

ارزیابی تنوع ژنتیکی کلونی‌های قوی فریادکش (*Cygnus cygnus*, Linnaeus, 1758) در ایران

جواد دلپسند^۱ و سید محمود قاسمپوری^{۱*}

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۸/۱۶؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۱/۰۸)

چکیده

قو فریادکش دارای دو جمعیت قدیمی و جدید است که جمعیت جدید از سال ۱۳۸۶ گزارش شد. هدف از این مطالعه بررسی ساختار ژنتیکی این گونه و مقایسه اندوخته ژنی آن‌ها به‌ویژه جمعیت جدید است. بدین منظور ۱۱۰ نمونه از ایران و چهار کشور اروپایی در شش جایگاه ریزماهواره بررسی شد. علاوه بر نمونه‌های جمعیت نوظهور در تالاب بین‌المللی فریدونکنار و جمعیت قدیمی گیلان، نمونه‌هایی از کشورهای ایسلند، سوئد، فنلاند و لهستان نیز مطالعه شد. متوسط هتروزیگوسیتی مشاهده شده از ۰/۵۹۸ تا ۱ و متوسط هتروزیگوستی مورد انتظار از ۰/۶۶۱ تا ۰/۹۵۰ قرار دارد. ایسلند در منتهی‌الیه غرب پالئارکتیک با مقدار ۱/۰۰ از بالاترین هتروزیگوسیتی و ایران در شرقی‌ترین مکان این مطالعه با ۱۲/۷۲ از بیشترین فراوانی آلل موثر برخوردار بود. همچنین جمعیت ایران بجز یک جایگاه در باقی موارد انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ را نشان داد. بر اساس نتایج برنامه STRUCTURE 2.3.4 ساختار ژنتیکی جمعیت قوهای ایران به دلیل پراکندگی بالای کلونی‌های زادآوری در عرض‌های شمالی دارای بیشترین جریان ژنی بود. لذا قوهای مهاجر پاییزه و زمستانه در فریدونکنار از دو جمعیت و قوهای گیلان نیز از یک جمعیت مجزا برخوردارند. در مجموع غنای بالای آللی در جمعیت جدید بیانگر ارزش بالای حفاظتی برای کلونی زمستان‌گذران فریدونکنار است.

واژه‌های کلیدی: ژنتیک جمعیت، نشانگر ریزماهواره تنگنای ژنتیکی، جریان ژنی

۱. گروه محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس.

*: مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: ghasempm@modares.ac.ir

مقدمه

در میان گونه‌های مختلف حیات وحش، پرندگان با بیش از ۱۰۰۰۰ گونه از متنوع‌ترین رده‌های مهره‌داران محسوب می‌شوند. در بین گروه‌های مختلف پرندگان، غازسانان به‌علت سابقه طولانی در شکار و اهلی سازی آشکارترین و آشناترین گروه از پرندگان آبی می‌باشند (۱۸). خانواده غازسانان گونه‌های مختلف قوها، غارها و اردک‌ها را در بر می‌گیرد. در بین اعضای خانواده غازسانان اختلاف نظر در مورد نحوه طبقه بندی قوها هنوز هم وجود دارد. قوها با ۷ گونه و ۲ زیر گونه و پراکنشی تقریباً برابر با نصف جهان یکی از موفق‌ترین گونه‌های حیات وحش در سازگاری با شرایط محیطی هستند (۶).

قوی گردن سیاه (*Cygnus melanocoryphus*)، قوی گنگ (*Cygnus olor*)، قوی سیاه (*Cygnus atratus*)، قوی کاسکوربا (*Coscoroba coscoroba*)، قوی ترومپت زن (*Cygnus buccinator*)، قوی فریادکش (*Cygnus cygnus*) و قوی توندرا (*Cygnus columbianus*) از گونه‌های مختلف قو هستند (۷). قوی توندرا دارای ۲ زیرگونه (قوی سوت زن) (*Cygnus columbianus columbianus*) و (قوی کوچک) (*Cygnus columbianus bewickii*) است. به علت شباهت‌هایی که بین قوهای کوچک و قوهای فریادکش وجود دارد برخی از محققین و آرایه‌شناسان این ۲ گونه را به عنوان یک گونه واحد با نام علمی *C. cygnus* و قوهای توندرا را فاقد زیر گونه و با نام علمی *C. columbianus* در نظر گرفته‌اند (۲۸).

قوهای فریادکش با وجود گستردگی پراکنش و همچنین فراوانی بالای این گونه در شمال نسبت به دیگر قوها و آسانی دسترسی به ویژه در بخش غربی تا سال ۱۹۷۰ کمتر مورد توجه قرار گرفته‌اند و تنها در فنلاند در مورد تولید مثل آن مطالعاتی انجام شده است. گاردارسون و همکاران او تحقیق بر روی این گونه را (جمعیت ایسلند) در سال ۱۹۸۰ تا ۱۹۹۰ بطور گسترده ادامه دادند. در دهه اخیر (۱۹۹۰ تا ۲۰۰۰) این پرندۀ مورد توجه سازمان‌های زیادی از جمله موزه تاریخ طبیعی و حیات وحش ایسلند، انجمن بین المللی حفاظت از مرغابی‌ها و تالاب‌های

بریتانیا و ۳ گروه نظارت بر مهاجرت پرندگان در ایرلند قرار گرفت (۲۴).

به غیر از چند مطالعه توصیفی در مورد قوهای فریادکش توسط وینابلس در سال ۱۹۵۰ و ایری در سال ۱۹۵۵ در شتلند (۲۷)، اولین بار، بوید و الترینگهام در سال ۱۹۶۲ به وضعیت گونه‌ها و پراکنش آن‌ها در جزایر بریتانیا پرداختند (۲) که در آن به پراکنش، بوم‌شناسی و فراوانی جمعیت قوهای فریادکش در ایسلند اشاره شده است. از دیگر مطالعات می‌توان به تحقیقات هیوسون در سال ۱۹۶۴ تا ۱۹۷۳ و سپس هنتی در سال ۱۹۷۷ که به طور عمده در مورد ترکیب گله‌ها و حرکات روزانه قوها در انگلیس بود، اشاره کرد (۱۳ و ۱۴). سرانجام هاپانن و همکاران در سال ۱۹۷۳ تا ۱۹۷۷ سه کتاب در زمینه قوها در فنلاند چاپ کردند که در آن‌ها رفتارهای تابستانه شامل رفتارهای جوجه آوری، تغذیه و تولیدمثل آن‌ها اشاره داشته است (۱۰، ۱۱ و ۱۲).

آنچه که از تحقیقات و مطالعات انجام شده در حوزه پالئارکتیک می‌توان نتیجه گرفت افزایش جمعیت قوهای فریادکش و گرایش آنها به حضور در زمین‌های کشاورزی است (۱۷ و ۲۱). در هشتمین سرشماری بین المللی قوی فریادکش زمستان‌گذران در بریتانیا، ایرلند و ایسلند (همچنین شامل جزیره من و جزایر کانال) در ژانویه ۲۰۲۰ انجام شد. نتایج حاکی از آن بود که تعداد کل ۴۳۲۵۵ قو شمارش شده نشان دهنده افزایش ۲۷/۲ درصدی تعداد نسبت به سرشماری قبلی در سال ۲۰۱۵ است (۸). استفاده از نشانگرهای ریزماهواره در پاره‌ای از مطالعات مربوط به غنای ژنی پرندگان در کشور انجام شده است. از مطالعات انجام شده در زمینه پرندگان ایران با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره می‌توان به مطالعه پوراابراهیمی و همکاران (۲۳) در مورد چرخ ریسک سرسیاه (*Poecile lugubris*) و چرخ ریسک هیرکانی (*Poecile hyrcanus*) و همین طور مطالعه جواهری و همکاران (۱۵) در مورد جمعیت‌های چرخ ریسک بزرگ (*Parus major*) اشاره کرد که هر دوی این مطالعات بر روی ژنتیک جمعیت بوده است. همچنین، در مطالعات خارجی، ویلسون در سال ۲۰۱۳ به بررسی تفاوت قوهای

شمالی ایران شامل استان‌های مازندران، گلستان و گیلان و همچنین مناطقی از پالئارکتیک از اواخر آذر ۱۳۹۲ تا بیست اردیبهشت ۱۳۹۳ انجام شد (شکل ۱).

بنابراین به غیر از نمونه‌برداری به روش غیرتهاجمی در چند نقطه از این گونه در شمال ایران، با مکاتبات انجام شده نمونه‌های پر از غربی‌ترین حد پراکنش یعنی جمعیت مقیم ایسلند تا دیگر کشورهای منطقه مانند لهستان، فنلاند بدست آمد. به منظور رعایت اصول نمونه برداری به شیوه غیرتهاجمی، از زنده‌گیری قوهای فریادکش خودداری شد. بنابراین به تعداد ۷۳ نمونه از قوهای فریادکش مصدوم، نمونه‌های تاکسیدرمی شده، پره‌های ریخته شده (پره‌های سینه‌ای و در برخی از موارد شاهپرها) در اطراف تالاب وزرا محله سرخرود و فریدونکنار در استان مازندران، تالاب میانکاله و خلیج گرگان در استان گلستان و تالاب انزلی در استان گیلان استفاده شد. توضیح اینکه قوهای فریادکش مصدوم و تحت تیمار شامل آن پرندگانی بودند که اغلب در شرایط مه آلود منطقه به دکل برق فشار قوی در تالاب وزرا محله سرخرود اصابت کرده بودند.

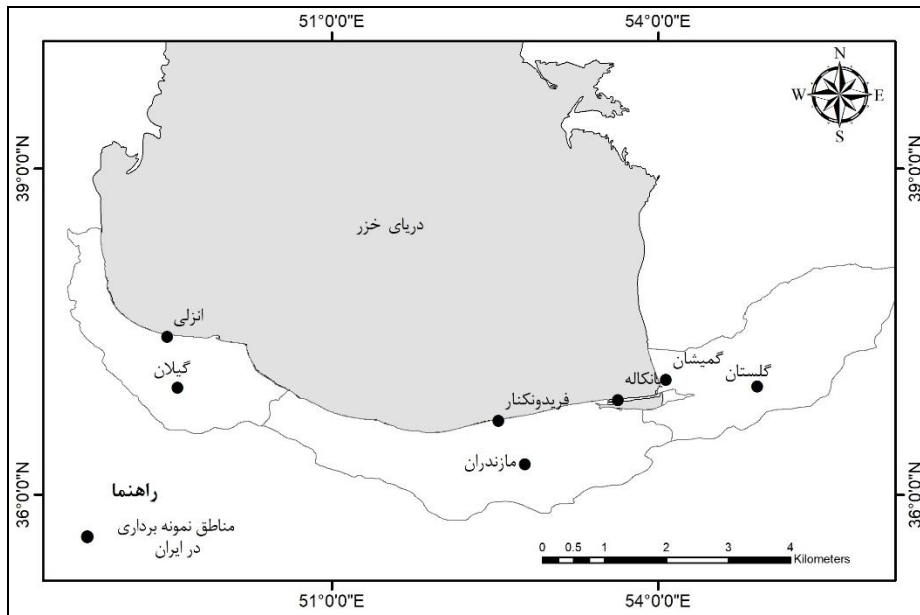
همچنین، از نمونه‌های زنده‌ی شناسنامه‌دار در باغ وحش‌های استان‌های گلستان، گیلان نمونه‌برداری شد. همچنین، نمونه‌های بافت و پر از محققین و موزه‌های تاریخ طبیعی کشورهای سوئد ۹ نمونه، فنلاند ۱۰ نمونه، ایسلند ۸ نمونه، و لهستان دریافت ۱۰ نمونه شد. با توجه به اینکه ۲ نمونه بافت از کشور دانمارک و ۷ نمونه بافت از کشور سوئد وجود داشت هر ۲ در یک گروه برای تفسیرهای ژنتیکی جمعیت استفاده گردید. نمونه‌های پر بصورت خشک در پاکت کاغذی و دمای اتاق و دور از نور مستقیم نگهداری شد. نمونه‌های بافت نیز در الکل ۹۵ در یخچال نگهداری شد. تمامی نمونه‌ها به آزمایشگاه بوم‌شناسی مولکولی و تنوع زیستی دانشگاه تربیت مدرس انتقال یافتند. استخراج DNA از پر و بافت صورت گرفت و سنجش کم و کیفی آن با توجه به نوع نمونه‌ها از طریق پروتکل‌های مربوطه انجام شد. برای استخراج بهتر از نمونه‌های پر ابتدا ۲۴ تا ۴۸ ساعت در داخل الکل قرار

C. buccinator و *C. columblanus columblanus* با هیبریدشان با استفاده از نشانگرهای ریزماهوره پرداخت. نتایج نشان داد که نشانگرهای ریزماهوره استفاده شده در تفکیک این ۲ گونه و هیبریدهای آنها موفق بوده‌است و می‌توان آن را در مطالعات ژنتیکی در آینده در سطح جامعه و یا گونه‌های دیگر قو بخصوص در گونه‌هایی که درون آمیزی در آن‌ها شناخته شده بکار برد. در سال ۲۰۱۲ تحقیقی در زمینه ساختار ژنتیکی قوهای فریادکش و گنگ در منطقه پراکنش لیتوانی و لتونی با استفاده از نشانگر ژنتیکی D-loop توسط بوتکائوسکاس و همکاران (۹) انجام شد. با توجه به جایگزینی قوی فریادکش بجای قوی گنگ در اغلب زیستگاه‌ها در بسیاری از مناطق مذکور، تفاوت‌های قابل توجهی در ساختار ژنتیکی جمعیت هر ۲ گونه تا حدی ممکن است غالب شدن قوهای فریادکش را توضیح دهد.

این گونه اگرچه از نظر جهانی در وضعیت حداقل نگرانی (Least concern, LC) قرار دارد اما در ایران از پرندگان حفاظتی و شکار ممنوع محسوب می‌شود زیرا در گذشته جمعیت پایین و رو به کاهش در ایران داشته. از دیر باز مرکزی در انگلستان نیز توسط سر پیترا اسکات برای مطالعه قوهای اروپا بنا شد و گروهی نیز به نام متخصصین قوها زیر نظر سازمان جهانی حفاظت از طبیعت با همین هدف وجود دارد با توجه به افزایش جمعیت قوهای فریادکش و روند افزایشی استفاده از زمین‌های کشاورزی توسط این گونه در بسیاری از نقاط جهان و ایران (۲۱)، تاکنون مطالعه‌ای در خصوص بررسی تنوع ژنتیکی قوهای فریادکش در ایران صورت نگرفته است. ریزماهوره مطالعه حاضر به بررسی ساختار ژنتیکی قوهای فریادکش با استفاده از روش نشانگر مولکولی ریزماهوره پرداخته است و نتیجه آن می‌تواند اهمیت استخر ژنی قوهای فریادکش تالاب فریدونکنار را در مقایسه با سایر مناطق ایران و جهان نشان دهد.

روش کار

در این پژوهش، نمونه‌برداری از قوهای فریادکش در نوار



شکل ۱. مناطق نمونه برداری قوهای فریادکش در ایران

جدول ۱. میانگین کمیت DNA استخراج شده از پر و بافت با روش‌های مختلف با استفاده از نانودراپ (ng/μl)

روش استخراج DNA مورد مطالعه	انمونه پر		۲ تا ۵ نمونه پر		بافت داخلی
	با قرار گرفتن در الکل	بدون قرار گرفتن در الکل	با قرار گرفتن در الکل	بدون قرار گرفتن در الکل	
فنل-کلروفرم	۱۱	۷	۱۹	۱۲	-
کیت	-	-	-	-	۵۰
Tris-HCl	۸	۳	۱۲	۷	

واکنش PCR با استفاده از محلول پایه PCR (مسترمیکس) که حاوی آنزیم Taq پلیمرز تخلیص شده از سویه باکتری *Thermus aquaticus*، بافر آمونیوم (بافر واکنش) با pH برابر ۸/۳، $MgCl_2$ ، Triton X-100، آغازگر (شامل رفت و برگشت)، آب دویار تقطیر (آب مقطر تزریقی) و نمونه DNA انجام شد. برای انجام واکنش PCR با توجه به تعداد تیوپ‌های مورد نظر یک مخلوط PCR برای همه نمونه‌ها تهیه گردید. در هر واکنش حجم نهایی ۱۴ میکرولیتر شامل DNA ژنومی استخراج شده، مستر میکس دست ساز، یک جفت پرایمر با مقادیر مشخص استفاده گردید (جدول ۳).

چرخه‌های واکنش PCR شامل واسرشته سازی اولیه به مدت

گرفتند تا برای خرد شدن آبیگری شوند. سپس به روش تریس اسیدی بر پایه اسید کلریدریک یا به عبارت Tris-HCl و فنل-کلروفرم، استخراج انجام شد. همچنین، برای استخراج DNA از بافت از پروتکل کیت استخراج DNA شرکت سیناژن استفاده گردید. برای سنجش کمی و کیفی DNA استخراج شده از دستگاه نانودراپ مدل Thermo و الکتروفورز ژل آگارز ۱٪ استفاده شد (جدول ۱).

فهرست آغازگرهای مورد استفاده در واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (Polymerase Chain Reaction, PCR) در جدول ۲ ذکر شده است. مرجع تمام آغازگرها مطالعات John و همکاران در سال ۲۰۰۵ است.

جدول ۲. مشخصات آغازگرهای مورد استفاده و نام و جایگاه‌های ریزماهواره (John و همکاران، ۲۰۰۵)

جایگاه	(5'-3') توالی	دمای اتصال (°C)	اندازه
TSP.1.20.2B	F: TCTCCACTGCCCTGTTCTC R: GTAAGGTCTGCAGTGGCAC	۵۹	۲۲۸-۲۳۰
TSP.1.20.5	F: GGTCTTATCTTTTGGTTCTTCC R: CCTGCCTCAATTTCAAGGTT	۵۹	۱۹۱-۱۸۷
TSP.1.20.9	F: ACCATTCCCAGCTGAATTT R: CTCCTGAGTCTGGCTCTGC	۵۸	۱۸۰-۱۹۴
TSP.1.20.16	F: TCTGCCAAGCATGTTCAAAG R: GGTGAGCGAATTACAAATCCA	۵۸	۱۵۵-۱۶۸
TSP.1.20.43	F: CAGGAGCTCGAGGCTACAGT R: TGCAGGGAACACTTCTTGTG	۵۸	۲۲۳-۲۲۹
TSP.1.20.46	F: TGCCTAGCAATAGCATCACG R: TGCGAATTTCAAAAGCTGTG	۵۸	۱۶۱-۱۷۳

جدول ۳. ترکیبات و غلظت مورد استفاده در واکنش PCR با استفاده از نشانگر ریزماهواره

ترکیبات	حجم افزودنی	غلظت نهایی
جفت آغازگر	۲ میکرولیتر	۴ میلی مولار
DNA الگو	۵۰- تا ۱۰۰ نانو گرم	۴ میکرولیتر
مستر میکس	۵ میکرولیتر	
آب مقطر تزریقی	برای رسیدن به حجم نهایی ۳ میکرولیتر	
حجم نهایی محلول	۱۴ میکرولیتر	

مشاهده شده (Observed Heterozygosity, H_o)، آزمون تعادل هاردی-واینبرگ (Hardy-Weinberg equilibrium)، شاخص شانون (I)، فاصله ژنتیکی، جریان ژنی، آماره‌های F و تحلیل فیلوژنی قوی فریادکش پرداخته شده است؛ بنابراین پس از تهیه تصاویر و باندخوانی با استفاده از نرم‌افزار Gel-Pro ver 3.0 Analyzer، تجزیه و تحلیل موارد فوق انجام گرفت.

متغیر آماری F_{is} برای محاسبه میزان درون‌آمیزی بین افراد خویشاوند نسبت به سایر افراد و متغیر F_{st} است که تحت عنوان شاخص تثبیت نیز شناخته شده برای برآورد میزان تفاوت ژنتیکی بین زیر جمعیت‌ها محاسبه شد (۹). رابطه تبارشناسی بین جمعیت‌ها بر حسب فاصله ژنتیکی با استفاده از ترسیم درخت (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean, UPGMA) صورت پذیرفت. برای تعیین تنوع درون جمعیتی و بین جمعیتی و میزان تمایز بین جمعیت‌ها بر اساس مقادیر F_{st} از آنالیز واریانس مولکولی (Analysis of Molecular

۱۱ دقیقه (در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد)، مراحل چرخه‌ای در ۳۸ مرحله شامل واسرشته سازی به مدت ۴۰ ثانیه (۹۵ درجه سانتی گراد)، اتصال به مدت ۱ دقیقه (در دمای ۵۴ درجه سانتی گراد) و بسط به مدت ۲ دقیقه (۷۲ درجه سانتی گراد) و همچنین بسط نهایی به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد انجام گرفت. در تحقیق حاضر با توجه به کارایی ژل آکرلیل امید در تانک عمودی نسبت به ژل آگارز برای ژنوتایپ کردن نتایج PCR از ژل ۸٪ آن استفاده شد. پس از تهیه ژل، الکتروفورز و رنگ آمیزی به روش نیترا نقره انجام شد (۱۵).

نرم‌افزارهای مورد استفاده

در این مطالعه به تعیین شاخص‌های فراوانی آلی (Mean number of alleles, N_a)، تعداد آل‌های مؤثر (Effective number of alleles, N_e)، انواع هتروزیگوسیتی مورد انتظار (H_e) و هتروزیگوسیتی

مورد مطالعه، تنها ۵ آلل از این جایگاه برای نمونه‌های موجود در ایران یافت نشد. در میان جایگاه‌های مورد مطالعه، TSP1202B و TSP12043 به ترتیب با ۳۰ و ۲۰ آلل بیشترین و کمترین تعداد آلل را به خود اختصاص داده است. برای بررسی دقیق‌تر فراوانی آللی در جایگاه‌های مورد مطالعه، نمودار فراوانی آللی برای هر جایگاه ترسیم شد (شکل ۲).

هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Ho) و قابل انتظار (He) و شاخص شانون در جمعیت‌ها

هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Ho) و قابل انتظار (He) به عنوان معیاری برای سنجش تنوع ژنتیکی به کار می‌رود. میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده و قابل انتظار برای ۵ جمعیت در ۶ جایگاه مورد بررسی، در جدول ۵ آمده و در انتهای جدول میانگین کل هتروزیگوسیتی بیان شده است.

با توجه به جدول ۵ متوسط هتروزیگوسیتی مشاهده شده از ۰/۵۹۸ تا ۱ و متوسط هتروزیگوسیتی مورد انتظار از ۰/۶۶۱ تا ۰/۹۵۰ قرار دارد. این درحالی است که متوسط هتروزیگوسیتی مشاهده و مورد انتظار برای کل جمعیت‌ها و کل جایگاه‌ها به ترتیب ۰/۷۵۱ و ۰/۸۶۸ است. مقدار هتروزیگوسیتی مشاهده شده نسبت به هتروزیگوسیتی قابل انتظار در جمعیت قوهای فریادکش در ایران در تمام جایگاه‌های مورد بررسی کمتر است. به طور کلی تنوع ژنتیکی به ترتیب از بیشتر به کمتر در جمعیت قوهای فریادکش ایسلند، فنلاند، سوئد، لهستان و ایران مشاهده شد. اطلاعات مربوط به شاخص شانون به تفکیک هر جایگاه و هر جمعیت در جدول ۶ آمده است. میانگین شاخص شانون متناسب با هتروزیگوسیتی قابل انتظار است.

متوسط این شاخص نشان می‌دهد که بیشترین مقدار مربوط به ایران و کمترین مقدار به لهستان تعلق دارد. با توجه به نتایج حاصل از شاخص شانون بیشترین مقدار این شاخص در جایگاه TSP1202B و کمترین مقدار این شاخص در جایگاه TSP12029 وجود دارد. بنابراین جایگاه TSP1202B به علت داشتن تنوع اللی و چند شکلی بالا نشانگر مناسبتری است. با توجه به تعداد آلل بالا در این جایگاه این روند قابل توجیه است.

STRUCTURE 2.3.4 در نرم‌افزار (Variance, AMOVA) استفاده شد. برای تشخیص فاصله و شباهت ژنتیکی بر اساس منطقه مورد مطالعه و تایید مطلب فوق از آزمون‌های PCoA (Principal coordinates analysis) و رسم درخت Nei در نرم‌افزار GenAlEx، برای بررسی جریان ژن بین جمعیت‌های مختلف از نرم‌افزار Structure 2.3.4 استفاده گردید. این نرم‌افزار یکی از برنامه‌هایی است که در مطالعات ژنتیکی برای بررسی افتراق گونه‌ها و نیز خوشه‌بندی افراد یک گونه بدون توجه به محل نمونه برداری استفاده می‌شود و در نتیجه بسیاری از اشتباهات در تفسیر مرزهای جمعیت‌ها را می‌کاهد (۱۹ و ۲۲).

نتایج

پس از انجام PCR تحت دماها و شرایط مختلف، بهترین شرایط برای برنامه ترموسایکل برای نمونه‌ها بدست آمد و نتایج به تفکیک بیان گردید.

تعداد آلل‌های مشاهده شده و آلل‌های موثر

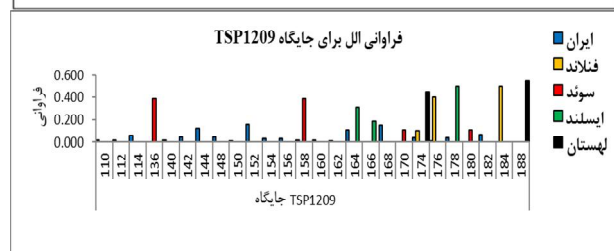
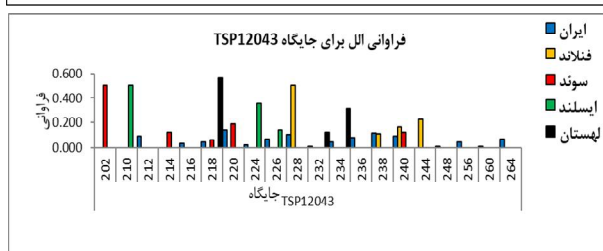
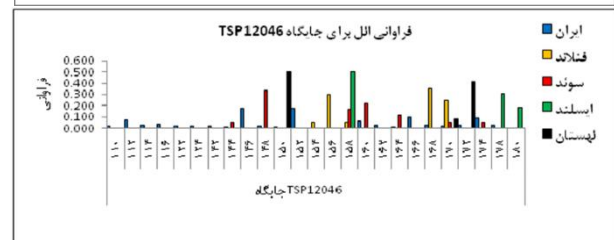
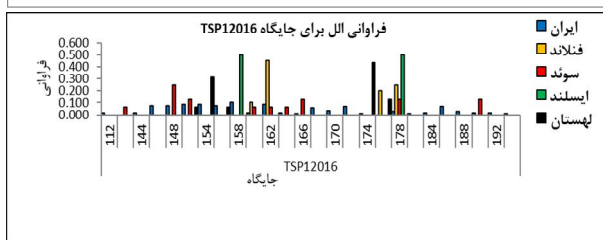
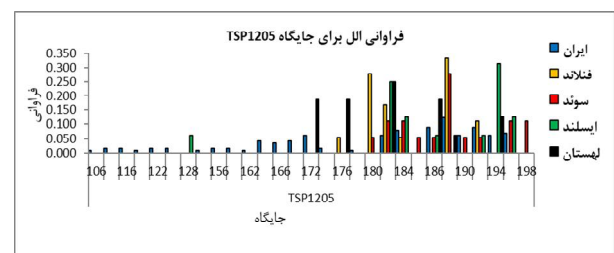
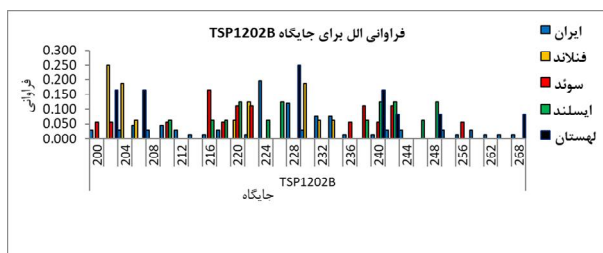
در جدول ۴ تعداد آلل‌های مشاهده شده و آلل‌های موثر قوهای فریادکش به تفکیک جمعیت نمایش داده شده است. با توجه به این نتایج، بیشترین تعداد آلل‌های مشاهده شده و آلل‌های موثر در جایگاه TSP1202B مربوط به جمعیت ایران به ترتیب با ۲۵ و ۱۲/۴۴۶ آلل است. این در حالی است که در همین جایگاه کمترین تعداد آلل مشاهده شده و آلل موثر مربوط به جمعیت لهستان است. در مجموع تعداد آلل‌های مشاهده شده و آلل‌های موثر در تمام جایگاه‌های مورد بررسی در نمونه‌های مورد مطالعه از ایران بیشترین مقدار را دارد.

فراوانی آللی برای جمعیت‌های مورد بررسی

فراوانی آللی هر آلل به تفکیک جایگاه‌های انتخابی و جمعیت‌های مورد بررسی مطالعه شد که علاوه بر تعداد آلل‌های مشاهده شده برای هر جایگاه، فراوانی هر آلل به تفکیک جایگاه‌ها و جمعیت‌ها نیز بیان شده است. با توجه به تعداد ۳۰ آلل مشاهده شده در جایگاه TSP1202B برای جمعیت‌های

جدول ۴. تعداد آلل‌های مشاهده شده و آلل‌های مؤثر قوهای فریادکش به تفکیک جمعیت

جایگاه	ایران		فنلاند		سوئد		ایسلند		لهستان	
	تعداد آلل‌های مشاهده شده	تعداد آلل‌های مؤثر	تعداد آلل‌های مشاهده شده	تعداد آلل‌های مؤثر	تعداد آلل‌های مشاهده شده	تعداد آلل‌های مؤثر	تعداد آلل‌های مشاهده شده	تعداد آلل‌های مؤثر	تعداد آلل‌های مشاهده شده	تعداد آلل‌های مؤثر
TSP1202B	۲۵/۰۰۰	۱۲/۴۴۶	۸/۰۰۰	۶/۰۹۵	۱۲/۰۰۰	۱۰/۱۲۵	۱۱/۰۰۰	۹/۸۴۶	۷/۰۰۰	۶/۰۰۰
TSP1205	۲۵/۰۰۰	۱۵/۴۷۱	۶/۰۰۰	۴/۲۶۳	۱۰/۰۰۰	۷/۰۴۳	۷/۰۰۰	۴/۹۲۳	۶/۰۰۰	۵/۳۳۳
TSP12016	۲۴/۰۰۰	۱۵/۴۸۴	۴/۰۰۰	۳/۱۷۵	۹/۰۰۰	۷/۱۱۱	۲/۰۰۰	۲/۰۰۰	۵/۰۰۰	۳/۲۰۰
TSP12046	۲۱/۰۰۰	۱۰/۳۸۳	۵/۰۰۰	۳/۵۷۱	۷/۰۰۰	۴/۷۶۵	۳/۰۰۰	۲/۶۱۲	۳/۰۰۰	۲/۳۲۳
TSP12043	۱۶/۰۰۰	۱۱/۵۹۲	۴/۰۰۰	۲/۹۴۵	۵/۰۰۰	۳/۱۲۲	۳/۰۰۰	۲/۵۱۳	۳/۰۰۰	۲/۳۲۷
TSP12029	۲۰/۰۰۰	۱۰/۹۴۲	۳/۰۰۰	۲/۳۸۱	۴/۰۰۰	۳/۰۵۷	۳/۰۰۰	۲/۶۱۲	۲/۰۰۰	۱/۹۸۰
میانگین	۲۱/۸۳۳	۱۲/۷۲۰	۵/۰۰۰	۳/۷۳۸	۷/۸۳۳	۵/۸۷۰	۴/۸۳۳	۴/۰۸۴	۴/۳۳۳	۳/۵۲۷



شکل ۲. مقایسه فراوانی آللی جمعیت‌های مختلف قوی فریادکش در ۶ جایگاه مورد مطالعه

جدول ۵. میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Ho) و قابل انتظار (He)

جایگاه	ایران		فنلاند		سوئد		ایسلند		لهستان	
	هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Ho)	هتروزیگوسیتی قابل انتظار (He)	هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Ho)	هتروزیگوسیتی قابل انتظار (He)	هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Ho)	هتروزیگوسیتی قابل انتظار (He)	هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Ho)	هتروزیگوسیتی قابل انتظار (He)	هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Ho)	هتروزیگوسیتی قابل انتظار (He)
TSP1202B	۰/۷۵۸	۰/۹۲۰	۱/۰۰۰	۰/۸۳۶	۱/۰۰۰	۰/۹۰۱	۱/۰۰۰	۰/۸۹۸	۰/۸۳۳	۰/۸۳۳
TSP1205	۰/۶۳۲	۰/۹۳۵	۱/۰۰۰	۰/۷۶۵	۰/۸۸۹	۰/۸۵۸	۱/۰۰۰	۰/۷۹۷	۰/۷۵۰	۰/۸۱۳
TSP12016	۰/۶۳۳	۰/۹۳۵	۰/۹۰۰	۰/۶۸۵	۰/۸۷۵	۰/۸۵۹	۱/۰۰۰	۰/۵۰۰	۰/۸۷۵	۰/۶۸۸
TSP12046	۰/۵۱۰	۰/۹۰۴	۰/۸۰۰	۰/۷۲۰	۱/۰۰۰	۰/۷۹۰	۱/۰۰۰	۰/۶۱۷	۱/۰۰۰	۰/۵۶۹
TSP12043	۰/۶۲۸	۰/۹۱۴	۱/۰۰۰	۰/۶۶۰	۰/۷۵۰	۰/۶۸۰	۱/۰۰۰	۰/۶۰۲	۰/۸۷۵	۰/۵۷۰
TSP12029	۰/۴۲۶	۰/۹۰۹	۱/۰۰۰	۰/۵۸۰	۱/۰۰۰	۰/۶۷۳	۱/۰۰۰	۰/۶۱۷	۰/۹۰۰	۰/۴۹۵
میانگین	۰/۵۹۸	۰/۹۱۹	۰/۹۵۰	۰/۷۰۸	۰/۹۱۹	۰/۷۹۴	۱/۰۰۰	۰/۶۷۲	۰/۸۷۲	۰/۶۶۱

جدول ۶. اطلاعات شاخص شانون برای نمونه‌های بررسی شده

جایگاه	ایران	فنلاند	سوئد	ایسلند	لهستان
TSP1202B	۲/۷۸۹	۱/۹۲۷	۲/۳۹۹	۲/۳۳۹	۱/۸۴۶
TSP1205	۲/۹۲۴	۱/۵۸۶	۲/۱۳۵	۱/۷۵۰	۱/۷۲۱
TSP12016	۲/۸۹۶	۱/۲۵۸	۲/۰۷۹	۰/۶۹۳	۱/۳۳۲
TSP12046	۲/۶۴۹	۱/۳۵۷	۱/۷۲۵	۱/۰۲۴	۰/۹۱۸
TSP12043	۲/۵۶۷	۱/۲۲۴	۱/۳۵۴	۰/۹۹۲	۰/۹۴۷
TSP12029	۲/۶۳۸	۰/۹۴۳	۱/۲۲۳	۱/۰۲۴	۰/۶۸۸
میانگین	۲/۷۵۹	۱/۳۸۶	۱/۸۱۹	۱/۳۰۴	۱/۲۴۵

بررسی تعادل هاردی-واینبرگ

اطلاعات مربوط به بررسی تعادل هاردی-واینبرگ در جدول ۷ آمده است. با توجه به این جدول در جایگاه TSP1202B همه جمعیت‌های مورد بررسی از تعادل هاردی-واینبرگ تبعیت کردند. در مورد نمونه‌های مورد مطالعه از ایران بجز جایگاه مذکور تمام جایگاه‌ها انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ را نشان می‌دهند. این درحالی است که جمعیت قوهای فریادکش که در سایر کشورها مورد مطالعه، تقریباً در اکثر جایگاه‌های مورد بررسی، انحراف از تعادل هاردی واینبرگ را نشان

نمی‌دهند به نحوی که در مورد جمعیت لهستان در ۵ جایگاه با تعادل هاردی واینبرگ مطابقت وجود دارد.

بررسی آماره‌های F و جریان ژنی در جمعیت‌های قوهای

فریادکش

اطلاعات مربوط به بررسی آماره‌های F و جریان ژنی در جمعیت‌های قوهای فریادکش در جدول ۸ بیان شده است. با توجه به جدول فوق بیشترین تمایز ژنتیکی (Fst) در جایگاه TSP12029 و کمترین میزان تمایز ژنتیکی در جایگاه

جدول ۷. اطلاعات مربع کای و تعادل هاردی-واینبرگ

جایگاه	ایران		فنلاند		سوئد		ایسلند		لهستان	
	معنی داری	مربع کای	معنی داری	مربع کای	معنی داری	مربع کای	معنی داری	مربع کای	معنی داری	مربع کای
TSP1202B	ns	۳۲۵/۷۵۲	ns	۲۹/۱۱۱	ns	۷۲/۰۰۰	ns	۶۴/۰۰۰	ns	۱۸/۶۶۷
TSP1205	***	۵۳۶/۲۳۳	*	۲۷/۴۰۰	ns	۴۴/۶۴۰	ns	۱۳/۲۰۰	ns	۲۴/۸۸۹
TSP12016	***	۵۸۳/۳۲۱	ns	۷/۱۰۵	**	۴۴/۰۰۰	**	۸/۰۰۰	ns	۱۶/۰۰۰
TSP12046	***	۵۱۱/۵۶۳	ns	۱۲/۶۹۴	*	۳۱/۰۰۰	*	۸/۰۰۰	ns	۶/۰۰۰
TSP12043	**	۱۷۲/۶۶۰	ns	۹/۰۰۰	ns	۱۸/۰۰۰	ns	۷/۰۰۰	ns	۴/۸۴۰
TSP12029	***	۵۶۸/۵۵۵	*	۱۰/۰۰۰	*	۲۷/۰۰۰	*	۸/۰۰۰	**	۶/۶۹۴

جدول ۸. میزان آماره‌های F و جریان ژنی جمعیت‌های قوهای فریادکش

Fst (جدایی جمعیت)	Fit (درون آمیزی کل)	Fis (درون آمیزی)	Nm (جریان ژنی)	جایگاه
۰/۷۵	۰/۰۳۲	-۰/۰۴۶	۳/۰۸۱	TSP1202B
۰/۰۸۰	۰/۰۵۷	-۰/۰۲۵	۲/۸۸۱	TSP1205
۰/۱۹۳	۰/۰۵۷	-۰/۱۶۸	۱/۰۴۷	TSP12016
۰/۲۲۲	۰/۰۶۹	-۰/۱۹۷	۰/۸۷۵	TSP12046
۰/۲۵۴	۰/۰۷۳	-۰/۲۴۱	۰/۷۳۶	TSP12043
۰/۲۸۹	۰/۰۶۰	-۰/۳۲۱	۰/۶۱۶	TSP12029
۰/۱۸۵	۰/۰۵۸	-۰/۱۶۶	۱/۵۳۹	میانگین

مطالعات موسوم به تنگنای ژنتیکی به کار می‌رود. تحلیل‌های تنگنای ژنتیکی برای مدل‌های مذکور و ۳ آزمون شناخته شده استفاده شد. مقایسه داده‌های حاصل نشان می‌دهد که هتروزیگوسیتی به دست آمده در این بررسی مناسب بوده، اگرچه بطورعمومی از سمت شرق به غرب از تعداد آلل‌ها کاسته می‌شد (جدول ۹)، به همین ترتیب به میزان ناچیزی شانس افزایش تنگنای ژنتیکی به سمت غرب افزایش می‌یافت. اگرچه بر اساس آزمون ویلکاکسون هیچکدام از ۷ جمعیت در معرض تهدید تنگنای ژنتیکی قرار نداشتند.

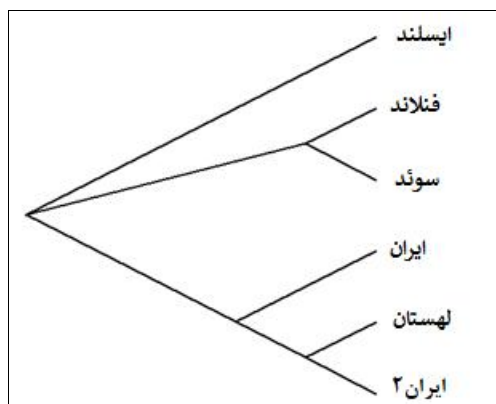
TSP1202B روی داده است. همچنین نتایج حاصل از آزمون AMOVA نیز بیانگر آن است که واریانس مولکولی در سطح ۹۹٪ اختلاف معنی‌داری بین جمعیت‌های وجود دارد. درصد واریانس مولکولی درون جمعیت ۸۴٪ و بین جمعیت‌ها ۱۶٪ است. هرچند واریانس درون جمعیتی سهم بالایی از تنوع را به خود اختصاص داده است ولی واریانس بین جمعیتی نیز قابل توجه است. تاکنون ۴ جمعیت از قوهای فریادکش در جهان گزارش شده است. با توجه به تفاوت بین جمعیتی در مطالعه حاضر می‌توان این مطلب را تأیید کرد.

تحلیل فیلوژنی UPGMA و Neighbor Joining با فواصل مولکولی Nei در این تحقیق تعیین رابطه فیلوژنیک بین جمعیت‌ها با استفاده

تنگنای جمعیتی (Bottleneck) در زیستگاه‌های مختلف ۲ مدل جهش TPM (جهش ۲ مرحله‌ای، two-phase model) و SMM (جهش مرحله‌ای، stepwise mutation model) در

جدول ۹. داده‌های حاصل از بررسی تنگنای ژنتیکی

	Test/Model	TPM	SMM	
ایران	مشاهده	احتمال	انتظار	احتمال
	Sign Test	۳/۲۰	۰/۰۰۵۸	۳/۰۲
	Wilcoxon test	۱/۰۰	۰/۰۱۵۶	۱/۰۰
	Standardized different	-۲/۳۸	۰/۰۰۸۶	-۵/۱۵۲
فنلاند	Sign Test	۲/۸۴	۰/۰۱۲۷	۲/۵۸
	Wilcoxon test	۱/۰۰	۰/۰۱۵۶	۱/۰۰
	Standardized different	-۳/۸۷	۰/۰۰۰۵	-۴/۶۲
سوئد	Sign Test	۴/۲۰	۰/۰۰۰	۳/۵۹
	Wilcoxon test	۱/۰۰	۰/۰۱۵	۱/۰۰
	Standardized different	۵۹۵۱۵۲/۸۶	۰/۰۰۰	۵۹۵۱۵۲/۸۶
ایسلند	Sign Test	۳/۱۴	۰/۰۵۶	۲/۷۲
	Wilcoxon test	۹۶۸/۰	۰/۰۴۶	۹۶۸/۰
	Standardized different	-۷۴/۵	۰/۰۰۰	-۱۳/۶
لهستان	Sign Test	۱۴/۳	۰/۰۵۶	۲/۷۹
	Wilcoxon test	۰/۹۶۸	۰/۰۴۶	۰/۹۶۸
	Standardized different	-۷۶/۵	۰/۰۰۰	-۶/۲۵



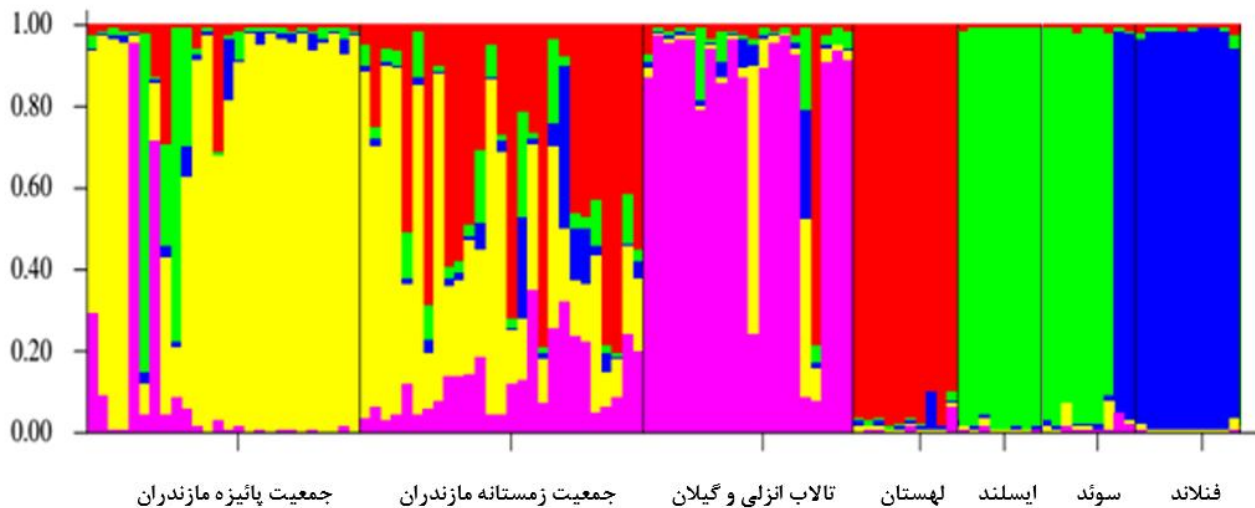
شکل ۳. درخت کلاسیستیک ترسیم شده به روش UPGMA

گروه جدا جای گرفتند. در گروه ایران تنها نمونه‌های پاییزه و در گروه ایران ۲ نمونه‌هایی که در اواسط دی ماه از منطقه جمع‌آوری شده بود قرار گرفت.

بررسی جریان ژن در جمعیت قوی فریادکش با تفکیک زیستگاه نتایج حاصل از مطالعه ساختار جمعیت در این بخش نشان داد که عدد K بهینه برای تعداد جمعیت برابر با ۷ که ۳ جمعیت

از ترسیم درخت UPGMA در نرم افزار TreeView شکل نهائی حاصل گردید (شکل ۳).

همانطور که از شکل مشخص است جمعیت‌های مربوط به ایسلند، سوئد و فنلاند در شاخه‌های متفاوت و جمعیت ایران ۱ (جمعیت قبل از سال ۱۳۸۶)، ایران ۲ (جمعیت بعد از سال ۱۳۸۶) و لهستان نیز در یک شاخه جای گرفته است. با توجه به زمان نمونه‌برداری، نمونه‌های جمع‌آوری شده از ایران در ۲



شکل ۴. نتایج حاصل از بررسی جریان ژن بین جمعیت‌های مختلف قوی فریادکش با استفاده از نرم‌افزار STRUCTURE 2.3.4

در این تحقیق به خود اختصاص داده است. مقادیر پایین هتروزیگوسیتی لزوماً غیر طبیعی نیست ولی نرخ خیلی پایین آن در کاهش آن در طول زمان می‌تواند نگران کننده باشد (۱۹).

نمونه برداری از چند زیستگاه با میانگین جمعیتی متفاوت و متغیر در ایران (رشت، مازندران و گرگان) تا حدودی فراوانی آللی بالا را توجیه می‌کند. از طرفی بیشتر نمونه‌های مورد مطالعه از ایران مربوط به تالاب فریدونکنار بوده که طی ۴ ماه نمونه برداری صورت گرفته و در این فاصله زمانی گله‌های مختلفی از قوهای فریادکش وارد این تالاب می‌گردد که خود مبدأ مهاجرتی یکسانی ندارند و بعد از مهاجرت در نقطه مشترکی در عرض‌های پایین از جمله ایران به یکدیگر می‌پیوندند. سو و همکاران (۲۵) در مطالعات خود به این نتیجه رسیدند که درون آمیزی پایین، کاهش فشار انتخابی و تعداد آلل‌های مشاهده شده از عوامل افزایش هتروزیگوسیتی در ۶ جمعیت از مرغابی‌ها هستند. با توجه به اینکه از شاخص شانون بعنوان یکی از معیارهای تنوع ژنتیکی برای جمعیت‌ها استفاده می‌شود، از اینرو جمعیت ایران با بالاترین هتروزیگوسیتی مورد انتظار، بالاترین میزان شاخص شانون را دارد. از طرفی دیگر این شاخص نشان‌دهنده مقدار تنوع و پراکندگی میان نشانگرهای مورد استفاده است که با توجه به تعداد آلل‌های آنها نتایج به دست آمده قابل توجیه است (۲۶). با توجه به نتایج حاصل از

آن متعلق به ایران بود. بین جمعیت لهستان و جمعیت زمستانه ایران که در دیرترین زمان ممکن به ایران مهاجرت می‌کنند شباهت زیادی در الگوی آللی مشاهده شد. لازم به ذکر است که هر دو جمعیت زمستانه‌ی ایران و لهستان بعد از سرمای شدید و برف سنگین سال ۱۳۸۶ بعنوان گروه‌های بنیان‌گذار برای اولین بار در این مناطق مشاهده و از آن پس تکرار شدند (شکل ۴).

بحث

با توجه به نتایج به دست آمده، در مجموع تعداد آلل‌های مشاهده شده و آلل‌های مؤثر در تمام جایگاه‌های مورد بررسی در نمونه‌های مورد مطالعه از ایران بیشترین مقدار را دارد. از آنجا که نمونه‌های جمع‌آوری شده از ایران از زیستگاه‌های مختلف و در دوره زمانی ۴ ماهه صورت گرفته است می‌توان نتیجه گرفت جمعیت‌هایی که به ایران مهاجرت می‌کنند از زیستگاه‌های مختلفی در عرض‌های بالایی برخوردار هستند. با شروع مهاجرت قوهای فریادکش به عرض‌های پایینی، دسته‌های مختلف قوهای فریادکش در چند منطقه از جمله زیستگاه مورد بررسی در ایران به یکدیگر ملحق می‌گردند. در نتیجه ترکیب آللی در جمعیت‌های مشاهده شده متنوع خواهد بود.

با وجود فراوانی آللی بالا در جمعیت قوهای فریادکش ایران هتروزیگوسیتی پایینی نسبت به سایر جمعیت‌های مورد مطالعه

تفاوت معنی‌دار در داخل جمعیت‌های نمونه‌برداری شده از چند محل، واقع در بین کوه‌های راکی و اقیانوس آرام نشان نداد این در حالی بود که مقدار این شاخص در بین جمعیت‌ها بجز ۴ جمعیت تفاوت معناداری را نشان می‌داد. آن‌ها یکی از علت تفاوت بین جمعیتی را ویژگی‌های منطقه و وجود کوه‌های راکی بیان نمودند. بر اساس نتایج مطالعه حاضر، بالاترین میزان درون آمیزی (Fis) در جایگاه TSP1205 و بیشترین میزان جریان ژن (Nm) در جایگاه TSP1202B وجود دارد. با توجه به پایین بودن متوسط ضریب درون آمیزی می‌توان بیان نمود که احتمال بروز افراد خویشاوند بین ۵ جمعیت پایین است. شاید بتوان جدایی زیستگاهی را عامل اصلی پایین بودن ضریب درون آمیزی عنوان نمود. همچنین نتایج حاصل از آزمون AMOVA نیز بیانگر آن است که واریانس مولکولی در سطح ۹۹٪ اختلاف معنی‌داری بین جمعیت‌های وجود دارد. از طرفی بالا بودن سهم تنوع ژنتیکی مربوط به تنوع درون گونه‌ای نیز تأیید کننده وجود ساختار ژنتیکی معناداری بین جمعیت‌های مختلف است. هرچند واریانس درون جمعیتی سهم بالایی از تنوع را به خود اختصاص داده است ولی واریانس بین جمعیتی نیز قابل توجه است. تاکنون ۴ جمعیت از قوهای فریادکش در جهان گزارش شده است. با توجه به تفاوت بین جمعیتی در مطالعه حاضر می‌توان این مطلب را تأیید کرد.

در مطالعه Oyler-McCance و همکاران (۲۲) بر روی قوی ترومپت با استفاده از ۱۹ نشانگر ریز ماهواره (۶ نشانگر مشابه با تحقیق حاضر) در چند ایستگاه واقع در ۲ منطقه (کوه‌های راکی و اقیانوس آرام)، نتایج بدست آمده معنی‌داری ضعیفی از حالت تنگنای ژنتیکی نشان داد. همچنین نتایج حاکی از آن بود که جمعیت مربوط کوه راکی به طور معنی‌داری تقریباً دچار تنگنای ژنتیکی شده ولی در مورد جمعیت اقیانوس آرام این وضعیت مشاهده نشد. بر اساس این مطالعه، قوهای ترومپت از قرن ۲۰ یا حتی قبل از آن دچار این تنگنا ژنتیکی شده و علت آن نیز کاهش جمعیت تولید مثل کننده است. هر چند بر اساس مطالعه همین محقق پایین‌ترین میزان تنوع ژنتیکی

شاخص شانون بیشترین مقدار این شاخص در جایگاه TSP1202B و کمترین مقدار این شاخص در جایگاه TSP12029 وجود دارد. بنابراین جایگاه TSP1202B به علت داشتن تنوع آلی و چند شکلی بالا نشانگر مناسب‌تری است. تعادل هاردی-واینبرگ بیان می‌کند که فرکانس آلل‌ها و ژنوتیپ در یک جمعیت از نسلی به نسل دیگر ثابت می‌ماند یا در صورتی که عوامل مختل‌کننده خاصی مانند: جهش، انتخاب طبیعی، جریان ژن و جفت‌گیری غیرتصادفی رخ ندهد؛ در تعادل است. اشاره کرد (۹). در مورد نمونه‌های مورد مطالعه از ایران بجز جایگاه مذکور تمام جایگاه‌ها انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ را نشان می‌دهند. با توجه به فراوانی بالای آلی در جمعیت مورد بررسی از ایران و مورد فوق می‌توان اینگونه بیان کرد که جمعیت مورد مطالعه در ایران خود از چند جمعیت تشکیل یافته باشد. این درحالی است که جمعیت قوهای فریادکش که از سایر کشورها در مطالعه کنونی وجود دارد، تقریباً در اکثر جایگاه‌های مورد بررسی، انحراف از تعادل هاردی واینبرگ را نشان نمی‌دهد به نحوی که در مورد جمعیت لهستان در ۵ جایگاه با تعادل هاردی واینبرگ مطابقت وجود دارد. این نتایج به طور کلی با نتایج بررسی شده در مورد قوهای ترومپت تا حدود زیادی مطابقت دارد. یکی از دلایلی که می‌توان در مورد عدم انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ در مورد قوها به آن اشاره کرد، تک همسری بودن و جفت دائمی باشد. در مورد جمعیت لهستان که افزایش جمعیت به یکباره صورت گرفته می‌توان اثر جمعیت بنیان‌گذار را بیان نمود (۲۲). به نحوی که با توجه به فراوانی آلی پایین، افزایش جمعیت حاصل یک جمعیت کوچک در لهستان بوده که به همین دلیل تعادل هاردی-واینبرگ در این جمعیت بیشتر مشهود است. هرچند برخورداری از قدرت جابجایی و مهاجرت در پرندگان تا حدودی تعادل هاردی-واینبرگ را دچار انحراف خواهد کرد (۲۱).

در مطالعه Oyler-McCance و همکاران (۲۲) با جایگاه‌های مشابه که روی قوهای ترومپت انجام داده بودند مقدار Fst

منظور شناخت بهتر جمعیت‌ها و تفکیک دقیق آنها نیاز به حلقه گذاری و ثبت اطلاعات زیستگاهی است. همچنین نشانه‌های اندکی از جمعیت گیلان در جمعیت‌های شرقی‌تر ایران یعنی سرخرو و فریدونکنار وجود دارد که به نظر می‌رسد یک هاپلوتایپ کوچکتر از ۱۰٪ را شامل شود. از سوی دیگر جمعیتی که بعد از نیمه دوم دی ماه وارد منطقه شده با جمعیت لهستان تشابه ژنتیکی بالایی دارد. بنابراین جمعیت موجود در لهستان و جمعیتی که در اواخر دی‌ماه بعنوان جمعیت جدید قوهای فریادکش به ایران وارد شده است احتمالاً می‌تواند این فرضیه را تایید کند که همراه با سرمای زمستان سال ۱۳۸۶ بخشی‌هایی از یک جمعیت با منشأ واحد از منطقه سیبری تا قزاقستان وارد ایران و لهستان شده است. البته به دلیل نبود نمونه‌هایی از قزاقستان و روسیه اثبات کامل چنین انگاره‌ای ممکن نیست. نتایج حاصل از این تحلیل با تحلیل نمودار فیلوژنی به روش NJ مطابقت بالایی دارد اگرچه نمودار UPGMA نیز تا حدودی فاصله بین نمونه‌های غرب اروپا را با ایران و لهستان نشان داده است. در نهایت نمودار حاصل وجود ۳ جمعیت (۲ جمعیت پاییزه و زمستانه در فریدونکنار و یک جمعیت قدیمی در انزلی و گیلان) را در ایران تأیید کرده است. البته با داشتن نمونه‌هایی از آسیا می‌توان با قطعیت بیشتر در این مورد بحث نمود. خالص‌ترین جمعیت مربوط به ایسلند و جمعیت مربوط به فنلاند و سوئد حالت بینابینی دارد. همان‌طور که در مطالعات بیان‌شده جمعیت موجود در ایسلند جمعیتی است که در این کشور زادآوری و زمستان‌گذرانی می‌کند و تداخلی ژنی از سایر جمعیت‌ها در آن به اندازه‌ای است که می‌توان از آن چشم‌پوشی نمود. با وجود این، نمونه‌های مربوط به ایسلند بر اساس داده‌های هتروزیگوسیتی به علت غنای آلی بعنوان یک جمعیتی بنیانگذار برای کل منطقه پالئارکتیک مطرح است.

نتیجه‌گیری

حفظ تنوع ژنتیکی گونه‌ها و استمرار و تداوم اکوسیستم‌ها که

میتوکندریایی در میان پرندگان آبی در قوهای ترومیت عنوان گردیده بود.

نتایج نتایج حاصل از ترسیم درخت فیلوژنی حاکی از آن بود جمعیت‌های مربوط به ایسلند، سوئد و فنلاند در یک شاخه و جمعیت ایران ۱، ایران ۲ و لهستان نیز در یک شاخه جای گرفته است. با توجه به جمعیت مقیم ایسلند که جوجه‌آوری و زمستان‌گذرانی خود را در همان منطقه انجام می‌دهند احتمال جدایی این جمعیت را از جمعیت سوئد و فنلاند افزایش داده است. با توجه به وجود مهاجرت بین ۲ جمعیت سوئد و فنلاند قرارگیری آن‌ها در یک شاخه دور از انتظار نیست. اما در مورد جمعیت ایران با توجه به منشا جمعیتی که در منابع غرب و مرکز سیبری (یا غرب یا مرکز سیبری) معرفی شده است و تقریباً منشا جمعیتی جدایی از سایر کشورهای مطالعه شده دارد منجر شده که جمعیت ایران در شاخه‌ی جدایی روبروی جمعیت‌های دیگر قرار گیرد.

افزایش جمعیت لهستان از سال ۲۰۰۴ و ۲۰۰۵ این فرضیه را بوجود می‌آورد که بخشی از جمعیت لهستان از سمت غرب سیبری که منشا مشترک با بخشی از جمعیت زمستان‌گذران ایران دارد به این کشور مهاجرت می‌کند و به احتمال زیاد از فیلوپاتری یکسان پشتیبانی می‌شوند. نظر به پراکنش وسیع مناطق زمستان‌گذران، مهاجرت قوها از مناطق تولید مثل کننده به بسیاری از کشورهای زمستان‌گذران صورت می‌پذیرد. بنابراین با قطعیت کامل نمی‌توان در این زمینه صحبت کرد. نتایج درخت NJ در مطالعات اوپلر-مکنس و همکاران (۲۲) با استفاده از ۱۷ نشانگر ریزماهواره نشان داد که (۶ نشانگر تحقیق حاضر مشترک با این تحقیق است) جمعیت قوی‌های ترمپیت را در ایستگاه‌های مختلف واقع در ۲ منطقه کوه‌های راکی و اقیانوس آرام در ۲ گروه جای دارند.

نتایج مقایسه‌ی الگوی ساختار جمعیت در شکل ۴ نشان می‌دهد که جمعیت قوهای فریادکش که در پاییز وارد تالاب فریدونکنار می‌شوند با جمعیتی که بعد از نیمه دوم دی ماه وارد منطقه می‌گردند تمایز ژنتیکی از خود نشان داده است. اگرچه به

بخش قابل توجهی از غنای مربوط به اندوخته ژنی قوهای فریادکش منطقه پالئارکتیک را تامین می‌کند. در خاتمه ضمن تاکید بر ضرورت حفاظت از زیستگاه زمستان‌گذرانی قوها در ایران که بخش مهمی از آن در مزارع و شالیزارهای دارای مالکیت خصوصی قرار دارد، مطالعه طولانی مدت برای آگاهی از تغییرات وضعیت جمعیت بسیار ضروری است.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از همکاری ادارات کل محیط زیست استان‌های مازندران، گیلان و گلستان بویژه آقایان مهندس کوروس ربیعی و مهندس سامان علینژاد بابت صدور مجوزهای مربوطه و همکاری در تامین نمونه‌ها تشکر می‌شود. همچنین از خانم دکتر سحر مختاری بابت کمک‌های بی‌شائبه ایشان در تامین نمونه‌های ژنومیک از کشور فنلاند قدردانی می‌گردد. این تحقیق در قالب پایان نامه کارشناسی ارشد در دانشگاه تربیت مدرس و با حمایت مالی آن دانشگاه صورت گرفته است.

ضامن بقای اکوسیستم و محیط زیست است، ایجاب می‌کند نسبت به شناسایی گونه از لحاظ مورفولوژیکی و ژنتیکی به روش علمی اقدام شود تا بتوان به موقع از تغییرات مطلع و روش‌های کنترلی مناسبی را بکار برد. یکی از گونه‌هایی که در چندین سال اخیر علیرغم کاهش نسبی جمعیت حیات وحش در ایران با روند رو به رشدی همراه بوده قوهای فریادکش در تالاب بین‌المللی فریدونکنار است. تحقیق حاضر برای رفع ابهامات موجود در زمینه منشأ جمعیتی قوهای فریادکش انجام گردید. برای دستیابی به منشأ جمعیتی از نشانگرهای ژنتیکی ریزماهواره که در پاسخ به پرسش‌های جریان ژن، انتقال بیماری، ساختار ژنتیک جمعیت، ارتباط ژنتیکی جمعیت، تاریخچه تکاملی و برنامه‌های مدیریت حیات وحش بسیار مفید است استفاده گردید. بر اساس یافته‌های حاصل از این مطالعه: ۱- جایگاه‌های انتخابی ریزماهواره‌ها، تفاوت جمعیتی بین کلونی‌های جدید و قدیم قو را متمایز ساخت. ۲- کلونی‌های بزرگتر، آل‌های منسوب به هر ۲ جمعیت مرکزی و غربی سیبری را در خود دارند. ۳- جمعیت ایران اعم از قدیم و جدید،

منابع مورد استفاده

1. Airey, A.F. 1955. Whooper swans in southern lakeland. *Bird Study*. 2(3):143-150.
2. Boyd, H. and S.K. Eltringham. 1962. The whooper swan in Great Britain. *Bird Study*, 9(4):217-241.
3. Alipoor, A., S.Dorafshan, and S.A.Ghasemi. 2013. Comparative assessment of genetic diversity in cultivated population of rainbow trout, *Oncorhynchus Mykiss* from Lorestan province and introduced from France. *Journal of Fisheries*. 66(2): 199-209. (In Persian).
4. Amini, H. and M. E. Sehhatiasabet. 2007. Wintering populations of swans in Iran. *Podoces*. 2(2): 113-121.
5. BirdLife International. 2012. *Cygnus cygnus*. In: IUCN 2013. IUCN red list of threatened species. Version 2013.1. <http://www.iucnredlist.org> Accessed on 30 August 2013.
6. Brazil, M. A. 2003. The Whooper Swan. Bloomsbury Publishing. 520 p.
7. Brazil, M.A. 1981. The behavioural ecology of the whooper swan (*Cygnus cygnus*). Ph.D. thesis. University of Stirling, UK.
8. Brides, K., K. A. Wood, C. Hall, B. Burke, McElwaine, G. Einarsson, O. and E. C. Rees. 2021. The Icelandic whooper swan *Cygnus cygnus* population: current status and long-term (1986–2020) trends in its numbers and distribution. *Wildfowl*. 71(71): 29-57.
9. Butkauskas, D., S. Švažas, V.Tubelytė, J. Morkūnas, A. Sruoga, D. Boiko, A. Paulauskas, V. Stanevičius, and V. Baublys. 2012. Coexistence and population genetic structure of the whooper swan *Cygnus cygnus* and mute swan *Cygnus olor* in Lithuania and Latvia. *Central European Journal of Biology*, 7(5): 886-894.
10. Haapanen, A., M. Helminen, and H.K. Suomalainen. 1973 a. The spring arrival and breeding phenology of the whooper swan, *Cygnus c. cygnus*. Finland. *Finnish Game Research*, 33:31-38.
11. Haapanen, A., M. Helminen, and H.K. Suomalainen. 1973 b. The spring arrival and breeding phenology of the whooper swan, *Cygnus c. cygnus*. Finland. *Finnish Game Research*, 33:39-60.
12. Haapanen, A., M. Helminen, and H.K. Suomalainen. 1977. The summer behaviour and habitat use of the whooper swan (*Cygnus c. cygnus*). *Finnish Game Research*, 36:49-81.

13. Hewson, R. 1955. Herd composition and dispersion in the whooper swan. *Birds*, 56:1957-1958.
14. Henty, C.J. 1975. Daily feeding rhythm of ducks on the marismas of the Guadalquivir and their responses to birds of prey. *Donana Acta Vertebrata*, 2:1-5.
15. Javaheri Tehrani, S., L. Kvist, Mirshamsi, O., S. M. Ghasempouri, and M. Aliabadian. 2021. Genetic divergence, admixture and subspecific boundaries in a peripheral population of the great tit, *Parus major* (Aves: Paridae). *Biological Journal of the Linnean Society*, 133(4): 1084-1098.
16. Kirby, J.S., E.C. Rees, O.J. Merne, and A. Gardarsson. 1992. International census of whooper swans *Cygnus cygnus* in Britain, Ireland and Iceland: January 1991. *Wildfowl*, 43(43):20-26.
17. Laubek, B. 1995. Habitat use by whooper swans *Cygnus cygnus* and Bewick's swans *Cygnus columbianus bewickii* wintering in Denmark: increasing agricultural conflicts. *Wildfowl*, 46(46): 8-15.
18. Livezey, B.C. 1986. A phylogenetic analysis of recent anseriform genera using morphological characters. *The Auk*, 103(4):737-754.
19. Malekian, M. and M.R. Hemami 2013. Fundamentals of Conservation Biology, Mashhad University Press. (In Persian)
20. Malekian, M. 2013. Application of geneland to investigate population structure. *Modern Genetics Journal*, 8(2):189-198. (In Persian)
21. Nilsson, L. 1997. Changes in numbers and habitat utilization of wintering whooper swans *Cygnus cygnus* in Sweden 1964-1997. *Ornis Svecica*, 7(3):133-142.
22. Oyler-McCance, S., F. Ransler, L. Berkman, and T. Quinn. 2007. A rangewide population genetic study of trumpeter swans. *Conservation Genetics*, 8(6): 1339-1353.
23. Pourebrahimi, S., O. Mirshamsi, S. M. Ghasempouri, F. Y. Moghaddam and M. Aliabadian. 2022. Phylogeny and evolutionary history of the sombre tit, *Poecile lugubris* in the western Palearctic (Aves, Paridae). *Molecular phylogenetics and evolution*, 167:107343-107343.
24. Robinson, J., K. Colhoun, G. McElwaine and E. Rees. 2004. Whooper swan *Cygnus cygnus* (Iceland population) in Britain and Ireland. *Waterbird Review Series*, 1960:61-1999.
25. Su, Y., R. Long, G. Chen, X. Wu, K. Xie and J. Wan. 2007. Genetic analysis of six endangered local duck populations in China based on microsatellite markers. *Journal of Genetics and Genomics*, 34(11):1010-1018.
26. Valizadeh, R., M. Nassiry, A. Aslaminejad, G. Dashab, D. Saghi and M. Gholizadeh. 2013. Genetic diversity in four microsatellite loci bms1915, bms1350, lgb and ilsts45 in Baluchi sheep. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 1(1) 56-61. (In Persian)
27. Venables, L.S.V. and U.M. Venables. 1950. The whooper swans of Loch Spiggie, Shetland. *Scot.* 62:142-152.
28. Wilson, L. 2013. Differentiation of the Tundra swan (*Cygnus columbianus columbianus*) and Trumpeter swan (*Cygnus buccinator*) and their hybrids, using microsatellite regions. MSc. Thesis, George Mason University, USA.

Evaluating Genetic Diversity of Whooper Swan (*Cygnus cygnus*, Linnaeus, 1758) Colonies in Iran

J. Delpasand¹ and S. M. Ghasempoori^{1*}

(Received: November 07-2022; Accepted: January 28-2023)

Abstract

Whooper swans have two old and new populations, the new population has reported since 2007. The current study aimed to investigate the genetic structure of this species and compare their gene pool, especially the new population. For this purpose, 110 samples from Iran and four European countries were analyzed, using six microsatellite loci. In addition to the samples of the emerging population in Fereydoonkenar International Wetland and the old population of Gilan, samples from Iceland, Sweden, Finland and Poland were also examined. The observed average heterozygosity ranged from 0.598 to 1.0 and the expected heterozygosity ranged from 0.661 to 0.950. Iceland in the extreme west of Palearctic had the highest observed heterozygosity of 1.0 and Iran in the easternmost part of the study area had the highest effective allele frequency (12.72). Also, the population of Iran showed deviation from Hardy-Weinberg equilibrium, except for one loci. Based on the STRUCTURE 2.3.4 results, the Iranian swan population had the highest gene flow due to the high dispersion of breeding colonies in northern latitudes. Therefore, the autumn and winter migrant swans have two populations in Fereydunkanar and one separate population in Guilan. Generally, the high allelic richness in the new population indicates a high conservation value of the Fereydoonkenar wintering colony.

Keywords: Population genetics, Microsatellite marker, Genetic bottleneck, Gene flow

1. Faculty of Natural Resources, Tarbiat Modares University, Iran.

*: Corresponding Author, Email: ghasempm@modares.ac.ir