

تنوع ژنتیکی جمعیت‌های آهو و جبیر در استان فارس براساس ژن سیتوکروم b

- **فصیحه محمدی گرجی***: گروه محیط زیست، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، صندوق پستی: 49138-15739
- **حمیدرضا رضایی**: گروه محیط زیست، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، صندوق پستی: 49138-15739
- **شاهو قوامی**: گروه محیط زیست، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، صندوق پستی: 49138-15739

تاریخ دریافت: شهریور 1393 تاریخ پذیرش: آذر 1393

چکیده

آهوسانان، گونه‌های در معرض خطری هستند که جمعیت آن‌ها با نرخ بالایی در حال کاهش بوده و حفاظت از آن‌ها باید در اولویت برنامه‌های حفاظتی قرار گیرد. در این تحقیق 9 نمونه جمع‌آوری شده از 4 جمعیت غزال در استان فارس بر اساس توالی ژن سیتوکروم b از DNA مینوکندریایی مورد آنالیز قرار گرفتند. پس از مقایسه توالی به‌دست آمده با توالی موجود در ژن‌بانک در نرم‌افزار MEGA 5.2 و ترسیم درخت فیلوژنتیک، 2 گونه متفاوت از آهو در این نواحی شناسایی شد. نتایج آنالیز واریانس مولکولی در نرم‌افزار Arlequin 3 نشان داد تفاوت در بین این جمعیت‌ها 88/09 و در درون جمعیت‌ها 11/91 است که نشان می‌دهد ساختار ژنتیکی بارزی در بین جمعیت‌ها وجود دارد و جریان ژنی بین آن‌ها کم است. شاخص تثبیت FST، 0/88 است و چون این شاخص بزرگ‌تر از 0/25 است نشان می‌دهد که تنوع ژنتیکی بارز است. شبکه هاپلوتایپی آهوی ایرانی حاصل از نرم‌افزار network نشان می‌دهد که دو نمونه abad2 و bam3 دارای هاپلوتایپ مشترک هستند و بقیه نمونه‌ها هاپلوتایپ جداگانه‌ای را تشکیل دادند. شبکه هاپلوتایپی جبیر نشان می‌دهد که نمونه‌های جبیر در منطقه بهرام‌گور دارای هاپلوتایپ مشترک هستند و نمونه‌های هاپلوتایپی

نمونه‌های	منطقه	هرمود	لار	هاپلوتایپ
جدآگاهانه‌ای را تشکیل دادند.				

کلمات کلیدی: DNA میتوکندریایی، آهوسانان، فاصله ژنتیکی

مقدمه

(1391). امروزه یکی از راه‌های حفاظت گونه علاوه بر حفظ اکوسیستم، حفظ ذخایر ژنی آن می‌باشد که توسط ژنتیک حفاظت صورت می‌گیرد. ژنتیک حفاظت یک علم گسترده و تکمیل‌کننده‌ی قوانین حفاظت گونه‌هاست که در راستای نیل به چنین هدف بزرگی معمولاً موضوعات بسیار مختلفی در آن بررسی می‌شود که از آن جمله تفاوت‌های ژنتیکی بین جمعیت‌ها و گونه‌ها، پدیده‌های انتخاب جفت، آزمون رابطه والدی--فرزندی، جریان ژنی بین جمعیت‌ها،

تنوع ژنتیکی را می‌توان به صورت تنوع توالی DNA ژنومی بین دو موجود یا دو جمعیت از موجودات تعریف کرد (Gunter، 2009). کاهش تنوع ژنتیکی بین جمعیت‌های مختلف مضر و بر میزان برداشت آن‌ها تأثیرگذار است. بهره برداری از ذخایر گونه‌های مختلف نیاز به شناخت کافی از وضعیت ذخایر گونه‌ها، نژادها و جمعیت‌های متعدد آن‌ها دارد تا بتوان مدیریت اصولی بر ذخایر اعمال نمود (قرایی و همکاران،



ملي و پناهگاه حیات وحش قمیشلو در استان اصفهان پرداخت. نتایج این تحقیق نشان داد که هر دو جمعیت در يك شاخه قرار می‌گیرند و جزء گونه آهوی ایرانی *G. subgutturosa* است اما هر دو جمعیت کاملاً از یکدیگر جدا می‌باشند. Sorokin و همکاران (2011) پلی‌مورفیسم توالی نوکلئوتید یک قطعه بسیار متنوع D-LOOP را در 76 آهوی گواتردار گونه *G. subgutturosa subgutturosa* در ازبکستان، ترکمنستان و آذربایجان مورد بررسی قرار دادند. آهوی ترکمنستان و ازبکستان شواهد ژنتیکی زیادی داشتند. جمعیت آهوی آذربایجان، منحصر به فرد بود. تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیتی *G. dorcas* در محدوده شمال‌غربی آفریقا با استفاده از 13 جایگاه میکروستلایت و یک قطعه 716 جفت باز آلی DNA میتوکندریایی در هفت جمعیت توسط Godinho و همکاران (2012) مورد بررسی قرار گرفت. تنوع ژنتیکی با هر دو نشانگر mtDNA و هسته‌ای یک دوگانگی روشنی را در میان جمعیت *G. dorcas* نشان داد. در حالی‌که جمعیت‌های وحشی و در اسارت در آلمریا (اسپانیا)، سطوح قابل ملاحظه‌ای از تنوع را نشان دادند. Lerp و همکاران (2011) به بررسی نواحی کنترل و سیتوکروم *b* از mtDNA از *G. dorcas* در کل محدوده عربستان و کشورهای شمال آفریقا بود، پرداختند. نتایج آنالیزها پس از مقایسه آن‌ها با سایر تاکسون‌های جنس *Gazella* نشان داد که تفاوت‌های ریخت‌شناسی آهوهای مناطق تحت مطالعه نمی‌تواند دلیل بر وجود تفاوت ژنتیکی بین آن‌ها باشد. هاپلوتیپ‌های میتوکندری مورفولوژی ویژه *G. subgutturosa* را در دو مکان جغرافیایی توسط Murtskhvaladze و همکاران (2012) مورد مطالعه قرار گرفت. آهوی گواتردار شرق ترکیه، از نظر مورفولوژی به *G. subgutturosa* و از نظر هاپلوتیپ به *G. marica* شبیه بود. امروزه روش‌های مولکولی مانند توالی‌یابی DNA میتوکندری (mtDNA) به‌طور گسترده‌ای

دورگسازی آرایه‌ها و روابط رده‌بندی بین آرایه‌های بالاتر را دربرمی‌گیرد (Hedrick، 2001).

غزال یک گروه بسیار متنوع از پستانداران است که روابط فیلوژنتیک در این گروه تا حد زیادی ناشناخته است و مطالعات ژنتیکی اندکی بر روی آن‌ها صورت گرفته است که تلاش‌های حفاظتی را مختل و با مشکل روبرو کرده است (Wacher و همکاران، 2010). گونه‌های آهو یک توزیع نسبتاً گسترده دارند، اما در 60 سال گذشته اندازه جمعیت آن‌ها کاهش یافته است و به‌شدت تکه تکه شده است (IUCN، 2008). امروزه بسیاری از گونه‌های آهو تهدید شده‌اند و بیش‌تر گونه‌ها فقط در برنامه‌های تکثیر در اسارت زنده مانده‌اند (IUCN، 2008؛ Hammond و همکاران، 2001). شناسایی رده‌بندی درست جمعیت گونه‌های در معرض خطر برای موفقیت برنامه‌های حفاظت ضروری است (Wronsky و همکاران، 2010). در ابتدا، از صفات مورفولوژیکی از قبیل اندازه بدن، شکل شاخ و غیره برای توصیف رده‌های مختلف استفاده شده است. با این حال، با توجه به تنوع درون گونه‌ای بالا و درجه بالایی از شباهت خصوصیات بین گونه‌ای، متمایز کردن گونه‌ها با مشکل مواجه شد (Grovez، 1996). تاکنون مطالعات ژنتیکی زیادی بر روی غزال‌ها صورت گرفته است. بر اساس بررسی‌های تنوع ژنتیکی غزال‌های جنوب ایران براساس توالی ژن سیتوکروم *b* توسط میرزاخواه (1391) سه گونه متفاوت از آهو در این نواحی شناسایی شد. براساس دیدگاه فیلوژنتیک آهوسانان جزایر کیش و خارک، آهوی گواتردار و آهوسانان جزایر هرمز، هنگام و دشت‌های طارم و مسافرآباد، آهوی هندی یا جبیر بودند. در منطقه حفاظت‌شده مند گونه جدیدی برای ایران شناسایی شد که *G. marica* تشخیص داده شد. فداکار و همکاران (1391) به مطالعه ژنتیکی و فیلوژنتیکی ناحیه سیتوکروم *b* آهوی ایرانی در پناهگاه حیات وحش موته و پارک



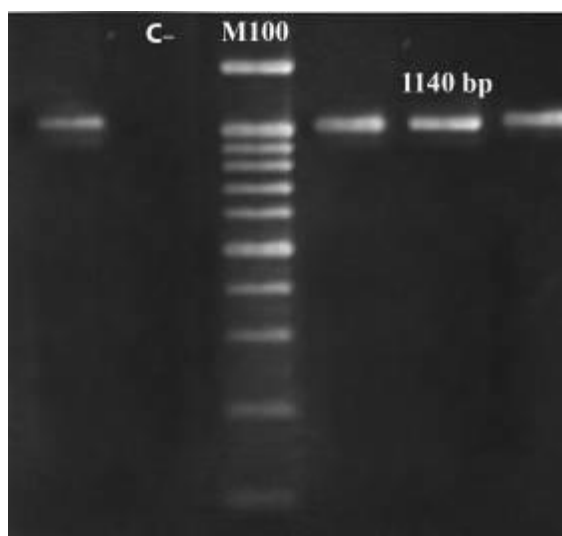
شکار ممنوع آباد و 10 نمونه سرگین جیر از منطقه حفاظت شده بهرام گور و منطقه حفاظت شده هرمود لار در استان فارس جمع آوری و با الکل 96% فیکس شدند و سپس برای استخراج DNA به آزمایشگاه ژنتیک منتقل شدند. استخراج DNA از نمونه‌ها با استفاده از کیت مخصوص استخراج DNA سرگین و بر اساس پروتکل شرکت Bioneer انجام گرفت. برای تکثیر ناحیه سیتوکروم *b* به طول 1140 جفت‌باز از یک جفت پرایمر عمومی به نام‌های Gaz cytbF و Gaz cytbR استفاده شد (Rezaei و همکاران، 2010). واکنش زنجیره ای پلی‌مراس توسط دستگاه ترموسایکلر انجام گرفت (جدول 1). حجم واکنش علاوه بر مواد اولیه کیت (تیوب‌های لیوفیلیزه آماده PCR)، 25 میکرولیتر و شامل 3 میکرولیتر DNA از هر نمونه استخراج شده، 2 میکرولیتر مخلوط پرایمر 10 پیکومولار، 20 میکرولیتر آب دو بار تقطیر بود. بعد از واکنش زنجیره ای پلی‌مراس، الکتروفورس محصولات تکثیر شده روی ژل آگاروز 2 درصد با رنگ آمیزی اتیدیوم بروماید انجام پذیرفت و کیفیت محصول PCR ارزیابی شد (شکل 1). 9 نمونه باند شفاف تشکیل دادند و برای توالی-یابی ارسال شدند.

در توصیف گونه‌ها که به سختی از لحاظ مورفولوژیکی قابل تشخیص‌اند استفاده می‌شود (Whacher و همکاران، 2011؛ Lorenzen و همکاران، 2010؛ Hammond و همکاران، 2001). این ژن ابزار مهمی برای مطالعات مختلفی در زمینه‌های تکامل جانوران، فیلوجغرافیایی و فیلوژنتیک می‌باشند (Rokas و همکاران، 2003) و بسیاری از مطالعات، از تنوع توالی mtDNA در کمی نمودن تنوع ژنتیکی و حل مسائل طبقه‌بندی و یا حفاظت از گونه آهو استفاده می‌کنند (Whacher و همکاران، 2011). از بین ژن‌های میتوکندریایی، ژن سیتوکروم *b* برای مطالعات اختلاف ژنتیکی بسیار مناسب گزارش شده است (Delin و همکاران، 2006). ژن سیتوکروم *b*، ژن میتوکندری کدینه است که تاکنون به فراوانی برای تاکسون-های گوناگونی تعیین توالی شده است (Aliabadian و همکاران، 2009). لذا در این پژوهش با مطالعه ژنتیک حفاظتی حیات وحش بر روی غزال‌های استان فارس سعی شده است که براساس ویژگی‌های ژنتیکی موجود در جمعیت، جایگاه این غزال‌ها در بین سایر غزال‌های موجود متمایز شود و شرایط وضعیت پلی‌مورفیسم جمعیت‌های این جنس با استفاده از ژن سیتوکروم *b* بررسی گردد.

مواد و روش‌ها

تعداد 13 نمونه سرگین آهو از منطقه پارک ملی بמו و منطقه





شکل 1: نحوه تشکیل باند در ژل آگارز 2 درصد

جدول 1: آغازگر استفاده شده برای PCR و توالی‌یابی

نام آغازگر	توالی آغازگر	طول قطعه	دمای اتصال
Gaz cytbF	CCCCACAAAACCTATCACAAA-3' -5'	1140	55°C
Gaz cytbR	AGGGAGGTTGGTTGTTCTCC-3' -5'		

نمونه‌های غزال مورد آزمایش و گونه‌های موجود در ژن‌بانک توسط روش Maximum likelihood و براساس مدل GTR+G تحت نرم افزار Mega V5.2 ترسیم شد. جهت آنالیز واریانس مولکولی (AMOVA)، تعیین تعداد پلی-مورفیسم، تعیین فاصله ژنتیکی نمونه‌های مورد مطالعه و همچنین مقایسه جمعیت‌ها به روش Pairwise difference از نرم افزار Arlequin V3 استفاده شد. در ادامه جهت مقایسه نتایج فیلوژنتیک به دست آمده، با استفاده از نرم افزار Network و رویه Calculate Network و Draw Network شبکه هاپلوتایپی گونه‌ها نشان داده شد.

نتایج

برای تجزیه و تحلیل نتایج از ابزار BLAST و رویه BLASTN در پایگاه NCBI برای تایید توالی‌ها استفاده شد (جدول 3).

جدول 3: درجه شباهت توالی‌ها با کد دسترسی در ژن‌بانک

توالی‌ها	درجه شباهت	کد دسترسی در ژن‌بانک
نمونه‌های بهرام گور	98%	JN632635.1

تعداد 10 توالی از توالی‌های *Gazella* ثبت شده در ژن‌بانک (جدول 2) و گونه *Capra aegagrus* به عنوان OUT GROUP با استفاده از ابزار BLAST در پایگاه NCBI انتخاب شدند.

جدول 2: نمونه‌های اخذ شده از ژن‌بانک برای توالی ژن سیتوکروم *b* (1140 جفت-باز)

شماره دسترسی در ژن‌بانک	نام علمی گونه
AF036282.1	<i>Gazella subgutturosa</i>
JN632635.1	<i>Gazella bennettii</i>
JN632643.1	<i>Gazella marica</i>
JN632636.1	<i>Gazella cuvieri</i>
JN632641.1	<i>Gazella leptoceros</i>
JN632642.1	<i>Gazella spekei</i>
JN632639.1	<i>Gazella erlangeri</i>
KC188765.1	<i>Gazella Arabica</i>
JN632640.1	<i>Gazella gazella</i>
JN410252.1	<i>Gazella dorcas</i>

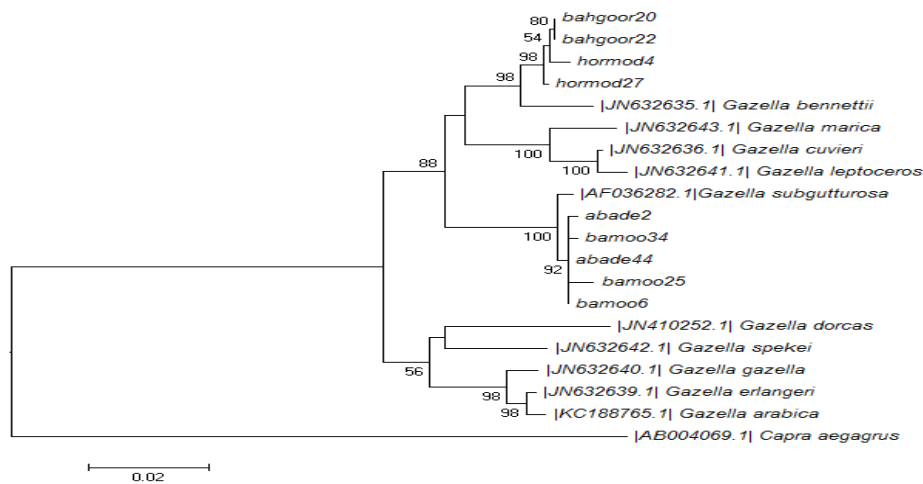
ابتدا کلیه توالی‌ها در نرم افزار Seqscape V2.6 اصلاح شدند و پس از آنکه توسط نرم افزار Mega V5.2 هم‌تراز شده و برای رسم درخت فیلوژنتیک به کار گرفته شدند. درخت‌های فیلوژنی حاصل از مقایسه توالی نوکلئوتیدی ژن سیتوکروم *b*

نمونه های پارک ملی بمو، منطقه شکار ممنوع آباده در شاخه *G. subgutturosa* قرار گرفتند.

نتایج تجزیه و تحلیل واریانس مولکولی (AMOVA) حاصل از نرم افزار Arlequine 3 در جدول 4 نشان داده شده است.

و هرمود نمونه های بمو و آباده	99%	AF036282.1 JN632644.1
--	-----	--------------------------

همانطورکه در شکل 2 دیده می شود، نتایج فیلوژنتیک حاصل از روش آماری ML نشان می دهد نمونه های منطقه حفاظت شده بهرام گور و هرمود لار در شاخه *G. bennettii* و



شکل 2: درخت فیلوژنتیک حاصل از روش ML برای توالی 1140 جفتبازی ژن سیتوکروم b

جدول 4- نتایج آنالیز واریانس مولکولی (AMOVA) در نرم افزار 3

Arlequine			نوع واریانس
مجموع-مربعات	واریانس در صد واریانس	درصد واریانس	نوع واریانس
90/667	12/82	88/09	بین جمعیتها
8/667	1/733	11/91	درون-جمعیتها
99/33	14/553		کل
	0/88		شاخص تثبیت (F _{ST}):

شاخص های تنوع مولکولی در جدول 5 به دست آمد. هم چنین جهت مقایسه بهتر هاپلوتایپها با یکدیگر در ماتریس فواصل ژنتیکی که در نرم افزار مذکور براساس نمونه های موجود حاصل شده بود، براساس یک نماینده برای هر هاپلوتایپ به دست آمد (جدول 6). شبکه هاپلوتایپی آهوی ایرانی و جبیر حاصل از نرم افزار network در شکل های 3 و 4 نشان داده شد.

جدول 5: شاخص های تنوع مولکولی در جمعیت های تحت بررسی براساس نرم افزار Arlequine 3

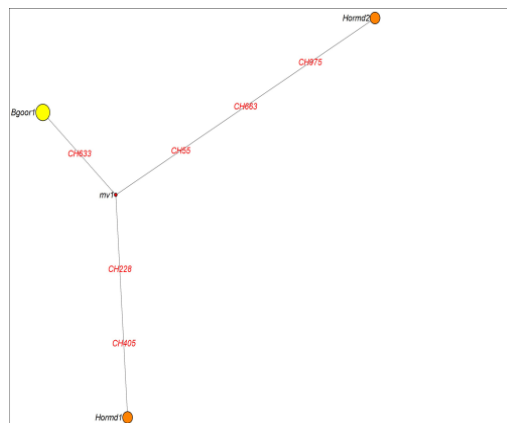
نام منطقه	تعداد اد نمو نه	تعداد هاپلوت یپ	تنوع ژنتیکی	تعداد نوکلئو تید	تعداد پلی مورفیس م	جانشید ی هم نام	جانشید نی نام	جایگاه های دارای پلی مورفیس م و نوع جانشینی
منطقه بمو	3	3	±0/2722 1	1140	7	2	5	1110 0/6 T =0/3 G
منطقه	2	2	1±0/5	1140	2	1	1	924 804



		=0/5A		=0/5C		=0/5T				آباده			
		=0/5C		=0/5C		=0/5T				منطقه			
										بهرام			
										گور			
										منطقه			
55	228	405	663	975	1078	3	3	6	1140	1±0/5	2	2	هرمود

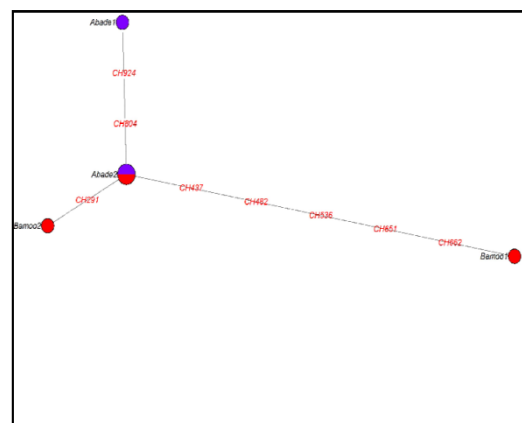
جدول 6: ماتریس فواصل ژنتیکی حاصل از نرم‌افزار Arlequin 3 براساس حضور یک نماینده برای هر هاپلوتایپ (n/c)

H7	H6	H5	H4	H3	H2	H1	هاپلوتایپ
						0/000	H1
					0/000	0/042	H2
				0/000	0/045	0/007	H3
			0/000	0/044	0/003	0/041	H4
		0/000	0/041	0/007	0/042	0/004	H5
	0/000	0/043	0/006	0/046	0/005	0/043	H6
0/000	0/041	0/002	0/039	0/005	0/040	0/002	H7



شکل 4: شبکه هاپلوتایپی جبیر (*G. bennettii*) حاصل از نرم‌افزار network

4 نشان داده شده است. همان‌طور که دیده می‌شود میزان تفاوت در بین جمعیت‌ها بیشتر از تفاوت در درون جمعیت‌ها می‌باشد. هر چند به دلیل کم بودن تعداد نمونه‌ها صحبت کردن در مورد تفاوت و تنوع درون جمعیت‌ها چندان صحیح نمی‌باشد اما بالا بودن تنوع در بین جمعیت‌ها (88/09) نسبت به درون جمعیت‌ها (11/91) نشان می‌دهد که ساختار ژنتیکی بارزی در بین جمعیت‌های مختلف وجود دارد و جریان ژنی بین آن‌ها بسیار کم است. میزان *F_{ST}* میزان جدایی بین جمعیت‌ها را برآورد می‌کند. اگر دو جمعیت دارای فراوانی آللی کاملاً یکسان باشند، تفاوت ژنتیکی بین آن‌ها وجود نداشته و *F_{ST}* برابر صفر است. حال اگر دو جمعیت



شکل 3: شبکه هاپلوتایپی آهوی ایرانی (*G. subgutturosa*) حاصل از نرم‌افزار Network

بحث

تمام نمونه‌های جبیر منطقه حفاظت‌شده هرمود و بهرام گور در یک کلاد جداگانه و تمام نمونه‌های بمو و آباده در یک کلاد جداگانه قرار گرفتند. بین همه آهوهای ایرانی در استان فارس اختلافی دیده نشد. براساس درخت فیلوژنی ترسیم شده آهوی ایرانی به صورت مونوفیلتیک است، یعنی از یک جد مشترک مشتق شده‌اند که با نتایج فداکار و همکاران (1391) همخوانی دارد و با نتایج Wachter و همکاران (2010) همخوانی ندارد، آن‌ها آهوی ایرانی را پلی‌فیلتیک در نظر گرفته بودند.

نتایج حاصل از آنالیز واریانس مولکولی (AMOVA) در جدول



میتوکندریایی 5 نمونه بیولوژیک از جبرهای پناهگاه حیات وحش شیراحمد انجام دادند به این نتیجه رسیدند که در بین گونه‌های مختلف آهو، جبر کم‌ترین فاصله ژنتیکی، که معادل 0/003 است را با گونه *G. bennetti* دارد، در حالی که بیش‌ترین فاصله ژنتیکی جبر با *G. dorcas* و یا تاکسون خواهری اش *G. saudiya* می‌باشد که به ترتیب برابر 0/073 و 0/074 است. این امر می‌تواند مؤید تعلق جبر به گونه *G. bennetti* باشد.

شبکه هاپلوتایپی گونه آهو ایرانی حاصل از نرم افزار network در شکل 3 نشان می‌دهد که دو نمونه *abad2* و *bam3* دارای هاپلوتایپ مشترک هستند و بقیه نمونه‌ها هاپلوتایپ جداگانه‌ای را تشکیل دادند. در مجموع تنوع هاپلوتایپی گونه آهو ایرانی در این مناطق بالاست. در هر جمعیت هم تنوع هاپلوتایپی خوب است و به این معنی است که درون‌آمیزی در هر جمعیت کم است.

شبکه هاپلوتایپی گونه جبر حاصل از نرم افزار network در شکل 4 نشان می‌دهد که نمونه‌های جبر در منطقه بهرام گور دارای هاپلوتایپ مشترک هستند و نمونه‌های منطقه هرمود لار هاپلوتایپ جداگانه‌ای را تشکیل دادند. *Zachos* و همکاران (2010) اولین مطالعه ژنتیکی را بر روی گونه آهو در معرض خطر ایران (*G. subgutturosa*) انجام دادند. آن‌ها در این بررسی 65 فرد از آهوان دشت سهرین واقع در منطقه حفاظت‌شده سرخ‌آباد در استان زنجان را مورد مطالعه قرار دادند. در این بررسی دو نشانگر mtDNA (ناحیه شاهد) و ریزماهواره (در هفت جایگاه) مورد استفاده قرار گرفتند. هدف از این مطالعه تخمین تنوع ژنتیکی جهت ارزیابی این مسئله بود که آیا نرخ کاهش در جمعیت این آهوان می‌تواند به دلیل تنوع ژنتیکی باشد. نتایج نشان داد که بر خلاف آنچه در مطالعات گذشته در سایر آهوان مشاهده شده است، آهوان دشت سهرین دارای تنوع ژنتیکی پایینی با

دارای آلله‌های کاملاً متفاوت در هر لوکوس باشند، مقدار F_{ST} برابر با یک است. اگر میزان تفاوت ژنتیکی بین 0-0/05 باشد، معمولاً آن را به عنوان تفاوت ژنتیکی اندک، مقادیر 0/05-0/25 به عنوان تفاوت ژنتیکی متوسط و مقادیر بیشتر از 0/25 را تحت عنوان تفاوت ژنتیکی بارز قلمداد می‌کنند (Freeland، 2005). این مقدار در این مطالعه 0/88 برآورد شده است. چون این مقدار بالاتر از 0/25 است نشان دهنده این واقعیت است که جمعیت‌ها کاملاً از هم جدا شده‌اند و برون‌آمیزی در آن‌ها کم است و تنوع ژنتیکی بین آن‌ها بارز است که با نتایج میرزاخواه (1391) هم‌خوانی دارد، وی شاخص تثبیت F_{ST} را 0/948 برآورد کرد که نشان از تنوع ژنتیکی بالا در جمعیت‌های تحت بررسی دارد.

از لحاظ میزان پلی‌مورفیسم همان‌طور که مشاهده می‌شود، در جمعیت منطقه حفاظت‌شده بهرام گور که همگی یک هاپلوتایپ هستند، میزان تنوع ژنتیکی برابر صفر است و هیچ پلی‌مورفیسمی دیده نمی‌شود. در جمعیت‌های بمو، آباد و هرمود میزان تنوع ژنتیکی بالاست و در آن‌ها پلی‌مورفیسم دیده می‌شود. میزان بالای تنوع ژنتیکی و پلی‌مورفیسم در این جمعیت‌ها با توجه به بزرگ بودن این جمعیت‌ها و امکان ارتباط با هر جمعیت دیگر که سبب افزایش برون‌آمیزی در آن‌ها می‌شود، قابل توجیه است.

فواصل ژنتیکی به دست آمده از هاپلوتایپ‌ها در نرم افزار Arlequine 3 جدایی گونه‌ها را به خوبی نمایان می‌سازد (جدول 6). همان‌طور که دیده می‌شود فاصله ژنتیکی هاپلوتایپ H1 که مربوط به گونه *G. subgutturosa* است با هاپلوتایپ‌های جمعیت‌های دارای گونه *G. bennettii* (H2، H4 و H6) به ترتیب 0/042، 0/041 و 0/043 است و این فاصله با هاپلوتایپ‌های H3، H5 و H7 به ترتیب 0/007، 0/004 و 0/002 است. با توجه به مطالعاتی که نصیری و مهدوی (1390) بر روی ناحیه سیتوکروم *b* از DNA



جمعیت آن‌ها با نرخ بالایی در حال کاهش بوده و حفاظت از آن‌ها باید در اولویت برنامه‌های حفاظتی قرار گیرد که شامل شناسایی جمعیت‌های مختلف این گونه در ایران و تعیین وضعیت آن‌ها، عوامل کاهش آهوسانان هر منطقه و جلوگیری از آن می‌باشد.

منابع

1. آیینی، ب.؛ فرحمنی، ح. و کرمی، م.، 1385. بررسی توالی منطقه D-LOOP میتوکندری گونه آهوی ایرانی (*Gazella subgutturosa*) با نگرش جمعیتی. علوم و تکنولوژی محیط زیست. دوره 10، شماره 1، صفحات 180 تا 184.
2. قرایی، ا.؛ رئیسی‌عزیزی، م. و غفاری، م.، 1391. بررسی روابط فیلوژنی باربوس ماهیان جنوب ایران براساس توالی ژنی سیتوکروم *b*. ژنتیک نوین. دوره 8، شماره 3، صفحات 213 تا 220.
3. فداکار، د.؛ رضایی، ح.ر.؛ وارسته مرادی، ح. و منتظمی، ش.، 1391. مطالعه ژنتیکی و فیلوژنتیکی ناحیه سیتوکروم *b* آهوی ایرانی در استان اصفهان. بیوتکنولوژی در محیط‌زیست. سومین همایش ملی بیوتکنولوژی کشاورزی ایران (گیاهی، دامی و صنعتی). دانشگاه فردوسی مشهد. 2174 صفحه.
4. میرزاخواه، م.، 1391. بررسی ژنتیکی غزالها در برخی از مناطق ساحلی و جزایر خلیج فارس براساس توالی ژن سیتوکروم *b*. پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد رشته محیط زیست. دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. 89 صفحه.
5. نصیری، م.ر. و مهدوی، م.، 1390. تجزیه و تحلیل ژنتیکی و فیلوژنتیکی ناحیه سیتوکروم *b* در جبیر ایران. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی. دوره 3، شماره 1، صفحات 91 تا 104.
6. Aliabadian, M.; Kaboli, M.; Nijman, V. and Vences, M., 2009. Molecular Identification of Birds: Performance of Distance-Based DNA Barcoding in Three Genes to Delimit Parapatric Species. Plos One. Vol. 4, 4119 P.
7. Delin, Q.; Taiping, L.; Xinquan, Z.; Songchang, G. and Junxiang, L., 2006. Mitochondrial cytochrome *b* Sequence Variation and Phylogenetics of the Highly Specialized Schizothoracine Fishes (Teleostei: Cyprinidae) in the Qinghai-Tibet Plateau. Biochemical Genetics. Vol. 44, PP: 270-285.

تنها هفت هاپلوتیپ در ناحیه شاهد mtDNA در 57 نمونه و سطح بسیار پایینی از تنوع هسته‌ای بودند. بنابراین نتیجه گرفتند که احتمالاً آهوان دشت سهرین کاهش قابل توجه در اندازه جمعیت مؤثر در گذشته را تجربه کرده باشند و احتمال عبور از گردنه بطری در گذشته نه چندان دور برای آن‌ها دور از ذهن نیست. آیینی و همکاران (1385) تنوع ژنتیکی را در آهوی ایرانی در سحرین زنجان بررسی کردند. تعیین توالی در ناحیه شاهد mtDNA به‌وسیله تکنیک PCR تنوع پایینی از هاپلوتیپ‌ها و نوکلئوتیدها را در آهوی سحرین آشکار می‌کند. 72 درصد از جمعیت‌های این گونه شامل همسانی هاپلوتیپ‌ها بودند. نتایج این مطالعه تنوع ژنتیکی پایینی در

D-LOOP را نشان دادند. فداکار و همکاران (1391) تنوع ژنتیکی غزال-های مناطق مرکزی ایران را با استفاده از توالی‌یابی ژن سیتوکروم *b* بررسی کردند. نتایج این تحقیق نشان داد تعداد و فراوانی هاپلوتایپ‌ها قابل توجه بوده و هرکدام از توالی‌ها به‌عنوان یک هاپلوتایپ در نرم‌افزار آرلکویین در نظر گرفته شده است که نشان‌دهنده تنوع بالا در این مناطق است. شبکه هاپلوتایپی این مطالعه نشان می‌دهد که 9 نمونه، 7 هاپلوتایپ جداگانه را تشکیل دادند که با نتایج Zachos و همکاران (2010) و آیینی و همکاران (1385) همخوانی ندارد و با نتایج فداکار و همکاران (1391) سازگار است.

غزال‌های استان فارس براساس ژن سیتوکروم *b* میتوکندریایی در یک شاخه تبارشناسی قرار نمی‌گیرند و هر دو گونه در شاخه جداگانه‌ای نسبت به سایر آهوهای دنیا قرار دارند. منطقه بهرام گور تنوع هاپلوتایپی صفر و در بقیه جمعیت‌ها تنوع هاپلوتایپی بالاست. با این وجود آهوسانان، گونه‌های در معرض خطری هستند که



23. Wachter, T.; Wronski, T.; Hammond, R.L.; Winney, B.; Blacket, M.J.; Hundertmark, J.K.; Mohammed, O.B.; Omer, S.A.; Macasero, W.; Lerp, H.; Plath, M. and Bleidorn, C., 2011. Phylogenetic analysis of mitochondrial DNA sequences reveals polyphyly in the goitred gazelle (*Gazella subgutturosa*). *Conserv. Genet.* Vol. 12, PP: 827-831.
24. Wronsky, T.; Wachter, T.; Hammond, R.; Winney, B.; Hudermartmark, K. and Blaket, M., 2010. Two reciprocally monophyletic mtDNA lineages elucidate the taxonomic status of Mountain gazelles (*Gazella gazelle*). *Systematics and Biodiversity.* Vol. 8, No. 1, PP: 119- 129.
25. Zachos, F.E.; Karami, M.; Ibennouazi, Z.; Hartl, G.B.; Eckert, I. and Kirschning, J., 2010. First Genetic analysis of a free-living population of the threatened goitered gazella (*Gazella subgutturosa*). *Mammalian biology.* Vol. 75, PP: 277-282.
8. Freeland, j., 2005. *Molecular ecology.* John wiley sons. Chichester. 215 p.
9. Fadakar, D.; Rezaei, H.R.; Naseri, M.; Mirzakhah, M.; Naderi, S. and Zamani, W., 2013. Phylogenetic analysis of Persian Gazella, *Gazella subgutturosa* (Artiodactyla: Bovidae) based on cytochrome b in central Iran. *Molecular Biology Research communicatin.* Vol. 2, No. 4, PP: 151-159.
10. Godinho, R.; Abáigar, T.; Lopes, S.; Essalhi, A.; Ouragh, L.; Cano, M. and Ferrand, N., 2012. Conservation genetics of the endangered Dorcas gazelle (*Gazella dorcas spp.*) in Northwestern Africa. *Academic Journal.* Vol. 13, No. 4. 1003 P.
11. Gunter, K., 2009. *The dictionary of gene Technology Genomics. Transcription proteomics,* wiley-vch Verlag GmbH and Co. KgaA, Weinheim. 1862 P.
12. Groves, C.P., 1996. Taxonomic diversity in Arabian gazelles, In: Greth A., Magin C. & Acrenaz M. (Eds.). *Conservation of Arabian gazelles.* National Commission for Wildlife Conservation and Development. Riyadh. pp: 8-39.
13. Hammond, R.; Macasero, W.; Flores, B.; Mohammed, O.; Wachter, T. and Bruford, M., 2001. Phylogenetic reanalysis of the Saudi gazelle and its implication for conservation. *Conservation Biology.* Vol. 15, No. 4, PP: 1123-1133.
14. Hedrick, W.P., 2001. *Conservation Genetics Sessions* Ullman Professor. Department of Biology. Arizona State University. 371 p.
15. IUCN. SSC Antelope Specialist Group. 2008. *Gazella gazella*, In: IUCN 2009 IUCN Red List of Threatened Species. Version 2009. www.iucnredlist.org.
16. Lerp, H.; Wronsky, T.; Pfenninger, M. and Plath, M., 2011. A phylogeographic framework for the conservation of Saharan and Arabian dorcas Gazelles (Artiodactyla, Bovidae). *Organisms diversity and evolution.* Vol. 11, PP: 317-329.
17. Lorenzen, E.D.; Arctander, P. and Siegismund, H.R., 2008. Three reciprocally monophyletic mtDNA lineages elucidate the taxonomic status of Grant's gazelles. *Conserv. Genet.* Vol. 9, PP: 593-601.
18. Murtskhvaladze, M.; Gurielidze, Z.; Kopaliani, N. and Tarkhishvili, D., 2012. Gene introgression between *Gazella subgutturosa* and *G. marica*: limitations of maternal inheritance analysis for species identification with conservation purposes. *Springer Journals.* Vol. 57, No. 4, PP: 383-386.
19. Rokas, A.; Ladoukakis, E. and Zouros, E., 2003. Animal mitochondrial DNA recombination revisited *Trends in Ecology and Evolution.* Vol. 18, PP: 411-417.
20. Rezaei, H.R.; Naderi, S.; Chintauan- Marquier, I.C.; Taberlet, P.; Tahir Virk, A.; Naghash H.R.; Rioux, D.; Kaboli, M. and Pompanon, F., 2010. Evolution and Taxonomy of the wild species of the genus *Ovis* (Mammali, Artiodactyla, Bovidae). *Molecular phylogenetics and evolution.* Vol. 54, PP: 315-326.
21. Sorokin, P.A.; Kiriliuk, V.E.; Lushchekina, A.A. and Kholodova, M.V., 2011. Genetic diversity of the Mongolian *Gazella Procapha guttorosa* Pallas. 1777. *Russian Journal of Genetics.* Vol. 41, No.10, PP: 1101-1105.
22. Wachter, T.; Wronski, T.; Hammond, R.; Winney, B.; Blacket, M. and Hundertmark, K., 2010. Phylogenetic analysis of mitochondrial DNA sequences reveals polyphyly in the goitred gazelle (*Gazella subgutturosa*). *Conservation Genetics.* Vol. 12, PP: 827-831.

