Archive of SID

مجله بیوتکنولوژی کشاورزی

علمی-پژوهشی و ISC

تشابه و تفاوت‌های ژن ناحیه کنترل میتوکندری در دو گونه سگ (*Canis lupus familiaris*) و گرگ (*Canis lupus*) در ایران

مرضیه اسدی‌آقبلاغی[۱]، محمد کابلی*[۲]، حمیدرضا رضایی[۳]، علی شعبانی [۳]، وحید زمانی[٤]

[۱]دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد مهندسی منابع طبیعی محیط زیست دانشگاه تهران

[۲]دانشیار دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران

[۳]استادیار دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

[٤]دانشجوی دکتری رشته محیط زیست دانشگاه ژوزف فوریه فرانسه

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۰۵/۰۷، تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۰۵/۰۲

چکیده

گرگ (*Canis lupus*) در گستره وسیعی از کشور به استثنای نواحی بیابانی پراکنش دارد. مطالعات اخیر نشان داد که سگ‌ها (*Canis lupus familiaris*) حاصل اهلی‌سازی گله‌های کوچک گرگ در جنوب غربی و جنوب شرقی آسیا هستند، در نتیجه تشابه ژنتیکی این دو گونه بسیار زیاد است. با توجه به اینکه نشانگر ناحیه کنترل ژنوم میتوکندری که به دلیل نرخ جهش پذیری بالا قادر است اختلافات درون گروهی را بخوبی نشان دهد، پارامترهای نوکلئوتیدی توالی ناحیه کنترل ژنوم میتوکندری در دو گونه گرگ و سگ بررسی شد. بر اساس نتایج بدست آمده، در میزان فراوانی بازهای آدنین، سیتوزین، تمینین و گوانین در ناحیه کنترل ژنوم میتوکندری دو گونه گرگ و سگ اختلاف قابل توجهی مشاهده نشد. الگوهای جانشینی نوکلئوتیدی نیز میزان بالایی از نرخ تغییر و تبدیل در ناحیه کنترل ژنوم میتوکندری، در این دو گونه نشان دادند. نتایج حاصل این پژوهش همچنین نشان داد که گرگ‌های ایران در حال حاضر از لحاظ ژنتیکی از وضعیت مناسبی برخوردار هستند ولی با توجه به روند تخریب زیستگاه‌ها در سطح کشور ممکن است در آینده در معرض خطر نابودی قرار گیرند.

کلمات کلیدی: *گرگ*، سگ، *اهلی سازی*، *ایران*.

* نویسنده مسئول: محمد کابلی تلفن: ۲۲۲۳۰٤٤-۰۲٦۳ E-mail: mkaboli@ut.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

گرگ (*Canis lupus*) بزرگترین عضو خانواده سگ‌ها (Canidae) است و شباهت‌های زیادی به سگ‌های اهلی (*Canis lupus familiaris*) دارد. بر اساس مطالعات انجام شده، اهلی سازی گرگ‌ها از حدود ۱۶ هزار سال پیش در قاره آسیا آغاز و در نتیجه آن، سگ‌های اهلی بوجود آمدند، که با توجه به کاربرد آن‌ها در فعالیت‌های مختلف انسانی، به سرعت در نقاط مختلف دنیا گسترش یافتند (Savolainen *et al*., 2002; Pang *et al*., 2009; Ardalan *et al*., 2011; Tsuda *et al*., 1997). در سطح دنیا دو منطقه جنوب شرقی آسیا و جنوب غربی آسیا به عنوان جایگاه‌های اهلی‌سازی سگ معرفی شده‌اند و زیرگونه گرگ *Canis lupus chanco* در شرق آسیا و دو زیرگونه گرگ *Canis lupus pallipes* و*Canis lupus arabs* در غرب آسیا به عنوان اجداد سگ‌های اهلی شناسایی شده‌اند (Tanabe, 2006; Vila *et al*., 1999a).

نشانگر mtDNA[1] به عنوان یک ابزار ژنتیکی قدرتمند در بسیاری از مطالعات برای مقایسه تفاوت‌های ژنتیکی و تبارشناختی دوگونه گرگ و سگ مورد استفاده قرار گرفته است (Vila *et al*., 1999b; Vila *et al*., 1998; Gomercic *et al*., 2010; Wayne *et al*., 1992). نشانگر mtDNA به دلیل نرخ تکاملی سریع، قادر است تا اختلافات درون گروهی را نسبت به سایر نشانگرها بهتر نشان دهد (Bardeleben *et al*., 2005) و تاریخچه جمعیت‌ها را به خوبی بیان کند (Bollongino *et al*., 2012; Atkinson *et al*., 2008) و در منشآیابی حیوانات اهلی از اجداد وحشی سودمند واقع شود (Rezaei *et al*., 2007; Naderi *et al*., 2008).

ناحیه کد نشونده (D-loop) در ژنوم میتوکندری همانندسازی و ترجمه مولکول mtDNA را کنترل می‌کند و به دلیل تغییر در تعداد تکرار توالی بازها و جهش‌پذیری از چند شکلی بالایی برخوردار است (Mignotte *et al*., 1990; Savolainen *et al*., 2002; Randi *et al*., 2000; Ishiguro *et al*., 2009). طول ناحیه کنترل در گونه‌های مختلف متفاوت است و فقط توالی بخش میانی آن در گونه‌های مختلف پستاندارن تقریبا مشابه است (Tsuda 1990; Gundry *et al*., 2007). چندشکلی ناحیه کنترل ژنوم میتوکندری دو گونه گرگ و سگ را در جنوب شرقی آسیا مقایسه نمود و نشان داد علیرغم آن که چند شکلی بیشتری در توالی ناحیه کنترل سگ‌ها نسبت به گرگ‌ها مشاهده می‌شود، با این وجود این دو اختلاف قابل توجهی در توالی ناحیه کنترل ندارند. با توجه به فقدان اطلاعات در رابطه با جایگاه اهلی‌سازی سگ در منطقه خاورمیانه نسبت به مطالعات گسترده‌ای که در شرق آسیا صورت گرفته (Savolainen *et al*., 2002; Tsuda *et al*., 1997; Pang *et al*., 2009)، در این مطالعه اخیر تلاش شد تا برای اولین بار اختلافات ژنتیکی میان این دو گونه براساس توالی ناپایدار متغییر ژنوم میتوکندری (D-loop)

[1] Mitochondrial DNA (Deoxyribo nucleic acid)

www.SID.ir

Archive of SID

در ایران به عنوان بخش وسیعی از منطقه خاورمیانه بررسی گردد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری و آماده سازی نمونه‌ها:

با همکاری سازمان حفاظت محیط زیست از ٢٢ قلاده گرگ و ٢٩ قلاده سگ از نقاط مختلف کشور نمونه بافت تهیه شد. نمونه‌ها ابتدا در الکل و سپس در سیلیکاژل قرار داده شدند و جهت استخراج DNA به آزمایشگاه منتقل گردید. استخراج DNA با استفاده از کیت (AccuPrep® Genomic DNA Extraction Kit, Bioneer) صورت گرفت. DNA استخراج شده و در دمای ٢٠- درجه سانتی گراد ذخیره گردید. کیفیت و کمیت DNA استخراجی نیز با استفاده از الکتروفورز ژل آگاروز یک درصد و دستگاه اسپکتروفتومتری تعیین شد.

واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز، الکتروفورز و توالی‌یابی

در ابتدا از آغازگرهای خارجی پیشرو L-pro و آغازگر پسرو H-phe (Randi *et al.*, 2000). جهت تکثیر قطعه ای به طول تقریبی ١٤٠٠-١٥٠٠ جفت باز استفاده گردید (جدول ١). تکثیر جایگاه‌های ژنی با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز در حجم ٢٥ میکرولیتر و شرایطی شامل ٢٠ نانوگرم DNA، یک واحد بین اللملی tag DNA پلی‌مراز، بافر PCR1x، ١/٥ میلی‌مولار کلرید منیزیم و آب مقطر تا رسیدن به حجم ٢٥ میکرولیتر انجام گرفت. سپس محصول PCR این آغازگرها توسط آغازگر پیشرو L-pro) و آغازگر درونی (H-576) (Randi *et al.*,2000). مجددا PCR شد و قطعه‌ای به طول تقریبی ٦٠٠ جفت باز تکثیر گردید. چرخه دمایی برای تکثیر ناحیه کنترل ژنوم میتوکندری عبارت بود از ١٠ دقیقه دردمای ٩٥ درجه سانتی‌گراد و در ادامه ٣٥ چرخه، شامل ٣٠ ثانیه در ^{o}C ٩٤ و ٣٠ ثانیه در ^{o}C ٥٨ و ١ دقیقه در ^{o}C ٧٢ و بسط نهایی با ^{o}C ٧٢ در ٥ دقیقه. خالص‌سازی[1] محصولات PCR با استفاده از برش از روی ژل آگاروز انجام شد. سپس توالی‌یابی محصول PCR با استفاده از آغازگر (H-576) و با استفاده از دستگاه مدل (Applied Biosystems 3730xl/Bioneer 3730xl) انجام شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

نتایج حاصل از توالی‌یابی با استفاده از نرم‌افزارهای سکاسکیپ[2] و مگا[3] و با استفاده از توالی گرگ ثبت شده در ژن‌بانک به عنوان منبع (AF115687) ویرایش شدند (سپس توالی‌های در پایگاه ژن بانک ثبت گردیدند: KC540917-KC540944)، و بر اساس مدل پارامتر دو کیمورا[4] با استفاده از نرم افزارآرلکوین[5] و مگا محاسبات نوکلئوتیدی صورت گرفت.

[2] Purification
[3] Seqscape2.7
[4] MEGA.5
[5] Kimura2-parameter model
[6] ARLEQUIN3.1

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱- توالی‌ها آغازگرهای مورد استفاده در این مطالعه.

Table1: Sequences of the primers used in this study.

Primer -آغازگر	Sequences -توالی
L-Pro	5'-CGTCAGTCTCACCATCAACCCCCAAAGC-3'
H-phe	5'-GGGAGACTCATCTAGGCATTTTCAGTG-3'
H-576	5'-TTTGACTGCATTAGGGCCGCGACGG-3'

میزان فراوانی هریک از نوکلئوتیدها، نرخ جانشینی نوع اول[1] و جانشینی نوع دوم[2] وتخمین الگوهای جانشینی نوکلئوتیدی بر اساس روش حداکثر درستنمایی ترکیبی[3] با استفاده از نرم‌افزار آرلکوین و مگا برآورد شدند و هاپلوتیپ‌ها تعیین شدند.

نتایج و بحث

در پژوهش حاضر ٥٤٤ جفت باز (حدود ٥٦ درصد) از توالی ناحیه کنترل mtDNA در ۲۲ نمونه گرگ و ۲۹ نمونه سگ توالی‌یابی شد. فراوانی هر یک از نوکلئوتیدها در گرگ‌ها و سگ‌ها مطابق جدول ۲ برآورد گردید (باز تیمین با بیش‌ترین فراوانی و باز سیتوزین با کم‌ترین فراوانی). میزان جانشینی نوع اول (جانشینی بازهای پورین A-G با یکدیگر و جانشینی بازهای پیریمیدین C-T با یکدیگر) و جانشینی نوع دوم (جانشینی بازهای پورین و پیریمیدین با یکدیگر) در مجموع نمونه‌های گرگ و سگ و در هر یک از آن‌ها به ترتیب مطابق جداول ۳، ٤ و ٥ برآورد شدند. همچنین میزان جانشینی نوع اول بازهای آدنین، گوانین و سیتوزین در گرگ‌ها نسبت به سگ‌ها بیشتر است. در کل تعداد جایگاه‌های حفاظت شده در طول توالی مورد بررسی در سگ‌ها ۵۰۹ باز و در گرگ‌ها ۵۱۱ باز محاسبه شد، در جدول ٦ جایگاه‌های چندشکلی در طول ناحیه کنترل در نمونه گرگ‌ها و سگ‌های مورد مطالعه را نشان می‌دهد.

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که در هر دو نوع الگوی جانشینی نوکلئوتیدی، نرخ بالای تغییر و تبدیل در ناحیه کنترل ژنوم میتوکندری گرگ‌ها و سگ‌های مورد مطالعه مشاهده می‌گردد و در هر دو جمعیت بیش‌ترین میزان جانشینی مربوط به جانشینی نوع اول بوده است. از میزان بالای جهش‌پذیری ناحیه کنترل DNA میتوکندری می‌توان برای پی‌بردن به اختلافات بین گونه‌های خویشاوند استفاده نمود (Savolainen *et al*., 2000; Gundry *et al*., 2007).

[7]Transation
[8]Transversion
9Maximum Composite Likelihood

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ٢ - فراوانی نوکلئوتیدی در گرگ و سگ.

Table 2- Nucleotide frequencies in dogs and Wolves.

فراوانی نوکلئوتیدی در سگ		فراوانی نوکلئوتیدی درگرگ	
Nucleotide frequency in wolf		Nucleotide frequency in dog	
27.07	A	27.04	A
30.72	T	30.77	T
15.21	C	15.01	C
27.00	G	27.18	G

جدول ٣ - تخمین الگوهای جانشینی نوکلئوتیدی گرگ. اعداد پر رنگ نشان دهنده نرخ جانشیتی نوع اول و سایر اعداد نشان دهنده نرخ جانشینی نوع دوم هستند.

Table 3- Estimates of nucleotide substitution patterns in Wolf, the bold values show the transition rates and the others show transversion rates.

G	C	T	A	نوکلئوتید-Nucleotide
12.31	1.17	1.32	-	A
0.65	**26.82**	-	1.16	T
0.65	-	**30.41**	1.16	C
-	1.17	1.32	**21.87**	G

جدول ٤ - تخمین الگوهای جانشینی نوکلئوتیدی سگ. اعداد پر رنگ نشان نشان دهنده نرخ جانشینی نوع اول و سایر اعداد نشان دهنده نرخ جانشینی نوع دوم هستند.

Table 4- Estimates of nucleotide substitution patterns in Wolf, the bold values show the transition rates and the others show transversion rates.

G	C	T	A	نوکلئوتید-Nucleotide
10.43	1.6	1.82	-	A
0.89	**27.56**	-	1.6	T
0.89	-	**31.34**	1.6	C
-	1.6	1.82	**18.86**	G

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۵- تخمین الگوهای جانشینی نوکلئوتیدی گرگ و سگ. اعداد پر رنگ نشان نشان دهنده نرخ جانشیتی نوع اول و سایر اعداد نشان دهنده نرخ جانشینی نوع دوم هستند.

Table 5- Estimates of nucleotide substitution patterns in Wolfs and Dogs, the bold values show the transition rates and the others show transversion rates.

G	C	T	A	نوکلئوتید– Nucleotide
11.75	1.33	1.52	-	A
0.74	**26.74**	-	1.34	T
0.74	-	**30.47**	1.34	C
-	1.33	1.52	**21.19**	G

این مطالعه با توالی‌یابی بخشی ناحیه کنترل DNA میتوکندری بر اساس تعداد جایگاه‌های تغییر پذیر (۳۳ جایگاه درگرگ‌ها) نشان داد که جمعیت گرگ‌های ایران در حال حاضر از پویایی بالایی برخوردار است، گرچه در آینده ممکن است تنوع ژنتیکی این گونه در ایران کاهش یابد.

در نتیجه مقایسه فراوانی میزان نوکلئوتیدها با نظر به طولانی بودن زمان انشقاق این دو گونه در بین گرگ‌ها و سگ‌ها اختلاف قابل ملاحظه‌ای مشاهده نگردید و همانطور در جدول ٦ نشان داده شده است بیشترین چند شکلی در طول و جایگاه یکسانی از توالی ناحیه کنترل ژنوم میتوکندری گرگ‌ها و سگ‌ها مشاهده و در توالی مورد بررسی در این پژوهش در هر دو گونه گرگ و سگ جایگاه تکرار باز مشاهده نشد. این نتایج نشان می‌دهد گرگ‌ها و سگ‌ها کاملا با هم همپوشانی دارند و تاییدی بر این مطلب می‌باشد که سگ‌های اهلی از گرگ‌ها منشأ گرفته‌اند (Tsuda *et al*., 1997) چنانچه مطالعات مورفولوژیکی و رفتاری نیز تایید کننده این مطلب هستند (Wayne *et al*., 1986). بنابر مطالعات گسترده‌ای که در خصوص اهلی‌سازی سگ‌ها با استفاده از بررسی وراثت مادری mtDNA صورت گرفته، جنوب شرق آسیا به عنوان جایگاه اصلی اهلی‌سازی سگ‌ها شناسایی شده است.

با توجه به این که آثار باستانی، اهلی‌سازی سگ‌ها را در منطقه خاورمیانه تایید می‌کنند، ممکن است جدا از ناحیه شرقی آسیا در غرب آسیا در مقیاس کوچکتری اهلی‌سازی صورت گرفته باشد (Savolainen *et al*., 2002; Ardalan *et al*., 2011; Tsuda *et al*., 1997). در مطالعه‌ای Pang *et al*. (2009) با بررسی ژنوم میتوکندری ۱۵٤۳ قلاده سگ از نقاط مختلف جهان انجام شد، بین سگ‌های منطقه شرق و غرب آسیا هاپلوتیپ مشترک و درواقع ارتباطات زیادی مشاهده نگردید، درصورتی که بین منطقه خاورمیانه و اروپا هاپلوتیپ‌های مشترک بیشتری گزارش کردند و بیان کردند سگ غرب آسیا و اروپا از یک خزانه ژنی مشترک منشا گرفته‌اند (Pang *et al*., 2009).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ٦ - ساختار و چند شکلی توالی ناحیه کنترل گرگ (W) و سگ (D) در ناحیه تغییر پذیر ژنوم میتوکندری.

Table 6- Variations and polymorphism in hyper variable fragment (mtDNA control region) of wolf (W) and dog (D).

جایگاه‌های **چند شکلی** در طول ناحیه کنترل ژنوم میتوکندری گرگ (W) و سگ (D).

Positions of mtDNA control region polymorphisms in wolf (W) and dog (D).

هاپلوتیپ Haplotype	فراوانی Frequency	15476	15491	15493	15507	15511	15526	15527	15529	15577	15599	15615	15616	15617	15624	15626	15629	15631	16636	15639	15643
Reference		-	C	G	C	C	C	C	G	C	C	T	A	T	C	T	G	C	A	C	A
HW1	1	-	.	.	.	T	.	.	A	.	T	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.
HW2	1	-	.	.	.	T	.	T	A	T	T	C	.	.	.	.	A	T	.	T	G
HW3	4	-	.	.	.	T	.	T	.	T	T	C	.	.	.	.	A	T	.	T	G
HW4	6	-	.	.	.	T	.	T	A	.	.	.	T	.	.	C	A	.	.	T	.
HW5	1	-	.	.	.	T	.	T	A	.	.	.	T	.	.	C	A	.	.	T	.
HW6	1	-	.	.	.	T	.	T	A	T	T	C	.	.	.	.	A	T	.	T	G
HW7	1	-	.	.	.	T	.	T	.	.	T	.	.	.	.	.	A	.	.	T	.
HW8	1	-	.	.	.	T	.	T	.	.	T	.	.	.	.	.	A	.	.	T	.
HW9	1	-	.	.	.	T	.	.	A	.	T	.	.	C	.	.	.	.	.	T	.
HW10	1	-	.	.	.	T	.	T	A	T	T	C	.	.	.	.	A	T	.	T	G
HW11	1	-	.	.	.	T	.	T	A	.	.	.	T	.	.	C	A	.	.	T	.
HW12	2	-	.	.	.	T	.	T	A	T	T	.	.	.	.	.	A	T	G	.	.
HW13	1	-	.	.	.	T	.	T	A	.	.	.	T	.	.	C	A	.	.	T	.
HD14	1	-	.	.	.	T	.	T	A	T	T	C	.	.	.	.	A	T	.	T	G
HD15	2	-	.	.	.	T	.	.	A	.	T	.	.	C	.	.	.	.	.	T	.
HD16	3	-	.	.	.	T	.	.	A	.	T	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.
HD17	2	C	.	.	.	T	.	T	A	.	T	C	.	.	.	.	A	T	.	T	G
HD19	2	-	.	.	T	T	.	T	A	.	T	.	.	.	.	.	A	.	.	T	G
HD20	6	-	.	.	.	T	.	.	A	.	T	.	.	.	.	.	A	.	.	.	T
HD21	1	-	.	.	T	T	.	T	A	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	T	G
HD22	3	-	.	.	T	T	.	T	A	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	T	G
HD23	3	-	.	.	.	T	.	.	A	.	T	.	.	.	.	.	A	.	.	.	T
HD24	2	-	.	.	.	T	.	.	A	.	T	.	.	.	.	.	A	.	.	.	T
HD25	1	-	.	.	.	T	.	.	A	.	T	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.
HD26	2	-	.	.	.	T	.	.	A	.	T	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.
HD27	1	-	A	A	.	T	T	.	A	.	T	.	.	.	.	.	A	.	.	.	T
HD28	1	-	.	.	T	T	.	T	.	.	.	.	.	.	T	.	A	.	.	T	G
HD29	1	-	.	.	.	T	.	.	A	.	T	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.

www.SID.ir

Archive of SID

ادامه جدول ٦

Continue of table 6

جایگاه‌های **چند شکلی** در طول ناحیه کنترل ژنوم میتوکندری گرگ (W) و سگ (D) .

Positions of mtDNA control region polymorphisms in wolf (W) and dog (D).

هاپلوتیپ Haplotype	فراوانی Frequency	15647	15651	15656	15714	15804	15818	15819	15826	15841	15852	15916	15934	15935	15936	15937	15690	15978	15988	15992	15994	15999
Reference		A	T	T	A	C	C	T	T	C	C	T	T	G	T	-	-	G	-	A	C	G
HW1	1	.	.	.	G	.	T	.	.	.	.	.	C	.	.	A	-	.	-	.	.	.
HW2	1	G	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	-	-	.	-	.	.	.
HW3	4	G	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	-	-	.	-	.	.	.
HW4	6	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	-	A	.	-	.	.	.
HW5	1	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	C	.	.	A	T	A	.	-	.	.	.
HW6	1	G	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	-	-	.	A	.	.	.
HW7	1	G	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	-	-	.	-	.	.	.
HW8	1	G	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	-	-	.	-	.	.	T
HW9	1	.	.	.	G	.	T	.	.	.	.	.	C	.	.	A	-	.	-	.	.	.
HW10	1	G	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	A	-	.	-	.	.	.
HW11	1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	-	A	.	-	.	T	T
HW12	2	G	.	.	.	.	.	.	C	.	T	.	.	.	.	-	-	A	-	.	.	.
HW13	1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	-	-	A	-	.	.	.
HD14	1	G	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	A	-	.	-	.	.	.
HD15	2	.	.	.	G	.	T	.	.	.	.	.	C	.	.	A	-	.	-	.	.	.
HD16	3	.	.	.	G	.	T	.	.	.	.	.	C	.	.	A	-	.	-	.	.	.
HD17	2	G	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	A	-	.	-	.	.	.
HD19	2	.	.	C	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	-	.	-	.	.	.
HD20	6	.	.	.	G	.	T	C	.	.	.	.	C	.	.	A	-	.	-	.	.	.
HD21	1	.	.	C	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	-	.	-	.	.	.
HD22	3	.	.	C	G	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	-	.	-	.	.	.
HD23	3	.	.	.	G	.	T	.	.	.	.	.	C	.	.	A	-	.	-	.	.	.
HD24	2	.	.	.	G	.	T	.	.	.	.	.	C	.	.	A	-	.	-	T	T	.
HD25	1	.	.	.	G	.	T	.	.	.	.	.	C	A	.	A	-	.	-	.	.	.
HD26	2	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	C	.	.	A	-	.	-	.	.	.
HD27	1	.	.	.	G	.	T	C	.	.	.	.	C	.	.	A	-	.	-	.	.	.
HD28	1	.	.	C	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	-	.	-	.	.	.
HD29	1	.	.	.	G	.	T	.	.	.	.	.	C	.	.	A	-	.	-	.	.	.

براساس مطالعات ریخت‌سنجی منطقه غرب آسیا به عنوان جایگاه اهلی‌سازی سگ معرفی گردیده است (Clutton Brock, 1995). جمعیت‌های مختلف گرگ در ایران در زیستگاه‌های متنوعی از مناطق مرتفع کوهستانی تا دشت‌های خشک و کویری (به استثنای دشت کویر و دشت لوت) گسترش یافته‌اند و از تنوع رنگی قابل توجهی برخوردار هستند (Ziaie, 2009). لذا انتظار می‌رود که از تنوع ژنتیکی خوبی برخوردار باشند. با این حال در سال‌های

www.SID.ir

Archive of SID

اخیر جمعیت گرگ در بسیاری از زیستگاه‌ها به دلیل روند رو به رشد تخریب زیستگاه، شکار بیرویه و کمبود طعمه‌های طبیعی کاهش یافته است، که این امر باعث خارج شدن این گونه از مرزهای بومی خود و اشغال زیستگاه آن توسط سگ‌های اهلی شده است. متأسفانه به علت تشابه ژنتیکی زیاد گرگ و سگ احتمال آمیزش و اختلاط ژنتیکی این دو گونه در طبیعت زیاد است. در واقع همه گونه‌های جنس *Canis* می‌توانند باهم زادآوری کنند و فرزند بارور تولید نمایند (Randi and Lucchini, 2002; Vila and Wayne, 1998; Anderosone *et al*., 2002). لذا پیشنهاد می‌گردد این نکته همواره در اجرای طرح‌های مدیریتی و حفاظت حیات وحش مدنظر قرار گیرد.

سپاسگزاری

بدینوسیله از همکاری کلیه کارکنان اداره کل حفاظت محیط زیست استان همدان که در مراحل نمونه‌برداری این تحقیق همکاری نمودند، تشکر می‌شود. این تحقیق با حمایت مالی اداره کل حفاظت محیط زیست استان همدان در چارچوب طرح کاربردی آن اداره کل به انجام رسیده است. همچنین از خانم ندا بهداروند، خانم زهره قدسی و آقای لقمان نادری که ما را در انجام این پژوهش صمیمانه یاری نمودند سپاسگزاری به عمل می‌آید.

منابع

Anderosone BZ, Lucchini V, Randi E, Ozolins J (2002). Hybridzation between wolf and dog in lativa document using mtDNA and microsatellit markers. Mammalian Biology 67: 79-90.

Ardalan A, Kluetsch CFC, Zhang A-B, Erdogan M, Uhlén M, Houshmand M .Tepeli C, Ashtiani SRM, Savolainen P (2011). Comprehensive study of mtDNA among Southwest Asian dogs contradicts independent domestication of wolf, but implies dog–wolf hybridization. Ecology Evolution 1: 373-385.

Atkinson Q, Gray R, Drummond A (2008). mtDNA Variation Predicts Population Size in Humans and Reveals a Major Southern Asian Chapter in Human Prehistory. Molecular Biology 25: 468–474.

Bardeleben C, Moore R, Wayne R (2005). A molecular phylogeny of the Canidae based on six nuclear loci. Molecular Phylogenetics and Evolution 37: 815–831.

Bollongino R, Burger J, Powell A, Mashkour M, Vigne J, Thomas M (2012). Modern Taurine Cattle Descended from Small Number ofNear-Eastern Founders. Molecular Biology and Evolution 10:1093.

Clutton-Brock J (1995). Origin of the dog: domestication and early histori. In the Domestic dog: Its Evolution, Behavior andInteraction with Pepole. Cambridge University Press, Cambridge. Pp: 7-20.

Gomercic T, Sindicic M, Galov A, Arbanasic H, Kusak J, Kocijan L, Gomercic M, Huber D (2010). High Genetic Variability of the Grey Wolf (*Canis lupus*) Population from Croatia as Revealed by Mitochondrial DNA Control Region Sequences. Zoological Studies 49: 816-823.

www.SID.ir

Archive of SID

Gundry RL, Allard MW, Moretti TR, Honeycutt RL, Wilson MR, Monson KL, Foran DR (2007). Mitochondrial DNA Analysis of the Domestic Dog: Control Region Variation Within and Among Breeds. Forensic Sciences 52: 562-572.

Ishiguro N, Inoshima Y, Shigerhara N (2009). Mitochondrial DNA analysis of the Japanese wolf (Canis lupus hodophilax) Temminck, and comparison. Zoological Science 26 : 765–770.

Mignotte F., Gueride M., Champagne A., Mounolou J. (1990). Direct repeats in the non-coding region of rabbit mitochondrial DNA Involvement in the generation of intra- and inter-individual heterogeneity. Eur J Riochcm194: 561 -571.

Naderi S, Rezaei HR, Pompanon F, Blum M, Negrini R, Naghash H, Balkız O, Mashkour M, Gaggiotti O, Ajmone-Marsan P, Kence A, Vigne J, Taberlet 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 of the United Statesof America 105: 17659–17664.

Pang J, Kluetsch C, Zou X, Zhang A, Luo L, Angleby H, Ardalan A, Ekstrom C, Skollermo A, Lundeberg J, Matsumura S, Leitner T, Zhang Y, Savolainen P (2009). mtDNA Data Indicate a Single Origin for Dogs South of Yangtze River, Less Than 16,300 Years Ago, from Numerous Wolves. Molecular Biology and Evolution 26: 2849–2864.

Randi E, Lucchini V (2002). Detecting rare introgression of domestic dog genes into wild wolf (*Canis lupus*) populations by Bayesian admixture analyses of microsatellites variation. Conservation Genetics 3: 31-45.

Randi E, Lucchini V, Christensen M F, Mucci N, Funk S M, Dolf G, Loeschcke V (2000). Mitochondrial DNAvariability in Italian and East European wolves: detecting the consequences of small population size andhybridization.Conservation biology14: 404-47.

Rezaei HR, Naderi S, Cristina I, Marquier C, Taberlet P, Virk AT, Naghash H, Rioux D, Kaboli M, Pompanon F (2010). Evoltion and taxonomy of the wild species of the genus Ovis (Mammlia, Rtiodactyla, Bovide).Molecular Phylogenetics and Evoltion 54:315-326.

Savolainen P , Arvestad L , Lundeberg L (2000). mtDNA Tandem Repeats in Domestic Dogs and Wolves: Mutation Mechanism Studied by Analysis of the Sequence of Imperfect Repeats. Molecular Biology and Evolution 17: 474–488.

Savolainen P , Zhang Y-P , Luo J , Lundeberg J , Leitner T (2002). Genetic evidence for an East Asian origin of dogs. Science 298: 1610–1613.

Tanabe Y (2006). Phylogenetic studies of dogs with emphasis on Japanese ans Asian Breeds. Proc. Jpn. Acad., Ser. B 82.

Tsuda K, Kikkawa Y, Yonekawa H, Tanabe Y (1997). Extencive interbreeding occurred among multiple matrairChial ancestors during domestication of dogs:Evidence from interand intraspecies polymorphism in the D-loop region mitochondrial DNA between dogs and wolves. Genes & Genetic Systems 72: 229-238.

Vila C, Amorim IR, Leonard J A, Posada D, Castrovie J, Petrucci F, Crandall KA, Ellegren H, Wayne RK (1999b). Mitochondrial DNA phylogeography and population history of the grey wolf Canis lupus. Molecular Ecology 8:2089–2103.

Vila C, Maldonado JE, Wayne RK (1999a). Phylogenetic Relationship, Evolution, and Genetic Diversiyt of the domestic dog. American Genetic Assocation 90:71-77.

Vila C, Wayne R (1998). Hybridization between wolves and dog. Conservation Biology. 13. 195-198.

Wayne RK (1986). Limb morphology of domestic and wild canids: the influence of development on morphologic change. Morphology 187: 301-319.

www.SID.ir

Archive of SID
Wayne RK, Lehman N, Allard MW, Honeycutt RL (1992). Mitochondrial DNA variability of the gray wolf: geneticconsequences of population decline and habitat fragmentation. Conservation Biology 6: 559-569.

Ziaie H (2009). Field Guide to Mammals of Iran. Iran Wildlife Center, Tehran, Iran. Pp: 420 (In Farsi).

www.SID.ir

Archive of SID

Variations of mitochondrial control region in Iranian wolves and dogs populations

Asadi Aghbolaghi M.[1], Kaboli M.[2*], Rezaei H.R.[3], Shabani A.[3], Zamani W.[4]

[1]Master of Natural Resources –Environmental, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, I. R. Iran.
[2]Associate Professor, Department of Environment Sciences, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, I. R. Iran.
[3]Associate Professor, Department of Environment Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.
[4] PhD student on environment at Université Joseph Fourier, Grenoble, France.

Abstract

The wolf (*Canis lupus*) in Iran is widely distributed all over the country, except in the deserts. Recent studies showed that dogs (*Canis lupus familiaris*) were domesticated by managing small packs of wolves in south-west and south-east of Asia, and consequently, they are very similar genetically. We used mitochondrial DNA control region (D-Loop) to compare the nucleotide parameters between wolf and dog populations in the country, since it shows a high mutation rate and is known as a good marker to identify intra-group variations. Our results revealed that there were no significant differences in the frequencies of adenine, cytosine, thymine and guanine bases of the control region between wolf and dog populations. Furthermore, nucleotide substitution patterns of this region uncovered a large value of transitions and transversions in both species. The results also demonstrated that wolf populations in Iran have maintained favorable genetic diversity, but habitat destruction is very likely to affect them in near future.

Keywords: Wolf, dog*, mtDNA control region, Iran.*

[*] Corresponding Author: Kaboli M. Tel: 0263-2223044 E-mail: mkaboli@ut.ac.ir

www.SID.ir