



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 Hossein-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

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 openly available in the RefSeq database in NCBI database at <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/refseq>.

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:

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

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

فاطمه ربیعی^۱، رامین عبدلی^{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 ترویج 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 Asian Mouflon (*Ovis orientalis*)، Bighorn (*Ovis canadensis*)، Argali (*Ovis ammon*)، Urial (*Ovis vignei*)، Snow (*Ovis nivicola*)، Dall (*Ovis dalli*) و گونه گوسفند اهلی (*Ovis aries*) از بانک اطلاعاتی NCBI استخراج و با یکدیگر مقایسه شدند. 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 خوشه اصلی، هر کدام با زیرخوشه‌های متفاوت شناسایی شدند. گوسفند گونه اهلی (*Ovis aries*) همراه با گوسفندان وحشی *Ovis orientalis*، *Ovis vignei* و *Ovis ammon* خوشه‌های متمایزی تشکیل دادند و گوسفندان گونه وحشی *Ovis nivicola*، *Ovis dalli* و *Ovis canadensis* در یک خوشه مشابه 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 خوشه‌بندی گونه‌های متفاوت گوسفند مورد استفاده قرار گیرند.

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

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

مقدمه

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 صورت می‌گیرند (Abdoli et al., 2018). توالی‌های ژنتیکی مورد استفاده در مطالعات تبارشناختی می‌توانند شامل DNA 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 (معمولاً 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 به‌طور گسترده برای بررسی‌های تبارشناختی مرتبط با منشأ نژادی در حیوانات اهلی (Cieslak et al., 2010; Lenstra et al., 2012; Ludwig et al., 2013; Pramod et al., 2018) و مطالعه جمعیت‌ها و سیستماتیک مولکولی حشرات (Chandra et al., 2022; Abdoli et al., 2006) استفاده شده است.

Ovis یک تیره از پستانداران، بخشی از زیر خانواده Caprine 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 montanus*)، گوسفندان Snow (با نام علمی *Ovis nivicola*)، گوسفندان Urial (با نام علمی *Ovis vignei*) و نوع اهلی گوسفندان (با نام علمی *Ovis aries*) دسته‌بندی شده‌اند (Wilson and Reeder, 2005).

گوسفند Bighorn (*Ovis canadensis*)، گونه‌ای از گوسفندان بومی آمریکای شمالی است (Wilson and Reeder, 2005). واگرایی این گونه از نزدیک‌ترین جد آسیایی آن یعنی گونه Snow (*Ovis nivicola*) حدود ۶۰۰۰۰ سال پیش رخ داده است (Ramey, 1993). گوسفندان Snow، گونه‌ای از گوسفندان وحشی از مناطق کوهستانی در شمال شرقی سبیری 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 (*Ovis dalli*) که در آلاسکا و شمال غربی کانادا پراکنده هستند (Loehr et al., 2006). گونه Mouflon (*Ovis montanus*) 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 قرمز IUCN (International Union for Conservation of Nature) به عنوان گونه‌های در معرض خطر دسته‌بندی شده‌اند (Harris and Reading, 2008).

تاکنون پژوهش‌های زیادی به بررسی روابط تبارشناختی گونه‌ها و نژادهای مختلف گوسفند بر اساس توالی‌های ژنوم میتوکندریایی پرداخته‌اند، اما هیچ‌کدام 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) بوده است. همچنین در نوع گونه‌های مورد بررسی نیز تفاوت‌هایی وجود دارد (Meadows et al., 2011).

کلمه کلیدی ژنوم کامل میتوکندریایی (mitochondrion 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 به‌طور جداگانه ذخیره شدند. این توالی‌ها شامل ژن‌های *NADH* یوبیکوئینون /اکسیدوردوکتاز (*ND1*, *ND2*, *ND3*, *ND4*, *ND5* و *ND6*)، سیتوکروم *c* اکسیداز (*COX1*, *COX2* و *COX3*)، *ATP* سنتاز (*ATP6* و *ATP8*)، *NADH* دهیدروژناز ۴ *L* (*ND4L*) و سیتوکروم *b* (*CYTB*) بودند که به‌طور جداگانه با یکدیگر مقایسه شدند (جدول ۲). به‌طور کلی، ژنوم میتوکندریایی دارای ۳۷ ژن است که در این ۳۷ ژن، ۱۳ مورد برای پروتئین‌ها (پلی‌پپتیدها)، ۲۲ مورد برای tRNA ها و دو مورد برای زیربخش‌های کوچک و بزرگ rRNA ها هستند. این الگو در میان بیشتر پرسلولی‌ها مشاهده شده است (Chail and 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 Mouflon (*Ovis orientalis*)، Bighorn (*Ovis canadensis*)، Argali (*Ovis ammon*)، Urial (*Ovis vignei*)، Snow (*Ovis dalli*)، Dall (*Ovis nivicola*)، همراه با ژنوم کامل میتوکندریایی نژاد گوسفند اهلی (*Ovis aries*) از پایگاه داده‌های RefSeq در NCBI استخراج شدند (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/refseq>). شماره‌های دسترسی داده‌های مزبور 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 مزبور (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 مزبور (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

درصد) بین گونه گوسفند اهلی (*Ovis aries*) و گونه گوسفند وحشی Mouflon (با نام علمی *Ovis orientalis*) یافت شد. همچنین 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 زیرخوشه دیگر، نخست گونه گوسفند وحشی *Ovis vignei* و پس از آن، گوسفند 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 nivicola* جدا شده و سپس *Ovis dalli* و *Ovis canadensis* در یک زیرخوشه متمایز قرار گرفتند (شکل ۲). بنابراین به نظر می‌رسد که تجزیه و تحلیل تبارشناختی بر اساس ژنوم-های کامل میتوکندریایی منتج به خوشه‌بندی صحیح گونه-های گوسفند مورد مطالعه شده است.

هم‌ردیفی: هم‌ردیفی چندگانه ژنوم‌ها و توالی‌های نوکلئوتیدی ۱۳ ژن رمزگر پروتئین به ازای هر ژنوم که به‌طور 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 تبارشناسی: برای تجزیه و تحلیل تبارشناختی، ژنوم‌های کامل میتوکندریایی و توالی‌های نوکلئوتیدی رمزگر پروتئین‌ها با استفاده از نرم افزار MEGA11 (Tamura et al., 2021) هم‌ردیف شده و درخت‌های تبارشناسی با استفاده از روش حداکثر درست نمایی با درصد پشتیبانی بوت استرپ بر اساس ۱۰۰۰ تکرار ترسیم شدند.

نتایج

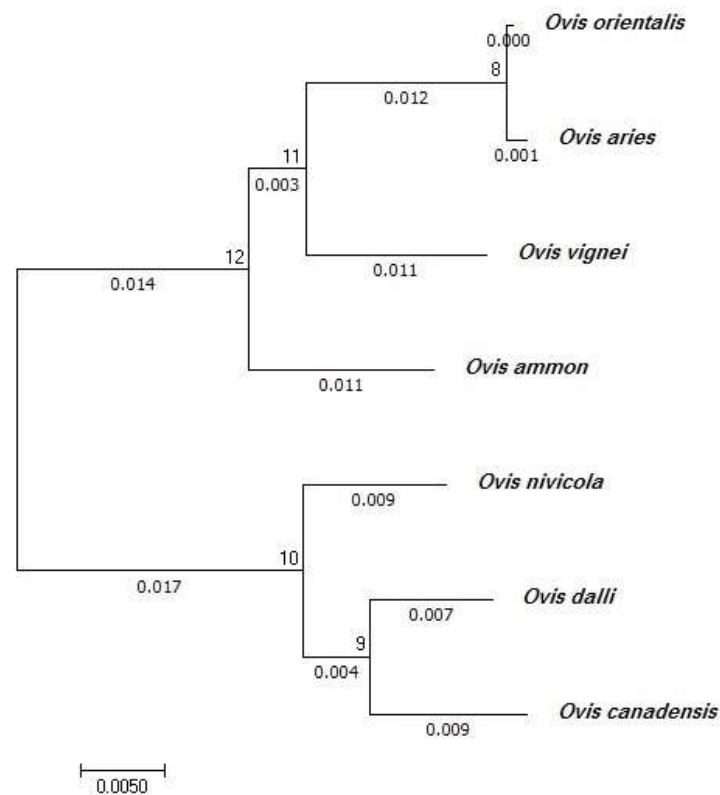
هم‌ردیفی و شباهت ژنتیکی ژنوم میتوکندریایی: نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل هم‌ردیفی نوکلئوتیدی به لحاظ شباهت توالی‌های ژنوم کامل میتوکندریایی گونه‌های گوسفندی مورد مطالعه در شکل ۱ ارائه شده است. بیشترین شباهت در توالی‌های نوکلئوتیدی ژنوم کامل میتوکندریایی (۹۹/۸)

Percent Identity								
	1	2	3	4	5	6	7	
Divergence	1	99.8	95.2	97.4	97.6	95.2	95.0	1
	2	0.2	95.2	97.4	97.7	95.2	95.1	2
	3	5.1	5.0	95.2	95.1	97.9	98.4	3
	4	2.7	2.6	5.0	97.6	95.3	95.2	4
	5	2.4	2.3	5.1	2.5	95.2	95.1	5
	6	5.1	5.1	2.2	4.9	5.1	98.1	6
	7	5.2	5.1	1.7	5.0	5.2	1.9	7
	1	2	3	4	5	6	7	
Complete mitochondrial genome								

NC_001941.1 *Ovis aries*
 NC_026063.1 *Ovis orientalis*
 NC_015889.1 *Ovis canadensis*
 NC_020656.1 *Ovis ammon*
 NC_026064.1 *Ovis vignei*
 NC_039431.1 *Ovis nivicola*
 NC_039432.1 *Ovis dalli*

Fig. 1. Similarity and divergence percentage of the complete mitochondrial genome of the studied species of sheep

شکل 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

شکل ۲- درخت تبارنمای 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 درصد‌های 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 *ND3*، *ND4*، *ND4L*، *ATP8* و *CYTB* 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 وحشی Dall (*Ovis dalli*) و Bighorn (*Ovis canadensis*) 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 ژنوم-های کامل میتوکندریایی بود (شکل ۳). شباهت ژنتیکی بیش از ۹۹ درصد برای ژن‌های *ND1*، *ND2*، *ND5*، *ND6*، *COX1*، *COX2* و *ATP6* و شباهت ژنتیکی ۱۰۰ درصدی

		Percent Identity								
Divergence		1	2	3	4	5	6	7		
	1		99.8	97.7	95.5	95.4	95.5	97.5	1	ND1 Ovis aries.seq
	2	0.2		97.7	95.5	95.6	95.5	97.5	2	ND1 Ovis orientalis.seq
	3	2.4	2.4		95.5	95.8	95.9	97.4	3	ND1 Ovis ammon.seq
	4	4.7	4.7	4.7		98.8	98.3	95.5	4	ND1 Ovis canadensis.seq
	5	4.8	4.6	4.4	1.2		98.4	95.2	5	ND1 Ovis dalli.seq
	6	4.7	4.7	4.3	1.7	1.6		95.3	6	ND1 Ovis nivcola.seq
	7	2.5	2.5	2.6	4.6	4.9	4.8		7	ND1 Ovis vignei.seq
		1	2	3	4	5	6	7		

ND1 gene

		Percent Identity								
Divergence		1	2	3	4	5	6	7		
	1		99.9	97.3	94.6	94.2	94.7	97.5	1	ND2 Ovis aries.seq
	2	0.1		97.2	94.5	94.1	94.6	97.4	2	ND2 Ovis orientalis.seq
	3	2.8	2.9		94.5	94.5	95.0	97.1	3	ND2 Ovis ammon.seq
	4	5.7	5.8	5.8		98.3	97.5	94.8	4	ND2 Ovis canadensis.seq
	5	6.1	6.2	5.8	1.8		97.1	94.6	5	ND2 Ovis dalli.seq
	6	5.6	5.7	5.2	2.6	3.0		94.9	6	ND2 Ovis nivcola.seq
	7	2.6	2.7	3.0	5.5	5.7	5.4		7	ND2 Ovis vignei.seq
		1	2	3	4	5	6	7		

ND2 gene

		Percent Identity								
Divergence		1	2	3	4	5	6	7		
	1		100.0	96.8	93.9	94.5	95.4	97.4	1	ND3 Ovis aries.seq
	2	0.0		96.8	93.9	94.5	95.4	97.4	2	ND3 Ovis orientalis.seq
	3	3.3	3.3		93.6	93.1	95.1	97.7	3	ND3 Ovis ammon.seq
	4	6.5	6.5	6.8		98.3	98.6	94.2	4	ND3 Ovis canadensis.seq
	5	5.8	5.8	7.5	1.8		98.0	94.2	5	ND3 Ovis dalli.seq
	6	4.9	4.9	5.2	1.5	2.1		95.7	6	ND3 Ovis nivcola.seq
	7	2.7	2.7	2.4	6.1	6.1	4.5		7	ND3 Ovis vignei.seq
		1	2	3	4	5	6	7		

ND3 gene

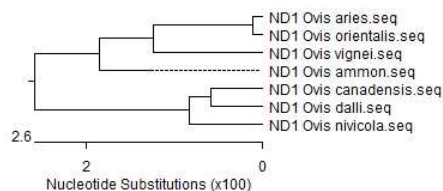
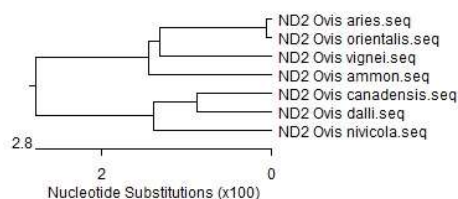
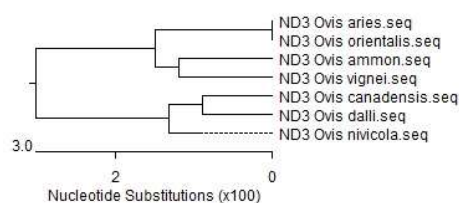
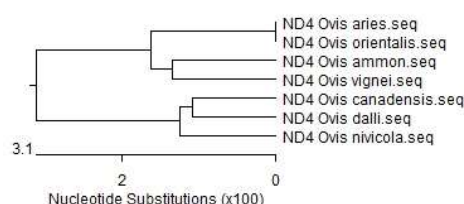
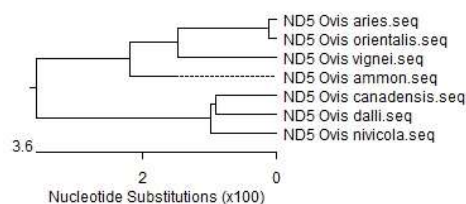
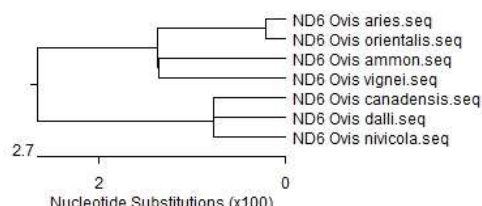
		Percent Identity								
Divergence		1	2	3	4	5	6	7		
	1		100.0	96.8	94.0	94.2	94.3	97.0	1	ND4 Ovis aries.seq
	2	0.0		96.8	94.0	94.2	94.3	97.0	2	ND4 Ovis orientalis.seq
	3	3.3	3.3		94.2	94.2	94.3	97.4	3	ND4 Ovis ammon.seq
	4	6.4	6.4	6.2		97.9	97.2	94.0	4	ND4 Ovis canadensis.seq
	5	6.2	6.2	6.2	2.2		97.9	93.8	5	ND4 Ovis dalli.seq
	6	6.0	6.0	6.0	2.8	2.2		93.8	6	ND4 Ovis nivcola.seq
	7	3.1	3.1	2.7	6.4	6.7	6.7		7	ND4 Ovis vignei.seq
		1	2	3	4	5	6	7		

ND4 gene

		Percent Identity								
Divergence		1	2	3	4	5	6	7		
	1		99.8	97.0	93.6	93.7	93.7	97.1	1	ND5 Ovis aries.seq
	2	0.2		97.0	93.8	93.9	93.7	97.2	2	ND5 Ovis orientalis.seq
	3	3.1	3.1		93.5	94.3	94.2	97.4	3	ND5 Ovis ammon.seq
	4	6.9	6.6	6.9		98.2	97.6	93.4	4	ND5 Ovis canadensis.seq
	5	6.7	6.5	6.1	1.8		98.5	93.8	5	ND5 Ovis dalli.seq
	6	6.7	6.7	6.1	2.4	1.5		94.0	6	ND5 Ovis nivcola.seq
	7	3.0	2.9	2.7	7.1	6.6	6.4		7	ND5 Ovis vignei.seq
		1	2	3	4	5	6	7		

ND5 gene

		Percent Identity								
Divergence		1	2	3	4	5	6	7		
	1		99.6	97.2	95.1	95.1	95.1	97.2	1	ND6 Ovis aries.seq
	2	0.4		97.5	95.5	95.5	95.5	97.5	2	ND6 Ovis orientalis.seq
	3	2.9	2.5		94.1	94.5	94.9	97.3	3	ND6 Ovis ammon.seq
	4	5.2	4.8	6.2		98.5	98.1	94.1	4	ND6 Ovis canadensis.seq
	5	5.2	4.8	5.8	1.5		98.9	94.5	5	ND6 Ovis dalli.seq
	6	5.2	4.8	5.4	1.9	1.1		94.9	6	ND6 Ovis nivcola.seq
	7	2.9	2.5	2.7	6.2	5.8	5.4		7	ND6 Ovis vignei.seq
		1	2	3	4	5	6	7		

ND6 gene**ND1 gene****ND2 gene****ND3 gene****ND4 gene****ND5 gene****ND6 gene**

		Percent Identity								
		1	2	3	4	5	6	7		
Divergence	1	■	99.9	97.2	94.9	94.7	95.0	97.8	1	COX1 Ovis aries.seq
	2	0.1	■	97.2	95.0	94.8	95.0	97.9	2	COX1 Ovis orientalis.seq
	3	2.9	2.9	■	95.2	95.0	95.1	98.1	3	COX1 Ovis ammon.seq
	4	5.4	5.3	5.0	■	98.8	98.6	95.1	4	COX1 Ovis canadensis.seq
	5	5.6	5.5	5.2	1.2	■	98.7	95.1	5	COX1 Ovis dalli.seq
	6	5.3	5.2	5.1	1.4	1.3	■	95.3	6	COX1 Ovis nivcola.seq
	7	2.2	2.2	2.0	5.2	5.1	5.0	■	7	COX1 Ovis vignei.seq
		1	2	3	4	5	6	7		

COX1 gene

		Percent Identity								
		1	2	3	4	5	6	7		
Divergence	1	■	99.9	97.1	95.3	95.5	95.3	97.8	1	COX2 Ovis aries.seq
	2	0.1	■	97.2	95.5	95.6	95.5	98.0	2	COX2 Ovis orientalis.seq
	3	3.0	2.8	■	95.2	94.9	94.6	97.5	3	COX2 Ovis ammon.seq
	4	4.9	4.7	5.0	■	98.7	98.5	95.3	4	COX2 Ovis canadensis.seq
	5	4.7	4.6	5.4	1.3	■	98.1	94.9	5	COX2 Ovis dalli.seq
	6	4.9	4.7	5.7	1.5	1.9	■	95.5	6	COX2 Ovis nivcola.seq
	7	2.2	2.1	2.5	4.9	5.4	4.7	■	7	COX2 Ovis vignei.seq
		1	2	3	4	5	6	7		

COX2 gene

		Percent Identity								
		1	2	3	4	5	6	7		
Divergence	1	■	99.7	97.7	95.7	94.6	94.6	98.1	1	COX3 Ovis aries.seq
	2	0.3	■	97.7	95.7	94.6	94.6	98.1	2	COX3 Ovis orientalis.seq
	3	2.4	2.4	■	95.4	94.6	94.9	97.8	3	COX3 Ovis ammon.seq
	4	4.5	4.5	4.8	■	98.5	98.0	95.8	4	COX3 Ovis canadensis.seq
	5	5.7	5.7	5.7	1.6	■	99.0	95.3	5	COX3 Ovis dalli.seq
	6	5.7	5.7	5.4	2.1	1.0	■	95.3	6	COX3 Ovis nivcola.seq
	7	2.0	2.0	2.2	4.4	5.0	5.0	■	7	COX3 Ovis vignei.seq
		1	2	3	4	5	6	7		

COX3 gene

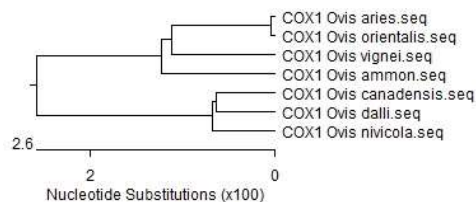
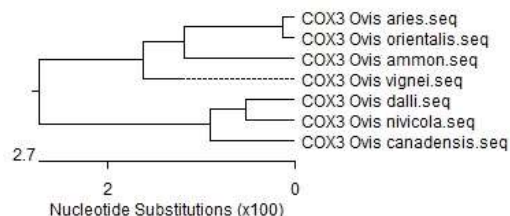
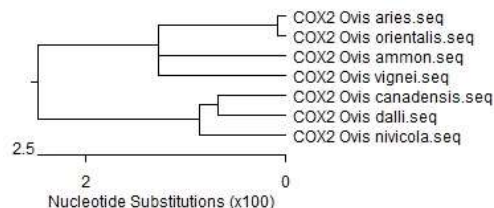
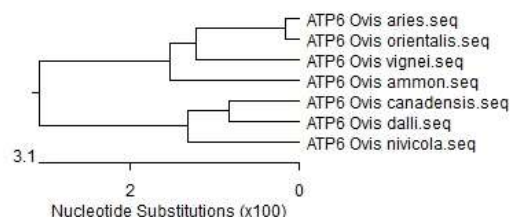
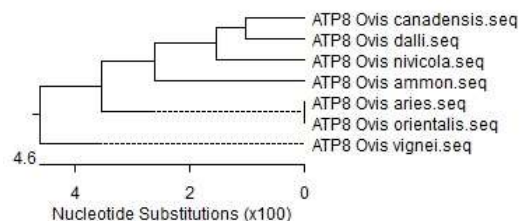
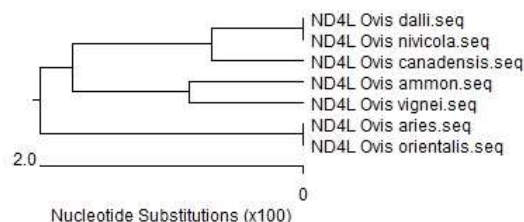
		Percent Identity								
		1	2	3	4	5	6	7		
Divergence	1	■	99.7	97.1	93.8	94.3	93.7	97.5	1	ATP6 Ovis aries.seq
	2	0.3	■	97.3	93.8	94.3	93.7	97.8	2	ATP6 Ovis orientalis.seq
	3	3.0	2.7	■	94.7	94.8	94.3	96.9	3	ATP6 Ovis ammon.seq
	4	6.6	6.6	5.6	■	98.4	97.2	94.0	4	ATP6 Ovis canadensis.seq
	5	6.1	6.1	5.4	1.6	■	97.7	94.4	5	ATP6 Ovis dalli.seq
	6	6.7	6.7	6.1	2.9	2.4	■	93.5	6	ATP6 Ovis nivcola.seq
	7	2.6	2.3	3.2	6.4	5.9	6.9	■	7	ATP6 Ovis vignei.seq
		1	2	3	4	5	6	7		

ATP6 gene

		Percent Identity								
		1	2	3	4	5	6	7		
Divergence	1	■	100.0	96.0	95.5	95.0	96.5	1	ATP8 Ovis aries.seq	
	2	0.0	■	96.0	95.5	95.5	95.0	96.5	2	ATP8 Ovis orientalis.seq
	3	4.1	4.1	■	94.5	95.5	95.0	95.5	3	ATP8 Ovis ammon.seq
	4	4.6	4.6	5.7	■	98.0	96.5	94.0	4	ATP8 Ovis canadensis.seq
	5	4.7	4.7	4.7	2.0	■	97.5	95.0	5	ATP8 Ovis dalli.seq
	6	5.2	5.2	5.2	3.6	2.5	■	94.5	6	ATP8 Ovis nivcola.seq
	7	3.6	3.6	4.7	6.3	5.2	5.7	■	7	ATP8 Ovis vignei.seq
		1	2	3	4	5	6	7		

ATP8 gene

		Percent Identity								
		1	2	3	4	5	6	7		
Divergence	1	■	100.0	96.6	95.3	96.0	96.0	97.0	1	ND4L Ovis aries.seq
	2	0.0	■	96.6	95.3	96.0	96.0	97.0	2	ND4L Ovis orientalis.seq
	3	3.5	3.5	■	96.0	97.3	97.3	98.3	3	ND4L Ovis ammon.seq
	4	5.0	5.0	4.2	■	98.7	98.7	96.3	4	ND4L Ovis canadensis.seq
	5	4.2	4.2	2.8	1.4	■	100.0	97.0	5	ND4L Ovis dalli.seq
	6	4.2	4.2	2.8	1.4	0.0	■	97.0	6	ND4L Ovis nivcola.seq
	7	3.1	3.1	1.7	3.8	3.1	3.1	■	7	ND4L Ovis vignei.seq
		1	2	3	4	5	6	7		

ND4L gene**COX1 gene****COX3 gene****ATP6 gene****ATP8 gene****ND4L gene**

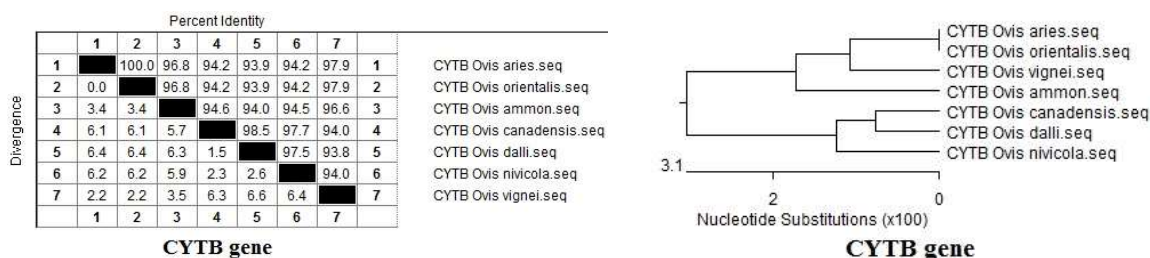


Fig. 3. Identity percentage, divergence and phylogenetic tree based on *ND1*, *ND2*, *ND3*, *ND4*, *ND5*, *ND6*, *COX1*, *COX2*, *COX3*, *ATP6*, *ATP8*, *ND4L* and *CYTB* genes

شکل ۳- درصد شباهت، واگرایی و درخت تبارنمایی بر مبنای ژن‌های *ND1*, *ND2*, *ND3*, *ND4*, *ND5*, *ND6*, *COX1*, *COX2*, *COX3*, *ATP6*, *ATP8*, *ND4L* و *CYTB*

است که معمولاً بین ۱۵ تا ۲۰ کیلو باز طول داشته و شامل ۳۷ زیرواحد عملکردی است که ۱۳ واحد از آنها، ژن رمزگر پروتئین‌ها (PCGs) بوده و ۲۲ واحد آن، RNA ناقل (tRNA) و RNA ریبوزومی (rRNA 12S و rRNA 16S) هستند (da Silva *et al.*, 2020). با در نظر گرفتن مواردی نظیر عدم وجود فرآیندهای نوترکیبی و سرعت بالاتر تکامل و تجمع جهش‌های مربوط به ژنوم هسته‌ای، میتوژنوم 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). بر همین اساس، 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 توالی‌یابی کامل ژنوم میتوکندریایی در نژادهای مختلف گوسفند نظیر گوسفندان بومی چین (Fan *et al.*, 2016)، گوسفند نژاد Texel (Hu and Gao, 2016)، گوسفندان نژاد Alpine Merino (Qiao *et al.*, 2020) و گوسفند نژاد آواسی اردن (Brake *et al.*, 2021) انجام شده است.

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 متفاوت 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). با این وجود، تجزیه و تحلیل بر

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 وحشی *Ovis canadensis*، *Ovis dalli*، *Ovis nivicola* و *Ovis* خوشه اصلی دیگری واقع شدند و در خوشه مزبور نیز *Ovis dalli* و *Ovis canadensis* در یک زیر خوشه مشابه و *Ovis nivicola* 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 بیوانفورماتیکی 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 توالی‌یابی با توان بالا، تجزیه و تحلیل تبارشناختی را در قالبی جدید با عنوان فیلوژنومیک مطرح کرده است. فیلوژنومیک، از ادغام تبارشناسی 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 آنها به گوسفندان مرینو اسپانیایی بوده است (Lancioni *et 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 بلوچی و زندی انجام شده است که نتایج حاصل نشان‌دهنده وجود فاصله ژنتیکی متفاوت با سایر نژادهای ایرانی بوده است (Pirkhezranian *et al.*, 2017; Bahri, 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 *Ovis orientalis*، *Ovis vignei* و *Ovis ammon* در یک خوشه و گونه‌های گوسفندان وحشی *Ovis dalli nivicola* و *Ovis canadensis* در خوشه جداگانه دیگر قرار گرفتند. با توجه به نتایج حاصل از پژوهش حاضر، توالی‌های ژنوم میتوکندریایی می‌توانند برای بررسی تبارشناختی دقیق و خوشه‌بندی گونه‌های متفاوت گوسفند مورد استفاده قرار گیرند.

اساس محدوده‌های کوتاه از ژنوم میتوکندریایی ممکن است درختان تبارشناسی تولید کند که فاقد 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 واگرایی 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 شمالی (گوسفندان Dall و Bighorn)، *Argaliforms* آسیای مرکزی (گوسفند Argali) و *Moufloniforms* ناحیه اوراسیا (گوسفندان Urial، *Mouflon* و گونه اهلی یا domestic) هستند (Wu and Wang, 2005). این تقسیم‌بندی با نتایج حاصل از مطالعه حاضر بر اساس ژنوم کامل میتوکندریایی (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 تبارشناسی و مطالعه روی تنوع تعداد رونوشت در پنج ژن رمزگر میتوکندریایی (*COX1*، *COX2*، *ATP8*، *ATP8* و *COX3*) 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., Abdolahi 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., Flicek 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., Sadler 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. Haplogroup 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.