

تنوع ژنتیکی درون جمعیتی و بین جمعیتی جیرفتی (*Francolinus pondicerianus*) در جنوب کشور براساس توالی ژن D-LOOP میتوکندری

- **ندا غیاشی***: گروه محیط زیست و انرژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، صندوق پستی: ۱۴۵۱۵-۷۷۵
- **حمیدرضا رضایی**: گروه محیط زیست، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، صندوق پستی: ۴۹۱۷۵-۴۸۷
- **محمد کابلی**: گروه محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، صندوق پستی: ۴۱۱۱

تاریخ پذیرش: بهمن ۱۳۹۴

تاریخ دریافت: آبان ۱۳۹۴

چکیده

در این پژوهش برای نخستین بار مطالعات ملکولی در خصوص بررسی و مقایسه تنوع ژنتیکی درون جمعیتی و بین جمعیتی گونه جیرفتی (*Francolinus pondicerianus*) از خانواده (Phasianidae)، در جنوب کشور صورت گرفت تا با مطالعه توالی قسمتی از ژنوم میتوکندریایی، تنوع ژنتیکی درون جمعیتی و بین جمعیتی در این گونه مشخص شود. به همین منظور، نمونه‌های بافت، خون و پر این پرنده از مناطق مختلف استان‌های هرمزگان و کرمان جمع‌آوری شد. DNA نمونه‌ها با روش فنل کلروفورم و روش نمکی استخراج و با کمک یک جفت آغازگر، بخشی از ژن دی-لوپ با کمک دستگاه ترموسایکلر تکثیر شد و تعیین توالی گردید. پس از تجزیه و تحلیل، نتایج نشان داد که این گونه در مناطق مورد مطالعه در این پژوهش دارای ۶ هاپلوتاایپ مستقل در قالب دو جمعیت می‌باشد که با توجه به موقعیت جغرافیایی مناطق پراکندگی این پرنده در جنوب کشور و ارتباط جغرافیایی میان آن‌ها و فاصله نسبتاً نزدیک این مناطق و با توجه به موارد موثر در تبادل ژنی در میان جانوران مانند تولیدمثل از طریق برون‌آمیزی، وجود فرا جمعیت‌ها و سایر عوامل موثر و نتایج حاصل از این تحقیق احتمال بالابودن تبادل ژنی در جیرفتی وجود دارد و می‌توان به این نتیجه دست یافت که موانع جغرافیایی موجود در طول زمان باعث جدایی جمعیت‌های جیرفتی نشده و جریان ژنی در این مناطق در زمان حال و گذشته وجود داشته باشد.

کلمات کلیدی: جیرفتی، DNA میتوکندری، تنوع ژنتیکی، هرمزگان، کرمان



مقدمه

یکی از ویژگی‌های یک جمعیت، تنوع ژنتیکی آن است. محیط‌ها همواره در حال تغییرند و تنوع ژنتیکی برای تداوم و سازگاری گونه‌ها برای زیست در شرایط جدید لازم است. بنابراین ارزیابی تنوع ژنتیکی موجود در یک جمعیت از مهم‌ترین اهداف در مطالعه ژنتیک جمعیت‌هاست و کاربرد مهمی در زیست‌شناسی حفاظت دارد (Friland, 2005). در ایران نیز نیاز به مطالعات جامع پرندگان کشور با تکیه بر فنوتیپ پرنده و شکل ظاهری توام با ویژگی‌های ملکولی به شدت احساس می‌گردد به خصوص که ایران از مهم‌ترین نواحی برخورد یا تماس بسیاری از تاکسون‌های ناحیه شرقی و غربی منطقه پالئارکتیک در طول دوره‌های چندگانه پیشروی یخچال‌های قطبی بوده است این نواحی برخورد می‌تواند بالقوه عامل درهم آمیختگی و یا شکل‌گیری جدید و گونه‌زایی در کشور باشد (Aliabadian و همکاران، 2007).

گونه جیرفتی پرنده‌ای از خانواده (Phasianeda) است که در منطقه جنوب و جنوب شرقی ایران پراکندگی دارد. این پرنده در مناطق با پوشش بوته‌ای و درختان پراکنده، گزستان‌ها، بستر رودخانه‌ها، زمین‌های کشاورزی و فضاها، باز، خشک و نیمه‌خشک به سر می‌برد (منصوری، 1392). پراکندگی این پرنده در مناطق پراکنش آن تا کنون نگران‌کننده نبوده و در لیست IUCN 2012 Red List Threatened از جمله گونه‌های Least concern طبقه‌بندی شده است ولی جمعیت‌های جیرفتی در آسیا در حال کاهش است (Roberts, 1992). تاکنون تنها مطالعات انجام شده بر روی این گونه در بخش مرکزی پاکستان در منطقه سلیمان صورت گرفته است در این منطقه جیرفتی منبع درآمدی خوبی محسوب می‌شود ولی اطلاعاتی درخصوص جمعیت این گونه در دسترس نبوده است. این مطالعه بر روی 29 عدد نمونه جیرفتی در مناطق غرب و شرق منطقه سلیمان و بر روی یک منطقه 511 bp ژن‌های ناحیه کنترل انجام شده و 9 جایگاه پلی‌مورفیک و 7 نوع هاپلوتایپ مشخص گردیده و با توجه به تنوع نوکلئوتیدی اندازه جمعیت در این منطقه بزرگ ارزیابی شده است (khaliq, 2010). از مطالعات انجام شده در رابطه با شناسایی ژن در ایران شناسایی و توالی‌یابی ژن در مرغ بومی خراسان است. هدف از انجام این پژوهش بررسی توالی نوکلئوتیدی ژن سیتوکروم اکسیداز 1 در ژنوم میتوکندری مرغ بومی خراسان و شناسایی جهش‌های احتمالی در آن بود. نتایج هم‌ردیفی نوکلئوتیدی این توالی 99

درصد شباهت با توالی مشابه در ژنوم نوکلئوتیدی مرجع را نشان داد. مقایسه این دو توالی وجود 6 اختلاف نوکلئوتیدی را مشخص نمود. با این حال فقط سه جهش منجر به تولید اسیدهای آمینه غیرهمسان گردید. هم‌چنین نتایج حاصل از مقایسه پروتئینی، شباهت 99٪ در 100٪ طول را با ناحیه حفاظت شده، زیر واحد 1 سیتوکروم C اکسیداز مرغ مرجع را نشان داد. به علاوه در این مطالعه مشخص گردید که مرغ بومی خراسان در توالی‌های پروتئینی ژن COX1 با سایر نژادهای طیور بیش از 96٪ شباهت دارد (آلبوشوکه، 1393). مطالعه بر روی رده‌بندی فیلوژنتیکی هم‌تافت گونه جغد انباری از جمله موارد دیگر مورد بررسی ژن در ایران است. هم‌تافت گونه جغد انباری (*Tyto alba*) گونه‌ای جهان گستر است و تغییرات ریختی قابل توجهی را نشان می‌دهد. این تغییرات زیادریختی و جغرافیایی سبب شده است که گونه جغد انباری دارای زیرگونه‌های متعددی در سرتاسر جهان باشد. در این مطالعه، تعیین توالی ژن میتوکندریایی غیرکدین به طول 569 نوکلئوتید برای 40 نمونه از جغد انباری از سراسر جهان انجام شد. اطلاعات حاصل از تحلیل نشان‌دهنده وجود دو تبار مجزای دنیای قدیم با نام *Tyto alba* و *Tyto furcata* است. میزان تنوع ژنتیکی بین تبارهای دنیای قدیم و دنیای جدید، 3/8 درصد است. با توجه به نتایج به دست آمده، این احتمال وجود دارد که زیرگونه‌های دنیای جدید و قدیم از نظر ژنتیکی جدا بوده و فاقد تبادل ژنتیکی باشند که مبتنی بر حضور 2 گونه جغرافیایی جدا در این هم‌تافت گونه با زیرگونه‌های متعدد است (علی‌آبادیان و همکاران، 1390).

با توجه به عدم وجود هرگونه اطلاعات صحیح در مورد این گونه در ایران مدیریت و حفاظت از این پرنده در درازمدت با مشکلاتی روبه‌رو خواهد بود و از آن‌جاکه نمونه‌برداری، شناسایی و مطالعه نمونه‌های زیستی از جمله گام‌های پایه در جهت حفاظت و بهره‌برداری پایدار از تنوع زیستی به‌شمار می‌رود یکی از بهترین روش‌هایی که در طی سال‌های اخیر امکان شناسایی و رده‌بندی جانوران و به‌ویژه پرندگان را به صورت سریع و قابل اعتماد فراهم آورده است استفاده از نشانگرهای ملکولی DNA است (Friland, 2005). لذا در این تحقیق با بررسی ساختار ژنتیکی بخشی از ژن D-loop در mtDNA گونه جیرفتی و مقایسه آن بین افراد، جمعیت‌ها و هاپلوتایپ‌های احتمالی این پرنده در استان هرمزگان و کرمان شناسایی شده و علاوه بر بررسی تنوع ژنتیکی این گونه به بررسی وضعیت



جمعیت‌های و جریان ژنی در میان این گونه در استان‌های ذکر شده نیز پرداخته شد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌های جمع‌آوری شده: در این مطالعه در سال ۱۳۹۱ از ده نمونه متفاوت از سه نوع نمونه خون، بافت و پر جیرفتی استفاده گردید. این نمونه‌ها از پرندگانی که از افراد محلی به صورت غیرقانونی زنده‌گیری و یا توسط شکارچیان صید شده بودند و به وسیله اداره کل حفاظت محیط‌زیست هرمزگان و کرمان بازداشت گردیده بودند تهیه شد. نمونه‌های خون عمدتاً مربوط به منطقه میناب و باغ‌های اطراف بندرعباس بودند. در این روش با کمک سرنگ مخصوص انسولین از رگ زیربال پرنده

خون‌گیری شد و خون به سرعت در تیوپ‌های حاوی EDTA نگهداری گردید. نمونه‌های بافت با رعایت کامل نکات بهداشتی از قسمت عضله سینه تهیه شده که این نمونه‌ها عمدتاً مربوط به منطقه رودان در استان هرمزگان بودند ولی بیش‌تر نمونه‌های تهیه شده نمونه‌های پر بودند که عموماً از پرندگان زنده صید شده توسط متخلفان و افراد محلی با همکاری سازمان محیط زیست به دست آمد. پرها در ظروف حاوی سیلیکاژل که جاذب رطوبت است قرار داده می‌شد تا از نفوذ هوا نیز جلوگیری بعمل آید. کلیه نمونه‌های پر از مناطق رودان، میناب، اطراف بندرعباس در استان هرمزگان و جیرفت و کهنوج از استان کرمان جمع‌آوری گردیدند (جدول ۱).

جدول ۱: تعداد، محل و نوع نمونه جمع‌آوری شده از استان‌های هرمزگان و کرمان

ردیف	استان	محل جمع‌آوری	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی	ارتفاع (متر)	نوع نمونه	تعداد نمونه
۱		رودان	۲۵° ۱۷/۷۰"	۱۳° ۴۰/۱۱"	۲۳۱/۸۹ متر	بافت	۴
۲		میناب	۳° ۴۱/۱۸"	۲۷° شمالی	۴۰/۶۰ متر	خون	۱
۳	هرمزگان	بندرعباس	۱۲° ۴۸/۳۵"	۲۷° شمالی	۹/۷۴ متر	خون	۱
۴						پر	۱
۵	کرمان	جیرفت	۴۲° ۱۳/۶۶"	۲۸° شمالی	۷۲۰/۱۷ متر	پر	۲
۶		کهنوج	۴۳° ۲۱/۶۴"	۲۸° شمالی	۵۰۴/۲۳ متر	پر	۱

مواد و میزان ترکیبات مورد نیاز جهت عملیات PCR:

جهت انجام عملیات PCR در این مطالعه از بافر PCR به میزان ۱۸/۵ میکرولیتر، $dntps$: ۲/۵ میکرولیتر، $mgcl_2$: ۰/۵ میکرولیتر، پرایمر F: ۰/۷۵ میکرولیتر و پرایمر R: ۱ میکرولیتر، Taq pol: ۱ میکرولیتر، ddh_2O : ۰/۳ میکرولیتر و DNA: ۱ میکرولیتر استفاده گردید.

شرایط چرخه‌های PCR: مرحله آغاز چرخه‌های PCR با

دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۵ دقیقه شروع می‌گردد و در مرحله دناتوراسیون با همان دما و زمان ۴۵ ثانیه ادامه می‌یابد. مرحله بعدی یا مرحله اتصال دما ۵۸ درجه و زمان آن ۴۰ ثانیه و مرحله گسترش یا طویل شدن دما ۷۲ درجه سانتی‌گراد و زمان ۸۰ ثانیه است، در آخرین مرحله که مرحله طویل شدن نهایی است دما ۷۲ درجه باقی می‌ماند ولی زمان آن ۵ دقیقه به طول می‌انجامد.

پس از تکثیر DNA، با روش الکتروفورز که توسط دستگاه الکتروفورز افقی انجام می‌شود محصول واکنش زنجیره‌ای

روش استخراج DNA: پس از تهیه نمونه، DNA آن‌ها

بسته به نوع نمونه به روش‌های مختلفی استخراج گردید. برای استخراج DNA از بافت از روش Salt method یا روش نمکی و برای استخراج DNA از خون و پر از روش فنل کلروفورم استفاده شد (علی‌آبادیان و همکاران، ۱۳۹۱).

انجام عملیات PCR: پس از استخراج DNA از نمونه‌ها

نوبت به مرحله PCR یا واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز است. در این مرحله محصول یا DNA استخراج شده با کمک پرایمرهای اختصاصی زیر که مطابق پرایمر طراحی شده در مقاله تنوع DNA میتوکندریایی در جیرفتی در پاکستان می‌باشد (Khaliq و همکاران، ۲۰۱۱) و با استفاده از مواد مورد نیاز توسط دستگاه ترموسایکلر وارد واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز یا PCR با شرایط ذکر شده و تکثیر گردید.

MITOCF: 5'-GGCTTGAAAAGCCATTGTTG-3'
MITOCR: 5'-CCCCAAAGAGAAAAGGAACC-3'



بحث

براساس کار پژوهش کنونی برای اولین بار در ایران، توالی یک قسمت ۴۳۹ bp در قسمتی از ژن میتوکندری ناحیه D-LOOP در گونه جیرفتی (*Francolinus pondicerianus*) شناسایی گردیده و تنوع ژنتیکی آن مورد بررسی قرار گرفت. این توالی از ۱۰ نمونه جیرفتی از ۲ استان هرمزگان و کرمان به دست آمد. در میان این ۱۰ نمونه مورد مطالعه با کمک نرم افزار MEGA۵ و NETWORK، ۶ هاپلوتایپ مشاهده شد که فرکانس هاپلوتایپ‌های مشاهده شده نیز در میان هاپلوتایپ‌ها متفاوت می‌باشد (جدول ۲).

پلی‌مرز بر روی ژل آگارز ۲٪ قابل مشاهده می‌گردد. پس از مشاهده باند مورد نظر و آگاهی از درست بودن مراحل استخراج و PCR، محصولات تکثیر برای تعیین توالی ارسال گردیدند. در ابتدا با کمک نرم افزار SEQSCAPE توالی‌ها مورد ویرایش قرار گرفتند و با استفاده از اطلاعات ذخیره شده و نرم افزار MEGA۵ (یوسفی سیاه‌کلرودی، ۱۳۹۰) توالی‌ها هم‌آرایی گردیده و درخت هاپلوتایپی و جداول فاصله ژنتیکی ترسیم گردید. تعداد هاپلوتایپ‌ها مشخص و هاپلوتایپ‌های متداول‌تر را در منطقه شناسایی شدند. پس از ترسیم درخت هاپلوتایپی برای بررسی وضعیت و فراوانی هاپلوتایپ‌ها و همچنین تایید نتایج قبل با کمک نرم افزار NETWORK به ترسیم یک شبکه هاپلوتایپی در میان نمونه‌ها شد (van Someren و همکاران، ۲۰۰۲).

جدول ۲: تعداد، فراوانی و فرکانس هاپلوتایپ‌ها و مناطق پراکندگی آن

مناطق	نمونه H۱	فرکانس H۱	نمونه H۲	فرکانس H۲	نمونه H۳	فرکانس H۳	نمونه H۴	فرکانس H۴	نمونه H۵	فرکانس H۵	نمونه H۶	فرکانس H۶
بندر عباس				۸۴	٪۱۰		۸۷					
میناب	۱۹	٪۱۰										
رودان	B۴ B۵	٪۲۰					B۲	٪۱۰			B۳	٪۱۰
جیرفت			N۱۱ N۱۲	٪۲۰								
کهنوج	N۱۳	٪۱۰										

نسبتاً بالایی مشاهده می‌شود که این بیانگر تنوع ژنتیکی بالا در این مناطق است.

در این مطالعه برای بررسی جمعیت‌ها در میان نمونه‌ها درخت هاپلوتایپی حداکثر احتمال ترسیم شد (شکل ۱). درخت حداکثر احتمال نشان می‌دهد که در این تحقیق ۲ جمعیت در منطقه دیده می‌شود که نمونه‌های B۴، B۵، ۱۹، N۱۳، N۱۱، N۱۲ و B۳ با حداکثر احتمال ۷۶٪ از نمونه‌های B۲، ۸۴٪ و ۸۷٪ با حداکثر احتمال ۹۲٪ از یکدیگر جدا شده‌اند. پس می‌توان نتیجه‌گیری کرد که جمعیت دوم فراوانی بیشتری را در مناطق نمونه‌برداری دارد. این درخت در بازسازی تاریخچه تکاملی تبارها به کار می‌رود و در این تحقیق نشان می‌دهد که نمونه‌های N۱۱، N۱۲ و B۳ افرادی هستند که از یک جد مشترک از

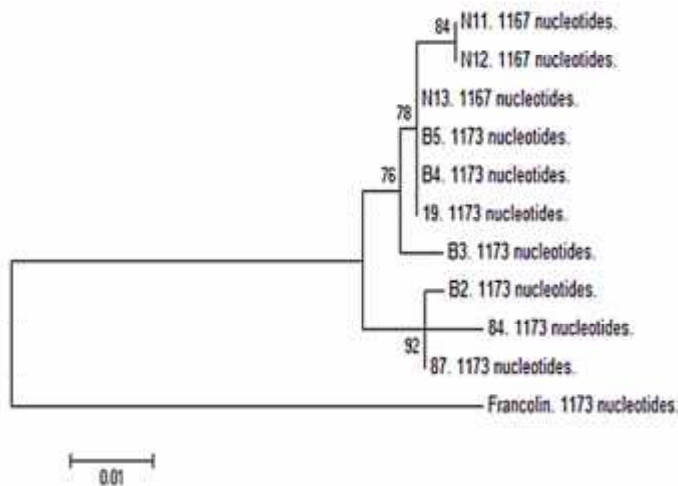
متداول‌ترین هاپلوتایپ در میان این ۶ هاپلوتایپ H۱ می‌باشد که ۴ نمونه و هاپلوتایپ H۲ دو نمونه از کل ۱۰ نمونه را شامل می‌شوند درحالی‌که از سایر هاپلوتایپ‌ها (H۳، H۴، H۵، H۶) تنها یک نمونه بیش‌تر مشاهده نگردید.

سه نمونه از نمونه‌های استان هرمزگان که در H۱ قرار گرفته‌اند از مناطق میناب و رودان و یک نمونه هم از استان کرمان از منطقه کهنوج به دست آمده‌اند. دو نمونه از نمونه‌های H۲ از استان کرمان از منطقه جیرفت تهیه گردیدند و سایر هاپلوتایپ‌ها از استان هرمزگان و از شهرستان‌های بندرعباس و رودان جمع‌آوری گردیدند. در میان جمعیت‌های مورد مطالعه در استان‌های کرمان و هرمزگان تنوع هاپلوتایپی



کمی از دو نمونه دیگر فاصله گرفته باشد ولی در کل این سه نمونه یک جمعیت مجزا را نشان داده که از جمعیت قبلی از یک جد مشترک منشاء یافته‌اند لیکن زمان این جدایی نسبتاً طولانی است.

نمونه‌های B4، B5، ۱۹ و N۱۳ منشعب شده‌اند و زمان این جدایی ژنتیکی مشخص نمی‌باشد. در خصوص جمعیت دیگر که شامل نمونه‌های ۸۴، ۸۷ و B۲ نیز می‌توان گفت که احتمال این وجود دارد که نمونه ۸۴ به تازگی دچار کمی تغییرات ژنتیکی شده و



شکل ۱: درخت هاپلوتایپی حداکثر احتمال در میان نمونه‌ها

سایت NCBI موجود است درخت هاپلوتایپی دیگری با روش حداکثر احتمال ترسیم گردید (شکل ۲).

پس از ترسیم درخت هاپلوتایپی فوق برای بررسی و مقایسه جمعیت‌ها در میان نمونه‌های موجود در کشور و سایر نمونه‌های توالی‌یابی شده در پاکستان و یا سایر کشورها که در



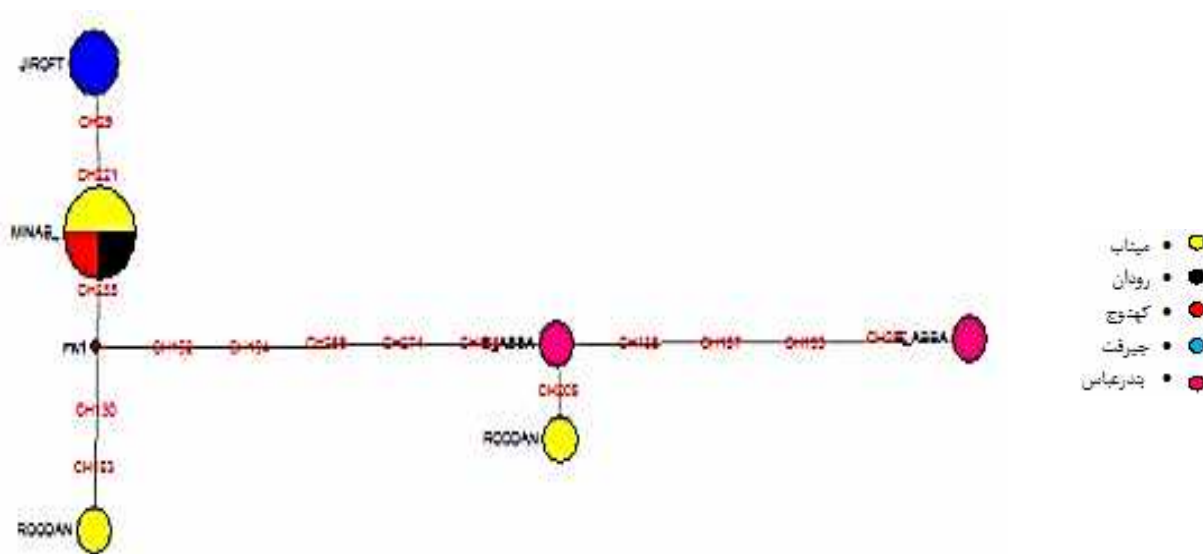
شکل ۲: درخت هاپلوتایپی بررسی جایگاه نمونه‌ها با نمونه‌های جیرفتی پاکستان



پاکستان پراکنده است ولی هیچ گونه هاپلوتایپ مشترکی بین آن‌ها دیده نمی‌شود.

پس از ترسیم درخت هاپلوتایپی برای بررسی وضعیت و فراوانی هاپلوتایپ‌ها و همچنین تایید نتایج قبل با کمک نرم-افزار NETWORK اقدام به ترسیم یک شبکه هاپلوتایپی در میان نمونه‌ها گردید (شکل ۳).

در شکل فوق نمونه‌های این تحقیق با دایره‌های سبز رنگ در میان سایر نمونه‌های توالی‌یابی شده در پاکستان مشخص شده است. همان گونه که در شکل فوق مشخص است همه نمونه‌ها همانند نمونه‌های مورد مطالعه در ۲ جمعیت مستقل رده‌بندی شده‌اند که یکی از این جمعیت‌ها فراوانی بسیار بیشتری دارد و نمونه‌های این تحقیق در میان نمونه‌های



شکل ۳: شبکه هاپلوتایپی میان نمونه‌های مورد مطالعه

تعداد نمونه‌ها در این مطالعه به دلیل محدود بودن زمان نمونه‌برداری بسیار محدود بود و از طرفی دور از دسترس بودن محل پراکندگی این پرنده باعث گردید نمونه‌ها تنها از نمونه‌های صید شده توسط شکارچیان یا نمونه‌های زنده‌گیری شده توسط افراد محلی تهیه شود. عدم وجود آمار کافی از تعداد این پرندگان، تخمین جمعیت این پرنده را در نقاط مورد نمونه‌برداری مشکل نموده است.

همان‌طور که در نتایج مشخص است این نمونه‌ها از مناطق میناب، رودان و بندرعباس از استان هرمزگان و کهنوج و جیرفت از استان کرمان به دست آمد و با توجه به تنوع بالای هاپلوتایپ‌ها میزان تنوع ژنتیکی نسبتاً بالا تخمین زده می‌شود گرچه با توجه به پایین بودن تنوع نوکلوتیدها هاپلوتایپ‌ها بسیار به هم نزدیک می‌باشند. براساس Avise (۱۹۹۸) اندازه جمعیت این گونه با توجه به بالا بودن تعداد هاپلوتایپ‌ها بزرگ ارزیابی می‌شود. میزان بالای هاپلوتایپ‌ها در میان نمونه‌ها مورد مطالعه بیانگر آن است که این پرندگان در معرض کاهش چشمگیر

با کمک شبکه هاپلوتایپی فوق تعداد هاپلوتایپ‌ها و فراوانی آن در منطقه مورد مطالعه مشخص می‌گردد. در شبکه فوق تعداد دایره‌ها بیانگر تعداد هاپلوتایپ‌ها می‌باشد پس ۶ هاپلوئید مشاهده می‌شود که هاپلوتایپ ۱ یا H1 شامل ۴۰ درصد از کل هاپلوتایپ‌ها و هاپلوتایپ ۲ یا H2 شامل ۲۰ درصد از کل هاپلوتایپ‌ها بوده و سایر هاپلوتایپ‌ها یا H3، H4، H5 و H6 هر کدام ۱۰ درصد از کل هاپلوتایپ‌ها می‌باشند. پراکندگی H1 مناطق میناب، رودان و کهنوج، پراکندگی H2 منطقه جیرفت، H3، H4 بندر عباس و H5 و H6 شهرستان رودان می‌باشد.

مطالعات mtDNA توصیف مقدماتی ارزشمندی را از ساختار جمعیت تاریخی جمعیت ارائه می‌دهد قسمتی از ناحیه D-LOOP که در این مطالعه ارزیابی گردید معمولاً برای ارزیابی تنوع و ساختار فیلوژنی DNA میتوکندریایی در ماکیان مورد استفاده قرار می‌گیرد (Mwacharo و همکاران، ۲۰۱۱؛ Muchadeyi و همکاران، ۲۰۰۸).



نتیجه این تحقیق و تحقیقات مشابه می‌تواند پایه فهم بهتری از این گروه مهم از پرندگان (ماکیان) ایجاد کند و بر روی جمعیت آن‌ها با کنترل عواملی چون محدود کردن شکار یا جابه‌جایی‌های بی‌مورد در آینده تاثیرگذار باشد.

منابع

۱. آلبوشوکه، س؛ طهمورث‌پور، م. و نصیری، م.، ۱۳۹۳. شناسایی و توالی یابی ژن MT-COX1 در مرغ بومی خراسان. ژنتیک در هزاره سوم. سال ۱۲، شماره ۲، صفحات ۳۵ تا ۲۱.
۲. علی‌آبادیان، م؛ علایی‌کاخکی، ن. و درویش، ج.، ۱۳۹۰. رده بندی فیلوژنتیکی هم‌تافت گونه جغد انباری (*Tyto alba* Scopoli, 1769) با استفاده از ژن میتوکندریایی (16S rRNA): ارزیابی آرایه شناختی. تاکسونومی و بیوسیس‌تاتیک. سال ۴، شماره ۱۱، صفحات ۱ تا ۱۲.
۳. علی‌آبادیان، م؛ میرشمسی، ا. و یزدانی‌مقدم، ف.، ۱۳۹۱. کارگاه آموزشی کاربرد مطالعات مولکولی DNA بارکدینگ در شناخت تنوع زیستی کشور. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد. صفحه ۲۴.
۴. منصور، ج.، ۱۳۹۲. راهنمای پرندگان ایران. انتشارات کتاب فرزانه. تهران. ایران. ۵۲۸ صفحه.
۵. یوسفی سیاه‌کلودی، س.، ۱۳۹۰. بررسی تنوع ژنتیکی آهوی گواتردار ایرانی (*Gazella subgutturosa*) مناطق حفاظت شده مند بوشهر و دیمه رامهرمز با استفاده از نشانگرهای ریزماهوره. فصلنامه محیط زیست جانوری. دوره ۳، شماره ۴، صفحات ۴۳ تا ۴۶.
6. Aliabadian, M.; Kaboli, M.; Prodon, R.; Najman, V. and Vences, M., 2007. Phylogeny of palaeartic wheatears (genus *oenanthe*) congruence between morphometric and molecular data. Molecular Phylogenetics and Evolution. Vol. 42, pp: 665-675.
7. Allendorf, F.W. and Luikart, G., 2007. Conservation and the genetics of populations. Blackwell Publishing. pp: 13-15.
8. Avise, J., 1998. Phylogeography. HarvardUni.Press. pp: 332-333
9. Frankham, R.; Ballou, B.D. and Briscoe, D.A., 2002. Introduction to conservation genetics. Cambridge university press. 257 p.
10. Friland, J., 2005. Molecular ecology. Jahad university publishers, Mashhad. Iran. pp:67-44
11. Khaliq, I.; Teresatejedor, M.; Monteagudo, L.V.; Riaz, M. and Khan, A., 2011. Mitochondrial DNA diversity in *Francolinus pondicerianus interpositus* (greyfrancolin Grey Francolin, Galliformes) from Pakistan. Hereditas, Vol. 148, pp: 70-76
12. Martin, J.; Kitchens, W. M. and Hines, J.E., 2007. Importance of well designed monitoring programs for the conservation of endangered species: case study of the Snail Kite. Conserv. Biol. Vol. 21, pp: 472-481.

جمعیت مانند اردک کله‌سفید (*Oxyura leucocephala*) نمی‌باشند (Munoz-Fuentes و همکاران، ۲۰۰۸).

نکته دیگری که از درخت هاپلوتایپی ترسیم شده می‌توان نتیجه‌گیری کرد این است که در بین این دو جمعیت در گذشته جریان ژنی وجود داشته است و هم‌اکنون نیز در منطقه رودان این دو جمعیت کنار هم دیده می‌شوند که می‌توان به این نکته پی برد که احتمال می‌رود در حال حاضر نیز جریان ژنی در میان این دو جمعیت وجود داشته باشد. ولی گونه جیرفتی به دلیل اهمیت خاصی که در منطقه دارد و به دلیل صدای زیبا و دست‌آموز بودن این پرنده در میان افراد محلی بسیار طرفدار است و در نتیجه بسیار توسط آن‌ها زنده‌گیری شده و در منطقه جابه‌جا می‌شود پس این احتمال که وجود دو جمعیت در کنار هم در منطقه رودان به دلیل جابه‌جایی‌های بشری باشد دور از ذهن نمی‌باشد.

به‌ر حال نزدیک بودن مناطق پراکندگی این گونه و عدم وجود منابع طبیعی صعب‌العبور احتمال وجود جریان ژنی را در میان این پرندگان تقویت می‌کند به‌رحال جهت تایید و نتیجه‌گیری قطعی نیاز به مطالعات بیش‌تری در آینده می‌باشد. این پرنده در ایران جزء گونه‌های حفاظت شده است و تا به امروز تعداد پرندگان صید شده توسط شکارچیان و افراد محلی توسط اداره کل حفاظت محیط‌زیست جهت تثبیت جمعیت تحت کنترل می‌باشد ولی افزایش شکارهای غیرمجاز می‌تواند باعث نگرانی درخصوص کاهش جمعیت گردد. بنابراین قوانین حفاظتی سختگیرانه‌تر جهت پیشگیری از این کاهش جمعیت در سالیان آتی مورد نیاز به‌نظر می‌رسد. ولی قبل از این‌که هر تصمیم حفاظتی بر روی گونه‌ای شروع شود باید اطلاعات پایه روی ساختار اصلی جمعیت در میان گونه موجود مشخص شود تا بهترین اثر را بر روی جمعیت گونه‌ها داشته باشد (Khaliq و همکاران، ۲۰۱۱).

مدیریت و حفاظت جمعیت‌های وحشی موجود در طبیعت باید براساس اطلاعات ساختار ژنتیکی آن‌ها صورت پذیرد (Allendorf و همکاران، ۲۰۰۷؛ Moritz، ۱۹۹۹) و از طرفی حفاظت جمعیت‌های مجزای یک گونه مشابه، میزان تنوع زیستی را بالا می‌برد و خطر انقراض را کاهش می‌دهد (Martin و همکاران، ۲۰۰۷؛ Waples، ۱۹۹۱). نابودی تنوع ژنتیکی بسیار برای گونه‌ها خطرناک می‌باشد زیرا که باعث کاهش توانایی گونه برای تطابق با تغییرات محیط‌زیست می‌شود (Frankham و همکاران، ۲۰۰۲).



13. **Moritz, C., 1999.** Conservation units and translocation: strategies for conservation evolutionary process. *Hereditas*. Vol. 130, pp: 217-228.
14. **Muchadeyi, F.C.; Ending, H. and Simianer, H., 2008.** Mitochondrial DNA D-loop sequences suggest a Southeast Asian and Indian origin of Zimbabwean village chickens. *Anim. Genet.* Vol. 39, pp: 615-622
15. **Munoz-Fuentes, V.; Green, A.J. and Sorenson, M.D., 2008.** Comparing the genetics of wild and captive population of white-headed ducks *Oxyura leucocephala*: consequences for recovery programmes. *Ibis*. Vol. 150, pp: 807-815
16. **Mwacharo, J.M.; Bjqrnstad, G.; Mobegi, V.; Nomura, K.; Hanada, H.; AmanoJianlin, H. and Hanotte, O., 2011.** Mitochondrial DNA reveals multiple introductions of domestic chicken in East Africa. *Molecular phylogenetics and Evolution*. Vol. 58, pp: 374-382.
17. **Roberts, T.J., 1992.** The birds of Pakistan. Vol. I (Non-passerines). Oxford Univ. Press. 207 p.
18. **Van Someren, E; Wessels, L; Backer, E. and Reinders, M., 2002.** Genetic network modeling. *Pharmacogenomics*. Vol. 3, No. 4, pp: 507-25.
19. **Waples, R.S., 1991.** Pacific Salmon *Oncorhynchus* spp. And the definition of "Species" under the Endangered Species Act. *Mar. Fish. Rev.* Vol. 53, pp: 11-22.

