مقایسه توالی ژن ATP6 در شتر ترکمن و سایر شترهای تک‌کوهانه، دوکوهانه اهلی و وحشی

شماره صفحات
۳۱-۴۴

کریم نوبری*[۱]، کاظم یوسفی کلاریکلائی[۲] و رضا کمالی[۳]

۱، ۲ و ۳) استادیار بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی گلستان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، گرگان، ایران.

*نویسنده مسئول: **k.nobari@areeo.ac.ir**

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۳/۱۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۶/۲۸

چکیده

شترهای کوهان‌دار از زمان اهلی شدن آنها در ۳۰۰۰ تا ۶۰۰۰ سال قبل به عنوان منبع تامین گوشت، شیر و پشم بوده و همچنین به عنوان وسیلهٔ حمل و نقل در مناطق بیابانی گرمسیری و سردسیری استفاده شداند. ژنوم حلقوی میتوکندری با DNA دو رشته‌ای از مادر به فرزندان منتقل شده و دارای نوترکیبی پایین و نرخ تکامل بالایی می‌باشد که بررسی توالی آن معمولا برای درک نرخ تنوع ژنتیک و تاریخچه تکامل استفاده می‌شود. ژن ATP6 بر روی سنتز ATP و متابولیسم انرژی موثر بوده و می‌تواند برروی صفات اقتصادی تاثیر گذار باشد. بنابراین، این مطالعه با هدف بررسی درون گونه‌ای و بین گونه‌ای توالی ژن ATP6 در شترسانان و مقایسه آنها با شتر ترکمن انجام گرفت. برای این منظور توالی ۶۸۱ نوکلئوتیدی ژن ATP6 به ترتیب برای ۱۲۳، ۲۶ و ۳۲ نفر شتر دوکوهانه اهلی، تک کوهانه و دوکوهانه وحشی تهیه گردید. هم‌ترازی درون و بین گونه‌های توالی‌های ژن و ترجمهٔ پروتئینی آنها با استفاده از نرم‌افزار مربوطه انجام شد. سپس، تنوع ژنتیکی و درخت فیلوژنتیکی درون و بین گونه های شترسانان ترسیم شد. نتایج بررسی درون گونه‌ای شترها، نشان داد که بیشترین و کمترین تنوع، به ترتیب مربوط به شترهای تک‌کوهانه و دوکوهانه وحشی است، همچنین، بررسی بین‌گونه‌ای نشان داد که برخی از شترهای تک‌کوهانه قرابت نزدیکی با شترهای دوکوهانه وحشی دارند. این تحقیق نشان داد که تنوع ژنتیکی موجود در ژن ATP6 در گونه شتر تک‌کوهانه بسیار بیشتر از سایر گونه‌ها است.

واژه‌های کلیدی: شتر ترکمن، ژن ATP6، تنوع ژنتیکی و درخت فیلوژنتیکی.

مقدمه

منشاء خانواده شترسانان (*Camelidae*)، *Protylopus* می‌باشند، *Protylopus*ها در دورهٔ ائوسن (*Eocene*) در آمریکای شمالی (ساوانا) زندگی می‌کردند و اندازهٔ آنها کوچکتر از بز بودند. شتر امروزی از راسته *Artiodactyla* ، زیرراسته *Tylopoda* ، خانواده شترسانان است. دو زیر تیره این خانواده شامل *Camelini* (شتر کوهان‌دار) و *Lamini* (شتر بدون‌کوهان) حدود ۱۶/۳ میلیون سال قبل از همدیگر جدا شدند. شتر کوهان‌دار (شتر دنیای قدیم) حدود ۷ میلیون سال قبل از تنگه برینگ به آسیا مهاجرت کرده و در سراسر قاره آسیا و آفریقا پراکنده شده‌اند (Burger *et al*., 2019). این گونه جانوری به واسطه تحمل بالا، احتیاجات اندک و پتانسیل زیاد مشهور می باشد(Abarghany *et al*., 2002). شترهای تک‌کوهانه و دوکوهانه در مناطق بیابانی گرمسیر و سردسیر برای حمل و نقل، تامین گوشت، شیر، پشم (Groeneveld *et al*., 2010)، تفریح و مسابقات دارای اهمیت اقتصادی می‌باشند. شتر تک‌کوهانه ساکن شمال آفریقا و خاورمیانه بوده، در حالی‌که شتر دوکوهانه در آسیای مرکزی ساکن است (Mohammadabadi *et al*., 2018). علاوه بر شتر تک‌کوهانه، شتر دوکوهانه نیز در مناطق افغانستان، پاکستان و آسیای جنوب غربی وجود دارد (Ghasemi Meymandi *et al*., 2016a). زیستگاه شترهای دوکوهانه عمدتاً در مناطق صحرایی سرد چین و مغولستان بوده و نقش مهمی در اقتصاد محلی این مناطق دارند (Ghasemi Meymandi *et al*., 2016b). شتر از جنبه تاریخی و اقتصادی در سراسر جهان گونه مهمی بوده به طوری که ۱۶٪ جمعیت حیوانی شبه جزیره عربستان را تشکیل می‌دهد (Barazandeh *et al*., 2016). لازم به ذکر است که حدود ۳۵ میلیون نفر شتر تک‌کوهانه در سطح جهان وجود دارد (Ansari-Renani *et al*., 2010) که سهم ایران حدود ۱۵۰ هزار نفر می‌باشد (Ghasemi Meymandi *et al*., 2015). شترهای دوکوهانه ایران با تعداد حدود ۱۰۰ نفر، جزء گونه‌های در معرض خطر محسوب شده و زیستگاه آن‌ها در شمال غربی ایران می‌باشد (Mohammadabadi *et al*., 2020). شتر اکثراً جهت بهره‌برداری از شیر و گوشت نگهداری می‌شود، اما علاوه بر آن دارای مو و تولیدات و بهره‌برداری‌های جانبی دیگر است. بدلیل اینکه این گونه دامی علیرغم تغییرات اقلیمی پیش روی کره خاکی، امکان تولید را فراهم خواهد ساخت، بعنوان حیوان آینده شناخته می‌شود. علیرغم اهمیت اقتصادی، فرهنگی و بیولوژیکی، مطالعات مولکولی مرتبط با ژنوم شتر محدود بوده و اطلاعات زیادی دردسترس نیست (Barazandeh *et al*., 2019). شرایط خشکسالی و تغییر اقلیم و آب و هوایی ایران با توجه به ضرورت توجه به مسائل اقتصادی-اجتماعی، اهمیت تحقیقات بخصوص در زمینه اصلاح نژاد شتر را دوچندان میکند.

طول ژنوم میتوکندری در شتر حدود ۱۶۶۰۰ جفت باز می‌باشد. ژنوم میتوکندری شامل DNA دورشته‌ای حلقوی است و از مادر به فرزندان منتقل شده و ژن‌های موجود بر روی ژنوم میتوکندری به واسطه ساختار ساده و نوترکیبی پایین و نرخ تکامل سریع برای فهم نرخ تنوع ژنتیکی و تاریخچه تکامل مورد استفاده قرار می‌گیرد (Hussain *et al*., 2015؛ Ming *et al*., 2016).

ژنوم میتوکندری شامل ژن‌های کد کننده RNAها، ژن‌های دخیل در متابولیسم انرژی، نواحی تنظیمی و نواحی غیرکد کننده بسیار متغیر می‌باشد (Alaqeely *et al*., 2021). یکی از روش‌های بهبود ژنتیکی در شتر آزمون تک ژنی می‌باشد که در مورد رنگ شتر مورد بهره‌برداری قرار می‌گیرد (Abri and Faye, 2019). آزمون تک ژنی می‌تواند ژن‌های موثر بر صفات تولیدی یافت شده، روش‌های آزمایش تک‌ژنی ابداع تا بر اساس ژنوتیپ‌های بدست آمده انتخاب صورت گیرد.

ژن ATP6 بر روی سنتز ATP و متابولیسم انرژی نقش دارد بنابراین به واسطه تاثیر آن برروی صفات اقتصادی، بررسی درون گونه‌ای و بین گونه‌ای تنوع آن در شترسانان دارای اهمیت می‌باشد. پروتئین این ژن دارای ۲۲۶ اسیدآمینه با وزن مولکولی ۲۴۸۱۷ دالتون است که دارای اهمیت حیاتی برای سلول می‌باشد. علاوه بر اهمیت زیست‌شناختی، بواسطه اینکه تنوع موجود در توالی این ژن با تنوع ناحیه D-loop میتوکندری قابل قیاس است (Hussain *et al*., 2015). بنابراین، از توالی ژن ATP6 می‌تواند برای بررسی هاپلوتیپ‌ها و ترسیم درخت فیلوژنتیکی استفاده کرد (Yi *et al*., 2017). از سوی دیگر، اطلاعات به دست آمده از تحلیل داده های زیستی به وسیله علم بیوانفورماتیک، در به خط کردن توالی ها در بانک‌های اطلاعاتی برای یافتن شباهت ها و تفاوت های ژنی، پیش گویی ساختار و عملکرد محصولات ژ ن‌ها و یافتن ارتباط فیلوژنتیک میان ژن‌ها و توالی‌های پروتئینی کمک می‌کند (Mohammadipour *et al*., 2021).

تاکنون تنوع ژنتیکی جمعیت‌های مختلف شترهای تک‌کوهانه و دوکوهانه در کنار یکدیگر بر اساس توالی ژن ATP6 مورد بررسی قرار نگرفته است. تنوع ژنتیکی جمعیت‌های مختلف شترهای تک‌کوهانه و دوکوهانه با روش های مختلف مورد بررسی قرار گرفته است (Yavari *et al*., 2022) اما تاکنون تنوع ژنتیکی جمعیت‌های مختلف شترهای تک کوهانه و دوکوهانه در کنار یکدیگر بر اساس توالی ژن ATP6 مورد بررسی قرار نگرفته است.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه توالی ژن ATP6 در ژنوم شتر ترکمن که با استفاده از توالی یابی Illumina HighSeq 2000 صورت گرفته است، تهیه شد (Nobari *et al*., 2020). مونتاژ ژنوم با بیش از ۵۸۹ میلیون خوانش شفاف با طول ۱۵۰ جفت باز صورت گرفت و کانتیگ‌های بدست آمده برای وجود ژنوم میتوکندری و توالی ATP6 مورد جستجو قرار گرفت. توالی ژن از ژنوم شتر ترکمن استخراج و توالی ژن در سایر گونه‌های شتر نیز از مرکز ملی اطلاعات بیوتکنولوژی (NCBI) تهیه شد. بعد از اخذ رکوردهای حاوی توالی کل ژن، داده‌ها مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. جهت در نظر گرفتن موقعیت جغرافیایی جمعیت‌های مختلف شترهای دوکوهانه و تک‌کوهانه، توالی‌ها بر اساس مطالعه و موقعیت جغرافیایی نمونه‌های توالی یابی شده ثبت شدند. در جدول ۱ اطلاعات نمونه‌های مورد استفاده آورده شده است.

جدول ۱: شماره دستری و عنوان مطالعات مربوط به داده‌های مورد استفاده در این مطالعه

ردیف مطالعه*	گونه شتر	شماره دستری
۱	دوکوهانه اهلی	AP003423
۲	دوکوهانه اهلی	EF212037, EF507798, EF507799
۳	دوکوهانه اهلی	KU666460, KU666461, KU666462, KU666463, KU666464, KU666465
۴	دوکوهانه اهلی	KX554925, KX554926, KX554927, KX554928, KX554929, KX554930
۵	دوکوهانه اهلی	MH109872, MH109873, MH109874, MH109875, MH109876, MH109877, MH109878, MH109879, MH109880, MH109881, MH109882, MH109883, MH109884, MH109885, MH109886, MH109887, MH109888, MH109889, MH109890, MH109891, MH109892, MH109893, MH109894, MH109895, MH109896, MH109897, MH109898, MH109899, MH109900, MH109901, MH109902, MH109903, MH109904, MH109905, MH109906, MH109907, MH109908, MH109909, MH109910, MH109911, MH109931, MH109932, MH109933, MH109934, MH109935, MH109936, MH109937, MH109938, MH109939, MH109940, MH109941, MH109942, MH109943, MH109944, MH109945
۶	دوکوهانه اهلی	MH109946, MH109947, MH109948, MH109949, MH109950, MH109951, MH109952, MH109953, MH109954, MH109955, MH109956, MH109957, MH109958, MH109959, MH109960, MH109961, MH109962, MH109963, MH109964, MH109965, MH109966, MH109967, MH109968, MH109969, MH109970, MH109971, MH109972, MH109973, MH109974, MH109975, MH109976, MH109977, MH109978, MH109979, MH109980, MH109981, MH109982, MH109983, MH109984, MH109985, MH109986, MH109987, MH109988, MH109989, MH109990, MH109991, MH109992, MH109993, MH109994, MH109995, MH109996, MH109997
۷	دوکوهانه اهلی	NC_009628
۸	دوکوهانه اهلی	NW_011512613, NW_011516773
۹	دوکوهانه وحشی	EF212038, EF507800, EF507801
۱۰	دوکوهانه وحشی	KU666451, KU666452, KU666453, KU666454, KU666455, KU666456, KU666457, KU666458, KU666459, MH109912, MH109913, MH109914, MH109915, MH109916, MH109917, MH109918, MH109919, MH109920, MH109921, MH109922, MH109923, MH109924, MH109925, MH109926, MH109927, MH109928, MH109929, MH109930
۱۱	دوکوهانه وحشی	NC_009629
۱۲	تک‌کوهانه اهلی	EU159113
۱۳	تک‌کوهانه اهلی	JN632608
۱۴	تک‌کوهانه اهلی	KU605058, KU605059, KU605060, KU605061, KU605062, KU605063, KU605064, KU605065, KU605066, KU605067, KU605068, KU605069, KU605070, KU605071, KU605072, KU605073, KU605074, KU605075, KU605076, KU605077, KU605078, KU605079, KU605080
۱۵	تک‌کوهانه اهلی	KX554931, KX554932, KX554933, KX554934, MH109998, MH109999, MH110000, MH110001, MH110002, MH110003, MH110004, MH110005, MH110006, MH110007
۱۶	تک‌کوهانه اهلی	NC_009849

* 1. Mammal complete mitochondrial genome; 2. A complete mitochondrial genome sequence of the wild two-humped camel (Camelus bactrianus ferus): an evolutionary history of Camelidae; 3. Whole mitogenome scans reveal signatures of purifying selection in the genus Camelus; 4. Sequencing and bioinformatic analysis of mitogenome in Iranian; 5. Genome sequences of wild and domestic bactrian camels;Camelid genomes reveal evolution and adaptation to desert environments; 6. Genome sequences of wild and domestic bactrian camels;Camelid genomes reveal evolution and adaptation to desert environments; 7. A complete mitochondrial genome sequence of the wild two-humped camel (Camelus bactrianus ferus): an evolutionary history of Camelidae; 8. tRNAscan-SE: a program for improved detection of transfer RNA genes in genomic sequence; 9. A complete mitochondrial genome sequence of the wild two-humped camel (Camelus bactrianus ferus): an evolutionary history of Camelidae; 10. Whole mitogenome scans reveal signatures of purifying selection in the genus Camelus; 11. Monophyletic origin of domestic bactrian camel (Camelus bactrianus) and its evolutionary relationship with the extant wild camel (Camelus bactrianus ferus); 12. Complete nucleotide sequence of mitochondrial genome of the dromedary camel, Camelus dromedarius: Structure and the control; 13. Pattern and timing of diversification of Cetartiodactyla (Mammalia, Laurasiatheria), as revealed by a comprehensive analysis of mitochondrial genomes; 14. Combined Hybridization Capture and Shotgun Sequencing for Ancient DNA Analysis of Extinct Wild and Domestic Dromedary Camel; 15. Sequencing and bioinformatic analysis of mitogenome in Iranian Bacterianus and Dromedaries camels; 16. Complete nucleotide sequence of mitochondrial genome of the dromedary camel, Camelus dromedarius: Structure and the control region

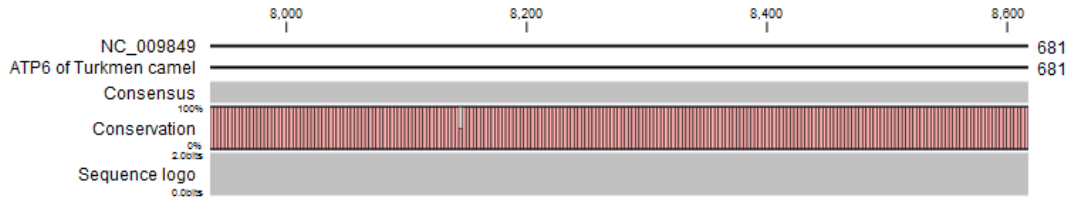
داده‌ها با استفاده از نرم افزار CLC Genomics Workbench 21 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند (QIAGEN, 2021). در مرحله اول با استفاده از این نرم افزار همترازی درون و بین گونه‌ای شترهای تک کوهانه، دوکوهانه اهلی و وحشی صورت گرفت. با استفاده از همترازی، میزان گسست‌ها، فواصل، درصد تفاوت و شباهت بین توالی‌های ژن در افراد مختلف مشخص گردید که اطلاعات حاصل از آن برای ترسیم درخت فیلوژنتیکی لازم می‌باشد. به کمک درخت فیلوژنتیکی می‌توان میزان ارتباط تکاملی هر یک از نمونه‌ها را مشخص نمود. برای ترسیم درخت فیلوژنتیکی از پرکاربردترین روشهای ترسیم درخت یعنی روش فاصله‌ای اتصال نزدیک (Neighbor Joining) استفاده گردید (Nobari *et al*., 2020). برای ترسیم مطمئن‌ترین درخت روش بوت‌استراپ با ۱۰۰۰ تکرار، در کنار روش اتصال نزدیک مورد استفاده قرار گرفت. برای تصحیح فاصله تکاملی نیز از مدل Kimura بهره گرفته شد (Nobari, *et al*., 2020) تا سرعت جهش‌های انتقال و تبدیل در تصحیح فاصله تکاملی متفاوت در نظر گرفته شود.

بعد از بررسی‌ها بر روی توالی ژن، توالی نمونه‌ها به پروتئین ترجمه شدند. هم‌ترازی و درخت فیلوژنتیکی همانند روشهای ذکر شده در توالی ژن ATP6، بدست آمدند.

نتایج و بحث

شتر ترکمن و ژنوم مرجع

هم‌ترازی بین ژن ATP6 موجود در ژنوم رفرنس با ژن ATP6 ژنوم شتر ترکمن انجام شد و نتایج به صورت شکل ۱ بدست آمد.



شکل ۱: هم‌ترازی ژن ATP6 ژنوم شتر ترکمن و ژنوم رفرنس

در شکل ۱ شماتیکی از طول توالی ژن در ژنوم مرجع و ژنوم شتر ترکمن و همچنین میزان حفاظت شدگی توالی آن مشخص می‌باشد. میزان گسست‌ها و تفاوت‌های بین ژن ATP6 موجود در ژنوم شتر ترکمن و ژنوم رفرنس نیز به صورت جدول ۲ حاصل شد.

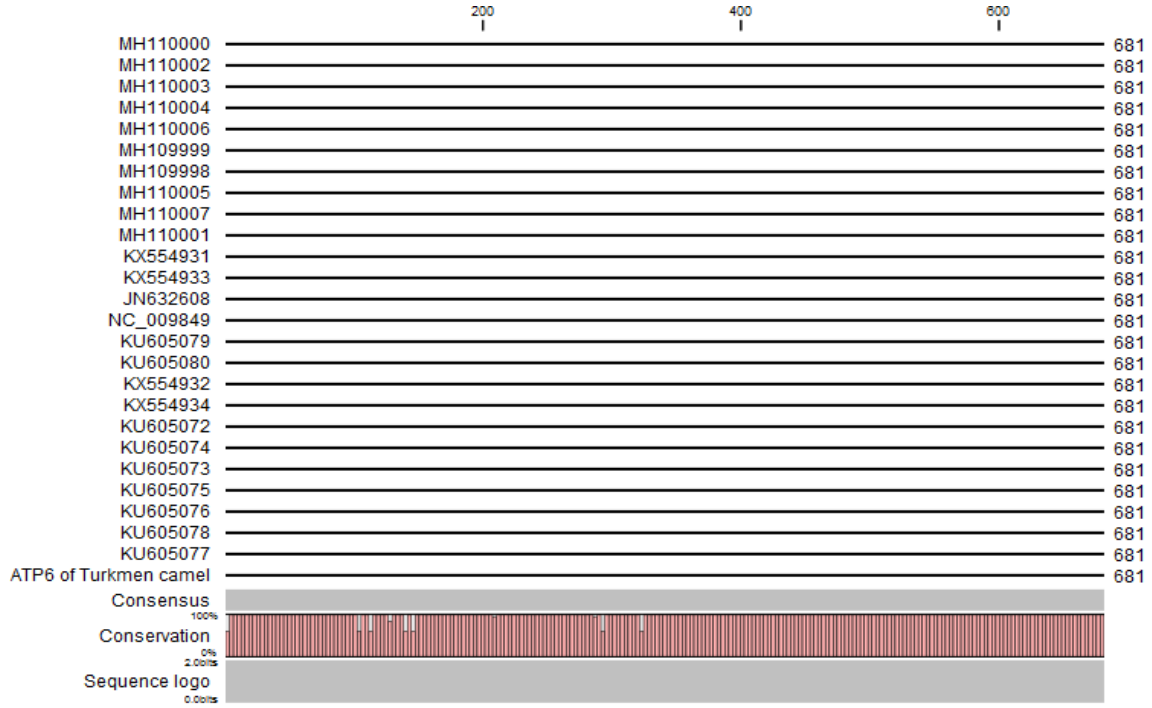
جدول ۲: میزان گسست‌ها و تفاوت‌های بین ژن ATP6 موجود در ژنوم شتر ترکمن و ژنوم رفرنس

	1	2
NC_009849 1		0
ATP6 of Turkmen camel 2	1	

نتایج نشان داد که هیچ گسستی در هم‌ترازی ژن‌های موجود در بین دو ژنوم وجود ندارد و همچنین یک تفاوت تک‌نوکلئوتیدی در نوکلئوتید ۲۰۸ ژن وجود داشت که نوکلئوتید تیمین در ژنوم رفرنس به نوکلئوتید سیتوزین در ژنوم شتر ترکمن تبدیل شده بود.

شتر ترکمن و سایر شترهای تک‌کوهانه

هم‌ترازی بین ژن ATP6 شتر ترکمن و سایر شترهای تک کوهانه نیز صورت گرفت و نتایج به صورت شکل ۲ می‌باشد.

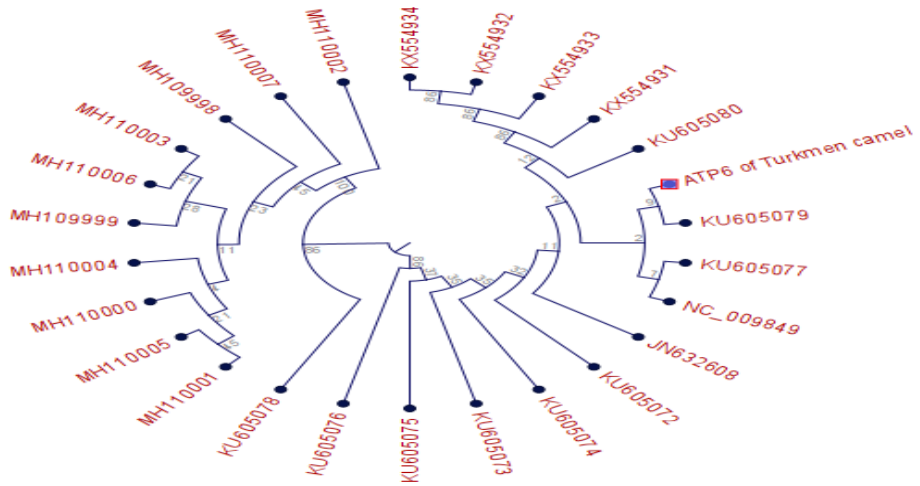


شکل ۲: هم‌ترازی ژن ATP6 شتر ترکمن و سایر شترهای تک کوهانه

در هم‌ترازی شتر تک‌کوهانه و شتر ترکمن مشخص گردید که شتر ترکمن در مقایسه با هیچ‌یک از نمونه‌های مورد بررسی دارای گسست نبودند. شتر ترکمن بیشترین تفاوت (۵۴ نوکلئوتید) را با یک نمونه شتر ایرانی با شماره دسترسی (MH110003) داشت. کمترین تفاوت را به تعداد یک نوکلئوتید با نمونه‌هایی از مراکش (JN632608)، سودان (KU605079)، پاکستان (KU605080)، اردن (KU605072) و عربستان سعودی (KU605074، KU605073 و KU605075) داشتند. در بین شترهای تک کوهانه به طور کلی ۱۶ نمونه با یکدیگر تفاوتی بیش از ۵۰ نوکلئوتید داشتند و ۱۰ نمونه تفاوتی کمتر از ۱۰ نوکلئوتید داشتند که نشان‌دهنده تنوع ژنتیکی بالای این ژن در شترهای تک کوهانه می‌باشد.

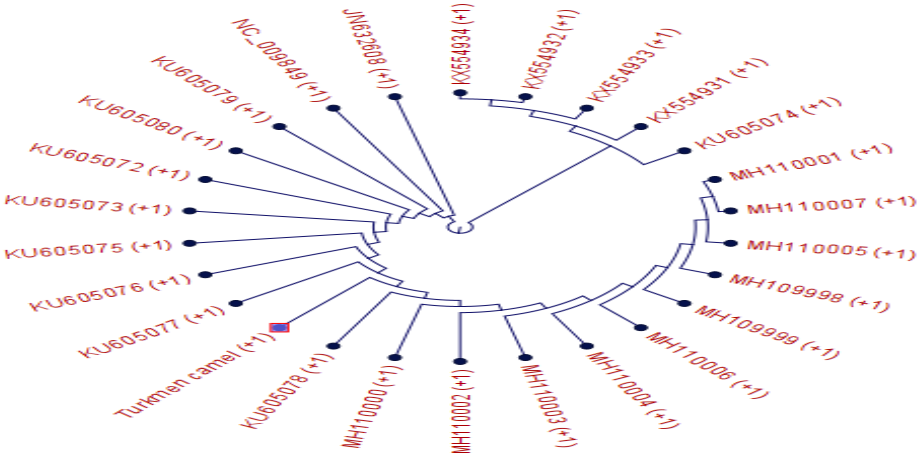
سپس ترسیم درخت فیلوژنتیکی در شتر تک کوهانه (شکل ۳) نشان داد که بیشترین تنوع ژنتیکی در افراد موجود در سری داده مورد بررسی وجود دارد. شتر ترکمن ایرانی نسبت به سایر شترهای تک کوهانه ایرانی (شماره‌های دسترسی دارای ابتدای

MH و KX) فاصله داشت. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که توالی ژن ATP6 شتر تک کوهانه ایرانی دارای تنوع بیشتری نسبت به سایر کشورها دارد.



شکل ۳: درخت فیلوژنتیکی درون گونه‌ای نمونه‌های شتر تک کوهانه

سپس توالی‌های ژن به پروتئین ترجمه شده و نمونه‌ها مورد هم‌ترازی قرار گرفتند. هم‌ترازی پروتئین ژن ATP6 در شتر تک‌کوهانه نشان داد که نمونه‌ها به دو گروه مشخص قابل تقسیم هستند به طوری که بین افراد گروه بیش از ۱۱ اسیدآمینه و درون هر گروه کمتر از ۲ اسیدآمینه تفاوت وجود داشت. درخت فیلوژنتیکی حاصل از هم‌ترازی پروتئین‌های ژن مورد بررسی به صورت زیر (شکل ۴) می‌باشد.

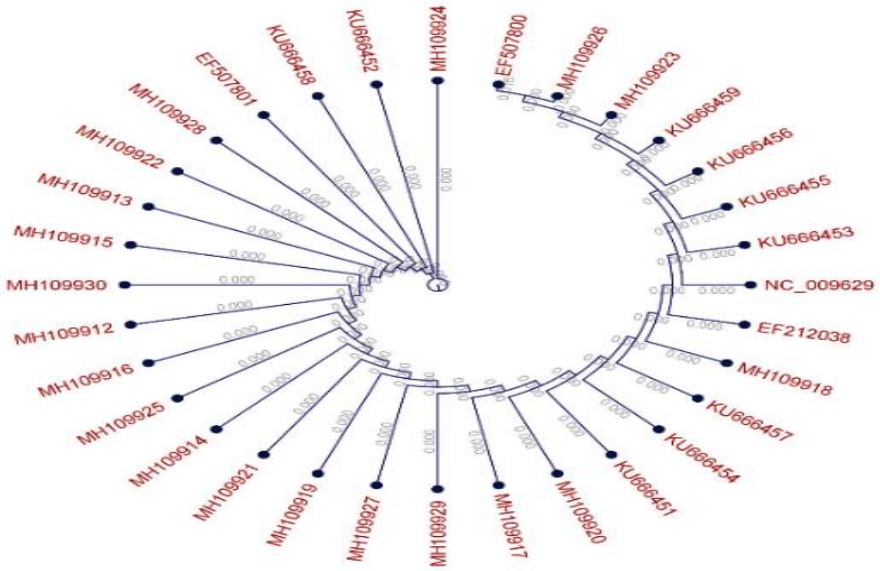


شکل ۴: درخت فیلوژنتیکی توالی پروتئین ژن ATP6 در نمونه‌های تک‌کوهانه

توالی ژن در شترهای دوکوهانه وحشی

هم‌ترازی نمونه‌های شتر دوکوهانه وحشی نشان داد که توالی ژن مورد بررسی در هیچ‌یک از نمونه‌ها دارای گسست نبود. همچین بررسی تفاوت‌های توالی نمونه‌ها نیز نشان داد که همه نمونه‌ها بجز یک نمونه هیچ گونه تفاوتی با یکدیگر ندارند. یک

نمونه دارای تفاوت از کشور چین (EF507800) با همه نمونه‌ها به تعداد ۱۱ نوکلئوتید متفاوت بود. بعد از همترازی توالی ژن ATP6 شتر دوکوهانه وحشی، درخت فیلوژنتیکی آن در این گونه ترسیم گردید. بررسی طول شاخه‌های درخت فیلوژنتیکی حاصل از همترازی نمونه‌های این گونه (شکل ۵) نشان داد که تنوع ژنتیکی توالی این ژن در این گونه نسبت به شتر تک کوهانه اندک می باشد. تعداد کلایدهای (Clade) ایجاد شده از ریشه درخت و همچنین نحوه اتصال شاخه‌ها نشان دهنده محدود بودن اجداد مشترک می باشد.



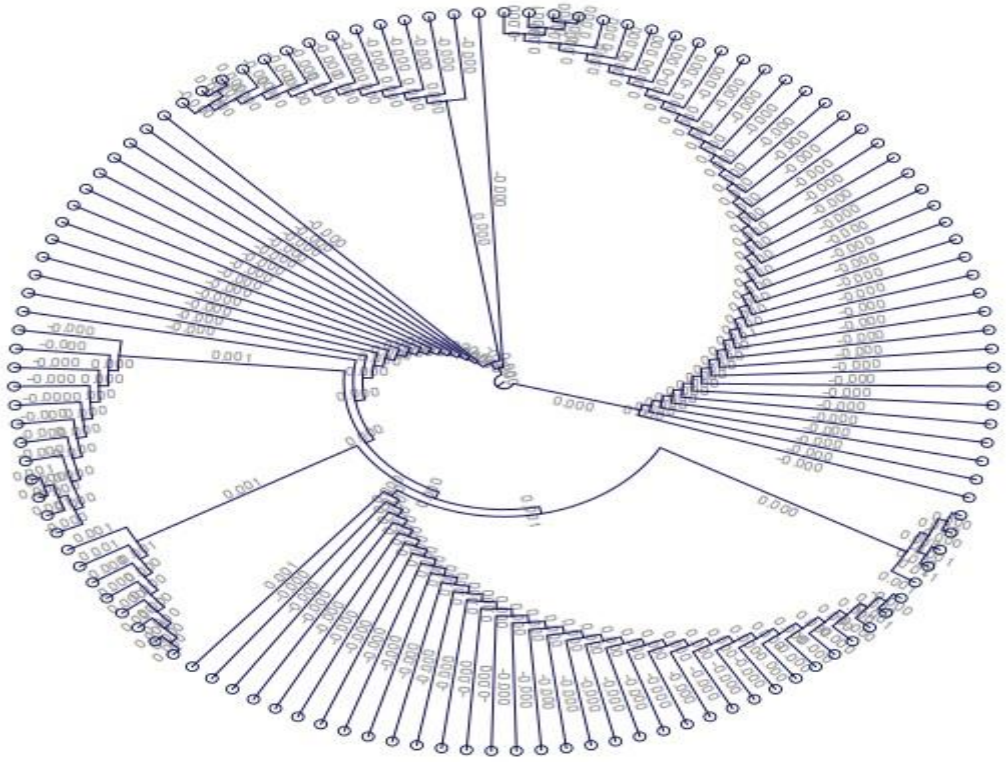
شکل ۵: درخت فیلوژنتیکی درون گونه‌ای شتر دوکوهانه وحشی برای ژن ATP6

توالی ژن به توالی پروتئین ترجمه شده و نمونه‌ها تحت هم‌ترازی قرار گرفتند. هم‌ترازی توالی پروتئین در شترهای دوکوهانه وحشی نشان داد که هیچ تفاوتی بین توالی پروتئین ۳۲ نمونه مورد بررسی وجود نداشت.

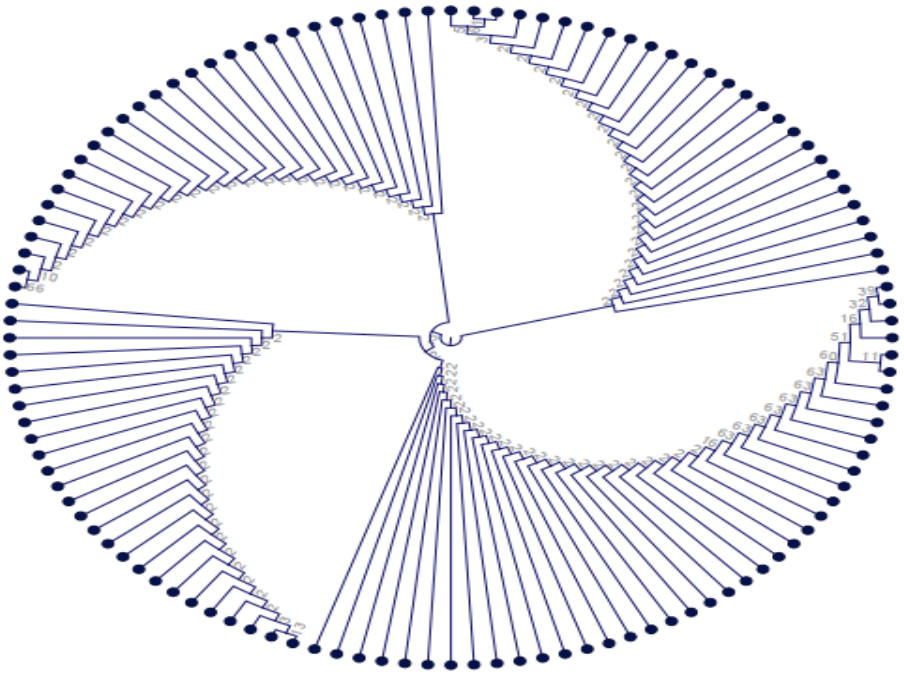
توالی ژن در شترهای دوکوهانه اهلی

همترازی شترهای دوکوهانه اهلی نشان داد که بیشترین تفاوت را دو نمونه از روسیه (MH109974) و قزاقستان (MH109985) با سایر نمونه‌ها داشتند. آنها به ترتیب به طور متوسط حدود ۴۵ و ۱۹ تفاوت تک‌نوکلئوتیدی با سایر نمونه‌ها داشتند. سایر نمونه‌ها با یکدیگر ۴ تفاوت تک‌نوکلئوتیدی و یا کمتر داشتند. تنوع ژنتیکی ژن ATP6 حاصل از همترازی و ترسیم درخت فیلوژنتیکی شتر دوکوهانه اهلی در شکل ۶ آورده شده است. بر اساس طول شاخه‌ها نشان‌دهنده تنوع ژنتیکی بیشتر این ژن در این گونه نسبت به گونه شتر دوکوهانه وحشی و تنوع کمتر آن نسبت به شترهای تک کوهانه می باشد. تعداد کلایدها در این گونه نسبت به همه گونه‌ها بیشتر می باشد. ترجمهٔ توالی‌های DNA به پروتئین و هم‌ترازی آنها نشان داد که حداکثر تفاوت بین جفت نمونه‌ها بجز نمونه کشور روسیه (MH109974)، ۲ اسیدآمینه می‌باشد. تفاوت نمونه MH109974 و سایر نمونه‌ها

۶ تا ۸ نوکلئوتید بود. درخت فیلوژنتیکی مربوط به توالی پروتئین به صورت شکل ۷ بود. نمونه MH109985 که بعد از نمونه MH109974 بیشترین تفاوت را با سایر نمونه‌های شتر دوکوهانه اهلی داشت، از لحاظ توالی پروتئین حداکثر تنها ۲ اسیدآمینه با سایر نمونه‌ها تفاوت داشتند.



شکل ۶: درخت فیلوژنتیکی شتر دوکوهانه اهلی براساس توالی ژن ATP6

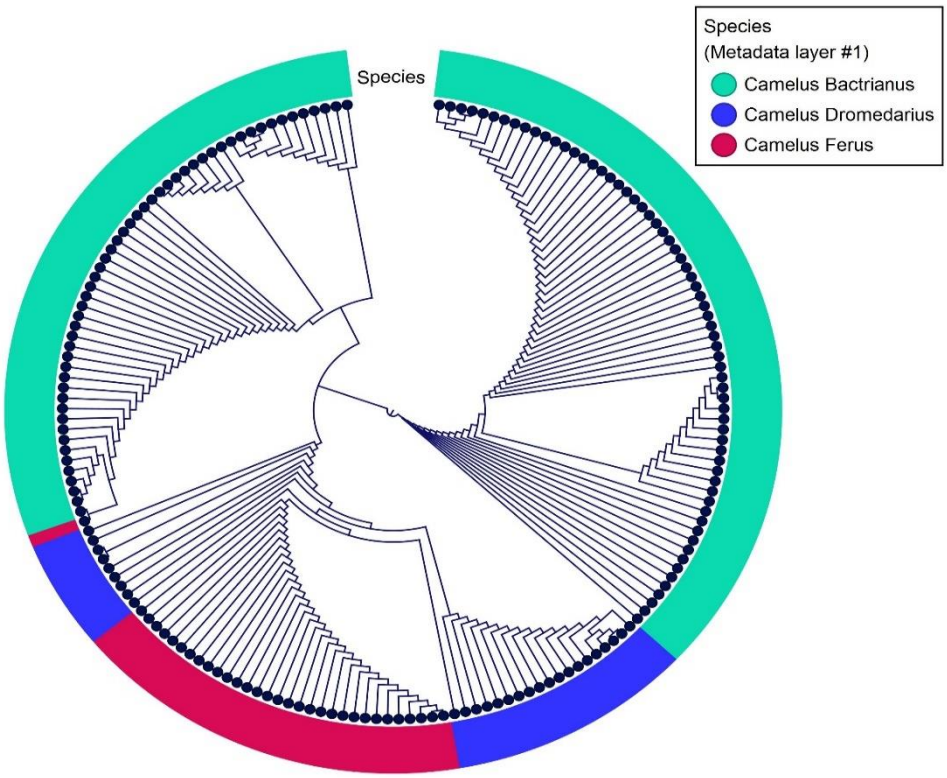


شکل ۷: درخت فیلوژنتیکی توالی پروتئین ATP6 شتر دوکوهانه اهلی

شتر ترکمن در مقابل همه گونه‌های شتر

هم‌ترازی کلیه نمونه‌ها با یکدیگر نشان داد که نمونه دوکوهانه MH109974 با گروهی از شترهای تک‌کوهانه شامل شتر ترکمن و ژنوم رفرنس به همراه ۱۴ نمونه دیگر تفاوتی بطور متوسط ۱۰ نوکلئوتیدی دارد در حالی که با شترهای دوکوهانه دیگر به طور متوسط ۴۵ نوکلئوتید تفاوت داشت. نمونه دوکوهانه MH109985 نیز با گروه ۱۶ نفرهٔ شامل شتر ترکمن بطور متوسط ۳۶ تفاوت و با گروه ۱۰ نفره تک کوهانه باقیمانده ۱۶ تفاوت و با گروه شترهای دوکوهانه وحشی بطور متوسط ۱۸ تفاوت تک نوکلئوتیدی داشت.

بررسی همه گونه‌های مختلف شتر نسبت به یکدیگر با استفاده از همترازی و بکارگیری آن برای ترسیم درخت فیلوژنتیکی (شکل ۸) نشان داد که بین شترهای تک کوهانه با شترهای دوکوهانه وحشی رابطه بیشتری نسبت به شترهای دوکوهانه اهلی از لحاظ این ژن دارند.

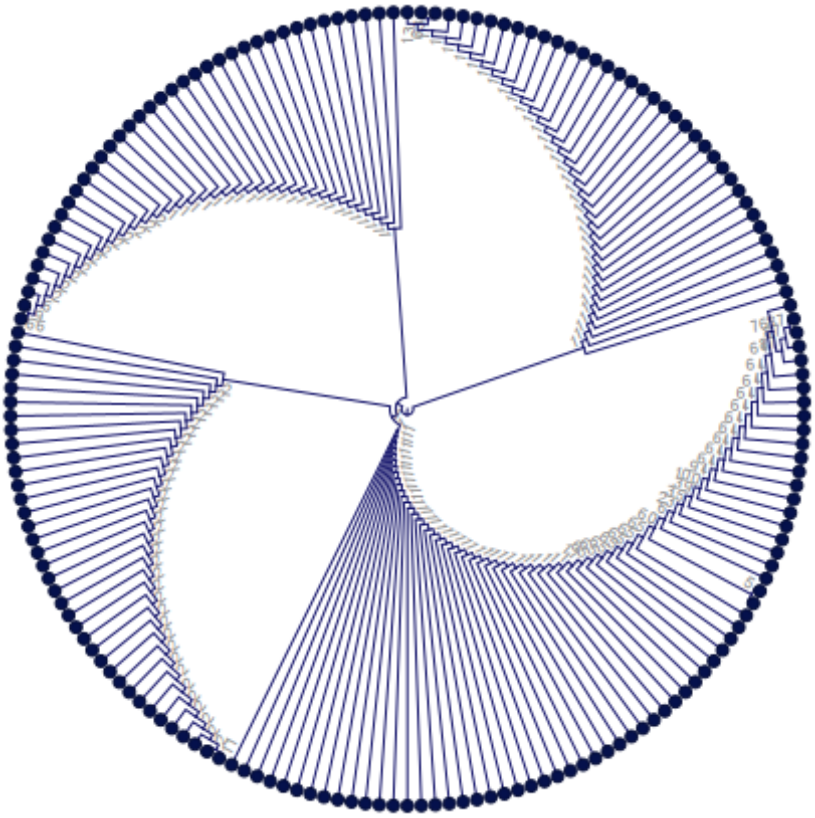


شکل ۸: درخت فیلوژنتیکی همه گونه های شتر براساس توالی ژن ATP6

توالی‌های نمونه‌های مختلف بعد از ترجمه مورد همترازی قرار گرفت، بررسی تفاوت همه جفت نمونه‌ها نشان داد که شترهای دوکوهانه و همچنین شترهای تک‌کوهانه در درون خود حداکثر ۲ اسیدآمینه تفاوت در توالی پروتئین خود دارند. اما تفاوت بین توالی پروتئین شترهای دوکوهانه و تک‌کوهانه ۱۱ تا ۱۳ اسیدآمینه می‌باشد. در بین نمونه‌ها تفاوت توالی پروتئین شتر دوکوهانه اهلی MH109974 با شترهای

تک‌کوهانه ۷ اسیدآمینه بود.

درخت فیلوژنتیکی حاصل از هم‌ترازی توالی پروتئین گونه‌های مختلف شتر به طور همزمان ترسیم گردید و در شکل ۹ نشان داده شده است.



شکل ۹: درخت فیلوژنتیکی حاصل از هم‌ترازی توالی پروتئین ATP6 گونه‌های مختلف شتر

بحث

در این مطالعه یک نمونه حاصل از توالی‌یابی و مابقی از بانک داده ژن (GeneBank database) بدست آمده است. طول کلیه توالی‌های مورد بررسی مطابق با تحقیق Cui *et al* (2007) بود. کدون آغازین در شتر دوکوهانه اهلی ATG بود به استثناء یک نمونه (GTG) و در شترهای دوکوهانه وحشی تمام نمونه‌ها دارای کدون آغازین ATG بودند که مطابق با تحقیق Rocco *et al* (2009) بود. کدون آغازین توالی ژن در شتر ترکمن به همراه ۱۶ نمونه دیگر دارای توالی GTG بود، اما در مجموع ۹ نمونه از کل شترهای تک کوهانه دارای توالی ATG بود که با مطالعه فوق مطابقت نداشت. نتایج حاصل از درخت فیلوژنتیکی نشان داد که تنوع ژنتیکی در رابطه با این ژن در جمعیت گونه های مختلف شتر وجود دارد که مطابق با مطالعه Mishmar *et al* (2003) بود.

بررسی توالی پروتئین می‌تواند بعضی از تنوع موجود در توالی ژن را به دلیل کد کردن یک نوع اسیدآمینه، حذف نماید. برای مثال نمونه‌ای از قزاقستان (MH109985) در بررسی توالی ژن دارای تفاوت زیادی با سایر شترهای دوکوهانه داشت اما در

بررسی توالی پروتئین مشخص شد که تنوع توالی آن مشابه با سایر هم‌گروهان خود می‌باشد. در اینجا و همچنین سایر گونه‌ها، این امر به دلیل اهمیت زیاد پروتیئن این ژن در زنجیرهٔ تنفس میتوکندریایی می‌باشد. همچنین نمونه‌ای از روسیه (MH109974) که در بررسی توالی ژن بیشترین تفاوت را با سایر شترهای دوکوهانه داشت در بررسی توالی پروتئین این مقدار تعدیل یافت. اما بررسی توالی پروتئین نشان داد که این نمونه تفاوتی برابر با متوسط تفاوت شترهای دوکوهانه اهلی و شترهای تک‌کوهانه دارد که احتمال آمیخته بودن آن نمونه را قوت می‌بخشد. تفاوت شتر ترکمن مورد بررسی با یکی از نمونه‌های ایرانی به دلیل احتمال آمیخته بودن آن نمونهٔ ایرانی باشد. قرابت شتر ترکمن با برخی از نمونه‌های خارجی می‌تواند ناشی از انتقال افرادی از این نژاد به سایر کشورها در مقاطعی از تاریخ باشد. تنوع نژادهای ایرانی می‌تواند به دلیل نگهداری آنها در شرایط اقلیمی مختلف توسط اقوام متفاوت و لزوم آداپتاسیون بر شرایط محیطی و کاربرد منحصر به فرد باشد.

مطالعهٔ تحقیقاتی Burger (2016) نشان داد که شترهای بدون کوهان و کوهان‌دار حدود ۱۱ میلیون سال قبل از یکدیگر جدا شدند و شترهای تک‌کوهانه و دوکوهانه حدود ۶ میلیون سال قبل از یکدیگر تکامل یافتند. شترهای دوکوهانه اهلی و وحشی حدود یک میلیون سال قبل از یکدیگر جدا شدند. این مطالعه نشان داد که از لحاظ تنوع ژن ATP6 بر اساس اطلاعات استفاده شده، شترهای دوکوهانه وحشی نسبت به شترهای دوکوهانه اهلی قرابت بیشتری با شترهای تک‌کوهانه دارند.

بر اساس طول شاخه های درخت فیلوژنتیکی به ترتیب شتر تک‌کوهانه، دوکوهانه اهلی و دوکوهانه وحشی دارای بیشترین تنوع ژنتیکی بود. تنوع ژنتیکی شترهای تک کوهانه می‌تواند به واسطه پراکنش وسیع این گونه در قارهٔ آفریقا و آسیا و همچنین تنوع عملکرد مورد نیاز و در نهایت جهت‌های مختلف انتخاب برای آنها باشد. تنوع پایین شترهای دوکوهانه وحشی می‌تواند به دلیل کاهش جمعیت و محدود شدن زیستگاه آنها باشد. شترهای دوکوهانه به واسطه تمرکز آنها در مسیر جاده ابریشم و تبادل ژنتیکی آنها در طول مسیر و همچنین محدود بودن کاربرد و در نهایت عملکرد مطلوب باعث انتخاب در جهت خاص شده که منجر به کاهش تنوع در جایگاه ژنی مورد بررسی شده است. از لحاظ متفاوت بودن کلاید گونه‌های مورد بررسی، این مطالعه مطابق با مطالعه Wu *et al* (2014) و Ming *et al* (2016) بود.

نتیجه گیری کلی

تنوع ژنتیکی شترهای تک‌کوهانه از لحاظ توالی ژن ATP6 و توالی پروتئین آن بسیار بیشتر از سایر گونه‌های شتر می‌باشد که نشاندهنده افزایش احتمال موثر بودن تنوع موجود در توالی این ژن در شترهای تک‌کوهانه بر روی صفات اقتصادی می‌باشد. بررسی تنوع موجود در توالی پروتئین راهنمایی دقیق‌تری نسبت به وضعیت ژنتیکی هر نمونه نسبت به سایر نمونه‌ها ارائه می‌دهد.

منابع

Abarghani, A. (2003). Bactrian camel husbandry in Moghan plain. Final report of Ardabil Agricultural and Natural Resources Research Center, AREEO, Ardabil, Iran (In Persia).

Abri, M.A.A., and Faye, B. (2019). Genetic Improvement in Dromedary Camels: Challenges and Opportunities. Frontiers in Genetics, 10:167.

Alaqeely, R., Alhajeri, B.H., Almathen, F., and Alhaddad, H. (2021). Mitochondrial Sequence Variation, Haplotype Diversity, and Relationships Among Dromedary Camel-Types. Frontiers in Genetics, 12:723964.

Ansari-Renani, H., Salehi, M., Ebadi, Z. and Moradi, S. (2010). Identification of hair follicle characteristics and activity of one and two humped camels. Small Ruminant Research, 90: 64-70.

Barazandeh, A., M.R., Mohammadabadi, M, Ghaderi-Zefrehei, F, Rafeied, I.G., Imumorin (2019) Whole genome comparative analysis of CpG islands in camelid and other mammalian genomes. Mammalian Biology 98: 73-79.

Barazandeh, A, M.R., Mohammadabadi, M. Ghaderi, H. Nezamabadipour. (2016). Genome-wide analysis of CpG islands in some livestock genomes and their relationship with genomic features. Czech J Anim Sci 61, e487.

Burger, P.A., Ciani, E., and Faye, B. (2019). Old World camels in a modern world – a balancing act between conservation and genetic improvement. Animal Genetics, 50(6): 598–612.

Burger, P.A. (2016). The history of Old World camelids in the light of molecular genetics. Tropical Animal Health and Production, 48: 905–913.

Ghasemi Meymandi, M. Mohammadabadi, M.R., Esmailzade, A, Montazeri, M. (2016a). Assigning Individuals to the Camel Populations of North of Kerman Province Using Microsatellite Markers. Modern Genetics Journal 11 (3): 329-335 (In Persian).

Ghasemi Meymandi, M, Mohammadabadi, M.R, Esmailizadeh, A.K. (2015). Genetic variation of camels in the North of Kerman province using microsatellite markers. Animal Production Research 4 (1): 35-45 (In Persian).

Ghasemi Meymandi, M, Mohammadabadi, M.R., Montazeri, M. (2016b). Analysing Genetic Structure of Camelus dromedarius Using PCA and Hierarchical clustering methods. Agricultural Biotechnology Journal 8 (3): 83-96 (In Persian).

Groeneveld, L.F., Lenstra, J.A., Eding, H., Toro, M.A., Scherf, B., Pilling, B., Negrini, R., Finalay, E.K., Jianglin, H., Groeneveld, E., Wigend, S., and The GLOBALDIV consortium. (2010). Genetic diversity in farm animals – a review. Animal Genetic, 41 (Suppl 1): S6–S31.

Hussain, T., Babar, M.E., Musthafa, M.M., Saif, R., Hussain, F., Aqeel, M., Pervez, M.T., Ziaullah, W.A.K., Shahzad, S., and Yaqub, A. (2015). Mitochondrial ATP6 and ATP8 genes based molecular diversity and phylogenetic analysis in Punjab urial (Ociscigneipunjabiensis). Journal of Animal and Plant Science, 25 (3): 311–318.

Ming, L., Yi, L., Guo, F.C., Siriguleng, S., and Jirimutu, J. (2016). Molecular phylogeny of the Bactrian camel based on mitochondrial Cytochrome b gene sequences. Genetics and Molecular Research, 15 (3): 15038983.

Mishmar, D., Ruiz-Pesini, E., Golik, P., Macaulay, V., Clark, A.G., Hosseini, S., Brandon, M., Easley, K., Chen, E., Brown, M.D., Sukernik, R.I., Olckers, A., and Wallace, D.C. (2003). Natural selection shaped regional mtDNA variation in humans. Proceedings of National Academy of Sciences, USA 100 (1): 171–176.

Mohammadabadi, M.R., Ghasemi Meymandi, M., Montazeri, M. (2018). The Study of Genetic Diversity of Camels in North of Kerman Province Using F Statistics. Breeding and Improvement of Livestock 1 (2): 1-13.

Mohammadabadi, M., Meymandi, M.G., Montazen, M., Afanasenko, V., Kalashnyk, O. (2020). Molecular characterization of Iranian dromedaries using microsatellite markers. Acta Agronómica 69 (4): 321-330.

Mohammadipour, S.A.L., Mohammadabadi, M., Asadollahpour Nanaei H., Amiri, Z. (2021) Introducing candidate Genes Associated with the Milk and Wool Production Traits in Sheep. Modern Genetics 16 (2): 281-297.

Nobari, K., Bahari, A., Bitaraf-Sani, M., and Kavian, A. (2020). Phylogenetic and evolutionary investigation of MSTN gene sequence of Turkmen camel in comparison with other species. Journal of Animal Science, 29: 69-88 (In Persia).

Rocco, F.D., Zambelli, A.D., and Rioja, L.B.V. (2009). Identification of camelid specific residues in mitochondria ATP synthase subunits. J. Bioenergetics and Biomembranes. 41 (3): 223–228.

Wu, H.G., Guo, X.M., BAl-Fageeh, M., Cao, J.W., Pan, S.K., *et al*. (2014). Camelid genomes reveal evolution and adaptation to desert environment. Nature Communications, 5: P5188.

Yavari, E., Fayazi, J., Nazari, M., Mirzadeh, K.H. (2022). Study of polymorphism in exon 14 of Diacylglycerol O-Acyltransferase 1 (DGAT1) Gene in Dromedary Camel of Khuzestan. Veterinary research and biological products, 34 (4): 25-31. (In Persian).

Yi, L., Ai, Y., Ming, L., Hai, L., He, J., Guo, F.C., Qiao, X.Y., and 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.