



## مروری بر شواهد ژنتیکی کاهش گسترده تنوع ژنی یوزپلنگ‌ها و لزوم حفاظت از جمعیت‌های باقی‌مانده

مریم محمودی اصل<sup>۱</sup>، فرهاد حسینی طایفه<sup>۱\*</sup>، باقر نظامی بلوچی<sup>۱</sup>

\*- گروه تنوع زیستی و ایمنی زیستی، پژوهشکده محیط زیست و توسعه پایدار، سازمان حفاظت محیط زیست، تهران، ایران

نوع مقاله:	چکیده
مروری	یوزپلنگ تنها گونه از جنس و زیرخانواده Acinonyx است که روند جمعیت جهانی کاهش را تجربه می‌کند. این گونه با تغییرات ژنتیکی پایین شناخته می‌شود که نتیجه تجربه دو گردنه بطری در حدود ۱۰۰۰۰ و ۱۲۰۰۰ سال پیش است. تمام جمعیت‌های زیرگونه یوز آسیایی در خاورمیانه و جنوب غربی آسیا منقرض شده و ایران آخرین پناهگاه یوز آسیایی در دنیاست. زیرگونه یوز آسیایی در فهرست سرخ اتحادیه بین‌المللی حفاظت در زمره گونه‌های در آستانه انقراض قرار دارد و به دلیل کاهش شدید تنوع ژنی ناشی از کاهش شدید جمعیت ناشی از تخریب زیستگاه، جدایی جغرافیایی و افزایش درون‌آمیزی تعداد اندکی از آن‌ها در طبیعت ایران باقی‌مانده است. در این پژوهش مروری، بر اعتبارسنجی کاهش تغییرات ژنی در سطوح مختلف نشانگرهای مولکولی آلوزیم‌ها، ریزماهورها، دی.ان.ای. میتوکندریایی و نرخ چندشکلی تک‌نوکلئوتیدی در کل ژنوم یوزپلنگ پرداخته شده است. بررسی‌های مبتنی بر چندشکلی قطعات طولی محدود شونده بیانگر کاهش شدید تنوع ژنی در بروز تغییرات تک‌نوکلئوتیدی، تراکم تغییرات تک‌نوکلئوتیدی، تغییرات تک‌نوکلئوتیدی ژن‌های کدکننده از جمله ژن‌های مجموعه سازگاری بافتی اصلی و دی.ان.ای. میتوکندریایی نسبت به سایر گونه‌ها است. کاهش چشمگیر در تغییرات کلی ژنتیکی توسط نشانگرهای ژنومی متعدد با افزایش مرگ و میر توله‌ها، ناهنجاری‌های شدید در رشد اسپرم، مشکلات مربوط به برنامه‌های تکثیر در اسارت و افزایش آسیب‌پذیری در برابر شیوع بیماری‌های عفونی ارتباط دارد. از آنجایی که علم ژنتیک حفاظت نقش اساسی در حفاظت و مدیریت گونه‌ها دارد، نتایج این پژوهش می‌تواند در حفاظت ژنتیکی، تولیدمثل در اسارت و مدیریت جمعیت‌های باقی‌مانده یوز آسیایی مورد استفاده قرار گیرد.
تاریخچه مقاله:	
دریافت: ۱۴۰۰/۰۶/۳۱	
پذیرش: ۱۴۰۰/۰۹/۱۵	
کلمات کلیدی:	
تغییرات ژنتیکی	
درون‌آمیزی	
ژنتیک حفاظت	
ژنوم یوزپلنگ	
گردنه بطری	

### مقدمه

جمع شده و سیستم تنفسی بسیار کارآمد است (Durant *et al.*, 2015). اغلب جمعیت‌های جهانی این گونه در طبیعت به صورت جمعیت‌های آزاد در زیستگاه<sup>۲</sup> هستند و تعدادی از آن‌ها به صورت جمعیت‌های حفاظت شده خارج از زیستگاه<sup>۳</sup> نیز نگهداری می‌شوند که این

یوز یا یوزپلنگ *Acinonyx Jubatus* تنها نماینده تبار پوما<sup>۱</sup> و تنها گونه از زیرخانواده *Acinonyx* در سراسر اوراسیا و آفریقا می‌باشد (O'Brien *et al.*, 1983)؛ نظامی بلوچی، ۱۳۹۶؛ نظامی بلوچی، ۱۳۹۸). سریع‌ترین حیوان خشکی زی جهان با بدنی کشیده و باریک، پنجه‌های نیمه

<sup>۲</sup> In Situ

<sup>۳</sup> Ex Situ

<sup>۱</sup> Puma lineage

گردنه بطری در حدود ۱۰۰۰۰ سال پیش به وقوع پیوسته است (Dobrynin *et al.*, 2015). درون آمیزی‌هایی که به دنبال این گردنه بطری‌ها رخ می‌دهد، واقعیتی است که نه تنها حفاظت از این گونه را محدود می‌کند، بلکه تنوع ژنی گونه را به شدت کاهش می‌دهد. فقدان تنوع ژنی موجب کاهش کیفیت مایع منی، مرگ و میر بالای تولدها و افراد نابالغ و افزایش استعداد ابتلاء به انواع بیماری‌های عفونی می‌شود. ۸۴/۹ درصد از تلفات یوز در چندماهه اول پس از تولد و ۱۵/۱ درصد آمار مرگ و میر در یوزهای در اسارت تا سن ۱۲ ماهگی به وقوع می‌پیوندد (Bertschinger *et al.*, 2008). طی ۵۰ سال گذشته روش‌های متنوعی برای شناسایی تغییرات ژنی در جمعیت‌های طبیعی استفاده شده است (Sunnucks, 2000; Schlotterer, 2004). مطالعات انجام شده با آلوزیم‌ها در دهه ۱۹۷۰ اولین تخمین میزان تنوع ژنی را در داخل و بین جمعیت‌های طبیعی در چندین محل فراهم کرده است. این مطالعات اولیه نقش مهمی در توسعه برنامه‌های حفاظت از گونه‌ها داشته است (Lewontin, 1974). توصیف تغییرات در دی.ان.ای. میتوکندریایی در اوایل دهه ۱۹۸۰ پایه و اساس زمینه ریخت تبارشناسی<sup>۷</sup> را ایجاد کرد که نگاه عمیق‌تری به زمان روابط و ارتباط بین جمعیت‌ها می‌دهد (Avise, 2000). توسعه ریزماهوره‌ها در دهه ۱۹۹۰ ابزارهای بسیار قدرتمندتری برای توصیف تنوع ژنی در جایگاه‌ها هسته‌ای فراهم کرد، از جمله توانایی تشخیص گردنه بطری یا تنگنای ژنتیکی گذشته و تخمین اندازه مؤثر جمعیت فعلی تنها با آزمون یک نمونه منفرد (Goldstein & Pollock, 1997). در دهه ۲۰۰۰، چندشکلی‌های تک نوکلئوتیدی به‌عنوان ابزاری قدرتمند جهت تخمین پارامترهای جمعیت شناختی شناخته شدند و حفاظت از جمعیت‌ها را بسیار بهبود بخشیده است (Morin *et al.*, 2004). امروزه توالی‌یابی توانایی تشخیص مناطقی از ژنوم مانند سازگاری موضعی یا درون‌آمیزی را دارد که تحت تأثیر انتخاب طبیعی قرار دارند. علاوه بر این توانایی، بازآرایی ژنوتیپ نمونه‌های تاریخی، این قدرت را برای درک چگونگی تأثیر تغییرات آب و هوا و سایر پدیده‌های انسانی بر جمعیت فراهم کرده است (Black *et al.*, 2001). تکنیک‌های مدرن مولکولی قدرت بی‌سابقه‌ای

جمعیت‌ها برای اهداف آموزشی، آگاهی بخشی، تحقیق و هم‌چنین به عنوان یک ذخیره حیاتی و آخرین خط دفاعی در برابر انقراض اهمیت ویژه‌ای دارند (Wildt *et al.*, 2010). بیشتر جمعیت آزاد یوزپلنگ در شرق و جنوب آفریقا گزارش شده است در حالی که از حضور جمعیت آزاد در مرکز آفریقا اطلاعاتی در دسترس نیست. جمعیت یوزهای شرق و جنوب آفریقا با کاهش قابل توجهی مواجه شده‌اند و تنها در شش درصد از زیستگاه‌های تاریخی خود یافت می‌شوند (Durant *et al.*, 2015). در قاره آسیا، این گونه از بیشتر زیستگاه تاریخی خود حذف شده و تنها جمعیت کوچکی از آن در ایران باقی‌مانده است. براساس پژوهش‌های صورت گرفته، اطلاعات و تصاویر بدست آمده از دوربین‌های تله‌ای و سایر تصاویر در حال حاضر حدود ۴۰ قلاده یوز آسیایی در ایران زیست دارند (Farhadinia *et al.*, 2017). زیرگونه آسیایی یوز venaticus از نادرترین گربه‌سانان جهان است که اتحادیه جهانی حفاظت<sup>۴</sup> آن را در رده به شدت درخطر انقراض<sup>۵</sup> جای داده است. افراد پراکنده در ایران در استان‌های یزد، سمنان، خراسان جنوبی، خراسان شمالی، کرمان و اصفهان پراکندگی دارند که این گستره در حدود شش میلیون هکتار برآورد شده است. مهم‌ترین تهدیدات زیرگونه آسیایی که نزدیک به نیم قرن تنها در ایران زیست می‌کند شامل از دست دادن بخش‌های وسیعی از زیستگاه، درگیری و تلفات انسانی از جمله تعارض با دامداران، تصادفات جاده‌ای و کشته شدن توسط سگ‌های گله هستند (نظامی‌بلوچی، ۱۳۹۷). هرگونه تنوع ژنی جدید ناشی از جهش و تغییرات توالی دی.ان.ای. است. جهش‌ها در کنار انتخاب و رانش ژنتیکی منجر به تغییرات ژنتیکی<sup>۶</sup> درون و در بین افراد، گونه‌ها و رده‌های بالاتر تاکسونومیکی و افزایش تنوع ژنی می‌شود (Allendorf, 2016). یوزها دارای تنوع ژنی بسیار محدودی هستند و بحث‌های بسیاری پیرامون بحران درون‌آمیزی درباره این گونه وجود دارد. یوزهای موجود، افراد باقی‌مانده از یک دوره گردنه بطری در حدود ۱۲۰۰۰ سال پیش هستند که بیش از ۷۵ درصد از زیستگاه‌های تاریخی خود را از دست داده است (Terrel *et al.*, 2016). نتایج حاصل از توالی‌یابی ژنوم پیشنهاد می‌کند که دومین

<sup>4</sup> International Union Fir Conservation Of Nature

<sup>5</sup> Critically Endangered

<sup>6</sup> Genetic Variation Or Polymorphism

<sup>7</sup> Phylogeography

## نتیجه‌گیری و بحث

مرور مطالعات ژنتیکی در این پژوهش حاکی از تنوع ژنی پایین یوز بوده است (Charruau *et al.*, 2011). عواملی از جمله از بین رفتن زیستگاه و تکه‌تکه شدن آن منجر به گسستگی در توزیع منابع حیاتی، شامل آب، طعمه و شرایط محیطی مانند ریزاقلیم‌های مطلوب شده که در نتیجه گستره توزیع حیوان را محدود کرده (شمس و همکاران، ۱۳۹۸) و مانع از حرکت و جریان ژن و افزایش درون‌آمیزی و کاهش تنوع ژنی شده است. شواهدی از جمله کاهش تنوع نوکلئوتیدی در دی.ان.ای. میتوکندریایی، جایگاه آلوزیمی و ریزماهوره‌ها، عدم تنوع ژنی گونه را تأیید می‌کند.

در مطالعات O'Brien و همکاران (۱۹۸۷) چندشکلی جایگاه‌های آلوزیمی چندین گونه پستانداران ۱۵ تا ۶۰ درصد تخمین زده شده است و این درحالی است که در تحلیل و بررسی ۵۵ یوز آفریقای جنوبی، شناسایی چندشکلی ژنی در ۵۲ جایگاه آلوزیم در ابتدا با شکست مواجه گردید (O'Brien *et al.*, 1983؛ O'Brien *et al.*, 1985). بررسی‌های بیشتر به تعیین تنها سه جایگاه چند شکل در یوز آفریقای جنوبی و شرقی منجر گردید. میزان ناجور تخمی آل‌های مختلف در یک جایگاه در حد فاصل ۰/۰۱۴ و ۰/۰۰۰۴ برآورد شده است (O'Brien *et al.*, 1987). حضور پروتئین‌های متعدد با فراوانی ۱۵۵ جایگاه پروتئین محلول در یوزها در مقایسه با دیگر گربه‌سان‌ها پایین بوده و ناجور تخمی مشاهده شده ۰/۰۱۳ است (O'Brien *et al.*, 1983). آلوزیم‌ها به تنهایی نمی‌توانند نشانگرهای مناسبی جهت بررسی تنوع ژنی باشند چرا که نشانگرهای پروتئینی تنها به ارزیابی روند تغییرات اسید آمینه که منجر به تغییر قابلیت تحرک الکتروفوریتیک در پروتئین می‌شود می‌پردازند. تغییرات دی.ان.ای. مانند جهش خاموش و جایگزینی مترادف، در پروتئین‌ها پوشانده می‌شود، در نتیجه، تنوع ژنی در همه گونه‌ها ناچیز است. علاوه بر این، نشانگرهای مبتنی بر پروتئین با تفاوت‌های عملکردی مرتبط می‌باشند لذا تفاوت فراوانی آلل در معرض فشار انتخاب محیطی قرار خواهد گرفت. از این رو پس از بررسی‌های بیشتر، نشانگرهای دی.ان.ای. اطلاعات دقیق‌تری درباره میزان تنوع ژنی ارائه می‌دهند (Kunzel *et al.*, 2018). بر اساس مطالعات انجام شده با استفاده از آنالیز توالی‌های ژن هسته‌ای و میتوکندریایی در تمامی جمعیت‌های موجود یوز آسیایی

را برای درک تغییرات ژنتیکی در جمعیت‌های طبیعی فراهم می‌کنند. نشانگرهای مولکولی که در این مطالعه جهت بررسی تغییرات ژنتیکی ژنوم یوزپلنگ استفاده شده‌اند عبارتند از: آلوزیم‌ها<sup>۸</sup>، دی.ان.ای. میتوکندریایی، ریزماهوره‌ها<sup>۹</sup> و چندشکلی تک نوکلئوتیدی (SNP)<sup>۱۰</sup> که آخرین نوآوری در کشف تنوع ژنی در جمعیت‌های طبیعی است. از این روش به منظور برآورد پارامترهای جمعیت شناختی ژنتیکی و جمعیتی، مانند جریان ژن و اندازه مؤثر جمعیت، که در امر حفاظت از محیط زیست یا گونه‌ها حائز اهمیت هستند، استفاده می‌شود (Pearse, 2015؛ Shafer *et al.*, 2016). این پژوهش با هدف بررسی تنوع ژنی جمعیت‌های باقی‌مانده یوزپلنگ‌ها به بررسی شواهد موجود بر سطوح پایین تنوع ژنی ژنوم گونه با بررسی تغییرات ژنتیکی نشانگرهای مولکولی از جمله جایگاه‌های ژنی آلوزیم‌ها، دی.ان.ای. میتوکندریایی، ریزماهوره‌ها، مجموعه سازگاری بافتی اصلی (MHC)<sup>۱۱</sup> و چندشکلی تک نوکلئوتیدی در کل ژنوم یوزپلنگ می‌پردازد. نتایج این پژوهش می‌تواند در حفاظت ژنتیکی، تولیدمثل در اسارت و مدیریت جمعیت باقی‌مانده یوز آسیایی مورد استفاده قرار گیرد.

## مواد و روش‌ها

بررسی مقالات و استفاده از کلمات کلیدی تغییر ژنتیکی، تنوع ژنی، ژنتیک حفاظت، آلوزیم، ریزماهوره، دی.ان.ای. میتوکندریایی، چندشکلی تک نوکلئوتیدی و یوزپلنگ در پایگاه‌های اطلاع رسانی علمی NCBI، Google Scholar و منابع مرتبط شناسایی و مقالات منتشر شده توسط (O'Brien *et al.*, 1983؛ O'Brien *et al.*, 1985؛ O'Brien *et al.*, 1987؛ Menotti-Raymond & O'Brien, 1993؛ Yuhki *et al.*, 2008؛ Charruau *et al.*, 2011؛ خدرزاده، ۱۳۹۴؛ Dobrynin *et al.*, 2015؛ Kunzel, 2018). که شامل اطلاعات جامعی در زمینه زیست‌شناسی و وضعیت ژنتیک یوزپلنگ‌ها هستند مورد بررسی قرار گرفتند.

<sup>8</sup> Allozymes

<sup>9</sup> Micro Satellites

<sup>10</sup> Single Nucleotide Polymorphism

<sup>11</sup> Major Histocompatibility Complex

فرد از نامیبیا و سه فرد از تانزانیا) نسبت به سایر پستانداران قابل مشاهده است. بر اساس نتایج این مطالعه، معیارهای آماری حاصل از تعیین ساختار ژنتیکی جایگاه‌های ریزماهوره، جمعیت‌های یوز آسیایی دارای تنوع ژنی متوسطی هستند به طوری که میزان ناجورتخمی در آن‌ها ۰/۵۶۸ برآورد گردید. حال آن‌که این مقدار در تحقیقات انجام شده در سال ۲۰۱۱، ۰/۳۹۷ تخمین زده شده بود (Charruau *et al.*, 2011). علت اختلاف ناچیز در بین این دو پژوهش نیز می‌تواند نشأت گرفته از تعداد نمونه بیشتر و در نظر گرفتن جایگاه‌های متنوع در پژوهش ۲۰۱۵ باشد. میزان ناجورتخمی در مطالعه صورت گرفته در سال ۲۰۱۳ از ۳۲ فرد بر ۱۴ جایگاه که به طور تصادفی انتخاب نشده بودند حدود ۰/۶۲ اندازه‌گیری شد (Dalton *et al.*, 2013). Terrell و همکاران (۲۰۱۶) با استفاده از ۱۲ نشانگر ریزماهوره، رابطه بین ناجورتخمی و صفات تولیدمثلی در ۵۴ یوز نر وحشی و ۴۳ یوز نر در اسارت را مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج نشان داد که تنوع ژنی طی ۳۰ سال گذشته کاهش قابل توجهی یافته که این امر با کاهش کیفیت مایع منی و کاهش موفقیت در تولیدمثل یوزپلنگ نیز همراه بوده است. کیفیت پایین اسپرم‌های یوز، کمتر از ۲۰ درصد اسپرم زیست‌پذیر در هر انزال، منجر به کاهش قابل توجه در نرخ موفقیت تولیدمثل که به عنوان شرط نهایی بقای گونه است می‌شود (Crosier *et al.*, 2007). این موضوع به ویژه در مورد جمعیت‌های کوچکی مثل یوز آسیایی که پایین‌ترین میزان تنوع ژنی ۰/۳۹۷ در بین کل زیرگونه‌های شناسایی شده یوز را دارد جدی‌تر بوده و در خطر از دست دادن بیشتر تنوع ژنی هستند (Charruau *et al.*, 2011). افزایش مرگ و میر توله‌ها در جانداران درون‌زایی شده از جمله عواملی هستند که باعث شده توانایی سازگاری و تکامل این گونه‌ها به حد قابل توجهی کاهش یابد (O'Brien *et al.*, 1985). علاوه بر عوامل گفته شده باید در نظر داشت بیشتر یوزها با از دست رفتن ارتباط بین خود چند پاره شده و شاهد ساختار حداقلی جمعیت در مناطق زیستگاهی هستیم (Dobrynin *et al.*, 2015). بنابراین جمعیت باقی‌مانده دارای تنوع ژنی پایینی می‌باشد. در حالی که نشانگرهای ریزماهوره‌ها میزان هتروزیگوسیتیه را در یوزها نشان می‌دهند، این امر بدان معنی نیست که

تنها دو هاپلوتایپ مشاهده گردیده است. تنوع هاپلوتایپی ۰/۴۶۱۵ برآورد شد که ظاهر امر نشان از شباهت زیاد جمعیت‌های مذکور دارد. نتایج حاصل از آزمون گردنه بطری به صورت تفکیک شده در جمعیت یوز آسیایی نشان می‌دهد که جمعیت‌های یوز آسیایی در حالت گردنه بطری هستند (خدرزاده، ۱۳۹۴). مطالعه نشان داد که با استفاده از ماتریس‌های فواصل ژنتیکی بیشترین تنوع ژنی در میان یوزهای کرمان، یزد، توران و کمترین آن در میان یوزهای پارک ملی کویر است (نظامی‌بلوچی، ۱۳۹۶). جمعیت‌هایی که دارای تنوع ژنی محدودی هستند نسبت به عوامل محیطی همچون کاهش منابع غذایی، تصادفات جاده‌ای و تعارض با دام‌های اهلی و فعالیت‌های انسانی آسیب پذیرترند.

در دهه ۱۹۹۰ بررسی‌های صورت‌گرفته مبتنی بر چندشکلی قطعات طولی محدود شده (RFLP)<sup>۱۲</sup> نشان دهنده مقادیر پایین تغییر نوکلئوتیدی و ۱۸ درصد اختلاف در دی.ان.ای. میتوکندریایی یوزپلنگ در مقایسه با سایر گونه‌ها بود (Menotti-Raymond & O'Brien, 1993). مطالعات متعددی در این ارتباط صورت گرفته است که نشان دهنده سرعت قابل توجه تغییرات در کاهش ناجورتخمی در این گونه است. در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۱ صورت گرفته نرخ تغییر نوکلئوتیدی در نواحی کنترل دی.ان.ای. میتوکندریایی ۲۰ فرد یوز، به نسبت پایین بوده و حدود ۱/۳۱ درصد اندازه‌گیری شد (Freeman *et al.*, 2001). در مطالعه Driscoll و همکاران (۲۰۰۲) میزان ناجورتخمی مورد انتظار در انتخاب تصادفی ۸۲ ریزماهوره از ۳۰ یوز، نسبتاً بالا و ۰/۴۶ تا ۰/۴۸ بوده است. هم‌چنین در مطالعه Marker و همکاران (۲۰۰۸) بر روی ۳۸ جایگاه ریزماهوره از ۹۸ فرد، میزان ناجورتخمی مشاهده شده ۰/۶۴ تا ۰/۷۰ برآورد گردید. براساس Charruau و همکاران (۲۰۱۱) بر روی ده نشانگر ریزماهوره از ۱۰ یوز آفریقایی، تغییرات نوکلئوتید این گونه، زمانی که یک توالی کوتاه از منطقه رمزگذاری دی.ان.ای. میتوکندریایی یا زمانی کل ژنوم دی.ان.ای. میتوکندریایی مورد ارزیابی قرار گرفت، پایین بوده است. در مطالعه دیگر توسط Dobrynin و همکاران (۲۰۱۵) کاهش ۹۰ درصدی تغییر نوکلئوتید در هفت یوز (چهار

<sup>12</sup> Restriction Fragment Length Polymorphism

پوست در میان ۱۲ یوز غیرخویشاوند و دو هم‌نیا، نشانی از رد پیوند وجود نداشته است. این درحالی است که پیوند در گونه غیرخودی (یوز با گربه اهلی و گربه وحشی) به سرعت رد می‌شود. این نتایج به کاهش عملکرد متنوع آلل در مجموعه سازگاری بافتی اصلی یوز مرتبط است (O'Brien *et al.*, 1985). یکی از مهمترین مباحث چندشکلی جایگاه ژنی در مهره‌داران می‌باشد که نقش ایمنی را ایفا می‌کند (Yuhki *et al.*, 2008). تعداد زیادی از پژوهش‌ها اثبات کرده‌اند که تنوع ژنوتیپ‌های مجموعه سازگاری بافتی اصلی برای آلل‌های فردی، با حساسیت به بیماری در حیات وحش مرتبط است (Sommer, 2005). کاهش نرخ چندشکلی در جایگاه‌های سازگاری‌پذیری MHC منجر به آسیب‌پذیری بالا نسبت به بیماری‌های عفونی در یوزهای در اسارت می‌شود. آمار تلفات بالای حاصل از شیوع کرونا و ویروس در باغ وحش آمریکای شمالی می‌تواند مثال خوبی برای این پدیده باشد (Parks Wilkerson *et al.*, 2004). همچنین افزایش مرگ و میر توله‌ها در جانداران درون‌زایی شده در اسارت از دیگر عواملی هستند که باعث شده توانایی سازگاری و تکامل این گونه به حد قابل توجهی کاهش یابد (O'Brien *et al.*, 1985). به منظور بهره‌گیری از تجارب بین‌المللی در زمینه حفاظت و بازیابی تنوع ژنی یوز آسیایی پیشنهادات زیر ارائه می‌گردد:

#### اقدامات مدیریتی

تنوع ژنی پایین یوز در کل جمعیت‌های باقی‌مانده و به ویژه تعداد بسیار اندک یوز آسیایی در ایران کاملاً محرز است. با توجه به فواصل جغرافیایی و احتمالاً فواصل ژنتیکی جمعیت‌های یوز در ایران، حفاظت از مناطق کلیدی آزاد به ویژه بین جمعیت شمالی توران و جمعیت جنوبی نایبندان، تسهیل جابجایی و انتشار افراد، حفاظت از طعمه‌های کلیدی به ویژه سم‌داران در مناطق آزاد، تشکیل قرق‌های مردمی، ایجاد مناطق تحت مدیریت جدید به ویژه در مسیر کریدورها، گذرگاه سبز و هرگونه اقداماتی که به بهبود جابجایی افراد و جریان ژن در میان جمعیت‌ها منجر شود، می‌تواند در برنامه‌های حفاظت مورد توجه قرار گرفته و از روند کاهشی تنوع ژنتیکی کم کند (کرمانی، ۱۳۹۶؛ شمس، ۱۳۹۸؛ نظامی بلوچی،

این میزان همیشه نسبت به سایر گونه‌ها به طور قابل توجهی اندک است. این امر با پایین بودن تنوع ژنتیکی یوزپلنگ و سرعت تکاملی کند نشانگرها منافاتی ندارد. این موضوع تنها نشان دهنده آن است که تغییرات در جایگاه‌های ریزماهوره‌ها در اجداد آن‌ها دیرتر اتفاق افتاده است. در برخی از مطالعات مربوط به نشانگرهای ریزماهوره، سطوح ناجورتخمی بالا تنها به علت شناخته شده نسبتاً بالای این جایگاه‌ها می‌باشد. از این رو برآورد ناجورتخمی افزایش یافته، افزایش تنوع ژنی گونه یوز را منعکس نمی‌کند. این یافته‌ها با سطوح پایین ناجورتخمی سایر نشانگرها که کندی تکاملی دارند در تضاد نیست بلکه نشان می‌دهد که تغییر در جایگاه‌های ریزماهوره منشأ تکاملی دارد. بازه زمانی وقوع تغییرات ریزماهوره‌های جدید می‌تواند تخمینی از زمان وقوع حوادث را فراهم کند که منجر به از دست دادن تنوع ژنتیکی می‌شود (Kunzel *et al.*, 2018). Dobrynin و همکاران (۲۰۱۵) به توصیف الگوهای متنوع در کل ژنوم یوزپلنگ پرداخته‌اند. هر پنج شاخص معمول به‌کار رفته عدم تنوع گونه ژنتیکی و ژنومی گونه‌ها را تأیید می‌کنند. میزان تغییر تک نوکلئوتید ۹۰ درصد است که به مراتب از میزان مشاهده شده در گربه اهلی کمتر است؛ ضریب همبستگی تراکم تک نوکلئوتید هشت تا ۱۵ برابر کمتر از گربه اهلی و گربه وحشی اروپایی است؛ محدوده‌های ناجورتخمی ۱۰ تا ۱۵ برابر طولانی‌تر از گربه‌های اهلی است؛ سطوح ناجورتخمی ۱۵ تا ۶۱ درصد سطوح مشاهده شده در گربه اهلی و ببر است و در نهایت نرخ تک نوکلئوتیدی در ژن‌های بیان‌کننده پروتئین ۹۸ درصد نسبت به گربه‌های اهلی یا گربه وحشی کاهش یافته است. به عنوان مثال کاهش تنوع ۹۵ تا ۹۸ درصد در مقایسه توالی مجموعه سازگاری بافتی اصلی در هفت یوز (چهار فرد از نامیبیا و سه فرد از تانزانیا) با انسان، سگ و گربه اهلی به‌صورت تک نوکلئوتید مشاهده شده است (Dobrynin *et al.*, 2015). بررسی‌های اولیه مجموعه سازگاری بافتی اصلی یوز، مبتنی بر RFLP بیانگر کاهش تنوع ژنی در یوز نسبت به سایر گونه‌ها است و ناجورتخمی مشاهده شده را ۰/۰۵ تا ۰/۰۷ نشان داد (Yuhki & O'Brien, 1994). پژوهش‌های عملی حاکی از آن است که پیوند دو سویه

## منابع

۱. خدرزاده، ص. ۱۳۹۴. بررسی ساختار ژنتیکی یوزایرانی. دفتر موزه‌های تاریخ طبیعی و ذخایر ژنتیک سازمان حفاظت محیط زیست، تهران.
  ۲. شمس، ع.، نظامی بلوچی، ب.، رایگانی، ب.، شمس اسفندآباد، ب. ۱۳۹۸. تغییرات اقلیمی و اثرات آن بر زیستگاه‌های مطلوب یوزپلنگ آسیایی در مرکز ایران (مطالعه موردی: استان یزد). محیط زیست جانوری. دوره ۱۱. شماره ۳. صفحه ۱ تا ۱۴.
  ۳. کرمانی، ف.، رایگانی، ب.، نظامی بلوچی، ب.، گشتاسب، ح. و خسروی، ح. ۱۳۹۶. ارزیابی روند تغییرات پوشش گیاهی مناطق خشک و نیمه خشک (مطالعه موردی: منطقه حفاظت شده توران). مهندسی اکوسیستم‌های بیابانی، شماره ۱۷، صفحه ۱ تا ۱۴.
  ۴. کرمانی، ف.، احمدی دستجردی، م. ر. نظامی، ب.، محمدی میاب، م. ۱۳۹۹. پیش بینی مطلوبیت زیستگاه کوچ و میش، طعمه اصلی یوزپلنگ آسیایی در فلات مرکزی ایران به منظور بهبود مدیریت گونه. زیست شناسی جانوری تجربی. سال ۹، شماره ۱(۳۳)، صفحه ۶۵ تا ۸۰.
  ۵. نظامی بلوچی، ب. ۱۳۹۶. یوز آسیایی: بوم‌شناسی و وضعیت یوز آسیایی در ایران جهاد دانشگاهی واحد تهران، سازمان انتشارات.
  ۶. نظامی بلوچی، ب. ۱۳۹۷. عملکرد و دست آوردهای پروژه حفاظت از یوزپلنگ آسیایی در فاز دوم (۱۳۸۹ تا ۱۳۹۷). سازمان حفاظت محیط زیست.
  ۷. نظامی بلوچی، ب.، جوکار، ه.، کارگر، ر.، زاهدیان، ب. ۱۳۹۸. ارجحیت غذایی یوز آسیایی *Acinonyx jubatus venaticus* در پناهگاه حیات وحش نایبندان. دو فصلنامه علمی خشک بوم. جلد ۹، شماره ۲. صفحه ۴۳ تا ۵۲.
- در کنار این اقدامات حفظ و احیای جمعیت از طریق ذخیره‌سازی بلندمدت سلول‌های جنسی افراد با تنوع ژنی بالا اهمیت اساسی دارد. همچنین نمونه‌های اسپرم، تخمک، خون، بافت و دی.ان.ای. برای یک برنامه خاص تحت عنوان بانک ذخایر ژنی موجب فراهم کردن خط مشی تضمین ژنی به منظور جلوگیری از کاهش بالقوه جمعیت‌ها محسوب می‌شود.
- گونه‌ای مانند یوز که در شرایط و وضعیت بحرانی قرار دارد نیازمند هرگونه اقدامات حفاظتی در محل و خارج از محل است (نظامی، ۱۳۹۶). حیوانات بایستی در طبیعت بمانند یا اگر اسیر شده‌اند به طبیعت بازگردند. اما حیوانات اسیری که امکان آزادسازی به طبیعت را ندارند بدون از دست دادن زمان، به منظور مشارکت در برنامه‌های زادآوری در نظر گرفته شوند. یوزهای در اسارت تا حدودی به عنوان مخزن ژنی برای جمعیت آزاد هستند. همچنین ارزیابی ساختار ژنتیکی افراد موجود در اسارت و داده‌های حاصل از مطالعات ژنتیکی آن‌ها می‌تواند در تصمیم‌گیری‌های برنامه‌های تکثیر در اسارت، جمعیت‌های اسیر و آزاد را از طریق تزریق مجدد مواد تولیدمثلی نگهداری شده زیست‌پذیر (گامت‌ها) به جمعیت در اسارت، افزودن افراد مولد جدید اسیر شده از حیات‌وحش یا وارد کردن افراد اسیر به مخزن زادآوری حفظ نمود. به عنوان مثال پس از انجام تحقیقات گسترده، یک بانک ژن و اسپرم برای یوزپلنگ‌ها در نامیبیا ایجاد شد. این بانک ژن و اسپرم، یک مخزن ژنتیکی قوی از ۳۰۰۰ نمونه یوزپلنگ آزاد در آن کشور است. همچنین این بانک ژن زیرمجموعه‌ای از نمونه‌های ذخیره شده اسپرم برای حمایت از یوزپلنگ‌هایی است که در باغ وحش‌های آمریکای شمالی نگهداری می‌شوند. این راهکار تضمینی برای عدم انتقال یوزپلنگ‌ها از طبیعت به باغ وحش بوده، در عین حال ارتباط جمعیت‌های مناطق مختلف نیز برقرار می‌گردد.
- در شرایط بحرانی تبادل منطقه‌ای و بین‌منطقه‌ای افراد یا مواد تولیدمثلی نیز توصیه می‌گردد. به عنوان مثال در نظر گرفتن معرفی افزایشی از آفریقا به جمعیت‌های ایران، که مشابه آن برای نجات جمعیت پلنگ‌های فلوریدا صورت گرفت است.

- Bhak, J., Wang, J., Zhang, G. and O'Brien, S.J. 2015.** Genomic legacy of the African cheetah, *Acinonyx jubatus*. *Genome Biology*. Vol. 16. pp: 277.
16. **Driscoll, C.A., Menotti-Raymond, M., Nelson, G., Goldstein, D. and O'Brien, S.J. 2002.** Genomic microsatellites as evolutionary chronometers: a test in wild cats. *Genome Research*. Vol. 12 (3). pp: 414–423.
17. **Durant, S., Mitchell, N., Ipavec, A. and Groom, R. 2015.** *Acinonyx jubatus*. The IUCN Red List of Threatened Species 2015: e.T219A50649567.
18. **Farhadinia, M.S., Hunter, L.T.B., Jourabchian, A.R., Hosseini-Zavarei, F., Akbari, H., Ziaie, H., Schaller, G.B. and Jowkar, H. 2017.** The critically endangered Asiatic cheetah *Acinonyx jubatus venaticus* in Iran: a review of recent distribution, and conservation status. *Biodiversity Conservation*. Vol. 26. pp: 1027–1046.
19. **Freeman, A.R., Machugh, D.E., Mckeown, S., Walzer, C., Mcconnell, D.J. and Bradley, D.G. 2001.** Sequence variation in the mitochondrial DNA control region of wild African cheetahs (*Acinonyx jubatus*). *Journal of Heredity*. Vol. 86(3). pp: 355–362.
20. **Goldstein, D.B. and Pollock, D.D. 1997.** Launching microsatellites: a review of mutation processes and methods of phylogenetic inference. *Journal of Heredity*. Vol. 88. pp: 335–342.
21. **Kunzel, A., Dalton, D., Menotti-Raymond, M., Fabiano, E., Charruau, P., Johnson, W.E., Sommer, S., Marker, L., Kotze, A. and O'Brien, S.J. 2018.** Conservation Genetics of the Cheetah: Genetic History and Implications for Conservation. Elsevier Public Health Emergency Collection. *Cheetahs: Biology and Conservation*. Vol. 2018. pp: 71–92.
22. **Lewontin, R.C. 1974.** Genetic Basis of Evolutionary Change. Columbia University Press, New York.
23. **Marker, L.L., Pearks Wilkerson, A.J., Sarno, R.J., Martenson, J., Breitenmoser-Wursten, C., O'Brien, S.J. and Johnson, W.E. 2008.** Molecular genetic insights on cheetah (*Acinonyx jubatus*) ecology and conservation in Namibia. *Journal of Heredity*. Vol. 99 (1). pp: 2–13.
8. **Allendorf, F.W. 2016.** Genetics and the conservation of natural populations: allozymes to genomes. *Molecular Ecology*. Vol. 26. pp: 420–430.
9. **Avise, J.C. 2000.** Phylogeography: The History and Formation of Species. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts.
10. **Bertschinger, H.J., Meltzer, D.G.A. and van Dyk, A. 2008.** Captive breeding of cheetahs in South Africa- 30 years of data from the de Wild Cheetah in Wildlife Centre. *Reproduction in Domestic Animals*. Vol. 43. pp: 66–73.
11. **Black, W.C., Baer, C.F., Antolin, M.F. and Du Teau, N.M. 2001.** Population genomics: genome-wide sampling of insect populations. *Annual Review of Entomology*. Vol. 46. pp: 441–469.
12. **Charruau, P., Fernandes, C., Orozco-Ter Wengel, P., Peters, J., Hunter, L., Ziaie, H., Jourabchian, A., Jowkar, H., Schaller, G., Ostrowski, S., Vercammen, P., Grange, T., Schlotterer, C., Kotze, A., Geigl, E.M., Walzer, C. and Burger, P. A. 2011.** Phylogeography, genetic structure and population divergence time of cheetahs in Africa and Asia: evidence for long-term geographic isolates. *Molecular Ecology*. Vol. 20(4), pp: 706–724.
13. **Crosier, A.E., Marker, L., Howard, J., Pukazhenti, B.S., Henghali, J.N. and Wildt, D.E. 2007.** Ejaculate traits in the Namibian cheetah (*Acinonyx jubatus*): influence of age, season and captivity. *Reproduction, Fertility, and Development*. Vol. 19(2). pp: 370–82.
14. **Dalton, D.L., Charruau, P., Boast, L. and Kotze, A. 2013.** Social and genetic population structure of free-ranging cheetah in Botswana: implications for conservation. *European Journal of Wildlife Research*. Vol. 59(2). pp: 281–285.
15. **Dobrynin, P., Liu, S., Tamazian, G., Xiong, Z., Yurchenko, A.A., Krasheninnikova, K., Kliver, S., Schmidt-Kuntzel, A., Koepfli, K.P., Johnson, W., Kuderna, L.F., García-Pérez, R., de Manuel, M., Godinez, R., Komissarov, A., Makunin, A., Brukhin, V., Qiu, W., Zhou, L., Li, F., Yi, J., Driscoll, C., Antunes, A., Oleksyk, T.K., Eizirik, E., Perelman, E., Roelke, M., Wildt, D., Diekhans, M., Marques-Bonet, T., Marker, L.,**

- Salmona, J., Schenekar, T., Schwartz, M.K., Segelbacher, G., Senn, H., Thaulow, J., Valtonen, M., Veale, A., Vergeer, Ph., Vijay, N., Vila, C., Weissensteiner, M., Wennerstrõm, L., Wheat, Ch.W., and Zielin´ski, P. 2015. Genomics and the challenging translation into conservation practice. Trends in Ecology and Evolution. Vol. 30. pp: 78–87.
33. Sommer, S. 2005. The importance of immune gene variability (MHC) in evolutionary ecology and conservation. Frontierz in Zoology. Vol, 2. p 16.
34. Sunnucks, P. 2000. Efficient genetic markers for population biology. Trends in Ecology & Evolution. Vol. 15. pp: 199–203.
35. Terrell, K.A., Crosier, A.E., Wildt, D.E., O’Brien, S.J., Anthony, N.M., Marker, L. and Johnson, W.E. 2016. Continued decline in genetic diversity among wild cheetahs (*Acinonyx jubatus*) without further loss of semen quality. Biology and Conservation. Vol. 200. pp: 192–199.
36. Wildt, D.E., Swanson, W., Brown, J.L., Sliwa, A. and Vargas, A. 2010. Felids ex situ: managed programmes, research, and species recovery. Biology and Conservation of Wild Felids. Oxford University Press, Harvard University Press. pp: 217-235.
37. Yuhki, N. and O’Brien, S.J. 1994. Exchanges of short polymorphic DNA segments predating speciation in feline major histocompatibility complex class I genes. Journal of Molecular Evolution. Vol. 39(1). pp: 22-33.
38. Yuhki, N., Mullikin, J.C., Beck, T., Stephens, R. and O’Brien, S.J. 2008. Sequences, annotation and single nucleotide polymorphism of the major histocompatibility complex in the domestic cat. PLoS One. Vol. 3(7). pp: e2674.
39. Zahedian, B. and Nezami, B. 2019. Cheetah (*Acinonyx jubatus venaticus*) (Felidae: Carnivora) feeding ecology in Central Plateau of Iran and effects of prey weak management. Journal of Wildlife and Biodiversity. Vol. 3(1). pp: 22-30.
24. Menotti-Raymond, M. A. and O’Brien, S. J. 1993. Dating the genetic bottleneck of the African cheetah. Genetics. Vol. (8). pp: 3172-3176.
25. Morin, P.A., Luikart, G., Wayne, R.K. 2004. SNPs in ecology, evolution and conservation. Trends in Ecology & Evolution. Vol. 19. pp: 208–216.
26. O’Brien, S.J., Roelke, M.E., Marker, L., Newman, A., Winkler, C.A., Meltzer, D., Colly, L., Evermann, J. F., Bush, M. and Wildt, D.E. 1985. Genetic basis for species vulnerability in the cheetah. Science Vol. 227(4693). pp: 1428-1434.
27. O’Brien, S.J., Wildt, D.E., Bush, M., Caro, T.M., Fitzgibbon, C., Aggundey, I. and Leakey, R.E. 1987. East-African cheetahsevidence for two population bottlenecks. Sciences. Vol. 84(2). pp: 508-511.
28. O’Brien, S.J., Wildt, D.E., Goldman, D., Merril, C.R. and Bush, M. 1983. The cheetah is depauperate in genetic variation. Sciences. Vol. 221(4609). pp: 459-462.
29. Pearks Wilkerson, A.J., Teeling, E.C., Troyer, J.L., Bar-Gal, G.K., Roelke, M., Marker, L., Pecon-Slattery, J. and O’Brien, S.J. 2004. Coronavirus outbreak in cheetahs: lessons for SARS. Current. Biology. Vol. 14(6). pp: R22-R228
30. Pearse, D.E. 2016. Saving the spandrels? Adaptive genomic variation in conservation and fisheries management. Journal of Fish Biology Vol. 89. pp: 2697-2716.
31. Schlotterer, C. 2004. The evolution of molecular markersjust a matter of fashion? Nature Reviews Genetics. Vol. 5. pp: 63–69.
32. Shafer, A.B.A., Wolf, J.B.W., Alves, P.C., Bergstrõm, L., Bruford, M.W., Brãnnstrõm, I., Colling, G., Dale´n, L., De Meester, L., Ekblom, R., Fawcett, K.D., Fior, S., Hajibabaei, M., Hill, J.A., Rus Hoebel, A., Hõglund, J., Jensen, E.L., Krause, H., Kristensen, T. N., Krũtzen, M., McKay, J.K., Norman, A.J., Ogden, R., Õsterling, E.M., Ouborg, N.J., Piccolo, J., Popovic´, D., Primmer, C.R., Reed, F.A., Roumet, M.,



## A Review of Genetic Evidence of Widespread Depletion of Cheetah Gene Diversity and the Need to Conserve the Surviving Populations

Maryam Mahmoudiasl<sup>1</sup>, Farhad Hosseini Tayefeh<sup>1\*</sup>, Bagher Nezami<sup>1</sup>

<sup>1\*</sup>Research Group of Biodiversity and Biosafety, Research Center for Environment and Sustainable Development (RCESD), Department Of Environment, Tehran, Iran.

### Abstract

Cheetah is the only species from the Acinonyx subfamily and genus whose global population trend has been declining. This species is known as a species with a low genetic variation that has resulted from bottlenecks about 10,000 and 12,000 years ago. All populations of the Asiatic cheetah subspecies are extinct in the Middle East and Southwest of Asia and Iran. Asiatic cheetah subspecies listed in the Critically Endangered because of severe decline in the gene diversity level which has resulted from habitat degradation, geographical separation of populations, and increasing inbreeding, there are only a few of the species remained in the wild of Iran. In this review study, the genetic variation reduction at different levels of Allozymes molecular markers, microsatellites, mitochondrial DNA, and Single Nucleotide Polymorphism in the entire cheetah genome was investigated and validated. Studies based on restriction fragment length polymorphism, indicate severe genomic reductions in the occurrence of Single Nucleotide Variant, the density of Single Nucleotide Variant, Single Nucleotide Variants protein-coding genes, Major Histocompatibility Complex genes, and mitochondrial DNA Single Nucleotide Variant compared with other species. Significant reductions in overall genetic variation by multiple genomic markers lead to increased cubs' mortality, severe abnormalities in sperm growth, problems with captive reproduction programs, and increased vulnerability to the spread of infectious diseases. Since conservation genetics plays a key role in the conservation and management of species, the results of this study can be used in genetic conservation, reproduction in captivity, and the management of the remaining populations of Asian cheetahs.

**Keywords:** Bottlenecks, Cheetah Genome, Conservation Genetics, Genetic Variation, Inbreeding.

\* Corresponding Author's email: farhadtayefeh@gmail.com