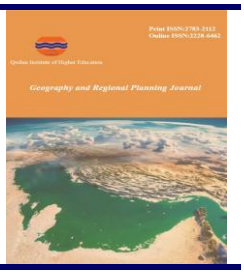
Iranian Association of Geopolitical

Geography and Regional Planning

ISSN (Print): 2783-2112 - ISSN (Online): 2228-6462

Homepage: https://www.jgeoqeshm.ir/



Spatial distribution pattern of genetic diversity in the Larestan sheep and ram population of the Koh Hawa-Tang Khor region (Fars Province): A new approach for regional planning of habitat conservation

Mohammadali Salmanpour[1], Hossein Parvaresh[2], Saber Ghasemi[3], Shadi Khatami[4]

1.Department of Environmental Engineering, BA.C., Islamic Azad University, Bandar Abbas, Iran.Email: 5159836365@iau.ac.ir
2.Department of Environmental Engineering, BA.C., Islamic Azad University, Bandar Abbas, Iran. Email: hosseinp1@iau.ac.ir
3.Department of Environmental Engineering, BA.C., Islamic Azad University, Bandar Abbas, Iran.Email: 5679512645@iau.ac.ir
4.Department of Natural Resources, BA.C., Islamic Azad University, Bandar Abbas, Iran. Email: shadi.khatami@iau.ac.ir

ARTICLEINFO

Article type:
Research Paper

Article history:
Received: January 30, 2026
Revised: March 8, 2026
Accepted: June 15, 2026
Published: June 15, 2026

Keywords:
Genetic diversity,
Ovis orientalis laristanica,
Cytochrome *b*,
Phylogenetic analysis,
Kuh-e Hava–Tang-e Khvor.

Abstract

This study aimed to evaluate the genetic diversity and population structure of the Laristan sheep (*Ovis orientalis laristanica*) within the Kuh-e Hava–Tang-e Khvor No-Hunting Area, covering 86,752 hectares in southeastern Fars Province, Iran. Sampling was conducted in the autumn of 2025 across three sub-regions: Kuh-e Hava, Shanol, and Tabnak, yielding 15 fecal samples and 2 tissue samples. DNA extraction was performed using Bioneer kits, and the mitochondrial cytochrome *b* gene was amplified using three sets of primers. Although fecal samples exhibited lower quality due to environmental degradation, the use of auxiliary primers significantly enhanced amplification success. Out of 40 initial samples, 36 high-quality sequences (90%) were selected for final analysis, with the highest success rate observed in the Tabnak region (94.1%) and the lowest in the Shanol region (84.6%). Sequence analysis revealed a high A+T content across all populations, with mutation patterns predominantly characterized by transitions, indicating the evolutionary stability of the cytochrome *b* gene. Phylogenetic results and genetic distance matrices revealed significant differentiation among the populations. The Kuh-e Hava population, with a genetic distance of approximately 0.045, clustered within the Armenian mouflon (*Ovis orientalis gmelini*) clade. In contrast, the Shanol and Tabnak populations exhibited very close genetic affinity (0.009) and were categorized within the Urial sheep (*Ovis vignei*) clade. Furthermore, evidence of introgression was observed between the two species in the Shanol and Tabnak regions, suggesting gene flow at the ecotonal boundaries of their habitats. These findings indicate that the Laristan region serves as a habitat for two distinct genetic lineages. Therefore, for sustainable conservation, it is recommended that habitat management programs be developed separately, accounting for the genetic purity and hybridization potential within each of these sub-regions.

How to cite: Salmanpour, M, Parvaresh, H, Ghasemi, S and Khatami, S. (2026). Spatial distribution pattern of genetic diversity in the Larestan sheep and ram population of the Koh Hawa-Tang Khor region (Fars Province): A new approach for regional planning of habitat conservation. Geography and Regional Planning, 16(63).175-192. https://doi.org/ 10.22034/jgeoq.2026.583522.4461

© Author(s) retain the copyright and full publishing rights
DOI: https://doi.org/ 10.22034/jgeoq.2026.583522.4461

Publisher: Qeshm Institute of Higher Education

Introduction

The Laristan wild sheep (*Ovis orientalis laristanica*) is the smallest wild sheep globally and an endemic subspecies of Iran. Due to its unique morphology and limited distribution, it faces significant conservation challenges. This study utilizes mitochondrial DNA (mtDNA) sequencing, specifically the Cytochrome b (Cyt-b) gene, as a molecular marker to resolve the phylogenetic position and genetic structure of this subspecies in the Kuh-e Hava–Tang-e Khor region. The Cyt-b gene is highly effective for determining evolutionary relationships at the species and subspecies levels due to its maternal inheritance and lack of recombination.

Methodology

The study area covers 86,752 hectares in southeastern Fars Province, encompassing three sub-regions: Kuh-e Hava, Shanol, and Tabnak.

Sampling: 15 fecal samples (collected in Autumn 2025) and 2 tissue samples were analyzed.

Molecular Analysis: DNA was extracted using Bioneer kits. Three pairs of primers were employed to amplify segments of the Cyt-b gene (1140, 741, and 765 bp).

Data Processing: Sequences were aligned using MEGA 5 and compared with reference sequences from GenBank (NCBI). Phylogenetic trees were constructed using the Neighbor-Joining (NJ) method. Nucleotide composition and substitution patterns were calculated to assess evolutionary stability.

Results and Discussion

Out of 40 analyzed samples, 36 high-quality sequences (90% success rate) were obtained.

Technical Success: The Tabnak region showed the highest success rate (94.1%), while Shanol was the lowest (84.6%), likely due to environmental degradation of fecal DNA.

Nucleotide Composition: All populations exhibited an AT-rich composition. In Kuh-e Hava, Adenine (A) was highest (32.14%) and Guanine (G) lowest (11.87%). Substitution patterns were dominated by Transitions (e.g., C ↔ T/U), indicating high evolutionary stability.

Phylogenetic Placement: The NJ tree revealed a clear split:

Kuh-e Hava Population: Clustered within the Armenian Mouflon (*Ovis orientalis gmelini*) lineage, showing a genetic distance of ~0.045 from other studied groups.

Shanol and Tabnak Populations: Clustered within the Urial Sheep (*Ovis vignei*) lineage with a very close inter-population distance (0.009).

Genetic Distances: The distance between Urial and Armenian lineages in this zone was confirmed at 0.045, identifying this region as a significant transition or hybrid zone.

Conclusion

The findings indicate that the “Laristan” region is not genetically homogenous. The Kuh-e Hava population maintains higher genetic purity associated with the Armenian lineage, whereas Shanol and Tabnak show strong evidence of genetic introgression between Armenian and Urial species. This suggests that the region acts as a “Hybrid Zone” or transition belt where gene flow occurs between two distinct evolutionary lineages. To ensure sustainable management, a differentiated conservation strategy is required. Kuh-e Hava should be managed as a primary habitat for the Armenian-type lineage, while Shanol and Tabnak require monitoring for their unique hybrid genetic diversity. Habitat management must prioritize preventing further genetic erosion and maintaining the purity of the remaining distinct clusters.

Ethical considerations

Following the principles of research ethics

The authors have observed the principles of ethics in conducting and publishing this scientific research, and this is confirmed by all of them.

Data Availability Statement

Data available on request from the authors.

Acknowledgements

First author: Preparation of samples, conducting experiments and collecting data, performing calculations, statistical analysis of data, analysis and interpretation of information and results, preparing a draft of the article

Ethical Considerations

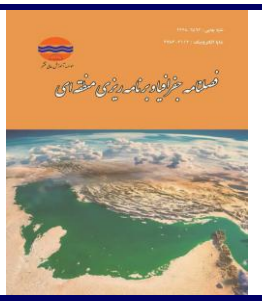
The authors affirm that they have adhered to ethical research practices, avoiding plagiarism, misconduct, data fabrication or falsification, and have provided their consent for this article's publication.

Funding

This research was conducted without any financial support from Payam Noor University.

Conflict of Interest

The authors declare no conflict of interest



فصلنامه جغرافیا و برنامه ریزی منطقه ای

شاپا چاپی: ۶۴۶۲- ۲۲۲۸ شاپا الکترونیکی: ۲۱۱۲ -۲۷۸۳

Homepage: https://www.jgeoqeshm.ir/

انجمن ژئوپلیتیک ایران

الگوی پراکنش فضایی تنوع ژنتیکی در جمعیت قوچ و میش لارستان منطقه کوه هوا–تنگ خور(استان فارس): رهیافتی نوین برای برنامه‌ریزی منطقه‌ای حفاظت از زیستگاه‌ها

محمدعلی سلمان پور[۱]، حسین پرورش✉[۲]، صابر قاسمی[۳]، شادی خاتمی[۴]

۱. گروه مهندسی محیط زیست، واحد بندرعباس، دانشگاه آزاد اسلامی، بندرعباس، ایران. رایانامه: 5159836365@iau.ac.ir

۲.گروه مهندسی محیط زیست، واحد بندرعباس، دانشگاه آزاد اسلامی، بندرعباس، ایران. رایانامه: hosseinp1@iau.ac.ir

۳. گروه مهندسی محیط زیست، واحد بندرعباس، دانشگاه آزاد اسلامی، بندرعباس، ایران. رایانامه: 5679512645@iau.ac.ir

۴. گروه منابع طبیعی، واحد بندرعباس، دانشگاه آزاد اسلامی، بندرعباس، ایران. رایانامه: shadi.khatami@iau.ac.ir

اطلاعات مقاله

نوع مقاله: مقاله پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۱۱/۱۰

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۴/۱۲/۱۷

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۳/۲۵

تاریخ انتشار: ۱۴۰۵/۳/۲۵

کلیدواژه ها:

تنوع ژنتیکی قوچ و میش لارستان سیتوکروم **b** فیلوژنی کوه هوا – تنگ خور

چکیده

این مطالعه با هدف ارزیابی تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیت گونه قوچ و میش لارستان در منطقه شکار ممنوع کوه هوا–تنگ خور با وسعت ۸۶٬۷۵۲ هکتار در جنوب‌شرقی استان فارس انجام پذیرفت. نمونه‌برداری در پاییز ۱۴۰۴ از سه زیرمنطقه کوه هوا، شانول و تابناک صورت گرفت که شامل ۱۵ نمونه سرگین و ۲ نمونه بافت بود. استخراج DNAبا کیت‌های بیونیر و تکثیر ژن میتوکندریایی سیتوکروم b با استفاده از سه جفت پرایمر انجام شد. اگرچه نمونه‌های سرگین به دلیل تخریب محیطی کیفیت پایین‌تری داشتند، اما با استفاده از پرایمرهای کمکی، موفقیت تکثیر افزایش یافت. در مجموع، از ۴۰ نمونه مورد بررسی، ۳۶ توالی باکیفیت (۹۰ درصد) برای تحلیل‌های نهایی انتخاب شدند که بالاترین نرخ موفقیت در منطقه تابناک (۹۴.۱ درصد) و پایین‌ترین آن در منطقه شانول (۸۴۶ درصد) مشاهده گردید. تجزیه و تحلیل توالی‌ها نشان داد که ترکیب بازها در تمام جمعیت‌ها دارای محتوای بالای A و T است و الگوی جهش‌ها عمدتاً از نوع انتقالی بود که نشان‌دهنده ثبات تکاملی ژن سیتوکروم b است. نتایج فیلوژنتیکی و ماتریس فواصل ژنتیکی تمایز قابل‌توجهی را بین جمعیت‌ها آشکار ساخت. جمعیت منطقه کوه هوا با فاصله ژنتیکی حدود ۰.۰۴۵ نسبت به سایر مناطق، در شاخه قوچ ارمنی قرار گرفت. در مقابل، جمعیت‌های شانول و تابناک با فاصله ژنتیکی بسیار نزدیک (۰.۰۰۹) در شاخه قوچ اوریال دسته‌بندی شدند. علاوه بر این، شواهدی از درهم‌تبادلی ژنتیکی میان دو گونه در مناطق شانول و تابناک مشاهده شد که نشان‌دهنده جریان ژنی در نواحی مرزی زیستگاه‌ها است. این یافته‌ها بیانگر آن است که منطقه لارستان زیستگاه دو تبار ژنتیکی متمایز است. لذا پیشنهاد می‌شود جهت حفاظت پایدار، برنامه‌های مدیریت زیستگاه به صورت تفکیک‌شده و با توجه به خلوص ژنتیکی و پتانسیل تلاقی در هر یک از این زیرمنطقه‌ها تدوین گردد.

استناد: سلمان پور، محمدعلی، پرورش، حسین، قاسمی، صابر و خاتمی، شادی. (۱۴۰۵). الگوی پراکنش فضایی تنوع ژنتیکی در جمعیت قوچ و میش لارستان منطقه کوه هوا–تنگ خور (استان فارس): رهیافتی نوین برای برنامه‌ریزی منطقه‌ای حفاظت از زیستگاه‌ها. جغرافیا و برنامه ریزی منطقه‌ای، ۱۶(۶۳). ۱۷۵-۱۹۲. DOI:10.22034/jgeoq.2026.583522.4461

ناشر: موسسه آموزش عالی قشم

© نویسندگان.

مقدمه

قوچ و میش لارستان با نام علمی *Ovis orientalis laristanica* از راسته زوج سمان و از خانواده گاوسانان می باشند که کوچکترین نژاد گوسفند وحشی ایران و حتی دنیا بشمار می آیند. بیشترین پراکندگی این قوچ کوچک در قدیم در ارتفاعات کوه کورده در منطقه لارستان بود ولی متأسفانه به دلیل شکار غیر مجاز در این منطقه نسل این نوع قوچ حتی درخطر انقراض قرارگرفته است و امروزه بیشترین پراکندگی این قوچ در ارتفاعات کوه شب در منطقه لارستان در جنوب شرقی استان فارس می باشد(احمدی ندوشن[1] و همکاران، ۲۰۲۱). به علاوه عده‌ای محدوده پراکندگی این قوچ را مناطقی از استان‌های فارس، بوشهر، هرمزگان، کرمان و بلوچستان می‌دانند. لازم به ذکر است که کوچک بودن قوچ لارستان بی تأثیر از نوع تغذیه اش و محیطی که در آن قرار دارد نیست و این حاصل تطابق و سازش است که سالیان متمادی محیط گرم و خشک منطقه بر روی این حیوان بوجود آورده و کوچک بودن این حیوان در دنیا «به عنوان کوچکترین قوچ وحشی» از این نقطه نظر حائز اهمیت است. لازم به ذکر است که کوچکی این گونه اهمیت بسزایی برایش از نظر کلکسیونرها و موزه های حیات وحش به ارمغان آورده است. از مشخصات دیگر این قوچ، پیچش شاخ ها به پایین و رو به جلو است (بازیان پیل[2] و همکاران، ۲۰۲۳). روش‌های مولکولی مانند توالی یابی ژنوم میتوکندری یکی از کاربردی ترین روش ها برای تعیین رابطه فیلوژنتیکی بین جمعیت‌ها و گونه‌های نزدیک به هم محسوب می‌شود. امروزه ژنوم میتوکندری به دلیل اندازه کوچک و آسان بودن استخراج آن و این که از طریق مادر به ارث می‌رسد، به طور متداول برای مطالعات فیلوژنتیکی و تکاملی مورد استفاده قرار می‌گیرد. DNA میتوکندری (mtDNA) در تشخیص گونه ها و ترسیم رابطه فیلوژنتیکی دارای مزایایی از جمله تعداد زیاد نسخه به ازای هر سلول، اندازه کوچک‌تر آن از DNA ژنومی، وراثت پذیری مادری، هاپلوئید بودن، عدم وجود نوترکیبی در آن‌ها و وجود نواحی حفاظت‌شده می‌باشد(جلیلیان مجد و همکاران، ۱۴۰۲). همچنین DNA میتوکندریایی دارای محدودیت‌های خاصی نیز است. اندامک میتوکندری تقریبا در همه یوکاریوت ها یافت می‌شود، تعدادشان بسته به نوع ارگانیسم و نوع بافت متفاوت است. بسیاری از سلول‌ها تنها یک میتوکندری دارند در حالی که سلول‌های دیگر می‌توانند شامل چندین هزار میتوکندری باشند. تصور می‌شود که DNA میتوکندری و هسته منشأ تکاملی مجزایی داشته باشند، به طوری که DNA میتوکندری از ژنوم‌های حلقوی باکتری ها مشتق شده است(صمدیان و همکاران، ۱۴۰۲). ژنوم میتوکندری پستانداران DNA حلقوی دو رشته‌ای به طول ۱۷–۱۶ کیلوباز، با وزن مولکولی کم، ساختار ساده، سرعت تکاملی بالا و وراثت مادری است. این DNA فاقد اینترون بوده و بر خلاف DNA هسته فاقد حدود ۷٪ توالی‌های غیر کد کننده است. DNA میتوکندری ۳۷ ژن را کد می‌کند که ۱۳ ژن آن کد کننده پروتئین هستند. درون این ۳۷ ژن ۲۲ ژن tRNA وجود دارد. دو ژن آخر هم ژن های rRNA می باشند و بالاخره D-loop یا ناحیه کنترل که ناحیه غیر کد کننده است. به دلیل این که تمام DNA میتوکندریایی به صورت یک واحد خاص یا هاپلوتایپ به ارث می‌رسد خویشاوندی های بین DNA میتوکندری افراد متفاوت را می‌تواند به صورت یک درخت ژنی نشان داد. الگوهای این درخت‌های ژنی برای پی بردن به تاریخچه تکاملی جمعیت‌ها استفاده می‌شود. ژن‌های میتوکندری ابزاری مهم در مطالعات مختلف در زمینه‌های تکامل جانوران، فیلوجغرافیایی و فیلوژنتیک می‌باشند. تنوع ژنتیکی و مدیریت منابع ژنتیکی به عنوان یکی از اجزای مهم پروژه‌های اصلاحی می‌باشند. چرا که یک گونه بدون تنوع ژنتیکی کافی قادر به سازگاری با تغییرات محیطی و مبارزه با انگل ها و رقیب‌ها نیست. حفاظت باید بر اساس دانش عمیقی از منابع ژنتیکی نژادهای خاص باشد، لذا تلاش برای شناسایی و تعیین خصوصیات ژنتیکی نژادهای بومی و محلی بسیار اهمیت دارد (بردلی و همکاران، ۲۰۱۹). ژن سیتوکروم *b*[3]، یکی از

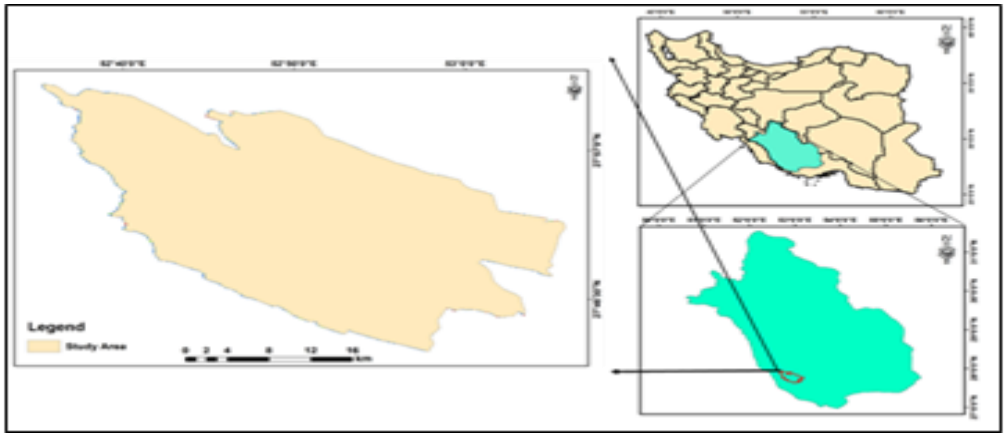
[1]- Ahmadi Nadoushan
[2]- Bazyan Pihl
[3]- cytochrome b

ژن‌های مهم و پرکاربرد میتوکندریایی است که در کد کردن یکی از زیرواحدهای کمپلکس III زنجیره انتقال الکترون نقش دارد. این ژن به دلیل ماهیت میتوکندریایی خود، از طریق وراثت مادری منتقل می‌شود و فاقد نوترکیبی ژنی است؛ به همین دلیل، ابزاری بسیار مناسب برای بررسی‌های فیلوژنتیکی و تکاملی در سطوح گونه‌ای و زیرگونه‌ای به شمار می‌آید. تاکنون، توالی ژن سیتوکروم b در طیف وسیعی از تاکسون‌ها (از جمله پستانداران، پرندگان، خزندگان و ماهیان) تعیین شده و پایگاه داده‌های ژنتیکی بین‌المللی مانند GenBank اطلاعات جامعی از این ژن را در اختیار پژوهشگران قرار داده‌اند. ویژگی بارز این ژن آن است که معمولاً فاقد تغییرات ساختاری عمده نظیر حذف، الحاق و واژگونی بوده و تغییرات آن عمدتاً از نوع جایگزینی نوکلئوتیدی است. از این‌رو، سیتوکروم b شاخصی قابل اعتماد برای بررسی تغییرات درون‌گونه‌ای و بین‌گونه‌ای محسوب می‌شود. با این حال، نرخ تکاملی نسبتاً پایین‌تر این ژن نسبت به برخی ژن‌های دیگر میتوکندری، موجب می‌شود که توانایی آن برای نشان دادن واگرایی‌های بسیار قدیمی (بیش از حدود ۲۰ میلیون سال) محدود باشد(دولتی و همکاران، ۱۴۰۰).

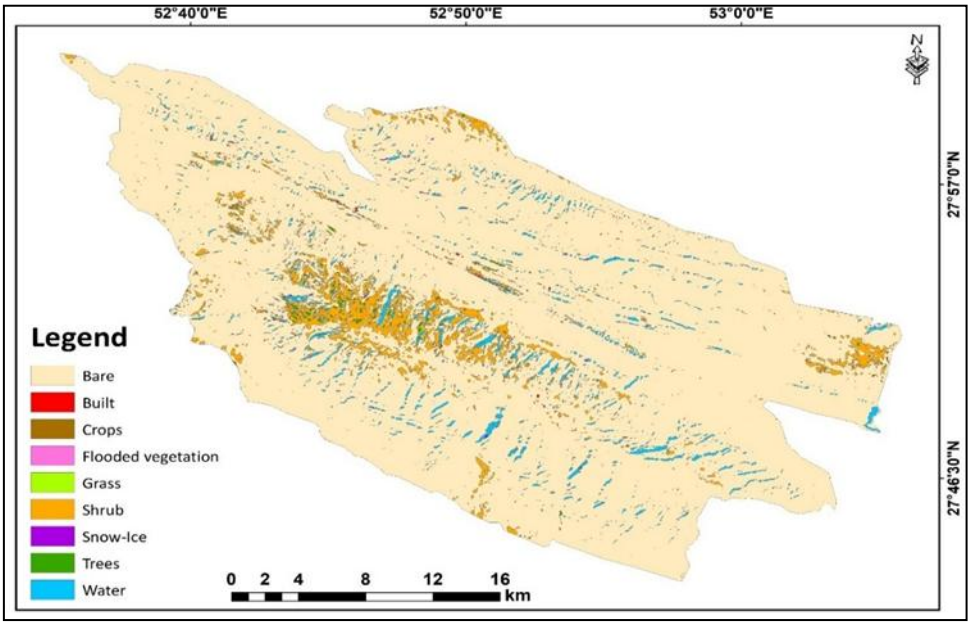
در مطالعات مربوط به تکامل گوسفند وحشی و خویشاوندان اهلی آن، از داده‌های حاصل از ژن سیتوکروم b برای بازسازی درخت‌های فیلوژنتیکی استفاده شده است. این بازسازی‌ها با بهره‌گیری از روش‌های گوناگون مانند بیشینه صرفه‌جویی، بیزین، بیشینه همانندی و اتصال همسایگی انجام گرفته‌اند و دیدگاه‌های جدیدی را در خصوص تاریخچه‌ی تکامل و خاستگاه‌های جغرافیایی گوسفندان وحشی و اهلی ارائه داده‌اند. به‌طور کلی، ژن سیتوکروم b به دلیل پایداری، سهولت توالی‌یابی و قدرت تفکیک مناسب، یکی از نشانگرهای مولکولی کلیدی در مطالعات فیلوژنتیک جانوران، به‌ویژه در سطح جنس و گونه، محسوب می‌شود(نصیری و مهدوی، ۱۴۰۰).

مواد و روش ها

منطقه ممنوعه شکار کوه هوا–تنگ خور با وسعتی معادل ۸۶,۷۵۲ هکتار در بخش جنوب‌شرقی استان فارس، ایران واقع شده است. این منطقه بین طول‌های جغرافیایی ۵۲ درجه و ۴۱ دقیقه تا ۵۳ درجه و ۲۱ دقیقه شرقی و عرض‌های جغرافیایی ۲۷ درجه و ۴۰ دقیقه تا ۲۷ درجه و ۵۶ دقیقه شمالی قرار دارد. از نظر تقسیمات کشوری، این منطقه در محدوده شهرستان لامِرد (شامل بخش‌هایی از بخش علامرود در شمال‌غرب، شمال و شمال‌شرق)، شهرستان گِراش (دهستان فداغ) و شهرستان خُنج (بخش محمله) واقع شده است. این ناحیه در حدود ۸۰ کیلومتری شمال شهر لامرد و ۶۵ کیلومتری جنوب‌غربی شهر خنج قرار دارد و مدیریت آن بر عهده اداره حفاظت محیط زیست شهرستان لامرد است. بر اساس داده‌های اقلیم‌شناسی شهرستان لارستان، منطقه دارای اقلیم گرم و خشک بوده و میانگین دمای سالیانه آن ۲۲ درجه سانتی‌گراد، میانگین بارش سالیانه ۱۷۳ میلی‌متر و میانگین رطوبت نسبی ۲۳ درصد است. موقعیت جغرافیایی منطقه مورد مطالعه در شکل ۱ نشان داده شده است. این شکل، مختصات نقاط کشف گونه‌ها را نمایش می‌دهد. شکل ۲ نقشه کاربری اراضی منطقه ممنوعه شکار کوه هوا–تنگ خور را ارائه می‌کند. شکل ۲ نقشه کاربری اراضی منطقه ممنوعه شکار کوه هوا–تنگ خور را ارائه می‌کند.



شکل ۱: موقعیت جغرافیایی منطقه مورد مطالعه(مختصات نقاط کشف گونه‌ها).



شکل ۲: نقشه کاربری اراضی منطقه ممنوعه شکار کوه هوا–تنگ خور.

برای انجام این مطالعه به دو شیوه مختلف نمونه برداری انجام شد. این نمونه‌ها شامل نمونه های سرگین و بافت بود. نمونه‌های سرگین در فصل پاییز سال ۱۴۰۴ از منطقه ممنوعه شکار کوه هوا–تنگ خور جمع‌آوری شد. ۱۵ نمونه سرگین از این منطقه جمع‌آوری شد. جمع‌آوری نمونه‌های سرگین به صورت تصادفی صورت گرفت. نمونه‌ها در الکل ۹۶ درصد و در تیوب‌های نمونه‌برداری بی‌رنگ ۱۵ میلی‌لیتری نگهداری شدند. موقعیت جغرافیایی کلیه نمونه‌ها توسط GPS ثبت شد. شیوه دوم نمونه‌برداری از بافت بود که در این شیوه از نمونه‌هایی که در طبیعت تلف شده بود یا به صورت قانونی برای آن‌ها پروانه شکار صادر شده بود و همچنین نمونه‌هایی که از متخلفین بدست آمده بود، در اداره کل محیط زیست استان فارس وجود داشت تهیه شد. در کل دو نمونه بافت از این منطقه توانستیم جمع‌آوری کنیم. این نمونه‌ها نیز پس از ثبت موقعیت جغرافیایی و تعیین جمعیت در الکل ۹۶ درصد نگهداری شد. استخراج DNA از نمونه‌ها با استفاده از کیت مخصوص استخراج DNA از سرگین و بافت توسط کیت شرکت بیونیر بر اساس پروتکل انجام شد. برای انجام PCR در این تحقیق از سه جفت پرایمر استفاده شد (Rezaei *et al*., 2010). ابتدا نمونه‌ها توسط پرایمری که ۱۱۴۰ جفت باز به عنوان نتیجه در اختیار ما قرار می‌دهد، تکثیر شد و داده‌های آن مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و چون تعداد کمی از نمونه‌ها با این جفت پرایمر جواب دادند و بقیه باند واضح و خوبی نشان ندادند. از دو جفت پرایمر دیگر با طول قطعه ۷۴۱ و ۷۶۵ جفت بازی استفاده شد (جدول ۱). واکنش زنجیره‌ای پلیمراز توسط دستگاه ترموسایکلر در ۳۵ سیکل انجام شد. حجم واکنش ۲۵ میکرولیتر و اجزای آن شامل ۱۱ میکرولیتر Master KIT، ۸ میکرولیتر آب، ۲میکرولیتر پرایمر رفت، ۲ میکرولتیر پرایمر برگشت و ۲ میکرولیتر DNAبود. برنامه حرارتی واکنش

PCRبه شرح جدول ۲ می باشد (Bunch et al., 2006). به منظور تأیید تکثیر ناحیه مورد نظر، طی واکنش‌های PCR الکتروفورز محصولات PCR روی ژل آگارز ۲ درصد صورت گرفت. از روی شدت وضوح باندها می‌توان به کیفیت و تا حدودی کمیت DNA پی برد. مقدار ۲۰ میکرو لیتر از محصولات PCR خالص‌سازی شد و به همراه ۱۰۰ میکرولیتر از هر یک آغازگرهای رفت و برگشت با غلظت ۱۰ پیکومول به منظور تعیین توالی به شرکت Bioneer کره جنوبی ارسال شدند. این نمونه‌ها با استفاده از دستگاه ABI 3130 به روش اتوماتیک سانگر توالی‌یابی گردید. برای تجزیه و تحلیل نتایج از ابزار BLASTو رویه BLASTN در پایگاه NCBI جهت تعیین همولوژی توالی‌ها استفاده گردید. از نرم‌افزار Seqscape به منظور اصلاح نوکلئوتیدی توالی‌ها استفاده شد. برای بررسی جایگاه قوچ و میش در بین سایر قوچ و میش‌های ایران و بررسی ارتباطات بین آن‌ها از توالی ناحیه سیتوکروم b ثبت شده سایر قوچ و میش در ژن بانک (NCBI) بدست آمدند و ردیف آرایی توالی‌ها در نرم افزار MEGA.5 صورت گرفت. در نهایت درخت فیلوژنی بر اساس روش اتصال مجاور با استفاده از نرم افزار MEGA.5 ترسیم گردید (Fadakar, 2012).

جدول ۱: پرایمرهای استفاده شده برای PCR و توالی یابی

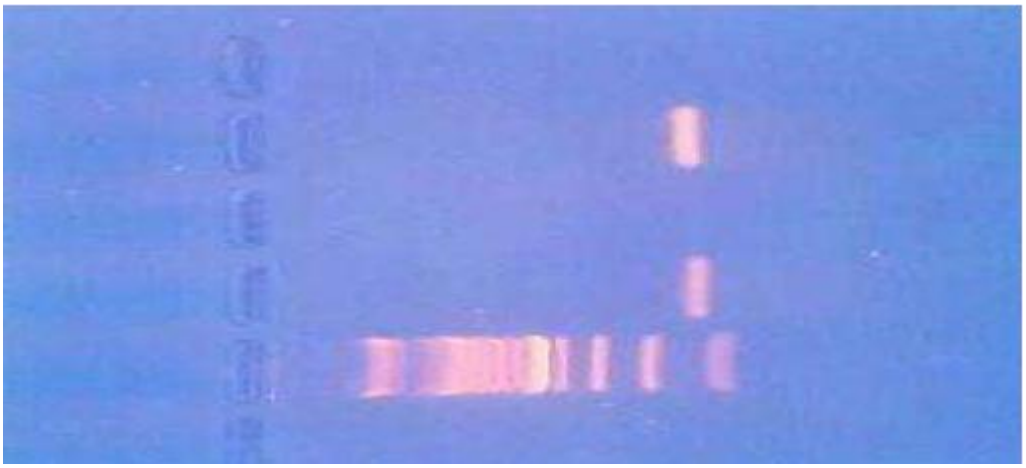
لوکوس	نام پرایمر	توالی پرایمر	طول قطعه	درجه حرارت (سانتی گراد)
سیتوکروم b بخش (۱)	CYTB_F CYTB_R	CCCCACAAAACCTATCACAAA AGGGAGGTTGGTTGTTCTCC	۱۱۴۰	۵۵
سیتوکروم b بخش (۲)	CYTB_F CYTB_IN_R	CCCCACAAAACCTATCACAAA CCTGTTTCGTGGAGGAAGAG	۷۴۱	۵۵
سیتوکروم b بخش (۳)	CYTB_IN_F CYTB_R	ACCTCCTTTCAGCAATTCCA AGGGAGGTTGGTTGTTCTCC	۷۶۵	۶۰

جدول ۲: برنامه حرارتی برای چرخه PCR

مرحله	مرحله	زمان	درجه حرارت	مراحلPCR
	۱	۱۰ دقیقه	۹۵	واسرشته سازی
	۲	۳۰ ثانیه	۹۵	واسرشته سازی
۳	۷۴۱bp و ۱۱۴۱	۴۵ ثانیه	۵۵	اتصال آغازگرها
	۷۶۵bp	۴۵ ثانیه	۶۰	اتصال آغازگرها
	۴	۱ دقیقه	۷۲	بسط
	۵	۷ دقیقه	۷۲	بسط نهایی
	۶	∞	۴	نگهداری

نتایج و یافته ها

در این پژوهش، نمونه‌های بافتی و سرگین گونه‌ی قوچ و میش لارستان (Ovis orientalis laristanica) از سه منطقه‌ی مورد مطالعه شامل کوه هوا، شانول و تابناک جمع‌آوری و مورد آزمایش ژنتیکی قرار گرفتند. بررسی‌های اولیه نشان داد که نمونه‌های بافتی هر سه منطقه دارای DNA باکیفیت و باندهای مشخص و واضح در ژل الکتروفورز بودند که نشان از خلوص بالا و سلامت ژنتیکی مطلوب آن‌ها دارد. این نمونه‌ها برای تکثیر ژن سیتوکروم b (Cyt-b) به‌عنوان نشانگر میتوکندریایی مورد استفاده قرار گرفتند. واکنش PCR با استفاده از یک جفت پرایمر اختصاصی (Cytb F و Cytb R) و در دمای اتصال ۶۰ درجه سانتی‌گراد انجام شد. نتایج الکتروفورز روی ژل آگارز ۲.۵ درصد نشان داد که قطعه‌ی اختصاصی با طول حدود ۱۲۴۰جفت‌باز با موفقیت در تمامی نمونه‌های بافتی از مناطق کوه هوا، شانول و تابناک تکثیر شده است. در مقابل، نمونه‌های سرگین که عمدتاً از همان مناطق و از زیستگاه‌های طبیعی گونه در محدوده‌ی کوه هوا و شانول جمع‌آوری شدند، از نظر کیفیت DNA در سطح پایین‌تری قرار داشتند. دلیل این امر، تجزیه‌ی مولکولی در اثر تابش مستقیم خورشید، دما و رطوبت بالا و فعالیت‌های میکروبی محیطی بود که موجب تخریب تدریجی DNA می‌شود. در نتیجه، بخشی از نمونه‌های سرگین یا فاقد DNA قابل‌تکثیر بودند و یا در ژل آگارز باندهای ضعیف و غیرشفافی ایجاد کردند (شکل ۳). برای بهبود کیفیت تکثیر در این دسته از نمونه‌ها، از دو جفت پرایمر کمکی (Cytb R–Cytbin F و Cytb F–Cytbin R) استفاده شد که نواحی کوتاه‌تر و محافظت‌شده‌تری از ژن سیتوکروم b را هدف قرار می‌دادند. نتایج حاصل از الکتروفورز نشان داد که در این حالت، بخش قابل‌توجهی از نمونه‌های سرگین نیز دارای باندهای واضح و قابل تفسیر شدند و قابلیت استفاده در مرحله‌ی توالی‌یابی را پیدا کردند.

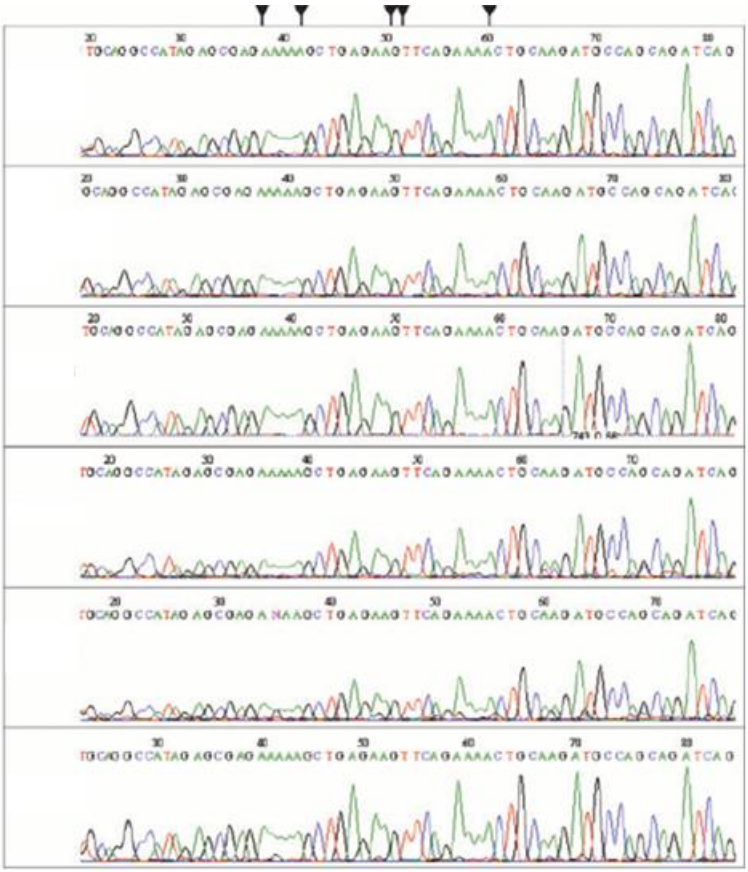


شکل ۳: باندهای شفاف به طول ۸۲٦ جفت باز بر روی ژل آگاروز ۲.۵٪.

توالی‌یابی قطعه سیتوکروم b برای ۴۰ نمونه از ۳ منطقه انجام شد. نتایج توالی‌یابی نشان داد به ترتیب ۱نمونه از منطقه کوه هوا، ۲ نمونه از منطقه شانول و ۱ نمونه از منطقه تابنک نتیجه قابل قبول جهت تجزیه و تحلیل نداشت در نتیجه از تجزیه و تحلیل این نمونه صرف نظر شد. نتایج حاصل از توالی‌یابی برای همه نمونه‌ها به جز ۴ نمونه با توجه به کیفیت خوب آن‌ها مورد آنالیز قرار گرفت. همچنین ۹ نمونه توالی قوچ و میش اوریال حاصل از مطالعه رضایی و همکاران (۲۰۱۰) که از منطقه حفاظت شده کوه هوا بودند در تجزیه و تحلیل‌ها مورد استفاده قرار گرفت. در این بخش از پژوهش، توالی‌یابی ژن سیتوکروم b (Cyt-b) برای ۴۰ نمونه از سه منطقه‌ی مورد مطالعه شامل کوه هوا، شانول و تابناک انجام شد. این ژن به‌عنوان یکی از نشانگرهای مهم میتوکندریایی، نقشی کلیدی در ارزیابی تنوع ژنتیکی درون‌گونه‌ای و روابط فیلوژنتیکی ایفا می‌کند. پس از استخراج DNA و انجام واکنش PCR، محصولات تکثیرشده جهت توالی‌یابی مستقیم مورد استفاده قرار گرفتند. نتایج حاصل از فرآیند توالی‌یابی نشان داد که به‌ترتیب، ۱ نمونه از منطقه‌ی کوه هوا، ۲ نمونه از منطقه‌ی شانول و ۱ نمونه از منطقه‌ی تابناک دارای کیفیت

نامطلوب یا توالی‌های ناقص بوده‌اند و در نتیجه، از تحلیل نهایی حذف شدند. دلایل احتمالی حذف این نمونه‌ها شامل تجزیه جزئی DNA، آلودگی نمونه‌ها، یا وجود خطا در واکنش PCR و توالی‌یابی بود. بنابراین در نهایت، ۳۶ توالی معتبر و باکیفیت برای تحلیل‌های ژنتیکی نهایی در دسترس قرار گرفت.

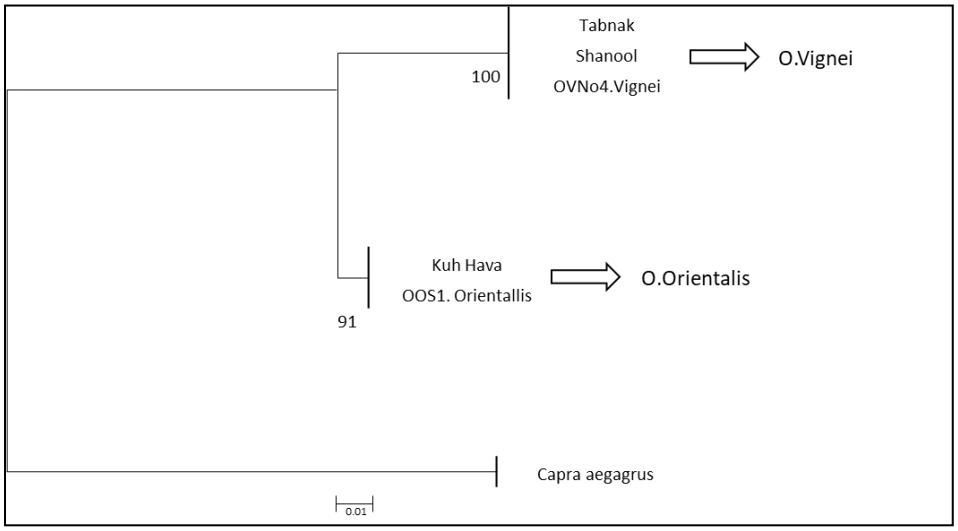
در مجموع، داده‌های توالی‌یابی به‌دست‌آمده از سه منطقه‌ی کوه هوا، شانول و تابناک پس از کنترل کیفیت و حذف نمونه‌های نامعتبر، مبنای محاسبه‌ی شاخص‌های تنوع ژنتیکی شامل تعداد هاپلوتیپ‌ها (h)، تنوع هاپلوتایپی (Hd)، تنوع نوکلئوتیدی (π)، تعداد جایگاه‌های تفکیک‌کننده (S) و شاخص Tajima’s D قرار گرفتند.



شکل ٤: نتایج اولیه حاصل از توالی‌یابی

در بررسی کلی، از مجموع ۴۰ نمونه جمع‌آوری‌شده، میزان موفقیت استخراج DNA برابر با ۹۲.۲ درصد بوده است که نشان‌دهنده کیفیت مطلوب نمونه‌ها و به‌کارگیری روش استخراج مناسب می‌باشد. در مرحله بعد، واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) با موفقیت ۸۹.۲ درصد انجام شد که بیانگر حضور غلظت کافی و خلوص مناسب DNA برای تکثیر قطعه هدف ژن سیتوکروم b است. در نهایت، ۹۰ درصد از کل نمونه‌ها واجد توالی قابل تحلیل بودند که برای مطالعات ژنتیکی جمعیت در سطح گونه‌ای، درصدی قابل قبول و از نظر آماری معنی‌دار محسوب می‌شود. به‌صورت تفصیلی، منطقه تابناک بالاترین میزان موفقیت را در هر سه مرحله به خود اختصاص داده است؛ استخراج موفق در این منطقه ۹۶.۷ درصد، PCR موفق ۹۳.۱ درصد و توالی قابل تحلیل ۹۴.۱ درصد بوده است. این امر می‌تواند ناشی از شرایط زیست‌محیطی مناسب‌تر، کیفیت بهتر نمونه‌های بافتی جمع‌آوری‌شده یا زمان کوتاه‌تر بین نمونه‌برداری تا فرآیند استخراج باشد. در مقابل، منطقه شانول پایین‌ترین درصد موفقیت را در مراحل مختلف نشان داده است (۸۶.۷ درصد در استخراج، ۸۴.۶ درصد در PCR و ۸۴.۶ درصد در توالی‌یابی). این موضوع احتمالاً به دلیل تخریب نسبی DNA در نمونه‌ها به علت دمای بالا، آلودگی‌های محیطی، یا کیفیت پایین‌تر بافت‌ها در هنگام

جمع‌آوری بوده است. در منطقه کوه هوا نیز میزان موفقیت استخراج DNA برابر با ۹۳.۳ درصد و در PCR برابر با ۸۹.۳ درصد گزارش شد که نسبتاً بالا و نشانگر شرایط بهینه برای استخراج و تکثیر است. از میان ۱۰ نمونه این منطقه، ۹ نمونه دارای توالی قابل تحلیل بودند (۹۰ درصد)، که از منظر مقایسه‌ای بین دو منطقه دیگر در سطح میانی قرار دارد.



شکل ۵: درخت فیلوژنتیک قوچ و میش بر اساس توالی‌های سیتوکروم b.

تجزیه و تحلیل فیلوژنتیکی انجام‌شده در این پژوهش، با هدف شناسایی روابط تکاملی و میزان شباهت ژنتیکی میان جمعیت‌های مختلف قوچ و میش منطقه لارستان، بر اساس توالی ژن سیتوکروم b صورت گرفت. در نرم‌افزار MEGA، داده‌های ژنتیکی به‌صورت درخت فیلوژنتیکی بازنمایی می‌شوند که در آن، فاصله افقی شاخه‌ها نشان‌دهنده‌ی زمان و میزان جدایی تکاملی گونه‌ها از یکدیگر است. هر چه فاصله بین شاخه‌ها بیشتر باشد، نشان‌دهنده‌ی تفاوت ژنتیکی و تکاملی بیشتر میان جمعیت‌ها است. نتایج حاصل از تحلیل درخت فیلوژنتیکی (شکل ۵) نشان داد که قوچ و میش‌های منطقه کوه هوا در شاخه‌ی قوچ ارمنی (Ovis orientalis) و قوچ و میش‌های مناطق تابناک و شانول در شاخه‌ی قوچ اوریال (Ovis vignei) قرار دارند. این یافته نشان می‌دهد که در محدوده لارستان، دو گونه‌ی متمایز از نظر ژنتیکی زیست می‌کنند و روند جدایی تکاملی آن‌ها در طول زمان منجر به شکل‌گیری دو تبار ژنتیکی متفاوت شده است.

۱. نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل نشانگر mtDNA:

بر اساس نتایج جدول ۳، توزیع فراوانی نوکلئوتیدهای حاصل از توالی‌یابی ژن سیتوکروم b در جمعیت قوچ و میش منطقه کوه هوا نشان می‌دهد که نوکلئوتید آدنین (A) با مقدار ۳۲.۱۴ درصد بیشترین فراوانی را دارد، در حالی که گوانین (G) با ۱۱.۸۷ درصد کمترین میزان را به خود اختصاص داده است. پس از آدنین، تیمین (T/U) و سیتوزین (C) به‌ترتیب با ۲۹.۰۳ و ۲۸.۱۴ درصد در رتبه‌های بعدی قرار دارند. این الگوی توزیع بیانگر آن است که پایه‌های پورینی (A و G) در مجموع سهمی کمتر از پایه‌های پیریمیدینی (T و C) دارند، که معمولاً در ژن‌های میتوکندریایی جانوران دیده می‌شود. این پدیده می‌تواند ناشی از سوگیری جهشی (mutation bias) یا فشار انتخابی در توالی‌های کدکننده ژن سیتوکروم b باشد. به‌طور کلی، غلبه نسبی آدنین و تیمین در مقایسه با گوانین و سیتوزین (ترکیب AT-rich) نشان می‌دهد که ژنوم میتوکندریایی این جمعیت دارای محتوای بالای AT است، که با الگوی عمومی DNA میتوکندریایی پستانداران همخوانی دارد. چنین ویژگی‌هایی معمولاً به افزایش نرخ جهش‌های انتقالی (transition mutations) نسبت به جهش‌های ترانس‌ورسیونی (transversion mutations) منجر می‌شود و می‌تواند در ارزیابی‌های فیلوژنتیکی و مطالعات تکاملی نقش مهمی ایفا کند.

جدول ۳: فراوانی نوکلئوتیدها حاصل از توالی‌های قوچ و میش‌های منطقه کوه هوا.

نوکلئوتید	A	T/U	C	G
فراوانی	۳۲/۱۴	۲۹/۰۳	۲۸/۱۴	۱۱/۸۷

تحلیل جدول ۴ نشان می‌دهد که در جمعیت قوچ و میش منطقه کوه هوا، الگوی جانشینی نوکلئوتیدی در ژن سیتوکروم *b* تمایل قابل توجهی به رخداد انتقال‌ها (Transitions) دارد. بیشترین نرخ جانشینی میان نوکلئوتیدها مربوط به تبدیل C به T/U و T/U به C است، که بازهای پیریمیدینی را درگیر می‌کند و نشان‌دهنده غلبه جهش‌های انتقالی نسبت به ترانس‌ورسیون‌هاست. همچنین جایگزینی میان دو باز پورینی، یعنی A به G و G به A نیز نسبتاً بالا است و این الگو تأییدی بر همان روند انتقال‌ها است. در مقابل، جایگزینی میان پورین‌ها و پیریمیدین‌ها به میزان قابل توجهی کمتر مشاهده می‌شود. این الگوی توالی بیانگر آن است که جهش‌ها عمدتاً در راستای حفظ ساختار پروتئین و عملکرد ژن رخ داده‌اند و اثر منفی کمتری بر کارکرد بیولوژیکی ژن دارند. در مجموع، داده‌ها نشان می‌دهند که توالی ژن سیتوکروم *b* در جمعیت کوه هوا از ثبات تکاملی برخوردار است و الگوی غالب جهش‌ها با فرآیندهای تکامل خنثی یا تطبیقی سازگار است، که اهمیت آن در پایایی و سازگاری زیست‌محیطی این جمعیت قابل توجه است.

جدول ٤:تخمین الگوهای جانشینی نوکلئوتیدی حاصل از توالی‌های قوچ و میش‌های منطقه کوه هوا.

نوکلئوتید	A	T/U	C	G
A	-	۳/۶۳	۲/۹۴	۱۰/۵۹
T/U	۳/۱۱	-	۲۶/۵۶	۲/۰۴
C	۳/۱۱	۲۴/۱۸	-	۲/۰۴
G	۲۰/۱۷	۳/۶۳	۲/۹۴	-

با توجه به جدول ۵ در جمعیت قوچ و میش شانول، بیشترین فراوانی نوکلئوتید به A (۳۲.۵۹٪) تعلق دارد که نشان‌دهنده غلبه بازهای پورین در این توالی میتوکندریایی است. پس از آن، نوکلئوتید C (۲۹.۸۷٪) و T/U (۲۸.۴۱٪) با فراوانی مشابه قرار دارند، در حالی که G (۱۱.۴۸٪) کمترین سهم را دارد. این الگوی توزیع نوکلئوتیدی، شباهت قابل توجهی با جمعیت کوه هوا دارد و نشان می‌دهد که ساختار پایه‌های DNA در این دو جمعیت از نظر ترکیب بازها تقریباً همگن است. وجود فراوانی بالای نوکلئوتیدهای A و C نسبت به G و T/U می‌تواند اثراتی بر نرخ جهش و الگوهای جانشینی داشته باشد. در واقع، جهش‌های انتقالی میان بازهای مشابه (Purine↔Purine یا Pyrimidine↔Pyrimidine) در این جمعیت شایع‌تر بوده و می‌تواند منجر به ثبات توالی ژنی و حفظ عملکرد پروتئین‌های میتوکندریایی شود.

جدول ٥: فراوانی نوکلئوتیدها حاصل از توالی‌های قوچ و میش‌های منطقه کوه شانول.

نوکلئوتید	A	T/U	C	G
فراوانی	۳۲/۵۹	۲۸/۴۱	۲۹/۸۷	۱۱/۴۸

جدول ۶، الگوی جانشینی نوکلئوتیدی برای جمعیت قوچ و میش منطقه شانول را نشان می‌دهد. در این ماتریس جانشینی، مشاهده می‌شود که بیشترین نرخ جانشینی بین T/U و A (۱۱.۳۹٪) و بین C و A (۱۱.۳۹٪) اتفاق می‌افتد. این مقادیر نشان می‌دهد که تغییرات بین این بازها در طول تکامل توالی Cyt-b در جمعیت شانول نسبتاً شایع بوده است. نرخ‌های پایین‌تر جانشینی مانند بین A و G (۶.۷۹٪) و T/U و G (۶.۷۲٪) نشان‌دهنده ثبات نسبی این جفت‌ها است. این الگوی جانشینی حاکی از آن است که انتقال‌های باز (Transitions) نسبت به ترنسورشن‌ها (Transversions) بیشتر اتفاق افتاده‌اند، که با الگوهای

کلاسیک جهش در ژن‌های میتوکندریایی همخوانی دارد. فراوانی نسبی جانشینی‌ها می‌تواند تأثیر مستقیمی بر شکل‌گیری هاپلوتیپ‌ها و تنوع ژنتیکی در جمعیت داشته باشد.

جدول ٦: تخمین الگوهای جانشینی نوکلئوتیدی حاصل از توالی‌های قوچ و میش‌های منطقه شانول.

نوکلئوتید	A	T/U	C	G
A	-	۹/۸۷	۱۰/۰۸	۶/۷۹
T/U	۱۱/۳۹	-	۱۰/۰۸	۶/۷۲
C	۱۱/۳۹	۹/۷۳	-	۶/۸۰
G	۱۱/۳۲	۹/۸۷	۱۰/۱۴	-

جدول ۷، فراوانی نوکلئوتیدهای ژن Cyt-b را در جمعیت قوچ و میش منطقه تابناک نشان می‌دهد، در این جدول ابتدا مشاهده می‌شود که بیشترین فراوانی متعلق به باز A (۳۳.۶۴٪) است، که بیانگر میل غالب به پورین A در توالی‌های این جمعیت می‌باشد. بازهای C (۲۶.۸۹٪) و T/U (۲۵.۱۳٪) در رده‌های میانی قرار دارند و باز G (۱۰.۹۴٪) کمترین فراوانی را دارد. این الگوی فراوانی نشان‌دهنده یک عدم تعادل نوکلئوتیدی کلاسیک در ژن‌های میتوکندریایی است، که معمولاً در جمعیت‌های مهره‌داران مشاهده می‌شود. از منظر تکاملی، این توزیع می‌تواند بیانگر گرایش به جهش‌های خنثی و حفظ عملکرد پروتئین کد شده توسط Cyt-b باشد؛ چرا که درصد پایین G و درصد بالای A ممکن است فشار انتخابی جهت ثبات ساختار پروتئین را نشان دهد. علاوه بر این، این الگوی فراوانی نوکلئوتید می‌تواند تأثیر مستقیم بر تنوع ژنتیکی داخلی و شکل‌گیری هاپلوتیپ‌ها در جمعیت تابناک داشته باشد.

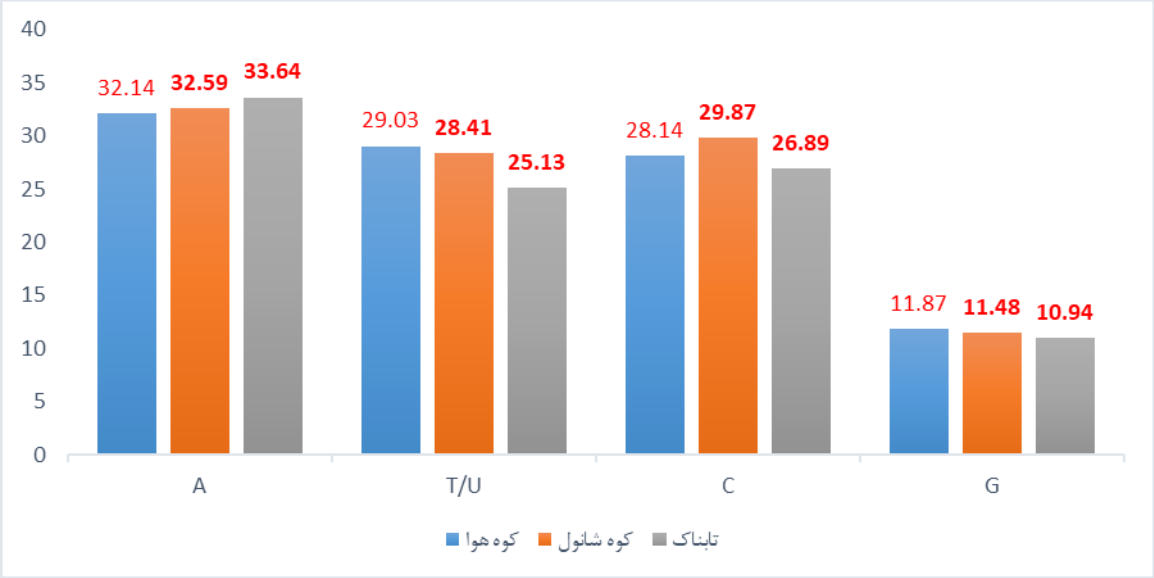
جدول ۷: فراوانی نوکلئوتیدها حاصل از توالی‌های قوچ و میش‌های منطقه تابناک.

نوکلئوتید	A	T/U	C	G
فراوانی	۳۳/۶۴	۲۵/۱۳	۲۶/۸۹	۱۰/۹۴

جدول ۸، الگوهای جانشینی نوکلئوتیدی ژن Cyt-b در جمعیت قوچ و میش منطقه تابناک را نشان می‌دهد، مطابق این جدول ابتدا به مقادیر ماتریس جانشینی توجه می‌کنیم. بیشترین مقدار مربوط به جایگزینی G → A (۱۷.۳۱) و A → G (۸.۱۶) است، که نشان‌دهنده روند غالب جهش‌های پوریندی–پیریمیدینی در توالی‌های این جمعیت می‌باشد. بازهای C → T/U (۲۳.۶۹) و T/U → C (۱۸.۵۹) نیز مقادیر بالایی دارند که بیانگر نرخ بالای انتقال (transition) نسبت به ترانسورشن (transversion) است، پدیده‌ای که در ژن‌های میتوکندریایی مهره‌داران رایج است. این الگوی جانشینی، همراه با فراوانی نسبی بازها در جدول ۸، نشان می‌دهد که جمعیت تابناک دارای عدم تعادل نوکلئوتیدی مشخص و گرایش به جهش‌های خنثی است. این وضعیت می‌تواند به حفظ عملکرد پروتئین Cyt-b کمک کند و اثر انتخاب منفی شدید بر تغییرات عملکردی را محدود نماید.

جدول ۸: تخمین الگوهای جانشینی نوکلئوتیدی حاصل از توالی‌های قوچ و میش‌های منطقه تابناک.

نوکلئوتید	A	T/U	C	G
A	-	۴/۷۵	۳/۱۷	۸/۱۶
T/U	۱/۱۴	-	۲۳/۶۹	۲/۴۹
C	۱/۱۴	۱۸/۵۹	-	۲/۶۴
G	۱۷/۳۱	۳/۱۹	۳/۱۷	-



شکل ٦: مقایسه تنوع نوکلئوتیدها حاصل از توالی‌های قوچ و میش‌های مناطق مورد مطالعه.

۲. فاصله ژنتیکی

جدول ۹ فواصل ژنتیکی بین توالی‌های mtDNA میتوکندری از گونه‌های قوچ و میش لارستان (کوه هوا، تابناک و شانول) را نشان می‌دهد. در این جدول، سطرها و ستون‌ها به ترتیب توالی‌های Vignei (اوریال)، Orientalis (ارمنی)، SHA، TAB و KUH هستند و مقادیر نشان‌دهنده فاصله ژنتیکی بین هر دو توالی می‌باشد. مقادیر کمتر بیانگر شباهت ژنتیکی بالاتر و مقادیر بزرگتر نمایانگر تفاوت بیشتر بین توالی‌ها است. این داده‌ها مبنای تحلیل فیلوژنتیکی و شناسایی تمایز گونه‌ها و جمعیت‌های محلی محسوب می‌شوند. بررسی دقیق جدول نشان می‌دهد که فاصله ژنتیکی بین توالی‌های SHA و TAB با هم بسیار کم (۰.۰۰۹) است، که حاکی از شباهت بالای ژنتیکی بین جمعیت‌های این دو منطقه است و احتمالاً آن‌ها متعلق به یک گونه واحد یعنی Ovis vignei (اوریال) هستند. همچنین، فاصله ژنتیکی KUH با SHA و TAB حدود ۰.۰۴۶ و ۰.۰۴۴ است که نشان می‌دهد توالی‌های KUH نسبت به SHA و TAB کاملاً متمایز هستند و نمایانگر تعلق به گونه متفاوتی، یعنی Ovis orientalis (ارمنی) است. فواصل بین Vignei و Orientalis نیز ۰.۰۴۵ است که بیانگر تفاوت ژنتیکی میان این دو گونه است و نشان می‌دهد که این دو گونه دارای خطوط ژنتیکی مستقل و جداگانه هستند. نکته جالب دیگر آن است که توالی‌های KUH با Orientalis، SHA و TAB فواصل نسبتاً بالا (۰.۰۴۴–۰.۰۴۶) دارند، که تاکید می‌کند KUH نماینده جمعیت ارمنی است و از توالی‌های اوریال کاملاً متمایز است.

جدول ۹: فواصل ژنتیکی بین توالی‌ها.

KUH	TAB	SHA	Orientalis	Vignei	
				–	Vignei
			–	0.045	Orientalis
		–	0.046	0.009	SHA
	–	0.009	0.044	0.009	TAB
–	0.044	0.046	0.046	0.045	KUH

نتیجه گیری

تفسیر نتایج حاصل از تحلیل‌های ژنتیکی در این پژوهش، تصویری روشن و در عین حال پیچیده از وضعیت جمعیتی قوچ و میش لارستان (*Ovis orientalis laristanica*) در منطقه شکار ممنوع کوه هوا–تنگ خور ترسیم می‌کند. داده‌های

به‌دست‌آمده نشان می‌دهند که علی‌رغم نزدیکی جغرافیایی، جمعیت‌های مورد مطالعه در مناطق کوه هوا، شانول و تابناک از نظر خاستگاه تکاملی و ساختار ژنتیکی دارای تفاوت‌های محسوس و بنیادینی هستند. بررسی دقیق توالی‌های ژن میتوکندریایی سیتوکروم b و مقایسه آن‌ها با داده‌های مرجع موجود در پایگاه‌های ژنتیکی بین‌المللی (مانند(NCBI ، حاکی از آن است که جمعیت ساکن در منطقه کوه هوا، همخوانی آشکار و انکارناپذیری با گونه قوچ ارمنی (*Ovis orientalis gmelini*) دارد. این یافته از اهمیت بالایی برخوردار است، زیرا بیانگر آن است که این جمعیت از لحاظ ژنتیکی خلوص نسبی بالاتری را حفظ کرده و ویژگی‌های فنوتیپی مشاهده‌شده در این منطقه (مانند شاخ‌ها و ساختار بدنی) نیز با خصوصیات کلاسیک و مورفولوژیک گونه قوچ ارمنی هم‌خوانی کامل دارد. در واقع، منطقه کوه هوا می‌تواند به عنوان یک کانون حفاظتی برای حفظ و نگهداری ژنوم خالص قوچ ارمنی در جنوب کشور مطرح شود .

در مقابل، نتایج حاصل از تحلیل جمعیت‌های مناطق شانول و تابناک (در محدوده تنگ خور) روایت متفاوتی را ارائه می‌دهند. اگرچه این گروه‌ها از نظر فیلوژنتیکی و درخت تبارزایی به شاخه گونه قوچ اوریال (*Ovis orientalis vignei*) نزدیک‌ترند و در خوشه‌بندی‌های ژنتیکی در کنار اوریال‌ها قرار می‌گیرند، اما شواهد مولکولی قوی مبنی بر وقوع پدیده درهم‌تبادلی ژنتیکی (Introgression)میان دو گونه ارمنی و اوریال در این مناطق وجود دارد. این پدیده که ناشی از جریان ژنی (Gene Flow) بین جمعیت‌های مجاور در طول زمان‌های تکاملی گذشته یا حتی معاصر است، نشان می‌دهد که مناطق شانول و تابناک در واقع زیستگاه‌های مرزی یا "مناطق هیبریدی" هستند. در این نواحی، موانع جغرافیایی یا زیستی کافی برای جلوگیری از آمیزش گونه‌ها وجود نداشته و منجر به شکل‌گیری جمعیت‌هایی با ویژگی‌های ژنتیکی میانی شده است. این موضوع احتمال وقوع فرآیندهای تلاقی طبیعی بین زیرگونه‌ها را در نواحی مرزی بین زیستگاه‌ها تقویت می‌کند و نشان می‌دهد که منطقه لارستان، یک ناحیه دگرگونی (Transition Zone) مهم برای گونه‌های *Ovis*در ایران محسوب می‌شود.

از دیدگاه مدیریتی و حفاظتی، این تفاوت‌های ژنتیکی اهمیت استراتژیک بالایی دارند. منطقه کوه هوا به عنوان زیستگاهی برای جمعیت خالص‌تر قوچ ارمنی، نیازمند رویکردهای حفاظتی است که بر حفظ خلوص ژنتیکی و جلوگیری از ورود ژن‌های بیگانه تمرکز دارد. در حالی که مناطق شانول و تابناک که دربردارنده جمعیت‌هایی با ویژگی‌های ژنتیکی میانی و ترکیبی هستند، نیازمند مدیریت متفاوتی هستند؛ مدیریتی که پویایی جریان ژن و ارزش‌های حفاظتی منحصربه‌فرد جمعیت‌های هیبریدی را در نظر بگیرد. عدم توجه به این تمایزها می‌تواند منجر به اتخاذ سیاست‌های حفاظتی ناکارآمد و حتی تخریب ساختار ژنتیکی منحصربه‌فرد هر یک از این جمعیت‌ها شود.

برای اعتبارسنجی بیشتر یافته‌های این پژوهش، ضروری است نتایج حاصل با مطالعات پیشین در حوزه تحلیل فیلوژنتیکی و تنوع ژنتیکی گونه‌های وحشی و اهلی ایران مقایسه شود. این مقایسه نشان می‌دهد که یافته‌های تحقیق حاضر، کاملاً در راستای نتایج پژوهش‌های متعدد قبلی قرار دارد و الگوی مشابهی از تمایز و خویشاوندی ژنتیکی را در سطح ملی به نمایش می‌گذارد. در این پژوهش، تشخیص گونه قوچ ارمنی در منطقه کوه هوا و گونه قوچ اوریال در مناطق شانول و تابناک، هم‌سویی کامل و قابل‌توجهی با یافته‌های مطالعات حسینی (۱۴۰۳) و حسینی و همکاران (۱۴۰۴) دارد. در آن پژوهش‌ها نیز مشخص شد که قوچ و میش‌های مناطق مرکزی ایران (به‌ویژه در پناهگاه حیات وحش بوروئیه و استان یزد) در شاخه ارمنی (*Ovis orientalis gmelini*)و بخشی از جمعیت‌های جنوبی و شرقی کشور در شاخه اوریال (*Ovis vignei*) قرار می‌گیرند. این هم‌سویی در نتایج، بیانگر استمرار الگوی فیلوژنتیکی طبیعی و ژئوژنتیکی گونه‌های وحشی در ایران است؛ الگویی که نشان می‌دهد تنوع زیستی این گونه‌ها در ایران از یک گرادیان جغرافیایی پیروی می‌کند و از شمال‌غرب کشور به سمت جنوب‌شرق، فراوانی گونه ارمنی کاهش و گونه اوریال افزایش می‌یابد .

علاوه بر مطالعات مستقیم بر روی قوچ‌ها، پژوهش‌های انجام شده بر روی سایر پستانداران اهلی نیز از این الگو پشتیبانی می‌کنند. مطالعه بحری بیناباج و همکاران (۱۴۰۴) که بر روی تنوع ژنتیکی گوسفند نژاد بلوچی انجام شد، از نظر ساختار هاپلوتایپی نتایجی بسیار شبیه به‌دست آورد. قرار گرفتن گوسفند بلوچی در هاپلوتایپ A که خاستگاه آن خاورمیانه و مناطق جنوبی ایران گزارش شده است، با الگوی مشاهده‌شده در این پژوهش هم‌راستا است. این شباهت نشان می‌دهد که گونه‌های وحشی (قوچ و میش لارستان) و اهلی (گوسفند بلوچی) منطقه، که در محدوده جغرافیایی مشابهی زیست می‌کنند، از نظر منشاء ژنتیکی به جمعیت‌های باستانی مشترکی در آسیای غربی وابسته بوده‌اند و جریان ژنی تاریخی میان آن‌ها قابل‌استنباط است .

در ادامه، مقایسه با یافته‌های نظری و محمدی اهوازی (۱۴۰۱) نیز مؤید این نکته است که در اغلب گونه‌های بومی ایران، سطح بالایی از تنوع هاپلوتایپی و نوکلئوتیدی وجود دارد، اما برخی جمعیت‌های ایزوله یا تحت فشار، دچار تنگنای ژنتیکی موقتی یا دائمی شده‌اند. مشابه این پدیده در مطالعه حسینی و همکاران (۱۴۰۴) در پناهگاه بوروئیه نیز گزارش شده است. در پژوهش حاضر نیز، اگرچه شواهدی از کاهش نسبی تنوع ژنتیکی در برخی مناطق مانند کوه هوا مشاهده شد (که می‌تواند ناشی از اندازه جمعیت کوچک‌تر یا ایزولاسیون باشد)، اما الگوی کلی تمایز گونه‌ای و ساختار جمعیت با مطالعات مذکور هم‌راستا است .

در مجموع، می‌توان نتیجه گرفت که یافته‌های این پژوهش در امتداد مطالعات پیشین قرار دارد و با نتایج حسینی (۱۴۰۳)، حسینی و همکاران (۱۴۰۴) و دیگر پژوهش‌های مشابه سازگاری کامل دارد. تمامی این مطالعات با تأکید بر این نکته که جمعیت‌های قوچ و میش ایران از دو شاخه اصلی ارمنی و اوریال منشأ گرفته‌اند، نشان می‌دهند که نواحی مرزی زیستگاهی (نظیر لارستان) نقش بسیار مهمی در درک فرآیندهای تکاملی ایفا می‌کنند. این نواحی به عنوان مکان‌هایی که ترکیبی از این دو زیرگونه در آن‌ها مشاهده می‌شود، آزمایشگاه‌های طبیعی برای مطالعه فرگشت و تلاقی گونه‌ها هستند .

نتایج حاصل از تحلیل درخت فیلوژنتیکی در این مطالعه نیز به‌طور خاص و با وضوح بالا، تفکیک دو شاخه ژنتیکی را نشان داد. در این درخت، قوچ و میش‌های منطقه کوه هوا به‌طور قطع در شاخه قوچ ارمنی (*Ovis orientalis*) و قوچ و میش‌های مناطق تابناک و شانول در شاخه قوچ اوریال (*Ovis vignei*) قرار گرفتند. این یافته نشان می‌دهد که در محدوده جغرافیایی نسبتاً کوچک منطقه لارستان، دو گونه (یا زیرگونه) متمایز از نظر ژنتیکی در همسایگی یکدیگر زیست می‌کنند و روند جدایی تکاملی آن‌ها در طول زمان منجر به شکل‌گیری دو تبار ژنتیکی متفاوت شده است. مقایسه نتایج این پژوهش با مطالعات پیشین نشان می‌دهد که یافته‌های کنونی در یک راستا با پژوهش‌های حسینی و همکاران (۱۴۰۴) قرار دارد. آن‌ها نیز با استفاده از ژن سیتوکروم b در پناهگاه حیات وحش بوروئیه نشان دادند که جمعیت مورد بررسی در شاخه قوچ و میش ارمنی قرار دارد و از لحاظ هاپلوتایپی با سایر مناطق ایران تفاوت‌های معناداری دارد. بنابراین، شناسایی مجدد قوچ ارمنی در منطقه کوه هوا در این پژوهش، تأییدکننده صحت و دقت یافته‌های آن پژوهش است .

همچنین، نتایج تحقیق حاضر تأییدکننده تمایز واضح ژنتیکی بین دو گونه قوچ و میش در منطقه لارستان است؛ به‌طوری‌که نمونه‌های شانول (SHA) و تابناک (TAB) به اوریال و نمونه‌های کوه هوا (KUH) به ارمنی تعلق دارند. این الگو کاملاً با یافته‌های پیشین پژوهش‌های حسینی و همکاران (۱۴۰۳ و ۱۴۰۴) و بحری بیناباج و همکاران (۱۴۰۴) هم‌راستا بوده و نشان می‌دهد که تحلیل‌های مولکولی و فیلوژنتیکی مبتنی بر ژن سیتوکروم b ، ابزارهایی بسیار قدرتمند و قابل اتکا در شناسایی گونه‌ها، تعیین مرزهای توزیع و درک ساختار جمعیت‌های محلی هستند. این هم‌سویی نشان‌دهنده پایداری نسبی ساختار ژنتیکی گونه در مقیاس زمانی و مکانی و صحت نتایج به‌دست‌آمده از پژوهش حاضر است و بستری محکم برای تصمیم‌گیری‌های محیط‌زیستی در آینده فراهم می‌آورد.

منابع

بیناباج، ف.، بی همتا، گ.، پیرخضرانیان، ز. (۱۴۰۴). تنوع ژنتیکی و آنالیز فیلوژنتیکی ناحیه D-loop ژنوم میتوکندری گوسفند نژاد بلوچی. پژوهش های علوم دامی ایران. ۱۰(۳۳)، ۱۳۱-۱۳۹.

جلیلیان مجد، ح.، ورکوهی، ش.، سیدآبادی، ح.ر. (۱۴۰۲). تنوع توالی سیتوکروم-b ژنوم میتوکندی در اسبهای کرد ایران. علوم دامی ایران. ۵۴(۲)، ۱۴۹-۱۳۹.

حسینی، س.م. (۱۴۰۳). فیلوژنی قوچ و میش‌های استان یزد بر اساس توالی سیتوکروم ب از ژنوم میتوکندریایی. پایان نامه کارشناسی ارشد مهندسی منابع طبیعی-محیط زیست. دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، دانشکده شیلات و محیط زیست.

حسینی، س.م.، رضایی، ح.ر.، وارسته، ح.، نادری، س.، نیکوی، ف. (۱۴۰۴). تجزیه و تحلیل تنوع و جایگاه ژنتیکی قوچ و میش‌های پناهگاه حیات‌وحش بوروئیه با کمک ژن سیتوکروم ب (Cytochrome b). مجله بیوتکنولوژی کشاورزی. ۷(۳)، ۹۰-۱۰۴.

دولتی، و.، هدایت ایوریق، ن.، نیک بین، س.، بهمرام. (۱۴۰۰). آنالیزفیلوژنتیکی جمعیت بزهای خلخالی با استفاده ژن سیتوکروم b. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی. ۹(۳)، ۸۶-۷۶.

صمدیان، ف.، دارفرین، ه.، قادری زفره‌ای، م.، ترابی، آ.، شریعت، م. (۱۴۰۲). آنالیز فیلوژنتیکی ناحیه سیتوکروم‌B ژنوم میتوکندری چند نژاد بز بومی ایران. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی. ۱۱(۴)، ۱۹-۳۴.

نصیری، م.ر.، مهدوی، م. (۱۴۰۰). تجزیه و تحلیل ژنتیکی و فیلوژنتیکی ناحیه سیتوکروم b در جبیر ایران. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی، ۳(۱-۲)، ۹۱-۱۰۴.

نظری، م.، محمدی اهوازی، غ. (۱۴۰۱). تجزیه و تحلیل ژنتیکی و فیلوژنتیکی بر اساس ناحیه HVR I D-loop میتوکندری سه نژاد گوسفند بومی ایران (تالشی، شال و ماکویی). تحقیقات دامپزشکی و فراورده های بیولوژیک. ۳۵(۱)، ۳۹-۳۱.

References

Binabaj, F., Bihemta, G., Pirkhezranian, Z. (2025). Genetic diversity and phylogenetic analysis of the D-loop region of mitochondrial genome in Baluchi sheep. Iranian Journal of Animal Science Research. 10(33), 131-139. [in Persian]

Jalilian Majd, H., Varkoohi, Sh., Seyedabadi, H.R. (2023). Sequence diversity of cytochrome-b of mitochondrial genome in Iranian Kurdish horses. Iranian Journal of Animal Science. 54(2), 139-149. [in Persian]

Hosseini, S.M. (2024). Phylogeny of rams and ewes of Yazd province based on cytochrome b sequence of mitochondrial genome. Master's Thesis in Natural Resources Engineering-Environment. Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Faculty of Fisheries and Environment. [in Persian]

Hosseini, S.M., Rezaei, H.R., Varasteh, H., Naderi, S., Nikoyi, F. (2025). Analysis of diversity and genetic status of rams and ewes in Borooye Wildlife Refuge using cytochrome b gene. Journal of Agricultural Biotechnology. 7(3), 90-104. [in Persian]

Dolati, V., Hedayati Evriq, N., Nikbin, S., Behmaram. (2021). Phylogenetic analysis of KhalKhali goat population using cytochrome b gene. Journal of Agricultural Biotechnology. 9(3), 76-86. [in Persian]

Samadian, F., Darfarin, H., Ghaderi Zefrehei, M., Torabi, A., Shariat, M. (2023). Phylogenetic analysis of cytochrome B region of mitochondrial genome in several native goat breeds of Iran. Journal of Agricultural Biotechnology. 11(4), 19-34. [in Persian]

Nasiri, M.R., Mahdavi, M. (2021). Genetic and phylogenetic analysis of cytochrome b region in Persian jebeer (Gazella bennettii). Journal of Agricultural Biotechnology. 3(1-2), 91-104. [in Persian]

Nazari, M., Mohammadi Ahvazi, Gh. (2022). Genetic and phylogenetic analysis based on HVR I D-loop mitochondrial region of three native Iranian sheep breeds (Taleshi, Shal and Makui). Veterinary Research and Biological Products. 35(1), 31-39. [in Persian]

Ahmadi Nadoushan, M., Chamani, A., Moshtaghie, M., & Eslamlou, K. (2021). Habitat suitability and landscape connectivity of Laristan Mouflon (Ovis orientalis laristanica).

Bazyan Pihl S, Asadi H, Rezaei HR, Mesdaghi M. (2023). Mating behaviour of wild sheep in captivity (Case study: Laristan Mouflon, Ovis orientalis laristanica). Der Zoologische Garten. 85(3–4).

Bradley DG., MacHugh DE., Cunningham P., Loftus RT. (2019). Mitochondrial diversity and the origins of African and European cattle. National Academi of Science. USA. 93, 5131-5135.

Bunch TD, Wu C, Zhang YP, Wang S (2006). Phylogenetic analysis of snow sheep (Ovis nivicola) and closely related taxa. Journal of Heredity 97:21–30.

Fadakar D (2013) Genetic diversity of gazzela in central part of Iran using cytochrome b

equencing. M.Sc. thesis. Environmental Sciences, College of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources. Gorgan. Iran.

Rezaei HR, Naderi S, Chintauan-Marquier IC, Taberlet P, Virk AT, Naghash HR, Rioux D, Kaboli M, Pompanon F (2010). Evolution and taxonomy of the wild species of the genus Ovis (Mammalia, Artiodactyla, Bovidae). Molecular Phylogenetics and Evolution 54:315–326.