مقایسه شترهای تک‌کوهانه و دوکوهانه ایران براساس ژن MYF5 مرتبط با صفات رشد

Comparison of Iranian One and Two Humped Camels Based on MYF5 Gene Associated With Growth Traits

نعمت هدایت ایوریق[۱*]، سیدرضا میرایی‌آشتیانی[۲] و محمد مرادی‌شهربابک[۳]

تاریخ دریافت: ۹۱/۰۳/۳۱ تاریخ پذیرش: ۹۲/۰۲/۲۳

چکیده

تردی گوشت یکی از صفات مهم در صنعت تولید گوشت و یکی از خصوصیات مهم از نظر مصرف‌کننده می‌باشد. ژن میوژنیک فاکتور ۵ (MYF5) نقش کلیدی تنظیم‌کنندگی در تشکیل و توسعه ماهیچه اسکلتی ایفا می‌کند و به‌عنوان یک ژن کاندیدا در صفات مرتبط با رشد و کیفیت گوشت به‌شمار می‌رود. در این پژوهش از تعداد ۴۰ نفر شتر دوکوهانه و ۱۴۰ نفر از سه جمعیت مختلف شتر تک‌کوهانه به‌صورت تصادفی خون‌گیری به‌عمل آمد. برای تعیین تنوع ژنتیکی در اگزون ۱ ژن MYF5 از روش PCR-SSCP استفاده شد و چهار الگوی متفاوت مشاهده گردید. توالی‌یابی جهش در موقعیت‌های ۹۹ و ۳۶۷ را نشان داد که به‌ترتیب تغییر نوکلئوتید A به G و G به A را موجب می‌شود و باعث ایجاد چهار هاپلوتایپ که مرتبط با چهار الگوی متفاوت بودند، می‌شود. همچنین فاصله ژنتیکی نشان داد که شترهای دوکوهانه نسبت به جمعیت‌های دیگر شترهای تک‌کوهانه دارای فاصله ژنتیکی بیشتری می‌باشند.

واژه‌های کلیدی: شترهای تک‌کوهانه، شترهای دوکوهانه، فاصله ژنتیکی، PCR-SSCP

۱. دانشجوی دکتری گروه علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج

۲و ۳. استادان گروه علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج

*: نویسنده مسوول Email: Hedayatuma@gmail.com

مقدمه

منابع ژنتیکی شتر در ایران بیشتر از نوع شتر تک‌کوهانه (*Camelus dromedarius*) است و به تعداد خیلی کم شترهای دوکوهانه (*Camelus bactrianus*) نیز در استان اردبیل وجود دارد و براساس اطلاعات موجود به‌دلیل عدم‌توجه به این دام، تعداد آنها درحال کاهش می‌باشد که در واقع یک جمعیت در معرض انقراض به‌حساب می‌آید.

یکی از راه‌های بهره‌برداری صحیح از امکانات موجود در مناطق کویری و بیابانی که برای فعالیت‌های کشاورزی مانند زراعت، باغبانی و نیز پرورش گاو، گوسفند و طیور چندان مناسب نیستند، نگهداری و پرورش شتر است. پرورش شتر در این مناطق از نظر اقتصادی، اکولوژیکی، اجتماعی و حتی فرهنگی اهمیت زیادی دارد و با توجه به تقاضای فراوان برای تولید گوشت و شیر، نیاز به حفظ و احیا این دام کاملاً احساس می‌شود. روش عمده نگهداری شتر در ایران روش سنتی است که در این روش شترها به‌صورت آزاد در سطح مراتع رها می‌شوند.

گونه‌های شتر تولیدات و خدمات فراوان شامل پشم، گوشت، شیر، حمل‌ونقل و غیره عرضه می‌کنند. کاربرد اصلی شتر در قدیم استفاده آن به‌عنوان وسیله حمل‌ونقل بود که با ورود فناوری و وسایل حمل‌ونقل جدید امروزه دیگر کمتر از شتر برای این هدف استفاده می‌شود. در سال‌های اخیر علاوه بر استفاده از شتر به‌عنوان یک فعالیت کشاورزی در نواحی خشک برای تولید گوشت و شیر، کاربرد آن در اکوتوریسم در جهان افزایش یافته است.

یکی از بهترین راه‌های حفظ دام‌ها و تنوع زیستی ترغیب دامداران برای پرورش دام موردنظر است. پرورش دام موردنظر بایستی اقتصادی باشد که دامدار به پرورش آن راغب باشد. به‌همین خاطر بایستی بهبود صفات اقتصادی در دام‌هایی مانند شتر موردتوجه قرار گرفته و ترویج شود.

بیشتر صفات اقتصادی در حیوانات به‌وسیله تعداد نسبتاً زیادی ژن با اثرات کوچک کنترل می‌شود *دیب و لامونت* (Deeb and lamont, 2002) در سال‌های اخیر پیشرفت‌های ژنتیک مولکولی منجر به شناسایی تعداد زیادی نشانگرهای ژنتیکی در صفات مختلف شده است. توانایی بررسی نواحی ژنومی مرتبط با نشانگر در نهایت امکان شناسایی نشانگرهای مرتبط با QTL (جایگاه مربوط به صفات کمی) مؤثر بر تنوع صفات کمی مهم و اقتصادی را فراهم می‌کنند. لذا می‌توان از نشانگرهای مرتبط با QTLها در انتخاب استفاده کرد و این اطلاعات باعث بهبود صحت انتخاب و به‌دنبال آن باعث افزایش پاسخ به انتخاب می‌شوند *بیوزن* و همکاران (Beuzen *et al.*, 2000).

اگرچه حفظ تنوع ژنتیکی خود یکی از اهداف مهم اصلاح نژاد است اما واقعیت این است که دامداران و پرورش‌دهندگان به‌دنبال افزایش سود و پرورش دام‌های پربازده می‌باشند. در صورتی‌که صفات اقتصادی در دام‌های کم‌بازده توسعه و بهبود نیابد، احتمال روآوردن پرورش‌دهندگان به‌گونه‌های پربازده بیشتر می‌شود و در این شرایط دام‌هایی مانند شتر در خطر از بین‌رفتن قرار می‌گیرند. به‌کاربردن روش کلاسیک اصلاح نژاد علاوه‌بر نیاز به اطلاعات وسیع برای شتر که دارای فاصله نسل طولانی است با کندی همراه است. یکی از روش‌های بهبود سریع‌تر و دقیق‌تر استفاده از نشانگرهای مولکولی از جمله یافتن چندشکلی‌های تک‌نوکلئوتیدی (SNPs) مرتبط با صفت است. از طریق شناسایی SNPهای مرتبط با صفات و انتخاب آنها ممکن است بتوان سریع‌تر به اهداف مربوطه رسید. لذا وجود تنوع تک‌نوکلئوتیدی در جایگاه ژنی مرتبط با صفت اقتصادی رشد و افزایش گوشت می‌تواند در انتخاب برای سودمندی شتر استفاده شود *هایفتز* و همکاران (Heifetz *et al.*, 2005).

روش ژن‌های کاندیدا یک روش مؤثر برای پیدا کردن QTL است که با تنوع ایجاد شده در صفات موردنظر ارتباط دارد (Linville *et al.*, 2001). با این توضیحات می‌توان انتظار داشت ژنتیک مولکولی می‌تواند به‌عنوان ابزار سودمندی برای اصلاح و بهبود شتر در آینده مورد استفاده قرار بگیرد.

تشخیص شروع میوژنزیس اسکلتی به‌وسیله بیان فاکتورهای میوژنیک (MYF) و به‌طور قابل‌توجه‌تر MYF5 و MyoD، عضوی از خانواده دارای دومن هلیکس-لوپ-هلیکس (Helix-Loop-Helix) است. خانواده ژن MyoD در ۴ ساختار ژنی مربوط به ژن‌های MYOD1 (MYF3)، MYF5، MYF6 (MRF4) و MYOG (میوژنین) می‌باشد *تیپاس* و *ویسچر* (TePas and Visscher, 1994). فاکتورهای میوژنیک ۵ و ۶ در شروع و توسعه ماهیچه اسکلتی و نگهداری فنوتیپ‌ها نقش جدایی‌ناپذیری را دارند. بنابراین آنها ژن‌های کاندیدا برای صفات مرتبط با رشد و کیفیت گوشت می‌باشند *ماک* و همکاران (Maak *et al.*, 2006). در پستانداران ژن MYF5 دارای سه اگزون و دو اینترون می‌باشد که در خوک به‌طول ۳۶۸۰ جفت‌باز، شامل اگزون‌های ۱، ۲ و ۳ به‌ترتیب ۶۶۶، ۷۶ و ۷۹۲ جفت‌باز و اینترون ۱ و ۲ به‌ترتیب ۸۰۸ و ۴۱۶ جفت‌باز هستند *ساجی* و همکاران (Sajee *et al.*, 2009).

در طول تشکیل نتاج، ژن MYF5 در توسعه سلول‌های ماهیچه اسکلتی دخالت داشته و متعاقباً در تولید گوشت مؤثر می‌باشد اثر معنی‌داری از ژن MYF5 بر روی گوشت لخت، وزن لیون، و چربی داخل ماهیچه‌ای در خوک گزارش شده است *ساجی* و همکاران (2009). براساس مطالعات موجود در خوک، گوسفند، گاو، مرغ، ماهی و بوقلمون، چندشکلی‌های موجود در MYF5 در ارتباط با میزان رشد بوده است *اوجان* و همکارن؛ *جیون* و همکاران؛ *یین* و همکارن (Ujan *et al.*, 2011; Yin *et al.*, 2011; Jiyeon *et al.*, 2011).

ظرفیت ترکیبات گوشت و میزان رشد در پستانداران مرتبط با تعداد فیبر ماهیچه‌ای بوده که MYF5 نقش مهمی در تکثیر میوبلاست در طول شکل‌گیری فیبرها دارد. باتوجه به اینکه ژن MYF5 یک ژن مهم در پستانداران بوده و در ارتباط با صفت مهم اقتصادی رشد می‌باشد و به‌خاطر اینکه صفت رشد از لحاظ اقتصادی در شتر یکی از مهم‌ترین صفات به‌شمار می‌رود لذا در این مطالعه تنوع موجود در اگزون ۱ ژن MYF5 که یکی از مهم‌ترین ژن‌های تأثیرگذار بر روی لاشه و رشد می‌باشد، در داخل و بین جمعیت‌های شترهای تک‌کوهانه و دوکوهانه مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

نمونه‌گیری و استخراج DNA

نمونه‌برداری از سیاهرگ وداجی تعداد ۴۰ نفر ازشترهای دوکوهانه اردبیل، ۵۵ نفر شتر تک‌کوهانه ایستگاه یزد، ۵۰ نفر شتر تک‌کوهانه ایستگاه طرود و ۳۵ نفر شتر شترهای تک-کوهانه از گله مردمی در روستای طرود با استفاده از ونوجکت حاوی ماده ضدانعقاد EDTA از سیاهرگ وداج خون‌گیری به-عمل آمد. میزان خون استحصالی از هر شتر در ونوجکت ۴ میلی‌لیتر بود. نمونه‌های خون در محیط سرد بلافاصله پس از استحصال به آزمایشگاه منتقل و در فریزر ۲۰- درجه سانتی-گراد تا زمان استخراج DNA نگهداری شد و DNA ژنومیک با استفاده از کیت استخراجی DNA از خون پستانداران شرکت RBC استخراج گردید (Real Biotech Corporation, RBC, South Korea). جهت تعیین کیفیت DNA استخراج‌شده حجم ۵ میکرولیتر از DNA استخراج‌شده بر روی ژل‌آگارز ۰/۸٪ به‌مدت ۱/۵ ساعت بارگذاری گردید (شکل ۱).

پرایمرهای مورد استفاده و تکثیر جایگاه MYF5

جهت تکثیر اگزون ۱ از جایگاه ژن میوژنیک فاکتور-۵ به طول ۴۲۲ جفت‌باز (شکل ۱) از پرایمرهای زیر که از مقاله *شاه* و همکاران (Shah *et al.*, 2007) اقتباس شده است، استفاده گردید.

Foreward: 5'-TGCCAGTTCTCGCCCTCTGAFT-3'
Backward: 5'-TATAGTAGTTTTCCACCTGTTCC-3'

برنامه حرارتی برای تکثیر ژن MYF5 به‌ترتیب؛ دمای واسرشت شدن اولیه ۹۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۵ دقیقه، ۳۵ سیکل دمای واسرشت ۹۴ درجه سانتی‌گراد برای ۱ دقیقه، اتصال پرایمرها ۵۸ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۵۰ ثانیه، تکثیر قطعه موردنظر ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱ دقیقه و یک سیکل دمای تکثیر نهایی ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۰ دقیقه تنظیم و انجام شد.

غلظت‌های مورد استفاده از مواد بعد از بهینه‌سازی برای انجام PCR به‌ترتیب $MgCl_2$ (1.6µL) بافر10X(2.5µ) PCR، dNTP (0.16µL)، پرایمرها (18pm)، Taq DNA Polymerase (1.25unite)، DNA ژنومی (1.5µL) و مابقی را تا رسیدن به ۲۵µL از آب مقطر استفاده شد.

تعیین ژنوتیپ محصولات PCR با استفاده از روش SSCP(Single-Strand Conformational Polymorphism) برای ۱۲ میکرولیتر محلول دای(formamide 98%, 10 mM EDTA, 0.025% bromophenol blue, 0.025% xylene cyanol) فوق را با ۵ میکرولیتر محصول PCR مخلوط می‌کنیم. سپس در ۹۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۰ دقیقه قرار داده و بعد از آن سریع در یخ سرد کردیم. بعد نمونه‌ها در ژل آکریل‌آمید ۱۱ درصد به طول ۱۶ سانتی‌متر بارگذاری شد. رنگ‌آمیزی به‌روش نیترات‌نقره انجام گردید.

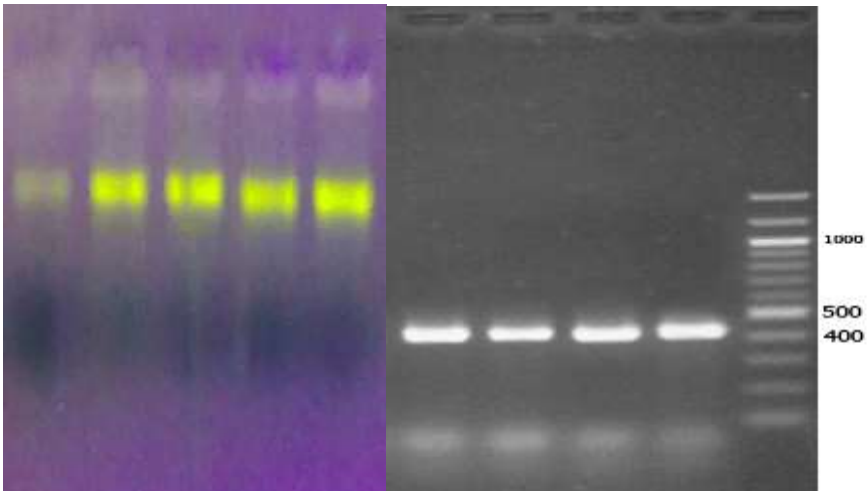
توالی‌یابی جایگاه MYF5 و آنالیز توالی‌ها

بعد از تکثیر جایگاه اگزون ۱ ژن MYF5 از ۱۰ نمونه شتر دوکوهانه از استان اردبیل (از هر الگو ۲ یا ۳ نمونه) و ۱۰ نمونه از شتر تک‌کوهانه ایستگاه‌های یزد، طرود و گله مردمی در روستای طرود از الگوهای متفاوت (از هر الگو یک نمونه) جهت بررسی تنوع موجود در این جایگاه توالی‌یابی گردید. همه توالی‌ها با استفاده از روش W در نرم‌افزار BioEdit (Version 7.0.5) *هال* (Hall, 1999) هم‌ردیف شدند. نرم‌افزار DnaSP (version 5.10) *لیبرادو* و *روزاس* (Librado and Rozas, 2009) برای آنالیز تنوع هاپلوتایپ (H_d) میانگین تعداد نوکلئوتید متفاوت *تاجیما* (Tajima, 1983)، تنوع نوکلئوتیدی (π) تنوع نوکلئوتیدی هم‌معنی (π_s)، تنوع نوکلئوتیدی غیرهم-معنی (π_a) با تصحیح Jukes and Cantor برای هر دو گونه شتر دوکوهانه و تک‌کوهانه و میانگین تعداد نوکلئوتید جایگزین در هر جایگاه بین دو گونه (D_{xy}) *لینچ* و *کریز* (Lynch and Crease, 1990) استفاده شد. میانگین تعداد

نوکلئوتیدهای جایگزین در هر جایگاه (D_{xy}) و شاخه‌بندی بین جمعیت‌ها با استفاده از نرم‌افزار MEGA4 و با روش UPGMA بررسی گردید *تامورا* (Tamura *et al.*, 2007).

نتایج و بحث

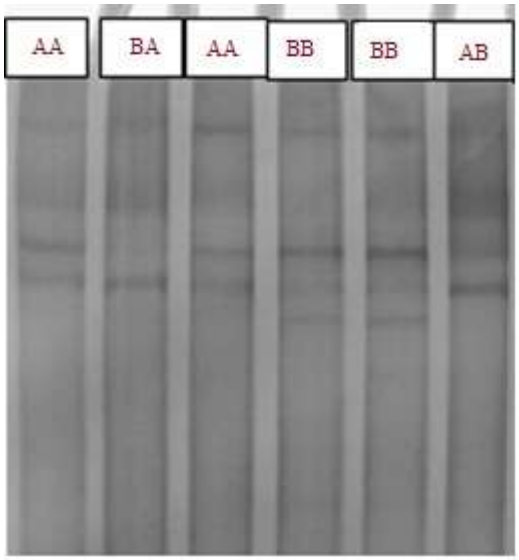
کیفیت DNA با استفاده از ژل‌آگارز ۰/۸ درصد تعیین گردید و رنگ‌آمیزی با اتیدیوم‌بروماید با غلظت 10µg/µl انجام شد همان‌طور که مشاهده می‌شود غلظت DNA تقریباً یک‌دست و با کیفیت خوب می‌باشد. و آغازگرها نیز به‌صورت اختصاصی عمل کردند و قطعه ۴۲۲ جفت بازی از ژن MYF5 را تکثیر گردید (شکل ۱).



شکل ۱: تکثیر جایگاه ۴۲۲ جفت باز اگزون ۱ ژن MYF5 (سمت راست) و کیفیت DNA استخراج شده با استفاده از کیت RBC (سمت چپ)

Fig. 1: Amplified of 422 bp of exon 1 gene MYF5 and quality of genomic DNA purified using RBC mini kit

بخش اگزون ۱ ژن MYF5 شتر (۴۲۲ جفت‌باز) تکثیر و با روش PCR-SSCP تعیین ژنوتیپ شد نتایج PCR-SSCP چهار الگوی متفاوت را نشان داد الگوها براساس AA (دو باند)، BA (یک باند)، BB (سه باند) و AB (سه باند با الگوی متفاوت از BB) نام‌گذاری شدند و همه الگوها یک باند مشترک در ابتدای ژل دارند (شکل ۲). نتایج توالی‌یابی نیز تفاوت این الگوها را با تغییر در دو جایگاه نشان داد توالی موردنظر به‌طورکلی در شکل ۳ نشان داده شده است.



شکل ۲: الگوهای متفاوت از آنالیز نمونه‌ها ژن MYF5 در شتر با استفاده از PCR-SSCP

Fig. 2: PCR- single-strand conformational polymorphism patterns of the camel MYF5 gene

AAAAAACCCTGAGGCGAGTTCGGGGACGAGTTTGAGCCGCGAGTGGCTGCCTTCG
GGGCGCACAAAGCAGACTTGCAAGGCTCAGACGAGGATGAGCACGTGAGAGCAC
CTATGGGCCACCACCAGGCCGGCCACTGCCTCATGTGGGCCTGCAAAGCATGCAA
GAGGAAGTCCACCACCATGGATCGGCGGAAGGCGGCCACCATGCGCGAGCGAAG
ACGCCTGAAGAAGGTCAACCAGGCTTTCGAGACGCTCAAGAGATGCACCACGAC
CAACCCCAACCAGAGGCTGCCCAAGGTGGAGATCCTCAGGAATGCCATCCGCTAC
ATTGAGAGCCTGCAGGAGCTGTTGAGGGAACAGGTGAAAA

شکل ۳: توالی مربوط به جایگاه اگزون ۱ ژن MYF5 در شتر
Fig. 3: Camel Myiogenic factor 5 (MYF5) gene sequence

براساس توالی‌یابی و هم‌ردیف‌سازی با استفاده از روش W در نرم‌افزار BioEdit (Version 7.0.5) تغییر نوکلئوتیدی در دو موقعیت ۹۹ و ۳۶۷ مشاهده گردید که تغییر نوکلئوتید A به G موجب جایگزینی اسیدآمینه سرین به آسپارژین در موقعیت ۹۹ و تغییر نوکلئوتید G به A موجب جایگزینی اسیدآمینه‌تریپتوفان به کدون متوقف‌کننده در موقعیت ۳۶۷ می‌شود که ترکیب این دو تغییر باعث ایجاد هاپلوتایپ گردیده که کاملاً مرتبط با الگوهای متفاوت مشاهده شده بود. فراوانی هاپلوتایپ (جدول ۱) نشان‌دهنده فراوانی مناسب هر یک از آلل‌های A و B در هر موقعیت می‌باشد.

جدول ۱: فراوانی‌های هاپلوتیپ‌های شناسایی‌شده از اگزون ۱ ژن MYF5 در نمونه‌های توالی‌یابی‌شده
Table 1: Haplotype and Sequence variation detected frequency in the exon 1 region of camels MYF5

موقعیت تغییر نوکلئوتیدی (Position of nucleotide)	هاپلوتایپ (Haplotype)				تغییرات اسیدآمینه‌ای (Amino acid changing)
	AA	BB	AB	BA	
۹۹(99)	AGC	AAC	AGC	AAC	Ser/Asn سرین/آسپارژین
۳۶۷(367)	UGG	UGA	UGA	UGG	Trp/stop تریپتوفان/متوقف کننده
فراوانی (frequencey)	0.3075	0.44	0.165	0.083	

تنوع کدون متوقف‌کننده

کدون متوقف‌کننده از ژن MYF5 در داخل و بین دو گونه مشاهده گردید. شتر دوکوهانه و تک‌کوهانه کدون TGA به‌عنوان کد توقف‌کننده در صورت وجود جهش A به G مشاهده گردید. این کدون متوقف‌کننده ممکن است در بین و داخل گونه‌ها اریبی ایجاد کند *گوش* (Ghosh, 2000). *لی* و همکاران (Li *et al.*, 2007) کدون متوقف‌کننده متغییر را در ژن MSHR در داخل و بین خانواده‌ها مشاهده کردند و نشان دادند که اکثر خانواده‌ها دارای کدون متوقف‌کننده TGA بوده و کمتر خانواده‌ای کدون TAG و TAA را دارند. کدون متوقف‌کننده TAA به‌علت اینکه دو تری‌پپتید آزادکننده فاکتور ۱ و ۲ می‌توانند کدون توقف‌کننده UAA را تشخیص دهند، معمولاً بالاترین کارآیی را در توقف ترجمه دارد *رابرت* (Robert, 2001). تنوع حاصل در ژن MYF5 در بین دو گونه ممکن است نتیجه تکامل و تمایز بین دوگونه باشد. به‌طور کلی تنوع و تغییرات موجود ممکن است به‌وسیله اضافه‌شدن و حذف‌شدن و یا جایگزینی بین نوکلئوتیدی حاصل گردد.

چندشکلی و تنوع ژنتیکی داخل و بین گونه در جمعیت شترهای ایران

در کل ۲۰ توالی به‌طول ۳۸۱ جفت‌باز و گپ‌ها با استفاده از نرم‌افزار BioEdit همردیف‌یابی شدند. نتایج DnaSP برای ناحیه انتخاب شده (۱-۳۸۱) از ۲۰ توالی در دوگونه دارای ۳۵۶ جایگاه را نشان داد. تنوع نوکلئوتید (π=۰/۰۰۸۹۱) و میانگین تعداد نوکلئوتید مختلف (K=۳/۱۴۶) برای همه توالی‌ها به‌دست آمد. ژن MYF5 می‌تواند به‌عنوان تنوع ژنتیکی بالا

در تمایز مجزای گونه‌ها مورد بحث قرار گیرد. اطلاعات چندشکلی و تنوع هاپلوتیپی برای ژن MYF5 هر دو گونه و ایستگاه‌های مجزا در جدول ۲ آورده شده است. میانگین تعداد تفاوت نوکلئوتیدی در شتر یک‌کوهانه برابر با ۴/۷۵ بود که نشان می‌دهد نسبت به شتر دوکوهانه (۲/۲۵) دارای تنوع ژنتیکی بالاتری می‌باشد. معمولاً تنوع ژنتیکی بالا برای انتخاب طبیعی بیشتر مطلوب می‌باشد. تنوع ژنتیکی بالا برای ژن MYF5 در شتر دوکوهانه ممکن است مرتبط با سازگاری و قدرت زنده‌مانی آن باشد.

تنوع نوکلئوتیدی غیرهم‌معنی نسبت به تنوع نوکلئوتیدی هم‌معنی بیشتر است که این ممکن است به‌خاطر انتخاب انجام شده باشد. تنوع هاپلوتایپی در شترهای تک‌کوهانه نزدیک به ۱ و در گله یزد و طرود ۱ می‌باشد که این نشان‌دهنده‌ی تنوع ژنتیکی بالا در این گونه است (جدول ۲).

جدول ۲: چندشکلی و تنوع ژنتیکی برای ژن MYF5 شتر

Table 2: Genetic diversity of the MYF5 gene in camels

گونه و جمعیت species and population	پارمترهای تنوع زیستی Biodiversity Parameters*					
	H	H_d	K	Π	π_s	π_a
شتر دوکوهانه Camelus Bactrianus	6	0.889	2.25	0.00625	0.00284	0.00369
شتر تک‌کوهانه Camelus dromedaries	7	0.911	4.75	0.01341	0.01045	0.01466
ایستگاه یزد Yaz Station	3	1	4.667	0.01298	0.00423	0.01594
ایستگاه طرود Trod Station	4	0.9	5.4	0.01506	0.01379	0.01577
گله طرود Trod Herd	2	1	6	0.0163	0.01379	0.01966

* تعداد هاپلوتایپ (H)، تنوع هاپلوتایپ (H_d) میانگین تعداد نوکلئوتید متفاوت (K)، تنوع نوکلئوتیدی (π)، تنوع نوکلئوتیدی هم‌معنی (π_s)، تنوع نوکلئوتیدی غیرهم‌معنی (π_a) با تصحیح Jukes and Cantor

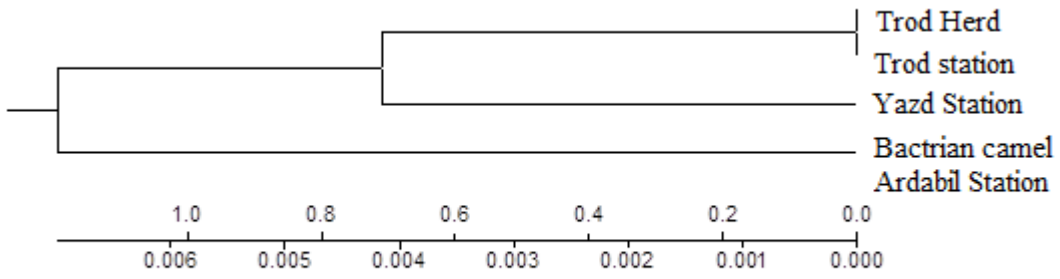
آنالیز انشعاب DNA و شاخه‌بندی

میانگین تعداد نوکلئوتیدهای جایگزین در هر جایگاه (D_{xy}) از ژن MYF5 در بین جمعیت‌ها در جدول ۳ نشان داده شده است. شاخص D_{xy} برای انشعاب DNA بین و میان گونه‌ها بوده و هرچه D_{xy} بیشتر باشد حاکی از فاصله ژنتیکی کمتر بین X و Y می‌باشد بر پایه D_{xy} درخت فیلوژنتیکی برای جمعیت‌ها با استفاده از روش UPGMA ترسیم گردید جینگ *فنگ* و همکاران (Jing-feng *et al.*, 2008) (شکل ۳) و زمان انشعاب در بین جمعیت‌ها و گونه با استفاده از میزان میانگین نوکلئوتیدهای غیرهم‌معنی (۰/۸۵×۱۰$^{-9}$) (Li and dan, 1991) محاسبه شد. کوچک‌ترین D_{xy} (۰/۰۰۸) و زمان انشعاب (حدود ۲ میلیون سال) برای دو گونه نزدیک هم یعنی شتر دوکوهانه و تک‌کوهانه به‌دست آمد (جدول ۳).

جدول ۳: میانگین تعداد نوکلئوتیدهای جایگزین در هر جایگاه (D_{xy}) از ژن MYF5

Table 3: Average nucleotide substitutions per site D_{xy} of MYF5 gene

	شتر دو کوهانه Camelus Bactrianus	ایستگاه یزد Yaz Station	ایستگاه طرود Trod Station	گله طرود Trod Herd
شتر دو کوهانه Camelus Bactrianus				
ایستگاه یزد Yaz Station	0.008			
ایستگاه طرود Trod Station	0.008	0.017		
گله طرود Trod Herd	0.008	0.017	0.00	



شکل ۴: درخت فیلوژنتیکی ژن MYF5 در چهار جمعیت شتر با استفاده از روش UPGMA

Fig. 4: Phylogenetic tree of MYF5 gene among four populations with used UPGMA methods

درخت فیلوژنتیکی ترسیم بین نمونه‌ها عدم‌وجود فاصله ژنتیکی بین دو گله طرود و ایستگاه طرود و همچنین نزدیکی بین این دو گله با ایستگاه یزد را نشان داد (شکل ۴).

در این مطالعه نشان داده شد تغییر نوکلئوتید A به G موجب جایگزینی اسیدآمینه سرین به آسپارژین در موقعیت 99 تغییر نوکلئوتید G به A موجب جایگزینی اسیدآمینه تریپتوفان به کدون متوقف‌کننده در موقعیت ۳۶۷ می‌شود این جایگزینی موجب تغییر در پروتئین و ساختار آن خواهد شد که ممکن است سبب ایجاد واریانس در تولید شود. پیشنهاد می‌شود که این جهش در تحقیقات بعدی جهت ارتباط‌سنجی مورد استفاده قرار گیرد.

به‌طورکلی با توجه به تغییرات آب‌وهوایی و چالش‌هایی که در برابر تأمین غذا وجود دارد حفظ و نگهداری و تولید غذا از منابع متفاوت یکی از ضروریات به‌شمار می‌رود و به‌خاطر اینکه در مناطق بیابانی دام‌های دیگر امکان تولید ندارند و نگهداری آنها باعث تخریب بیشتر مناطق بیابانی می‌گردد، لذا استفاده از شتر به‌عنوان یک دام تولید کنند غذا مهم به‌نظر می‌رسد. توجه به وجود تنوع از نوع گزارش شده و شناسایی ژن‌های کاندیدای دیگر می‌تواند برای انتخاب به کمک نشانگر در جهت بهبود و اصلاح شتر برای اقتصادی کردن دام مثمر ثمر باشد.

جهت مطالعه منابع به صفحه‌های ۵-۶ متن انگلیسی مراجعه شود.