

تنوع ژنتیکی جمعیت‌های آهو و جبیر در استان فارس براساس ژن سیتوکروم *b*

- **فصیحه محمدی‌گرچی***: گروه محیط زیست، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، صندوق پستی: ۴۹۱۳۸-۱۵۷۳۹
- **حمیدرضا رضایی**: گروه محیط زیست، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، صندوق پستی: ۴۹۱۳۸-۱۵۷۳۹
- **شاهو قوامی**: گروه محیط زیست، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، صندوق پستی: ۴۹۱۳۸-۱۵۷۳۹

تاریخ دریافت: شهریور ۱۳۹۳ تاریخ پذیرش: آذر ۱۳۹۳

چکیده

آهوسانان، گونه‌های در معرض خطری هستند که جمعیت آن‌ها با نرخ بالایی در حال کاهش بوده و حفاظت از آن‌ها باید در اولویت برنامه‌های حفاظتی قرار گیرد. در این تحقیق ۹ نمونه جمع‌آوری شده از ۴ جمعیت غزال در استان فارس بر اساس توالی ژن سیتوکروم *b* از DNA میتوکندریایی مورد آنالیز قرار گرفتند. پس از مقایسه توالی به دست آمده با توالی موجود در ژن‌بانک در نرم‌افزار MEGA 5.2 و ترسیم درخت فیلوژنتیک، ۲ گونه متفاوت از آهو در این نواحی شناسایی شد. نتایج آنالیز واریانس مولکولی در نرم‌افزار Arlequine 3 نشان داد تفاوت در بین این جمعیت‌ها ۸۸/۰۹ و در درون جمعیت‌ها ۱۱/۹۱ است که نشان می‌دهد ساختار ژنتیکی بارزی در بین جمعیت‌ها وجود دارد و جریان ژنی بین آن‌ها کم است. شاخص تثبیت FST، ۰/۸۸ است و چون این شاخص بزرگ‌تر از ۰/۲۵ است نشان می‌دهد که تنوع ژنتیکی بارز است. شبکه هاپلوتایپی آهوی ایرانی حاصل از نرم‌افزار network نشان می‌دهد که دو نمونه *abad*۲ و *bam*۳ دارای هاپلوتایپ مشترک هستند و بقیه نمونه‌ها هاپلوتایپ جداگانه‌ای را تشکیل دادند. شبکه هاپلوتایپی جبیر نشان می‌دهد که نمونه‌های جبیر در منطقه بهرام گور دارای هاپلوتایپ مشترک هستند و نمونه‌های منطقه هرمود لار هاپلوتایپ جداگانه‌ای را تشکیل دادند.

کلمات کلیدی: DNA میتوکندریایی، آهوسانان، فاصله ژنتیکی



مقدمه

تنوع ژنتیکی را می‌توان به صورت تنوع توالی DNA ژنومی بین دو موجود یا دو جمعیت از موجودات تعریف کرد (Gunter, 2009). کاهش تنوع ژنتیکی بین جمعیت‌های مختلف مضر و بر میزان برداشت آن‌ها تأثیرگذار است. بهره برداری از ذخایر گونه‌های مختلف نیاز به شناخت کافی از وضعیت ذخایر گونه‌ها، نژادها و جمعیت‌های متعدد آن‌ها دارد تا بتوان مدیریت اصولی بر ذخایر اعمال نمود (قرایی و همکاران، 1391). امروزه یکی از راه‌های حفاظت گونه علاوه بر حفظ اکوسیستم، حفظ ذخایر ژنی آن می‌باشد که توسط ژنتیک حفاظت صورت می‌گیرد. ژنتیک حفاظت یک علم گسترده و تکمیل‌کننده‌ی قوانین حفاظت گونه‌هاست که در راستای نیل به چنین هدف بزرگی معمولاً موضوعات بسیار مختلفی در آن بررسی می‌شود که از آن جمله تفاوت‌های ژنتیکی بین جمعیت‌ها و گونه‌ها، پدیده‌های انتخاب جفت، آزمون رابطه والدی-فرزندی، جریان ژنی بین جمعیت‌ها، دورگ‌سازی آرایه‌ها و روابط رده‌بندی بین آرایه‌های بالاتر را دربر می‌گیرد (Hedrick, 2001).

غزال یک گروه بسیار متنوع از پستانداران است که روابط فیلوژنتیک در این گروه تا حد زیادی ناشناخته است و مطالعات ژنتیکی اندکی بر روی آن‌ها صورت گرفته است که تلاش‌های حفاظتی را مختل و با مشکل روبرو کرده است (Wacher و همکاران، 2010). گونه‌های آهو یک توزیع نسبتاً گسترده دارند، اما در 60 سال گذشته اندازه جمعیت آن‌ها کاهش یافته است و به شدت تکه تکه شده است (IUCN, 2008). امروزه بسیاری از گونه‌های آهو تهدید شده‌اند و بیش‌تر گونه‌ها فقط در برنامه‌های تکثیر در اسارت زنده مانده‌اند (IUCN, 2008؛ Hammond و همکاران، 2001). شناسایی رده‌بندی درست جمعیت گونه‌های در معرض خطر برای موفقیت برنامه‌های حفاظت ضروری است (Wronsky و همکاران، 2010). در ابتدا، از صفات مورفولوژیکی از قبیل اندازه بدن، شکل شاخ و غیره برای توصیف رده‌های مختلف استفاده شده است. با این حال، با توجه به تنوع درون گونه‌ای بالا و درجه بالایی از شباهت خصوصیات بین گونه‌ای، متمایز کردن گونه‌ها با مشکل مواجه شد (Grovez, 1996). تاکنون مطالعات ژنتیکی زیادی بر روی غزال‌ها صورت گرفته است. بر اساس بررسی‌های تنوع ژنتیکی غزال‌های جنوب ایران براساس توالی ژن سیتوکروم *b* توسط میرزاخواه (1391) سه گونه متفاوت از آهو در این نواحی شناسایی شد. براساس

دیدگاه فیلوژنتیک آهوسانان جزایر کیش و خارک، آهو گواتردار و آهوسانان جزایر هرمز، هنگام و دشت‌های طارم و مسافراآباد، آهو هندی یا جیبر بودند. در منطقه حفاظت‌شده مند گونه جدیدی برای ایران شناسایی شد که *G. marica* تشخیص داده شد. فداکار و همکاران (1391) به مطالعه ژنتیکی و فیلوژنتیکی ناحیه سیتوکروم *b* آهو ایرانی در پناهگاه حیات وحش موه و پارک ملی و پناهگاه حیات وحش قمیشلو در استان اصفهان پرداخت. نتایج این تحقیق نشان داد که هر دو جمعیت در یک شاخه قرار می‌گیرند و جزء گونه آهو ایرانی *G. subgutturosa* است اما هر دو جمعیت کاملاً از یکدیگر جدا می‌باشند. Sorokin و همکاران (2011) پلی‌مورفیسم توالی نوکلئوتید یک قطعه بسیار متنوع D-LOOP را در 76 آهو گواتردار گونه *G. subgutturosa subgutturosa* در ازبکستان، ترکمنستان و آذربایجان مورد بررسی قرار دادند. آهو ترکمنستان و ازبکستان شباهت ژنتیکی زیادی داشتند. جمعیت آهو آذربایجان، منحصر به فرد بود. تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیتی *G. dorcas* در محدوده شمال‌غربی آفریقا با استفاده از 13 جایگاه میکروستلایت و یک قطعه 716 جفت باز آلی DNA میتوکندریایی در هفت جمعیت توسط Godinho و همکاران (2012) مورد بررسی قرار گرفت. تنوع ژنتیکی با هر دو نشانگر mtDNA و هسته‌ای یک دوگانگی روشنی را در میان جمعیت *G. dorcas* نشان داد. در حالی که جمعیت‌های وحشی و در اسارت در آلمریا (اسپانیا)، سطوح قابل ملاحظه‌ای از تنوع را نشان دادند. Lerp و همکاران (2011) به بررسی نواحی کنترل و سیتوکروم *b* از mtDNA از *G. dorcas* در کل محدوده پراکنش آن‌ها که شامل شبه جزیره عربستان و کشورهای شمال آفریقا بود، پرداختند. نتایج آنالیزها پس از مقایسه آن‌ها با سایر تاکسون‌های جنس *Gazella* نشان داد که تفاوت‌های ریخت‌شناسی آهوهای مناطق تحت مطالعه نمی‌تواند دلیل بر وجود تفاوت ژنتیکی بین آن‌ها باشد. هاپلوטיפ‌های میتوکندری مورفولوژی ویژه *G. subgutturosa* را در دو مکان جغرافیایی توسط Murtskhvaladze و همکاران (2012) مورد مطالعه قرار گرفت. آهو گواتردار شرق ترکیه، از نظر مورفولوژی به *G. subgutturosa* و از نظر هاپلوטיפ به *G. marica* شبیه بود. امروزه روش‌های مولکولی مانند توالی‌یابی DNA میتوکندری (mtDNA) به‌طور گسترده‌ای در توصیف گونه‌ها که به سختی از لحاظ مورفولوژیکی قابل تشخیص‌اند استفاده می‌شود (Whacher و همکاران، 2011؛ Lorenzen و همکاران، 2010؛ Hammond و همکاران، 2001). این ژن ابزار مهمی

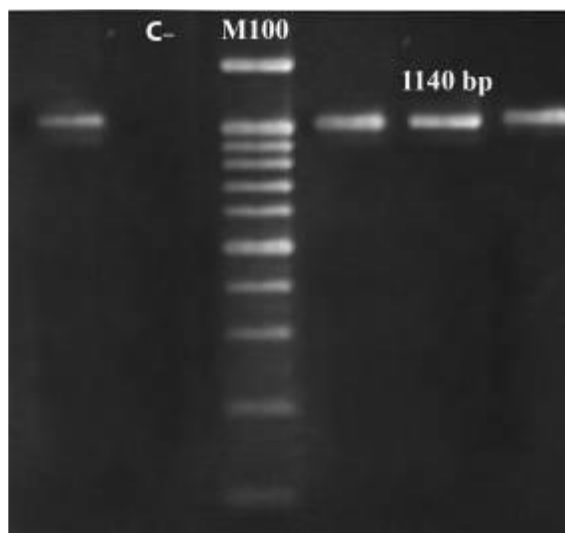


حفاظت شده بهرام گور و منطقه حفاظت شده هرمود لار در استان فارس جمع‌آوری و با الکل ۹۶٪ فیکس شدند و سپس برای استخراج DNA به آزمایشگاه ژنتیک منتقل شدند. استخراج DNA از نمونه‌ها با استفاده از کیت مخصوص استخراج DNA سرگین و بر اساس پروتکل شرکت Bioneer انجام گرفت. برای تکثیر ناحیه سیتوکروم *b* به طول ۱۱۴۰ جفت‌باز از یک جفت پرایمر عمومی به نام‌های Gaz cytbR و Gaz cytbF استفاده شد (Rezaei و همکاران، ۲۰۱۰). واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز توسط دستگاه ترموسایکلر انجام گرفت (جدول ۱). حجم واکنش علاوه بر مواد اولیه کیت (تیوب‌های لیوفیلیزه آماده PCR)، ۲۵ میکرولیتر و شامل ۳ میکرولیتر DNA از هر نمونه استخراج شده، ۲ میکرولیتر مخلوط پرایمر ۱۰ پیکومولار، ۲۰ میکرولیتر آب دو بار تقطیر بود. بعد از واکنش زنجیره‌ای پلیمرز، الکتروفورز محصولات تکثیر شده روی ژل آگاروز ۲ درصد با رنگ‌آمیزی اتیدیوم بروماید انجام پذیرفت و کیفیت محصول PCR ارزیابی شد (شکل ۱). ۹ نمونه باند شفاف تشکیل دادند و برای توالی‌یابی ارسال شدند.

برای مطالعات مختلفی در زمینه‌های تکامل جانوران، فیلوجرافیایی و فیلوژنتیک می‌باشند (Rokas و همکاران، ۲۰۰۳) و بسیاری از مطالعات، از تنوع توالی mtDNA در کمی نمودن تنوع ژنتیکی و حل مسائل طبقه‌بندی و یا حفاظت از گونه آهو استفاده می‌کنند (Whacher و همکاران، ۲۰۱۱). از بین ژن‌های میتوکندریایی، ژن سیتوکروم *b* برای مطالعات اختلاف ژنتیکی بسیار مناسب گزارش شده است (Delin و همکاران، ۲۰۰۶). ژن سیتوکروم *b*، ژن میتوکندری کدینه است که تاکنون به فراوانی برای تاکسون‌های گوناگونی تعیین توالی شده است (Aliabadian و همکاران، ۲۰۰۹). لذا در این پژوهش با مطالعه ژنتیک حفاظتی حیات وحش بر روی غزال‌های استان فارس سعی شده است که براساس ویژگی‌های ژنتیکی موجود در جمعیت، جایگاه این غزال‌ها در بین سایر غزال‌های موجود متمایز شود و شرایط وضعیت پلی‌مورفیسم جمعیت‌های این جنس با استفاده از ژن سیتوکروم *b* بررسی گردد.

مواد و روش‌ها

تعداد ۱۳ نمونه سرگین آهو از منطقه پارک ملی بمو و منطقه شکار ممنوع آباد و ۱۰ نمونه سرگین جیبیر از منطقه



شکل ۱: نحوه تشکیل باند در ژل آگاروز ۲ درصد

جدول ۱: آغازگر استفاده شده برای PCR و توالی‌یابی

نام آغازگر	توالی آغازگر	طول قطعه	دمای اتصال
Gaz cytbF	CCCCACAAAACCTATCACAAA-3'-5'	۱۱۴۰	۵۵°C
Gaz cytbR	AGGGAGGTTGGTTGTTCTCC-3'-5'		



استفاده از نرم‌افزار Network و رویه Draw و Calculate Network و رویه Network شبکه هاپلوتایپی گونه‌ها نشان داده شد.

تعداد ۱۰ توالی از توالی‌های *Gazella* ثبت شده در ژن‌بانک (جدول ۲) و گونه *Capra aegagrus* به‌عنوان OUT GROUP با استفاده از ابزار BLAST در پایگاه NCBI انتخاب شدند.

نتایج

برای تجزیه و تحلیل نتایج از ابزار BLAST و رویه BLASTN در پایگاه NCBI برای تایید توالی‌ها استفاده شد (جدول ۳).

جدول ۲: نمونه‌های اخذ شده از ژن‌بانک برای توالی ژن سیتوکروم *b* (۱۱۴۰ جفت‌باز)

نام علمی گونه	شماره دسترسی در ژن‌بانک
<i>Gazella subgutturosa</i>	AF036282.1
<i>Gazella bennettii</i>	JN632635.1
<i>Gazella marica</i>	JN632643.1
<i>Gazella cuvieri</i>	JN632636.1
<i>Gazella leptoceros</i>	JN632641.1
<i>Gazella spekei</i>	JN632642.1
<i>Gazella erlangeri</i>	JN632639.1
<i>Gazella Arabica</i>	KC188765.1
<i>Gazella gazella</i>	JN632640.1
<i>Gazella dorcas</i>	JN410252.1

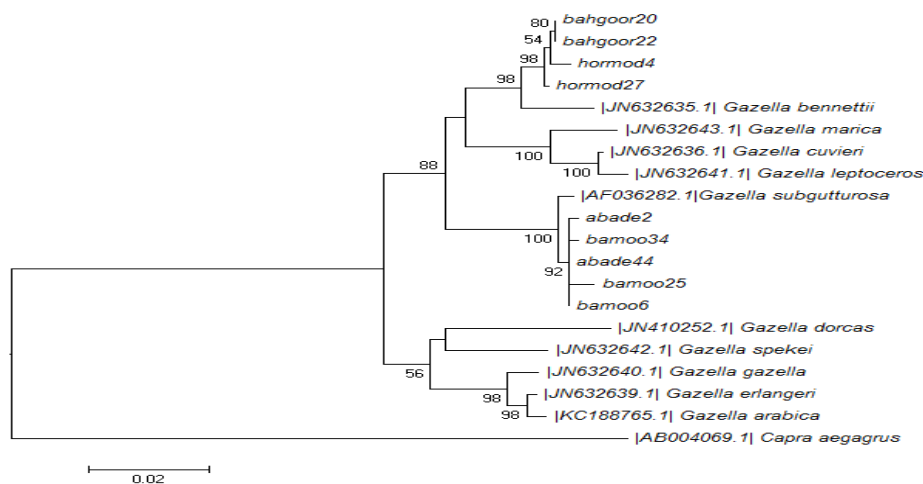
جدول ۳: درجه شباهت توالی‌ها با کد دسترسی در ژن‌بانک

توالی‌ها	درجه شباهت	کد دسترسی در ژن‌بانک
نمونه‌های بهرام گور و هرمود	٪۹۸	JN632635.1
نمونه‌های بمو و آباده	٪۹۹	AF036282.1 JN632644.1

همان‌طور که در شکل ۲ دیده می‌شود، نتایج فیلوژنتیک حاصل از روش آماری ML نشان می‌دهد نمونه‌های منطقه حفاظت شده بهرام گور و هرمود لار در شاخه *G. bennettii* و نمونه‌های پارک ملی بمو، منطقه شکار ممنوع آباده در شاخه *G. subgutturosa* قرار گرفتند.

نتایج تجزیه و تحلیل واریانس مولکولی (AMOVA) حاصل از نرم‌افزار Arlequin 3 در جدول ۴ نشان داده شده است.

ابتدا کلیه توالی‌ها در نرم‌افزار Seqscape V2.6 اصلاح شدند و پس از آن که توسط نرم‌افزار Mega V5.2 هم‌تراز شده و برای رسم درخت فیلوژنتیک به‌کار گرفته شدند. درخت‌های فیلوژنی حاصل از مقایسه توالی نوکلئوتیدی ژن سیتوکروم *b* نمونه‌های غزال مورد آزمایش و گونه‌های موجود در ژن‌بانک توسط روش Maximum likelihood و براساس مدل GTR+G تحت نرم‌افزار Mega V5.2 ترسیم شد. جهت آنالیز واریانس مولکولی (AMOVA)، تعیین تعداد پلی‌مورفیسم، تعیین فاصله ژنتیکی نمونه‌های مورد مطالعه و همچنین مقایسه جمعیت‌ها به روش Pairwise difference از نرم‌افزار Arlequin V3 استفاده شد. در ادامه جهت مقایسه نتایج فیلوژنتیک به‌دست آمده، با



شکل ۲: درخت فیلوژنتیک حاصل از روش ML برای توالی ۱۱۴۰ جفت‌بازی ژن سیتوکروم *b*

جدول ۴- نتایج آنالیز واریانس مولکولی (AMOVA) در نرم

افزار 3 Arlequine			
نوع واریانس	مجموع مربعات	واریانس	درصد واریانس
بین جمعیت‌ها	۹۰/۶۶۷	۱۲/۸۲	۸۸/۰۹
درون جمعیت‌ها	۸/۶۶۷	۱/۷۳۳	۱۱/۹۱
کل	۹۹/۳۳	۱۴/۵۵۳	
شاخص تثبیت (F _{ST}):		۰/۸۸	

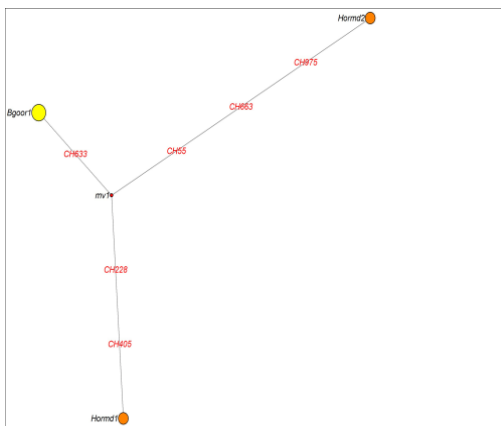
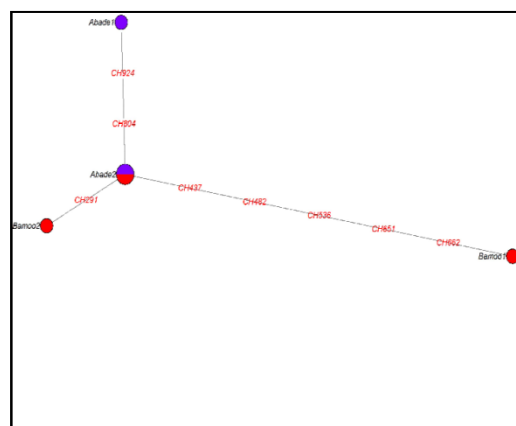
شاخص‌های تنوع مولکولی در جدول ۵ به دست آمد. همچنین جهت مقایسه بهتر هاپلوتایپ‌ها با یکدیگر در ماتریس فواصل ژنتیکی که در نرم‌افزار مذکور براساس نمونه‌های موجود حاصل شده بود، براساس یک نماینده برای هر هاپلوتایپ به دست آمد (جدول ۶). شبکه هاپلوتایپی آهوی ایرانی و جبیر حاصل از نرم‌افزار network در شکل‌های ۳ و ۴ نشان داده شد.

جدول ۵: شاخص‌های تنوع مولکولی در جمعیت‌های تحت بررسی براساس نرم‌افزار 3 Arlequine

نام منطقه	تعداد نمونه	تعداد هاپلوتایپ	تنوع ژنتیکی	تعداد نوکلئوتید	تعداد پلی مورفیسم	جانشینی هم‌نام	جانشینی ناهم‌نام	جایگاه‌های دارای پلی مورفیسم و نوع جانشینی
منطقه بومو	۳	۳	1±0/2722	۱۱۴۰	۷	۲	۵	۱۱۱۰ =۰/۶T =۰/۳C =۰/۳A =۰/۳C =۰/۳T =۰/۳C =۰/۶T =۰/۳G
منطقه آباد	۲	۲	1±0/۵	۱۱۴۰	۲	۱	۱	۹۲۴ =۰/۵A =۰/۵C =۰/۵T
منطقه بهرام‌گور	۲	۱	۰	۱۱۴۰	۰	-	-	-
منطقه هرمود	۲	۲	1±0/۵	۱۱۴۰	۶	۳	۳	۱۰۷۸ ۹۷۵ ۶۶۳ ۴۰۵ ۲۲۸ ۵۵

جدول ۶: ماتریس فواصل ژنتیکی حاصل از نرم‌افزار 3 Arlequine براساس حضور یک نماینده برای هر هاپلوتایپ (n/c)

هاپلوتایپ	H۱	H۲	H۳	H۴	H۵	H۶	H۷
H۱	۰/۰۰۰						
H۲	۰/۰۴۲	۰/۰۰۰					
H۳	۰/۰۰۷	۰/۰۴۵	۰/۰۰۰				
H۴	۰/۰۴۱	۰/۰۰۳	۰/۰۴۴	۰/۰۰۰			
H۵	۰/۰۰۴	۰/۰۴۲	۰/۰۰۷	۰/۰۴۱	۰/۰۰۰		
H۶	۰/۰۴۳	۰/۰۰۵	۰/۰۴۶	۰/۰۰۶	۰/۰۴۳	۰/۰۰۰	
H۷	۰/۰۰۲	۰/۰۴۰	۰/۰۰۵	۰/۰۳۹	۰/۰۰۲	۰/۰۴۱	۰/۰۰۰

شکل ۴: شبکه هاپلوتایپی جبیر (*G. bennettii*) حاصل از نرم‌افزار networkشکل ۳: شبکه هاپلوتایپی آهوی ایرانی (*G. subgutturosa*) حاصل از نرم‌افزار Network

بحث

تمام نمونه‌های جبیر منطقه حفاظت‌شده هرمود و بهرام گور در یک کلاد جداگانه و تمام نمونه‌های بمو و آباد در یک کلاد جداگانه قرار گرفتند. بین همه آهوهای ایرانی در استان فارس اختلافی دیده نشد. براساس درخت فیلوژنی ترسیم شده آهوی ایرانی به‌صورت مونوفیلیتیک است، یعنی از یک جد مشترک مشتق شده‌اند که با نتایج فداکار و همکاران (۱۳۹۱) هم‌خوانی دارد و با نتایج Wacher و همکاران (۲۰۱۰) هم‌خوانی ندارد، آن‌ها آهوی ایرانی را پلی‌فیلیتیک در نظر گرفته بودند.

نتایج حاصل از آنالیز واریانس مولکولی (AMOVA) در جدول ۴ نشان داده شده است. همان‌طور که دیده می‌شود میزان تفاوت در بین جمعیت‌ها بیش‌تر از تفاوت در درون جمعیت‌ها می‌باشد. هر چند به دلیل کم بودن تعداد نمونه‌ها صحبت کردن در مورد تفاوت و تنوع درون جمعیت‌ها چندان صحیح نمی‌باشد اما بالا بودن تنوع در بین جمعیت‌ها (۸۸/۰۹) نسبت به درون جمعیت‌ها (۱۱/۹۱) نشان می‌دهد که ساختار ژنتیکی بارزی در بین جمعیت‌های مختلف وجود دارد و جریان ژنی بین آن‌ها بسیار کم است. میزان F_{ST} میزان جدایی بین جمعیت‌ها را برآورد می‌کند. اگر دو جمعیت دارای فراوانی آلی کاملاً یکسان باشند، تفاوت ژنتیکی بین آن‌ها وجود نداشته و F_{ST} برابر صفر است. حال اگر دو جمعیت دارای آلل‌های کاملاً متفاوت در هر لوکوس باشند، مقدار F_{ST} برابر با یک است. اگر میزان تفاوت ژنتیکی بین ۰-۰/۰۵ باشد، معمولاً آن را به‌عنوان تفاوت ژنتیکی اندک، مقادیر ۰/۲۵-۰/۰۵ به‌عنوان تفاوت ژنتیکی متوسط و مقادیر بیش‌تر از ۰/۲۵ را تحت عنوان تفاوت ژنتیکی بارز قلمداد می‌کنند (Freeland, ۲۰۰۵). این مقدار در این مطالعه ۰/۸۸ برآورد شده است. چون این مقدار بالاتر از ۰/۲۵ است نشان دهنده این واقعیت است که جمعیت‌ها کاملاً از هم جدا شده‌اند و برون‌آمیزی در آن‌ها کم است و تنوع ژنتیکی بین آن‌ها بارز است که با نتایج میرزاخواه (۱۳۹۱) هم‌خوانی دارد، وی شاخص تثبیت F_{ST} را ۰/۹۴۸ برآورد کرد که نشان از تنوع ژنتیکی بالا در جمعیت‌های تحت بررسی دارد.

از لحاظ میزان پلی‌مورفیسم همان‌طور که مشاهده می‌شود، در جمعیت منطقه حفاظت‌شده بهرام گور که همگی یک هاپلوتایپ هستند، میزان تنوع ژنتیکی برابر صفر است و هیچ پلی‌مورفیسمی دیده نمی‌شود. در جمعیت‌های بمو، آباد و هرمود میزان تنوع ژنتیکی بالاست و در آن‌ها پلی‌مورفیسم دیده می‌شود. میزان بالای تنوع ژنتیکی و پلی‌مورفیسم در این جمعیت‌ها با توجه به

بزرگ بودن این جمعیت‌ها و امکان ارتباط با هر جمعیت دیگر که سبب افزایش برون‌آمیزی در آن‌ها می‌شود، قابل توجیه است. فواصل ژنتیکی به‌دست آمده از هاپلوتایپ‌ها در نرم‌افزار Arlequine جدایی گونه‌ها را به‌خوبی نمایان می‌سازد (جدول ۳). همان‌طور که دیده می‌شود فاصله ژنتیکی هاپلوتایپ H۱ که مربوط به گونه *G. subgutturosa* است با هاپلوتایپ‌های جمعیت‌های دارای گونه *G. bennettii* (H۲، H۴ و H۶) به‌ترتیب ۰/۰۴۲، ۰/۰۴۱ و ۰/۰۴۳ است و این فاصله با هاپلوتایپ‌های H۳، H۵ و H۷ به‌ترتیب ۰/۰۰۷، ۰/۰۰۴ و ۰/۰۰۲ است. با توجه به مطالعاتی که نصیری و مهدوی (۱۳۹۰) بر روی ناحیه سیتوکروم *b* از DNA میتوکندریایی ۵ نمونه بیولوژیک از جبیرهای پناهگاه حیات وحش شیراحمد انجام دادند به این نتیجه رسیدند که در بین گونه‌های مختلف آهو، جبیر کم‌ترین فاصله ژنتیکی، که معادل ۰/۰۰۳ است را با گونه *G. bennetti* دارد، درحالی‌که بیش‌ترین فاصله ژنتیکی جبیر با *G. dorcas* و یا تاکسون خواهری‌اش *G. saudiya* می‌باشد که به‌ترتیب برابر ۰/۰۷۳ و ۰/۰۷۴ است. این امر می‌تواند مؤید تعلق جبیر به گونه *G. bennetti* باشد.

شبکه هاپلوتایپی گونه آهوی ایرانی حاصل از نرم‌افزار network در شکل ۳ نشان می‌دهد که دو نمونه abad۲ و bam۳ دارای هاپلوتایپ مشترک هستند و بقیه نمونه‌ها هاپلوتایپ جداگانه‌ای را تشکیل دادند. در مجموع تنوع هاپلوتایپی گونه آهوی ایرانی در این مناطق بالاست. در هر جمعیت هم تنوع هاپلوتایپی خوب است و به این معنی است که درون‌آمیزی در هر جمعیت کم است.

شبکه هاپلوتایپی گونه جبیر حاصل از نرم‌افزار network در شکل ۴ نشان می‌دهد که نمونه‌های جبیر در منطقه بهرام گور دارای هاپلوتایپ مشترک هستند و نمونه‌های منطقه هرمود لار هاپلوتایپ جداگانه‌ای را تشکیل دادند. Zachos و همکاران (۲۰۱۰) اولین مطالعه ژنتیکی را بر روی گونه آهو در معرض خطر ایران (*G. subgutturosa*) انجام دادند. آن‌ها در این بررسی ۶۵ فرد از آهوان دشت سهرین واقع در منطقه حفاظت‌شده سرخ‌آباد در استان زنجان را مورد مطالعه قرار دادند. در این بررسی دو نشانگر mtDNA (ناحیه شاهد) و ریزماهواره (در هفت جایگاه) مورد استفاده قرار گرفتند. هدف از این مطالعه تخمین تنوع ژنتیکی جهت ارزیابی این مسئله بود که آیا نرخ کاهش در جمعیت این آهوان می‌تواند به دلیل تنوع ژنتیکی باشد. نتایج نشان داد که بر خلاف آن‌چه در مطالعات گذشته در سایر آهوان مشاهده شده است، آهوان دشت سهرین دارای تنوع



روابط فیلوژنی باربوس ماهیان جنوب ایران براساس توالی ژنی سیتوکروم *b* ژنتیک نوین. دوره ۸، شماره ۳، صفحات ۲۱۳ تا ۲۲۰.

۳. فداکار، د.؛ رضایی، ح.ر.؛ وارسته مرادی، ح. و منتظمی، ش.، ۱۳۹۱. مطالعه ژنتیکی و فیلوژنتیکی ناحیه سیتوکروم *b* آهوی ایرانی در استان اصفهان. بیوتکنولوژی در محیط زیست. سومین همایش ملی بیوتکنولوژی کشاورزی ایران (گیاهی، دامی و صنعتی). دانشگاه فردوسی مشهد. ۲۱۷۴ صفحه.
۴. میرزاخواه، م.، ۱۳۹۱. بررسی ژنتیکی غزالها در برخی از مناطق ساحلی و جزایر خلیج فارس براساس توالی ژن سیتوکروم *b*. پایان نامه کارشناسی ارشد رشته محیط زیست. دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. ۸۹ صفحه.
۵. نصیری، م.ر. و مهدوی، م.، ۱۳۹۰. تجزیه و تحلیل ژنتیکی و فیلوژنتیکی ناحیه سیتوکروم *b* در جبیر ایران. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی. دوره ۳، شماره ۱، صفحات ۹۱ تا ۱۰۴.

6. Aliabadian, M.; Kaboli, M.; Nijman, V. and Vences, M., 2009. Molecular Identification of Birds: Performance of Distance-Based DNA Barcoding in Three Genes to Delimit Parapatric Species. Plos One. Vol. 4, 4119 P.
7. Delin, Q.; Taiping, L.; Xinquan, Z.; Songchang, G. and Junxiang, L., 2006. Mitochondrial cytochrome *b* Sequence Variation and Phylogenetics of the Highly Specialized Schizothoracine Fishes (Teleostei: Cyprinidae) in the Qinghai-Tibet Plateau. Biochemical Genetics. Vol. 44, PP: 270-285.
8. Freeland, J., 2005. Molecular ecology. John Wiley sons. Chichester. 215 p.
9. Fadakar, D.; Rezaei, H.R.; Naseri, M.; Mirzakhah, M.; Naderi, S. and Zamani, W., 2013. Phylogenetic analysis of Persian Gazella, *Gazella subgutturosa* (Artiodactyla: Bovidae) based on cytochrome *b* in central Iran. Molecular Biology Research communication. Vol. 2, No. 4, PP: 151-159.
10. Godinho, R.; Abaigar, T.; Lopes, S.; Essalhi, A.; Ouragh, L.; Cano, M. and Ferrand, N., 2012. Conservation genetics of the endangered Dorcas gazelle (*Gazella dorcas spp.*) in Northwestern Africa. Academic Journal. Vol. 13, No. 4. 1003 P.
11. Gunter, K., 2009. The dictionary of gene Technology Genomics. Transcription protemics, wiley-vch Verlag GmbH and Co. KgaA, Weinheim. 1862 P.
12. Groves, C.P., 1996. Taxonomic diversity in Arabian gazelles, In: Greth A., Magin C. & Ancrenaz M. (Eds.). Conservation of Arabian gazelles. National Commission for Wildlife Conservation and Development. Riyadh. pp: 8-39.
13. Hammond, R.; Macasero, W.; Flores, B.; Mohammed, O.; Wacher, T. and Bruford, M., 2001. Phylogenetic reanalysis of the Saudi gazelle and its implication for conservation. Conservation Biology. Vol. 15, No. 4, PP: 1123-1133.
14. Hedrick, W.P., 2001. Conservation Genetics Sessions Ullman Professor. Department of Biology. Arizona State University. 371 p.

ژنتیکی پایینی با تنها هفت هاپلوتیپ در ناحیه شاهد mtDNA در ۵۷ نمونه و سطح بسیار پایینی از تنوع هسته‌ای بودند. بنابراین نتیجه گرفتند که احتمالاً آهوان دشت سهرین کاهش قابل توجه در اندازه جمعیت مؤثر در گذشته را تجربه کرده باشند و احتمال عبور از گردنه بطری در گذشته نه چندان دور برای آن‌ها دور از ذهن نیست. آیینی و همکاران (۱۳۸۵) تنوع ژنتیکی را در آهوی ایرانی در سحرین زنجان بررسی کردند. تعیین توالی در ناحیه شاهد mtDNA به وسیله تکنیک PCR تنوع پایینی از هاپلوتیپ‌ها و نوکلئوتیدها را در آهوی سحرین آشکار می‌کند. ۷۲ درصد از جمعیت‌های این گونه شامل همسانی هاپلوتیپ‌ها بودند. نتایج این مطالعه تنوع ژنتیکی پایینی در D-LOOP را نشان دادند. فداکار و همکاران (۱۳۹۱) تنوع ژنتیکی غزال‌های مناطق مرکزی ایران را با استفاده از توالی‌یابی ژن سیتوکروم *b* بررسی کردند. نتایج این تحقیق نشان داد تعداد و فراوانی هاپلوتیپ‌ها قابل توجه بوده و هرکدام از توالی‌ها به‌عنوان یک هاپلوتیپ در نرم‌افزار آرلکویین در نظر گرفته شده است که نشان‌دهنده تنوع بالا در این مناطق است. شبکه هاپلوتایپی این مطالعه نشان می‌دهد که ۹ نمونه، ۷ هاپلوتایپ جداگانه را تشکیل دادند که با نتایج Zachos و همکاران (۲۰۱۰) و آیینی و همکاران (۱۳۸۵) همخوانی ندارد و با نتایج فداکار و همکاران (۱۳۹۱) سازگار است.

غزال‌های استان فارس براساس ژن سیتوکروم *b* میتوکندریایی در یک شاخه تبارشناسی قرار نمی‌گیرند و هر دو گونه در شاخه جداگانه‌ای نسبت به سایر آهوهای دنیا قرار دارند. منطقه بهرام گور تنوع هاپلوتایپی صفر و در بقیه جمعیت‌ها تنوع هاپلوتایپی بالاست. با این وجود آهوسانان، گونه‌های در معرض خطری هستند که جمعیت آن‌ها با نرخ بالایی در حال کاهش بوده و حفاظت از آن‌ها باید در اولویت برنامه‌های حفاظتی قرار گیرد که شامل شناسایی جمعیت‌های مختلف این گونه در ایران و تعیین وضعیت آن‌ها، عوامل کاهش آهوسانان هر منطقه و جلوگیری از آن می‌باشد.

منابع

۱. آیینی، ب.؛ فرحمنی، ح. و کرمی، م.، ۱۳۸۵. بررسی توالی منطقه D-LOOP میتوکندری گونه آهوی ایرانی (*Gazella subgutturosa*) با نگرش جمعیتی. علوم و تکنولوژی محیط زیست. دوره ۱۰، شماره ۱، صفحات ۱۸۰ تا ۱۸۴.
۲. قزایی، ا.؛ رئیس‌عزیزی، م. و غفاری، م.، ۱۳۹۱. بررسی



15. IUCN. SSC Antelope Specialist Group. 2008. *Gazella gazella*. In: IUCN 2009 IUCN Red List of Threatened Species. Version 2009. www.iucnredlist.org.
16. Lerp, H.; Wronsky, T.; Pfenninger, M. and Plath, M., 2011. A phylogeographic framework for the conservation of Saharan and Arabian dorcas Gazelles (Artiodactyla, Bovidae). *Organisms diversity and evolution*. Vol. 11, PP: 317-329.
17. Lorenzen, E.D.; Arctander, P. and Siegmund, H.R., 2008. Three reciprocally monophyletic mtDNA lineages elucidate the taxonomic status of Grant's gazelles. *Conserv. Genet*. Vol. 9, PP: 593-601.
18. Murtskhvaladze, M.; Gurielidze, Z.; Kopaliani, N. and Tarkhnishvili, D., 2012. Gene introgression between *Gazella subgutturosa* and *G. marica*: limitations of maternal inheritance analysis for species identification with conservation purposes. *Springer Journals*. Vol. 57, No. 4, PP: 383-386.
19. Rokas, A.; Ladoukakis, E. and Zouros, E., 2003. Animal mitochondrial DNA recombination revisited *Trends in Ecology and Evolution*. Vol. 18, PP: 411-417.
20. Rezaei, H.R.; Naderi, S.; Chintauan- Marquier, I.C.; Taberlet, P.; Tahir Virk, A.; Naghash H.R.; Rioux, D.; Kaboli, M. and Pompanon, F., 2010. Evolution and Taxonomy of the wild species of the genus *Ovis* (Mammali, Artiodactyla, Bovidae). *Molecular phylogenetics and evolution*. Vol. 54, PP: 315-326.
21. Sorokin, P.A.; Kiriliuk, V.E.; Lushchekina, A.A. and Kholodova, M.V., 2011. Genetic diversity of the Mongolian *Gazella Procprca guttorosa* Pallas. 1777. *Russian Journal of Genetics*. Vol. 41, No.10, PP: 1101-1105.
22. Wachter, T.; Wronski, T.; Hammond, R.; Winney, B.; Blacket, M. and Hundertmark, K., 2010. Phylogenetic analysis of mitochondrial DNA sequences reveals polyphyly in the goitred gazelle (*Gazella subgutturosa*). *Conservation Genetics*. Vol. 12, PP: 827-831.
23. Wachter, T.; Wronski, T.; Hammond, R.L.; Winney, B.; Blacket, M.J.; Hundertmark, J.K.; Mohammed, O.B.; Omer, S.A.; Macasero, W.; Lerp, H.; Plath, M. and Bleidorn, C., 2011. Phylogenetic analysis of mitochondrial DNA sequences reveals polyphyly in the goitred gazelle (*Gazella subgutturosa*). *Conserv. Genet*. Vol. 12, PP: 827-831.
24. Wronsky, T.; Wachter, T.; Hammond, R.; Winney, B.; Hudermartmark, K. and Blaket, M., 2010. Two reciprocally monophyletic mtDNA lineages elucidate the taxonomic status of Mountain gazelles (*Gazella gazelle*). *Systematics and Biodiversity*. Vol. 8, No. 1, PP: 119- 129.
25. Zachos, F.E.; Karami, M.; Ibennouazi, Z.; Hartl, G.B.; Eckert, I. and Kirschning, J., 2010. First Genetic analysis of a free-living population of the threatened goitred gazelle (*Gazella subgutturosa*). *Mammalian biology*. Vol. 75, PP: 277-282.

