بوم‌شناسی کاربردی/ سال دوازدهم / شماره چهارم / زمستان ۱۴۰۲/ صفحات ۴۵ تا ۵۶

تنوع و ساختار ژنتیکی گوسفند وحشی در پارک ملی بمو در استان فارس با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره

دل‌آرا محمودی[۱]، رسول خسروی[۲*]، محمد کابلی[۳] و رویا آداودی[۴]

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۳/۰۳ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۳/۳۱)

چکیده

روش‌های نمونه‌برداری غیرتهاجمی، از جمله استخراج دی‌ان‌ای از سرگین، انجام مطالعات ژنتیک را برای پژوهشگران ژنتیک حفاظت تسهیل نموده، اما کیفیت و کمّیت دی‌ان‌ای استخراج شده همواره موضوع اصلی این روش‌ها بوده است. در مطالعه حاضر تنوع و ساختار ژنتیکی گوسفند وحشی (*Ovis gmelini*) در پارک ملی بمو با نمونه‌برداری به روش سواب سطح سرگین و با استفاده از هشت جفت آغازگر ریزماهواه ارزیابی شد. نتایج نشان داد که روش سواب سطح سرگین کارایی بالایی در تعیین ژنوتیپ افراد داشته و می‌توان این روش را به‌عنوان یک الگو برای سایر گونه‌های جانوری پیشنهاد نمود. مقادیر هتروزیگوسیتی مورد انتظار بین ۰/۵۰۲ تا ۰/۹۴۳، هتروزیگوسیتی مشاهده شده بین ۰/۹۵۰ تا ۱/۰۰ و میانگین غنای آللی ۸/۸۷ بدست آمد که نشان از تنوع ژنتیکی قابل توجه در جمعیت دارد. همچنین میانگین شاخص درون‌آمیزی بر اساس تمامی لوکوس‌ها ۰/۰۵۲ محاسبه شد. نشانه‌هایی از وقوع پدیده گردنه بطری در جمعیت در گذشته نزدیک مشاهده نشد. علی‌رغم تنوع ژنتیکی مناسب در جمعیت موجود، قطع ارتباطات ژنی بین این جمعیت با جمعیت‌های مجاور و تهدیدات جهانی همچون تغییرات اقلیمی، ضرورت اجرای برنامه‌های معرفی افراد جدید به جمعیت با هدف حفظ پتانسیل تکاملی گونه را دو چندان می‌نماید.

واژه‌های کلیدی: درون‌آمیزی، گردنه بطری، نمونه‌برداری به روش سواب، نمونه‌برداری غیرتهاجمی

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد، بخش مهندسی منابع طبیعی و محیط زیست، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران.

۲. دانشیار بخش مهندسی منابع طبیعی و محیط زیست، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران.

۳. استاد گروه محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، البرز، ایران.

۴. دانشجوی دکتری دانشکده زیست شناسی، دانشگاه گدانسک، گدانسک، لهستان.

*: مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: r-khosravi@shirazu.ac.ir

مقدمه

روند روبه‌رشد دخالت‌های انسانی در عرصه‌های طبیعی و به‌دنبال آن چندپاره شدن زیستگاه‌ها، انزوای گونه‌های جانوری را به‌همراه دارد که این انزوا می‌تواند تهدیدات جدی بر بقاء دراز مدت گونه‌ها داشته‌باشد (۷ و۴۶). تهدیداتی همچون درون‌آمیزی و رانش ژنتیکی تنها برخی از خطراتی است که می‌تواند جمعیت‌های کوچک و منزوی را به‌سمت گرداب انقراض سوق دهد (۲ و۳۹). در چنین شرایطی بررسی مسائل ژنتیک، یکی از پارامترهای کلیدی در نجات ژنتیکی جمعیت‌های باقیمانده به‌شمار می‌رود؛ به‌نحوی‌که اتحادیه جهانی حفاظت از طبیعت و منابع‌طبیعی (International Union for Conservation of Nature; IUCN)، حفظ تنوع ژنتیکی را یکی از اولویت‌های سه گانه در سطح جهانی معرفی می‌کند. با توجه به ارتباط مستقیم تنوع ژنتیکی با پتانسیل تکاملی و زیستمندی جمعیت‌های وحشی، جلوگیری از کاهش تنوع ژنتیکی گونه‌های تهدید شده، یکی از اهداف اساسی متخصصین ژنتیک حفاظت برای حفظ توانایی تکاملی گونه‌ها در مقابل تهدیدات انسانی و یا طبیعی پیش‌رو است (۴۴ و ۱۹).

یکی از موضوعاتی که در دهه‌های اخیر کاربرد علم ژنتیک حفاظت را در مدیریت تنوع زیستی دوچندان نموده است، پیشرفت‌های مولکولی و استفاده از نشانگرهای مولکولی در ارزیابی وضعیت ژنتیکی موجودات زنده بوده‌است (۸). تاکنون نشانگرهای مولکولی متنوعی در این زمینه معرفی شده‌است که تفاوت آن‌ها را می‌توان در ویژگی‌هایی همچون میزان چندشکلی، بارز یا هم‌بارز بودن، تعداد جایگاه‌های مورد بررسی، توزیع در سطح کروموزوم، تکرارپذیری، و هزینه مورد نیاز بیان نمود (۲۷). در این میان، ریزماهواره‌ها از جمله نشانگرهای پرکاربرد در ارزیابی تنوع و ساختار ژنتیکی هستند که کاربرد گسترده آن‌ها را می‌توان به تجزیه و تحلیل آسان، چند شکلی زیاد و توزیع گسترده در سطح ژنوم نسبت داد (۲۷).

پیدایش روش‌های نمونه‌برداری ژنتیکی غیرتهاجمی از اوایل دهه ۱۹۹۰، شرایط را برای مطالعات ژنتیک جمعیت تسهیل نموده است (۲۴). علی‌رغم پتانسیل بالای روش‌های نمونه‌برداری غیرتهاجمی در مطالعات مولکولی، محدودیت‌های تکنیکی (همچون کیفیت و کمّیت پایین دی‌ان‌ای استخراجی، آلودگی‌های بالا و خطای تعیین ژنوتیپ) و هزینه، دو چالش مهم در راه رونق استفاده از این روش‌ها بوده است (۳). نمونه‌برداری از سرگین یکی از روش‌های رایج تهیه نمونه‌های غیرتهاجمی در مطالعات ژنتیکی است. روش نمونه‌برداری از سرگین و نحوه نگهداری نمونه‌ها دو عامل مهم در کیفیت و کمّیت دی‌ان‌ای استخراج شده از سرگین است (۱۳). تاکنون روش‌های متفاوتی برای نمونه‌برداری از سرگین پیشنهاد شده است (۲۶).

در کشور ایران، عمده مطالعات انجام شده با استفاده از نمونه‌های سرگین مبتنی بر جمع‌آوری کل نمونه سرگین است که این موضوع مشکلاتی را در مراحل آزمایشگاهی ایجاد می‌کند. از این رو، استفاده از روش‌های دیگر همچون نمونه‌برداری به روش سواب سطح سرگین می‌تواند راهکاری جایگزین به‌منظور افزایش کارایی نمونه‌های سرگین در مطالعات ژنتیکی باشد (۴۱).

گوسفند وحشی از خانواده Bovidae و جنس *Ovis* است که پراکنش وسیعی در نیمکره شمالی از آمریکا و کانادا تا مناطق وسیعی از آسیا و بخش‌هایی از اروپا دارد (۳۰). طبق آخرین رده‌بندی، گوسفندان وحشی در شش گونه معرفی‌شده‌اند که دو گونه اوریال (*O. vignei*) و ارمنی (*O. gemelini*) در ایران پراکنش دارند (۳۵). بر اساس طبقه‌بندی IUCN، این گونه در طبقه آسیب‌پذیر (VU) و همچنین بر اساس طبقه‌بندی کنوانسیون منع تجارت گونه‌های در خطر انقراض (Convention on International Trade in Endangered Species; CITES) در پیوست II قرار دارد (۲۳).

در طی سال‌های اخیر، مطالعات مختلفی در زمینه تنوع ژنتیکی گوسفند وحشی در سطح دنیا و تا حدودی در ایران انجام شده است. از جمله مطالعات انجام شده در کشور می‌توان به ارزیابی تنوع ژنتیکی گوسفند وحشی در شمال غرب ایران

(۴۸)، تکامل و تقسیم‌بندی جنس *Ovis* (۳۵)، ارزیابی تنوع ژنتیکی گوسفند وحشی اوریال در شمال شرق ایران (۱۷)، بررسی شباهت‌های ژنتیکی و تجزیه و تحلیل تبارشناختی گونه‌های وحشی و اهلی گوسفند (۳۸) و تنوع ژنتیکی و تبارشناسی گوسفند وحشی و گوسفند کرمانی (۱۲) اشاره نمود. علاوه بر مطالعات انجام شده در کشور، در سایر مناطق دنیا نیز مطالعات مختلفی در رابطه با وضعیت ژنتیکی گوسفندان وحشی انجام شده‌است (۲۵، ۴۳، ۳۰، ۲۰، ۱۸، ۴۷، ۹، ۳۱ و ۱۱). نگاهی به مطالعات صورت گرفته به‌خصوص بررسی‌های انجام شده در کشور نشان‌می‌دهد که عمده مطالعات تاکنون متکی به استفاده از نشانگرهای میتوکندریایی بوده است و پژوهش‌های اندکی در خصوص تنوع و ساختار ژنتیکی این گونه با استفاده از نشانگرهای هسته‌ای انجام شده‌است.

استان فارس همچون بسیاری دیگر از استان‌های کشور، میزبان جمعیت‌هایی از گوسفند وحشی در محدوده مناطق تحت حفاظت است. پارک ملی بمو بدون شک یکی از مهم‌ترین زیستگاه‌های این گونه در سطح استان و کشور به‌شمار می‌رود. با توجه به انزوای جمعیت و احتمال بروز خطرات ژنتیکی در آینده، در مطالعه حاضر میزان تنوع ژنتیکی این گونه با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره بررسی گردید. مهم‌ترین اهداف مطالعه حاضر شامل (۱) ارزیابی کارایی نمونه‌برداری به روش سواب سطح سرگین در مطالعات ژنتیک جمعیت، (۲) بررسی سطح تنوع و ساختاربندی ژنتیکی و (۳) بررسی وقوع پدیده گردنه بطری در جمعیت گوسفند وحشی در این منطقه بوده است. نتایج مطالعه حاضر می‌تواند در برنامه‌ریزی‌های حفاظتی این گونه در آینده مورد استفاده قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

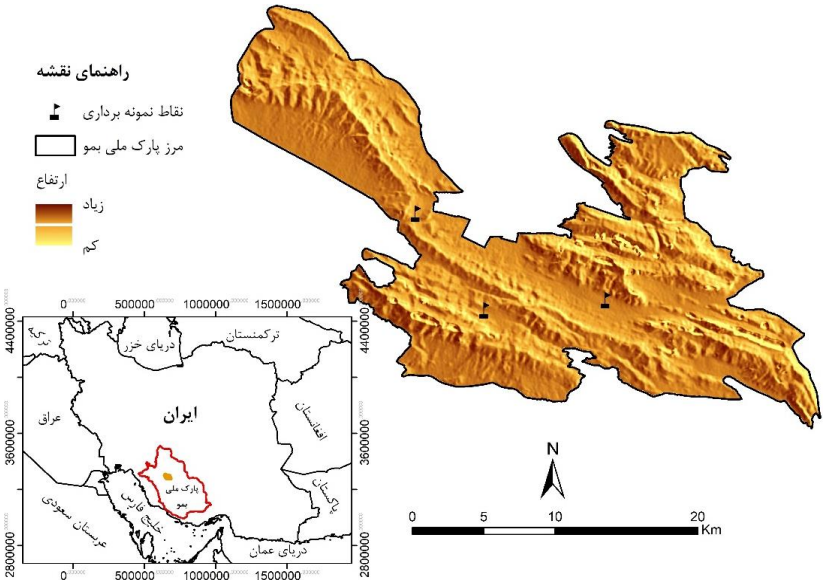
معرفی منطقه مورد مطالعه

پارک ملی بمو در شمال استان فارس و در ۳۰ کیلومتری شمال شرقی شهر شیراز در طول جغرافیایی ۲۹ °۵۲ تا ۵۶ °۵۲ و عرض جغرافیایی ۳۹ °۲۹ تا ۵۰ °۲۹ قرار دارد. این منطقه که در سال ۱۳۴۱ با وسعت ۱۰۰۰۰۰ هکتار به‌عنوان منطقه شکار ممنوع اعلام گردید، در سال ۱۳۴۶ به منطقه‌حفاظت شده، در سال ۱۳۴۹ به پارک وحش و سپس به پارک ملی ارتقا یافت. در حال حاضر این منطقه در حدود ۴۸۰۰۰ هکتار مساحت دارد (اداره کل محیط زیست استان فارس، ۱۴۰۲). تاکنون نزدیک به ۳۲ گونه پستاندار، ۹۱ گونه پرنده، ۱۹ گونه خزنده و ۳ گونه دوزیست در این پارک شناسایی شده‌است (شکل ۱).

نمونه‌های جمع‌آوری شده به‌منظور ارزیابی وضعیت ژنتیکی گوسفند وحشی شامل نمونه‌های به‌دست آمده از افراد تلف شده در اثر بیماری یا لاشه‌های کشف شده در سطح منطقه (هفت نمونه) و همچنین نمونه‌های سرگین (۱۳ نمونه) بود. بررسی‌های انجام شده نشان‌می‌دهد که موکوس موجود در لایه خارجی سرگین، حاوی مقادیر بسیار اندک دی‌ان‌ای است که می‌توان با استفاده از روش‌های دقیق این مقدار دی‌ان‌ای را استخراج نمود. در روش‌های مرسوم برای استخراج دی‌ان‌ای از سرگین، تمامی سرگین جمع‌آوری می‌شود که این موضوع می‌تواند منجر به کاهش کیفیت دی‌ان‌ای استخراج شده گردد (۳). به‌همین منظور در مطالعه حاضر سطح سرگین با استفاده از سواب نمونه‌برداری شد (شکل ۲). بدین‌منظور با استفاده از سواب نمونه‌برداری لایه موکوس روی سطح خارجی سرگین جمع‌آوری و سپس هر سواب به ویال‌های دو میلی‌لیتر منتقل و در دمای منفی ۲۰ درجه نگهداری شد.

استخراج دی‌ان‌ای و انتخاب نشانگرهای ریزماهواره

استخراج دی‌ان‌ای از نمونه‌های سرگین (۱۳ نمونه) و نمونه‌های بافت (هفت نمونه) با استفاده از روش بهینه شده فنل کلرفرم انجام شد. به‌منظور ارزیابی وضعیت ژنتیکی، سعی شد که از آغازگرهایی استفاده شود که در مطالعات پیشین توانایی تکثیر قطعات مورد نظر برای گونه‌های مختلف گوسفند وحشی را نشان داده باشند (۱ و ۱۷). بر این اساس تعداد هشت جفت آغازگر ریزماهواره انتخاب و تکثیر قطعات مورد نظر از دی‌ان‌ای هسته‌ای با استفاده از این آغازگرها و واکنش زنجیره‌ای



شکل ۱- موقعیت جغرافیایی منطقه مورد مطالعه و نقاط نمونه برداری

شکل ۲- نمونه‌برداری به روش سواب سطح سرگین

پلیمراز چندگانه انجام شد (جدول ۱). با انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمراز تحت شرایط دمایی مختلف و ترکیبات متعدد، شرایط بهینه برای تکثیر هر آغازگر تعیین شد. به‌منظور قرائت قطعات تکثیر شده در دستگاه توالی‌یاب، از قطعات نوکلئوتیدی فلورنس شده استفاده شد.

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز برای همه جایگاه‌ها در دمای ۵۶، ۵۸ و ۶۰ درجه سلسیوس انجام شد. برنامه دمایی شامل دمای ۹۵ درجه سلسیوس به‌مدت ۵ دقیقه، ۳۵ چرخه شامل دمای ۹۴ درجه به‌مدت ۴۰ ثانیه، دمای اتصال گرادیان به‌مدت ۳۰ ثانیه، و دمای ۷۲ درجه سلسیوس به‌مدت ۳۰ ثانیه با استفاده از دستگاه ترموسایکلر MultiGene Optimax اجرا شد. در مرحله بعد، واکنش زنجیره‌ای پلیمراز دو مرحله‌ای و تک مرحله‌ای اجرا و بهترین نتیجه عملکرد انتخاب شد. در واکنش زنجیره‌ای پلیمراز دو مرحله‌ای ابتدا تکثیر در حضور آغازگرهای رفت و برگشت بدون حضور ریزآرایه فلورسانت (Fluorescent microarrays) اجرا شد. سپس محصول به‌دست آمده رقیق‌سازی و برای واکنش زنجیره‌ای پلیمراز مرحله دوم در حضور آغازگر برگشت و ریزآرایه فلورسنت اجرا شد. در واکنش زنجیره‌ای پلیمراز یک مرحله‌ای آغازگر رفت، برگشت و ریزآرایه فلورسنت حضور داشتند. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز یک مرحله‌ای در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر اجرا شد. برنامه دمایی شامل دمای ۹۵ درجه سلسیوس به‌مدت ۵ دقیقه، ۳۵ چرخه شامل دمای ۹۴ درجه به‌مدت ۴۰ ثانیه، دمای اتصال ۵۸ درجه به‌مدت ۳۰ ثانیه و دمای ۷۲ درجه سلسیوس به‌مدت ۳۰ ثانیه استفاده شد. خوانش قطعات تکثیر شده با استفاده از دستگاه Sequencer ABI 3500 و در حضور نشانگر وزن مولکولی GenescanLiz500

جدول ۱- توالی آغازگرهای ریزماهواره استفاده‌شده به‌منظور تکثیر قطعات دی‌ان‌ای هسته و گروه‌بندی آغازگرها

نام لوکوس	توالی	دامنه اندازه آلل‌ها	گروه
MaF36 -F	CAGTCGGGCGTCATCATTGCGAAAGTTGGACACAATTGAGC	۱۱۶-۸۴	۱
MaF36 -R	GTTTCATATACCTGGGAGGAATGCATTACG		
OarFCB304 -F	CAGTCGGGCGTCATCACCCTAGGAGCTTTCAATAAAGAATCGG	۱۹۱-۱۵۴	۱
OarFCB304 -R	GTTTCGCTGCTGTCAACTGGGTCAGGG		
ILSTS11-F	CAGTCGGGCGTCATCAGCTTGCTACATGGAAAGTGC	۲۹۴-۲۵۶	۱
ILSTS11-R	GTTTCTAAAATGCAGAGCCCTACC		
OarFCB128-F	CAGTCGGGCGTCATCAATTAAAGCATCTTCTCTTTATTTCCTCGC	۱۳۲-۹۶	۲
OarFCB128-R	GTTTCAGCTGAGCAACTAAGACATACATGCG		
McM527-F	CAGTCGGGCGTCATCAGTCCATTGCCTCAAATCAATTC	۱۷۴-۱۵۸	۲
McM527-R	GTTTAAACCACTTGACTACTCCCCAA		
MAF214-F	CAGTCGGGCGTCATCAGGGTGATCTTAGGGAGGTTTTGGAGG	۲۲۸-۱۸۶	۲
MAF214-R	GTTTAATGCAGGAGATCTGAGGCAGGGACG		
OarFCB20-F	CAGTCGGGCGTCATCAAAATGTGTTTAAGATTCCATACAGTG	۱۲۰-۹۵	۳
OarFCB20-R	GTTTGGAAAACCCCCATATATACCTATAC		
OarHH47-F	CAGTCGGGCGTCATCATTTATTGACAAACTCTCTTCCTAACTCCACC	۱۵۲-۱۲۱	۳
OarHH47-R	GTTTGTAGTTATTTAAAAAAATATCATACCTCTTAAGG		

انجام شد. از نرم‌افزار Geneious IR 9.1.8 جهت تعیین ژنوتیپ استفاده شد.

تنوع، ساختار ژنتیکی و درون‌آمیزی در جمعیت گوسفند وحشی پارک ملی بمو

فراوانی آلل‌های خنثی (Null allele) با استفاده از روش الگوریتم حداکثر انتظار (۱۰) برای هر جمعیت و هر لوکوس در نرم‌افزار FreeNA محاسبه شد (۵). خطای شمارش ناشی از تغییر در اندازه آلل‌ها برای هر لوکوس و هر جمعیت با استفاده با استفاده از نرم‌افزار MICRO-CHECKER V. 2.2.3 محاسبه شد (۴۵). بررسی تعادل هاردی–واینبرگ برای هر لوکوس در هر جمعیت و فرضیه کاهش هتروزیگوسیتی با استفاده از نرم‌افزار GENEPOP V. 4.7.x انجام گرفت (۳۴). از آزمون G برای بررسی ترکیب تصادفی گامت‌ها و تعادل اتصالی در لوکوس‌ها پس از اعمال شاخص تصحیح Bonferroni (۳۶) استفاده شد.

تعداد آلل‌ها در هر لوکوس (A)، هتروزیگوسیتی مورد انتظار (Expected heterozygosity; H_E)، هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده (Observed heterozygosity; H_O)، و غنای آللی (Allelic richness; Ar) با استفاده از نرم‌افزار FSTAT V. 2.9.3.2 محاسبه شد (۱۴). میزان درون‌آمیزی برای هر لوکوس و همچنین یک تخمین کلی از این شاخص بر اساس تمامی لوکوس‌ها با استفاده از روش وایر و کوکرهام (Weir & Cockerham; W&C) با استفاده از نزم‌افزار GENEPOP محاسبه گردید.

به‌منظور بررسی ساختار ژنتیکی احتمالی، از روش گروه‌بندی بیزین در نرم‌افزار STRUCTURE V. 2.3.4 و مدل ترکیبی یا اختلاطی و فراوانی آللی مرتبط استفاده شد. در این روش فرض بر این است که هیچ‌گونه اطلاعاتی از پیش در رابطه با تعداد جمعیت نمونه‌ها وجود ندارد (USEPOPINFO = 0).

حال با قرار دادن K بین یک تا پنج (MAXPOPS = 1-5) و محاسبه احتمال بیشینه داده‌ها ((Ln P (D)، تعداد مناسب K برای داده‌ها محاسبه شد. مدل پریچارد با انجام ۱۰ تکرار برای هر اندازه جمعیت (K) و ۱۰۰۰۰۰۰ بار شبیه‌سازی زنجیره مارکو انجام شد. ارزیابی محتمل‌ترین تعداد جمعیت با استفاده از محاسبه میانگین Ln P (D) صورت گرفت (۳۳). از آنجا که مدل پریچارد برای هر بار اجرا، میزان احتمال بیشینه داده‌ها ((Ln P (D) را محاسبه می‌کند، بنابراین با انجام ۱۰ تکرار برای هر اندازه احتمالی جمعیت (K)، میانگین احتمال بیشینه داده‌ها محاسبه شد. بر این اساس بالاترین میزان Ln P (D) به‌عنوان محتمل‌ترین تعداد اندازه جمعیت در نظر گرفته شد.

وقوع گردنه بطری در جمعیت گوسفند وحشی پارک ملی بمو

احتمال وقوع پدیده گردنه بطری با استفاده از نرم‌افزار Bottleneck V. 1.2.02 انجام شد (۳۲). بدین‌منظور از هر سه مدل جهشی (Two-Phase Model; TPM, Stepwise Mutation Model; SMM, Infinite Alleles Model; IAM) با ۱۰۰۰۰ تکرار احتمال وقوع گردنه بطری در جمعیت پارک ملی بمو محاسبه شد. از آزمون رتبه‌بندی ویلکاکسون و نشانه معنی‌داری افزایش هتروزیگوسیتی ارزیابی شد.

نتایج

تنوع، ساختار ژنتیکی و درون‌آمیزی در جمعیت گوسفند وحشی پارک ملی بمو

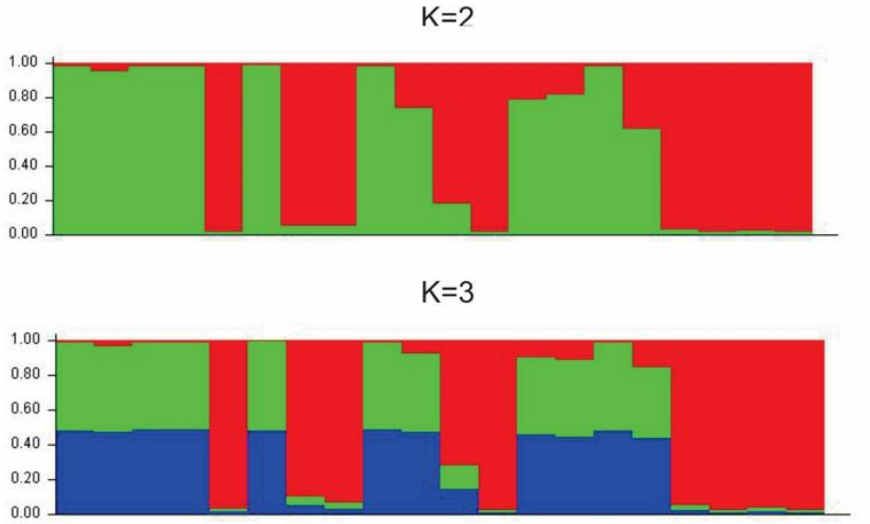
در هیچ‌یک از لوکوس‌های بررسی شده عدم شناسایی یکی از آلل‌های فرد هتروزیگوت به‌دلیل غلظت پایین دی‌ان‌ای (۴۲) و همچنین شناسایی آلل‌های اشتباه در نتیجه نقص واکنش زنجیره‌ای پلیمراز و اشتباه دی‌ان‌ای پلیمراز در حین تکثیر مشاهده نشد. نرخ آلل‌های خنثی در همه لوکوس‌ها به‌جز یک مورد (OarFCB20) ناچیز بود. از آن‌جا که در هیچ‌یک از لوکوس‌های بررسی شده عدم شناسایی یکی از آلل‌های فرد هتروزیگوت به‌دلیل غلظت بسیار پایین دی‌ان‌ای مشاهده نشد، بنابراین وجود آلل‌های خنثی در این لوکوس به‌احتمال‌زیاد به‌دلیل نرخ پایین موفقیت تکثیر یک آلل خاص بوده‌است. گواه این موضوع عدم تکثیر دو آلل لوکوس OarFCB20 در برخی از نمونه‌ها و در نتیجه وجود داده‌های گم شده در این لوکوس است.

نتایج بررسی تبعیت لوکوس‌ها از تعادل هاردی- واینبرگ نیز نشان داد که فرضیه کاهش هتروزیگوسیتی فقط در یک لوکوس (OarFCB20) معنادار بود ($P< 0.05$). با در نظر گرفتن شاخص تصحیح بونفرونی، فقط در یک مورد از ۲۸ جفت مقایسه انجام شده عدم تعادل اتصالی مشاهده شد. تمامی لوکوس‌های مطالعه شده چند ریختی نشان دادند و تعداد آلل‌ها در آن‌ها بین ۷ تا ۱۹ آلل متغیر بود. دامنه هتروزیگوسیتی مورد انتظار بین ۰/۵۰۲ تا ۰/۹۴۳، هتروزیگوسیتی مشاهده شده بین ۰/۹۵۰ تا ۱/۰۰ و میانگین غنای آللی ۸/۸۷ بدست آمد. همچنین میزان درون آمیزی بر اساس روش وایر – کوکرهام ۰/۰۵۲ محاسبه شد.

با قرار دادن مقادیر مختلف برای تعداد گروه‌های قابل پیش‌بینی در نرم‌افزار STRUCTURE، میزان احتمال بیشینه داده‌ها محاسبه شد. نمونه‌های جمع‌آوری شده در این مطالعه از لحاظ ژنتیکی، دو ساختار را نشان دادند که فرض وجود ساختاربندی ژنتیکی خرد در جمعیت گوسفند وحشی پارک ملی بمو را قوت می‌بخشد (شکل ۳). اگرچه اظهار نظر قطعی در خصوص ساختاربندی ژنتیکی جمعیت، نیازمند استفاده از تعداد نمونه و نشانگرهای بیشتر است

وقوع گردنه بطری در جمعیت گوسفند وحشی پارک ملی بمو

نتایج تحلیل گردنه بطری نشان داد که در جمعیت گوسفند وحشی پارک ملی بمو به‌دلیل تبعیت منحنی فراوانی آلل‌ها از حالت L و همچنین بالا بودن عدد محاسبه شده در آزمون ویلکاکسون نسبت به سطح معناداری برای هر سه مدل جهشی، فرضیه وقوع پدیده گردنه بطری رد می‌شود. اگرچه نتایج آزمون نشانه نشان داد که در دو مدل SMM و TPM نشانه‌هایی از



شکل ۳- میزان تعلق هر یک از نمونه‌های گوسفند وحشی به تعداد گروه های دو (K = 2) (بالا) و سه (K = 3) (پایین).

جدول ۲- نتایج احتمال وقوع گردنه بطری در جمعیت گوسفند وحشی پارک ملی بمو

مدل جهشی	آزمون نشانه	آزمون ویلکاکسون
IAM	۰/۶۱۱	۰/۵۲۷
TPM 95% P	۰/۰۰۸	۰/۹۹۸
SMM	۰/۰۰۰	۱/۰۰۰

وقوع پدیده گردنه بطری مشاهده می‌شود. با توجه به اینکه در مواقعی که تعداد نشانگرهای ریزماهواره کمتر از ۲۰ عدد باشد، آزمون ویلکاکسون و همچنین مدل جهشی TPM به‌شکل بهتری وقوع گردنه بطری را در یک جمعیت نشان می‌دهند، از این‌رو می‌توان استنباط نمود که در جمعیت گوسفند وحشی در پارک ملی بمو، عبور جمعیت از گردنه بطری حداقل در ۱۲ نسل گذشته رخ نداده است (جدول ۲).

بحث

تنوع، ساختار ژنتیکی و درون‌آمیزی در جمعیت گوسفند وحشی پارک ملی بمو

همان‌طور که اشاره شد، تاکنون مطالعات اندکی در خصوص تنوع ژنتیکی گوسفند وحشی با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره در کشور انجام شده است. به‌طور مثال، مطالعه انجام شده در خصوص گوسفند وحشی شمال غرب کشور با استفاده از ۱۰ نشانگر ریزماهواه نشان داد که میانگین تعداد آلل‌ها در هر لوکوس ۶/۱ بوده است. همچنین میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار به‌ترتیب ۰/۵۸ و ۰/۷۸ محاسبه شد که در مقایسه با مطالعه حاضر کمتر بوده است (۱۷). در مقایسه با مطالعات انجام شده در سایر کشورها همچون گوسفند وحشی بیگ هورن در آمریکا (۱۵ و ۲۸) نیز تنوع مناسبی در جمعیت مورد مطالعه مشاهده شد. تنوع ژنتیکی مناسب در جمعیت گوسفند وحشی پارک ملی بمو دور از انتظار نیست و این موضوع را می‌توان به جمعیت مناسب این گونه در این منطقه نسبت داد. بر اساس آخرین سرشماری صورت گرفته در حدود ۲۰۰۰ تا ۲۵۰۰ رأس گوسفند وحشی در این منطقه وجود دارد که می‌تواند تنوع ژنتیکی مناسبی را برای این جمعیت فراهم آورد. به نظر می‌رسد که ساختاربندی ژنتیکی مشاهده‌شده به‌دلیل بروز ساختارهای ژنتیکی خرد در جمعیت گوسفند وحشی در پارک ملی بمو باشد. اگرچه تایید این

موضوع نیازمند استفاده از تعداد نمونه‌های بیشتر، تعداد نشانگرهای ریزماهواره بیشتر و همچنین استفاده از سایر نشانگرهای مولکولی همچون چندشکلی نوکلئوتیدی ساده (Single Nucleotide Polymorphism, SNP) است.

وقوع درون‌آمیزی در جمعیت‌های حیات‌وحش امری اجتناب‌ناپذیر است. بروز آلل‌های مخرب، کاهش تنوع ژنتیکی و کاهش برازش تولید مثلی مهم‌ترین عواقب درون آمیزی در یک جمعیت به‌شمار می‌روند که می‌تواند یک جمعیت را به‌سمت انقراض سوق دهند (۲۱ و ۲۸). افزایش هموزیگوسیتی در نتیجه درون‌آمیزی ممکن است فرصت را برای ظهور آلل‌های کشنده در جمعیت فراهم آورد. با توجه به موارد اشاره شده، اجرای اقدامات پیشگیرانه در خصوص کاهش نرخ درون‌آمیزی ضروری است. یکی از راه‌های کاهش فشار درون‌آمیزی، آمیزش جمعیت‌های درون‌آمیز با دیگر جوامع خویشاوند است. البته بایستی در انتخاب جمعیت‌های هدف دقت نمود؛ زیرا تفاوت زیاد در ساختار ژنتیکی جمعیت مبدا و مقصد نه‌تنها نمی‌تواند خطرات ناشی از درون‌آمیزی را بکاهد، بلکه خطراتی همچون فشار برون‌آمیزی را نیز به‌همراه دارد. با توجه به اینکه فشار انتخاب طبیعی علیه درون‌آمیزی ارتباط مستقیم با اندازه جمعیت دارد، بنابراین به‌نظر می‌رسد که در جمعیت‌های کوچک، فشار انتخاب طبیعی در راستای کاهش فشار درون‌آمیزی کمتر از جمعیت‌های بزرگ و طبیعی باشد (۲۲ و ۲۹). با توجه به اندازه مناسب گوسفند وحشی در پارک ملی بمو، می‌توان امید داشت که فشار انتخاب طبیعی در این جمعیت در راستای حذف آلل‌های مخرب در نتیجه درون‌آمیزی عمل نماید.

نتایج مطالعه حاضر نشان از پایین بودن نرخ درون‌آمیزی در جمعیت مورد مطالعه بود، که این موضوع می‌تواند به‌دلیل جمعیت مناسب این گونه در منطقه باشد. اگرچه بدون شک قطع ارتباطات ژنی جمعیت پارک ملی بمو با سایر جمعیت‌ها در درازمدت می‌تواند بقاء این جمعیت را با خطراتی مواجه کند. بنابراین حفظ بقاء دراز مدت جمعیت نیازمند برقراری جریان ژنی بین جمعیت بمو با سایر جمعیت‌های مجاور است. با توجه به این‌که در حال حاضر توسعه انسانی اطراف پارک ملی بمو به حدی است که عملاً نمی‌توان انتظار برقراری جریان ژنی به‌شکل طبیعی را بین جمعیت علفخواران منطقه با مناطق مجاور داشت، از این‌رو، یکی از مهم‌ترین اقدامات پیشنهادی برای کاهش احتمال درون‌آمیزی و اثرات ناشی از آن، تقویت جمعیت موجود از طریق معرفی افراد یا آلل‌های جدید به جمعیت و نجات ژنتیکی جمعیت است. اگرچه انتقال افراد جدید به جمعیت راهکاری برای کاهش اثرات درون‌آمیزی است، اما انتخاب جمعیت مبدا برای انتقال، تنوع ژنتیکی جمعیت مبدا و فشار برون‌آمیزی همواره موضوعات مهم در برنامه‌های انتقال است. از این‌رو لازم است تا در مطالعات آتی و با استفاده از پژوهش‌های ژنتیک، جمعیت‌های مناسب جهت معرفی افراد جدید به جمعیت پارک ملی بمو شناسایی شود.

وقوع گردنه بطری در جمعیت گوسفند وحشی پارک ملی بمو

نتایج بررسی پدیده گردنه بطری نشان داد که نشانه‌هایی از عبور جمعیت از گردنه بطری حداقل در گذشته نزدیک در جمعیت مشاهده نمی‌شود. این موضوع می‌تواند به‌دلیل شرایط زیستگاهی مناسب برای حضور این گونه در پارک ملی بمو باشد. با توجه به اینکه پارک ملی بمو به‌واسطه قدمت بالا، همواره یکی از زیستگاه‌های مناسب برای حضور این گونه ارزشمند در کشور محسوب می‌شود، بنابراین در سالیان اخیر همواره جمعیت مناسبی از این گونه در منطقه مشاهده شده‌است. تنوع ژنتیکی مناسب و عدم وقوع گردنه بطری در جمعیت می‌تواند نکته مؤثری برای در نظر گرفتن این جمعیت به‌عنوان یک جمعیت منتخب برای انتقال افراد جدید به سایر جمعیت‌ها در مناطق دیگر در نظر گرفته شود.

کاربرد نمونه‌برداری به روش سواب سطح سرگین در مطالعات ژنتیک حیات‌وحش

روش مرسوم در نمونه‌برداری از سرگین در مطالعات انجام شده در سال‌های اخیر، جمع‌آوری تمام سرگین و نگهداری آن‌ها در محلول‌های نگهدارنده (همچون الکل) بوده است. با توجه به

این‌که هر گونه ماده‌ای به‌جز لایه موکوس سطح خارجی سرگین می‌تواند سبب کاهش کیفیت دی‌ان‌ای استخراجی و افزایش آلودگی در مراحل تکثیر دی‌ان‌ای شود، از این‌رو، روش استفاده‌شده در مطالعه حاضر متفاوت از روش‌های مرسوم نمونه‌برداری از سرگین در مطالعات پیشین در کشور بود. نتایج مطالعات آزمایشگاهی نشان داد که دی‌ان‌ای استخراج شده از روش سواب سطح سرگین کیفیت و کمّیت مناسب دارد. مطالعات انجام شده در رابطه با استفاده از روش سواب سطح سرگین برای فیل جنگلی آفریقا (*Loxodonta cyclotis*) نیز نشان از موفقیت بالای این روش در استخراج دی‌ان‌ای با کیفیت در مقایسه با روش‌های مرسوم نمونه‌برداری از سرگین بود (۲). در مطالعات دیگری نیز کارایی این روش نمونه‌برداری به اثبات رسیده است (۱۶و ۳۷). استفاده از این روش برای علفخوارانی که گروه‌های سرگین بزرگی را دفع می‌کنند، به‌واسطه فراهم نمودن سطح تماس بیشتر، کارایی بیشتری دارد (۶). به‌عبارت دیگر، در این روش احتمال جمع‌آوری سلول‌های بیشتری از روده بر روی سطح خارجی سرگین در مقایسه با روش‌های مرسوم وجود دارد.

موضوع مهم دیگر در نمونه‌برداری به روش سواب سطح سرگین، نوع سرگین‌های انتخاب شده برای لایه‌برداری سطحی است. مطالعات انجام شده نشان‌می‌دهد که مدت زمان سپری شدن از دفع سرگین، قرار گرفتن در معرض رطوبت، اشعه فرابنفش، دما، میکروارگانیسم‌ها و رژیم غذایی می‌تواند بر کارایی این روش مؤثر باشد (۴۰و ۴). در بین عوامل اشاره شده، مدت زمان سپری شده از دفع سرگین مهم‌ترین عامل است به‌نحوی‌که در مطالعه‌ای نشان داده شد از زمان دفع سرگین تا یک ساعت پس از آن، زمان بهینه برای نمونه‌برداری به روش سواب سطح سرگین است (۳). مزیت دیگر روش اشاره شده، هزینه‌های کمتر نمونه‌برداری و استخراج دی‌ان‌ای و سادگی پروتکل نمونه‌برداری در طبیعت است. با توجه به موارد اشاره شده، روش استفاده شده در این مطالعه می‌تواند به‌عنوان یک الگو برای سایر گونه‌های جانوری در کشور مورد استفاده قرار گیرد.

نتیجه‌گیری

روش نمونه‌برداری استفاده شده در مطالعه حاضر، متفاوت از سایر روش‌های مرسوم نمونه‌برداری از سرگین در مطالعات پیشین در کشور بود. با توجه به تایید کارایی این روش در تعیین ژنوتیپ افراد نمونه‌برداری شده، این روش می‌تواند به‌عنوان الگویی برای سایر گونه‌های جانوری پیشنهاد شود.

اگرچه نتایج بدست آمده نشان از تنوع ژنتیکی مناسب، درون‌آمیزی اندک، و عدم وقوع گردنه بطری در جمعیت مورد مطالعه بود، اما به دلیل قطع جریان ژنی بین جمعیت پارک ملی بمو با جمعیت‌های مجاور، پیشنهاد می‌شود که در برنامه‌های مدیریتی آینده، تنوع ژنتیکی جمعیت با استفاده از معرفی افراد جدید به جمعیت تقویت گردد. نکته مهم در برنامه‌های تقویت تنوع ژنتیکی، انتخاب مناسب جمعیت‌های مبدا و تداوم برنامه‌های معرفی است. از این‌رو، پیشنهاد می‌شود که قبل از هرگونه معرفی افراد جدید به جمعیت، با استفاده از مطالعات ژنتیک، جمعیت‌های مناسب شناسایی و در طی چندین مرحله، معرفی افراد جدید به جمعیت موجود انجام شود.

با توجه به اینکه صحت و دقت نتایج مطالعات ژنتیک رابطه مستقیم با تعداد نمونه و نوع نشانگرهای مولکولی استفاده شده دارد، از این‌رو تعداد اندک نمونه و جایگاه‌های ژنی بررسی شده را می‌توان به عنوان نقاط ضعف پژوهش حاضر در نظر گرفت. بنابراین پیشنهاد می‌شود که با افزایش تعداد نمونه در مطالعات آینده و استفاده از سایر نشانگرهای مولکولی تکرارپذیری نتایج بدست آمده را مورد آزمون قرار داد.

سپاسگزاری

از حمایت‌های ارزشمند ادارهٔ کل محیط زیست استان فارس (شمارهٔ طرح: ۱۴۰۲/۴۰۰/۳۲۶۱ ص) و دانشگاه شیراز تشکر و قدردانی می شود.

منابع مورد استفاده

1. Alnajm, H., S. Alijani., A. Javanmard., S. A. Rafat and K. Hasanpur. 2021. Genetic diversity analysis of four sheep breeds of Iran: Towards genetic maintenance and conservation decision. *Iranian Journal of Applied Animal Science* 11(3): 527-538.
2. Blomqvist, D., A. Pauliny., M. Larsson and L. A. Flodin. 2010. Trapped in the extinction vortex? Strong genetic effects in a declining vertebrate population. *BMC Evolutionary Biology* 10: 1-9.
3. Bourgeois, S., J. Kaden., H. Senn., N. Bunnefeld., K. J. Jeffery., E. F. Akomo-Okoue., R. Ogden and R. McEwing. 2019. Improving cost-efficiency of faecal genotyping: New tools for elephant species. *PloS one* 14(1): e0210811
4. Brinkman T. J., M. K. Schwartz., D. K. Person., K. L. Pilgrim and K. J. Hundertmark. 2010. Effects of time and rainfall on PCR success using DNA extracted from deer fecal pellets. *Conservation Genetics* 11: 1547–1552.
5. Chapuis, M. P and A. Estoup. 2007. Microsatellite null alleles and estimation of population differentiation. *Molecular Biology and Evolution* 24: 621–631.
6. Cullingham C. I., M. Curteanu., M. C. Ball and M. Manseau . 2010. Feasibility and recommendations for swift fox fecal DNA profiling. *Journal of Wildlife Management* 74: 849–859.
7. Cushman, S. A. 2006. Effects of habitat loss and fragmentation on amphibians: a review and prospectus. *Biology Conservation* 128: 231–240.
8. Daneshyar, P. 2003. Polymorphism determination of nine microsatellite markers in Balouchi sheep breed of Abasabad station of Mashhad. MSc thesis, Zabol University, Zabol, Iran (In Persian).
9. Demirci, S., E. Koban Baştanlar., N. D. Dağtaş., E. Pişkin., A. Engin., F. Özer and I. Togan. 2013. Mitochondrial DNA diversity of modern, ancient and wild sheep (*Ovis gmelinii anatolica*) from Turkey: new insights on the evolutionary history of sheep. *PloS One* 8 (12): e81952
10. Dempster, A. P., N. M. Laird and D. B. Rubin. 1977. Maximum likelihood from incomplete data via the EM algorithm. *Journal of Statistical Society* 39: 1-38.
11. Dotsev, A., O. Koshkina., V. Kharzinova., T. Deniskova., H. Reyer., E. Kunz and N. Zinovieva. 2023. Genome-wide insights into intraspecific taxonomy and genetic diversity of Argali (*Ovis ammon*). *Diversity* 15: 627-635.
12. Dehghani, G. M., Ayatollahi Mehrgardi, A and Esmailizadeh, K. A. 2017. The study of d-loop mitochondrial region with the objective of investigating the genetic and phylogenetic diversity in wild sheep and comparing it with Kermani sheep. *Modern Genetics Journal* 12: 649-653. (In Persian).
13. Frantzen M. A. J., J. B. Silk., J, W. H. Ferguson., R. K. Wayne and M. H. 1998. Empirical evaluation of preservation methods for faecal DNA. *Molecular Ecology* 7: 1423–1428.
14. Goudet, J. 1995. FSTAT (Version 1.2): a computer program to calculate F-statistics. *Heredity* 86: 485–486.
15. Gutiérrez-Espeleta, G. A., S. T. Kalinowski., W. M. Boyce and P. W. Hedrick. 2000. Genetic variation and population structure in desert bighorn sheep: implications for conservation. *Conservation Genetics* 1: 3-15.
16. Hayaishi, S and Y. Kawamoto. 2006. Low genetic diversity and biased distribution of mitochondrial DNA haplotypes in the Japanese macaque (*Macaca fuscata yakui*) on Yakushima Island. *Primates* 47:158–164
17. Javadmanesh, A., S. Ghovvati Rodsari., M. Soltani and M. Nassiry. 2022. Genetic diversity of urial population in Northeast of Iran. *Iranian Journal of Animal Biosystematics* 18(2): 185-193.
18. Johnston, S. E., J. C. McEwan., N. K. Pickering., J. W. Kijas., D. Beraldi., J. G. Pilkington and J. O. N. Slate. 2011. Genome-wide association mapping identifies the genetic basis of discrete and quantitative variation in sexual weaponry in a wild sheep population. *Molecular Ecology* 20: 2555-2566.
19. Kardos, M., E. E. Armstrong., S. W. Fitzpatrick., S. Hauser., P. W. Hedrick., J. M. Miller and W. C. Funk. 2021. The crucial role of genome-wide genetic variation in conservation. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 118(48): e2104642118.
20. Karpinski, M., A. N. Junkuszew., L. E. Drozd and T. M. Gruszecki. 2006. A phylogenetic comparison of wild sheep (*Ovis musimon*) and domestic sheep (*Ovis aries*) represented by BCP synthetic line using mitochondrial cytochrome b gene sequence analysis. *Tierzucht* 49: 310-316.
21. Keller, L. F and D.M. Waller. 2002. Inbreeding effects in wild populations. *Trends in Ecology & Evolution 17*(5): 230-241.
22. Khan, A., K. Patel., H. Shukla., A. Viswanathan., T. van der Valk., U. Borthakur and U. Ramakrishnan. 2021. Genomic evidence for inbreeding depression and purging of deleterious genetic variation in Indian tigers. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 118(49): e2023018118.
23. Karami, M., T. Ghadirian, and K. Faizolahi. 2016. The Atlas of Mammals of Iran. Jahad Daneshgahi, Kharazmi Branch, Karaj (In Persian).
24. Morin P. A., J. J Moore., R. Chakraborty., L. Jin., J. Goodall and D. S. Woodruff. 1994. Kin selection, social structure, gene flow, and the evolution of chimpanzees. *Science* 265: 1193–1193.
25. Nadler, C. F., R. S. Hoffmann and A. Woolf. 1973. G-band patterns as chromosomal markers, and the interpretation

of chromosomal evolution in wild sheep (*Ovis*). *Experientia* 29: 117-119.
26. Nsubuga A. M., M. M. Robbins., A. D. Roeder., P. A. Morin., C. Boesch and L. Vigilant. 2004. Factors affecting the amount of genomic DNA extracted from ape faeces and the identification of an improved sample storage method. *Molecular Ecology* 13: 2089–2094.
27. Naghavi, M. R., B. Ghariazi, Gh, Hosseini Salekdeh. 2007. Molecular Markers. University of Tehran Press, Tehran (In Persian).
28. Parr, B. L., R. L. Juarez and J. A. Jenks. 2016. Assessing genetic variation of Rocky Mountain bighorn sheep at Elk Mountain. *The Prairie Naturalist* 47: 30–39.
29. Pérez-Pereira, N., A. Caballero and A. García-Dorado. 2022. Reviewing the consequences of genetic purging on the success of rescue programs. *Conservation Genetics 23*(1): 1-17.
30. Peter, C., M. Bruford., T. Perez., S. Dalamitra., G. Hewitt., G. Erhardt and C. Econogene. 2007. Genetic diversity and subdivision of 57 European and Middle-Eastern sheep breeds. *Animal Genetics* 38: 37-44.
31. Pichler, R., T. Hussain., W. Xu., A. Aftab., M. E. Babar., A. K. Thiruvenkadan and K. Periasamy. 2017. Short tandem repeat (STR) based genetic diversity and relationship of domestic sheep breeds with primitive wild Punjab Urial sheep (*Ovis vignei punjabiensis*). *Small Ruminant Research* 148: 11-21.
32. Piry, S., G. Luikart and J. M. Cornuet. 1999. BOTTLENECK: a program for detecting recent effective population size reductions from allele data frequencies. *Journal of Heredity* 90(4): 502-503.
33. Pritchard, J. K., M. Stephens and P. Donnelly. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155: 945–959.
34. Raymond, M and F. Rousset. 1995. An exact test for population differentiation. *Evolution* 49: 1283-1286.
35. Rezaei, H. R., S. Naderi., L. C. Chintauan-Marquier., P. Taberlet., A. T. Virk., H.R. Naghash and F. Pompanon. 2010. Evolution and taxonomy of the wild species of the genus *Ovis* (Mammalia, Artiodactyla, Bovidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 54: 315-326.
36. Rice, W. R. 1989. Analyzing tables of statistical tests. *Evolution* 43: 223–225.
37. Rutledge L.Y., J. J. Holloway., B. R. Patterson and B. N. White. 2009. An improved field method to obtain DNA for individual identification from wolf scat. *Journal of Wildlife Management* 73: 1430–1435.
38. Rabiei, F., R. Abdoli, F. Rafeie, and N. Ghavi Hossein-Zadeh. 2022. Genetic similarities and phylogenetic analysis of wild and domesticated species of sheep based on mitochondrial genome. *Animal Production Research* 11: 1-13. (In Persian).
39. Sachdeva, H., O. Olusanya and N. Barton. 2022. Genetic load and extinction in peripheral populations: the roles of migration, drift and demographic stochasticity. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* 377(1846): 20210010.
40. Santini, A., V. Lucchini., E. Fabbri and E. Randi. 2007. Ageing and environmental factors affect PCR success in wolf (*Canis lupus*) excremental DNA samples. *Molecular Ecology Resources* 7: 955–961.
41. Stenglein J. L., M. De Barba., D. E. Ausband and L. P. Waits. 2010. Impacts of sampling location within a faeces on DNA quality in two carnivore species. *Molecular Ecology Resources* 10: 109–114.
42. Taberlet, P., L. P. Waits and G. Luikart. 1999. Noninvasive genetic sampling: look before you leap. *Trends in Ecology & Evolution* 14(8): 323-327.
43. Tapio, M. 2006. Sheep mitochondrial DNA variation in European, Caucasian, and Central Asian areas. *Molecular Biology and Evolution* 23: 1776-1783.
44. Thirstrup, J. P., C. Pertoldi and V. Loeschcke. 2008. Genetic analysis, breed assignment and conservation priorities of three native Danish horse breeds. *Animal Genetics* 39: 496- 505.
45. Van Oosterhout, C., W. F. Hutchinson., D. P. M. Wills and P. Shipley. 2004. MICROCHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Research* 4: 535–538.
46. Walker, F. M., P, Sunnucks and A. C. Taylor. 2008. Evidence for habitat fragmentation altering within-population processes in wombats. *Molecular Ecology* 17: 1674–1684.
47. Zhao, Y., E. Zhao., N. Zhang and C. Duan. 2011. Mitochondrial DNA diversity origin and phylogenic relationships of three Chinese large-fat-tailed sheep breeds. *Tropical Animal Health and Production* 43: 1405-1411.
48. Zamani, V., M. Asadi Aghbolaghi, S. Naderi, and H. R. Rezaei. 2021. Investigation of genetic diversity and genetic resources of mouflon (*Ovis orientalis*) and its domestic breeds (*Ovis aries*) in the north-west of Iran based on whole genome sequences and BeadChip Ovine SNP 50K, *Journal of Animal Environment* 13: 19-26 . (In Persian).

Genetic Variation and Population Structure of Wild Sheep in Bamou National Park in Fars Province Using Microsatellite Markers

D. Mahmoudi[1], R. Khosravi[2*], M. Kaboli[3] and R. Adavoudi[4]

(Received: May 23-2024; Accepted: June 20-2024)

Abstract

Non-invasive sampling methods, such as scat sampling, have facilitated genetic studies for conservation genetics researchers, however, the quality and quantity of extracted DNA have always been the main issues with these methods. In the current study, the genetic variation and population structure of wild sheep (*Ovis gmelini*) in Bamou National Park (Fars, Iran) were evaluated using the swabbing technique and eight microsatellites. The sampling method used showed high efficiency in genotyping individuals and can be considered for use with other species. Expected and observed heterozygosity ranged from 0.502 to 0.943 and 0.950 to 1.00, respectively, and the mean allele richness was 8.87, indicating considerable genetic variation in the population. In addition, inbreeding coefficient across all loci was 0.052. There was no evidence of a bottleneck in the population in the recent past. Despite the high level of genetic variation, the lack of gene flow between populations, and global threats such as climate change, highlight the necessity of implementing reintroduction programs to maintain the evolutionary potential of the species.

Keywords: Inbreeding, Bottleneck, Swab sampling, Non-invasive sampling.

1. MSc Student, Department of Natural Resources and Environmental Engineering, School of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran.
2. Associate Professor, Department of Natural Resources and Environmental Engineering, School of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran.
3. Professor, Department of Environmental Sciences, Faculty of Natural Resources, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Alborz, Iran.
4. PhD Student, Faculty of Biology, University of Gdansk, Gdansk, Poland

*: Corresponding Author, Email: r-khosravi@shirazu.ac.ir