فیلوژئوگرافی گونه بز وحشی (*Capra aegagrus* Erxleben, 1777) در ایران بر اساس DNA میتوکندری

شاهو قوامی[۱]، سعید نادری[۲]، جلیل ایمانی هرسینی[۱و۳]، حمیدرضا رضایی[۱*]

[۱] گرگان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، دانشکده محیطزیست و شیلات، گروه محیطزیست

[۲] صومعه سرا، دانشگاه گیلان، دانشکده منابع طبیعی، گروه محیطزیست

[۳] تهران، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، دانشکده منابع طبیعی و محیطزیست، گروه علوم محیطزیست

تاریخ دریافت: ۹۵/۳/۱۶ تاریخ پذیرش: ۹۵/۹/۲۹

چکیده

کل و بز یکی از مهم‌ترین پستانداران ایران است و به دلیل پراکنش وسیع و وجود جمعیت‌های مختلف در کشور، بررسی فاصله ژنتیکی و فاصله جغرافیایی بین جمعیت‌های مختلف و ارتباط بین این دو، می‌تواند نقش مهمی در حفاظت از جمعیت‌های باقی‌مانده ایفا کند، در مطالعه حاضر ۴۸۱ جفت باز از ناحیه کنترل DNA میتوکندری در ۳۴۳ نمونه کل و بز در ایران به‌منظور بررسی وضعیت فیلوژئوگرافی این‌گونه مورد بررسی قرارگرفت. نتایج درخت تبارزایی و آنالیزهای فیلوژئوگرافیک کلاد آشیانه‌ای وجود ۷ کلاد گسترده را در کشور مشخص کرد و نشان داد که درگذشته جریان ژن وسیع بین جمعیت‌ها وجود داشته و بسط جمعیتی در تعدادی از کلادها اتفاق افتاده است، اما وجود نمونه‌های مناطق مختلف در بیشتر کلادهای مشخص‌شده بیانگر وجود ارتباطات قوی و ساختار فیلوژئوگرافیک نسبتاً ضعیف برای کل جمعیت‌های کل و بز در ایران است. همچنین نتایج آنالیز واریانس مولکولی نشان داد که درصد واریانس بین مناطق مختلف کم‌تر از درصد واریانس داخل مناطق است که این مورد با نتیجه آزمون منتل که بیانگر عدم معنی‌داری جدایی از طریق فاصله جغرافیایی بود، مطابقت دارد. این یافته‌ها نشان می‌دهد که کل و بزها در ایران ساختار و ارتباطات پیچیده‌ای دارند و درگذشته جریان ژنی قوی بین جمعیت‌های مختلف برقرار بوده است و عوامل طبیعی در محدود کردن جریان ژن بین جمعیت‌های کل و بز تأثیر زیادی نداشته است که یکی از دلایل آن علاوه بر قدرت جابجایی بالای گونه، احتمالاً باید مربوط به دخالت انسانی و جابجایی‌های آن در طول روند اهلی سازی باشد.

واژه‌های کلیدی: کل و بز، ناحیه کنترل، فیلوژئوگرافی، NCPA (Nested clade phylogeography analysis)

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۱۲۶۹۱۶۲۴ ، پست الکترونیکی: hamid.r.rezaei@gmail.com

مقدمه

فیلوژئوگرافی ارزیابی رابطه بین تبارزایی و جغرافیا است (۴) و جنبه‌های مختلفی از زمان (روابط تکاملی) و مکان (توزیع جغرافیایی) را باهم تلفیق می‌کند تا از این طریق درک بهتری از پارامترهایی که بر توزیع ژنتیکی اثر داشته‌اند ممکن شود (۱۳). فیلوژئوگرافی یک ابزار استاندارد برای تفسیر الگوهای جغرافیایی تنوع ژنتیکی از چشم‌انداز یک شجره‌نامه است و تعیین توالی DNA بهترین نشانگر برای استخراج داده‌ها در مورد شجره‌نامه تبارهاست. برای یک دهه، مطالعات فیلوژئوگرافیک براساس تفسیر چشمی همپوشانی درخت تبارزایی و اطلاعات جغرافیایی و مقایسه فرایندهای تکاملی سازگار با الگوهای مشاهده شده استوار بود (۳). روش‌های قدیمی مثل انشعاب درختی (Bifurcating trees) و آماره-F رایت (Wright's F-statistics)، اغلب در ارائه جزئیات رویدادهای معاصر و

گذشته ضعف‌هایی داشته و اطلاعات درون گونه‌ای اندکی در اختیار قرار می‌دهد (۲۵، ۲۸).

در سالیان اخیر روش‌های دقیق‌تری براساس تحلیل‌های آماری و نظریه یکپارچگی ایجاد شده است. یکی از این روش‌ها تحلیل تبارآشیانه‌ای (Nested clade analysis) است که به اختصار NCA و یا تجزیه‌وتحلیل فیلوجغرافی تبار آشیانه‌ای یا NCPA (Nested clade phylogeography analysis) نیز نامیده می‌شود (۳۷، ۳۸)، این روش با ارائه یک چارچوب آماری، امکان آزمون رابطه بین رویدادهای تاریخی و ساختار جمعیتی کنونی گونه‌ها را فراهم می‌آورد. این روش با بررسی ارتباط بین موقعیت هاپلوتایپ‌ها در درخت تبارشناسی و شبکه هاپلوتایپی با موقعیت جغرافیایی آن‌ها بر اساس یک چهارچوب تحلیلی، امکان تشخیص الگوهای معنی‌دار تکاملی را میسر می‌سازد (۳۴، ۳۵ و ۳۶).

استفاده از NCPA به دلیل اینکه به محققان امکان می‌دهد که فرضیات مختلف در مورد توزیع جغرافیایی تبارها با استفاده از داده‌های ژنتیکی را آزمون کنند، رو به افزایش است. تاکنون از این رویکرد برای بررسی فیلوژئوگرافیک جمعیت‌های خرس سیاه آمریکای شمالی(*Ursus americanus*) (۴۲)، فیلوژئوگرافی گرگ خاکستری (*Canis lupus*) و گرگ کایوت (*C. latrans*) (۳۹)، ارتباطات فیلوژئوگرافیکی گوزن موس (*Alces alces*) (۱۵)، فیلوژئوگرافی جمعیت‌های شوکا (*Capreolus capreolus*) (۳۰)، فیلوژئوگرافی غزال تبتی (*Procapra picticaudata*) (۴۳)، فیلوژئوگرافی میتوکندریایی منشأ ببرخزری (*Panthera tigris virgate*) و ارتباط آن با ببر آمور (*P. t. altaica*) (۱۱)، تجزیه‌وتحلیل فیلوژئوگرافیک کلاد آشیانه‌ای گراز ماهی (*Neophocaena phocaenoides*) (۱۹)، فیلوژئوگرافی صخره ماهی در جزایر گالاپاگوس (*Hypoplectrus spp*,) (۵) و سایر مطالعات مشابه استفاده شده است.

ناحیه کنترل از ژنوم میتوکندری، ناحیه غیر کد شده از ژن میتوکندریایی است که به علت وجود نواحی متغیر و تغییرپذیری زیاد نسبت به سایر ژن‌های میتوکندری به‌عنوان ابزاری مناسب جهت مطالعه ارتباطات خطوط مادری در درون یک‌گونه شناخته شده است (۷). ژن‌های میتوکندری ابزار مهمی برای مطالعات مختلف در زمینه‌های تکامل جانوران، تبارزایی و تبارزایی جغرافیایی هستند (۳۱). تحلیل تنوع ژنتیکی نسبت به توزیع جغرافیایی یکی از فعالیت‌های مهم زیست‌شناسان تکاملی است. درجه هم‌خوانی بین تبارزایی، هاپلوتیپ‌های DNA میتوکندری و توزیع جغرافیایی آن‌ها برای منعکس کردن درجه جدایی بین جمعیت‌ها استفاده می‌شود (۶).

در زیست‌شناسی حفاظت، تشخیص ساختار فیلوژئوگرافیک بسیار مهم است، زیرا کمک می‌کند تا جمعیت‌هایی که به مدت طولانی جدا شده‌اند شناسایی شوند که ممکن است ژن‌های منحصربه‌فردی داشته باشند. تولیدمثل در انزوای طولانی‌مدت یکی از معیارهای اصلی است که به طور گسترده‌ای برای شناسایی واحدهای جمعیت برای حفاظت مورداستفاده قرار می‌گیرد (۲). در خصوص گونه کل و بز نیز مطالعات فیلوژئوگرافی و تنوع ژنتیکی مختلفی انجام‌گرفته که تقریباً بیشتر آن‌ها بروی منشأ اهلی‌سازی بز بوده است (۹، ۱۶، ۱۷ و ۲۱).

بز وحشی از خانواده گاوسانان با نام فارسی کل و بز وحشی و اسم علمی *Capra aegagrus* و نام انگلیسی Wild Goat است. جثه‌اش بزرگ‌تر از بز اهلی است. به نرها کل و به ماده‌ها بز گفته می‌شود. کوتاه بودن دست و پا، سنگین بودن قسمت جلویی بدن و ساختمان خاص سم‌ها، آن‌ها را قادر ساخته که به آسانی در شیب‌های تند مناطق صخره‌ای تردد نمایند. از نظر اتحادیه بین‌المللی حفاظت از طبیعت و منابع طبیعی (IUCN) بز وحشی در رده آسیب‌پذیر گنجانده شده است. امروزه عوامل تهدیدکننده زیستگاه‌های آن شدت بیشتری یافته‌اند. عوامل

تهدیدکننده این گونه در سطح جهانی عبارتند از شکار غیرقانونی، رقابت برای غذا بادام‌های اهلی و تخریب و کاهش زیستگاه بر اثر تغییر کاربری زمین (۴۱).

حوزه پراکنش کل و بز در کشور بسیار وسیع و شامل اغلب مناطق کوهستانی و ارتفاعات است. این‌گونه تقریباً در تمام مناطق تحت مدیریت محیط‌زیست در کشور زیست می‌کند. قطعه‌قطعه شدن و از دست دادن زیستگاه و ارتباطات زیستگاهی و شکار غیرمجاز باعث شده است که در سال‌های اخیر جمعیت آن در اکثر زیستگاه‌های کشور به‌شدت کاهش پیدا کند (۱). پراکنش وسیع و وجود جمعیت‌های مختلف در کشور، بررسی فاصله ژنتیکی و فاصله جغرافیایی بین جمعیت‌های مختلف را دارای اهمیت فراوان کرده است، بنابراین برای مدیریت بهتر این‌گونه لازم است جمعیت‌های آن و ارتباطات بین جمعیتی و همچنین توزیع جغرافیایی آن‌ها و به عبارت بهتر فیلوژئوگرافی آن‌ها مشخص شود. هدف اصلی این پژوهش بررسی ساختار جمعیتی و تعیین پارامترهای جمعیت‌شناسی است که باعث شکل‌گیری ساختار فعلی جمعیت شده‌اند.

مواد و روشها

در این مطالعه از ۳۴۱ توالی که در مطالعه در مقیاس وسیع نادری و همکاران در سال ۲۰۰۸ به دست آمده بود (۲۱) استفاده شد و ۲ نمونه از منطقه هفتاد قله اراک نیز جمع‌آوری و DNA از آن‌ها استخراج شد (جدول ۱). سپس با استفاده از پرایمری با طول قطعه ۵۹۸ جفت بازی (۲۰) که در مطالعه قبلی نادری و همکاران (۲۰۰۸) نیز استفاده شده بود قطعه‌ای از ناحیه کنترل میتوکندریایی تکثیر شد و پس از توالی‌یابی همراه سایر توالی‌ها مورد بررسی قرار گرفت.

جدول ۱- مناطق مورد مطالعه، استان‌هایی که مناطق در آن قرار دارند و تعداد نمونه از هر منطقه

ردیف	منطقه	تعداد نمونه	استان	ردیف	منطقه	تعداد نمونه	استان
۱	لار	۱۹	فارس	۱۵	هفتاد قله	۲	اراک
۲	قروه	۵	کردستان	۱۶	قزوین	۱۱	قزوین
۳	کلاه قاضی	۲۲	اصفهان	۱۷	شوراب	۲	فارس
۴	بوانات	۱۴	فارس	۱۸	کویر	۲۰	سمنان
۵	خبر	۲۰	کرمان	۱۹	خارتوران	۱۱	کرمان
۶	گودغول	۱۹	کرمان	۲۰	خجیر	۳	تهران
۷	دهج	۱۴	کرمان	۲۱	سالوک	۱۵	خراسان
۸	کالمند	۱۹	یزد	۲۲	پرور	۱۱	سمنان
۹	گلستان	۱۸	گلستان	۲۳	تندوره	۲۱	خراسان
۱۰	بافق	۱۶	یزد	۲۴	مراکان	۸	اذربایجان
۱۱	خوش ییلاق	۱۷	سمنان	۲۵	ملایر	۸	همدان
۱۲	بمو	۱۰	فارس	۲۶	مهران	۶	ایلام
۱۳	دنا	۲۰	کهگیلویه و بویر احمد	۲۷	ماهنشان	۶	زنجان
۱۴	زله زرد	۶	کرمانشاه				

تجزیه و تحلیل: از ابزار BLAST ورویه BLASTN در پایگاه NCBI جهت تعیین همولوژی توالی‌ها استفاده گردید. از نرم‌افزارSeqScape نسخه ۲/۶ (Applied biosystems) جهت تصحیح توالی‌های نوکلئوتیدی استفاده شد و سپس در نسخه ۵ نرم‌افزار Mega (۳۳) و با استفاده از روش Clustal W هم‌ردیف سازی (Align) انجام شد و به‌صورت دستی تنظیم نهایی توالی‌ها انجام گرفت.

بررسی جدایی جمعیت‌ها براثر فاصله جغرافیایی و وجود ارتباط بین فاصله جغرافیایی با تفاوت ژنتیکی یا فاصله ژنتیکی با استفاده از آماره منتل و با استفاده از نرم‌افزارهای ArcGIS نسخه ۹/۳ و GenAlex نسخه ۶/۵ (۲۴) مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور ابتدا فاصله مستقیم جغرافیایی بین تمام جفت نقاط و همچنین فاصله بین جمعیت‌ها محاسبه شده و به شکل ماتریس فاصله جغرافیایی مرتب گردید و سپس مقادیر F_{ST} و شاخص فاصله ژنتیکی نی محاسبه‌شده بین جمعیت‌ها به شکل ماتریس ژنتیکی مرتب گردید. رابطه بین ماتریس‌ها با استفاده از نرم‌افزار GenAlex نسخه ۶/۵ مورد بررسی قرارگرفت.

برای بررسی تفاوت‌های بین واحدهای جغرافیایی آنالیز واریانس مولکولی AMOVA انجام شد. آنالیز واریانس مولکولی و برآورد میانگین جریان ژن (N_m) با استفاده از نسخه ۳/۵ نرم‌افزار Arlequine (۱۲) انجام گرفت. آنالیزهای فیلوژئوگرافی کلاد آشیانه‌ای برای تعیین فاکتورهای تاریخی که الگوهای واگرایی در این‌گونه را شکل داده‌اند، انجام شد. برای این منظور، شبکه هاپلوتایپی Minimum spanning با استفاده از نرم‌افزار TCS نسخه ۱/۲۱ محاسبه و ترسیم شد (۱۰). شبکه هاپلوتایپی با استفاده از قوانینی که توسط تمپلتون و همکاران در سال ۱۹۸۷ بیان‌شده است، آشیانه‌بندی شد. همچنین، برنامه GeoDist v 2.5 (۲۷) برای محاسبه تبارشناختی ژن، فراوانی هاپلوتیپ‌ها و توزیع جغرافیایی هاپلوتیپ‌ها استفاده شد که برای تشخیص بین وقایع تاریخی (مانند تکه تکه شدن جمعیت‌ها و گسترش قلمرو) و فرایندهای جاری (مثل جریان ژن) استفاده می‌شود. تفسیر نتایج حاصل از GeoDist با استفاده از کلید استنتاج (۳۵) که شبکه آشیانه‌بندی شده را با استفاده از فاصله‌های جغرافیایی تفسیر می‌کند صورت گرفت. همه این مراحل توسط بسته نرم‌افزاری ANeCA v 1.2 (۲۳) انجام شد و نتایج کلادبندی بر روی شبکه هاپلوتایپی رسم شده با استفاده از نسخه ۴/۶/۱ نرم‌افزار Popart (۱۸) نشان داده شد.

برای تعیین بهترین مدل جهت رسم درخت تبارشناختی نمونه‌ها براساس کلادبندی انجام شده، از نرم‌افزار jModelTest (۲۹) و دو آماره AIC (Akaike information criterion) و BIC (Bayesian information criterion) استفاده شد و سپس درخت فیلوژنتیکی نمونه‌ها براساس منطق بیزین در نرم‌افزار MrBayes نسخه ۳/۲ (۳۲) با استفاده از گونه‌های قوچ و میش (*Ovis orientalis*) و گوسفند اهلی (*Ovis aries*) به‌عنوان برون گروه که با شماره دسترسی HM042854، DQ903263 و AY829430، از بانک ژن استخراج شد ترسیم گردید.

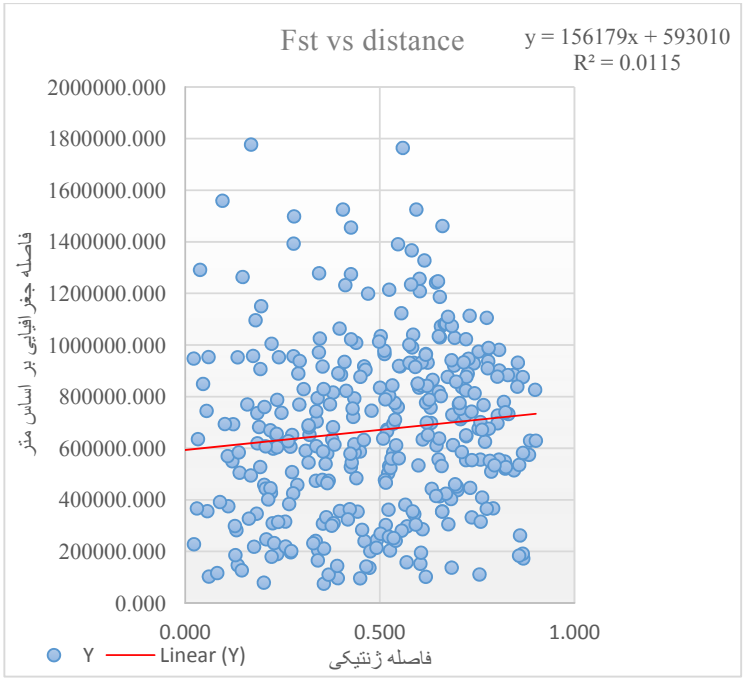
نتایج

در این مطالعه،۴۸۱ جفت باز از ناحیه کنترل ژنوم میتوکندری مربوط به ۳۴۳ نمونه پازن از ۲۷ منطقه در ۱۹ استان کشور مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت Accession Number: EF989163 - EF989613. برای انجام آنالیز واریانس مولکولی، جمعیت‌های کل و بز در ایران براساس نقاط زیستگاهی به ۸ گروه تقسیم شدند. گروه ۱ شامل نمونه‌های منطقه کلاه قاضی و دنا، گروه ۲ نمونه‌های مهران، ملایر، زله زرد، قروه و مراکان، گروه ۳ شامل نمونه‌های مناطق لار و شوراب، گروه ۴ شامل نمونه‌های مناطق خارتوران، دهج، گودغول، خبر، بوانات و بمو، گروه ۵ شامل نمونه‌های مناطق بافق و کالمند، گروه ۶ شامل نمونه‌های مناطق هفتاد قله، قزوین، ماه‌نشان و خجیر، گروه ۷ شامل نمونه‌های مناطق خوش ییلاق، پرور و کویر و گروه ۸ شامل نمونه‌های مناطق گلستان، تندوره و سالوک بودند. درصد واریانس بین گروه‌ها ۱۳/۱۹٪، بین جمعیت‌های هر گروه ۴۲/۸۲٪ و داخل جمعیت‌ها ۴۳٪ به دست آمد. فقط ۱۳/۱۹٪ از توزیع تنوع مربوط به بین گروه‌ها بوده که ساختار فیلوژئوگرافیک ضعیفی در میان جمعیت‌های کل و بز را نشان می‌دهد (جدول ۲).

جدول ۲- آنالیز واریانس مولکولی (AMOVA) نمونه‌های مورد مطالعه

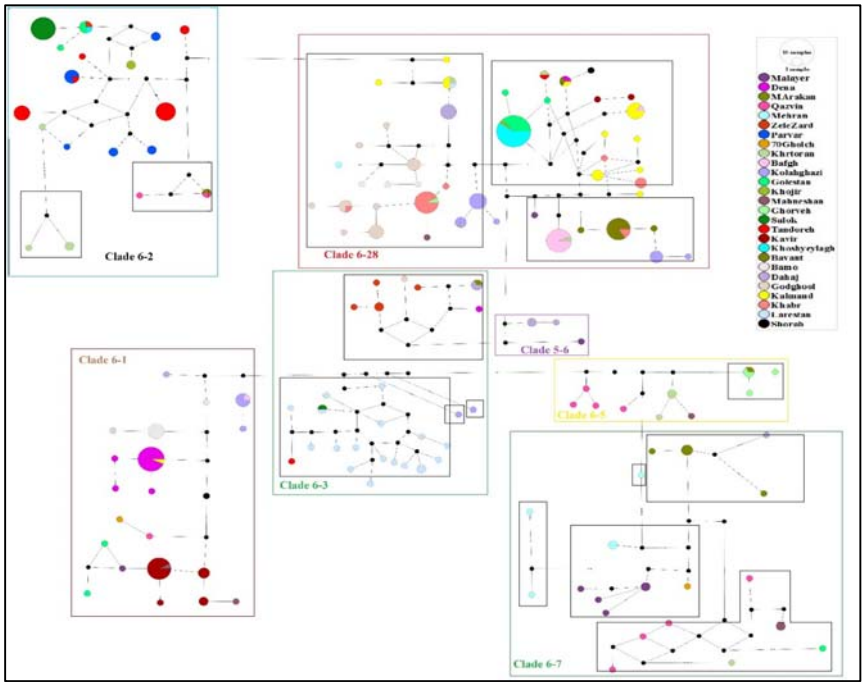
تغییرات	درجه آزادی	مجموع مربعات	واریانس ترکیبی	درصد واریانس
بین گروه‌ها	۷	۱۶۸۵/۲۱۸	۲/۵۷	۱۳/۱۹
بین جمعیت‌های هر گروه	۱۹	۲۰۰۸/۲۸۵	۸/۳۳	۴۲/۸۲
داخل جمعیت‌ها	۳۱۶	۲۷۰۳/۷۳۶	۸/۵۶	۴۳/۹۸
کل	۳۴۲	۶۳۹۷/۲۳۹	۱۹/۴۵	

نتایج مربوط به وجود رابطه بین فاصله جغرافیایی و فاصله ژنتیکی نی براساس آزمون منتل (۹۹۹۹ تکرار) با در نظر گرفتن کل جمعیت‌ها و با استفاده از نرم‌افزار Genalex انجام شد که P=۱۴۳ و R=۱۰۷ به دست آمد. این نتایج نشان می‌دهد که جدایی براساس فاصله رخ نداده است و اعداد معنی‌دار نیستند (شکل ۱).



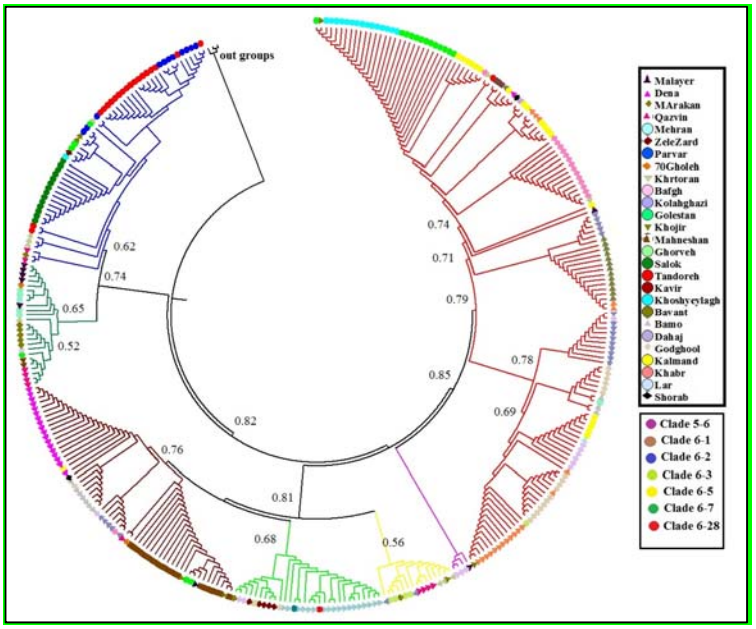
شکل ۱- نمودار مربوط به آزمون منتل جهت تعیین وجود رابطه بین فاصله ژنتیکی نی و فاصله جغرافیایی بر اساس جمعیت‌های مختلف مورد مطالعه

آنالیز فیلوژئوگرافیک کلاد آشیانه‌ای: ابتدا شبکه هاپلوتایپی با روش Minimum-spanning و با استفاده از نرم‌افزار TCS ترسیم شد. سپس با استفاده از الگوریتم شبکه، شبکه‌بندی انجام گرفت. نرم‌افزار GeoDis برای محاسبه آماره‌های D_c، D_n و Chi-Square مورد استفاده قرارگرفت و درنهایت با استفاده از کلید استنتاج، نتیجه‌گیری انجام گرفت. براساس این روش و در آخرین سطح کلاد بندی، ۳ کلاد ۱-۷، ۲-۷ و ۳-۷ در سطح ۰/۰۵ و براساس ضریب Chi-square معنی‌دار نبودند. اما در سطح ۶ کلادبندی ۷ کلاد که عبارتند از کلاد ۱-۶ (اکثراً نمونه‌های کویر، بمو، دنا)، کلاد ۲-۶ (شامل نمونه‌های شمال شرقی ایران تندوره، سالوک و پرور)، کلاد ۲۸-۶ (اکثراً نمونه‌هایی از مناطق مختلف شامل گلستان، خوش ییلاق، کالمند، کلاه قاضی، بوانات، گودغول و خبر)، کلاد ۳-۶ (اکثراً نمونه‌هایی از لار و زله‌زرد)، کلاد ۵-۶ (نمونه‌هایی پراکنده عمدتاً از قروه، قزوین، خارتوران)، کلاد ۷-۶ (اکثراً نمونه‌های غربی شامل مهران، ملایر و نمونه‌هایی از قزوین، مراکان و ماه‌نشان) و کلاد ۶-۵ (نمونه‌هایی از دهج و ملایر) در سطح ۰/۰۵ و براساس ضریب Chi-square معنی‌دار بودند (شکل ۲).



شکل۲- نمایش کلادهای تودرتوی معنی‌دار بروی شبکه هاپلوتایپی نمونه‌های کل و بز در ایران

با توجه به خروجی نرم‌افزار jModelTest و مقادیر دو آماره AIC_C و BIC در مورد مدل GTR+G+I، این مدل به‌عنوان مناسب‌ترین مدل انتخاب شد. آماره G و I براساس همین نتایج به ترتیب برابر با ۰/۹۹ و ۰/۴۵ در نظر گرفته شد، و درخت تبارزایی نمونه‌ها براساس این مدل رسم شد که پس از تعداد تکرار ۱۰ میلیون بار، میزان انحراف معیار فراوانی خردشده برابر با ۰/۰۰۰۴۲ بود که مقدار قابل‌قبول محسوب می‌گردد (شکل ۳).



شکل ۳- درخت تبارزایی که با روش بیزین رسم شده است و نتایج آنالیزهای فیلوژئوگرافیک کلاد آشیانه بر روی آن نشان داده شده است. (مقادیر احتمال تعلق پسین کمتر ۰/۵۰ در روی درخت نمایش داده نشده است).

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که میزان F_{st} به‌طور میانگین در کل جمعیت‌ها ۰/۴۵۷ و میانگین جریان ژن (N_m) ۰/۳۰ است. اگر مقدار N_m براساس فرمول $N_m=(1/F_{st}-1)/4$ وقتی از ۰/۵ بیش‌تر باشد یا میزان F_{st} کمتر از ۰/۳۳ باشد، محدودیت جریان ژن را می‌توان به‌عنوان عامل اصلی تفاوت بین جمعیت‌ها لحاظ نمود (۱۴). براساس محاسبات انجام‌شده میزان تفاوت ژنتیکی در اغلب جمعیت‌ها بیشتر از ۰/۳۳ بوده و لذا محدودیت جریان ژنی در بین جمعیت‌ها وجود دارد.

جدایی از طریق فاصله (Isolation By Distance) (IBD) فرایند بسیار مهمی در محدود کردن جریان ژن است. تحلیل‌های مربوط به IBD در این مطالعه نتایج معنی‌داری را (P=۰/۱۴۳) در مقیاس مورد مطالعه و براساس اندازه‌گیری‌های مربوط به بین جمعیت‌ها نشان نمی‌دهد. به نظر می‌رسد محدودیت‌های جغرافیایی از قبیل عوامل توپوگرافی و بیابان‌ها که منجر به پراکندگی لکه‌ای بین جمعیت‌ها می‌شود (۴۰)، نتوانسته است باعث محدودیت جریان ژن شود. با توجه به آنالیزهای مربوط به IBD و F_{st} می‌توان این‌گونه نتیجه گرفت که عوامل طبیعی در محدود کردن جریان ژن بین جمعیت‌های کل و بز تأثیر کمتری داشته و عوامل انسانی از قبیل گسترش جاده‌ها، تبدیل مراتع و جنگل‌ها و گسترش شهرها عامل اصلی محدودیت جریان ژن در جمعیت‌های کل و بز در کشور باشد.

بر طبق نتایج به‌دست آمده از آنالیز واریانس مولکولی، فقط ۱۳/۱۹٪ از تنوع موجود مربوط به تنوع بین مناطق است. این امر بیانگر ساختار فیلوژئوگرافیک نسبتاً ضعیف بین مناطق می‌باشد (جدول۳). اگرچه ساختار اساسی هر کلاد براساس جمعیت‌های مشخصی سازمان یافته است، اما وجود هاپلوتایپ‌های پراکنده‌ای از سایر جمعیت‌ها در درون هر کلاد سبب شده تا باوجود فاصله نسبتاً زیاد بین برخی کلادها در سطح کلان ساختار فیلوژئوگرافیکی این‌گونه در مناطق مختلف جغرافیایی کاملاً تفکیک شده نباشد. این ساختار ضعیف در نتایج حاصل از درخت تبارشناختی و شبکه هاپلوتیپی نیز مشخص است، چرا که براساس شبکه هاپلوتایپی، نمونه‌های مناطق مختلف دارای هاپلوتایپ‌های مشترک زیادی هستند و درخت تبارزایی نیز وجود نمونه‌های مناطق مختلف در گروه‌های عمده شناسایی شده را نشان می‌دهد. این‌گونه مخلوط شدن جمعیت در گونه‌هایی دیده می‌شود که توان پراکنش زیاد داشته باشندکه احتمال می‌رود دخالت‌های انسانی در طول سال‌ها باعث چنین ساختاری شده باشد (۲۱، ۲۲).

طبق نتایج به دست آمده، همه جمعیت‌های کل و بز در ۷ سطح آشیانه‌بندی شدند که در سطح ۷، فرض صفر مبنی بر عدم جدا شدن جمعیت‌ها و وجود ساختار فیلوژئوگرافیک رد نشد و بنابراین کلاد معنی‌داری در این سطح وجود نداشت، اما در سایر سطح‌ها اعداد معنی‌داری به دست آمد و ۷ کلاد کلان در سطح ۶ به‌عنوان کلادهای معنی‌دار مشخص شدند. به‌طورکلی، در کلید استنتاج ارائه‌شده توسط تمپلتون (۱۹۹۸)، دلایل مختلفی برای جدایی کلادها از یکدیگر بیان‌شده است که در مورد گونه مورد مطالعه چندین مورد از این دلایل برای کلادبندی انجام‌شده با الگوی فیلوجغرافیایی کل و بز در ایران مطابقت داشت. الگوی "بسط محدوده به هم پیوسته" (۸) بر این فرض استوار است که بسط جمعیت‌ها ناشی از پراکنش کم افراد است، این مدل بسط محدود در همه سطح‌های آشیانه‌بندی دیده می‌شود و عامل جدایی کلادهای ۱-۶ و ۲-۶ معرفی شده است. مدل دیگری که در روش آنالیزهای فیلوژئوگرافی کلاد آشیانه‌ای دیده می‌شود، محدودیت جریان ژن است که در کلاد ۳-۶ دیده می‌شود. جدایی دگرجایی قدیمی‌ترین مدلی است که در این روش در نظر گرفته شده است (۲۶) که در این الگو یک مانع فیزیکی و جغرافیایی سبب جدا شدن جمعیت‌ها می‌شود، این مدل در کلادهای۶ -۵ دیده می‌شود و سبب ایجاد این کلاد کوچک شده است.

بر اساس درخت تبارزایشی ترسیم شده، کل جمعیت‌ها به ۷ گروه تقسیم‌بندی شده‌اند که شامل گروه ۱ (نمونه‌های مناطق مرکزی ایران ازجمله خبر، دهج، بوانات، کالمند، گودغول، بمو و نمونه‌های مناطق گلستان و خوش‌ییلاق)، گروه ۲ (۴ نمونه شامل یک نمونه از ملایر و ۳ نمونه از منطقه دهج)، گروه ۳ (جمعیت‌هایی از جنوب ، مرکز و غرب ایران شامل نمونه‌های مناطق لار، زله زرد)، گروه ۴ (نمونه‌هایی از دنا، شوراب، کلاه‌قاضی، کویر و بمو)، گروه ۵ (نمونه‌هایی از مناطق مهران، ملایر، ماه‌نشان و قزوین)، گروه ۶ (نمونه‌های مناطق تندوره، سالوک، پرور و نمونه هایی از خجیر، گلستان و دیگر مناطق) و گروه ۷ (نمونه‌هایی از گلستان، خوش ییلاق، خجیر، پرور، زله‌زرد، قروه و خارتوران) است. براساس این نتایج، علیرغم گروه بندی کلی و تفکیک‌پذیری برخی گروه‌ها از طریق مناطق جغرافیایی، جمعیت‌های مختلف از مناطق مختلف جغرافیایی در این گروه‌ها قرار می‌گیرند و لذا این وضعیت حاکی از فقدان ساختار قوی و مشخص برای این‌گونه است که با نتایج سایر آزمون‌ها مطابقت دارد.

این مطالعه نشان می‌دهد که براساس این قسمت از ژن ناحیه کنترل میتوکندریایی ساختار فیلوژئوگرافی مستقل و دقیقی در بین نمونه‌های کل و بز مورد مطالعه وجود ندارد و براساس الگوی به دست آمده کل و بز ایران در ۷ گروه عمده قرار می‌گیرند که در بیشتر این گروه‌ها باوجود تعلق مکانی بیشتر نمونه‌ها در یک محدوده جغرافیایی، نمونه‌هایی از سایر مناطق نیز در کلادها وجود دارند. وجود این ساختار فیلوجغرافیایی ضعیف با مطالعات نادری و همکاران (۲۰۰۸)، لویکارت و همکاران (۲۰۰۱) و چن و همکاران (۲۰۰۵) مطابقت دارد. در مطالعات پیشین، وجود ساختار فیلوژئوگرافیک ضعیف در میان بزهای اهلی (۲۰ و ۹) و در میان بزهای وحشی (۲۱) برآورد شده است.

با توجه به همخوانی نتایج شبکه هاپلوتیپی و درخت تبارزایشی و واریانس کم بین گروه‌های جغرافیایی نمونه‌ها، روابط ژنتیکی پیچیده‌ای در بین جمعیت‌های مختلف کل و بز در ایران وجود دارد که سبب می‌شود تا در سطح کلان از نظر جغرافیایی، ساختار فیلوژئوگرافیکی کاملاً تفکیک شده‌ای در بین مناطق مختلف وجود نداشته باشد. به نظر می‌رسد ساختار فیلوژئوگرافیک ضعیف در میان کل و بزها مربوط به تاریخ جوامع انسانی و جابجایی‌های آن‌ها است که در طول روند اهلی سازی بزها جریان ژنی قوی بین آنها به وجود آمده است (۲۰، ۲۱، ۲۲، ۱۶ و۹).

منابع

۱- ضیائی، ه.، ۱۳۸۷. راهنمای صحرایی پستانداران ایران، کانون آشنایی با حیات‌وحش، صفحه ۴۲۲.

2- Allendorf, F.W., and Luikart, G., 2007. Conservation and the genetics of populations. Mammalia, PP: 189-197.

3- Avise, J.C., Arnold, J., Ball, R.M., Bermingham, E., Lamb, T., Neigel, J.E., Reeb, C.A., and Saunders, N.C., 1987. Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA Bridge between population genetics and systematics. Annual review of ecology and systematics, PP: 489-522.

4- Avise, J., 2000. Phylogeography: the history and formation of species, Status of the bunch Grass Lizard, Sceloporus Scalaris, in the Chiricahua Mountains of Southeastern Arizona, 453 p.

5- Bernardi, G., Ramon, M.L., Alva-Campbell, Y., McCosker, J.E., Bucciarelli, G., Garske, L.E., Victor, B.C., and Crane, N.L., 2014. Darwin's fishes: phylogeography of Galápagos Islands reef fishes. Bulletin of Marine Science, 90, PP: 533-549.

6- Boursot, P., Din, W., Anand, R., Darviche, D., Dod, B.V., Von Deimling, F., Talwar, G., and Bonhomme, F., 1996. Origin and radiation of the house mouse: mitochondrial DNA phylogeny. Journal of Evolutionary Biology, 9, PP: 391-415.

7- Bowling, A., and Ruvinsky, A., 2000. Genetic aspects of domestication, breeds and their origins. The genetics of the horse, PP: 25-51.

8- Cann, R.L., Stoneking Mand Wilson, A.C., 1987. Mitochondrial DNA and human evolution. Nature, 325, PP: 31–36.

9- Chen, S,Y., Su, Y.H., Wu, S.F., Sha, T., and Zhang, Y.P., 2005. Mitochondrial diversity and phylogeographic structure of Chinese domestic goats. Molecular Phylogenetics and Evolution. 37, PP: 804-814.

10- Clement, M., Posada, D., and Crandall, K.A., 2000. TCS: a computer program to estimate gene genealogies. Molecular ecology. 9, PP: 1657-1659.

11- Driscoll, C,A., Yamaguchi, N., Bar-Gal, G.K., Roca, A.L., Luo, S., Macdonald, D.W., and O'Brien, S. J., 2009. Mitochondrial phylogeography illuminates the origin of the extinct Caspian tiger and its relationship to the Amur tiger. PloS one. 4, e4125 p.

12- Excoffier, L., and Lischer, H.E., 2010. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. Molecular ecology resources, 10, PP: 564-567.

13- Freeland, J. R., 2005. Molecular Ecology, John Wiley & Sons, Chichester, 400 p.

14- He, H., Yuan, X., Wei, C., and Yuan, F., 2006. Genetic variation of the mitochondrial ND4 region among geographical populations of Sitodiplosis mosellana (Gehin) (Diptera: Cecidomyiidae) in China, Journal of the Kansas Entomological Society, 79, PP: 211-221.

15- Hundertmark, K.J., Shields, G.F., Udina, I.G., Bowyer, R.T., Danilkin, A.A., and Schwartz, C.C., 2002. Mitochondrial phylogeography of moose (Alces alces): late Pleistocene divergence and population expansion. Molecular phylogenetics and evolution, 22, PP: 375-387.

16- Joshi, M.B., Rout, P.K., Mandal, A.K., Tyler-Smith, C., Singh, L., and Thangaraj, K., 2004. Phylogeography and origin of Indian domestic goats. Molecular Biology and Evolution, 21, PP: 454-462.

17- Kul, B.C., and Ertugrul, O., 2011. MtDNA diversity and phylogeography of some Turkish native goat breeds. Ankara Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi, 58, PP: 129-134.

18- Leigh, J.W., and Bryant, D., 2015. Popart: full-feature software for haplotype network construction. Methods in Ecology and Evolution, 6, PP: 1110-1116.

19- Li, L., Jiang, J., Wang, X., and Jiang, X., 2013. Nested clade phylogeographical analysis of the finless porpoise (*Neophocaena phocaenoides*) inhabiting Chinese and Japanese coasts. Genetics and molecular research, GMR. 12, 2528 p.

20- Luikart, G., Gielly, L., Excoffier, L., Vigne, J.D., Bouvet, J., and Taberlet, P., 2001. Multiple maternal origins and weak phylogeographic structure in domestic goats. Proceedings of the National Academy of Sciences. 98, PP: 5927-5932.

21- Naderi, S., Rezaei, H.R., Pompanon, F., Blum, M.G., Negrini, R., Naghash, H.R., Balkız, Ö., Mashkour, M., Gaggiotti, O.E., and Ajmone-Marsan, P., 2008. The goat domestication process inferred from large-scale mitochondrial DNA analysis of wild and domestic individuals. Proceedings of the National Academy of Sciences. 105, PP: 17659-17664.

22- Naderi, S., Rezaei, H.R., Taberlet, P., Zundel, S., Rafat, S.A., Naghash, H.R., El-Barody, M.A., Ertugrul, O., Pompanon, F., and Consortium, E., 2007. Large-scale mitochondrial DNA analysis of the domestic goat reveals six haplogroups with high diversity. PLoS One, 2, e1012 p.

23- Panchal, M., 2007. The automation of nested clade phylogeographic analysis. Bioinformatics. 23, PP: 509-510.

24- Peakall, R., and Smouse, P.E., 2012. GenAlex 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. Bioinformatics, 28(19), PP: 2537-9.

25- Pearse, D.E., and Crandall, K.A., 2004. Beyond FST: analysis of population genetic data for conservation. Conservation Genetics, 5, PP: 585-602.

26- Pfenninger, M., and Posada, D., 2002. Phylogeographic history of the land snail Candidula unifasciata (Helicellinae, Stylommatophora): fragmentation, corridor migration, and secondary contact. Evolution. 56, PP: 1776-1788.

27- Posada, D., Crandall, K., and Templeton, A., 2000. GeoDis: a program for the cladistic nested analysis of the geographical distribution of genetic haplotypes. Molecular Ecology. 9, PP: 487-488.

28- Posada, D., and Crandall, K.A., 2001. Intraspecific gene genealogies: trees grafting into networks. Trends in Ecology & Evolution. 16, PP: 37-45.

29- Posada, D., 2008. J ModelTest: phylogenetic model averaging. Molecular biology and evolution. 25, PP: 1253-1256.

30- Randi, E., Alves, P., Carranza, J., Milošević-Zlatanović, 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, 13, PP: 3071-3083.

31- Rokas, A., Ladoukakis, E., and Zouros, E., 2003. Animal mitochondrial DNA recombination revisited. Trends in Ecology & Evolution. 18, PP: 411-417.

32- Ronquist, F., and Huelsenbeck, J.P., 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. Bioinformatics. 19, PP:1572-1574.

33- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M., and Kumar, S., 2011. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. Molecular biology and evolution, 28, PP: 2731-2739.

34- Templeton, A., 2002. Out of Africa again and again. Nature. 416:45-51.

35- Templeton, A.R., 1998. Nested clade analyses of phylogeographic data: testing hypotheses about gene flow and population history. Molecular Ecology. 7, PP: 381-397.

36- Templeton, A. R., 2004. Statistical phylogeography: methods of evaluating and minimizing inference errors. Molecular Ecology. 13, PP: 789-809.

37- Templeton, A.R., Crandall, K.A., and Sing, C.F., 1992. A cladistic analysis of phenotypic associations with haplotypes inferred from restriction endonuclease mapping and DNA sequence data. III. Cladogram estimation. Genetics. 132, PP: 619-633.

38- Templeton, A.R., Routman, E., and Phillips, C.A., 1995. Separating population structure from population history: a cladistic analysis of the geographical distribution of mitochondrial DNA haplotypes in the tiger salamander, Ambystoma tigrinum. Genetics. 140, PP: 767-782.

39- Vilà, C., Amorim, I.R., Leonard, J.A., Posada, D., Castroviejo, J., Petrucci-Fonseca, F., Crandall, K. A., Ellegren, H., and Wayne, R.K., 1999. Mitochondrial DNA phylogeography and population history of the grey wolf Canis lupus. Molecular Ecology, 8, PP: 2089-2103.

40- Waples, R. S., 1998. Separating the wheat from the chaff: patterns of genetic differentiation in high gene flow species. Journal of Heredity, 89, PP: 438-450.

41- Weinberg, P., Jdeidi, T., Masseti, M., Nader, I., and Cuzin, F., 2008. Capra aegagrus. In: IUCN Red List of Threatened Species http://www.iucnredlist.org

42- Wooding, S., and Ward, R., 1997. Phylogeography and Pleistocene evolution in the North American black bear. Molecular Biology and Evolution, 14, PP: 1096-1105.

43- Zhang, F., and Jiang, Z., 2006. Mitochondrial phylogeography and genetic diversity of Tibetan gazelle (*Procapra picticaudata*): implications for conservation. Molecular phylogenetics and evolution, 41, PP: 313-321.

Phylogeography of Wild goat (*Capra aegagrus* Erxleben, 1777) with Using Motochondrial DNA in Iran

Ghavami Sh.[1], Naderi S.[2], Imani Harsini J.[1,3] and Rezaei H.R.[1]

[1] Environment Dept., Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, University of Agricultural Sciences & Natural Resources, Gorgan, I.R. of Iran

[2] Environment Dept., Faculty of Natural Resources, University of Guilan, Somesara, I.R. of Iran

[3] Environmental Sciences Dept., Faculty of Natural Resources and Environmental Sciences, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, I.R. of Iran

Abstract

Capra aegagrus is one of the most important mammals of Iran and because of its wide distribution and the existence of different populations of this species in the country, surveying the genetic and geographical distance of different populations and their relationships can play an important role in protecting the remaining populations. In this research 481 base pairs of mtDNA control region from 343 samples of Wild goatwas surveyed to determine the phylogeographic status of this species. The results of the phylogenetic tree and phylogeographic analysis of nested clade showed that there are seven expanded clade in the country and there is also an extensive gene flow between populations and population expansion has been occured between some of the clades; But the existance of different samples in the most of identified clades showed a strong relationship and a relatively weak phylogeographic structure for the entire population of *Capra aegagrus* in Iran. The AMOVA results showed that the percentage variance between different regions is lower than the percentage variance in each region which this is consistent with the results of Mantel test. These findings show that there are complex structure and relationships between *Capra aegagruses* in Iran and a strong gene flow had been occurred between populations in the past, and natural accidents had not significant role on limiting the gene flow between population which more over the high movement power of the species, one of the most important reason might be related to human intervention during the process of domestication.

Key words: Wild goat, Phylogeography, Control region, Nested clade analysis