**مجله علمی ـ پژوهشی زیست‌شناسی جانوری تجربی**
سال ششم، شماره چهارم، پیاپی بیست و چهارم، بهار ۱۳۹۷ (۱۲۱-۱۱۳)

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

**مرتضی نادری[۱]، سعید محمّدی[۲*]، ندا بهداروند[۳]**

۱. استادیار، گروه محیط زیست، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه اراک

۲. مربی، گروه محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه زابل، ایران

۳. دکترای گروه محیط زیست، داشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۱/۱۴ -تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۲/۲۴)

**چکیده**

ژن‌های میتوکندریایی، ابزاری مهم در مطالعات مختلف در زمینه‌های تکامل جانوران، فیلوجغرافیایی و فیلوژنتیک است. براساس 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 نائین استان اصفهان نمونه‌برداری شدند، مشخص شد که واگرایی بین دو گروه مشاهده می‌شود، ولی این میزان از واگرایی درون‌گونه‌ای به اندازه‌ای نیست که منجر به تفکیک دو گونه شود. با این حال، نتیجه‌گیری می‌شود که شرایط زیستگاهی مختلف، رژیم غذایی و رفتار تغذیه متفاوت باعث القای واگرایی تکاملی شده و این فرایند در آینده به‌ویژه در صورت عدم ایجاد جریان ژن بین جمعیت‌ها ممکن است منجر به گونه‌زایی شود. مطالعات گسترده و دقیق‌تر با تکیه بر سایر مارکرها همانند ریزماهواره‌ها و ژنوم هسته‌ای پیشنهاد می‌شود.

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

# Analysis of Genetic Diversity of Iranian Jerboa (*Allactaga Firouzi*) and Hotson's Jerboa (*Allactaga hotsoni*)

**Morteza Naderi[1], Saeid Mohammadi[2*], Neda Behdarvand[3]**

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. Ph.D, 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)

**Abstract**

Mitochondrial genes are important tools in various studies in the fields of animal evolution, 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 were sampled from the Mirabad,Shahreza, plains and Chupanan in Naein, Isfahan Province, respectively. It was found that there is divergence between two groups, but this degree of intraspecific divergence between two species is not enough to lead to the divergence. However, it is concluded 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. It is recommended extensive studies relying on other molecular markers such as microsatellites and nDNA.

**Keywords:** evolutionary divergence, Taxonomy, Phylogeny, Cytochrome *b*.

*نویسنده مسئول: سعید محمدی
E-mail: smohammadi@uoz.ac.ir

## مقدمه

بررسی‌های تاکسونومیکی 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 ۱۳گونه و جنس *Pygeretmus* با سه گونه (Holden & Musser, 2005). گونه‌های متعلق به جنس Allactaga عبارتند از دوپای بالیکان (*Allactaga 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 چهار انگشتی (*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 شد. این گونه به‌واسطه پاها، گوش و دم بلندتر، رنگ‌آمیزی تیره‌تر موهای بدن، جمجمه 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 مکان‌مون 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 کرد (Shenbrot *et al.*, 2008; 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 می‌کند. تحلیل تابع تمایزکننده[1] 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 به‌دست 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 و دندانی نمونه‌های

1. Discriminant Function Analysis (DFA)

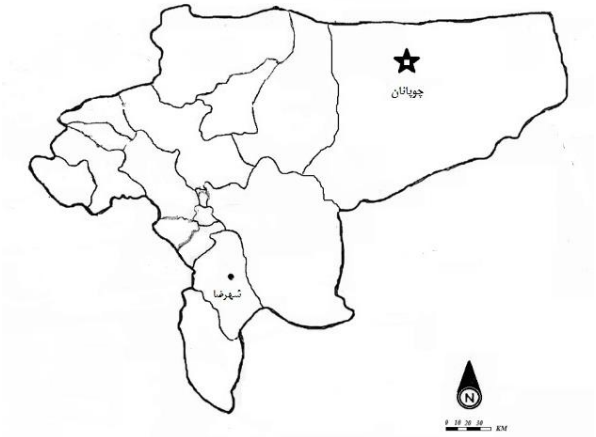
دوپای جمع‌آوری شده از نقاط مختلف استان اصفهان، وجود اختلاف را بین دوپای هاتسون و فیروز مسجل ندانستـه و پیشنهـاد زیرگونه‌های مجزا را داده‌اند. Ghaderi (2010) با مطالعه تعداد شش نمونه دوپا، روابط فیلوژنتیک گونه‌های جنس *Allactaga* را با استفاده از ژن سیتوکروم اکسیداز ساب یونیت I تحلیل کرده و نتایج نشان‌دهنده 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 شود (Rahimipazhuh *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 است (Rokas *et al.*, 2003). به دلیل اینکه تمام DNA میتوکندریایی به صورت یک واحد خاص یا هاپلوتایپ به ارث می‌رسد، خویشاوندی‌های بین DNA میتوکندری افراد متفاوت را می‌تواند به صورت یک درخت ژنی نشان داد. الگوهای این درخت‌های ژنی 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 برای 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 به‌هم فراهم شود.

## 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 شد.

### 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 شد (Michaux *et al.*, 2003).




**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 *et al.*, 2004 |
| H15915SP | 5´-TCAATTACTGGTTTACAAGAC-3´ | Jaarola and Searle 2002 |
| L15162MARV | 5´-TACGTYCTTCCATGAGGCCAAATATC-3´ | Haynes *et al.*, 2003 |
| 15408 Marv | 5´-GYTACGTYCTTCCATGAGGCCAAATATC-3´ | Haynes *et al.*, 2003 |

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 تأیید تکثیر ناحیه مورد نظر، 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 برای تعیین همولوژی توالی‌ها استفاده شد. 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**

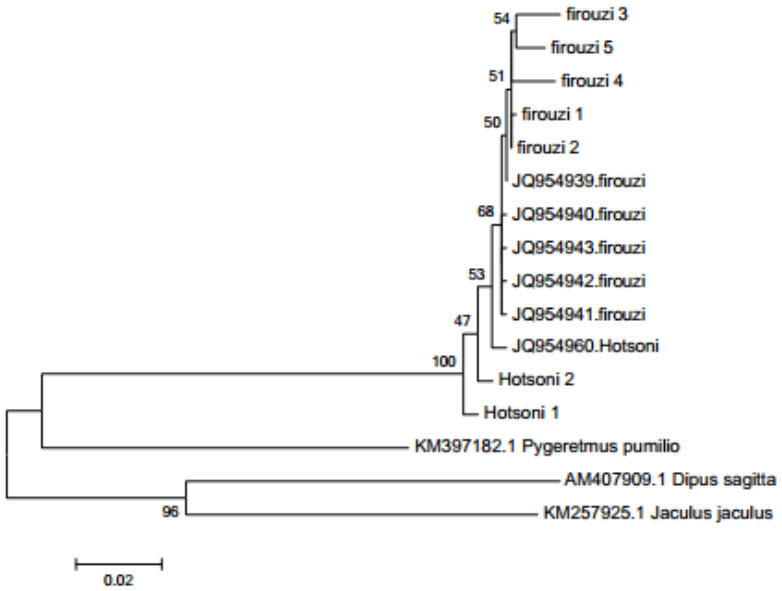
نتایج حاصل از توالی‌یابی توسط نرم‌افزار Seqscape V2.6 (Applied Biosystems) ویرایش شد. به دلیل اینکه طول توالی یکی از نمونه‌ها خیلی کوتاه بود از دو نمونه دوپای هاتسون استفاده شد. سپس توالی‌ها توسط الگوریتم Clustal W در نرم‌افزار MEGA.5 ردیف‌آرایی انجام شد. بهترین مدل تغییر نوکلئوتیدی با استفاده از نرم‌افزار 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 سیتوکروم‌بی گونه دوپای فیروز و یک توالی از گونه دوپای هاتسون موجود در ژن بانک برای مقایسه تبارشناسی مورد استفاده قرار گرفت (شکل۲). 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 سیتوکروم‌بی از دی ان ای میتوکندری شبکه هاپلوتایپی به روش اتصال میانه با استفاده از نرم افزار NETWORK V4.1.0 رسم شد.

## 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

هاتسونی در جدول ۳ ارائه شده است و مشاهده می‌شود که بیشترین فاصله ژنتیکی با مقدار ۰/۰۲۴ بیـن نمونـه‌هـای ۱ و ۵ یعنی دوپای *hotsoni*1 و Firouzi3 است. کمترین فاصله ژنتیکی نیز با مقدار ۰/۰۰۱ بین نمونه‌های ۲ و ۳ یعنی دوپای Firouzi1 و Firouzi2 است.




**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 ۵۰۰۰ بوت استرپ در نرم‌افزار Mega5 ترسیم شده است. به‌دلیل 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 شدند

| مرحله | زمان (دقیقه) | درجه حرارت | مراحل PCR |
|---|---|---|---|
| ۱ | ۷ | ۹۵ | واسرشته‌سازی 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 | *hotsoni*3 | ۰ | | | | | | |
| ۲ | Firouzi1 | ۰/۰۱۱ | ۰ | | | | | |
| ۳ | Firouzi2 | ۰/۰۱۳ | **۰/۰۰۱** | ۰ | | | | |
| ۴ | *hotsoni*2 | ۰/۰۱۰ | ۰/۰۱۰ | ۰/۰۰۹ | ۰ | | | |
| ۵ | Firouzi3 | **۰/۰۲۴** | ۰/۰۱۲ | ۰/۰۱۱ | ۰/۰۲۱ | ۰ | | |
| ۶ | Firouzi4 | ۰/۰۲۱ | ۰/۰۱۱ | ۰/۰۱۰ | ۰/۰۱۷ | ۰/۰۱۹ | ۰ | |
| ۷ | Firouzi5 | ۰/۰۲۱ | ۰/۰۰۹ | ۰/۰۰۸ | ۰/۰۱۷ | ۰/۰۱۷ | ۰/۰۱۸ | ۰ |

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

**جدول ۳.** مقادیر محاسبه شده برخی پارامترهای تنوع مولکولی و شاخص تاجیما و فو 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 NETWORK V4.1.0 رسم شد. شبکه هاپلوتایپی ارتباطات تکاملی بین هاپلوتیپ‌ها را به صورت گرافیکی نشان می‌دهد. در این شبکه، به روش اتصال میانه ارتباط بین هاپلوتایپ‌های دوپای فیروز و هاتسونی در شهرستان نایین اصفهان نشان داده شده (شکل ۳) که از هفت هاپلوتایپ تشکیل شده است. هاپلوتایپ شماره یک تا هفت به ترتیب مربوط به نمونه‌های *hotsoni*1، Firouzi1، Firouzi2، *hotsoni*2، Firouzi3، Firouzi4 و Firouzi5 است.

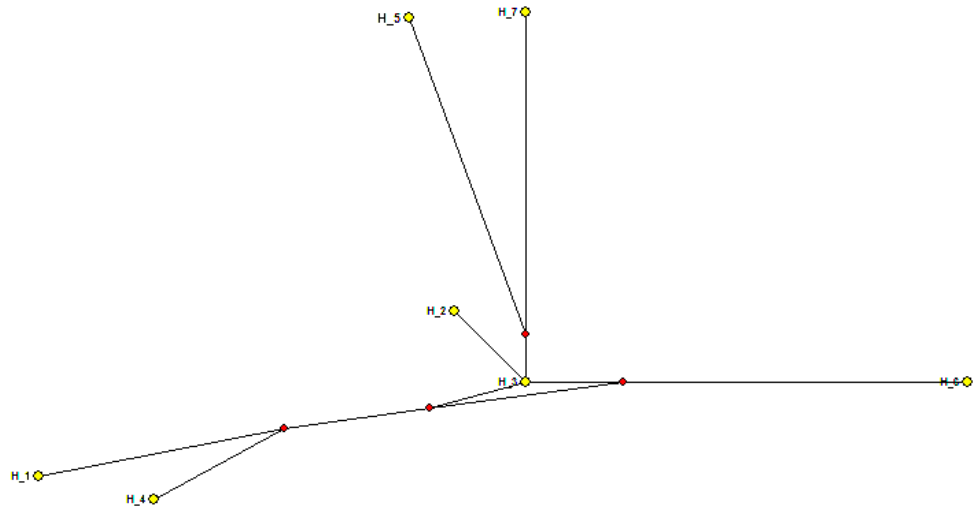
## بحث و نتیجه‌گیری

کشور ایران با دارا بودن ۷۱ گونه از راسته جوندگان (۳۸/۲ درصد کل پستانداران) در بردارنده فون متنوعی از پستانداران کوچک است (Karami *et al.*, 2008). در برخی مطالعات انجام‌شده، از دوپای فیروز به عنوان گونه‌ای مشتق‌شده از دوپای هاتسون یاد شده است (Darvish *et al.*, 2008). Shenbrot (1991) این گونه را گونه‌ای همسان با دوپای کوچک دانسته، اما در برخی بررسی‌ها از این گونه همسان با دوپای هاتسون نام می‌برد (Shenbrot *et al.*, 1999). با توجه به عدم‌وجود 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 زیرگونه‌ای 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 ترسیم‌شده (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 (Avise, 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 (*hotsoni*1) و (Firouzi3) هستند و کمترین فاصله (۰/۰۰۱) بین هاپلوتایپ‌های دو (Firouzi1) و سه (Firouzi2) بود و این مورد به خوبی، نزدیکی نمونه‌های مورد مطالعه و وجود روابط خویشاوندی را بین این نمونه‌ها نشان می‌دهد.




**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 *hotsoni*1 h_1: NETWORK. V4.1.0؛ Firouzi1:h_2؛ Firouzi2 h_3:؛ *hotsoni*2 h_4:؛ Firouzi3 :h_5؛ Firouzi4 :h_6؛ Firouzi5 : h_7.

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 زیرمجموعه 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 به‌هم هستند. با این وجود برای نظر قطعی نیاز به تحقیقات گسترده‌تر و با استفاده از نشانگرها و نمونه‌های بیشتر است.

آمار Fs فو از میانگین تعداد تفاوت‌های نوکلئوتیدی مشاهده شده میان نمونه‌ها برای آزمودن اینکه آیا افزایش معنی‌دار در تعداد جهش‌های اخیر یا تعداد الل‌های نادر موجود در مقایسه با نمونه‌های تصادفی طبیعی وجود دارد یا نه، استفاده می‌کند. هر 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 و جمعیت، گسترش ناگهانی را تجربه نکرده است. در این پژوهش مقدار Fs فو در جدول ۳ منفی‌شده 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 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 به‌خوبی وضعیت این گونه را مشخص سازد و بر اساس نتایج این پژوهش به‌نظر 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، 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 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.

## REFERENCES


Avise, 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.; Fraguedakis-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.; Siahsarvie, 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, ME.; Cutler, DF. (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 conspecifity of *Allactaga hotsoni* Thmas, 1920 and *Allactaga firouzi* Womochel, 1978 (Rodentia: Dipodidae). Mammalia 73: 231-237.

——— (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.

Torroni, A.; Achilli, A.; Macauly, 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.