Gene Exchange in Hybridization Regions between House Mouse Complex Subspecies (*M. m. castaneus and M. m. domesticus*) using Mitochondrial Genome of D-loop Region (mtDNA)

Hassan Rajabi Maham [1*], Farid Faizi-Baghel Abad [2]

[1] Assistant Professor, Department of Animal Sciences and Biotechnology, Faculty of Life Sciences and Biotechnology, Shahid-Beheshti University, Tehran, Iran
[2] M.S. Student of Animal Sciences and Biotechnology, Faculty of Life Sciences and Biotechnology, Shahid-Beheshti University, Tehran, Iran

Abstract
Genomic aspects of animal's hybrid zone are studding in the recent decade. Introgression of gene in the evolution process is a very challenging issue among scientists. Gene flow reduction is probably a consequence of the speciation genes involvement. In this study, the influence of different geographical factors on gene introgression in hybrid index (genomic cline) was analyzed. We investigated 127 D-Loop sequences containing 140 independent loci for analysis: 82 sequences from *M. m. castaneus* and 45 sequences from *M. m. domesticus*. Results of the Introgress and Barrier programs showed gene invasion of *M. m. domesticus* subspecies in genomic background of *M. m. castaneus* subspecies. So, *M. m. domesticus* subspecies acts as an invasive subspecies and *M. m. castaneus* as a genome receptor. Also, our results showed that environmental elements such as mounts, lakes and salt marsh play the role of the barrier between the two subspecies in the studied regions. The results of the genomic cline represent the asymmetric genomic influence.

Keywords: *M. m. domesticus, M. m. castaneus,* Hybridization Index, Genomic Cline, D-Loop.

* hrmaham@gmail.com

تاکسونومی و بیوسیستماتیک، سال دهم، شماره سی و پنجم، تابستان ۱۳۹۷، صفحه ۴۳- ۵۶
دریافت مقاله: ۱۳۹۶/۰۸/۱۴ پذیرش نهایی: ۱۳۹۷/۱۱/۸

مراودهٔ ژنی در نواحی هیبریداسیون بین زیرگونه‌های موش خانگی (*M. m. castaneus* و *M. m. domesticus*) با استفاده از ژنوم ناحیهٔ D-loop میتوکندری

حسن رجبی مهام [۱*]، فرید فیضی باقل‌آباد [۲]

[۱] استادیار گروه علوم و زیست فناوری جانوری ، دانشکده علوم و فناوری زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران
[۲] دانشجوی کارشناسی ارشد بیوسیستماتیک جانوری، دانشکده علوم و فناوری زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

چکیده

مطالعه دربارهٔ مناطق هیبرید جانوری ازنظر ژنومی طی دههٔ اخیر درحال انجام است. بحث دربارهٔ نفوذ (Introgression) ژنوم در فرایند تکامل بین دانشمندان چالش‌برانگیز است؛ هرچند کاهش‌یافتن ورود ژن در مناطق مختلف نشان‌دهندهٔ درگیربودن ژن‌های گونه‌زایی است. در بررسی حاضر، عوامل جغرافیایی دخالت‌کننده در نفوذ ژن با شاخص هیبریداسیون (کلاین ژنومی) مقایسه شدند. در مطالعهٔ حاضر، ۱۲۷ توالی بررسی شدند که ۸۲ توالی به *M. m. castaneus* و ۴۵ توالی به *M. m. domesticus* مربوط بودند. ۱۴۰ لوکوس از این توالی‌ها استخراج و در تجزیه‌وتحلیل‌ها وارد شدند. بررسی نتایج با نرم‌افزارهای Introgression و Barrier نشان داد ژنوم زیرگونهٔ *M. m. domesticus* به‌تدریج درحال نفوذ به درون زیرگونهٔ *M. m. castaneus* است و زیرگونهٔ *M. m. domesticus* زیرگونهٔ مهاجم و زیرگونهٔ *M. m. castaneus* زیرگونهٔ پذیرنده شناخته شد؛ همچنین عوامل طبیعی ازجمله کوه‌ها، دریاچه‌ها و نمکزارهایی شناسایی شدند که نقش مانع ژنتیکی را برای این دو زیرگونه در ایران بازی می‌کنند. نتایج کلاین ژنومی نفوذ نامتقارن ژنتیکی را نشان دادند.

واژه‌های کلیدی: *M. m. domesticus*، *M. m. castaneus*، شاخص هیبریداسیون، کلاین ژنومی، ناحیهٔ D-loop.

مقدمه

موش خانگی در سراسر قاره‌ها، از بیابان‌ها تا جزایر استوایی و از سطح دریا تا ارتفاع بیش از ۳۰۰ متر، با وابستگی نزدیک به انسان و به‌شکل همزیست گسترش یافته است. دو ویژگی اصلی، موش خانگی را مدلی منحصربه‌فرد برای مطالعه‌های بر پایهٔ ژنتیک معرفی کرده‌اند: نخست اینکه تاریخ تکاملی و روابط فیلوژنی آن به‌طور کامل شناخته شده است (Boursot *et al*., 1993; Guenet and Bonhomme, 2003)؛ دوم اینکه توالی ژنتیکی و منابع ژنومیک آن از سال ۲۰۰۲ به‌طور کامل در دسترسند (Macholán *et al*., 2011). موش خانگی به جنس *Mus* تعلق دارد و در شبه‌قارهٔ هند تکامل یافته و با گسترش در جهت‌های مختلف، سه گروه کاملاً مجزا و شناخته‌شده را ایجاد کرده است (Boursot *et al*., 1993; Bonhomme *et al*., 2011; Siahsarvie *et al*., 2012). بر اساس نظریهٔ مدل متوالی

* hrmaham@gmail.com

یا خطی که بر مبنای لاین‌های mtDNA است، آسیای میانه منشأ موش است. Prager و همکاران در سال ۱۹۹۸ غرب آسیای میانه را مکانی برای منشأ جد *M. m. domesticus* پیشنهاد کردند که سپس با گسترش به‌سمت جنوب شبه‌جزیرهٔ عربستان و حرکت به‌سمت جنوب آسیای میانه، جد *M. m. castaneus* و با حرکت به‌سمت شمال آسیای میانه، جد *M. m. musculus* ایجاد شده است. به‌تازگی ایران منشأ گونهٔ کمپلکس موش خانگی پیشنهاد شده است (Rajabi-Maham *et al*., 2012). نخستین‌بار، Schwarz در سال ۱۹۴۳ زیرگونهٔ *M. m. domesticus* را نام‌گذاری کرد؛ این زیرگونه منبع اصلی خزانهٔ ژنی سویه‌های موش‌های آزمایشگاهی است و در ایران بیشتر در مناطق غربی، شمال‌غربی و جنوب‌غربی پراکنش دارد. Water house برای نخستین‌بار در سال ۱۸۴۳ زیرگونهٔ *M. m. castaneus* را نام‌گذاری کرد که در سرتاسر جنوب‌شرقی آسیا، بین شمال شبه‌قارهٔ هند و مناطقی بین ایران و افغانستان و بخش‌های جنوبی ایران از خوزستان به‌سمت بوشهر و به‌سمت افغانستان وجود دارد. اعتقاد بر اینست جدایی تولیدمثلی ممکن است به‌علت ناسازگاری ژنتیکی یا عوامل زیست‌محیطی بیرونی باشد؛ بنابراین، درک درست اساس ژنتیکی و انزوا برای تجزیه‌وتحلیل فرایندهای تکاملی و عوامل محیطی لازم است (Nolte *et al*., 2009). تجزیه‌وتحلیل ژنتیک فردی و همچنین توزیع ژن‌ها در سراسر ژنوم به ما اجازه می‌دهد فرایندهای تکاملی ایجادشده را تعیین کنیم (Coyne and Orr, 2004; Dieckmann and Doebeli, 2004). درحال‌حاضر، داده‌های تجربی‌ای وجود ندارند که نشان دهند چگونه موانع در تولیدمثل ظاهر می‌شوند و در سیستم‌های طبیعی گسترش می‌یابند (Gompert and Buerkle, 2009). مطالعه‌های پیشین از نظریهٔ کلاین جغرافیایی بهره برده‌اند که رابطهٔ بین مختصات جغرافیایی و تنوع ژنتیکی را برای یافتن جدایی‌های تولیدمثلی استفاده می‌کند. در مطالعهٔ کلاین ژنومی که کلاین‌ها با فرکانس ژنوتیپ در لوکوس‌های هر فرد متناسبند، یک تابع به دست می‌آید؛ سپس این کلاین‌ها با الگوی ژنومی مقایسه می‌شوند و این مقایسه، میزان نفوذ ژن (Introgress) را برای ژنوتیپ‌های خاص در لوکوس فرد نشان می‌دهد (Lexer *et al*., 2007; Gompert and Buerkle, 2009). با مقایسهٔ الگوی نفوذ بین دو منطقهٔ هیبرید می‌توان تعیین کرد آیا تغییرات ژنومی فرد با فشار انتخاب طبیعی برابر است یا خیر؛ تفاوت الگوهای نفوذ بین مناطق هیبرید نشان‌دهندهٔ تنوع ژنتیکی ژن‌های شرکت‌کننده در جدایی تولیدمثلی است (Nolte *et al*., 2009). مقدار نفوذ برای لوکوس‌های ژنی افراد نسبت به زمینهٔ (ریشه) ژنومی با استفاده از کلاین ژنومی تعیین می‌شود (Gompert and Buerkle, 2009). اطلاعات در زمینهٔ معماری ژنتیک جدایی تولیدمثلی اجازه می‌دهد نقاطی را تشخیص دهیم که بیشترین احتمال گونه‌زایی وجود دارد و استنباط کنیم روند تغییرات ژنتیکی به‌طور همراه (توأم) تغییر می‌کند و یا حتی گونه‌زایی را تسهیل می‌کند (Bradshaw Jr *et al*., 1995; Coyne and Orr, 2004; Martin *et al*., 2008; Minder and Widmer, 2008). قدرت هیبریداسیون و نفوذ سازشی پدیده‌های مهم تکاملی‌اند (Lenski *et al*., 1991; Burch and Chao, 1999). الگوهای مختلف نفوذ نشان می‌دهند مرزهای گونه‌ها نیمه‌تراوا (Semi-permeable) هستند. مجموعه‌ای از لوکوس‌ها در موانع تولیدمثلی نشان می‌دهد برای حفظ کامل گونه‌ها باید جریان ژنی

کاهش یابد. آلل‌های موجود در جایگاه‌هایی که برای هر دو زمینهٔ ژنومی مناسبند به‌راحتی مبادله می‌شوند؛ اما آلل‌هایی که در موانع بین گونه‌ها یا سازگاری محلی شرکت دارند در زمینهٔ ژنومی به‌سختی تبادل می‌شوند (Barton and Hewitt, 1985; Gompert and Buerkle, 2009; Gompert and Buerkle, 2010). Malécot در سال ۱۹۴۸ یکی از نخستین مطالعه‌ها در زمینهٔ تفاوت‌های ژنتیکی در پرتوی فاصلهٔ جغرافیایی را منتشر کرد. همبستگی مکانی یکی از روش‌های تجزیه‌وتحلیل جغرافیایی و راهیست برای ارزیابی اینکه آیا فاصلهٔ ژنتیکی و جغرافیایی با یکدیگر ارتباط دارند یا خیر و آیا چنین ارتباطی دارای الگوی فضاییست یا خیر.

در بررسی حاضر، به‌منظور تجزیه‌وتحلیل نفوذ ژن در مناطق هیبرید بین دو دودمان موش خانگی با تفاوت‌های ژنتیکی و موانع تولیدمثلی در ایران به مطالعهٔ دو زیرگونه از *Mus* (*M. m. domesticus* و *M. m. castaneus*) پرداخته شد تا میزان نفوذ (Introgression) و موانع (Barriers) موجود میان آنها بررسی شود؛ برای این هدف، از داده‌های بخش غیرکدکنندهٔ ناحیهٔ D-Loop ژنوم میتوکندری استفاده شد که طی سال‌های گذشته در نمونه‌های نواحی داغ هیبریداسیون تعیین‌توالی‌شده است.

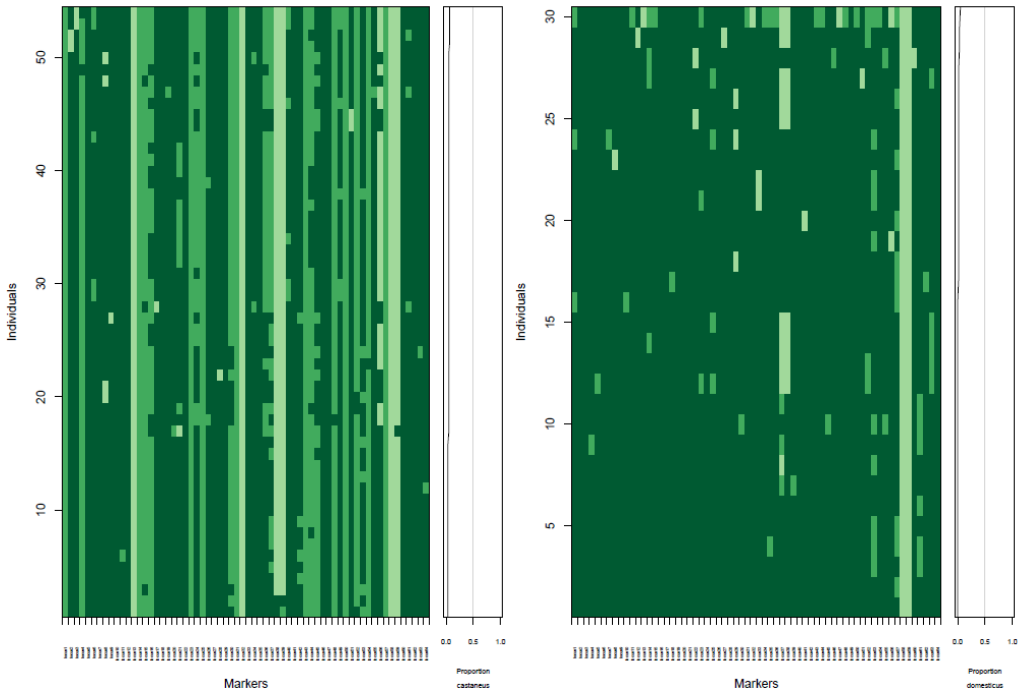
مواد و روش‌ها

در مطالعهٔ حاضر از ۱۲۷ توالی استفاده شد که ۸۲ عدد از آنها به زیرگونهٔ *M. m. castaneus* و ۴۵ عدد از توالی‌ها به *M. m. domesticus* تعلق داشتند. ۱۴۰ جایگاه (لوکوس) در این توالی‌ها بررسی شدند. ابتدا برای بررسی Introgression دو زیرگونه، توالی‌ها با نرم‌افزار MEGA.5 هم‌ردیف‌سازی شدند (Tamura *et al*., 2011)؛ سپس سایت‌های Invariable حذف و تنها با استفاده از سایت‌های Variable و Gapها بهترین مدل تکاملی تعیین شد. تعریف جمعیت برای داده‌های مدنظر با نرم‌افزار DnaSP (Librado and Rozas, 2009) انجام شد. نرم‌افزار Arlequin (Huson and Bryant, 2006) به‌منظور انجام آنالیز مولکولی واریانس (AMOVA) برای داده‌ها استفاده شد. پس‌از تعیین هاپلوتیپ‌ها و فرکانس تغییر لوکوس‌ها، مقدار تغییر هریک از لوکوس‌ها تعیین شد؛ تنها سایت‌های Variable استفاده شدند و هریک از لوکوس‌های مدنظر با یک کاراکتر ساده کدگذاری و مقدار تغییرات محاسبه شد. ازآنجاکه تعداد لوکوس‌های بدون کد زیاد بود، حدود ۷۶ لوکوس که باعث ایجاد شکافی سراسری می‌شدند به‌منظور تجزیه‌وتحلیل دقیق‌تر حذف و تنها ۶۴ لوکوس متغیر باقیمانده بررسی شدند؛ سپس این داده‌ها با نرم‌افزارهای R و Introgress تحلیل شدند. دستورعمل پیوست ۱ برای واردکردن داده‌ها و تعریف آنها در نرم‌افزار Introgress استفاده شد. مقدار نفوذ برای هریک از زیرگونه‌ها به‌طور جداگانه محاسبه شد و مقدار نفوذ دوطرفه بین دو گونه به دست آمد. شکل نفوذ و کلاین‌های هریک از لوکوس‌های مطالعه‌شده با برنامهٔ Introgress به دست‌آمد. توالی‌های یادشده برای تعیین Barrier بین دو زیرگونه استفاده شدند. مختصات جغرافیایی هریک از توالی‌ها تعیین شد و پس‌از هم‌ردیف‌سازی توالی‌ها، ابتدا بهترین مدل تکاملی تعیین و با نرم‌افزار DnaSP نسبت به تعریف جمعیت‌ها اقدام شد. پس‌از به‌دست‌آوردن ماتریکس فاصله برای داده‌ها بر اساس تفاوت ژنتیکی و استخراج آن به‌شکل فایل مستقل، کار با نرم‌افزار Barrier آغاز شد. ابتدا Barrierهای موجود میان افراد هریک از زیرگونه‌ها

به‌طور جداگانه با نرم‌افزار Barrier و سپس Barrier دو زیرگونه با یکدیگر مشخص شد (Manni *et al*., 2004).

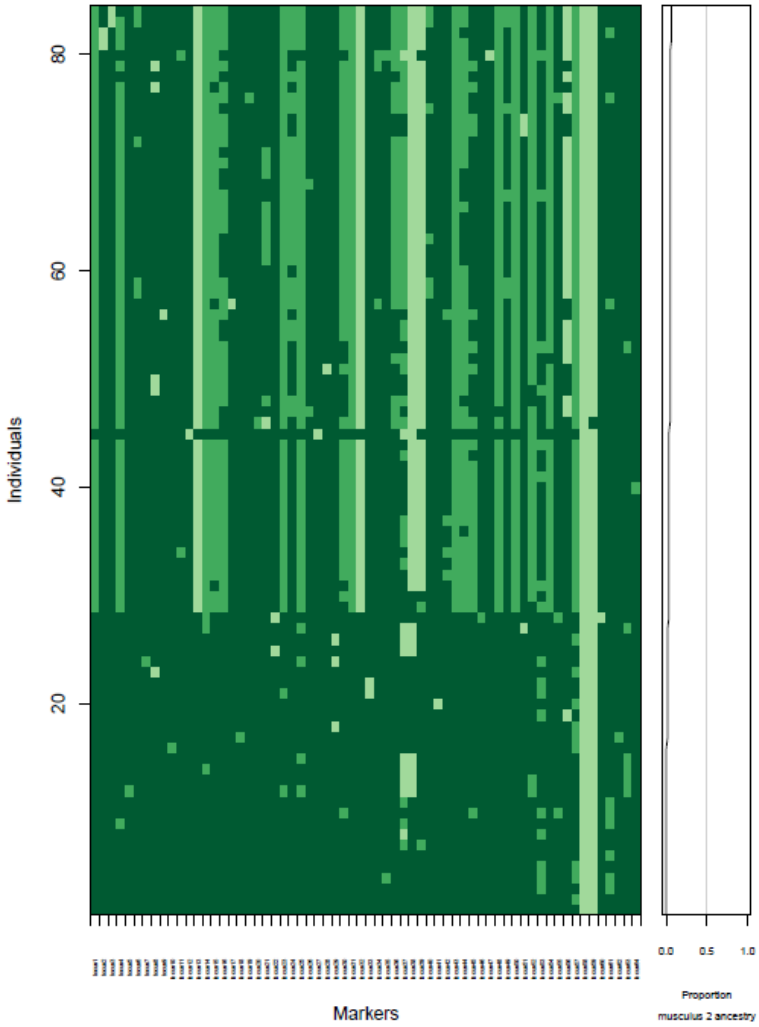
نتایج

تعداد هاپلوتیپ‌ها برای *M. m. castaneus* ۵۴ عدد و برای *M. m. domesticus* ۳۰ عدد به دست‌آمد. تصویر به‌دست‌آمده (شکل ۱) در بررسی با نرم‌افزار Introgress به‌روشنی شیوهٔ نفوذ این دو زیرگونه را باهم و به‌طور جداگانه نشان می‌دهد. بررسی‌ها نشان دادند میزان نفوذ به درون زیرگونهٔ *M. m. domesticus* بیشتر و به درون زیرگونهٔ *M. m. castaneus* کمتر است؛ درحقیقت، زیرگونهٔ *M. m. castaneus* نفوذ ژن زیرگونهٔ دیگر در افراد خود را به‌میزان بیشتری نشان می‌دهد.



شکل ۱- سمت چپ. میزان نفوذ ژن در دو زیرگونهٔ بررسی‌شده در مطالعهٔ حاضر؛ رنگ سبز تیره نشان‌دهندهٔ ژنوتیپ‌های هموزیگوت در *M. m. domesticus* و رنگ سبز روشن نشان‌دهندهٔ ژنوتیپ‌های هتروزیگوت در *M. m. domesticus* است، سمت راست. رنگ سبز تیره نشان‌دهندهٔ ژنوتیپ‌های هموزیگوت در *M. m. castaneus* و رنگ سبز روشن نشان‌دهندهٔ ژنوتیپ‌های هتروزیگوت در *M. m. castaneus* است. بلوک‌های سفید میانی نشان‌دهندهٔ Missing data هستند. زیرگونهٔ *M. m. castaneus* میزان نفوذ ژن بیشتری را نسبت به زیرگونهٔ دیگر از خود نشان می‌دهد.

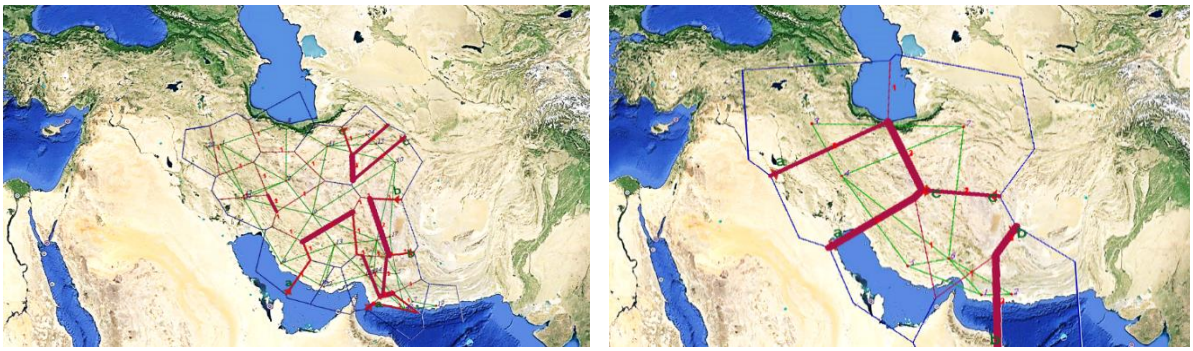
بررسی میزان نفوذ در هر دو زیرگونه باهم نشان داد ژن‌های این دو زیرگونه نفوذ نسبتاً کمی در یکدیگر دارند (شکل ۲)؛ در شکل ۲، نمودار سمت راست نشان می‌دهد ابتدا خط نفوذ اندک است، اما رفته‌رفته این نفوذ به‌طور شیب‌دار و آهسته افزایش می‌یابد و انتهای خط نفوذ، بیشترین میزان نفوذ را برای این دو زیرگونه نشان می‌دهد. کلاین‌ها نیز میزان نفوذ را در هرکدام از لوکوس‌ها نشان می‌دهند (پیوست آنلاین ۲). در کلاین‌ها نیز ۶۴ لوکوس به‌طور جداگانه بررسی شدند. ازآنجاکه هردو زیرگونه در ایران ناحیهٔ هیبرید دارند، این میزان نفوذ در محل تلاقی آنهاست.



شکل ۲- مقایسهٔ میزان نفوذ در هر دو زیرگونه باهم؛ رنگ سبزتیره نشان‌دهندهٔ ژنوتیپ‌های هموزیگوت *M. m. castaneus* و *M. m. domesticus* (P1/P1) و سبز روشن نشان‌دهندهٔ ژنوتیپ‌های هتروزیگوت در *M. m. castaneus* و *M. m. domesticus* است (P1/P2). بلوک‌های سفید میانی Missing data را نشان می‌دهند.

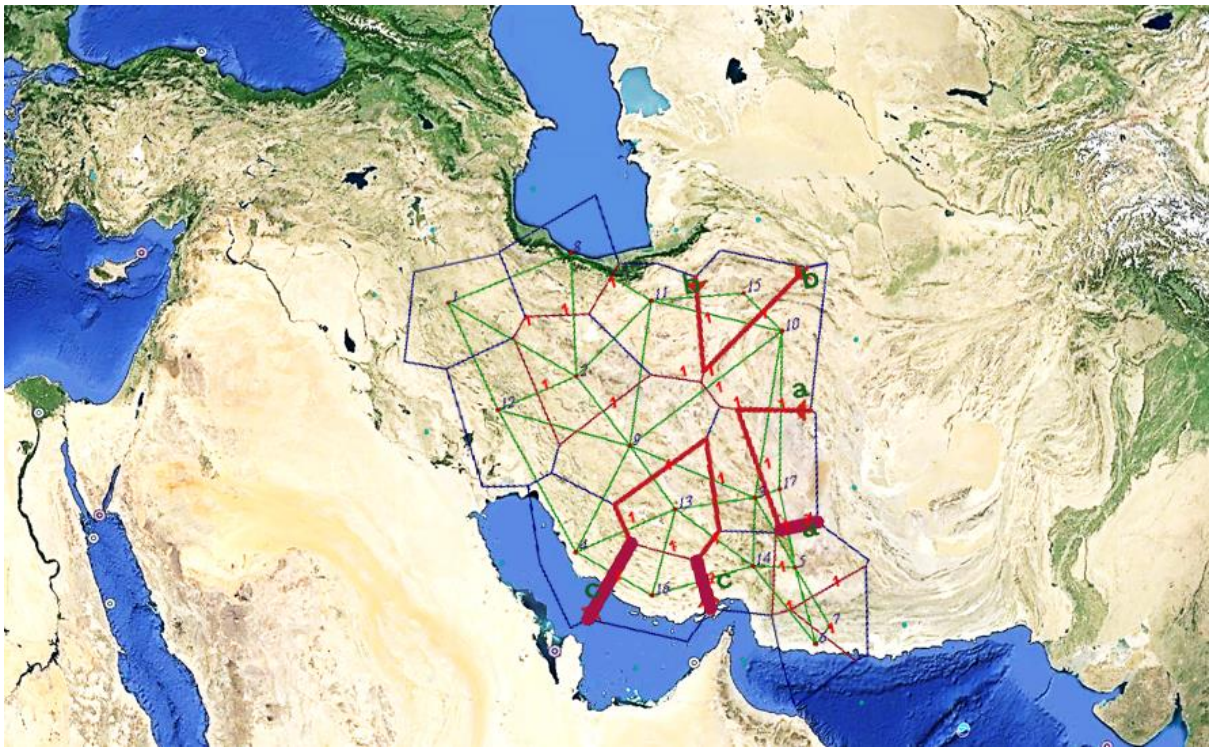
در بررسی Barrierهای بین دو زیرگونه، تصویرهای جالبی از Barrier موجود در درون هر زیرگونه به‌طور جداگانه و هر دو زیرگونه باهم به دست‌آمد.

شکل (۳)، سمت چپ Barrier موجود در درون زیرگونهٔ *M. m. domesticus* را نشان می‌دهد. خطوط ارغوانی‌رنگ Barrier را نشان می‌دهند و این خطوط ضخامت کم و زیاد دارند؛ قسمت‌هایی که ضخامت آنها کم است، Barrier ضعیف‌تر را نشان می‌دهند و بخش‌هایی که ضخامت خطوط زیاد است، نشان‌دهندهٔ Barrier قوی‌ترند. این زیرگونه سه Barrier (a، b و c) دارد؛ Barrier اول (a) نخستین و قوی‌ترین است و b و c در رتبه‌های بعد قرار دارند. این Barrierها می‌توانند شامل کوه‌ها، رشته‌کوه‌ها، رودها، کویرها و دیگر موانع طبیعی و یا مصنوعی ساخته‌شده به دست بشر باشند. شکل (۳)، سمت راست Barrier موجود در درون زیرگونهٔ *M. m. castaneus* را نشان می‌دهد که آن هم سه Barrier دارد که در بخش‌های شمال‌شرقی، شرق، جنوب‌شرقی و جنوب ایران قرار دارند.



شکل ۳- تصویر مربوط به Barrier موجود بین افراد زیرگونهٔ *M. m. domesticus* (سمت چپ) و زیرگونهٔ *M. m. castaneus* (سمت راست)؛ خطوط قرمز باریک نشان‌دهندهٔ محدودهٔ نمونه‌برداری و ارتباط توالی‌ها با یکدیگرند و خطوط ارغوانی پررنگ نشان‌دهندهٔ Barrier در آن مناطقند.

درنهایت، شکل (۴) نشان‌دهندهٔ Barrier موجود بین دو زیرگونهٔ *M. m. domesticus* و *M. m. castaneus* است. بررسی‌ها نشان می‌دهند سه Barrier بین این دو زیرگونه قرار دارند که مهم‌ترین آنها در قسمت جنوبی ایران قرار دارد. هر مانعی که باعث جدایی و مانع اختلاط این دو زیرگونه باهم شود جزو این Barrier است؛ اما نکتهٔ درخور اهمیت اینست که موانع بین این دو زیرگونه بیشتر در قسمت جنوبی به‌سمت قسمت شرقی قرار دارند.



شکل ۴- Barrierهای موجود بین دو زیرگونهٔ *M. m. domesticus* و *M. m. castaneus*؛ خطوط قرمز باریک نشان‌دهندهٔ محدودهٔ نمونه‌برداری و ارتباط توالی‌ها با یکدیگرند و خطوط قرمز پررنگ نشان‌دهندهٔ Barrier تازه‌تشکیل‌شده یا ضعیف و خطوط ارغوانی پررنگ نشان‌دهندهٔ Barrier قوی در آن مناطقند.

بحث

نتایج بررسی نفوذ ژن بین دو زیرگونهٔ یادشده نشان می‌دهند لاین میتوکندریایی زیرگونهٔ *M. m. domesticus* کم‌کم درحال نفوذ به درون قلمروی زیرگونهٔ *M. m. castaneus* است و کلاین ژنومی تک‌تک لوکوس‌ها مقدار این نفوذ را مشخص می‌کند؛ این نتایج، یافته‌های مطالعه‌های Gompert و Buerkle در سال ۲۰۰۹ در ناحیهٔ هیبرید اروپا را تأیید می‌کنند. همان‌طورکه در شکل (۲) مشاهده می‌شود، شیب منحنی به‌طور تدریجی افزایش می‌یابد و این افزایش تدریجی با افزایش محل تلاقی و برخورد (منطقهٔ هیبرید) این دو باهم رابطهٔ مستقیم دارد. بر اساس نتایج بررسی‌های پیشین، با افزایش منطقهٔ هیبرید بین این دو زیرگونه، جریان ژنی بین آنها بیشتر می‌شود و ژن‌های آنها بیشتر در هم نفوذ می‌کنند؛ این نفوذ تدریجی در نمودار Introgression شکل (۲) مشهود است. ازآنجاکه زیرگونهٔ *M. m. domesticus* بیشتر در غرب، شمال‌غرب و جنوب‌غرب ایران و زیرگونهٔ *M. m. castaneus* بیشتر در مناطق جنوب و جنوب‌شرقی وجود دارند، این بررسی نشان می‌دهد میزان نفوذ ژن‌های *M. m. domesticus* در *M. m. castaneus* بیشتر از نفوذ *M. m. castaneus* در *M. m. domesticus* است؛ ازاین‌رو، زیرگونهٔ *M. m. domesticus* درحال گسترش به‌سمت جنوب‌شرق است.

پژوهش حاضر نشان می‌دهد زیرگونهٔ *M. m. domesticus* مهاجم ژنی و زیرگونهٔ *M. m. castaneus* پذیرندهٔ ژن است. مهاجم‌بودن زیرگونهٔ *M. m. domesticus* در شکل (۳) مشهود است؛ علاوه‌براین، ۶۴ لوکوس به‌طور جداگانه و هریک به‌طور یک کلاین ژنومی با R (Introgression) ترسیم و بررسی شدند؛ با بررسی هریک از این کلاین‌ها می‌توان پی برد کدام لوکوس بیشترین و کدام‌یک کمترین تغییر را دارد. در هر کلاین، رنگ سبز تیره نشان‌دهندهٔ هموزیگوت (P1/P1) و رنگ سبز روشن نشان‌دهندهٔ هتروزیگوت (P1/P2) و خطوط تیرهٔ منقطع و خط سیاه مستقیم نشان‌دهندهٔ برآورد کلاین‌ها بر اساس مشاهده‌های هتروزیگوت‌بودن و هموزیگوت‌بودن نمونه‌هاست. حلقه‌ها نشان‌دهندهٔ داده‌های هر ردیف با شمارش هر ژنوتیپ روی محور عمودی‌اند. در کلاین‌ها، اگر خطوط سیاه ممتد روی ناحیهٔ سبز کم‌رنگ از بالا به‌سمت پایین بیایند، وجود تغییرات را مشخص می‌کنند و حرکت این خطوط به‌سمت چپ و راست میزان این تغییرات و نفوذ را تعیین می‌کند؛ میزان تغییرات با تغییرات سایت‌ها در توالی‌ها کاملاً منطبق است و سایتی که بیشترین تغییر و جابه‌جایی را در هاپلوتیپ‌ها نشان دهد، در اینجا نیز بیشترین تغییر را دارد. در پیوست آنلاین ۲ تصویر این کلاین‌ها نمایش داده شده است.

در بررسی Barrier بین نمونه‌های زیرگونهٔ *M. m. domesticus* که سه Barrier (a، b و c) دارد، اولی (a) uشکل است و تعقر آن به‌سمت غرب کشور است. این Barrier از سمت بالا شامل بخش‌هایی از رشته‌کوه‌های زاگرس در سمت شمال‌غربی است که به‌طور ادامه‌دار به رشته‌کوه‌های البرز در قسمت شمالی کشور می‌پیوندند؛ البته این قسمتِ Barrier از قسمت‌های دیگر ضعیف‌تر است و در ادامه، از شمال کشور به‌سمت قسمت‌های مرکزی که شامل بخشی از کوه‌های زاگرس به‌سمت جنوبی‌تر و دشت ورامین و کویر سیاه‌کوه تا کوه کرکس (در قسمت کوه‌های

مرکزی) است قوی‌تر می‌شود. قسمت سوم این Barrier از کوه کرکس آغاز می‌شود، از قسمت جنوب‌غربی کوه‌های زاگرس (کوه دنا) می‌گذرد و به خلیج‌فارس، در قسمت جنوب‌غربی به‌سمت بندر ماهشهر ختم می‌شود؛ این قسمت از Barrier اول (a) قوی‌تر از قسمت اول آنست و شامل موانع جغرافیایی کوه‌ها و زمین‌های کوهستانی بلند و بخشی از کوه‌های زاگرس (زردکوه) است. Barrier دوم (b) در قسمت جنوب‌شرقی ایران، از کوه‌های تفتان آغاز می‌شود و شامل هامون‌صابری و هامون‌هیرمند است و بخشی از آن نیز شامل دشت لوت و از سمت جنوبی شامل جازموریان است و به دریای عمان ختم می‌شود. Barrier سوم (c) که ضعیف‌ترین است و هنوز به‌طور کامل شکل نگرفته است، در قسمت مرکزی کشور به‌سمت شرق قرار دارد و از قسمت شمالی کویر لوت آغاز و به نمکزار خواف در شرق کشور ختم می‌شود.

در بررسی Barrier بین نمونه‌های زیرگونهٔ *M. m. castaneus* که سه Barrier (a، b و c) دارد، اولی (a) در شرق قراردارد و u شکل است و تعقر آن به‌سمت شرق قرار دارد؛ این Barrier از دریاچهٔ هامون و رشته‌کوه‌های مکران در حوالی شهر زابل آغاز می‌شود (کوه‌های پلنگان) و سپس به کوه‌های تفتان و دشت لوت می‌رسد و درنهایت، به‌سمت شمال حرکت می‌کند و از طریق کوه‌های خراسان جنوبی (کوه‌های قائن شامل کوه کالات، سلیمان، شاه‌کوه) به نمکزار خواف ختم می‌شود. دومین Barrier (b) در سمت جنوب قرار دارد و از خلیج‌فارس آغاز می‌شود (مرز بوشهر و بندرعباس) و به انتهای رشته‌کوه زاگرس (کوه بل و کوه گره) می‌رسد و به‌سمت قسمت شمالی تا شیرکوه ادامه می‌یابد و از آنجا دوباره از کویر لوت و کوه هزار در کرمان به‌سمت جنوب می‌رسد و از طریق استان هرمزگان به تنگهٔ هرمز می‌پیوندد (Barrier در قسمتی که به خلیج فارس و تنگهٔ‌هرمز ختم می‌شود، قوی‌تر است). Barrier سوم (c) در شمال‌شرق قرار دارد و شامل قسمت انتهایی رشته‌کوه‌های البرز در خراسان شمالی و رود اترک از یک سو و واحد کوهستانی جام از سوی دیگر است و بخشی از آن نیز شامل کویر مرکزی ایران است.

در بررسی Barrier هر دو زیرگونهٔ *M. m. domesticus* و *M. m. castaneus* باهم، سه Barrier شاخص وجود دارد. Barrier اول (a) و دوم (b) از خلیج‌فارس آغاز می‌شوند و به رشته‌کوه‌های زاگرس جنوبی می‌پیوندند و از سمت کویر سیرجان به‌سمت دشت لوت ادامه می‌یابند؛ سپس از طریق کویر لوت به‌سمت جنوب می‌روند و از طریق هلیل‌رود به جازموریان و از آنجا به‌طور مورب به‌سمت کوه بزمان و رود هیره می‌روند و درنهایت، به سواحل دریای عمان می‌رسند؛ سپس از طریق کوه‌های تفتان به رشته‌کوه‌های مکران می‌رسند و از طریق دشت لوت به کوه‌های خراسان جنوبی (کوه‌های قائن) و نمکزار خواف ختم می‌شوند. Barrier سوم (c) در شمال‌شرق قرار دارد و از قسمت انتهایی رشته‌کوه‌های البرز در خراسان شمالی و رود اترک و سپس ارتفاعات بینالود به‌سمت دشت کویر می‌رود و از آنجا به واحد کوهستانی جام می‌رسد. در قسمت‌های غربی کشور نیز Barrier کوچکی بین این دو زیرگونه وجود دارد که میان رشته‌کوه‌های زاگرس قرار دارد و شامل ارتفاعات زردکوه است. باتوجه‌به بررسی موانع بین این دو زیرگونه، در قسمت ابتدایی Barrier اول (a) که از خلیج فارس آغاز می‌شود تا به رشته‌کوه‌های جنوبی زاگرس برسد و

همچنین در قسمت انتهایی همین Barrier نمی‌توان مانع جغرافیایی قوی و یا مانع انسانی مصنوعی یافت و ازآنجاکه این Barrier قوی است، به احتمال بسیار زیاد این عوامل به فاکتورهای ذاتی و درونی موجود مربوط می‌شوند؛ به عبارتی پیشنهاد می‌شود سدهای تولیدمثلی پس‌زیگوتی در این محل‌ها بین دو زیرگونهٔ *M. m. domesticus* و *M. m. castaneus* وجود دارند. بر اساس نتایج پژوهش حاضر، کشور ایران که بر اساس نظریهٔ Prager و همکاران (۱۹۹۸) منشأ موش خانگی در نظر گرفته می‌شود، نقاط Introgression و Barrier بسیاری دارد. نقاط Introgression دقیقاً در مرز بین دو زیرگونه وجود دارند و تجزیه‌وتحلیل مولکولی زیرگونه‌های مهاجم و پذیرنده نشان می‌دهد چه ژن‌هایی نقش اصلی دارند. بر اساس نتایج پژوهش‌های Nolte و همکاران در سال ۲۰۰۹ که در آن عنوان شده جدایی تولید مثلی ممکن است به‌علت ناسازگاری ژنتیکی یا عوامل زیست‌محیطی بیرونی باشد، این نقاط و عوامل در پژوهش حاضر شناسایی شدند و مشخص شد ایران نقاط Barrier بسیاری دارد که بیشتر آنها عوامل طبیعی ازجمله کوه‌ها، رودخانه‌ها و دشت‌های نمکی‌اند؛ نام و محل جغرافیایی دقیق همهٔ آنها در پژوهش حاضر شناسایی شد. همچنین یک سد تولیدمثلی پس‌زیگوتی در منطقهٔ جنوبی ایران شناسایی شد و از آن با عنوان ناسازگاری ژنتیکی و Barrier داخلی یاد شد. شناخت این نقاط برای زیست‌شناسان ازجمله پژوهشگرانی که دربارهٔ گونه‌ها پژوهش می‌کنند اهمیت بسیاری دارد؛ زیرا بیشترین احتمال وقوع گونه‌زایی در نقاطیست که Barrier وجود دارد. بر اساس این بررسی‌ها، فاصلهٔ جغرافیایی و فاصلهٔ ژنتیکی باهم ارتباط دارند و این ارتباط الگوی فضایی خاصی دارد که مطالعه‌های Nolte و همکاران در سال ۲۰۰۹ را تأیید می‌کند. اطلاعات در زمینهٔ معماری ژنتیک جدایی تولیدمثلی اجازه می‌دهد نقاطی تشخیص داده شوند که بیشترین احتمال گونه‌زایی را دارند و استنباط شود توالی و کلاس تغییرات ژنتیکی به‌طور همراه (توأم) تغییر و یا حتی گونه‌زایی را تسهیل می‌کنند (Bradshaw Jr *et al*., 1995; Coyne and Orr, 2004; Martin *et al*., 2008; Minder and Widmer, 2008).

منابع

Barton, N. H. and Hewitt, G. (1985) Analysis of hybrid zones. Annual Review of Ecology and Systematics 113-148.

Bonhomme, F., Orth, A., Cucchi, T., Rajabi-Maham, H., Catalan, J., Boursot, P. and Britton-Davidian, J. (2011) Genetic differentiation of the house mouse around the Mediterranean basin: matrilineal footprints of early and late colonization. Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences 278(1708): 1034-1043.

Boursot, P., Auffray, J. C., Britton-Davidian, J. and Bonhomme, F. (1993) The evolution of house mice. Annual Review of Ecology and Systematics 24: 119-152.

Bradshaw Jr, H., WIlbert, M. and Otto, K. (1995) Genetic mapping of floral traits associated with reproductive isolation in. Nature 376: 1-3.

Burch, C. L. and Chao, L. (1999) Evolution by small steps and rugged landscapes in the RNA virus ϕ6. Genetics 151(3): 921-927.

Coyne, J. A. and Orr, H. A. (2004) Speciation. Sinauer Associates, Inc., Sunderland.

Dieckmann, U. and Doebeli, M. (2004) Adaptive dynamics of speciation: sexual populations. Adaptive Speciation: 76-111.

Gompert, Z., and Buerkle, C. (2010) INTROGRESS: a software package for mapping components of isolation in hybrids. Molecular Ecology Resources 10(2): 378-384.

Gompert, Z. and Buerkle, C. (2009) A powerful regression based method for admixture mapping of isolation across the genome of hybrids. Molecular Ecology 18(6): 1207-1224.

Guenet, J. L. and Bonhomme, F. (2003) Wild mice: an ever-increasing contribution to a popular mammalian model. Trends Genetics 19(1): 24-31.

Huson, D. H. and Bryant, D. (2006) Application of phylogenetic networks in evolutionary studies. Molecular Biology and Evolution 23(2): 254-267.

Lenski, R. E., Rose, M. R., Simpson, S. C. and Tadler, S. C. (1991) Long-term experimental evolution in Escherichia coli. I. Adaptation and divergence during 2,000 generations. American Naturalist 131: 1341-1345.

Lexer, C., Buerkle, C., Joseph, J., Heinze, B. and Fay, M. (2007) Admixture in European Populus hybrid zones makes feasible the mapping of loci that contribute to reproductive isolation and trait differences. Heredity 98(2): 74-84.

Librado, P. and Rozas, J. (2009) DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. Bioinformatics 25(11): 1451-1452.

Macholán, M., Baird, S. J., Dufková, P., Munclinger, P., Bímová, B. V. and Piálek, J. (2011) Assessing multilocus introgression patterns: a case study on the mouse X chromosome in central Europe. Evolution 65(5): 1428-1446.

Malécot, G. and Blaringhem, L. (1948) Les mathématiques de l'hérédité. Masson & Cie, Paris.Manni, F., Guerard, E. and Heyer, E. (2004) Geographic patterns of (genetic, morphologic, linguistic) variation: how barriers can be detected by using Monmonier's algorithm. Human Biology 76(2): 173-190.

Martin, N. H., Sapir, Y. and Arnold, M. L. (2008) The genetic architecture of reproductive isolation in Louisiana irises: pollination syndromes and pollinator preferences. Evolution 62(4): 740-752.

Minder, A. and Widmer, A. (2008) A population genomic analysis of species boundaries: neutral processes, adaptive divergence and introgression between two hybridizing plant species. Molecular Ecology 17(6): 1552-1563.

Nolte, A., Gompert, Z. and Buerkle, C. (2009) Variable patterns of introgression in two sculpin hybrid zones suggest that genomic isolation differs among populations. Molecular Ecology 18(12): 2615-2627.

Prager, E. M., Orrego, C. and Sage, R. D. (1998) Genetic variation and phylogeography of central Asian and other house mice, including a major new mitochondrial lineage in Yemen. Genetics 150: 835-861.

Rajabi-Maham, H., Orth, A., Siahsarvie, R., Boursot, P., Darvish, J. and Bonhomme, F. (2012) The south-eastern house mouse Mus musculus castaneus (Rodentia: Muridae) is a polytypic subspecies. Biological Journal of the Linnean Society 107(2): 295-306.

Siahsarvie, R., Auffray, J. C., Darvish, J., Rajabi Maham, H., Yu, H. T., Agret, S. and Claude, J. (2012) Patterns of morphological evolution in the mandible of the house mouse Mus musculus (Rodentia: Muridae). Biological Journal of the Linnean Society 105(3): 635-647.

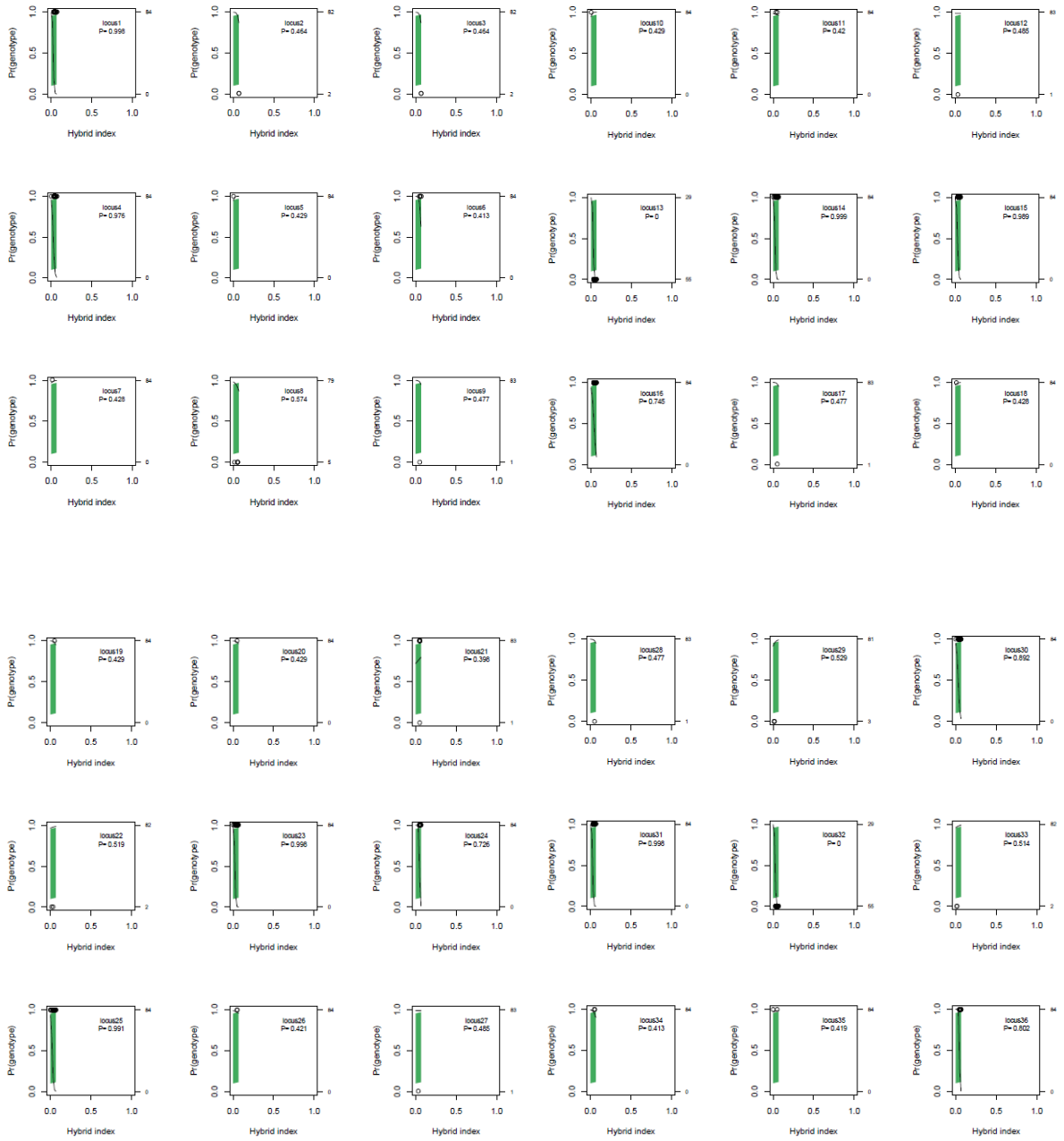
Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M. and Kumar, S. (2011) MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. Molecular Biology and Evolution 28(10): 2731-2739.

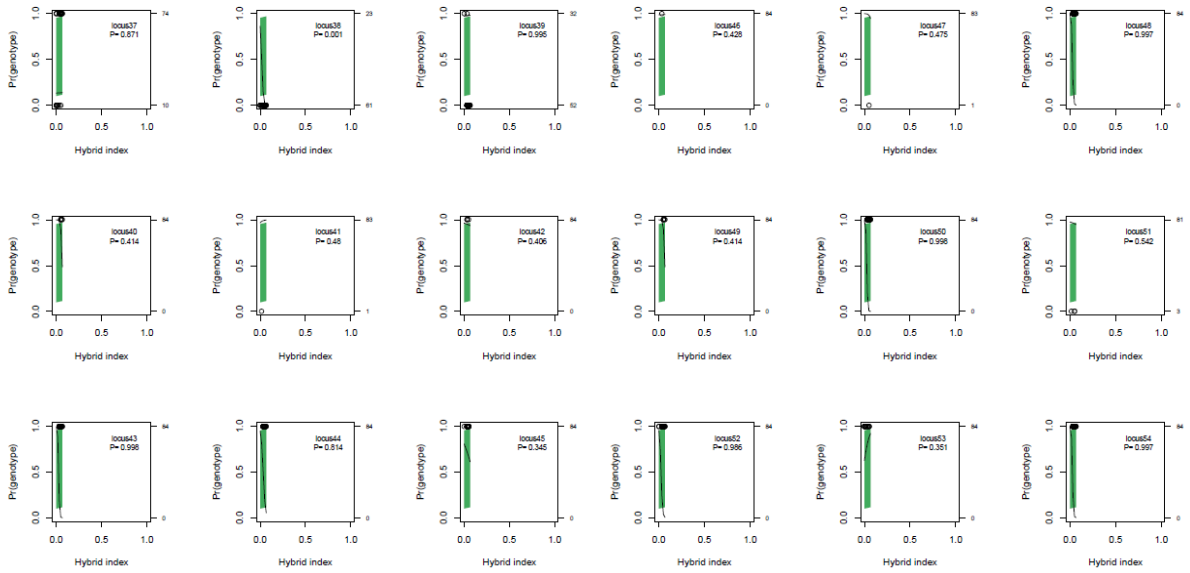
پیوست‌های آنلاین:

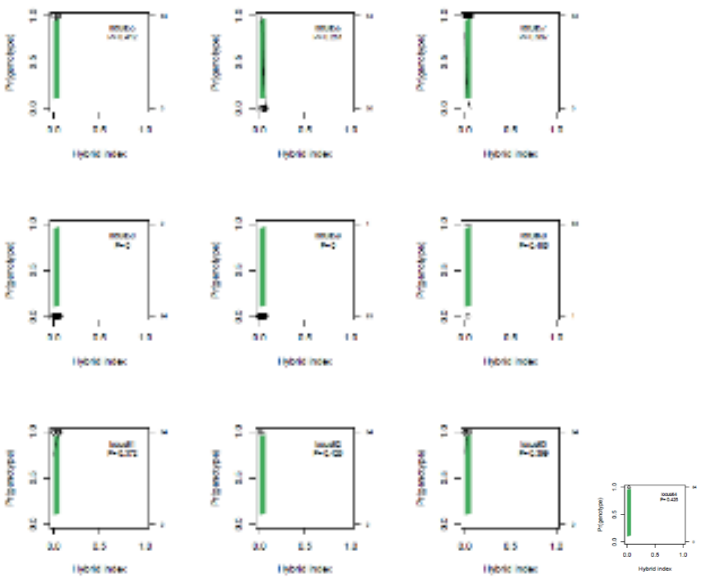
پیوست ۱: کدهای برنامه‌نویسی R برای راه‌اندازی Introgress

```
## We assume that introgress and additional packages have been installed from CRAN
## load the introgress library
Library (introgress)
## set the working directory in R to an existing directory where you will work
## and where the downloaded data files have been saved
## On Mac OS and other UNIX systems:
## setwd ("~/Documents/introgress/")
## On Windows ... replace your_username with appropriate name:
## setwd ("C:/Documents and Settings/your_username/Documents/introgress")
## read in data for individuals from admixed population
gen.data.sim <- read.csv (file="AdmixDataSim2.txt", header=FALSE)
## read in marker information
loci.data.sim <- read.csv (file="LociDataSim2.txt", header=TRUE)
## read in parental data sets
p1.data <- read.csv (file="p1DataSim2.txt", header=FALSE)
p2.data <- read.csv (file="p2DataSim2.txt", header=FALSE)
## look at help page that describes the data set
help (AdmixDataSim2)
## code to convert genotype data into a matrix of allele counts,
## the results are saved to the list data object count.matrix
count.matrix <- prepare.data(admix.gen=gen.data.sim, loci.data=loci.data.sim,
                    parental1=p1.data, parental2=p2.data)
## estimate hybrid index values and save the results to the
## data.frame data object hi.index.sim1
hi.index.sim <- est.h(introgress.data=count.matrix, loci.data=loci.data.sim)
## make plot to visualize patterns of introgression
## this saves the plot to a pdf in the current directory for R
mk.image(introgress.data=count.matrix, loci.data=loci.data.sim,
      hi.index=hi.index.sim, ylab.image="Individuals",
      xlab.h="population 2 ancestry", pdf=FALSE)
## conduct the genomic clines analysis and save the results to a
## data object (list) called gen.out
## this usese the permutation procedure with 1000 permutations
gen.out <- genomic.clines(introgress.data=count.matrix,
      hi.index=hi.index.sim, loci.data=loci.data.sim,
      sig.test=TRUE, method="permutation", het.cor=TRUE)
## make plots to visualize the genomic clines
## this saves the plots to a pdf in the current directory for R
clines.plot (cline.data=gen.out, rplots=3, cplots=3, pdf=TRUE, out.file="clines.pdf")
```

پیوست ۲- کلاین‌های ژنومی ۶۴ لوکوس از ژنوم mtDNA ناحیهٔ D-loop. رنگ سبز تیره نشان‌دهندهٔ هموزیگوت (P1/P1) و رنگ سبز روشن نشان‌دهندهٔ هتروزیگوت (P1/P2) و خطوط تیرهٔ منقطع و خط سیاه مستقیم نشان‌دهندهٔ برآورد کلاین‌ها بر اساس مشاهده‌های هتروزیگوت و هموزیگوت نمونه‌هاست. حلقه‌ها نشان‌دهندهٔ داده‌های هر ردیف با شمارش هر ژنوتیپ روی محور عمودی است.




Pr(genotype)
Hybrid index
locus37 P= 0.871
locus38 P= 0.001
locus39 P= 0.995
locus46 P= 0.428
locus47 P= 0.475
locus48 P= 0.997
locus40 P= 0.414
locus41 P= 0.48
locus42 P= 0.406
locus49 P= 0.414
locus50 P= 0.998
locus51 P= 0.542
locus43 P= 0.998
locus44 P= 0.814
locus45 P= 0.345
locus52 P= 0.996
locus53 P= 0.351
locus54 P= 0.997


Pr(genotype)
Hybrid index