

تنوع ژنتیکی شوکا (*Capreolus capreolus*) در استان‌های گلستان و مازندران بر اساس توالی ژن دی‌لوپ (D-loop) میتوکندری

- **حمیدرضا کبیری‌بالاجاده*:** دانشکده انرژی و محیط زیست، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران
- **حمیدرضا رضایی:** گروه محیط زیست، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، صندوق پستی: 49138-15739
- **سعید نادری:** موسسه بوم‌شناسان هیرکان، تهران، صندوق پستی: 1648813413

تاریخ دریافت: دی 1394 تاریخ پذیرش: فروردین 1395

چکیده

شوکا (*Capreolus capreolus*) کوچک‌ترین عضو خانواده گوزن‌ها (*Cervidae*) در ایران است. این گوزن در جهان دارای دو گونه اروپایی- آسیایی (*C. capreolus*) و سیبریایی (*C. pygargus*) است، که از نظر مورفولوژیک با یکدیگر متفاوت هستند. این گونه در ایران عمدتاً در مناطق جنگلی با پوشش زیرین نسبتاً متراکم، جنگل‌های جوان، جنگل‌های بین دشت و مناطق کوهستانی زیست می‌کند. هدف از اجرای این مطالعه شناخت تنوع ژنتیکی شوکای ایران در مناطق مورد مطالعه بر اساس ژن D-loop میتوکندری و کاربرد آن در برنامه‌ریزی‌های حفاظتی این گونه می‌باشد. تعداد 8 نمونه از شوکای ایران از نقاط پراکنش گونه در استان مازندران و گلستان جمع‌آوری شد. پس از استخراج DNA از نمونه‌ها شامل بافت ماهیچه و سرگین، شاخ تکثیر بخشی از ناحیه کنترل DNA میتوکندری به طول 366 جفت باز به کمک یک جفت پرایمر یونیورسال صورت گرفت. محصولات PCR پس از توالی‌یابی جهت بررسی و تعیین فاصله ژنتیکی و تنوع هاپلوتیپی با استفاده از نرم افزارهای MEGA5، DNASP5 و NetWork بررسی شدند. براساس نتایج بدست آمده، تعداد 3 هاپلوتیپ و 3 جایگاه چندشکلی تشخیص داده شد. هاپلوتیپ‌های مشترک بین نمونه‌های استان گلستان و مازندران وجود دارد که احتمال آن می‌رود ارتباط بین جمعیت‌های دو استان و وجود کریدور ارتباطی بین جمعیت‌های آن‌ها وجود داشته باشد. فاصله ژنتیکی جمعیت دو استان کم بوده و از نظر حفاظتی باید مورد بررسی دقیق‌تری قرار گیرند تا این ارتباط قطع نشود.

کلمات کلیدی: شوکا، D-loop، تنوع ژنتیکی، گلستان، مازندران.

مقدمه

حیات و نسل‌های آینده حفظ نماییم. پیشرفت‌های جدید در زمینه فناوری و دانش ژنتیک مولکولی فرصت و امکان مناسبی را در جهت پاسخگویی به بسیاری از پرسش‌ها در زمینه رده‌بندی گونه‌ها، بررسی روابط فیلوژنتیک و تکاملی گونه‌ها و مطالعه تنوع ژنتیکی جمعیت‌ها فراهم کرده است. این‌گونه اطلاعات می‌تواند در زمینه تعیین گونه‌ها و الویت‌بندی آن‌ها و همچنین تعیین مناطق حفاظتی بسیار مفید باشد (ملکیان، 2009). برخلاف سطوح بالاتر تاکسونومیک که مبتنی بر صفاتی است که بعضاً قابل‌مقایسه نیست وجود DNA و RNA در تمام موجودات زنده می‌تواند امکان مقایسه مستقیم موجودات کاملاً متفاوت و متنوع را فراهم آورد (ملکیان، 2010). شوکا کم و بیش در محیط‌زیست مشابه مرال¹، یعنی جنگل‌های خزر به سر می‌برد. از وجود آن به تعداد کم در جنگل‌های شمال آذربایجان و کردستان نیز تا اواسط

امروزه حفاظت از تنوع زیستی به یک مسئله و نگرانی جهانی مبدل شده است. افزایش جمعیت انسان و نیاز روزافزون به منابع منجر به تخریب بوم‌سازگان‌های طبیعی و نابودی تنوع زیستی در ابعاد وسیع گشته است. گرچه انقراض گونه‌ها پدیده‌ای طبیعی است که در گذشته زمین نیز بارها رخ داده است، ولی در سالیان اخیر در اثر عملکرد آدمی صدها برابر افزایش یافته و گونه‌های بی‌شماری در سراسر جهان تحت عنوان گونه‌های تهدید شده طبقه‌بندی شده‌اند. با توجه به این‌که منابع مالی و انسانی برای مدیریت همه گونه‌ها کافی نیست، مسئله اصلی انتخاب گونه‌ها و جوامع طبیعی است. به گونه‌ای که بتوانیم تنوع زیستی را برای تداوم

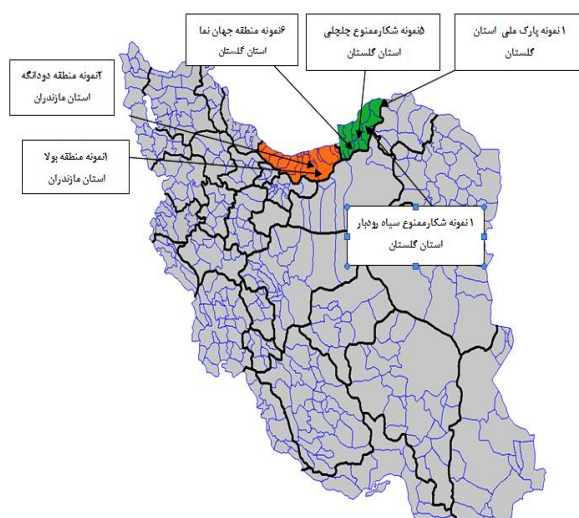


همکاران در سال 2002 ساختار ژنتیکی جمعیت های شوکا طبیعی و معرفی شده در آلپ و مرکز ایتالیا را با اشاره به ساختار فیلوژنوگرافی DNA میتوکندری مورد بررسی قرار دادند. در پژوهشی Soffiantini و همکاران در سال 2007 خصوصیات مرفولوژیک حیوانات با هاپلوتیپ میتوکندری مشخص در مورد شوکا در استان پارما را مورد بررسی قرار دادند. هدف از این مطالعه، بررسی خصوصیات بیومتریکی جمعیت های شوکا پارما و ارتباط آن با الگوهای هاپلوتیپی آن ها بود. در پژوهشی دیگر Valvo و همکاران (2009) به بررسی و تجزیه و تحلیل ژنتیکی ساختار جمعیتی شوکا در شمال آلپ در ایتالیا پرداختند. این مطالعه، به طور مقدماتی به شرح و تجزیه و تحلیل ساختار جمعیت شوکا بر اساس 119 نمونه از استان های Belluno و Trento در شمال شرق آلپ در ایتالیا با استفاده از 11 نشانگر ریزماهواره پرداخته است. همچنین Mucci و همکاران (2012) به بررسی حفاظت از تهدید مجموعه ژن های محلی یعنی بررسی ژنتیک سیمای سرزمین جمعیت شوکا ایتالیا پرداختند و نشان دادند که زیرگونه بومی ایتالیا (*C. capreolus italicus*) توسط معرفی گونه شوکای اروپایی (*C. capreolus capreolus*) مورد تهدید قرار گرفته است. بررسی تنوع ژنتیکی ژن D-loop در DNA میتوکندری شوکای سیبری مربوط به ناحیه مغولستان نیز توسط Bayarlkhagva و همکاران (2013) مطالعه شد.

در مطالعه حاضر، تنوع ژنتیکی DNA میتوکندری در شوکای ایران *C. capreolus* مطالعه شدو تعیین تبارشناسی شوکای ایران به کمک توالی بخشی از ناحیه کنترل ژن D-loop، DNA میتوکندری و بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت های مختلف شوکا در استان مازندران و گلستان و تعیین تنوع هاپلوتیپ و بررسی جنبه حفاظتی این گونه در منطقه مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها

مناطق نمونه برداری شامل پارک ملی گلستان، منطقه شکار ممنوع چلچلی، منطقه حفاظت شده جهان نما در استان گلستان و منطقه حفاظت شده دودانگه و چهار دانگه در استان مازندران بود (شکل 1).



دهه 1350 حکایت می شد. طبق بررسی های اخیر هنوز تعداد کمی شوکا در جنگل های اورامانات وجود دارد (فیروز، 1378). به نظر Ellerman و Scott در سال 1951، شوکاهای ایران چه در شمال و چه در غرب از نژاد *C. capreolus capreolus* می باشند، ولی برخی از مولفین قبلاً شوکای شمال ایران را از نژاد *C. capreolus armenius* و شوکای غرب را از نژادی متفاوت به نام *C. capreolus coxi* می دانستند (اعتماد، 1364). شوکا کوچکترین گوزن ایران است و تقریباً اندازه آهوست. به علت بلندتر بودن پاها از دست ها، کمی قوزدار به نظر می رسد. هر یک از شاخ ها در تمام دوران زندگی فقط سه شاخک دارند (در موارد نادر چهار یا پنج شاخک نیز مشاهده شده است). شاخ ها در اواسط پاییز می افتند و شاخ جدید که کرکدار است، در طول زمستان رشد می کند و در فصل بهار کامل می شود (فیروز، 1378). زیستگاه این گونه مناطق جنگلی با پوشش زیرین نسبتاً متراکم، جنگل های جوان، جنگل های بین دشت و مناطق کوهستانی که برخلاف مرال از جنگل های مناطق کوهستانی مرتفع دوری می کند، می باشد. این گونه هم شب فعال و هم روز فعال است. شوکا حس بویایی، شنوایی و بینایی قوی دارد، به خوبی شنا می کند و در محل زندگی خود اغلب بی حرکت است. به محض احساس خطر به صورت مخفی و با پرش های بلند فرار می کند. شوکا اغلب از علوفه، برگ ها و شاخه های درختان و نیز قارچ تغذیه می کند (دلفان، 1384). شوکاها حیواناتی بسیار حساس و مهاجم هستند. در حالت اسارت بر خلاف اکثر جانوران عمر طولانی ندارد و معمولاً بیش از سه سال قادر به زندگی در باغ وحش ها نیستند. ولی در طبیعت حدود 10 سال عمر می کنند (ضیایی، 1387). تاکنون بررسی تنوع ژنتیکی در مورد شوکا در ایران انجام نشده است. اغلب مطالعات انجام شده در زمینه پراکنش و بررسی زیستگاه شوکا صورت گرفته است. به عنوان مثال، Ghazanfari و همکاران در سال 2000 به بررسی مقدماتی زیستگاه شوکا در جنگل های بوزین مرخیل استان کرمانشاه پرداختند. بخشی، ارزیابی زیستگاه شوکا در پارک ملی گلستان به روش تحلیل عاملی آشیان بوم شناختی (ENFA) را در سال 1392 انجام داد. در جهان در زمینه ژنتیک شوکای اروپایی- آسیایی (*C. capreolus*) و سیبریایی (*C. pygargus*) به روش های مختلف کار شده است. از جمله می توان به مطالعه Randi و همکاران در سال 1998 بر روی چندشکلی DNA میتوکندری در جمعیت های شوکای اروپایی و سیبریایی اشاره نمود. در این بررسی 679 نوکلئوتید در ناحیه کنترل DNA میتوکندری در 45 شوکا اروپایی و سیبریایی در کشورهای ایتالیا و روسیه انجام شد. همچنین Vernesi و

دقیقه و فاز اتصال آغازگرها در سه مرحله دمایی با زمان‌های مختلف که به ترتیب شامل دمای 95 درجه سانتی‌گراد 30 ثانیه، دمای 54 درجه سانتی‌گراد 30 ثانیه و دمای 72 درجه سانتی‌گراد 1 دقیقه می‌باشد و مرحله آخر تکثیر توالی شامل دمای 72 درجه سانتی‌گراد 7 دقیقه و دمای 4 درجه سانتی‌گراد در ادامه می‌باشد. به منظور تایید و کیفیت DNA تکثیر شده ناحیه مورد نظر طی واکنش‌های PCR، الکتروفورز محصولات PCR بدست آمده بر روی ژل آگاروز 2% و با رنگ آمیزی اتیدیوم بروماید صورت گرفت. سپس مقدار 20 میکرولیتر از محصول PCR نمونه‌هایی که دارای کیفیت مناسب بودند، جهت خالص‌سازی و تعیین توالی به شرکت Bioneer کره جنوبی ارسال شد. جهت ویرایش توالی‌ها از نرم‌افزار Seqscape 2.6 استفاده شد. همچنین توالی‌های ثبت شده قابل قیاس، از ژن بانک پایگاه NCBI دریافت شدند و جهت بررسی تنوع ژنتیکی، تعیین هاپلوتیپ‌ها، میزان چندشکلی، ماتریس فاصله ژنتیکی، رسم درخت فیلوژنی Maximum likelihood و زمان واگرایی و آماره F_{st} به ترتیب از نرم‌افزارهای ARLEQUIN 3.1، MEGA 5.5 و DNAsp 5.0 و NETWORK 4.6 استفاده شد.

شکل 1: تعداد و مناطق نمونه‌برداری شده شوکا در مطالعه حاضر

تعداد 16 نمونه از نقاط مختلف پراکنش شوکا در استان‌های مازندران و گلستان جمع‌آوری شد که شامل نمونه بافت، سرگین و شاخ بود (جدول 1). استخراج DNA از نمونه‌ها با استفاده از کیت استخراج بافت و سرگین شرکت‌های Bioneer و سیناژن به‌طور جداگانه براساس مراحل پروتکل استخراج انجام گرفت. فرایند تکثیر ژن دی‌لوپ با استفاده از یک جفت پرایمر AATTCTCACCCTAGCTCCCAAAG- (H16498 5'-3') و CCTGAAGTAGGAACCAGATG- (L15995 5'-3') با دستگاه ترموسایکلر انجام گرفت. حجم نهایی واکنش 25 میکرولیتر شامل 2 میکرولیتر DNA، 1 میکرولیتر آغازگر رفت و 1 میکرولیتر آغازگر برگشت به همراه 21 میکرولیتر آب مقطر دو بار تقطیر شده بود در 35 سیکل انجام گرفت. فرایندها شامل مرحله شکسته شدن DNA در دمای 95 درجه سانتی‌گراد به مدت 10

جدول 1: تعداد افراد نمونه‌برداری شده شوکا در مطالعه حاضر

نام نمونه	استان نمونه‌برداری شده	منطقه جمع‌آوری نمونه	نوع نمونه
شوکا	گلستان	جنگل‌های روستای زیارت (منطقه حفاظت‌شده جهان‌نما)	شاخ
شوکا	گلستان	جنگل‌های علی‌آباد کتول ریگ چشمه (منطقه شکار ممنوع چلچلی)	شاخ
شوکا	گلستان	جنگل‌های علی‌آباد کتول روستای محمدآباد (منطقه شکار ممنوع چلچلی)	شاخ
شوکا	گلستان	جنگل‌های علی‌آباد کتول روستای استان (منطقه شکار ممنوع چلچلی)	شاخ
شوکا	گلستان	جنگل‌های علی‌آباد کتول افرا تخته (منطقه شکار ممنوع چلچلی)	شاخ
شوکا	گلستان	جنگل‌های جهان‌نما (منطقه حفاظت‌شده جهان‌نما)	شاخ
شوکا	گلستان	جنگل‌های علی‌آباد کتول منطقه شکارممنوع سیاه رودبار	شاخ
شوکا	گلستان	جنگل‌های توسکستان شهر جلیان (منطقه حفاظت‌شده جهان‌نما)	شاخ
شوکا	گلستان	جنگل‌های جهان‌نما منطقه دراز نو (منطقه حفاظت‌شده جهان‌نما)	شاخ
شوکا	گلستان	منطقه شکارممنوع چلچلی	شاخ
شوکا	گلستان	جنگل‌های جهان‌نما روستای سید میران (منطقه حفاظت‌شده جهان‌نما)	بافت
شوکا	گلستان	جنگل‌های روستای زیارت (منطقه حفاظت‌شده جهان‌نما)	شاخ
شوکا	گلستان	جنگل‌های علی‌آباد کتول ریگ چشمه (منطقه شکار ممنوع چلچلی)	شاخ
شوکا	گلستان	پارک ملی گلستان	بافت
شوکا	مازندران	پناهگاه حیات وحش دودانگه چهار دانگه	شاخ
شوکا	مازندران	منطقه حفاظت‌شده بولا در دودانگه ساری	بافت
شوکا	مازندران	منطقه حفاظت‌شده بولا در دودانگه ساری	بافت
شوکا	مازندران	منطقه حفاظت‌شده دودانگه روستای کیاسر	سرگین

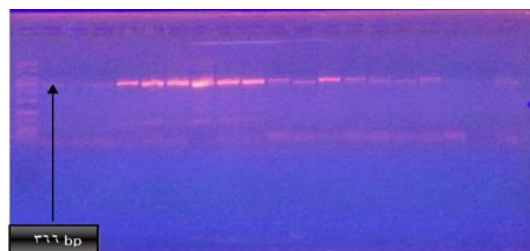
نتایج

و 8 نمونه به دلیل قدیمی بودن و آلودگی، دارای توالی مناسب نبوده و حذف گردیدند (شکل 2).

استخراج DNA برای نمونه‌ها با موفقیت انجام شد. 16 نمونه جهت توالی‌یابی ارسال شدند. نتایج حاصل از توالی‌یابی ژن D-loop، مورد بررسی قرار گرفت. از 16 نمونه، 8 نمونه دارای توالی مناسب بودند

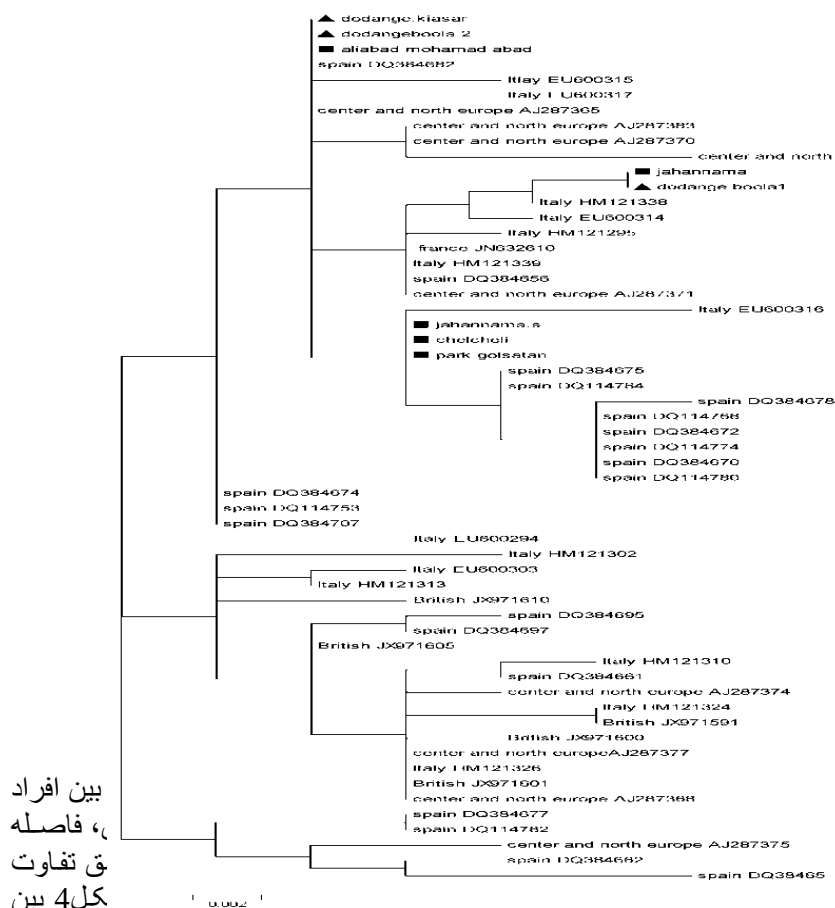


گنجانده شده در نرم افزار Mega 5، ردیف و بازآرایی شده و همراه با توالی های مستخرج از ژن بانک (مجموعاً 49 توالی) با استفاده از نرم افزار Mega 5 مورد آنالیز قرار گرفته و درخت فیلوژنتیکی از نوع Maximum likelihood (شکل 3) مربوطه به دست آمد. در درخت فیلوژنی به دست آمده، نمونه های به شکل مربع ■، نمونه های استان گلستان و نمونه های به شکل مثلث ▲ نمونه های استان مازندران می باشند. بر اساس تحلیل درخت فیلوژنی، همه نمونه های شوکای مربوط به مطالعه حاضر، در شاخه مربوط به شوکای اروپایی- آسیایی قرار گرفتند. در واقع، نمونه های دو استان گلستان و مازندران ضمن نشان دادن قرابت ژنتیکی با یکدیگر، با نمونه هایی از اروپا (اسپانیا، ایتالیا و...)، نیز در یک خوشه قرار می گیرند.



شکل 2: الکتروفورز محصول PCR به طول 366 جفت باز بر روی ژل آگارز 2%

با استفاده از نرم افزار Seqscape 2.6، توالی ها بررسی و اصلاح شدند. توالی ها با تعداد بازهای آلی مختلف بدست آمده به دلیل کیفیت متفاوت نمونه ها در نرم افزار فوق مورد بررسی و در نتیجه طول توالی 366 نوکلئوتید از ناحیه ژن D-loop بدست آمد. توالی های موفق با استفاده از نرم افزار ClustalW



بین افراد
فاصله
تفاوت
کل 4 بین

همچنین، مقایده
تعیین تعداد هاپلوتیپ
صورت گرفت که و
که در جدول به صد

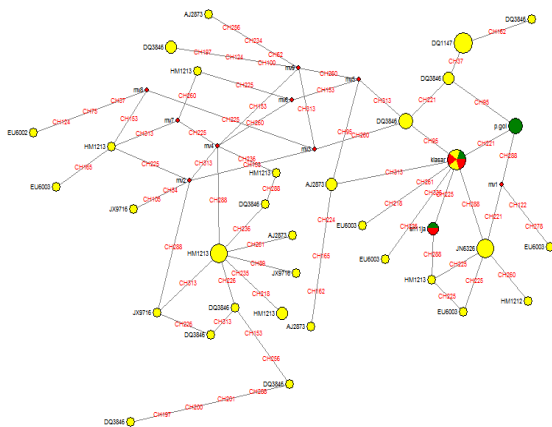
نمونه های 1 و نمونه 5 فاصله صفر نشان دهنده عدم فاصله ژنتیکی و بین نمونه 1 و نمونه 2 فاصله ژنتیکی 2 که تفاوت ژنتیکی را نشان می دهد (شکل 4). و همچنین، درخت فیلوژنی نمونه های استان مازندران و گلستان با استفاده از نرم افزار Mega.5 بررسی شد و 3 هاپلوتیپ در سه گروه شامل گروه اول افراد دودانگه

هاپلوتیپ، که هاپلوتیپ شماره 1 شامل نمونه های دودانگه بولا 2، دودانگه کیاسر و علی آباد محمدآباد هاپلوتیپ شماره 2 شامل نمونه دودانگه بولا 1 و جهان نما و هاپلوتیپ شماره 3 شامل جهان نما s، پارک ملی گلستان و چلچلی دیده شد. (جدول 2). با استفاده از نرم افزار Mega.5 فاصله ژنتیکی بین 8 نمونه ها مورد

کیاسر، دودانگه بولا 2 و علی‌آباد محمدآباد و گروه 2 افراد جهان‌نما، دودانگه بولا 1 و نهایت گروه 3 پارک گلستان، جهان نما S و چلچلی بدست آمد (شکل 5).

جدول 2: تعیین تعداد 3 هاپلوتیپ با استفاده از نرم افزار DNAsp.5

نوع هاپلوتیپ	جهان نما s	دودانگه بولا 1	پارک ملی گلستان	چلچلی	دودانگه بولا 2	جهان نما	دودانگه کیاسر	علی‌آباد محمد آباد
هاپلوتیپ شماره 1		*			*		*	*
هاپلوتیپ شماره 2	*		*	*				
هاپلوتیپ شماره 3								

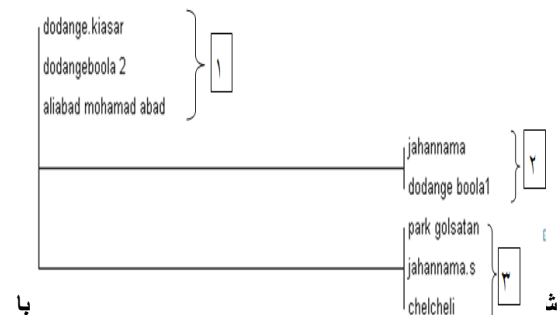


شکل 6: شبکه هاپلوتیپی شوکاهای استان گلستان و مازندران در تلفیق با نمونه‌های شوکا در جهان

بحث

ترسیم شبکه با استفاده از نمونه‌های ایران و جهان مطابق شکل 3 انجام شد و مشاهده می‌شود که بین نمونه‌های ایران و اروپا ارتباط وجود دارد. در واقع هاپلوتیپ شماره 1 که شامل نمونه‌های دودانگه کیاسر و دودانگه بولا 2 از مازندران و علی‌آباد روستای محمد، تحت عنوان هسته kiasar از استان گلستان می‌باشد و تقریباً در هسته مرکزی این شبکه هاپلوتیپی قرار دارد. در این هسته علاوه بر نمونه‌های هاپلوتیپ 1، نمونه‌هایی از اسپانیا و نیز ایتالیا وجود دارد، که نشان‌دهنده شباهت ژنتیکی آن‌ها با نمونه‌های هاپلوتیپ 1 می‌باشد. هاپلوتیپ 2 نیز دارای دو نمونه می‌باشد. یکی در استان مازندران منطقه بولا در دودانگه چهار دانگه و نمونه دیگر در استان گلستان منطقه حفاظت شده جهان‌نما، که با دو هسته به طور شبکه در ارتباط می‌باشد. یک هسته مربوط به هسته مرکزی هاپلوتیپ 1 یا همان kiasar می‌باشد و هسته دیگر مربوط به نمونه‌های اسپانیا می‌باشد که از لحاظ ژنتیکی به هاپلوتیپ 2 شبیه می‌باشند. هاپلوتیپ 3 که هر سه نمونه آن مربوط به استان گلستان می‌باشد، با دو هسته توسط شبکه متصل می‌باشد. هسته اول هسته

	1	2	3	4	5	6	7	8
1. jahannama								
2. park golsatan	2							
3. dodange.kiasar	1	1						
4. jahannama.s	2	0	1					
5. dodange boola1	0	2	1	2				
6. chelcheli	2	0	1	0	2			
7. dodangeboola 2	1	1	0	1	1	1		
8. aliabad mohamad abaq	1	1	0	1	1	1	0	



همچنین با استفاده از نرم‌افزار NETWORK4.6 ارتباط شبکه‌ای نمونه‌ها بررسی شد. در این راستا، ابتدا شبکه هاپلوتیپی مربوط به نمونه‌های ایران و سپس شبکه نمونه‌های ایران با نمونه‌های ثبت شده در ژن بانک ترسیم شد. در این شبکه به دست آمده، نمونه‌های با رنگ قرمز مربوط به استان مازندران و نمونه‌های با رنگ سبز مربوط به استان گلستان می‌باشند، که نشان‌دهنده ارتباط این دو استان می‌باشد (شکل 6).



مرکزی هاپلوتیپ 1 و هسته دیگر شامل نمونه هایی که مربوط به شرق ایتالیا و منطقه آلپ می باشد.

بر اساس تحلیل درخت فیلوژنتیک منتج از توالی های 8 نمونه مربوط به مطالعه حاضر و 49 توالی مربوط به سایر مطالعات برگرفته شده از ژن بانک، مشخص گردید که همه 8 شوکای ایرانی مورد مطالعه حاضر در خوشه مربوط به شوکای اروپایی- آسیایی قرار می گیرند. لذا اکنون در کنار داده های ریخت شناسی، داده های مولکولی به دست آمده در مطالعه حاضر، گواه وضعیت تاکسونومیک این گونه می باشد. بر اساس درخت به دست آمده، تعدادی از نمونه های استان های گلستان و مازندران در مجاورت نمونه های اروپایی از کشورهایمانند اسپانیا و ایتالیا قرار گرفته و دارای قرابت ژنتیکی است. بخصوص به نظر می رسد که این قرابت، بیش تر نسبت به نمونه های بخش های جنوبی اروپا می باشد. از جمله نکات دیگر درخت فیلوژنتیک به دست آمده آن است که تعدادی از نمونه های دو استان مورد مطالعه، کاملاً از نظر ژنتیکی نزدیک می باشند، در حالی که تعدادی از نمونه های استان گلستان با مقداری فاصله در خوشه دیگری بصورت جدا قرار می گیرند. لذا به نظر می رسد که احتمالاً بین افراد دو استان در بعضی مناطق، گذارها و تبادل ژن هایی صورت می پذیرد. با توجه به داده های به دست آمده، به نظر می رسد که این گذارها بیش تر در مناطق زیستگاهی که شباهت ساختاری دارند، اتفاق می افتد. البته برای درک جزئی تر و بهتر این فرایند و شناخت الگوهای ساختار توزیع فضایی تنوع ژنتیکی این گونه، نیاز به انجام مطالعات در سطح وسیع تر و با بودجه و امکانات بیش تر می باشد. این موضوع می تواند از حیث مدیریت جمعیت های شوکا به لحاظ تعیین واحدهای حفاظتی و مدیریت انتقال و تبادل افراد برای احیاء جمعیت های در خطر، بسیار حائز اهمیت باشد.

همچنین بر اساس تحلیل داده های به دست آمده با نرم افزارها، از 8 توالی به دست آمده، تنها تعداد 3 هاپلوتیپ به دست آمد، که باز این نتیجه، نمایه نزدیکی و شباهت نمونه های دو استان گلستان و مازندران می باشد. تجزیه و تحلیل روابط ژنتیکی نمونه های مورد بررسی بر اساس شبکه هاپلوتیپ ها نیز نتایج مشابهی را نشان داده و بر داده های مورد تفسیر در بالا، صحت می گذارد. بطوری که شبکه هاپلوتیپی نمونه های استان گلستان و مازندران با نمونه های اروپایی دارای ارتباطات نزدیک می باشد. در واقع 3 هاپلوتیپ مشخص شده از نمونه های ایرانی، در بخش های مختلف شبکه قرار گرفته و ضمن مشخص نمودن ارتباط نزدیک نمونه های دو استان گلستان و

مازندران، روابط بین نمونه های ایرانی با نمونه های اروپایی را نشان می دهند. به نظر می رسد مانند سایر جمعیت های شوکا در جهان (Randi و همکاران، 1998؛ Tiedemann و Wiehler، 1998) در کنار اثر پدیده های طبیعی، اثرات انسانی نیز از طریق ایجاد آشفتگی در شرایط زیستگاهی و روندهای جمعیتی این گونه در ایران، بر ساختار بندی تنوع ژنتیکی این گونه موثر بوده است. و همچنین در خصوص از بین رفتن کریدور های ارتباطی از طریق پدیده های انسان ساخت به عنوان مثال بخشی (1392) عبور جاده بین پارک ملی گلستان باعث قطع ارتباط بین دو جمعیت در دو طرف جاده شده و باعث تصادف گونه با وسایل نقلیه عبوری از جاده و از بین رفتن شوکا می گردد، همچنین قطع ارتباط بین دو جمعیت در دو طرف جاده کاهش هتروزیگوستی می گردد.

البته درک روابط پیچیده حاکم بر جمعیت های شوکا در ایران و به تبع آن اعمال مدیریت حفاظتی، نیاز به بررسی های در مقیاس گسترده تر دارد. لذا پیشنهاد می شود نمونه های دیگر مناطق ایران شامل استان گیلان، منطقه ارسباران استان آذربایجان شرقی و نیز منطقه حفاظت شده بوزین و مره خیل در نواحی غربی ایران، مورد بررسی قرار گیرند. نتایج این مطالعه در مقیاس گسترده، می تواند در مدیریت علمی جمعیت های مناطق مختلف ایران، از حیث ارتباط با یکدیگر و نیز ارتباط با جمعیت های سایر نقاط جهان، بسیار مهم و کاربردی باشد.

منابع

1. اعتماد، ا.، 1364. پستانداران ایران (جلد دوم)، نشر سازمان حفاظت محیط زیست، تهران. 293 صفحه.
2. بخشی، ج.، 1392. مدل سازی مطلوبیت زیستگاه شوکا (*Capreolus capreolus*) با استفاده از روش تحلیل عاملی آشیان بوم شناختی در پارک ملی گلستان. پایان نامه کارشناسی ارشد، گروه محیط زیست دانشکده شیلات و محیط زیست. دانشکده علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. 68 صفحه.
3. ضیایی، ه.، 1388. راهنمای صحرایی پستانداران ایران. نشر کانون آشنایی با حیات وحش. تهران. 432 صفحه.
4. فریلند، ج.، 1389. بوم شناسی مولکولی. ترجمه ملکیان، م.، جهاد دانشگاهی مشهد. 304 صفحه.
5. فیروز، ا.، 1378. حیات وحش ایران. انتشارات مرکز نشر دانشگاهی با همکاری انتشارات دایره سبز. تهران. 491 صفحه.
6. ملکیان، م.، 1388. کاربرد نشانگرهای مولکولی در حفاظت از تنوع زیستی. سومین همایش و نمایشگاه تخصصی مهندسی محیط زیست.
7. هلمز، ف.، 1384. در جستجوی شوکا گوزن در حال انقراض ایران. ترجمه دلفان آذری، ش.، انتشارات مهر. تهران. 120 صفحه.



8. **Bayarlkhagva, D., 2013.** Genetic diversity of mitochondrial DNA D-Loop sequence of siberian roe deer (*Capreolus pygargus*) inhabiting mongolia, International Journal of Sciences, 03:105-108
9. **Ellerman, J.R. and Scott, M., 1951.** Checklist of palaearctic and Indian Mammals. Brit. Mus. (N.H.) 1758 to 1946 London.
10. **Ghazanfari, H.; Alizadeh, A.; Ataie, F. and Krami, M., 1998.** Preliminary study roe deer forest habitat bozin and marakhil Kermanshah Province.
11. **Grzimek, B.; Schlager, N. and Olendorf, D., 2003.** Animal life encyclopedia, second edition Vol.15 Mammals IV.
12. **Majnoonian, H.; Zehzad, B.; Kiabi, B.; Darreh shoori, F. and Meigouni, H.G., 1999.** Golestan park (Biosphere Reserve) department of the environment division of natural environment and biodiversity Golestan national park rehabilitation plan. 17 P.
13. **Mucci, N.; Mattucci, F. and Randi, E., 2012.** Conservation of threatened local gene pools : Landscape genetics of the Italian doe deer (*c. italicus*) populations. In: Evolutionary Ecology Research, Vol. 14, pp. 897-920.
14. **Randi, E.; Pierpaoli, M. and Danilkin, A., 1998.** Mitochondrial DNA polymorphism in populations of Siberian and European roe deer (*Capreolus pygargus* and *C. capreolus*). Heredity, Vol. 80, pp: 429-437.
15. **Randi, E.; Alves, P.C.; Carranza, J.; Milosevic-Zlatanovic, S.; Sfougaris, A. and Mucci, N., 2004.** Phylogeography of roe deer (*Capreolus capreolus*) populations: The effects of historical genetic subdivisions and recent nonequilibrium dynamics, Molecular Ecology, Vol. 13, pp: 3071-3083.
16. **Soffiantini, C.S.; Malacarne, M.; Gandolfi, G.; La Fata, I.; Pisani, G.M.; Beetti, V. and Sabbioni, A., 2007.** Roe deer (*Capreolus capreolus*) in Parma Province: Morphological characterization of animals with known mitochondrial haplotype. Ann. Fac. Medic. Vet. Di Parma, Vol. 27, pp: 173-182.
17. **Valvo, G.; Sturaro, E.; Maretto, F. and Ramanzin, M., 2009.** Genetic analysis reveals roe deer (*Capreolus capreolus*) population structure in North-Eastern Italian Alps.
18. **Vernesi, C.; Pecchioli, E.; Caramelli, D.; Tiedemann, R.; Randi, E. and Bertorelle, G., 2002.** The genetic structure of natural and reintroduced roe deer (*Capreolus capreolus*) populations in the alps and central Italy, with Reference to the Mitochondrial DNA Phylogeography of Europe. Molecular Ecology, Vol. 11, pp: 1285-1297.
19. **Wiehler, J. and Tiedemann, R., 1998.** Phylogeography of the European roe deer *Capreolus capreolus* as revealed by sequence analysis of the mitochondrial control S. Acta Theriologica, Vol. 5, pp: 187-197.

