بررسی وضعیت آرایه شناختی و تبارزائی جمعیتهای جنس زیبا موش(*Calomyscus*) در فلات ایران با استفاده از داده های ژن میتوکندریایی CO1

سعید شهابی[۱،*]، جمشید درویش[۱و۲] و منصور علی آبادیان[۱]

[۱] مشهد، دانشگاه فردوسی، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی

[۲] مشهد، دانشگاه فردوسی، دانشکده علوم ، مرکز پژوهشی جانورشناسی کاربردی

تاریخ دریافت: ۸۹/۵/۲۵ تاریخ پذیرش: ۹۰/۳/۴

چکیده

جنس کالومیسکوس یا زیباموش، نخست با تنها گونه *C. bailwardi* معرفی شده ولی بر اساس مطالعات بعدی خصوصاً مطالعات کروموزومی، هشت گونه در این جنس شناسایی شده است. که پنج گونه آن درایران پراکنده اند و عبارت اند از: *C. bailwardi, C. elburzensis, C. grandis, C. urartensis* و *C. hotsoni*. به منظور بررسی وضعیت آرایه شناختی جمعیتهای مختلف این جنس در ایران تعداد ۷۶ نمونه از ده منطقه جمع آوری گردید. توالی ژن میتوکندریایی (*CO1*) ۲۵ نمونه با ۶۳۷ نوکلئوتید جهت آنالیزهای تبارشناسی Bayesian، حداکثرپارسیمونی (Maximum Parsimony) و حداکثراحتمال (Maximum Likelihood) استفاده گردید. داده های مولکولی، تاکسونومی امروزی گونه های فوق الذکر زیباموش را تأیید می کند. داده های مولکولی علاوه بر این نشان می دهند که پراکنش گونه *C. elburzensis* محدود به شمال شرق ایران نبوده بلکه تا ارتفاعات مرکزی ایران در استان یزد نیز پراکنده اند و نشان می دهد که جمعیت زیبا موش یزد به عنوان یک ایزولای جغرافیایی، از رشته کوه های البرز کاملاً جدا قرارمی گیرد. از دیدگاه تبارشناسی، جنس زیبا موش در ایران دارای دو شاخه اصلی است. شاخه شمالی شامل *C. grandis*، *C. elburzensis* وشاخه جنوبی شامل *C. bailwardi* و *C. hotsoni* است که بیانگر نفوذ و پراکنش آنها درفلات ایران می باشد.

واژه های کلیدی: زیباموش، فیلوژنی، سیستماتیک، *CO1*,Rodentia, Calomyscidae

[*] نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۳۸۰۰۲۹۵۷۳، پست الکترونیکی: dna1390@gmail.com

مقدمه

خانواده زیباموشیان (Calomyscidae) دارای یک جنس با نام کالومیسکوس یا زیباموش و هشت گونه می باشد (۲۴). جنس زیباموش مدتها با تنها گونه *C. bailwardi* به عنوان جنسی تک گونه (monospecies) درنظرگرفته می شد (۴، ۵، ۶ و ۲۰). ورنتسو و همکاران (۱۹۷۹)، مایر و مالیکو (۱۷۹۶)، لبدو وهمکاران (۱۹۹۸)، گرافوداتسکی و همکاران (۲۰۰۰)، مورشد و پاتون (۲۰۰۲) و پاولینو و همکارانش (۱۹۹۵) در بررسی مجدد این جنس، زیرگونه های گونه *C. bailwardi* را به عنوان گونه های مجزا در نظر گرفتند. اعضاء این خانواده سابقا به عنوان هامسترهای دم دراز یا شبه موش در زیرخانواده کریسیتینه یا با نئوتومیدهای آمریکا قرار می گرفته اند (۳). قبلاً براساس شباهت دندانهای آسیای اول آنها تصور می شد که این جوندگان هامستر هستند اما فاقد کیسه های گونه ای، غدد چربی و دارای دم بلند می باشند(۲۴). زیبا موشها ارتباطی با هامسترهای واقعی ندارند و یک انشعاب قدیمی در فوق خانواده میوروئیده را نشان می دهند (۱۱). درآخرین رده بندی که توسط ویلسون و همکاران در سال ۲۰۰۵ انجام

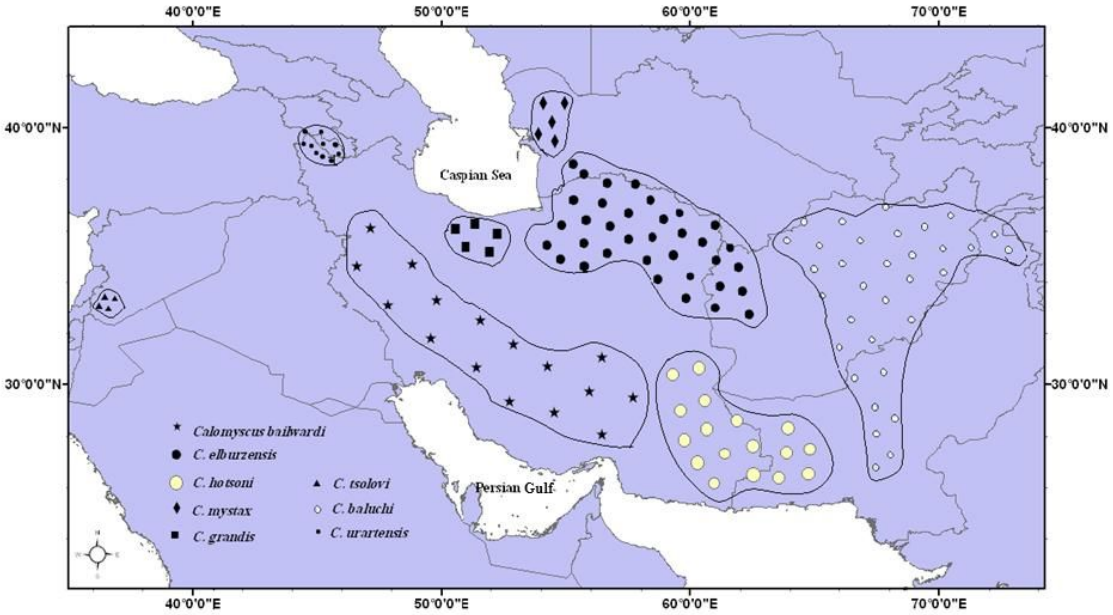
گرفت، جنس زیباموش در خانواده ای مجزا به نام زیباموشیان (Calomyscidae) و در فوق خانواده میورویده قرار گرفت. دامنه انتشار افراد این خانواده (شکل ۱): غرب پاکستان، سرتاسر افغانستان و ایران، جنوب سوریه، جنوب آذربایجان، غرب و جنوب ترکمنستان می باشد (۱۸) و در زیستگاههای صخره ای و خشک مرتفع، دامنه کوه های واقع در نواحی معتدل، خشک و مناطق کوهستانی که از گیاهانی مثل بادام کوهی، پسته وحشی (بنه)، سرو، نخل و بلوط پوشیده شده است زندگی می کنند (۱۳ و۱۵). از هشت گونه موجود در این خانواده، پنج گونه آن درایران پراکنده شده است: پراکنش گونه *C. bailwardi*، کوههای زاگرس درغرب، جنوب و جنوب غرب ایران در استانهای کردستان، ایلام، غرب اصفهان، شرق خوزستان، لرستان، فارس و غرب کرمان می باشد (۱۸) (شکل ۱). *C. bailwardi* حقیقی تنها از کوههای زاگرس در غرب ایران گزارش شده است. در حالی که گونه *C. elburzensis* در کوههای شمال و شمال شرق ایران (از دامنه های جنوبی کوههای البرز در استان سمنان، حوالی شهر سمنان و اطراف سنگسر به سمت شرق و از شمال استان خراسان در شمال شرق ایران تا مشهد)، جنوب ترکمنستان و شمال غرب افغانستان پراکنده می باشد (۱۸) (شکل ۱). پراکنش بزرگ ترین و تیره ترین زیباموش، گونه *C. grandis*، درشمال ایران، کوههای البرز مرکزی دراستان تهران (فشم) و استان مازندران در عباس آباد می باشد (۱۸) (شکل ۱). این گونه در ابتدا به عنوان زیرگونه ای از گونه *C. bailwardi* معرفی گردید (۳ و ۱۶) اما در ادامه تحقیقات، پاولینو و همکارانش (۱۹۹۵) آن را به عنوان گونه ای مجزا طبقه بندی کردند. کوچک ترین زیبا موش، گونه *C. hotsoni* است که از حوالی محل تایپ آن درجنوب غرب پاکستان و استان بلوچستان در جنوب شرق ایران گزارش شده است (۱۸) (شکل ۱). این گونه به عنوان زیرگونه ای از *C. bailwardi* طبقه بندی شده و در بعضی منابع مترادف گونه *C. mystax* در نظر گرفته شده است (۳، ۴، ۵ و ۶). پراکنش گونه *C. urartensis*، جنوب آذربایجان (نخجوان) و شمال غرب ایران (شمال غرب استان آذربایجان) می باشد (۱۸) (شکل ۱). این گونه از نظرریختی شبیه به گونه *C. mystax* و گونه *C. elburzensis* می باشد (۲۳). تاکنون مطالعه مولکولی با استفاده از تکنیک تعیین توالی DNA برروی گونه های ایرانی زیبا موش انجام نشده است. دراین مطالعه سعی شده است تا با استفاده از ژن میتوکندریایی *CO1* که ژنی متداول در مطالعات آرایه شناسی مولکولی جانوران است، وضعیت آرایه شناسی گونه های زیباموش ایران وشاخه های تبارزایشی آن مشخص گردد.

مواد و روشها

جمع آوری نمونه ها و مناطق نمونه برداری: در این مطالعه تعداد ۲۴ نمونه از مناطق صخره ای شهرستان ارسنجان (هشت عدد)، تربت جام (شش عدد)، مشهد (هشت عدد) وسراوان (دو عدد) به کمک تله های زنده گیر در مدت یک سال جمع آوری گردید. تله ها در شب کارگذاشته شده و صبح روز بعد جمع آوری شدند. اغلب از پفک و در بعضی موارد از نان و سوسیس سرخ شده در روغن حیوانی، سیب زمینی وخیار به عنوان طعمه استفاده گردید. نمونه ها پس از صید، درون قفسهایی نگهداری شده و به آزمایشگاه جهت مطالعات بعدی انتقال داده شدند. سایر نمونه ها از بانک بافتی گروه پژوهشی جونده شناسی در دانشگاه فردوسی مشهد استفاده گردید که قبلا توسط این گروه جمع آوری شده بود (جدول۱).

روش های آزمایشگاهی: پس از انتقال نمونه ها به آزمایشگاه از بافت های قلب، کبد و ماهیچه آنها قطعاتی جهت مطالعات مولکولی جدا گردید و درالکل ۹۶ درصد نگهداری شد. استخراج ژنوم DNA ازنمونه های بافتی قلب یا ماهیچه با استفاده از روش ساده نمکی انجام شد (۲). براساس این روش نمونه های بافتی پس از قرار گرفتن در درون بافراستخراج که شامل سولفات دودسیل

سدیم (SDS) و ۰/۵ میلی گرم درمیلی لیتر پروتئیناز K بود به مدت ۱۲ ساعت درون انکوباسیون با دمای ۵۵ درجه سانتی گراد قرار می گرفت. پس از آن مراحل بعدی استخراج مطابق با دستورالعمل مربوطه (۲) انجام شد. تعداد دو نمونه بافتی از هرکدام از جمعیتهای درگز، سرخس، بجنورد، مشهد، تربت جام، کرمان، سه نمونه بافتی از هر کدام از جمعیتهای ارسنجان، تهران، یزد و چهار نمونه بافتی از جمعیت سراوان جهت استخراج مورد استفاده قرار گرفت. تعداد ۶۳۷ bp از زیرواحد اول ژن میتوکندریایی سیتوکروم اکسیداز (*CO1*) با استفاده از پرایمر های VF1d(5′-TTC TCA ACC AAC CAC AAR GAY ATY GG-3′ و VR1d (5′-TAG ACT TCT GGG TGG CCR AAR AAY CA-3′) تکثیرگردید (۱۷).



شکل ۱- نقشه پراکنش هشت گونه زیباموش در غرب و شمال پاکستان، سرتاسر افغانستان، ایران، جنوب سوریه، جنوب آذربایجان(نخجوان)، غرب و جنوب غرب ترکمنستان (۱۸).

جدول ۱- تعداد نمونه های صیدشده از جمعیتهای زیباموش به همراه مشخصات مربوط به محل نمونه برداری آنها.

محل نمونه برداری	جمع آوری کننده	تعداد	نام نمونه	مختصات جغرافیایی
فارس، شهرستان ارسنجان، زیاد آباد	شهابی	۸	*C. bailwardi*	29º 48' N, 53º 14' E
کرمان، شهرستان بافت، انجرک	درویش، آذرپیرا	۷	*C. bailwardi*	28º 47' N, 56º 20' E
بلوچستان، شهرستان سراوان، پسکوه	درویش، شهابی	۷	*C. hotsoni*	27º 18'N, 61º 46'E
یزد، اسلامیه و فخرآباد	درویش، سیاه سروی	۸	*C. elburzensis*	31º 40' N, 54º 19' E
تهران، فشم	سیاه سروی	۶	*C. grandis*	29º 48' N, 53º 14' E
خراسان، شهرستان تربت جام، نصرآباد	شهابی	۶	*C. elburzensis*	35º 9' N, 60º 24' E
خراسان، شهرستان مشهد، خواجه مراد	سیاه سروی، شهابی	۱۵	*C. elburzensis*	36º 15' N, 59º 34' E
خراسان، شهرستان سرخس، آق دربند	سیاه سروی	۱۰	*C. elburzensis*	36º 30' N, 61º 7' E
خراسان، شهرستان درگز، تندوره	درویش	۳	*C. elburzensis*	37º 26' N, 58º 43'E
خراسان، شهرستان بجنورد	سیاه سروی	۶	*C. elburzensis*	37º 29' N, 57º 17' E

واکنش PCR شامل ۲۱ میکرولیتر آب ،یک ماکرولیتر از هر پرایمر(۱۰ µM) و دو ماکرولیتر از DNA استخراج شده (100 ng/µl)، درون ظرفهای حاوی مواد PCR خشک (بافر PCR، dNTP، آنزیم *Taq* DNA پلیمراز و $MgCl_2$) که به صورت آماده خریداری شده بود انجام گردید. برنامه انجام PCR برای ژن *CO1* طبق دستورالعمل ناتالیا وهمکاران (۲۰۰۶) پیروی گردید(۱۷). تعیین توالی محصولات تمیز شده PCR براساس دستورالعمل علی آبادیان وهمکاران (۲۰۰۷) انجام و برای توالی یابی به شرکت کره ای ماکروژن در کره فرستاده شد (۱).

روشهای تحلیل داده های مولکولی: توالیهای ژن *CO1* به طور چشمی تصحیح و با کمک نرم افزار Bioedite (۸) مرتب شدند. سپس آنالیزهای حداکثر پارسیمونی(Maximum Parsimony) و حداکثراحتمال (Maximum Likelihood) توسط نرم افزار Mega4, PAUP 4.0b10 (۲۲) انجام شد. تعیین مدلها و پارامترهای حداکثر احتمال به وسیله آزمون مرتبه ای نسبت احتمالات، و با کمک نرم افزار مدل تست (Model test) (۲۱) انجام گردید. برای آزمایش قابلیت اطمینان یا آزمون تأییدی گره ها ازبوت استراپ با ۵۰۰ و۲۰۰۰ بارتکرار به ترتیب در آنالیز حداکثر احتمال وحداکثر پارسیمونی استفاده شد. آنالیز Bayesian به روش Markov Chain Monte Carlo توسط نرم افزار Mr Bayes 3.1.1 (۱۰) انجام گردید. در فرایند Markov Chain Monte Carlo، چهار زنجیره به طور همزمان برای دو میلیون نسل، با درختان نمونه برداری شده در هر صد نسل(منتج شده به ده هزار درخت) با استفاده از احتمالات پیش فرض راه اندازی شد. آنالیزها برروی یک درخت آغاز کننده تصادفی انجام گرفت و مقادیر احتمالات پسین از درختان باقیمانده محاسبه شد. فاصله مولکولی(Kimura -2- parameter) بین گونه ای و درون گونه ای توسط نرم افزار PAUP 4.0b10 (۲۲) محاسبه گردید و قطبیت صفات با استفاده از توالیهای موش خانگی(*Mus musculus*) به نمایندگی خانواده Muridae، هامسترمهاجر(*Cricetulus migratorius*) نمایشگر خانواده Cricetidae و میکروتوس ترانسکاسپیکوس (*Microtus transcaspicus*) نمایشگر خانواده Arvicolainae به عنوان گروه خارجی، مشخص شد.

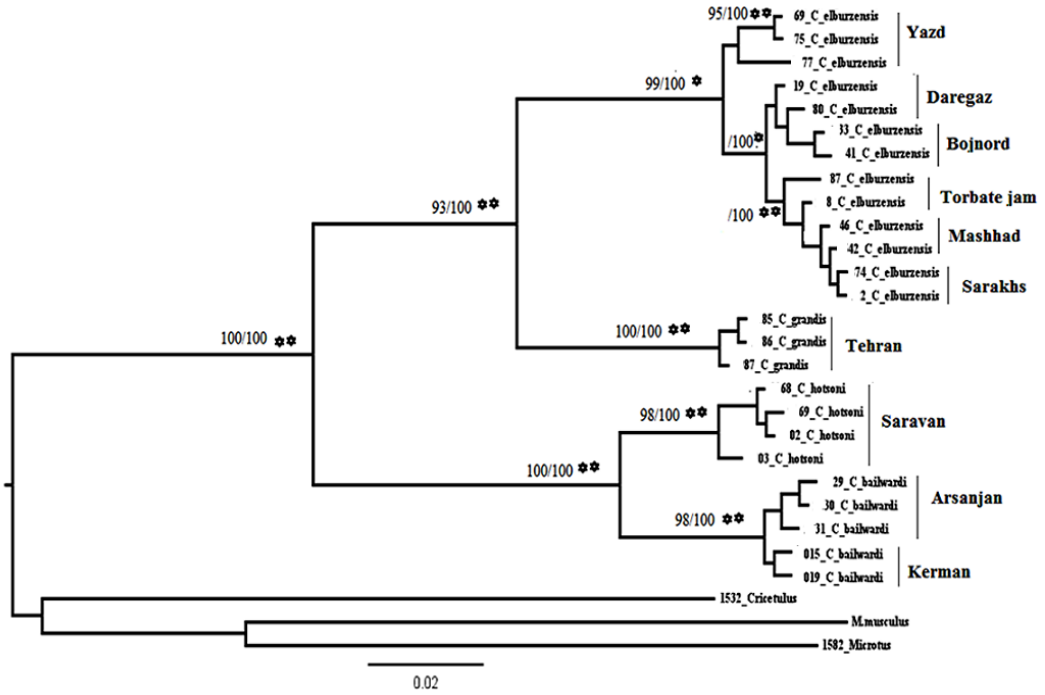
نتایج

از ۶۳۷ نوکلئوتید ژن *CO1* تعیین توالی شده در ۲۸ نمونه با احتساب توالیهای سه گروه خارجی در آنالیز مولکولی، ۴۲۵ سایت مونومورف یا غیر متغیر و ۲۱۲ سایت پلی مورف یا متغیر بودند. تعداد هاپلوتیپهای به دست آمده ۲۲ عدد بود که با حذف سه هاپلوتیپ گروه خارجی تعداد ۱۹ هاپلوتیپ در گونه های زیباموش تعیین گردید. از ۶۰ سایت متغیر یگانه، ۵۱ سایت دارای دو واریانت ، هشت سایت دارای سه واریانت و یک سایت دارای چهارواریانت بود. میانگین فاصله مولکولی بین گونه ای(Kimura-2-parameter) بیانگرآن است که دوگونه *C. bailwardi* و *C. hotsoni* و سپس دو گونه *C. grandis* و *C. elburzensis*کمترین واگرایی ژنتیکی را از یکدیگر نسبت به گونه های دیگر نشان می دهند. *C. grandis* و *C. bailwardi*نیز بیشترین واگرایی را از یکدیگر دارا می باشند. علاوه بر این میانگین فاصله مولکولی درون گونه ای بیانگر بیشترین و کمترین واگرایی ژنتیکی درون گونه ای به ترتیب در افراد گونه

C. elburzensis و گونه *C. grandis* است (جدول ۲).

آنالیز Bayesian : درخت حاصل از آنالیز Bayesian، صحت وجود چهار گونه ناهم جای مورد مطالعه زیباموش را تأیید کرده و دوکلاد اصلی شمالی و جنوبی را تشکیل می دهد. کلاد شمالی شامل دو گونه *C. elburzensis* و *C. grandis* و کلاد جنوبی از دوگونه *C. hotsoni* و *C. bailwardi* تشکیل شده است (شکل۲). نمونه های مربوط به مناطق مشهد، سرخس، تربت جام، درگز، بجنورد و یزد

با هم گونه *C. elburzensis* می باشند. بنابراین ناحیه پراکندگی این گونه از شمال خراسان تا یزد ادامه می یابد. نمونه های مربوط به تهران جزء گونه *C. grandis*، نمونه های سراوان جزء گونه *C. hotsoni* و نمونه های کرمان و ارسنجان (فارس) جزء گونه *C. bailwardi* می باشند. چهار خوشه گونه ای هرکدام دارای مقادیر تأییدی Bayesian بالای۹۵ می باشند و بنابراین قابلیت اطمینان آنها بالا و معنادار می باشند (شکل۲).



شکل۲- درخت حاصل از آنالیز Bayesian به همراه مقادیر تأییدی Bayesian بالاتراز ۹۵(یک ستاره)، بالاتراز۹۹(دوستاره) و مقادیر بوت استراپ مربوط به دودرخت دیگر(حداکثر احتمال/ حداکثرپارسیمونی) که نشان دهنده میزان تأیید گره ها درهردرخت مربوطه می باشند.

جدول ۲- میانگین فاصله ژنتیکی(Kimura-2-Parameter) بین گونه ای (نازک در پایین قطر جدول) و درون گونه ای (ضخیم در قطر جدول) در جنس زیباموش.

	C. elburzensis	*C. grandis*	*C. bailwardi*	*C. hotsoni*
C. elburzensis	۰/۰۰۹			
C. grandis	۰/۰۷۹	۰/۰۰۱		
C. bailwardi	۰/۱۳۸	۰/۱۳۹	۰/۰۰۵	
C. hotsoni	۰/۱۳۷	۰/۱۳۰	۰/۰۴۶	۰/۰۰۴

آنالیز حداکثرپارسیمونی: تعداد سایتهای پارسیمونی اطلاع بخش برابر با ۱۵۲ بوده که ۹۴ سایت آن دارای دو واریانت، ۴۷ سایت دارای سه واریانت و ۱۱ سایت دارای چهارواریانت است. تعداد سایتهای ثابت برابر با ۴۲۶ و تعداد سایتهای متغیر غیرپارسیمونی برابر با ۶۰ می باشد. ۸۳ درخت پارسیمونی به دست آمد و در نهایت درخت

حداکثر پارسیمونی اجماع (50% majority-rule Consensus) همراه با آزمون تأییدی بوت استراپ(شکل۲) رسم گردید که نتایج حاصل از آنالیز Bayesian را به خوبی تأیید می کند.

آنالیز حداکثر احتمال: پنجاه و شش مدل برای توالیهای نوکلئوتیدی مورد آزمون قرار گرفت که درنهایت براساس معیار AKAIKE INFORMATION CRITERION (AIC) مدل GTR+I+G انتخاب شد. فرکانس بازهای A,C,G,T به ترتیب برابربا ۰/۲۷۸۳، ۰/۱۵۸۸، ۰/۲۷۳۵، ۰/۲۸۹۳، نسبت سایتهای نامتغیر به کل سایتها برابربا ۰/۵۴۵۴ و نسبت سایتهای متغیر به کل سایتها (پارامترشکل توزیع گاما) برابر۱/۳۴۳۶می باشد. درخت اجماع حداکثر احتمال (50% majority-rule consensus) با بوت استراپ ۵۰۰ مرتبه تکرار (شکل۲)، براساس مدل GTR+I+G نتایج به دست آمده از آنالیز Bayesian وحداکثرپارسیمونی را تأیید می کند.

بحث ونتیجه گیری

مطالعاتی که تاکنون بر روی جنس زیباموش انجام شده بر اساس پراکنش جغرافیایی، کاریولوژی، مورفومتری و آنالیزهای مولکولی قدیمی شبیه RFLP بوده است. گونه های جنس زیباموش از لحاظ ظاهری شباهت زیادی به یکدیگر دارند و روشهای مورفولوژیکی، روشهای مفید و قابل اطمینان برای تشخیص گونه های این جنس از یکدیگر نیستند. تاکنون مطالعه مولکولی با استفاده از تکنیک تعیین توالی DNA برروی گونه های ایرانی زیباموش انجام نشده است. در این مطالعه از ژن میتوکندریایی *CO1* برای مشخص شدن وضعیت تبارزایی و آرایه شناسی این جنس در ایران به این علت استفاده گردید که اولاً پرایمرهای عمومی در تکثیر این ژن خیلی قوی هستند و قادرند انتهای ´۵ خود را ترمیم کنند. ثانیاً ژن *CO1* به نظر می رسد که نسبت به دیگر ژنهای میتوکندریایی، دارای محدوده بیشتری از نشانه های فیلوژنتیکی است (۹). در واقع تکامل این ژن به اندازه ی کافی سریع است که نه تنها سبب جدا کردن گونه های بسیار نزدیک به هم می شود بلکه همچنین گروههای فیلوجغرافیایی درون یک گونه را نیز از هم جدا می کند. همچنین علت استفاده از ژن *CO1* بالابودن سرعت تکاملی این ژن و قابل توجه بودن جانشینی بازی در جایگاه سوم نوکلئوتیدی در این ژن می باشد. حضور پرایمر های قوی که سبب آسان تر شدن PCR در این مکان می شود دلیل دیگری در انتخاب این ژن می باشد (۹). هرسه درخت حداکثرپارسیمونی، حداکثر احتمال و درخت Bayesian، دوکلاد اصلی شمالی و جنوبی و وجود چهار گونه ناهم جا (Allopatric) مورد مطالعه زیباموش را نشان می دهند. مقادیر تأییدی Bayesian همراه با آزمونهای تأییدی بوت استراپ در دو درخت حداکثر احتمال و حداکثرپارسیمونی برروی درخت Bayesian نشان داده شده است (شکل۲). چهار خوشه گونه ای هر کدام دارای مقادیر تأییدی Bayesian و بوت استراپ بالای ۹۸ می باشند. بنابراین قابلیت اطمینان آنها بالا و به عنوان چهارگونه مجزا درهرسه درخت به خوبی تأیید می شوند. دو کلاد شمالی وجنوبی نیز با مقادیر تأییدی Bayesian برابر۱۰۰و بوت استراپ های ۹۳ و۱۰۰ به خوبی مورد تأیید می باشند. همچنین این درخت نشان می دهد که کلاد جنوبی قدیمی تر از کلاد شمالی می باشد.گونه ***C. bailwardi*** در کلاد جنوبی از لحاظ قدمت قدیمی تر بوده در حالی که درکلاد شمالی، گونه ***C. elburzensis*** قدیمی تر می باشد. این مطالعه فقط برحسب چهارگونه زیباموش پراکنده در فلات ایران انجام گردید. بنابراین بدون داشتن گونه های دیگر نمی توان درمورد منشاء اولیه و مسیرانتشار گونه های زیبا موش دقیقا صحبت کرد. به نظر می رسد کویر مرکزی وکویرلوت درایران مهم ترین نقش را درجدایی این دو کلاد شمالی و جنوبی داشته اند. پراکنش گونه *C. elburzensis*، قبلاً کوههای شمال و شمال شرق ایران (از دامنه های جنوبی کوههای البرز در استان سمنان، حوالی

شهر سمنان و اطراف سنگسر به سمت شرق، از شمال استان خراسان در شمال شرق ایران تا مشهد)، جنوب ترکمنستان وشمال غرب افغانستان شناخته شده بود (۲۴). اما این مطالعه مولکولی نشان می دهد که نمونه های استان یزد جزء این گونه می باشند و بنابراین دامنه پراکنش این گونه از شمال شرق تا مرکز ایران (استان خراسان رضوی، خراسان شمالی و یزد) گسترش دارد وجمعیت یزد به عنوان یک ایزولای جغرافیایی از سمت کوههای البرزی کاملاً جداست. بنابراین وضعیت فیلوجغرافیایی این گونه درایران نامشخص است و نیاز به مطالعات مولکولی بیشتری دارد.

تشکر و قدردانی:

بدین وسیله از زحمات آقایان سیاه سروی، آذرپیرا و همچمین محیط بانان اداره محیط زیست سراوان که در امر جمع آوری نمونه های زیبا موش، کمک نموده اند تشکر و قدردانی می شود. این پروژه ازمحل اعتبارات طرح تحقیقاتی خانواده زیباموشیان (Calomyscidae) توسط گروه پژوهشی جونده شناسی دانشگاه فردوسی مشهد اجرا شده است.

منابع

1. Aliabadian, M., Kaboli, M., Prodon, R., Nijman, V. and Vences, M. (2007) Phylogeny of Palaearctic wheatears (genus *Oenanthe*) — Congruence between morphometric and molecular data. Molecular Phylogenetics and Evolution, 42: 665–675.
2. Bruford, M.W., Hanotte, O., Brokfield, J.F.Y., Burke, T., 1992. Single-locus and multilocus DNA fingerprinting. In: Hoelzel, A.R. (Ed.), Molecular Genetic Analysis of Populations: A Practical Approach. Oxford University Press, New York. pp. 225–269.
3. Corbet, G. B., 1978: The Mammals of the Palaearctic Region: A Taxonomic Review. Cornell University Press.
4. Ellerman, J. (1941). The Families and Genera of Living Rodents, vol. 2. London: British Museum (Natural History).
5. Ellerman, J. R. and Morrison-Scott, T. C. S. 1951. Checklist of Palaearctic and Indian Mammals 1758 to 1946 .Trustees of the British Museum (Natural History), London, 810 pp.
6. Ellerman, J. R. (1961). In the fauna of India including Pakistan, Burma and Ceylon. Mammalia. Second ed. Manager of Publications, Zoological Survey of India, Calcutta, Vol.3 (in 2 parts), 1:1-482; 2:483-884.
7. Graphodatsky, A. S., Sablina, O. V., Meyer, M. N., Malikov, V. G., Isakova, E. A., Trifonvov, V. A., Polyakov, A. V., Lushnikova, T. P., Vorobieva, N. A., Serdyukova, P. L., Perelman, P. L., Borodin, P. M., Benda, P., Frynta, D., Leikepova, L., Munelinger, P., Pialek, J., Sadlova, J., Zima, J. (2000) Comparative cytogenetics of hamsters of the genus *Calomyscus*. *Cytogenet Cell Genet*. **88**: 296-304.
8. Hall, T.A., 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98.
9. Hebert, P. D. N., A, Cywinska., S. L. Ball, and J. R. deWaard. 2002. Biological identifications through DNA barcodes. The Royal Society.
10. Huelsenbeck, J.P., Ronquist, F., 2001. MRBAYES: Bayesian inference of phylogeny. Bioinformatics 17, 754–755.
11. Jansa, S. and Weksler, M. (2004) Phylogeny of muroid rodents: relationships within and among major lineages as determined by IRBP gene sequences. Mol Phylogenet Evol. 31: 256-276.
12. Lebedev, V. S., Pavlinov, I. ya., Meyer, M. N., Malikov, V. G. (1998) Cranometric analysis of mouse-like hamsters of the genus *Calomyscus* (Cricetidae). *Zool Zhurnal*. **59**: 312-376.
13. Malikov, V. G., Meyer, M. N., Graphodatsky, A. S., Polyakov, A. V., Sablina, O. V., Vaziri, A. sh., Nazari, F. and Zima, J. (1999) On a taxonomic position of some karyomorphs belonging to genus *Calomyscus* (Rodentia, Cricetidae). Proceedings of the Zoological Institute RAS, 281: 27-32.
14. Meyer, M. N., Malikov, V. G. (1996) Peculiarities of biology and post natal otogenesis in *Calomyscus* (Cricetidae, *Calomyscus*). *Zool Zhurnal*. **75**: 1852-1862.
15. Morshed, S. and Patton, J. (2002). New records of mammals from Iran with systematic comments on hedgehogs (Erinaceidae) and mouse-like hamsters (*Calomyscus*, Muridae). Middle East J. 26: 49-58.

16. Musser, G. and Carleton, M. (1993) Mammal species of the world: a taxonomic and geographic reference Family Muridae. Smithsonian Institution Press, Pp: 501-755.
17. Natalia, V. L., Jeremy, R. D. and Paul, D. N. (2006). An inexpensive, automation-friendly protocol for recovering high-quality DNA. Molecular Ecology Notes. 6: 998–1002.
18. Norris, R. W. Woods, C. A. and Kilpatrick, C .W. (2008) Morphological and molecular definition of *Calomyscus hotsoni* (Rodentia: Muroidea :Calomyscidae). Journal of Mammalogy. 89:306-315.
19. Pavlinov, I. Y., Yakhontov, E. L. and Agadzkanyan, A. K. (1995) Mammals of Eurasia, I. Rodentia. Taxonomic and geographic guide. Archives of the Zoological Museum, Moscow State University, 32: 289pp.
20. Peshev, D. (1991). On the systematic position of the mouse-like hamster *Calomyscus bailwardi* (Cricetidae, Rodentia) from the near-east and middle Asia. Mammalia. 55: 107-112.
21. Posada, D., Crandall, K.A., 1998. MODELTEST: testing the model of DNA substitution. Bioinformatics 14, 817–818.
22. Swofford, D.L., 2002. PAUP* Phylogentic Analyses Using Parsimony (and other methods), Version 4b10. Sinauer associates, Sunderland, MA.
23. Vorontsov, N. N., Kartavtseva, I. and Potapova, E. G. 1979. Systematics of the genus *Calomyscus* Karyological differentiation of the sibling species from Transcaucasia and Turkmenia and a review of species in the genus *Calomyscus*. Zoologicheskij Zhurnal. 58 :1391-1397.
24. Wilson, D. E. and Reeder, D. M. (2005) Mammal species of the world, a taxonomic and geographic references. 2nd Edition, Simithsonian Instituation Press.

Phylogeny of Genus *Calomyscus* (Rodentia: Calomyscidae) from Iranian plateau, inferred from mitochondrial *CO1* gene.

Shahabi S.[1], Darvish J.[1,2] and Aliabadian M.[1]

1 - Biology Dept., Ferdowsi Uniwersity, Mashhad, I.R. of IRAN

2 - Rodentology Research Dept., Ferdowsi University, Mashhad, I.R. of IRAN

Abstract

The genus *Calomyscus* has long been considered monospecies and represented by the species *C. bailwardi*. Recently, eight geographic species have been recognized. Of which five species distributed in Iran: *C. bailwardi, C. hotsoni*, *C. urartensis*, *C. elburzensis* and *C. grandis*. A mitochondrial gene (CO1) including 637 base pairs for 25 specimens of four *Calomyscus* species was amplified. Maximum Parsimony, Bayesian and Maximum Likelihood analyses supported the current taxonomy of four studied Iranian species for *Calomyscus*, i.e., the recognition of the allopatric populations as distinct species. The molecular phylogeny derived from analyses of *CO1* sequences divides the four taxa into two major clades. One clade including *C. bailwardi*, *C. hotsoni* and other clade is composed of *C. elburzensis* and *C. grandis*. The molecular data further indicated that *C. elburzensis* is distributed from northeast to central Iran (Razavi Khorasan, Northern Khorasan and Yazd Provinces) and separate Yazd population as an isolated geographically population from Elburze Mountains.

Keywords: Rodentia, Calomyscidea, *Calomyscus,* Phylogeny, Systematics, *CO1*