

Research Article

Vol. 18, No.1, 2026, p. 121-135



Phylogeny Analysis and Determination of Haplogroups of Different Sheep Breeds Based on the Complete Mitochondrial Genome

Fereshteh Ehsanifar¹, Gholam Reza Dashab^{1*}, Hossein Bazzi¹

1- Department of Animal Science, University of Zabol, Zabol, Iran

*Corresponding Author's Email: dashab@uoz.ac.ir

Received: 21-08-2025

Revised: 27-12-2025

Accepted: 28-12-2025

Available Online: 04-04-2026

How to cite this article:Ehsanifar, F., Dashab, G. R. & Bazzi, H. (2026). Phylogeny analysis and determination of haplogroups of different sheep breeds based on the complete mitochondrial genome. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 18(1), 121-135. (in Persian with English abstract).<https://doi.org/10.22067/ijasr.2025.95040.1268>

Introduction: Domestic sheep (*Ovis aries*), one of the earliest domesticated animal species, have played a major role in human nutrition and clothing and have expanded to nearly all regions of the world through human migrations. The genetic diversity of domestic sheep is crucial for understanding their domestication history and evolutionary relationships. This study was conducted to investigate the genetic diversity and phylogenetic structure, with particular emphasis on indigenous Iranian breeds.

Materials and Methods: In the present study, a total of 933 mitochondrial genome nucleotide sequences of domestic sheep, representing 202 breeds from 49 countries, were retrieved from the NCBI Genome Database. The dataset was classified into 14 geographical regions. The sequences were aligned using MAFFT v7.526 on the Galaxy v25.0.2 platform with the FFT-NS-2 algorithm. Nucleotide composition, genetic distance, and the number of transition and transversion mutations were calculated using MEGA12 software. Genetic diversity parameters, including nucleotide diversity (π), mean number of nucleotide differences (k), number of haplotypes, polymorphic sites, and total number of mutations, were estimated using DnaSP 6. A phylogenetic tree for the entire dataset was constructed in MEGA12 using the Neighbor-Joining algorithm, the resulting tree was visualized using iTOL v7. Molecular variance analysis was performed using Arlequin 3.5. Neutrality tests to assess nucleotide diversity deviations from the neutral evolution hypothesis and to detect signatures of natural selection (Tajima's D and Fu's F_s) were conducted in DnaSP 6. The obtained haplotypes were matched against the reference genome in the National Center for Biotechnology Information (NCBI) using BLAST. Haplotype networks for Iranian breeds were constructed using PopART1.7, while NETWORK 4.1 was used for the entire dataset.

Results and Discussion: The results revealed significant haplotype diversity across different regions and Iranian breeds, highlighting patterns of genetic differentiation within and between populations. The mean nucleotide composition indicated an AT-rich sequence. The level of conserved sequences across all samples was 0.861. A total of 686 haplotypes were identified globally, including 57 haplotypes in Iran. The haplotype network, with over 500 unique haplotypes and the predominance of haplogroup B in Europe and Africa, haplogroup A in Asia, confirmed the Fertile Crescent origin and global dispersal. Haplogroup B, with a



Authors retain the copyright. This is an open access article distributed under Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0)

 <https://doi.org/10.22067/ijasr.2025.95040.1268>

frequency of 528, was the most prevalent across geographical regions, while haplogroup D, with only 3 occurrences, was the least frequent. The highest haplogroup diversity was observed in geographical regions 2, 3, and 5 (West Asia, Central Asia and East Asia). Haplogroup E was detected in Georgia, China, Afghanistan, and Palestine, while haplogroup D was observed in Turkey and Georgia. Haplogroups A and B were present in all geographical regions. In Iran, the frequencies of haplogroups were 52% for A, 30% for B, and 18% for C. Out of 72 samples, 57 haplotypes were identified, of which 80% were unique. Mitochondrial genome sequences from Iranian local breeds exhibited haplogroups A, B, and C. Haplogroups A and B were observed in Moghani and Maku breeds, A and C in Baluchi and Shirazi Gray breeds, A in Shal breed, and A, B, and C in Afshari and Qaregol breeds. Tajima's D and Fu's Fs statistics were negative in 13 geographical regions, indicating population expansion, particularly in regions with ancient domestication histories. The phylogenetic tree revealed evolutionary relationships between Iranian breeds and global populations. Most studied breeds clustered in closely related branches, suggesting gene flow between different geographical regions and historical admixture. Asian populations exhibited higher haplotype diversity compared to European populations. Molecular variance analysis revealed that the majority of genetic variance (71.53%) occurred within populations, indicating high genetic diversity at the local level. However, 23.68% of the variation was observed among four continental groups, reflecting significant genetic differentiation across continents (Asia, Europe, Africa, and South America). The high statistical significance of these indices confirms the presence of a robust genetic structure and significant differentiation between continents and populations, likely reflecting the influence of geographical, historical, or ecological factors on genetic dispersal.

Conclusion: This study demonstrated that the mitochondrial genetic diversity of domestic sheep has been shaped by the intertwined processes of domestication, human migrations, and subsequent gene flow. A significant genetic structure was observed among geographical regions, with high local diversity primarily attributed to within-population differences. Haplogroup patterns, particularly the predominance of haplogroup B and the geographical distribution of haplogroups A and C, indicate rapid expansion following domestication and the influence of ancient trade routes. These findings underscore the importance of conserving high genetic diversity, particularly in regions like Iran with unexplored genetic potential, and highlight the need for more advanced genomic studies. To preserve the genetic diversity of domestic sheep and sustainably utilize their genetic potential, conservation strategies focused on local populations with high diversity, especially in regions like Iran, should be designed and implemented.

Keyword: Evolution, Genetic diversity, Gene flow, Phylogenetics

تجزیه فیلوژنی و تعیین هاپلوگروه نژادهای مختلف گوسفند براساس ژنوم کامل میتوکندریایی

فرشته احسانی فرا^۱، غلامرضا داشاب^{۱*} و حسین بزی^۱

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۵/۳۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۱۰/۰۷

چکیده

تنوع ژنتیکی گوسفندان اهلی (*Ovis aries*) نقش مهمی در درک تاریخچه اهلی سازی و روابط تکاملی آن ها دارد. هدف این مطالعه، بررسی تنوع ژنتیکی و ساختار فیلوژنی، توالی های کامل میتوکندریایی ۹۳۳ نمونه از ۴۹ کشور جهان، با تأکید ویژه بر نژادهای بومی ایران بود. هم تراز و رسم درخت فیلوژنی به روش اتصال-همسایگی به وسیله نرم افزار MEGA12 انجام شد. تنوع نوکلئوتیدی، هاپلوئیدی و جایگاه های چندشکلی و انواع جهش ها توسط نرم افزار DNAsp نسخه ۶ و تجزیه واریانس مولکولی به وسیله ARLIQUIN3.5 محاسبه گردید. برای رسم شبکه هاپلوگروهی از popART1.7 و NETWORK4.163 استفاده شد. داده ها از طریق شناسایی هاپلوטיפ ها، ترسیم شبکه های هاپلوטיפی، تحلیل های آماری (تاجیما Fu's F_D و AMOVA) و ساخت درخت فیلوژنی بررسی گردید. میزان توالی حفاظت شده در کل ۰/۸۶۱ بود. تعداد ۶۸۶ هاپلوטיפ در کل (بیش از ۵۰۰ هاپلوטיפ منحصر به فرد) و ۵۷ هاپلوטיפ در ایران شناسایی شدند. غلبه هاپلوگروه A در آسیا و B در اروپا منشأ هلال حاصلخیز و پراکندگی جهانی را تأیید کرد. تجزیه واریانس مولکولی ۲۳/۶۸ درصد از تنوع بین قاره ها، ۴/۷۹ درصد بین جمعیت ها در قاره ها و ۷۱/۵۳ درصد درون جمعیت ها را نشان داد. نژادهای ایرانی در هاپلوگروه های A، B و C گروه بندی شدند. آماره های تاجیما Fu's F_D و Fu's F_D در ۱۳ منطقه جغرافیایی منفی به دست آمد که گسترش جمعیتی را به ویژه در مناطق با تاریخچه اهلی سازی باستانی نشان داد. جمعیت های آسیایی تنوع هاپلوטיפی بالاتری نسبت به جمعیت های اروپایی داشتند. این یافته ها نقش اهلی سازی، مهاجرت و انتخاب را در شکل دهی تنوع ژنتیکی گوسفندان روشن کرده و بر اهمیت حفاظت از تنوع و مطالعات ژنومی تکمیلی تأکید دارد.

واژه های کلیدی: تکامل، تنوع ژنتیکی، جریان ژنی، گوسفندان اهلی

مقدمه

امروزی، عراق، شرق ترکیه و بخش هایی از شام اهلی شدند (Lv et al., 2015; Wanjala et al., 2021; Koshkina et al., 2023). پراکنش گوسفندان اهلی همراه با مهاجرت های انسانی رخ داده است. دو مسیر اصلی در پراکنش نژادهای گوسفند در دنیا گزارش شده است یکی از طریق دریای مدیترانه و دره دانوب که به اروپا رسیدند و دیگری از طریق قفقاز و استپ های روسیه به شمال و جنوب غربی چین، فلات مغولستان و شبه قاره هند گسترش یافتند. گسترش گوسفندان در اروپا، ابتدا از شمال ایتالیا و جنوب فرانسه شروع شده و سپس به بخش های اروپای مرکزی و شمالی کشیده شدند (Koshkina et al., 2023).

ژنوم میتوکندریایی، ابزاری ضروری در مطالعات ژنتیک تکاملی و ژنتیک جمعیت محسوب می شود که دارای چندین ویژگی مطلوب شامل تعداد و مقدار فراوان در سلول، اندازه کوچک ژنوم، حالت هاپلوئید، وراثت مادری، نرخ جهش بالاتر نسبت به DNA هسته ای و

گوسفندان اهلی^۲ از نخستین حیوانات اهلی شده به شمار می روند و نقش کلیدی در تأمین غذا، پوشاک و مواد خام جوامع بشری ایفا کرده اند. براساس آمار FAO، جمعیت گوسفندان اهلی در جهان در سال ۲۰۲۱ بالغ بر ۱/۲۸۴ میلیارد رأس بوده و تا سال ۲۰۲۲ تعداد ۱۳۸۴ نژاد مختلف گوسفند شناسایی شده است (FAO, 2023). اکثر این نژادها از اورپال آسیایی^۳ منشأ گرفته اند که حدود ۸ تا ۱۱ هزار سال پیش در منطقه هلال حاصلخیز، به ویژه کوه های زاگرس (ایران

۱- گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

(Email: dashab@uoz.ac.ir)

*) نویسنده مسئول:

<https://doi.org/10.22067/ijasr.2025.95040.1268>2- *Ovis aries*3- *Ovis orientalis*

ردیابی هاپلو تیپ‌ها، محاسبه شبکه‌های هاپلوگرومی، ارزیابی تنوع ژنتیکی از طریق تحلیل‌های آماری (تاجیما D و AMOVA) و ترسیم درخت فیلوژنتیک برای بررسی روابط تکاملی و الگوهای مهاجرت جمعیت‌های گوسفندی در سطح جهانی و نژادهای بومی ایران بود.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش، از مجموع ۱۰۰۰ توالی کامل ژنوم میتوکندری گوسفندان اهلی که در ابتدا از بانک اطلاعاتی ژنوم (GenBank) NCBI استخراج شدند، پس از اعمال معیارهای کنترل کیفی، ۹۳۳ توالی نهایی مربوط به ۲۰۲ نژاد و ۴۹ کشور انتخاب گردید. معیارهای حذف شامل موارد زیر بودند:

الف- توالی‌های ناقص یا فاقد پوشش کامل منطقه کنترلی (D-loop) و ژن‌های کدکننده،

ب- توالی‌های با کیفیت پایین (Phred score <30) یا حاوی تعداد زیادی نوکلئوتید مبهم (N) یا گپ،

ج- توالی‌های تکراری از یک نژاد یکسان،

د- توالی‌های هیبرید یا دارای آلودگی آشکار (تأییدشده با BLAST و درخت فیلوژنتیکی مقدماتی)،

ه- نمونه‌های فاقد اطلاعات دقیق جغرافیایی یا نژادی.

این فرآیند ارزیابی کیفی، مجموعه داده‌ای یکدست، با کیفیت بسیار بالا و عاری از خطای نمونه‌گیری ایجاد کرد که نماینده واقعی تنوع جهانی گوسفندان اهلی دنیا باشند و قابلیت اطمینان نتایج فیلوژنتیکی و تحلیل‌های جمعیتی بعدی را به‌طور قابل ملاحظه‌ای افزایش دهد. داده‌ها به ۱۴ منطقه جغرافیایی تقسیم‌بندی شدند (جدول ۱). تقسیم‌بندی مناطق جغرافیایی در جدول ۱ براساس ترکیبی از معیارهای جغرافیایی-زیستی استاندارد، طبقه‌بندی‌های پذیرفته‌شده در مقالات مرجع تنوع ژنتیکی گوسفند، موقعیت جغرافیایی واقعی مراکز اصلی اهلی‌سازی و مسیرهای تاریخی مهاجرت گوسفندان با محوریت جداگانه برای ایران انجام شده است.

توالی‌های مذکور به‌منظور دستیابی به نواحی مشترک با استفاده از ابزار MAFFT7.526 (Katoh & Standley, 2013) در پلتفرم Galaxy25.0.2 (Afgan et al., 2022) به‌وسیله الگوریتم-FFT NS-2 هم‌تراز شدند. ویرایش توالی هم‌تراز شده، محاسبه فراوانی نوکلئوتیدی، فاصله ژنتیکی، تعداد جهش‌های انتقالی^۲ و تقاطعی^۳، به‌وسیله نرم‌افزار MEGA نسخه ۱۲ (Kumar et al., 2024) انجام شد. برای به‌دست آوردن نسبت تبدیل انتقالی/تقاطع (R) از معادله ۱ استفاده شد.

نرخ پایین نوترکیبی می‌باشد. همه این ویژگی‌ها، ژنوم میتوکندری را به نشانگری سودمند و یکی از پرکاربردترین نشانگرها در ژنتیک مولکولی تبدیل کرده است و معمولاً از آن برای تعیین ساختار جمعیت، تنوع ژنتیکی، تکامل جمعیت و مطالعات فیلوژنی جانوران استفاده می‌شود (Nikbaksh et al., 2022; Jalilian Majd et al., 2023).

مطالعات متعددی برای ردیابی دودمان مادری، ایجاد روابط فیلوژنتیکی و بررسی ساختار و تنوع جمعیت براساس حلقه D و ژن CytB انجام شده است (Koshkina et al., 2023). تحلیل‌های گذشته روی توالی میتوکندریایی گوسفندان نشان داده که همه گوسفندان اهلی دنیا به پنج هاپلوگروه اصلی مادری تقسیم می‌شوند که با حروف A، B، C، D و E نام‌گذاری شده‌اند (Ilmira et al., 2018; Meadows et al., 2011; Kandoussi et al., 2020; et al., 2015). برخی از آن‌ها دارای محدوده جغرافیایی خاصی هستند و دلالت بر خاستگاه‌های مادری متعدد و احتمالاً رویدادهای اهلی‌سازی مستقل در گوسفندان دارند (Lv et al., 2015). در آسیا هاپلوگروه‌های A و B و در اروپا هاپلوگروه B غالب است. هاپلوگروه C با تنوع ژنتیکی بیشتری نسبت به A و B مشخص می‌شود. این هاپلوگروه در پرتغال، قفقاز، خاورمیانه و آسیا یافت می‌شود. هاپلوگروه D نزدیک‌ترین هاپلوگروه به کوچ کوهی^۱ است (Koshkina et al., 2023) که با هاپلوگروه A مرتبط است و در گوسفندان کراچی، رومانیایی و قفقازی وجود دارد. هاپلوگروه E در خاورمیانه، سوریه، فلسطین و ترکیه یافت می‌شود. به‌طور کلی، هاپلوگروه‌های D و E نادرترین هاپلوگروه‌ها هستند که فقط در گوسفندان ترکیه، قفقاز، اروپا، تبت و ایران شناسایی شده‌اند. این هاپلوگروه‌ها احتمالاً از ۵ تا ۳۵ هزار سال پیش تشکیل شده‌اند (Koshkina et al., 2023; Wanjala et al., 2021; Ilmira et al., 2018; Meadows et al., 2020; et al., 2011).

تجزیه و تحلیل فیلوژنتیکی روشی است که با بررسی جهش‌های نقطه‌ای، حذف و اضافه‌ها و آرایش‌های مجدد، چگونگی تکامل، جدایی و خویشاوندی بین افراد یا جمعیت‌های یک گونه را نشان می‌دهد (Kalaydzhev et al., 2023). تنوع ژنتیکی برای تکامل یک جمعیت یا گونه در صورت تغییرات در شرایط آب‌وهوایی یا محیطی و همچنین افزایش سازگاری حیوانات در شرایط محیطی موجود ضروری است (Wanjala et al., 2021). یک مطالعه جامع از کل ژنوم میتوکندریایی امکان رمزگشایی از رویدادهای تکاملی که در طول مهاجرت جمعیت‌های گوسفندان اهلی در طول تاریخ اهلی‌سازی آن‌ها در ایران و سایر کشورها رخ داده است، فراهم می‌کند. هدف این تحقیق، تحلیل توالی‌های کامل میتوکندری ۹۳۳ نمونه از گوسفندان اهلی از ۴۹ کشور با تأکید ویژه بر نژادهای ایرانی، به‌منظور شناسایی و

2- Transition

3- Transversion

1- Ovis gmelini anatolica Valenciennes

جدول ۱- مناطق جغرافیایی، نژادها و کشورهای دارای گوسفندان اهلی استخراجی از پایگاه اطلاعاتی NCBI
Table 1- Geographical regions, breeds and countries with domestic sheep extracted from the NCBI database

منطقه Region	منطقه جغرافیایی Geographical area	نام کشورها Names of countries	تعداد نمونه Number of samples	تعداد نژاد Breed number
1	آسیای مرکزی Central Asia	ایران Iran	72	9
2	غرب آسیا West Asia	کردستان عراق، عراق، فلسطین، ترکیه Iraqi Kurdistan, Iraq, Palestine, Türkiye	29	9
3	آسیای مرکزی Central Asia	افغانستان، قزاقستان، آذربایجان، گرجستان، ازبکستان Afghanistan, Kazakhstan, Azerbaijan, Georgia, Uzbekistan	38	8
4	جنوب آسیا South Asia	هند، پاکستان، نپال، سریلانکا، اردن India, Pakistan, Nepal, Sri Lanka, Jordan	122	28
5	شرق آسیا East Asia	چین، مغولستان China, Mongolia	172	41
6	شمال اروپا Northern Europe	نروژ، سوئد، فنلاند، ایسلند Norway, Sweden, Finland, Iceland	65	13
7	جزایر بریتانیا British Isles	ایرلند، اسکاتلند، انگلیس، ولز Ireland, Scotland, England, Wales	32	12
8	غرب اروپا Western Europe	آلمان، هلند، فرانسه، اسپانیا، جمهوری چک، سوئیس Germany, Netherlands, France, Spain, Czech Republic, Switzerland	95	19
9	جنوب و شرق اروپا Eastern and Southern Europe	ایتالیا، رومانی، صربستان، کرواسی، لهستان Italy, Romania, Serbia, Croatia, Poland	57	15
10	شمال و شرق آفریقا East and North Africa	مصر، لیبی، اتیوپی، چاد، مراکش Egypt, Libya, Ethiopia, Chad, Morocco	91	16
11	جنوب و غرب آفریقا West and South Africa	نیجریه، بورکینافاسو، بنین Nigeria, Burkina Faso, Benin	36	6
12	شمال آسیا North Asia	روسیه، اوکراین Russia, Ukraine	107	19
13	اقیانوسیه Oceania	استرالیا، اندونزی Australia, Indonesia	6	4
14	آمریکای جنوبی South America	برزیل Brazil	11	4

که در آن، X: فراوانی هاپلوتیپی از هر هاپلوتیپ در نمونه و n: اندازه نمونه است. ضریب تمایز ژنتیکی براساس معادله ۳ محاسبه گردید.

$$F_{ST} = \frac{F_B - F_W}{F_W} \quad \text{معادله (۳)}$$

که در آن، F_{ST} : شاخص تثبیت ژنتیکی، F_B : میانگین تفاوت‌های بین دو فرد در جمعیت‌های مختلف و F_W : میانگین تفاوت‌های بین دو فرد در درون یک جمعیت می‌باشد (Manesh et al., 2022).

درخت فیلوژنتیکی کل جمعیت (۹۳۳ توالی کامل میتوکندری) با استفاده از الگوریتم اتصال-همسایگی^۱ (NJ) در نرم‌افزار MEGA نسخه ۱۲ ترسیم شد. برای بهبود زیبایی‌شناسی و افزودن اطلاعات تکمیلی (نژاد، کشور و هاپلوگروه)، درخت نهایی در پلتفرم آنالین

$$R = \frac{[A \times G \times K_1 + T \times C \times K_2]}{[(A + G) \times (T + C)]} \quad \text{معادله (۱)}$$

که در آن، K_1 : نسبت انتقال برای پورین‌ها و K_2 : برای پیریمیدین‌ها است. برای محاسبه فراسنجه‌های تنوع ژنتیکی شامل تعداد جایگاه‌های چندشکلی (S)، میانگین تعداد تفاوت‌های نوکلئوتیدی (K)، تعداد هاپلوتیپ‌ها (H)، تنوع هاپلوتیپی (Hd) و تعداد کل جهش‌ها (Eta) از نرم‌افزار DNAsp نسخه ۶ استفاده شد (Rozas et al., 2017) تنوع هاپلوتیپی مطابق با معادله ۲ محاسبه شد.

$$H = \frac{n}{n-1} \left(1 - \sum_{i=1}^n X_i^2 \right) \quad \text{معادله (۲)}$$

نتایج و بحث

نتایج حاصل از درصد جایگزینی توالی نوکلئوتیدی ژنوم کامل میتوکندریایی گوسفندان اهلی در (جدول ۲) ارائه شده است. احتمال جایگزینی نوکلئوتیدی هر باز براساس مدل تامورا-نتی محاسبه شده است. بالاترین مقادیر مشاهده شده مربوط به جایگزینی انتقالی بین پورین‌ها یا پیریمیدین‌ها بود. نرخ جایگزینی تقاطعی پایین‌تر و بین ۰/۲۲ تا ۰/۵۷ درصد مشاهده شد. مقادیر K_1 ، K_2 و R به ترتیب ۵۶/۲۱۶، ۵۷/۴۹۳ و ۲۶/۳۰۸ به دست آمد. انحراف بالای R و عدم تقارن در نرخ جایگزینی منعکس کننده عواملی مانند انحرافات جهشی، سازوکار ترمیم ژنوم یا فشار انتخاب است. فراوانی نسبی آدنین، تیمین، سیتوزین، و گوانین به ترتیب ۳۳/۶۶، ۲۷/۳۶، ۲۵/۹۰ و ۱۳/۰۸ درصد بودند. نسبت $A+T$ در طول توالی‌ها برابر ۶۱/۰۲ درصد بود که نشان‌دهنده غالب بودن این دو باز است. این نسبت با یافته‌های برخی از محققان مطابقت داشت (Hu & Gao, 2016; Qiao et al., 2020).

ناحیه کنترل (D-loop) در فرآیند تکثیر و رونویسی mtDNA نقش کلیدی دارد و به عنوان ناحیه غنی از AT نیز شناخته می‌شود. ژنوم میتوکندریایی نسبت به هسته معمولاً دارای نسبت $A+T$ بالاتری است. این به دلیل فشارهای تکاملی و کارایی بالاتر در همانندسازی و رونویسی ژنوم میتوکندریایی است. توالی غنی از GC بیشتر مستعد جهش است. نسبت بیشتر $A+T$ سبب پایداری بیشتر DNA می‌شود (Vinogradov & Anatskaya, 2017).

نواحی حفاظت‌شده، بخش‌هایی از ژنوم هستند که در طول تکامل تحت فشار قوی انتخاب تصفیه‌کننده (purifying selection) یا (negative selection) قرار داشته‌اند. این امر به این معناست که جهش‌های عملکردی (به ویژه جهش‌های غیرهم‌معنی یا جهش‌های تنظیم‌کننده بیان که باعث تغییر عملکرد ژن یا پروتئین می‌شوند) معمولاً با کاهش قابل توجه برازندگی (fitness) همراه بوده و در نتیجه به‌طور مؤثر توسط انتخاب طبیعی از جمعیت حذف شده‌اند (Wanjala et al., 2021).

سطح حفاظت، اهمیت یک بخش از DNA را ارائه می‌دهد. مناطق کدکننده ژن‌ها با عملکردهای اساسی بین گونه‌هایی دور از هم حفظ شده‌اند. نتایج حاصل از تجزیه نواحی حفاظت‌شده ۴۴ ناحیه با میزان حفاظت توالی برابر با ۰/۸۶۱ را نشان داد. بسیاری از متخصصان ژنتیک جمعیت از چندشکلی‌های DNA برای مطالعه ساختار ژنتیکی واقعی و روابط گونه‌های دام، درون و بین جمعیت‌ها استفاده کرده‌اند (Wanjala et al., 2021). تعداد جایگاه‌های چندشکل وابسته به تعداد نمونه است، لذا از فراسنجه تنوع نوکلئوتیدی یا هتروزیگوسیتی در سطح نوکلئوتید استفاده می‌شود که به طول DNA و تعداد نمونه بستگی ندارد و بیانگر میانگین تفاوت

ITOL7 (Letunic & Bork, 2024) بازسازی و تصویرسازی گردید. ^۱در الگوریتم NJ، تلاش بر حداقل کردن طول شاخه‌های داخلی و سپس طول کل درخت است. این روش را می‌توان کاربرد پارسیمونی در داده‌های فاصله‌ای در نظر گرفت. الگوریتم NJ بر مبنای الگوهای تکاملی آماری مشخص برای نوسازی درخت‌های تکاملی است. در این روش از ماتریس (Q) که شامل کل شاخه‌ها است، استفاده می‌شود و سپس کمترین مقدار که نشان از بالا بودن شباهت شاخه دارد، انتخاب می‌شوند و در یک انشعاب از درخت فیلوژنی به کار می‌روند.

$$Q_{(i,j)} = (r-2)d_{(i,j)} - \sum d_{(i,T)} - \sum d_{(j,T)} \quad \text{معادله (۴)}$$

که در آن، $d_{(i,j)}$: فاصله بین شاخه i و j ، T : شاخه AM درخت، r : تعداد کل شاخه‌ها و $Q_{(i,j)}$: مقدار عددی شاخه‌های i و j هستند (Asghari & Dashab, 2018).

از روش حداکثر درست‌نمایی ترکیبی ^۲ و مدل تامورا-نتی ^۳ (Tamura et al., 2004; Kumar et al., 2024) برای محاسبه میزان جایگزینی نوکلئوتیدها در نرم‌افزار (MEGA12 استفاده شد. تجزیه واریانس مولکولی ^۴ با مدل فاصله‌ای تاجیما و نتی برای ارزیابی تمایز بین و درون جمعیت‌ها با نرم‌افزار Arlequin 3.5 (Excoffier & Lischer, 2010) انجام گردید. تحلیل خنثی بودن برای بررسی تنوع نوکلئوتیدی حاصل از مشاهدات و انحراف از فرضیه صفر تکامل خنثی و شناسایی اثرات انتخاب طبیعی (تاجیما D^5 و F_s Fu's) در DNAsp نسخه ۶ انجام شد.

برای تعیین هاپلوگروه جمعیت گوسفندان اهلی مورد مطالعه، تمام هاپلوگروه‌های به‌دست‌آمده با استفاده از ابزار BLASTn در پایگاه NCBI با توالی کامل ژنوم میتوکندری مرجع گوسفند اهلی (Ovis aries) دارای کد دسترسی NC_001941.1 تطبیق داده شدند. این توالی مرجع به عنوان استاندارد جهانی برای تعیین هاپلوگروه‌های میتوکندریایی گوسفند (A, B, C, D و E) پذیرفته شده و در مطالعات متعدد پیشین نیز مورد استفاده قرار گرفته است. هاپلوگروه هر توالی براساس الگوهای جهش‌های شناخته‌شده در منطقه کنترلی (D-loop) و ژن‌های کدکننده نسبت به این ژنوم مرجع تعیین گردید. ترسیم شبکه هاپلوگروه‌ها برای کل جمعیت توسط نرم‌افزار NETWORK نسخه 4.1 و برای جمعیت ایران شبکه اتصال-میانه ^۶ در نرم‌افزار PopART1.7 (Leigh et al., 2015) ترسیم شد.

- 1- Neighbor joining tree
- 2- Maximum composite likelihood
- 3- Tamura-nei
- 4- AMOVA
- 5- Tajima's D
- 6- Median-joining

نوکلئوتیدی در هر جایگاه در مقایسه‌های جفتی بین توالی‌های DNA تعریف می‌شود (De Jong et al., 2011).

نوکلئوتیدی در هر جایگاه است (Asghari & Dashab, 2018). تنوع هاپلوتیپی (که به‌عنوان تنوع ژنی نیز شناخته می‌شود) نشان‌دهنده احتمال متفاوت بودن دو آلل نمونه‌برداری شده تصادفی است، درحالی‌که تنوع نوکلئوتیدی به‌عنوان میانگین تعداد تفاوت‌های

جدول ۲- فراوانی جایگزینی نوکلئوتیدها در ژنوم میتوکندریایی در نژادهای مختلف گوسفندان اهلی

Table 2- Maximum composite likelihood estimate of the pattern of nucleotide substitution in different breeds of domestic sheep

	A	T	C	G
A	-	0.46	0.44	12.49
T	0.57	-	25.28	0.22
C	0.57	26.71	-	0.22
G	32.13	0.46	0.44	-

احتمال جایگزینی هر ورودی از یک ردیف به ستون دیگر است. در این جدول، درصد جهش‌های انتقالی به‌صورت ضخیم و جهش تقاطعی به‌صورت معمولی نشان داده شده‌اند. الگوی جایگزینی تحت مدل تامورا-نتی و با استفاده از روش آماری حداکثر درست‌نمایی ترکیبی برآورد شدند. (A, T, C و G به ترتیب بازهای آدنین، تیمین، سیتوزین و گوانین هستند)

The probability of substitution is of each entry from one row to another column. In this table, the percentage of transitional substitution is shown in **bold** and transversional substitution in *italic* text. The substitution pattern was estimated under the Tamura-Netti model using the combined maximum likelihood statistical method. (A, T, C and G are the Adenine, Thymine, Cytosine and Guanine bases, respectively)

۱۲۳ جایگاه چندشکلی نشان داد. تنوع هاپلوتیپی، تنوع نوکلئوتیدی و میانگین تعداد تفاوت‌های نوکلئوتیدی به‌ترتیب 0.003 ± 0.996 ، 0.001 ± 0.372 و $25/23$ گزارش شدند (Rafia & Tarang, 2016).

تحلیل نتایج آزمون‌های تاجیما Fu and Li's D و Fu and Li's F نشان‌دهنده الگوهای تکاملی متنوعی در جمعیت‌های مورد مطالعه است (جدول ۴). آزمون تاجیما D برای تمایز بین توالی‌های در حال تکامل خنثی و توالی‌هایی که تحت انتخاب جهت‌دار تکامل یافته‌اند، نشان می‌دهد. مقادیر منفی نشان‌دهنده انتخاب مثبت و مقادیر مثبت بیانگر انتخاب متعادل کننده یا کاهش اندازه جمعیت هستند. این آزمون از فراوانی جایگاه‌های نوکلئوتیدی در حال تفکیک استفاده می‌کند (Wanjala et al., 2021). نتایج نشان داد که مقادیر D در مناطق مختلف به‌طور قابل توجهی متفاوت است و می‌تواند به فرآیندهای تکاملی و انتخابی اشاره کند. در ناحیه ۴، ۷ و ۱۱ مقادیر D منفی و در سطح پنج درصد معنی‌دار بودند ($P < 0.05$) که ممکن است نشان‌دهنده انبساط جمعیتی اخیر، انتخاب مثبت (انتخاب جهت‌دار)، یا جاروب انتخابی^۱ باشد (De Jong et al., 2011). این الگوها می‌توانند نتیجه افزایش اندازه جمعیت یا تطابق ژنتیکی با شرایط محیطی خاص در این مناطق باشد. همچنین در برخی نواحی، D منفی در سطح یک درصد معنی‌دار بود، که شدت بیشتری از انحراف از تعادل تکاملی را نشان می‌دهد و احتمالاً به رویدادهای تکاملی شدیدتر مانند بطالت جمعیتی یا گلوگاه ژنتیکی اشاره دارد (De Jong et al., 2011). در مقابل، ناحیه ۱۳ با مقدار D مثبت، اما غیرمعنی‌دار ($P > 0.05$) مشاهده شد، که می‌تواند نشان‌دهنده وجود

در بررسی چندشکلی، تعداد ۱۷۲۹ جایگاه و ۶۸۶ هاپلوتیپ شناسایی شدند. نتایج تحلیل جدول ۳ نشان می‌دهند که تنوع هاپلوتیپی در محدوده $0.982/0$ تا $0.994/0$ تغییر می‌کند که بیانگر وجود تنوع ژنتیکی قابل توجه در میان جمعیت‌ها است، درحالی‌که تنوع نوکلئوتیدی در دامنه $0.0105/0$ تا $0.0546/0$ نشان‌دهنده نرخ پایین‌تر تغییرات نوکلئوتیدی است. بیشترین تنوع در ناحیه جغرافیایی ۵ و کمترین در ناحیه ۱۴ مشاهده شد که ممکن است ناشی از کاهش تنوع ژنتیکی یا فشار انتخاب طبیعی باشد. منطقه ۱ (ایران) با تعداد مکان‌های چندشکلی ($S=360$)، هاپلوتیپ ($H=57$)، تفاوت نوکلئوتیدی ($K=62.353$) و تنوع هاپلوتیپ بالا ($Hd=0.994$) به‌عنوان منطقه‌ای با تنوع ژنتیکی بالا شناسایی شد. این نتایج بیانگر تأثیر عوامل جغرافیایی و تکاملی بر الگوی تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های مورد مطالعه است. این الگوها ممکن است به انتخاب طبیعی، مهاجرت یا انزوای ژنتیکی در مناطق جغرافیایی مختلف مرتبط باشد.

در بررسی تنوع ناحیه کنترل ژنوم میتوکندریایی برای درک روابط فیلوژنتیکی و جمعیت‌شناسی نژادهای اهلی گوسفند آفریقایی ۲۷۲ هاپلوتیپ، با ۲۰۷ مورد منحصربه‌فرد گزارش شد. تعداد جایگاه‌های چندشکلی، تنوع نوکلئوتیدی و هاپلوتیپی بالا گزارش شد (به‌ترتیب $0.284/0$ ، $0.12/0$ و $0.993/0 \pm 0.002$) (Wanjala et al., 2021).

در تحقیق تجزیه و تحلیل فیلوژنتیکی نژادهای گوسفندان بومی روسیه براساس توالی‌های ژنوم میتوکندریایی، تنوع هاپلوتیپی $0.999/0$ و تنوع نوکلئوتیدی $0.378/0$ گزارش شد (Koshkina et al., 2023). در تحقیق روی ۱۰ نژاد از گوسفندان ایرانی، ۷۴ هاپلوتیپ و

قوی است. این نتایج با پراکندگی جهانی نمونه‌های ایرانی (مشاهده‌شده در درخت فیلوژنتیک) هم‌راستا است و ممکن است انعکاسی از مهاجرت تاریخی یا تبادل ژن بین جمعیت‌ها باشد (De Jong *et al.*, 2011).

تعادل جمعیتی یا تنوع ژنتیکی پایدار باشد، هرچند عدم معنی‌داری آماری ممکن است به دلیل نمونه‌برداری محدود یا تنوع پایین نوکلئوتیدی باشد. نواحی ۱۴، ۱۲، ۹، ۵، ۳، ۲ و ۱ نیز با D منفی غیرمعنی‌دار مواجه بود که احتمالاً نشان‌دهنده عدم وجود فشار انتخابی

جدول ۳- شاخص‌های تنوع ژنتیکی توالی نوکلئوتیدی در بین مناطق جغرافیایی مختلف دنیا

Table 3- Nucleotide sequence genetic diversity indices among different geographical regions of the world

منطقه Region	شاخص‌های تنوع ژنتیکی توالی نوکلئوتیدی ^۱ Nucleotide sequence genetic diversity indices ¹					
	S	H	Hd	Pi	Eta	K
1	360	57	0.994	0.00406	0.00488	62.353
2	381	28	0.998	0.00546	0.00623	85.229
3	311	31	0.990	0.00402	0.00473	63.104
4	430	92	0.994	0.00185	0.00516	28.974
5	646	146	0.997	0.00389	0.00726	61.050
6	267	35	0.982	0.00126	0.00360	20.462
7	223	27	0.990	0.00169	0.00352	26.651
8	286	59	0.985	0.00105	0.00350	16.436
9	286	40	0.985	0.00264	0.00383	42.634
10	397	74	0.996	0.00110	0.00487	17.642
11	125	26	0.983	0.00084	0.00189	13.559
12	585	95	0.998	0.00342	0.00704	54.624
13	116	6	1.000	0.00377	0.00311	61.533
14	41	10	0.982	0.00079	0.00085	12.945

^۱ S: تعداد جایگاه چندشکلی، H: تعداد هاپلوتیپ، Hd: تنوع نوکلئوتیدی، Eta: تعداد جهش‌ها، K: تفاوت نوکلئوتیدها بین جمعیت.

¹ S: Number of polymorphic loci, H: Number of haplotypes, Hd: Haplotypic diversity, Pi: Nucleotide diversity, Eta: Total number of mutations, K: Nucleotide difference between populations

توانند نشان‌دهنده تعادل یا ناکافی بودن داده‌ها باشند. علاوه بر این، مقادیر منفی قابل توجه نشان می‌دهد که جمعیت دارای هاپلوتیپ‌های نادر بیش از حد انتظار در حالت خنثی است (De Jong *et al.*, 2011). مقادیر مثبت آن نشان‌دهنده رانش ژنی، تنگنای ژنی و یا اثرات متعادل‌کننده در طول تاریخ تکاملی جمعیت است.

تجزیه واریانس مولکولی به عنوان یک روش تجزیه آماری در محاسبه تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیت‌ها و میزان تمایز درون جمعیت‌ها محسوب می‌شود (Shariat *et al.*, 2019). نتایج براساس ۱۰۲۳ جهش نشان می‌دهد که اکثریت واریانس ژنتیکی (۷۱٪/۵۳) در سطح درون جمعیت‌ها رخ داده که بیانگر تنوع بالای ژنتیکی در سطح محلی است (جدول ۵). با این حال، ۲۳/۶۸ درصد تنوع میان چهار گروه اصلی، نشان‌دهنده تفاوت ژنتیکی قابل توجه میان قاره‌ها (آسیا، اروپا، آفریقا، و آمریکای جنوبی) است. معناداری آماری بالای این شاخص‌ها ($P < 0.001$) تأییدکننده وجود ساختار ژنتیکی قوی و تمایز معنادار بین قاره‌ها و جمعیت‌ها است که احتمالاً منعکس‌کننده اثرات عوامل جغرافیایی، تاریخی یا بوم‌شناختی بر پراکندگی ژنتیکی است (Sharma *et al.*, 2020).

نتایج آزمون‌های F_s و F_u هم تأییدکننده نتایج فوق هستند. در گوسفندان اهلی روسیه D تاجیما در تمام جمعیت‌های گوسفند نزدیک به صفر و از نظر آماری ناچیز بود، که نشان می‌دهد تکامل دودمان‌های مادری نسبتاً تصادفی بوده است (Koshkina *et al.*, 2023). با این حال، مقادیر بالای F_s و F_u منفی (-۱۰.۵۷۲^{**} ؛ -۸.۹۸۷^{**}) در چندین گروه گزارش شد که نشان‌دهنده گسترش جمعیت است (Koshkina *et al.*, 2023). نتایج مشابهی در گوسفندان هندی (تاجیما $D = -۲/۱$ ؛ $-۰/۹۷$ ؛ F_u و $F_s = -۲۶/۱۲$ ؛ $-۲۵/۶۶$) (Sharma *et al.*, 2020) و در گوسفندان آفریقایی (تاجیما $D = -۰/۹۲۱$ ؛ $-۳/۱۷۵$ ؛ F_u و $F_s = -۲۴/۰۰۳$ ؛ $-۱۰/۱۲۶$) گزارش شد (Wanjala *et al.*, 2021). بررسی گوسفندان صحرایی سودان برای تاجیما D و F_u و F_s مقادیر منفی معنی‌داری را نشان داد (Salim *et al.*, 2023) و همچنین برای گوسفندان تبتی مقادیر منفی قابل توجه و بزرگی گزارش گردید (Liu *et al.*, 2018).

به طور کلی، الگوهای مشاهده‌شده در آزمون تاجیما نشان‌دهنده تنوع تکاملی در جمعیت‌های گوسفندان در مناطق مختلف است. مقادیر منفی معنی‌دار ممکن است به انبساط جمعیتی یا انتخاب طبیعی اشاره کنند، در حالی که مقادیر مثبت یا منفی غیرمعنی‌دار می

جدول ۴- آزمون های F و آزمون تاجیما D در مناطق جغرافیایی مختلف دنیا
Table 4- Fus F test and Tajima D test in geographical regions of world

منطقه	آزمون های F و آزمون تاجیما D در مناطق جغرافیایی مختلف دنیا		
Region	Fu and Li's D (FLD)	Fu and Li's F (FLF)	Tajima's D
1	-2.02	-1.72	-0.58
2	-0.78	-0.81	-0.48
3	-1.08	-1.07	-0.56
4	-2.93*	-3.07**	-2.13*
5	-5.97**	-4.51**	-1.50
6	-3.88**	-3.93**	-2.33**
7	-1.61	-2.07	-1.99*
8	-2.72*	-3.06**	-2.34**
9	-1.12	-1.34	-1.11
10	-3.94**	-4.06**	-2.64**
11	-2.22	-2.58*	-2.06*
12	-3.89**	-3.50**	-1.73
13	0.95	1.14	1.36
14	-0.90	-0.86	-0.35

*: معنی داری در سطح پنج درصد، **: معنی داری در سطح یک درصد
*Significant at the 5% level, **Significant at the 1% level

درصد واریانس ژنتیکی بین گروه ها و ۴۵/۳۰ درصد درون جمعیت ها گزارش گردید (Wanjala et al., 2021). در بررسی تنوع توالی در ناحیه D-loop ژنوم میتوکندریایی ۱۰ نژاد گوسفند بومی ایران، تحلیل واریانس مولکولی نشان داد که ۳/۴۳ درصد از تنوع در بین جمعیت ها و ۹۶/۵۷ درصد تنوع در داخل جمعیت ها یافت شد (Rafia & Tarang, 2016).

در مطالعه نژادهای گوسفندان بومی روسیه، اکثریت واریانس ژنتیکی درون گروه ها (۷۷/۸۷ درصد) و تفاوت بین جمعیت های مورد مطالعه ۲۲/۱۳ درصد گزارش شد (Koshkina et al., 2023). در بررسی هاپلو تیپ و تنوع ژنتیکی ژنوم میتوکندریایی در گوسفندان بومی ایران، ۹۷ درصد تنوع درون نژادها و ۳ درصد بین نژادها گزارش شد (Moradi et al., 2017). در نژادهای اهلی آفریقایی، ۵۴/۶۹

جدول ۵- تجزیه واریانس مولکولی توالی های نوکلئوتیدی ژنوم میتوکندریایی گوسفندان اهلی بین قاره ای

Table 5- Analysis of molecular variance of nucleotide sequences of mitochondrial genomes of intercontinental domestic sheep

منابع واریانس (Source of Varyance)	درجه آزادی df	مجموع مربعات Sum of squares	مولفه واریانس Variance componeents	درصد تغییرات Percentage of varation	درصد تغییر Fixation indices
بین گروه ها Among groups	3	5521.86	8.88 Va	23.68	F _{CT} =0.23684***
بین جمعیت ها Among populations	10	1429.24	1.79 Vb	4.79	F _{SC} =0.06372***
زیر گروه های هر جمعیت Subgroups of each population	919	24659.55	26.83 Vc	71.53	
کل Total	932	31610.66	37.51	100	F _{ST} =0.28471***

***: معنی داری در سطح ۰/۰۰۱
***Significant at the 0.001 level.

فراوانی نسبی هر یک از هاپلوگروه ها در مناطق جغرافیایی مختلف در شکل ۱ و شبکه پیوسته حاصل هاپلوگروه ها در شکل ۲ نمایش داده شده است. هاپلوگروه B با فراوانی ۵۲۸ مورد، بیشترین فراوانی را در میان مناطق جغرافیایی داشت، درحالی که هاپلوگروه D با تنها ۳ مورد، کمترین فراوانی را داشت. در مناطق جغرافیایی اول تا پنجم (آسیا) فراوانی هاپلوگروه A و در سایر مناطق (اروپا، آفریقا) هاپلوگروه B غالب بود. بالاترین تنوع هاپلوگروه در مناطق جغرافیایی

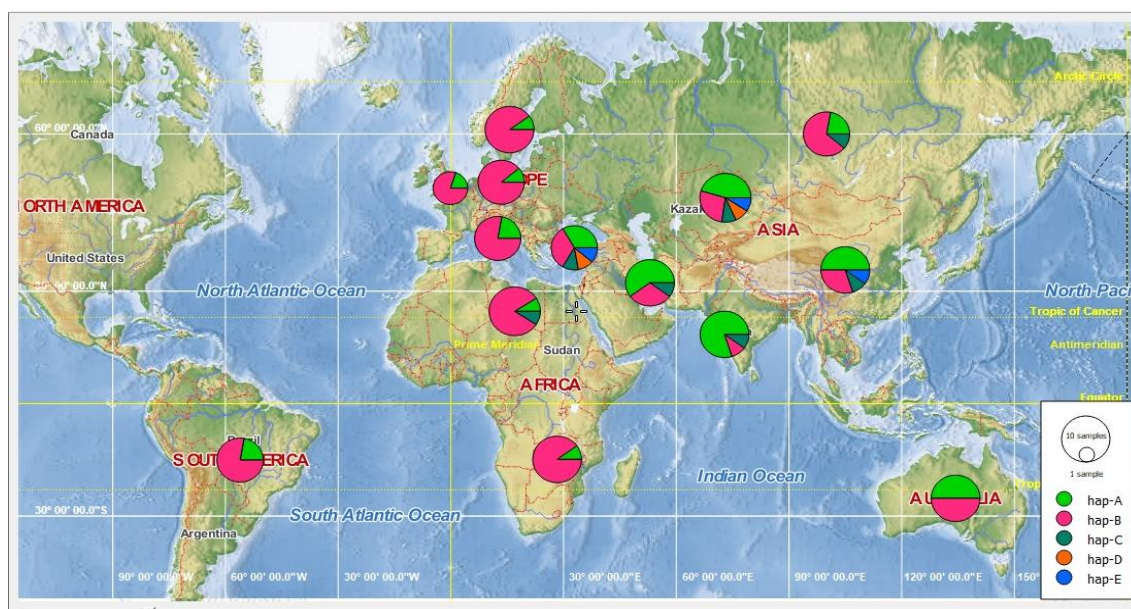
تعداد ۶۸۶ هاپلو تیپ به دست آمده از نرم افزار DNAsp با ژنوم مرجع تطبیق داده شد و در پنج هاپلوگروهی شامل A, B, C, E و D دسته بندی شدند. از ۶۸۶ هاپلو تیپ مشاهده شده ۷۵/۵ درصد منحصر به فرد بودند که نشان دهنده تنوع قابل توجهی بین افراد مورد مطالعه بود. از ۲۴/۵ درصد هاپلو تیپ های مشترک، کمتر از ۲۵ درصد به صورت فرامنطقه ای، درون مناطق و به طور خاص تر درون کشورهای خاص مشترک بودند.

رایج‌ترین است (Wanjala et al., 2021). در گوسفندان اهلی روسیه فراوانی هاپلوگروه B ۶۴/۸ درصد، A ۲۸/۹ درصد، C ۵/۵ درصد و D ۰/۸ درصد گزارش شدند (Koshkina et al., 2023). در مطالعات مشابه در گوسفندان بومی قزاقستان هاپلوگروه B ۳۶ درصد، A ۵۷ درصد، C ۷ درصد (Tarlykov et al., 2021)؛ در گوسفندان بومی پاکستان هاپلوگروه B ۱۸/۸۷ درصد، A ۷۷/۹۹ درصد و C ۳/۱۴ درصد (Ahmed et al., 2025)؛ در گوسفندان صحرای سودان هاپلوگروه B ۸۵ درصد و A ۱۵ درصد (Salim et al., 2023)؛ در هشت نژاد گوسفندان بلغارستان B ۹۵/۲ درصد و A ۴/۸ درصد (Kalaydzhiev et al., 2023) گزارش شدند که با نتایج به‌دست‌آمده هم‌خوانی داشت.

شبکه هاپلوگروهی نژادهای ایران که شامل نه نژاد می‌باشد، در شکل ۳ نمایش داده شده است. فراوانی هاپلوگروه B ۳۰ درصد، A ۵۲ درصد، C ۱۸ بودند. از ۷۲ نمونه تعداد ۵۷ هاپلوטיפ تشکیل داده که ۸۰ درصد منحصر به فرد بودند. در بررسی توالی‌های ژنوم میتوکندریایی که به‌عنوان محلی ایران ثبت شده بودند، هاپلوگروه‌های A، B و C مشاهده شد. در نژادهای مغانی و ماکویی A و B، نژاد بلوچی و خاکستری شیرازی A و C، نژاد شال A و در نژادهای افشاری و قره گل A، B و C مشاهده شدند.

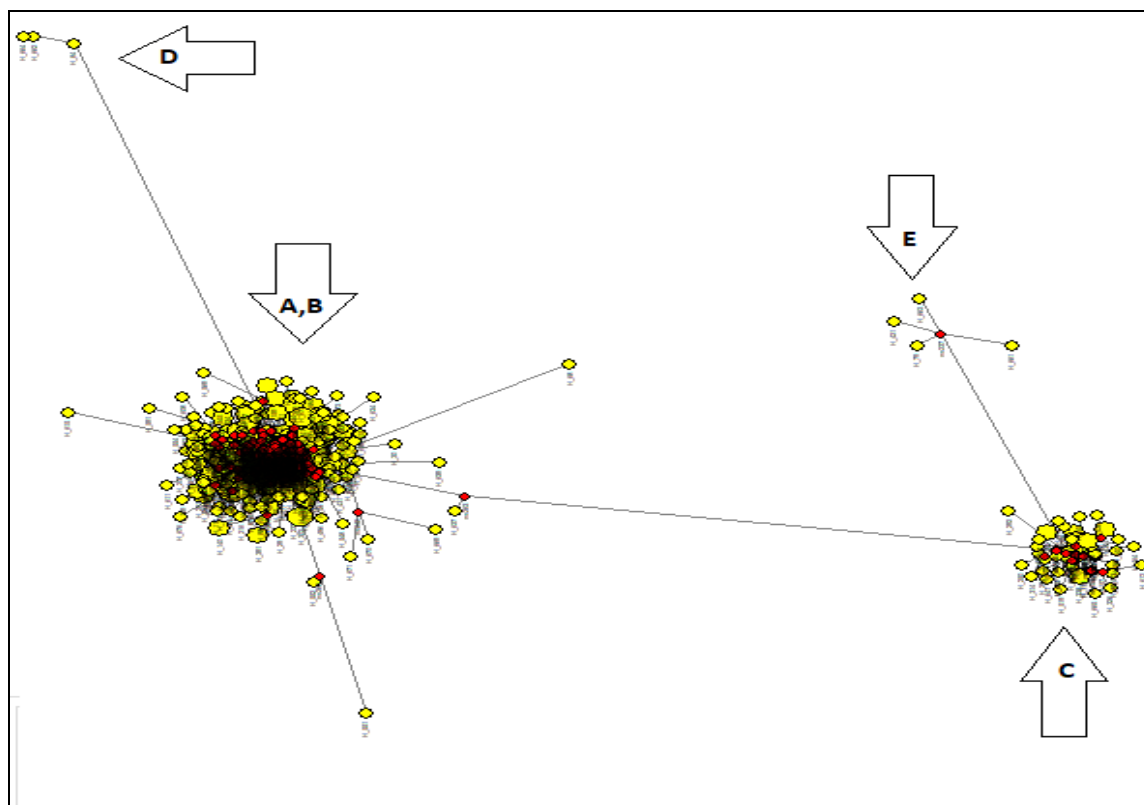
۳، ۵ و مشاهده شد. هاپلوگروه E در کشورهای گرجستان، چین، افغانستان و فلسطین؛ هاپلوگروه D در کشورهای ترکیه و گرجستان مشاهده گردید. هاپلوگروه A و B در تمامی مناطق جغرافیایی وجود داشتند.

مطالعه تنوع هاپلوتیپی در گوسفندان مصری و ایتالیایی سه هاپلوگروهی A، B و C را در نمونه‌های مورد بررسی نشان داد. همه نمونه‌های ایتالیایی با هاپلوگروه B خوشه‌بندی شدند و همین هاپلوگروه در نمونه‌های مصری هم غالب بود، اما در نژاد بارکی مصری یک خوشه جداگانه با هاپلوگروه A، در نژاد اوسیمی یک خوشه جداگانه با هاپلوگروه C و همچنین دو خوشه جداگانه با هاپلوگروه‌های A و C در نژاد رحمانی گزارش شدند (Othman et al., 2015). در بررسی تنوع ناحیه کنترل ژنوم میتوکندری نژادهای گوسفند آفریقایی، سه هاپلوگروه اصلی (A، B و C) را گزارش گردید (Wanjala et al., 2021). در این مطالعه، زیرگروه B1 شامل تعدادی از گوسفندان غرب، شرق و شمال آفریقا بود، زیرگروه B2 شامل گوسفندانی از جمعیت‌های شمال (مراکش، مصر و الجزایر) و شرق آفریقا (عمدتاً کنیا) بودند. زیرگروه B3 شامل نژادهای گوسفندان باستانی از آفریقای جنوبی بود. خوشه‌بندی هاپلوטיפ از توزیع جغرافیایی پیروی نکرد و گزارش شد که گروه B در برخی نژادهای گوسفند از الجزایر، اتیوپی، آفریقای جنوبی، مصر، کنیا و مراکش



شکل ۱- پراکندگی هاپلوگروه‌های مختلف براساس ژنوم میتوکندری در نژادهای مختلف گوسفندان اهلی دنیا

Figure 1- Haplogroup distribution of different mitochondrial genomes in different breeds of domestic sheep of world



شکل ۲- شبکه پیوسته حاصل از ۶۸۶ هاپلوتیپ مربوط به توالی نوکلئوتیدی ژنوم میتوکندریایی در نژادهای مختلف گوسفندان اهلی (شماره‌ها شامل شماره هاپلوتیپ و اندازه دایره‌ها متناسب با فراوانی هر هاپلوگروه است)

Figure 2- Continuous network resulting from 686 haplotypes related to the nucleotide sequence of the mitochondrial genome in different breeds of domestic sheep (numbers include haplotype number and the size of the circles is proportional to the frequency of each haplotype)

توالی‌های ژنوم میتوکندری استفاده می‌گردد، زیرا تأثیر انتخاب بر این نوع داده‌ها کمتر است و روابط فیلوژنتیکی واقعی را نشان می‌دهند (Ahmed et al., 2025). در این مطالعه برای رسم درخت فیلوژنتیکی از روش اتصال-همسایگی (NJ) استفاده شد (شکل ۴). نتایج حاصل از بررسی درخت فیلوژنتیکی تأییدکننده نتایج مباحث قبلی است. برای درک آسان‌تر درخت فیلوژنتیک شاخه‌های مربوط به هاپلوگروه‌های A، B، C، D و E به ترتیب با رنگ‌های سبز، صورتی، بنفش روشن، بنفش تیره و آبی نمایش داده شدند. نمونه‌های متعلق به ناحیه جغرافیایی ۱ در درخت با رنگ سیاه علامت‌گذاری شدند. همان‌طور که نتایج نشان می‌دهد، درخت فیلوژنی به سه شاخه اصلی مجزا تفکیک شده است. هاپلوگروه D در شاخه‌ای کاملاً مجزا و هاپلوگروه‌های C و E در شاخه دیگری و در نهایت هاپلوگروه‌های A و B در شاخه اصلی سوم قرار گرفتند که تأییدی بر صحت شبکه هاپلوگروهی شکل ۲ می‌باشد. بیشتر نژادهای مورد بررسی در شاخه-های نزدیک به یکدیگر قرار گرفتند. این امر نشان‌دهنده جریان ژنی بین مناطق جغرافیایی مختلف و آمیخته‌گری در گذشته می‌باشد. نتایج حاصل از بررسی درخت فیلوژنتیکی علاوه بر نشان دادن تنوع فراوان

در مطالعه تغییرات توالی D-Loop میتوکندری در نژادهای گوسفندان بومی ایران که شامل ۸۲ گوسفند غیرخویشاوند از ۱۰ نژاد بودند، هاپلوگروه‌های A، B، C و E گزارش شدند (Rafia & Tarang, 2016). مرادی و همکاران (Moradi et al., 2017) در بررسی خود، دو هاپلوگروه A و B را در دو نژاد لری-بختیاری و زل گزارش کردند. در تحلیل ژنتیکی و فیلوژنتیکی بخشی از ناحیه کنترلی ژنوم میتوکندری که بر ۲۵ رأس گوسفند غیرخویشاوند نژاد زندگی انجام گرفت؛ نتایج نشان‌دهنده کمتر بودن تنوع نوکلئوتیدی نژاد زندگی نسبت به گوسفندان مغانی و بلوچی بود. نتایج ترسیم درخت فیلوژنی نشان داد که گوسفند نژاد زندگی متعلق به هاپلوگروه A می-باشد (Pirkhazraian et al., 2017). در مطالعه مشابه روی گوسفندان نژاد بلوچی، این نژاد نیز در هاپلوگروه A قرار گرفت (Bahri et al., 2018).

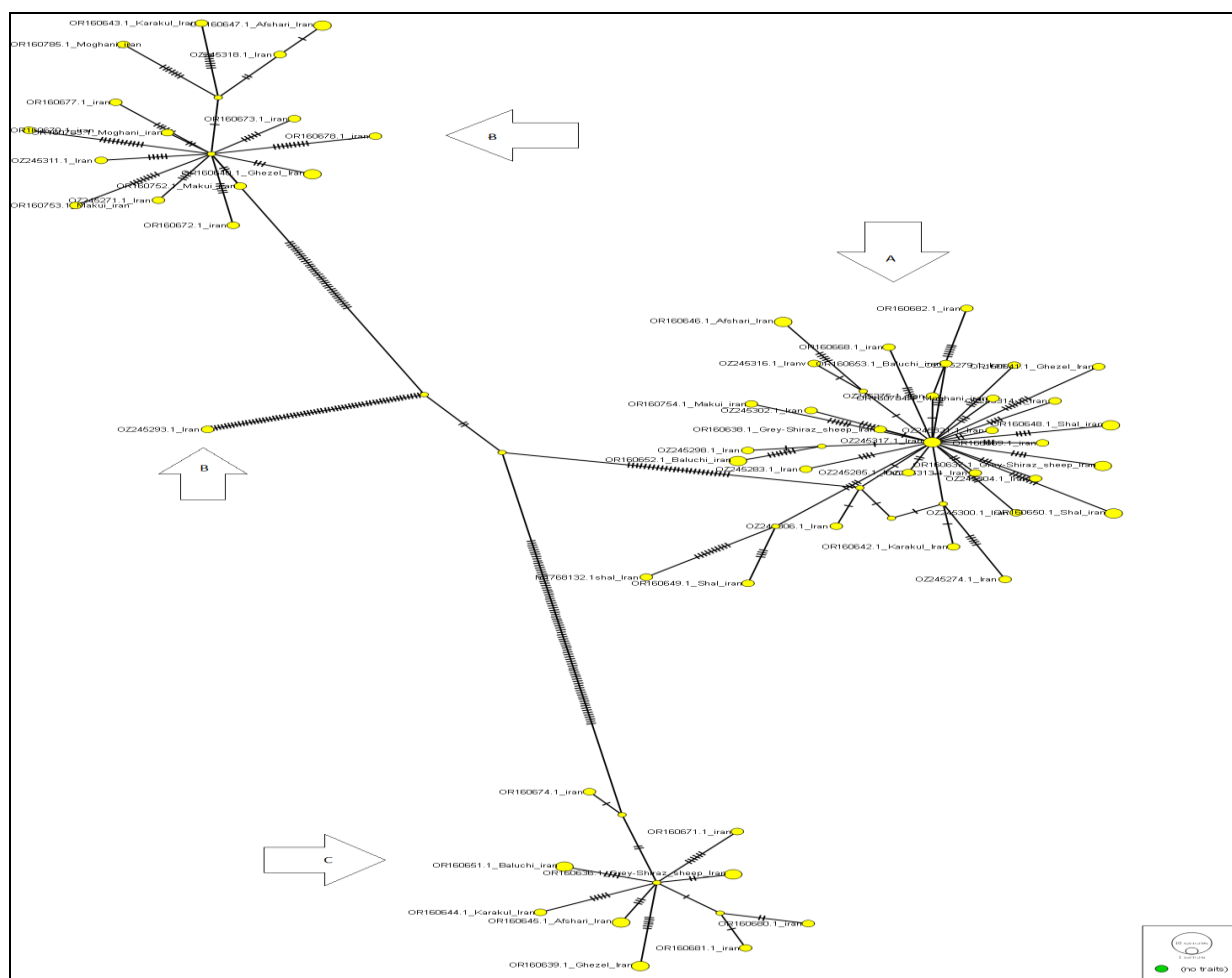
درختان فیلوژنتیک به دلیل نشان دادن مسیرهای تکاملی برای درک روابط تکاملی بسیار مناسب هستند. در این نمودارهای درختی، هرچه نمونه مورد بررسی در مولکول‌های توارثی مشابهت بیشتری داشته باشد، خویشاوندی نزدیک‌تری دارند. برای رسم این نمودارها از

نتیجه‌گیری کلی

تحلیل توالی کامل ژنوم میتوکندریایی ۹۳۳ گوسفند اهلی از ۴۹ کشور، بزرگ‌ترین بانک داده mtDNA کامل در جهان را ایجاد کرد و برای اولین بار جایگاه دقیق نژادهای بومی ایران را در تنوع جهانی مشخص نمود. نتایج نشان داد که نژادهای ایرانی بالاترین تنوع هاپلوتیپی (۰/۹۹۴) و تفاوت نوکلئوتیدی (۶۲/۳۵۳) را در بین ۱۴ منطقه جغرافیایی داشتند و در هر سه هاپلوگروه اصلی A، B و C حضور گسترده و معنی‌دار داشتند. این یافته‌ها پیامدهای عملی مستقیمی برای برنامه‌های اصلاح نژاد گوسفند در ایران و منطقه دارد. نژادهای بومی ایران به‌عنوان مخزن غنی هاپلوتیپ‌های منحصربه‌فرد (۵۷) هاپلوتیپ شناسایی شده در ایران) منبع ارزشمندی برای وارد کردن تنوع میتوکندریایی جدید به جمعیت‌های تجاری پربازده (که اغلب دچار کاهش تنوع مادری هستند) می‌باشند.

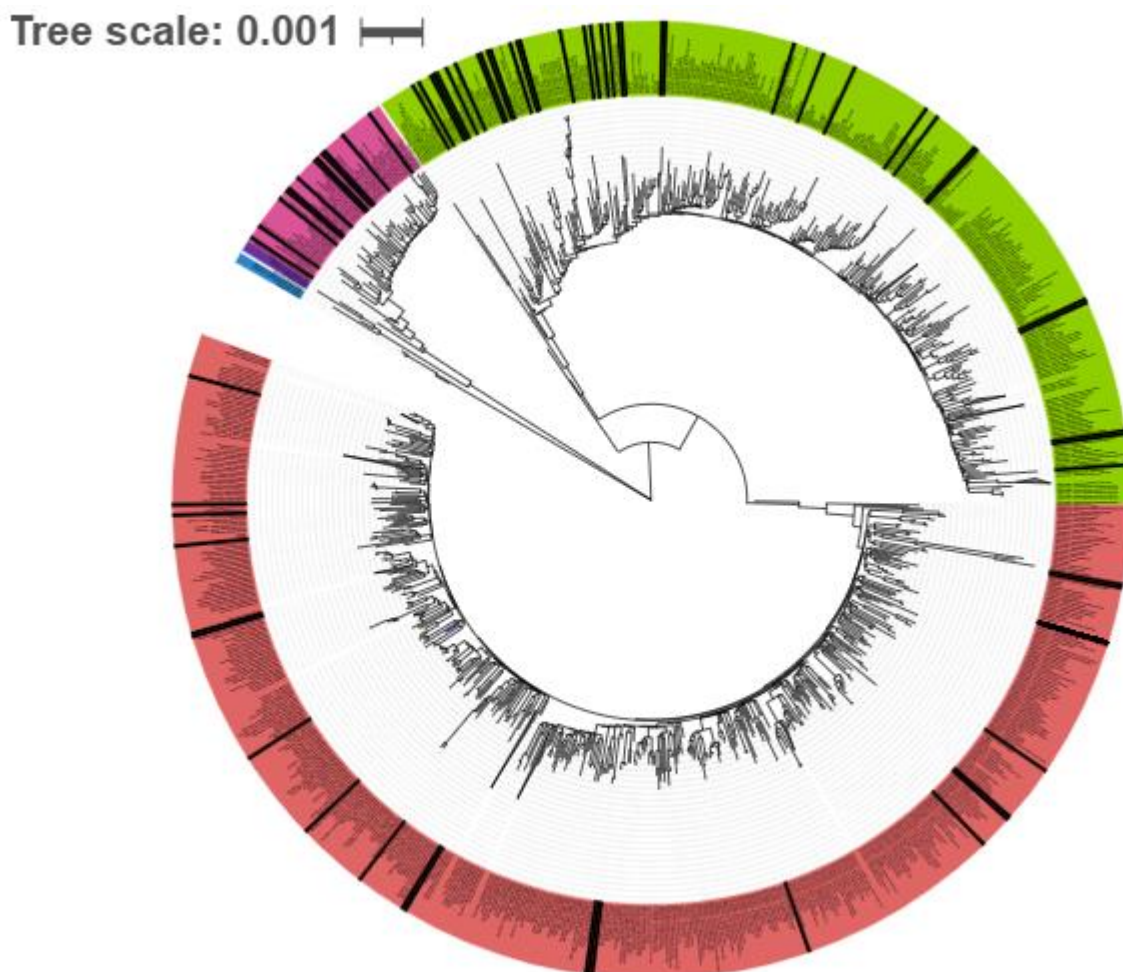
در نژادهای گوسفندان ایرانی؛ عدم پیروی تنوع و خوشه‌بندی در نژادهای اهلی گوسفندان از مناطق جغرافیایی مختلف را نشان داد. در مطالعه تجزیه و تحلیل ژنوم میتوکندری اوربیل آسیایی در ایران، براساس نتایج درخت فیلوژنتیک، منشأ هاپلوگروه C چندین جمعیت گوسفندان اهلی در جنوب و جنوب شرقی آسیا، اوربیل آسیایی ایرانی گزارش شدند (Wang et al., 2025).

با وجود تلاش برای به دست آوردن اطلاعات جامع از نژادهای گوسفندان دنیا، اما برخی محدودیت‌ها از جمله متفاوت بودن شرایط نمونه‌گیری و آزمایش، محدود بودن تعداد نمونه در برخی نواحی، احتمال ناهمگنی در کیفیت توالی‌یابی و پوشش خوانش‌ها و روش‌های و برنامه‌های مورد استفاده در تجزیه و تحلیل داده‌ها می‌تواند موجب تفسیر متفاوت گردد.



شکل ۳- شبکه اتصال میانه ارتباطات هاپلوتیپ‌های شناسایی شده در نژادهای گوسفند ایران

Figure 3- The median connectivity network of identified haplotypes in Iranian sheep breeds



شکل ۴- درخت فیلوژنتیکی حاصل از تجزیه و تحلیل ژنوم میتوکندری در نژادهای مختلف گوسفندان اهلی
Figure 4- Phylogenetic tree resulting from mitochondrial genome analysis in different breeds of domestic sheep

اولویت حفاظت و تکثیر قرار گیرند. بنابراین، نژادهای بومی ایران، یکی از غنی‌ترین منابع تنوع دودمان مادری گوسفند اهلی در جهان هستند و باید به‌عنوان ماده اولیه کلیدی در برنامه‌های اصلاح نژاد ملی و منطقه‌ای (به‌ویژه برای بهبود سازگاری محیطی، باروری و مقاومت به بیماری) مورد استفاده قرار گیرند. نتایج مطالعه حاضر، پایه علمی برای تدوین راهبرد ملی حفاظت و بهره‌برداری پایدار از منابع ژنتیکی گوسفندان ایران را فراهم می‌کند.

حضور همزمان هاپلوگروه‌های A، B و C در جمعیت ایرانی، امکان انتخاب هدفمند دودمان‌های مادری متفاوت را برای تلاقی‌های اصلاحی فراهم می‌کند؛ به‌ویژه هاپلوگروه A (غالب در ایران و آسیا) که با سازگاری به شرایط گرم و خشک همراه است و می‌تواند برای بهبود تحمل حرارتی نژادهای صنعتی استفاده شود. نقشه دقیق پراکندگی هاپلوטיפ‌های ایرانی، امکان شناسایی نژادهای حامل هاپلوטיפ‌های نادر یا باستانی را فراهم می‌کند تا در بانک ژن ملی

References

1. Afgan, E., Nekrutenko, A., Grüning, B. A., Blankenberg, D., Goecks, J., Schatz, M. C., Ostrovsky, A. E., Mahmoud, A., Lonie, A. J., Syme, A., Fouilloux, A., Bretaudeau, A., Kumar, A., Eschenlauer, A. C., Desanto, A. D., Guerler, A., Serrano-Solano, B., Batut, B., Grüning, B. A., & Briggs, P. J. (2022). *The Galaxy platform for accessible, reproducible and collaborative biomedical analyses*. *Nucleic Acids Research*, 50(1), 345–351. <https://doi.org/10.1093/nar/gkac247>.
2. Ahmed, S., Nadeem, M. S., Johansson, A. M., Jonas, E., Muhammad, K., & Mehmood, S. A. (2025). Molecular diversity and phylogenetic analysis of ten sheep breeds from Khyber Pakhtunkhwa, Pakistan, based on mitochondrial D-loop sequences. *Mammalian Genome*, 36(1), 129–139. <https://doi.org/10.1007/s00335-024-10093-w>

3. Asghari, B., & Dashab, G. R. (2018). Nucleotide sequence analysis of phylogenetic and evolutionary status of BLG gene. *New Cellular & Molecular Biotechnology Journal*, 8(30), 61-69. (In Persian).
4. Bahri Binabaj, F., Bihamta, G., & 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(1), 131-139. (in Persian with English abstract) <https://doi.org/10.22067/ijasr.v10i1.63715>
5. De Jong, M. A., Wahlberg, N., Van Eijk, M., Brakefield, P. M., & Zwaan, B. J. (2011). Mitochondrial DNA signature for range-wide populations of *Bicyclus anynana* suggests a rapid expansion from recent refugia. *PloS One*, 6(6), e21385. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0021385>
6. Excoffier, L., & Lischer, H. E. (2010). Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, 10(3), 564-567. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2010.02847.x>
7. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). Available online: https://www.fao.org/livestock-systems/glob_distributions/sheep/en/. (accessed on 21 August 2023).
8. Hu, X. D., & Gao, L. Z. (2016). The complete mitochondrial genome of domestic sheep, *Ovis aries*. *Mitochondrial DNA Part A*, 27(2), 1425-1427. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e08011>
9. Ilmira, M. S., Islamov, Y., Shauyenov, S., Ibrayev, D., Atavliyeva, S., & Tarlykov, P. (2018). Genetic characterization of Kazakh native sheep breeds using mitochondrial DNA. *OnLine Journal of Biological Sciences*, 18(3), 341-348. <https://doi.org/10.3844/ojbsci.2018.341.348>
10. Jalilian Majd, H., Varkoohi, S., & Seyedabadi, H. R. (2023). Mitochondrial DNA Cytochrome-b variability in Iranian Kurdish horse breed. *Iranian Journal of Animal Science*, 54(2), 139-149. (in Persian with English abstract) <https://doi.org/10.22059/IJAS.2022.342038.653886>
11. Kalaydzhiev, G., Palova, N., Dundarova, H., Lozanova, L., Mehandjyiski, I., Radoslavov, G., & Hristov, P. (2023). Mitochondrial diversity and phylogenetic relationship of eight native Bulgarian sheep breeds. *Animals*, 13(23), 3655. <https://doi.org/10.3390/ani13233655>
12. Kandoussi, A., Boujenane, I., Auger, C., Serranito, B., Germot, A., Piro, M., & Petit, D. (2020). The origin of sheep settlement in Western Mediterranean. *Scientific Reports*, 10(1), 10225. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-67246-5>
13. Katoh, K., & Standley, D. M. (2013). MAFFT multiple sequence alignment software version 7: Improvements in performance and usability. *Molecular Biology and Evolution*, 30(4), 772-780. <https://doi.org/10.1093/molbev/mst010>
14. Koshkina, O., Deniskova, T., Dotsev, A., Kunz, E., Selionova, M., Medugorac, I., & Zinovieva, N. (2023). Phylogenetic analysis of Russian native sheep breeds based on mtDNA sequences. *Genes*, 14(9), 1701. <https://doi.org/10.3390/genes14091701>
15. Kumar, S., Stecher, G., Suleski, M., Sanderford, M., Sharma, S., & Tamura, K. (2024). MEGA12: Molecular Evolutionary Genetic Analysis version 12 for adaptive and green computing. *Molecular Biology and Evolution*, 41(12), msae263. <https://doi.org/10.1093/molbev/msae263>
16. Leigh, J. W., Bryant, D., & Nakagawa, S. (2015). POPART: Full-feature software for haplotype network construction. *Methods in Ecology & Evolution*, 6(9), 1110-1116. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12410>
17. Letunic, I., & Bork, P. (2024). Interactive Tree of Life (iTOL) v6: recent updates to the phylogenetic tree display and annotation tool. *Nucleic Acids Research*, 52(W1), W78-W82. <https://doi.org/10.1093/nar/gkae268>
18. Liu, J., Ding, X., Zeng, Y., Guo, X., Sun, X., & Yuan, C. (2020). Phylogenetic evolution and phylogeography of Tibetan sheep based on mtDNA D-loop sequences. *Animals*, 10(7), 1177. <https://doi.org/10.3390/ani10071177>
19. Lv, F. H., Peng, W. F., Yang, J., Zhao, Y. X., Li, W. R., Liu, M. J., & Li, M. H. (2015). Mitogenomic meta-analysis identifies two phases of migration in the history of eastern Eurasian sheep. *Molecular Biology and Evolution*, 32(10), 2515-2533. <https://doi.org/10.1093/molbev/msv139>
20. Manesh, A. N., Feyzi, M. A., Kashkoieh, A. I., Nanaei, H. A., & Ezzaldinlo, L. (2022). Investigating the genetic diversity of the BRCA1 gene in some of domestic and wild sheep breeds of the world and drawing their phylogenetic structure. *Research on Animal Production*, 13(38), 176-186. (In Persian). <https://doi.org/10.52547/rap.13.38.176>
21. Meadows, J. R. S., Hiendleder, S., & Kijas, J. W. (2011). Haplogroup relationships between domestic and wild sheep resolved using a mitogenome panel. *Heredity*, 106(4), 700-706. <https://doi.org/10.1038/hdy.2010.122>
22. Moradi, M. H., Phua, S. H., Hedayat, N., Khodaei, M. M., & Razmkabir, M. (2017). Haplotype and genetic diversity of mtDNA in indigenous Iranian sheep and an insight into the history of sheep domestication. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 19(3), 591-601.
23. Nikbakhsh, M., Varkoohi, S., & Seyedabadi, H. R. (2022). Mitochondrial DNA D-loop hyper-variable region 1 variability in Kurdish horse breed. *Weterinary Medicine and Science*, 8(5), 1-8. <https://doi.org/10.1002/vms3.996>
24. Othman, O. E., Pariset, L., Balabel, E. A., & Marioti, M. (2015). Genetic characterization of Egyptian and

- Italian sheep breeds using mitochondrial DNA. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 13(1), 79-86. <https://doi.org/10.1016/j.jgeb.2014.12.005>
25. Pirkhazraian, Z., Razmkabir, M., & Nazifi, N. (2017). Genetic and phylogenetic analyses of partial control region of mtDNA in Zandi sheep breed. *Agricultural Biotechnology Journal*, 9(3), 25-40. (In Persian). <https://doi.org/10.22103/jab.2018.1877>
26. Qiao, G., Zhang, H., Zhu, S., Yuan, C., Zhao, H., Han, M., & Yang, B. (2020). The complete mitochondrial genome sequence and phylogenetic analysis of Alpine Merino sheep (*Ovis aries*). *Mitochondrial DNA Part B*, 5(1), 990-991. <https://doi.org/10.1080/23802359.2020.1720536>.
27. Rafia, P., & Tarang, A. (2016). Sequence variations of mitochondrial DNA displacement-loop in Iranian indigenous sheep breeds. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 6(2), 363-368. (in Persian with English abstract).
28. Rozas, J., Ferrer-Mata, A., Sánchez-DelBarrio, J. C., Guirao-Rico, S., Librado, P., Ramos-Onsins, S. E., & Sánchez-Gracia, A. (2017). DnaSP 6: DNA sequence polymorphism analysis of large data sets. *Molecular Biology and Evolution*, 34(12), 3299-3302. <https://doi.org/10.1093/molbev/msx248>
29. Salim, B., Alasmari, S., Mohamed, N. S., Ahmed, M. K. A., Nakao, R., & Hanotte, O. (2023). Genetic variation and demographic history of Sudan desert sheep reveal two diversified lineages. *BMC Genomics*, 24(1), 118. <https://doi.org/10.1186/s12864-023-09231-6>
30. Shariat, M., Dashab, G. R., & Vafaye Valleh, M. (2019). Phylogenetic and Haplogroup analysis of native goats of Iran based on nucleotide sequence of HVR1 region of mitochondrial genome. *Iranian Journal of Animal Science*, 50(1), 35-46. (In Persian). <https://doi.org/10.22059/ijas.2019.272018.653672> .
31. Sharma, R., Ahlawat, S., Sharma, H., Sharma, P., Panchal, P., Arora, R., & Tanti, M. S. (2020). Microsatellite and mitochondrial DNA analyses unveil the genetic structure of native sheep breeds from three major agro-ecological regions of India. *Scientific Reports*, 10(1), 20422. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-77480-6>
32. Tamura, K., Nei, M., & Kumar, S. (2004). Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(30), 11030-11035. <https://doi.org/10.1073/pnas.0404206101>
33. Tarlykov, P., Atavliyeva, S., Auganova, D., Akhmetollayev, I., Loshakova, T., Varfolomeev, V., & Ramankulov, Y. (2021). Mitochondrial DNA analysis of ancient sheep from Kazakhstan: Evidence for early sheep introduction. *Heliyon*, 7(9), e08011. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e08011>
34. Vinogradov, A. E., & Anatskaya, O. V. (2017). DNA helix: The importance of being AT-rich. *Mammalian Genome*, 28(9), 455-464. <https://doi.org/10.1007/s00335-017-9713-8>
35. Wang, D. F., Orozco-terWengel, P., Salehian-Dehkordi, H., Esmailzadeh, A., & Lv, F. H. (2025). Genomic analyses of Asiatic Mouflon in Iran provide insights into the domestication and evolution of sheep. *Genetics Selection Evolution*, 57(1), 31. <https://doi.org/10.1186/s12711-025-00978-y>
36. Wanjala, G., Bagi, Z., & Kusza, S. (2021). Meta-analysis of mitochondrial DNA control region diversity to shed light on phylogenetic relationship and demographic history of African Sheep (*Ovis aries*) breeds. *Biology*, 10(8), 762. <https://doi.org/10.3390/biology10080762>