

Gene Exchange in Hybridization Regions between House Mouse Complex Subspecies (*M. m. castaneus* and *M. m. domesticus*) using Mitochondrial Genome of D-loop Region (mtDNA)

Hassan Rajabi Maham^{1*}, Farid Faizi-Baghel Abad²

¹ Assistant Professor, Department of Animal Sciences and Biotechnology, Faculty of Life Sciences and Biotechnology, Shahid-Beheshti University, Tehran, Iran

² M.S. Student of Animal Sciences and Biotechnology, Faculty of Life Sciences and Biotechnology, Shahid-Beheshti University, Tehran, Iran

Abstract

Genomic aspects of animal's hybrid zone are studding in the recent decade. Introgression of gene in the evolution process is a very challenging issue among scientists. Gene flow reduction is probably a consequence of the speciation genes involvement. In this study, the influence of different geographical factors on gene introgression in hybrid index (genomic cline) was analyzed. We investigated 127 D-Loop sequences containing 140 independent loci for analysis: 82 sequences from *M. m. castaneus* and 45 sequences from *M. m. domesticus*. Results of the Introgress and Barrier programs showed gene invasion of *M. m. domesticus* subspecies in genomic background of *M. m. castaneus* subspecies. So, *M. m. domesticus* subspecies acts as an invasive subspecies and *M. m. castaneus* as a genome receptor. Also, our results showed that environmental elements such as mounts, lakes and salt marsh play the role of the barrier between the two subspecies in the studied regions. The results of the genomic cline represent the asymmetric genomic influence.

Keywords: *M. m. domesticus*, *M. m. castaneus*, Hybridization Index, Genomic Cline, D-Loop.

* hrmaham@gmail.com

مراوده ژنی در نواحی هیبریداسیون بین زیرگونه‌های موش خانگی (*M. m. domesticus* و *M. m. castaneus*) با استفاده از ژنوم ناحیه D-loop میتوکندری

حسن رجیبی مهمان^{۱*}، فرید فیضی باقل آباد^۲

^۱ استادیار گروه علوم و زیست فناوری جانوری، دانشکده علوم و فناوری زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

^۲ دانشجوی کارشناسی ارشد بیوسستماتیک جانوری، دانشکده علوم و فناوری زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

چکیده

مطالعه درباره مناطق هیبرید جانوری از نظر ژنومی طی دهه اخیر در حال انجام است. بحث درباره نفوذ (Introgression) ژنوم در فرایند تکامل بین دانشمندان چالش برانگیز است؛ هرچند کاهش یافتن ورود ژن در مناطق مختلف نشان دهنده درگیر بودن ژن‌های گونه‌زایی است. در بررسی حاضر، عوامل جغرافیایی دخالت کننده در نفوذ ژن با شاخص هیبریداسیون (کلاین ژنومی) مقایسه شدند. در مطالعه حاضر، ۱۲۷ توالی بررسی شدند که ۸۲ توالی به *M. m. castaneus* و ۴۵ توالی به *M. m. domesticus* مربوط بودند. ۱۴۰ لوکوس از این توالی‌ها استخراج و در تجزیه و تحلیل‌ها وارد شدند. بررسی نتایج با نرم‌افزارهای Introgression و Barrier نشان داد ژنوم زیرگونه *M. m. domesticus* به تدریج در حال نفوذ به درون زیرگونه *M. m. castaneus* است و زیرگونه *M. m. domesticus* زیرگونه مهاجم و زیرگونه *M. m. castaneus* زیرگونه پذیرنده شناخته شد؛ همچنین عوامل طبیعی از جمله کوه‌ها، دریاچه‌ها و نمکزارهایی شناسایی شدند که نقش مانع ژنتیکی را برای این دو زیرگونه در ایران بازی می‌کنند. نتایج کلاین ژنومی نفوذ نامتقارن ژنتیکی را نشان دادند.

واژه‌های کلیدی: *M. m. domesticus*، *M. m. castaneus*، شاخص هیبریداسیون، کلاین ژنومی، ناحیه D-loop.

مقدمه

موش خانگی در سراسر قاره‌ها، از بیابان‌ها تا جزایر

استوایی و از سطح دریا تا ارتفاع بیش از ۳۰۰۰ متر، با وابستگی نزدیک به انسان و به شکل همزیست گسترش یافته است. دو ویژگی اصلی، موش خانگی را مدلی منحصر به فرد برای مطالعه‌های بر پایه ژنتیک معرفی کرده‌اند: نخست اینکه تاریخ تکاملی و روابط فیلوژنی آن به طور کامل شناخته شده است (Boursot et al., 1993; Guenet and Bonhomme, 2003)؛ دوم اینکه توالی ژنتیکی و منابع ژنومیک آن از سال ۲۰۰۲ به طور کامل در دسترسند (Macholán et al., 2011). موش خانگی به جنس *Mus* تعلق دارد و در شبه‌قاره هند تکامل یافته و با گسترش در جهت‌های مختلف، سه گروه کاملاً مجزا و شناخته‌شده را ایجاد کرده است (Boursot et al., 1993; Bonhomme et al., 2011; Siaharsvie et al., 2012). بر اساس نظریه مدل متوالی

موش خانگی در سراسر قاره‌ها، از بیابان‌ها تا جزایر استوایی و از سطح دریا تا ارتفاع بیش از ۳۰۰۰ متر، با وابستگی نزدیک به انسان و به شکل همزیست گسترش یافته است. دو ویژگی اصلی، موش خانگی را مدلی منحصر به فرد برای مطالعه‌های بر پایه ژنتیک معرفی کرده‌اند: نخست اینکه تاریخ تکاملی و روابط فیلوژنی آن به طور کامل شناخته شده است (Boursot et al., 1993; Guenet and Bonhomme, 2003)؛ دوم اینکه توالی ژنتیکی و منابع ژنومیک آن از سال ۲۰۰۲ به طور کامل در دسترسند (Macholán et al., 2011). موش خانگی به جنس *Mus* تعلق دارد و در شبه‌قاره هند تکامل یافته و با گسترش در جهت‌های مختلف، سه گروه کاملاً مجزا و شناخته‌شده را ایجاد کرده است (Boursot et al., 1993; Bonhomme et al., 2011; Siaharsvie et al., 2012). بر اساس نظریه مدل متوالی

* hrmaham@gmail.com

Copyright©2019, University of Isfahan. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0>), which permits others to download this work and share it with others as long as they credit it, but they cannot change it in any way or use it commercially.

طبیعی گسترش می‌یابند (Gompert and Buerkle, 2009). مطالعه‌های پیشین از نظریه کلاین جغرافیایی بهره برده‌اند که رابطه بین مختصات جغرافیایی و تنوع ژنتیکی را برای یافتن جدایی‌های تولیدمثلی استفاده می‌کند. در مطالعه کلاین ژنومی که کلاین‌ها با فرکانس ژنوتیپ در لوکوس‌های هر فرد متناسبند، یک تابع به دست می‌آید؛ سپس این کلاین‌ها با الگوی ژنومی مقایسه می‌شوند و این مقایسه، میزان نفوذ ژن (Introgress) را برای ژنوتیپ‌های خاص در لوکوس فرد نشان می‌دهد (Lexer et al., 2007; Gompert and Buerkle, 2009). با مقایسه الگوی نفوذ بین دو منطقه هیبرید می‌توان تعیین کرد آیا تغییرات ژنومی فرد با فشار انتخاب طبیعی برابر است یا خیر؛ تفاوت الگوهای نفوذ بین مناطق هیبرید نشان‌دهنده تنوع ژنتیکی ژن‌های شرکت‌کننده در جدایی تولیدمثلی است (Nolte et al., 2009). مقدار نفوذ برای لوکوس‌های ژنی افراد نسبت به زمینه (ریشه) ژنومی با استفاده از کلاین ژنومی تعیین می‌شود (Gompert and Buerkle, 2009). اطلاعات در زمینه معماری ژنتیک جدایی تولیدمثلی اجازه می‌دهد نقاطی را تشخیص دهیم که بیشترین احتمال گونه‌زایی وجود دارد و استنباط کنیم روند تغییرات ژنتیکی به‌طور همراه (توأم) تغییر می‌کند و یا حتی گونه‌زایی را تسهیل می‌کند (Bradshaw Jr et al., 1995; Coyne and Orr, 2004; Martin et al., 2008; Minder and Widmer, 2008). قدرت هیبریداسیون و نفوذ سازشی پدیده‌های مهم تکاملی‌اند (Lenski et al., 1991; Burch and Chao, 1999). الگوهای مختلف نفوذ نشان می‌دهند مرزهای گونه‌ها نیمه‌تراوا (Semi-permeable) هستند. مجموعه‌ای از لوکوس‌ها در موانع تولیدمثلی نشان می‌دهد برای حفظ کامل گونه‌ها باید جریان ژنی

یا خطی که بر مبنای لاین‌های mtDNA است، آسیای میانه منشأ موش است. Prager و همکاران در سال ۱۹۹۸ غرب آسیای میانه را مکانی برای منشأ جد *M. m. domesticus* پیشنهاد کردند که سپس با گسترش به سمت جنوب شبه‌جزیره عربستان و حرکت به سمت جنوب آسیای میانه، جد *M. m. castaneus* و با حرکت به سمت شمال آسیای میانه، جد *M. m. musculus* ایجاد شده است. به‌تازگی ایران منشأ گونه کمپلکس موش خانگی پیشنهاد شده است (Rajabi-Maham et al., 2012). نخستین بار، Schwarz در سال ۱۹۴۳ زیرگونه *M. m. domesticus* را نام‌گذاری کرد؛ این زیرگونه منبع اصلی خزانه ژنی سوبه‌های موش‌های آزمایشگاهی است و در ایران بیشتر در مناطق غربی، شمال‌غربی و جنوب‌غربی پراکنش دارد. Water house برای نخستین بار در سال ۱۸۴۳ زیرگونه *M. m. castaneus* را نام‌گذاری کرد که در سرتاسر جنوب شرقی آسیا، بین شمال شبه‌قاره هند و مناطقی بین ایران و افغانستان و بخش‌های جنوبی ایران از خوزستان به سمت بوشهر و به سمت افغانستان وجود دارد. اعتقاد بر اینست جدایی تولیدمثلی ممکن است به‌علت ناسازگاری ژنتیکی یا عوامل زیست‌محیطی بیرونی باشد؛ بنابراین، درک درست اساس ژنتیکی و انزوا برای تجزیه و تحلیل فرایندهای تکاملی و عوامل محیطی لازم است (Nolte et al., 2009). تجزیه و تحلیل ژنتیک فردی و همچنین توزیع ژن‌ها در سراسر ژنوم به ما اجازه می‌دهد فرایندهای تکاملی ایجادشده را تعیین کنیم (Coyne and Orr, 2004; Dieckmann and Doebeli, 2004). درحال حاضر، داده‌های تجربی‌ای وجود ندارند که نشان دهند چگونه موانع در تولیدمثل ظاهر می‌شوند و در سیستم‌های

کاهش یابد. آلل‌های موجود در جایگاه‌هایی که برای هر دو زمینه ژنومی مناسبند به راحتی مبادله می‌شوند؛ اما آلل‌هایی که در موانع بین گونه‌ها یا سازگاری محلی شرکت دارند در زمینه ژنومی به سختی تبادل می‌شوند (Barton and Hewitt, 1985; Gompert and Buerkle, 2009; Gompert and Buerkle, 2010). Malécot در سال ۱۹۴۸ یکی از نخستین مطالعه‌ها در زمینه تفاوت‌های ژنتیکی در پرتوی فاصله جغرافیایی را منتشر کرد. همبستگی مکانی یکی از روش‌های تجزیه و تحلیل جغرافیایی و راهیست برای ارزیابی اینکه آیا فاصله ژنتیکی و جغرافیایی با یکدیگر ارتباط دارند یا خیر و آیا چنین ارتباطی دارای الگوی فضاییست یا خیر.

در بررسی حاضر، به منظور تجزیه و تحلیل نفوذ ژن در مناطق هیبرید بین دو دودمان موش خانگی با تفاوت‌های ژنتیکی و موانع تولیدمثلی در ایران به مطالعه دو زیرگونه از *Mus* (*M. m. castaneus* و *M. m. domesticus*) پرداخته شد تا میزان نفوذ (Introgression) و موانع (Barriers) موجود میان آنها بررسی شود؛ برای این هدف، از داده‌های بخش غیرکدکننده ناحیه D-Loop ژنوم میتوکندری استفاده شد که طی سال‌های گذشته در نمونه‌های نواحی داغ هیبریداسیون تعیین توالی شده است.

مواد و روش‌ها

در مطالعه حاضر از ۱۲۷ توالی استفاده شد که ۸۲ عدد از آنها به زیرگونه *M. m. castaneus* و ۴۵ عدد از توالی‌ها به *M. m. domesticus* تعلق داشتند. ۱۴۰ جایگاه (لوکوس) در این توالی‌ها بررسی شدند. ابتدا برای بررسی Introgression دو زیرگونه، توالی‌ها با نرم‌افزار MEGA.5 هم‌ردیف‌سازی شدند (Tamura

et al., 2011)؛ سپس سایت‌های Invariable حذف و تنها با استفاده از سایت‌های Variable و Gap‌ها بهترین مدل تکاملی تعیین شد. تعریف جمعیت برای داده‌های مدنظر با نرم‌افزار DnaSP (Librado and Rozas, 2009) انجام شد. نرم‌افزار Arlequin (Huson and Arlequin, 2006) به منظور انجام آنالیز مولکولی واریانس (AMOVA) برای داده‌ها استفاده شد. پس از تعیین هاپلوتیپ‌ها و فرکانس تغییر لوکوس‌ها، مقدار تغییر هریک از لوکوس‌ها تعیین شد؛ تنها سایت‌های Variable استفاده شدند و هریک از لوکوس‌های مدنظر با یک کاراکتر ساده کدگذاری و مقدار تغییرات محاسبه شد. از آنجا که تعداد لوکوس‌های بدون کد زیاد بود، حدود ۷۶ لوکوس که باعث ایجاد شکافی سراسری می‌شدند به منظور تجزیه و تحلیل دقیق‌تر حذف و تنها ۶۴ لوکوس متغیر باقیمانده بررسی شدند؛ سپس این داده‌ها با نرم‌افزارهای R و Introgress تحلیل شدند. دستورعمل پیوست ۱ برای وارد کردن داده‌ها و تعریف آنها در نرم‌افزار Introgress استفاده شد. مقدار نفوذ برای هریک از زیرگونه‌ها به‌طور جداگانه محاسبه شد و مقدار نفوذ دوطرفه بین دو گونه به دست آمد. شکل نفوذ و کلاین‌های هریک از لوکوس‌های مطالعه‌شده با برنامه Introgress به دست آمد. توالی‌های یادشده برای تعیین Barrier بین دو زیرگونه استفاده شدند. مختصات جغرافیایی هریک از توالی‌ها تعیین شد و پس از هم‌ردیف‌سازی توالی‌ها، ابتدا بهترین مدل تکاملی تعیین و با نرم‌افزار DnaSP نسبت به تعریف جمعیت‌ها اقدام شد. پس از به دست آوردن ماتریکس فاصله برای داده‌ها بر اساس تفاوت ژنتیکی و استخراج آن به شکل فایل مستقل، کار با نرم‌افزار Barrier آغاز شد. ابتدا Barrier‌های موجود میان افراد هریک از زیرگونه‌ها

کاهش یابد. آلل‌های موجود در جایگاه‌هایی که برای هر دو زمینه ژنومی مناسبند به راحتی مبادله می‌شوند؛ اما آلل‌هایی که در موانع بین گونه‌ها یا سازگاری محلی شرکت دارند در زمینه ژنومی به سختی تبادل می‌شوند (Barton and Hewitt, 1985; Gompert and Buerkle, 2009; Gompert and Buerkle, 2010). Malécot در سال ۱۹۴۸ یکی از نخستین مطالعه‌ها در زمینه تفاوت‌های ژنتیکی در پرتوی فاصله جغرافیایی را منتشر کرد. همبستگی مکانی یکی از روش‌های تجزیه و تحلیل جغرافیایی و راهیست برای ارزیابی اینکه آیا فاصله ژنتیکی و جغرافیایی با یکدیگر ارتباط دارند یا خیر و آیا چنین ارتباطی دارای الگوی فضاییست یا خیر.

در بررسی حاضر، به منظور تجزیه و تحلیل نفوذ ژن در مناطق هیبرید بین دو دودمان موش خانگی با تفاوت‌های ژنتیکی و موانع تولیدمثلی در ایران به مطالعه دو زیرگونه از *Mus* (*M. m. castaneus* و *M. m. domesticus*) پرداخته شد تا میزان نفوذ (Introgression) و موانع (Barriers) موجود میان آنها بررسی شود؛ برای این هدف، از داده‌های بخش غیرکدکننده ناحیه D-Loop ژنوم میتوکندری استفاده شد که طی سال‌های گذشته در نمونه‌های نواحی داغ هیبریداسیون تعیین توالی شده است.

مواد و روش‌ها

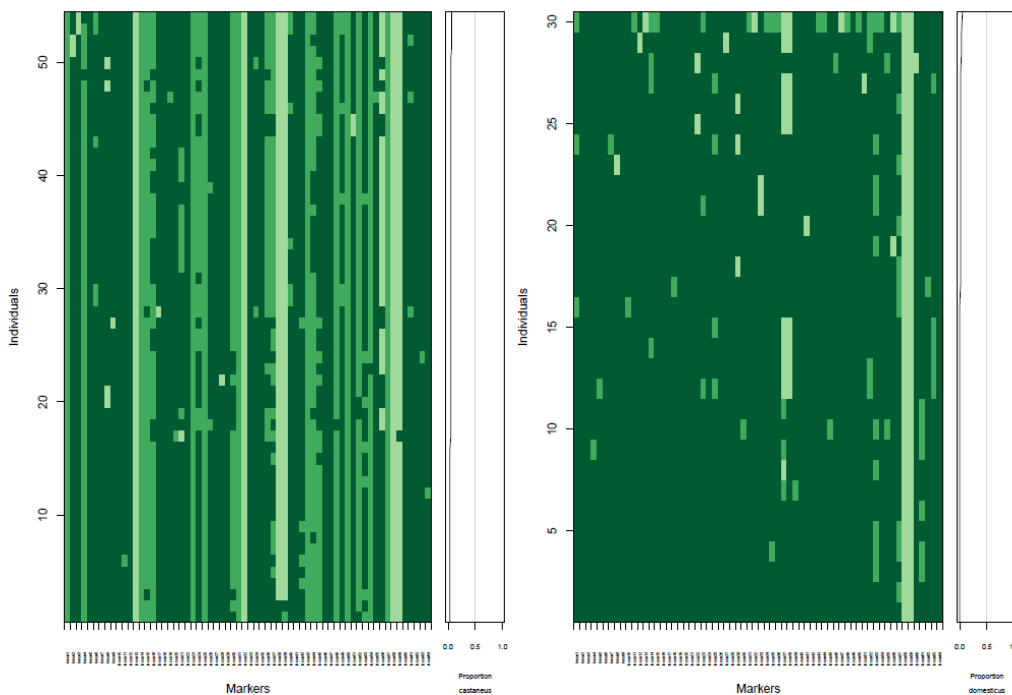
در مطالعه حاضر از ۱۲۷ توالی استفاده شد که ۸۲ عدد از آنها به زیرگونه *M. m. castaneus* و ۴۵ عدد از توالی‌ها به *M. m. domesticus* تعلق داشتند. ۱۴۰ جایگاه (لوکوس) در این توالی‌ها بررسی شدند. ابتدا برای بررسی Introgression دو زیرگونه، توالی‌ها با نرم‌افزار MEGA.5 هم‌ردیف‌سازی شدند (Tamura

به روشنی شیوه نفوذ این دو زیرگونه را باهم و به طور جداگانه نشان می‌دهد. بررسی‌ها نشان دادند میزان نفوذ به درون زیرگونه *M. m. domesticus* بیشتر و به درون زیرگونه *M. m. castaneus* کمتر است؛ درحقیقت، زیرگونه *M. m. castaneus* نفوذ ژن زیرگونه دیگر در افراد خود را به میزان بیشتری نشان می‌دهد.

به طور جداگانه با نرم‌افزار Barrier و سپس Barrier دو زیرگونه با یکدیگر مشخص شد (Manni et al., 2004).

نتایج

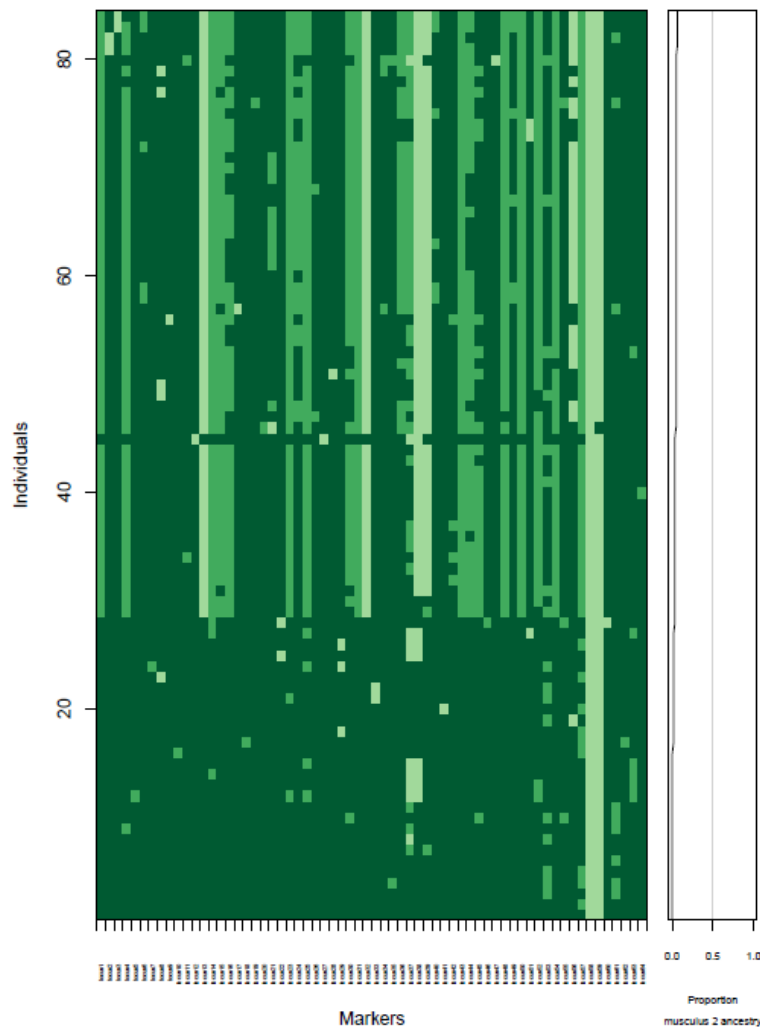
تعداد هاپلوتیپ‌ها برای *M. m. castaneus* ۵۴ عدد و برای *M. m. domesticus* ۳۰ عدد به دست آمد. تصویر به دست آمده (شکل ۱) در بررسی با نرم‌افزار Introgress



شکل ۱- سمت چپ. میزان نفوذ ژن در دو زیرگونه بررسی شده در مطالعه حاضر؛ رنگ سبز تیره نشان‌دهنده ژنوتیپ‌های هموزیگوت در *M. m. domesticus* و رنگ سبز روشن نشان‌دهنده ژنوتیپ‌های هتروزیگوت در *M. m. domesticus* است، سمت راست. رنگ سبز تیره نشان‌دهنده ژنوتیپ‌های هموزیگوت در *M. m. castaneus* و رنگ سبز روشن نشان‌دهنده ژنوتیپ‌های هتروزیگوت در *M. m. castaneus* است. بلوک‌های سفید میانی نشان‌دهنده Missing data هستند. زیرگونه *M. m. castaneus* میزان نفوذ ژن بیشتری را نسبت به زیرگونه دیگر از خود نشان می‌دهد.

نشان می‌دهد. کلاین‌ها نیز میزان نفوذ را در هر کدام از لوکوس‌ها نشان می‌دهند (پیوست آنلاین ۲). در کلاین‌ها نیز ۶۴ لوکوس به طور جداگانه بررسی شدند. از آنجا که هردو زیرگونه در ایران ناحیه هیبرید دارند، این میزان نفوذ در محل تلاقی آنهاست.

بررسی میزان نفوذ در هر دو زیرگونه باهم نشان داد ژن‌های این دو زیرگونه نفوذ نسبتاً کمی در یکدیگر دارند (شکل ۲)؛ در شکل ۲، نمودار سمت راست نشان می‌دهد ابتدا خط نفوذ اندک است، اما رفته رفته این نفوذ به طور شیب‌دار و آهسته افزایش می‌یابد و انتهای خط نفوذ، بیشترین میزان نفوذ را برای این دو زیرگونه

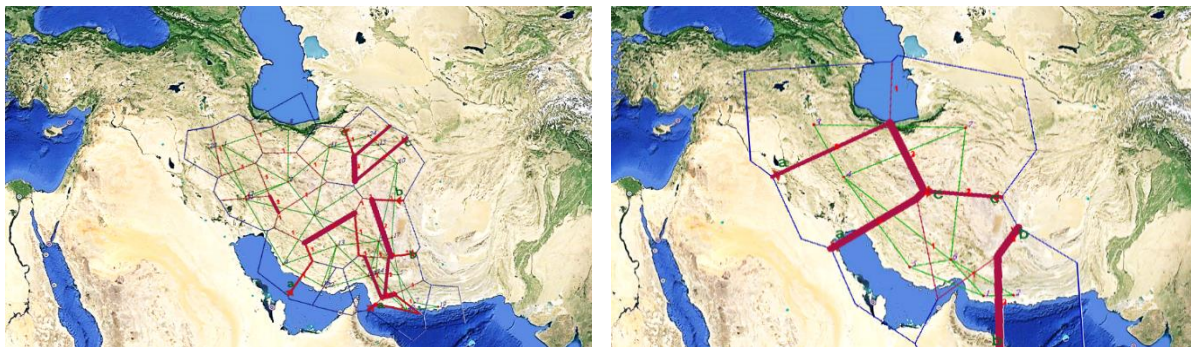


شکل ۲- مقایسه میزان نفوذ در هر دو زیرگونه باهم؛ رنگ سبز تیره نشان‌دهنده ژنوتیپ‌های هموزیگوت *M. m. castaneus* و *M. m. domesticus* (P1/P1) و سبز روشن نشان‌دهنده ژنوتیپ‌های هتروزیگوت در *M. m. castaneus* و *M. m. domesticus* است (P1/P2). بلوک‌های سفید میانی Missing data را نشان می‌دهند.

Barrier قوی‌ترین. این زیرگونه سه Barrier (a, b و c) دارد؛ Barrier اول (a) نخستین و قوی‌ترین است و b و c در رتبه‌های بعد قرار دارند. این Barrierها می‌توانند شامل کوه‌ها، رشته کوه‌ها، رودها، کویرها و دیگر موانع طبیعی و یا مصنوعی ساخته شده به دست بشر باشند. شکل (۳)، سمت راست Barrier موجود در درون زیرگونه *M. m. castaneus* را نشان می‌دهد که آن هم سه Barrier دارد که در بخش‌های شمال شرقی، شرق، جنوب شرقی و جنوب ایران قرار دارند.

در بررسی Barrierهای بین دو زیرگونه، تصویرهای جالبی از Barrier موجود در درون هر زیرگونه به طور جداگانه و هر دو زیرگونه باهم به دست آمد.

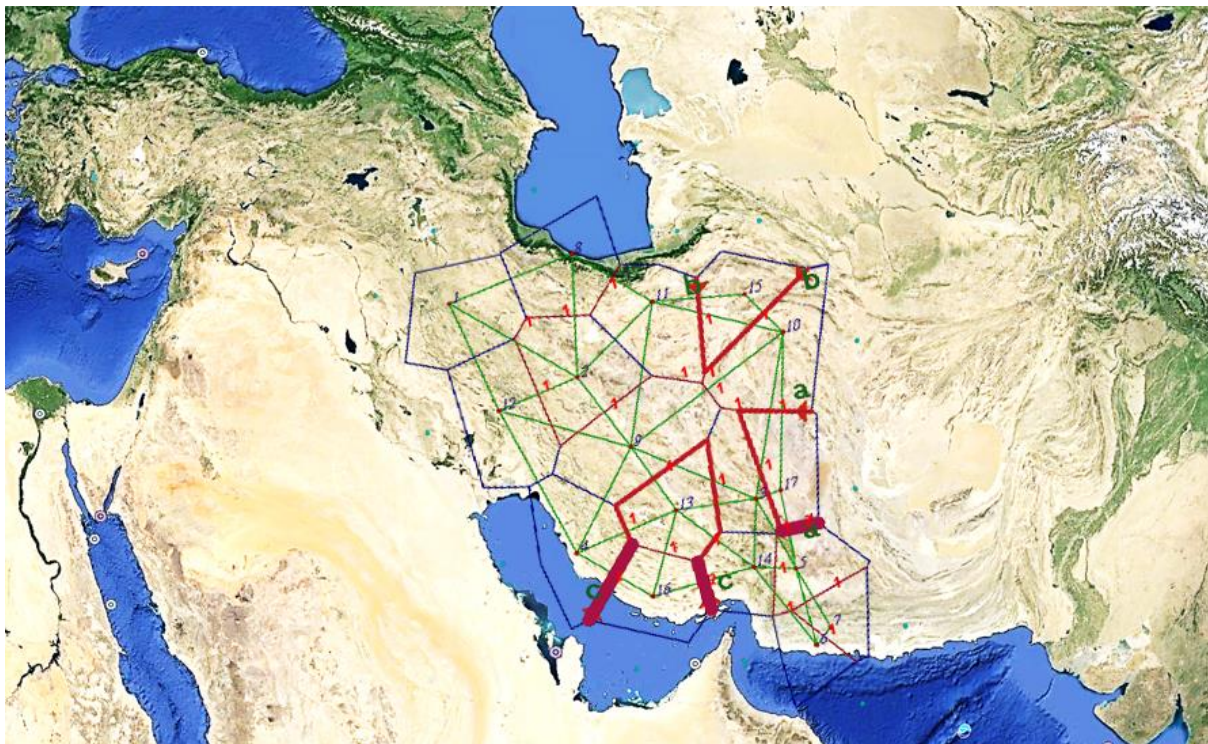
شکل (۳)، سمت چپ Barrier موجود در درون زیرگونه *M. m. domesticus* را نشان می‌دهد. خطوط ارغوانی رنگ Barrier را نشان می‌دهند و این خطوط ضخامت کم و زیاد دارند؛ قسمت‌هایی که ضخامت آنها کم است، Barrier ضعیف‌تر را نشان می‌دهند و بخش‌هایی که ضخامت خطوط زیاد است، نشان‌دهنده



شکل ۳- تصویر مربوط به Barrier موجود بین افراد زیرگونه *M. m. domesticus* (سمت چپ) و زیرگونه *M. m. castaneus* (سمت راست)؛ خطوط قرمز باریک نشان دهنده محدوده نمونه برداری و ارتباط توالی ها با یکدیگرند و خطوط ارغوانی پررنگ نشان دهنده Barrier در آن مناطقند.

اختلاط این دو زیرگونه باهم شود جزو این Barrier است؛ اما نکته درخور اهمیت اینست که موانع بین این دو زیرگونه بیشتر در قسمت جنوبی به سمت شرقی قرار دارند.

در نهایت، شکل (۴) نشان دهنده Barrier موجود بین دو زیرگونه *M. m. castaneus* و *M. m. domesticus* است. بررسی ها نشان می دهند سه Barrier بین این دو زیرگونه قرار دارند که مهم ترین آنها در قسمت جنوبی ایران قرار دارد. هر مانعی که باعث جدایی و مانع



شکل ۴- Barrierهای موجود بین دو زیرگونه *M. m. castaneus* و *M. m. domesticus*؛ خطوط قرمز باریک نشان دهنده محدوده نمونه برداری و ارتباط توالی ها با یکدیگرند و خطوط قرمز پررنگ نشان دهنده Barrier تازه تشکیل شده یا ضعیف و خطوط ارغوانی پررنگ نشان دهنده Barrier قوی در آن مناطقند.

بحث

هریک به‌طور یک کلاین ژنومی با R (Introgression) ترسیم و بررسی شدند؛ با بررسی هر یک از این کلاین‌ها می‌توان پی برد کدام لوکوس بیشترین و کدام یک کمترین تغییر را دارد. در هر کلاین، رنگ سبز تیره نشان‌دهنده هموزیگوت (P1/P1) و رنگ سبز روشن نشان‌دهنده هتروزیگوت (P1/P2) و خطوط تیره منقطع و خط سیاه مستقیم نشان‌دهنده برآورد کلاین‌ها بر اساس مشاهده‌های هتروزیگوت بودن و هموزیگوت بودن نمونه‌هاست. حلقه‌ها نشان‌دهنده داده‌های هر ردیف با شمارش هر ژنوتیپ روی محور عمودی‌اند. در کلاین‌ها، اگر خطوط سیاه ممتد روی ناحیه سبز کم‌رنگ از بالا به سمت پایین بیایند، وجود تغییرات را مشخص می‌کنند و حرکت این خطوط به سمت چپ و راست میزان این تغییرات و نفوذ را تعیین می‌کند؛ میزان تغییرات با تغییرات سایت‌ها در توالی‌ها کاملاً منطبق است و سایتی که بیشترین تغییر و جابه‌جایی را در هاپلوتیپ‌ها نشان دهد، در اینجا نیز بیشترین تغییر را دارد. در پیوست آنلاین ۲ تصویر این کلاین‌ها نمایش داده شده است.

در بررسی Barrier بین نمونه‌های زیرگونه *M. m. domesticus* که سه (a, b و c) دارد، اولی (a) شکل است و تعقر آن به سمت غرب کشور است. این Barrier از سمت بالا شامل بخش‌هایی از رشته‌کوه‌های زاگرس در سمت شمال‌غربی است که به‌طور ادامه‌دار به رشته‌کوه‌های البرز در قسمت شمالی کشور می‌پیوندند؛ البته این قسمت Barrier از قسمت‌های دیگر ضعیف‌تر است و در ادامه، از شمال کشور به سمت قسمت‌های مرکزی که شامل بخشی از کوه‌های زاگرس به سمت جنوبی‌تر و دشت ورامین و کویر سیاه‌کوه تا کوه کرکس (در قسمت کوه‌های

نتایج بررسی نفوذ ژن بین دو زیرگونه یادشده نشان می‌دهند لاین میتوکندریایی زیرگونه *M. m. domesticus* کم‌کم در حال نفوذ به درون قلمروی زیرگونه *M. m. castaneus* است و کلاین ژنومی تک‌تک لوکوس‌ها مقدار این نفوذ را مشخص می‌کند؛ این نتایج، یافته‌های مطالعه‌های Gompert و Buerkle در سال ۲۰۰۹ در ناحیه هیبرید اروپا را تأیید می‌کنند. همان‌طور که در شکل (۲) مشاهده می‌شود، شیب منحنی به‌طور تدریجی افزایش می‌یابد و این افزایش تدریجی با افزایش محل تلاقی و برخورد (منطقه هیبرید) این دو باهم رابطه مستقیم دارد. بر اساس نتایج بررسی‌های پیشین، با افزایش منطقه هیبرید بین این دو زیرگونه، جریان ژنی بین آنها بیشتر می‌شود و ژن‌های آنها بیشتر در هم نفوذ می‌کنند؛ این نفوذ تدریجی در نمودار Introgression شکل (۲) مشهود است. از آنجا که زیرگونه *M. m. domesticus* بیشتر در غرب، شمال‌غرب و جنوب‌غرب ایران و زیرگونه *M. m. castaneus* بیشتر در مناطق جنوب و جنوب‌شرقی وجود دارند، این بررسی نشان می‌دهد میزان نفوذ ژن‌های *M. m. domesticus* در *M. m. castaneus* بیشتر از نفوذ *M. m. castaneus* در *M. m. domesticus* است؛ از این‌رو، زیرگونه *M. m. domesticus* در حال گسترش به سمت جنوب شرق است.

پژوهش حاضر نشان می‌دهد زیرگونه *M. m. domesticus* مهاجم ژنی و زیرگونه *M. m. castaneus* پذیرنده ژن است. مهاجم بودن زیرگونه *M. m. domesticus* در شکل (۳) مشهود است؛ علاوه‌براین، ۶۴ لوکوس به‌طور جداگانه و

کوه هزار در کرمان به سمت جنوب می‌رسد و از طریق استان هرمزگان به تنگه هرمز می‌پیوندد (Barrier در قسمتی که به خلیج فارس و تنگه هرمز ختم می‌شود، قوی‌تر است). Barrier سوم (c) در شمال شرق قرار دارد و شامل قسمت انتهایی رشته کوه‌های البرز در خراسان شمالی و رود اترک از یک سو و واحد کوهستانی جام از سوی دیگر است و بخشی از آن نیز شامل کویر مرکزی ایران است.

در بررسی Barrier هر دو زیرگونه *M. m. domesticus* و *M. m. castaneus* باهم، سه Barrier شاخص وجود دارد. Barrier اول (a) و دوم (b) از خلیج فارس آغاز می‌شوند و به رشته کوه‌های زاگرس جنوبی می‌پیوندند و از سمت کویر سیرجان به سمت دشت لوت ادامه می‌یابند؛ سپس از طریق کویر لوت به سمت جنوب می‌روند و از طریق هلیل رود به جازموریان و از آنجا به طور مورب به سمت کوه بزمان و رود هیره می‌روند و در نهایت، به سواحل دریای عمان می‌رسند؛ سپس از طریق کوه‌های تفتان به رشته کوه‌های مکران می‌رسند و از طریق دشت لوت به کوه‌های خراسان جنوبی (کوه‌های قائن) و نمکزار خواف ختم می‌شوند. Barrier سوم (c) در شمال شرق قرار دارد و از قسمت انتهایی رشته کوه‌های البرز در خراسان شمالی و رود اترک و سپس ارتفاعات بینالود به سمت دشت کویر می‌رود و از آنجا به واحد کوهستانی جام می‌رسد. در قسمت‌های غربی کشور نیز Barrier کوچکی بین این دو زیرگونه وجود دارد که میان رشته کوه‌های زاگرس قرار دارد و شامل ارتفاعات زردکوه است. باتوجه به بررسی موانع بین این دو زیرگونه، در قسمت ابتدایی Barrier اول (a) که از خلیج فارس آغاز می‌شود تا به رشته کوه‌های جنوبی زاگرس برسد و

مرکزی) است قوی‌تر می‌شود. قسمت سوم این Barrier از کوه کرکس آغاز می‌شود، از قسمت جنوب غربی کوه‌های زاگرس (کوه دنا) می‌گذرد و به خلیج فارس، در قسمت جنوب غربی به سمت بندر ماهشهر ختم می‌شود؛ این قسمت از Barrier اول (a) قوی‌تر از قسمت اول آنست و شامل موانع جغرافیایی کوه‌ها و زمین‌های کوهستانی بلند و بخشی از کوه‌های زاگرس (زردکوه) است. Barrier دوم (b) در قسمت جنوب شرقی ایران، از کوه‌های تفتان آغاز می‌شود و شامل هامون صابری و هامون هیرمند است و بخشی از آن نیز شامل دشت لوت و از سمت جنوبی شامل جازموریان است و به دریای عمان ختم می‌شود. Barrier سوم (c) که ضعیف‌ترین است و هنوز به طور کامل شکل نگرفته است، در قسمت مرکزی کشور به سمت شرق قرار دارد و از قسمت شمالی کویر لوت آغاز و به نمکزار خواف در شرق کشور ختم می‌شود.

در بررسی Barrier بین نمونه‌های زیرگونه *M. m. castaneus* که سه Barrier (a، b و c) دارد، اولی (a) در شرق قرار دارد و u شکل است و تعقر آن به سمت شرق قرار دارد؛ این Barrier از دریاچه هامون و رشته کوه‌های مکران در حوالی شهر زابل آغاز می‌شود (کوه‌های پلنگان) و سپس به کوه‌های تفتان و دشت لوت می‌رسد و در نهایت، به سمت شمال حرکت می‌کند و از طریق کوه‌های خراسان جنوبی (کوه‌های قائن شامل کوه کالات، سلیمان، شاه کوه) به نمکزار خواف ختم می‌شود. دومین Barrier (b) در سمت جنوب قرار دارد و از خلیج فارس آغاز می‌شود (مرز بوشهر و بندرعباس) و به انتهای رشته کوه زاگرس (کوه بل و کوه گره) می‌رسد و به سمت قسمت شمالی تا شیرکوه ادامه می‌یابد و از آنجا دوباره از کویر لوت و

نمکی‌اند؛ نام و محل جغرافیایی دقیق همه آنها در پژوهش حاضر شناسایی شد. همچنین یک سد تولیدمثلی پس‌زیگوتی در منطقه جنوبی ایران شناسایی شد و از آن با عنوان ناسازگاری ژنتیکی و Barrier داخلی یاد شد. شناخت این نقاط برای زیست‌شناسان از جمله پژوهشگرانی که درباره گونه‌ها پژوهش می‌کنند اهمیت بسیاری دارد؛ زیرا بیشترین احتمال وقوع گونه‌زایی در نقاطیست که Barrier وجود دارد. بر اساس این بررسی‌ها، فاصله جغرافیایی و فاصله ژنتیکی باهم ارتباط دارند و این ارتباط الگوی فضایی خاصی دارد که مطالعه‌های Nolte و همکاران در سال ۲۰۰۹ را تأیید می‌کند. اطلاعات در زمینه معماری ژنتیک جدایی تولیدمثلی اجازه می‌دهد نقاطی تشخیص داده شوند که بیشترین احتمال گونه‌زایی را دارند و استنباط شود توالی و کلاس تغییرات ژنتیکی به‌طور همراه (توأم) تغییر و یا حتی گونه‌زایی را تسهیل می‌کنند (Bradshaw Jr *et al.*, 1995; Coyne and Orr, 2004; Martin *et al.*, 2008; Minder and Widmer, 2008).

همچنین در قسمت انتهایی همین Barrier نمی‌توان مانع جغرافیایی قوی و یا مانع انسانی مصنوعی یافت و از آنجا که این Barrier قوی است، به احتمال بسیار زیاد این عوامل به فاکتورهای ذاتی و درونی موجود مربوط می‌شوند؛ به عبارتی پیشنهاد می‌شود سدهای تولیدمثلی پس‌زیگوتی در این محل‌ها بین دو زیرگونه *M. m. domesticus* و *M. m. castaneus* وجود دارند. بر اساس نتایج پژوهش حاضر، کشور ایران که بر اساس نظریه Prager و همکاران (۱۹۹۸) منشأ موش خانگی در نظر گرفته می‌شود، نقاط Introgression و Barrier بسیاری دارد. نقاط Introgression دقیقاً در مرز بین دو زیرگونه وجود دارند و تجزیه و تحلیل مولکولی زیرگونه‌های مهاجم و پذیرنده نشان می‌دهد چه ژن‌هایی نقش اصلی دارند. بر اساس نتایج پژوهش‌های Nolte و همکاران در سال ۲۰۰۹ که در آن عنوان شده جدایی تولید مثلی ممکن است به علت ناسازگاری ژنتیکی یا عوامل زیست‌محیطی بیرونی باشد، این نقاط و عوامل در پژوهش حاضر شناسایی شدند و مشخص شد ایران نقاط Barrier بسیاری دارد که بیشتر آنها عوامل طبیعی از جمله کوه‌ها، رودخانه‌ها و دشت‌های

منابع

- Barton, N. H. and Hewitt, G. (1985) Analysis of hybrid zones. *Annual Review of Ecology and Systematics* 113-148.
- Bonhomme, F., Orth, A., Cucchi, T., Rajabi-Maham, H., Catalan, J., Boursot, P. and Britton-Davidian, J. (2011) Genetic differentiation of the house mouse around the Mediterranean basin: matrilineal footprints of early and late colonization. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences* 278(1708): 1034-1043.
- Boursot, P., Auffray, J. C., Britton-Davidian, J. and Bonhomme, F. (1993) The evolution of house mice. *Annual Review of Ecology and Systematics* 24: 119-152.
- Bradshaw Jr, H., Wilbert, M. and Otto, K. (1995) Genetic mapping of floral traits associated with reproductive isolation in. *Nature* 376: 1-3.
- Burch, C. L. and Chao, L. (1999) Evolution by small steps and rugged landscapes in the RNA virus $\phi 6$. *Genetics* 151(3): 921-927.

- Coyne, J. A. and Orr, H. A. (2004) Speciation. Sinauer Associates, Inc., Sunderland.
- Dieckmann, U. and Doebeli, M. (2004) Adaptive dynamics of speciation: sexual populations. *Adaptive Speciation*: 76-111.
- Gompert, Z., and Buerkle, C. (2010) INTROGRESS: a software package for mapping components of isolation in hybrids. *Molecular Ecology Resources* 10(2): 378-384.
- Gompert, Z. and Buerkle, C. (2009) A powerful regression based method for admixture mapping of isolation across the genome of hybrids. *Molecular Ecology* 18(6): 1207-1224.
- Guenet, J. L. and Bonhomme, F. (2003) Wild mice: an ever-increasing contribution to a popular mammalian model. *Trends Genetics* 19(1): 24-31.
- Huson, D. H. and Bryant, D. (2006) Application of phylogenetic networks in evolutionary studies. *Molecular Biology and Evolution* 23(2): 254-267.
- Lenski, R. E., Rose, M. R., Simpson, S. C. and Tadler, S. C. (1991) Long-term experimental evolution in *Escherichia coli*. I. Adaptation and divergence during 2,000 generations. *American Naturalist* 131: 1341-1345.
- Lexer, C., Buerkle, C., Joseph, J., Heinze, B. and Fay, M. (2007) Admixture in European *Populus* hybrid zones makes feasible the mapping of loci that contribute to reproductive isolation and trait differences. *Heredity* 98(2): 74-84.
- Librado, P. and Rozas, J. (2009) DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics* 25(11): 1451-1452.
- Macholán, M., Baird, S. J., Dufková, P., Munclinger, P., Bímová, B. V. and Piálek, J. (2011) Assessing multilocus introgression patterns: a case study on the mouse X chromosome in central Europe. *Evolution* 65(5): 1428-1446.
- Malécot, G. and Blaringhem, L. (1948) *Les mathématiques de l'hérédité*. Masson & Cie, Paris.
- Manni, F., Guérard, E. and Heyer, E. (2004) Geographic patterns of (genetic, morphologic, linguistic) variation: how barriers can be detected by using Monmonier's algorithm. *Human Biology* 76(2): 173-190.
- Martin, N. H., Sapir, Y. and Arnold, M. L. (2008) The genetic architecture of reproductive isolation in Louisiana irises: pollination syndromes and pollinator preferences. *Evolution* 62(4): 740-752.
- Minder, A. and Widmer, A. (2008) A population genomic analysis of species boundaries: neutral processes, adaptive divergence and introgression between two hybridizing plant species. *Molecular Ecology* 17(6): 1552-1563.
- Nolte, A., Gompert, Z. and Buerkle, C. (2009) Variable patterns of introgression in two sculpin hybrid zones suggest that genomic isolation differs among populations. *Molecular Ecology* 18(12): 2615-2627.
- Prager, E. M., Orrego, C. and Sage, R. D. (1998) Genetic variation and phylogeography of central Asian and other house mice, including a major new mitochondrial lineage in Yemen. *Genetics* 150: 835-861.
- Rajabi-Maham, H., Orth, A., Siahsharvie, R., Boursot, P., Darvish, J. and Bonhomme, F. (2012) The south-eastern house mouse *Mus musculus castaneus* (Rodentia: Muridae) is a polytypic subspecies. *Biological Journal of the Linnean Society* 107(2): 295-306.
- Siahsharvie, R., Auffray, J. C., Darvish, J., Rajabi Maham, H., Yu, H. T., Agret, S. and Claude, J. (2012) Patterns of morphological evolution in the mandible of the house mouse *Mus musculus* (Rodentia: Muridae). *Biological Journal of the Linnean Society* 105(3): 635-647.
- 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(10): 2731-2739.

پیوست‌های آنلاین:

پیوست ۱: کدهای برنامه‌نویسی R برای راه‌اندازی Introgress

```
## We assume that introgress and additional packages have been installed from CRAN
## load the introgress library
Library (introgress)
## set the working directory in R to an existing directory where you will work
## and where the downloaded data files have been saved
## On Mac OS and other UNIX systems:
## setwd ("~/Documents/introgress/")
## On Windows ... replace your_username with appropriate name:
## setwd ("C:/Documents and Settings/your_username/Documents/introgress")
## read in data for individuals from admixed population
gen.data.sim <- read.csv (file="AdmixDataSim2.txt", header=FALSE)
## read in marker information
loci.data.sim <- read.csv (file="LociDataSim2.txt", header=TRUE)
## read in parental data sets
p1.data <- read.csv (file="p1DataSim2.txt", header=FALSE)
p2.data <- read.csv (file="p2DataSim2.txt", header=FALSE)
## look at help page that describes the data set
help (AdmixDataSim2)
## code to convert genotype data into a matrix of allele counts,
## the results are saved to the list data object count.matrix
count.matrix <- prepare.data(admix.gen=gen.data.sim, loci.data=loci.data.sim,
                             parental1=p1.data, parental2=p2.data)
## estimate hybrid index values and save the results to the
## data.frame data object hi.index.sim1
hi.index.sim <- est.h(introgress.data=count.matrix, loci.data=loci.data.sim)
## make plot to visualize patterns of introgression
## this saves the plot to a pdf in the current directory for R
mk.image(introgress.data=count.matrix, loci.data=loci.data.sim,
         hi.index=hi.index.sim, ylab.image="Individuals",
         xlab.h="population 2 ancestry", pdf=FALSE)
## conduct the genomic clines analysis and save the results to a
## data object (list) called gen.out
## this uses the permutation procedure with 1000 permutations
gen.out <- genomic.clines(introgress.data=count.matrix,
                          hi.index=hi.index.sim, loci.data=loci.data.sim,
                          sig.test=TRUE, method="permutation", het.cor=TRUE)
## make plots to visualize the genomic clines
## this saves the plots to a pdf in the current directory for R
clines.plot (cline.data=gen.out, rplots=3, cplots=3, pdf=TRUE, out.file="clines.pdf")
```

پیوست ۲- کلاین‌های ژنومی ۶۴ لوکوس از ژنوم mtDNA ناحیه D-loop. رنگ سبز تیره نشان‌دهنده هموزیگوت (P1/P1) و رنگ سبز روشن نشان‌دهنده هتروزیگوت (P1/P2) و خطوط تیره منقطع و خط سیاه مستقیم نشان‌دهنده برآورد کلاین‌ها بر اساس مشاهده‌های هتروزیگوت و هموزیگوت نمونه‌هاست. حلقه‌ها نشان‌دهنده داده‌های هر ردیف با شمارش هر ژنوتیپ روی محور عمودی است.

