

## بررسی وضعیت آرایه شناختی و تبارزائی جمعیت‌های جنس زیبا موش (*Calomyscus*) در فلات ایران با استفاده از داده‌های ژن میتوکندریایی CO1

سعید شهابی<sup>۱\*</sup>، جمشید درویش<sup>۱</sup> و منصور علی آبادیان<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup> مشهد، دانشگاه فردوسی، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی

<sup>۲</sup> مشهد، دانشگاه فردوسی، دانشکده علوم، مرکز پژوهشی جانورشناسی کاربردی

تاریخ پذیرش: ۹۰/۳/۴

تاریخ دریافت: ۸۹/۵/۲۵

### چکیده

جنس کالومیسکوس یا زیباموش، نخست با تنها گونه *C. bailwardi* معرفی شده ولی بر اساس مطالعات بعدی خصوصاً مطالعات کروموزومی، هشت گونه در این جنس شناسایی شده است. که پنج گونه آن در ایران پراکنده اند و عبارت اند از: *C. bailwardi*، *C. elburzensis*، *C. grandis*، *C. urartensis* و *C. hotsoni*. به منظور بررسی وضعیت آرایه شناختی جمعیت‌های مختلف این جنس در ایران تعداد ۷۶ نمونه از ده منطقه جمع‌آوری گردید. توالی ژن میتوکندریایی (COI) ۲۵ نمونه با ۶۳۷ نوکلئوتید جهت آنالیزهای تبارشناسی Bayesian، حداکثرپاراسیمونی (Maximum Parsimony) و حداکثر احتمال (Maximum Likelihood) استفاده گردید. داده‌های مولکولی، تاکسونومی امروزی گونه‌های فوق‌الذکر زیباموش را تأیید می‌کند. داده‌های مولکولی علاوه بر این نشان می‌دهند که پراکنش گونه *C. elburzensis* محدود به شمال شرق ایران نبوده بلکه تا ارتفاعات مرکزی ایران در استان یزد نیز پراکنده اند و نشان می‌دهد که جمعیت زیبا موش یزد به عنوان یک ایزولای جغرافیایی، از رشته کوه‌های البرز کاملاً جدا قرار می‌گیرد. از دیدگاه تبارشناسی، جنس زیبا موش در ایران دارای دو شاخه اصلی است. شاخه شمالی شامل *C. elburzensis*، *C. grandis* و شاخه جنوبی شامل *C. bailwardi* و *C. hotsoni* است که بیانگر نفوذ و پراکنش آنها در فلات ایران می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: زیباموش، فیلوژنی، سیستماتیک، COI, Rodentia, Calomyscidae

\* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۳۸۰۰۲۹۵۷۳، پست الکترونیکی: dna1390@gmail.com

### مقدمه

نظر گرفتند. اعضاء این خانواده سابقاً به عنوان هامسترهای دم دراز یا شبه موش در زیرخانواده کریسیتینه یا با نتوتومیدهای آمریکا قرار می‌گرفته اند (۳). قبلاً براساس شباهت دندانهای آسیای اول آنها تصور می‌شد که این چونندگان هامستر هستند اما فاقد کیسه‌های گونه‌ای، غدد چربی و دارای دم بلند می‌باشند (۲۴). زیبا موشها ارتباطی با هامسترهای واقعی ندارند و یک انشعاب قدیمی در فوق خانواده میورویئیده را نشان می‌دهند (۱۱). در آخرین رده بندی که توسط ویلسون و همکاران در سال ۲۰۰۵ انجام

خانواده زیباموشیان (Calomyscidae) دارای یک جنس با نام کالومیسکوس یا زیباموش و هشت گونه می‌باشد (۲۴). جنس زیباموش مدتها با تنها گونه *C. bailwardi* به عنوان جنسی تک گونه (monospecies) در نظر گرفته می‌شد (۴، ۵، ۶ و ۲۰). ورنسو و همکاران (۱۹۷۹)، مایر و مالیکو (۱۷۹۶)، لبدو و همکاران (۱۹۹۸)، گرافوداتسکی و همکاران (۲۰۰۰)، مورشد و پاتون (۲۰۰۲) و پاولینو و همکارانش (۱۹۹۵) در بررسی مجدد این جنس، زیرگونه‌های گونه *C. bailwardi* را به عنوان گونه‌های مجزا در

و ۶). پراکنش گونه *C. urartensis*، جنوب آذربایجان (نخجوان) و شمال غرب ایران (شمال غرب استان آذربایجان) می‌باشد (۱۸) (شکل ۱). این گونه از نظر ریختی شبیه به گونه *C. mystax* و گونه *C. elburzensis* می‌باشد (۲۳). تاکنون مطالعه مولکولی با استفاده از تکنیک تعیین توالی DNA بر روی گونه‌های ایرانی زیبا موش انجام نشده است. در این مطالعه سعی شده است تا با استفاده از ژن میتوکندریایی *COI* که ژنی متداول در مطالعات آرایه‌شناسی مولکولی جانوران است، وضعیت آرایه‌شناسی گونه‌های زیباموش ایران و شاخه‌های تبارزایی آن مشخص گردد.

### مواد و روشها

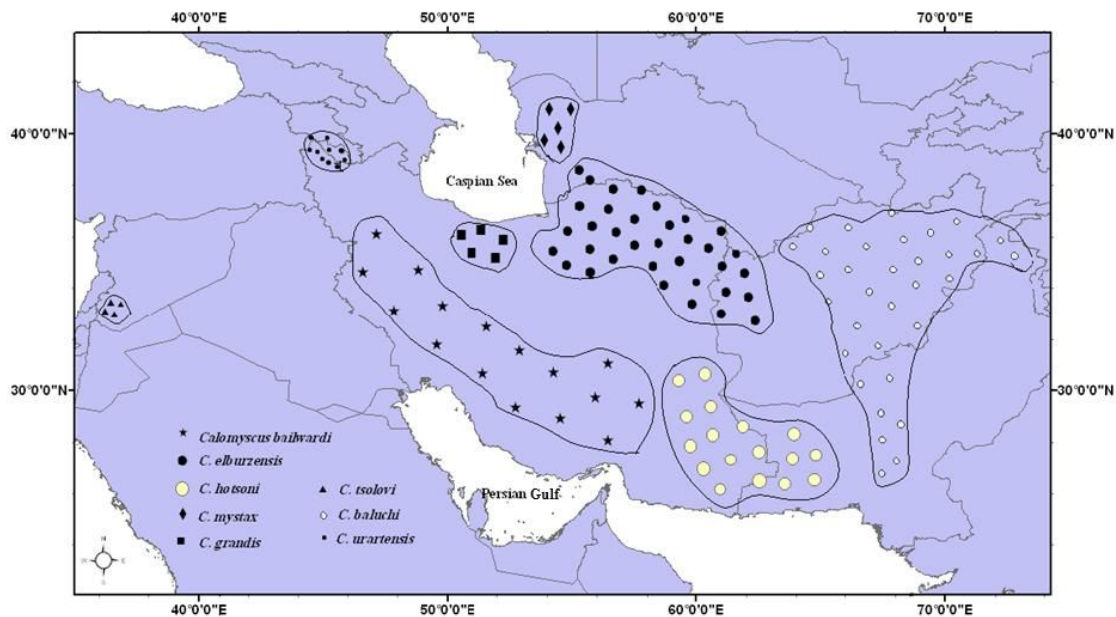
جمع‌آوری نمونه‌ها و مناطق نمونه‌برداری: در این مطالعه تعداد ۲۴ نمونه از مناطق صخره‌ای شهرستان ارسنجان (هشت عدد)، تربت جام (شش عدد)، مشهد (هشت عدد) و سراوان (دو عدد) به کمک تله‌های زنده گیر در مدت یک سال جمع‌آوری گردید. تله‌ها در شب کار گذاشته شده و صبح روز بعد جمع‌آوری شدند. اغلب از پفک و در بعضی موارد از نان و سوسیس سرخ شده در روغن حیوانی، سیب زمینی و خیار به عنوان طعمه استفاده گردید. نمونه‌ها پس از صید، درون قفسه‌های نگهداری شده و به آزمایشگاه جهت مطالعات بعدی انتقال داده شدند. سایر نمونه‌ها از بانک بافتی گروه پژوهشی جوندگی‌شناسی در دانشگاه فردوسی مشهد استفاده گردید که قبلاً توسط این گروه جمع‌آوری شده بود (جدول ۱).

روش‌های آزمایشگاهی: پس از انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه از بافت‌های قلب، کبد و ماهیچه آنها قطعاتی جهت مطالعات مولکولی جدا گردید و درالکل ۹۶ درصد نگهداری شد. استخراج ژنوم DNA از نمونه‌های بافتی قلب یا ماهیچه با استفاده از روش ساده نمکی انجام شد (۲). براساس این روش نمونه‌های بافتی پس از قرار گرفتن در درون بافر استخراج که شامل سولفات دودسیل

گرفت، جنس زیباموش در خانواده‌ای مجزا به نام زیباموشیان (Calomyscidae) و در فوق خانواده میورویده قرار گرفت. دامنه انتشار افراد این خانواده (شکل ۱): غرب پاکستان، سرتاسر افغانستان و ایران، جنوب سوریه، جنوب آذربایجان، غرب و جنوب ترکمنستان می‌باشد (۱۸) و در زیستگاه‌های صخره‌ای و خشک مرتفع، دامنه کوه‌های واقع در نواحی معتدل، خشک و مناطق کوهستانی که از گیاهانی مثل بادام کوهی، پسته وحشی (بنه)، سرو، نخل و بلوط پوشیده شده است زندگی می‌کنند (۱۳ و ۱۵). از هشت گونه موجود در این خانواده، پنج گونه آن در ایران پراکنده شده است: پراکنش گونه *C. bailwardi*، کوه‌های زاگرس در غرب، جنوب و جنوب غرب ایران در استانهای کردستان، ایلام، غرب اصفهان، شرق خوزستان، لرستان، فارس و غرب کرمان می‌باشد (۱۸) (شکل ۱). *C. bailwardi* حقیقی تنها از کوه‌های زاگرس در غرب ایران گزارش شده است. در حالی که گونه *C. elburzensis* در کوه‌های شمال و شمال شرق ایران (از دامنه‌های جنوبی کوه‌های البرز در استان سمنان، حوالی شهر سمنان و اطراف سنگسر به سمت شرق و از شمال استان خراسان در شمال شرق ایران تا مشهد)، جنوب ترکمنستان و شمال غرب افغانستان پراکنده می‌باشد (۱۸) (شکل ۱). پراکنش بزرگ‌ترین و تیره‌ترین زیباموش، گونه *C. grandis*، در شمال ایران، کوه‌های البرز مرکزی در استان تهران (فشم) و استان مازندران در عباس‌آباد می‌باشد (۱۸) (شکل ۱). این گونه در ابتدا به عنوان زیرگونه‌ای از گونه *C. bailwardi* معرفی گردید (۳ و ۱۶) اما در ادامه تحقیقات، پاولینو و همکارانش (۱۹۹۵) آن را به عنوان گونه‌ای مجزا طبقه‌بندی کردند. کوچک‌ترین زیباموش، گونه *C. hotsoni* است که از حوالی محل تایپ آن در جنوب غرب پاکستان و استان بلوچستان در جنوب شرق ایران گزارش شده است (۱۸) (شکل ۱). این گونه به عنوان زیرگونه‌ای از *C. bailwardi* طبقه‌بندی شده و در بعضی منابع مترادف گونه *C. mystax* در نظر گرفته شده است (۳، ۴، ۵

چهار نمونه بافتی از جمعیت سراوان جهت استخراج مورد استفاده قرار گرفت. تعداد bp ۶۳۷ از زیرواحد اول ژن میتوکندریایی سیتوکروم اکسیداز (*COI*) با استفاده از پرایمر های VF1d(5'-TTC TCA ACC AAC CAC AAR GAY ATY GG-3' VR1d (5'-TAG ACT و TCT GGG TGG CCR AAR AAY CA-3') تکثیر گردید (۱۷).

سدیم (SDS) و ۰/۵ میلی گرم در میلی لیتر پروتئیناز K بود به مدت ۱۲ ساعت درون انکوباسیون با دمای ۵۵ درجه سانتی گراد قرار می گرفت. پس از آن مراحل بعدی استخراج مطابق با دستورالعمل مربوطه (۲) انجام شد. تعداد دو نمونه بافتی از هر کدام از جمعیت‌های درگز، سرخس، بجنورد، مشهد، تربت جام، کرمان، سه نمونه بافتی از هر کدام از جمعیت‌های ارسنجان، تهران، یزد و



شکل ۱- نقشه پراکنش هشت گونه زیباموش در غرب و شمال پاکستان، سرتاسر افغانستان، ایران، جنوب سوریه، جنوب آذربایجان (نخجوان)، غرب و جنوب غرب ترکمنستان (۱۸).

جدول ۱- تعداد نمونه های صید شده از جمعیت‌های زیباموش به همراه مشخصات مربوط به محل نمونه برداری آنها.

مختصات جغرافیایی	نام نمونه	تعداد	جمع آوری کننده	محل نمونه برداری
29° 48' N, 53° 14' E	<i>C. bailwardi</i>	۸	شهابی	فارس، شهرستان ارسنجان، یزد آباد
28° 47' N, 56° 20' E	<i>C. bailwardi</i>	۷	درویش، آذریبیرا	کرمان، شهرستان بافت، انجرک
27° 18' N, 61° 46' E	<i>C. hotsoni</i>	۷	درویش، شهابی	بلوچستان، شهرستان سراوان، پسکوه
31° 40' N, 54° 19' E	<i>C. elburzensis</i>	۸	درویش، سیاه سروی	یزد، اسلامیه و فخرآباد
29° 48' N, 53° 14' E	<i>C. grandis</i>	۶	سیاه سروی	تهران، فشم
35° 9' N, 60° 24' E	<i>C. elburzensis</i>	۶	شهابی	خراسان، شهرستان تربت جام، نصرآباد
36° 15' N, 59° 34' E	<i>C. elburzensis</i>	۱۵	سیاه سروی، شهابی	خراسان، شهرستان مشهد، خواجه مراد
36° 30' N, 61° 7' E	<i>C. elburzensis</i>	۱۰	سیاه سروی	خراسان، شهرستان سرخس، آق دربند
37° 26' N, 58° 43' E	<i>C. elburzensis</i>	۳	درویش	خراسان، شهرستان درگز، تندوره
37° 29' N, 57° 17' E	<i>C. elburzensis</i>	۶	سیاه سروی	خراسان، شهرستان بجنورد

Muridae، هامستر مهاجر (*Cricetulus migratorius*)  
نمایشگر خانواده Cricetidae و میکروتوس  
ترانسکاسپیکوس (*Microtus transcaspius*) نمایشگر  
خانواده Arvicolinae به عنوان گروه خارجی، مشخص  
شد.

## نتایج

از ۶۳۷ نوکلئوتید ژن *COI* تعیین توالی شده در ۲۸ نمونه  
با احتساب توالیهای سه گروه خارجی در آنالیز مولکولی،  
۴۲۵ سایت مونومورف یا غیر متغیر و ۲۱۲ سایت پلی  
مورف یا متغیر بودند. تعداد هاپلو تیپهای به دست آمده ۲۲  
عدد بود که با حذف سه هاپلو تیپ گروه خارجی تعداد ۱۹  
هاپلو تیپ در گونه های زیباموش تعیین گردید. از ۶۰  
سایت متغیر یگانه، ۵۱ سایت دارای دو واریانت، هشت  
سایت دارای سه واریانت و یک سایت دارای چهار واریانت  
بود. میانگین فاصله مولکولی بین گونه ای-2 (Kimura-  
parameter) بیانگر آن است که دو گونه *C. bailwardi* و  
*C. hotsoni* و سپس دو گونه *C. grandis* و  
*selburzensis* کمترین واگرایی ژنتیکی را از یکدیگر نسبت  
به گونه های دیگر نشان می دهند. *C. grandis* و  
*bailwardi* نیز بیشترین واگرایی را از یکدیگر دارا می  
باشند. علاوه بر این میانگین فاصله مولکولی درون گونه ای  
بیانگر بیشترین و کمترین واگرایی ژنتیکی درون گونه ای  
به ترتیب در افراد گونه

*C. elburzensis* و گونه *C. grandis* است (جدول ۲).

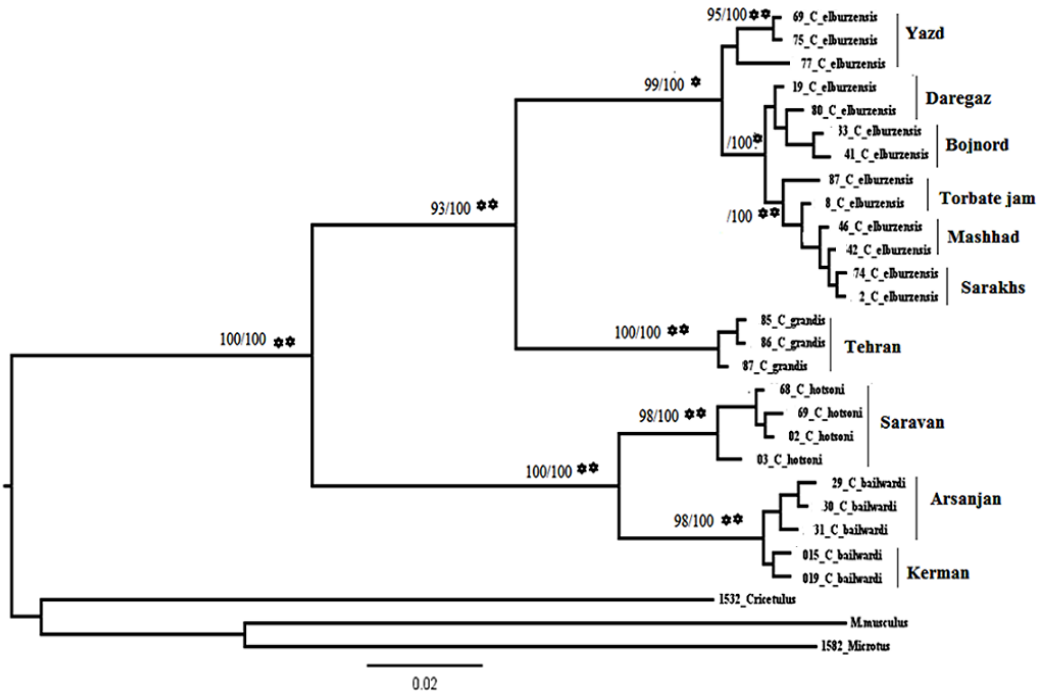
**آنالیز Bayesian**: درخت حاصل از آنالیز Bayesian،  
صحت وجود چهار گونه ناهم جای مورد مطالعه زیباموش  
را تأیید کرده و دوکلاد اصلی شمالی و جنوبی را تشکیل  
می دهد. کلاد شمالی شامل دو گونه *C. elburzensis* و  
*grandis* و کلاد جنوبی از دو گونه *C. hotsoni* و  
*bailwardi* تشکیل شده است (شکل ۲). نمونه های مربوط  
به مناطق مشهد، سرخس، تربت جام، درگز، بجنورد و یزد

واکنش PCR شامل ۲۱ میکرو لیتر آب، یک ماکرو لیتر از هر  
پرایمر (۱۰ μM) و دو ماکرو لیتر از DNA استخراج  
شده (۱۰۰ ng/μl)، درون ظرفهای حاوی مواد PCR خشک  
(بافر PCR، dNTP، آنزیم *Taq* DNA پلیمرز و  $MgCl_2$ )  
که به صورت آماده خریداری شده بود انجام گردید. برنامه  
انجام PCR برای ژن *COI* طبق دستورالعمل ناتالیا  
و همکاران (۲۰۰۶) پیروی گردید (۱۷). تعیین توالی  
محصولات تمیز شده PCR براساس دستورالعمل علی  
آبادیان و همکاران (۲۰۰۷) انجام و برای توالی یابی به  
شرکت کره ای ماکروژن در کره فرستاده شد (۱).

**روشهای تحلیل داده های مولکولی**: توالیهای ژن *COI* به  
طور چشمی تصحیح و با کمک نرم افزار Bioedit (۸)  
مرتب شدند. سپس آنالیزهای حداکثر  
پارسیمونی (Maximum Parsimony) و حداکثر احتمال  
(Maximum Likelihood) توسط نرم افزار Mega4،  
PAUP 4.0b10 (۲۲) انجام شد. تعیین مدلها و پارامترهای  
حداکثر احتمال به وسیله آزمون مرتبه ای نسبت احتمالات،  
و با کمک نرم افزار مدل تست (Model test) (۲۱) انجام  
گردید. برای آزمایش قابلیت اطمینان یا آزمون تأییدی گروه  
ها از بوت استراپ با ۵۰۰ و ۲۰۰۰ بار تکرار به ترتیب در  
آنالیز حداکثر احتمال و حداکثر پارسیمونی استفاده شد.  
آنالیز Bayesian به روش Markov Chain Monte Carlo  
توسط نرم افزار Mr Bayes 3.1.1 (۱۰) انجام گردید. در  
فرایند Markov Chain Monte Carlo، چهار زنجیره به  
طور همزمان برای دو میلیون نسل، با درختان نمونه برداری  
شده در هر صد نسل (منتج شده به ده هزار درخت) با  
استفاده از احتمالات پیش فرض راه اندازی شد. آنالیزها  
بر روی یک درخت آغاز کننده تصادفی انجام گرفت و  
مقادیر احتمالات پسین از درختان باقیمانده محاسبه شد.  
فاصله مولکولی (Kimura-2-parameter) بین گونه ای و  
درون گونه ای توسط نرم افزار PAUP 4.0b10 (۲۲)  
محاسبه گردید و قطبیت صفات با استفاده از توالیهای  
موش خانگی (*Mus musculus*) به نمایندگی خانواده

ارسنجان (فارس) جزء گونه *C. bailwardi* می‌باشند. چهار خوشه گونه ای هرکدام دارای مقادیر تأییدی Bayesian بالای ۹۵ می‌باشند و بنابراین قابلیت اطمینان آنها بالا و معنادار می‌باشند (شکل ۲).

با هم گونه *C. elburzensis* می‌باشند. بنابراین ناحیه پراکندگی این گونه از شمال خراسان تا یزد ادامه می‌یابد. نمونه های مربوط به تهران جزء گونه *C. grandis*، نمونه های سراوان جزء گونه *C. hotsoni* و نمونه های کرمان و



شکل ۲- درخت حاصل از آنالیز Bayesian به همراه مقادیر تأییدی Bayesian بالاتراز ۹۵ (یک ستاره)، بالاتراز ۹۹ (دو ستاره) و مقادیر بوت استراپ مربوط به دودرخت دیگر (حداکثر احتمال / حداکثر پارسیمونی) که نشان دهنده میزان تأیید گره ها در درخت مربوطه می‌باشند.

جدول ۲- میانگین فاصله ژنتیکی (Kimura-2-Parameter) بین گونه ای (نازک در پایین قطر جدول) و درون گونه ای (ضخیم در قطر جدول) در جنس زیاموش.

	<i>C. elburzensis</i>	<i>C. grandis</i>	<i>C. bailwardi</i>	<i>C. hotsoni</i>
<i>C. elburzensis</i>	۰/۰۰۹			
<i>C. grandis</i>	۰/۰۷۹	۰/۰۰۱		
<i>C. bailwardi</i>	۰/۱۳۸	۰/۱۳۹	۰/۰۰۵	
<i>C. hotsoni</i>	۰/۱۳۷	۰/۱۳۰	۰/۰۴۶	۰/۰۰۴

چهارواریانت است. تعداد سایتهای ثابت برابر با ۴۲۶ و تعداد سایتهای متغیر غیرپارسیمونی برابر با ۶۰ می‌باشد. ۸۳ درخت پارسیمونی به دست آمد و در نهایت درخت

آنالیز حداکثر پارسیمونی: تعداد سایتهای پارسیمونی اطلاع بخش برابر با ۱۵۲ بوده که ۹۴ سایت آن دارای دو واریانت، ۴۷ سایت دارای سه واریانت و ۱۱ سایت دارای

فیلوژنتیکی است (۹). در واقع تکامل این ژن به اندازه‌ی کافی سریع است که نه تنها سبب جدا کردن گونه‌های بسیار نزدیک به هم می‌شود بلکه همچنین گروه‌های فیلوجغرافیایی درون یک گونه را نیز از هم جدا می‌کند. همچنین علت استفاده از ژن *COI* بالای بودن سرعت تکاملی این ژن و قابل توجه بودن جانشینی بازی در جایگاه سوم نوکلئوتیدی در این ژن می‌باشد. حضور پرایمرهای قوی که سبب آسان تر شدن PCR در این مکان می‌شود دلیل دیگری در انتخاب این ژن می‌باشد (۹). هر سه درخت حداکثرپارسیمونی، حداکثر احتمال و درخت Bayesian، دوکلاد اصلی شمالی و جنوبی و وجود چهار گونه ناهم‌جا (Allopatric) مورد مطالعه زیماموش را نشان می‌دهند. مقادیر تأییدی Bayesian همراه با آزمونهای تأییدی بوت استرپ در دو درخت حداکثر احتمال و حداکثرپارسیمونی بر روی درخت Bayesian نشان داده شده است (شکل ۲). چهار خوشه گونه‌ای هر کدام دارای مقادیر تأییدی Bayesian و بوت استرپ بالای ۹۸ می‌باشند. بنابراین قابلیت اطمینان آنها بالا و به عنوان چهارگونه مجزا در هر سه درخت به خوبی تأیید می‌شوند. دو کلاد شمالی و جنوبی نیز با مقادیر تأییدی Bayesian برابر ۱۰۰ و بوت استرپ‌های ۹۳ و ۱۰۰ به خوبی مورد تأیید می‌باشند. همچنین این درخت نشان می‌دهد که کلاد جنوبی قدیمی تر از کلاد شمالی می‌باشد. گونه *C. bailwardi* در کلاد جنوبی از لحاظ قدمت قدیمی تر بوده در حالی که در کلاد شمالی، گونه *C. elburzensis* قدیمی تر می‌باشد. این مطالعه فقط برحسب چهارگونه زیماموش پراکنده در فلات ایران انجام گردید. بنابراین بدون داشتن گونه‌های دیگر نمی‌توان در مورد منشاء اولیه و مسیرانتشار گونه‌های زیماموش دقیقاً صحبت کرد. به نظر می‌رسد کویر مرکزی و کویرلوت در ایران مهم ترین نقش را در جدایی این دو کلاد شمالی و جنوبی داشته‌اند. پراکنش گونه *C. elburzensis*، قبلاً کوه‌های شمال و شمال شرق ایران (از دامنه‌های جنوبی کوه‌های البرز در استان سمنان، حوالی

حداکثر پارسیمونی اجماع majority-rule (50% Consensus) همراه با آزمون تأییدی بوت استرپ (شکل ۲) رسم گردید که نتایج حاصل از آنالیز Bayesian را به خوبی تأیید می‌کند.

**آنالیز حداکثر احتمال:** پنجاه و شش مدل برای توالیهای نوکلئوتیدی مورد آزمون قرار گرفت که در نهایت براساس معیار AKAIKE INFORMATION CRITERION (AIC) مدل GTR+I+G انتخاب شد. فرکانس بازهای A,C,G,T به ترتیب برابر با ۰/۲۷۸۳، ۰/۱۵۸۸، ۰/۲۷۳۵، ۰/۲۸۹۳، نسبت سایتهای نامتغیر به کل سایتهای برابر با ۰/۵۴۵۴ و نسبت سایتهای متغیر به کل سایتهای (پارامترشکل توزیع گاما) برابر ۱/۳۴۳۶ می‌باشد. درخت اجماع حداکثر احتمال (50% majority-rule consensus) با بوت استرپ ۵۰۰ مرتبه تکرار (شکل ۲)، براساس مدل GTR+I+G نتایج به دست آمده از آنالیز Bayesian و حداکثرپارسیمونی را تأیید می‌کند.

### بحث و نتیجه گیری

مطالعاتی که تاکنون بر روی جنس زیماموش انجام شده بر اساس پراکنش جغرافیایی، کاریولوژی، مورفومتری و آنالیزهای مولکولی قدیمی شبیه RFLP بوده است. گونه‌های جنس زیماموش از لحاظ ظاهری شباهت زیادی به یکدیگر دارند و روشهای مورفولوژیکی، روشهای مفید و قابل اطمینان برای تشخیص گونه‌های این جنس از یکدیگر نیستند. تاکنون مطالعه مولکولی با استفاده از تکنیک تعیین توالی DNA بر روی گونه‌های ایرانی زیماموش انجام نشده است. در این مطالعه از ژن میتوکندریایی *COI* برای مشخص شدن وضعیت تبارزایی و آرایه‌شناسی این جنس در ایران به این علت استفاده گردید که اولاً پرایمرهای عمومی در تکثیر این ژن خیلی قوی هستند و قادرند انتهای ۵' خود را ترمیم کنند. ثانیاً ژن *COI* به نظر می‌رسد که نسبت به دیگر ژنهای میتوکندریایی، دارای محدوده بیشتری از نشانه‌های

## تشکر و قدردانی:

بدین وسیله از زحمات آقایان سیاه سروی، آذرپیرا و همچنین محیط بانان اداره محیط زیست سراوان که در امر جمع‌آوری نمونه‌های زیبا موش، کمک نموده‌اند تشکر و قدردانی می‌شود. این پروژه از محل اعتبارات طرح تحقیقاتی خانواده زیباموشیان (Calomyscidae) توسط گروه پژوهشی چوننده‌شناسی دانشگاه فردوسی مشهد اجرا شده است.

شهر سمنان و اطراف سنگسر به سمت شرق، از شمال استان خراسان در شمال شرق ایران تا مشهد)، جنوب ترکمنستان و شمال غرب افغانستان شناخته شده بود (۲۴). اما این مطالعه مولکولی نشان می‌دهد که نمونه‌های استان یزد جزء این گونه می‌باشند و بنابراین دامنه پراکنش این گونه از شمال شرق تا مرکز ایران (استان خراسان رضوی، خراسان شمالی و یزد) گسترش دارد و جمعیت یزد به عنوان یک ایزولای جغرافیایی از سمت کوه‌های البرزی کاملاً جداست. بنابراین وضعیت فیلوژغرافیایی این گونه در ایران نامشخص است و نیاز به مطالعات مولکولی بیشتری دارد.

## منابع

1. Aliabadian, M., Kaboli, M., Prodon, R., Nijman, V. and Vences, M. (2007) Phylogeny of Palaearctic wheatears (genus *Oenanthe*) — Congruence between morphometric and molecular data. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 42: 665–675.
2. Bruford, M.W., Hanotte, O., Brokfield, J.F.Y., Burke, T., 1992. Single-locus and multilocus DNA fingerprinting. In: Hoelzel, A.R. (Ed.), *Molecular Genetic Analysis of Populations: A Practical Approach*. Oxford University Press, New York. pp. 225–269.
3. Corbet, G. B., 1978: *The Mammals of the Palaearctic Region: A Taxonomic Review*. Cornell University Press.
4. Ellerman, J. (1941). *The Families and Genera of Living Rodents*, vol. 2. London: British Museum (Natural History).
5. Ellerman, J. R. and Morrison-Scott, T. C. S. 1951. Checklist of Palaearctic and Indian Mammals 1758 to 1946. Trustees of the British Museum (Natural History), London, 810 pp.
6. Ellerman, J. R. (1961). In the fauna of India including Pakistan, Burma and Ceylon. *Mammalia*. Second ed. Manager of Publications, Zoological Survey of India, Calcutta, Vol.3 (in 2 parts), 1:1-482; 2:483-884.
7. Graphodatsky, A. S., Sablina, O. V., Meyer, M. N., Malikov, V. G., Isakova, E. A., Trifonov, V. A., Polyakov, A. V., Lushnikova, T. P., Vorobieva, N. A., Serdyukova, P. L., Perelman, P. L., Borodin, P. M., Benda, P., Frynta, D., Leikepova, L., Munelinger, P., Pialek, J., Sadlova, J., Zima, J. (2000) Comparative cytogenetics of hamsters of the genus *Calomyscus*. *Cytogenet Cell Genet*. **88**: 296-304.
8. Hall, T.A., 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98.
9. Hebert, P. D. N., A, Cywinska., S. L. Ball, and J. R. deWaard. 2002. Biological identifications through DNA barcodes. The Royal Society.
10. Huelsenbeck, J.P., Ronquist, F., 2001. MRBAYES: Bayesian inference of phylogeny. *Bioinformatics* 17, 754–755.
11. Jansa, S. and Weksler, M. (2004) Phylogeny of muroid rodents: relationships within and among major lineages as determined by IRBP gene sequences. *Mol Phylogenet Evol*. 31: 256-276.
12. Lebedev, V. S., Pavlinov, I. ya., Meyer, M. N., Malikov, V. G. (1998) Cranometric analysis of mouse-like hamsters of the genus *Calomyscus* (Cricetidae). *Zool Zhurnal*. **59**: 312-376.
13. Malikov, V. G., Meyer, M. N., Graphodatsky, A. S., Polyakov, A. V., Sablina, O. V., Vaziri, A. sh., Nazari, F. and Zima, J. (1999) On a taxonomic position of some karyomorphs belonging to genus *Calomyscus* (Rodentia, Cricetidae). *Proceedings of the Zoological Institute RAS*, 281: 27-32.
14. Meyer, M. N., Malikov, V. G. (1996) Peculiarities of biology and post natal otogenesis in *Calomyscus* (Cricetidae, *Calomyscus*). *Zool Zhurnal*. **75**: 1852-1862.
15. Morshed, S. and Patton, J. (2002). New records of mammals from Iran with systematic comments on hedgehogs (Erinaceidae) and mouse-like hamsters (*Calomyscus*, Muridae). *Middle East J*. 26: 49-58.

16. Musser, G. and Carleton, M. (1993) Mammal species of the world: a taxonomic and geographic reference Family Muridae. Smithsonian Institution Press, Pp: 501-755.
17. Natalia, V. L., Jeremy, R. D. and Paul, D. N. (2006). An inexpensive, automation-friendly protocol for recovering high-quality DNA. *Molecular Ecology Notes*. 6: 998–1002.
18. Norris, R. W. Woods, C. A. and Kilpatrick, C. W. (2008) Morphological and molecular definition of *Calomyscus hotsoni* (Rodentia: Muroidea :Calomyscidae). *Journal of Mammalogy*. 89:306-315.
19. Pavlinov, I. Y., Yakhontov, E. L. and Agadzanyan, A. K. (1995) Mammals of Eurasia, I. Rodentia. Taxonomic and geographic guide. Archives of the Zoological Museum, Moscow State University, 32: 289pp.
20. Peshev, D. (1991). On the systematic position of the mouse-like hamster *Calomyscus bailwardi* (Cricetidae, Rodentia) from the near-east and middle Asia. *Mammalia*. 55: 107-112.
21. Posada, D., Crandall, K.A., 1998. MODELTEST: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics* 14, 817–818.
22. Swofford, D.L., 2002. PAUP\* Phylogentic Analyses Using Parsimony (and other methods), Version 4b10. Sinauer associates, Sunderland, MA.
23. Vorontsov, N. N., Kartavtseva, I. and Potapova, E. G. 1979. Systematics of the genus *Calomyscus* Karyological differentiation of the sibling species from Transcaucasia and Turkmenia and a review of species in the genus *Calomyscus*. *Zoologicheskij Zhurnal*. 58 :1391-1397.
24. Wilson, D. E. and Reeder, D. M. (2005) Mammal species of the world, a taxonomic and geographic references. 2nd Edition, Smithsonian Institution Press.

## Phylogeny of Genus *Calomyscus* (Rodentia: Calomyscidae) from Iranian plateau, inferred from mitochondrial *CO1* gene.

Shahabi S.<sup>1</sup>, Darvish J.<sup>1,2</sup> and Aliabadian M.<sup>1</sup>

1 - Biology Dept., Ferdowsi University, Mashhad, I.R. of IRAN

2 - Rodentology Research Dept., Ferdowsi University, Mashhad, I.R. of IRAN

### Abstract

The genus *Calomyscus* has long been considered monospecies and represented by the species *C. bailwardi*. Recently, eight geographic species have been recognized. Of which five species distributed in Iran: *C. bailwardi*, *C. hotsoni*, *C. urartensis*, *C. elburzensis* and *C. grandis*. A mitochondrial gene (CO1) including 637 base pairs for 25 specimens of four *Calomyscus* species was amplified. Maximum Parsimony, Bayesian and Maximum Likelihood analyses supported the current taxonomy of four studied Iranian species for *Calomyscus*, i.e., the recognition of the allopatric populations as distinct species. The molecular phylogeny derived from analyses of *CO1* sequences divides the four taxa into two major clades. One clade including *C. bailwardi*, *C. hotsoni* and other clade is composed of *C. elburzensis* and *C. grandis*. The molecular data further indicated that *C. elburzensis* is distributed from northeast to central Iran (Razavi Khorasan, Northern Khorasan and Yazd Provinces) and separate Yazd population as an isolated geographically population from Elburze Mountains.

**Keywords:** Rodentia, Calomyscidae, *Calomyscus*, Phylogeny, Systematics, *CO1*