دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

دانشکده شیلات و محیط زیست، مرتع و آبخیزداری

شناسایی گونه‌های گیاهخوار خانواده‌های گوزن، گاوسان وگراز بر اساس پلی‌مورفیسم طول ژن ناحیه کنترل میتوکندری

مقطع کارشناسی ارشد

رشته علوم محیط زیست

استاد راهنما: حمیدرضا رضایی

دانشجو: سالومه بازیان

بهار 1390

دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

دانشکده شیلات و محیط زیست، مرتع و آبخیزداری

عنوان: شناسایی گونه‌های گیاهخوار خانواده‌های گوزن، گاوسان وگراز بر اساس پلی‌مورفیسم طول ژن ناحیه کنترل میتوکندری

مقطع کارشناسی ارشد

رشته علوم محیط زیست

دانشجو: سالومه بازیان

استاد راهنمای اول: حمیدرضا رضایی

استاد راهنمای دوم: سید محمود عقیلی

استاد مشاور: علی شعبانی

بهار 1390

بسم الله الرحمن الرحيم

تقدیم به تمامی کسانی که زیستن را برپایه احترام و حفاظت و حمایت از جهان هستی و آگاهی از ارزش‌های طبیعت، سرلوحه زندگی پر بار خود نموده‌اند.

با تشکر از

استاد گرامی جناب آقای دکتر حمیدرضا رضایی و همچنین همکار گرامی آقای وحید زمانی که در تهیه نمونه‌ها و فعالیت‌های آزمایشگاهی زحمات فراوانی کشیده اند و سپاس از خانم مهرنوش اسماعیل زاده که در تایپ و ویرایش پایانامه مرا یاری نمودند.

فهرست مطالب

فهرست مطالب.....آ

فهرست اشکال.....ج

فهرست جداول.....د

چکیده.....ه

مقدمه.....1

سابقه تحقیق.....2

هدف.....4

- کاربردهای ژنتیک در آزمایشات محیط زیست.....5

مواد و روشها.....6

- مشخصات ظاهری گونه های مورد مطالعه.....6

گراز.....6

خانواده گوزن.....7

مرال.....7

گوزن زرد ایرانی.....8

شوکا 8

خانواده گاو.....12

آهوی ایرانی.....12

جبیر.....12

پازن.....15

قوچ اوریال.....15

- پلی‌مورفیسم.....17
- پی‌سی‌آر.....17
فرآیند پی‌سی‌آر.....18
آنالیز محصولات پی‌سی‌آر.....19
- ژل الکتروفورز.....20
- طراحی پرایمر.....20
- ردیابی و آنالیز محصولات پی‌سی‌آر.....21
- دانای میتوکندری.....21
روش آماری و شیوه نمونه‌برداری.....23
- روش تجزیه و تحلیل.....23
نتایج.....27
بحث و نتیجه‌گیری.....29
پیشنهادات.....31
چکیده انگلیسی.....32
فهرست منابع.....33

فهرست شکل‌ها

شکل 1: گراز..... 10

شکل 2: مارال..... 10

شکل3: گوزن زرد ایرانی..... 11

شکل4: شوکا..... 11

شکل5: آهوی ایرانی..... 14

شکل6: جبیر 14

شکل7: پازن..... 16

شکل8: قوچ اوریال..... 16

شکل9: دی‌ان‌ای میتوکندری..... 21

شکل 10: دستگاه سانتریفیوژ..... 26

شکل 11: تیوب‌های مخصوص پی‌سی‌آر..... 26

شکل 12: دستگاه ترمو سایکلر 26

شکل 13: ژل آگاروز..... 26

شکل14: تصویر باندهای ایجاد شده بر روی ژل الکتروفورز..... 27

شکل15: مقایسه طول ناحیه کنترل میتوکندری در نمونه‌های قوچ اوریال و قوچ ارمنی..... 29

شکل 16: مقایسه طول ناحیه کنترل میتوکندری در جمعیت‌های مختلف قوچ اوریال و قوچ ارمنی..... 30

فهرست جداول

جدول شماره1: مناطق نمونه‌گیری از گونه‌های مورد مطالعه.....6

جدول شماره2: طول باندهای ایجاد شده برای هر نمونه بر روی ژل الکتروفورز.....28

جدول شماره 3: طول حلقه دی در گونه‌های مشابه نمونه‌های مورد مطالعه در ژن بانک جهانی.....29

چکیده:

گونه‌های راسته زوج‌سمان به ویژه خانواده‌های گوزن و گاو کاهش جمعیتی نسبتا شدیدی را در اثر شکار غیر قانونی تجربه کرده‌اند. در بسیاری از موارد شناسایی اعضای بدن و بافت‌های مکشوفه از شکارچیان متخلف میسر نیست و این امر اثبات تخلف صورت گرفته را با مشکل مواجه می‌کند. هدف از این تحقیق ارائه روشی ملکولی بر مبنای دی‌ان‌ای میتوکندری (mtDNA) برای شناسایی گونه‌های خانواده گوزن، گاو و گراز می‌باشد. به منظور اجرای این تحقیق نمونه‌های بافت از چهار گونه زوج‌سم خانواده گاو شامل قوچ اوریال (*Ovis vignei*)، آهو (*Gazella subgutturosa*)، جبیر (*Gazella bennettii*) و پازن (*Capra aegagrus*)، سه گونه از خانواده گوزن، مرال (*Cervus elaphus maral*)، گوزن زرد ایرانی (*Dama dama mesopotamica*)، شوکا (*Capreolus capreolus*) و یک گونه از خانواده خوک، گراز (*Sus scrofa*) تهیه و پس از استخراج دی‌ان‌ای با کمک پرایمر طراحی شده برای این کار و انجام واکنش زنجیره پلی‌مراز (پی‌سی‌آر) قطعه‌ای از ژن مذکور جداسازی و تکثیر شد. طول قطعات جدا شده از هر گونه به کمک الکتروفورز بر روی ژل اندازه‌گیری شد. در نمونه‌های مورد بررسی اندازه طول قطعه جدا شده متفاوت بود که می‌تواند در شناسایی گونه‌های مذکور بسیار مفید باشد.

مقدمه

دردنیای امروز که تمامی تلاش بشر در جهت بقای نسل خود می‌باشد، هر روز شاهد قربانی شدن طبیعت برای دستیابی به امکانات بهینه و نایل شدن به خواسته‌های گذرا و در عین حال مخرب‌تر از قبل هستیم غافل از اینکه در آینده‌ای نه چندان دور دیگر طبیعتی برای پایداری نسل انسان وجود نخواهد داشت. نابودی جنگل‌ها، تخریب زیستگاه‌های حیات‌وحش و تغییر کاربری اراضی، وارد نمودن آلاینده‌های مخرب محیط زیست، مدیریت‌های اشتباه در زمینه حیات‌وحش، عدم حمایت صحیح از گونه‌های در معرض خطر انقراض و اساسا تمام گونه‌های طبیعی و صدها مورد دیگر اثری فزاینده را در نابودی محیط‌زیست در پی دارد. آشکار است که هر چه سریع‌تر در جلوگیری از انهدام طبیعت اقدام شود و با تکیه بر شناخت ژرفای اکولوژی و درک آن، از بروز تخلفات و تصمیمات اشتباه اجتناب شود. یکی از مهم‌ترین بحث‌ها در زمینه حفاظت، آشنایی کامل با بوم‌شناسی گونه می‌باشد. در این راستا شناسایی خود گونه در طبیعت که نقش ویژه‌ای را در برآورد چگونگی وضعیت و متعاقب آن نرخ انقراض و یا ماندگاری گونه در طبیعت ایفا می‌کند، در الویت قرار دارد. در تشخیص گونه حیات‌وحش از روش مشاهده مستقیم تا بررسی‌های آزمایشگاهی استفاده می‌شود که بسته به عادات رفتاری گونه در طبیعت، مانند شب‌زی بودن، گونه‌های فراری و یا آن‌هایی که زیستگاهشان زیر زمین یا آب‌های آزاد می‌باشد، می‌تواند متفاوت باشد. امروزه در بسیاری از مطالعات میدانی جهت شناسایی گونه حیات‌وحش از روش‌های مولکولی استفاده می‌شود. برای این منظور، نمونه‌ای از بدن جانور شامل بافت‌های عضلانی، پوست، مو، پر و یا خون گرفته شده و دی‌ان‌ای آن استخراج می‌گردد. سپس بر اساس توالی‌سنجی و ترتیب قرار گرفتن بازهای آلی در یک ژن می‌توان گونه را شناسایی نمود. با توجه به اینکه ممکن است گونه مورد نظر، گونه‌ای نادر و کمیاب باشد و یا امکان به دست آوردن نمونه‌های بافت یا خون برای گونه وجود نداشته باشد و یا به وسایل و تجهیزات ویژه‌ای نیاز باشد، امروزه روش‌های جدیدی برای استفاده در مطالعات مولکولی یا ژنتیکی ابداع شده است که به روش‌های غیر مستقیم مشهورند. در این روش‌ها نمونه‌های زیستی مانند مدفوع و یا ادرار مورد استفاده قرار می‌گیرد که بدین منظور دی‌ان‌ای موجود در این نمونه‌ها استخراج می‌شود (تبرلت و همکاران، 1999[1]). در بسیاری از مواقع، نمونه‌هایی از بافت یا مدفوع که از طبیعت به دست آمده‌اند، با روش‌های معمول قابل شناسایی نیستند. گرچه استفاده از روش‌های پیچیده مولکولی می‌تواند در این امر کارساز باشد ولی این روش‌های علاوه بر هزینه‌های سنگین نیاز به ابزار پیچیده‌ای نیز دارد. در این مطالعه سعی بر این است که بر اساس اختلاف اندازه پلی‌مورفیسم طول یکی از ژن‌های میتوکندریایی در گونه‌های مختلف، به شناسایی گونه در نمونه‌های مخلوط و یا ناشناس دست یابیم که روشی دقیق و مطمئن می‌باشد (آلیس والنتینی و همکاران، 2008[2]؛ میتانی و همکاران، 2009[3]؛ رویتر و همکاران، 2009[4]).

1- Taberlet
2- Valentini b
3- Mitani

در این رابطه سوالات زیر بیان می‌شود:

1- آیا می‌توان گونه‌های گیاهخوار خانواده‌های گوزن، گاو و گراز را با استفاده از روش پلی‌مورفیسم طول ناحیه کنترل میتوکندری شناسایی کرد؟
2- آیا از روش شناسایی مولکولی می‌توان در زمینه شناسایی مجرمان محیط زیستی بهره گرفت؟
3- آیا می‌توان از روش پلی‌مورفیسم طول ناحیه کنترل میتوکندری در تشخیص نمونه‌های مخلوط یا غیر قابل شناسایی استفاده کرد؟
4- آیا بکارگیری این روش در ردیابی منطقه پراکنش گونه به دست آمده موثر است؟

سابقه تحقیق

توالی منحصر بفرد دی‌ان‌ای که در تمام موجودات مشاهده می‌شود، می‌تواند به عنوان یکی از نشانگرهای زیستی برای ردیابی سلول‌های گونه‌های جانوری و گیاهی مورد استفاده قرار گیرد؛ این توالی به راحتی بوسیله واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ردیابی می‌شود و اجازه می‌دهد که توالی‌های بسیار کوچکی از دی‌ان‌ای مورد نظر، حتی اگر در ترکیب با دی‌ان‌ای دیگر گونه‌ها باشد، تکثیر و شناسایی شود. این اصل بطور گسترده در تشخیص قانونی گونه‌ها (مانند بیکر و پالومبی،[5]1994؛ هولزل،2001[6])، انگل شناسی (مانند زارلنگا وهیگینز،2001[7]؛ کوینترو بتانکورت و همکاران، 2002[8])، تشخیص‌های طبی (مانند ماگوپین و همکاران، 2002[9])، و اکولوژی میکروبی (مانند ترون و کلوئت، 2000[10]؛ ویرینگا و همکاران، 2000[11])، کاربرد دارد. سکانس دی‌ان‌ای حتی نسبت به روش‌های سنتی تاکسونومیک، به عنوان ابزاری برای تشخیص ماکرو ارگانیسم‌های کامل، پذیرفته شده است. روش‌های مختلفی برای واکنش زنجیره ای پلیمراز بر پایه تشخیص گونه‌ها وجود دارد که شامل ایجاد پرایمرهای پی‌سی‌آر خاص گونه، استفاده از پرایمرهای پی‌سی‌آر جهانی ترکیبی با پیوند زدن، برای توالی‌های مشتق شده از گونه معین، استفاده از پرایمرهای جهانی پی‌سی‌آر ترکیبی هم در ترکیب با مشتقات الکتروفورز دیگر محصولات پی‌سی‌آر یا کلون و سکانس کردن تولیدات پی‌سی‌آر (جارمن و همکاران، 2004[12]) می‌باشد. تشخیص گونه‌ها از روش مولکولی و بارکدگذاری دی‌ان‌ای از سال 1993 در مقاله‌ای که از سوی مجامع علمی زیاد مورد توجه قرار نگرفته بود، بکار برده شد. عصر طلایی بارکدگذاری دی‌ان‌ای از سال 2003 آغاز شده که منطقه ژنی پیشنهاد شده، ژن‌های کدگذاری شده میتوکندری بود و از آن در تشخیص گونه‌های جانوری استفاده

4- Reuter
5- Baker & Palumbi
6- Hoelzel
7- Zarlenga & Higgins
8- Quintero-Betancourt
9- Manguin
10- Theron & Cloete
11- Wieringa
12- Jarman

می‌شود و برای گیاهان این وضعیت جای بحث دارد و از منطقه‌ای در کلروپلاست یا ترکیبی از مناطق مختلف در تشخیص نوع گونه استفاده می‌شود (والنتینی و همکاران، 2008). آنالیز سکانس‌های دی‌ان‌ای میتوکندری، شامل سکانس همه یا بخشی از یک ژن میتوکندری است، عموما 16 اس و 12 اس و یا ژن سیتوکروم *b*، که با سکانس‌های شناخته شده در ژن بانک مقایسه می‌شوند (والنتینی و همکاران، 2008[۱۳]). این تکنیک مورد قبول واقع شده ولی مشکلات زیادی نیز دارد: هزینه براست، به زمان و نیروی کار زیاد در طی مرحله اضافی تولیدات سکانس نیاز دارد؛ نمونه‌های ترکیبی از چند گونه قابل جدا شدن نیستند و نمونه‌های تخریب شده نمی‌توانند اطلاعات کافی سکانس را تولید کند (توب و لیناکر، 2007[۱۴]). تاکنون آنالیز سکانس‌های دی‌ان‌ای میتوکندری روش‌های استانداردی را برای تشخیص گونه ارایه کرده که بیشتر تاکید آن بر روی ژن سیتوکروم *b* است. سرعت بالا در فرآیند بدون ایجاد ترکیبی جدید در دی‌ان‌ای میتوکندری و تکثیر بالای هر سلول در مقایسه با دی‌ان‌ای هسته، امکان تشخیص گونه را فراهم می‌آورد. استفاده از سیتوکروم *b* وابسته به نیازهایی برای تشخیص گونه است: تغییرات زیاد در بین گونه‌ها، در دسترس بودن پرایمرهای جهانی برای هر گونه مهره‌دار، و میزان زیادی از دی‌ان‌ای سکانس شده در پایگاه اطلاعات می‌باشد. با توجه به تغییر پذیری محدود سیتوکروم *b* در منطقه کدگذاری شده، محدودیت اصلی آن (همانند دیگر مناطق میتوکندری که برای تشخیص گونه بکار می‌رود، مانند آران‌ای 16 اس و 12 اس و سیتوکروم c اکسیداز)، درعدم تمایز گونه‌های بسیار نزدیک به هم است. علاوه برآن دیگر محدودیت در اندازه هر یک از ژن‌ها است که در تمام سویه‌های مهره‌داران یکسان است و این مانع از تمایز به وسیله سکانس مستقیم دی‌ان‌ای گونه‌های مختلف، در زمان استفاده از پرایمرهای جهانی در طی واکنش پی‌سی‌آر، در نمونه ترکیبی می‌شود.

روش‌های پیشنهادی گسترش یافته برای تشخیص گونه‌ها در یک ترکیب، مانند استفاده از جایگاه‌های پرایمر ویژه گونه، تحت یک سری محدودیت‌ها قرار دارد که وابسته به تشخیص اولیه و محدودی از گونه است. اگر چه دیگر روش‌ها (مانند چینش ذره‌ای دی‌ان‌ای یا کلون کردن سکانس‌ها)، در اصل راه حل‌های قابل اطمینانی را برای تصمیم‌گیری در مخلوط های ترکیبی محصولات پی‌سی‌آر دارد، این روش‌ها نیاز به زمان زیاد و یا هزینه مشخصی خواهد داشت و بطور گسترده‌ای برای تشخیص گونه‌ها در نمونه‌های تغذیه‌ای و قانونی استفاده نمی‌شود (پان و همکاران، 2009[۱۵]؛ هگ وستمین و جارمن، 2008[۱۶]).

برعکس، ناحیه کنترل کدگذاری نشده دی‌ان‌ای میتوکندری[۱۷]، که در مهره‌داران "دی-لوپ" یا "حلقه دی"[۱۸] نامیده می‌شود و مناطق چندین متغیره در انسان، معمولا نسبت به سایر مناطق کدگذاری شده

13- Valentini b
14- Tobe and Linacre
15- Pun
16- Vestheim and Jarman a
17- mtDNA control region
18- d-loop (displacement-loop)

پروتیین میتوکندری به دلیل نداشتن محدودیت‌هایی در انتخاب، برای استنتاج موثرتر هستند. بنابراین سکانس اطلاعات از ناحیه کنترل، نسبت به سیتوکروم b و دیگر مناطق کد شده میتوکندری برای تشخیص گونه‌های بسیار نزدیک، مناسب‌تر است. جالب توجه اینکه ناحیه کنترل به وسیله طول پلی‌مورفیسم ویژه، بر اساس توالی‌های ثابت و چینش سکانس‌های تکراری پشت سر هم شناخته می‌شود. این چینش پشت سر هم می‌تواند دارای طولی در حدود چند صد جفت باز باشد که طول‌های متفاوتی را در ناحیه کنترل در گونه‌های مختلف ایجاد می‌کند. اگر چه کاربرد اطلاعات سکانس ناحیه کنترل در تشخیص گونه‌ها تاکنون محدودیت‌هایی داشته است ولی در مطالعات ژنتیک عمومی و تکاملی رایج است. نمونه‌های گرفته شده به عنوان مثال می‌تواند بزاق دهان یا لکه‌های خون پیدا شده بر روی چاقو یا لباس، غذای فرآوری شده، نمونه‌های آلوده یا در شرایطی که پس از مرگ حیوان رو به رو هستیم، باشد (پان و همکاران، 2009[19]).

فرضیه‌ها

1. گونه‌های گیاهخوار خانواده‌های گوزن، گاو و گراز را به وسیله پلی‌مورفیسم طول ژن ناحیه کنترل میتوکندری می‌توان تشخیص داد.
2. اطلاعات به دست آمده از طریق پلی‌مورفیسم طول ژن ناحیه کنترل میتوکندری می‌تواند در شناسایی نمونه‌های مخلوط یا غیر قابل شناسایی از لحاظ ریخت شناسی، مورد استفاده قرار گیرد.
3. مناطق پراکنش گونه‌ها را با نمونه‌های گرفته شده از ایستگاه‌های نمونه گیری می‌توان مشخص کرد.
4. از روش پلی‌مورفیسم طول ناحیه کنترل میتوکندری می‌توان در جرم شناسی محیط‌زیست بهره گرفت.

هدف

اگرچه بیشتر کارهای انجام شده در زمینه مباحث جرمشناسی بر مبنای ژنتیکی، کاربرد انسانی داشته است، سرمایه‌گذاری روی جرایم حیات‌وحش زمینه‌ای رو به رشد را در تجزیه و تحلیل‌ها نشان می‌دهد. بطور مشخص، اقدامات قانونی و سرویس‌های مدیریت حیات‌وحش ممکن است به تشخیص نمونه‌های گیاهی یا جانوری که بر اثر کشتارهای انسانی و نمونه‌های جنایی، شکار غیر قانونی و تجارت گونه‌های حمایت شده، تصادفات جاده‌ای حیوانات، حملات و تجاوزات حیوانی و جستجوهای تغذیه‌ای بدست آمده، نیاز داشته باشند. زمانی که تحلیل ریخت‌شناسی به نتیجه نرسد، یا زمانی که با قسمتی از بدن یا محصول مشتق شده آن سر و کار داریم، روش‌های مولکولی تنها راه تشخیص صحیح گونه است (پان و همکاران، 2009). در این تحقیق سعی بر آن است از روش‌های تشخیص گونه که شامل شناخت بر پایه

19- Pun

طول پلی‌مورفیسم ژن ناحیه کنترل دی‌انای میتوکندری می‌باشد، استفاده شود. در این روش به کمک یکی از زوج پرایمرهای جهانی در پلی‌مورفیسم، طول نمونه‌های شناخته شده را تعیین نماییم. نتایج این بخش می‌تواند در شناسایی نمونه‌های مختلط یا ناشناخته ما را یاری نماید (سوجیموتو و همکاران، 2005[20]).

کاربردهای ژنتیک در آزمایشات محیط‌زیست

پی‌سی‌آر روش‌های پایه علمی و تحقیقات پزشکی را، به آزمایشات محیط زیستی قانونی و پزشکی، بدل کرده است. طیف گسترده‌ای از ابزارها را برای تحقیقات علمی فراهم کرده و در هر تحقیق آزمایشگاهی زیست‌شناسی اکنون به طور روزمره از پی‌سی‌آر استفاده می‌شود؛ پی‌سی‌آر برای تکرار آنالیز دی‌انای مانند تشخیص بیماری‌های ژنتیکی مشخص در آزمایشگاه‌های بررسی کلینیکی، جایی که سرعت و دقت مهم‌ترین عوامل هستند، و همچنین برای تشخیص نمونه‌ها در موارد قانونی و آزمایشات محیط زیستی، یک ابزار لازم و ضروری است. به طور مشخص پی‌سی‌آر ابزار مرکزی در تحلیل و کشفیات اطلاعات توالی ژنوم شده است.

در بعضی موارد پی‌سی‌آر فراهم کننده شرایط پیشنهادی را برای تکثیر ژن است، اما در دیگر موارد فقط ابزارهای تکمیل کننده را مهیا می‌کند. در تکثیر ژن یک قطعه کوچک از دی‌انای به وسیله اتصال به یک حامل تکثیر که قادر به تکثیر در سلول میزبان است مانند باکتری اشرشیاکلی ترکیب می‌شود. همان طور که باکتری بزرگ می‌شود ترکیب تازه‌ای از مولکول دی‌انای به وسیله رونوشت دی‌انای کپی می‌شود و همانطور که سلول تقسیم می‌شود تعداد سلول‌هایی که آن مولکول ترکیبی را حمل می‌کند افزایش می‌یابد (مک پرسون و مولر، 2006[21]). سرانجام وقتی که تعداد کافی از سلول در دسترس باشد می‌توان مولکول-های ترکیبی دی‌انای را برای فراهم کردن دی‌انای کافی برای تجزیه تحلیل یا ساخت قطعات دی‌انای بیشتر جدا کنیم. این نوع از تکثیر حدود 2 تا 3 روز به طول می‌انجامد. پی‌سی‌آر همچنین قطعه دی‌انای هدف را که برای کارهای آزمایشگاهی و تجزیه تحلیل نیاز است، تکثیر می‌کند، اما در این مورد رونوشت دی‌انای در تیوپ آزمایشی انجام می‌شود و معمولا بیشتر از 1 تا 3 ساعت طول نمی‌کشد.

بر اساس موارد مندرج در بالا، تشخیص گونه‌ها در طبیعت نه تنها در مطالعات بوم‌شناسی مفید هستند، بلکه از آن می‌توان در جرایم حیات‌وحش و دستگیری متخلفین و شکارچیان غیر قانونی یاری جست. محققین که در زمینه بوم شناسی جمعیت حیات وحش مطالعاتی انجام می‌دهند و همچنین سازمان حفاظت محیط زیست و دادگاه‌ها می‌توانند از نتایج این پژوهش استفاده نمایند.

20- Sugimoto
21- McPherson & Møller

مواد و روش‌ها

مشخصات ظاهری گونه‌های مورد مطالعه

گونه‌های مورد مطالعه در این تحقیق از راسته زوج‌سمان هستند و این راسته شامل پستانداران سم شکافته یا زوج سمی است که در ایران دارای سه خانواده است که عبارتند از گراز، گوزن و گاو. گونه‌های وحشی این خانواده‌ها شامل گراز، گوزن زرد، مرال، شوکا، آهو، جبیر، پازن وقوچ و میش‌های اوریال و ارمنی می‌باشند. هنچنین گونه‌های اهلی هم از زوج‌سمان در ایران یافت می‌شوند که توسط انسان نگهداری می‌شوند. این گونه‌ها عبارتند از گوسفند، بز، گاو و شتر. در این مطالعه تاکید بیشتر بر روی گونه‌های وحشی بوده است ولی نمونه‌هایی نیز برای مقایسه با آن‌ها از برخی گونه‌های اهلی گرفته شده است.

جدول شماره 1: مناطق نمونه‌گیری از گونه‌های مورد مطالعه

نمونه	محل نمونه گیری	گونه
بافت	استان خراسان رضوی	جبیر
بافت	استان خراسان رضوی	آهو
بافت	استان گلستان	شوکا
بافت	استان گلستان	مرال
بافت	استان مازندران	گوزن زرد ایرانی
بافت	استان گلستان	گراز
بافت	منطقه حفاظت شده جهان نما	پازن
بافت	استان خراسان شمالی، گلستان	قوچ اوریال

گراز[۲۲]:

چهار انگشت در هر پا و معده دو قسمتی دارد؛ همه چیز خوار و بدنش پوشیده از موهای بسیار زبر است. این گونه به تعداد بیشتری در مناطق شمالی و جنگل‌ها مشاهده می‌شود، ولی در بیشه‌های کنار رودخانه‌ها باغ‌ها و تالاب‌ها و بلکه در تمام کشور و به طور خلاصه هر جا آب کافی و پناهگاه باشد قادر به ادامه حیات است. حیوانی است بزرگ و نر آن تا نزدیک به 200 کیلوگرم وزن دارد. دندان‌های نیش قوی و بلند دارد که برای دفاع و مخصوصا زیر و رو کردن خاک برای یافتن ریشه گیاه به کار گرفته می‌شود به همین دلیل از نظر اکولوژی عملا حیوان مفیدی است زیرا علاوه بر مخلوط کردن خاک جنگلی

22- *Sus scrofa*

خوراک بعضی از حیوانات دیگر را در دسترس قرار می‌دهد (فیروز، 1378). گرازها از اجداد خوک اهلی هستند و می‌توانند با آنها جفت‌گیری کنند. طول عمر گراز حدود 20 سال است. دشمنان طبیعی زیادی نظیر پلنگ، خرس، گرگ، سیاه‌گوش دارد و نسبت به بیماری‌ها نیز حساس است ولی به علت تطابق با محیط‌های مختلف، استفاده از مواد غذایی متنوع، قدرت استتار خوب، تعداد زیاد بچه و نیز عدم شکار و استفاده از گوشت و پوست حرام شده آن، خطری جدی نسل‌شان را تهدید نمی‌کند. در بسیاری از مناطق به علت تخریب زیستگاه و شکار بی‌رویه جمعیت آنها بسیار تقلیل یافته و یا منقرض شده است (ضیایی، 2008) (شکل 1).

خانواده گوزن

شامل پستانداران نشخوار کننده با معده چهار قسمتی است شاخ این حیوانات با شاخ اعضای خانواده گاو ارتباطی ندارد، استخوانی و تو پر است و از استخوان جمجمه حیوان رشد می‌کند، همیشه منشعب به شاخک می‌شود که هر سال می‌افتد و شاخ جدیدی دوباره به جای آن رشد می‌کند. در طول مدت رشد، شاخ‌های مزبور را پوست مخمل مانندی می‌پوشاند که نقش تغذیه و تکامل شاخ را به عهده دارد. با کامل شدن رشد شاخ‌ها این پوست نیز خشک می‌شود و حیوان آن را با مالیدن به تنه و شاخه درخت می‌زداید. در ایران سه گونه از آن یافت می‌شود که عبارتند از مرال، گوزن زرد ایرانی و شوکا.

مرال[۲۳]:

محدوده‌ی زیستی مرال بخش خزری شمال ایران، کریمه، ترکیه و قفقاز می‌باشد و یکی از بزرگترین گونه‌های مورد نظر برای تروفه و شکار ورزشی است. و به دلیل شکار بی‌رویه و تخریب زیستگاه و کاهش کیفیت آن، جمعیت این گونه در خطر انقراض قرار گرفته است (کیابی و همکاران، 2004). وزن یک نر تنومند آن گاه به دویست و پنجاه کیلوگرم می‌رسد. شاخ مرال در پایان فصل زمستان می‌افتد و شاخهای جدید بلافاصله شروع به رشد می‌کنند و در آخر تابستان تکمیل و معمولا تا نه یا ده سالگی هر سال از سال قبل بزرگتر می‌شود (فیروز، 1378). معمولا شب‌گرد است. به صورت اجتماعی زندگی می‌کند. ترکیب گله در فصول مختلف متفاوت است. معمولا ماده‌ها، بچه‌ها، و نرهای نابالغ با هم و جدا از دستهٔ نرهای مسن زندگی می‌کنند. گاهی ماده‌های پیر یا بدون بچه با نرها مشاهده می‌شوند. نرهای پیر زندگی انفرادی را ترجیح می‌دهند. حس شنوایی و بویایی آن‌ها قوی است. به خوبی شنا می‌کنند. در تابستان و به خصوص در فصل جفت‌گیری، مرال‌ها علاقه زیادی به غلت زدن در لجن‌زارها دارند. معمولا در اواخر غروب از جنگل خارج می‌شوند، تا اوایل صبح در زمین‌های باز چرا می‌کنند و روزها در مناطق انبوه جنگلی به استراحت می‌پردازند. معمولا در اواسط شهریور ماه جفت‌گیری شروع می‌شود و تا اواسط مهرماه ادامه می‌یابد. در این فصل بین نرها جدال‌هایی جهت تعیین قلمرو و تشکیل حرمسرا در می‌گیرد و

23- *Cervus elaphus maral*

در اکثر مناطق زیست آن صدای نرها که به گاو بانک معروف است شنیده می‌شود. شکارچیان با تقلید این صداها مرال‌های نر را به جنگ می‌طلبند و از فاصله نزدیک آنها را شکار می‌کنند. معمولا در مناطق باز جفت‌گیری می‌کنند. دوره آبستنی حدود 250 روز است. یک و به ندرت دو بچه می‌زاید (ضیایی، 2008) (شکل2).

گوزن زرد ایرانی[۲۴]:

گوزن زرد ایرانی کمی بیشتر از چهل سال پیش توجه خاص محافل ایرانی و بین المللی را به خود جلب کرد. آن زمان که به نظر نمی‌رسید که این جانور در هیچ جای دیگر جهان وجود داشته باشد، در جنگل‌های کنار رودخانه دز و کرخه دوباره کشف شد. چند سال بعد نیز سازمان شکاربانی و نظارت بر صید، هشت راس از این حیوان را زنده گرفت و جهت تکثیر به پارک کوچک دشت ناز در مازنداران انتقال داد. برنامه مذکور خوشبختانه کاملا رضایت بخش بود و گونه‌ای که بیم نابودی کامل آن می‌رفت نجات یافت. در دهه اخیر نیز تعدادی از گوزن‌های زرد دشت ناز به جزیره اشک در دریاچه ارومیه و تعدادی به بیشه‌هایی در خوزستان و سایر نقاط کشور انتقال داده شد. شاخ اندازی گوزن زرد نیز مانند مرال در پایان سال است. (از اوایل اسفند به بعد) وزن نر بالغ به حدود 130 کیلوگرم می‌رسد گوزن زرد با رنگ زرد مایل آجری و خال‌های سفید کاملا متمایز است (فیروز، 1378). معمولا شب‌گرد است. صبح زود و اوایل غروب فعالیت بیش‌تری دارد. به صورت اجتماعی زندگی می‌کند. معمولا ماده‌ها، بچه‌ها و نابالغ‌ها در گروه‌هایی جدا از دستهٔ نرهای بالغ مشاهده می‌شوند. حس بینایی قوی‌تر از مرال است. به خوبی شنا می-کند. در محیط‌های طبیعی بسیار محتاط است و به مجرد احساس خطر با خیزهای بلند فرار می‌کند. گاهی نیز در میان بوته‌ها و درختان مخفی می‌شود. مهم‌ترین دشمن طبیعی آن گرگ و گربه جنگلی است (ضیایی، 2008). به علل مختلف نظیر تخریب زیستگاه و شکار بی رویه نسل آن شدیدا رو به کاهش بوده ولی در حال حاضر تا حدودی وضعیت آن بهتر شده است ولی هنوز در لیست جانوارن در معرض تهدید انقراض قرار دارد مخصوصا با خشک شدن آب دریاچه ارومیه که زیستگاه آن از حالت جزیره‌ای خارج شده و احتمال پراکنده شدن یک از اصلی‌ترین جمعیت‌های آن در منطقه و در نتیجه شکار بی‌رویه آن وجود دارد. (شکل 3).

شوکا[۲۵]:

شوکا کمابیش در محیط‌زیست مشابه مرال در جنگل‌های خزر به سر می‌برد. از وجود آن به تعداد کم در جنگل‌های شمال آذربایجان و کردستان نیز تا اواسط دهه 1350 حکایت می‌شد، و طبق بررسی‌های اخیر هنوز تعداد کمی شوکا در جنگل‌های اورامانات وجود دارد در واقع، مانند مرال، به واسطه

24- *Dama dama mesopotamica*
25- *Capreolus capreolus*

تخریب محیط‌زیست و شکار بی‌رویه، نسل این حیوان نیز رو به انقراض گراییده است. شوکا کوچک‌ترین گوزن از این خانواده در ایران و وزن نر بالغ آن حدود 23 تا 30 کیلوگرم است. شاخ‌های چنین نری معمولا دارای 3 وگاهی 4 شاخک است؛ و طول آن ممکن است بین 20 تا 30 سانتیمتر برسد. شاخ اندازی شوکا در اواخر پاییز است و شاخ‌های جدید تا بهار بعد به رشد کامل می‌رسند (فیروز، 1378). هم روز و هم شب فعال است. چرای اصلی اوایل صبح و غروب انجام می‌گیرد. معمولا به صورت انفرادی زندگی می‌کند. ولی گاهی به صورت زوج یا دسته‌های کوچک (در فصل زمستان) مشاهده می‌گردند. حس بویایی، شنوایی و بینایی قوی است. به خوبی شنا می‌کند. در محل زندگی خود اغلب بی حرکت است، به محض احساس خطر به صورت مخفی و با پرش‌های بلند فرار می‌کند. دشمن طبیعی مهم آن پلنگ، گرگ، شغال، گربه جنگلی و پرندگان شکاری می‌باشند. به علت جثهٔ کوچک‌شان در مناطق برف‌گیر آسیب‌پذیرند. شکارچیان از طریق تقلید صدای بچه شوکاها (صدائی شبیه سوت، که باعث آمدن شوکاها به طرف صدا می‌گردد) ایجاد کومه در محل آبشخورها و طرق دیگر آن را شکار می‌کنند. با توجه به قطع بی‌رویه درختان جنگلی و تخریب زیستگاه احتمال دارد در آیندهٔ نه چندان دور نسل آن در معرض خطر انقراض قرار گیرد (ضیایی، 2008) (شکل 4).

شکل 1: گراز. عکس از محمود کرمی

شکل 2: مارال. عکس از حمیدرضا رضایی، **1388**