

بررسی تنوع ژنتیکی و اثر انتخاب ژن‌های RNA ریبوزومی و ناقل در ژنوم میتوکندری شترهای تک کوهانه و دو کوهانه

- زهرا رودباری: گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه جیرفت، جیرفت، ایران
- خدیجه نصیری*: گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران

تاریخ دریافت: آذر ۱۳۹۷ تاریخ پذیرش: اسفند ۱۳۹۷

چکیده

حفاظت از ذخایر ژنتیکی با آگاهی از ساختار ژنتیکی و بررسی ژنوم میتوکندری بین و درون گونه‌ای یک شاخص مناسب از میزان تنوع ژنتیکی جهت مطالعه ژنتیک جمعیت است. از آنجایی که ژن‌های غیر کدکننده ۱۶S rRNA، ۱۲S rRNA و tRNA ها عناصر تنظیمی درگیر در همانندسازی و رونویسی میتوکندری می‌باشند. در این پژوهش توالی‌های ۲ rRNA و ۲۲ tRNA موجود در ژنوم میتوکندریایی شترهای تک کوهانه و دوکوهانه مقایسه و مورد تجزیه و تحلیل بیوانفورماتیکی قرار گرفت. نتایج نشان داد که در مقایسه توالی ژن‌های RNA غیر کدکننده شترهای تک کوهانه و دوکوهانه ۴۶ نوکلئوتید در توالی ۱۶S rRNA، ۴۵ نوکلئوتید در ۱۲S rRNA و ۴۴ نوکلئوتید در tRNA ها متغیر می‌باشد که تنها ۲ ژن rRNA و ۴ ژن tRNA ها نسبت به تست‌های تکامل خنثی معنی‌دار بودند. بررسی پیامدهای ساختاری این نوکلئوتیدهای متغیر با استفاده از مدل‌سازی تأیید کرد که تنها نوکلئوتیدهای متغیر در حلقه D از ژن tRNA-Trp سبب تغییر شکل فضایی ساختار برگ شبدری tRNA تریپتوفان و انرژی آزاد گیبس می‌شود. بر اساس تجزیه و تحلیل‌های این پژوهش ژن‌های RNA غیر کدکننده ژنوم میتوکندری گونه‌های شتر حفاظت شده‌اند.

کلمات کلیدی: ژنوم میتوکندری، اثر انتخاب، حفاظت ژنتیکی، نواحی غیر کدکننده



مقدمه

پروتئین‌های مرتبط با زنجیره تنفسی، ژن‌های rRNA ۱۶S و ۱۲S و rRNA و ۲۲ ژن tRNA تشکیل شده است (Kujoth و همکاران، ۲۰۰۲؛ Bao و همکاران، ۲۰۰۸؛ Gray، ۲۰۱۲). بنابراین ژنوم میتوکندری کدکننده تعداد محدودی پروتئین است که تمامی آن‌ها از اجزای اصلی سیستم فسفوریلاسیون اکسیداتیو می‌باشند، علاوه بر این rRNA ها و بسیاری از tRNA های مورد نیاز برای ترجمه این پروتئین‌ها در میتوکندری نیز، در ژنوم این اندامک وجود دارند. دیگر پروتئین‌های میتوکندریایی توسط ژن‌های هسته کد شده که تصور بر این است که این ژن‌ها از ژنوم میتوکندری‌های اجدادی به هسته منتقل شده‌اند (Cooper و Hausamm، ۲۰۰۷). برای اولین بار در سال ۲۰۰۷ برای بررسی رابطه تکاملی خانواده شترسانان، ژنوم میتوکندری شتر دوکوهانه وحشی به‌طور کامل توالی یابی شد (Cui و همکاران، ۲۰۰۷). هم‌چنین، در سال ۲۰۰۹ برای بررسی ارتباط تکاملی شتر دوکوهانه اهلی و دوکوهانه وحشی و بررسی منشأ پیدایش شتر دوکوهانه اهلی ژن سیتوکروم b از ژنوم میتوکندریایی مورد مطالعه قرار گرفت و نتایج نشان داد که زیرگونه‌زایی از ۷۰۰ میلیون سال پیش از دو دودمان شروع شده است و شتر دوکوهانه وحشی دارای اصل و نسب جداگانه‌ای است و جد مشترک مستقیم با شتر دوکوهانه اهلی ندارد (Ji و همکاران، ۲۰۰۹). اغلب مطالعات انجام شده روی شترهای تک‌کوهانه و دوکوهانه مربوط به ژن‌های کدکننده پروتئین و ژن‌های مرتبط با صفات اقتصادی بوده است. بنابراین با توجه به اهمیت توالی ژنوم میتوکندریایی در بررسی و مطالعه رابطه تکاملی، هدف از این مطالعه بررسی تفاوت‌های ژنتیکی در ژن‌های rRNA ریبوزومی و ناقل ژنوم میتوکندریایی و هم‌چنین، اثر انتخاب وارد بر ژن‌های rRNA غیر کدکننده ژنوم میتوکندریایی در گونه‌های شتر بود.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی توالی ژنوم میتوکندری شتر: ۳۰ توالی نوکلئوتیدی ژنوم میتوکندری مربوط به شترهای تک‌کوهانه و دوکوهانه ایران و سایر کشورها از طریق بانک جهانی ژن (NCBI) به‌منظور انجام آنالیز به‌دست آمد. شماره توالی‌های مورد استفاده در این پژوهش در جدول ۱ آورده شده‌اند. توالی نوکلئوتیدی مربوط به ژنوم میتوکندری گونه‌های شتر مورد مطالعه با استفاده از گزینه Clustal W در نرم‌افزار Mega 6 (Tamura و همکاران، ۲۰۱۳) هم‌ردیف‌سازی چندگانه (Multiple Alignment) شدند و به‌صورت دستی توالی‌های مربوط به ژن‌های tRNA و rRNA در ژنوم میتوکندری شترهای تک‌کوهانه و دوکوهانه جهت انجام آنالیزهای بعدی آماده‌سازی شدند.

منابع ژنتیکی شتر بیش‌تر از نوع شتر تک‌کوهانه است و به تعداد خیلی کم شترهای دوکوهانه وجود دارد و براساس اطلاعات موجود به‌دلیل عدم توجه به این دام، تعداد آن‌ها در حال کاهش می‌باشد که در واقع یک جمعیت در معرض انقراض به‌حساب می‌آید (Han و همکاران، ۲۰۰۴). در ایران نیز جمعیت شترهای تک‌کوهانه و دوکوهانه به‌ترتیب در حدود ۱۵۰۰۰۰ و ۱۰۰ نفر می‌باشند که نشان می‌دهد که شتر دوکوهانه ایرانی جزء گونه‌های در معرض خطر می‌باشد (ازغندی و طهمورث‌پور، ۱۳۹۴). مطالعات نشان دادند که شناسایی ساختار ژنتیک جمعیت‌های یک محدوده در بین گونه‌ها که به برنامه‌ریزی طرح‌های اصلاح‌نژادی کمک می‌کند حائز اهمیت است، زیرا آگاهی از ساختار ژنتیکی یک جمعیت در شناخت پتانسیل حفاظت جمعیت مذکور و ریسک در معرض انقراض قرار گرفتن گونه، امری بسیار با اهمیت است (Hughes و همکاران، ۱۹۹۷؛ Hilborn و همکاران، ۲۰۰۳). یکی از کاربردی‌ترین راه‌های شناسایی موجودات در خطر انقراض شناسایی تفاوت‌های ژنتیکی در توالی ژن‌های موجود در ژنوم میتوکندریایی با استفاده از تکنیک مولکولی است. به‌طوری‌که امروزه نواحی ژنوم میتوکندریایی به‌عنوان نشانگر ژنتیکی قوی به‌صورت گسترده کاربرد دارند (Patwardhan و همکاران، ۲۰۱۴؛ Hussain و همکاران، ۲۰۱۵). در میان ژنوم‌های مختلف نرخ جهش متفاوت است و ژن‌هایی که روند تکامل سریع‌تری دارند، تنوع ژنتیکی بالاتری در مقایسه با ژن‌هایی که کندتر تکامل می‌یابند نشان می‌دهند. از ژن‌هایی که تکامل سریع‌تری دارند در مطالعه گروه‌های نزدیک به هم (یعنی جمعیت‌ها و زیرگونه‌ها) و از ژن‌هایی که دیرتر تکامل می‌یابند در مطالعه گروه‌های دورتر (یعنی گونه‌ها، جنس‌ها و خانواده‌ها) استفاده می‌شود (Avise، ۲۰۰۰). بنابراین تفاوت در نرخ تکاملی ژن‌های مختلف بدین معنی است که با انتخاب ژن‌هایی که تکامل سریع‌تر یا آهسته‌تری دارند می‌توان گروه‌های مختلف تاکسونومیکی را مورد مطالعه قرار داد (Freeland و همکاران، ۲۰۱۱). ژن‌های ژنوم میتوکندریایی به‌دلیل متعدد کاربرد زیادی در مطالعه ژنتیک جمعیت دارند (Drummond و همکاران، ۲۰۰۵). ویژگی‌هایی نظیر کوچکی اندازه و یکسان بودن ترتیب قرارگیری ژن‌های آن در میان اغلب گونه‌ها این امکان را فراهم می‌آورد که بتوان با استفاده از آغازگرهای عمومی طیف وسیعی از موجودات مهره‌دار و بی‌مهره را مورد مطالعه قرار داد. ثانیاً با وجود حفاظت شده بودن و عدم تغییر در ترتیب قرارگیری ژن‌ها، ژنوم میتوکندریایی در جانوران از نرخ جهش بالایی برخوردار است (Wallace و همکاران، ۱۹۹۹؛ Ballard و Whitlock، ۲۰۰۴). ژنوم میتوکندریایی در شتر مانند سایر پستانداران از ۱۳ ژن کدکننده



جدول ۱: شماره دسترسی، کشور و گونه شترهای مورد استفاده در این پژوهش

ردیف	شماره دسترسی	گونه	کشور	ردیف	شماره دسترسی	گونه	کشور
۱	NC009849.1	تک کوهانه	دبی	۱۶	JN632608.1	دو کوهانه	فرانسه
۲	KX554931.1	تک کوهانه	ایران	۱۷	NC009628.2	دو کوهانه	آمریکا
۳	KX554932.1	تک کوهانه	ایران	۱۸	KX554925.1	دو کوهانه	ایران
۴	KX554933.1	تک کوهانه	ایران	۱۹	KX554926.1	دو کوهانه	ایران
۵	KX554934.1	تک کوهانه	ایران	۲۰	KX554927.1	دو کوهانه	ایران
۶	KU605072.1	تک کوهانه	قطر	۲۱	KX554928.1	دو کوهانه	ایران
۷	KU605073.1	تک کوهانه	عربستان	۲۲	KX554929.1	دو کوهانه	ایران
۸	KU605074.1	تک کوهانه	عربستان	۲۳	KX554930.1	دو کوهانه	ایران
۹	KU605075.1	تک کوهانه	عربستان	۲۴	EF212037.2	دو کوهانه	چین
۱۰	KU605076.1	تک کوهانه	اتریش	۲۵	EF212038.2	دو کوهانه	چین
۱۱	KU605077.1	تک کوهانه	دبی	۲۶	EF507798.2	دو کوهانه	چین
۱۲	KU605078.1	تک کوهانه	کنیا	۲۷	EF507799.2	دو کوهانه	چین
۱۳	KU605079.1	تک کوهانه	سودان	۲۸	EF507800.2	دو کوهانه	چین
۱۴	KU605080.1	تک کوهانه	پاکستان	۲۹	EF507801.2	دو کوهانه	چین
۱۵	EU159113.1	تک کوهانه	دبی	۳۰	AP003423.1	دو کوهانه	ژاپن

نتایج

پارامترهای تنوع ژنتیکی مانند تعداد کل جهش‌ها، تعداد هاپلوتایپ و تنوع نوکلئوتیدی محاسبه و نتایج در جدول ۲ نشان داده شده است. در مقایسه توالی شترهای تک کوهانه و دوکوهانه ۴۶ نوکلئوتید در توالی ۱۶sRNA، ۴۵ نوکلئوتید در ۱۲sRNA و ۴۴ نوکلئوتید در tRNA ها وجود دارد که در ژن‌های rRNA همه جهش‌ها مختص به یک نژاد هستند و هیچ جهش مشترکی بین شترهای تک کوهانه و دوکوهانه وجود نداشت اما در بین ژن‌های tRNA چهار جهش مشترک بین شترهای تک کوهانه و دو کوهانه در ژن‌های tRNA-Asn، Trp، tRNA-Gly و tRNA وجود دارد. از میان ۲۲ ژن tRNA و ۲ ژن tRNA میتوکندریایی، بیشترین تعداد هاپلوتایپ‌ها به ترتیب مربوط به ژن ۱۲sRNA (هاپلوتایپ ۱۱) با طول توالی ۹۶۷ نوکلئوتید و سپس ژن ۱۶sRNA (۸ هاپلوتایپ) با طول توالی ۱۵۶۰ نوکلئوتید بود. با توجه به این که ژن‌های tRNA دارای توالی ۷۴-۶۱ نوکلئوتیدی می‌باشند اما برخی از ژن‌های tRNA جهش بیش از یک جایگاه داشتند به طوری که بیشترین تعداد جهش در ژن‌های tRNA ۴ نوکلئوتید بود که در توالی نوکلئوتیدی ژن‌های tRNA-Trp (tRNA تریپتوفان)، tRNA-Asn (tRNA آسپارژین) و tRNA-Gly (tRNA گلايسین) مشاهده شدند به گونه‌ای که این جهش‌ها، ۳ هاپلوتایپ تشکیل می‌دهند (جدول ۲).

آنالیز تنوع ژنتیکی و شناسایی اثرات انتخاب: ابتدا توالی‌های

نوکلئوتیدی مربوط به ژن‌های tRNA و rRNA ابتدا با استفاده از رویه Clustal W در نرم‌افزار Mega 6 هم‌ردیف‌سازی چندگانه شدند. سپس در این مقایسه پارامترهای اساسی تنوع ژنتیکی مانند تعداد کل جهش‌ها، تعداد هاپلوتایپ و تنوع نوکلئوتیدی با استفاده از نرم‌افزار DnaSP v.5.10.05 (Rozas و Librado، ۲۰۰۹) محاسبه گردید. به منظور هرگونه انحراف از فرضیه صفر تکامل خنثی، تست‌های تکامل خنثی (Neutrality Test) شامل Fu's Fs و Tajima's D با استفاده از نرم‌افزار DnaSP v.5.10.05 محاسبه و از معنی‌داری آن‌ها اطمینان حاصل شد. سطوح معنی‌داری برای تست‌های Fu's Fs و Tajima's D به ترتیب ۰/۰۵ و ۰/۰۱ در نظر گرفته شد. هم‌چنین جهت بررسی وقوع نوترکیبی در ژن‌های rRNA ژنوم میتوکندری گونه‌های شتر از نرم‌افزارهای SimPlot (Lole و همکاران، ۱۹۹۹) و DnaSP v.5.10.05 استفاده شد.

مدل‌سازی ساختار دوم ژن‌های غیرکدشونده tRNA در

ژنوم میتوکندری شتر: ژن‌های غیرکدشونده tRNA موجود در ژنوم میتوکندری شتر که بیشترین جهش را داشتند با تست‌های تکامل خنثی در این پژوهش انتخاب شدند و برای بررسی پیامدهای ساختاری مورد آنالیز قرار گرفتند، ساختار دوم tRNA های ژنوم میتوکندری شتر با استفاده از مدل‌سازی براساس ساختار دوم حفاظت‌شده ژنوم میتوکندری پستانداران (Helm و همکاران، ۲۰۰۰) و با استفاده از نرم‌افزار kinemine (Xayaphoummine و همکاران، ۲۰۰۵) انجام شد و جهت بررسی ویژگی‌های ساختاری tRNA های پیش‌بینی شده از نرم‌افزار mfold (Zuker، ۲۰۰۳) استفاده شد.



جدول ۲: پارامترهای تنوع ژنتیکی در مقایسه توالی شترهای تک کوهانه و دوکوهانه

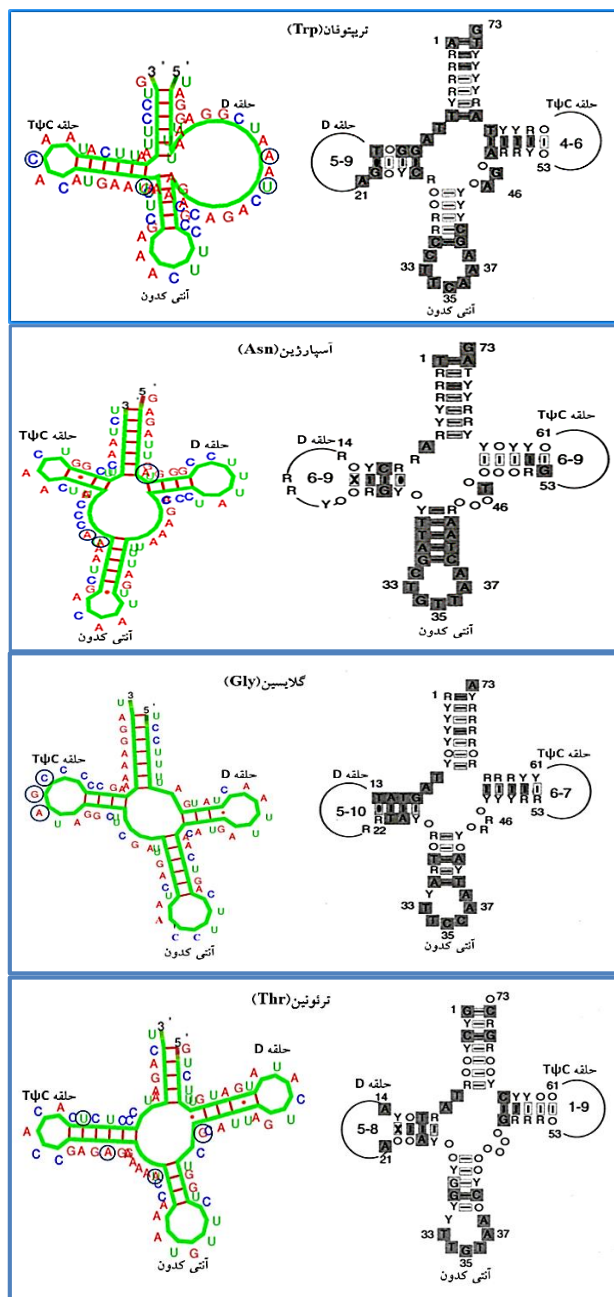
نام ژن	تعداد جایگاه متغیر	تعداد هاپلوتايب	تنوع نوکلئوتیدی	تست Tajima's D	تست Fu and Li's D	تست Fu and Li's F
۱۶sRNA	۴۶	۸	۰/۰۱۳	۲/۸۸۸**	۱/۳۶۰	۲/۱۹۷**
۱۲sRNA	۴۵	۱۱	۰/۰۲۰	۲/۷۹۸**	۱/۶۶۶**	۲/۳۲۵**
tRNA-phe	۳	۳	۰/۰۲۲	۲/۳۴۰*	۰/۹۴۹	۱/۵۶۲
tRNA-Val	۲	۲	۰/۰۱۵	۲/۱۳۰*	۰/۸۰۶	۱/۳۶۲
tRNA-Leu	۲	۲	۰/۰۱۳	۲/۱۳۰*	۰/۸۰۶	۱/۳۶۲
tRNA-Ile	۲	۳	۰/۰۱۴	۲/۰۵۵*	۰/۸۰۶	۱/۳۳۸
tRNA-Gln	۳	۲	۰/۰۲۱	۲/۴۴۷*	۰/۹۴۹	۱/۵۹۸
tRNA-Met	۱	۲	۰/۰۰۷	۱/۶۲۱	۰/۵۹۴	۱/۰۱۰
tRNA-Trp	۴	۳	۰/۰۳	۲/۵۸۱**	۱/۵۶۴*	۱/۸۴۸*
tRNA-Ala	۰	۱	۰	۰	۰	۰
tRNA-Asn	۴	۳	۰/۰۳	۲/۶۷۶**	۱/۵۶۴*	۱/۷۷۶*
tRNA-Cys	۲	۲	۰/۰۱۵	۲/۱۳۰*	۰/۸۰۶	۱/۳۶۲
tRNA-Tyr	۱	۲	۰/۰۰۷	۱/۶۲۱	۰/۵۹۴	۱/۰۱۰
tRNA-Ser	۰	۱	۰	۰	۰	۰
tRNA-Asp	۳	۲	۰/۰۲۳	۲/۴۴۷*	۰/۹۴۹	۱/۵۹۸
tRNA-Lys	۱	۲	۰/۰۰۷	۱/۵۰۷	۰/۵۹۴	۰/۹۷۴
tRNA-Gly	۴	۳	۰/۰۲۹	۲/۶۲۳**	۱/۵۵۴*	۱/۷۵۸*
tRNA-Arg	۲	۳	۰/۰۱۵	۲/۱۳۹*	۰/۸۰۶	۱/۳۶۵
tRNA-His	۱	۲	۰/۰۰۷	۱/۶۳۵	۰/۵۹۴	۱/۰۱۴
tRNA-Ser	۱	۲	۰/۰۰۸	۱/۶۲۱	۰/۵۹۴	۱/۰۱۰
tRNA-Leu	۱	۲	۰/۰۰۷	۱/۶۲۱	۰/۵۹۴	۱/۰۱۰
tRNA-Glu	۱	۲	۰/۰۰۷	۱/۶۲۱	۰/۵۹۴	۱/۰۱۰
tRNA-Thr	۴	۲	۰/۰۲۹	۲/۶۷۰**	۱/۵۵۸*	۱/۷۷۴*
tRNA-Pro	۲	۲	۰/۰۱۵	۲/۱۳۰*	۰/۸۰۶	۱/۳۶۲

مقادیر تنوع نوکلئوتیدی در این ژن‌های tRNA حدود ۰/۰۳ است که نسبت به ژن‌های ۱۲sRNA (۰/۰۲) و ۱۶sRNA (۰/۰۱۳) بالاتر می باشد. بنابراین تنوع ژنتیکی پایین ژن‌های tRNA با توجه به محاسبه پارامترهای اساسی تنوع مشهود است (جدول ۲). تست‌های خنثی شامل Fu's Fs و Tajima's D به منظور بررسی هرگونه انحراف از فرضیه صفر تکامل خنثی و شناسایی اثرات انتخاب طبیعی بر این ژن‌ها در شترهای تک کوهانه و دو کوهانه محاسبه و از معنی‌داری مقادیر به دست آمده اطمینان حاصل شد (جدول ۲). نتایج این مطالعه نشان داد که مقادیر تست‌های تکامل خنثی به طور معنی‌داری فقط برای ژن‌های ۱۲sRNA، ۱۶sRNA، tRNA-Trp، tRNA-Asn، tRNA-Gly و tRNA-Thr مثبت است و در این پژوهش هیچ کدام از ژن‌ها مقادیر عددی D و Fs منفی نشان ندادند. نتایج آنالیز نوترکیبی نشان داد هیچ جایگاه نوترکیبی در توالی ژن‌های مورد مطالعه وجود ندارد که به منزله عدم نوترکیبی است. برای بررسی پیامدهای ساختاری جهش‌های موجود در ژن‌های tRNA-Trp

شد و این ژن‌های tRNA با tRNA های ژنوم میتوکندری پستانداران که توسط Helm و همکاران (۲۰۰۰) ارائه شده است مقایسه شدند و نتایج پیش‌بینی و مقایسه ساختار tRNA های شتر با سایر پستانداران در شکل ۱ نشان داده شده است. جهش‌های موجود در توالی tRNA-Trp سبب تغییر شکل فضایی ساختار برگ شبدری tRNA-Trp و انرژی آزاد گیبس نسبت به سایر پستانداران شده است در tRNA-Trp دو جهش از چهار جهش در ناحیه حلقه D هستند و دو جهش دیگر در نواحی حلقه TψC و بازوی اضافی ساختار tRNA هستند اما برای سه tRNA-Asn، tRNA-Gly و tRNA-Thr به ترتیب جهش‌ها در بازوی D و بازوی آنتی‌کدون، حلقه TψC و بازوی D، بازوی TψC و بازوی آنتی‌کدون وجود دارند و این جهش‌ها تغییری در شکل فضایی ساختارهای برگ شبدری پیش‌بینی شده با ساختار tRNA های ژنوم میتوکندری پستانداران نشده‌اند.



نواحی جهان شده است. بنابراین مشخص کردن ویژگی‌های ژنتیکی و عملکردی شکل گرفته در جمعیت‌های باقی‌مانده برای حفظ و توسعه جمعیت باقی‌مانده ضروری می‌باشد. از نتایج مطالعاتی که تاکنون بر روی ژنوم میتوکندری شتر در سراسر جهان انجام شد می‌توان به نتایج تجزیه و تحلیل توالی ژنوم میتوکندریایی توسط Cui و همکاران (۲۰۰۷) اشاره کرد که نشان داد که دو گونه شتر دو کوهانه وحشی و Lama حدود ۲۵ میلیون سال پیش از یک جد مشترک جدا شده‌اند و هم‌چنین منشا اصلی شتر دو کوهانه اهلی و وحشی در شمال آمریکا رخ داده است و شترهای اهلی و وحشی دارای منشأ جدا از هم می‌باشند. در مطالعه دیگر از غندی و طهمورث‌پور (۱۳۹۳) بر روی ناحیه D-loop ژنوم میتوکندری شتر تک کوهانه و دو کوهانه ایران ۳ هاپلوتایپ در نژادهای تک کوهانه و ۶ هاپلوتایپ در نژادهای دو کوهانه مشاهده کردند. نتایج این محققین 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 می‌باشند دارد که این امر ممکن است به دلیل قرابت ژنتیکی بسیار نزدیک شترهای ایرانی با نژادهای عربی باشد. شهابی و طهمورث‌پور (۱۳۹۳) در مقایسه توالی نوکلئوتیدی و اسیدامینه‌ای ژن‌های NADH3 و NADH4L ژنوم میتوکندری شتر دو کوهانه ایران با سایر گونه‌ها نشان دادند که این گونه با شتر دو کوهانه اهلی دارای قرابت ژنتیکی نزدیکی است و با Lama که شتر دو کوهانه وحشی کم‌ترین قرابت ژنتیکی را دارند. عباسی و همکاران (۱۳۹۵) در نتایج خود مبنی بر بررسی ژن COX3 از ژنوم میتوکندری شتر تک کوهانه و دو کوهانه ایران گزارش کردند که توالی نوکلئوتیدی در این دو گونه شتر با توالی نوکلئوتیدی شتر تک کوهانه عربی و شتر دو کوهانه باختری بیش‌تری همولوژی را دارد و این دو گونه شتر ایرانی دارای فاصله ژنتیکی نزدیکی دارند و با گونه شتر Lama کم‌ترین قرابت ژنتیکی را دارند. نتایج تحقیق حاضر نشان دادند که تفاوت‌ها در پارامترهای تنوع ژنتیکی نشان می‌دهد که فرایند تکامل برای هر کدام از ژن‌ها (RNA ریبوزومی و ناقل) متفاوت است یعنی فشار انتخاب متفاوتی به آن‌ها اعمال شده است. در بین گونه‌هایی که انتخاب جهت دار عمل کرده باشد یا افزایش معنی‌دار در اندازه جمعیت موثر شده باشد، مقادیر تست‌های خنثی منفی و معنی‌دار می‌باشد، در حالی که مقادیر مثبت و معنی‌دار این تست‌ها نشان‌دهنده اثرات مربوط به رانش ژنتیکی، تنگناهای ژنتیکی و یا اثر انتخاب متعادل‌کننده در طول تاریخ تکاملی گونه‌ها است. در این پژوهش هیچ کدام از ژن‌ها مقادیر عددی D و Fs منفی نشان ندادند که این نتایج می‌تواند به دلیل این که ژنوم میتوکندری تک‌والدی و هاپلوئید است نسبت به تنگناهای ژنتیکی و رانش ژنتیکی حساس است رخ دهد (Chen و همکاران، ۱۹۹۵؛ Manfredi و همکاران، ۱۹۹۷). از طرف دیگر مطالعات نشان داده‌اند که تست Fu's Fs برای جمعیت‌های با



شکل ۱: پیش بینی ساختار tRNA هایی که بیشترین جهش را داشتند و مقایسه ساختار آن‌ها با tRNA پستانداران

(ساختارهای برگ شبدری سبز رنگ در سمت چپ، مربوط به ساختارهای پیش‌بینی شده در این پژوهش و ساختارهای مشکلی در سمت راست مربوط به پستانداران می‌باشند که از پژوهش Helm و همکاران (۲۰۰۰) اقتباس شده‌اند).

بحث

کاهش در اندازه جمعیت شترهای تک کوهانه و به خصوص دو کوهانه منجر به نگرانی‌هایی در مورد حفظ نژادهای کمیاب در بسیاری از



- subunit genes of cytochrome c oxidase in five chicken breeds. *Mitochondrial DNA*. Vol. 19, pp: 461-464.
۷. **Chen, X.; Prosser, R.; Simonetti, S.; Sadlock, J.; Jagiello, G. and Schon, E.A., 1995.** Rearranged mitochondrial genomes are present in human oocytes. *American Journal of Human Genetics*. Vol. 57, pp: 239-247.
 ۸. **Cooper, G.M. and Hausman, R.E., 2007.** *The Cell: A Molecular Approach*. 4th ed. OXFORD UNIV PR, Sinauer Associates, Inc.
 ۹. **Cui, P.; Ji, R.; Ding, F.; Qi, D.; Gao, H.; Meng, H.; Yu, J.; Hu, S. and Zhang, H., 2007.** A complete mitochondrial genome sequence of the wild two-humped camel (*Camelus bactrianus ferus*): an evolutionary history of camelidae. *BMC Genomics*. Vol. 8, 241 p.
 ۱۰. **Drummond, A.J.; Rambaut, A.; Shapiro, B. and Pybus, O.G., 2005.** Bayesian coalescent inference of past population dynamics from molecular sequences. *Molecular Biology and Evolution*. Vol. 22, pp: 1185-1192.
 ۱۱. **Freeland, J.R.; Petersen, S.D. and Kirk, H., 2011.** *Molecular Ecology*. 2th Edition. Wiley-Blackwell. New Jersey, United States.
 ۱۲. **Gray, M., 2012.** *Mitochondrial Evolution*. Cold Spring Harbor perspectives in biology. Vol.4, pp:011403.
 ۱۳. **Han, J.; Ochieng, J.W.; Lkhagva, B. and Hanotte, O., 2004.** Genetic diversity and relationship of domestic Bactrian camels (*Camelus bactrianus*) in China & Mongolia. *Journal of Camel Practice and Research* Vol 11 pp: 97-99.
 ۱۴. **Helm, M.; Brulé, H.; Friede, D.; Giege, R.; Puetz, D.O.E.R.N. and Florentz, C., 2000.** Search for characteristic structural features of mammalian mitochondrial tRNAs. *RNA*. Vol. 6, pp: 1356-1379.
 ۱۵. **Hilborn, R.; Quinn, T. P.; Schindler, D.E. and Rogers, D.E., 2003.** Biocomplexity and fisheries sustainability. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. Vol. 100, pp: 6564-6568.
 ۱۶. **Hughes, J.B.; Daily, G.C. and Ehrlich, P.R., 1997.** Population diversity: its extent and extinction. *Science*. Vol. 278, pp: 689-692.
 ۱۷. **Hussain, T.; Babar, M.E.; Musthafa, M.M.; Saif, R.; Hussain, F.; Aqeel, M. and Yaqub, A., 2015.** Mitochondrial ATP6 and ATP8 genes based molecular diversity and phylogenetic analysis in Punjab ural. *Journal of Animal and Plant Sciences* Vol 25 pp:311-317.
 ۱۸. **Ji, R.; Cui, P.; Ding, F.; Geng, J.; Gao, H.; Zhang, H.; Yu, J.; Hu, S. and Meng, H., 2009.** Monophyletic origin of domestic bactrian camel (*Camelus bactrianus*) and its evolutionary relationship with the extant wild camel. *Animal Genetic*. Vol. 40, pp: 377-382.
 ۱۹. **Kujoth, G.C.; Bradshaw, P.C.; Haroon, S. and Prolla, T.A., 2007.** The Role of Mitochondrial DNA Mutations in Mammalian Aging. *PLoS Genetic*. Vol. 3, pp: e24.
 ۲۰. **Librado, P. and Rozas, J., 2009.** DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*. Vol. 25, pp: 1451-1452.
 ۲۱. **Lole, K.S.; Bollinger, R.C.; Paranjape, R.S.; Gadkari, D.; Kulkarni, S.S.; Novak, N.G.; Ingersoll, R.; Sheppard, H.W. and Ray, S.C., 1999.** Full-Length Human Immuno deficiency Virus Type 1 Genomes from Subtype C-Infected Seroconverters in India, with Evidence of Intersubtype Recombination. *Virology Journal*. Vol. 73, pp: 152-160.
 ۲۲. **Manfredi, G.; Thyagarajan, D.; Papadopoulou, L.C.; Pallotti, F. and Schon E.A., 1997.** The fate of human sperm derived mtDNA in somatic cells. *The American Journal of Human Genetics*. Vol 61 pp: 953-960.
 ۲۳. **Patwardhan, A.; Samit, R. and Amit, R., 2014.** Molecular markers in phylogenetic studies: a review. *Journal of Phylogenetics and Evolutionary Biology*.
 ۲۴. **Ramos-Onsins S.E. and Rozas, J., 2002.** Statistical properties of new neutrality tests against population growth. *Molecular Biology and Evolution*. Vol. 19, pp: 2092-2100.
 ۲۵. **Tamura, K.; Stecher, G.; Peterson, D.; Filipski, A. and Kumar, S., 2013.** MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*. Vol. 30, pp: 2725-2729.
 ۲۶. **Wallace, D.; Brown, M. and Lott, M., 1999.** Mitochondrial DNA variation in human evolution and disease. *Gene*. Vol 238 pp: 211-230.
 ۲۷. **Xayaphoummine, A.; Bucher, T. and Isambert, H., 2005.** Kinefold web server for RNA/DNA folding path and structure prediction including pseudoknots and knots. *Nucleic Acids Research* Vol 33 pp: W605-W610.
 ۲۸. **Zuker, M., 2003.** Mfold web server for nucleic acid folding and hybridization prediction. *Nucleic acids research*. Vol. 31, pp: 3406-3415.
- اندازه کوچک و تست Tajima's D و برای جمعیت‌های با اندازه بزرگ کاراتراس (Ramos-Onsins و Rozas, ۲۰۰۲). عدم معنی‌داری نتایج تست‌ها برای برخی ژن‌های مورد مطالعه در جدول ۲ ممکن است به دلیل تعداد اندک نمونه‌های به کار گرفته شده در این آنالیز باشد. در توالی ژن‌های مورد مطالعه در این پژوهش هیچ جایگاه نوترکیبی وجود نداشت که به منزله عدم نوترکیبی است این نتایج حاکی از این است که ژنوم میتوکندری پستانداران بدون هیچ‌گونه تغییری از مادر به فرزند منتقل می‌شود (Yi و همکاران, ۲۰۱۷). هم‌چنین می‌توان بیان کرد که عدم وجود نوترکیبی در ژنوم میتوکندری و توارث تک‌والدی و هاپلوئید بودن ژنوم که منجر به کاهش قابل توجه در اندازه ژنوم میتوکندری در مقایسه با ژنوم هسته‌ای می‌شود، تأثیرپذیری آن را از مشکلات رایج مانند رانش ژنتیکی و بروز تنگنای ژنتیکی در جمعیت در مقایسه با ژنوم هسته‌ای افزایش می‌دهد. به‌طور کلی از این تجزیه و تحلیل می‌توان چنین نتیجه گرفت که ژن‌های tRNA ای که تنوع ژنتیکی بالاتری دارند فشار انتخاب آن‌ها نسبت به ژن‌های rRNA منفی‌تر است که حاکی از این است که تحت فشار انتخاب منفی شدیدتری می‌باشند و براساس این تجزیه و تحلیل بیوانفورماتیکی پیشنهاد می‌شود که برخی از موقعیت‌های متغیر نوکلئوتیدی شناسایی شده در ژن‌های RNA غیر کدشونده ممکن است برای عملکرد میتوکندری و تنظیم آن مهم باشد و این جهش‌ها در شناسایی روابط تکاملی گونه‌های شتر می‌توانند موثر باشند. هم‌چنین با توجه به این که ژن‌های RNA ریبوزومی و ناقل جزء ژن‌های ساختاری و غیر کدکننده میتوکندریایی می‌باشند، می‌توانند به‌عنوان نشانگر مناسب برای رمزنگار مولکولی در گونه‌های شتر به کار روند.

منابع

۱. ازغندی، م. و طهمورث پور، م.، ۱۳۹۳. تجزیه و تحلیل ژنتیکی و فیلوژنتیکی ناحیه دی لوب در شترهای تک کوهان و دو کوهان ایران. پژوهش در نشخوارکنندگان. دوره ۳، شماره ۲، صفحات ۹۳ تا ۱۰۸.
۲. شهبایی، ا. و طهمورث پور، م.، ۱۳۹۳. تجزیه و تحلیل بیوانفورماتیکی و فیلوژنتیکی ژن‌های NADH3 و NADH4L ژنوم میتوکندری شتر دو کوهانه ایران. بیوتکنولوژی کشاورزی. دوره ۷، شماره ۳، صفحات ۱۶۳ تا ۱۷۳.
۳. عباسی دلویی، ط.؛ سخاوتی، م.ه. و طهمورث پور، م.، ۱۳۹۵. تجزیه و تحلیل بیوانفورماتیکی و فیلوژنتیکی ژن COX3 میتوکندری شترهای تک کوهانه و دو کوهانه ایران. پژوهش‌های علوم دامی ایران. شماره ۲، صفحات ۳۶۱ تا ۳۶۹.
۴. **Avice, J.C., 2000.** *Phylogeography: the history and formation of species*. Harvard University Press. Massachusetts, United States.
۵. **Ballard, J.W.O. and Whitlock, M.C., 2004.** The incomplete natural history of mitochondria. *Molecular Ecology*. Vol. 13, pp: 729-744.
۶. **Bao, H.; Zhao, C.; Zhang, L.; Li, J. and Wu, C., 2008.** Single-nucleotide polymorphisms of mitochondrially coded