

پتانسیل جمعیت‌های تحت اسارت به عنوان جمعیت بنیان‌گذار در برنامه‌های معرفی مجدد؛ مطالعه موردی: گوسپند وحشی در مرکز تکثیر در اسارت میانکتل رسول خسروی^{۱*}، دل‌آرا محمودی^۲، محمد کابلی^۳ و لیلا جولایی^۴

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۱/۰۱؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۲/۱۵)

چکیده

اگرچه برنامه‌های تکثیر و حفاظت در محیط‌های تحت اسارت بسیاری از گونه‌ها را از انقراض نجات داده‌است، اما نزدیک به یک سوم از برنامه‌های معرفی مجدد به دلایل ژنتیکی موفق نبوده‌اند. از این‌رو، مسائل ژنتیک حفاظت اولویت کلیدی در موفقیت چنین برنامه‌هایی دارد. در پژوهش حاضر تنوع و ساختار ژنتیکی، درون‌آمیزی، و روابط خویشاوندی بین افراد در گوسپند وحشی (*Ovis gmelini*) در مرکز تکثیر در اسارت میانکتل (استان فارس) با استفاده از ۲۰ نمونه خون و هشت جفت نشانگر ریزماهواره ارزیابی گردید. ساختار ژنتیکی و روابط خویشاوندی بین افراد با استفاده از نرم‌افزارهای STRUCTURE و Colony بررسی شد. میانگین غنای آلی و درون‌آمیزی در جمعیت به ترتیب ۱۰/۵ و ۰/۱- به دست آمد. ساختار ژنتیکی متمایزی در جمعیت مورد مطالعه مشاهده نشد. بین برخی افراد روابط خواهر-برادری، برادری و خواهری مشاهده شد که می‌تواند نگرانی در خصوص درون‌آمیزی را در آینده افزایش دهد. نتایج نشان داد اگرچه جمعیت مورد مطالعه در حال حاضر از تنوع ژنتیکی به نسبت مناسبی برخوردار بوده، اما چنانچه هدف رهاسازی در طبیعت باشد، ضروری است اقداماتی در راستای نجات ژنتیکی جمعیت از طریق افزایش تنوع ژنتیکی با افزودن افراد جدید به جمعیت و یا در نظر گرفتن فاصله ژنتیکی بین جمعیت مبدا و مقصد صورت گیرد.

واژه‌های کلیدی: پتانسیل سازشی، تکثیر در اسارت، تنوع ژنتیکی، درون‌آمیزی، ریز ماهواره، گوسپند وحشی.

۱- دانشیار بخش مهندسی منابع طبیعی و محیط زیست، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

۲- دانشجوی کارشناسی ارشد، 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

۴- کارشناس اداره حفاظت و مدیریت حیات وحش، اداره کل حفاظت محیط زیست فارس

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

۱- مقدمه

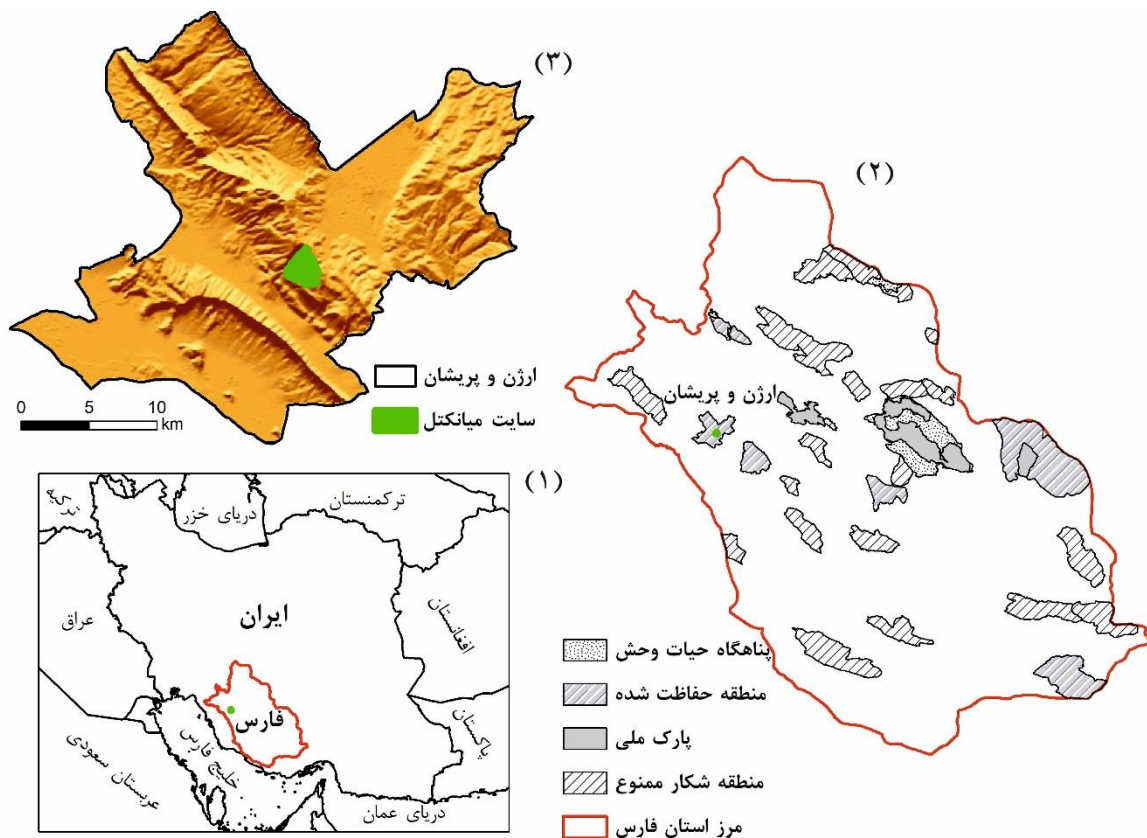
یکی از نگرانی‌های مهم در خصوص حفاظت بلندمدت از تنوع زیستی، کاهش تنوع ژنتیکی جمعیت‌های باقی‌مانده گونه‌های جانوری در نتیجه تغییرات کاربری اراضی، تخریب و چندپارگی زیستگاه و بهره‌برداری بیش از حد از منابع است (۱۱ و ۱۹). تهدیدات اشاره‌شده منجر به کاهش جمعیت و انزوای جمعیت‌های باقی‌مانده شده‌است. منزوی شدن جمعیت‌ها در نتیجه چندپارگی زیستگاه می‌تواند اثرات منفی بسیاری همچون کاهش جریان ژنی، افزایش احتمال درون‌آمیزی و رانش ژنتیکی و در نتیجه کاهش پتانسیل سازشی گونه‌ها داشته‌باشد (۱، ۲۷ و ۴۲). بنابراین، در چنین شرایطی حفاظت از جمعیت‌های بزرگ و برقراری جریان ژنی نقش مهمی در حفظ ذخیره ژنی گونه‌ها دارد. در کنار برنامه‌های حفاظت از گونه‌ها در زیستگاه‌های طبیعی، برنامه‌های حفاظت در خارج از زیستگاه و محیط‌های تحت اسارت نیز می‌تواند مکملی برای برنامه‌های حفاظت در زیستگاه‌های طبیعی باشد. از این رو، استراتژی‌های تکثیر در اسارت به‌شکلی کارآمد و ماهرانه برای محافظت از گونه‌ها در برابر کاهش جمعیت و انقراض ضروری است (۴۰). تکثیر و پرورش در اسارت به ابزار اصلی حفاظت از گونه‌های به‌شدت در معرض خطر انقراض و بازسازی جمعیت‌های در حال کاهش در طبیعت تبدیل شده‌است (۱۸ و ۱۹). هدف اصلی این برنامه‌ها ایجاد جمعیتی از نظر شرایط جمعیت شناختی امن و از نظر ژنتیکی سالم است که پس از رهاسازی، در طبیعت توانایی بقا داشته‌باشند (۶ و ۱۵).

مدیریت ژنتیکی جمعیت‌های تحت اسارت نیازمند حفظ و یا افزایش تنوع ژنی جمعیت بنیان‌گذار است (۶). اگرچه نمونه‌های بسیاری در خصوص موفقیت برنامه‌های تکثیر در اسارت در حفظ تنوع ژنتیکی و بازگشت گونه‌ها به زیستگاه‌های طبیعی وجود دارد (۹، ۳۴ و ۵۲)، شواهدی نیز مبنی بر عملکرد پایین‌تر حیوانات تکثیر یافته در اسارت پس از بازگشت به طبیعت وجود دارد (۳ و ۱۸). عواملی همچون درون‌آمیزی در جمعیت بنیان‌گذار، کاهش اثرات انتخاب طبیعی در شرایط اسارت، تجمع جهش‌های

مضر و سازگاری با شرایط اسارت می‌تواند در کاهش عملکرد مؤثر باشند (۱۸ و ۴۳). از این رو، بررسی مسائل ژنتیک در جمعیت‌های تحت اسارت، یکی از پارامترهای کلیدی در نجات ژنتیکی جمعیت‌های باقیمانده در طبیعت است. حفاظت و جلوگیری از کاهش تنوع ژنتیکی جمعیت‌های تحت اسارت، با توجه به ارتباط مستقیم تنوع ژنتیکی با پتانسیل تکاملی و زیست‌مندی جمعیت‌های وحشی، یکی از اهداف اساسی متخصصین ژنتیک حفاظت برای حفظ توانایی تکاملی جمعیت‌های تحت اسارت به‌منظور افزایش توانایی تکاملی گونه‌ها در مقابل تهدیدات انسانی و یا طبیعی پیش‌رو است (۲۵ و ۴۶).

در میان گونه‌های مورد مطالعه، گوسپند وحشی از خانواده Bovidae و جنس *Ovis* پراکنش وسیعی در نیمکره شمالی از آمریکا و کانادا تا مناطق وسیعی از آسیا و بخش‌هایی از اروپا دارد (۳۳). طبق آخرین رده‌بندی، گوسپندان وحشی در شش گونه تقسیم‌بندی می‌شوند که دو گونه اورپال (*O. vignei*) و ارمنی (*O. gmelini*) در ایران پراکنش دارند (۳۸). در طی سال‌های اخیر مطالعات مختلفی در زمینه تنوع ژنتیکی گوسپند وحشی در کشور انجام شده‌است (به‌طور مثال ۱۳، ۲۲، ۳۹ و ۵۳). در خصوص جمعیت‌های تحت اسارت گوسپند وحشی نیز می‌توان به مطالعه انجام شده در مرکز تکثیر در اسارت چادگان اشاره نمود (۲۶). اغلب مطالعات انجام شده متمرکز بر روابط فیلوژنتیک بین گونه‌ها، زیرگونه‌ها و یا جمعیت‌ها بر اساس نشانگرهای میتوکندری بوده و در مطالعات اندکی به ارزیابی تنوع ژنتیکی با استفاده از نشانگرهای هسته پرداخته شده‌است (به‌طور مثال منبع شماره ۲۴). از این رو، بررسی تنوع ژنتیکی و الگوهای پراکنش آن در جمعیت‌های باقیمانده این گونه در کشور به‌خصوص جمعیت‌های تحت اسارت ضروری است.

از سال ۱۴۰۰، ناحیه حصار کشی شده میانکتل واقع در منطقه حفاظت شده ارژن و پریشان میزبان جمعیتی از گوسپند وحشی بوده است. با توجه به اینکه هدف اصلی از انتقال جمعیت به این مرکز، معرفی مجدد این گونه در منطقه حفاظت شده ارژن و



شکل ۱. موقعیت جغرافیایی مرکز تکثیر در اسارت میانکتل در محدوده کشور (۱)، استان فارس (۲) و منطقه حفاظت شده ارژن و پریشان (۳)

وسعت ۱۹۱ هزار هکتار به‌عنوان پارک ملی انتخاب و در سال ۱۳۵۳ با کاهش وسعت به ۶۵ هزار هکتار به‌عنوان منطقه حفاظت شده و از طرف سازمان ملل به‌عنوان ذخیره‌گاه زیست‌کره ارژن و پریشان معرفی گردید. منطقه حفاظت شده ارژن و پریشان از لحاظ تنوع زیستی پستانداران مهمی از جمله گونه در خطر انقراض گوزن زرد ایرانی (*Dama mesopotamica*)، پلنگ ایرانی (*Panthera pardus*)، خرس قهوه‌ای (*Ursus arctos*)، گرگ (*Canis lupus*) و کفتار (*Hyaena hyaena*) را در خود جای داده است. ناحیه حصارکشی میانکتل در محدوده امن منطقه حفاظت شده ارژن قرار گرفته است. تیپ غالب پوشش گیاهی این ناحیه بلوط ایرانی، بنه و کیالک است. فنس‌کشی سایت میانکتل به‌منظور بهبود جمعیت گوزن زرد ایرانی در این منطقه انجام گرفت که در این سال‌ها همواره جمعیتی از این گونه ارزشمند در این محدوده نگهداری می‌شود (شکل ۱).

پریشان است، از این‌رو، بررسی سطح تنوع و ساختار ژنتیکی و دیگر شاخص‌های مهم که نشان دهنده سلامت ژنتیکی جمعیت مورد مطالعه باشد، ضروری است. بنابراین، مطالعه حاضر با هدف تعیین تنوع ژنتیکی، ساختار و درون‌آمیزی در جمعیت معرفی شده با استفاده از نشانگرهای مولکولی ریز ماهواره انجام گرفت. نتایج پژوهش حاضر می‌تواند در مدیریت ژنتیکی این جمعیت با هدف بقاء بلند مدت گونه در زیستگاه‌های طبیعی پس از رهاسازی مؤثر باشد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- منطقه مطالعاتی و نمونه‌برداری

منطقه حفاظت شده ارژن و پریشان در طول جغرافیایی $42^{\circ} 51'$ تا $06^{\circ} 52'$ و عرض جغرافیایی $26^{\circ} 29'$ تا $44^{\circ} 29'$ در منتهی‌الیه جنوب شرقی زاگرس قرار دارد. این منطقه در سال ۱۳۵۱ با

جدول ۱. توالی آغازگرهای ریز ماهواره استفاده شده به منظور تکثیر قطعات دی‌ان‌ای هسته و گروه‌بندی آغازگرها

گروه	دامنه اندازه آلل‌ها	توالی	عنوان
۱	۸۴-۱۱۶	CAGTCGGGCGTCATCATTGCGAAAGTTGGACACAATTGAGC	MaF36 -F
		GTTTCATATACCTGGGAGGAATGCATTACG	MaF36 -R
۱	۱۵۴-۱۹۱	CAGTCGGGCGTCATCACCCCTAGGAGCTTCAATAAAGAATCGG	OarFCB304 -F
		GTTTCGCTGCTGTCAACTGGGTCAGGG	OarFCB304 -R
۱	۲۵۶-۲۹۴	CAGTCGGGCGTCATCAGCTTGCTACATGGAAAGTGC	ILSTS11-F
		GTTTCTAAAATGCAGAGCCCTACC	ILSTS11-R
۲	۹۶-۱۳۲	CAGTCGGGCGTCATCAATTAAGCATCTTCTTTATTTCCTCGC	OarFCB128-F
		GTTTCAGCTGAGCAACTAAGACATACATGCG	OarFCB128-R
۲	۱۵۸-۱۷۴	CAGTCGGGCGTCATCAGTCCATTGCCTCAAATCAATTC	McM527-F
		GTTTAAACCACTTGACTACTCCCAA	McM527-R
۲	۱۸۶-۲۲۸	CAGTCGGGCGTCATCAGGGTGATCTTAGGGAGGTTTGGAGG	MAF214-F
		GTTTAATGCAGGAGATCTGAGGCAGGGACG	MAF214-R
۳	۹۵-۱۲۰	CAGTCGGGCGTCATCAAAATGTGTTAAGATTCCATACAGTG	OarFCB20-F
		GTTTGGAAAACCCCATATATACCTATAC	OarFCB20-R
۳	۱۲۱-۱۵۲	CAGTCGGGCGTCATCATTTATTGACAACTCTCTCCTAACTCCACC	OarHH47-F
		GTTTGTAGTTATTTAAAAAATATCATACCTCTTAAGG	OarHH47-R

قراحت قطعات تکثیر شده در دستگاه توالی‌یاب، از قطعات نوکلئوتیدی فلورنس شده TAMRA، FAM و HEX استفاده شد. واکنش زنجیره‌ای پلیمرز برای همه جایگاه‌ها در دمای ۵۶، ۵۸ و ۶۰ درجه سلسیوس انجام شد. برنامه دمایی شامل دمای ۹۵ درجه سلسیوس به مدت ۵ دقیقه، ۳۵ چرخه شامل دمای ۹۴ درجه به مدت ۴۰ ثانیه، دمای اتصال گرادیان به مدت ۳۰ ثانیه و دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ ثانیه اجرا شد. در مرحله بعد، واکنش زنجیره‌ای پلیمرز دو مرحله‌ای و تک مرحله‌ای اجرا و بهترین نتیجه عملکرد انتخاب شد. در واکنش زنجیره‌ای پلیمرز دو مرحله‌ای ابتدا تکثیر در حضور آغازگرهای رفت و برگشت بدون حضور پروب فلورسنت اجرا شد. سپس محصول به دست آمده رقیق‌سازی و برای واکنش زنجیره‌ای پلیمرز مرحله دوم در حضور پرایمر برگشت و پروب فلورسنت اجرا شد. در واکنش زنجیره‌ای پلیمرز یک مرحله‌ای پرایمر رفت، برگشت و پروب فلورسنت حضور داشتند. واکنش زنجیره‌ای پلیمرز یک مرحله‌ای در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر اجرا شد. برنامه دمایی شامل دمای ۹۵ درجه سلسیوس به مدت ۵ دقیقه، ۳۵ چرخه شامل دمای ۹۴ درجه به مدت ۴۰ ثانیه، دمای اتصال ۵۸ درجه به مدت ۳۰ ثانیه و دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ ثانیه استفاده شد. خوانش

زنده‌گیری و نمونه برداری از خون یکی از روش‌های تهیه نمونه‌های ژنتیک از حیات‌وحش است. به منظور نمونه‌برداری ژنتیکی از گوسپند وحشی در مرکز تکثیر در اسارت میانکتل، در سال ۱۴۰۲، طی دو مرحله و در بازه زمانی دو ماه اقدام به زنده‌گیری تعدادی از افراد جمعیت با استفاده از تورهای زنده‌گیری گردید. از اینرو، با حضور دامپزشک مجرب، کارشناسان اداره و پرسنل سایت نمونه برداری از افراد انجام شد. در طی این عملیات مجموعاً ۲۰ رأس گوسپند وحشی از جمعیت موجود نمونه برداری شد.

۲-۲- استخراج دی‌ان‌ای و انتخاب نشانگرهای ریز ماهواره

به منظور تعیین وضعیت ژنتیکی جمعیت، از آغازگرهایی استفاده شد که در مطالعات پیشین توانایی تکثیر قطعات مورد نظر برای گونه‌های مختلف گوسپند وحشی را نشان داده باشند (۲ و ۲۴). تعداد هشت جفت آغازگر ریز ماهواره انتخاب و کار تکثیر قطعات مورد نظر از دی‌ان‌ای هسته با استفاده از این آغازگرها و واکنش زنجیره‌ای پلیمرز چندگانه انجام شد (جدول ۱). با انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمرز تحت شرایط دمایی مختلف و ترکیبات متعدد، شرایط بهینه برای تکثیر هر آغازگر تعیین شد. به منظور

هرچه به سمت $+0/5$ نزدیک‌تر باشد، نشان از روابط خویشاوندی نزدیک بین افراد است. علاوه بر این، تحلیل‌های والدینی و احتمال اینکه افراد نمونه‌برداری شده از والدین یکسانی به دنیا آمده باشند نیز با استفاده از نرم‌افزار COLONY v2.0.7.1 ارزیابی گردید (۴۸). این نرم‌افزار، توانایی شناسایی والد-فرزند، خواهر-برادر تنی (منظور فرزندان که از پدر و مادر مشترک به دنیا آمده‌اند) و خواهر-برادر ناتنی (منظور فرزندان که از پدر یا مادر متفاوت به دنیا آمده‌اند) را در میان افراد نمونه‌گیری شده دارد. علاوه بر این، با استفاده از این نرم‌افزار استنباط والدین نمونه‌گیری نشده نیز امکان‌پذیر است. بنابراین، این نرم‌افزار می‌تواند والدین مشترک گروه‌های خواهر و برادر ناتنی را شناسایی و به این ترتیب شکاف‌های ناشی از نمونه‌گیری ناقص را پر کند. از آنجا که COLONY روابط خویشاوندی را بر اساس الگوهای آللی مشترک در جایگاه‌های فردی شناسایی می‌کند، می‌تواند به‌طور دقیق بین زوج‌های والد-فرزند و خواهر-برادر تمایز قائل شود. علاوه بر این، این نرم‌افزار می‌تواند جهت روابط والدین فرزندان را بدون اطلاعات سنی با در نظر گرفتن تمام روابط خویشاوندی استنباط‌شده هر فرد تعیین کند. تجزیه و تحلیل COLONY با استفاده از روش درستی‌نمایی کامل (Full-likelihood method) انجام شد. با توجه به اینکه در فرایند نمونه‌برداری در مطالعه حاضر، اطلاعات مربوط به سن و جنسیت افراد ثبت گردید، از این‌رو، فهرست افراد نابالغ برای انجام این تحلیل در فرایند نمونه‌برداری تهیه شد. فهرست مادران و پدران بالقوه نیز شامل افراد بالغ بود. با توجه به رفتارهای تولیدمثلی در گوسپند وحشی، از گزینه چند همسری برای نرها استفاده شد. همچنین اجازه وقوع درون‌آمیزی نیز به نرم‌افزار داده شد (۴ و ۲۳). خروجی این نرم‌افزار به‌صورت رسم شجره‌نامه افراد در نرم‌افزار فتوشاپ تهیه شد.

به‌منظور بررسی ساختار ژنتیکی احتمالی، از روش گروه‌بندی بیزین (مدل پرچارد) در نرم‌افزار STRUCTURE v.2.3.4 و مدل ترکیبی یا اختلاطی و فراوانی آللی مرتبط (Correlated Allele Frequencies) استفاده شد. در این روش فرض بر این

قطعات تکثیر شده با استفاده از دستگاه Sequencer ABI 3500 و در حضور نشانگر وزن مولکولی GenescanLiz500 با رنگ استاندارد Liz انجام شد. از نرم‌افزار Geneious v9.1.8 جهت تعیین ژنوتیپ استفاده شد.

۲-۳- تحلیل‌های ژنتیکی

فراوانی آلل‌های نول با استفاده از روش الگوریتم حداکثر انتظار (۱۴) برای هر لوکوس در نرم‌افزار FreeNA محاسبه شد (۱۲). خطای شمارش ناشی از تغییر در اندازه آلل‌ها برای هر لوکوس با استفاده از نرم‌افزار MICRO-CHECKER v2.2.3 محاسبه شد (۴۷). بررسی تعادل هاردی-واینبرگ بر اساس هر لوکوس و فرضیه کاهش هتروزیگوسیتی با استفاده از نرم‌افزار GENEPOP v4.4.3 انجام گرفت (۳۷). ترکیب تصادفی گامت‌ها و تعادل اتصالی در لوکوس‌ها پس از اعمال شاخص تصحیح بونفرونی (۴۱) محاسبه شد. تعداد آلل‌ها در هر لوکوس، هتروزیگوسیتی مورد انتظار (Expected Heterozygosity; H_E)، هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده (Observed Heterozygosity; H_O) و غنای آللی (Allelic richness; A_r) با استفاده از نرم‌افزار FSTAT v2.9.3.2 محاسبه شد (۲۱). میزان درون‌آمیزی برای هر لوکوس با استفاده از روش وایر و کوکرام و همچنین یک تخمین کلی از این شاخص بر اساس تمامی لوکوس‌ها در نرم‌افزار GENEPOP محاسبه گردید.

ارزیابی روابط خویشاوندی در جمعیت‌های تحت اسارت و ترسیم شجره‌نامه افراد اهمیت بسیاری در برنامه‌ریزی‌های آتی به‌منظور کاهش مخاطرات ژنتیکی دارد. از این‌رو، روابط خویشاوندی (روابط خواهر-برادر و یا والد-فرزند) بین افراد با استفاده از شاخص روابط خویشاوندی (Relatedness; r) بین هر جفت از افراد بررسی گردید. با احتساب ۲۰ نمونه جمع‌آوری‌شده، مجموعاً ۱۹۰ جفت مقایسه انجام شد. میانگین این شاخص بر اساس فراوانی آللی در جمعیت با استفاده از روش Ritland and Lynch, (1999) در نرم‌افزار GenALEX v6.501 محاسبه شد (۳۲). این شاخص بین $-0/5$ تا $+0/5$ متغیر بوده و

آمد و تنها در یک جفت از نمونه‌ها، شاخص بالاتر از ۰/۲۵ به‌دست آمد که نشان‌می‌دهد که نسبتی از افراد در جمعیت روابط خویشاوندی نزدیکی با یکدیگر دارند.

در شکل ۲، نتایج آزمون تحلیل والدینی بین نمونه‌های بررسی شده در قالب شجره‌نامه نشان داده شده‌است. همان طور که در این شکل مشخص است، نمونه‌های بررسی شده در شش گروه تقسیم‌بندی شده‌است که در هیچ‌یک از گروه‌ها نشانه‌ای از حضور والدین افراد نمونه‌برداری شده مشاهده نشد که این موضوع نشان می‌دهد که به احتمال زیاد از والدین ۲۰ فرد بررسی شده نمونه-برداری صورت نگرفته‌است. بیشترین تعداد افراد نمونه‌برداری شده به گروه‌های ۲، ۴ و ۶ تعلق داشتند. در این سه گروه، مجموعاً ۱۰ فرد در قالب روابط خواهر-برادر، برادری و یا خواهری تنی شناسایی شد. این موضوع می‌تواند احتمال درون‌آمیزی در جمعیت را در نسل‌های آتی افزایش دهد. نر شماره ۲ در گروه ۲ بالاترین نرخ چندهمسری را نشان داد که بیشترین تعداد فرزندان متعلق به این فرد است.

نتایج گروه‌بندی ساختار ژنتیکی نمونه‌های گوسپند وحشی با استفاده از مدل پریچارد نشان داد که نمونه‌ها یک جمعیت را از نظر ژنتیکی تشکیل می‌دهند و هیچ ساختار ژنتیکی متمایزی در جمعیت مشاهده نمی‌شود.

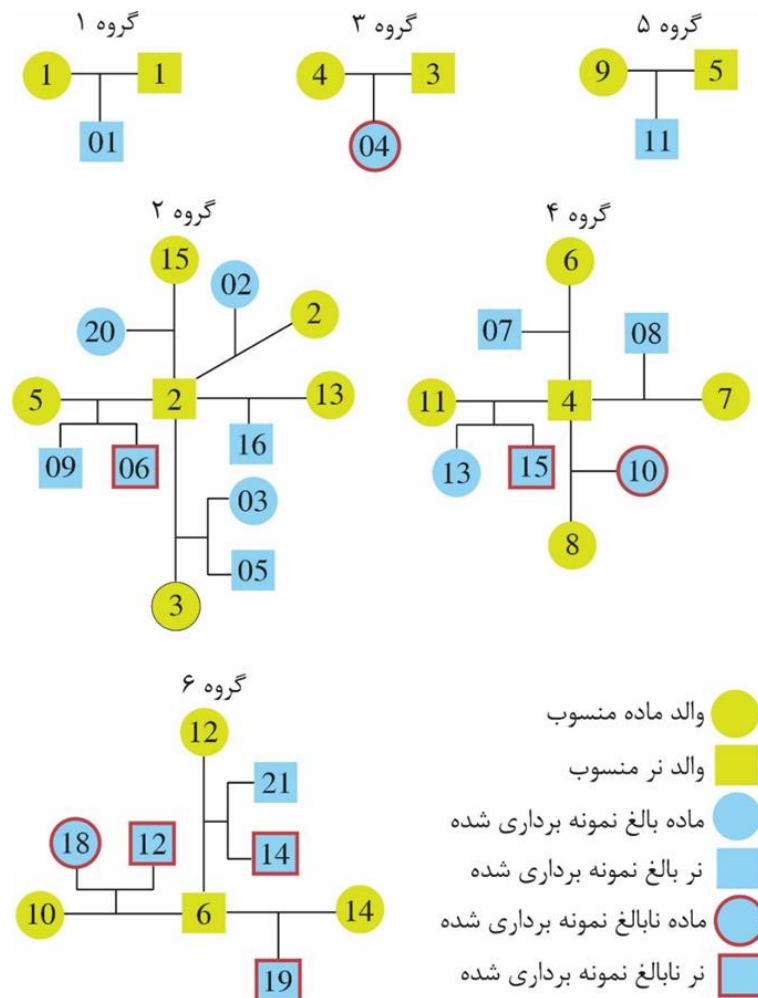
۴- بحث و نتیجه‌گیری

۴-۱- تنوع ژنتیکی گوسپند وحشی در سایت تکثیر در اسارت میانکتل
جمعیت بنیان‌گذار گوسپند وحشی در مرکز تکثیر در اسارت میانکتل، متشکل از ۲۰ رأس (۱۱ رأس میش و ۹ رأس قوچ) است. بر اساس سرشماری صورت گرفته در سال ۱۴۰۲ تعداد ۴۵ رأس قوچ و میش در این مرکز سرشماری شده‌است که در محدوده فنس‌کشی شده در سایت مذکور نگهداری می‌شود. همان طور که اشاره گردید، بر خلاف فرض اولیه مبنی بر پایین بودن تنوع ژنتیکی جمعیت منتقل شده، تنوع ژنتیکی به نسبت مناسبی در جمعیت مشاهده گردید. مقایسه تنوع به‌دست آمده با مطالعه

است که هیچ‌گونه اطلاعاتی از پیش در رابطه با تعداد جمعیت نمونه‌ها وجود ندارد ($USEPOPINFO = 0$). 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 ۱۰۰۰۰۰ بار شبیه‌سازی زنجیره مارکو انجام شد. ارزیابی محتمل‌ترین تعداد جمعیت با استفاده از محاسبه میانگین $\ln P(D)$ صورت گرفت (۳۶). از آن جا که مدل پریچارد برای هر بار اجرا، میزان احتمال بیشینه داده‌ها ($\ln P(D)$) را محاسبه می‌کند، لذا 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.

۳- نتایج

در هیچ یک از لوکوس‌های بررسی شده عدم شناسایی یکی از آلل‌های فرد هتروزیگوت به دلیل غلظت پایین دی‌ان‌ای و همچنین شناسایی آلل‌های اشتباه در نتیجه نقص واکنش زنجیره‌ای پلیمرز و اشتباه دی‌ان‌ای پلیمرز در حین تکثیر مشاهده نشد. در همه لوکوس‌ها نرخ آلل‌های نول ناچیز و نزدیک به صفر بود. نتایج بررسی تبعیت لوکوس‌ها از تعادل هاردی-واینبرگ نشان داد که فرضیه کاهش هتروزیگوسیتی در تمامی لوکوس‌ها معنی‌دار نبود. با در نظر گرفتن شاخص تصحیح بونفرونی، در دو مورد از ۲۸ جفت مقایسه انجام شده عدم تعادل اتصالی مشاهده شد ($P > 0.05$). تمامی لوکوس‌های مطالعه شده چند ریختی نشان دادند و تعداد آلل‌ها بین ۷ تا ۱۷ آلل متغیر بوده و میانگین غنای آللی ۱۰/۵ به‌دست آمد. میزان درون‌آمیزی بر اساس روش وایر و کوکرهام ۰/۱۰- محاسبه شد. میانگین شاخص خویشاوندی (r) بین تمامی ترکیبات جفتی افراد نمونه‌برداری شده $\pm 0/61$ بود. به‌دست آمد. هیچ‌کدام از جفت‌ها شاخص کمتر از ۰/۲۵- نشان ندادند. همچنین شاخص روابط خویشاوندی بین ۱۸۹ جفت از افراد نمونه‌برداری شده بین ۰/۲۵- تا ۰/۲۵ به‌دست



شکل ۲. بررسی روابط خویشاوندی بین افراد با استفاده از نرم‌افزار COLONY. اعداد داخل دایره‌ها و مربع‌های سبز رنگ نشان‌دهنده شماره افراد نمونه‌برداری شده است. اعداد دایره و مربع‌های آبی نیز شماره والدین منسوب را نشان می‌دهد که در بین افراد نمونه‌برداری شده حضور ندارند.

انجام شده در پارک ملی بمو با استفاده از مجموعه ریزماهوره‌های مشابه (۲۸) نشان می‌دهد که در جمعیت پارک ملی بمو در مقایسه با جمعیت منتقل شده به میانکتل تنوع بالاتری مشاهده می‌شود که این موضوع می‌تواند به اندازه جمعیت این گونه در پارک ملی بمو نسبت داده شود. همان‌طور که اشاره گردید، تاکنون مطالعات اندکی در خصوص بررسی تنوع ژنتیکی گوسپند وحشی با استفاده از نشانگرهای ریز ماهوره در کشور انجام شده است. به‌طور مثال، مطالعه انجام شده در خصوص گوسپند وحشی شمال غرب کشور با استفاده از ۱۰ نشانگر ریزماهوره نشان داد که میانگین تعداد آلل‌ها در هر لوکوس ۶/۱ و میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار به ترتیب ۰/۵۸ و ۰/۷۸

محاسبه شد که در مقایسه با مطالعه حاضر کمتر بوده است (۲۴). تنوع ژنتیکی در یک جمعیت می‌تواند تحت تأثیر مجموعه‌ای از فاکتورهای جمعیت‌شناختی پیچیده همچون تغییرات اندازه جمعیت، ساختار ژنی و مهاجرت باشد (۷). تنوع مناسب در جمعیت منشأ یعنی پارک ملی بمو و تقویت ژنتیکی جمعیت قبل از انتقال به این مرکز از طریق معرفی افراد جدید به جمعیت می‌تواند از دلایل تنوع ژنتیکی مشاهده شده در سایت میانکتل باشد. ارتباط مستقیم بین اندازه جمعیت بنیان‌گذار با سطح تنوع ژنتیکی در یک جمعیت تحت اسارت در بسیاری از مطالعات دیگر نشان داده شده است (۱۶).

۴-۲- نرخ درون آمیزی در جمعیت‌های گوسپند وحشی مرکز تکثیر در اسارت میانکتل

علی‌رغم اینکه در جمعیت میانکتل به دلیل جمعیت بنیان‌گذار کوچک، انتظار می‌رفت که میزان درون‌آمیزی بالایی مشاهده گردد، شاخص درون‌آمیزی در این جمعیت اندک بود. پایین بودن نرخ درون‌آمیزی در جمعیت منتقل شده به مرکز تکثیر در اسارت میانکتل را می‌توان به انجام اقداماتی در راستای کاهش احتمال جفتگیری خویشاوندان با یکدیگر و بالا بودن اندازه جمعیت گوسپند وحشی در جمعیت منشأ در محدوده‌های تحت اسارت نسبت داد. پایین بودن نرخ درون‌آمیزی در جمعیت مورد مطالعه می‌تواند به دلایل دیگری همچون عدم گذشت مدت زمان لازم برای بروز اثرات درون‌آمیزی باشد. در جمعیت‌های طبیعی در مقایسه با جمعیت‌های تحت اسارت، فشار انتخاب طبیعی علیه درون‌آمیزی بیشتر است که این موضوع احتمال درون‌آمیزی را کاهش می‌دهد. با توجه به اینکه در محیط‌های تحت اسارت حیوان با شرایط استرس‌زای کمتری روبه‌رو است، از اینرو فشار انتخاب طبیعی بر جمعیت کمتر می‌باشد که این موضوع فشار انتخاب طبیعی علیه حذف افراد حاصل از جفتگیری خویشاوندان را کاهش می‌دهد. همچنین، بروز تأثیرات درون‌آمیزی در جمعیت نیاز به گذشت زمان بیشتر دارد. بنابراین، شناسایی اثرات درون-آمیزی در جمعیت انتقال یافته به میانکتل مستلزم گذر زمان است. آن‌چیزی که نگرانی در خصوص این جمعیت را افزایش می‌دهد، وجود روابط خویشاوندی بین افراد منتقل شده است. همان‌طور که نتایج ترسیم شجره‌نامه افراد نشان داد، در بین افراد نمونه‌برداری شده، نمونه‌های به نسبت زیادی روابط خواهر-برادری، خواهری و برادری تنی نشان دادند که این موضوع می‌تواند زنگ خطری برای افزایش نرخ درون‌آمیزی در آینده باشد. از سوی دیگر، با توجه به کوچک بودن اندازه جمعیت و همچنین رفتار چندهمسری نرها، احتمال جفتگیری بین نرها با فرزندان افزایش می‌یابد.

جمعیت‌های تحت اسارت معمولاً از افراد بنیان‌گذار اندکی ایجاد می‌شوند که این موضوع می‌تواند حفاظت از تنوع ژنتیکی

بلند مدت آن‌ها را با چالش بسیاری همراه کند. یکی از مهمترین چالش‌های پیش روی جمعیت‌های تحت اسارت وقوع درون‌آمیزی است که می‌تواند منجر به بروز آل‌های مخرب، تثبیت آل‌های مخرب و کاهش تنوع ژنتیکی و در نتیجه کاهش برآزش تولیدمثلی افراد شود. از سوی دیگر، اثرات فشار درون‌آمیزی لزوماً به صورت ظاهری نیست. به این معنی که در برخی از موارد درون‌آمیزی در یک جمعیت می‌تواند اثراتی همچون کاهش کیفیت اسپرم را در گونه مورد نظر به همراه داشته‌باشد (۱۰). با توجه به موارد اشاره‌شده، اجرای اقدامات پیشگیرانه در خصوص کاهش نرخ درون‌آمیزی در جمعیت منتقل شده به مرکز تکثیر در اسارت میان کل ضروری است. یکی از راه‌های کاهش فشار درون‌آمیزی، آمیزش جمعیت‌های درون‌آمیز با دیگر جمعیت‌ها است (۲۰). نجات ژنتیکی جمعیت از طریق افزایش تنوع ژنتیکی با افزودن افراد جدید به جمعیت می‌تواند باعث افزایش نرخ رشد جمعیت در طی نسل‌های آینده و کاهش احتمال درون‌آمیزی شود. اگرچه انتقال افراد جدید به جمعیت میانکتل راهکاری برای کاهش اثرات درون‌آمیزی است، اما نکته‌ای که بایستی همواره به آن توجه داشت، این است که انتخاب جمعیت مبدا برای انتقال به میانکتل بسیار مهم می‌باشد. به عبارت دیگر، بایستی توجه نمود که اضافه کردن افرادی از جمعیت‌هایی با تشابه ژنتیکی بسیار کم می‌تواند اثرات به مراتب مخرب‌تری داشته‌باشد. برون‌آمیزی، در نتیجه تشابهات ژنتیکی کم بین جمعیت مبدا و مقصد، می‌تواند یکی از تهدیدات ناشی از ورود افراد جدید با فاصله ژنتیکی زیاد نسبت به جمعیت مقصد باشد. نکته دیگری که علاوه بر فاصله ژنتیکی بین جمعیت مبدا و مقصد (میانکتل) باید به آن توجه نمود این است که افراد منتقل شده باید از جمعیت‌هایی باشند که تنوع ژنتیکی بالایی دارند. اگرچه نگرانی در خصوص فشار برون‌آمیزی به دلیل تشابه ژنتیکی این جمعیت با جمعیت منشأ (پارک ملی بوم) و همچنین مدت زمان سپری شده از اسارت، ناچیز است. با توجه به اینکه یکی از فاکتورهای مهم در تعیین جمعیت‌های منشأ برای انتقال افراد جدید به جمعیت تحت اسارت، تنوع ژنتیکی بالا در

جمعیت منشأ است، از این رو، با توجه به مطالعات ژنتیکی پیشین (۲۸)، به نظر می‌رسد که تنوع ژنتیکی مناسب مشاهده شده در پارک ملی بمو، پتانسیل این جمعیت را برای نقش جمعیت منشأ افزایش دهد. در نهایت آن چیزی که در برنامه‌های انتقال افراد به جمعیت میانکتل همواره باید مد نظر قرار گیرد، تداوم در برنامه‌های انتقال است. به عبارت دیگر، برنامه‌های انتقال افراد جدید به جمعیت با هدف تقویت ذخیره ژنی جمعیت موجود بایستی در طی چندین مرحله به صورت پیوسته انجام گیرد.

۴-۳- مدیریت ژنتیکی گوسپند وحشی در سایت تکثیر در اسارت میانکتل

اگرچه حفاظت از گونه‌های جانوری در محیط‌های تحت اسارت تاکنون گونه‌های بسیاری را از انقراض نجات داده است (۸ و ۵۱)، اما نزدیک به یک سوم از برنامه‌های معرفی مجدد با شکست روبه‌رو شده است (۱۷ و ۵۱). عوامل بسیاری همچون مطلوبیت پایین زیستگاه و تغییرات رفتاری افراد می‌تواند در شکست این برنامه‌ها دخیل باشد، اما کاهش تنوع ژنتیکی یکی از مهمترین عوامل عدم موفقیت چنین برنامه‌هایی است.

تفاوت در موفقیت تولیدمثلی جفت‌ها در محیط‌های تحت اسارت و عدم برخورداری از تنوع ژنتیکی سازشی در نوزادان متولد شده به دلیل پایین بودن اندازه جمعیت مؤثر می‌تواند منجر به شانس بقاء کمتر افراد متولد شده در اسارت در مقایسه با جمعیت‌های طبیعی شود (۲۹). از سوی دیگر، انتخاب غیر عمدی و جهت‌دار به سمت اهلی شدن افراد که ناشی از طولانی شدن زمان اسارت است، می‌تواند برازش افراد پرورش یافته در اسارت را کاهش دهد (۳۵). بنابراین، توجه به مباحث ژنتیکی و جمعیت‌شناختی در جمعیت گوسپند وحشی در سایت میانکتل اهمیت به سزایی در موفقیت برنامه‌های رهاسازی این جمعیت در طبیعت دارد.

درون‌آمیزی در جمعیت منتقل شده به طبیعت، وقوع گردنه بطری در جمعیت منشأ و رانش ژنتیکی برخی از عواملی است که بهتر است در جمعیت‌های تحت اسارت پیش از رهاسازی در

طبیعت ارزیابی شود (۵ و ۴۵). در جمعیت‌های طبیعی چنانچه درون‌آمیزی احتمال بروز آلل‌های مخرب را افزایش دهد، فشار انتخاب طبیعی علیه این افراد به مراتب بیشتر خواهد بود. بنابراین در مجموع به نظر می‌رسد که در جمعیت‌های طبیعی فشار انتخاب طبیعی بر علیه افراد حاصل از جفتگیری افراد خویشاوند بالا باشد. چنین وضعیتی در جمعیت‌های تحت اسارت به دلیل پایین بودن فشار انتخاب طبیعی کمتر است، در نتیجه در جمعیت‌های تحت اسارت اثرات درون‌آمیزی می‌تواند به مراتب بیشتر از جمعیت‌های وحشی باشد که این موضوع نگرانی در خصوص این جمعیت‌ها را افزایش می‌دهد.

جفتگیری افراد غیر خویشاوند و یا افرادی با فاصله ژنتیکی بیشتر می‌تواند راهکاری مؤثر برای غلبه بر درون‌آمیزی در محیط‌های تحت اسارت باشد، البته باید دقت داشت که رانش ژنتیکی در جمعیت‌های کوچک خود می‌تواند گاهاً منجر به بروز تفاوت‌های ژنتیکی بین افراد شود که این موضوع بایستی مد نظر قرار گیرد (۴۹). سازگاری ژنتیکی به محیط‌های اسارت موضوع دیگری است که می‌تواند موفقیت برنامه‌های رهاسازی جمعیت تحت اسارت به طبیعت را تحت تأثیر قرار دهد (۵۰). بنابراین کاهش مدت زمان نگهداری جمعیت در اسارت می‌تواند احتمال وقوع سازش‌های ژنتیکی به محیط اسارت را کاهش دهد (۴۳). پرسشی که در خصوص جمعیت‌های پرورش یافته در اسارت مطرح است این است که آیا این جمعیت‌ها می‌توانند نقش جمعیت منشأ را برای برنامه‌های معرفی مجدد در طبیعت ایفا کنند؟ نتایج مطالعات حاضر نشان می‌دهد که اگرچه پاسخ به این پرسش مثبت است اما، برقراری جریان ژنی مستمر و متقابل با جمعیت‌های وحشی شرط مهم و اساسی در بقاء درازمدت این جمعیت‌ها در طبیعت است (۳۰). از دیدگاه جمعیت‌شناختی، نقل و انتقال مستمر و متقابل افراد می‌تواند متضمن تعادل در نسبت‌های جنسی و در نتیجه افزایش شانس جفتگیری افراد در اسارت باشد. از دیدگاه تکاملی نیز، این نقل و انتقالات می‌تواند خطرات درون‌آمیزی را کاهش و احتمال بروز آلل‌های جدید در جمعیت و یا ظهور آلل‌ها نادر را افزایش دهد (۳۰). اضافه نمودن

و جمعیت تحت اسارت می‌تواند متفاوت باشد (۳۱). به‌طور سنتی، استراتژی تولیدمثلی با هدف افزایش اندازه جمعیت مؤثر یکی از مهمترین استراتژی‌های تولیدمثلی به‌منظور حفاظت از تنوع ژنتیکی جمعیت‌ها بوده است (۲۱ و ۳۱).

با توجه به نتایج به‌دست آمده در مطالعه حاضر، به نظر می‌رسد که جمعیت موجود در مرکز تکثیر در اسارت میانکتل از تنوع ژنتیکی به نسبت مناسب و نرخ درون‌آمیزی اندکی برخوردار است که می‌تواند پتانسیل این جمعیت را جهت ایفا کردن نقش یک جمعیت بنیان‌گذار برای معرفی مجدد گونه به زیستگاه حفاظت شده ارژن و پریشان افزایش دهد. اگرچه با توجه به روابط خویشاوندی نزدیکی که بین افراد مشاهده شد، شکی نیست که توجه به تهدیدات ناشی از درون‌آمیزی و کاهش احتمال آن از طریق معرفی چند مرحله‌ای افراد جدید به جمعیت ضروری می‌باشد.

سپاسگزاری

بدینوسیله نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از حمایت‌های ارزشمند اداره کل حفاظت محیط زیست فارس (شماره طرح: ۱۴۰۲/۴۰۰/۳۲۶۱ ص) و همچنین دانشگاه شیراز تشکر و قدردانی بعمل آورند.

افراد جدید به جمعیت‌های تحت اسارت با هدف افزایش تنوع ژنتیکی جمعیت و افزایش جمعیت مؤثر برای بسیاری از گونه‌ها انجام شده است (به‌طور مثال منبع شماره ۴). موضوع مهم در اضافه کردن افراد جدید به جمعیت مورد مطالعه این است که اضافه کردن تعداد اندکی از افراد از یک جمعیت منزوی در طبیعت به جمعیت تحت اسارت ممکن است تأثیر معنی‌داری بر افزایش تنوع آلی جمعیت تحت اسارت نداشته‌باشد. بنابراین، وضعیت ژنتیکی جمعیت منشأ فاکتور اساسی در موفقیت چنین برنامه‌هایی است (۴).

علاوه بر موارد اشاره‌شده در خصوص اضافه کردن افراد جدید به جمعیت، ثبت اطلاعات شجره‌نامه‌ای و همچنین به‌کارگیری طرح‌های تولیدمثلی مؤثر در محیط‌های تحت اسارت نقش مهمی در مدیریت کارآمد جمعیت‌های تحت اسارت دارد. طرح‌های تولیدمثلی در محیط‌های تحت اسارت چنانچه به‌درستی انجام نشود می‌تواند اثرات فشار درون‌آمیزی را افزایش دهد (۴۴). جفتگیری تصادفی (Random mating)، کاهش میانگین ضریب خویشاوندی (Kinship)، کاهش هم‌تباری بین والدین (Minimize the parents' coancestry)، کاهش هم‌تباری بین نوزادان (Minimize the offspring coancestry) و یا افزایش اندازه جمعیت مؤثر (Increasing the effective population size) برخی از استراتژی‌های تولیدمثلی در محیط‌های تحت اسارت است (۵۱). بهترین استراتژی تولیدمثلی بسته به هر گونه

منابع

- Allendorf, F. W., Hössjer, O. and Ryman, N., 2024. What does effective population size tell us about loss of allelic variation?. *Evolutionary Applications*, 17(6), pp. e13733.
- Alnajm, H., Alijani, S., Javanmard, A., Rafat, A. A. and Hasanpur, K., 2021. Genetic diversity analysis of four sheep breeds of Iran: Towards genetic maintenance and conservation decision. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 11(3), pp. 527-538.
- Araki, H., Berejikian, B. A., Ford, M. G. and Blouin, M. S., 2008. Fitness of hatchery-reared salmonids in the wild. *Evolutionary Applications*, 1, pp. 342-355.
- Ariyaphong, N., Pansrikaew, T., Jangtarwan, K., Thinti, J., Singcha, W., Laopichienpong, N., Pongsanarm, T., Panthum, T., Suntronpong, A., Ahmad, S. F. and Muangmai, N., 2021. Introduction of wild Chinese gorals into a captive population requires careful genetic breeding plan monitoring for successful long-term conservation. *Global Ecology and Conservation*, 28, pp. e01675.
- Ba, H., Jia, B., Wang, G., Yang, Y., Kedem, G. and Li, C., 2017. Genome-wide SNP discovery and analysis of genetic diversity in farmed sika deer (*Cervus nippon*) in northeast China using double-digest restriction site-associated DNA sequencing. *Genes, Genomes, Genetics*, 7(9), pp. 3169-3176.

6. Ballou, J. D., Lees, C., Faust, L. J., Long, S., Lynch, C., Bingaman Lackey, L. and Foose, T. J., 2010. Demographic and genetic management of captive populations. pp. 1-73. *In: Kleiman, D. G., Thompson, K. and Kirk-Bae, C. (Eds.), Wild Mammals in Captivity: Principles and Techniques for Zoo Management.* University of Chicago Press.
7. Beebee, T. J. C. and Rowe, G., 2008. *An Introduction to Molecular Ecology,* Oxford University Press, Oxford.
8. Berger, A., K. M. Scheibe., K. Eichhorn., A. Scheibe and J. Streich. 1999. Diurnal and ultradian rhythms of behaviour in a mare group of Przewalski horse (*Equus ferus przewalskii*), measured through one year under semi-reserve conditions. *Applied Animal Behaviour Science*, 64(1), pp. 1-17.
9. Bolam, F. C., Ahumada, J., Akcakaya, H. R., Brooks., T. M., Elliott., W., Hoban., S., Mair., L., Mallon., D., McGowan., P. J., Raimondo., D., Rodriguez., J. P., Roe., D., Seddon., M. B., Shen., X., Stuart., S. N., Watson, J. E. and Butchart, S. H., 2020. Preventing extinctions post-2020 requires recovery actions and transformative change. *BioRxiv*, 11, pp. 226956269
10. Culver, M., 1999. Molecular genetic variation, population structure, and natural history of free-ranging pumas (*Puma concolor*). PhD thesis. University of Maryland at College Park, Maryland.
11. Coker, O. M., 2017. Importance of genetics in conservation of biodiversity. *Nigerian Journal of Wildlife Management*, 1(1), pp. 11-18.
12. Chapuis, M. P. and Estoup, A., 2007. Microsatellite null alleles and estimation of population differentiation. *Molecular Biology and Evolution*, 24, pp. 621-631.
13. Dehghani, G. M., Ayatollahi Mehrgardi, A. and Esmailzadeh, 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, pp. 649-653. (In Persian).
14. Dempster, A. P., Laird, N. M. and Rubin, D. B., 1977. Maximum likelihood from incomplete data via the EM algorithm. *Journal of Statistical Society*, 39, pp. 1-38.
15. Ebenhard, T., 1995. Conservation breeding as a tool for saving animal species from extinction. *Trends in Ecology & Evolution*, 10, pp. 438-443.
16. Fan, J., Zheng, X., Wang, H., Qi, H., Jiang, B., Qiao, M., Zhou, J. and Bu, S., 2019. Analysis of genetic diversity and population structure in three forest musk deer captive populations with different origins. *G3: Genes, Genomes, Genetics*, 9(4), pp. 1037-1044.
17. Fischer, J. and Lindenmayer, D. B., 2000. An assessment of the published results of animal relocations. *Biological conservation*, 96(1), pp. 1-11.
18. Frankham, R., 2008. Genetic adaptation to captivity in species conservation programs. *Molecular Ecology*, 17(1), pp. 325-333.
19. Frankham, R., Ballou, J. D. and Briscoe, D. A., 2010. *Introduction to Conservation Genetics.* Cambridge University Press, Cambridge
20. Falconer, D. S. and Mackay, T. F. C., 1996. *Introduction to Quantitative Genetics*, 4th Edition Longman Group, London.
21. Goudet, J., 1995. FSTAT (Version 1.2): a computer program to calculate F-statistics. *Heredity*, 86, pp. 485-486.
22. Hosseini, S. M., Rezaei, H. R., Varasteh Moradi, H., Naderi, S. and F. Nikooy. 2014. Investigation of phylogeography of Yazd Province wild sheep population based on the mitochondrial genome data. *Scientific Research Journal of Animal Environment*, 6, pp. 169-177. (In Persian)
23. Jangtarwan, K., Kamsongkram, P., Subpayakom, N., Sillapaprayoon, S., Muangmai, N., Kongphoemph, A., Wongsodchuen, A., Intapan, S., Chamchumroon, W., Safoowong, M. and Peyachoknagul, S., 2020. Predictive genetic plan for a captive population of the Chinese goral (*Naemorhedus griseus*) and prescriptive action for ex situ and in situ conservation management in Thailand. *PloS One*, 15(6), pp. e0234064.
24. Javadmanesh, A., Ghovvati Rodsari, S., Soltani, M. and Nassiry, M., 2022. Genetic diversity of Urial population in Northeast of Iran. *Iranian Journal of Animal Biosystematics*, 18(2), pp. 185-193.
25. Kardos, M., Armstrong, E. E., Fitzpatrick, S. W., Hauser, S., Hedrick, P. W., Miller, J. M. and Funk, W. C., 2021. The crucial role of genome-wide genetic variation in conservation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 118(48), pp. e2104642118.
26. Kaveh Pishghadam, N., Malekian, M. and Adavodi, A., 2017. Genetic assessment of funding population of wild sheep (*Ovis orientalis*) in Chadegan captive breeding site. *Journal of Animal Environment*, 9(3), pp. 41-48. (In Farsi).
27. Lino, A., Fonseca, C., Rojas, D., Fischer, E. and Ramos Pereira, M. J., 2019. A meta-analysis of the effects of habitat loss and fragmentation on genetic diversity in mammals. *Mammalian Biology*, 94, pp. 69-76.
28. Mahmoudi, D., Khosravi, R., Kabolli, M. and Adavoudi, R., 2024. Genetic variation and population structure of wild sheep in Bamou National Park in Fars Province using microsatellite markers. *Iranian Journal of Applied Ecology*, 12(4), pp. 45-56. (In Persian)
29. Newman, D. and Pilson, D., 1997. Increased probability of extinction due to decreased genetic effective population size: experimental populations of *Clarkia Pulchella*. *Evolution*, 51(2), pp. 354-362.

30. Ochoa, A., Wells, S. A., West, G., Al-Smadi, M. E., Redondo, S. A., Sexton, S. R. and Culver, M., 2016. Can captive populations function as sources of genetic variation for reintroductions into the wild? A case study of the Arabian oryx from the Phoenix Zoo and the Shaumari Wildlife Reserve, Jordan. *Conservation Genetics*, 17, pp. 1145-1155.
31. Ojeda-Marín, C., Cervantes, I., Moreno, E., Goyache, F. and Gutiérrez, J. P., 2021. Breeding strategies to optimize effective population size in low census captive populations: The case of *Gazella cuvieri*. *Animals*, 11(6), pp. 1559.
32. Peakall, R. and Smouse, P. E., 2012 GenAEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research—an update. *Bioinformatics*, 28, pp. 2537–2539.
33. Peter, C., Bruford, M., Perez, T., Dalamitra, S., Hewitt, G. and Erhardt, G., 2007. Genetic diversity and subdivision of 57 European and Middle-Eastern sheep breeds. *Animal Genetics*, 38(1), pp. 37-44.
34. Price, M. R. and Fa, J. E., 2004. Reintroductions from zoos: a conservation guiding light or a shooting star?. pp.155-177, *In: Zimmerman, Z., Hatchwell, M., Dickie, L. and West, C. (Eds.), Zoos in the 21st Century: Catalysts for Conservation*, Cambridge University Press.
35. Purohit, D., Manu, S., Ram, M. S., Sharma, S., Patnaik, H. C., Deka, P. J., Narayan, G. and Umaphathy, G., 2021. Genetic effects of long-term captive breeding on the endangered pygmy hog. *PeerJ*, 9, pp. e12212.
36. Pritchard, J. K., Stephens, M. and Donnelly, p., 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155, pp. 945–959.
37. Raymond, M. and Rousset, F., 1995. An exact test for population differentiation. *Evolution*, 49, pp. 1283-1286.
38. Rezaei, H. R., Naderi, S., Chintauan-Marquier, L. C., Taberlet, P., Virk, A. T., Naghash, H. R. and Pompanon, F., 2010. Evolution and taxonomy of the wild species of the genus *Ovis* (Mammalia, Artiodactyla, Bovidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 54, pp. 315-326.
39. Rabiei, F., Abdoli, R., Rafeie, F. and Ghavi Hossein-Zadeh, N., 2022. Genetic similarities and phylogenetic analysis of wild and domesticated species of sheep based on mitochondrial genome. *Animal Production Research*, 11, pp. 1-13. (In Persian).
40. Rees, P. A., 2001. Is there a legal obligation to reintroduce animal species into their former habitats?. *Oryx*, 35(3), pp. 216-223.
41. Rice, W. R., 1989. Analyzing tables of statistical tests. *Evolution*, 43, pp. 223–225.
42. Schlaepfer, D. R., Braschler, B., Rusterholz, H. P. Baur, B., 2018. Genetic effects of anthropogenic habitat fragmentation on remnant animal and plant populations: a meta-analysis. *Ecosphere*, 9(10), pp. e02488.
43. Snyder, N. F., Derrickson, S. R., Beissinger, S. R., Wiley, J. W., Smith, T. B., Toone, W. D. and Miller, B., 1997. Limitations of captive breeding: reply to Gippoliti and Carpaneto. *Conservation Biology*, 1, pp. 808–810.
44. Thintip, J., Singchat, W., Ahmad, S. F., Ariyaphong, N., Muangmai, N., Chamchumroon, W., Pitiwong, K., Suksavate, W., Duangjai, S., Duengkae, P. and Srikulnath, K., 2021. Reduced genetic variability in a captive-bred population of the endangered Hume's pheasant (*Syrnaticus humiae*, Hume 1881) revealed by microsatellite genotyping and D-loop sequencing. *PLoS One*, 16(8), pp. e0256573.
45. Turghan, M. A., Jiang, Z. and Niu, Z., 2022. An update on status and conservation of the Przewalski's horse (*Equus ferus przewalskii*): Captive breeding and reintroduction projects. *Animals*, 12(22), pp. 3158.
46. Thirstrup, J. P., Pertoldi, C. and Loeschcke, V., 2008. Genetic analysis, breed assignment and conservation priorities of three native Danish horse breeds. *Animal Genetics*, 39, pp. 496- 505.
47. Van Oosterhout, C., Hutchinson, W. F., Wills, D. P. M. and Shipley, P., 2004. MICROCHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Research*, 4, pp. 535–538.
48. Wang, J., 2018. User's guide for software COLONY Version 2.0.6.5. London: Zoological Society of London
49. Willi, Y., Van Buskirk, J., Schmid, B. and Fischer, M., 2007. Genetic isolation of fragmented populations is exacerbated by drift and selection. *Journal of Evolutionary Biology*, 20, pp. 534–542
50. Williams, S. E. and Hoffman, E. A., 2009. Minimizing genetic adaptation in captive breeding programs: A review. *Biological Conservation*, 142, pp. 2388–2400.
51. Willoughby, J. R., Fernandez, N. B., Lamb, M. C., Ivy, J. A., Lacy, R. C. and DeWoody, J. A., 2015. The impacts of inbreeding, drift and selection on genetic diversity in captive breeding populations. *Molecular Ecology*, 24(1), pp. 98-110.
52. Xia, C., Cao, J., Zhang, H., Gao, X., Yang, W. and Blank, D., 2014. Reintroduction of Przewalski's horse (*Equus ferus przewalskii*) in Xinjiang, China: the status and experience. *Biological Conservation*, 177, pp. 142–147.
53. Zamani, V., Asadi Aghbolaghi, M., Naderi, S. and Rezaei, H. R., 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, pp. 19-26. (In Persian).

The Potential of Captive Populations as Founders in Reintroduction Programs: A Case Study of Wild Sheep at the Miankotal Captive Breeding Site

Rasoul Khosravi^{1*}, Delara Mahmoudi², Mohammad Kaboli³ and Leila Julaie⁴

(Received: January 20-2025; Accepted: March 05-2025)

Abstract

Although captive breeding and conservation programs have saved many species from extinction, nearly one-third of reintroduction programs have failed due to genetic challenges. Therefore, addressing conservation genetics issues is critical for the success in such programs. This study evaluated the genetic variation, structure, inbreeding, and kinship relationships among individuals of wild sheep (*Ovis gmelini*) at the Miankotal Captive Breeding Site (Fars Province) using 20 blood samples and eight microsatellites. The genetic structure and kinship relationships between individuals were examined using the STRUCTURE and Colony softwares. The mean allelic richness and inbreeding coefficient were 10.5 and -0.1, respectively. No distinctive genetic structure was observed in the studied population. However, sibling relationships were identified among some individuals, raising concerns about potential future inbreeding. The results indicated that while the studied population maintains relatively high genetic variation and low inbreeding levels, if the goal is to release into the wild, it is essential to take efforts for the genetic rescue of the population by increasing genetic diversity through the introduction of new individuals to the population, considering the genetic distance between the source and destination populations.

Keywords: Adaptive potential, Captive breeding, Genetic diversity, Inbreeding, Microsatellite, Wild sheep.

1- Associate Professor, Department of Natural Resources and Environmental Engineering, School of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran

2- MSc Student, 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

4- Office of Wildlife Conservation and Management, Fars Department of Environment

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