

تبارشناسی زیرگونه‌های گرگ براساس نشانگرهای میتوکندریایی

مرضیه اسدی آقبلاغی*¹، حمیدرضا رضایی²، وحید زمانی³

1 کارشناسی ارشد مهندسی منابع طبیعی - محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران

2 استادیار دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

3 دانشجوی دکتری رشته ژنتیک حفاظت دانشگاه ژوزف فوریه فرانسه

(تاریخ دریافت: 1391/2/24؛ تاریخ تصویب: 1392/3/27)

چکیده

ساختار ژنتیکی جمعیت گرگ در سطح دنیا تحت تأثیر وقوع تجزیه شدن جمعیت و نوسان‌های جمعیتی در طی دوره‌های یخبندان قرار گرفته است. با توجه به پراکندگی گسترده گرگ در ایران و نیاز به شناسایی دقیق گونه‌ها در برنامه‌های حفاظتی، در این مطالعه جایگاه و روابط زیرگونه‌های احتمالی گرگ در ایران *Canis lupus pallipes*، *Canis lupus cubanensis* و *Canis lupus lupus* با سایر زیرگونه‌های موجود در دنیا، بر اساس توالی کامل ژن‌های سیتوکروم b، ناحیه کنترل، ژن ND1 و ژن CO1 دی‌ان‌ای میتوکندری که از نقاط مختلف دنیا در ژن بانک ثبت شده بودند، مورد بررسی قرار گرفت. تباربندی براساس توالی‌های مربوط به هر یک از ژن‌ها انجام شد و هاپلوتیپ‌های مشترک براساس چهار ژن ذکر شده در بالا تعیین شدند و در نهایت شبکه هاپلوتیپی ترسیم گردید. نتایج نشان داد که زیرگونه *Canis lupus lupus* از هاپلوتیپ‌های قدیمی با پراکندگی بالا در منطقه خاورمیانه و اروپا محسوب می‌شود و با سایر زیرگونه‌های موجود در دنیا ارتباطات پیچیده‌ای دارد. همچنین در تباربندی زیرگونه‌های گرگ ناحیه کنترل و ژن سیتوکروم b نسبت به ژن CO1 و ND1، اختلاف بین هاپلوتیپ‌ها را بهتر نمایان کردند.

کلید واژه‌ها: *Canis lupus lupus*، دی‌ان‌ای میتوکندری، ژن سیتوکروم b، ناحیه کنترل، ژن ND1، ژن CO1

سرآغاز

سطح جهانی برای گرگ‌ها تهدیدی برای انقراض وجود ندارد، اما جمعیت‌های محلی به علت تکه‌تکه شدن جمعیت در معرض تهدیدهایی مانند پدیده گردنه بطری قرار دارند (Vila & Wayne, 1998) و این گونه براساس طبقه‌بندی کنوانسیون تجارت بین‌المللی گونه‌های جانوری و گیاهان وحشی، در معرض خطر انقراض در سال 2007 در طبقه دو قرار گرفت (ضیایی، 1388). در جدول (1)، زیرگونه‌های گرگ موجود در آسیا و اروپا براساس طبقه‌بندی نواک بیان شده است. در دو دهه گذشته، تعیین چند ریختی دی‌ان‌ای میتوکندری با موفقیت در تعیین روابط ژنتیکی جمعیت‌های یک گونه و گونه‌های مختلف به کار گرفته شده است (Verardi et al., 2006). نشانگر mtDNA⁽²⁾ فرایندهای جمعیت شناختی را که بر جمعیت مؤثر هستند مانند گسترش جمعیت و یا تاریخچه جمعیت‌ها را بیان می‌کند و به دلیل عدم وجود نوترکیبی در این نشانگر به‌طور متداول برای تهیه درخت فیلوژنی در سطوح مختلف رده‌بندی پستانداران استفاده می‌شود (Randi et al., 1993). توالی‌های سیتوکروم b⁽³⁾ و ناحیه کنترل به‌دلیل تغییراتی که در آن‌ها مشاهده می‌شود، می‌تواند به صورت بسیار گسترده برای تعیین روابط فیلوژنتیک به ویژه در پستانداران استفاده شوند. این ژن‌ها به شدت تحت تأثیر نیروهای تکاملی قرار دارند. نرخ تکاملی در ژن CO1⁽⁴⁾ و ND1⁽⁵⁾ نسبت به ناحیه کنترل خیلی پایین است، اما نرخ جهش پذیری آن‌ها برای تفکیک روابط بین گونه‌ها مناسب است و به همین علت به وفور برای تباربندی گونه‌ها استفاده می‌شوند. نشانگرهای mtDNA، به علت این که این نشانگر از مادر به ارث می‌رسند اغلب برای ردیابی وراثت مادری استفاده می‌شوند. به همین علت، برای ردیابی و تباربندی جمعیت گرگ‌ها مطالعات گسترده‌ای در سطح دنیا با به‌کارگیری توالی ناحیه کنترل صورت گرفته است. اولین مطالعه گسترده تغییرات ژنتیکی جمعیت گرگ‌ها توسط کندی⁽⁶⁾ با استفاده از پلی‌مورفیسم پروتئین‌ها انجام شد (Kennedy et al., 1991)، در این راستا، در دنیا دو مطالعه گسترده توسط ویلا⁽⁷⁾ (Vila et al., 1999)، و راندی⁽⁸⁾ با استفاده از توالی D-loop⁽⁹⁾ میتوکندری انجام گرفت که منجر به تعیین جمعیت‌های گرگ شد (Randi et al., 2000).

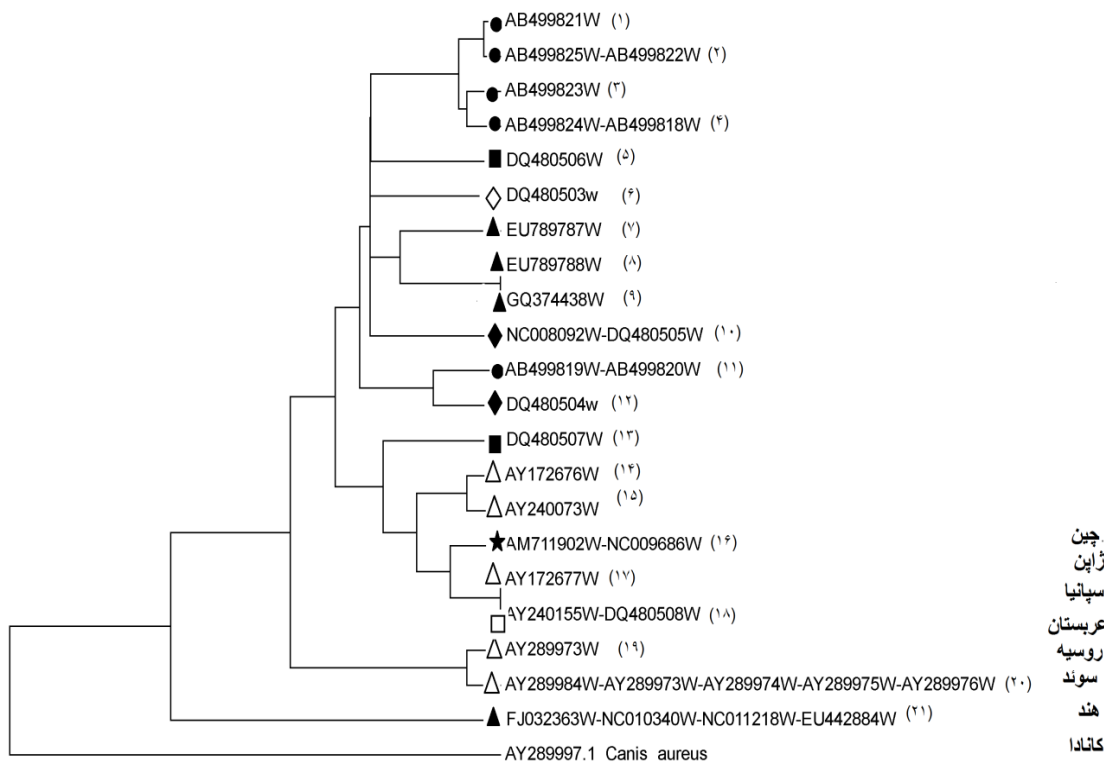
نزدیک‌ترین نیایی که برای گرگ قابل تصور است، گونه‌ای با نام علمی *Canis lepophagus* می‌باشد که دارای اندازه بدن و سرجمه کوچک بوده و در شمال آمریکا در دوره میوسن می‌زیسته است (Mech & Biotani, 2003). گرگ‌ها حدود 700 هزار سال پیش در قاره کهن گسترده شدند و توزیع گسترده‌ای در اروپا، آسیا و آمریکای شمالی دارند که در طیف وسیعی از زیستگاه‌ها از بیابان‌های خشک عربستان تا خلنگ‌زارهای مدیترانه و جنگل‌های سوزنی برگ سیبری و مناطق توندرا زیست می‌کنند (Vila et al., 1999). توسعه چرخه‌های جمعیتی در دوره‌های یخبندان و گسترش جریان ژن بین گرگ‌ها، منجر به گسترش جمعیت‌های گرگ در نقاط مختلف دنیا شد. در سطح دنیا، 39 زیرگونه از گرگ شناسایی شده که به دو دسته گرگ‌های شمالی (دارای اندازه بدن، مغز و دندان‌های کارناسیل بزرگ می‌باشند و در آمریکای شمالی اورپا و شمال آسیا پراکنش دارند) و گرگ‌های جنوبی (نسبت به گرگ‌های شمالی دارای خز کوتاه تر، جمجمه، مغز و دندان‌های کارناسیل کوچک‌تر هستند و بیشتر در شبه جزیره عربستان و جنوب آسیا پراکنش دارند) تقسیم می‌شوند و گرگ‌های مرکز و شرق آسیا حد واسط گرگ‌های شمالی و جنوبی می‌باشند (Hemmer, 1990). فعالیت‌های انسانی، جنگل‌زدایی و کاهش طعمه‌های طبیعی، منجر به کاهش جمعیت گرگ‌ها در آسیا و به‌ویژه اروپا شد. در اروپا تنها یک جمعیت بزرگ در شرق اروپا وجود داشت، در صورتی که در مرکز و غرب اروپا گرگ‌ها به کلی از بین رفته بودند و تقریباً دو دهه پس از جنگ جهانی دوم جمعیت گرگ‌ها در ایتالیا روبه افزایش گذاشت (et al., 2004). Lucchini. برخی متخصصان گرگ‌های ایران را متعلق به یک زیرگونه به نام زیرگونه هندی یا ایرانی با نام علمی *Canis lupus pallipes* می‌شناسند. با توجه به رده بندی انجام شده توسط نواک⁽¹⁾ بر اساس اندازه‌ها و مشخصات جمجمه این حیوان و اندازه‌های بسیار متفاوت در جثه و دندان‌ها، احتمالاً چندین زیرگونه از گرگ در ایران وجود دارد. به احتمال زیاد گرگ‌های مناطق شمال غربی و نواحی جنوبی دریای خزر متعلق به زیرگونه‌ای به نام گرگ قفقازی با نام علمی *Canis lupus cubanensis* و در نواحی شمال شرقی، زیرگونه گرگ با نام علمی *Canis lupus lupus* می‌باشد (Nowak et al., 1995; Nowak, 1983; Nowak, 2002). با وجود این که در

بلاست⁽¹⁰⁾ دانلود شد. سپس توالی‌ها در نرم‌افزار مگا⁽¹¹⁾ با استفاده آلاینمنت⁽¹²⁾ مرتب شدند. خروجی نرم‌افزار مگا وارد نرم افزار آرلکویین⁽¹³⁾ و پس از آنالیز هاپلوتیپ‌ها تعیین شد. درخت فیلوژنی براساس روش اتصال همسایگی⁽¹⁴⁾ و مدل پارامتر دو-کیمورا⁽¹⁵⁾ ترسیم شد و براساس روش حداقل شبکه⁽¹⁶⁾، شبکه هاپلوتیپی با استفاده از نرم‌افزار نت ورک⁽¹⁷⁾، ترسیم گردید.

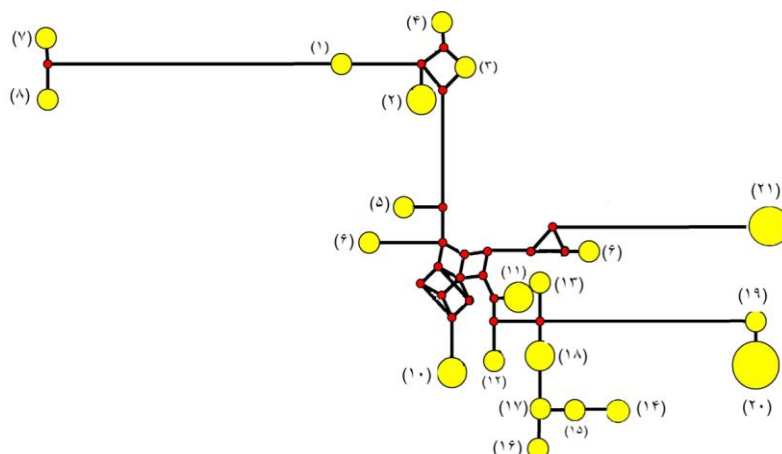
در این بررسی، از توالی کامل ژن‌های مختلف دی‌ان‌ای میتوکندری گرگ، ثبت شده از نقاط مختلف دنیا در ژن بانک برای بررسی تباربندی و تعیین هاپلوتیپ‌های مشترک گونه‌های گرگ استفاده شد. تعداد توالی‌های کامل چهار ژن مورد بررسی ثبت شده در ژن بانک محدود بودند. از 13 ژن کد شونده mtDNA توالی‌های مربوط به ژن سیتوکروم *b* (29 توالی)، ناحیه کنترل (33 توالی)، ژن CO1 (27 توالی) و ژن ND1 (25 توالی) گونه‌های گرگ ثبت شده در ژن بانک با استفاده از

جدول (1): زیرگونه‌های گرگ موجود در آسیا و اروپا

نام زیرگونه	اسم علمی	پراکنش
Eurasian wolf	<i>Canis lupus lupus</i>	بیشترین پراکنش در شمال آسیا و اروپا
Arabian wolf	<i>Canis lupus Arabs</i>	جنوب اسرائیل، غرب عراق، اردن تا عربستان
Steppe wolf	<i>Canis lupus cubanensis</i>	شمال اوکراین، جنوب قزاقستان و نواحی قفقاز
Tibetan wolf	<i>Canis lupus chanco</i>	آسیای مرکزی، هیمالیا، شمال چین و شبه جزیره کره
Domestic dog	<i>Canis lupus familiaris</i>	همه قسمت‌های کره زمین
Hokkaidō wolf	<i>Canis lupus hattai</i>	جزیره هوکایدو در ژاپن
Honshū wolf	<i>Canis lupus hodophilax</i>	جزیره هونشو و کیوشو ژاپن
Greenland wolf	<i>Canis lupus orion</i>	گرینلند
Indian wolf	<i>Canis lupus pallipes</i>	هند، ایران، ترکیه، عربستان و جنوب فلسطین



شکل (1): درخت فیلوژنی حاصل از هاپلوتیپ‌های ناحیه کنترل براساس روش اتصال همسایگی



شکل (2): شبکه هاپلوتیپی حاصل از هاپلوتیپ‌های ناحیه کنترل براساس روش اتصال میانه

یافته‌ها

ناحیه کنترل

تصویر مشخص است، 21 گروه هاپلوتیپی تشکیل شد که در چهار کلاد⁽¹⁸⁾ در درخت فیلوژنی قرار گرفتند. شبکه هاپلوتیپی تشکیل شده ارتباط بین هاپلوتیپ‌ها را نشان می‌دهد. فراوانی نسبی هاپلوتیپ‌ها براساس جدول (2) است و فراوان‌ترین هاپلوتیپ، متعلق به هند می‌باشد.

نتایج حاصل از ترسیم درخت فیلوژنی با استفاده از هاپلوتیپ‌های تشکیل شده و شبکه هاپلوتیپی ناحیه کنترل (به ترتیب شکل های 1 و 2) میتوکندری به شرح زیر می‌باشد: همان‌طور که در

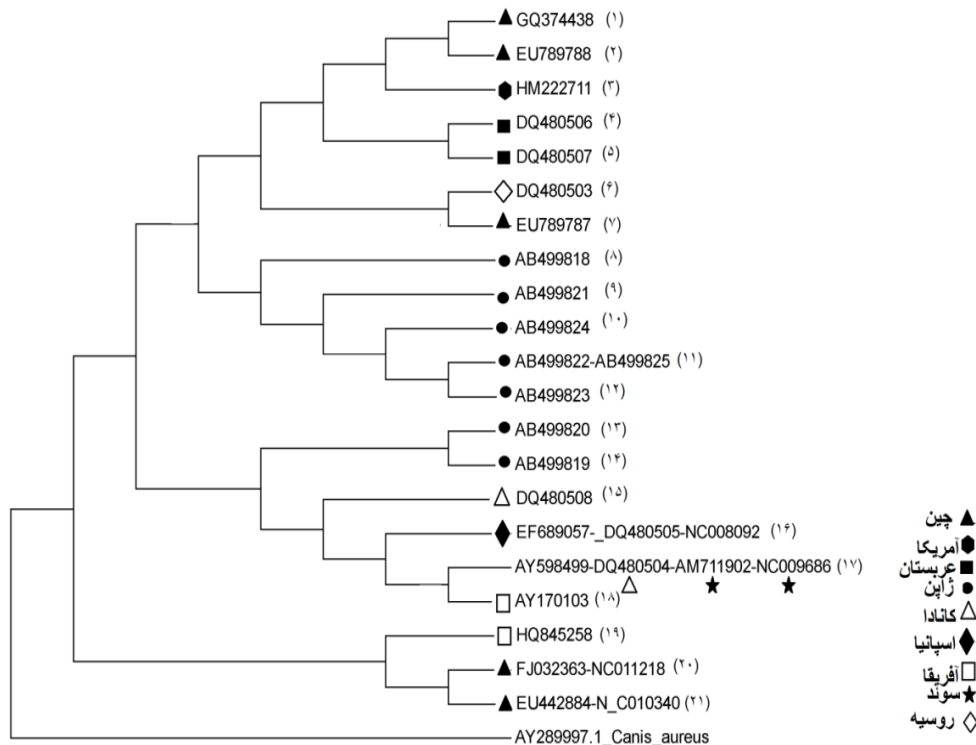
جدول (2): فراوانی نسبی هاپلوتیپ‌های ناحیه کنترل (D-loop)

موقعیت	شماره ثبت ژن بانک	نام زیرگونه	فراوانی نسبی هاپلوتیپ
اسپانیا	DQ480505- NC008092	Canis lupus	0/0645
عربستان	DQ480506	Canis lupus	0/0323
عربستان	DQ480507	Canis lupus	0/0323
کانادا	DQ480508- AY240155	Canis lupus	0/0645
سوئد	NC009686- AM711902	Canis lupus lupus	0/0645
چین	NC010340 -NC011218 EU442884- FJ032363	Canis lupus chanco Canis lupus laniger	0/129
ژاپن	AB499820- AB499819	Canis lupus	0/0645
ژاپن	AB499821	Canis lupus	0/0323
ژاپن	AB499818- AB499824	Canis lupus	0/0645
ژاپن	AB499822- AB499825	Canis lupus	0/0645
ژاپن	AB499823	Canis lupus	0/0323
چین	EU789787	Canis lupus	0/0323
چین	EU789788	Canis lupus	0/0323
چین	GQ374438	Canis lupus chanco	0/0323
هند	AY289973	Canis indica	0/0323
هند	AY289974- AY289975- AY289976- AY289984	Canis indica	0/129
هند	AY172677	Canis lupus	0/0323
-	AY240073	Canis lupus	0/0323
هند	AY172676	Canis lupus	0/0323
روسیه	DQ480503	Canis lupus	0/0323

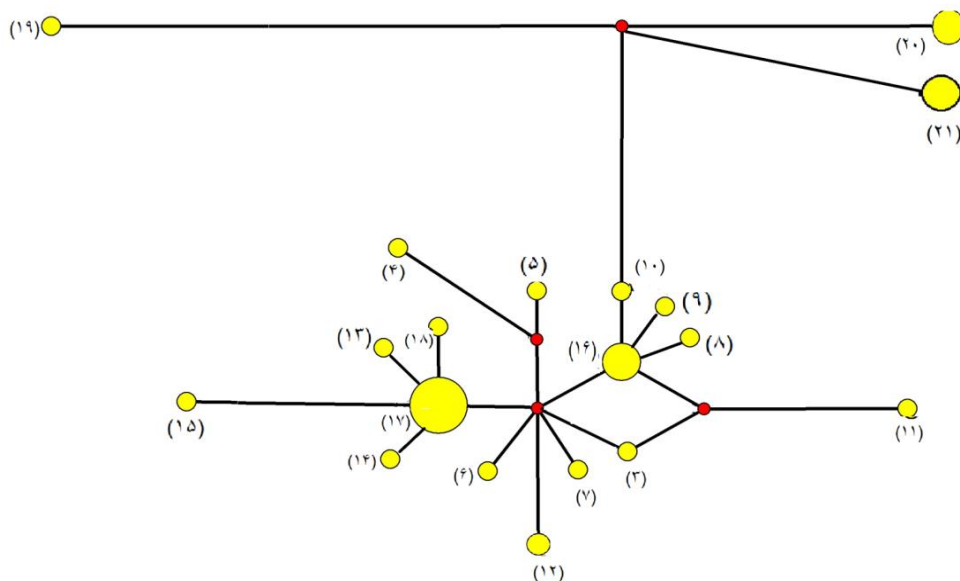
سه کلاد در درخت فیلوژنی قرار گرفتند. شبکه هاپلوتیپی تشکیل شده ارتباط بین هاپلوتیپ‌ها را نشان می‌دهد. فراوانی نسبی هاپلوتیپ‌ها مطابق جدول (3) و فراوان‌ترین هاپلوتیپ، متعلق به اوراسیا و آمریکای شمالی می‌باشد.

ژن سیتوکروم b

نتایج حاصل از ترسیم درخت فیلوژنی با استفاده از هاپلوتیپ‌های تشکیل شده و شبکه هاپلوتیپی ژن سیتوکروم b میتوکندری به ترتیب شکل‌های (3 و 4)، به شرح زیر می‌باشد: همان‌طور که در تصویر مشخص است، 21 گروه هاپلوتیپی تشکیل شد که در



شکل (3): درخت فیلوژنی حاصل از هاپلوتیپ‌های ژن سیتوکروم b براساس روش اتصال همسایگی



شکل (4): شبکه هاپلوتیپی حاصل از هاپلوتیپ‌های ژن سیتوکروم b براساس روش اتصال میانه

جدول (3): فراوانی نسبی هاپلوتیپ‌های ژن سیتوکروم b

موقعیت	شماره ثبت ژن بانک	نام زیرگونه	فراوانی نسبی هاپلوتیپ
روسیه	DQ480503	Canis lupus	0/0345
سوئد-آمریکای شمالی	DQ480504- AY598499- NC009686- AM711902	Canis lupus Canis lupus lupus	0/138
سوئد- اسپانیا	DQ480505 - EF689057- NC008092	Canis lupus	0/103
عربستان	DQ480506	Canis lupus	0/0345
عربستان	DQ480507	Canis lupus	0/0345
کانادا	DQ480508	Canis lupus	0/0345
چین	NC011218- FJ032363	Canis lupus laniger Canis lupus chanco	0/069
چین	NC010340- EU442884	Canis lupus chanco	0/069
ژاپن	AB499820	Canis lupus	0/0345
ژاپن	AB499819	Canis lupus	0/0345
ژاپن	AB499825- AB499822	Canis lupus	0/069
ژاپن	AB499821	Canis lupus	0/0345
ژاپن	AB499824	Canis lupus	0/0345
ژاپن	AB499823	Canis lupus	0/0345
ژاپن	AB499818	Canis lupus	0/0345
چین	GQ374438	Canis lupus chanco	0/0345
چین	EU789788	Canis lupus	0/0345
چین	EU789787	Canis lupus	0/0345
آفریقا	AY170103	Canis lupus voucher	0/0345
آمریکا	HM222711	Canis lupus baileyi	0/0345
آفریقا (اتیوپی)	HQ845258	Canis lupus lupaster	0/0345

ژن CO1

نتایج حاصل از ترسیم درخت فیلوژنی با استفاده از هاپلوتیپ‌های تشکیل شده و شبکه هاپلوتیپی ژن سیتوکروم b به ترتیب شکل های (5 و 6)، به شرح زیر می‌باشد: همان‌طور که در تصویر مشخص است 11 گروه هاپلوتیپی تشکیل شد که در سه کلاد

در درخت فیلوژنی قرار گرفتند و شبکه هاپلوتیپی تشکیل شده، ارتباط بین هاپلوتیپ‌ها را نشان می‌دهد. فراوانی نسبی هاپلوتیپ‌ها مطابق جدول (4) و فراوان‌ترین هاپلوتیپ، متعلق به ژاپن می‌باشد.



شکل (5): درخت فیلوژنی حاصل از هاپلوتیپ‌های ژن CO1 براساس روش اتصال همسایگی



شکل (6): شبکه هاپلوتیپی حاصل از هاپلوتیپ‌های ژن CO1 براساس روش اتصال میانه

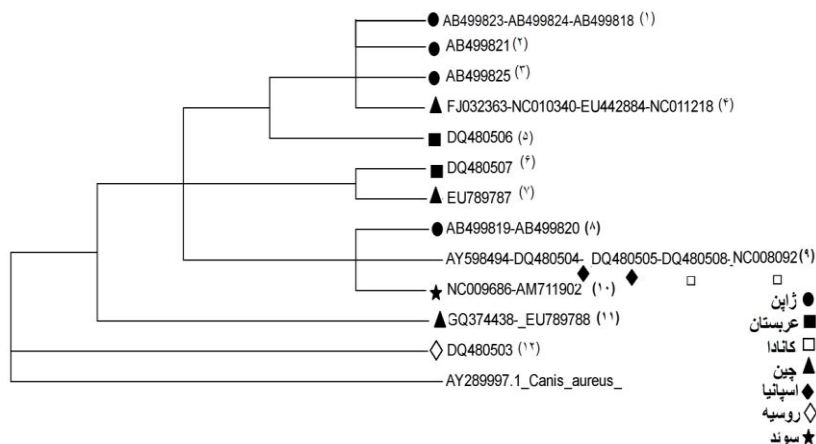
جدول (4): فراوانی نسبی هاپلوتیپ‌های ژن CO1

فراوانی نسبی هاپلوتیپ	نام زیرگونه	شماره ثبت ژن بانک	موقعیت
0/37	Canis lupus Canis lupus lupus	DQ480503- DQ480504- DQ480505 DQ480508- EU789788- NC008092 AY598494 EU789787- NC009686- AM711902	روسیه - سوئد اسپانیا - آمریکای شمالی
0/037	Canis lupus	DQ480506	عربستان
0/037	Canis lupus	DQ480507	عربستان
0/0741	Canis lupus chanco- Canis lupus laniger	FJ032363- NC011218	چین
0/0741	Canis lupus chanco	NC010340--EU442884	چین
0/0741	Canis lupus	AB499819- AB499820	ژاپن
0/185	Canis lupus	AB499821-AB499823-AB499824- AB499825- AB499818	ژاپن
0/037	Canis lupus chanco	GQ374438	چین
0/037	Canis lupus	AB499822	ژاپن
0/037	Canis lupus voucher	EF568720	آمریکا
0/037	Canis lupus voucher	EF568691	آمریکا

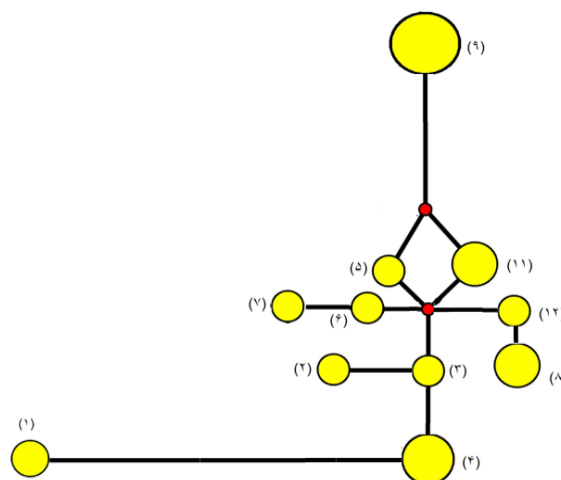
کلاد در درخت فیلوژنی قرار گرفتند. شبکه هاپلوتیپی تشکیل شده ارتباط بین هاپلوتیپ‌ها را نشان می‌دهد. فراوانی نسبی هاپلوتیپ‌ها مطابق جدول (5) و فراوان‌ترین هاپلوتیپ، متعلق به اوراسیا و آمریکای شمالی می‌باشد.

ژن ND1

نتایج حاصل از ترسیم درخت فیلوژنی با استفاده از هاپلوتیپ‌های تشکیل شده و شبکه هاپلوتیپی ژن ND1 به ترتیب شکل‌های (7 و 8) میتوکندری به شرح زیر می‌باشد: همان‌طور که در تصویر مشخص است، 12 گروه هاپلوتیپی تشکیل شد که در دو



شکل (7): درخت فیلوژنی حاصل از هاپلوتیپ‌های ژن ND1 براساس روش اتصال همسایگی



شکل (8): شبکه هاپلوتیپی حاصل از هاپلوتیپ‌های ژن ND1 براساس روش اتصال میانه

جدول (5): فراوانی نسبی هاپلوتیپ‌های ژن ND1

موقعیت	شماره ثبت ژن بانک	نام زیرگونه	فراوانی نسبی هاپلوتیپ
روسیه	DQ480503	Canis lupus	0/04
سوئد - اسپانیا - آمریکای شمالی	DQ480504- DQ480505- DQ480508- NC008092 AY598494	Canis lupus - Canis lupus	0/2
عربستان	DQ480506	Canis lupus	0/04
عربستان	DQ480507	Canis lupus	0/04
سوئد	AM711902- NC009686	Canis lupus lupus	0/08
ژاپن	AB499820- AB499819	Canis lupus	0/08
چین	NC010340- EU442884 NC011218- FJ032363	Canis lupus chanco	0/16
ژاپن	AB499822	Canis lupus	0/04
ژاپن	AB499823-AB499824 AB499818	Canis lupus	0/12
ژاپن	AB499825	Canis lupus	0/04
چین	EU789788- GQ374438	Canis lupus chanco	0/08
چین	EU789787	Canis lupus chanco	0/04
ژاپن	AB499821	Canis lupus	0/04

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که گرگ‌های متعلق به کشور ژاپن در هر چهار درخت فیلوژنی ترسیم شده به صورت تقریباً مجزا از گرگ‌های سایر نقاط جهان قرار گرفتند شکل‌های (1، 3، 5 و 7). این نتایج با یافته‌های تسودا⁽¹⁹⁾ (Tsuda et al., 1997) همخوانی دارد. زیرا، او پیشتر اعلام کرده بود به دلیل این‌که کشور ژاپن با دریا احاطه شده و ارتباط زیادی با خشکی‌های بهم پیوسته قاره آسیا ندارد، جمعیت گرگ‌های آن به صورت جدا از سایر گرگ‌های دنیا تکامل یافته‌اند و اختلافات زیادی پیدا

کرده‌اند. گرگ‌های متعلق به جنوب شرق آسیا مانند شبه جزیره هندوستان و چین در درخت فیلوژنی با هم قرار گرفتند؛ اتفاقی که انتظار آن می‌رفت چرا که نزدیکی جغرافیایی این دو کشور امکان مهاجرت گرگ‌ها در گذشته را مهیا کرده است. بنابراین، قرار گرفتن گرگ‌های هندوستان و چین نشان از وجود اجداد مادری مشترک و جریان ژن بین گرگ‌های این مناطق طی نسل‌های گذشته است و مبین مهاجرت گرگ‌ها بین این مناطق در دوره‌های پیشین می‌باشد؛ نتایجی که ویلا و همکارانش در سال 2003 به آن اشاره کرده‌اند (Vila et al., 2003). از آنجایی

سیتوکروم b اختلاف زیادی در گروه‌بندی و تفکیک گرگ‌ها مشاهده نشد شکل‌های (1 و 3)، ولی این دو ژن در مقایسه با ژن CO1 و ND1 اختلافات درون گروهی را بیشتر نشان می‌دهند (Gottelli et al., 1994). بنابراین، می‌توان گفت توالی‌های ناحیه کنترل و سیتوکروم b برای تفکیک جمعیت‌های نزدیک‌تر و توالی‌های CO1 و ND1 برای جمعیت‌های با خویشاوندی کمتر مناسب هستند. در نهایت، با توجه به نزدیکی گرگ ایران به اروپا و غرب آسیا در اقدام‌های حفاظتی و مدیریتی که برای گرگ‌ها در نظر گرفته می‌شود، تجارب و راهکارهای ارایه شده برای گرگ‌های اروپا و غرب آسیا باید مدنظر قرار گیرد. همچنین مطالعات مربوط به نجات ژنتیکی، پویایی جمعیت و اکولوژی این گرگ‌های خویشاوند، می‌تواند برای گرگ ایران چاره‌ساز باشد و وضعیت جمعیتی و اکولوژیک مبهم گرگ ایرانی را بهبود بخشد.

یادداشت‌ها

1. Nowak
2. Mitochondrial DNA
3. Cytochrome b
4. Mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I
5. Mitochondrially encoded NADH dehydrogenase 1
6. Kennedy
7. Vilà
8. Randi
9. Displacement loop
10. BLAST
11. MEGA5
12. Alingment
13. ARLEQUIN3.1
14. Neighbor-joining
15. Kimura 2-parameter model
16. Midian joining
17. NETWORK4.6
18. Clad
19. Tsuda

که دو توالی کامل از زیرگونه *Canis lupus lupus* از کشور سوئد در ژن بانک ثبت شده و با توجه به شبکه هاپلوتیپی ترسیم شده شکل‌های (2، 4، 6، 8) جزو هاپلوتیپ‌های قدیمی با پراکنش بالا محسوب می‌شود و ارتباطات پیچیده‌ای با سایر هاپلوتیپ‌های گرگ از سایر نقاط دنیا دارد که این امر نشان از یک مخزن ژنی مشترک بین گرگ‌های غرب آسیا و اروپا دارد و کشور ایران به عنوان یک مسیر گذار برای گرگ‌ها در مهاجرت از آسیا به اروپا می‌باشد (اسدی آقبلاغی، 1390). زیرگونه *Canis lupus lupus* براساس توالی ناحیه کنترل به تنهایی یک هاپلوتیپ تشکیل داد (جدول 1)، ولی بر اساس نتایج حاصل از ژن‌های سیتوکروم b و CO1 با گونه *Canis lupus* از اوراسیا و آمریکای شمالی (نام این زیرگونه در ژن بانک عنوان نشده است)، یک هاپلوتیپ مشترک تشکیل دادند (جدول 3 و 4). براساس ژن ND1 نیز یک هاپلوتیپ مجزا ایجاد شد (جدول 5). بنابراین، مطالعات ژنتیکی بیشتر برای روشن شدن وضعیت گرگ ایران ضروری می‌نماید. به‌ویژه استفاده از نشانگرهای مبتنی بر ژنوم هسته‌ای توصیه می‌شود تا با تلفیق نتایج ژنوم هسته‌ای با یافته‌های حاصل از نشانگرهای میتوکندری ابهام‌های موجود مرتفع شود. زیرا، نشانگرهای mtDNA جد مادری را نشان می‌دهند و برای مطالعه نیای پدری، نشانگرهای ژنوم هسته‌ای به کار می‌رود. نتایج هاپلوتیپ‌های متعلق به کشور سوئد و کانادا و اسپانیا از لحاظ ناحیه کنترل اختلافات زیادی دارند ولی از لحاظ ژن سیتوکروم b، CO1 و ND1 شباهت بیشتری دارند که این امر به دلیل نرخ بالای جهش در ناحیه کنترل نسبت به سایر نقاط دی‌ان‌ای میتوکندری می‌باشد. با توجه به شبکه‌های هاپلوتیپی ترسیم شده در هر چهار ژن هاپلوتیپ‌های متعلق به کشور چین (NC010340--EU44288-NC011218) (FJ032363) ارتباطات کمی با سایر گرگ‌ها دارند و پراکندگی آن‌ها نسبت به سایر هاپلوتیپ‌ها محدودتر است شکل‌های (2، 4، 6 و 8). سایر هاپلوتیپ‌ها، ارتباطات پیچیده‌ای دارند که نشان از وجود اجداد مادری مشترک با قدمت و قدرت پراکندگی بالا در سطح دنیا می‌باشد. در تباربندی بین دو ژن ناحیه کنترل و

فهرست منابع

اسدی آقبلاغی، م. 1390. بررسی جریان ژنی بین گرگ و سگ در استان همدان با استفاده از نشانگرهای ناحیه کنترل میتوکندری و ریزماهوره کروموزوم Y. پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران. 100 ص.

ضیایی، ه. 1388. راهنمای صحرایی پستانداران ایران. انتشارات کانون آشنایی با حیات وحش، 420ص

- Gottelli, D.; Sillerozubiri, Cl.; Applebaum, G. D.; Roy, M. S.; Girman, D. J.; Garcia- Moreno, J.; Ostrander, E. A. & Wayne, R. K. 1994. Molecular genetics of the most endangered canid the Ethiopian wolf *Canis simensis*. *Molecular ecology*, 3. 301 – 312.
- Hemmer, H. 1990. Domestication: the decline of environmental appreciation, pp. 270. Cambridge University Press.
- Kennedy, P. K.; Kennedy, M. L.; Clarkson, P. L. & Liepins, I. S. 1991. Genetic variability in natural populations of the gray wolf (*Canis lupus*). *Canadian Journal of Zoology*, 69. 1183 - 1188.
- Lucchini, V.; Galov, A. & Randi, E. 2004. Evidence of genetic distinction and long-term population decline in wolves (*Canis lupus*) in the Italian. *Molecular ecology*, 13. 523–536.
- Nowak, R. M. 1983. A perspective on the taxonomy of wolves in North America. In: *Wolves in Canada and Alaska*. Canadian Wildlife Service, 45. pp. 10–19.
- Nowak, R. M.; Carbyn, L. N.; Fritts, S. H. & Seip, D. R. 1995. Another look at wolf taxonomy. In *Ecology and Conservation of Wolves in a Changing World: Proceedings of the Second North American Symposium on Wolves*. Edmonton: Canadian Circumpolar Institute, University of Alberta, pp. 375 – 397.
- Nowak, R. M. 2002. The original status of wolves in eastern North America. *Southeastern Naturalist*, 1. 95 – 130.
- Mech, L. D. & Boitani, L. 2003. Wolf evolution and taxonomy. In *Wolves, Behavior, Ecology, and Conservation*, pp. 239 – 258. Chicago: University of Chicago Press.
- Randi, E.; Lucchini, V.; Christensen, M. F.; Mucci, N.; Funk, S. M.; Dolf, G. & Loeschcke, V. 2000. *Conservation biology*, 14. 2. pp. 404-47.
- Randi, E.; Lucchini, V. & Francisci, F. 1993. Allozyme variability in the Italian wolf (*Canis lupus*) population. *Heredity*, 71. 516-522.
- Tsuda, K.; Kikkawa, Y.; Yonekawa, H. & Tanabe, Y. 1997. Extensive interbreeding occurred among multiple maternal Chial ancestors during domestication of dogs: Evidence from inter and intraspecies polymorphism in the D-loop region mitochondrial DNA between dogs and wolves. *Genes & Genetic Systems*, 72. Pp. 229-238.
- Verardi, A.; Lucchini, C. & Randi, E. 2006. Detecting introgressive hybridization between free-ranging domestic dogs and wild wolves (*Canis lupus*) by admixture linkage disequilibrium analysis. *Molecular Ecology*, 15. 2845–2855.
- Vila, C. & Wayne, R. 1998. Hybridization between wolves and dog. *Conservation Biology*, 13. No. 1. pp. 195-198.
- Vila, C. & Wayne, R. K. 1999. Hybridization between wolves and dogs. *Conservation Biology*, 13. 195–198.
- Vila, C.; Amorim, I. R.; Leonard, J. A.; Posada, D.; Castrovie, J.; Petrucci, F.; Crandall, K. A.; Ellegren, H. & Wayne, R. K. 1999. Mitochondrial DNA phylogeography and population history of the grey wolf *Canis lupus*. *Molecular Ecology*, 8. 2089–2103.
- Vila, C.; Walker, C.; Sundqvist, A. K.; Flagstad, Q.; Andersone, Z.; Casulli, A.; Kojola, I.; Valdmam, H.; Halverson, J. & Ellegren, H. 2003. Combined use of maternal, paternal and bi-parental genetic markers for the identification of wolf–dog hybrids. *Heredity*, 90. 17–24.