

بررسی فیلوژئوگرافی جمعیت قوچ و میش‌های استان یزد بر اساس داده‌های ژنوم میتوکندری

- **سیدمجید حسینی***: گروه شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، صندوق پستی: ۴۹۱۳۸-۱۵۷۳۹
- **حمیدرضا رضایی**: گروه شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، صندوق پستی: ۴۹۱۳۸-۱۵۷۳۹
- **حسین وارسته‌مرادی**: گروه شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، صندوق پستی: ۴۹۱۳۸-۱۵۷۳۹
- **سعید نادری**: گروه محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه سرا، صندوق پستی: ۱۱۴۴
- **فاطمه نیکوی**: گروه شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، صندوق پستی: ۴۹۱۳۸-۱۵۷۳۹

تاریخ دریافت: دی ۱۳۹۲ تاریخ پذیرش: بهمن ۱۳۹۲

چکیده

مطالعات فیلوژئوگرافی، اهمیت فرآیندهای تاریخی را در شکل‌گیری توزیع جغرافیایی کنونی گونه‌ها و ژن‌ها نشان می‌دهند. هدف از این مطالعه بررسی فاصله ژنتیکی و فاصله جغرافیایی قوچ و میش‌های استان یزد بر اساس داده‌های میتوکندریایی است. در این پژوهش ژن سیتوکروم b از ژنوم میتوکندریایی در بافت و سرگین دو گونه قوچ و میش اورپال و ارمنی برای ارتباط بین هاپلوتایپ‌ها، فاصله ژنتیکی بین هاپلوتایپ‌ها و توزیع جغرافیایی هاپلوتایپ‌ها مورد بررسی قرار گرفت. در این پژوهش تعداد ۹ هاپلوتایپ از ۳۰ توالی قوچ و میش در استان یزد مشاهده گردید. منطقه حفاظت‌شده سیاهکوه، منطقه حفاظت‌شده کالمنند-بهداران و منطقه شکار ممنوع شیرکوه دارای یک هاپلوتایپ مشترک بودند که نشان‌دهنده پراکنش وسیع این هاپلوتایپ نسبت به بقیه هاپلوتایپ‌ها در استان یزد است. محاسبه ماتریس فواصل ژنتیکی در بین هاپلوتایپ‌ها نشان‌دهنده بیش‌ترین فاصله ژنتیکی (۰/۲۷۲) قوچ و میش‌های پناهگاه حیات‌وحش بورونیه با دیگر قوچ و میش‌های استان یزد بود. بیش‌ترین تعداد پلی‌مورفیسم بین هاپلوتایپ‌ها به تعداد ۱۵ پلی‌مورفیسم نیز بین قوچ و میش‌های پناهگاه حیات‌وحش بورونیه با دیگر قوچ و میش‌های استان یزد بود. پدیده‌های محیطی از قبیل گستردگی رشته‌کوه زاگرس در جنوب استان یزد یکی از دلایل مهم پراکنش دو گونه قوچ و میش اورپال و ارمنی در استان یزد است. هم‌چنین عدم تبادل ژنی بین قوچ و میش‌های مناطق شمال و مرکز استان یزد با پناهگاه حیات‌وحش بورونیه تحت تأثیر دشت‌های وسیع بین این مناطق است.

کلمات کلیدی: قوچ و میش، فیلوژئوگرافی، ژنوم میتوکندریایی، سیتوکروم b، استان یزد



مقدمه

احتمال وجود دارد که مدت زمان بیش‌تری از انشعاب این تاکسون می‌گذرد (۱۶).

قوچ و میش یا همان گوسفندان وحشی از جنس *Ovis* پراکنش وسیعی در نیمکره شمالی کره زمین دارند. پراکنش آن‌ها از قاره جدید در امریکا و کانادا تا مناطق وسیعی از آسیا و بخشی از اروپا را شامل می‌گردد (۲). به‌طور کلی به‌جز در مناطق شرق ایران که قوچ‌های اورپال خالص و شمال غرب ایران که قوچ‌های ارمنی خالص زندگی می‌کنند، در سایر مناطق امکان تولیدمثل بین دو گونه فوق وجود دارد. در بسیاری دیگر مناطق کشور قوچ و میش‌ها از نظر فرم شاخ، اندازه جثه، رنگ و حتی تعداد کروموزوم‌ها با یکدیگر متفاوت هستند. به‌طوری‌که در بسیاری از مناطق و حتی در یک گله، ممکن است قوچ‌هایی با شکل‌های ظاهری متفاوت و تعداد کروموزوم‌های مختلف را مشاهده نمود (ضیایی، ۱۳۸۷). مشکل اساسی در مناطق مرکزی ایران وجود دارد که هریک از جمعیت‌ها از لحاظ خصوصیات ظاهری و ژنتیکی با جمعیت دیگر کاملاً متفاوت می‌باشند که بستگی به‌میزان آمیزش دو گونه شرقی و غربی در آن زیستگاه دارد. بدون تردید تنوع درون گونه‌ای در قوچ و میش‌های ایران زیاد است. به‌طوری‌که نتایج آن را در تفاوت‌های اشکال ظاهری، فرم شاخ، جثه، رنگ و حتی تعداد کروموزوم‌ها می‌توان مشاهده نمود. بنابراین توضیح صحیح مربوط به آن‌ها و لذا رده‌بندی‌شان کار آسانی نیست، در نتیجه میتوان دید که چندین بار در سال‌های اخیر نسبت به رده‌بندی این قوچ‌های وحشی تجدید نظر شده است و هنوز بین دانشمندان علم رده‌بندی اتفاق نظر وجود ندارد (فیروز، ۱۳۷۸).

Rezaei و همکاران (۲۰۱۰) جایگاه قوچ و میش‌های منطقه حفاظت‌شده کوه بافق را میان قوچ و میش‌های ایران مشخص کردند و آن را به‌عنوان قوچ و میش اورپال معرفی کردند. تا به حال در مورد رده‌بندی قوچ و میش‌های سایر مناطق استان یزد بین قوچ و میش‌های ایران و جهان مطالعه‌ای صورت نگرفته است. هدف از این مطالعه تعیین جایگاه فیلوژنتیکی و رده‌بندی قوچ و میش‌های استان یزد در بین قوچ و میش‌های ایران و جهان بر اساس خصوصیات ژنتیکی است.

Tapio (۲۰۰۶) به بررسی تعیین قرابت و فیلوژنی قوچ‌های اروپایی، قفقازی و آسیای مرکزی با استفاده از mtDNA پرداخت. در این بین گروه‌های هاپلوטיפی متعددی تعیین گردید. نتایج نشان داد که برخی از دودمان‌های میتوکندری در شمال اروپا از شرق به‌واسطه روسیه وارد شده‌اند. Rezaie و همکاران (۲۰۱۰) تکامل و رده‌بندی گونه‌های وحشی جنس قوچ

میزان تبادل ژنی که در حال حاضر بین جمعیت‌ها دیده می‌شود به ندرت نشان‌دهنده ارتباطات بین جمعیتی در گذشته است ولی شناخت این پدیده‌ها می‌تواند در بیان علل توزیع کنونی گونه‌ها و ژن‌های آن‌ها مفید باشد (۸). واژه فیلوژئوگرافی توسط Avise (۲۰۰۰) ابداع شد و به‌عنوان شاخه‌ای از علم شناخته می‌شود که به مطالعه فرآیندها و اصول موثر بر توزیع جغرافیای تبارها، به‌ویژه در بین و درون گروه‌هایی که فاصله ژنتیکی اندکی با یکدیگر دارند، می‌پردازد (۱۱). در حقیقت از طریق مقایسه روابط تکاملی تبارهای ژنتیکی با موقعیت جغرافیایی آن‌ها می‌توان به درک بهتری از پارامترهایی رسید که بر توزیع ژنتیکی تأثیر داشته‌اند. بنابراین این شاخه علمی جنبه‌های مختلف از زمان (روابط تکاملی) و مکان (توزیع جغرافیایی) را با هم تلفیق می‌کند.

در سال‌های اخیر تکنیک‌های پیشرفته مولکولی که تفاوت بین افراد را در سطح مولکول DNA مشخص می‌کند، جهت مطالعه تنوع ژنتیکی و روابط فیلوژنتیک بین جمعیت‌ها و نژادهای مختلف به ابزار قابل اعتمادی تبدیل گردیده‌اند (۹). نشانگرهای مولکولی در تعیین الگوی پراکنش تاریخی گونه‌ها کمک شایان توجهی نموده‌اند (۸). ویژگی‌هایی هم‌چون نسخه‌های زیاد میتوکندری در هر سلول و تغییرپذیری زیاد در توالی‌های آن mtDNA را به ابزاری قدرتمند برای شناسایی گونه‌ها تبدیل کرده است (۱۹). امروزه ژنوم میتوکندری به‌دلیل اندازه کوچک و آسان بودن استخراج آن و این‌که از طریق مادر به ارث می‌رسد، به‌طور متداول برای مطالعات فیلوژنتیک و تکامل مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۸). ژن‌های میتوکندری ابزار مهمی برای مطالعات مختلفی در زمینه‌های تکامل جانوران، فیلوجغرافی و فیلوژنتیک می‌باشند (۲۱). برای بررسی دقیق وضعیت رده‌بندی گونه‌های در خطر انقراض می‌توان از توالی‌یابی DNA استفاده کرد. ژن سیتوکروم b میتوکندری در بسیاری از مطالعات برای بررسی روابط فیلوژنتیک در پستانداران مورد استفاده قرار گرفته است و اطلاعات توالی بسیاری از گونه‌های مختلف پستانداران در دسترس است (۱۰ و ۱۵). فاصله ژنتیکی بیانگر میزان تفاوت نوکلئوتیدی موجود در بین دو توالی است. میزان واگرایی ژنتیکی بین گونه‌های متفاوت به‌مراست از واگرایی ژنتیکی درون گونه‌ای بیش‌تر است (۱۷). هر چه تفاوت نوکلئوتیدی موجود بین یک تاکسون و جدی که از آن منشعب شده است بیش‌تر باشد این



بین‌المللی حفاظت از منابع طبیعی (IUCN)^۷ آسیب‌پذیر قرار دارند (۷).

منطقه مورد مطالعه: استان یزد با وسعتی معادل ۱۳۱۵۷۵ کیلومتر مربع، در بخش مرکزی فلات ایران واقع شده است. این فلات بر روی کمربند خشک نیمکره شمالی زمین قرار دارد و به‌همین علت، استان یزد نیز در میان کویرهای این فلات محصور است. به‌لحاظ موقعیت جغرافیایی، این استان در ۲۹ درجه و ۳۵ دقیقه تا ۳۵ درجه و ۷ دقیقه عرض شمالی و ۵۲ درجه و ۵۰ دقیقه تا ۵۸ درجه و ۱۶ دقیقه طول شرقی واقع شده است (۱). استان یزد به‌دلیل وسیع بودن، قرار گرفتن در مرکز ایران و هم‌مرز با استان‌های کرمان، فارس، خراسان جنوبی و اصفهان که هر کدام قوچ و میش‌های منحصربه‌فردی از لحاظ ژنتیکی و مورفولوژیکی دارند، دارای هیبریدهای بسیاری از این گونه است. بنابراین، این استان به‌عنوان منطقه مورد مطالعه انتخاب شد.

روش کار: برای انجام این مطالعه نمونه‌برداری‌ها از نقاط مختلف و از چند جمعیت مختلف و به دو شیوه متفاوت انجام شد. نمونه‌برداری از هر کدام از ۱۰ منطقه تحت حفاظت اداره کل حفاظت محیط‌زیست استان یزد انجام شد تا تنوع گسترده‌ای از دو گونه قوچ و میش اورپال و ارمنی را در برگیرد. این نمونه‌ها شامل نمونه‌های سرگین و بافت بود. هر دو شیوه نمونه‌برداری به‌صورت غیرتهاجمی^۸ انجام شد (۲۲). از هر جمعیت حداقل ۱۰ نمونه سرگین تهیه شد. جمع‌آوری نمونه‌های سرگین به‌صورت تصادفی صورت گرفت. موقعیت جغرافیایی کلیه نمونه‌ها توسط سیستم موقعیت‌یاب جهانی^۹ ثبت شد. نمونه‌های بافت از قوچ و میش‌های تلف شده در طبیعت، نمونه‌های به‌دست آمده از شکارچیان و نمونه‌هایی که به‌صورت قانونی برای آن‌ها پروانه شکار صادر شده بود تهیه شد. در مجموع ۱۳۱ نمونه سرگین و ۶ نمونه بافت جمع‌آوری شد. هم‌چنین ۵ نمونه توالی قوچ و میش منطقه حفاظت‌شده کوه بافق حاصل از مطالعات قبلی نیز در تجزیه و تحلیل‌ها استفاده شد (۲۰).

استخراج DNA از نمونه‌ها با استفاده از کیت مخصوص استخراج DNA از سرگین و بافت که هر دو از شرکت Bioneer خریداری شده بودند، انجام شد. در این تحقیق PCR توسط دستگاه ترمال سایکلر صورت گرفت. حجم واکنش ۲۵ میکرولیتر (۱۴) که با استفاده از کیت PCR محصول شرکت

(Ovis) را در جهان مورد بررسی قرار دادند. دیدگاه‌های جدیدی را برای تکامل گوسفند وحشی توسط تکامل نژادی مولکولی با استفاده از روش‌های صرفه‌جویی حداکثر^۱، بایزین^۲، تشابه حداکثر^۳ و اتصال همسایگی^۴ به‌دست آوردند. نتایج آن‌ها نشان داد که در جهان ۶ گونه و در ایران دو گونه قوچ و میش زیست می‌کنند. حسینی (۱۳۹۳) فیلوژنی قوچ و میش‌های استان یزد را براساس توالی سیتوکروم b از ژنوم میتوکندریایی مورد بررسی قرار داد. نتایج نشان داد که در استان یزد دو گونه قوچ اورپال و ارمنی زیست می‌کنند. پناهگاه حیات‌وحش بوروئی‌ه دارای قوچ ارمنی و سایر مناطق استان یزد دارای قوچ اورپال بودند. Bunch و همکاران (۲۰۰۶)، Rezaie و همکاران (۲۰۱۰)، Yousefi و همکاران (۲۰۱۱)، Barbanera و همکاران (۲۰۱۲) و حسینی (۱۳۹۳) گونه‌های مختلف قوچ و میش را بر پایه تجزیه و تحلیل توالی میتوکندری ژن سیتوکروم b مورد مطالعه قرار دادند. حوزه پراکنش قوچ و میش‌ها در استان یزد بسیار وسیع و شامل اغلب مناطق تپه‌ماهوری و نیز دامنه‌های ارتفاعات است. تقریباً در تمام مناطق تحت مدیریت محیط‌زیست در استان، این گونه زیست می‌کند. وسعت زیاد این استان، پراکندگی وسیع قوچ و میش‌ها در مناطق حفاظتی استان یزد و بیابان‌های وسیع بین مناطق حفاظتی استان یزد، بررسی فاصله ژنتیکی و فاصله جغرافیایی بین قوچ و میش‌های استان یزد را دارای اهمیت فراوان کرده است. هدف اصلی این پژوهش فهم چگونگی تأثیر پدیده‌های تاریخی بر شکل‌گیری و توزیع جغرافیایی ژن‌ها، جمعیت‌ها و گونه‌ها در قوچ و میش‌های استان یزد است.

مواد و روش‌ها

معرفی گونه: قوچ و میش اورپال (*Ovis vignei*) و ارمنی (*Ovis orientalis*) از خانواده گاوسانان^۵ و از راسته زوج سمان^۶ است. زیستگاه آن‌ها بیش‌تر در تپه ماهورها و دامنه کوهستان‌های مرتفع در مناطق استپی است. در طبقه‌بندی حفاظتی پستانداران وحشی ایران براساس لیست سرخ اتحادیه

¹ Maximum parsimony

² Bayesian

³ Maximum likelihood

⁴ Neighbor-Joining

¹ Artiodactyla

² Bovidae

³ International Union for Conservation of Nature

⁴ Non-invasive

⁵ GPS (Global Positioning System)



تفاوت آن دمای اتصال بود که در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد انجام گرفت. مقدار ۲۰ میکرولیتر از محصولات PCR خالص‌سازی شد و به‌همراه ۱۰۰ میکرولیتر از هریک از آغازگرهای رفت و برگشت با غلظت ۱۰ پیکومول به‌منظور توالی به شرکت Bioneer کره جنوبی ارسال شدند (۵).

نتایج حاصل از توالی‌یابی با استفاده از نرم‌افزارهای Seqscape ویرایش شدند (۲۰). ماتریس فواصل ژنتیکی بین هاپلوتایپ‌ها براساس مقایسه توالی‌های هر هاپلوتایپ با بقیه هاپلوتایپ‌ها به‌صورت دو به دو و با استفاده از مدل حداکثر درست‌نمایی ترکیبی در نرم‌افزار MEGA.5 به‌دست آمده است (۲۳). با استفاده از نرم‌افزار NETWORK4.6 شبکه هاپلوتیپی براساس روش اتصال میانه (Median joining) ترسیم گردید (۱۲). هم‌چنین از نرم‌افزار Arc GIS برای ثبت نقاط حضور هاپلوتایپ‌ها بر روی نقشه استان یزد استفاده شد.

Bioneer صورت گرفت. برای انجام PCR در این تحقیق از ۳ جفت پرایمر (جدول ۱) استفاده شد (۲ و ۲۰). برای انجام PCR نمونه‌هایی که DNA کافی داشتند از یک جفت پرایمر ۱۱۴۰ جفت بازی (CYTB_R و CYTB_F) استفاده شد و برای سایر نمونه‌ها که DNA کافی نداشتند از دو جفت پرایمر دیگر (CYTB_R و CYTB_IN_F) و (CYTB_IN_R و CYTB_F) استفاده شد تا تکثیر بهتر انجام شود. برنامه حرارتی برای پرایمر ۱۱۴۰ و ۷۴۱ جفت بازی در ۳۵ سیکل انجام گرفت. واسرشته‌سازی (Denaturation) در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد برای ۳۰ ثانیه، اتصال (Annealing) در دمای ۵۵ درجه برای ۴۵ ثانیه، تکثیر (Extention) در دمای ۷۲ درجه برای ۱ دقیقه که یک مرحله واسرشته‌سازی اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد برای ۱۰ دقیقه و یک مرحله تکثیر نهایی در دمای ۷۲ درجه برای ۷ دقیقه نیز انجام شد (۱۴ و ۲۰). برنامه حرارتی برای پرایمر ۷۶۵ جفت بازی در ۳۵ سیکل نیز همانند بالا انجام شد، که تنها

جدول ۱: پرایمرهای استفاده شده در این پژوهش

درجه حرارت	طول قطعه	توالی پرایمر	نام پرایمر	لوکوس
۵۵ °C	۱۱۴۰	CCCCACAAAACCTATCACAAA AGGGAGGTTGGTTGTTCTCC	CYTB_F CYTB_R	سیتوکروم b (بخش ۱)
۵۵ °C	۷۴۱	CCCCACAAAACCTATCACAAA CCTGTTTCGTGGAGGAAGAG	CYTB_F CYTB_IN_R	سیتوکروم b (بخش ۲)
۶۰ °C	۷۶۵	ACCTCCTTTCAGCAATTCCA AGGGAGGTTGGTTGTTCTCC	CYTB_IN_F CYTB_R	سیتوکروم b (بخش ۳)

شده کوه بافقی می‌باشد. پناهگاه حیات وحش بوروثیه به تعداد هفت توالی دارای یک هاپلوتایپ مشخص است. در بین توالی‌های نوکلئوتیدی قوچ و میش‌های منطقه بوروثیه، تفاوت هاپلوتایپی وجود نداشت که تنوع ژنتیکی پایینی را در این منطقه نشان می‌دهد (۳).

نتایج

در هفت منطقه مورد مطالعه و یک منطقه مورد مطالعه Rezaie و همکاران (۲۰۱۰) در مجموع ۹ هاپلوتایپ مشخص شد (جدول ۲). بیش‌ترین هاپلوتایپ‌ها مربوط به منطقه حفاظت

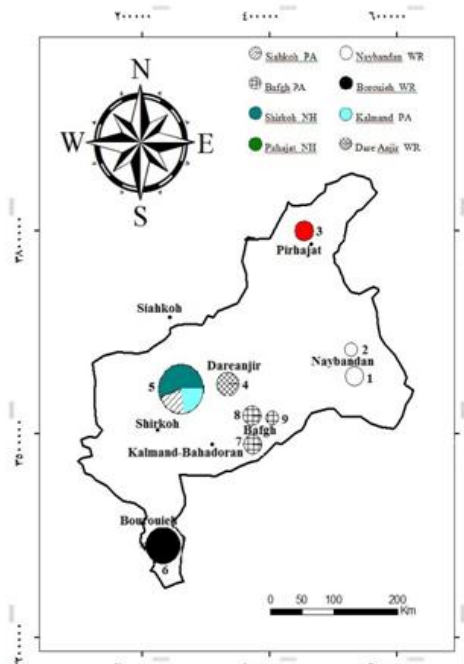
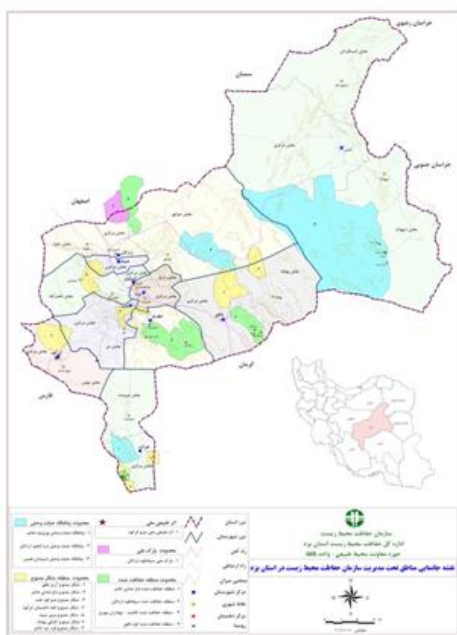
جدول ۲: تعداد هاپلوتایپ‌های قوچ و میش از داده‌های میتوکندریایی در استان یزد

گونه	منطقه	تعداد نمونه	تعداد توالی	تعداد هاپلوتایپ
	منطقه حفاظت شده کوه بافقی	۱۰	۵	۳
	منطقه حفاظت شده سیاهکوه	۱۰	۲	
	منطقه حفاظت شده کالمنند بهادران	۱۰	۲	۱
قوچ اوربیل	منطقه شکار ممنوع شیرکوه	۱۶	۵	
	منطقه شکار ممنوع پیرحاجات	۱۳	۲	۱
	پناهگاه حیات وحش دره انجیر	۱۸	۴	۱
	پناهگاه حیات وحش نایبندان طبس	۱۰	۳	۲
قوچ ارمنی	پناهگاه حیات وحش بوروثیه	۱۰	۷	۱



مناطق حفاظتی وجود دارد (۲). قرار گرفتن ۵ هاپلوتایپ از ۹ هاپلوتایپ موجود، در منطقه جنوب شرقی استان یزد تنوع بالای قوچ و میش های این منطقه را نشان می دهد (شکل ۱).

منطقه شکار ممنوع شیرکوه، منطقه حفاظت شده سیاهکوه و منطقه حفاظت شده کالمد-بهداران دارای یک هاپلوتایپ مشخص هستند، پراکنش وسیع این یک هاپلوتایپ در بین سه منطقه عدم وجود تنوع ژنتیکی را در این مناطق نشان می دهد. بیش تر مناطق حفاظتی استان یزد در مرکز این استان قرار دارد. بر این اساس پراکنش هاپلوتایپ ها در استان یزد بیش تر در این



شکل ۱: پراکنش هاپلوتایپ ها در مناطق مورد مطالعه استان یزد

هاپلوتایپ های این منطقه حفاظت شده کوه بافق و پناهگاه حیات وحش نایبندان طبع است. بیش ترین تفاوت ژنتیکی هاپلوتایپ های قوچ و میش های اورپال استان یزد بین منطقه حفاظت شده کالمد بهادران و پناهگاه حیات وحش دره انجیر که معادل ۰/۰۱۳۴ است.

محاسبه ماتریس فواصل ژنتیکی در بین هاپلوتایپ ها نشان دهنده بیش ترین فاصله ژنتیکی قوچ و میش های پناهگاه حیات وحش بوروثیه با دیگر قوچ و میش های استان یزد است (جدول ۳). ۰/۰۲۷۲ بیش ترین عددی است که بین هاپلوتایپ پناهگاه حیات وحش دره انجیر و پناهگاه حیات وحش بوروثیه وجود دارد. همان طور که مشاهده می شود کم ترین فاصله ژنتیکی

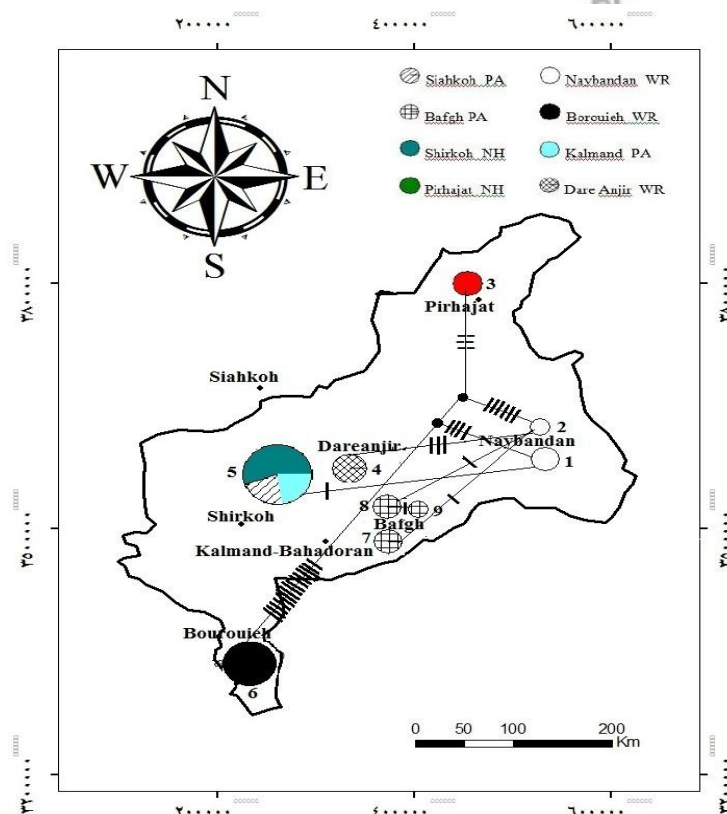
جدول ۳: فواصل ژنتیکی بین هاپلوتایپ ها با استفاده از مدل حداکثر درست نمایی ترکیبی

	۸	۷	۶	۵	۴	۳	۲	۱	
۱ (نایبندان)								۰/۰۰۹۸	
۲ (نایبندان)							۰/۰۰۸۰	۰/۰۰۷۱	
۳ (پیرحاجات)						۰/۰۱۰۷	۰/۰۰۲۶	۰/۰۱۲۵	
۴ (دره انجیر)					۰/۰۱۳۴	۰/۰۰۸۰	۰/۰۱۰۷	۰/۰۰۰۹	
۵ (سیاهکوه، کالمد و شیرکوه)				۱/۰۲۲۵۰	۰/۰۲۷۲	۰/۰۲۱۶	۰/۰۲۴۳	۰/۰۲۱۶	
۶ (بوروثیه)			۰/۰۲۳۴	۰/۰۱۱۶	۰/۰۰۳۵	۰/۰۰۸۹	۰/۰۰۰۹	۰/۰۱۰۷	
۷ (بافق)		۰/۰۰۱۸	۰/۰۲۵۳	۰/۰۱۱۶	۰/۰۰۳۵	۰/۰۰۸۹	۰/۰۰۰۹	۰/۰۱۰۷	
۸ (بافق)	۰/۰۰۲۶	۰/۰۰۰۹	۰/۰۲۴۳	۰/۰۱۲۵	۰/۰۰۴۴	۰/۰۰۹۸	۰/۰۰۱۸	۰/۰۱۱۶	
۹ (بافق)									



قرار گرفته است. خطوط بین هاپلوتاایپ‌ها در شبکه هاپلوتاایپی نشان‌دهنده تعداد پلی‌مورفیسم‌های بین دو هاپلوتاایپ است که هرچه تعداد این خطوط (پلی‌مورفیسم) بیش‌تر باشد تفاوت بین دو هاپلوتاایپ افزایش می‌یابد. هاپلوتاایپ شماره ۹ (پناهگاه حیات‌وحش بوروئیه) دارای بیش‌ترین تعداد خطوط با نقطه مجاور است، پس بیش‌ترین پلی‌مورفیسم بین هاپلوتاایپ‌ها را شامل می‌شود که گونه‌ای متفاوت از هاپلوتاایپ‌های دیگر است.

با رسم شبکه هاپلوتاایپی بر روی نقشه استان یزد فاصله جغرافیایی بین هاپلوتاایپ‌ها مشخص شد (شکل ۲). تعداد پلی‌مورفیسم بین هاپلوتاایپ‌ها نیز در این نقشه بیان شده است. پناهگاه حیات‌وحش بوروئیه با فاصله جغرافیایی زیادی از قوچ و میش‌های مرکزی و شمال استان یزد قرار دارد. بیش‌ترین تعداد پلی‌مورفیسم بین این منطقه و مناطق دیگر استان یزد دیده می‌شود. جمعیت پناهگاه حیات‌وحش بوروئیه با توجه به تفاوت گونه با دیگر جمعیت‌های استان یزد (۲) با فاصله زیادی از این جمعیت‌ها



شکل ۲: شبکه هاپلوتاایپی و تعداد پلی‌مورفیسم بین هاپلوتاایپ‌ها

و میش‌های پناهگاه حیات‌وحش بوروئیه در بین قوچ و میش‌های ایران با محاسبه ماتریس فواصل ژنتیکی بین توالی‌های پناهگاه حیات‌وحش بوروئیه و دو توالی از قوچ و میش‌های اورپال و ارمنی نشان دادند که قوچ و میش‌های پناهگاه حیات‌وحش بوروئیه، از گونه قوچ ارمنی (*Ovis orientalis*) می‌باشند (۴). کم‌ترین فاصله ژنتیکی گونه مورد مطالعه با گونه قوچ ارمنی معادل ۰/۰۰۰۹ بود و بیش‌ترین فاصله ژنتیکی نیز بین قوچ و میش‌های پناهگاه حیات‌وحش بوروئیه با قوچ و میش‌های اورپال بود. نتایج این پژوهش با مطالعه اخیر درمورد فاصله ژنتیکی بین گونه‌ها کاملاً هم‌خوانی داشت. کم‌ترین فاصله

بحث

در مطالعه حال حاضر از آن‌جا که اعداد حاصله از ماتریس فواصل ژنتیکی نمایانگر میزان جانشینی نوکلئوتیدها بین توالی‌های گونه‌های مورد بررسی می‌باشند، فاصله ژنتیکی بین دو گونه مرتبط با همبستگی فیلوژنتیکی بین آن گونه‌ها خواهد بود. در نتیجه از این شاخص می‌توان برای مشخص کردن دوری یا نزدیکی گونه‌ها از هم استفاده نمود. در مورد فاصله ژنتیکی قوچ و میش در ایران مطالعات کمی انجام گرفته است. حسینی و همکاران (۱۳۹۲) در مطالعه‌ای درخصوص جایگاه فیلوژنی قوچ



ژنتیکی هاپلوتایپ‌ها بین منطقه حفاظت‌شده کوه بافق و پناهگاه حیات‌وحش نایبندان طبرستان، همان‌طور که در شبکه هاپلوتایپی نیز مشخص است تعداد یک پلی‌مورفیسم بین هاپلوتایپ‌های (بین هاپلوتایپ شماره ۲ و شماره ۷، ۸) این مناطق صحت این گفته را تأیید می‌کند. بیش‌ترین تفاوت ژنتیکی هاپلوتایپ‌های قوچ و میش‌های اورپال استان یزد بین منطقه حفاظت‌شده کالمندها دران و پناهگاه حیات‌وحش دره‌انجیر بود. براین اساس در شبکه هاپلوتایپی این دو هاپلوتایپ هیچ‌گونه ارتباط تکاملی با هم نداشتند.

مناطق حفاظت‌شده کالمندها دران، شکارممنوع شیرکوه و حفاظت‌شده سیاهکوه که هر سه منطقه در نزدیکی هم و در مرکز استان یزد قرار دارند دارای یک هاپلوتایپ مشترک از ۸ نمونه هستند که این می‌تواند ناشی از جابه‌جایی قوچ و میش‌های این سه منطقه با هم در گذشته و جریان ژنی بین قوچ و میش‌های این مناطق باشد. پناهگاه حیات‌وحش بوروییه در بین مناطق حفاظتی استان یزد دارای یک هاپلوتایپ از ۷ نمونه دارای کم‌ترین درصد هاپلوتایپ‌ها در بین نمونه‌های خود است که این درصد کم، حاکی از ساختار ژنتیکی مشابه بین قوچ و میش‌های ارمنی در این منطقه است که در کارهای مدیریتی درازمدت در آینده باید به‌طور جدی به آن توجه شود. پناهگاه حیات‌وحش بوروییه از دو رشته‌کوه در امتداد هم تشکیل شده است. با مقایسه توالی‌های قوچ و میش دو رشته‌کوه در این پژوهش مشخص شد، که هیچ تفاوتی بین قوچ و میش‌های این دو رشته‌کوه از نظر ژنتیکی وجود ندارد و هر دو رشته‌کوه دارای یک هاپلوتایپ مشترک هستند. اگر جریان ژنی بین جمعیت‌ها وجود داشته باشد جمعیت‌ها به‌صورت یک واحد پیوسته باقی مانده و از نظر ژنتیکی همگن می‌مانند (۸). عدم وجود موانع بین این دو رشته‌کوه یکی از عوامل مهم و تأثیرگذار در جریان ژنی و مهاجرت قوچ و میش‌های این دو با هم منطقه است که باعث افزایش همگنی قوچ و میش‌ها از نظر ژنتیکی شده است.

شبکه هاپلوتایپی ارتباطات تکاملی بین هاپلوتایپ‌ها را به‌صورت گرافیکی نشان می‌دهد (۸). با استفاده از شبکه می‌توان توالی‌های اجدادی که هنوز وجود دارند را شناسایی کرد و ارتباط آن‌ها را با توالی‌های منشعب‌شده از آنان نشان داد. هم‌چنین می‌توان توالی‌های منقرض شده را مشخص نمود (۲۵) گره‌هایی که در شبکه هاپلوتایپی وجود دارند همان توالی‌های منقرض شده یا توالی‌های ناشناخته در مطالعات حاضر هستند، که در بیش‌تر شبکه‌های هاپلوتایپی وجود دارند. مطالعات فیلوژئوگرافی اهمیت فرآیندهای تاریخی را در شکل‌گیری توزیع

جغرافیایی کنونی گونه‌ها و ژن‌ها نشان می‌دهند (۱۱). وجود شرایط فیزیکی خاص مانند بیابان‌ها و پیوستگی رشته‌کوه‌ها و تغییر کاربری اراضی از جمله معادن و جاده‌ها در استان یزد یکی از تعارضات تأثیرگذار بر روی جریان ژنی بین مناطق می‌تواند باشد و باعث کاهش تنوع ژنتیکی و توزیع ژنتیکی مختلف در مناطق حفاظتی می‌شوند. بنابراین در مطالعات بوم‌شناسی باید پدیده‌های تاریخی را نیز دخالت داد تا بتوان به فهم بهتری از نظریه بوم‌شناختی رسید (۲۵). پدیده‌های محیطی از قبیل بیابان‌ها و گسترده‌گی رشته‌کوه زاگرس در جنوب استان یزد یکی از دلایل مهم پراکنش دو گونه قوچ و میش اورپال و ارمنی در استان یزد است. قرار گرفتن پناهگاه حیات‌وحش بوروییه در انتهای پراکنش رشته‌کوه زاگرس یکی از دلایل اصلی وجود قوچ و میش‌های ارمنی در این منطقه است چرا که گسترش قوچ و میش‌های ارمنی ایران از شمال زاگرس تا جنوب زاگرس است. تنوع ژنتیکی یک جمعیت تحت تأثیر عوامل متعددی نظیر اندازه جمعیت، تبادل ژنی، سیستم تولیدمثل و انتخاب طبیعی قرار دارد. بنابراین انتظار این که تنوع ژنتیکی گونه‌های مختلف در مقیاس وسیع یکسان باشد، بی‌مورد است. یکی از مهم‌ترین عوامل تعیین‌کننده تفاوت ژنتیکی میزان تبادل ژنی است، موانعی که بر سر پراکنش وجود دارد معمولاً باعث افزایش تفاوت‌های ژنتیکی جمعیت‌ها می‌شود (۸). عدم تبادل ژنی بین قوچ و میش مناطق شمال استان یزد با جنوب استان یزد تحت تأثیر دشت‌های وسیع بین این مناطق است. تبادل و جریان ژنی از مهم‌ترین فرآیندها در ژنتیک جمعیت‌ها است. اگر تبادل ژنی وجود نداشته باشد جهش و رانش ژنتیکی باعث ایجاد تفاوت‌های ژنتیکی جمعیت‌ها شده و در نهایت دو جمعیت کاملاً از هم متفاوت می‌شوند. منطقه بیابانی و پهناور بین منطقه شکارممنوع پیرحاجات و پناهگاه حیات‌وحش نایبندان تأثیر به‌سزایی در ساختار ژنتیکی قوچ و میش‌های منطقه شکارممنوع پیرحاجات داشته است که مانع از جریان ژنی بین این دو مناطق در گذشته و حال شده است. تعداد ۹ پلی‌مورفیسم بین هاپلوتایپ منطقه پیرحاجات (شماره ۳) و پناهگاه حیات‌وحش نایبندان (شماره ۲) نشان‌دهنده فاصله ژنتیکی بسیار زیاد این دو منطقه با هم است. جمعیت‌های تکه‌تکه شده در مقایسه با جمعیت‌های ساکن زیستگاه‌های پیوسته از تفاوت ژنتیکی بیش‌تر و تبادل ژنی کم‌تری برخوردارند (۲۵). تعداد پلی‌مورفیسم کم بین مناطق حفاظتی مرکزی استان یزد نسبت به دیگر مناطق در استان یزد نزدیکی این جمعیت‌ها را از نظر ژنتیکی به هم نشان می‌دهد، که می‌تواند ناشی از جریان ژنی بین این مناطق در



- of endangered species. Trends Ecology Evolution. Vol. 4, pp: 279–281.
11. **Avise, J.C., 2000.** The History and Formation of Species, Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts. 447 P.
 12. **Bandelt, H.J.; Forster, P. and Röhl A., 1999.** Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. Mol Biol Evol. Vol. 16, pp: 37-48.
 13. **Barbanera, F.; Guerrini, M.; Beccani, C.; Forcina, G.; Anayiotos, P. and Panayides, P., 2012.** Conservation of endemic and threatened wildlife: Molecular forensic DNA against poaching of the Cypriot mouflon (*Ovis orientalis ophion*, Bovidae). Forensic Sci Int Genet. Vol. 6, No. 5, pp: 671-5.
 14. **Bunch, T.D.; Wu, C.; Zhang, Y.P. and Wang, S., 2006.** Phylogenetic analysis of Snow Sheep (*Ovis nivicola*) and closely related taxa. Journal of Heredity. Vol. 97, pp: 21–30.
 15. **Castresana, J., 2001.** Cytochrome b Phylogeny and the Taxonomy of Great Apes and Mammals. Molecular Biology and Evolution. Vol. 18, No. 4, pp: 465-471.
 16. **Hall, B.G., 2008.** Phylogenetic Trees Made Easy, A how-to manual, 4th Edition. Bellingham Research Institute. 282 P.
 17. **Hebert, P.D.N.; Stoeckle, M.Y.; Zemplak, T.S.C. and Francis, M., 2004.** Identification of Birds through DNA Barcodes. Plos Biology. Vol. 2, pp: 1657-1663.
 18. **Lonsman, R.A.; Avise, J.C.; Aquadro, C.F. and Shapira, J.F., 1983.** Extensive genetic variation in mitochondrial DNAs among geographic populations of the deer mouse, *Peromyscus maniculatus*. Evolution. Vol. 37, pp: 1-16.
 19. **Rastogi, G.; Dharne, M.S.; Walujkar, S.; Kumar, A.; Patole, M.S. and Shouche, Y.S., 2007.** Species identification and authentication of tissues of animal origin using mitochondrial and nuclear markers. Meat Science. Vol. 76, pp: 666–674.
 20. **Rezaei, H.R.; Naderi, S.; Chintauan-Marquier, I.C.; Taberlet, P.; Virk, A.T.; Naghash, H.R.; Rioux, D.; Kaboli, M. and Pompanon, F., 2010.** Evolution and taxonomy of the wild species of the genus *Ovis* (Mammalia, Artiodactyla, Bovidae). Molecular Phylogenetics and Evolution. Vol. 54, pp: 315–326.
 21. **Rokas, A.; Ladoukakis, E. and Zouros, E., 2003.** Animal mitochondrial DNA recombination revisited. Trends in Ecology and Evolution. Vol. 18, pp: 279–281.
- گذشته باشد. فاصله اندک بین این مناطق و پیوستگی رشته کوه‌ها یکی از دلایل مهم این مسئله می‌تواند باشد. به دلیل کاهش جمعیت قوچ و میش‌های خالص ارمنی در کشور ارمنستان و همچنین پراکنش وسیع قوچ و میش‌های ارمنی در تمام محدوده رشته کوه زاگرس پیشنهاد می‌شود گونه قوچ و میش ارمنی به‌عنوان قوچ و میش زاگرس معرفی گردند.
- ### منابع
۱. **انتخابی، ح.، ۱۳۸۷.** اطلس سیمای طبیعی استان یزد، انتشارات نقش مانا، ۱۸۱ صفحه.
 ۲. **حسینی، س.م.، ۱۳۹۲.** فیلوژنی قوچ و میش‌های استان یزد براساس توالی سیتوکروم ب از ژنوم میتوکندریایی. پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد، گروه محیط‌زیست دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ۱۴۳ صفحه.
 ۳. **حسینی، س.م.؛ رضایی، ح.ر.؛ وارسته‌مرادی، ح. و نادری، س.، ۱۳۹۱.** اهمیت مطالعات مولکولی در رده‌بندی و فیلوژنی قوچ و میش‌های جهان و ایران. اولین همایش ملی حفاظت و برنامه‌ریزی محیط‌زیست، دانشگاه آزاد اسلامی واحد همدان.
 ۴. **حسینی، س.م.؛ رضایی، ح.ر.؛ وارسته‌مرادی، ح. و نادری، س.، ۱۳۹۲.** جایگاه فیلوژنی قوچ و میش‌های پناهگاه حیات‌وحش بوروئیه در بین قوچ و میش‌های ایران. همایش بیوتکنولوژی محیط‌زیست، دانشگاه محیط‌زیست، کرج.
 ۵. **فداکار، د.، ۱۳۹۱.** بررسی تنوع ژنتیکی غزال‌های مناطق مرکزی ایران با استفاده از توالی‌یابی ژن سیتوکروم b. پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد، گروه محیط‌زیست دانشکده شیلات و محیط زیست دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ۱۳۷ صفحه.
 ۶. **فریلند، ج.، ۱۳۸۹.** بوم‌شناسی مولکولی. ترجمه ملکیان، م.، جهاد دانشگاهی مشهد، ۳۰۴ صفحه.
 ۷. **فیروز، ا.، ۱۳۷۸.** حیات‌وحش ایران. انتشارات مرکز نشر دانشگاهی با همکاری انتشارات دایره سبز، تهران، ۴۹۱ صفحه.
 ۸. **ضیایی، ه.، ۱۳۸۸.** راهنمای صحرایی پستانداران ایران. انتشارات کانون آشنایی با حیات‌وحش، تهران، ۴۳۲ صفحه.
 ۹. **نقوی، م.؛ قره‌یاضی، ب. و حسینی‌سالکده، ق.، ۱۳۸۴.** نشانگرهای مولکولی. انتشارات دانشگاه تهران، تهران، ۳۴۰ صفحه.
 10. **Avise, J.C., 1989.** A role for molecular genetics in the recognition and conservation



- and Evolution, Vol. 18, pp: 411- 417.
22. **Taberlet, P.; Waits, L.P. and Luikart, G., 1999.** Noninvasive genetic sampling: look before you leap. Trends in Ecology and Evolution. Vol. 14, pp: 323-327.
 23. **Tamura, K.; Dudley, J.; Nei, M. and Kumar, S., 2007.** MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. Molecular Biology and Evolution. Vol. 24, pp: 1596-1599.
 24. **Tapio, M., 2006.** Origin and maintenance of genetic diversity in northern European sheep. University of Oulu. Faculty of science, department of biology. 473 P.
 25. **Wilaiams, S.L.; Brawn, J.D. and Paige, K. N., 2003.** Landscape scale genetic effects of habitat fragmentation on a high gene flow species. *Speyria idalia* (Nymphalidae). Molecular Ecology. Vol. 12, pp: 11-20.
 26. **Yousefi, S.; Khederzadeh, S. and Montazami, S., 2011.** Nucleotid variation study of Wild Sheep populations of the Tangsayad and Korayi Guardianship religions using D-loop region and cyt-b gene of mitochondrial genome. Journal of animal environment. Vol. 2, No. 4, pp: 20-30.



Investigation of Phylogeography of Yazd Province Wild Sheep population based on the Mitochondrial Genome data

- **Seyed Majid Hosseini***: Department of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, P.O. Box:49138-15739, Gorgan, Iran
- **Hamid Reza Rezaei**: Department of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, P.O. Box:49138-15739, Gorgan, Iran
- **Hossein Varasteh Moradi**: Department of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, P.O. Box:49138-15739, Gorgan, Iran
- **Saeed Naderi**: Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, the University of Guilan, P.O.Box: 1144, Sowmesara, Iran
- **Fatemeh Nikooy**: Department of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, P.O. Box:49138-15739, Gorgan, Iran

Received: January 2014

Accepted: February 2014

Keyword: Wild Sheep, Phylogeography, Mitochondrial genome, Cytochrome b, Yazd province

Abstract

Phylogeography studies usually represent the importance of historical processes in shaping of current geographical distribution of species and genes. The main purpose of this paper is investigating the genetic distance as well geographical distance of the Yazd province based on the mitochondrial data. In this study cytochrome b gene of mitochondrial genome from *Ovis vignei* and *Ovis orientalis* stool and tissue were examined for the association between haplotype, the haplotype genetic distance and geographical distribution. 9 haplotype of 30 sequences attained from Wild Sheep in Yazd province. Siahkooch Protected Area, Kalmand-Bahadoran Protected Area and Shirkooh No Hunting Area have got a common haplotype that represents extensive distribution of this haplotype than others in Yazd province. Calculated matrix of genetic distances demonstrates the greatest genetic distance (0.272) related to Wild Sheep in Buruieh Wildlife Refuge. The highest number of polymorphisms between the haplotype belongs to the Buruieh Wildlife Refuge by the 15 polymorphisms. Environmental event such as expansion of the Zagros Mountain in the south of province of Yazd is one of the important reasons for the distribution of Urial and Armenia Wild Sheep in Yazd province. Moreover, the lack of genetic exchange between Wild Sheep of northern and center of Yazd and Buruieh Wildlife Refuge is affected by extent plains in these regions.

