

## ساختار و تنوع ژنتیکی اردک سیاه کاکل (*Aythya fuligula* Linnaeus, ۱۷۵۸) با استفاده از ژن میتوکندریایی سیتوکروم ب در منطقه خلیج گرگان

- **احمد شعاعی:** 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
- **جلیل ایمانی هرسینی:** دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، دانشکده محیط زیست و انرژی، گروه زیستگاه ها و تنوع زیستی

تاریخ دریافت: آذر ۱۳۹۴ تاریخ پذیرش: اسفند ۱۳۹۴

### چکیده

اردک سیاه کاکل یکی از گونه‌های فراوان و با پراکندگی بالا در جهان، بین مرغابی‌سانان است. هدف از انجام پژوهش حاضر بررسی ساختار و تنوع ژنتیکی اردک سیاه کاکل در منطقه خلیج گرگان با استفاده از ژن سیتوکروم ب (*Cytochrome b*) بود. برای اجرای این پژوهش از ۱۰ قطعه اردک سیاه کاکل که از منطقه خلیج گرگان گرفته شده بوده‌اند، نمونه‌برداری انجام شد. تجزیه تحلیل‌های هاپلوتایپی و نوکلئوتیدی با استفاده از نرم‌افزارهای MEGA، MrBayes، Arlequin، DNAsp و Network صورت گرفت. به‌طور کلی، با بررسی ۹ قطعه ۹۶۱ جفت بازی ژن سیتوکروم *b* اردک سیاه کاکل، ۴ هاپلوتایپ مختلف شناسایی شد. تنوع هاپلوتایپی ۰/۶۹۴۴، تنوع نوکلئوتیدی ۰/۰۰۰۹۵ محاسبه شد. مقدار Nm یا میزان جریان ژنی بین مناطق نمونه‌برداری برابر ۱/۵۹۸ بود ( $p < ۰/۰۵$ ) که نشان از جریان ژنی بالا و به‌بیان‌دیگر فاصله بسیار کم بین جمعیت‌های این گونه و جمعیت‌های اروپایی و آسیایی آن است. شاخص راجزر-هارپندینگ، شاخص تاجیما و Fu Fs به ترتیب ۰/۲۱۱ و ۰/۷۱۵ و -۱/۲۸۲ محاسبه شد، هم‌چنین نمودار توزیع عدم تطابق به‌صورت تک‌نمایی رسم شده، که همه آن‌ها نشان داند تاریخچه جمعیتی نامعین و شبیه به مدل گسترش ناگهانی بوده است. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده از شبکه هاپلوتایپی و درخت تبارشناختی و همین‌طور تفاوت اندک ژنتیکی بین جمعیت‌های بررسی‌شده، احتمال مهاجرت این پرند از هردو منطقه اروپا و شرق آسیا به ایران وجود دارد. با در نظر گرفتن نتایج پژوهش حاضر، باید منطقه خلیج گرگان به‌عنوان یک منطقه مهم و کلیدی شناخته شده و اقدامات مدیریتی و حفاظتی لازم در منطقه صورت گیرد.

**کلمات کلیدی:** اردک سیاه کاکل، تنوع ژنتیکی، ژن سیتوکروم *b*، ژنوم میتوکندری



## مقدمه

اردک‌های غواص یکی از گروه‌های زیرتیره اردک‌ها می‌باشند که در زیستگاه‌های مختلفی دیده می‌شوند. از این گروه پنج جنس در ایران به صورت مهاجر و بومی وجود دارند (فیروز، ۱۳۹۰). اردک سیاه‌کاکل (*Aythya fuligula*) یکی از انواع اردک‌های غواص است که در شمال ایران و در قسمت شرقی و غربی سواحل دریای خزر به صورت پراکنده یافت می‌شوند. این گونه در گذشته در قسمت‌های بیش‌تری از ایران یافت می‌شده و حتی جوجه‌آوری نیز داشته است (BirdLife International, ۲۰۱۵). اما در حال حاضر به دلیل تخریب زیستگاه فقط در قسمت‌هایی از خلیج گرگان، تالاب گمیشان، تالاب انزلی و سواحل اطراف لنگرود دیده می‌شوند. در جهان نیز آینده جمعیت‌های این گونه به دلایل مختلفی مثل، زهکشی تالاب‌ها، تغییر کاربری اراضی (Grishanov, ۲۰۰۶)، افزایش کشاورزی در مناطق جوجه‌آوری، استفاده تفریحی از منابع آبی زیستگاه این گونه و افزایش آشفته‌گی‌های این مناطق (Kear, ۲۰۰۵)، افزایش سر و صداهای ماشین‌آلات به دلیل گسترش شهری (Marsden, ۲۰۰۰) و همین‌طور شکار تجاری و تفریحی در مناطق مختلف جهان (Barati و Balmaki, ۲۰۰۶؛ Bregnballe و همکاران، ۲۰۰۶؛ Sorrenti و همکاران، ۲۰۰۶) و همین‌طور برداشت تخم‌های این پرنده، مورد تهدید واقع شده است (Gudmundsson, ۱۹۷۹).

این گونه دارای یکی از بزرگ‌ترین مسیرهای مهاجرت در بین اردک‌ها است (Keller و همکاران، ۲۰۰۹) و پراکندگی آن در غرب، شمال و مرکز اروپا (Del Hoyo و همکاران، ۱۹۹۲)، شمال آفریقا، شرق آسیا، خاورمیانه قسمت‌هایی از آسیای مرکزی است. اردک سیاه‌کاکل دارای بیش‌ترین پراکنش (شکل ۱) و هم‌چنین بزرگ‌ترین جمعیت (۲/۶ تا ۲/۹ میلیون فرد) در بین اردک‌های غواص است (BirdLife International, ۲۰۱۵). براساس بازبایی نمونه‌های حلقه‌گذاری شده، چهار زیرجمعیت عمده زمستان‌گذران برای اردک سیاه‌کاکل مشخص شده است که شامل زیرجمعیت اروپا، دریای کاسپین، شرق آسیا (هندوستان) و جنوب‌شرقی آسیا (ژاپن) است (Baumanis و Blums, ۱۹۹۰). شواهد ژنتیکی زیادی در رابطه با انشعابات ژنتیکی در بین جمعیت‌های اوراسیایی این گونه وجود ندارد و فقط اطلاعات محدودی از حلقه‌گذاری‌های انجام شده در مناطق زمستان‌گذران اروپا از این پرنده به دست آمده است (Hofer و همکاران، ۲۰۰۵). البته واضح است که جدایی زیادی بین جمعیت‌های جوجه‌آور و زمستان‌گذران اوراسیایی و هندی این گونه وجود دارد (Hofer و

همکاران، ۲۰۰۵). به علاوه این گونه یکی از گونه‌های حساس به ویروس آنفولانزای پرندگان است (Shortridge و Melville, ۲۰۰۶) و ردیابی مسیرهای مهاجرت آن، برای جلوگیری از احتمال گسترش این ویروس بسیار مهم است (Tubelyte و همکاران، ۲۰۱۱). هم‌چنین برای پی‌بردن به درستی و کاربرد نظریه اختلاط جمعیت‌های زمستان‌گذران در مناطق زمستان‌گذرانی (Liu و همکاران، ۲۰۱۲) نیز از ردیابی مسیر مهاجرت پرندگان استفاده شده است. مشخص شده که پیشرفت برنامه‌های ژنتیکی و اصلاح نژادی و حفاظتی بستگی به سطح تغییرات ژنتیکی در جمعیت‌ها دارد، بنابراین مطالعه تنوع در نژادهای بومی و وحشی و حفاظت از آن‌ها وظیفه اولیه متخصصین ژنتیک و اصلاح‌گران می‌باشد (Mohammadabadi و همکاران، ۲۰۱۰). چراکه یک گونه بدون تنوع ژنتیکی کافی قادر به سازگاری با تغییرات محیطی و مبارزه با انگل‌ها و رقیب‌ها نیست (Askari و همکاران، ۲۰۱۱). حفاظت باید براساس دانش عمیقی از منابع ژنتیکی نژادهای خاص باشد، لذا تلاش برای شناسایی و تعیین خصوصیات ژنتیکی نژادهای بومی و محلی بسیار اهمیت دارد (Moazeni و همکاران، ۲۰۱۶؛ Shojaei و همکاران، ۲۰۱۰).

آنالیزهای ژنتیکی کاربرد خوبی برای حدس راه‌های ارتباطی بین مناطق جوجه‌آوری و زمستان‌گذرانی پرندگان دارند اما همه نشانگرهای مولکولی برای استفاده جهت بررسی مهاجرت پرندگان مناسب نیستند (Jahn و همکاران، ۲۰۱۰). انتخاب یک نشانگر مناسب برای این کار نیاز به داشتن آگاهی در زمینه رفتارشناسی مهاجرت و جریان ژن در جمعیت‌های پرندگان دارد (Zwartjes, ۲۰۰۱؛ Arguedas و Parker, ۲۰۰۰). موضوع مهم در انتخاب نشانگر مناسب، توانایی آن در تشخیص تفاوت‌های جغرافیایی گونه‌های مهاجر و توان ردیابی پرندگان مهاجر است (Haig و همکاران، ۱۹۹۴).

استفاده از ژنوم میتوکندری یکی از مهم‌ترین نشانگرهای مورد استفاده برای بررسی ژنتیک جمعیت جانوران است (Nabholz و همکاران، ۲۰۰۸). این ابزار بیش‌تر با هدف تعیین ساختار ژنتیکی جانوران (Avisé و همکاران، ۱۹۸۷) استفاده می‌شود، اما کاربردهای فراوانی در سایر موارد مثل، شناسایی تقسیمات تاریخی و تغییرات جغرافیایی زیستی نیز دارد (Hurst و Jiggins, ۲۰۰۵). ژن سیتوکروم *b* یکی از ژن‌های میتوکندری است که برای بازسازی ارتباط فیلوژنی بین‌گونه‌ای و مطالعات ژنتیک جمعیت برای زیرتیره اردک‌ها مناسب و کارآمد است (Johnson و Sorenson, ۱۹۹۸). از این‌رو به‌عنوان یک نشانگر قابل اعتماد برای مطالعات فیلوژنتیکی و ژنتیک جمعیت



Hísek, ۲۰۰۰) بزرگ‌تر است، از مشخصات بارز جنس نر اردک یک کاکل آویخته در پس سر است که تنها اردک با کاکل سیاه و آویخته می‌باشد. در هنگام پرواز قسمت زیرین بدن و بال‌ها سفیدرنگ، سر و روی تنه پرند نر سیاه با برق سبزرنگ و منقاری سبز-آبی است، که گاهی در قاعده آن لکه سفیدی مشاهده می‌شود. پاها سبز-آبی بوده و دارای چشم‌های زردرنگ می‌باشد. پرند ماده معمولاً به رنگ قهوه‌ای تیره و تعدادی پر قهوه‌ای روشن روی سرونه که موجب نزدیکی رنگ پرند به حالت خاکی رنگ می‌شود. در بعضی از افراد خصوصاً در فصل تابستان رنگ پرهای زیردم مایل به سفید، اما در بیش‌تر افراد قهوه‌ای رنگ است. (Kear, ۲۰۰۵). این پرند از سخت‌پوستان، نرم‌تنان، حشرات و لاورهایشان و سایر بی‌مهرگان تغذیه می‌نماید. در زمستان صدف گورخری اصلی‌ترین طعمه آن به‌شمار می‌رود (Visser و De Leeuw, ۱۹۹۹).

**نمونه‌برداری و روش‌های آزمایشگاهی:** از ۱۰ لاشه اردک سیاه کاکل توقیف شده از شکارچیان که در اطراف خلیج گرگان صید شده بودند، نمونه‌برداری شده، قسمتی از بافت سینه پرند جدا و داخل الکل اتیلیک ۹۶ درجه قرار داده و به آزمایشگاه منتقل شد. نمونه‌گیری در اواخر فصل پاییز انجام گرفت. هم‌چنین تنها توالی‌های ژن سیتوکروم *b* موجود در بانک ژن با شماره دسترسی‌های EU۵۸۵۶۲۴ متعلق به اروپا، NC۰۲۴۵۹۵ و KJ۷۲۲۰۶۹ متعلق به شرق آسیا استخراج و برای انجام آنالیز استفاده شدند. بعد از استخراج DNA نمونه‌ها با استفاده از کیت استخراج بایونیر و براساس پروتکل استاندارد، با استفاده از دستگاه ترموسایکلر (مدل ۲۷۲۰ Applied Biosystems، ساخت آمریکا) واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز در ۴۰ سیکل و با استفاده از آغازگرهای زیر تکثیر شد (Kocher و همکاران، ۱۹۸۹):

(۵۰-۱۴۹۹۵L):

CTCCCAGCCCCATCCAACATCTCAGCATGATGAAACTTCG-۲'

(۵۰-۱۶۰۶۵H):

CTAAGAAGGGTGGAGTCTTCAGTTTTGGTTTACAAGAC-۳'  
واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز (PCR) در دستگاه ترموسایکلر به شرح زیر انجام گرفت:

واسرشت‌سازی اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، واسرشت‌سازی در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه، اتصال آغازگر در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۶۰ ثانیه، مرحله بسط در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ ثانیه و در پایان، مرحله بسط نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ دقیقه. حجم واکنش برابر با ۲۵ میکرولیتر و محتوای

مورد استفاده قرار می‌گیرد (Meyer و Zardoya, ۱۹۹۶). با توجه به این‌که استفاده از نشانگر ژن سیتوکروم *b* آسان، و تجزیه و تحلیل نتایج نیز ساده است (Sorenson و Johnson, ۱۹۹۸) لذا، در این پژوهش از ژن سیتوکروم *b* برای بررسی ساختار ژنتیکی و هم‌چنین بررسی جایگاه فیلوژنی اردک سیاه کاکل در بین اردک‌ها غواص استفاده شد.



شکل ۱: پراکنش جهانی اردک سیاه کاکل (Kear, ۲۰۰۵)

## مواد و روش‌ها

**منطقه مورد بررسی:** خلیج گرگان بزرگ‌ترین خلیج در جنوب دریای کاسپین است که بر اثر پیشروی و گسترش شرقی رشته ساحلی شبه‌جزیره میانکاله در جنوب شرقی دریای کاسپین تشکیل شده است. وسعت خلیج گرگان حدود ۴۵۰ کیلومترمربع است. طول خلیج در جهت غربی به شرقی حدود ۷۰ کیلومتر و عرض آن نیز بین ۱۳ تا ۱۴ کیلومتر است، ولی کاملاً برخلاف شبه‌جزیره میانکاله، از غرب به شرق به عرض خلیج افزوده شده است. مختصات جغرافیایی خلیج از ۵۳-۲۵ تا ۵۴-۲۵ شرقی و از ۳۶-۴۶ تا ۳۶-۵۴ شمالی است. خلیج گرگان کم‌عمق است، به طوری که با در نظر گرفتن بالآمدگی آب، حداکثر عمق آن به ۴ متر می‌رسد و از غرب به شرق تا حوالی ضلع جنوبی آشوراده به عمق آب افزوده است. اکولوژی خلیج گرگان تحت تأثیر دریای خزر، رودهای مجاور و شبه‌جزیره میانکاله قرار گرفته است که در رشد و تکثیر آبزیان، ماهیان استخوان‌دار و ماهیان غضروفی و جذب پرندگان مهاجر زمستانی نقش مهمی دارد (کیابی و همکاران، ۱۳۷۸).

**گونه مورد مطالعه:** اردک سیاه کاکل گونه‌ای دوشکلی است که پرند نر بالغ از پرند ماده (۳۸ تا ۴۲ سانتی‌متر) Felix و



جدول ۱: مشخصات نمونه‌های توالی‌یابی شده

ردیف	نام اختصاری	جنس
۱	F <sub>r۰</sub>	نر
۲	F <sub>r۱</sub>	نر
۳	F <sub>r۲</sub>	نر
۴	F <sub>r۳</sub>	ماده
۵	F <sub>r۴</sub>	ماده
۶	F <sub>r۵</sub>	ماده
۷	F <sub>r۶</sub>	نر
۸	F <sub>r۷</sub>	نر
۹	F <sub>r۸</sub>	ماده

## نتایج

در این مطالعه ۹۶۱ جفت باز از ژن سیتوکروم *b* ژنوم میتوکندری از ۹ نمونه در یک منطقه مطالعه شده پس از توالی‌یابی تحلیل شد و در بانک ژن با شماره دسترسی KU۶۹۷۷۹۴ تا KU۶۹۷۸۰۲ به ثبت رسیدند. به‌طور کلی، با بررسی قطعه ۹۶۱ جفت بازی ۲ جایگاه متغیر، ۹۵۹ جایگاه حفاظت‌شده و ۴ هاپلوتایپ مختلف شناسایی گردید. در بین نمونه‌های بررسی‌شده، بیش‌ترین فراوانی هاپلوتایپی، مربوط به هاپلوتایپ A (۵۵٪) و هاپلوتایپ C و D به‌صورت منفرد (۱۱٪) کم‌ترین فراوانی را داشتند.

میزان تنوع هاپلوتایپی (Hd) و تنوع نوکلئوتیدی (Pi) برای تمامی توالی‌ها به ترتیب ۰/۱۴۷±۰/۶۹۴۴ و ۰/۰۰۸±۰/۰۰۹۵ بود. به‌دست آمد. نتایج تحلیل نمونه‌های به‌دست‌آمده نشان داد که احتمالاً در این جمعیت دارای تنوع ژنتیکی پایینی است. مقدار *Fst* محاسبه‌شده بین ۳ جمعیت ایران، شرق آسیا و اروپای مرکزی به شرح جدول ۱ بود. هم‌چنین جریان ژنی (Nm) بین جمعیت نمونه‌برداری شده در ایران و شرق آسیا برابر با ۱/۵۹۸ بوده که عدد نسبتاً بالایی است و نشان‌دهنده تفاوت ژنتیکی کم و به‌عبارت دیگر، جریان ژنی زیاد بین جمعیت‌ها است. فاصله ژنتیکی بین تمام افراد با مدل تامورا-نی محاسبه و در جدول ۲ آورده شده است.

جدول ۱: مقدار تفاوت ژنتیکی بر اساس *Fst*

	ایران	آسیا	اروپا
ایران	-		
آسیا	۰/۲۹۳	-	
اروپا	-۰/۶۰۱	*۱/۰۰	-

\*خطا به دلیل کمبود نمونه

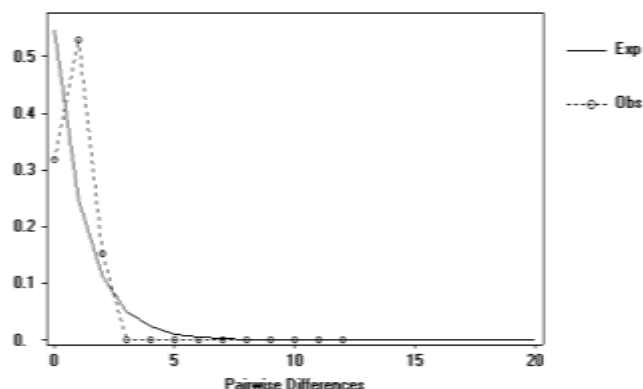
آن شامل ۱۰۰ نانوگرم DNA، یک واحد آنزیم *Taq* دی‌ان‌ای پلی‌مراز، ۵ میلی‌مول dNTPs، ۱ میکرولیتر ۵۰MgCl<sub>۲</sub> میلی‌مول، ۵ پیکومولار از هر آغازگر، ۲/۵ میکرولیتر بافر ۱۰X و ۱۸ میکرولیتر آب دوبار تقطیر بود. به‌منظور تأیید تکثیر ناحیه موردنظر، طی واکنش‌های PCR، مقدار ۵ میکرولیتر از نمونه تکثیرشده با ۲ میکرولیتر Dye مخلوط و روی ژل آگارز ۲ درصد قرار گرفت. پس از اطمینان از تکثیر و عدم وجود آلودگی، ۹ نمونه (جدول ۱) برای تعیین توالی به شرکت Bioneer کره جنوبی ارسال شد (یکی از نمونه‌ها فاقد کیفیت لازم برای تعیین توالی بود). این نمونه‌ها با استفاده از دستگاه ABI ۳۷۳۰ به‌طور خودکار توالی‌یابی شد.

برای اصلاح نوکلئوتیدی توالی‌ها و مرتب‌سازی آن‌ها از نرم‌افزار Seqscape نسخه ۳ (تولید و توسعه یافته توسط Life Technologies and Applied Biosystems) استفاده شد. برای تعیین تنوع ژنتیکی (هاپلوتایپی و نوکلئوتیدی) و هم‌چنین مشخص نمودن جایگاه‌های چندشکلی از نرم‌افزار DnaSP نسخه ۵/۱ (Librado و Rozas، ۲۰۰۹) استفاده شد. سپس براساس معیار BIC<sup>۱</sup> و AIC<sup>۲</sup> (Kumar و Nei، ۲۰۰۰)، مدل تامورا-نی (Nei و Tamura، ۱۹۹۳) به‌علاوه آماره G، به‌عنوان بهترین مدل تکاملی برای نمونه‌ها تعیین شد و رسم درخت تبارشناختی با استفاده از روش حداکثر درست‌نمایی<sup>۳</sup> در نرم‌افزار MEGA نسخه ۵ (Tamura و همکاران، ۲۰۱۱) انجام گردید. هم‌چنین درخت تبارشناختی با روش رویکرد استنباط بیزی (Bayesian) در نرم‌افزار MrBayes نسخه ۳/۲ (Ronquist و همکاران، ۲۰۱۲) رسم گردید.

برای ترسیم شبکه هاپلوتایپی از روش اتصال میانه<sup>۴</sup> استفاده و در نسخه ۴/۶ نرم‌افزار Network (Bandelt و همکاران، ۱۹۹۹) استفاده شد. واگرایی ژنتیکی و آنالیز واریانس مولکولی، به‌صورت جفتی بین منطقه نمونه‌برداری شده و توالی‌های به‌دست‌آمده از ژن بانک (NCBI) با ۱۰۰۰۰ بار تکرار، گسترش و پراکنش تاریخی جمعیتی با دو روش آزمون تاجیما (D-test of Tajima) (Tajima، ۱۹۸۹) و آزمون فو (Fu *Fs*) (Fu، ۱۹۹۷) با نرم‌افزار Arlequin نسخه ۳/۵ (Excoffier و همکاران، ۲۰۱۰) محاسبه شد.

<sup>۴</sup> Median-Joining<sup>۱</sup> Bayesian Information Criterion  
<sup>۲</sup> Akaike Information Criterion  
<sup>۳</sup> Maximum likelihood

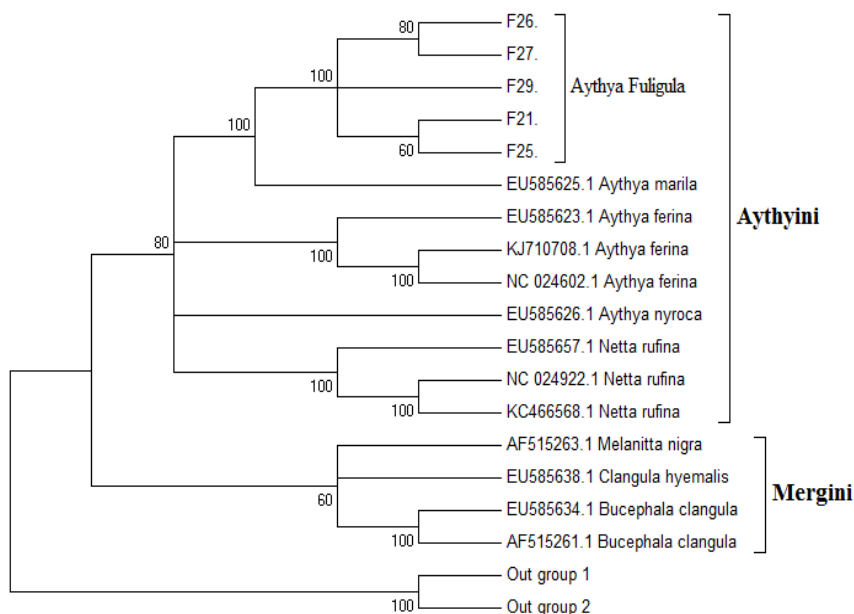
آزمون تفاوت جمعیت‌ها (non-differentiation exact p values) بین تمامی نمونه‌ها  $p=0/5258 \pm 0/008$  محاسبه شد که البته از لحاظ آماری معنی‌دار نبود ( $p \geq 0/05$ ). آزمون‌های بی‌طرفی (neutrality tests) تاجیما و شاخص فو برای ۹ توالی به ترتیب برابر  $0/715$  و  $1/282$  بوده که هیچ‌کدام از لحاظ آماری معنی‌دار نبودند.



شکل ۲: نمودار مربوط به شاخص راجرز-هارپندینگ (شاخص عدم تطابق) براساس تحلیل ژن سیتوکروم *b* بین تمام نمونه‌های و افراد مربوط به ژن بانک

در درخت تبارزایی مربوط به اردک‌های غواص ایران که با استفاده از نمونه‌های موجود در ژن بانک و مطالعه حاضر ترسیم شده است مشخص می‌شود که اردک‌های غواص ایران به دو شاخه اصلی تقسیم شده که یکی شامل اردک‌های، سیاه‌کاکل،

سرسیاه، بلوطی، سرحنایی و اردک تاجدار (Aythyini) است و شاخه دیگر از اردک دم‌دراز، اردک چشم‌طلایی و اسکوتر سیاه (Mergini) تشکیل شده‌اند.

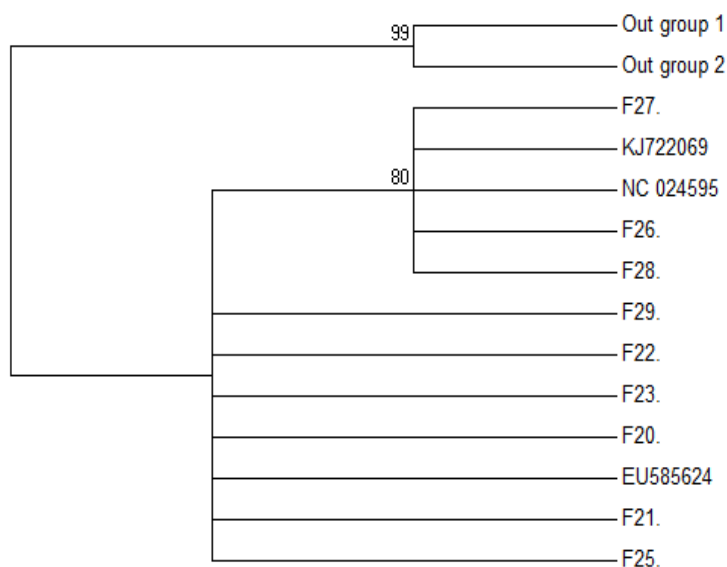


شکل ۳: ترسیم درخت تبارشناختی براساس روش حداکثر درست‌نمایی بین اردک‌های غواص موجود در ایران با استفاده از قطعه ۹۶۱ جفت بازی ژن سیتوکروم *b* ژنوم میتوکندری (از درنای اوراسیایی (*Grus grus*) و درنای سیبری (*G. leucogeranus*) به‌عنوان گونه خارجی استفاده شده است)



است. در این درخت فیلوژنی افراد  $F_{26}$ ,  $F_{27}$ ,  $F_{28}$  با نمونه‌های آسیایی با هم و سایر نمونه‌ها در کلاهای دیگر قرار گرفته‌اند (شکل ۴).

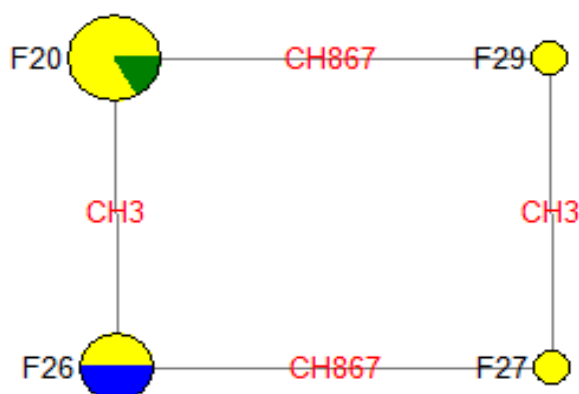
درخت فیلوژنی رسم شده با روش Bayesian که در نرم‌افزار Mr.bayes شامل نمونه‌های آزمایش‌شده، نمونه‌های آسیایی و اروپایی ژن بانک و اردک تاجدار و بلوطی به‌عنوان گونه خارجی



شکل ۴: ترسیم درخت تبارشناختی براساس روش Bayesian بین نمونه‌های صیدشده و نمونه‌های مربوط به بانک ژن (NCBI) با استفاده از قطعه ۹۶۱ جفت بازی ژن سیتوکروم *b* ژنوم میتوکندریایی اردک سیاهکاکل (از اردک تاجدار و بلوطی به‌عنوان گونه خارجی استفاده شده است)

(رنگ سبز) به‌همراه پنج فرد از منطقه خلیج گرگان در این گره قرار گرفته‌اند. دو نمونه آسیایی نیز به‌همراه نمونه‌های  $F_{28}$  و  $F_{26}$  در یک گره دیده می‌شوند.

با استفاده از توالی‌های به‌دست‌آمده از منطقه خلیج گرگان و نمونه‌های موجود در ژن بانک شبکه هاپلوتایپی توسط نرم‌افزار Network رسم گردید (شکل ۵). در این شکل هاپلوتایپ ۱ که شامل ۵ فرد است، دارای بیش‌ترین فراوانی بوده و احتمالاً قدیمی‌ترین توالی است. تنها نمونه اروپایی موجود در ژن بانک



شکل ۵: شبکه هاپلوتایپی اردک سیاهکاکل رسم شده با استفاده از الگوریتم median-joining در نرم‌افزار Network (رنگ زرد مربوط به نمونه‌های ایران، رنگ آبی برای نمونه‌های شرق آسیا و رنگ سبز برای نمونه اروپایی است)



جدول ۲: فاصله ژنتیکی (مثلث پایین) و انحراف استاندارد (مثلث بالا) بین نمونه‌های صیدشده در ایران و نمونه‌های موجود در بانک ژن

NCBI (براساس مدل تامورا-نی، با بوت استرپ ۱۰۰۰۰)

EU۵۸۵۶۲۴	NC ۰۲۴۵۹۵	KJ۷۲۲۰۶۹	F <sub>۲۹</sub>	F <sub>۲۸</sub>	F <sub>۲۷</sub>	F <sub>۲۶</sub>	F <sub>۲۵</sub>	F <sub>۲۳</sub>	F <sub>۲۲</sub>	F <sub>۲۱</sub>	F <sub>۲۰</sub>	
۰/۰۰۰	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	-	F <sub>۲۰۰</sub>
۰/۰۰۰	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	-	۰/۰۰۰	F <sub>۲۱۰</sub>
۰/۰۰۰	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	-	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	F <sub>۲۲۰</sub>
۰/۰۰۰	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۰	-	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	F <sub>۲۳۰</sub>
۰/۰۰۰	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	-	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	F <sub>۲۵۰</sub>
۰/۰۰۱	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۱	۰/۰۰۰	۰/۰۰۱	-	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	F <sub>۲۶۰</sub>
۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	-	۰/۰۰۱	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	F <sub>۲۷۰</sub>
۰/۰۰۱	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۱	-	۰/۰۰۱	۰/۰۰۰	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	F <sub>۲۸۰</sub>
۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	-	۰/۰۰۲	۰/۰۰۱	۰/۰۰۲	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	F <sub>۲۹۰</sub>
۰/۰۰۱	۰/۰۰۰	-	۰/۰۰۲	۰/۰۰۰	۰/۰۰۱	۰/۰۰۰	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	KJ۷۲۲۰۶۹ <sup>a</sup>
۰/۰۰۱	-	۰/۰۰۰	۰/۰۰۲	۰/۰۰۰	۰/۰۰۱	۰/۰۰۰	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	NC ۰۲۴۵۹۵ <sup>a</sup>
-	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۲	۰/۰۰۱	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	EU۵۸۵۶۲۴ <sup>b</sup>

<sup>a</sup> نمونه آسیا، <sup>b</sup> نمونه اروپا

## بحث

نمونه‌ها و وجود هاپلوتایپ‌های مشترک نیز مهاجرت احتمالی این پرندگان از شرق آسیا به ایران را تأیید می‌کند. براساس نتایج HE و همکاران (۲۰۰۶) وقتی میزان  $F_{st}$  کم‌تر از ۰/۳۳ باشد، نشان‌دهنده جریان ژنی بالا در بین جمعیت‌ها است، که این موضوع براساس نتایج نرخ جریان ژنی (Nm) نیز تأیید می‌شود، نتایج پژوهش حاضر نیز نشان داد که جریان ژن با توجه به نمونه‌ها بررسی شده بین سه جمعیت ایران، شرق آسیا و اروپا بالا است. با توجه به فاصله بسیار کم ژنی بین این جمعیت‌ها جدا شدن آن‌ها در سطح زیرگونه اتفاق نیفتاده و تفاوت‌های آن‌ها در سطح جمعیت‌ها مختلف مشاهده می‌شود.

شاخص‌های تاجیما و فو نیز وجود گسترش ناگهانی جمعیت در گذشته را نشان دادند، اما از لحاظ آماری معنی‌دار نبودند، توزیع عدم تطابق<sup>۱</sup> براساس شاخص راجرز و هارپندینگ به صورت تک‌نمایی بود که نشان‌دهنده گسترش ناگهانی جمعیت در گذشته است (Rogers و Harpending, ۱۹۹۲) و نتیجه به دست آمده از دو شاخص دیگر را تأیید می‌کند. برای دست یافتن به نتیجه دقیق‌تر باید از جمعیت‌ها دیگر این گونه نمونه‌برداری انجام شده و بررسی گردد. هرچند که شاخص فو و تاجیما شاخص‌های قوی‌تری نسبت به توزیع عدم تطابق، برای پی‌بردن به شرایط گذشته جمعیت‌ها می‌باشند (Ramos-Onsins و Rozas, ۲۰۰۲).

ژن میتوکندری برای ردیابی تاریخچه جمعیت‌ها و به‌ویژه تخمین مهاجرت و جریان ژن بسیار مناسب است (Avisé, ۱۹۹۴). در پژوهش حاضر، ژن سیتوکروم  $b$  ژنوم میتوکندری برای تحلیل ژنتیکی جمعیت خلیج گرگان اردک سیاه‌کاکل، هم‌چنین ردیابی مسیر مهاجرت آن‌ها مورد استفاده قرار گرفت. در شبکه هاپلوتایپی رسم شده پنج فرد با نمونه اروپایی موجود در بانک ژن، و دو فرد با نمونه‌های آسیایی موجود در بانک در یک گره قرار گرفته‌اند. در درخت تبارشناختی رسم شده بین افراد صید شده در ایران و نمونه‌های بانک ژن، توالی‌های مربوط به شرق آسیا با سه توالی متعلق به ایران در یک کلاد قرار گرفته‌اند. با توجه به این نتایج، احتمال مهاجرت اردک سیاه‌کاکل از منطقه شرق آسیا به ایران وجود دارد، البته بیان دقیق‌تر این موضوع نیاز به مطالعات بیشتر دارد. در صورت اثبات، این موضوع نشان‌دهنده این است، که در ایران طیف وسیعی از جمعیت‌های مختلف، از مناطق مختلف، عبور یا زمستان‌گذرانی کرده و در ایران جمعیت‌ها فرصت اختلاط با جمعیت‌های دیگر را پیدا می‌کنند. در نتیجه این اختلاط، بعضی از افراد با جمعیتی به‌غیر از جمعیت خود به محل جوجه‌آوری باز می‌گردند و این موضوع باعث افزایش تنوع ژنتیکی از طریق ورود ذخایر ژنی جدید به جمعیت و کاهش اثرات درون آمیزی می‌شود (Liu و همکاران, ۲۰۱۲). فاصله کم ژنتیکی بین

<sup>۱</sup> mismatch distribution

## منابع

۱. فیروز، ا.، ۱۳۹۰. حیات وحش ایران. نشر دانشگاهی. تهران. ۴۹۱ صفحه.
  ۲. حسن‌زاده‌کیایی، ب.؛ قائمی، ر. و عبدلی، ا.، ۱۳۷۸. اکوسیستم‌های تالابی و رودخانه‌ای استان گلستان. اداره کل حفاظت محیط‌زیست استان گلستان. ۱۸۲ صفحه.
  ۳. Arguedas, N. and Parker, P.G., ۲۰۰۰. Seasonal migration and genetic population structure in house wrens. *The Condor*. Vol. ۱۰۲, No. ۳, pp: ۵۱۷-۵۲۸.
  ۴. Askari, N.; Abadi, M.R.M. and Baghizadeh. A., ۲۰۱۱. ISSR markers for assessing DNA polymorphism and genetic characterization of cattle, goat and sheep populations. *Iranian Journal of Biotechnology*. Vol. ۹, pp: ۲۲۲-۲۲۹.
  ۵. Avise, J.C.; Nelson, W.S. and Sibley, C.G., ۱۹۹۴. DNA sequence support for a close phylogenetic relationship between some storks and New World vultures. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. Vol. ۹۱, No. ۱۱, pp: ۵۱۷۳-۵۱۷۷.
  ۶. Avise, J.C.; Arnold, J.; Ball, R.M.; Bermingham, E.; Lamb, T.; Neigel, J.E.; Reeb, C.A. and Saunders, N.C., ۱۹۸۷. Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Annual review of ecology and systematics*. pp: ۴۸۹-۵۲۲.
  ۷. Balmaki, B. and Barati, A., ۲۰۰۶. Harvesting status of migratory waterfowl in northern Iran: a case study from Gilan Province. *Waterbirds around the world*. The Stationary Office. Edinburgh. UK. pp: ۸۶۸-۸۶۹.
  ۸. Bandelt, H.J.; Forster, P. and Röhl, A., ۱۹۹۹. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular biology and evolution*. Vol. ۱۶, No. ۱, pp: ۳۷-۴۸.
  ۹. BirdLife International., ۲۰۱۵. *Aythya fuligula*. The IUCN Red List of Threatened Species ۲۰۱۵: e.T۲۲۶۸۰۳۹۱A۶۷۱۸۷۸۰۵. [http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2015-4.RLTS.T 22680391A67187805](http://dx.doi.org/10.2۳۰۵/IUCN.UK.۲۰۱۵-۴.RLTS.T۲۲۶۸۰۳۹۱A۶۷۱۸۷۸۰۵). En. Downloaded on ۰۱ December ۲۰۱۵.
  ۱۰. Blums, P. and Baumanis, J., ۱۹۹۰. Migration and geographical distribution of pochard and tufted duck populations in the USSR. *Baltic Birds*. Vol. ۵, pp: ۴۹-۵۷.
  ۱۱. Bregnballe, T.; Noer, H.; Christensen, T.K.; Clausen, P.; Asferg, T.; Fox, A.D. and Delany, S., ۲۰۰۶. Sustainable hunting of migratory waterbirds: the Danish approach. *Waterbirds around the world*. The Stationary Office. Edinburgh. UK. pp: ۸۵۴-۸۶۰.
  ۱۲. De Leeuw, J.J.; van Eerden, M.R. and Visser, H.G., ۱۹۹۹. Wintering Tufted Duck diving for Zebra Mussels *Dreissena polymorpha* balance feeding costs within narrow margins of their energy budget. *Journal of Avian Biology*. Vol. ۳۰, pp: ۱۸۲-۱۹۲.
  ۱۳. Del Hoyo, J.; Elliot, A. and Sargatal, J., ۱۹۹۲. *Handbook of the birds of the world*, Vol. ۱: Ostrich to Ducks. Lynx Edicions, Barcelona, Spain.
  ۱۴. Evans, D.M. and Day, K.R., ۲۰۰۲. Hunting disturbance on a large shallow lake: the effectiveness of waterfowl refuges. *Ibis*. Vol. ۱۴۴, No. ۱, pp: ۲-۸.
- در درخت تبارشناختی مربوط به گونه‌های مختلف اردک‌های غواص موجود در ایران نتایج مشابه نتایج Gonzalez و همکاران (۲۰۰۹) به دست آمده است که دو شاخه کاملاً مجزا (Aythyini و Mergini) تشکیل شده است. در این درخت اردک سرسیاه نزدیک‌ترین گونه به اردک سیاه‌کاکل قرار گرفته که این موضوع نیز با نتایج Gonzalez و همکاران (۲۰۰۹) مشابه است.
- بر اساس ۹ نمونه مورد بررسی از اردک سیاه‌کاکل زیرجمعیت موجود در خلیج گرگان به عنوان نماینده زیرجمعیت دریای کاسپین که به عنوان یکی از ۴ زیرجمعیت اصلی این گونه معرفی شده است (Blums و Baumanis, ۱۹۹۰)، ۴ هاپلوتایپ در منطقه شناسایی شد که بر اساس این نتایج، این نمونه‌های مورد مطالعه از دو زیر جمعیت جغرافیایی اصلی دیگر این گونه یعنی شرق آسیا و اروپای مرکزی واگرایی زیادی ندارد، تفاوت ژنتیکی بسیار کم و جریانی ژنی بالایی بین این سه زیر جمعیت جغرافیایی برقرار است.
- بررسی‌های تفاوت ژنتیکی بر اساس Fst نیز این موضوع را تأیید می‌کند. بنابراین باید برای منطقه مورد مطالعه که ایستگاه مهمی در زمستان‌گذرانی و تجدید قوای این گونه و به نوعی محل حضور هم‌زمان سه زیرجمعیت جغرافیایی اصلی این گونه است، طرح‌های مدیریتی منسجمی طراحی و اجرا کرد تا حیات آینده این گونه با مشکل مواجه نشود.
- هرچند که تنوع ژنتیکی به دست آمده از نتایج این پژوهش نسبتاً پایین است و تنوع هاپلوتایپی و نوکلئوتیدی رقم بالایی را نشان نمی‌دهد، اما برای نتیجه‌گیری مطمئن‌تر نیاز به بررسی‌های بیشتر روی تعداد بیش‌تری از افراد این گونه در ایران و نقاط مختلف جهان است.
- با توجه به گزارش IUCN این گونه در گذشته نزدیک در ایران جوجه‌آوری می‌کرده، اما در حال حاضر گزارشی مبنی بر جوجه‌آوری آن در ایران در دست نیست، باید شرایطی را فراهم آورد (مثل مراقبت بیش‌تر از تالاب‌ها و کنترل شکار) تا دوباره شاهد جوجه‌آوری این گونه در کشور بود.

## تشکر و قدردانی

نگارندگان بدین‌وسیله بر خود لازم می‌دانند، از جناب آقای مهندس قائمی و همکاران اداره کل حفاظت محیط‌زیست استان گلستان که در تهیه و جمع‌آوری نمونه‌ها کمال همکاری را داشتند، تشکر و قدردانی نمایند.





- Common Pochard *Aythya ferina*. Journal of Ornithology. Vol. ۱۵۰, No. ۲, pp: ۴۸۳-۴۹۴.
۲۹. **Kocher, T.D.; Thomas, W.K.; Meyer, A.; Edwards, S.V.; Pääbo, S.; Villablanca, F.X. and Wilson, A.C., ۱۹۸۹.** Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: amplification and sequencing with conserved primers. Proceedings of the National Academy of Sciences. Vol. ۸۶, No. ۱۶, pp: ۶۱۹۶-۶۲۰۰.
۳۰. **Librado, P. and Rozas, J., ۲۰۰۹.** DnaSP v۵: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. Bioinformatics. Vol. ۲۵, No. ۱۱, pp: ۱۴۵۱-۱۴۵۲.
۳۱. **Liu, Y.; Keller, I. and Heckel, G., ۲۰۱۲.** Breeding site fidelity and winter admixture in a long-distance migrant, the tufted duck (*Aythya fuligula*). Heredity. Vol. ۱۰۹, No. ۲, pp: ۱۰۸-۱۱۶.
۳۲. **Marsden, S.J., ۲۰۰۰.** Impact of disturbance on waterfowl wintering in a UK Dockland redevelopment area. Environmental Management. Vol. ۲۶, No. ۲, pp: ۲۰۷-۲۱۳.
۳۳. **Melville, D.S. and Shortridge, K.F., ۲۰۰۶.** Migratory waterbirds and avian influenza in the East Asian-Australasian Flyway with particular reference to the ۲۰۰۳-۲۰۰۴ H۵N۱ outbreak. Waterbirds around the world. The Stationary Office. Edinburgh. UK. pp: ۴۳۲-۴۳۸.
۳۴. **Moazeni, S.; Mohammadabadi, M.R.; Sadeghi, M.; Shahrababak, H.; Koshkoieh, A. and Bordbar, F., ۲۰۱۶.** Association between UCP Gene Polymorphisms and Growth, Breeding Value of Growth and Reproductive Traits in Mazandaran Indigenous Chicken. Open Journal of Animal Sciences. Vol. ۶, No. ۱, pp: ۱-۸.
۳۵. **Mohammadabadi, M.R.; Nikbakhti, M.; Mirzaee, H.R.; Shandi, A.; Saghii, D.A.; Romanov, M.N. and Moiseyeva, I.G., ۲۰۱۰.** Genetic variability in three native Iranian chicken populations of the Khorasan province based on microsatellite markers. Russian journal of genetics. Vol. ۴۶, No. ۴, pp: ۵۰۵-۵۰۹.
۳۶. **Nabholz, B.; Mauffrey, J.F.; Bazin, E.; Galtier, N. and Glemin, S., ۲۰۰۸.** Determination of mitochondrial genetic diversity in mammals. Genetics. Vol. ۱۷۸, No. ۱, pp: ۳۵۱-۳۶۱.
۳۷. **Nei, M. and Kumar S., ۲۰۰۰.** Molecular evolution and phylogenetics. Oxford University Press, New York.
۳۸. **Ramos-Onsins, S.E. and Rozas, J., ۲۰۰۲.** Statistical properties of new neutrality tests against population growth. Molecular biology and evolution. Vol. ۱۹, No. ۱۲, pp: ۲۰۹۲-۲۱۰۰.
۳۹. **Rogers, A.R. and Harpending, H., ۱۹۹۲.** Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences. Molecular Biology and Evolution. Vol. ۹, No. ۳, pp: ۵۵۲-۵۶۹.
۴۰. **Ronquist, F.; Teslenko, M.; van der Mark, P.; Ayres, D.L.; Darling, A.; Höhna, S.; Larget, B.; Liu, L.; Suchard, M.A. and Huelsenbeck, J.P., ۲۰۱۲.** MrBayes ۳.۲: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. Systematic biology. Vol. ۶۱, No. ۳, pp: ۵۳۹-۵۴۲.
۴۱. **Shojaei, M.; Mohammadabadi, M.R.; Fozii, M.A.; Dayani, O.; Khezri, A. and Akhondi, M., ۲۰۱۰.** Association of growth trait and Leptin gene polymorphism in Kermani
۱۵. **Excoffier, L. and Lischer, H.E.L., ۲۰۱۰.** Arlequin suite ver ۳.۵: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. Molecular Ecology Resources. Vol. ۱۰, pp: ۵۶۴-۵۶۷.
۱۶. **Felix, J. and Hisek, K., ۲۰۰۰.** Birds of Great Britain & Europe: A Bird Spotter's Guide. Caxton Editions. ۴۷ p.
۱۷. **Fu, Y.X., ۱۹۹۷.** Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. Genetics. Vol. ۱۴۷, pp: ۹۱۵-۹۲۵.
۱۸. **Gonzalez, J.; Düttmann, H. and Wink, M., ۲۰۰۹.** Phylogenetic relationships based on two mitochondrial genes and hybridization patterns in Anatidae. Journal of Zoology. Vol. ۲۷۹, No. ۳, pp: ۳۱۰-۳۱۸.
۱۹. **Grishanov, D., ۲۰۰۶.** Conservation problems of migratory waterfowl and shorebirds and their habitats in the Kaliningrad region of Russia. Waterbirds around the world. The Stationary Office. Edinburgh. U.K. ۳۵۶ p.
۲۰. **Gudmundsson, F., ۱۹۷۹.** The past status and exploitation of the Myvatn waterfowl populations. Oikos. Vol. ۳۲, No. ۱-۲, pp: ۲۳۲-۲۴۹.
۲۱. **Haig, S.M.; Rhymer, J.M. and Heckel, D.G., ۱۹۹۴.** Population differentiation in randomly amplified polymorphic DNA of red-cockaded woodpeckers *Picoides borealis*. Molecular Ecology. Vol. ۳, No. ۶, pp: ۵۸۱-۵۹۵.
۲۲. **He, H.; Yuan, X.; Wei, C. and Yuan, F., ۲۰۰۶.** Genetic variation of the Mitochondrial ND۴ region among geographical populations of *Stodiplosis mosellana* (Gehin) (Diptera: Cecidomyiidae) in China. Journal of Kansas Entomology Society. Vol. ۷۹, pp: ۲۱۱-۲۲۲.
۲۳. **Hofer, J.; Korner-Nievergelt, F.; Korner-Nievergelt, P.; Kestenholz, M. and Jenni, L., ۲۰۰۵.** Herkunft und Zugverhalten von in der Schweiz überwinternden Reiherenten *Aythya fuligula*: eine Ringfundanalyse. Ornithol Beobacht. Vol. ۱۰۲, pp: ۱۸۱-۲۰۴.
۲۴. **Hurst, G.D.D. and Jiggins, F.M., ۲۰۰۵.** Problems with mitochondrial DNA as a marker in population, phylogeographic and phylogenetic studies: the effects of inherited symbionts. Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences. Vol. ۲۷۲, No. ۱۵۷۲, pp: ۱۵۲۵-۱۵۳۴.
۲۵. **Jahn, A.E.; Levey, D.J.; Farias, L.P.; Mamani, A.M.; Vidoz, J.Q. and Freeman, B., ۲۰۱۰.** Morphological and genetic variation between migratory and non-migratory Tropical Kingbirds during spring migration in central South America. The Wilson Journal of Ornithology. Vol. ۱۲۲, No. ۲, pp: ۲۳۶-۲۴۳.
۲۶. **Johnson, K.P. and Sorenson, M.D., ۱۹۹۸.** Comparing molecular evolution in two mitochondrial protein coding genes (cytochrome *b* and ND۲) in the dabbling ducks (Tribe: Anatini). Molecular phylogenetics and evolution. Vol. ۱۰, No. ۱, pp: ۸۲-۹۴.
۲۷. **Kear, J., ۲۰۰۵.** Ducks, geese and swans volume ۲: species accounts (Cairina to Mergus). Oxford University Press, Oxford, U.K. pp: ۶۷۱-۶۷۵.
۲۸. **Keller, I.; Korner-Nievergelt, F. and Jenni, L., ۲۰۰۹.** Within-winter movements: a common phenomenon in the



- sheep. Journal of Cell and Molecular Research. Vol. ۲, pp: ۶۷-۷۳.
۴۲. **Sorrenti, M.; Carnacina, L.; Radice, D. and Costato, A., ۲۰۰۶.** Duck harvest in the Po delta, Italy. Waterbirds around the world. The Stationary Office. Edinburgh. U.K. pp: ۸۶۴-۸۶۵.
۴۳. **Tajima F., ۱۹۸۹.** Statistical-method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. Genetics. Vol. ۱۲۳, pp: ۵۸۵-۵۹۵.
۴۴. **Tamura, K.; Peterson, D.; Peterson, N.; Stecher, G.; Nei, M. and Kumar S., ۲۰۱۱.** MEGA۵: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. Molecular Biology and Evolution. Vol. ۲۸, pp: ۲۷۳۱-۲۷۳۹.
۴۵. **Tamura, K. and Nei, M., ۱۹۹۳.** Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. Molecular biology and evolution. Vol. ۱۰, No. ۳, pp: ۵۱۲-۵۲۶.
۴۶. **Tubelyte, V.; Švažas, S.; Sruoga, A.; Butkauskas, D.; Paulauskas, A.; Baublys, V.; Viksne, J.; Grishanov, G. and Kozulin, A., ۲۰۱۱.** Genetic diversity of tufted ducks (*Aythya fuligula*, Anatidae) in Eastern Europe. Central European Journal of Biology. Vol. ۶, No. ۶, pp: ۱۰۴۴-۱۰۵۳.
۴۷. **Zardoya, R. and Meyer, A., ۱۹۹۶.** Phylogenetic performance of mitochondrial protein-coding genes in resolving relationships among vertebrates. Molecular biology and evolution. Vol. ۱۳, No. ۷, pp: ۹۳۳-۹۴۲.
۴۸. **Zwartjes, P.W., ۲۰۰۱.** Genetic structuring among migratory populations of the black-whiskered vireo, with a comparison to the red-eyed vireo. The Condor. Vol. ۱۰۳, No. ۳, pp: ۴۳۹-۴۴۸.

