

## Genetic diversity of Iranian jerboa (*Allactaga firouzi*) and Hotson's jerboa (*Allactaga hotsoni*)

## تحلیل تنوع ژنتیکی دوپای فیروز (*Allactaga firouzi*) و دوپای هاتسون (*Allactaga hotsoni*)

Morteza Naderi<sup>1</sup>, Saeid Mohammadi<sup>2\*</sup>,  
Neda Behdarvand<sup>3</sup>

1. Assistant Professor, Department of Environment, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Arak, Iran
2. Instructor, Department of Environment, Faculty of Natural Resources, University of Zabol, Iran
3. PhD Student, Department of Environment, Faculty of Fisheries and Environment, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran  
(Received: Feb. 2, 2017 - Accepted: May 14, 2018)

مرتضی نادری<sup>۱</sup>، سعید محمدی<sup>۲\*</sup>، ندا بهداروند<sup>۳</sup>

۱. استادیار، گروه محیط زیست، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه اراک، ایران
۲. مربی، گروه محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه زابل، ایران
۳. دانشجوی دکتری، گروه محیط زیست، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران  
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۱/۱۴ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۷/۲/۲۴)

### Abstract

Mitochondrial genes important tool in various studies in the fields of animal evolution, is phylogeography and phylogenetic. Based on the analysis carried out by sequencing mitochondrial Cytochrome *b* gene, five samples of Iranian jerboa and two Hotson's Jerboa from the Mirabad plains and Chupanan in Naein, Isfahan Province, respectively, were sampled, it was found that the divergence between the two groups, but this degree of intraspecific divergence between the two species is not enough to lead to the divergence. However, concludes that different habitat conditions, different diet and feeding behavior induced evolutionary divergence and this process in the future, especially in the absence of gene flow between populations may lead to speciation. Extensive studies and more accurate than relying on other molecular markers such as microsatellites and nDNA is suggested.

**Keywords:** Adaptive radiation, Taxonomy, Phylogeny, Cytochrome *b*.

### چکیده

ژن‌های میتوکندریایی ابزاری مهم در مطالعات مختلف در زمینه‌های تکامل جانوران، فیلوجغرافیایی و فیلوژنتیک می‌باشد. بر اساس تحلیل‌های صورت پذیرفته با توالی‌یابی ژن سیتوکروم بی میتوکندری پنج نمونه از دوپای فیروز و دو نمونه از دوپای هاتسون که به ترتیب از دشت میرآباد شهرضا و منطقه چوپانان ناین استان اصفهان نمونه‌برداری شدند، مشخص گردید که واگرایی بین دو گروه مشاهده می‌شود، ولی این میزان از واگرایی درون گونه‌ای به اندازه‌ای نیست که منجر به تفکیک دو گونه گردد. با این حال نتیجه‌گیری می‌شود که شرایط زیستگاهی مختلف، رژیم غذایی و رفتار تغذیه متفاوت باعث القای واگرایی تکاملی شده و این فرآیند در آینده به ویژه در صورت عدم ایجاد جریان ژن بین جمعیت‌ها ممکن است منجر به گونه‌زایی گردد. مطالعات گسترده و دقیق‌تر با تکیه بر سایر مارکرها همانند ریزماهواره‌ها و ژنوم هسته‌ای پیشنهاد می‌گردد.

**واژه‌های کلیدی:** واگرایی تکاملی، تاکسونومی، تبارشناسی، سیتوکروم بی.

## مقدمه

بررسی‌های تاکسونومیک برای گروه‌هایی از جوندگان نسبتاً ناشناخته مانند دوپاهای پنج انگشتی جنس *Allactaga* در خاورمیانه دارای اهمیت است (Shenbrot, 2009). در دنیا ۱۷ گونه از خانواده دوپاها (زیرخانواده *Allactaginae*) معرفی شده است. این زیرخانواده سه جنس را در بر می‌گیرد که عبارتند از جنس *Allactadipus* با یک گونه، جنس *Allactaga* با ۱۳ گونه و جنس *Pygeretmus* با سه گونه (Holden & Musser, 2005). گونه‌های متعلق به جنس *Allactaga* عبارتند از دوپای بالیکان (*A. balikunica*)، دوپای گبی (*A. bullata*)، دوپای کوچک (*A. elater*)، دوپای فرات (*A. euphratica*)، دوپای فیروز (*A. firouzi*)، دوپای هاتسون (*A. hotsoni*)، دوپای بزرگ (*A. major*)، دوپای (*A. severtzovi*)، دوپای پنج انگشتی مانگولین (*A. sibirica*)، دوپای چهارانگشتی (*A. tetradactyla*)، دوپای معمولی (*A. vinogradovi*)، دوپای ویلیامسی (*A. williamsi*)، دوپای توسی (*A. toussi*) (Darvish et al., 2008). جنس *Allactaga* در ایران شامل دوپای کوچک (*A. elater*)، دوپای ویلیام (*A. williamsi*)، دوپای هاتسون (*A. hotsoni*)، دوپای فرات (*A. euphratica*)، دوپای توسی (*A. toussi*) و دوپای فیروز (*A. firouzi*) است (Darvish et al., 2008). دوپای فیروز گونه‌ای کاملاً ناشناخته است و بر اساس اندازه‌گیری مشخصات ظاهری و ابعاد جمجمه‌ای نمونه‌های موجود در موزه تاریخ طبیعی شیکاگو آمریکا که توسط هیئت ویلیام استریت در سال ۱۹۶۷ در سفر به ایران از ۱۸ مایلی جنوب شهرضا در استان اصفهان جمع‌آوری شده بودند توسط Womochel (1978) معرفی گردید. این گونه به‌واسطه پاها، گوش و دم بلندتر، رنگ‌آمیزی تیره‌تر موهای بدن، جمجمه‌ی بزرگ‌تر و ردیف دندان‌ی اولیه کوچک‌تر از دوپای هاتسونی تمیز داده شده است. دوپای ایرانی یکی از ۱۳ گونه دوپای شناخته شده است که در کل دنیا از

یک مکان مون گزارش شده است (Womochel, 1978). وضعیت حفاظتی این گونه تا سال ۲۰۰۸ میلادی بحرانی (CR) و پس از آن به‌واسطه اینکه هیچ‌گونه اطلاعاتی در مورد اکولوژی این گونه وجود نداشته است به سطح کمبود داده (DD) تغییر یافت. مطالعات بعدی توسط سایر پژوهشگران وضعیت این گونه ناشناخته را دچار تردید نمود (Shenbrot et al., 2009; Shenbrot, 2009). تا اینکه (Shenbrot, 2009) با مطالعه سه نمونه جمجمه دوپای فیروز موجود در موزه فیلد شیکاگو و مقایسه آن‌ها با جمجمه‌های دوپای هاتسون موجود در موزه‌های تاریخ طبیعی فیلد شیکاگو، بریتانیا و واشنگتن دی‌سی ایالات متحده آمریکا فقط دو صفت جمجمه‌ای طول زیگوماتیک و عرض زیگوماتیک و یک صفت ظاهری طول پای عقب را دارای اختلاف معنی‌دار میان این دو گونه بیان می‌نماید. تحلیل تابع تمایزکننده<sup>۱</sup> برای چهار گونه (دوپای کوچک، دوپای فرات، دوپای ویلیام و دوپای بلوچی) نیز سه گروه قابل تشخیص را تشکیل داده است؛ دوپای کوچک، دوپای هاتسونی و دوپای فرات-دوپای ویلیام. اما نمونه‌های دوپای فیروز به طور محسوسی به همراه نمونه‌های دوپای هاتسون در یک محور دسته‌بندی شده‌اند. تعداد کم نمونه جمجمه دوپای فیروز و وضعیت حفاظتی آن اجازه بررسی و تعیین تفاوت‌های دو گونه را برای تفکیک به دو گونه مجزا نداده است. Shenbrot (2009) بر اساس شواهد اکوجغرافیایی این گونه را زیرگونه‌ای از دوپای هاتسون دانسته است. در مطالعات Shenbrot (2009) و Dianat et al. (2010) از طریق بررسی صفات جمجمه‌ای و دندانی، این نتیجه بدست آمده است که دوپای هاتسون و دوپای فیروز بسیار مشابه هستند؛ به طوری که به احتمال زیاد می‌توان آنها را دو زیرگونه به حساب آورد و نه دو گونه مجزا. Rahimi Pazhuh et al. (2012) با مطالعه جمجمه‌ای

1. Discriminant Function Analysis (DFA)

برای پی بردن به تاریخچه تکاملی جمعیت‌ها استفاده می‌شود (Torroni *et al.*, 2006). جایگاه تاکسونومیک دوپای فیروز به‌عنوان یک گونه مجزا و یا گونه‌ای مترادف با گونه هاتسون می‌تواند اهمیت این جمعیت را جهت حفاظت مشخص کند. هدف این مقاله بررسی و تحلیل ژنتیکی ناحیه سیتوکروم *b* از ژنوم میتوکندریایی دوپای فیروز و دوپای هاتسون است تا اطلاعات لازم برای مقایسه گونه‌های نزدیک به هم فراهم گردد.

### مواد و روش‌ها

به منظور انجام نمونه‌برداری بخشی از بافت لاله گوش پنج نمونه دوپای فیروز و همچنین تعداد دو نمونه دوپای هاتسون در بهار ۱۳۹۲ از منطقه چوپانان در استان اصفهان با شیوه زنده‌گیری و استفاده از نورافکن و تور دستی تهیه شد. نمونه‌ها پس از ثبت موقعیت جغرافیایی در الکل ۹۶ درصد نگهداری و به آزمایشگاه منتقل گردید.

### مطالعات ملکولی

استخراج DNA از نمونه‌ها با استفاده از کیت مخصوص استخراج DNA از بافت توسط کیت شرکت کیاژن بر اساس پروتکل انجام شد. برای توالی‌یابی ژن سیتوکروم بی میتوکندری از پرایمرهای اختصاصی زیر استفاده گردید (Michaux *et al.*, 2003).

و دندانی نمونه‌های دوپای جمع‌آوری شده از نقاط مختلف استان اصفهان وجود اختلاف را بین دوپای هاتسون و فیروز مسجل ندانسته و پیشنهاد زیرگونه‌های مجزا را داده‌اند. Ghaderi (2010) با مطالعه تعداد شش نمونه دوپای، روابط فیلوژنتیک گونه‌های جنس *Allactaga* را با استفاده از ژن سیتوکروم اکسیداز ساب یونیت I تحلیل نموده و نتایج نشان‌دهنده عدم وجود تفاوت ملکولی بین دوپای فیروز و دوپای هاتسون بوده است. با توجه به وجود این یافته‌های متناقض، لازم است که بررسی‌های ژنتیکی دقیق‌تر با استفاده از نشانگرهای میتوکندریایی مانند ریزماهواره و آلوزایم انجام گردد (Rahimpazhuh *et al.*, 2012). DNA میتوکندری در تشخیص گونه‌ها و ترسیم رابطه فیلوژنتیکی دارای مزایایی از جمله تعداد زیاد نسخه به ازای هر سلول، اندازه کوچک‌تر آن از DNA ژنومی، وراثت‌پذیری مادری، هاپلوئید بودن، عدم وجود نوترکیبی در آنها و وجود نواحی حفاظت‌شده می‌باشد (Hosseini *et al.*, 2015). ژن‌های میتوکندریایی ابزاری مهم در مطالعات مختلف در زمینه‌های تکامل جانوران، فیلوجغرافیایی و فیلوژنتیک می‌باشد (Rokas *et al.*, 2003). به دلیل این‌که تمام DNA میتوکندریایی به صورت یک واحد خاص یا هاپلوتاایپ به ارث می‌رسد خویشاوندی‌های بین DNA میتوکندری افراد متفاوت را می‌تواند به صورت یک درخت ژنی نشان داد. الگوهای این درخت‌های ژنی



شکل ۱. نقاط نمونه‌برداری دوپای هاتسون (چوپانان) و فیروز (شهرضا) در محدوده استان اصفهان، ایران

## جدول ۱. پرایمرهای مورد استفاده به همراه توالی آنها

پرایمر	توالی	منبع
H15497SP	5'-TRTAATTRTCNGGGTCTCC-3'	Jaarola <i>et al.</i> , 2004
H15915SP	5'-TCAATTACTGGTTTACAAGAC-3'	Jaarola and Searle 2002
L15162MARV	5'-TACGTYCTTCCATGAGGCCAAATATC-3'	Haynes <i>et al.</i> , 2003
15408 Marv	5'-GYTACGTYCTTCCATGAGGCCAAATATC-3'	Haynes <i>et al.</i> , 2003

دلیل اینکه طول توالی یکی از نمونه‌ها خیلی کوتاه بود از دو نمونه دوپای هاتسون استفاده شد. سپس توالی‌ها توسط الگوریتم Clustal W در نرم‌افزار MEGA.5 ردیف آرایی انجام شد. بهترین مدل تغییر نوکلئوتیدی با استفاده از نرم‌افزار JModeltest بر اساس آماره عدد BIC مدل TPM شد. از توالی گونه‌های دوپای خراسانی (*Dipus sagitta*) با شماره دسترسی (AM407909)، خرگوشک (*Pygeretmus pumilio*) با شماره دسترسی (KM397182) و پامسواکی کوچک (*Jaculus jaculus*) با شماره دسترسی (KM257925) به عنوان گروه خارجی استفاده شد. از پنج توالی سیتوکروم بی گونه دوپای فیروز و یک توالی از گونه دوپای هاتسون موجود در ژن بانک برای مقایسه تبارشناسی مورد استفاده قرار گرفت (شکل ۲). درخت تبارشناسی بیشترین احتمال با ۵۰۰۰ بوت استرپ با استفاده از مدل TPM در نرم‌افزار MEGA.5 ترسیم شد. تعداد هاپلوتیپ‌ها، تنوع نوکلئوتیدی و تنوع هاپلوتایپی توسط نرم‌افزار DNAsp تعیین شد. بر اساس قطعه ۸۹۴ جفت بازی ناحیه سیتوکروم بی از دی ان ای میتوکندری شبکه هاپلوتایپی به روش اتصال میانه با استفاده از نرم افزار NETWORK V4.1.0 رسم گردید.

## نتایج

در شکل ۲ نتایج درخت تبارشناسی به روش بیشترین احتمال نشان داده شده است که همه نمونه‌های دوپای فیروز و هاتسونی همراه با نمونه‌های ژن بانک در یک شاخه قرار می‌گیرند. فاصله ژنتیکی بین نمونه‌های دوپای فیروز و

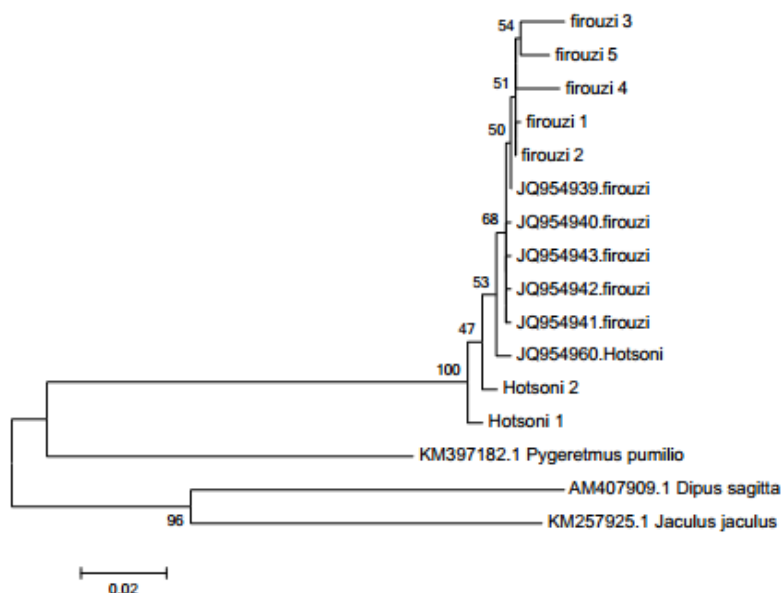
حجم واکنش ۲۵ میکرولیتر و اجزای آن شامل ۱۱ میکرولیتر مستر کیت، ۸ میکرولیتر آب، ۲ میکرولیتر پرایمر رفت (Forward Primer)، ۲ میکرولیتر پرایمر برگشت (Reverse Primer) و ۲ میکرولیتر DNA بود. برنامه حرارتی واکنش PCR به شرح جدول ۲ است (Michaux *et al.*, 2003). به منظور تایید تکثیر ناحیه موردنظر، طی واکنش‌های PCR الکتروفورز محصولات PCR روی ژل آگارز ۲ درصد صورت گرفت. از روی شدت وضوح باندها می‌توان به کیفیت و تا حدودی کمیت DNA پی برد. مقدار ۲۰ میکرولیتر از محصولات PCR خالص‌سازی شد و به همراه ۱۰۰ میکرولیتر از هر یک آغازگرهای رفت و برگشت با غلظت ۱۰ پیکومول در آزمایشگاه مطالعات مولکولی دانشگاه پریمورسکا کشور اسلونی توالی‌یابی انجام شد. برای تجزیه و تحلیل نتایج از ابزار BLAST و رویه BLASTN در پایگاه NCBI جهت تعیین همولوژی توالی‌ها استفاده گردید. از نرم‌افزار Seqscape V2.6 (Applied Biosystems) به منظور اصلاح نوکلئوتیدی توالی‌ها استفاده شد. همچنین برای بررسی جایگاه گونه‌های مورد مطالعه از توالی ناحیه سیتوکروم *b* ثبت شده سایر مطالعات در ایران و جهان در ژن بانک به‌دست آمدند و ردیف‌آرایی توالی‌ها در نرم‌افزار MEGA.5 صورت گرفت. در نهایت درخت فیلوژنی بر اساس روش بیشترین احتمال به کمک نرم‌افزار MEGA.5 ترسیم شد.

## روش تحلیل تبارشناسی و تنوع ژنتیکی

نتایج حاصل از توالی‌یابی توسط نرم‌افزار Seqscape V2.6 (Applied Biosystems) ویرایش شد. به

Firouzi3 است. کمترین فاصله ژنتیکی نیز با مقدار  $0.001$  بین نمونه‌های ۲ و ۳ یعنی دوپای Firouzi1 و Firouzi2 است.

هاتسونی در جدول ۳ ارائه شده است و مشاهده می‌گردد که بیشترین فاصله ژنتیکی با مقدار  $0.024$  بین نمونه‌های ۱ و ۵ یعنی دوپای Hotsoni1 و



**شکل ۲.** درخت تبارشناسی گونه‌های دوپای فیروز (*Allactaga firouzi*) و دوپای هاتسونی (*Allactaga hotsoni*) ناحیه سیتوکروم بی میتوکندریایی به روش بیشترین احتمال. این درخت با استفاده از مدل TPM و  $5000$  بوت استرپ در نرم‌افزار Mega5 ترسیم شده است. به دلیل اینکه طول توالی یکی از نمونه‌ها خیلی کوتاه بود از دو نمونه دوپای هاتسون استفاده شد.

**جدول ۲.** برنامه حرارتی برای چرخه PCR، بعد از مرحله واسرشته‌سازی، که سیکل‌ها چهل و پنج بار تکرار گردیدند

مرحله	زمان (دقیقه)	درجه حرارت	مراحل PCR
۱	۷	۹۵	واسرشته سازی اولیه
۲	۱	۹۴	واسرشته‌سازی Denature
۳	۱	۴۸	اتصال آغازگرها Annealing
۵	۲	۷۲	تکثیر Extension
۶	۱۰	۷۲	تکثیر نهایی Final Extension

**جدول ۳.** فاصله ژنتیکی بین نمونه‌های دوپای فیروز و هاتسونی در جمعیت اصفهان و نمونه‌های استخراج شده از ژن بانک به روش

P-distance در نرم افزار MEGA.5

شماره	گونه	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷
۱	Hotsoni3	۰						
۲	Firouzi1	$0.011$	۰					
۳	Firouzi2	$0.013$	$0.001$	۰				
۴	Hotsoni2	$0.010$	$0.010$	$0.009$	۰			
۵	Firouzi3	$0.024$	$0.012$	$0.011$	$0.021$	۰		
۶	Firouzi4	$0.021$	$0.011$	$0.010$	$0.017$	$0.019$	۰	
۷	Firouzi5	$0.021$	$0.009$	$0.008$	$0.017$	$0.017$	$0.018$	۰

برخی بررسی‌ها از این گونه همسان با دوپای هاتسون نام می‌برد (Shenbrot *et al.*, 1999). با توجه به عدم وجود هیچگونه اطلاعاتی در خصوص این گونه، وضعیت تاکسونومیک آن تا آخرین بازنگری انجام شده توسط Holden & Musser (2005) بدون تغییر باقی ماند. اما با بررسی‌های صورت گرفته و پیشرفت‌های ایجاد شده در طبقه‌بندی جنس *Allactaga* (Shenbrot *et al.*, 1992) و بررسی نمونه‌های موجود دوپای هاتسون در موزه تاریخ طبیعی واشنگتن (که از ایران و پاکستان جمع‌آوری شده بودند) وضعیت تاکسونومیک دوپای فیروز مورد بازنگری قرار گرفت (Shenbrot, 2009).

در بررسی اخیر اذعان شده است که با توجه به داده‌های اکوجغرافیایی می‌توان دوپای فیروز را به عنوان زیر گونه‌ای از دوپای هاتسون (*A. hotsoni firouzi*) نام برد (Dianat *et al.*, 2010). در پژوهش حاضر ۸۹۴ جفت باز از ژن سیتوکروم بی در ۷ نمونه تکثیر شد و مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این مطالعه نشان داد که ۷ هاپلوتایپ متفاوت در بین نمونه‌ها وجود دارد و تنوع هاپلوتایپی برابر با ۰/۶۱۷ است.

بر پایه شبکه هاپلوتایپی ترسیم شده (شکل ۳) نمونه‌های مورد مطالعه شامل هفت هاپلوتایپ هستند که می‌تواند نشان‌دهنده تنوع هاپلوتایپی بالای این نمونه‌ها باشد و برای اطمینان از این نتایج نیاز به بررسی نمونه‌های بیشتری است. میزان بالای تنوع هاپلوتایپی و مقدار پایین نوکلئوتیدی می‌تواند دلیلی بر گسترش سریع جمعیت باشد (Avisé, 2000) که در این مطالعه نیز مقدار تنوع هاپلوتایپی بالا و تنوع نوکلئوتیدی پایینی در مقایسه با دیگر گونه‌های پستاندار همچون گوشتخواران برخوردار بوده است.

بیشترین فاصله ژنتیکی (۰/۰۲۴) بر اساس مدل P-distance بین هاپلوتایپ‌های یک و پنج بوده که به ترتیب نمونه‌های (Hotsoni1) و (Firouzi3) هستند و کمترین فاصله (۰/۰۰۱) بین هاپلوتایپ‌های دو (Firouzi1) و سه (Firouzi2) بود و این مورد به

مقادیر پارامترهای تنوع مولکولی از قبیل تنوع هاپلوتایپی، واریانس تنوع هاپلوتایپی و تنوع نوکلئوتیدی و همچنین مقادیر  $F_s$  و  $D$  تاجیما توسط نرم‌افزار DNAsp محاسبه شده که در جدول ۳ قابل مشاهده است.

جدول ۳. مقادیر محاسبه شده برخی از پارامترهای تنوع

مولکولی و شاخص تاجیما و $F_s$ در نرم افزار DNAsp	
تنوع هاپلوتایپی	۰/۶۶۸
واریانس تنوع هاپلوتایپی	۰/۰۰۵۸۳
تنوع نوکلئوتیدی	۰/۰۱۳۶
D تاجیما	-۱/۲۲۹۶۳
$F_s$ فو	-۱/۲۲۰

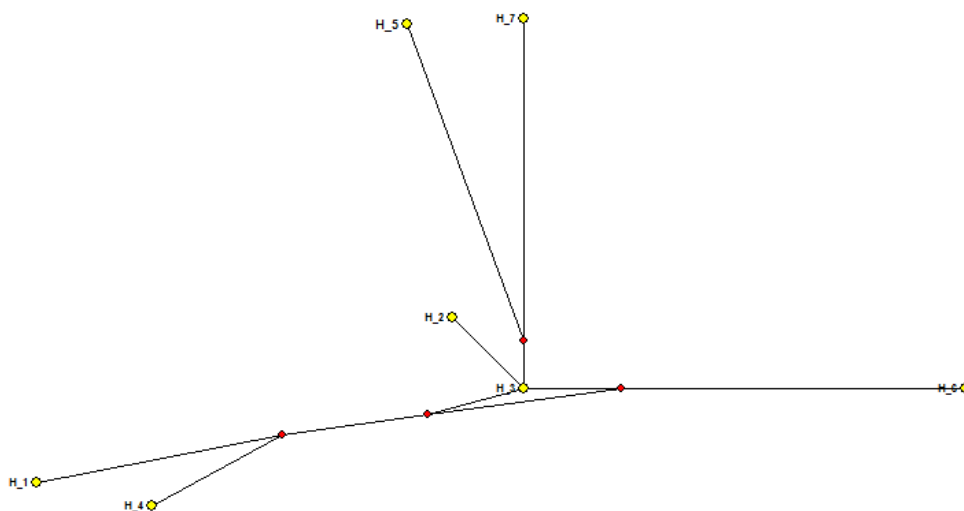
بر اساس قطعه ۸۹۴ جفت بازی ناحیه سیتوکروم بی از دی ان ای میتوکندری شبکه هاپلوتایپی به روش اتصال میانه با استفاده از نرم‌افزار V4.1.0 NETWORK رسم گردید. شبکه هاپلوتایپی ارتباطات تکاملی بین هاپلوتایپ‌ها را به صورت گرافیکی نشان می‌دهد. در این شبکه به روش اتصال میانه ارتباط بین هاپلوتایپ‌های دوپای فیروز و هاتسونی را در شهرستان ناین اصفهان نشان داده شده است (شکل ۳) که از هفت هاپلوتایپ تشکیل شده است. هاپلوتایپ شماره یک تا هفت به ترتیب مربوط به نمونه‌های Hotsoni1، Firouzi1، Firouzi2، Hotsoni2، Firouzi3، Firouzi4 و Firouzi5 است.

## بحث و نتیجه‌گیری

کشور ایران با دارا بودن ۷۱ گونه از راسته جوندگان (۳۸/۲ درصد کل پستانداران) در بردارنده فون متنوعی از پستانداران کوچک می‌باشد (Karami *et al.*, 2008). در برخی از مطالعات انجام شده از دوپای فیروز به عنوان گونه‌ای مشتق شده از دوپای هاتسون یاد شده است (Shenbrot, 1991) (Darvish *et al.*, 2008). این گونه را گونه‌ای همسان با دوپای کوچک دانسته، اما در

خویشاوندی را بین این نمونه‌ها را نشان می‌دهد.

خوبی نزدیکی نمونه‌های مورد مطالعه و وجود روابط



شکل ۳. شبکه هاپلوتایپی اتصال میانه ناحیه سیتوکروم بی دی ان ای میتوکندری مشاهده شده در دوپای فیروز و هاتسونی جمعیت مناطق دشت میرآباد شهرضا و منطقه چوپانان نائین استان اصفهان با استفاده از نرم‌افزار h\_1 Hotsoni1 :NETWORK .V4.1.0؛ h\_2 :Firouzi1؛ h\_3 Firouzi2 ؛h\_4 Hotsoni2 ؛h\_5 :Firouzi3 ؛h\_6 :Firouzi4 ؛h\_7 :Firouzi5 .

چه این مقدار منفی‌تر باشد جمعیت گسترش محدوده را تجربه کرده است و در صورتی که این مقدار مثبت باشد یا مقدار منفی کم باشد نشان‌دهنده این است که جمعیت ثابت بوده است و جمعیت گسترش ناگهانی را تجربه نکرده است. در این پژوهش مقدار  $F_s$  فو در جدول ۳ منفی شده که نشان‌دهنده گسترش جمعیت‌ها در گذشته بوده است. گسترش جمعیت و ناهمگونی نرخ جهش بر روی مقدار  $D$  تاجیما نیز اثر منفی دارد، بنابراین گسترش ناگهانی جمعیت باعث مقدار منفی در  $D$  شده است (جدول ۳).

این مطالعه اطلاعات نسبتاً خوبی را در خصوص گونه‌های دوپای فیروز و دوپای هاتسونی در سطح استان اصفهان فراهم آورده است، اما باید توجه داشت که نتایج حاصل مربوط به تعداد اندک نمونه‌ها از جمعیت استان اصفهان بوده و نمی‌تواند به خوبی وضعیت این گونه را مشخص سازد و بر اساس نتایج این پژوهش به نظر می‌رسد که اکثر نمونه‌ها دارای روابط ژنتیکی نزدیکی با یکدیگر هستند. برای درک بهتر وضعیت ژنتیکی این گونه‌ها نیاز است در مطالعات تکمیلی ضمن افزایش تعداد نمونه‌های این منطقه،

بر اساس نتایج درخت تبارشناسی بیشترین احتمال نمونه‌های دوپای فیروز و هاتسونی در یک شاخه قرار می‌گیرند و به خوبی از گونه‌های برون گروه جدا می‌شوند (شکل ۲). به نظر می‌آید در میان نمونه‌های فیروز فاصله ژنتیکی چندانی مشاهده نشده است (به دلیل فاصله کم نمونه‌برداری) ولی گونه فیروز از گونه هاتسونی با وجود جدا بودن منطقه نمونه‌برداری (منطقه چوپانان نائین) دارای فاصله اندکی است و در یک زیر مجموعه قرار گرفته است. اگرچه این دو گونه به صورت دو گونه مجزا از هم معرفی شده‌اند اما بر اساس درخت تبارشناسی پژوهش حاضر فاصله چندانی بین دو گونه مشاهده نشده است. بر این اساس به نظر می‌رسد این دو گونه از نظر ژنوم میتوکندیایی بسیار شبیه به هم هستند با این وجود برای نظر قطعی نیاز به تحقیقات گسترده‌تر و با استفاده از نشانگرها و نمونه‌های بیشتر است.

آماره  $F_s$  فو از میانگین تعداد تفاوت‌های نوکلئوتیدی مشاهده شده میان نمونه‌ها برای آزمودن اینکه آیا افزایش معنی‌دار در تعداد جهش‌های اخیر یا تعداد ال‌های نادر موجود در مقایسه با نمونه‌های تصادفی طبیعی وجود دارد یا نه استفاده می‌کند. هر

قبیل کرمان، یزد و خراسان جنوبی در کنار این داده‌ها قرار بگیرد می‌توان دقیقاً مشخص کرد که ارتباطات تبارشناسی و ژنتیکی بین این جمعیت‌ها به چه صورتی است و آنگاه زمینه برای مدیریت بهتر و انجام اقدامات حفاظتی در سطح بین‌المللی و ملی فراهم خواهد شد.

نمونه‌های دوپای فیروز و هاتسونی در مناطق کشور را در مطالعات آتی مورد بررسی قرار داد تا بتوان به دید مناسبی در خصوص جمعیت‌های دوپای فیروز و هاتسونی در ایران رسید. علاوه بر این در صورتی که نمونه‌های سایر محدوده پراکنشی دوپای هاتسونی از

## REFERENCES

- Avice, J.C.; (2000). *Phylogeography: The History and Formation of Species*. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts.
- Darvish, J.; Hajjar, T.; Moghadam Matin, M.; Haddad, F.; Akbary Rad, S.; (2008). New species of five-toed Jerboa (Rodentia: Dipodidae, Allactaginae) from North-East Iran. *Iranian J. Sciences*; 19(2): 103-109.
- Dianat, M.; Aliabadian, M.; Darvish, J.; Akbarirad, S.; (2013). Molecular phylogeny of the Iranian Plateau five-toed jerboa, *Allactaga* (Dipodidea: Rodentia), inferred from mtDNA. *Mammalia*; 77: 95-103.
- Dianat, M.; Tarahomi, M.; Darvish, J.; Aliabadian, M.; (2010). Phylogenetic analysis of the five-toed Jerboa (Rodentia) from the Iranian Plateau based on mtDNA and morphometric data. *Iranian Journal of Animal Biosystematics*; 6(1): 49-59.
- Ghaderi, F.; (2012). Application of molecular markers in phylogenetic species studies: case study *Allactaga firouzi*. M.Sc. thesis in environmental sciences, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran.
- Haynes, S.; Darby, A.C.; Daniell, T.J.; Webster, G.; Van Veen, F.J.; Godfray, H.C.; Prosser, J.I.; Douglas, A.E.; (2003). Diversity of bacteria associated with natural aphid populations. *Appl Environ Microbiol*; 69(12):7216-7223.
- Holden, M.E.; Musser, G.G.; (2005). Family Dipodidae. In Wilson, D.E. & Reeder, D.M. (eds.) *Mammal Species of the World*, Third Edition. The Johns Hopkins University Press, Baltimore: 871-893.
- Hosseini, S.M.; Rezaei, H.R.; Varasteh, H.; Naderi, S.; Nikooy, F.; (2015). Genetic and Phylogenetic Analysis of Cytochrome *b* region in Wild Sheep of Buruieh Wildlife Refuge. *Journal of Agricultural Biotechnology*; 7(3): 90-104.
- Jaarola, M.; Martinkova, N.; Gunduz, I.; Brunhoff, C.; Zima, J.; Nadachowski, A.; Amori, G.; Bulatova, N.S.; Chondropoulos, B.; Fragedakis-Tsolis, S.; González-Esteban, J.; José López-Fuster, M.; Kandaurov, A.S.; Kefelioğlu, H.; da Luz Mathias, M.; Villate, I.; Searle, J.B.L.; (2004). Molecular phylogeny of the speciose vole genus *Microtus* (Arvicolinae, Rodentia) inferred from mitochondrial DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*; 33(3): 647-663.
- Jaarola, M.; Searle, J.B.; (2002). Phylogeography of field voles (*Microtus agrestis*) in Eurasia inferred from mitochondrial DNA sequences. *Molecular Ecology*; 11(12): 2613-2621.
- Karami, M.; Hutterer, R.; Benda, P.; Siah sarvie, R.; Kryštufek, B.; (2008). Annotated check-list of mammals of Iran. *Lynx*; 39: 63-102.
- Michaux, G.; Hewlett, L.J.; Messenger, S.L.; Goodeve, A.C.; Peake, I.R.; Daly, M.E.; Cutler, D.F.; (2003). Analysis of intracellular storage and regulated secretion of 3 von Willebrand disease-causing variants of von Willebrand factor. *Blood*; 102(7): 2452-2458.
- Rahimipour, M.; Malekian, M.; Hemami, M.R.; (2013). A Study of the Relation between Two Species of *Allactaga*, Hotson's Jerboa and Firouzi's Jerboa in Isfahan Province using morphological



- and dental traits. *Animal environment*; 4(3): 69-79.
- Rokas, A.; Williams, B.L.; King, N.; Carrol, S.B.; (2003). Genome-scale approaches to resolving incongruence in molecular phylogenies. *Nature*; 23: 425(6960): 798-804.
- Shenbrot, G.I.; (2009). On the conspecificity of *Allactaga hotsoni* Thomas, 1920 and *Allactaga firouzi* Womochel, 1978 (Rodentia: Dipodidae). *Mammalia* 73: 231-237.
- Shenbrot, G. I.; (1992). Spatial structure and niche patterns of a rodent community in the south Bukhara desert (Middle Asia). *Ecography*; 15: 347-357.
- Shenbrot, G.I.; Sokolov, V.E.; Heptner, V.G.; Kowalskaya, Y.M.; (2008). *Jerboas. Mammals of Russia and adjacent regions*. Enfield (USA): Science Publishers Inc.
- Shenbrot, G.I.; Krasnov, B.R; Rogovin, K.A.; (1999). *Spatial ecology of desert rodent communities*. Springer Verlag, Berlin.
- Torrioni, A.; Achilli, A.; Macaulay, V.; Richards, M.; Bandelt, H-J.; (2006). Harvesting the fruit of the human mtDNA tree. *Trends in Genetics*; 22(6): 339-345.
- Womochel, D.R.; (1978). A new species of *Allactaga* (Rodentia: Dipodidae) from Iran. *Fieldiana Zool*; 72: 65-73.