بسم الله الرحمن الرحيم

دانشکده شیلات و محیط زیست

پایان نامه جهت اخذ درجه‌ی کارشناسی ارشد در رشته
محیط‌زیست

تنوع ژنتیکی جمعیت‌های جنس غزال (*Gazella*) در غرب و جنوب غرب کشور براساس ژن سیتوکروم *b* میتوکندری

تحقیق و نگارش:
فصیحه محمدی گرجی

استاد راهنما:
دکتر حمیدرضا رضایی

تابستان ۱۳۹۳

تعهدنامه پژوهشی

نظر به اینکه انجام فعالیت‌های پایان‌نامه‌های تحصیلی با بهره‌گیری از حمایت‌های علمی، مالی و پشتیبانی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان صورت می‌پذیرد، به منظور رعایت حقوق دانشگاه، نسبت به رعایت موارد زیر متعهد می‌شوم:

۱. این گزارش حاصل فعالیت‌های علمی- پژوهشی و دانش و آگاهی نگارنده است مگر آنکه در متن به نویسنده یا پدید آورنده اثر ارجاع داده شده باشد.

۲. چاپ هر تعداد نسخه از پایان‌نامه با کسب اجازه کتبی از مدیریت تحصیلات تکمیلی دانشگاه خواهد بود.

۳. انتشار نتایج پایان‌نامه به هر شکل (از قبیل کتاب، مقاله و همایش) با اطلاع و کسب اجازه کتبی از استاد راهنما خواهد بود. نام کامل دانشگاه:

به فارسی: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

و به انگلیسی: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

در بخش آدرس‌دهی درج خواهد شد.

٤. در انتشار نتایج پایان‌نامه در قالب اختراع، اکتشاف و موارد مشابه، نام کامل دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان به عنوان عضو حقوقی در انتهای فهرست اسامی درج گردد.

۵. تعیین ترتیب اسامی نویسندگان در انتشار نتایج مستخرج از پایان‌نامه و هر گونه تفاوت احتمالی در آن با فهرست مصوب اسامی هیات راهبری پایان‌نامه با تایید استاد راهنمای اول خواهد بود.

اینجانب **فصیحه محمدی گرجی** دانشجوی رشته **محیط زیست** مقطع **کارشناسی ارشد** تعهدات فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده و به آن ملتزم می‌شوم.

نام و نام خانوادگی و امضاء

فصیحه محمدی گرجی

تقدیم به

پدر و مادر و همسر عزیزم

که تنها دلیل بودنم هستند.

تشکر و قدردانی

شکر و سپاس خداوند بی همتا را که توانستم این مرحله از تحصیل را به لطف و کرم او به پایان برسانم.

از استاد راهنمای بزرگوارم دکتر حمید رضا رضایی به خاطر زحمات و محبتهای بیکرانشان صمیمانه سپاسگزارم.

از خانواده مهربانم که در تمامی مراحل زندگی همواره پشتیبانم بودند، سپاسگزارم.

از استادان گرامی و بزرگوار دکتر علی شعبانی و دکتر حامد گلکنی، به خاطر باز خوانی و داوری این پژوهش کمال تشکر را دارم.

از دوستان عزیز، آقای شاهو قوامی، جلیل ایمانی و فرشاد اسکندری به خاطر همراهی و کمک هایشان صمیمانه سپاسگزارم.

از همکاری ادارات کل سازمان های محیط زیست استان های تهران، فارس، کرمانشاه و خوزستان کمال تشکر را دارم.

چکیده

آهوسانان، گونه‌های در معرض خطری هستند که جمعیت آن‌ها با نرخ بالایی در حال کاهش بوده و حفاظت از آن‌ها باید در اولویت برنامه‌های حفاظتی قرار گیرد. در این تحقیق ١٤ نمونه جمع‌آوری شده از ٧ جمعیت غزال در غرب و جنوب غرب ایران بر اساس توالی ژن سیتوکروم *b* از DNA میتوکندریایی مورد آنالیز قرار گرفتند. پس از مقایسه توالی به دست آمده با توالی موجود در ژن‌بانک در نرم‌افزار MEGA 5.2 و ترسیم درخت فیلوژنتیک، ٣ گونه متفاوت از آهو در این نواحی شناسایی شد. بر اساس دیدگاه فیلوژنتیک، نمونه‌های ٣ جمعیت پارک ملی بمو، منطقه شکارممنوع قراویز و آباده آهوی ایرانی (*G.subgutturosa*) و نمونه‌های ٢ جمعیت منطقه حفاظت‌شده هرمود و بهرام گور آهوی هندی یا جبیر (*G. bennettii*) بودند. نمونه‌های منطقه حفاظت‌شده دیمه رامهرمز که مکان مناسبی برای تکثیر گونه‌های آهو است در دو شاخه‌ی مجزا مربوط به گونه‌ی آهوی ایرانی (*G.subgutturosa*) و آهوی شنی (*G. marica*) قرار گرفتند. نتایج آنالیز واریانس مولکولی در نرم‌افزار Arlequine 3 نشان داد تفاوت در بین این جمعیت‌ها ٥٦/٢٨ و در درون جمعیت‌ها ٤٣/٧٢ است که نشان می‌دهد ساختار ژنتیکی بارزی در بین جمعیت‌ها وجود دارد و جریان ژنی بین آن‌ها ٠/١ است. شاخص تثبیت F_{ST} ٠/٥٦٢٨ است و چون این شاخص بزرگتر از ٠/٢٥ است نشان می‌دهد که تنوع ژنتیکی بارز است. شبکه هاپلوتایپی آهوی ایرانی حاصل از نرم‌افزار network نشان می‌دهد که جمعیت آباده و بمو به عنوان جمعیت مرکزی است و بقیه جمعیت‌ها از آن منشا گرفته‌اند. شبکه هاپلوتایپی جبیر نشان می‌دهد که تنوع هاپلوتایپی در منطقه بهرام گور پایین و در منطقه هرمود بالاست.

کلمات کلیدی: روش‌های مولکولی، DNA میتوکندریایی، آهوسانان، فاصله ژنتیکی، حفاظت

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول / مقدمه

۱-۱ کلیات ۲

۱-۲ ژنتیک ۳

۱-۲-۱ ژن‌ها قطعاتی از DNA ۳

۱-۲-۲ وراثت و DNA هسته‌ای و اندامکی ٤

۱-۲-۳ انواع نشانگرها ۷

۱-۲-۳-۱ نشانگرهای مورفولوژیک ۷

۱-۲-۳-۲ نشانگرهای ژنتیک ۷

۱-۲-٤ انتخاب نشانگر مناسب ۷

۱-۳ ضرورت تحقیق ۸

۱-٤ فرضیه‌ها ۱۰

۱-۵ سوالات اصلی ۱۰

۱-٦ اهداف ۱۰

فصل دوم / بررسی منابع علمی

۲-۱ منابع داخلی ۱۲

۲-۲ منابع خارجی ۱٤

۲-۳ جمع‌بندی ۱۸

فصل سوم / مواد و روش‌ها

۳-۱ مناطق نمونه‌برداری ۲۲

۳-۱-۱ پارک ملی بمو ۲۲

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

۳-۱-۲ منطقه حفاظت‌شده بهرام گور ۲۳
۳-۱-۳ منطقه حفاظت‌شده هرمود لار ۲٤
۳-۱-٤ منطقه شکار ممنوع قراویز ۲۵
۳-۱-۵ منطقه شکار ممنوع زله‌زرد ۲٦
۳-۱-٦ منطقه حفاظت‌شده دیمه رامهرمز ۲۷
۳-۱-۷ منطقه شکار ممنوع آباده ۲۷
۳-۲ شیوه نمونه‌برداری ۲۸
۳-۳ استخراج DNA ۳۰
۳-٤ واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR) ۳۲
۳-٤-۱ ویژگی‌های تیوب‌های لیوفیلیزه PCR ۳۳
۳-٤-۲ آغازگرها ۳٤
۳-۵ الکتروفورز محصولات PCR و ثبت تصاویر ۳۵
۳-٦ توالی‌یابی ۳٦
۳-۷ دریافت توالی‌ها از ژن‌بانک ۳۷
۳-۸ تجزیه و تحلیل فیلوژنتیک ۳۸

فصل چهارم / نتایج

٤-۱ نتایج حاصل از توالی‌یابی ٤۰
٤-۲ بررسی‌های فیلوژنتیک ٤۲
٤-۳ سایر آنالیزهای ژنتیکی ٤۸

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل پنجم / بحث و نتیجه‌گیری

۵-۱ تحلیل روابط فیلوژنتیک ۵۶

۵-۲ جمع‌بندی ۶۰

۵-۳ پیشنهادهای اجرایی ۶۰

۵-٤ پیشنهادهای پژوهشی ۶۰

منابع ۶۲

ضمائم ۶۸

فهرست جدول‌ها

عنوان **صفحه**

جدول ۳-۱ تعداد نمونه‌های جمع‌آوری شده از مناطق تحت بررسی ۲۹
جدول ۳-۲ چرخه‌های حرارتی واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز برای آغازگر Gaz cytbF و Gaz cytbR ۳۳
جدول ۳-۳ آغازگر استفاده شده برای PCR و توالی‌یابی ۳۵
جدول ۳-٤ نمونه‌های اخذ شده از ژن‌بانک برای توالی ژن سیتوکروم *b* (۱۱٤۰ جفت‌باز) ۳۷
جدول ٤-۱ تعداد نمونه استفاده شده در آنالیزها در هر جمعیت تحت بررسی ٤۰
جدول ٤-۲ محاسبه بهترین مدل آماری جهت انجام آنالیزهای فیلوژنتیک ٤۲
جدول ٤-۳ پراکنش هاپلوتایپ‌ها در مناطق مطالعاتی ٤۵
جدول ٤-٤ نتایج آنالیز واریانس مولکولی (AMOVA) ٤۸
جدول ٤-۵ درصد بازهای آلی برای توالی کامل ژن سیتوکروم *b* در جمعیت‌های تحت بررسی ... ٤۸
جدول ٤-٦ شاخص‌های تنوع مولکولی در جمعیت‌های تحت بررسی ٤۹
جدول ٤-۷ تخمین الگوی جانشینی نوکلئوتیدها با روش حداکثر درست‌نمایی ترکیبی ۵۰
جدول ٤-۸ مقایسه دو به دو جمعیت‌ها بر اساس روش Pairwise differences ۵۰
جدول ٤-۹ ماتریس فواصل ژنتیکی بر اساس حضور یک نماینده برای هر هاپلوتایپ ۵۱

فهرست شکل‌ها

عنوان **صفحه**

شکل ۱-۱ ژنوم میتوکندریایی پستانداران و ژن‌های متفاوتی که روی دو نوار DNA واقع شده‌اند..... ٦
شکل ۳-۱ زیستگاه آهو در پارک ملی بمو..... ۲۲
شکل ۳-۲ نمونه‌برداری از منطقه حفاظت‌شده بهرام گور ۲۳
شکل ۳-۳ زیستگاه جبیر در منطقه حفاظت‌شده هرمود لار ۲٤
شکل ۳-٤ نمونه برداری از منطقه شکار ممنوع قراویز ۲۵
شکل ۳-۵ زیستگاه آهو از منطقه شکار ممنوع زله‌زرد ۲٦
شکل ۳-٦ زیستگاه آهو در منطقه شکار ممنوع آباده..... ۲۷
شکل ۳-۷ نمونه‌ای از کپه سرگین آهو ۲۹
شکل ۳-۸ دستگاه سانتریفیوژ ۳۱
شکل ۳-۹ کیت مخصوص استخراج DNA از سرگین محصول شرکت Bioneer..... ۳۱
شکل ۳-۱۰ تیوب‌های لیوفیلیزه آماده PCR..... ۳٤
شکل ۳-۱۱ دستگاه ترموسایکلر مدل ۲۷۲۰ Applied biosystem..... ۳٤
شکل ۳-۱۲ دستگاه الکتروفورز افقی ۳٦
شکل ٤-۱ نحوه تشکیل باند در ژل آگارز ۲ درصد ٤۱
شکل ٤-۲ نتایج اولیه حاصل از توالی‌یابی..... ٤۱
شکل ٤-۳ درخت فیلوژنتیک حاصل از روش NJ برای توالی ۱۱٤۰ جفت‌بازی ژن سیتوکروم *b*.. ٤۳
شکل ٤-٤ درخت فیلوژنتیک حاصل از روش ML برای توالی ۱۱٤۰ جفت‌بازی ژن سیتوکروم *b*..... ٤٤
شکل ٤-۵ درخت فیلوژنتیک حاصل از روش NJ برای توالی ۱۱٤۰ جفت‌بازی ژن سیتوکروم *b* بر اساس هاپلوتایپ‌ها..... ٤٦

فهرست شکل‌ها

عنوان **صفحه**

شکل ٤-٦ درخت فیلوژنتیک حاصل از روش ML برای توالی ١١٤٠ جفت‌بازی ژن سیتوکروم *b* بر اساس هاپلوتایپ‌ها ٤٧
شکل ٤-٧ شبکه هاپلوتایپی آهوهای ایرانی حاصل از نرم‌افزار network ٥٢
شکل ٤-٨ شبکه هاپلوتایپی جبیرها حاصل از نرم‌افزار network..... ٥٣

فصل اول

مقدمه

۱-۱ کلیات

بوم‌شناسی شاخه‌ای از زیست‌شناسی است که به مطالعه روابط بین گونه‌ها و برهم‌کنش آن‌ها با محیط فیزیکی پیرامونشان می‌پردازد. مطالعه این روابط به طور سنتی از طریق مشاهدات صحرایی و یا آزمایشات مصنوعی در محیط‌های شبیه‌سازی شده طبیعی انجام شده است. این گونه مطالعات داده‌های فنوتیپی در خصوص ویژگی‌های ریختی، فیزیولوژی، بیوشیمیایی و یا رفتاری در اختیار محققان قرار می‌دهد. بنابراین بوم‌شناسی سنتی تأثیر به‌سزایی در فراهم کردن دانش پایه و افزایش آگاهی ما در مورد گونه‌های مختلف و چگونگی کارکرد بوم‌سازگان‌ها و فرایندهای مؤثر در آن‌ها داشته است (فریلند[1]، ۲۰۰۵).

گونه مهم‌ترین واحد تاکسونومی[2] است که در منابع اکولوژی مورد استفاده قرار می‌گیرد (فریلند، ۲۰۰۵). امروزه شناسایی گونه‌ها و زیرگونه‌ها از اهمیت زیادی برخوردار است و علاوه بر مدیریت صحیح و بهره‌برداری مناسب از منابع، سبب اجرای برنامه‌های اصولی در راستای حفاظت از گونه‌ها و جمعیت‌های باارزش و هم‌چنین ایجاد تنوع در گونه‌های مختلف می‌شود (ژو[3] و همکاران، ۲۰۰۲).

با استفاده از روش‌های مولکولی می‌توان برای شناسایی جمعیت‌ها، افراد و گونه‌ها و بررسی رفتار آن‌ها به شکل غیر مستقیم و از طریق ژن‌هایشان در آزمایشگاه اقدام کرد و زمانی که با عملیات میدانی همراه شود، نتیجه‌ی بررسی‌ها خیلی دقیق‌تر و قابل استنادتر می‌شود. داشتن دانش کافی در مورد تاریخ تکامل نژادی، تنوع ژنتیکی و زیست‌محیطی برای حفاظت و مدیریت یک گونه مهم است، متأسفانه برای بسیاری از گونه‌ها این اطلاعات وجود ندارد. منظور از فیلوژنتیک مولکولی مقایسه ژنوم‌های مختلف با یکدیگر به منظور تعیین روابط تکاملی بین آن‌هاست. در این مقایسه از پروتئین‌ها و یا DNA موجودات استفاده می‌شود که بی‌گمان اطلاعات فیلوژنتیک به دست آمده از DNA کامل‌تر از اطلاعات به دست آمده از پروتئین‌هاست، زیرا در استفاده از ردیابی DNA کل ژنوم مورد بررسی قرار می‌گیرد و از طرفی جهش‌هایی که موجب تغییرات هم‌معنی می‌گردد، فقط ردیف DNA را تحت تأثیر قرار می‌دهد (نقوی و همکاران، ۱۳۸٦).

[1] Freeland
[2] Taxonomy
[3] Zhu

قبل از پیدایش بوم‌شناسی مولکولی، به دست آوردن اطلاعات ژنتیکی مورد نیاز از جمعیت‌های وحشی بسیار دشوار و غالباً مبتنی بر تفاوت‌های ریختی قابل مشاهده بود. گرچه داده‌های ریختی می‌توانند در بسیاری از موارد مفید باشند شکل‌پذیری فنوتیپی، برقراری رابطه فنوتیپ و ژنوتیپ را با مشکل مواجه می‌کند. امروزه روش‌های مولکولی برای شناسایی ژنتیکی موجودات و گونه‌ها در آزمایشگاه‌ها متداول گشته و توانسته است اطلاعات جدید فراوانی را در زمینه بوم‌شناسی و تکامل گیاهان، جانوران، باکتری‌ها، جلبک‌ها و قارچ‌ها فراهم آورد. نشانگرهای مولکولی در کمّی نمودن تنوع ژنتیکی، جابجایی افراد و تبادل ژنی بین جمعیت‌ها، درون‌آمیزی، تعیین هویت افراد، شناسایی گونه‌های جدید و تعیین الگوی پراکنش تاریخی گونه‌ها کمک شایان توجهی نموده‌اند. جنبه‌های کاربردی این‌گونه اطلاعات بسیار مورد توجه محققان و مدیران بوده است. امروزه با توسعه روش‌های مولکولی، با استفاده از تعداد اندکی نمونه می‌توانیم منشأ جغرافیایی گونه‌های وارداتی و مهاجم را مشخص کنیم و یا با استفاده از مواد برجامانده از جانوران، نظیر مو و یا مواد دفعی، جمعیت گونه‌های تهدیدشده را مدیریت کنیم (فریلند، ۲۰۰۵).

۱-۲ ژنتیک

۱-۲-۱ ژن‌ها قطعاتی از DNA

ژن[1] قطعه‌ای از مولکول DNA است. این قطعه ممکن است به هر طولی دیده شود. اطلاعات مربوط به یک ژن در توالی نوکلئوتیدی آن نهفته است. این اطلاعات اساساً یک سری دستورات برای ساخت یک مولکول RNA دارد که در نهایت سنتز یک آنزیم یا مولکول پروتئینی دیگر را هدایت می‌کند. این فرایند دو مرحله‌ای تجلّی ژن[2] (تظاهر یا بیان) نامیده می‌شود. ژن‌ها قطعاتی از مولکول DNA بوده و از یکدیگر توسط DNA بین ژنی جدا می‌گردند. در انسان ژن‌ها کمتر از ۳۰٪ کل DNA در سلول را تشکیل می‌دهند. اطلاعات زیست‌شناختی یک ژن در واقع به وسیله یکی از دو مارپیچ مضاعف حمل می‌شود به طوری که این پلی‌نوکلئوتید رشته الگو نامیده می‌شود و به عنوان الگو

[1] Gene
[2] Gene expression

برای ساخت مولکول RNA به هنگام اولین مرحله تظاهر ژن عمل می‌کند. اطلاعات زیستی حمل شده توسط رشته الگو در جهت ´۵ ← ´۳ خوانده می‌شود. تمام مواد ژنتیکی موجود در سلول ژنوم[1] و محل واقع شدن ژن روی کروموزوم لوکوس[2] آن ژن نامیده می‌شود (پیج و هولمز[3]، ۱۹۹۸).

۱-۲-۲ وراثت و DNA هسته ای و اندامکی

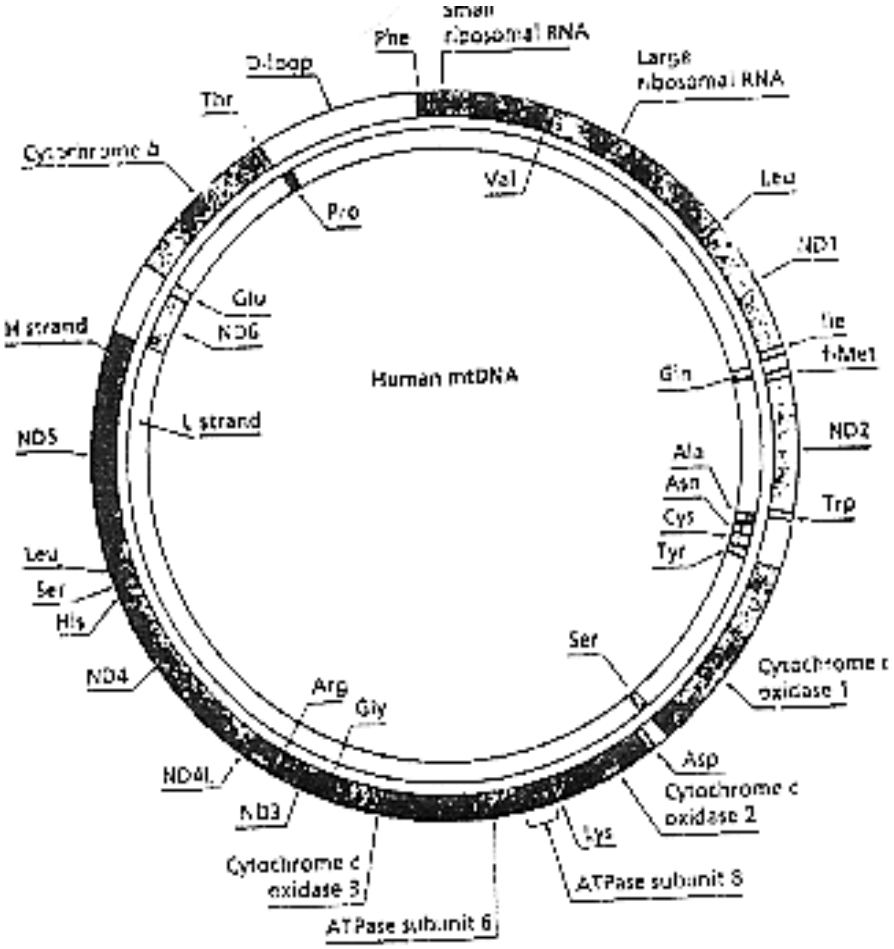
مواد ژنتیکی از طریق والدین به فرزندان و بر اساس اصول قابل پیش‌بینی که قوانین وراثت خوانده می‌شوند، منتقل می‌شود. در تولید مثل جنسی، فرزندان نیمی از DNA خود را از هر یک از والدین خود به ارث می‌برند. بنابراین در یک جانور دیپلوئید انتقال نیمی از ماده وراثتی بدین معناست که در هر لوکوس یک آلل از طریق مادر و آلل دیگر توسط پدر منتقل می‌شود. این گونه وراثت را وراثت دو والدی[4] گویند. با این وجود در موجودات تولید مثل کننده به طریقه جنسی نیز بخش‌هایی از DNA وجود دارد که به روش مذکور به فرزندان منتقل نمی‌شود. دو دسته مهم از این گونه موارد استثنایی، ژنوم‌های اندامکی شامل میتوکندری (mtDNA) و پلاستیدها نظیر کلروپلاست (cpDNA) می‌باشد. مواد ژنتیکی مذکور در خارج از هسته سلول واقع شده‌اند (فریلند، ۲۰۰۵). میتوکندری از اندامک‌های موجود در گیاهان و جانوران است که در تجزیه چربی‌ها و قندها فعال بوده و اهمیت بالایی در تنفس دارند. کلروپلاست که در گیاهان یافت می‌شود، حاوی کلروفیل است و نقش مؤثری در فتوسنتز دارد. ژنوم اندامک‌ها اغلب حاوی یک مولکول DNA واحد بوده و هر ژن معمولاً فقط یک بار تکرار شده است (بر خلاف ژن‌های موجود در هسته که ممکن است چندین بار تکرار شوند). میتوکندری و کلروپلاست فقط در ساخت پروتئین‌های مورد احتیاج و واکنش‌های ضروری مانند تنفس و فتوسنتز نقش دارند. تعداد محل‌های غیر رمزدار کمی در میتوکندری و کلروپلاست وجود دارد. میتوکندری‌ها بیش‌تر از یک میلیون سال پیش منشأ گرفته و احتمالاً از ورود باکتری‌هایی با زندگی آزاد به عنوان همزیست درون‌سلولی به داخل سلول‌های یوکاریوت شکل گرفته‌اند. اندازه ژن‌های موجود روی

[1] Genome
[2] Locus
[3] Page & Holmes
[4] Biparental inheritance

DNA میتوکندریایی بسیار متفاوت است. اندازه ٤ ژن اصلی موجود در روی ژنوم میتوکندریایی از ٦ کیلوباز تا بیشتر از ۲۰۰۰ کیلوباز متغیر است (شکل ۱-۲). در حیوانات و گیاهان، میتوکندری‌ها اغلب از طریق سیتوپلاسم سلول تخم به نسل بعدی منتقل می‌گردند زیرا سلول اسپرم دارای سیتوپلاسم کمی می‌باشد. این موضوع باعث می‌گردد هیچ‌گونه نوترکیبی در DNA میتوکندریایی وجود نداشته باشد، هم‌چنین ۱۰ برابر بیشتر از DNA درون هسته تکامل پیدا می‌کنند که این مسأله باعث می‌گردد به طور گسترده در سیستماتیک و ژنتیک مولکولی جمعیت مورد مطالعه قرار گیرند (دارنل[1] و همکاران، ۱۹۹۰).

ژنوم کلروپلاست معمولاً خیلی بزرگ‌تر از DNA میتوکندریایی بوده و اندازه آن حدود ۱۲۰ تا ۲۲۰ کیلوباز می‌باشد. اغلب کلروپلاست‌ها ژن‌های مشابهی را حمل می‌کنند. همانند ژنوم میتوکندری، نواحی بین ژنی فقط در بخشی از ژن‌های کلروپلاست وجود دارد. ژن‌های کلروپلاست حدود ٤ تا ۵ برابر کندتر از ژن‌های موجود در هسته ولی ۳ برابر سریع‌تر از ژن‌های میتوکندریایی در داخل گیاه تکامل پیدا می‌یابند و همین امر باعث می‌شود که کاربرد بالایی در مطالعات سیستماتیک داشته باشند (هیراتسوکا[2] و همکاران، ۱۹۸۹؛ کندرو[3]، ۱۹۹٤).

[1] Darnell
[2] Hiratsuka
[3] Kendrew



شکل ۱-۱ ژنوم میتوکندریایی پستانداران و ژن‌های متفاوتی که روی دو نوار DNA واقع شده‌اند.

۱-۲-۳ انواع نشانگرها

۱-۲-۳-۱ نشانگرهای مورفولوژیک

این نشانگرها شامل دامنه وسیعی از ژن‌های کنترل‌کننده‌ی صفات فنوتیپی هستند و جزء نخستین نشانگرها به شمار می‌آیند و از زمان‌های بسیار دور یعنی از زمانی که محل ژن‌ها بر روی کروموزوم مشخص شد، مورد استفاده قرار می‌گرفتند (نقوی و همکاران، ۱۳۸٦).

۱-۲-۳-۲ نشانگر ژنتیکی

هر صفتی که بین افراد متفاوت باشد، ناشی از تفاوت موجود بین ردیف DNA کروموزوم‌های آن‌هاست که به نتاج نیز منتقل می‌شود. حتی صفاتی که تحت تأثیر شرایط محیط نیز به صورت متفاوت بروز می‌کنند، بازتاب تفاوت‌های موجود در ردیف DNA هستند. این تفاوت‌ها می‌توانند به عنوان نشانه یا نشانگر ژنتیک به کار گرفته شوند که مشتمل بر نشانگرهای مولکولی DNA و RNA و نشانگرهای پروتئینی هستند (نقوی و همکاران، ۱۳۸٦).

۱-۲-٤ انتخاب نشانگر مناسب

نشانگرهای مولکولی ابزارهایی برای تولید داده هستند. بنابراین برای موفقیت در تولید داده‌های مناسب باید نشانگر مناسب را انتخاب کنیم. لذا قبل از انتخاب یک نشانگر آشنایی با خصوصیات اصلی آن لازم است (فریلند، ۲۰۰۵). بنابراین با توجه به ویژگی‌های نشانگرها که شامل هدف از کاربرد نشانگرها، دسترسی به نشانگر، سهولت کاربرد و تفسیر نتایج و تکرارپذیری، عدم استفاده از مواد خطرناک مانند مواد پرتوزا، هزینه‌ی کاربرد نشانگرها، فراوانی تنوع و تفاوت، توارث هم‌بارز، پراکنش و توزیع متعادل در کل ژنوم و تکرارپذیری زیاد است، بررسی مورد به مورد نشانگرها و هدف محقق باید به انتخاب نشانگر مناسب هر برنامه مبادرت ورزید. البته هیچ یک از نشانگرها به تنهایی همه‌ی ویژگی‌های یاد شده را ندارند. با وجود این بر اساس امکانات و هدف می‌توان نشانگری را که دارای بیش‌تر این ویژگی‌ها باشد، برگزید (نقوی و همکاران، ۱۳۸٦).

۱-۳ ضرورت تحقیق

انتظار می‌رود تا پایان قرن جاری حدود نیمی از گونه‌های گیاهی و جانوری موجود در کره زمین منقرض شوند. این کاهش اسف‌بار تنوع زیستی"بحران انقراض" نامیده شده است و به طور عمده ناشی از فعالیت‌های انسان است (رایت[1]، ۱۹۷۷). جلوگیری از انقراض، مستلزم حفاظت از تنوع زیستی می‌باشد، که سطوح متفاوتی را از قبیل حفاظت از تنوع فرایندهای اکولوژیکی، حفاظت از تنوع اکوسیستم، حفاظت از گونه و حفاظت از تنوع ژنتیکی در بر می‌گیرد (پیتون و همکاران، ۲۰۰۵).

فرایندهای بوم‌شناختی از برهم‌کنش عوامل زیستی و غیرزیستی ایجاد می‌شود و جهت حفظ آن‌ها باید تنوع در اکوسیستم در بالاترین سطح، نگه داشته شود و به این منظور باید تنوع در سطح گونه را حفظ نمود که لازمه‌ی آن حفاظت از گونه است. برای اینکه حفاظت در سطح گونه امکان‌پذیر باشد، باید اندازه جمعیت حداکثر بوده و همبستگی مثبت با تنوع ژنتیکی کل جمعیت داشته باشد. کاملاً بدیهی است که یک جمعیت با تعداد افراد زیاد، تنوع فنوتیپی بزرگ‌تری نسبت به یک گروه کوچک دارد (رایت، ۱۹۷۷). پس در این مورد باید به علم گسترده و تکمیل‌کننده‌ی قوانین حفاظت گونه که ژنتیک حفاظت نام دارد، روی آورد (استیفن[2] و همکاران، ۲۰۰۱).

امروزه یکی از راه‌های حفاظت گونه علاوه بر حفظ اکوسیستم، حفظ ذخایر ژنی آن می‌باشد که توسط ژنتیک حفاظت صورت می‌گیرد. ژنتیک حفاظت یک علم گسترده و تکمیل‌کننده‌ی قوانین حفاظت گونه‌هاست که در راستای نیل به چنین هدف بزرگی معمولاً موضوعات بسیار مختلفی در آن بررسی می‌شود که از آن جمله تفاوت‌های ژنتیکی بین جمعیت‌ها و گونه‌ها، پدیده‌های انتخاب جفت، آزمون رابطه والدی- فرزندی، جریان ژنی بین جمعیت‌ها، دورگ‌سازی آرایه‌ها و روابط رده‌بندی بین آرایه‌های بالاتر را در بر می‌گیرد (هدریک[3]، ۲۰۰۱).

یکی از اهداف مهم کسانی که در مورد ژنتیک حفاظت فعالیت می‌کنند، توصیف وضعیت تنوع ژنتیکی موجود در گیاهان و جانوران است. تنوع ژنتیکی جهت حفظ تنوع زیستی موجود در گونه‌ها، جمعیت و اکوسیستم‌ها و حتی در آن‌چه که تنوع آللی نامیده می‌شود و درصد هتروزیگوتی را به وجود می‌آورد، ضروری می‌باشد. درصد هتروزیگوتی یافت شده در یک فرد با یک جمعیت، تعداد

[1] Wright
[2] Stephen
[3] Hedrick