبری (گوسفند Snow) و آمریکای شمالي (گوسفندان Bighorn و Dall)، Argaliforms Moufloniforms ناحیه اوراسیا (گوسفندان Argali)، (Wu and Wang, 2005) (شکل ۲)، و ۱۳ ژن رمزگر پروتئین که به صورت مجزا مورد مقایسه قرار گرفته‌اند (شکل ۳) مطابقت دارد.

علاوه بر این موارد، در پژوهش‌های مشابه دیگر به منظور بررسی تنوع ژنتیکی و تکامل تبارشناختی نژادهای گوسفندان اهلی چینی بر اساس توالی‌های ژن سیتوکروم b، مشخص شده است که گوسفندان بومی چینی از سه منشأ مادری بودند (Xin *et al.*, 2006). همچنین بر اساس نتایج حاصل از مطالعه تبارشناختی ۱۹ جمعیت گوسفندان بومی شمال غربی چین مبتنی بر ناحیه کنترلی DNA میتوکندریایی، چندین منشأ مادری شناسایی شده است (Sulaiman *et al.*, 2011). در پژوهشی دیگر با استفاده از تحلیل‌های تبارشناستی و مطالعه روی تنوع تعداد رونوشت در پنج ژن رمزگر میتوکندریایی (*COX3*, *ATP8*, *COX2*, *ATP8* و *COX1*) در هشت نژاد گوسفند اهلی بومی چین و سه نژاد وارداتی، مشخص شد که وجود تفاوت در ترکیبات میتوژنوم ناشی از جدایی جغرافیایی منجر به تفاوت در عملکرد میتوکندریایی می‌شود (Xiao *et al.*, 2018).

فهرست منابع

- Abdoli R., Mazumder T. H., Nematollahian S., Sourati Zanjani R., Abdolah Mesbah R. and Uddin A. 2022. Gaining insights into the compositional constraints and molecular phylogeny of five silkworms mitochondrial genome. International Journal of Biological Macromolecules, 206: 543-552.
- Abdoli R., Zamani P. and Ghasemi M. 2018. Genetic similarities and phylogenetic analysis of human and farm animal species based on mitogenomic nucleotide sequences, Meta Gene, 15: 23-26.
- Alberto F. J., Boyer F., Orozco-Terwengel P., Streeter I., Servin B., De Villemereuil P., Benjelloun B., Librado P., Biscarini F., Colli L., Barbato M., Zamani W., Alberti A., Engelen S., Stella A., Joost S., Ajmone-Marsan P., Negrini R., Orlando L., Rezaei H. R., Naderi S., Clarke L., Flieck P., Wincker P., Coissac E., Kijas J., Tosser-Klopp G., Chikhi A. and Bruford M. W. 2018. Convergent genomic signatures of domestication in sheep and goats. Nature, 9: 813.
- Bahri Binabaj F., Bihamta G. and Pirkhezranian Z. 2018. Genetic diversity and phylogenetic analysis of D-loop region of mtDNA in Baluchi sheep breed. Iranian Journal of Animal Science Research. 10: 131-139. (In Persian).
- Behura S. K. 2015. Insect phylogenomics. Insect Molecular Biology, 24: 403-411.
- Boore J. L. 1999. Animal mitochondrial genomes. Nucleic Acids Research, 27: 1767-1780.
- Brake M. H., Migdadi H. M., Sadder M. T., Khaleel Jawasreh S. A., Ruba Al Omari W. O. and Haddad N. J. 2021. Complete mitochondrial genome sequence of Awassi-Jo sheep breed (*Ovis aries*) in Jordan, Mitochondrial DNA Part B, 6: 1263-1264.
- Brown W. M., George M. and Wilson A. C. 1979. Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 76: 1967-1971.
- Burland T. G. 2000. DNASTAR's Lasergene sequence analysis software. Methods in Molecular Biology, 132: 71-91.
- Chandra S. B. C., Vik J. L. and Kapatral V. 2006. Comparative insect mitochondrial genomes: Differences despite conserved genome synteny. African Journal of Biotechnology, 5: 1308-1318.
- Chial H. and Craig J. 2008. mtDNA and mitochondrial diseases. Nature Education, 1: 217.
- Cieslak M., Pruvost M., Benecke N., Hofreiter M., Morales A., Reissmann M. and Ludwig A. 2010. Origin and history of mitochondrial DNA lineages in domestic horses. PLoS One, 5: e15311.
- da Silva F. S., Cruz A. C. R. and de Almeida Medeiros D. B. 2020. Mitochondrial genome sequencing and phylogeny of *Haemagogus albomaculatus*, *Haemagogus leucocelaenus*, *Haemagogus spegazzinii*, and *Haemagogus tropicalis* (Diptera: Culicidae). Scientific Reports, 10: 16948.
- Fan H., Zhao F., Zhu C., Li F., Liu Jidong., Zhang L., Wei C. and Du L. 2016. Complete mitochondrial genome sequences of Chinese indigenous sheep with different tail types and an analysis of phylogenetic evolution in domestic sheep. Animal Bioscience, 29: 631-639.
- Harris R. B. and Reading R. 2008. *Ovis ammon*. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2012.1. <http://www.iucnredlist.org>.
- Hiendleder S., Kaupe B., Wassmuth R. and Janke A. 2002. Molecular analysis of wild and domestic sheep questions current nomenclature and provides evidence for domestication from two different subspecies. Proceedings: Biological Sciences, 269(1494): 893-904.
- Hu X. D. and Gao L. Z. 2016. The complete mitochondrial genome of domestic sheep, *Ovis aries*. Mitochondrial DNA Part A: DNA Mapping, Sequencing, and Analysis, 27: 1425-1427.
- Lancioni H., Di Lorenzo P., Ceccobelli S., Perego U. A., Miglio A., Landi V., Antognoni M. T., Sarti F. M., Lasagna E. and Achilli A. 2013. Phylogenetic relationships of three Italian merino-derived sheep breeds evaluated through a complete mitogenome analysis. PLoS One, 8(9): e73712.
- Lenstra J. A., Groeneveld L. F., Eding H., Kantanen J., Williams J. L., Taberlet P., Nicolazzi E. L., Sölkner J., Simianer H., Ciani E., Garcia J. F., Bruford M. W., Ajmone-Marsan P. and Weigend S. 2012. Molecular tools and analytical approaches for the characterization of farm animal genetic diversity. Animal Genetics, 43: 483-502.
- Liu J., Ding X., Zeng Y., Yue Y., Guo X., Guo T., Chu M., Wang F., Han J., Feng R., Sun X., Niu C., Yang B., Guo J. and Yuan C. 2016. Genetic diversity and phylogenetic evolution of Tibetan sheep based on mtDNA D-Loop sequences. PLoS One, 11(7): e0159308.
- Loehr J., Worley K., Grapputo A., Carey J., Veitch A. and Coltman D. W. 2006. Evidence for cryptic glacial refugia from North American mountain sheep mitochondrial DNA. Journal of Evolutionary Biology, 19: 419-430.
- Ludwig A., Alderson L., Fandrey E., Lieckfeldt D., Soederlund T. K. and Froelich F. 2013. Tracing the genetic roots of the indigenous white park cattle. Animal Genetics, 44: 383-386.
- Mallon D., Singh N. and Röttger C. 2014. International single species action plan for the conservation of the argali *Ovis ammon*. CMS Technical Series, 20: 43.

- Meadows J. R. S., Cemal I., Karaca O., Gootwine E. and Kijas J. W. 2007. Five ovine mitochondrial lineages identified from sheep breeds of the near East. *Genetics*, 175: 1371-1379.
- Meadows J. R. S., Hiendleder S. and Kijas J. 2011. Haplotype relationships between domestic and wild sheep resolved using a mitogenome panel. *Heredity*, 106: 700-706.
- Nazari M. and Mohamadi Ahvazi G. 2022. Genetic and phylogenetic analysis of mitochondrial D-loop HVR I region in three breeds of native sheep Iran (Taleshi, Shal and Makui). *Veterinary Research and Biological Products*, 35(1): 31-39. (In Persian).
- Pirkhezranian Z., Razmkabir M. and Nazifi N. 2017. Genetic and phylogenetic analyses of partial control region of mtDNA in Zandi sheep breed. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 9: 25-40. (In Persian).
- Pramod R. K., Velayutham D., Sajesh P. K., Beena P. S., Zachariah A., Zachariah A., Chandramohan B., Sujith S. S., Santhosh S., Iype S., Ganapathi P., Kumar B. D., Gupta R. and Thomas G. 2018. The complete mitochondrial genome of Indian cattle (*Bos indicus*). *Mitochondrial DNA B*, 3: 207-208.
- Qiao G., Zhang H., Zhu S., Yuan C., Zhao H., Han M., Yue Y. and Yang B. 2020. The complete mitochondrial genome sequence and phylogenetic analysis of Alpine Merino sheep (*Ovis aries*). *Mitochondrial DNA Part B*, 5: 990-991.
- Ramey R. R. 1993. Evolutionary genetics and systematics of North American mountain sheep. Ph.D. Dissertation. Cornell University, Ithaca, NY.
- Roy S. S., Dasgupta R. and Bagchi A. 2014. A review on phylogenetic analysis: A journey through modern era. *Computational Molecular Bioscience*, 4: 39-45.
- Sulaiman Y., Wu C. and Zhao C. 2011. Phylogeny of 19 indigenous sheep populations in Northwestern China inferred from mitochondrial DNA control region. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, 6: 71-79.
- Tamura K., Stecher G. and Kumar S. 2021. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. *Molecular Biology and Evolution*, 38(7): 3022-3027.
- Tapio M., Marzanov N., Ozerov M., inkulov M., Gonzarenko G. and Kiselyova T. 2006. Sheep mitochondrial DNA variation in European, Caucasian, and Central Asian areas. *Molecular Biology and Evolution*, 23: 1776-1783.
- Wilson D. E. and Reeder D. M. 2005. Mammal species of the world. A taxonomic and geographic reference (3rd edition), Johns Hopkins University Press. P.142. (Available from Johns Hopkins University Press, 1-800-537-5487 or (410) 516-6900 <http://www.press.jhu.edu>).
- Wu B. and Wang Z. 2005. Phylogenetic analysis of the snow sheep (*Ovis nivicola*) and closely related taxa. *Journal of Heredity*, 97: 21-30.
- Wu C. H., Zhang Y. P., Bunch T. D., Wang S. and Wang W. 2003. Mitochondrial control region sequence variation within the argali wild sheep (*Ovis ammon*): evolution and conservation relevance. *Mammalia*, 67: 109-118.
- Xiao P., Niu L. L., Zhao Q. J., Chen X. Y., Wang L. J., Li L., Zhang H. P., Guo J. Z., Xu H. Y. and Zhong T. 2018. New insights into mitogenomic phylogeny and copy number in eight indigenous sheep populations based on the ATP synthase and cytochrome c oxidase genes. *Animal*, 12: 1341-1349.
- Xin W., Yue-Hui M. and Hong C. 2006. Analysis of the genetic diversity and the phylogenetic evolution of Chinese sheep based on Cyt b gene sequences. *Acta Genetica Sinica*, 33: 1081-1086.
- Yang Z. and Rannala B. 2012. Molecular phylogenetics: principles and practice. *Nature Reviews Genetics*, 13: 303-314.