



RESEARCH PAPER

OPEN ACCESS

Study of genetic similarities and phylogenetic analysis of Iranian dromedary and bactrian camels with seven major species of the Camelidae family based on mitochondrial genome

M. Hashemi¹, A. Ahmadi^{1*}, P. Zamani¹, M. H. Ferdosi², R. Abdoli^{3**}

1. Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran

2. AGBU, a joint venture of NSW Department of Primary Industries and University of New England, University of New England, Armidale, NSW 2351, Australia

3. Iran Silk Research Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Guilan, Iran

(Received: 11-05-2025 – Revised: 30-05-2025 – Accepted: 03-06-2025 – Available online: 03-06-2025)

Abstract

Introduction: Mitochondrial DNA (mtDNA), also referred to as the mitogenome, has emerged as a pivotal tool in evolutionary biology and phylogenetics due to its maternal inheritance, high mutation rate, and lack of recombination. These characteristics make it an ideal molecular marker for tracing lineage divergences and understanding genetic relationships among species. This study leverages complete mitochondrial genome sequences, protein-coding genes (PCG), and single-nucleotide polymorphism (SNP) data to elucidate the genetic similarities and phylogenetic relationships between Iranian dromedary (*Camelus dromedarius*) and bactrian (*Camelus bactrianus*) camels and seven major species of the Camelidae family, including wild and domesticated members (including *Vicugna vicugna*, *Lama guanicoe*, *Vicugna pacos*, *Lama glama*, *Camelus ferus*, *Camelus dromedarius*, and *Camelus bactrianus*). The Iranian dromedary and bactrian camels play a vital role in desert ecosystems and local livelihoods, yet their populations face challenges due to habitat loss and declining traditional pastoralism. The primary objectives of this research were to: 1) compare the complete mitochondrial genomes of Iranian camels with those of other Camelidae species to identify evolutionary divergences and conserved genetic regions, 2) analyze nucleotide and amino acid sequences of 13 protein-coding mitochondrial genes per each mitogenomes to assess functional conservation and divergence, 3) utilize SNP-based genomic data generated based on complete mitogenomes to construct a genomic relationship matrix (GRM) and validate phylogenetic inferences, and 4) resolve the taxonomic classification of Camelidae species and clarify the evolutionary position of Iranian camels within the family.

Materials and methods: Complete mitochondrial genomes of seven Camelidae species (*Vicugna vicugna*, *Lama guanicoe*, *Vicugna pacos*, *Lama glama*, *Camelus ferus*, *Camelus dromedarius*, and *Camelus bactrianus*) and 10 Iranian camel haplotypes (four *Camelus dromedarius*, i.e., Haplotypes 1, 2, 3, and 4, and six *Camelus bactrianus*, i.e., Haplotypes 1, 2, 3, 4, 5, and 6) were retrieved from NCBI. Afterwards, nucleotide and amino acid sequences of 13 PCGs (*ATP6*, *ATP8*, *COX1*, *COX2*, *COX3*, *ND1*, *ND2*, *ND3*, *ND4*, *ND5*, *ND6*, *ND4L*, and *CYTb*) were extracted for comparative analysis. Also, a total of 3100 SNPs were derived from whole mitogenome alignments, filtered for quality, and used for population genomic analyses. The maximum likelihood (ML) method was applied to whole mitogenome sequences and PCG alignments to reconstruct evolutionary relationships. Nucleotide diversity was calculated for PCGs and mitogenome regions. GRM was generated to quantify pairwise genetic

* Corresponding author: ahahmady@gmail.com

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



distances. To visualize genetic structuring, heatmap clustering and principal component analysis (PCA) on the SNP dataset, and a level plot of common nucleotides were performed. A heatmap is a data visualization method based on color coding that is widely used to uncover hidden patterns in genomic data. A level plot is a graphical tool for displaying nucleotide similarity or differences between various samples based on SNP data, and is depicted as a color-coded or spectral matrix.

Results and discussion: Phylogenetic trees revealed two primary clades: Clade/Cluster A: Comprised *Vicugna* and *Lama* species (*Vicugna vicugna*, *Lama guanicoe*, *Vicugna pacos*, and *Lama glama*), forming a distinct group. Clade/Cluster B: Included *Camelus ferus*, *Camelus dromedarius*, and *Camelus bactrianus*, with Iranian dromedaries and bactrians forming subclusters closely related to *Camelus ferus*. Sequence identity between Iranian camels and other species ranged from 82.4% to 100%, with the highest similarity observed among *C. dromedarius* haplotypes. Analysis of nucleotide and amino acid sequences of all PCGs showed a clustering pattern similar to that of the complete mitochondrial genomes. However, *ATP8* exhibited the highest variability, while *COX1* was the most conserved, reflecting differential evolutionary pressures. Heatmap, PCA, and level plot analyses of SNP-based nucleotide similarities and GRM data confirmed the results from the complete mtDNA analysis (the separation of *Vicugna/Lama* and *Camelus camelids*, with Iranian camels grouping distinctly within the latter), demonstrating that SNPs are an effective tool for phylogenetic and evolutionary studies. SNP-based analyses proved highly congruent with traditional mtDNA methods, validating their utility for high-resolution phylogenetic studies.

Conclusions: This study provides a comprehensive genomic framework for understanding the evolutionary history of Camelidae, demonstrating the power of mitochondrial genomics and SNP-based approaches in phylogenetics, as comparative genomic analysis of mtDNA can robustly classify the major species of the Camelidae family and clarify their evolutionary relationships. The results of the present study not only refine the classification of Iranian camels but also offer a foundation for future research on camelid adaptation, domestication, and conservation.

Keywords: Single-nucleotide polymorphism, Phylogenetic tree, Gene, Mitochondrial genome, Camel

Ethics statement: This article does not contain any studies with human participants or animals performed by any of the authors.

Data availability statement: The data that support the findings of this study are available on request from the corresponding author.

Conflicts of interest: The authors declare no conflicts of interest.

Funding: The authors received no specific funding for this project.

How to cite this article:

Hashemi, M., Ahmadi, A., Zamani, P., Ferdosi, M. H., & Abdoli, R. (2025). Study of genetic similarities and phylogenetic analysis of Iranian dromedary and bactrian camels with seven major species of the Camelidae family based on mitochondrial genome. *Animal Production Research*, 14(3), 1-21. doi: 10.22124/ar.2025.30642.1895



مطالعه شباهت‌های ژنتیکی و تجزیه و تحلیل تبارشناختی شترهای تک کوهانه و دوکوهانه ایرانی با هفت گونه اصلی موجود در خانواده شترسانان بر اساس ژنوم میتوکندریایی

مصطفی هاشمی^۱، احمد احمدی^{۱*}، پویا زمانی^۱، محمد حسین فردوسی^۲، رامین عبدلی^۳

۱- گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا

۲- واحد ژنتیک و اصلاح نژاد حیوانات (AGBU)، دانشگاه نیوانگلند، آرمیدال، استرالیا

۳- مرکز تحقیقات ابریشم کشور، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی (AREEO)، گیلان، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۲/۲۱ - تاریخ بازنگری: ۱۴۰۴/۰۳/۰۹ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۳/۱۳ - تاریخ انتشار برخط: ۱۴۰۴/۰۳/۱۳)

چکیده

توالی‌های ژنوم کامل میتوکندریایی هفت گونه اصلی شترسانان شامل *Vicugna pacos*، *Lama guanicoe*، *Vicugna vicugna*، *Camelus bactrianus*، *Camelus dromedarius*، *Camelus ferus*، *Lama glama* ایرانی همراه با توالی‌های ۱۳ ژن رمزگر (PCGs) به‌ازای هر ژنوم از سایت NCBI استخراج شدند. همچنین، مجموعه‌ای از ۳۱۰۰ چندشکلی تک نوکلئوتیدی (SNP) از توالی‌های کامل گونه‌های مورد بررسی تهیه شد که پس از فیلتراسیون، برای ساخت ماتریس روابط ژنومی مورد استفاده قرار گرفتند. نتایج ترسیم درخت‌های تبارشناختی بر اساس توالی‌های کامل، دو خوشه اصلی همراه با چند زیر خوشه را نشان داد، به‌شکلی که گونه‌های *Vicugna pacos*، *Lama guanicoe*، *Vicugna vicugna*، *Camelus ferus* و *Lama glama* یک شاخه اصلی و باقی گونه‌های تک کوهانه (*Camelus dromedarius*) و دوکوهانه (*Camelus bactrianus*) همراه با *Camelus ferus* یک زیر شاخه اصلی دیگر با چند زیر شاخه تشکیل دادند. درصد تشابه ژنتیکی بین هفت گونه اصلی و گونه‌های ایرانی بین ۸۲/۴ تا ۱۰۰ درصد متغیر بود. توالی‌های نوکلئوتیدی و آمینواسیدی ژن‌های رمزگر، خوشه‌بندی مشابه با توالی‌های کامل نشان دادند. ژن *ATP8* بیشترین و ژن *COXI* کمترین تنوع ژنتیکی را داشتند. ترسیم نقشه حرارتی و نمودار PCA مبتنی بر داده‌های SNP و نمودار سطحی شباهت‌های نوکلئوتیدی، نتایج مشابهی داشت. یافته‌های این مطالعه نشان داد که مقایسه توالی‌های ژنوم میتوکندریایی می‌تواند گونه‌های اصلی خانواده شترسانان را به‌صورت قوی طبقه‌بندی کند و روابط تکاملی آن‌ها را روشن سازد. این تحقیق، بینش‌های ارزشمندی برای مطالعات آینده در زمینه ژنتیک و تکامل شترسانان فراهم می‌کند.

واژه‌های کلیدی: چندشکلی تک نوکلئوتیدی، درخت تبارشناختی، ژن، ژنوم میتوکندریایی، شتر

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

مقدمه

تکامل را می‌توان به‌عنوان توسعه یک شکل زیستی از دیگر شکل‌های موجود یا منشا آن به‌شکل فعلی از راه انتخاب طبیعی و تغییرات در طول نسل‌ها تعریف نمود (Roy et al., 2014). روش‌های تجزیه و تحلیل تبارشناختی را می‌توان به‌عنوان یک ابزار بیوانفورماتیکی بسیار قابل اعتماد و مهم جهت پرداختن به فرآیندهای زیستی مختلف در نظر گرفت، به‌نحوی که تاریخچه تکامل گونه‌های زنده معمولاً از راه تجزیه و تحلیل تبارشناختی اطلاعات مولکولی و ریخت-شناسی با استفاده از مدل‌های مختلف ریاضی قابل اثبات است. پیشرفت‌های کنونی در زمینه فناوری‌های توالی‌یابی، تجزیه و تحلیل تبارشناختی را به هدف جدیدی با عنوان فیلوژنومیکس رسانده است. در حقیقت، فیلوژنومیکس ادغام تبارشناختی با داده‌های ژنومی بوده و به یک روش قدرتمند برای مطالعه سیستماتیک و تکامل گونه‌ها تبدیل شده است (Behura, 2015). علم تبارشناسی به مطالعه رابطه‌های تکاملی بین چندین گروه از جانداران (مانند گونه‌ها و جمعیت‌ها) می‌پردازد. رویکردهای مقایسه‌ای تبارشناختی، مطالعه تاریخچه تکامل ارگانیسم‌ها، تنوع ارتباطات بین گونه‌ها و الگوهای تغییرات جمعیتی را امکان‌پذیر می‌سازد (Yang & Rannala, 2012). روش‌های اولیه تبارشناختی بر اساس ویژگی‌های ریخت‌شناسی موجودات زنده بوده، ولی در روش‌های نوین، تجزیه و تحلیل فاصله تبارشناختی و روش‌های مقایسه‌ای مرتبط با آن بر پایه تنوع ژنتیکی مشاهده شده در توالی‌های ژنتیکی مورد مطالعه برآورد می‌شود (Abdoli et al., 2018). درخت تبارشناسی (تبارنما یا Phylogeny tree) که به آن، درخت تکامل نیز می‌گویند نموداری است که رابطه‌های تکاملی بین گروه‌های مختلف جانداران را که دارای نسب‌های مشترکی هستند نشان می‌دهد (Mohamadipoor Saadatabadi et al., 2023).

در بیشتر موجودات از اطلاعات به‌دست آمده از توالی‌های DNA برای تعیین رابطه‌های تکاملی استفاده می‌شود. با توجه به اینکه این گونه اطلاعات و داده‌ها در مقایسه با داده‌های ریخت‌شناسی، کمتر تحت تاثیر عوامل محیطی قرار می‌گیرند، بنابراین می‌توانند به نحو بهتری، روابط تبارشناختی حقیقی را نشان دهند. توالی‌های ژنتیکی استفاده شده جهت مطالعه تبارشناختی را می‌توان از DNA هسته‌ای یا DNA سیتوپلاسمی همانند ژنوم میتوکندری

به‌دست آورد. همانند ژنوم هسته‌ای، ژنوم میتوکندریایی از DNA دو رشته‌ای ساخته شده ولی دارای ساختار حلقوی است. این ژنوم، ژن‌های متفاوت با ژنوم هسته‌ای داشته و اندازه آن مابین ۱۴ تا ۱۹ کیلوباز بوده و صرفاً دارای توارث انحصاری مادری است (Chial & Craig, 2008)، و از آنجایی که ژنوم میتوکندری صرفاً از سوی مادر به ارث می‌رسد و ماهیتی هاپلوپیدی دارد، بنابراین اندازه جمعیت موثر آن برابر با یک چهارم یک ژن هسته‌ای اتوزمال است. بدین سبب، درخت تبارشناختی میتوکندریایی احتمال بسیار زیادی برای ردیابی دقیق یک میان گره کوتاه نسبت به درخت تبارشناختی ژن، دارا است (Moore, 1995). ژنوم میتوکندریایی دارای کاربردهای بسیاری در مطالعات تکاملی و تفکیک نژادی پستانداران است (Arefnejad et al., 2024) و تاکنون از توالی‌های ژنتیکی مرتبط با آن به-صورت فراوان جهت بررسی تبارشناختی مرتبط با مبدا و منشا نژادی در حیوانات اهلی (Lenstra et al., 2012; Ludwig et al., 2013; Pramod et al., 2018; Rabiei et al., 2022)، آبیان (Jamshidi & Abdoli, 2023) و حشرات (Abdoli et al., 2022) استفاده شده است.

در شتر نیز مطالعات مولکولی و تبارشناختی مشابهی چه در داخل کشور و چه در خارج از کشور انجام گرفته است که می‌توان به برخی موارد شامل توالی‌یابی ناحیه ۶۰۰ تا ۸۰۰ نوکلئوتیدی از ژن سیتوکروم C اکسیداز I (*COXI*) ژنوم میتوکندریایی و ثبت بارکدینگ DNA شتر دوکوهانه ایرانی (Parsa Yeganeh et al., 2020)، بررسی بیوانفورماتیکی و فیلوژنتیکی توالی نوکلئوتیدی ژن 16S rRNA میتوکندری شترهای تک کوهانه و دوکوهانه ایرانی (Torabi & Roudbari, 2020)، تجزیه و تحلیل ژنتیکی و تبارشناختی ناحیه D-Loop در شترهای تک کوهانه و دوکوهانه ایران (Azghandi & Tahmoore-Pour, 2015)، و مقایسه ژنوم میتوکندریایی گونه *C. dromedaries* کشور عربستان با سایر گونه‌های اصلی خانواده شترسانان (Manee et al., 2019) اشاره کرد.

شتر متعلق به سلسله جانوران، شاخه طنابداران، رده پستانداران، راسته سم شکافتگان و خانواده شترسانان است. شتر از جمله دام‌های اهلی مناطق بیابانی است که می‌تواند چندین روز متوالی را بدون خوردن آب سپری کرده و بیشترین استفاده را از مراتع ببرد، در صورتی که این امر برای

کرده‌اند، این تحقیق با به‌کارگیری داده‌های جامع‌تر، تحلیلی عمیق‌تر ارائه می‌دهد. فرضیه تحقیق بر این مبنا است که استفاده از توالی‌های کامل ژنوم میتوکندریایی، همراه با توالی‌های نوکلئوتیدی و آمینواسیدی ۱۳ ژن کد کننده پروتئین و همچنین، تحلیل SNP‌های استخراج شده از ژنوم میتوکندریایی، می‌تواند تفاوت‌ها و شباهت‌های ژنتیکی میان شترهای ایرانی و سایر گونه‌های شترسانان را با دقت بیشتری آشکار سازد و تفاوت‌هایی در استفاده از این منابع وجود دارد. این مطالعه، نخستین پژوهشی است که با چنین جامعیتی به مقایسه ژنومی این گونه‌ها می‌پردازد و می‌تواند بینش جدیدی در روابط تکاملی و تنوع ژنتیکی در خانواده شترسانان ارائه دهد.

مواد و روش‌ها

جمع آوری داده‌ها: ابتدا به‌روزترین توالی‌های کامل ژنوم میتوکندریایی هفت گونه اصلی شتر شامل *Vicugna*, *Lama guanicoe*, *Lama pacos*, *vicugna*, *glama*, *Camelus ferus*, *Camelus dromedarius*, *Camelus bactrianus*، همراه با توالی‌های کامل ژنوم میتوکندریایی چهار شتر تک کوهانه ایرانی شامل *Camelus dromedarius* haplotype 1, 2, 3, & 4 و ۶ شتر دوکوهانه ایرانی شامل *Camelus bactrianus* haplotype 1, 2, 3, 4, 5, & 6، از پایگاه داده‌های Nucleotide در سایت NCBI استخراج شد. به‌طور کلی، خانواده شترسانان به دو گروه شترسانان دنیای جدید (Lamoids) و شترسانان دنیای قدیم (Camelus) تقسیم می‌شود. این تقسیم‌بندی به-ترتیب بر اساس نداشتن و داشتن کوهان صورت گرفته است. شترسانان دنیای جدید (New World Camelidae) جنس‌های لاما، آلپاکا، گواناکا و ویکیونا را شامل می‌شود و شترسانان دنیای قدیم (Old World Camelidae) شامل شتر دوکوهانه (*Camelus dromedarius*)، تک کوهانه (*Camelus bactrianus*) و شترهای دوکوهانه وحشی (*Camelus ferus*) هستند (Talebi et al., 2014b). شماره دسترسی ژنوم‌ها همراه با طول کامل ژنوم هر یک از گونه‌ها بر حسب جفت باز در جدول ۱ ارائه شده است. لازم به ذکر است که توالی‌یابی ژنوم کامل میتوکندریایی نمونه‌های مورد استفاده از شترهای دوکوهانه ایرانی و احتمالاً تک کوهانه در مطالعه حاضر در ابتدا به‌صورت توالی‌یابی قطعات مختلف به‌روش PCR بوده که پس از حذف هم‌پوشانی‌ها به یکدیگر

سایر دام‌ها مشکل و اغلب غیرممکن است. این حیوان دارای اهمیت بسیار زیادی در اقتصاد برخی از پرورش دهندگان و روستانشینان حاشیه کویر از جهت تولید شیر و گوشت و همچنین، به‌واسطه سواری و بارکشی است. شتر جزء حیواناتی است که نقش‌های اقتصادی و کلیدی فراوانی در حمایت و زنده‌مانی شمار زیادی از مردم نواحی خشک و نیمه خشک آسیا و آفریقا بازی می‌کند. این حیوان اهلی، مناسب و سازگار با محیط‌های گرم و خشک است و نه تنها در برابر خشک‌سالی‌های شدید مقاوم بوده، بلکه تولید و تولیدمثل آنها در این شرایط نیز تداوم خواهد داشت (Ahmad et al., 2010).

شتر دوکوهانه ایرانی یکی از گونه‌های مهم بومی ایران با توزیع پراکندگی در شمال غرب کشور است، که با توجه به کاهش شدید جمعیت آن در معرض خطر انقراض گزارش شده و توجه بیشتر به این نژاد از دیدگاه حفاظت تنوع زیستی بسیار حائز اهمیت است (Parsa Yeganeh et al., 2020). اگرچه نتایج نشانگرهای ریز ماهواره مورد استفاده در شترهای دنیای جدید در شترهای دوکوهانه ایرانی نشان‌دهنده تنوع ژنتیکی قابل قبول در این جمعیت بوده و با برنامه‌های صحیح مدیریتی و اصلاح نژادی می‌توان از انقراض این ذخیره ژنتیکی در کشور جلوگیری کرد (Talebi et al., 2014a). علاوه بر این، بر اساس آمار سازمان خواروبار جهانی در سال ۲۰۱۴، قریب به ۸۰ هزار نفر شتر تک‌کوهانه در نواحی کویر مرکزی و جنوبی ایران زندگی می‌کنند که ۰/۲۹ درصد جمعیت شتر جهان را شامل می‌شود (FAO, 2014). از این‌رو، بیشتر شترهای کشور از نوع تک کوهانه بوده و در ۱۴ استان کشور پراکنده‌اند (Salehi & Gharahdaghi, 2013). بنابراین، حفظ و حراست از تنوع ژنتیکی در نژادهای بومی ایران به‌عنوان سرمایه‌های ملی بسیار حائز اهمیت است و مطالعه و بررسی توالی ژنوم میتوکندری در بین نژادها یا در درون آنها می‌تواند شاخص مناسبی از میزان تنوع موجود در جمعیت‌های مورد مطالعه باشد (Shahabi & Tahmoures-Pour, 2015). هدف اصلی این مطالعه، مقایسه ژنتیکی گونه‌های شتر تک‌کوهانه و دوکوهانه ایرانی با گونه‌های اصلی خانواده شترسانان بر اساس اطلاعات حاصل از توالی ژنوم میتوکندریایی است که تاکنون در پژوهش‌های پیشین مورد بررسی قرار نگرفته است. برخلاف مطالعات گذشته که تنها از توالی‌های نوکلئوتیدی محدود به یک یا چند ژن استفاده

متصل شده و توالی‌های کامل میتوکندریایی به‌دست آمده-
اند و در سایت NCBI با شماره دسترسی‌های مربوطه ثبت شده‌اند.

در ادامه، توالی‌های نوکلئوتیدی و آمینو اسیدی کامل برخی از نواحی ژنوم میتوکندریایی شامل ۱۳ ژن رمزگر پروتئین (PCGs) به نام‌های *NADH یوبیکوئینون اکسیدوردوکتاز* ۱ تا ۶ (*ND1, ND2, ND3, ND4, ND5, ND6*)، *NADH دهیدروژناز* ۴ (*ND4L*)، سیتوکروم *C اکسیداز* ۱ تا ۳ (*COX1, COX2, COX3*)، *ATP سنتتاز* ۶ و ۸ (*ATP6*) و *ATP8* و سیتوکروم *b* (*CYTb*) به تفکیک برای هر ژنوم در صفحه مربوط به توالی کامل ژنوم میتوکندریایی هر گونه استخراج و به‌طور جداگانه ذخیره شدند (جدول ۲).

هم ردیفی‌های چندگانه: پس از ذخیره‌سازی توالی‌های کامل ژنوم میتوکندریایی همراه با توالی‌های نوکلئوتیدی و آمینو اسیدی تمامی ژن‌های رمزگر پروتئین به‌ازای هر ژنوم به‌طور جداگانه همراه با نام علمی و شماره دسترسی گونه مربوط با استفاده از نرم‌افزار DNASTAR نسخه ۱/۷ زیر بخش MegAlign و روش Clustal W هم ردیفی چندگانه انجام شد (Burland, 1999). روش Clustal W به‌عنوان یک رویکرد دقیق، پرکاربرد و عملی در دسته روش‌های لایه‌بندی شده، به‌طور گسترده برای هم‌ترازی‌های چندگانه مورد استفاده قرار گرفته است (Thompson et al., 1994).

واگرایی و شباهت ژنتیکی: با استفاده از بخش Sequence Distances در نرم‌افزار DNASTAR، واگرایی و درصد شباهت ژنتیکی ژنوم‌ها و توالی نوکلئوتیدی محاسبه شده و جداول مربوط به هر مقایسه به‌طور جداگانه ارائه شدند.

رسم درخت تبارشناختی: برای تجزیه و تحلیل تبارشناسی ژن‌ها، ژنوم کامل میتوکندریایی و توالی‌های نوکلئوتیدی و آمینواسیدی ژن‌ها با استفاده از نرم‌افزار MEGA11 هم‌ردیف شده و درخت تبارشناسی با استفاده از روش حداکثر درست‌نمایی با درصد پشتیبانی یا بوت استریپ بر اساس 1000 تکرار ترسیم شدند (Tamura et al., 2021).

فیلتراسیون SNP ها و آماده‌سازی داده‌ها: بدین منظور، در ابتدا هم‌ترازی جامع توالی‌های ژنوم میتوکندری با استفاده از نرم افزار MEGA انجام شد. به‌منظور کنترل کیفیت داده‌ها، نوکلئوتیدهای دارای بیش از ۹۰ درصد داده‌های مفقود و با مقدار MAF کمتر از ۰/۰۵ از مجموعه داده حذف شدند و تنها نوکلئوتیدهای دو آللی نگهداری شدند که در نهایت، ۳۱۰۰ SNP با کیفیت بالا برای تجزیه‌های بعدی باقی ماند.

ساخت ماتریس روابط ژنومی (GRM): ماتریس GRM با استفاده از روش VanRaden (2008) با اعمال برخی اصلاحات ساخته شد. در این روش، آلل‌ها به صورت کدهای ۰ برای آلل اصلی و ۲ برای آلل فرعی در نظر گرفته شدند. به‌منظور استانداردسازی فراوانی آللی، مقدار ثابت ۰/۵ اعمال شد که این امر منجر به ایجاد یکنواختی در سراسر مجموعه داده شد.

تحلیل تبارشناختی بر اساس مجموعه داده‌های SNP: روابط تبارشناختی بین نمونه‌ها با استفاده از بسته‌های نرم‌افزاری "ape" (Paradis & Schliep, 2019) و پکیج "ggplot2" (Wickham, 2016) در محیط R ترسیم شدند. برای ترسیم درخت تبارشناختی و نمایش گرافیکی روابط ژنتیکی میان داده‌های SNP پالایش شده از بسته نرم‌افزاری ape استفاده شد. همچنین، نقشه حرارتی (HeatMap) ماتریس GRM و نمودار سطحی نوکلئوتیدهای مشترک با استفاده از توابع بسته ggplot2 ترسیم شدند. نمودار سطحی، ابزاری گرافیکی برای نمایش میزان تشابه نوکلئوتیدها بین نمونه‌های مختلف بر اساس داده‌های SNP یا توالی کل ژنوم است و به‌صورت یک ماتریس رنگی یا طیفی ترسیم می‌شود.

نتایج

مقایسه شباهت‌ها و درخت تبارشناسی بر اساس توالی‌های کامل: در این پژوهش، بر اساس نتایج حاصل از مقایسه توالی‌های کامل ژنوم میتوکندریایی، درصد تشابه ژنتیکی بین هفت گونه اصلی و گونه‌های شتر تک کوهانه و دوکوهانه ایرانی بین ۸۲/۴ درصد تا ۱۰۰ درصد متغیر است (شکل ۱). در این شکل، اعداد بالای قطر نشان‌دهنده درصد شباهت (Percent Identity) و اعداد پایین قطر نشان دهنده میزان واگرایی (Divergence) گونه‌های مورد مطالعه است. بر اساس این نتایج می‌توان دریافت که همه گونه‌های اصلی و شترهای تک کوهانه و دوکوهانه ایرانی بیش از ۸۰ درصد به یکدیگر شباهت ژنتیکی دارند که در این بین، بیشترین شباهت ژنتیکی بین گونه‌های *Camelus bactrianus* haplotype 4 و *Camelus bactrianus* haplotype 5 و گونه‌های *Camelus dromedarius* haplotype 2 و *Camelus dromedarius* haplotype 4 به میزان ۱۰۰ درصد و کمترین تشابه ژنتیکی بین گونه‌های *Camelus bactrianus* haplotype 2 و *Lama guanicoe* به میزان ۸۲/۴ درصد است.

ترسیم درخت تبارنما برای گونه‌های مورد بررسی بر اساس توالی کامل ژنوم میتوکندریایی نیز نشان‌دهنده دو شاخه اصلی است، به شکلی که گونه‌های *Lama guanicoe*، *Vicugna pacos*، *Lama glama* و *Vicugna vicugna* یک شاخه اصلی و باقی گونه‌های تک کوهانه (*Camelus*)

جدول ۱- اسامی علمی گونه‌های مورد بررسی همراه با شماره دسترسی و طول ژنوم هر یک از آنها (بر حسب bp)

Table 1. The scientific name of the studied species, along with their accession numbers and genomes' length (bp)

Species name	Accession number	Genome length (bp)
<i>Vicugna vicugna</i>	NC_013558.1	16084
<i>Lama guanicoe</i>	NC_011822.1	16649
<i>Vicugna pacos</i>	MZ708721.1	16503
<i>Lama glama</i>	NC_012102.1	16597
<i>Camelus ferus</i>	NC_009629.2	16680
<i>Camelus dromedarius</i>	NC_009849.1	16643
<i>Camelus bactrianus</i>	NC_009628.2	16659
<i>Camelus bactrianus haplotype 1</i>	KX554925.1	16659
<i>Camelus bactrianus haplotype 2</i>	KX554926.1	16856
<i>Camelus bactrianus haplotype 3</i>	KX554927.1	16669
<i>Camelus bactrianus haplotype 4</i>	KX554928.1	16659
<i>Camelus bactrianus haplotype 5</i>	KX554929.1	16659
<i>Camelus bactrianus haplotype 6</i>	KX554930.1	16659
<i>Camelus dromedarius haplotype 1</i>	KX554931.1	16634
<i>Camelus dromedarius haplotype 2</i>	KX554932.1	16642
<i>Camelus dromedarius haplotype 3</i>	KX554933.1	16622
<i>Camelus dromedarius haplotype 4</i>	KX554934.1	16642

جدول ۲- اسامی گونه‌ها و ژن‌های مورد بررسی همراه با طول توالی نوکلئوتیدی آنها (بر حسب bp)

Table 2. The name of the studied species and genes, with their nucleotide sequence length (bp)

Genes	ATP6	ATP8	COX1	COX2	COX3	CYTB	ND1	ND2	ND3	ND4	ND5	ND6	ND4L
Species name													
<i>Vicugna vicugna</i>	681	204	1545	684	784	1140	956	1042	347	1378	1821	528	297
<i>Lama guanicoe</i>	681	204	1545	684	784	1140	956	1042	347	1378	1821	528	297
<i>Vicugna pacos</i>	681	204	1545	684	784	1140	956	1042	347	1378	1804	528	297
<i>Lama glama</i>	681	204	1545	684	784	1140	957	1044	350	1378	1821	528	297
<i>Camelus ferus</i>	681	204	1545	684	784	1140	956	1042	376	1378	1821	528	297
<i>Camelus dromedarius</i>	681	204	1545	684	784	1140	956	1042	350	1378	1818	528	297
<i>Camelus bactrianus</i>	681	204	1545	684	784	1140	956	1042	349	1378	1821	528	297
<i>Camelus bactrianus haplotype 1</i>	681	204	1545	684	784	1140	956	1042	349	1378	1821	528	297
<i>Camelus bactrianus haplotype 2</i>	681	204	1545	684	784	1140	956	1042	350	1378	1821	528	297
<i>Camelus bactrianus haplotype 3</i>	681	204	1545	684	784	1140	956	1042	350	1378	1821	528	297
<i>Camelus bactrianus haplotype 4</i>	681	204	1545	684	784	1140	956	1042	350	1378	1821	528	297
<i>Camelus bactrianus haplotype 5</i>	681	204	1545	684	784	1140	956	1042	350	1378	1821	528	297
<i>Camelus bactrianus haplotype 6</i>	681	204	1545	684	784	1140	956	1042	350	1378	1821	528	297
<i>Camelus dromedarius haplotype 1</i>	681	204	1545	684	784	1140	956	1042	350	1378	1818	528	297
<i>Camelus dromedarius haplotype 2</i>	681	204	1545	684	784	1140	956	1042	350	1378	1818	528	297
<i>Camelus dromedarius haplotype 3</i>	681	204	1545	684	784	1140	956	1042	350	1378	1818	528	297
<i>Camelus dromedarius haplotype 4</i>	681	204	1545	684	784	1140	956	1042	350	1378	1818	528	297

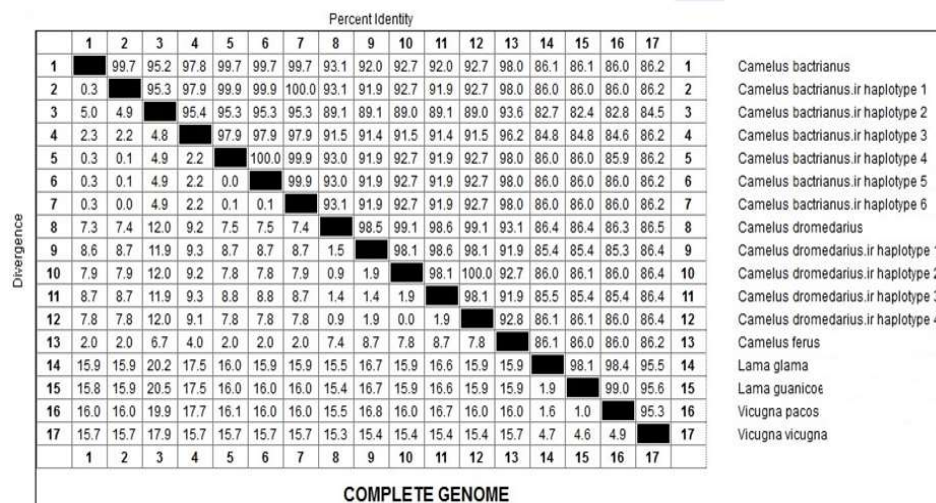


Fig. 1. Genetic similarities and divergence of the studied species based on complete mitochondrion genome

شکل ۱- شباهت‌های ژنتیکی و واگرایی گونه‌های مورد بررسی بر اساس ژنوم کامل میتوکندریایی

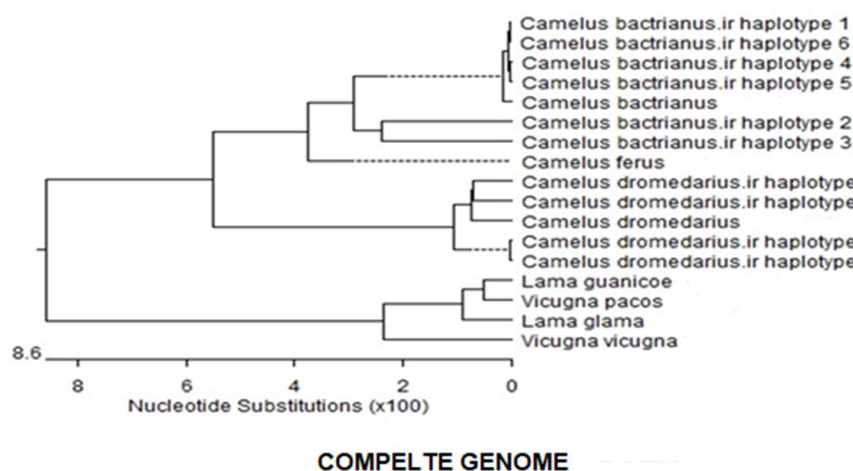


Fig. 2. Phylogenetic tree of the studied species based on complete mitochondrion genome

شکل ۲- درخت تبارشناختی گونه‌های مورد بررسی بر اساس ژنوم کامل میتوکندریایی

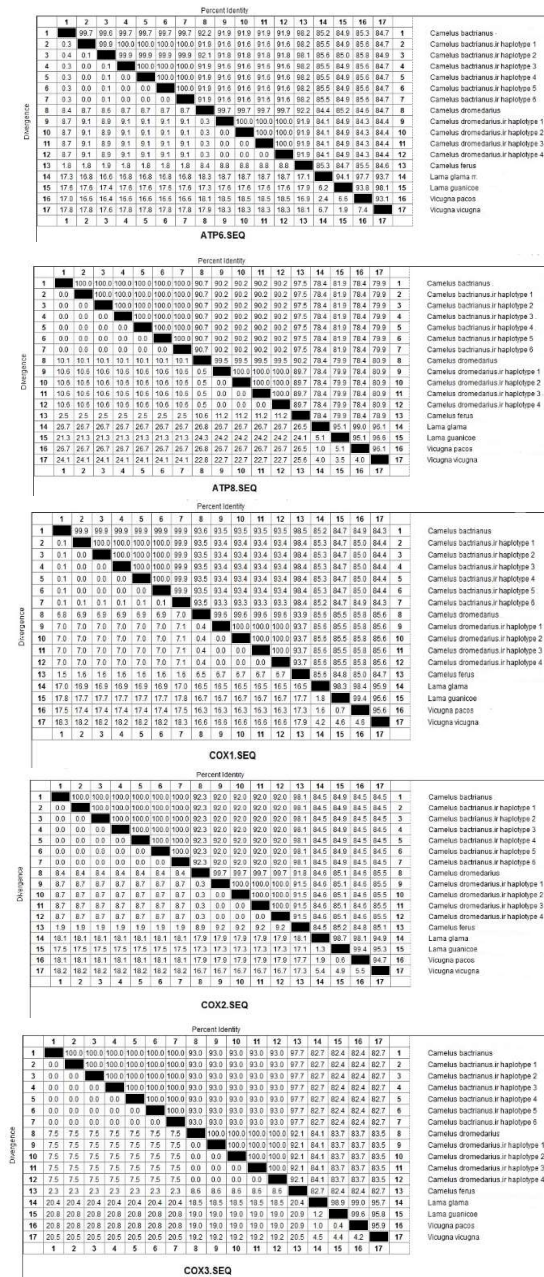
ارائه شده است. در میان این ژن‌ها، ژن *ATP8* بیشترین واگرایی توالی را در بین گونه‌های مورد بررسی نشان داد، در حالی که ژن *COXI* کمترین میزان واگرایی را داشت. با این حال، نتایج حاصل برای تمامی ژن‌های میتوکندریایی، شباهت توالی بیشتر با سطوح پایین‌تر واگرایی را نشان دادند که با الگوهای مشاهده شده در مقایسه‌های ژنوم کامل میتوکندری مطابقت داشت.

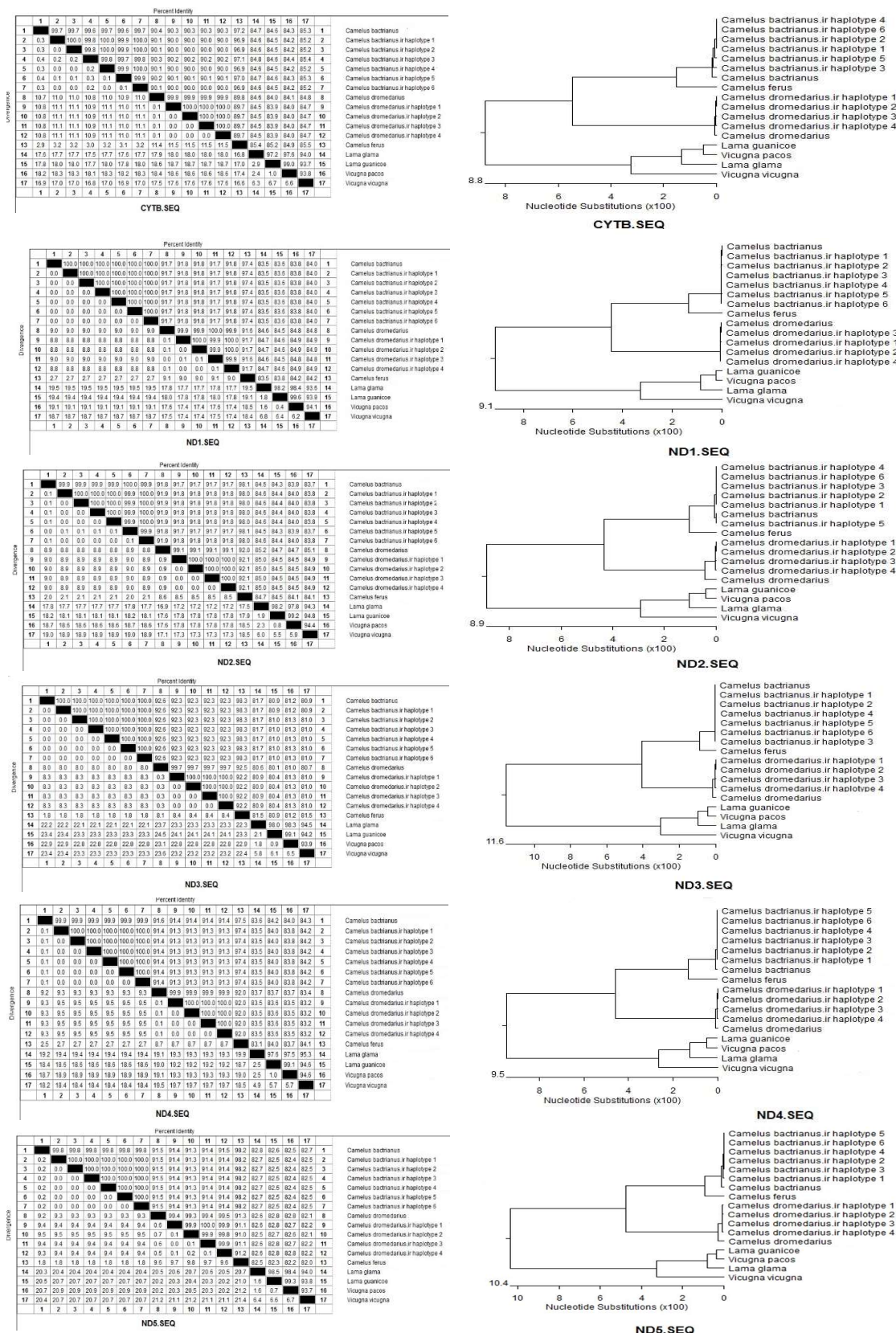
همچنین، مشابه با نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل تبارشناختی ژنوم‌های کامل میتوکندریایی در گونه‌های مورد بررسی، ترسیم درخت تبارنما بر اساس توالی‌های

مقایسه شباهت‌ها و درخت تبارنما بر اساس توالی نوکلئوتیدی ۱۳ ژن رمزگر پروتئین: تحلیل بیشتر هم‌ترازی توالی‌های نوکلئوتیدی برای ۱۳ ژن کدکننده پروتئین میتوکندریایی (PCGs) در میان هفت گونه اصلی شتر شامل *Vicugna pacos*, *Lama guanicoe*, *Vicugna vicugna*, *Camelus dromedaries*, *Camelus ferus*, *Lama glama* و *Camelus bactrianus* همراه با چهار شتر تک کوهانه ایرانی شامل *Camelus dromedarius* haplotype 1, 2, 3 and 4 و شش شتر دوکوهانه ایرانی شامل *Camelus bactrianus* haplotype 1, 2, 3, 4, 5 and 6 در شکل ۳

با گونه *Camelus ferus* که بین دو گونه تک کوهانه و دوکوهانه قرار گرفته است یک زیر شاخه اصلی دیگر با چند زیرشاخه تشکیل داده‌اند (شکل ۳).

نوکلتوتیدی ۱۳ ژن رمزگر نشان‌دهنده دو شاخه اصلی است، به‌شکلی که گونه‌های *Lama guanicoe*، *Vicugna vicugna* و *Lama glama*، *Camelus ferus* و *Camelus bactrianus* یک شاخه اصلی و باقی گونه‌های تک کوهانه (*Camelus dromedarius*) و دوکوهانه (*Camelus bactrianus*) همراه





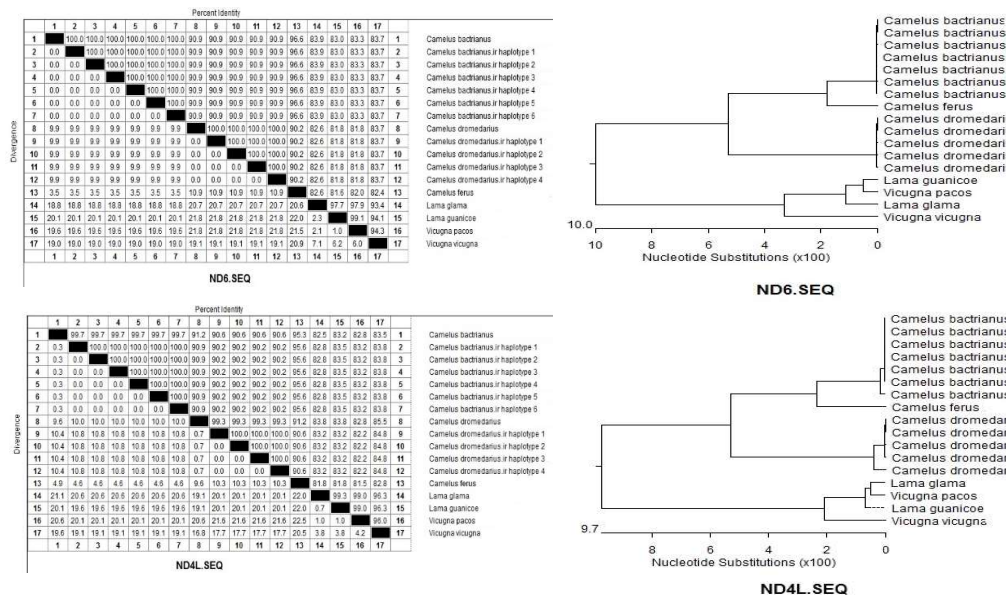


Fig. 3. Percent similarity, divergence, and phylogenetic tree of studied species based on nucleotide sequences of PCGs

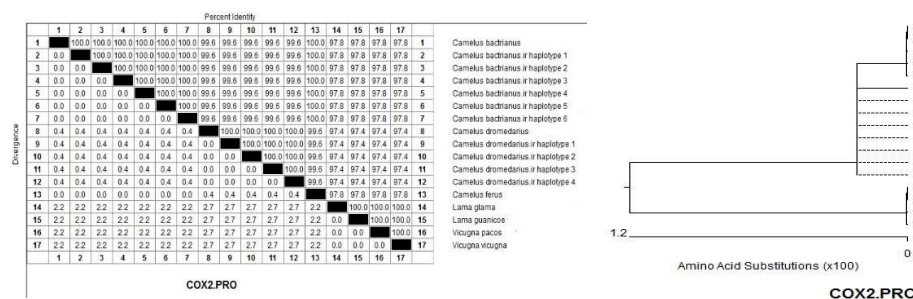
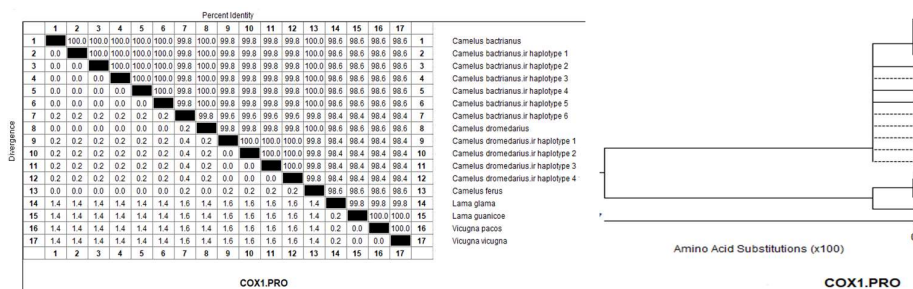
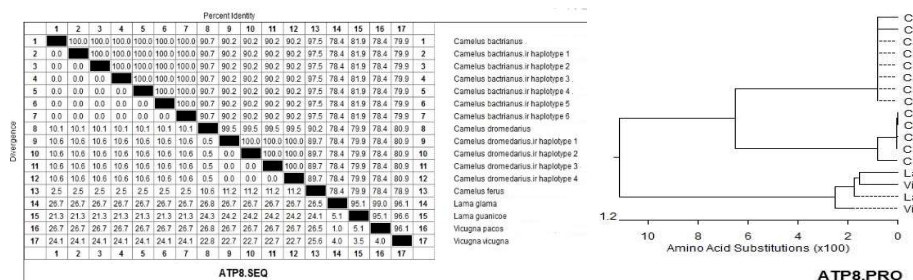
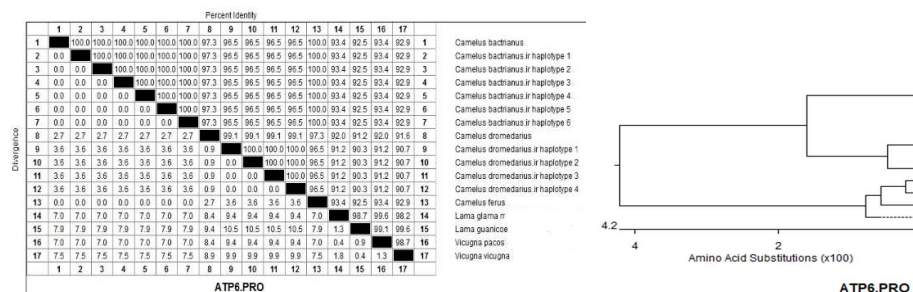
شکل ۳- درصد شباهت، واگرایی و درخت تبارنما بر مبنای توالی‌های نوکلئوتیدی ژن‌های رمزگر پروتئین (PCGs) در گونه‌های مورد بررسی

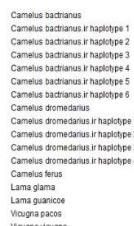
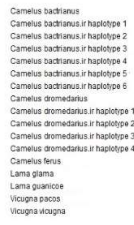
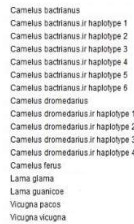
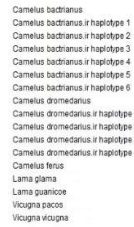
توالی‌های آمینو اسیدی نشان‌دهنده دو شاخه اصلی است، به‌شکلی که گونه‌های *Vicugna pacos*, *Lama guanicoe* و *Lama glama* و *Vicugna vicugna* یک شاخه اصلی و باقی گونه‌های تک کوهانه (*Camelus dromedarius*) و دوکوهانه (*Camelus bactrianus*) همراه با گونه *Camelus ferus* که بین دو گونه تک کوهانه و دوکوهانه قرار گرفته است در برخی از ژن‌ها (*COX1*, *COX2*, *ND4L* و *ND4*) یک زیرشاخه اصلی و در دیگر ژن‌ها (*ATP6*, *ATP8*, *COX3*, *ND1*, *ND2*, *ND3*, *ND4*, *ND5* و *ND6*) یک شاخه اصلی با چند زیرشاخه تشکیل داده‌اند (شکل ۴).

نقشه حرارتی (*HeatMap*) و تحلیل مؤلفه‌های اصلی (*PCA*) بر اساس مجموعه داده‌های *SNP*: نقشه حرارتی و نمودار دو مؤلفه اصلی اول (*PCA1* و *PCA2*) مربوط به هفت گونه اصلی شتر شامل *Lama glama*, *Vicugna pacos*, *guanicoe*, *Camelus bactrianus*, *Camelus dromedarius*, *ferus* همراه با چهار شتر تک کوهانه ایرانی شامل *Camelus dromedarius* haplotype 1, 2, 3 and 4 و شش شتر دوکوهانه ایرانی شامل *Camelus bactrianus* haplotype 1, 2, 3, 4, 5 and 6 که بر اساس مجموعه داده *SNP* ساخته شده‌اند، به‌ترتیب در شکل‌های ۵ و ۶ ارائه شده‌اند.

مقایسه شباهت‌ها و درخت تبارنما بر اساس توالی‌های آمینو اسیدی ۱۳ ژن رمزگر پروتئین: نتایج حاصل از مقایسه شباهت‌های ژنتیکی و درخت تبارنمای گونه‌های مورد بررسی بر اساس توالی‌های آمینو اسیدی ژن‌های رمزگر پروتئین بازای هر ژنوم در شکل ۴ گزارش شده‌اند. به‌دلیل ماهیت چند کدونی آمینو اسیدها، یک اسید آمینه می‌تواند به‌وسیله کدون‌های متعدد رمزگذاری شود. از این‌رو، شباهت‌های ژنتیکی مشاهده شده بین گونه‌های مورد بررسی بسیار بالا بوده و در برخی از گونه‌ها و برخی از ژن‌ها علی‌رغم تفاوت در توالی‌های نوکلئوتیدی، تغییری در اسید آمینه مربوطه ایجاد نشده یا به بیان دیگر، اسید آمینه مشابهی را کد می‌کنند. بنابراین، میزان شباهت بر اساس توالی‌های آمینو اسیدی به ۱۰۰ درصد می‌رسد.

نتایج حاصل از هم‌ترازی توالی‌های آمینو اسیدی برای ۱۳ ژن کدکننده پروتئین میتوکندریایی در گونه‌های مورد بررسی در شکل ۴ ارائه شده است. مشابه با نتایج حاصل از مقایسه توالی‌های نوکلئوتیدی، ژن *ATP8* بیشترین واگرایی توالی را در بین گونه‌های مورد بررسی نشان داد و ژن *COX1* نیز کمترین میزان واگرایی را داشت. همچنین، مشابه با نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل تبارشناختی ژنوم-های کامل میتوکندریایی و توالی‌های نوکلئوتیدی ۱۳ ژن در گونه‌های مورد بررسی، ترسیم درخت تبارنما بر اساس





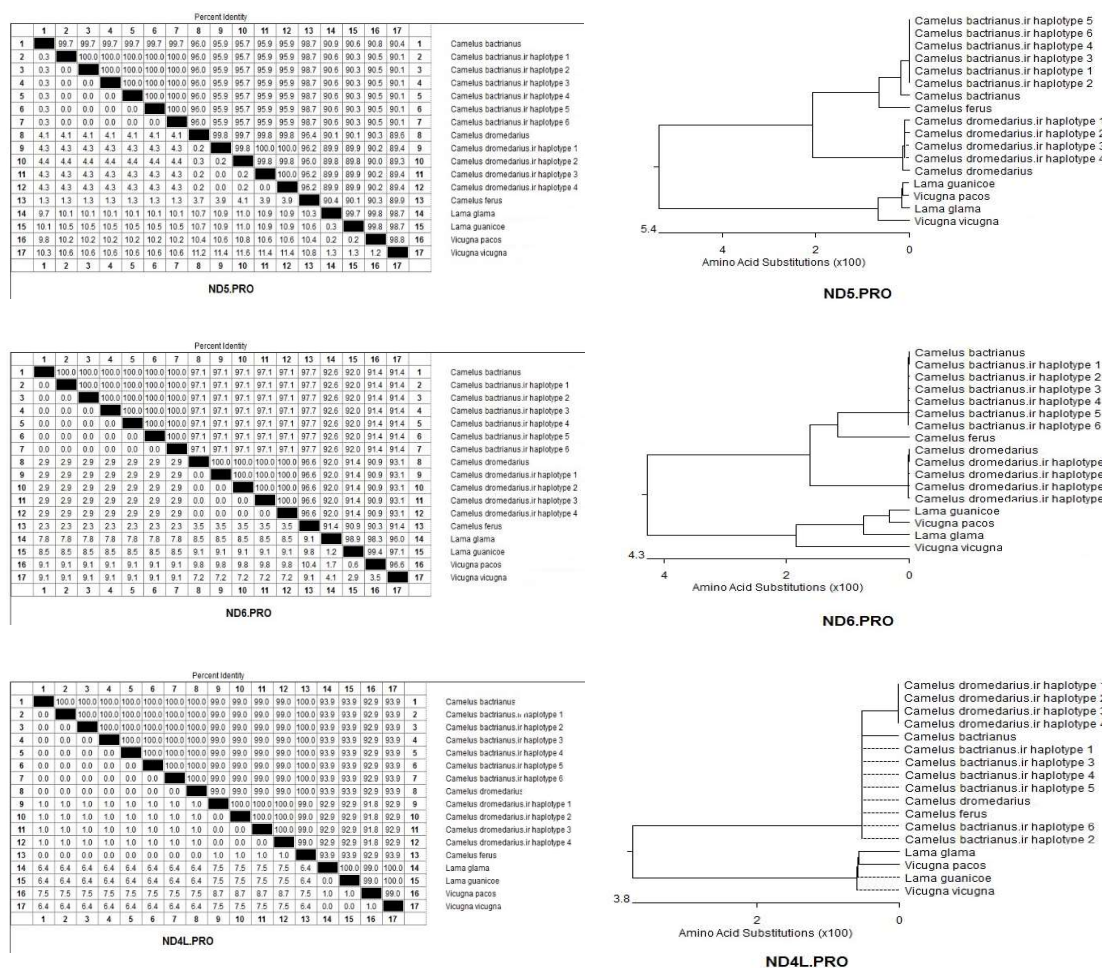


Fig. 4. Percent similarity, divergence and phylogenetic tree of studied species based on amino acid sequences of PCGs

شکل ۴- درصد شباهت، واگرایی و درخت تبارنما بر مبنای توالی‌های آمینو اسیدی ژن‌های رمزگر پروتئین (PCGs) در گونه‌های مورد بررسی

رنگ‌بندی‌های ارائه شده (شکل ۵)، گونه‌های *Vicugna* و *Lama* و *Vicugna pacos*، *Lama guanicoe*، *vicugna* رابطه نزدیک‌تری با یکدیگر نشان دادند. علاوه بر این، مجموع نمونه‌های گونه‌های *Camelus dromedarius* و *Camelus bactrianus* نیز رابطه نزدیک‌تری با یکدیگر در داخل هر گروه داشته و گونه *Camelus ferus* در بین این دو گروه قرار گرفته است. رنگ‌بندی‌های روی قطر ماتریس نشان‌دهنده ارتباط هر گونه با خود است، از این‌رو، رنگ قرمز تیره و رنگ‌های نزدیک به آن نشان‌دهنده مقادیر مشابه یا ارتباط بسیار قوی بین نمونه‌ها هستند. به‌طور کلی، نتایج حاصل از نقشه حرارتی بر اساس SNP‌ها، دسته‌بندی گونه‌های مورد بررسی را با دقت بالاتر و وضوح بیشتری ارائه داده است.

ترسیم نقشه حرارتی یا HeatMap یک روش نمایش داده بر اساس رنگ‌بندی است که به‌طور گسترده برای کشف الگوهای پنهان در داده‌های ژنومی استفاده می‌شود. در نقشه حرارتی، رنگ‌ها برای نمایش مقادیر عددی یا سطح تشابه/تفاوت بین داده‌ها استفاده می‌شوند. معمولاً از یک طیف رنگی (مانند آبی تا قرمز یا سبز تا قرمز) استفاده می‌شود که هر رنگ نشان‌دهنده یک محدوده ارزشی خاص است. همچنین، در نقشه‌های حرارتی که برای نمایش ماتریس تشابه/فاصله (مثلاً در داده‌های ژنومی مانند SNP‌ها) استفاده می‌شوند، مشابه با نتایج ارائه شده در مطالعه حاضر در شکل ۵، اعدادی که روی قطر اصلی ماتریس ظاهر می‌شوند، معمولاً نشان‌دهنده رابطه هر نمونه با خودش هستند. بر اساس نتایج حاصل از نقشه حرارتی و

۷). از این رو، در خانه‌های مربوط به گونه‌هایی که با آبی تیره و نزدیک به آن نشان داده شده‌اند، یعنی تنوع ژنتیکی اندکی بین آن‌ها وجود دارد که نشان‌دهنده اصلاح نژاد متمرکز یا جمعیت‌هایی با تاریخچه ژنتیکی مشترک است. البته طول ژنوم میتوکندریایی نیز در این مقایسه نقش دارد. به عنوان مثال، گونه *Vicugna vicugna* با کمترین طول ژنوم (۱۶۰۷۴ جفت باز)، بیشترین شباهت نوکلئوتیدی را با دیگر گونه‌ها دارا است که در شکل ۷ با طیفی از رنگ آبی نشان داده شده است. همچنین، در خانه‌هایی که با رنگ قرمز یا نارنجی نشان داده شده‌اند، یعنی شباهت‌های نوکلئوتیدی کمتری با دیگران وجود دارد که این ممکن است نشان‌دهنده تفاوت بین گونه‌ای یا انزوای ژنتیکی باشد.

نمودار سطحی نوکلئوتیدهای مشترک (*level plot of common nucleotides*): نمودار سطحی که نوکلئوتیدهای مشترک میان ۱۷ گونه مورد بررسی از خانواده شترسانان را نشان می‌دهد، در شکل ۶ ارائه شده است. بر این اساس، رنگ‌های داخل ماتریس، درصد نوکلئوتیدهای مشترک بین هر جفت نمونه را نمایش می‌دهند که رنگ‌های آبی و نزدیک به آن نشان‌دهنده تشابه ژنتیکی بالا (۹۹ تا ۱۰۰ درصد) و رنگ‌های متمایل به نارنجی و نزدیک به آن نشان‌دهنده تفاوت ژنتیکی کمتر (زیر ۷۰ درصد) است. اعداد روی قطر نیز نشان‌دهنده ارتباط هر نمونه با خودش بوده که در این شکل بر اساس طول ژنوم میتوکندریایی هر گونه ارائه شده است. در این نمودار به سادگی می‌توان تفاوت و تشابه ژنتیکی گونه‌های مورد بررسی را تشخیص داد (شکل

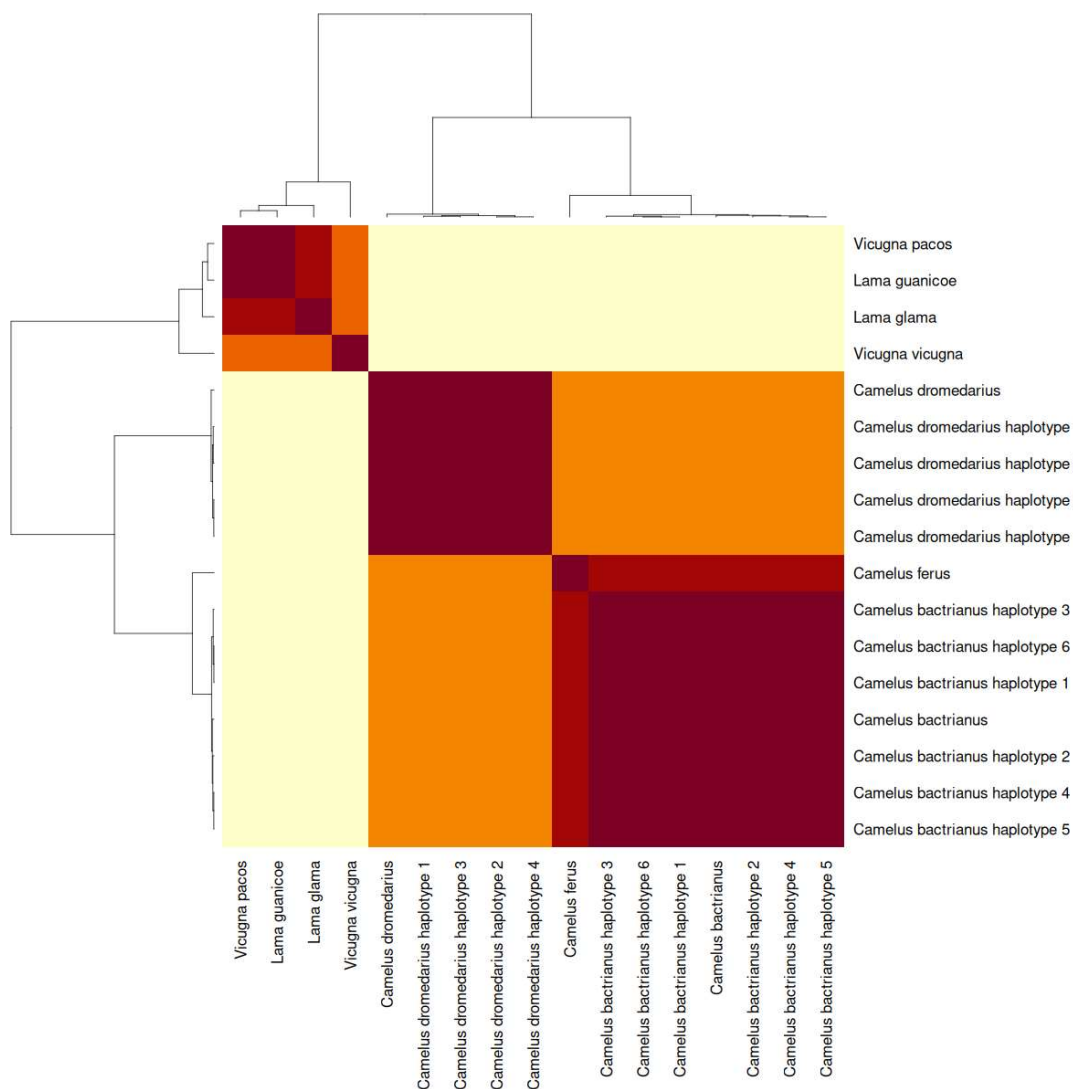


Fig. 5. Heatmap of the studied species based on SNP datasets

شکل ۵- نقشه حرارتی (HeatMap) گونه‌های مورد بررسی بر اساس مجموعه داده‌های SNP

نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل دو مؤلفه اصلی اول (PCA1) و (PCA2) در گونه‌های مورد بررسی در مطالعه حاضر بر اساس مجموعه داده‌های SNP نیز در شکل ۶ ارائه شده است. بر این اساس، مقدار واریانس توضیح داده شده بر اساس مؤلفه اول (PCA1)، معادل با ۷۹ درصد و بر اساس مؤلفه دوم (PCA2)، معادل با ۲۰ درصد است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، گونه‌های *Vicugna vicugna*، *Lama guanicoe*، *Vicugna pacos* و *Lama glama* رابطه نزدیک‌تری با یکدیگر داشته و در سمت چپ نمودار تجمع پیدا کرده‌اند. گروه دوم مجموع نمونه‌های ایرانی هاپلوتا‌پ‌های ۱، ۲، ۳ و ۴ گونه *Camelus dromedarius* همراه با خود گونه اصلی (*Camelus dromedarius*) هستند که در قسمت پایین نمودار قرار گرفته‌اند. علاوه بر این، مجموع نمونه‌های ایرانی هاپلوتا‌پ‌های ۱، ۲، ۳، ۴، ۵ و ۶ گونه *Camelus dromedarius* همراه با خود گونه اصلی (*Camelus bactrianus*) هستند که در گروه جداگانه و در قسمت بالایی نمودار تجمع پیدا کرده و گونه *Camelus ferus* نیز رابطه نزدیک‌تری با این گروه دارد.

بحث

DNA میتوکندریایی به دلیل وزن مولکولی کم، وراثت-پذیری مادری، نرخ جهش بالا و عدم نوترکیبی به‌طور گسترده به‌عنوان یک نشانگر ژنتیکی مولکولی در تجزیه و تحلیل تبارشناختی و ژنتیک جمعیت استفاده می‌شود. در بیشتر جانوران، ژنوم میتوکندریایی، یک مولکول DNA دو رشته‌ای حلقوی با اندازه تقریبی ۱۴ تا ۲۰ کیلو باز است که شامل ۱۳ ژن رمزگر پروتئین (PCGs)، ۲۲ ژن RNA ناقل (tRNAs)، ۲ ژن RNA ریبوزومی (۱۶S rRNA و ۱۲S rRNA) و یک ناحیه غنی از AT به‌نام منطقه کنترلی (CR) است (Guo et al., 2021). با توجه به توسعه سریع فناوری‌های توالی‌یابی نسل جدید، توالی کامل ژنوم میتوکندریایی برای گونه‌های مختلف شتر در دسترس است. علاوه بر این، توالی‌یابی ژنوم میتوکندریایی، ابزاری قدرتمندی برای تحلیل و بررسی نحوه تکامل و ارتباط بین گونه‌ها است.

در تحقیقی که به‌وسیله محققین (Parsa Yeganeh et al., 2020) انجام شده است، با توالی‌یابی ناحیه ۶۰۰ تا ۸۰۰ نوکلئوتیدی از ژن سیتوکروم C اکسیداز I (*COXI*) ژنوم میتوکندریایی، بارکدینگ (DNA) شتر دوکوهانه ایرانی

شناسایی و به‌همراه مشخصات کامل زیست‌گاهی و ریخت-شناسی نمونه‌ها در پایگاه داده بارکد DNA تنوع زیستی جهانی (BoldSystem) به‌نام ایران ثبت شده است. تجزیه و تحلیل بیوانفورماتیکی و تبارشناختی توالی‌های نوکلئوتیدی و آمینواسیدی ژن *COXI* در شترهای تک‌کوهانه و دوکوهانه ایرانی نیز نشان داد که این دو گونه دارای قرابت ژنتیکی نزدیکی هستند و در میان خانواده شترسانان با گونه *Lama guanaco* کمترین قرابت را دارند (Abbassi-Daloii et al., 2016). در مطالعه حاضر نیز ژن *COXI* کمترین تنوع ژنتیکی را بین گونه‌های مورد بررسی نشان داد. با توجه به اینکه ژن *COXI* دارای نرخ جهش بهینه است (بر خلاف ناحیه D-Loop)، امکان تمایز دقیق بین گونه‌ها (حتی گونه‌های نزدیک به هم) و در عین حال، تشابه درون‌گونه‌ای را فراهم می‌کند.

در پژوهشی دیگر با بررسی بیوانفورماتیکی و فیلوژنتیکی توالی نوکلئوتیدی ژن 16S rRNA میتوکندری شترهای تک کوهانه و دوکوهانه ایرانی و مقایسه هم‌ردیفی نوکلئوتیدها، رسم ماتریس فواصل ژنتیکی و رسم درخت فیلوژنتیکی هم-ردیفی کامل حاصل از تجزیه فاصله ژنتیکی نشان داد که شترهای تک کوهانه ایران، بیشترین شباهت را با شتر تک کوهانه عربی و همچنین، شترهای دوکوهانه ایران، بیشترین شباهت را با شتر دوکوهانه باختری دارند. همچنین، ترسیم درخت تبارشناختی نشان داد که جمعیت شترهای ایرانی یک گروه یکپارچه هستند (Torabi & Roudbari, 2020)، که با نتایج مطالعه حاضر و گروه‌بندی‌های شترهای تک کوهانه و دوکوهانه همخوانی دارد.

در پژوهش دیگری که با هدف بررسی ژنتیکی و تبارشناختی توالی ناحیه D-Loop در دو گونه شتر تک کوهانه و شتر دوکوهانه ایران انجام گرفت، پس از تجزیه و تحلیل نتایج به‌دست آمده، سه هاپلوتا‌پ در نژادهای تک کوهانه و شش هاپلوتا‌پ در نژادهای دوکوهانه مشاهده شد. همچنین، نتایج حاصل از ترسیم درخت تبارشناختی نیز نشان داد که گونه شتر در میانه گونه‌های دارای توالی ثبت شده در بانک ژنی، بیشترین شباهت را با توالی‌های مرجع ثبت شده که مربوط به شترهای عربی هستند دارد که شاید این امر به‌دلیل قرابت ژنتیکی بسیار نزدیک شترهای ایرانی با نژادهای عربی باشد (Azghandi & Tahmoore-Pour, 2015).

است، نشان داده شد که ساختار جغرافیایی و تفاوت‌های ژنتیکی اندکی در بین جمعیت‌های مختلف شتر باختری در مقایسه با جمعیت‌های مناطق مختلف وجود دارد (Yi et al., 2017). در مطالعه حاضر، ژن *ATP8* بیشترین تفاوت ژنتیکی را در گونه‌های مورد بررسی نشان داد. با توجه به اینکه ژن *ATP8* کوتاه‌ترین ژن کدکننده پروتئین در mtDNA (در شترسانان، ۲۰۴ جفت باز) است و توالی آمینواسیدی بسیار کوچکی را کد می‌کند، ساختار ساده و اندازه کوچک این پروتئین باعث می‌شود تغییرات نوکلئوتیدی بیشتری بدون تأثیر مخرب بر عملکرد آن رخ دهد (جهش‌های خنثی) که این امر تنوع بالاتر را در جمعیت‌ها حفظ می‌کند.

در پژوهشی دیگر در کشور عربستان که به مقایسه ژنوم میتوکندریایی گونه *C. dromedaries* با سایر گونه‌های اصلی خانواده شترسانان پرداخته است، نشان داده شد که آرایش ژن‌های میتوکندری در *C. dromedaries* مشابه سایر اعضای خانواده شترسانان بوده و هم‌ترازی چندگانه نواحی بین ژنی (intergenic regions) تا ۹۰ درصد شباهت را در بین انواع مختلف شترسانان نشان می‌دهد، و این شباهت در شترهای dromedary به ۹۹ درصد می‌رسد (Manee et al., 2019). این درصد بالای شباهت با نتایج حاصل از مطالعه حاضر که درصد تشابه ژنتیکی بین هفت گونه اصلی و گونه‌های ایرانی را بین ۸۲/۴ درصد تا ۱۰۰ درصد مشخص کرده است مطابقت دارد.

در تحقیقی که با استفاده از ژن‌های *ATP6* و *ATP8* میتوکندریایی ۱۴ جمعیت شتر باختری صورت پذیرفته

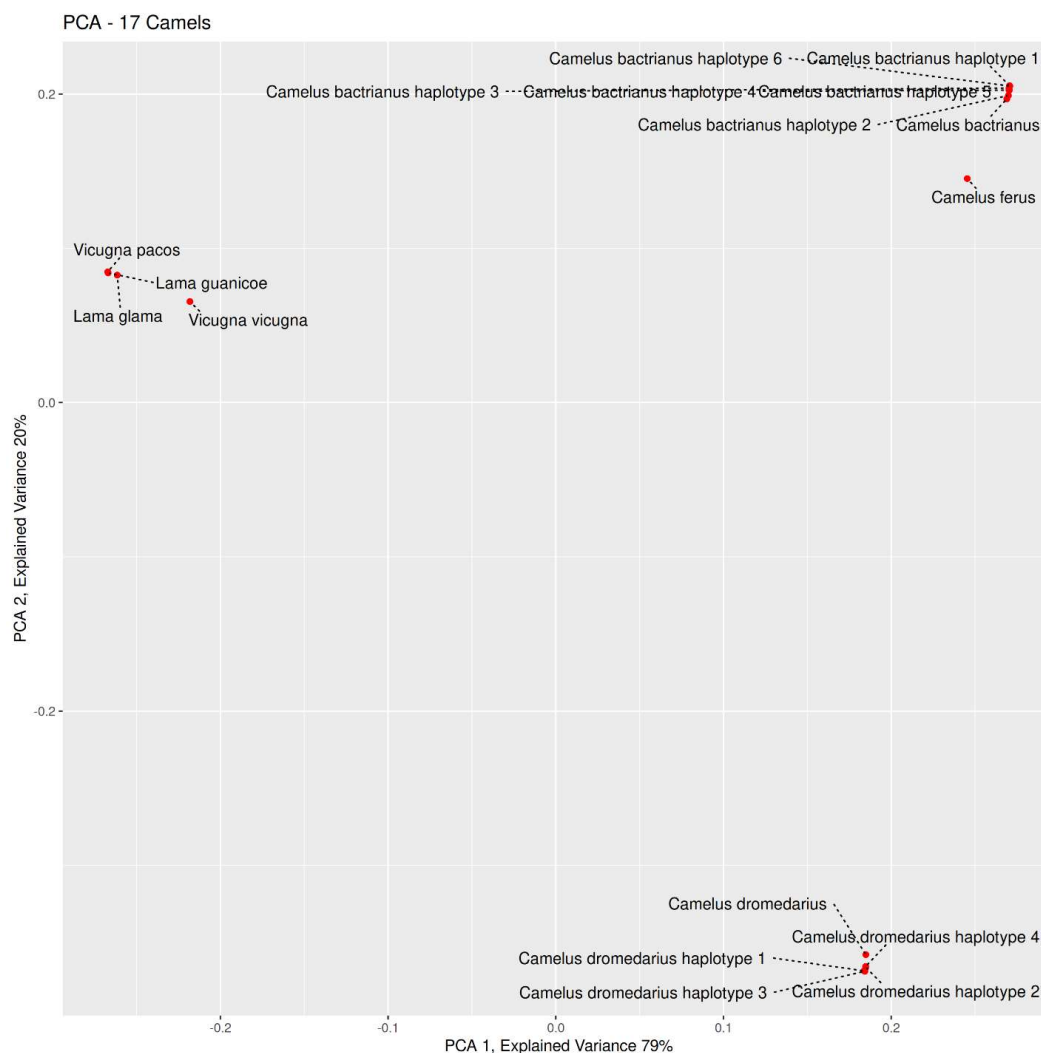


Fig. 6. Plot of the first two principal components (PC1 and PC2) for the studied species based on SNP datasets
شکل ۶- نمودار دو مؤلفه اصلی اول (PCA1 و PCA2) گونه‌های مورد بررسی بر اساس مجموعه داده‌های SNP

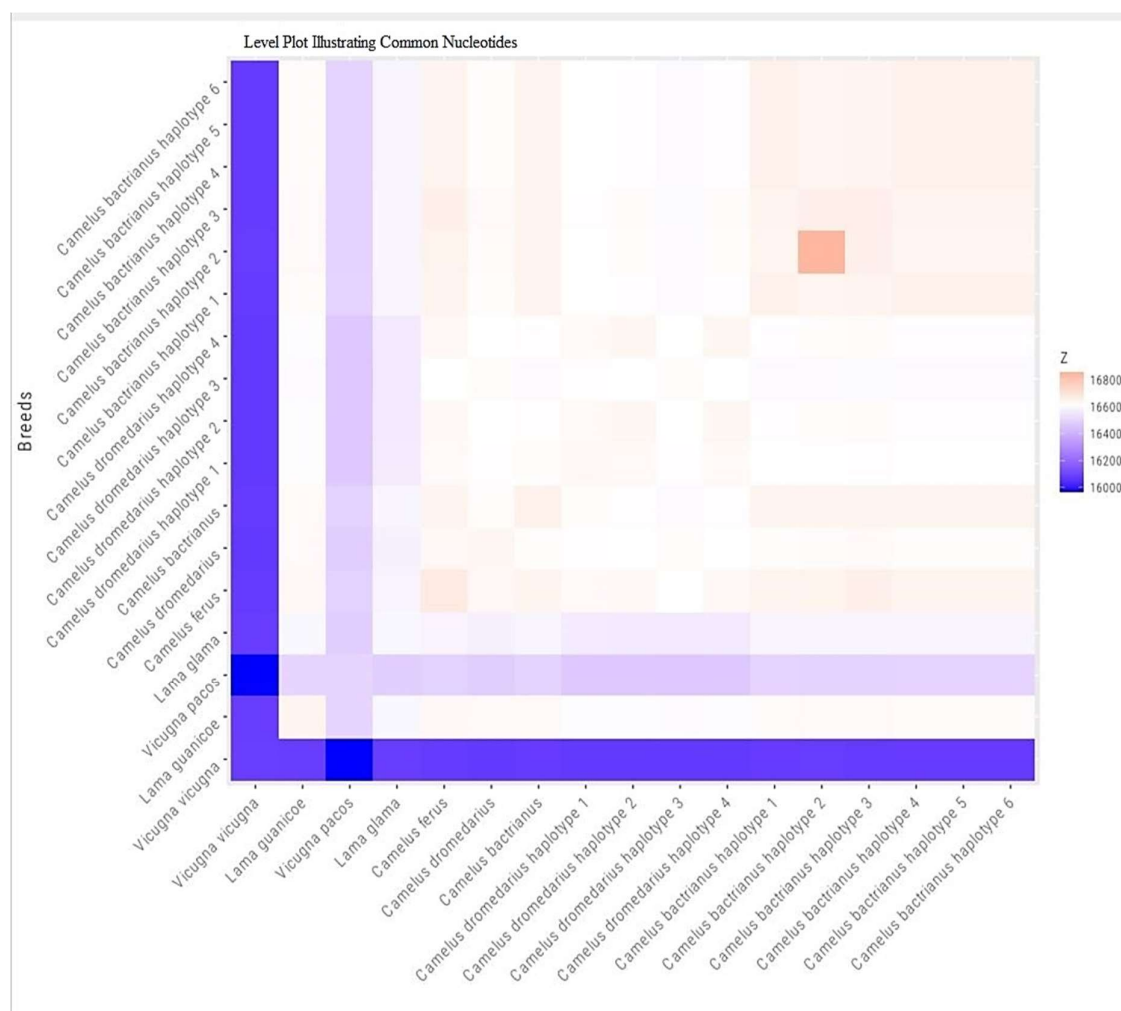


Fig. 7. Level plot of common nucleotides among the studied species

شکل ۷- نمودار سطحی نوکلئوتیدهای مشترک در گونه‌های مورد بررسی

در مطالعه‌ای دیگر که با هدف مقایسه تنوع ژنتیکی با استفاده از توالی سیتوکروم b میتوکندری (*CYTb*) شتر تک کوهانه ترکمن با شترهای تک کوهانه، دوکوهانه و گونه‌های شتر بدون کوهان انجام پذیرفته است، نشان داده شده است که بیشترین تفاوت بین شترهای دوکوهانه وحشی و آلپاکا و کمترین تفاوت نیز بین شتر عربی و ترکمن با تشابه ۱۰۰ درصد و پس از آن، لاما-گلاما و لاما-گواناکو و همچنین، بین شترهای دوکوهانه وحشی و اهلی وجود دارد. همچنین، مشخص شد که شترهای تک کوهانه ایرانی با شترهای دوکوهانه وحشی، ارتباط ژنتیکی داشته، به‌طوری که شترهای ماده دوکوهانه وحشی با شترهای نر تک کوهانه آمیزش داده شده‌اند. این‌گونه به‌نظر می‌رسد که شترهای تک کوهانه دارای مادران دوکوهانه وحشی در شجره خود، به‌طور کامل از کشور ایران هستند (Nobari et al., 2022a).

بر طبق مطالعه و بررسی بیوانفورماتیکی و تبارشناختی که بر اساس توالی نوکلئوتیدی ژن‌های *NADH3* (*ND3*) و *NADH4L* (*ND4L*) از ژنوم میتوکندری در شترهای دوکوهانه ایرانی صورت گرفته است، نتایج به‌دست آمده تعداد دو هاپلوتیپ مختلف بر اساس یک جایگاه چند شکل موجود در توالی‌ها را نشان داده‌اند. همچنین، مقایسه توالی-های نوکلئوتیدی و اسید آمینه‌ای ژن‌های *NADH3* و *NADH4L* در شتر دوکوهانه ایرانی نشان داد که این گونه با شتر دوکوهانه اهلی دارای فاصله ژنتیکی نزدیکی است. شایان ذکر است تجزیه و تحلیل تبارشناختی با استفاده از روش Neighbor-Joining نشان داد که این گونه در میان خانواده شترسانان با *Lama* دارای کمترین قرابت ژنتیکی است (Shahabi & Tahmoures-Pour, 2015) که با نتایج مطالعه حاضر تطابق کامل دارد.

از مغولستان بر اساس ژن سیتوکروم b که در آن، تمام شترهای دوکوهانه اهلی یک دودمان تک تباری را تشکیل دادند که گروه خواهری شترهای دوکوهانه وحشی است، نشان داده شد که یک رویداد اهلی‌سازی واحد و توارث مادری مستقل از زمان اهلی‌سازی رخ داده است. همچنین، هیچ ساختار جغرافیایی متمایزی بین نژادهای اهلی از این سه منطقه وجود نداشت (Alaqaely et al., 2021).

نتیجه‌گیری کلی

مطالعه حاضر، شباهت‌های ژنتیکی و روابط تبارشناختی گونه‌های شتر تک کوهانه و دوکوهانه ایرانی با هفت گونه اصلی موجود در خانواده شترسانان بر اساس سه گروه از داده‌های ژنتیکی شامل توالی‌های ژنوم کامل میتوکندریایی، توالی‌های نوکلئوتیدی و آمینواسیدی ۱۳ ژن رمزگر پروتئین میتوکندریایی و مجموعه‌ای از داده‌های SNP استخراج شده به‌ازای هر ژنوم را مورد بررسی قرار داد. یافته‌های حاصل نشان دادند که mtDNA می‌تواند گونه‌های اصلی خانواده شترسانان را به‌صورت قوی طبقه‌بندی کند و روابط تکاملی آن‌ها را روشن سازد. علاوه بر این، بینش‌های ارزشمندی برای مطالعات آینده در زمینه ژنتیک و تکامل شترسانان فراهم می‌کند.

در مطالعه مشابه دیگر که با هدف بررسی درون گونه‌ای و بین گونه‌ای توالی ژن *ATP6* در شترسانان و مقایسه آن‌ها با شتر ترکمن انجام گرفت، تنوع ژنتیکی و درخت فیلوژنتیکی درون و بین گونه‌های شترسانان ترسیم شد. نتایج بررسی درون گونه‌ای شترها، مشخص نمود که بیشترین و کمترین تنوع، به‌ترتیب مربوط به شترهای تک کوهانه و دوکوهانه وحشی بوده و همچنین، بررسی بین گونه‌ای نشان داد که برخی از شترهای تک کوهانه، قرابت نزدیکی با شترهای دوکوهانه وحشی دارند. شایان ذکر است این تحقیق مشخص نمود که تنوع ژنتیکی موجود در ژن *ATP6* در گونه شتر تک کوهانه بسیار بیشتر از سایر گونه‌ها است (Nobari et al., 2022b).

نتایج مطالعه‌ای دیگر که بر اساس توالی کامل ژنوم میتوکندریایی شتر دوکوهانه وحشی (*Camelus bactrianus ferus*) برای بررسی تاریخچه تکاملی شترسانان بر اساس توالی‌های ژن سیتوکروم b (*CYTb*) صورت پذیرفته است نشان داد که افتراق و جدایی شتر دوکوهانه و شتر تک کوهانه ممکن است در آمریکای شمالی قبل از مهاجرت قبیله Camelini از آمریکای شمالی به آسیا رخ داده باشد (Cui et al., 2007).

همچنین، در مطالعه دیگر روی ۱۱ نژاد شتر دوکوهانه اهلی از چین، مغولستان، روسیه و یک گروه شتر دوکوهانه وحشی

فهرست منابع

- Abbassi-Daloi, T., Sekhavati, M. H., & Tahmoorespur, M. (2016). Bioinformatics and phylogenetic analysis of mitochondrial COX3 gene in Iranian *Camelus dromedaries* and *Camelus bactrianus*. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 8(2), 361-369. doi: 10.22067/ijasr.v8i2.36720 [In Persian]
- Abdoli, R., Mazumder, T. H., Nematollahian, S., Sourati Zanjani, R., Abdolahi Mesbah, R., & 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. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2022.02.135
- Abdoli, R., Zamani, P., & Ghasemi, M. (2018). Genetic similarities and phylogenetic analysis of human and farm animal species based on mitogenomic nucleotide sequences. *Meta Gene*, 15, 23-26. doi: 10.1016/j.mgene.2017.10.004
- Ahmad, S., Yaqoob, M., Hashmi, N., Ahmad, S., Zaman, M. A., & Tariq, M. (2010). Economic importance of camel: Unique alternative under crisis. *Pakistan Veterinary Journal*, 30(4), 191-197.
- Alaqaely, R., Alhajeri, B. H., Almathen, F., & Alhaddad, H. (2021). Mitochondrial sequence variation, haplotype diversity, and relationships among dromedary camel-types. *Frontiers in Genetics*, 12, 723964. doi: 10.3389/fgene.2021.723964
- Arefnejad, B., Zeinalabedini, M., Talebi, R., Mardi, M., Ghaffari, M. R., Vahidi, M. F., Nekouei, M. K., Szmatoła, T., & Salekdeh, G. H. (2024). Unveiling the population genetic structure of Iranian horses breeds by whole-genome resequencing analysis. *Mammalian Genome*, 35(2), 201-227. doi: 10.1007/s00335-024-10035-6
- Azghandi, M., & Tahmoores-Pour, M. (2015). Genetic and phylogenetic analysis of D-Loop region in camelus dromedaries and camelus bactrianus of Iran. *Journal of Ruminant Research*, 3(2), 93-110. doi: 10.1007/s123454253.1394.3.2.6.3 [In Persian]
- Behura, S. K. (2015). Insect phylogenomics. *Insect Molecular Biology*, 24, 403-411. doi: 10.1111/imb.12174

- Burland, T. (1999). DNASTAR's Lasergene sequence analysis software. *Methods in Molecular Biology*, 132, 71-91. doi: 10.1385/1-59259-192-2:71
- Chial, H., & Craig, J. (2008). mtDNA and mitochondrial diseases. *Nature Education*, 1, 217.
- Cui, P., Ji, R., Ding, F., Qi, D., Gao, H., Meng, H., Yu, J., Hu, S., & Zhang, H. (2007). A complete mitochondrial genome sequence of the wild two-humped camel (*Camelus bactrianus ferus*): an evolutionary history of camelidae. *BMC genomics*, 8, 1-10. doi: 10.1186/1471-2164-8-241
- FAO. (2014). Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Rome, Italy.
- Guo, Y., Liu, H., Feng, J., Li, J., Ye, Y., Guo, B., & Qu, C. (2021). Characterization of the complete mitochondrial genomes of two species of Penaeidae (Decapoda: Dendrobranchiata) and the phylogenetic implications for Penaeoidea. *Genomics*, 113(1), 1054-1063. doi: 10.1016/j.ygeno.2020.11.001
- Jamshidi, S., & Abdoli, R. (2023). Percent identity and phylogenetic relationships of Caspian Sea sturgeon species based on mitochondrial genome sequences. *Journal of Fisheries*, 76(3), 341-355. doi: 10.22059/jfisheries.2023.358558.1384 [In Persian]
- Lenstra, J., Groeneveld, L. F., Eding, H., Kantanen, J., Williams, J., Taberlet, P., Nicolazzi, E., Sölkner, J., Simianer, H., & Ciani, E. (2012). Molecular tools and analytical approaches for the characterization of farm animal genetic diversity. *Animal Genetics*, 43, 483-502. doi: 10.1111/j.1365-2052.2011.02309.x
- Ludwig, A., Alderson, L., Fandrey, E., Lieckfeldt, D., Soederlund, T., & Froelich, K. (2013). Tracing the genetic roots of the indigenous White Park Cattle. *Animal Genetics*, 44, 383-386. doi: 10.1111/age.12026
- Manee, M. M., Alshehri, A. M., Binghadir, A. S., Aldhafer, H. S., Alswailem, M. R., Algarni, T. A., Al-Shomrani, M. B., & Al-Fageeh, B. M. (2019). Comparative analysis of camelid mitochondrial genomes. *National Library of Medicine*, 98, 1-12. doi: 10.1007/s12041-019-1134-x
- Mohamadipoor Saadatabadi, L., Mohammadabadi, M., Ghanatsaman, Z. A., Babenko, O., Stavetska, R. V., Kalashnik, O. M., Afanassenko, V., Kochuk-Yashchenko, O. A., Kucher, D. M., & Nanaei, H. A. (2023). Data of whole-genome sequencing of Karakul, Zel, and Kermani sheep breeds. *BMC Research Notes*, 16(1), 353. doi: 10.1186/s13104-023-06630-6
- Moore, W. S. (1995). Inferring phylogenies from mtDNA variation: mitochondrial-gene trees versus nuclear-gene trees. *Evolution*, 49(4), 718-726. doi: 10.1111/j.1558-5646.1995.tb02308.x
- Nobari, K., Bahari, A., & Gazanfari, S. (2022a). Molecular diversity and phylogenetic analysis of Turkmen camel and different species of camels based on *CYTb* gene sequence. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 14(3), 447-457. doi: 10.22067/ijasr.2021.69937.1017 [In Persian]
- Nobari, K., Yuosefi, K., & Kamali, R. (2022b). Comparison of *ATP6* gene sequence of Iranian Turkmen camel, one-humped and two-humped domestic and wild species. *Breeding and Improvement of Livestock*, 2(3), 31-44. doi: 10.22034/bilj.2022.337591.1017 [In Persian]
- Paradis, E., & Schliep, K. (2019). "ape 5.0: an environment for modern phylogenetics and evolutionary analyses in R." *Bioinformatics*, 35, 526-528. doi: 10.1093/bioinformatics/bty633
- Parsa Yeganeh, L., Sadeghi, M., Azarbaijani, R., Daneshvar Amoli, A., Mohamadi Moghanjoghi, S., Farzaneh, P., Shahzadeh Fazeli, S. A., & Khaleidi, H. (2020). Identification and record of DNA barcode of Iranian Bactrian camel (*Camelus bactrianus*). *Developmental Biology*, 12(3), 11-20.
- Pasandideh, R., & Abdoli, R. (2024). Study of genetic similarities and phylogenetic relationships of 10 Penaeidae shrimp species based on the sequences of the mitochondrial genome. *Aquatic Physiology and Biotechnology*, 11(4), 49-81. doi: 10.22124/japb.2023.24411.1494 [In Persian]
- Pramod, R. K., Velayutham, D., P. K., S., P. S., B., Zachariah, A., Zachariah, A., ... Thomas, G. (2018). The complete mitochondrial genome of Indian cattle (*Bos indicus*). *Mitochondrial DNA Part B*, 3(1), 207-208. doi: 10.1080/23802359.2018.1437836
- Rabiei, F., Abdoli, R., Rafeie, F., & 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 [In Persian]
- Roy, S. S., Dasgupta, R., & Bagchi, A. (2014). A review on phylogenetic analysis: a journey through modern era. *Computational Molecular Bioscience*, 4(3), 39-45. doi: 10.4236/cmb.2014.43005
- Salehi, M., & Gharahdaghi, A. A. (2013). Camel production potential and recent research in Iran. Available at: <http://agris.fao.org/agris-search>. Latest accessed at: 27 November 2025
- Shahabi, A., & Tahmoures-Pour, M. (2015). Bioinformatics and phylogenetic analysis of *NADH3* and *NADH4L* mitochondrial genes in Iranian *Camelus bactrianus*. *Agricultural Biotechnology Journal*, 7(3), 163-174. doi: 10.22103/jab.2015.1139 [In Persian]
- Talebi, R., Afraz, F. A., Mirhosseini, S. Z., Asadi, N., & Delirsefat, S. B. (2014a). Assessment and Genetic Characterization of Iranian Two-Humped Camel Using New World Camelidae Microsatellite Primers. *Agricultural Biotechnology*, 5(1), 59-65 [In Persian]
- Talebi, R., Ahmadi, A., Afraz, F., & Mirhoseini, S. Z. (2014b). In Silico analysis of cytochrome P-450 between the human and camel for resistivity to hypertension and environmental toxins. *Genetics in the Third Millennium*, 1, 3386-3399 [In Persian]

- Tamura, K., Stecher, G. & Kumar, S. (2021). MEGA11: molecular evolutionary genetics analysis version 11. *Molecular biology and evolution*, 38, 3022-3027. doi: 10.1093/molbev/msab120
- Thompson, J. D., Higgins, D. G., & Gibson, T. J. (1994). CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research*, 22, 4673-4680. doi: 10.1093/nar/22.22.4673
- Torabi, A., & Roudbari, Z. (2020). Phylogeny of Iranian Bactrian and Bactrian camels based on 16S rRNA gene sequences. *Journal of Animal Environment*, 12(4), 41-49. doi: 10.22034/AEJ.2020.122277 [In Persian]
- VanRaden, P. M. (2008). Efficient methods to compute genomic predictions. *Journal of Dairy Science*, 91, 4414-4423. doi: 10.3168/jds.2007-0980
- Wickham, H. (2016). ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis. Springer-Verlag, New York, USA.
- Yang, Z., & Rannala, B. (2012). Molecular phylogenetics: principles and practice. *Nature Reviews Genetics*, 13, 303-314. doi: 10.1038/nrg3186
- Yi, L., Ai, Y., Ming, L., Hai, L., He, J., Guo, F. C., Qiao, X. Y., & Ji, R. (2017). Molecular diversity and phylogenetic analysis of domestic and wild Bactrian camel populations based on the mitochondrial *ATP8* and *ATP6* genes. *Livestock Science*, 199, 95-100. doi: 10.1016/j.livsci.2017.03.015