

مطالعه فیلوژئوگرافی سگ‌های اهلی (*Canis lupus familiaris*) استان همدان با استفاده از ژنوم میتوکندری

مرضیه اسدی‌آق‌بلاغی^۱، محمد کابلی^{۲*}، حمیدرضا رضایی^۳

تاریخ دریافت: ۹۲/۱۱/۲۱

تاریخ تصویب: ۹۳/۱۲/۲۱

چکیده

سگ اهلی یکی از اعضای خانواده سگ‌سانان است که در حدود چندین هزار سال پیش با کنترل و اهلی‌سازی گله‌های کوچک گرگ به صورت حیوانات اهلی درآمدند. سگ‌های اهلی دارای تنوع ژنتیکی بالایی هستند و نژادهای بسیاری از سگ‌های اهلی در دنیا گزارش شده است. در استان همدان نیز مردم بومی به منظور ایجاد سگ‌های گله قوی اقدام به دو رگه‌گیری سگ و گرگ می‌کنند. در این مطالعه با استفاده از توالی‌یابی ناحیه کنترل ژنوم میتوکندری، جایگاه فیلوژئوگرافی (توزیع جغرافیایی تبارها) سگ‌های استان همدان و همچنین ارتباطات آن‌ها با سایر سگ‌های ایران بررسی شد. نتایج این مطالعه بر اساس

^۱ کارشناس ارشد مهندسی منابع طبیعی- محیط زیست دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران

^۲ (نویسنده مسئول) دانشیار گروه محیط زیست طبیعی، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران؛ mkaboli@ut.ac.ir

^۳ استادیار گروه محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

هاپلوتیپ‌های تشکیل شده نشان داد که سگ‌های ایران و همینطور سگ‌های استان همدان دارای تنوع ژنتیکی بالایی هستند. سگ‌های استان همدان روابط پیچیده‌ای با یکدیگر دارند به نحوی که هاپلوتیپ‌های مشترک متعددی در بین آن‌ها مشاهده شد. همچنین سگ‌های این استان ارتباطات گسترده‌ای با سگ‌های سایر استان‌ها بویژه مناطق شمالی و غربی دارند در واقع این پیچیدگی ارتباطات نشان‌دهنده وجود رفتارهای هرج و مرج گونه تولید مثلی در سگ‌های اهلی می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: تبارشناسی، جریان ژن، سگ‌های اهلی، گرگ، mtDNA، استان همدان

Vila` et al., 1999; Vila` et al., 1997; Clutton-Brock., 1995). همچنین شواهدی حاکی از برقراری جریان ژنی بین گرگ‌ها و سگ‌ها در سال‌های آغازین گسترش سگ‌های اهلی در منطقه خاورمیانه وجود دارد. محققین فرضیات مختلفی نیز مبنی بر شکل‌گیری سگ‌های اهلی در آسیا و مهاجرت آن‌ها به آفریقا و مناطق قطبی ارائه نموده‌اند (Savolainen et al., 2002; Leonard et al., 2002; Sablin et al., 2002; Pang et al., 2009; Boyko et al., 2009) در گذشته نژادهای سگ براساس فعالیت‌های انسانی، ویژگی‌های فیزیکی و تاریخی تقسیم‌بندی می‌شدند. سگ‌های اهلی از لحاظ ریخت‌شناسی اختلافات گسترده‌ای با یکدیگر دارند (Wayne, 1986; Vila` et al., 1999; Parra et al., 2008) برای تعیین روابط دقیق بین گونه‌ها می‌توان از نشانگرهای

مقدمه

سگ اهلی (*Canis lupus familiaris*) عضو خانواده سگ‌سانان و یکی از قدیمترین حیوانات اهلی در دنیا بشمار می‌رود (Tsuda et al., 1997). طبق آثار باستانی اهلی‌سازی سگ‌ها در حدود یازده هزار و پانصد سال پیش در جنوب غربی آسیا و حدود پانزده الی بیست هزار سال پیش در جنوب شرقی آسیا با اهلی‌سازی گله‌های کوچک گرگ (*Canis lupus*) صورت گرفته است (Ding et al., 2011; Ardalan et al., 2011; Tanabe et al., 1999; Tanabe et al., 1991). براساس مطالعات صورت گرفته دو زیرگونه گرگ *Canis lupus arabs pallipes* در غرب آسیا به عنوان اجداد سگ‌های اهلی شناسایی شده‌اند (Tanabe., 2006; Zimen., 2003;

مناطق وجود دارد (Parker *et al.*, 2004). در حال حاضر بیش از ۴۰۰ نژاد سگ در دنیا وجود دارد و در حدود ۱۵۲ نژاد توسط انجمن سگ‌های آمریکا (AKC^۱) ثبت شده است (Parker *et al.*, 2004). همچنین براساس مطالعات باستان‌شناسی تاکنون چندین نژاد سگ از ایران گزارش شده که در بخش‌های مختلف کشور پراکنش دارند (سگ تازی در نیمه شرقی کشور، سگ قفقازی در قسمت‌های شمال و شمال غربی کشور، سگ بلوچی در جنوب شرقی و همچنین سگ شکاری پاکوتاه (فیندو در مناطق کردنشین)) (Ostrander *et al.*, 2007). از سوی دیگر و با توجه به جابجایی انسانی در سطح کشور به طور مصنوعی دورگه‌هایی در بین نژادهای مختلف نیز شکل گرفته است و نژادهای مختلفی از سایر کشورها به ایران وارد شده است (Dahnke *et al.*, 2009).
[http://; www.iranzoo.co.nr](http://www.iranzoo.co.nr)
 تشکیل دورگه بین حیوانات اهلی و وحشی به طور طبیعی در طبیعت اتفاق می‌افتد (Vila *et al.*, 2005; Randi, 2008; Godinho *et al.*, 2011; Khosravi *et al.*, 2013 همه گونه‌های جنس *Canis* می‌توانند باهم زادآوری کنند و فرزند بارور تولید نمایند (Vila & Wayne, 1997). جریان ژنی بین سگ و گرگ یک معضل جدی است به دلیل اینکه اثرات گوناگونی بر روی اندازه

ملکولی استفاده نمود. در دهه‌های گذشته پلی‌مورفیسم میتوکندری با موفقیت در بررسی روابط ژنتیکی بین جمعیت‌های یکسان از یک گونه و بین گونه‌های نزدیک بهم به کار برده شده است (Freeland, 2005). بویژه ناحیه کنترل^۱ و سیتوکروم b^۲ با موفقیت در تعیین روابط بین سگ‌های اهلی و گرگ‌ها بکار برده شده‌اند و به دلیل نرخ تکاملی ویژه این ژنوم می‌توان نژادهایی با فاصله زمانی کمتر از ۴۰۰ صد سال را نیز تشخیص داد (Parker *et al.*, 2004; Vila *et al.*, 1999; Wayne *et al.*, 1993; Asch *et al.*, 2009; Savolainen *et al.*, 2000). پارکر و همکارانش (۲۰۰۴). با استفاده از ۹۶ جایگاه ریزماهوره تغییرات درون‌نژادی و بین‌نژادی را در ۸۵ نژاد سگ اهلی از نقاط مختلف دنیا بررسی نموده و از هشت گرگ از کشورهای مختلف (ایران، چین، عمان، سوئد، ایتالیا، مکزیک، کانادا و آمریکا) به عنوان برون‌گروه استفاده کردند. براساس این پژوهش به طور کلی سگ‌های دنیا را به شش طبقه تقسیم‌بندی کردند که شامل سگ‌های آفریقای مرکزی، خاورمیانه، صحرای تبت، چین، ژاپن و قطبی هستند. همچنین بیان کردند با وجود اختلاف بین نژادهای مختلف، سگ‌های آسیا و اروپا از یک خزانه ژنی مشترک منشأ گرفته‌اند و هاپلوتیپ‌های مشترک زیادی در بین این

^۱ D-Loop^۲ Cyt b^۱ American Kennel Club

روش تحقیق جمع‌آوری نمونه

از ۲۹ قلاده سگ از مناطق مختلف در استان همدان نمونه بافت تهیه شد. نمونه‌ها ابتدا در الکل و سپس در سیلیکاژل قرار داده شدند و جهت استخراج DNA به آزمایشگاه منتقل شدند. همچنین برای بررسی هاپلوتیپ‌ها، فراوانی آن‌ها و جایگاه سگ‌های اهلی استان همدان در ایران و بررسی ارتباطات بین آن‌ها از ۲۶ توالی ناحیه کنترل دی‌ان‌ای میتوکندری ثبت شده سگ‌های ایران در بانک ژن^۲ (NCBI) استفاده شد (جدول ۱).

جمعیت گرگ‌ها می‌گذارد و ممکن است یکپارچگی ژنتیکی خزانه ژنی گرگ‌ها بواسطه اختلاط ژنتیکی، به طور جدی در معرض خطر قرارگیرد (Verardi *et al.*, 2006). با توجه به وجود گزارشاتی مبنی بر دورگه‌گیری بین گرگ و سگ در استان همدان توسط مردم بومی و افزایش حملات گرگ در این استان که منجر به کشتار گرگ‌ها در این منطقه شده است، هدف این مطالعه بررسی جایگاه جغرافیایی و شناخت بهتر نحوه ارتباط سگ‌های اهلی استان همدان است. لذا در این مطالعه تلاش شد جایگاه فیلوژئوگرافی (توزیع جغرافیایی تبارها) سگ‌های اهلی متعلق به استان همدان، تنوع ژنتیکی، موقعیت آن‌ها در ایران و ارتباطات موجود در بین آن‌ها با استفاده از ناحیه کنترل ژنوم میتوکندری بررسی شود.

²National Center for Biotechnology Information

¹Phylogeographic

جدول (۱). شماره‌های ثبت توالی‌های گرفته شده از پایگاه بانک ژن (NCBI).

شماره توالی‌های گرفته شده از پایگاه بانک ژن (NCBI)						نام گونه
موقعیت	شماره ثبت توالی	موقعیت	شماره ثبت توالی	موقعیت	شماره ثبت توالی	سگ
بانه	AY570170	بندر لنگه	AY 570161	تنگلی	AY570152	
شهر بابک	AY570171	میانکاله	AY570162	مشیخاص	AY570153	
انباران	AY570172	گرگان	AY570163	پلور	AY570154	
بیرجند	AY570173	قدمگاه	AY570164	گرمسار	AY570155	
بندر گز	AY570174	ماهدشت	AY570165	ورامین	AY570156	
مرودشت	AY570175	نیشابور	AY570166	زیارت	AY570157	
میانه	AY570176	بندر ترکمن	AY570167	بستک	AY570158	
کرج	AY570177	رزن	AY570168	-	AY570159	
		خمین	AY570169	-	AY570160	

آماده‌سازی نمونه‌ها

استخراج DNA با استفاده از کیت (AccuPrep) صورت گرفت، DNA استخراجی تا زمان PCR در دمای ۲۰- درجه نگهداری شد. کیفیت و کمیت DNA استخراجی نیز با استفاده از ژل آگاروز یک درصد و دستگاه اسپکتروفتومتری تعیین شد.

واکنش زنجیره‌ای پلی‌مران، الکتروفورز و توالی‌یابی

در طی واکنش زنجیره‌ای پلی‌مران قسمت درونی ناحیه کنترل در همه نمونه‌ها با استفاده از پرایمرهای خارجی پیشرو I-pro و پسرو H-phe تکثیر شد (جدول ۲)

ترکیب (Douzery & Randi., 1997).

واکنش زنجیره‌ای پلی‌مران در حجم ۲۵ میکرولیتر و شرایطی شامل ۲۰ نانوگرم DNA یک واحد بین‌المللی taq DNA پلی‌مران، بافر PCR 1x، ۱/۵ میلی‌مولار کلرید منیزیم و آب مقطر تا رسیدن به حجم ۲۵ میکرولیتر انجام گرفت. چرخه دمایی واکنش زنجیره‌ای پلی‌مران ابتدا با مرحله واسرشته‌سازی، ۱۰ دقیقه در ۹۵ درجه سانتی‌گراد و در ادامه ۳۵ چرخه، شامل ۳۰ ثانیه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد و ۳۰ ثانیه در ۵۸ درجه و ۶۰ ثانیه در ۷۲ درجه و بسط نهایی با ۷۲ درجه در ۱۰ دقیقه انجام شد. تولیدات تکثیر شده با استفاده از برش از روی ژل آگاروز خالص سازی شدند.

محصول PCR جهت توالی‌یابی از طریق شرکت تکاپوزیست به کشور کره جنوبی ارسال گردید که توالی یابی با استفاده از پرایمر خارجی l-pro و پرایمر درونی H-576 (جدول ۱) (Randi *et al.*, 2000) با استفاده از دستگاه مدل (Biosystems Applied 3730xl/Bioneer 3730xl) انجام شد. در نهایت توالی‌های حاصل از این پژوهش در پایگاه ژن بانک ثبت شدند (جدول ۳).

جدول (۲). مشخصات آغازگرها.

آغازگر	توالی
L-Pro	5'-CGTCAGTCTCACCATCAACCCCAA AGC-3'
H-phe	5'-GGGAGACTCATCTAGGCATTTTCAGTG-3'
H-576	5'-TTTGACTGCATTAGGGCCGCGACGG-3'

جدول (۳). شماره ثبت توالی‌های ثبت شده در پایگاه ژن بانک.

ترتیب	موقعیت نمونه‌ها	تعداد	شماره ثبت توالی‌ها در پایگاه ژن بانک
1	Hamedan D30	1	KC540930
2	Hamedan D17,Hamedan D26	2	KC540931
3	Hamedan D1,Hamedan D7	2	KC540932
4	Zanjan D6,Hamedan D29,Hamedan D32	3	KC540933
5	Hamedan D2,Hamedan D3	2	KC540934
6	Hamedan4,Hamedan11,Hamedan15,Hamedan21,Hamedan25,Hamedan D28	6	KC540935
7	Hamedan D8	1	KC540936
8	Hamedan D9,Hamedan D16,Hamedan D19	3	KC540937
9	Hamedan D10,Hamedan D18	2	KC540938
10	Hamedan D12	1	KC540939
11	Hamedan D14	1	KC540940
12	Hamedan D20,Hamedan D24	2	KC540941
13	Hamedan D22	1	KC540942
14	Hamedan D27	1	KC540943
15	Hamedan D31	1	KC540944

تجزیه و تحلیل نتایج

ابتدا توالی ناحیه کنترل سگ‌های اهلی ثبت شده از ایران در پایگاه بانک ژن گرفته شدند و سپس مرتب سازی توالی‌های بدست آمده از بانک ژن با توالی‌های حاصل از این^۱ پژوهش در نرم‌افزار^۲ مگا صورت گرفت. با استفاده از نرم‌افزار^۳ آرلکوین هاپلوتیپ‌ها تعیین شدند. در نهایت با استفاده از هاپلوتیپ‌های تعیین شده درخت تبارشناسی براساس روش^۴ الحاق همسایگی و مدل^۵ پارامتر دو-کیمورا در نرم‌افزار مگا ترسیم شد. در ترسیم درخت تبارشناسی از توالی گونه شغال ثبت شده در بانک ژن (AY289997) به عنوان برون گروه استفاده شد و براساس روش^۶ اتصال میانه، شبکه هاپلوتیپی با استفاده از نرم‌افزار^۷ نت ورک ترسیم شد.

نتایج

در این پژوهش ۵۴۴ جفت باز (bp) از توالی ناحیه کنترل دی‌ان‌ای میتوکندری در ۵۵ نمونه سگ بررسی شد (۲۹ نمونه سگ که در این پژوهش مورد بررسی آزمایشگاهی قرار گرفتند و ۲۶ توالی گرفته شده از بانک ژن).

میزان تنوع نوکلئوتیدی در سگ‌های استان همدان و سایر سگ‌های اهلی از نقاط مختلف کشور مشابه بود و معادل ($\pi=0.014$) برآورد گردیدند، همچنین میزان تنوع هاپلوتیپی در کل سگ‌های مورد (۵۵ نمونه) بررسی معادل ($Hd=0.949$) برآورد گردید. نتایج حاصل از ترسیم درخت تبارشناسی با استفاده از هاپلوتیپ‌های تشکیل شده و شبکه هاپلوتیپی ناحیه کنترل میتوکندری در شکل‌های ۱ و ۲ آورده شده است. در ۲۹ نمونه سگ مورد بررسی از استان همدان تعداد ۱۵ هاپلوتیپ شناسایی شد. همانطور که در تصویر مشخص است در تمامی نمونه‌های مورد بررسی ۳۶ گروه هاپلوتیپی در سطح کشور تشکیل شد که در ۱۸ شاخه در درخت تبارشناسی قرار گرفتند. اکثر سگ‌های متعلق به استات همدان با یکدیگر هاپلوتیپ مشترک تشکیل دادند ولی تعدادی هاپلوتیپ مشترک نیز بین سگ‌های استان همدان و سایر استان‌ها تشکیل شد. شبکه هاپلوتیپی تشکیل شده ارتباط بین هاپلوتیپ‌ها را نشان می‌دهد و فراوانی نسبی هاپلوتیپ‌ها مطابق جدول (۴) است.

^۱Alignment

^۲MEGA.5

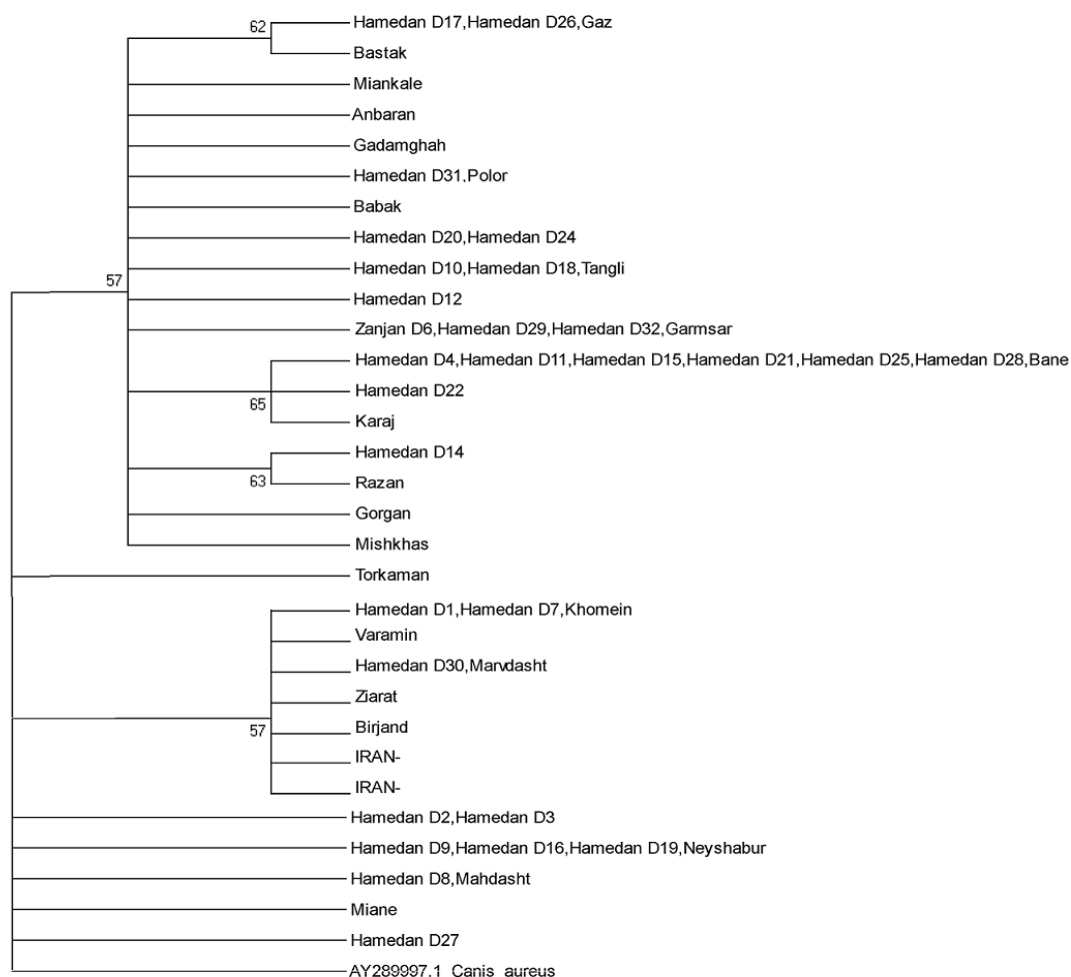
^۳ARLEQUIN3.1

^۴Neighbor-joining

^۵Kimura2-parameter model

^۶Median joining

^۷NETWORK4.6

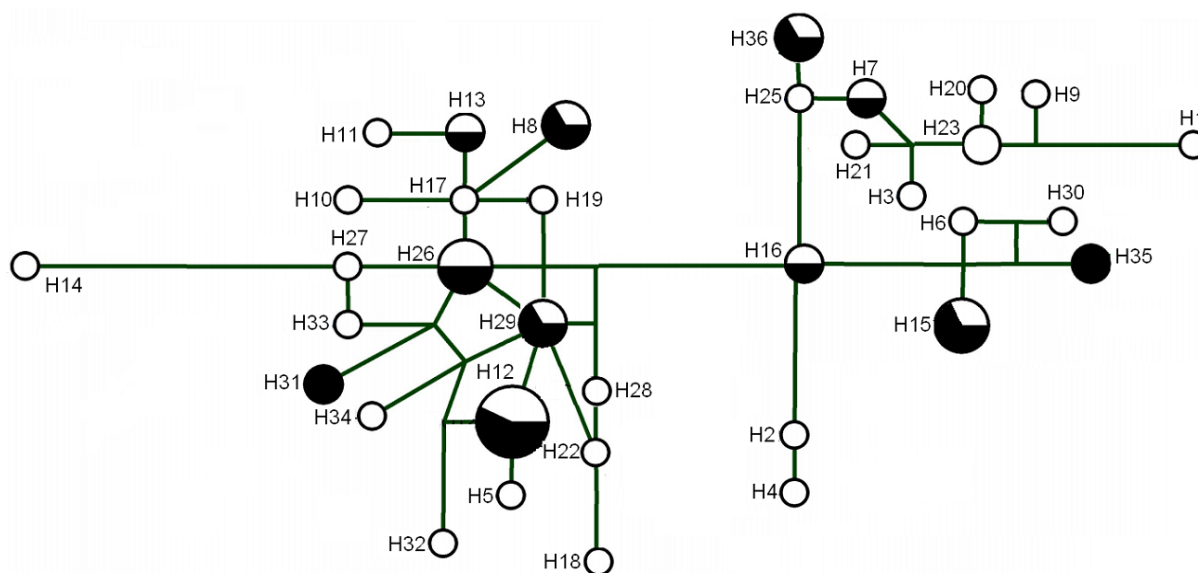


شکل (۱). درخت تبارشناسی حاصل از هاپلوتیپ‌های ناحیه کنترل براساس روش (Neighbor-joining)

جدول (۴). فراوانی نسبی هاپلوتیپ‌های ناحیه کنترل (D-loop).

کد هاپلوتیپ	فراوانی نسبی	کد هاپلوتیپ	فراوانی نسبی
H1 (AY570181).	۰/۰۱۶۹	H19 (AY570162).	۰/۰۱۶۹
H2 (AY570180).	۰/۰۱۶۹	H20 (AY570161).	۰/۰۱۶۹
H3 (AY570179).	۰/۰۱۶۹	H21 (AY570160).	۰/۰۱۶۹
H4 (AY570178).	۰/۰۱۶۹	H22 (AY570159).	۰/۰۱۶۹
H5 (AY570177).	۰/۰۱۶۹	H23 (AY570158).	۰/۰۱۶۹
H6 (AY570176).	۰/۰۱۶۹	H24 (AY570157).	۰/۰۱۶۹
D30).-H7 (AY570175	۰/۰۳۳۹	H25 (AY570156).	۰/۰۱۶۹
H8 (AY570174-D26-D17).	۰/۰۵۰۸	H26 (AY570155-D32-D29-D6).	۰/۰۶۷۸

کد هاپلوتیپ	فراوانی نسبی	کد هاپلوتیپ	فراوانی نسبی
H9 (AY570173).	۰/۰۱۶۹	H27 (AY570168).	۰/۰۳۳۹
H10 (AY570172).	۰/۰۱۶۹	H28 (AY570153).	۰/۰۱۶۹
H11 (AY570171).	۰/۰۱۶۹	H29 (AY570152-D18-D10).	۰/۰۵۰۸
H12 (AY570170-D28-D25-D21-D15-D11-D4).	۰/۱۱۹	H30 (D27).	۰/۰۱۶۹
D31).-H13 (AY570154	۰/۰۳۳۹	H31 (D24-D20).	۰/۰۳۳۹
H14 (AY570167).	۰/۰۱۶۹	H32 (D22).	۰/۰۱۶۹
H15 (AY570166-D19-D16-D9).	۰/۰۶۷۸	H33 (D14).	۰/۰۱۶۹
H16 (AY570165-D8).	۰/۰۳۳۹	H34 (D12).	۰/۰۱۶۹
H17 (AY570164).	۰/۰۱۶۹	H35(D3-D2).	۰/۰۳۳۹
H18 (AY570163).	۰/۰۱۶۹	H36 (AY570169-D7-D1).	۰/۰۵۰۸



شکل (۲). شبکه هاپلوتیپی حاصل از هاپلوتیپ‌های ناحیه کنترل براساس روش اتصال میانه رنگ سیاه سگ‌های متعلق به استان همدان).

بحث و نتیجه‌گیری

براساس نتایج حاصل از این پژوهش، سگ‌های ایران همچنین سگ‌های استان همدان در مقایسه با سایر کشورها بویژه

کشورهای اروپایی (Vila' et al., 1999)

دارای تنوع ژنتیکی و تنوع هاپلوتیپی بالایی هستند که با توجه به گستردگی وسعت کشور، پراکندگی بالای سگ‌های اهلی،

سایر هاپلوتیپ‌ها است. هاپلوتیپ‌های مجزایی نیز در نمونه‌های موجود از سایر نقاط کشور (از جمله گرگان، بندرترکمن، قزوین و ورامین) تشکیل شد.

براساس نتایج حاصل از این پژوهش سگ‌های اهلی موجود در استان همدان از سازمان اجتماعی توانمندی برخوردار نیستند و ارتباطات بسیار پیچیده‌ای که ناشی از رفتارهای هرج و مرج گونه تولید مثلی است در بین آن‌ها وجود دارد (Mech & Boitani, 2003). همچنین بنا بر مشاهداتی که در سطح استان صورت گرفت بسیاری از مردم بومی این استان اقدام به دورگه‌گیری گرگ و سگ می‌کنند که البته در حال حاضر این امر به مشکل شایعی تبدیل نشده است ولی اگر روند کنونی ادامه یابد در آینده می‌تواند مشکلات زیادی در منطقه ایجاد کند (اسدی‌آق‌بلاغی، ۱۳۹۰). تشکیل دورگه بین حیوانات اهلی و وحشی به دلیل وقوع برون‌آمیزی بین این گونه‌ها از یک سو منجر به کاهش تنوع ژنتیکی و در نتیجه کاهش جمعیت، گونه‌های وحشی و از سوی دیگر باعث از بین رفتن نژادهای اصیل حیوانات اهلی می‌گردد (Randi, 2008; Gottelli et al., 1994; Munoz-Fuentes et al., 2010). دو رگه‌های سگ و گرگ (به دلیل دارا بودن خوی تهاجمی گرگ و خوی گرایش به انسان در سگ‌ها) به راحتی در پیرامون سکونتگاه‌های انسانی زندگی می‌کنند و خطرهای زیادی را

آمیزش بین نژادهای مختلف و جابجایی‌های انسانی چنین تنوعی انتظار می‌رود. در جوامع انسانی اغلب سگ‌ها به عنوان سگ گله، سگ شکاری و یا سگ نگهبان مورد استفاده قرار می‌گیرند (Tanabe, 2006). در استان همدان و مناطق همجوار نیز به دلیل فعالیت‌های گسترده کشاورزی و دامپروری، سگ‌ها اغلب برای حفاظت از گله‌ها بکار برده می‌شوند. اکثر نمونه‌های سگ‌های متعلق به استان همدان هاپلوتیپ مشترک با یکدیگر تشکیل دادند و همچنین بین نمونه‌های مختلف از سایر نقاط کشور (از جمله سگ‌های موجود در استان‌های مازندران، خراسان، سمنان، کردستان و گلستان) و استان همدان هاپلوتیپ‌های مشترکی ایجاد شد که نشان دهنده پراکنش گسترده نژادهای گوناگون در کشور می‌باشد. بیشتر هاپلوتیپ‌های مشترک بین استان همدان، استان‌های شمالی و غربی تشکیل شدند. بر اساس شبکه هاپلوتیپی تشکیل شده ارتباطات پیچیده‌ای بین سگ‌ها وجود دارد که احتمالاً به دلیل جابجایی‌های انسانی و آمیزش بین نژادهای مختلف است. در بین هاپلوتیپ‌های تشکیل شده، هاپلوتیپ شماره ۱۲ که شامل سگ‌هایی از دو استان همدان و کردستان هستند دارای بیشترین فراوانی است و هاپلوتیپ شماره ۱۶ که شامل سگ‌هایی از استان همدان و لرستان می‌باشد تقریباً در مرکز شبکه قرار گرفته که نشان‌دهنده قدمت این هاپلوتیپ نسبت به

کروموزوم Y و نشانگرهای هسته‌ای استفاده بشود و روابط موجود بین نژادهای مختلف سگ اهلی و شباهت ژنتیکی هریک از نژادها با گونه گرگ بررسی شود.

سپاسگزاری

بدینوسیله از همکاری کلیه محیط‌بانان و کارشناسان محترم اداره کل حفاظت محیط زیست استان همدان که در مراحل نمونه‌برداری این تحقیق همکاری نمودند، تقدیر و 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.

برای جوامع بومی بوجود می‌آورند; 2007; Graves et Sidorovich et al., 2003) *al.*, لذا شناسایی و از بین بردن سگ‌های ولگرد و دورگه‌های گرگ و سگ، همچنین جلوگیری از ورود آن‌ها به مناطق حفاظت شده که اغلب عاملی برای گسترش بیماری‌ها در بین وحوش (مانند بیماری هاری)، شکار وحوش (Linnell et al., 2002) و زادآوری با سایر اعضای جنس *Canis* هستند (Vila et al., 2003) ضروری به نظر می‌رسد. در نهایت با توجه به اینکه این مطالعه با استفاده از نشانگر میتوکندری که در واقع بیان‌کننده وراثت مادری می‌باشد، انجام شده است پیشنهاد می‌گردد در مطالعات آتی از سایر نشانگرها همچون SNP ریزماهواره

منابع

اسدی‌آق‌بلاغی، م. ۱۳۹۰. بررسی جریان ژنی بین گرگ و سگ در استان همدان با استفاده از نشانگرهای ناحیه‌کنترل میتوکندری و ریزماهواره کروموزوم Y. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران. ۱۰۰ ص.

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

Asch, B., Alves, C., Gusmao, L., Pereira, V., Pereira, F. and Amorim, A. (2009). A new autosomal STR nineplex for canine identification and parentage testing. *Electrophoresis*. 30: 417-423.

Boyko, A.R., Boyko, R.H., Boyko, C.M.H., Parker, G., Castelhana, M., Corey, L., Degenhardt, J., Auton, A., Hedimbi, M. and Kityo, R. (2009). Complex population structure in African village dogs and its implications for inferring dog domestication history *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. 106: 13903-13908.

- Ding, Z.L., Oskarsson, M., Ardalan, A., Angleby, H., Dahlgren, L.G., Tepeli, C., Kirkness, E., Savolainen, P. and Zhang, Y.P. (2011). Origins of domestic dog in Southern East Asia is supported by analysis of Y-chromosome DNA. *Heredity*. 1–8.
- Clutton-Brock, J. (1995). Origin of the dog: domestication and early history. In *The Domestic Dog: Its Evolution, Behavior and Interaction with People*. Cambridge University Press, Cambridge, pp: 7-20.
- Dahnke, M., (2007). *How to Communicate with Your Pets Guided Meditation*. Awards press. Pp: 388.
- Douzery, E. and Randi E. (1997). The mitochondrial control region of Cervidae: evolutionary patterns and phylogenetic content. *Molecular Biology and Evolution*. 14: 1154-1166.
- Freeland, J. (2005). *Molecular Ecology*. Open University, Milton Keynes press. pp: 402.
- Godinho, R., Llaneza, L., Blanco, J., Lopes, S., Lvaes, F., Garcia, E., Palacios, V., Cortes, Y., Talegon, J. and Ferrand, N. (2011). Genetic evidence for multiple events of hybridization between wolves and domestic dogs in the Iberian Peninsula. *Molecular Ecology*. 20: 5154-5166.
- Gottelli, D., Sillerozubiri, C., Applebaum, G.D., Roy, M.S., Girman, D.J., Garcia-Moreno, J., Ostrander, E.A. and Wayne, R.K. (1994). Molecular genetics of the most endangered canid the Ethiopian wolf *Canis simensis*. *Molecular Ecology*. 3: 301-312.
- Graves, W. and Geist, V. (2007). *Wolves in Russia: Anxiety through the ages*. Detselig Enterprises Limited. pp. 222.
- Khosravi, R., Rezaei, H.R. and Kaboli, M. (2013). Detecting Hybridization between Iranian Wild Wolf (*Canis Lupus Pallipes*) and Free-Ranging Domestic Dog (*Canis Familiaris*) by Analysis of Microsatellite Markers. *Zoological Science*. 30: 27-34.
- Leonard, A.J., Wayne, R.K., Wheeler, J., Valadez, R., Guillen, S. and Vila, C. (2002). Ancient DNA evidence for old world origin of new world dogs. *Science*. 298: 1613-1616.
- Linnell, J.D.C., Andersen, R., Andersone, Z., Baliauskas, L., Blanco, J.C., Boitani, L., Brainerd, S., Beitenmoser, U., Kojola, I., Liberg, O., Loe, J., Okarma, H., Pedersen, H.C., Promberger, C., S. and, H., Solberg, E.J., Valdmann, Hand Wabakken, P. (2002). The fear of wolves: a review of wolf attacks on humans. *NINA Oppdragsmelding*. 731: 65 pp.
- Mech, L.D. and Boitani, L. (2003). Wolf evolution and taxonomy. In *Wolves, Behavior, Ecology and Conservation*, pp. 239 – 258. Chicago: University of Chicago Press.

- Munoz-Fuentes, V., Vila, C., Green, A.J., Negro, J.J., Sorenson, M., Darimont, C.T., Paquet, P.C. and Leonard, J.A. (2010). The genetic legacy of extirpation and re-colonization in Vancouver Isl. and wolves. *Conservation Genetics*. 11: 547-556.
- Ostrander, Elaine A. (2007). Genetics and the Shape of Dogs; Studying the new sequence of the canine genome shows how tiny genetic changes can create enormous variation within a single species. *American Science* (online). www.americanscientist.org. pp: 4.
- Pang, J., Kluetsch, C., Zou, X., Zhang, A., Luo, L., Angleby, H., Ardalán, A., Ekstrom, C., Skollermo, A., Lundeberg, J., Matsumura, S., Leitner, T., Zhang, Y. and 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.
- Parker, H.G., Kim, L.V., Sutter, N.B., Carlson, S., Lorentzen, T.D., Malek, T.B., Johnson, G.S., DeFrance, H.B., Ostrander, E.A. and Kruglyak, L. (2004). Genetic Structure of the Purebred Domestic Dog. *Science*. 304: 5674.
- Parra, D., Mendez, S., Canon, J. and Dunner, S. (2008). Genetic differentiation in pointing dog breeds inferred from microsatellites and mitochondrial DNA sequence. *Animal Genetic*. 39: 1-7.
- Randi, E., Lucchini, V., Christensen, M. F., Mucci, N., Funk, S. M., Dolf, G. and Loeschcke, V. (2000). Mitochondrial DNA variability in Italian and East European wolves: detecting the consequences of small population size and hybridization. *Conservation Biology* 14(2): 464-473
- Randi, E. (2008). Detecting hybridization between wild species and their domesticated relatives. *Molecular Ecology*. 17: 285-293.
- Sablin, M. V. and Khlopachev, G.A. (2002). The earliest ice age dogs: evidence from Eliseevichi. *Current Anthropology*. 43: 795-799.
- Savolainen, P., Arvestad, L. and 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. and Leitner, T. (2002). Genetic evidence for an East Asian origin of dogs. *Science*. 298: 1610-1613.
- Sidorovich V.E., Tikhomirova L.L. and Jedrzejewska, B. (2003). Wolf *Canis lupus* numbers, diet and damage to livestock in relation to hunting and ungulate abundance in north eastern Belarus during 1990-2000. *Wildlife Biology*. 9: 103-111.
- Tanabe, Y., Ota, K., Ito, S., Hashimoto, Y., Sung, Y. and Fauruque, M.O. (1991). Biochemical – Genetic relationships among Asian and European dogs and the ancestry of the Japanese dog. *Journal of Animal Breeding and Genetics*. 108: 453-478.

- Tanabe, Y., Ogata, M., Kamyia, F. and Okabayashi, H. (1999). Breed difference in behavioral profiles of dogs: Quantitative analyses by veterinarians in Japan. *Japanes Journal of Human Animal Realations*. 3: 92-98.
- Tanabe, Y. (2006). Phylogenetic studies of dogs with emphasis on Japanese and Asian Breeds. *Japan Academic Services*. B 82.
- Tsuda, K., Kikkawa, Y., Yonekawa, H. and Tanabe, Y. (1997). Extensive interbreeding occurred among multiple matrilineal ancestors during domestication of dogs: Evidence from inter and intraspecific polymorphism in the D-loop region mitochondrial DNA between dogs and wolves. *Gene and Genetic Systems*. 72: 229-238.
- Verardi, A., Lucchini, C. and Randi, E. (2006). Detecting introgressive hybridization between free-ranging domestic dogs and wild wolves (*Canis lupus*) by admixture linkage disequilibrium analysis. *Molecular Biology and Evolution*. 15: 2845–2855.
- Vila, C. and Wayne, R. (1997). Hybridization between wolves and dog. *Conservation Biology*. 13: 195-198.
- Vila, C., Amorim, I.R., Leonard, J. A. Posada, D., Castrovie, J., Petrucci, F., Crandall, K.A., Ellegren, H. and Wayne, R.K. (1999). Mitochondrial DNA phylogeography and population history of the grey wolf *Canis lupus*. *Molecular Evolution*. 8: 2089–2103.
- Vila, C., Walker, C., Sundqvist, A.K., Flagstad, Q., Andersone, Z., Casulli, A., Kojola, I., Valdmam, H., Halverson, J. and Ellegren, H. (2003). Combined use of maternal, paternal and bi-parental genetic markers for the identification of wolf–dog hybrids. *Heredity*. 90: 17–24.
- Vila, C., Seddon, J.M. and Ellegren, H. (2005). Genes of domestic mammals augmented by backcrossing with wild ancestors. *Trends in Genetics*. 21: 214–218.
- Wayne, R.K. (1986). Limb morphology of domestic and wild canids: the influence of development on morphologic change. *Journal of Morphology*. 187: 301-319.
- Zimen, K. (2003). *Der wolf: verhalten, okologie und mythos*. Kosmos press. pp: 447.

[http //; www.iran-zoo.co.nr](http://www.iran-zoo.co.nr).