پژوهش و فناوری محیط زیست، ۱۴۰۲، (۱۳)۸، ۱۴۹-۱۶۸

پژوهش و فناوری محیط زیست

وبگاه نشریه: www.journal.eri.acecr.ir

پژوهشکده محیط زیست

شاپا الکترونیکی: ۲۶۷۶-۳۰۶۰

کاربرد نشانگرهای مولکولی در مطالعات زیست‌شناسی حفاظت

نفیسه مومنی *[۱]، محسن احمدپور[۲]

۱- کارشناس ارشد، گروه محیط زیست، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

۲- استادیار، گروه علوم محیط زیست، دانشکده علوم دریایی و محیطی، دانشگاه مازندران

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
پژوهشی

تاریخ دریافت:
۱۴۰۲/۰۲/۱۰

تاریخ پذیرش:
۱۴۰۲/۰۴/۰۶

دسترسی آنلاین:
۱۴۰۲/۰۶/۳۱

کلید واژه‌ها:
نشانگر مولکولی،
ژنتیک حفاظت،
حفاظت محیط زیست،
حیات وحش

چکیده

دانش مولکولی نقش مهمی در زمینه حفاظت و پایداری گونه‌های جانوری دارد. مطالعات زیست‌شناسی حفاظت برای شناسایی جمعیت‌های رو به کاهش ضروری است تا بتوان برنامه‌های مدیریتی بهتری برای احیای آنها درنظر گرفت. با وجود پیشرفت دانش مولکولی، روزانه مطالعات بسیاری در زمینه شناخت بهتر نشانگرهای مولکولی انجام می‌شود. بنابراین، هدف از این مطالعه، بررسی کاربرد نشانگرهای مولکولی مورد استفاده در مطالعات زیست‌شناسی حفاظت است. در این مطالعه، نشانگرهای ژنتیکی به‌کار رفته در بیش از ۱۰۰ مقاله فارسی و انگلیسی بررسی شد. این منابع از میان مطالعاتی در زمینه زیست‌شناسی حفاظت، زیست‌شناسی و اکولوژی مولکولی، نشانگرهای مولکولی و سایر موضوعات مرتبط انتخاب شد تا با مقایسه آنها، الگوی واضح‌تری از کاربرد هر نشانگر در زمینه زیست‌شناسی حفاظت، ارائه شود. به‌طور کلی، کاربرد هر نشانگر مولکولی تنها به یک مورد محدود نیست اما در بسیاری از موارد می‌توان به وجود رابطه مشخصی میان ویژگی‌های هر نشانگر و بیشترین کاربرد آن دست یافت. با این حال در انتخاب نشانگر مناسب در هر مطالعه حفاظتی در زمینه حیات وحش، مراحل زیر پیشنهاد می‌شود: الف) شناخت گونه مورد مطالعه، ب) بررسی سوال یا مشکل حفاظتی، ج) شناخت نشانگرهای مولکولی. همچنین، توجه به نرخ جهش و میزان تغییرپذیری در میان نشانگرهای هسته‌ای و میتوکندریایی می‌تواند در انتخاب نشانگر مناسب نقش مفیدی داشته باشد. اما برای رسیدن به اطلاعات ژنتیکی و اکولوژیکی صحیح در زیست‌شناسی حفاظت، اصول ژنتیک جمعیت و تکامل مولکولی نیازمند آموزش جامع‌تری است تا با مقایسه همه جانبه نتایج مولکولی با سایر علوم و کنترل کیفی ژن توالی‌یابی شده به نتایج قابل استنادتری در زمینه ژنتیکی و حفاظتی رسید.

*پست الکترونیکی نویسنده مسئول: nafiseh.momeni.1371@gmail.com

Journal of Environmental Research and Technology, 8(13)2023. 149-168

Journal of Environmental Research and Technology

journal homepage: www.journal.eri.acecr.ir

Environmental Research institute

Online ISSN: 3060-2676

Molecular Markers in Conservation Biology Studies

Nafiseh Momeni[1*], Mohsen Ahmadpour[2]

1- M.Sc., Department of Environmental Sciences, Faculty of Fisheries and Environment, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
2- Assistant Professor, Faculty of Fisheries and Environment, University of Mazandaran, Babolsar, Iran

Article Info

Article type:
Research Article

Article history:
Received:
30/04/2022
Accepted:
27/06/2023
Available online:
22/09/2023

Keywords:
Molecular marker,
Conservation genetics,
Environmental conservation,
Wildlife

Abstract

Molecular science has an important role in the conservation and stability of animal species. Conservation biology studies is essential to identify declining populations to implement adequate restoration programs. Despite molecular developments, there are many studies in this field to better understand molecular markers. Therefore, the aim of this study is to investigate the molecular markers usage in the conservation biology studies. In this study, the genetic markers used in more than 100 Persian and English articles were checked out. These sources were selected from studies in the field of conservation biology, biology, molecular ecology, molecular markers and other related topics to provide a clearer pattern of each marker usage in the field of conservation biology. In general, the application of each molecular marker is not limited to one case, but there is a clear relationship between the characteristics of each marker and its maximum usage in many cases. However, in selecting the appropriate marker for wildlife conservation study, the following steps are suggested: 1) Identification of the studied species 2) Checking the conservation problem or question 3) Identification of the characteristics of molecular markers. Also, considering the mutation rate and the variability degree of nuclear and mitochondrial markers can play a useful role in choosing the right marker. But in order to obtain accurate genetic and ecological information in conservation biology, the principles of population genetics and molecular evolution require more comprehensive education to compare comprehensive molecular results with other sciences and quality control of the sequenced gene for achieving more reliable results in the field of genetics and conservation.

* Corresponding author E-mail address: nafiseh.momeni.1371@gmail.com

مقدمه

نشانگرهای مولکولی ابزارهایی برای تولید داده ژنتیکی هستند و علم استفاده از این ابزارها در کمتر از نیم قرن دیدگاه‌های جدیدی برای شناسایی ساختارهای ژنتیکی ایجاد کرده است. در گذشته برای ارزیابی روابط میان گونه‌ها و بر هم‌کنش آنها با محیط از داده‌های مورفولوژی استفاده می‌شد. اما وجود روابط پیچیده میان ژن‌ها و خصوصیات مورفولوژیک موجب شد تا پژوهشگران برای بررسی تنوع ژنتیکی به روش‌های نوینی مانند نشانگرهای مولکولی روی آورند (باسکار[۱] و شارون[۲]، ۲۰۲۲؛ فریلند[۳]، ۲۰۰۵). نشانگرهای مولکولی در واقع قطعه‌ای از DNA هستند که به مکان و یا ویژگی مشخصی از ژنوم تعلق دارند. در علم ژنتیک از انواع مختلف نشانگر استفاده می‌شود که به‌واسطه ویژگی‌های مشخص قادر به شناسایی ژن هستند. دسترسی به داده‌های ژنتیکی موجب درک بهتر زیست‌شناسی و بوم‌شناسی گونه‌ها و جمعیت‌ها در سال‌های اخیر شده است (فرانکهام[۴] و همکاران، ۲۰۰۴، ۹۳). بنابراین، نشانگرهای مولکولی در حفاظت ژنتیکی با مطالعه گونه‌ها و ارزیابی سازگاری آنها با محیط از طریق پاسخ دادن به سوال‌ها و حل مشکلات اکولوژیکی سعی در مدیریت بهتر محیط زیست دارد. نشانگرها به طور گسترده در بسیاری زمینه‌ها از قبیل نقشه‌یابی و ردیابی ژن‌ها، تعیین جنسیت، کمی کردن تنوع ژنتیکی یا روابط ژنتیکی، تبادل ژنی، تعیین هویت، درون‌آمیزی و تعیین الگوی پراکنش به کار می‌روند. برای مثال، جلوگیری از هم‌خونی و کاهش تنوع ژنتیکی یک گونه، نیازمند دخالت انسان است (باسکار[۵] و شارون[۶]، ۲۰۲۲) و بنابراین اطلاعات مربوط به سطح جریان ژنی در بین جمعیت‌ها باید در دسترس باشد (فرانکهام و همکاران، ۲۰۰۴، ۹۳). از این‌رو، نیاز به آزمایش‌های ژنتیکی مولکولی و رفع ابهام از وضعیت جریان ژنی در حیات وحش احساس می‌شود.

امروزه، تعداد مطالعات مولکولی به سرعت در حال افزایش است و نشانگرهای ژنتیکی بسیاری به منظور شناسایی گونه‌ها یا توصیف تنوع ژنتیکی جمعیت‌ها ارائه شده است (پاتواردن[۷]، ۲۰۱۴). با این حال، انتخاب یک نشانگر به عوامل متعددی وابسته است و نیازمند شناخت ویژگی‌های اصلی آن است. بنابراین، شناخت بهتر نشانگرها، مطالعه صفات سازگار، تجزیه و تحلیل جمعیت‌ها و تشخیص تنوع ژنتیکی را تسهیل می‌کند. با استفاده از نشانگرهای مولکولی، بررسی وضعیت جمعیت گونه‌های تهدید شده به انقراض به وسیله اعضای به‌جا مانده، مانند مو و فضولات انجام می‌شود و یا منشا جغرافیایی گونه‌های معرفی شده و مهاجم تنها با بررسی تعداد کمی نمونه تشخیص داده می شود (فریلند، ۲۰۰۵). همچنین، پدیده‌هایی که یک جمعیت در طول زمان با آن روبه‌رو می‌شود می‌تواند به راحتی از طریق مقایسه ژن‌های توالی یابی شده قابل تشخیص باشد. بنابراین، تلفیق اطلاعات ژنتیکی، اکولوژیکی و فیلوژنتیکی می‌تواند به تشخیص بهترین استراتژی حفاظت کمک کند (پاتواردن، ۲۰۱۴). علاوه‌براین، از نشانگرهای مولکولی می‌توان برای تجزیه و تحلیل الگوهای تنوع ژنتیکی گونه‌ها نیز استفاده کرد، که اغلب به عنوان اطلاعات پایه در توسعه استراتژی‌های حفاظت ژنتیکی در نظر گرفته می‌شوند (لی[۸] و همکاران، ۲۰۰۶؛ ایل[۹] و همکاران، ۲۰۱۱؛ وینچتی[۱۰] و همکاران، ۲۰۱۳؛ اوتول[۱۱] و همکاران، ۲۰۱۵). نشانگرهای مولکولی کاربردهای مفیدی برای مدیریت حفاظت ژنتیکی دارند. برخی نشانگرها می‌توانند اطلاعاتی در مورد تعیین فیلوژنتیک تکاملی از جمله سیستم جفت‌گیری، جریان ژن و تاریخچه جمعیت یک گونه ارائه کنند (لو[۱۲] و همکاران، ۲۰۰۴، الف، ب). این نشانگرها می‌توانند در شناسایی گونه‌ها و تعیین زیرگونه‌ها نقش مفیدی ایفا کنند (ان جی[۱۳] و همکاران، ۲۰۱۳; ان جی و اشمیت[۱۴]، ۲۰۱۳). از طریق برخی دیگر از نشانگرها می‌توان

---

1. Bhaskar
2. Sharon
3. Freeland
4. Frankham
5. Bhaskar
6. Sharon
7. Patwardhan
8. Lee
9. Ayele
10. Vinceti
11. Ottewell
12. Lowe
13. Ng
14. Szmidt

تغییرات ژنتیکی اخیر حاصل از تکه‌تکه شدن زیستگاه یا ویژگی‌های سیمای سرزمین بین افراد و جمعیت‌های مختلف از یک گونه را مورد ردیابی قرار داد (مانل[1] و همکاران، ۲۰۱۰).

باید در نظر گرفت که رسیدن به اولویت‌بندی صحیح حفاظتی نیازمند یک پایگاه داده ژنتیکی بزرگ است و مهم است که از مکان نشانگرهای مولکولی و توزیع آنها در ژنوم و همچنین انطباق بالقوه آنها (سازگاری قوی یا طبیعی) گزارش تهیه شود (کرپ[2] و همکاران، ۱۹۹۶؛ لو و همکاران، ۲۰۰۴؛ اشمیت، ۱۹۹۵). از اوایل سال ۲۰۰۰، تعداد گونه‌های مورد مطالعه به سرعت افزایش یافته است و با توجه به توسعه نشانگرهای مولکولی در سال‌های اخیر، توانایی هر کدام تشخیص بیش از یک پارامتر است. ارائه دستورالعمل‌های دقیقی از کاربرد صحیح نشانگرهای مولکولی برای بررسی صحت اطلاعات انبوه ژنتیکی لازم است. با مطالعه به‌روزترین پژوهش‌ها می‌توان به بهترین بازده هر نشانگر پی برد و در مطالعات آینده از تجربیات سایر پژوهشگران جهت دستیابی به نتایج دقیق و صحیح استفاده کرد. در نتیجه با تکمیل مجموعه اطلاعات ژنتیکی می‌توان به حفاظت کارآمد در حیات وحش دست یافت. با توجه به عدم وجود یک مطالعه جامع که به بررسی کاربرد نشانگرهای مولکولی در مطالعات زیست‌شناسی حفاظت بپردازد، در این پژوهش، مروری بر کاربرد نشانگرهای مولکولی که امروزه به طور گسترده در زمینه حفاظت حیات وحش استفاده می‌شوند، ارائه می‌شود.

مواد و روش ها

به منظور مطالعه کاربرد نشانگرهای مولکولی در زیست‌شناسی حفاظت، از مطالعات انجام شده در زمینه شناخت نشانگرهای مولکولی در بررسی ژنتیک حیات وحش استفاده شد. پس از بررسی عناوین و چکیده بیش از ۲۰۰ مقاله مرتبط منتشر شده در بانک‌های اطلاعاتی مانند: SID، IranianJournals، BioOne، Pubmed، IranDoc، Elsevier، Speringer، Scince Direct، Magiran، Taylor & Francis، John Wiley & Sons و Civilica حدود ۶۰ مقاله انتخاب شد و در این مطالعه مورد بررسی قرار گرفت. در این تحقیق از کلید Conservation biology، Molecular ecology، Molecular biology، Molecular markers، Nuclear ribosome gene، Mitochondrial gene، Microsatellite، Phylogeny، Phylogeography، Landscape genetics، Wildlife، Wildlife genetics، زیست‌شناسی حفاظت، اکولوژی مولکولی، زیست‌شناسی مولکولی، نشانگرهای مولکولی، ژن ریبوزوم هسته، ژن میتوکندریایی، ریزماهواره، فیلوژنی، فیلوجغرافی، ژنتیک سیمای سرزمین، ژنتیک حیات‌وحش و حیات‌وحش برای مقالات فارسی و از معادل‌های انگلیسی آن برای مقالات انگلیسی، جهت جستجو در بانک‌های اطلاعاتی استفاده شد. در نهایت اطلاعات مربوط به کاربرد هر ژن در مطالعات زیست‌شناسی حفاظت، مقایسه آنها و تفکیک هر ابزار بر اساس بیشترین کاربرد، از مقالات اشاره شده استخراج گردید.

یافته‌های پژوهش

ویژگی‌های یک نشانگر ژنتیکی مناسب

نشانگرهای مولکولی بسیاری برای تجزیه و تحلیل ژنتیکی موجودات معرفی شده است، اما بهترین نشانگر همواره براساس میزان توانایی تشخیص و هدف پژوهش انتخاب می‌شود. همچنین در انتخاب نشانگر مناسب باید به این نکته توجه داشت که نرخ جهش و نحوه توارث در ژنوم‌های مختلف متفاوت است (فریلند، ۲۰۰۵). برای مثال، نشانگرهایی که در بررسی افراد خویشاوند مورد استفاده قرار می‌گیرند از درجه تفکیک و تنوع بالایی برخوردارند. با وجود مطالعات فراوان همچنان انتخاب یک نشانگر مولکولی متناسب برای افراد مبتدی کار آسانی نیست. آنه[3] (۲۰۰۶) در مطالعه‌ای برای انتخاب بهترین نشانگر سه مرحله تعیین کرده است:

[1]. Manel
[2]. Karp
[3]. Anne

الف) انتخاب کردن براساس میزان تنوع و اطلاعات اولیه: در انتخاب نشانگر میزان تنوع ژنوم نسبت به هدف و گونه تغییر می‌کند و پدیده های طبیعی بر اطلاعات اولیه زیست‌شناختی جمعیت‌ها اثر دارد. به عنوان مثال میزان Fst تحت تاثیر میزان جریان ژن در میان جمعیت‌ها است و برای آنالیز میزان Fst لازم است تا اطلاعات اولیه زیست‌شناختی گونه را بررسی کنیم.

ب) انتخاب بخشی از DNA: انتخاب بخش مشخصی از DNA تعیین‌کننده اصلی نوع نشانگر است و در بسیاری از مطالعات ژنتیکی این ناحیه‌ها را بر اساس کاربرد طبقه‌بندی می‌کنند. وجود تنوعی که به علت نرخ جایگزینی و جهش در میان ناحیه‌های مختلف DNA به وجود می‌آید بیش از میزانی است که در میان نژادها مشاهده می‌شود.

ج) انتخاب روش: شامل اطلاعات مهمی ازجمله تعیین نوع نمونه، روش استخراج ژن و دستورالعمل واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR[1]) می شود که بر اساس پیچیدگی طرح، توان عملیاتی و هزینه طرح انتخاب می‌شوند.

در انتخاب نشانگر ژنتیکی مناسب، علاوه بر ویژگی‌ها و هدف مطالعات، تعداد و ترکیب نشانگرها نیز باید در نظر گرفته شود. ویلین[2] و همکاران (۲۰۱۲) در بررسی میزان تمایز ژنتیکی در انواع مطالعات ژنتیک جمعیت، عامل اندازه نمونه و تعداد نشانگرها را ارزیابی کردند. آنها نشان دادند که می‌توان با افزایش تعداد نشانگرهای ژنتیکی مناسب، کمبود نمونه را جبران کرد. به عنوان مثال، با استفاده از تعداد زیادی نشانگر ژنتیکی bi-allelic (تعداد لوکوس= ۱،۰۰۰)، می‌توان اندازه نمونه جمعیت را به میزان قابل توجهی (۴-۶ = تعداد نمونه) کاهش داد. بنابراین می‌توان سطح مطالعات ژنتیک حفاظت را به‌اندازه مطالعات آماری توسعه داد. برخی از نشانگرها که به طور گسترده در مطالعات زیست‌شناسی حفاظت استفاده می‌شود، در زیر شرح داده شده است.

نشانگرهای مولکولی

نشانگرهای هسته‌ای (Nuclear Markers)

نشانگرهای هسته‌ای RAPD[3]، AFLP[4] و ریزماهواره‌ها (SSRs[5]) اغلب برای شناسایی و انگشت‌نگاری استفاده می‌شوند. قابلیت غربالگری همزمان تعداد زیادی از لوسی در این توالی‌ها می‌توان از آنها برای مطالعه تنوع ژنتیکی استفاده کرد. قدرت شناسایی این نشانگرها به ترتیب زیر است:

SSR > AFLP > RAPD.

بر خلاف دو نشانگر دیگر، ریزماهواره‌ها قادر به شناسایی هر دو آلل (نشانگر هم غالب) هستند و به راحتی می‌توانند تفاوت بین هموزیگوت‌ها و هتروزیگوت‌ها تشخیص دهند (عارف[6] و همکاران، ۲۰۱۱).

چند شکلی قطعات DNA تصادفی تکثیر شده (RAPD):

RAPD یک نوع تکثیر تصادفی از بخش‌های چندشکلی DNA است. وجود این چندشکلی‌ها معیار وجود چند شکلی در میان افراد جمعیت است که به وسیله آغازگر کوچک ۱۰ نوکلئوتیدی در یک واکنش PCR تکثیر می‌شود و هویت ژنتیکی افراد را تعیین می‌کند. حضور و عدم حضور این قطعات یا باندها معیاری برای پلی مورفیسم (چندشکلی) در بین افراد مختلف است. این نشانگر را می‌توان به آسانی با استفاده از پروتکل استاندارد تکثیر کرد و در این روش کارآمد اطلاعاتی را که به راحتی با نمونه‌گیری سنتی DNA قابل محاسبه نیست، می‌توان به دست آورد (رحمان[7] و همکاران، ۲۰۲۳). برای تکثیر این ژن به اطلاعات اولیه نیاز نیست و امروزه به روشی محبوب

---

1. Polymerase chain reaction
2. Willing
3. Random Amplified Polymorphic DNA
4. Amplified Fragment Length Polymorphism
5. Simple Sequence Repeats
6. Arif
7. Rehman

جهت بررسی شناسایی گونه، تنوع و روابط ژنتیکی میان افراد یا جمعیت‌ها، نقشه‌بندی و شناسایی گونه‌های خاص تبدیل شده است (هادریس[۱] و همکاران، ۱۹۹۲).

در مطالعه‌ای، اختلاف ژنتیکی احتمالی جمعیت‌های ماهی گل خورک[۲] در مناطق خور زنگی، هندیجان و دلوار مورد بررسی قرار گرفت. نتایج میزان بالای تنوع ژنتیکی در منطقه هندیجان نسبت به سایر مناطق (وجود تمایز ژنتیکی جمعیت‌ها) مورد مطالعه را نشان داد (یعش-بچاری و همکاران، ۲۰۱۲). چلومینا[۳] و همکاران (۱۹۹۹) از RAPD برای بررسی تفاوت ژنتیکی بین گونه پلنگ آمور[۴] وحشی و در در اسارت استفاده کرده‌اند. نتایج نشان داد، تنوع ژنتیکی در گونه نگهداری شده در باغ وحش نسبت به جمعیت طبیعی کمتر بود. رودریگز[۵] و همکاران (۲۰۰۷) واگرایی جمعیت و تنوع ژنتیکی در درون و بین جمعیت گوزن پامپاس[۶] را بررسی کرده‌اند. براساس آنالیزها، آنالیزها، میان دو جمعیت گوزن پامپاس که یک گونه در معرض خطر است تنوع ژنتیکی بالایی وجود داشت. اما به علت وجود میزان پایین واریانس درون جمعیت، جمعیت مجزا نشده بود. به‌طور معمول، میزان تنوع ژنتیکی در استفاده از این نشانگر بالا تخمین زده شده است زیرا میلیون‌ها آغازگر با طول ۱۰ نیکلئوتید در ژنوم وجود دارد (فریلند، ۲۰۰۵).

یک اشکال جدی در مورد RAPD این است که ماهیت تصادفی بودن فرآیند PCR منجر به بروز نرخ بالای خطا در توالی‌یابی ژنوتیپ و تکرارپذیری کمتر ژنوتیپ در مقایسه با نشانگر منفرد می‌شود. امکان آلودگی نمونه و تکثیر ژن‌های غیر هدف ریسک استفاده از این نشانگر را زیاد می‌کند و پژوهشگران ترجیح می‌دهند که از نشانگرهایی قابل اطمینان تری استفاده کنند (فریلند، ۲۰۰۵).

چند شکلی در اندازه قطعات تکثیر شده (AFLP)

نشانگر AFLP ابزاری است که به‌طور همزمان چندشکلی‌های مختلف را در نواحی مختلف ژنومی شناسایی می‌کند. این ابزار با استفاده از آنزیم‌های محدودالاثر، ژن را در نقاط مختلف برش می‌دهد. این قطعات بزرگ به وسیله آغازگرهایی که کاملا مکمل رشته هستند تکثیر می‌شوند و از تکثیر قطعات ناخواسته جلوگیری می‌کنند. این روش در مقایسه با RAPD از اطمینان بالاتری برخوردار است و در زمینه‌های ژنتیک تکاملی و حفظ منابع ژنتیکی به محبوب‌ترین نشانگر تبدیل شده است. در مطالعات حفاظتی اخیر AFLP به عنوان یک سیستم نشانگر ژنتیکی قوی با تکرارپذیری بسیار بالا برای ارزیابی ساختار جمعیت و هویت فردی مورد استفاده قرار گرفته است (زنگر[۷] و همکاران، همکاران، ۲۰۰۶؛ گربر[۸] و همکاران، ۲۰۰۰؛ بنچ[۹] و اکسون[۱۰]، ۲۰۰۵). همچنین، پژوهشگران با استفاده از این نشانگر می‌توانند با ایجاد تغییر در مراحل و استفاده از DNA الگو، به بیان ژن و مقایسه الگوهای باندی بپردازند (فریلند، ۲۰۰۵). اگرچه، هر مکان چندشکلی AFLP دارای محتوای اطلاعاتی کمی است، اما تعداد زیادی از این مکان‌ها (صدها تا هزاران مکان) وجود دارد و موجب می‌شود که این تکنیک اطلاعات بیشتری نسبت به روش‌های سنتی رایج ارائه دهد (کمپبل[۱۱] و همکاران، ۲۰۰۳).

در مطالعه‌ای لوچینی[۱۲] (۲۰۰۳) برای بررسی کارایی AFLP به عنوان یک ابزار جدید، سه نوع مطالعه حفاظتی و مدیریتی (فیلوجغرافی، هیبریدسازی و آنالیز روابط پدری تعیین جنسیت/Paternity) را مورد مقایسه قرار داد. در هر سه مطالعه نتایج حاصل از نشانگر AFLP در مقایسه با نتایج حاصل از نشانگرهای ریزماهواره و میتوکندریایی، از صحت و دقت بالاتری برخوردار بود. نتایج نشان داد که روش AFLP ابزار مفیدی در طیف وسیعی از مطالعات حفاظت محسوب می‌شود. وانگ[۱۳] و همکاران (۲۰۰۳) در مطالعه‌ای برای تحلیل تاریخچه

---

1. Hadrys
2. Walton's mudskipper (*Periophthalmus waltoni*)
3. Chelomina
4. Amur leopard (*Panthera pardus orientalis*)
5. Rodrigues
6. Pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus*)
7. Zenger
8. Gerber
9. Bensch
10. Akesson
11. Campbell
12. Lucchini
13. Wang

جمعیت فنچ خانگی[۱]، به بررسی تنوع ژنتیکی ۱۷۲ فرد از ۱۶ جمعیت معرفی شده به غرب و شرق ایالات متحده، جنوب شرقی کانادا، جزایر هاوایی، و مکزیک پرداختند. همچنین، تنوع ژنتیکی در بین جمعیت‌های فنچ خانگی، فنچ بنفش[۲] و فنچ کاسین[۳] نیز مورد بررسی قرار گرفت. بررسی تغییرات اخیر جمعیت و سیر تکاملی نشان داد که جمعیت فنچ های شرقی و هاوایی از جمعیت‌های غربی مشتق شده است. به علاوه، تجزیه و تحلیل‌ها به وضوح نشان داد که جمعیت هاوایی از جمعیت‌های کالیفرنیا مشتق نشده بود. معرفی این گونه به مناطق جدید منجر تغییرات واضحی شده است اما تنوع ژنتیکی آنها کاهش نیافته بود. همچنین، در یک مطالعه حفاظتی به منظور ارزیابی تنوع ژنتیکی روی دو گونه در معرض خطر کوسه ببری شنی[۴] و کوسه سفید بزرگ[۵] از نشانگر AFLP استفاده شد. هر دو گونه تنوع آللی نسبتاً بالایی را نشان دادند و به ترتیب دارای ۵۹ و ۷۸ جایگاه پلی‌مورفیسم بودند (زنگر و همکاران، ۲۰۰۶). راینک[۶] و همکاران (۲۰۰۳) به به بررسی الگوی بیان ژن میان دو گونه زنبور انگلی[۷] پرداختند که در شرایط هم‌زیستی با یکدیگر دچار تغییرات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی فیزیولوژیکی و رفتاری کاملاً متمایز شدند. این تغییرات با بیان ژن از بافت تخمدان بررسی شد. مقایسه الگوی باندهای به دست آمده نشان دهنده وجود تفاوت ژنتیکی میان گونه‌ها بود.

از معایب AFLP این است که تکثیر در این نشانگرها غالباً انتخابی است و باید توسط متصدی کنترل شود. این روش به تجهیزات فنی و تخصصی و گران قیمت‌نیاز دارند (راینک و همکاران ، ۲۰۰۳).

ریزماهواره‌ها (SSRs)

ریزماهواره‌ها توالی‌های تکراری دارای یک، دو، سه یا چهار نوکلوتید هستند. ریزماهواره‌ها در سراسر ژنوم یافت می‌شوند و شامل توالی‌های ساده تکرار شونده (SSR) و واحدهای کوچک تکرار شونده (STR[۸]) می‌باشند. این نشانگر در لپیدوپتراها[۹]، پرندگان، خفاش‌ها و پروکاریوت‌ها نسبتاً نادر است، در حالی که ماهی‌ها و اکثر پستانداران تمایل زیادی به تکرار این بخش دارند (نف[۱۰] و گروس[۱۱]، ۲۰۰۱). ریزماهواره‌ها ابزار قدرتمندی برای شناسایی جمعیت، بررسی ساختار جمعیت، برآورد اندازه موثر جمعیت، تعیین سطح مهاجرت و جریان ژنی در بین گونه‌هایی است که در اثر قطعه‌قطعه و ایزوله شدن زیستگاه در خطر انقراض هستند (بیبی[۱۲]، ۲۰۰۵؛ جهله[۱۳] و آرنتزن[۱۴]، ۲۰۰۲). کاربرد ریزماهواره‌ها در دستیابی به مشخصات ژنتیکی بین جمعیت‌ها مانند ماتریس‌های فاصله ژنتیکی، فاصله جغرافیایی و فاصله اکولوژیکی یکی از ساده‌ترین روش‌های شناخته شده است. به طوری که برای شناسایی اثرگذاری سیمای سرزمین در جمعیت‌ها از بررسی ارتباط بین اتصالات سیمای سرزمین و الگوی جریان ژنی استفاده می‌شود. ریزماهواره‌ها به دلیل سهولت توالی‌یابی و قدرت تفکیک هموزیگوت و هتروزیگوت به نشانگرهای محبوبی تبدیل شده‌اند. در مطالعه گونه‌هایی که جمعیت آنها کم است و یا به تازگی با اثر گردنه بطری روبرو شده‌اند، از ریزماهواره‌ها استفاده می‌شود زیرا نرخ جهش بالایی دارند و دارای اطلاعات قابل توجهی هستند (هدریک[۱۵]، ۱۹۹۹).

---

1. House finch *(Carpodacus mexicanus)*
2. purple finch *(Carpodacus purpureus)*
3. Cassin's finch *(Carpodacus cassinii)*
4. Sand tiger shark *(Carcharodon taurus)*
5. great white shark *(Carcharodon carcharias)*
6. Reineke
7. *Venturia canescens*
8. Short Tandem Repeats
9. Lepidoptera
10. Neff
11. Gross
12. Beebe
13. Jehle
14. Arntzen
15. Hedrick

در بررسی ساختار ژنتیکی جمعیت نوعی سمندر[1] در ایتالیا از نشانگر ریزماهواره استفاده شد. تعداد ۱۲ نمونه از این گونه از میان زیستگاه‌های قطعه‌قطعه شده در ایتالیا جمع آوری و توالی‌یابی شد. مقایسه مقادیر شاخص‌ها نشان داد که جمعیت‌های این گونه در خطر انقراض، از نظر جغرافیایی و ژنتیکی کاملاً جدا هستند (بونو[2] و همکاران، ۲۰۱۸). در مطالعه‌ای احمدپور[3] و همکاران (۲۰۲۰) تنوع و ساختار ژنتیکی جمعیت‌های جربیل بزرگ[4] در ایران را مورد بررسی قرار دادند. DNA تعداد ۱۰۹ نمونه خون جمع آوری شده از ۹ جمعیت در سراسر ایران استخراج شد و چهار مکان ریزماهواره‌ای برای بررسی سطوح تنوع ژنتیکی و ساختار ژنتیکی جمعیت تقویت شد. جمعیت جربیل در ایران از نظر ژنتیکی به دو رده شمال و جنوب رشته کوه البرز تقسیم شد و با دو زیرگونه این گونه در ارتباط بود. ککمک[5] و همکاران (۲۰۱۹) در مطالعه‌ای بر پایه ژن ریزماهواره وجود گردنه بطری در جمعیت دال سیاه[6] را بررسی کردند. ارزیابی ساختار ساختار ژنتیکی جمعیت دال سیاه نشان داد که علت کاهش جمعیت در سال‌های اخیر جهش‌های ناشی از گردنه بطری بوده است. هانس[7] و همکاران (۲۰۱۱) تنوع ژنتیکی جمعیت‌های سوئدی، نروژی، اسکاتلندی، لیتوانیایی و مجارستانی گوزن قرمز اسکاندیناوی[8] و اثر گردنه بطری بر این جمعیت‌ها را مقایسه کردند. ژن تعداد ۱۴ فرد بر اساس نشانگر ریزماهواره و DNA میتوکندریایی توالی یابی شد. نتایج نشان داد، تنوع ریز ماهواره‌ای جمعیت اسکاندیناوی کمتر از سایر جمعیت‌های اروپایی بود و تنوع DNA میتوکندری جمعیت سوئدی کم بود. نتایج، اثر گردنه بطری شدید در جمعیت اسکاندیناوی و اثر گردنه بطری با شدت کمتر در جمعیت نروژی در سال‌ها اخیر را تایید کرد. کاهش جمعیت بین ۵۰۰۰ تا ۱۰۰۰۰ سال و هم‌زمان با دوره پس از یخبندان است.

از معایب نشانگر ریزماهواره این است که کاربر برای تولید آن به هزینه زیادی نیاز دارد و مراحل اولیه تولید آن وقت‌گیر است (لو و همکاران، ۲۰۰۴؛ اسکورل[9] و همکاران، ۲۰۰۳؛ بونتونگ[10] و همکاران، ۲۰۰۴). نرخ بالای جهش در ریزماهواره‌ها موجب می‌شود تا طراحی طراحی پرایمرهای عمومی برای آن دشوار شود. علاوه‌براین، طول ریزماهواره‌ها در گونه‌هایی با میزان هم‌خونی زیاد، اندازه جمعیت کم و گردنه بطری مکرر یا شدید کوتاه است و هتروزیگوزیتی کمی دارد (نف و گروس، ۲۰۰۰؛ دیوودی[11] و آویس[12]، ۲۰۰۰، ۶۸۴).

چندشکلی نوکلئوتیدی ساده (SNP)

در سال ۱۹۹۶، یک فناوری جدید در نشانگرهای مولکولی به نام SNP[13] را پیشنهاد شد. به‌طور کلی، هر تک نوکلئوتیدی (A، T، C و یا G) که در طول توالی تغییر کند نشان دهنده یک SNP است. این پلی‌مورفیسم در اثر یک جهش در یک لوکوس به‌خصوص رخ می‌دهد (یانگ[14] و همکاران، ۲۰۱۳). این نشانگر در سال‌های اخیر به علت قدرت تجزیه و تحلیل بالا به محبوبیت رسیده است (ونه[15]، ۲۰۲۳). ژنوتیپ SNP با بازدهی بالا، فراوانی ژنومی، پایداری ژنتیکی و قابلیت تجزیه و تحلیل خودکار دارای بیشترین کاربرد در بررسی تغییرات توالی‌ها است (ویگنال[16] و همکاران، ۲۰۰۰) و در بررسی تنوع ژنتیکی در بین گونه‌ها و نژادهای مختلف نتایج موفقیت‌آمیزی داشته است. از آنجا که ژنوتیپ کردن SNP ها بسیار ارزان و دقیق است، به راحتی جایگزین ریز ماهواره‌ها می‌شود.

---

1. Smooth newt (*Lissotriton vulgaris meridionalis*)
2. Buono
3. Ahmadpour
4. Great garbil (*Rhombomys opimus*)
5. Cakmak
6. Cinereous vulture (*Aegypius monachus*)
7. Haanes
8. Smooth newt (*Lissotriton vulgaris meridionalis*)
9. Squirrell
10. Boontong
11. DeWoody
12. Avise
13. Single nucleotide polymorphism
14. Yang
15. Wenne
16. Vignal

در مطالعه‌ای که با هدف مقایسه تنوع و ساختار ژنتیکی جمعیت چهار گونه بز (*Capra nubiana*[۱]، *Capra aegagrus*[۲]، بز آلپی[۳] و بز بز اهلی[۴]) انجام شد، از تراشه SNP مختص بز کوهی استفاده شد. هتروزیگوسیتی مشاهده شده در *Capra nubiana* با بز کوهی اهلی یکسان بود و از بز کوهی آلپی و *Capra aegagrus* بیشتر بود. میزان تمایز ژنتیکی بین گونه‌های *Capra aegagrus* با بز اهلی کمتر از تمایز ژنتیکی بین *Capra aegagrus* و *Capra nubiana* و *Capra aegagrus* با بز کوهی آلپ بود. در طبقه‌بندی نمونه‌ها *Capra aegagrus* و بز اهلی از بز کوهی آلپ و *Capra nubiana* جدا شد. (حسن[۵] و همکاران، ۲۰۱۸).

نرخ جهش SNP نسبت به سایر نشانگرهای مولکولی ازجمله ریزماهواره‌ها کمتر است و در مقایسه با آن حجم کمتری از اطلاعات را ارائه می‌دهد (ویگنال و همکاران، ۲۰۰۰).

نشانگرهای میتوکندریایی (Mitochondrial Markers)

ژن میتوکندریایی (Mitochondrial DNA) به‌صورت حلقه‌ای فشرده از DNA دو رشته‌ای و بسیار کوچک‌تر از ژنوم هسته‌ای (فریلند، ۲۰۰۵) است. امروزه در بسیاری از مطالعات ژنتیکی از اطلاعات مربوط به توالی DNA میتوکندریایی استفاده شده است. DNA میتوکندریایی، سلول یوکاریوت غیرهسته‌ای DNA است که درون‌اندامک‌های سیتوپلاسمی به نام میتوکندری قرار گرفته است (فریلند، ۲۰۰۵). میتوکندری در اکثر یوکاریوت‌ها با تعداد متفاوت یافت می‌شود. دارای وراثت مادری و تغییرپذیری زیاد در توالی‌ها است. این بدان معنی است که روابط تکاملی استنباط شده با استفاده از این نشانگر باید به عنوان استنتاج فیلوژنی مادرسالاری تفسیر شود (آویس، ۲۰۰۴، ۶۸۴). ژنوم میتوکندری حیوانات معمولاً دارای ۳۶ یا ۳۷ ژن است. میزان تقریبی نرخ جهش در میتوکندری ۱۰[-۸] سایت در سال در مقایسه با ژن‌های هسته‌ای که ۱۰[-۹] سایت در سال است. بارزترین تفاوت در توالی‌های میتوکندری جهش‌های نقطه‌ای است، با یک سوگیری شدید برای انتقال بیش از انتقال (برون[۶] و همکاران، ۱۹۸۲). تکامل ناحیه کنترل (CR[۷]) در پستانداران موجب بروز ویژگی‌هایی ویژگی‌هایی مانند نرخ بالای ناهماهنگی در میان سایت‌ها، تکرارهای پشت سرهم، فراوانی جهش القائی و حذفی نوکلئوتیدی وتحولات اختصاصی فیلوژنتیک شده است. از این‌رو به ابزاری قدرتمند برای شناسایی گونه‌ها تبدیل شده است (الیاسی گرجی[۸] و همکاران، ۲۰۲۳؛ راستوگی[۹] و همکاران، ۲۰۰۷). این ژن ابزار قدرتمندی در مطالعات ژنتیکی بین گونه‌ای محسوب می‌شود. دو مورد از rRNA[۱۰]ها، ۲۲ مورد از tRNA[۱۱]ها و ۱۲ یا ۱۳ مورد از زیر واحد پروتئین‌های چند مولفه‌ای‌غشای میتوکندری داخلی است. علاوه بر این، توالی غیر رمزگذاری وجود دارد که به دلیل نقش آن در تکثیر و رونویسی مولکول‌های میتوکندری، به عنوان ناحیه کنترل شناخته می‌شود (عارف و همکاران، ۲۰۱۱). این ژن دارای ساختار،اندازه و ترتیب قرارگرفتن ثابت و حفاظت‌شده در گونه‌های مختلف است. کاربردهای اصلی توالی‌های میتوکندری در ژنتیک حفاظت شامل مطالعات ساختار جمعیت، اصلاح اطلاعات فیلوژنتیک، تشخیص هیبرید بین گونه‌ای و تشخیص شکار غیرقانونی حیوانات در معرض خطر است (فریلند، ۲۰۰۵) که در ادامه به مثال‌هایی از کاربرد این نشانگر اشاره می‌شود.

ژن سیتوکروم اکسیداز زیرواحد (COI/II)

ژن COI/II[۱۲] یک پروتئین غشایی بزرگ است که در مقایسه با سایر ژن‌های کدکننده در میتوکندری دارای سرعت تکامل کم‌تری است. توالی‌های این دو ژن یکی از بزرگترین مجموعه توالی‌ها را برای مطالعات فیلوژنتیک در هر گروه تشکیل می‌دهند و دقت بالایی در

---

1. Nubian ibex (*Capra nubiana*)
2. Bezoar ibex (*Capra aegagrus*)
3. Alpine ibex (*Capra ibex*)
4. Taggar goats (*Capra aegagrus hircus*)
5. Hassan
6. Brown
7. Control region
8. Elyasigorji
9. Rastogi
10. Ribosomal RNA
11. Transfer RNA
12. Control region for replication of mitochondrial DNA

شناسایی گونه و در بازیابی درخت فیلوژنتیک مورد انتظار دارد (روسو[1]، ۱۹۹۶؛ زاردویا[2] و مایر[3]، ۱۹۹۶). بهترین کاربرد COI و COII در در مطالعات جمعتی پارازیت‌ها است و ژن COI در مطالعات اخیر به عنوان بارکد اصلی شناسایی حشرات معرفی شده‌است (جلودار[4]، ۲۰۱۹).

علی‌آبادیان[5] و همکاران (۲۰۰۷) در مطالعه‌ای به بررسی روابط تکاملی گونه‌های چکچک پرداخت. ژن COX1 از تعداد ۶۰ نمونه متعلق به به جنس چکچک از سراسر جهان به منظور تعیین توالی جمع آوری شد. نتایج فیلوژنی، شناسایی تاکسون‌های خواهری چکچک سیاه[6] و چکچک سیاه تاج سفید[7] در مطالعات پیشین را تایید کرد. همچنین دو گونه چکچک دمگاه حنایی[8] و چکچک تاجدار[9] به عنوان تاکسون تاکسون‌های خواهری شناسایی شدند. بررسی روابط فیلوژنتیک، چکچک قبرسی[10] را به‌عنوان یک گونه جدید ثبت کرد و این گونه را در کنار چکچک ابلق[11] و چکچک گوش سیاه[12] طبقه‌بندی کرد. همچنین، رابطه نزدیک گونه‌های آفریقایی را با دو گونه چکچک دشتی[13] و چکچک شمالی[14] تایید کرد.

از معایب استفاده از COI/II این است که این منطقه از ژنوم میتوکندری در هر گونه دارای خصوصیات منحصر به فرد است و ممکن است تنوع ژنتیکی یک جمعیت را بیشتر از واقعیت محاسبه کند.

ژن سیتوکروم ب (*Cytb*)

ژن *Cytb*[15]، ژن میتوکندری کدکننده‌ای با طول حدودی ۱۱۴۳ باز آلی است که در مباحث حفاظتی به‌عنوان مفیدترین نشانگر در شناسایی گونه و بازیابی روابط فیلوژنتیک در میان گونه‌های خویشاوند گزارش شده است. کاربرد ژن *Cytb* برای مقایسه گونه‌ها در یک جنس یا یک خانواده به علت تنوع در توالی آن است (وینک[16] و همکاران، ۲۰۱۰). اما استفاده از این نشانگر در مطالعات فیلوژنتیک به چند دلیل پیشنهاد شده است ۱) ابزارهای پیشرفته در جداسازی ژن، ۲) استفاده از آنزیم‌های محدودکننده برای تشخیص بهتر تفاوت‌های نوکلئوتیدی، ۳) استفاده از روش‌های متنوع PCR و ۴) استفاده از پرایمرهای عمومی. کاشانی[17] و همکاران (۲۰۱۹) در مطالعه‌ای به بررسی فیلوژنی، تنوع ژنتیکی و ساختار ژنی خارپشت[18] در ایران پرداختند. با رسم موقعیت فیلوژنتی این گونه، جمعیت جنوب شرق ایران در یک کلاد مجزا قرار گرفت و از سایر نژادهای شناخته‌شده در گستره توزیع گونه کاملا متمایز بود. . میرزاخواه[19] و همکاران (۲۰۱۵) در بررسی ژنتیکی غزال‌ها در برخی از مناطق ساحلی و جزایر خلیج فارس، کمترین تنوع ژنتیکی درون جمعیتی را به غزال‌های جزیره هنگام و بیشترین تنوع را به منطقه دشت طارم نسبت دادند. مین[20] و همکاران (۲۰۰۴) در مطالعه‌ای برای بررسی وضعیت فیلوژنی گورال‌ها[21] با استفاده از ژن *cytb* تعداد ۲۹ نمونه بافت از کره‌جنوبی، چین، روسیه و ژاپن جمع‌آوری کردند. نتایج واگرایی ژنتیکی قابل توجهی بین گورال کره و چینی را نشان داد. اما تقریباً بین گورال کره و روسیه هیچ تفاوتی نبود. همچنین در مطالعه‌ای که برای بررسی احتمال شکار

---

1. Russo
2. Zardoya
3. Meyer
4. Jolodar
5. Aliabadian
6. Black wheatear (*Oenanthe leucura*)
7. Hume's wheatear (*Oenanthe albonigra*)
8. Red.tailed wheatear (*Oenanthe chrysopygia*)
9. Kurdish wheatear (*Oenanthe xanthoprymna*)
10. Cyprus pied wheatear (*Oenanthe cypriaca*)
11. Pied wheatear (Oenanthe pleschanka)
12. Western black.eared wheatear (*Oenanthe hispanica*)
13. Isabelline wheatear (*Oenanthe isabellina*)
14. Northern wheatear (Oenanthe oenanthe)
15. Cytochrome b
16. Wink
17. Kashani
18. Brandt's hedgehog (*Paraechinus hypomelas*)
19. Mirzakhah
20. Min
21. Gorals

غیرقانونی انجام شد، تجزیه و تحلیل نمونه‌ها نشان داد که گوشت پخته شده و بقایای بدن پرنده متعلق به یک مرغ معمولی است. اما تخته چوبی که برای خرد کردن گوشت استفاده شده است دارای بقایای یک پرنده در معرض خطر است (گوپتا[1] و همکاران، ۲۰۰۵).

یکی از معایب این نشانگر، تشخیص سطح بالایی از تنوع توالی نوکلئوتیدی در گونه‌ها است که به‌دلیل وابسته بودن به میزان اندازه موثر جمعیت و تجمع جهش، رخ می‌دهد. همچنین، می‌تواند عامل ایجاد اختلال غیرقابل تحملی در ساختار فیلوژنتیک شود (لپینسکی[2] و همکاران، ۲۰۱۶).

ناحیه کنترل (CR)

ناحیه کنترل، به بخشی از ژن میتوکندری گفته می‌شود که وظیفه کنترل تکثیر DNA و RNA را به عهده دارد. ناحیه‌ای غیر کدکننده از ژنوم میتوکندری و مهم‌ترین بخش میتوکندری می‌باشد. ناحیه کنترل از سه دامنه شامل دامنه ETAS[3] (توالی‌های مرتبط با ختم گسترش یافته)، CD[4] (دامنه مرکزی) و CSB[5] (بلوک توالی حفاظت شده) تشکیل شده است. هر یک از سه حوزه، الگوی متفاوتی از تغییرات را ارائه می‌دهد و مجموعه اطلاعات کاملی از تاریخ تکاملی، ساختار ژنتیکی و جریان ژن بین جمعیت‌ها را ارائه می‌دهد. دامنه‌های ETAS و CSB به سرعت تکامل می‌یابند در حالی که دامنه مرکزی از نظر تاکسونومیک محافظه شده‌تر است. ایمانی هرسینی و همکاران (۲۰۱۷)، در بخش مرکزی ایران ساختار ژنتیکی روباه معمولی[6] را مورد بررسی قرار دادند. در مجموع از پنج استان اصفهان، تهران، سمنان، سمنان، کرمان و یزد، تعداد ۳۲ نمونه بافت جمع‌آوری شد. نتایج تنوع هاپلوتایپی بالا را نشان داد و گردنه بطری در جمعیت‌های روباه در این مناطق رخ نداده است. تفاوت ژنی درون جمعیتی روباه معمولی بیشتر از تفاوت بین جمعیتی آن بود. احتمالا دامنه پراکنش این گونه در گذشته به طور ناگهانی افزایش یافته است. به علت طول کم توالی برنامه مشخص حفاظتی برای این گونه پیشنهاد نشد. در مطالعه‌ای که برای اصلاح برنامه‌ریزی‌های حفاظتی غزال تبت[7] در ۱۲ منطقه از چین انجام شد، از توالی‌های ناحیه کنترل و *Cytb* برای بررسی تاریخ تاریخ تکاملی و تنوع ژنتیکی استفاده شد (ژانگ[8] و جیانگ[9]، ۲۰۰۶). ساختار ژنتیکی جمعیت غزال تبت در مناطق مختلف جغرافیایی چین (شینگهای[10]، تبت[11]، گانسو[12]، سیچوان[13] و سین کیانگ اوگور[14]) شامل ۲۵هاپلوتیپ ناحیه کنترل و ۱۶هاپلوتیپ *Cytb* بود. درخت فیلوژنتیک نشان داد که غزال تبت در چین می‌تواند به سه دسته اصلی تبت، سیچوان و شینگهای-آرجین شان-کیکیکسیلی[15] تقسیم شود. براساس تجزیه و تحلیل‌هایی که انجام شد، غزال تبت دچار تغییرات پیچیده جمعیتی ناشی از قطعه قطعه شدن زیستگاه در دوره یخبندان اخیر در تبت و اثر گردنه بطری در اثر کاهش شدید جمعیتی پس از آن شده است. نتایج حاصل از این مطالعه حفاظتی، تمایز قابل توجه میان این جمعیت‌ها را گزارش و برنامه‌های مدیریتی جداگانه را پیشنهاد کرد.

ژن D-loop بخشی از ناحیه کنترل ژن میتوکندری با ساختار سه رشته‌ای می‌باشد. رشته سوم دارای یک دنباله پایه است که مکمل یکی از رشته های اصلی است. این بخش از ژن میتوکندری معمولاً در مطالعه تنوع ژنتیکی و تفاوت‌های بین جمعیت‌های مختلف جانوری از جمله پستانداران به‌کار می‌رود. همچنین، پژوهشگران با بهره‌گیری از تعداد نسخه‌های محدود میتوکندری در یک جمعیت، می‌توانند پدیده‌ای دموگرافی مانند گذشتن از گردنه بطری را نیز تشخیص دهند. ژن D-Loop به عنوان ناحیه حفاظت نشده ابزار خوبی برای

---

1. Gupta
2. Lapinski
3. Extended terminal associated sequences
4. Central domain
5. Conserved sequence block
6. *Vulpes vulpes*
7. Tibetan gazelle (*Procapra picticaudata*)
8. Zhang
9. Jiang
10. Qinghai Province
11. Tibet Autonomous Region
12. Gansu Province
13. Sichuan Province
14. Xinjiang Uigur
15. Qinghai.Arjin Shan.Kekexili

مطالعات تکاملی گونه‌های وابسته است (بور[1]، ۱۹۹۹؛ آمیلز[2] و همکاران، ۲۰۰۴). در بررسی تنوع ژنتیکی شوکا[3] در استان‌های گلستان و مازندران تعداد ۸ نمونه از بافت ماهیچه، سرگین و شاخ جمع‌آوری شد. در بررسی توالی‌ها تعداد ۳هاپلوتیپ و ۳ جایگاه چند شکلی یافت شد. وجود هاپلوتیپ‌های مشترک بین نمونه‌های گلستان و مازندران می‌تواند ناشی از کریدورهای ارتباطی بین جمعیت‌ها باشد (کبیری بالاجاده و همکاران، ۲۰۱۷). در آنالیز ژنتیکی که آقازاده[4] و همکاران (۲۰۲۰) به منظور حفظ تنوع زیستی و افزایش دانش در مورد بقای گونه گوزن قرمز (مرال)[5] انجام دادند، نمونه‌های خون، مو و بافت ۷۸ رأس از آذربایجان غربی، اردبیل، قزوین، گلستان و مازندران جمع-آوری شد. نتایج منجر به شناسایی ۵ هاپلوتیپ شد و شاخص‌های تنوع ژنتیکی احتمال تجربه گردنه بطری را نشان داد که این وقفه در جریان ژن به دلیل انتقال گوزن‌های قرمز یک جمعیت به سایر زیستگاه‌ها در گذشته است.

از معایب این نشانگر می‌توان به تجمع جهش در این بخش از میتوکندری اشاره کرد. این نشانگر کدکننده پروتئین نیست (آقازاده و همکاران، ۲۰۲۰).

Ribosomal ribonucleic acid (rRNA):

rRNA، یک ریبوزیم است که سنتز پروتئین را در ریبوزوم ها انجام می‌دهد. RNA ریبوزومی شکل غالب RNA است که در اکثر سلول‌ها یافت می‌شود و ترکیبی از دامنه‌های کاملا حفاظت‌شده و نیز دامنه‌های تغییرپذیر است. در سطح جهانی به عنوان بهترین نشانگر مولکولی برای حل روابط فیلوژنتیک شناخته می‌شود (جورج[6] و همکاران، ۱۹۹۷). علاوه بر این، روند تکاملی ژن‌های rRNA به‌کندی از ژن‌های کدکننده پروتئین انجام می‌شود و از اهمیت ویژه‌ای برای تجزیه و تحلیل فیلوژنتیک گونه‌های خویشاوند (موریتز[7]، ۱۹۸۷) برخوردار است. به طور انحصاری، مدل ساختار مولکول‌های RNA بر اساس تجزیه و تحلیل مقایسه‌ای توالی ساخته شده است (گوتل[8]، ۱۹۹۳).

ژن ریبوزوم ۵ s rRNA:

ژن ۵ s rRNA، یک RNA با طول نوکلئوتید ۱۲۰ است که در تمام ریبوزوم‌های قارچ‌ها، حیوانات پیشرفته و بیشتر پروتئین‌ها وجود دارد (گری[9] و همکاران، ۱۹۹۹، ۲۸۳). این ژن ساختار حفاظت‌شده‌ای دارد که در طول ژنوم تکرار می‌شود. ژن ۵s rRNA دارای یک منطقه غیرکدکننده به نام TNS10 است که آن را به یک ژن مخصوص شناسایی گونه در یوکاریوت‌های پیشرفته تبدیل می‌کند. برخی از اولین اطلاعات مولکولی به دست آمده از جلبک سبز نخستی به وسیله توالی‌یابی ژن ریبوزوم 5s تهیه شده است. اما در طول این ژن فقط دو ناحیه اطلاعاتی قرار دارد و بهتر است برای بررسی روابط فیلوژنتیک گونه‌های خویشاوند مورد استفاده قرار بگیرد. مطالعات نشان می‌دهد که این ژن توان تفکیک کافی در سطح رده‌بندی و مطالعه واگرایی‌های اجدادی را ندارد اما قادر به شناسایی برخی گونه‌ها است (تاگنلی[11] و همکاران، ۲۰۱۱). در مطالعه‌ای برای شناسایی سریع و اقتصادی گونه‌های ماهی از تقویت ژن ۵s rRNA استفاده شد. در این روش بخشی از یک منطقه حفاظت شده و که در ادامه آن یک منطقه غیر کد کننده مخصوص گونه است، استفاده شد. همچنین جهت تهیه اطلاعات کامل از گونه‌های پرمصرف تجاری از پرایمرهای اختصاصی استفاده شد. ماهی‌هایی که به‌عنوان گونه‌های گران‌قیمت شناخته می‌شدند، در کمترین زمان ممکن شناسایی شدند (تاگنلی و همکاران، ۲۰۱۱).

---

1. Boore
2. Amills
3. *Capreolus capreolus*
4. Aghazadeh
5. Red deer (*Cervus elaphus*)
6. Goerge
7. Moritz
8. Gutell
9. Gray
10. *Termed Nontranscribed Spacer*
11. Tognoli

ژن ریبوزوم ۱۶s rRNA

ژن ۱۶S rRNA یک ریبوزوم پروکاریوتی است که کاملاً حفاظت شده است، اما به این معنی نیست که در همه موجودات با یک سرعت یکسان تکامل می‌یابد. ژن ریبوزوم ۱۶s معمولاً برای مطالعات فیلوژنتیک در سطوح میانی طبقه بندی مانند خانواده‌ها یا جنس استفاده می‌شود. این توالی‌ها برای استنباط زمان واگرایی متوسط تا طولانی استفاده می‌شوند (یانچسکی[1] و همکاران، ۱۹۹۵). در بررسی که حسن حسن و همکاران (۲۰۱۲)، به منظور شناسایی گونه جدید درمیان انواع قورباغه‌های آنورا[2] در بنگلادش انجام دادند، از توالی‌های ژنی ۱۶ s rRNA برای مقایسه گونه‌ها استفاده کردند. از میان ۱۰۷ نمونه جمع آوری شده و داده‌های مربوط به گونه‌های مرتبط، حداقل هشت گونه ناشناخته کشف شد. نتایج واگرایی ژنتیکی و تجزیه و تحلیل فیلوژنتیک حداقل ۱۹ گونه از قورباغه آنورا بنگلادش را نشان داد. فیضی[3] و همکاران (۲۰۱۶) در مطالعه روابط فیلوژنیک میان دو خزنده از زیرگونه‌های سقنقور خال قرمز[4]، به توالی‌یابی ژن ۱۶s rRNA تعداد ۱۲ نمونه پرداختند. با آنالیز توالی‌ها به روش حداکثر احتمال (ML) چهار شاخه کاملاً مجزا تشکیل شد. نتایج نشان داد که جنس *Eurylepis* فاصله ژنتیکی واضحی از جنس *Eumeces* دارد و ارتباط فیلوژنیتک تاکسون*Eumeces sp* با شاخه *Scincus* قابل تشخیص نیست. از معایب استفاده از COI/II این است که، این ابزار قادر به تشخیص دقیق واگرایی‌های معاصر نیست.

ژن ریبوزوم ۱۲s rRNA

ژن ۱۲s rDNA زیر واحد کوچک ریبوزوم است که از تعدادی از پروتئین‌های ریبوزومی تشکیل می‌شود. طولی حدود ۴۲۰باز آلی دارد و بسیار محافظت شده است. پژوهشگران از توالی ۱۲s rRNA برای شناسایی گونه، تشخیص واگرایی و زیست پزشکی قانونی حیات وحش استفاده می‌کنند. (پرکاش[5] و همکاران، ۲۰۰۲؛ راستوگی و همکاران، ۲۰۰۴) و به وسیله پرایمرهای عمومی قابل توالی‌یابی است. پیش از این پژوهشگران تصور می‌کردند که این ژن قابلیت تشخیص واگرایی‌های بسیار قدیمی را دارد. اما پژوهشگران در مطالعات اخیر متوجه شدند که اطلاعات فیلوژنتیک حاصل از ژن ۱۲s در بررسی رده‌بندی مرجانیان بر نتایج مورفولوژیکی منطبق نبوده است. در پژوهشی که توسط پنیکر[6] و همکاران (۲۰۱۶) به منظور ارزیابی قدرت شناسایی گونه در ژن ۱۲ s انجام شد، تعدادی از نمونه‌های متفاوت جمع‌آوری شده از حیات وحش توالی‌یابی شد. پس از مقایسه، مشخص شد که توالی‌ها به طور مشخص با توالی‌های میتوکندری مطابقت دارند. این مطالعه همچنین نشان داد که در شناسایی گونه به وسیله ژن ۱۲s می‌توان از پرایمر عمومی برای توالی‌یابی در اکثر موجودات استفاده کرد. پندی[7] و همکاران (۲۰۰۷) از ۱۲s rRNA برای شناسایی مولکولی پلنگ هندی[8] از میان نمونه‌های تحت اسارت و حیات‌وحش استفاده کرده‌اند. ۱۷ نمونه از مناطق تحت اسارت و ۴۲ نمونه از صحرا جمع آوری و یک ژن ۳۵۵ نوکلئوتیدی توالی یابی شد. همه توالی‌های به دست آمده در تجزیه و تحلیل، در مقایسه با توالی‌های بانک ژن، با تفاوت یک واحد، همولوژی پلنگ هندی با پلنگ آفریقایی[9] را نشان دادند. زمان واگرایی پلنگ هندی غربی که یک گونه در معرض خطر محسوب می‌شود، از پلنگ آفریقایی حدود ۱۶۲۰۰۰-۲۴۶۶۰۰۰ سال تخمین زده شد. لی[10] و همکاران (۲۰۰۳) در بررسی ژن‌های rRNA میتوکندریایی آنتیلوپ‌های چینی، مشاهده کرده‌اند که مقادیر واگرایی توالی متوسط برای ژن‌های ۱۶s و ۱۲s rRNA به ترتیب ۹/۹ و ۶/۳ درصد است. تجزیه و تحلیل فیلوژنتیک آنها نشان داد که غزال *Przewalski*[11] بیشتر از غزال تبت[12] با غزال مغولی[1] ارتباط دارد. این نشان می‌دهد که غزال *Przewalski* که به شدت در معرض خطر انقراض است باید به عنوان یک گونه در نظر گرفته شود و زیرگونه غزال تبت محسوب نمی‌شود.

---

1. Janczewski
2. Frog (*Anura)*
3. Feizi
4. *Eumeces schneiderii*
5. Prakash
6. Panicker
7. Pandy
8. Indian leopard (*Panthera pardus fusca*)
9. African leopard (*P. pardus*)
10. Lei
11. *Procapra przewalskii*
12. *Procapra picticaudata*

بحث و نتیجه گیری

استفاده از نشانگرهای مولکوی در بررسی ارتباطات میان جمعیت و افراد، مستلزم وجود و تحلیل ژنوتیپ‌ها در مکان‌های چندشکلی نشانگرها است. از میان نشانگرهای مولکولی در دسترس هیچ یک از آنها را نمی‌توان به عنوان ابزار بهینه برای همه کاربردها در نظر گرفت. نشانگرهای هسته‌ای علاوه بر شناسایی و انگشت‌نگاری، در بررسی تنوع ژنتیکی نیز استفاده می‌شوند.

به عنوان مثال، RAPD یکی از محبوب‌ترین گزینه‌ها در بررسی تنوع ژنتیکی میان جمعیت‌ها است (کریستین[۲] و همکاران، ۲۰۲۳؛ هادریس[۳] و همکاران، ۱۹۹۲). در گونه‌های پستانداران، بیشترین استفاده از نشانگر RAPD مربوط به تجزیه و تحلیل تنوع ژنتیکی درون گونه‌ای است و در انواع گروه‌های جانوری مانند جوندگان استفاده شده است (اسپریدونوا[۴] و همکاران، ۲۰۰۴). SNP در بررسی تنوع ژنتیکی در بین گونه‌ها و نژادهای مختلف نتایجی دقیق ارائه می‌دهد (ویگنال و همکاران، ۲۰۰۲). با این حال، بیشترین کاربرد آنها در تحقیقات زیست‌پزشکی برای مقایسه مناطق مختلف ژنوم در بین گروه‌ها است (ویگنال و همکاران، ۲۰۰۲). نشانگر ژنتیکی AFLP بیشترین کاربرد را در ارزیابی تاریخچه و ساختار جمعیت‌ها دارد (جیانگ[۵] و همکاران، ۲۰۲۳؛ گربر و همکاران، ۲۰۰۰؛ بنچ و آکسون، ۲۰۰۵). مطالعه‌ای که توسط (وینگ[۶] و همکاران (۲۰۰۳) انجام شد نشان داد که AFLPs ابزار مفیدی برای مطالعات ژنتیکی و تکاملی جمعیت پرندگان است.

ریزماهواره برای تشخیص ساختار ژنتیکی در مقیاس‌های مکانی محدود ابزار برتری است (لاهید[۷] و همکاران، ۲۰۰۳) و بهترین ابزار برای بررسی تنوع ژنتیکی درون و میان جمعیت‌ها است. زیرا وجود نرخ جایگزینی و جهش در میان ناحیه‌های مختلف DNA را با دقت بیشتری تشخیص می‌دهد (اشمیت، ۱۹۹۵؛ چانگتراگون[۸]، ۱۹۹۸). همچنین در تشخیص بهتر درون آمیزی، وجود گردنه بطری در جمعیت‌ها و رمزگشایی الگوهای پراکندگی اخیر استفاده می‌شود. زیرا می‌تواند سطوح بالاتر تنوع را تشخیص دهد (پاتواردن، ۲۰۱۴).

پژوهشگران روش تعیین توالی میتوکندری را برای مطالعات سیستماتیک و فیلوژنتیک پیشنهاد می‌کنند (مین و همکاران، ۲۰۰۴؛ خلیل‌زاده[۹] و همکاران،۲۰۱۶؛ کاشانی و همکاران،۲۰۱۶؛ لویکارت[۱۰] و همکاران، ۲۰۱۳). همانطور که در بسیاری از مطالعات اشاره شده است، سرعت تکاملی بیشتر موجب می‌شود تا میتوکندری ابزار بهتری برای بررسی تاریخ تکاملی در سطح خانواده، جنس و گونه برای اصلاح تاکسونومی محسوب شود (ژانگ و جیانک، ۲۰۰۶). در تشخیص گونه از طریق توالی‌یابی نمونه‌های مجهول از نشانگرهای میتوکندریایی استفاده می‌شود. با این تفاوت که فیلوژنی، نشان دهنده ژنولوژی یک ژن خاص است که فقط از طریق مادر به ارث می‌رسد (راستوگی و همکاران، ۲۰۰۷). در مطالعات ژنتیک حفاظت، ژن *Cytb* به عنوان ابزار دقیقی در مطالعات بررسی فیلوژنی، تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیت در دوره زمانی طولانی، پیشنهاد شده است (مومنی[۱۱] و همکاران، ۲۰۲۲؛ کاشانی و همکاران، ۲۰۱۹). در بررسی احتمال شکار غیرقانونی حیوانات در معرض خطر، توالی‌یابی تنها بخشی از ژن‌های سیتوکروم b کافی است (فریلند، ۲۰۰۵) و سرعت بالای توالی‌یابی و هزینه کم، امکان آزمایش کردن تعداد زیادی نمونه شک بر انگیز را به متخصصین می‌دهد. امکان بررسی تنوع ژنتیکی و گردنه بطری به‌وسیله نشانگر ناحیه کنترل نیز وجود دارد. در بسیاری از مطالعات از نشانگر COI برای تشخیص دقیق گونه استفاده شده است. به علاوه، COI عملکرد خوبی در بازیابی و اصلاح اطلاعات فیلوژنتیک مورد انتظار دارد (زاردویا و مایر، ۱۹۹۶).

از مجموعه نشانگرهای ریبوزوم هسته، ژن S rRNA۱۶ به عنوان پرکاربردترین نشانگر در بررسی روابط فیلوژنتیک معرفی شده است (منظری[۱۲] و همکاران، ۲۰۰۲؛ اشمیت و همکاران، ۲۰۰۶؛ یانچسکی و همکاران، ۱۹۹۵) و زیرا به اندازه‌ای دارای تغییرات است که مقایسه

---

1. *Procapra gutturosa*
2. Christiane
3. Hadrys
4. Spiridonova
5. Jiang
6. Wing
7. Lougheed
8. Changtragoon
9. Khalilzadeh
10. Luikart
11. Momeni
12. Manzari

میان افراد میسر شود و دارای جانشینی‌های بیش از حد (پاتواردن، ۲۰۱۴) و یا تغییرات زیاد طول در اثر جهش‌های القایی و حذفی نیست (کجر[1]، ۱۹۹۵). نشانگرهای ریبوزومی s rRNA۵ و s rRNA۱۲ به ابزاری برای شناسایی گونه اختصاص یافته است (گری و همکاران،۱۹۹۲؛ حسن و همکاران، ۲۰۱۲). s rRNA۵یک ژن مخصوص شناسایی گونه در یوکاریوت‌های پیشرفته است و در بررسی رده‌بندی گونه‌ها جهت تشخیص هیبرید بین گونه‌ای از ژن s۱۲ به وفور استفاده شده است و از صحت بالایی برخوردار است.

مرور مطالعات بالا نشان داد که از میان دو دسته ژن هسته و میتوکندری، دسته دوم کاربرد گسترده‌ای در مطالعه تغییرات تکاملی طولانی مدت و شناسایی گونه دارد (الیاسی گرجی و همکاران، ۲۰۲۳). پژوهشگران در مقایسه نشانگرهای میتوکندری به نقش میزان تغییرپذیری ژن بر کاربرد آن اشاره کردند و دریافتند که ژن s rDNA۱۲ بسیار حفاظت شده و CR بسیار متغیر است. میزان تغییرپذیری این ژن‌ها به ترتیب زیر است (عارف و خان[2]، ۲۰۰۹).

CR< *Cytb* <s rDNA ۱۶ <s rDNA ۱۲

بر اساس مطالعات کاربرد هر نشانگر مولکولی به یک مورد محدود نیست (۱.جدول). به‌طور مثال، عملکرد نشانگرهای ژنتیکی تک نسخه‌ای (SCNG) در ترسیم درخت فیلوژنتیک دقیق، بهتر از عملکرد نشانگرهای با نسخه چندگانه (توالی‌های تکرار شونده) است که در میان ژن های میتوکندریایی و هسته کاملا مشهود است (پاتواردن، ۲۰۱۴؛ چن[3] و همکاران، ۲۰۱۷). پژوهشگران به این نتیجه دست یافتند که میتوکندری برای تشخیص فرآیندهای تکاملی معاصر مناسب نیست. بنابر این برای بررسی این ارتباط بهتر است از نشانگرهایی با نرخ جهش بالا استفاده شود. با این وجود، در بسیاری از موارد نتایج حاصل از این دو نشانگر در جهت تایید یکدیگر است. بنابراین برای تفسیر دقیق‌تر در مباحثی مانند ژنتیک جمعیت، تنوع زیستی، فیلوژنی و پزشکی قانونی باید از نشانگرهای فرعی DNA هسته‌ای مانند RAPD، AFLP یا ریزماهواره استفاده شود (هاردون[4] و همکاران، ۲۰۲۱). در مطالعات تشخیص گونه در سطح مختلف طبقه‌بندی بهتر است ترکیبی از COI و S rRNA۱۲ مورد بررسی قرار بگیرد (پاتواردن، ۲۰۱۴). ممکن است کاربرد پرایمر عمومی در شناسایی گونه به وسیله ژن s۱۲ روش ساده و سریعی به‌نظر برسد اما به‌طور طبیعی نتایج این روش در مقایسه با COI دارای صحت کمتری است (پرکاش و همکاران، ۲۰۰۰، راستوگی و همکاران، ۲۰۰۴).

جدول(۱) کاربرد نشانگرهای مولکولی در مطالعات زیست‌شناسی حفاظت

نوع نشانگر	نام نشانگر	پژوهشگران	نام گونه
نشانگرهای هسته‌ای (Nuclear Markers)	چند شکلی قطعات DNA تصادفی تکثیر شده (RAPD)	یعش-بچاری و همکاران (۲۰۱۲)	Walton's mudskipper (*Periophthalmus waltoni*)
		چلومینا و همکاران (۱۹۹۹)	Amur leopard (*Panthera pardus orientalis*)
	چند شکلی در اندازه قطعات تکثیر شده (AFLP)	وانگ و همکاران (۲۰۰۳)	House finch *(Carpodacus mexicanus*)
		زنگر و همکاران (۲۰۰۶)	Sand tiger shark *(Carcharodon taurus*) Great white shark *(Carcharodon carcharias)*
		راینک و همکاران (۲۰۰۳)	*Venturia canescens*
	ریزماهواره‌ها (SSRs)	بونو و همکاران (۲۰۱۸)	Smooth newt (*Lissotriton vulgaris meridionalis*)
		احمدپور و همکاران (۲۰۲۰)	Great garbil (*Rhombomys opimus*)
		ککمک و همکاران (۲۰۱۹)	Cinereous vulture (*Aegypius monachus*)
		هانس و همکاران (۲۰۱۱)	Smooth newt (*Lissotriton vulgaris meridionalis*)
	چندشکلی نوکلئوتیدی ساده (SNP)	حسن و همکاران (۲۰۱۸)	Nubian ibex (*Capra nubiana*) Bezoar ibex (*Capra aegagrus*) Alpine ibex (*Capra ibex*) Taggar goats (*Capra aegagrus hircus*)

[1]. Kjer
[2]. Khan
[3]. Chen
[4]. Hardouin

نوع نشانگر	نام نشانگر		پژوهشگران	نام گونه
نشانگرهای میتوکندریایی (Mitochondrial Markers)	ژن سیتوکروم اکسیداز زیرواحد (COI/II)		علی‌آبادیان و همکاران (۲۰۰۷)	*oenanthe*
	ژن سیتوکروم ب(*Cytb*)		کاشانی و همکاران (۲۰۱۹)	Brandt's hedgehog (*Paraechinus hypomelas*)
			میرزاخواه و همکاران (۲۰۱۵)	gazelles
			گوپتا و همکاران(۲۰۰۵)	Gorals
	ناحیه کنترل(CR)		ایمانی هرسینی و همکاران (۲۰۱۷)	*Vulpes vulpes*
			(ژانگ و جیانک ، ۲۰۰۶)	Tibetan gazelle (*Procapra picticaudata*)
	D-loop		کبیری بالاجاده و همکاران (۲۰۱۷)	*Capreolus capreolus*
			(آقازاده و همکاران، ۲۰۲۰)	Red deer (*Cervus elaphus*)
	Ribosomal ribonucleic acid (rRNA)	S ۵rRNA	(تاگنلی و همکاران، ۲۰۱۱)	Fishes
		S ۱۶rRNA	حسن و همکاران (۲۰۱۲)	Frog (*Anura)*
			فیضی و همکاران (۲۰۱۶)	*Eumeces schneiderii prince* *Eumeces schneiderii pavimentatus*
		S ۱۲rDNA	پندی و همکاران (۲۰۰۷)	Indian leopard (*Panthera pardus fusca*)
			لی و همکاران (۲۰۰۳)	*Procapra przewalskii* *Procapra picticaudata* *Procapra gutturosa*

اگرچه امروزه مطالعات مولکولی را می‌تواند در مدت زمان کمتر، با هزینه کمتر و با تخصص فنی کمتر از قبل انجام داد، اما استفاده صحیح از این داده‌ها در زیست‌شناسی حفاظت، اصول ژنتیک جمعیت و تکامل مولکولی، نیازمند آموزش جامع‌تری است. طبق بررسی تاریخچه تکاملی نشانگرها، ابزارهای جدیدتر صرفا کاربرد بهتری نسبت به نشانگرهای قدیمی‌تر ندارند و در ارزیابی تنوع ژنتیکی تنها برخی از نشانگرهای پیشرفته جدید نسبت به نشانگرهای قدیمی برتری دارند (شلاترر[1]، ۲۰۰۴). انتخاب یک نشانگر مناسب، مهم‌ترین و در عین حال مشکل‌ترین بخش مطالعات ژنتیکی است. حتی در مطالعاتی که ژن‌ها با دقت غربالگری و انتخاب می‌شوند، تجزیه و تحلیل معنای اکولوژیکی از داده ژنتیکی می‌تواند مشکل باشد. با مقایسه نتایج با سایر زمینه‌های علمی ازجمله اکولوژی و ریخت‌شناسی و آنالیز تخصصی ژن می‌توان به تصویر واضحی از علم ژنتیک و حفاظت ژنتیکی حیات وحش دست یافت. طبق مطالعات اخیر یکی از منطقی‌ترین روش‌های انتخاب نشانگر مناسب، در نظر گرفتن سطح تغییرپذیری مورد انتظار است. انتخاب ناحیه ژنی و تغییرپذیری مورد نظر به سؤالی که پرسیده می‌شود بستگی دارد. زیرا انتظار می‌رود مناطق ژنتیکی مختلف با سرعت متفاوت تکامل پیدا می‌کنند. همچنین، پاسخ به سوال‌هایی که در زمینه حفاظت مطرح می‌شود تنها با تسلط بر علم ژنتیک میسر نیست و شناخت کافی از رفتارشناسی و زیست شناسی گونه امری الزامی است.

منابع

ایمانی هرسینی, جلیل؛ رضایی, حمیدرضا؛ نادری, سعید؛ وارسته‌مرادی, حسین (۱۳۹۵). بررسی ساختار و تنوع ژنتیکی روباه معمولی (Vulpes vulpes) در شمال شرق ایران براساس ژن سیتوکروم b. فصلنامه محیط زیست جانوری, ۸(۴), ۲۵-۳۴.

کبیری بالاجاده, حمیدرضا؛ رضایی, حمیدرضا؛ نادری, سعید (۱۳۹۶). تنوع ژنتیکی شوکا (Capreolus capreolus) در استان های گلستان و مازندران براساس توالی ژن دی لوپ (D-loop) میتوکندری. فصلنامه محیط زیست جانوری, ۹(۱), ۴۹-۵۶ .

[1]. Schlotterer

یعش بچاری، سعاد؛ ذوالقرنین، حسین؛ محمدی ده چشمه، مهدی؛ سالاری علی آبادی، محمدعلی؛ قاسمی، سیداحمد (۱۳۹۱). بررسی تنوع ژنتیکی ماهی گل خورک (*Periophthalmus waltoni*) با استفاده از نشانگر های RAPD در خلیج فارس. مجله علوم و فنون دریایی ایران، ۱۱(۳)، ۶۴-۷۱.

Aghazadeh, L., Nikbin, S., Mirzaei, F., & Hedayat, N. (2020) . Using D-Loop region to study the genetic structure and phylogenetic analysis of Iranian red deer. *Journal of Animal Science Research, 29*(4), 17-33.

Ahmadpour, M., Moradi, H. V., Rezaei, H. R., Oshaghi, M. A., Hapeman, P., & Hosseinzadeh Colagar, A. (2020). Genetic diversity and structure of the Great Gerbil, *Rhombomys opimus*, in Iran (Mammalia: Rodentia). *Zoology in the Middle East*, *66*(1), 1-12.

Aliabadian, M., Kaboli, M., Prodon, R., Nijman, V., & Vences, M. (2007). Phylogeny of Palaearctic wheatears (genus *Oenanthe*)—Congruence between morphometric and molecular data. *Molecular phylogenetics and evolution*, *42*(3), 665-675 .

Amills, M., Capote, J., Tomas, A., Kelly, L., & Obexer-Ruff, G. (2004). Strong phylogeographic relationships among three goat breeds from the Canary Islands. *Journal of Dairy Research 71*(3):257-262

Anne, C. (2006). Choosing the right molecular genetic markers for studying biodiversity: from molecular evolution to practical aspects. *Genetica*, *127*(1-3), 101-120.

Arif, I. A., & Khan, H. A. (2009). Molecular markers for biodiversity analysis of wildlife animals: a brief review. *Animal Biodiversity and Conservation*, *32.1*: 9–17.

Arif, I. A., Khan, H. A., Bahkali, A. H., Al Homaidan, A. A., Al Farhan, A. H., Al Sadoon, M, & Shobrak, M. (2011). DNA marker technology for wildlife conservation. *Saudi journal of biological sciences*, *18*(3), 219-225.

Avise, J. C. (2004). *Molecular markers, natural history an evolution.* 2nd ed. New York, Sinauer Associates, 684p.

Ayele, T. B., Gailing, O., & Finkeldey, R. (2011). Assessment and integration of genetic, morphological and demographic variation in *Hagenia abyssinica* (Bruce) J. F. Gmel to guide its conservation. *Journal for Nature Conservation, 19(1), 8-17*.

Bhaskar, R., & Sharon, E. A. (2022). Molecular Genetic Approaches in Wildlife Conservation. In *Genetic Diversity-Recent Advances and Applications*. IntechOpen.

Bensch, S., & Åkesson, M. (2005). Ten years of AFLP in ecology and evolution: why so few animals? *Molecular Ecology*, 14(10), 2899-2914.

Boontawee, B., Szmidt, A. E., & Boyle, T. J. B. (1995). Molecular population genetics and evolution: two missing elements in studies of biodiversity Measuring and monitoring biodiversity in tropical and temperate forests; proceedings. In *IUFRO Symposium on Measuring and Monitoring Biodiversity in Tropical and Temperate Forests27 Ago-2 Set 1994Chiang Mai (Tailandia)* (No. 333.95063 M484 1994). CIFOR, Bogor (Indonesia) IUFRO, Bogor (Indonesia).

Boontong, C., Pandey, M., & Changtragoon, S. (2009). Isolation and characterization of microsatellite markers in Indian neem (*Azadirachta indica* var. *indica* A. Juss) and cross-amplification in Thai neem (A. indica var. *siamensis* Valenton). *Conservation Genetics*, 10, 669-671.

Boore, J. L. (1999). Animal mitochondrial genomes. *Nucleic Acids Research* 27:1767-1780

Buono, V., Galliani, G., Mancini, E., Davoli, F., Mengoni, C., Mucci, N., & Vignoli, L. (2018). An improved microsatellite panel to assess genetic variability of the Italian smooth newt (*Lissotriton vulgaris meridionalis*). *Journal of genetics*, 97(2), 569-573.

Cakmak, E., Akin Pekşen, C., Kirazli, C., Yamac, E., Bensch, S., & Bilgin, C. C. (2019). Genetic diversity is retained in a bottlenecked Cinereous Vulture population in Turkey. *Ibis*, 161(4), 793-805.

Campbell, D, Duchesne, P., & Bernatchez, L. (2003). AFLP utility for population assignment studies: analytical investigation and empirical comparison with microsatellites. *Molecular Ecology*. 12:1979–1991.

Changtragoon, S., & Szmidt, A. E. (1997). The evaluation of genetic diversity and resources of tropical forest trees in Thailand by using molecular markers. In: *The 6th annual international workshop of BIO-REFOR, the university of Queensland, Brisbane, Australia, 2–9 December 1997*, pp 169–171

Changtragoon, S., Jalonen, R., & Lowe, A. J. (2017). Use of molecular markers in the conservation management of tropical trees. In Biodiversity and conservation of woody plants (pp. 155-195). *Springer, Cham.* p. 155-195.

Chelomina, G. N., Spiridonova, L. N., Kozyrenko, M. M., Artiukova, E. V., IuV, C., & IuN, Z. (1999). Use of RAPD-PCR-analysis of cellular DNA for the evaluation of genetic polymorphism and subspecies diagnostics of the Far Eastern leopard, *Panthera pardus orientalis*. *Genetika*, *35*(5), 681-687.

Chen, J., Zeng, YF., Liao, WJ. et al. (2017). A novel set of single-copy nuclear gene markers in white oak and implications for species delimitation. *Tree Genetics & Genomes*. 13, 50. https://doi. org/10. 1007/s11295-017-1130-3

Christiane, R. S., Ramesh, U., & Karuppudurai, T. (2023). Genetic diversity within and among populations of the fulvous fruit bat Rousettus leschenaulti using RAPD analysis. *Current Science* (00113891), 124(1).
DeWoody, J. A., & Avise, J. C. (2000). Microsatellite variation in marine, freshwater and anadromous fishes compared with other animals. *Journal of fish biology*, 56(3), 461-473.
Elyasigorji, Z., Izadpanah, M., Hadi, F., & Zare, M. (2023). Mitochondrial genes as strong molecular markers for species identification. *The Nucleus*, 66(1), 81-93.
Feizi, H., Heidari, N., Pouyani, N. R., & Pouyani, E. R. (2016). Molecular phylogeny of the genus *Eumeces* Wiegmann, 1834 (Reptilia: Scincidae) in Iran, inferred from 16s mitochondrial DNA.
Frankham, R., Ballou, J. D., & Briscoe, D. A. (2004). *A primer of conservation genetic*. Cambridge University Press, New York. 93.
Freeland, J., Kirk, H., & Petersen, S. (2011). *Molecular Ecology* (2nd ed). Chichester (UK): John Wiley & Sons.
Gerber, S., Mariette, S., Streiff, R., Bode´ne´s, C., & Kremer, A. (2000). Comparison of microsatellites and amplified fragment length polymorphism markers for parentage analysis. *Mol Ecol*. 9:1037–1048.
Goerge, E. F., Pechman. C. R., Woese, C. R. (1977). Comparative cataloging of 16S ribosomal ribonucleic acid: Molecular approach to prokaryotic systematics. *Int J Syst Bacteriol* 27: 44-57.
Gray, M., & Burger, G., & Lang, B. (1999). Mitochondrial Evolution. *Science. 283.* 5407. 1476.
Gupta, S. K., Verma, S. K., & Singh, L. (2005). Molecular insight into a wildlife crime: the case of a peafowl slaughter. *Forensic Sci. Int*. 154, 214–217.
Gutell, R. R., Gray M. W., & Schnare, M. N. (1993). A compilation of large subunit (23S and 23S-like) ribosomal RNA structures: 1993. *Nucleic Acids Res 21*: 3055- 3074
Haanes, H, Roed, K. H., Perez-Espona, S., & Rosef, O. (2011). Low genetic variation support bottlenecks in Scandinavian red deer. *European journal of wildlife research, 57*(6), 1137-1150.
Hadrys, H., Balick, M., & Schierwater, B. (1992). Applications of random amplified polymorphic DNA (RAPD) in molecular ecology. *Molecular ecology, 1*(1), 55-63.
Hardouin, E. A., Butler, H., Cvitanović, M., Ulrich, R. G., Schulze, V., Schilling, A. K., & Hodder, K. H. (2021). Wildlife conservation in a fragmented landscape: the Eurasian red squirrel on the Isle of Wight. *Conservation Genetics*, 1-13.
Hasan, M., Islam, M. M., Khan, M. M. R., Alam, M. S., Kurabayashi, A., Igawa, T., & Sumida, M. (2012). Cryptic anuran biodiversity in Bangladesh revealed by mitochondrial 16S rRNA gene sequences. *Zoological science*, *29*(3), 162-172.
Hassan, L. M., Arends, D., Rahmatalla, S. A., Reissmann, M., Reyer, H., Wimmers, K, & Brockmann, G. A. (2018). Genetic diversity of Nubian ibex in comparison to other ibex and domesticated goat species. *European Journal of Wildlife Research, 64*(5), 1-10.
Hedrick, P. W. (1999). Perspective: highly variable loci and their interpretation in evolution and conservation. *Evolution, 53*, 313–318.
Janczewski, D. N., Modi, W. S., Stephens, J. C., & O'Brien, S. J. (1995). Molecular evolution of mitochondrial 12S RNA and cytochrome b sequences in the pantherine lineage of Felidae. *Molecular biology and evolution, 12*(4), 690-707.
Jiang, S., Xiong, Y., Zhang, L., Zhang, W., Zheng, Y., Wang, J., & Fu, H. (2023). Genetic diversity and population structure of wild *Macrobrachium nipponense* populations across China: Implication for population management. *Molecular Biology Reports*, 1-12.
Jolodar, A. (2019). Molecular characterization and phylogeny analysis based on sequences of cytochrome oxidase gene from Hemiscorpius lepturus of Iran. *Iran J Vet Med*, 13(1), 59-67.
Kashani, E., Rezaei, H., Khorasani, N., & Naderi, M. (2019). Phylogeny, genetic diversity and population structure of Brandts hedgehog Paraechinus hypomelas, inferred from the mitochondrial evidences. *Journal of Wildlife and Biodiversity*, *3*(2), 18-28.
Khalilzadeh, P., Rezaei, H. R., Fadakar, D., Serati, M., Aliabadian, M., Haile, J., & Goshtasb, H. (2016). Contact zone of Asian and European wild boar at North West of Iran. *PloS one*, 11(7), e0159499.
Khan, H. A., Arif, I. A., Bahkali, A. H., Farhan, A. H. A., & Homaidan, A. A. A. (2008). Bayesian, maximum parsimony and UPGMA models for inferring the phylogenies of antelopes using mitochondrial markers. *Evolutionary Bioinformatics*, 4, EBO-S934.
Kjer, K. M. (1995). Use of rRNA secondary structure in phylogenetic studies to identify homologous positions: an example of alignment and data presentation from the frogs. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 4(3), 314-330.
Lapinski, A. G., Pavlenko, M. V., Solovenchuk, L. L., & Gorbachev, V. V. (2016). Some limitations in the use of the mitochondrial dna cytb gene as a molecular marker for phylogenetic and population-genetic studies by the example of the apodemus genus. *Russian Journal of Genetics: Applied Research*, *6*, 84-90.

Lee, S. L., Ng, K. K., Saw, L. G., Lee, C. T., Muhammad, N., Tani, N., & Koskela, J. (2006). Linking the gaps between conservation research and conservation management of rare dipterocarps: a case study of *Shorea lumutensis*. *Biological Conservation*, 131(1), 72-92.

Lei, R., Hu, Z., Jiang, Z., & Yang, W. (2003). Phylogeography and genetic diversity of the critically endangered Przewalski's gazelle. In *Animal Conservation Forum* (Vol. 6, No. 4, pp. 361-367). Cambridge University Press.

Lougheed, S. C., Gibbs, H. L., Prior, K. A., & Weatherhead, P. J. (2000). A comparison of RAPD versus microsatellite DNA markers in population studies of the Massasauga rattlesnake. *Journal of Heredity*, 91(6), 458-463.

Lowe, A. J., Moule, C., Trick, M., & Edwards, K. J. (2004). Efficient large-scale development of microsatellites for marker and mapping applications in Brassica crop species. *Theoretical and applied genetics*, 108, 1103-1112.

Lowe, A., Harris, S., & Ashton, P. (2004). a. Ecological genetics: design. *Analysis, and Application. Blackwell, Oxford*, UK.

Lucchini, V. (2003). AFLP: a useful tool for biodiversity conservation and management. *Comptes Rendus Biologies*, 326, 43-48.

Luikart, G. H., Aitken, S. N., & Allendorf, F. W. (2012). *Conservation and the Genetics of Populations.* Germany: Wiley.

Manel, S., Joost, S., Epperson, B. K., Holderegger, R., Storfer, A., Rosenberg, M. S., & Fortin, M. J. (2010). Perspectives on the use of landscape genetics to detect genetic adaptive variation in the field. *Molecular Ecology*, 19(17), 3760-3772.

Manzari, S., Polaszek, A., Belshaw, R., & Quicke, D. L. J. (2002). Morphometric and molecular analysis of the *Encarsia inaron* species-group (Hymenoptera: Aphelinidae), parasitoids of whiteflies (Hemiptera: Aleyrodidae). *Bulletin of Entomological Research*, 92(2), 165-175.

Min, M. S., Okumura, H., Jo, D. J., An, J. H., Kim, K. S., Kim, C. B., & Lee, H. (2004). Molecular phylogenetic status of the Korean goral and Japanese serow based on partial sequences of the mitochondrial cytochrome b gene. *Molecules and Cells*, 17(2), 365-372.

Mirzakhah, M., Naderi, S., Rezaei, H. R., Fadakar, D., & Naseri, M. (2015). Phylogeny of gazelles in some islands of Iran based on mtDNA sequences: Species identification and implications for conservation. *Caspian Journal of Environmental Sciences*, 13, 21–30 .

Momeni, N., Rezaei, H. R., Ahmadpour, M., & Hapeman, P. (2022). Mitochondrial DNA cytochrome b diversity and phylogeny of the Eurasian coot (*Fulica atra*; Linnaeus, 1758)(Gruiformes: Rallidae). *Journal of Wildlife and Biodiversity*, *6*(2), 22-34.

Moritz, C. T. E. D., Dowling, T. E., & Brown, W. M. (1987). Evolution of animal mitochondrial DNA: relevance for population biology and systematics. *Annual review of ecology and systematics*, 18(1), 269-292.

Neff, B. D., & Gross, M. R. (2001). Microsatellite evolution in vertebrates: inference from AC dinucleotide repeats. *Evolution*, 55, 1717–1733.

Ng, W. L., & Szmidt, A. E. (2013). A simple and inexpensive molecular assay for species identification of Indo-West Pacific *Rhizophora mangroves* for conservation and management. *Conservation Genetics Resources*, 5, 1059-1061.

Ng, W. L., Chan, H. T., & Szmidt, A. E. (2013). Molecular identification of natural mangrove hybrids of *Rhizophora* in Peninsular Malaysia. *Tree genetics & genomes*, 9, 1151-1160.

Ottewell, K. M., Bickerton, D. C., Byrne, M., & Lowe, A. J. (2016). Bridging the gap: A genetic assessment framework for population-level threatened plant conservation prioritization and decision-making. *Diversity and Distributions*, 22(2), 174-188.

Pandey, P. K., Dhotre, D. P., Dharne, M. S., Khadse, A. N., Hiremath, U. I., Chaudhari, R. D., & Shouche, Y. S. (2007). Evaluation of mitochondrial 12S rRNA gene in the identification of *Panthera pardus fusca* (Meyer, 1794) from field-collected scat samples in the Western Ghats, Maharashtra, India. *Current Science*, 1129-1133.

Panicker, V. P., Haridas, P. C., Narayanan, A., Mohammed, S., & Babu, B. C. (2019). Mitochondrial 12S rRNA gene sequence analysis, a tool for species identification. *Journal of Wildlife and Biodiversity*, 3(3), 29-35.

Patwardhan, A., Ray, S., & Roy, A. (2014). Molecular markers in phylogenetic studies-a review. *Journal of Phylogenetics & Evolutionary Biology*, 2014.

Prakash, S., Patole, M. S., Ghumatkar, S. V., Nandode, S. K., Shinde, B. M., & Shouche, Y. S. (2000). Mitochondrial 12S rRNA sequence analysis in wildlife forensics. *Current Science*, 1239-1241.

Rehman, M. S. U., Hassan, F. U., & Khan, M. S. (2023). Phylogenetic Relationship among Indigenous Cattle Breeds of Pakistan Based on RAPD Markers. *Pakistan Journal of Zoology*, 55(2).

Rastogi, G., Dharne, M. S., Walujkar, S., Kumar. A., Patole, M. S., & Shouche, Y. S. (2007). Species identification and authentication of tissues of animal origin using mitochondrial and nuclear markers. *Meat science.* 76: PP. 666-674.

Rastogi, G., Dharne, M., Bharde, A., Pandav, V. S., Ghumatkar, S. V., Krishnamurthy, R., & Shouche, Y. S. (2004). Species determination and authentication of meat samples by mitochondrial 12S rRNA gene sequence analysis and conformation-sensitive gel electrophoresis. *Current Science*, 1278-1281.

Reineke, A., Schmidt, O., & Zebitz, C. P. W. (2003). Differential gene expression in two strains of the endoparasitic wasp *Venturia canescens* identified by cDNA-amplified fragment length polymorphism analysis. *Molecular Ecology*, 12(12), 3485-3492.

Rodrigues, F. P., Garcia, J. F., Ramos, P. R. R., Bortolozzi, J., & Duarte, J. M. B. (2007). Genetic diversity of two Brazilian populations of the Pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus*, Linnaeus 1758). *Brazilian Journal of Biology*, 67(4), 805-811.

Russo, C. A., Takezaki, N., & Nei, M. (1996). Efficiencies of different genes and different tree-building methods in recovering a known vertebrate phylogeny. *Molecular biology and evolution*, 13(3), 525-536.

Schmidt, S., Driver, F., & De Barro, P. (2006). The phylogenetic characteristics of three different 28S rRNA gene regions in *Encarsia* (Insecta, Hymenoptera, Aphelinidae). *Organisms Diversity & Evolution*, 6(2), 127-139.

Squirrell, J., Hollingsworth, P. M., Woodhead, M., Russell, J., Lowe, A. J., Gibby, M., & Powell, W. (2003). How much effort is required to isolate nuclear microsatellites from plants? *Molecular ecology* 12:1339– 1348

Tognoli, C., Saroglia, M., Terova, G., Gornati, R., & Bernardini, G. (2011). Identification of fish species by 5S rRNA gene amplification. *Food chemistry*, 129(4), 1860-1864.

Vignal, A., Milan, D., SanCristobal, M., & Eggen, A. (2002). A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics. *Genetics selection evolution*, 34(3), 275-305.

Vinceti, B., Loo, J., Gaisberger, H., van Zonneveld, M. J., Schueler, S., Konrad, H., & Geburek, T. (2013). Conservation priorities for *Prunus africana* defined with the aid of spatial analysis of genetic data and climatic variables. *PloS one*, 8(3), e59987.

Wang, Z., Baker, A. J., Hill, G. E., & Edwards, S. V. (2003). Reconciling actual and inferred population histories in the house finch (*Carpodacus mexicanus*) by AFLP analysis. *Evolution*, 57(12), 2852-2864.

Wenne, R. (2023). Single Nucleotide Polymorphism Markers with Applications in Conservation and Exploitation of Aquatic Natural Populations. *Animals, 13(6),* 1089.

Willing, E. M., Dreyer, C., & Van Oosterhout, C. (2012). Estimates of genetic differentiation measured by F_{ST} do not necessarily require large sample sizes when using many SNP markers. *PloS one*, 7(8), e42649.

Wink, M., El-Sayed, A. A., Sauer-Gurth, H., & Gonzalez, J. (2010). Molecular Phylogeny of owls (*Strigiformes*) inferred from DNA sequences of the mitochondrial cytochrome *b* and the nuclear RAG-1 gene. *Ardes*. 97: PP. 581-591.

Yang, W., Kang, X., Yang, Q., Lin, Y., & Fang, M. (2013). Review on the development of genotyping methods for assessing farm animal diversity. *Journal of animal science and biotechnology*, 4(1), 1-6.

Zardoya, R., & Meyer, A. (1996). Phylogenetic performance of mitochondrial protein-coding genes in resolving relationships among vertebrates. *Molecular biology and evolution*, 13(7), 933-942.

Zenger, K. R., Stow, A. J., Peddemors, V., Briscoe, D. A., & Harcourt, R. G. (2006). Widespread utility of highly informative AFLP molecular markers across divergent shark species. *Journal of Heredity*, 97(6), 607-611.

Zhang, F., & Jiang, Z. (2006). Mitochondrial phylogeography and genetic diversity of Tibetan gazelle (*Procapra picticaudata*): implications for conservation. *Molecular phylogenetics and evolution*, 41(2), 313-321.