

## بررسی تنوع ژنتیکی آهوی گواتردار ایرانی (*Gazella subgutturosa*)

### مناطق حفاظت شده مند بوشهر و دیمه رامهرمز

### با استفاده از نشانگرهای ریزماهوره

• سیامک یوسفی سیاهکلرودی: دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین-پیشوا

تاریخ دریافت: اردیبهشت ۱۳۹۰

تاریخ پذیرش: آبان ۱۳۹۰

#### چکیده

به منظور مطالعه تنوع ژنتیکی درون و بین جمعیتی آهوان دو منطقه مند بوشهر (استان بوشهر) و دیمه رامهرمز (استان خوزستان)، در سال ۱۳۸۹ پس از نمونه برداری ۴ عدد از این آهوان و استخراج DNA از سرگین آنها، از ۶ نشانگر ریزماهوره استفاده گردید. پس از تکثیر جایگاهها به روش PCR و تعیین ژنوتیپ، با استفاده از نرم افزار MEGA ۴/۰ (beta ۴۰ A) آنالیزهای مربوطه انجام پذیرفت. در این تحقیق از بین نشانگرهای مورد مطالعه، جایگاه 33HDZ749 با ۴ آلل دارای بیشترین آلل و سایر نشانگرها همگی دارای ۲ آلل بودند. بیشترین محتوای اطلاعات چند شکلی، در جایگاه 33HDZ749 نمایان شد. فاصله ژنتیکی بین دو جمعیت به روش Nei، ۰/۷۵۲ برآورد گردید و در دو جمعیت مورد مطالعه، کلیه جایگاهها در تعادل هاردی-واینبرگ بودند ( $P < 0/05$ ).

**کلمات کلیدی:** آهو، تنوع ژنتیکی، نشانگرهای ریزماهوره

#### مقدمه

Jiang و Zhang (۲۰۰۶) در مطالعه‌ای، روابط فیلوژنتیکی آهوان تبتی در دوازده منطقه چین را با مطالعه ژن *b cytochrome* مورد بررسی قرار دادند و نتیجه گرفتند که تنوع نوکلئوتیدی و تنوع هاپلوتیپی هر دو بالا است و همگی از جد مشترک مشتق شده‌اند. Huebinger و همکاران (۲۰۰۶)، هشت نشانگر ریز ماهوره را به منظور بررسی سطوح هتروزیگوسیتی و محاسبه تعادل هاردی-واینبرگ در گونه‌ای از آهوان کشور کنیا با نام علمی *Gazella granti* مورد مطالعه قرار دادند که نتایج این تحقیقات عدم تعادل هاردی-واینبرگ، برای دو تا از هشت نشانگر مورد بررسی را نشان داد. Lei و همکاران (۲۰۰۳) به منظور تاثیر محل زندگی و تقسیمات بومی و منطقه‌ای روی

آهوی گواتردار ایرانی در سراسر ایران به جز در شمال غرب و محدوده‌ی دریای خزر و همچنین در جنوب شرقی پراکنده هستند و بدلیل شکار بی‌رویه در تمام مناطق غیر حفاظت شده منقرض شده‌اند (۵، ۷ و ۸). برابر اطلاعات اتحادیه جهانی حفاظت، آهوی گواتردار با نام علمی (*Gazella subgutturosa*) در فهرست قرمز گونه‌های جانوری و در رده آسیب‌پذیر قرار دارد. Zachos و همکاران (۲۰۰۹)، اولین مطالعه فیلوژنتیکی و بررسی تنوع ژنتیکی درون جمعیتی ۶۵ راس از آهوان گواتردار منطقه حفاظت شده سرخ آباد استان زنجان را با استفاده از هفت نشانگر ریز ماهوره و ناحیه ژنوم میتوکندری انجام دادند و نتیجه گرفتند که این جمعیت دارای تنوع ژنتیکی بسیار پایینی می‌باشد.



33HDZ593, 33HDZ749 و 33HDZ433 استفاده شد (جدول ۱).

پس از بهینه‌سازی شرایط PCR حاکم بر هر نشانگر از لحاظ غلظت مواد شرکت‌کننده در واکنش و چرخه‌های حرارتی، محصولات PCR هر کدام بطور مجزا روی ژل پلی‌اکریل‌امید ۸ درصد بارگیری و الکتروفورز گردیدند. کلیه الکتروفورزها در طول شب انجام پذیرفت و دو چاهک هر ژل نیز به نشانگر وزن مولکولی اختصاص داده شد. پس از رنگ‌آمیزی و اسکن نمودن ژل‌ها، با استفاده از برنامه Gel-Pro Analyzer 3.1. طول آلل‌ها براساس جفت باز اندازه‌گیری و سپس ژنوتیپ افراد تعیین گردید. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها در راستای تعیین فاکتورهایی مانند معیارهای چندشکلی، معیار PIC، هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار نأریب نی، شاخص شانون و تعادل هاردی- واینبرگ (توسط آزمون مربع کای و نسبت درست‌نمایی) با استفاده از نرم‌افزارهای مختلفی مانند GenAlix 6, POPGENE 1.31 و HET 1.8 برآورد گردید.

جریان ژنی و تغییرات ژنتیکی، مطالعات فیلوژنتیکی جامعی را روی گونه *Procapra przewalskii* با مطالعه ناحیه ژنوم میتوکندری انجام دادند که تنوع نوکلئوتیدی درون جمعیتی بسیار پایینی اندازه‌گیری گردید که نشان‌دهنده جریان ژنی پایین بین این چهار جمعیت بدلیل ایزوله بودن، عدم مهاجرت بین آنها و متعاقب آن عدم امکان آمیزش بین جمعیت‌ها می‌باشد.

## مواد و روشها

در این پژوهش بمنظور مطالعه تنوع ژنتیکی درون و بین جمعیتی آهوان دو منطقه مند بوشهر و دیمه رامهرمز، نمونه‌برداری از سرگین ۴ نمونه در دو منطقه بعمل آمد و نمونه‌ها در اتانول ۹۶ درصد تثبیت گردیدند. سپس استخراج DNA از سلول‌های مدفوع انجام شد (۲). در این تحقیق از ۶ نشانگر ریزماهواره که دارای بالاترین میزان چند شکلی بودند شامل آغازگرهای 33HDZ692, 33HDZ290, 33HDZ974

جدول ۱: توالی آغازگر و اندازه جایگاه‌ها (Zachos et al., 2009)

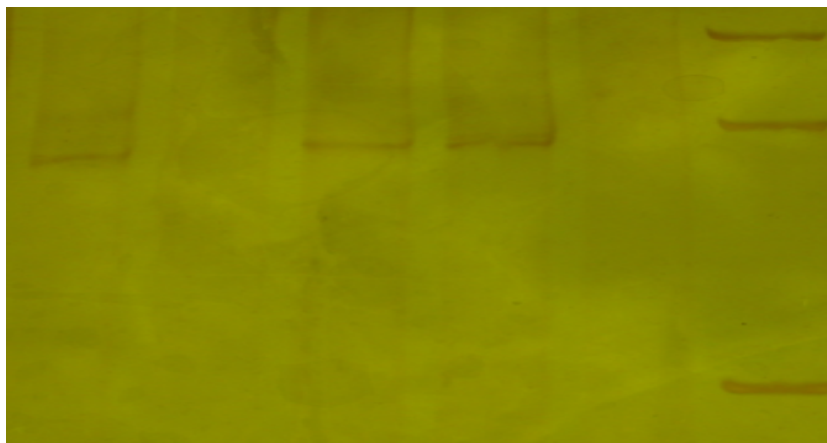
جایگاه	توالی آغازگرها	GenBank Accession no.	اندازه جایگاه (bp)
33HDZ692	R: GTGGGTCAGCTCTTTGCG F: ACAGATGAGAGGGAGACAGATTC	AF533523	191-193
33HDZ290	R:GGCTTCGTGGGTTTCATTTAC F: AGATGTGGCTGTGATACTGGTC	AF533519	233-235
33HDZ974	R:CAGGGAAGGATGATTTGGG F:AGAGACTTTTTACAATGCCAGG	AF533525	253-255
33HDZ749	R:GTGTGTGAGACGAGGTGCAAG F:GTGTGCCATGCTTCTCTATCTG	AF533524	187-237
33HDZ593	R:GCAGTGTTTGGGTGTGTGAC F:TGTATGTTTCATCCTGAGGCTTG	AF533522	193-199
33HDZ433	R:ACAGGCGAGAGGAAGAAATG F:AGAATCCATCCAAAGGGG	AF533520	107-109

## نتایج

جایگاه 33HDZ749, 33HDZ974 و 33HDZ593 از نظر فراوانی مشابه و دارای بیشترین فراوانی آلی بودند. جایگاه 33HDZ749 دارای بیشترین آلل با ۴ آلل و سایرین دارای ۲ آلل بودند. نتایج آزمون مربع کای به منظور بررسی تعادل هاردی- واینبرگ حاکی از آن بود که در دو جمعیت مورد مطالعه، کلیه جایگاه‌ها در تعادل هاردی- واینبرگ بودند ( $P < 0.05$ ).

در این تحقیق، همه نشانگرهای مورد مطالعه پس از بهینه‌سازی تکثیر شدند. در جمعیت آهوان مند در مجموع برای این ۶ نشانگر ۸ آلل و در جمعیت آهوان دیمه ۹ آلل مشاهده شد. کمترین فراوانی آلی در جمعیت دیمه مربوط به جایگاه‌های 33HDZ593 و 33HDZ974 و بیشترین فراوانی آلی مربوط به جایگاه 33HDZ749 بود (۴ آلل) (شکل ۱). همچنین در جمعیت مند، جایگاه 33HDZ290 دارای کمترین فراوانی و





شکل ۱: الگوی بانندی جایگاه 33HDZ749

جمعیت‌های مورد مطالعه مشاهده گردید که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. این نتایج و تحقیق حاضر، گویای وجود خلوص ژنتیکی بسیار بالایی در آهوان ایرانی بوده و این بدان معناست که در کنار همه تلاش‌های حفاظتی تعریف شده باید مدیریت ژنتیکی چنین جمعیت‌هایی با دقت و حساسیت بالایی دنبال شود. با استناد به نتایج حاصله مبنی بر نبود تنوع ژنتیکی در بین جمعیت‌های آهوی دو منطقه مند بوشهر و دیمه رامهرمز و خلوص بالای ژنتیکی در جمعیت‌های مجزا، امکان وجود هم‌خونی و اثرات نامطلوب آن از جمله کاهش شاخص شایستگی، کاهش قدرت زنده ماندن، کاهش تولید مثل، بروز ناهنجاری‌های ژنتیکی و غیره امری محتمل به نظر می‌رسد و بروز این عوامل مخرب در هر یک از جمعیت‌ها، تداوم و بقاء آن گونه را به مخاطره انداخته و به شدت آن‌ها را در خطر انقراض قرار خواهد داد.

### منابع

- ۱- حیات‌غیب، د. ۱۳۸۹. بررسی تنوع ژنتیکی آهوان غرب زاگرس. پایان‌نامه دکتری محیط زیست. واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی. ۱۸۷ صفحه.
- ۲- خدرزاده، ص.؛ یوسفی‌سیاهکلرودی، س. و منتظمی، ش.، ۱۳۸۹. ابداع مناسبترین پروتکل استخراج DNA ژنومی از سرگین در راستای مطالعات ژنتیکی گونه‌های وحشی و در خطر انقراض. یازدهمین کنگره ژنتیک ایران، ۱ تا ۳ خرداد ۱۳۸۹، مرکز همایش‌های بین‌المللی دانشگاه شهید بهشتی، تهران.

نتایج مربوط به محاسبات فاصله ژنتیکی بین دو جمعیت مورد مطالعه با استفاده از روش Nei ۰/۷۵۱ برآورد گردید. نتایج حاصل از مولفه‌های واریانس مولکولی نشان داد که بخش عمده‌ای از تنوع موجود در گونه مورد مطالعه، درون جمعیتی بوده (۸۱ درصد) و تنوع ژنتیکی مشاهده شده بین جمعیت‌ها اندک است (۱۹ درصد). تنوع ژنتیکی کم در درون و بین جمعیت آهوان این دو منطقه و فاصله ژنتیکی بین دو جمعیت که به مقدار قابل ملاحظه‌ای پایین بود، می‌تواند ناشی از هم‌جواری جغرافیایی، اندازه کوچک جمعیت و متعاقب آن بالا رفتن میزان هم‌خونی باشد.

### بحث

با استناد به گزارشات سازمان حفاظت محیط‌زیست، منطقه دیمه رامهرمز فاقد جمعیت آهو بوده و نمونه‌های موجود و بررسی شده این منطقه در ۱ تا ۲ سال اخیر از منطقه مند بوشهر به آنجا منتقل گردیده‌اند (۳). لذا شباهت ژنتیکی این دو جمعیت آهو بدلیل جمعیت مشترک و فرصت ناکافی برای وقوع تفاوت ژنتیکی، کاملاً منطقی به نظر می‌رسد. حفظ تنوع ژنتیکی در گونه‌های در معرض خطر انقراض، یکی از ضروری‌ترین اقدامات به منظور حفظ و ادامه حیات این گونه‌ها بحساب می‌آید. Zachos و همکاران (۲۰۰۹) نیز با تحقیق خود روی آهوان گواتردار منطقه حافظت شده سرخ آباد استان زنجان نتیجه گرفتند که این جمعیت دارای تنوع ژنتیکی بسیار پایینی می‌باشد. همچنین در پژوهش حیات غیب (۱۳۸۹) روی آهوان غرب زاگرس نیز، تنوع ژنتیکی و هتروزیگوسیتی کمی در



- 7-Nowrozi, H.; Behrouzi Rad B. and Hemami, M.R., 2007. Habitat use by Persian gazelle (*Gazella subgutturosa*) in Bamoo national park during autumn and winter. Acta Zoologica Mexicana, Vol. 23, No. 1, pp.109-121.
- 8-Zachos, F.E.; Karami, M.; Ibenouazi, Z.; Hart, G.B.; Eckert, I. and Kirschning, J., 2010. First genetic analysis of a free living population of the threatened goitered gazelle (*Gazella subgutturosa*). J. Mambio., 75:277-282.
- 9-Zhang, F. and Jiang, Z., 2006. Mitochondrial phylogeography and genetic diversity of Tibetan gazelle (*Procapra picticaudata*): Implications for conservation. Mol. Phylogenet. Evol., 41:313–321.
- ۳- خدرزاده، ص. و یوسفی سیاهکلرودی، س.، ۱۳۸۸. بررسی و مطالعه ژنتیکی جمعیت‌های قوچ و میش، آهو و جیبر. گزارش نهایی. سازمان حفاظت محیط زیست. ۸۷ صفحه.
- 4-Huebinger, R.M.; DeMaar, T.W.J.; Woodruff, L.H.; Pomp, D. and Louis Jr., E.E., 2006. Characterization of eight microsatellite loci in Grant's gazelle (*Gazella granti*). Mol. Ecol. 6:1150–1151.
- 5-Karami, M.; Hemami, M.R. and Groves, C.P., 2002. Taxonomic, distributional and ecological data on gazelles in Iran. Zool. Middle East, 26:29–36.
- 6-Lei, R.; Hu, Z. and Yang, W., 2003. Phylogeography and genetic diversity of the critically endangered Przewalski's gazelle. Anim. Conserv., 6:361–367.

