Nova Biologica Reperta 5 (2): 155-167 (2018)
یافته‌های نوین در علوم زیستی، جلد ۵، شمارهٔ ۲: ۱۶۷-۱۵۵

بررسی تاریخ تکاملی زیرگونهٔ کمرکولی جنگلی در کوه‌های زاگرس، ایران

مسعود نظری‌زاده[۱]، محمد کابلی[۱*]، حمیدرضا رضایی[۲]، جلیل ایمانی[۳]، علیرضا محمدی[۱] و سعید خاکی[۱]

دریافت: ۱۳۹۵/۱۰/۲۱/ ویرایش: ۱۳۹۶/۹/۲۵/ پذیرش: ۱۳۹۷/۲/۲۶/ انتشار: ۱۳۹۷/۶/۲۹

[۱]گروه محیط‌زیست دانشکدهٔ منابع طبیعی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران
[۲]گروه محیط‌زیست، دانشکدهٔ شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
[۳]گروه محیط‌زیست و انرژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، تهران، ایران
[*]مسئول مکاتبات: mkaboli@ut.ac.ir

چکیده. کمرکولی جنگلی در ناحیهٔ اوراسیا با حدود ۱۸ زیرگونه از گسترش وسیعی در جنگل‌های خزان‌کنندهٔ پهن‌برگ برخوردار است. هدف از پژوهش حاضر بررسی ساختار ژنتیکی و روابط تکاملی زیرگونهٔ کمرکولی جنگلی رشته کوه زاگرس در مقایسه با کلادهای اروپایی، آسیایی و قفقازی است. تعداد ۱۰ فرد از دو ناحیه زاگرس شمالی در استان کرمانشاه و زاگرس جنوبی در استان کهگیلویه و بویراحمد با مجوز از سازمان حفاظت محیط زیست زنده‌گیری و نمونه‌های خون آنها برداشت شد. مطالعات ژنتیکی با استفاده از ۱۳۶ توالی کامل ژن ND2 (۱۰۴۱جفت باز) مستخرج از بانک ژن و ۱۰ توالی از رشته کوه زاگرس تحت بررسی قرار گرفت. تحلیل‌های تبارشناسی با استفاده از مدل TRN+G و رسم درخت بیزین و حداکثر درست نمایی انجام گرفت. همچنین روابط بین هاپلوتایپ‌ها با استفاده الگوریتم‌های اتصال میانه و پارسیمونی تحت بررسی قرار گرفت. نتایج این مطالعه چهار هاپلوتایپ منحصر به فرد را برای جمعیت‌های زاگرس نشان داد. همچنین تحلیل‌های تبارشناسی حاکی از آن بود که جمعیت‌های زاگرس از تبار قفقازی تفکیک‌پذیر است. نتایج آمارهٔ F_{ST} حاصل از تحلیل واریانس مولکولی تغییرات معنی‌دار ساختار ژنتیکی را در بین جمعیت‌های مختلف کمرکولی جنگلی را نشان داد. آمارهٔ F_{CT} نیز حاکی از بروز تغییرات ژنتیکی قابل توجه در بین جمعیت‌های مختلف تبارهای آسیا، اروپا، قفقاز و زاگرس بود. در نهایت جمعیت‌های مختلف کمرکولی جنگلی در اوراسیا را می‌توان به سه گونهٔ تکامل نژادی تقسیم نمود و زیرگونه‌های *S.e. persica* و *S.e. caucasian* را به عنوان دو گونهٔ تکامل نژادی مشترک در نظر گرفت.

واژه‌های کلیدی. اوراسیا، روابط فیلوژنی، گونهٔ تکامل نژادی، میتوکندری، نشانگر ND2

Evolutionary history of subspecies of Eurasian nuthatches (*Sitta europaea persica*) from Zagros Mountains, Iran

Masoud Nazarizadeh[1], Mohammad Kaboli[1*], Hamid Reza Rezaei[2], Jalil Imani[3], Alireza Mohmmadi[1] & Saeid Khaki[1]

Received 10.01.2017/ Revised 16.12.2017/ Accepted 16.05.2018 / Published 20.09.2018

[1]Department of Environmental Sciences, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran
[2]Department of Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
[3]Department of Environment and Energy, Islamic Azad University, Tehran, Iran
Correspondent author: mkaboli@ut.ac.ir

Abstract. *Sitta europaea*, with 18 subspecies, has a wide distribution in deciduous forests of Eurasia. The aim of this study was to evaluate the taxonomic and phylogenetic relationships of this subspecies to European, Asian as well as Caucasian clades. 10 individuals of two populations from Zagros forests in Kermanshah and Kohgiluyeh and Boyer-Ahmad Provinces were captured with permission from Iran Department of Environment and their blood samples were collected. Furthermore, we used ND2 sequence data (1041 bp) for 136 sequences from GenBank and 10 sequences from Zagros Mts. Genetic variations and Genealogical analysis was calculated using complete ND2 gene sequence (1041bp) and TRN+G model, Bayesian trees and maximum likelihood, respectively. Median joining algorithm showed the relationships among haplotypes. We found four new haplotypes for the Zagros populations. Phylogenetic analysis indicated that Zagros populations were distinct from Caucasian clade. F_{ST} statistical values, resulting from the analysis of molecular variance represented significant variations in genetic structure among Eurasian Nuthatch populations. Moreover, F_{CT} revealed significant variation among European, Asian and Caucasian clades. Our result suggests that Eurasian Nuthatch populations in Eurasia comprise three phylogenetic species, and likely biological species. However, the previous nomenclature subspecies, *S.e. caucasian* and *S.e. persica*, can be regarded as a common phylogenetic species.

Keywords. Eurasia, mitocondria, ND2 marker, phylogenetic relationship, phylogenetic species

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-06]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1397.5.2.2.2]
[DOI: 10.29252/nbr.5.2.155]

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-06]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1397.5.2.2.2]
[DOI: 10.29252/nbr.5.2.155]

مقدمه

کمرکولی جنگلی (*Sitta europaea* Linnaeus, 1758) پرندهٔ مقیم زیستگاه‌های جنگلی پهن‌برگ بوده و با ۱۸ زیرگونه در دامنهٔ وسیعی از اوراسیا (شرق سیبری تا غرب اورپا) پراکنش دارد (Matthysen & Currie, 1996; Pravosudov, 1993; Clements *et al*., 2014). این پرنده بعنوان یک گونهٔ کانونی نقشی اساسی در طراحی راهبردهای حفاظت از تنوع زیستی ایفا می‌کند (Bianconi *et al*., 2003; Matthysen & Currie, 1996; Mortelliti *et al*., 2010; Zuckerberg *et al*., 2014). چراکه به‌عنوان یک گونهٔ شاخص می‌تواند وضعیت سیستم‌های بوم‌شناختی پیچیده را منعکس سازد و اطلاعات مناسبی از آسیب جمعیتی نسبت به تکه‌شدگی زیستگاه فراهم سازد (Baguette *et al*., 2012; Bianconi *et al*., 2003; Matthysen *et al*., 1995; Mortelliti *et al*., 2010). از طرفی هر گونه طرح حفاظتی برای گونه‌های چندسنخی بایستی براساس روابط تکاملی و خویشاوندی انجام بگیرید تا فرایندهای تکاملی، جمعیت‌های مختلف این گونه را در جهت افزایش سازگاری با تغییرات محیطی سوق می‌دهد (Zink *et al*., 2000; Hung *et al*., 2012).

به‌طور کلی زیرگونه‌ها در صورتی که نشان‌دهندهٔ واحدهای مستقل تاریخی باشند می‌توانند سه نقش عمل کردی در آرایه‌شناسی، تکامل و حفاظت از تنوع زیستی ایفا کنند (Zink, 2004). اگرچه مفهوم زیرگونه براساس رده‌بندی لینه با ظهور مفهوم گونهٔ زیست‌شناختی در اواسط قرن ۲۰ میلادی رواج یافت، ولی با پیشرفت علم ژنتیک جمعیت مفهوم زیرگونه شکل تازه به خود گرفت (Avise & Wollenberg, 1997; Mayr, 1970; Mulcahy, 2008). بدین ترتیب در سال‌های اخیر مطالعات متعدد ژنتیکی نشان دادند که تمامی زیرگونه‌های یک گونه نمی‌توانند بعنوان واحدهای تکاملی در نظر گرفته شوند (Burbrink *et al*., 2000; Mulcahy, 2008). به‌طوریکه بیش از ۹۷ درصد زیرگونه‌های پرندگان و بخصوص گنجشک‌سانان نشان دهندهٔ واحدهای تکاملی مجزا نبودند (Zink, 2004). لذا بازنگری آرایه‌شناختی زیرگونه‌ها و یا حتی بررسی روابط خویشاوندی بر اساس داده‌های ژنتیکی و تبارشناسی بیش از پیش ضرورت یافت.

فرایندهای جهش، انتخاب، مهاجرت و رانش ژنتیکی منابع اصلی ایجاد تغییرات ژنتیکی در یک جمعیت یا جمعیت‌های یک گونه به شمار می‌رود. تعقیب این تغییرات از طریق نشانگرهای مولکولی امکان‌پذیر است. دی‌ان‌ای میتوکندریایی بعنوان یک نشانگر مولکولی این تغییرات را در جمعیت‌ها و گونه‌ها نشان می‌دهد و برای تشخیص گروه‌هایی که برای ۱۰۰۰ تا ۱۰۰۰۰ سال از هم جدا بوده‌اند مورد استفاده قرار گرفته است (Hiendleder *et al*., 1998). ND2 میتوکندریایی در راستهٔ گنجشک‌شکلان دارای تنوع ژنتیکی بالاتری نسبت به نشانگرهای اینترون و اگزون بوده است (Hung *et al*., 2012). همچنین تغییرات نوکلئوتیدی در این ژن بیشتر تحت تأثیر جریان ژنی بوده است و میزان کمتری به فرایند انتخاب طبیعی وابسته است (Hung & Zink, 2014). حتی عمل‌کرد ژن ND2 در شناسایی گنجشک‌شکلان و DNA بارکدینگ آنها به مراتب بهتر از ژن COI گزارش شده است (Nouri & Aliabadian, 2014).

مطالعات محققان در مورد جمعیت‌های کمرکولی جنگلی وجود ابهاماتی را در آرایه‌شناختی زیرگونه‌های آن در گستره پراکنشش آشکار ساخته است. بر این اساس تا اواخر دهۀ ۱۹۵۰ وجود ۴۰ زیرگونه در محدودهٔ پراکنش این گونه گزارش شده است (Vaurie, 1950). این درحالی است که Clements و همکاران (2014) ۱۸ زیرگونه برای آن در نظر گرفتند که زیرگونهٔ *S.e persica* را بعنوان یک زیر گونهٔ منحصر به فرد در زیستگاه‌های جنگلی رشته کوه زاگرس معرفی نمودند. از سوی دیگر Harrap وQuinn (1995) کمرکولی‌های جنگلی اوراسیا را بر اساس صفات ریخت‌شناختی به سه دسته شامل *caesia* (زیرتنه نخودی و زیر گلو سفید رنگ)، *europaea* (زیرتنه سفید رنگ) و *sinensis* (زیرتنه و گلو زرد رنگ) تقسیم کردند. بر مبنای این طبقه‌بندی، کمرکولی‌های جنگلی زاگرس و البزر در گروه *caesia* جای گرفتند. همچنین، علیرغم مطالعات گسترده‌ای در زمینهٔ ژنتیک جمعیت کمرکولی‌های جنگلی جهان صورت گرفته (Hung *et al*., 2012; Zink *et al*., 2006) ولی فقدان اطلاعات ژنتیکی در زمینهٔ روابط خویشاوندی و تکاملی جمعیت‌های این زیرگونه در ایران به چشم می‌خورد. لذا این مطالعه با هدف بررسی ساختار ژنتیکی و آرایه‌شناختی جمعیت‌های

کمرکولی جنگلی زاگرس *S.e. persica* با استفاده از توالی کامل ژن ND2 (1041 bp) انجام شده است.

مواد و روش‌ها

گونهٔ تحت مطالعه

کمرکولی جنگلی، متوسط جثه با سر بزرگ، دم کوتاه و منقار قوی، ضخیم، به نسبت دراز و مستقیم است. نر و ماده تقریباً همشکل و فاقد تغییرات فصلی هستند. در پرندهٔ نر بالغ در دورهٔ جوجه‌آوری تارک سر، پس گردن، روتنه و پوشپرهای روی بال‌ها خاکستری مایل به آبی است. نوار چشمی سیاه و بلندی دارد که از جلوی پیشانی شروع و تا دو طرف گردن امتداد یافته است. پرهای کناری دم تیره است، نزدیک به انتها خال‌های سفید دارند و نوک آنها خاکستری دیده می‌شود. زیرگونهٔ *S. e. persica* که در غرب ایران یافت می‌شود، با تنهٔ خاکستری کمرنگ، زیرتنه سفید، نوار سفیدی در پیشانی و رگهٔ سفیدی در نوار ابرویی دیده می‌شود (Kaboli *et al*., 2012).

جمع آوری نمونه

نمونه‌برداری از تعداد ۱۰ نمونه تحت مجوز شمارهٔ ۹۴/۶۰۴۹ برای استان‌های کرمانشاه و کهگیلویه و بویراحمد انجام شد (شکل ۱). با پخش آواز کمرکولی جنگلی در هر قلمرو، فرد صاحب آن قلمرو به سوی صدا جذب و سپس به وسیلهٔ تور نامرئی زنده‌گیری شد. سپس با استفاده از لوله مویین به مقدار ۸۰ تا ۱۵۰ میکرولیتر (کمتر از یک درصد وزن بدن پرنده) از سیاهرگ زیر بال خون‌گیری شده و در بافر EDTA به آزمایشگاه منتقل شد (Owen, 2011). پس‌از خون‌گیری، نمونه‌ها بلافاصله در محل صید رهاسازی شدند. همچنین تعداد ۱۳۳ توالی ژن ND2 از مطالعهٔ Zink و همکاران (2006) (نام اختصاری ثبت شده در بانک ژن DQ219639 -DQ219772) و ۳ توالی از مطالعه Hung و همکاران (2012) (توالی‌ها از طریق مکاتبات شخصی با نویسندگان دریافت شد) توسط بانک ژن دانلود شد و بدین ترتیب تحلیلها با مجموعه داده‌ای با ۱۴۶ توالی انجام گرفت.

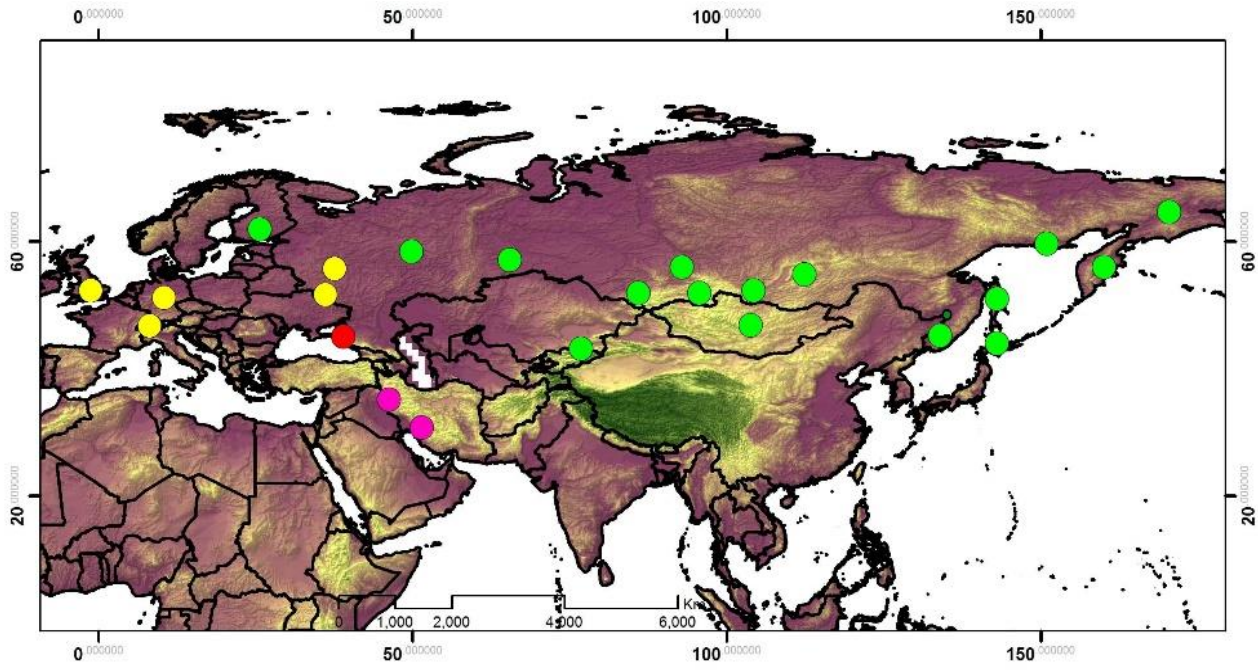
استخراج DNA، چرخهٔ PCR و توالی‌یابی

دی‌ان‌ای از نمونه‌های خون با استفاده از دستورالعمل کیت بافت و خون کیاژن استخراج شد. در ابتدا از آغازگر رفت L5215 (Hackett, 1996) TATCGGGCCCATACCCCGA- AAAT و آغازگر برگشت H1064 CTTTGAAGGC- CTTCGGTTTA (Drovetski *et al*., 2004) جهت تکثیر قطعه‌ای به طول ۱۰۴۱ جفت باز استفاده شد. تکثیر جایگاه‌های ژنی با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز در حجم ۵۰ میکرولیتر (TopTaq Master Mix Kit) و شرایطی شامل یک میکرولیتر DNA، ۱/۲۵ واحدآنزیم تک پلی‌مراز، ۲۰۰ میکرومولار dNTP، یک میکرولیتر $MgCl_2$، ۰/۴ میکرومولار مخلوط آغازگر پنج پیکومولار، ۲/۵ میکرولیتر بافر 10X و آب دو بار تقطیر تا رسیدن به حجم ۵۰ میکرولیتر انجام گرفت. چرخهٔ دمایی برای تکثیر توالی کامل ژن ND2 عبارت بود از ۱۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد و در ادامه ۳۵ چرخه، شامل ۳۰ ثانیه در ۹۴ درجه و ۳۰ ثانیه در دمای ۵۸ درجه و یک دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد و بسط نهایی با ۷۲ درجه در پنج دقیقه (Drovetski *et al*., 2004). به منظور تایید تکثیر ناحیه مورد نظر، الکتروفورز محصولات PCR بر روی ژل آگاروز ۲ درصد با رنگ آمیزی اتیدیوم بروماید صورت گرفت. در نهایت محصول PCR با استفاده از دستگاه 3730 Applied Biosystems 3730/ Bioneer و به روش اتوماتیک سانگر توالی‌یابی شدند.

تجزیه وتحلیل داده‌ها

توالی‌های دریافت شده در ابتدا توسط SeqScape 2.6. بررسی و خطاهای موجود اصلاح شد. سپس ۱۳۶ توالی از مطالعات پیشین (Zink 2006; Hung *et al*., 2012) و بانک ژن (نام اختصاری ثبت شده در بانک ژن DQ219639-DQ219772) دانلود شد تا امکان انجام تجزیه و تحلیل‌ها مقایسه‌ای با سایر جمعیت‌های گونه مورد نظر در منطقه پالئارتیک فراهم شود. در نهایت ۱۴۶ توالی با استفاده از نرم‌افزار BioEdit 7.2.5 و الگوریتم Clustalw هم ردیف شد. (Thompson *et al*., 1994). تعیین فاصلهٔ ژنتیکی بین جمعیت‌ها توسط نرم افزار MEGA 5.3 و مدل K2P با ۱۰۰۰۰ تکرار انجام شد (Tamura *et al*., 2011). همچنین تحلیل بارکدینگ گپ برای بررسی گپ واگرایی در بین جمعیت‌های مختلف با استفاده ABGD و مدل تکاملی K2P تخمین زده شد (Puillandre *et al*., 2011) قبل از آغاز تحلیلهای تبارشناسی، فرضیهٔ اشباع جایگزینی با استفاده از نرم افزار DAMBE 6.0.4 تحت بررسی قرار گرفت (Xia & Lemey, 2009; Xia & Xie, 2001). تعیین تعداد هاپلوتایپ‌ها، جایگاه‌های

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-06]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1397.5.2.2.2]
[DOI: 10.29252/nbr.5.2.155]



شکل ۱– مناطق پراکنش هاپلوتایپ های ژن ND2 در اوراسیا، دایره‌های رنگی نشان دهندهٔ کلادهای شناخته شده (سبز= کلاد آسیا، قرمز = کلاد قفقاز، زرد= کلاد اروپا) براساس مطالعات (Hung *et al*., 2012) و (Zink *et al*., 2006). دایره صورتی رنگ مربوط به جمعیت های کرمانشاه و یاسوج در رشته کوه زاگرس.

Fig. 1. Distribution of Eurasian Nuthatches ND2 haplotypes (Zink *et al*., 2006; Hung *et al*., 2012). Color of circle for lineages and haplotypes: Asian lineage (Green), Caucasian lineage (Red), and European lineage (Yellow). According to Hung *et al.* (2012) and Zink *et al.* (2006). Sample localities in Iran, including: Zagros forests (Kermanshah and Yasouj) (Pinkish circles).

چند شکلی و نمودار پراکنش ناهمخوان با استفاده از نرم‌افزار DNAsp 5.10 تخمین زده شد (Librado & Rozas, 2009). همچنین از نرم‌افزارArlequin 3.5 برای تعیین تعداد شاخص تنوع ژنتیکی (تنوع هاپلوتایپی و نوکلئوتیدی)، استفاده شد. تحلیل واریانس مولکولی (AMOVA) با استفاده از این نرم افزار و با دو نوع گروه‌بندی ۱۰۰۰۰ تکرار صورت گرفت (Excoffier & Schneider, 1999). در روش اول همه جمعیت‌های تحت بررسی به یک گروه مشابه تقسیم شدند و در روش دوم گروه‌بندی براساس تحلیل‌های تبارشناسی و تبارهای شناسایی شده انجام گرفت به‌طوریکه جمعیت‌های یک کلاد در گروه مشابه طبقه‌بندی شدند. سپس آماره‌های F_{CT} (تغییرات ژنتیکی در میان گروه‌ها)، F_{ST} (تغییرات ژنتیکی در میان جمعیت‌ها) و F_{SC} (تغییرات ژنتیکی در میان جمعیت‌های یک گروه) تعیین شدند (Khalilipour *et al*., 2014). برای تعیین بهترین مدل جانشینی نوکلئوتیدی از نرم‌افزارJModelTest 2.1.3 استفاده شد (Darriba *et al*., 2012). سپس با توجه به مدل انتخاب شده از نرم‌افزار Phyml 3.1 برای ترسیم درخت حداکثر درست‌نمایی (Guindon & Gascuel, 2003) و از نرم‌افزار MrBayes 3.2.2 برای ترسیم درخت بیزین استفاده شد (Ronquist & Huelsenbeck, 2003). تحلیل‌های بیزین براساس چرخهٔ زنجیره مارکوو با ۱۰ میلیون تکرار و فراوانی نمونهٔ ۱۰۰ انجام شد. درخت‌های بیزین و حداکثر درست‌نمایی بوسیلهٔ برون گروه‌های *S. canadensis*, *S. caroleninsis*, *Sitta. pygmaea* و *S. e. arctica* ریشه‌دار شدند (نام اختصاری ثبت شده در بانک ژن به‌ترتیب DQ219774.1, DQ219776.1, EF108553.1 DQ219778.1). در نهایت ایستایی و انحراف معیار درخت بیزین رسم شده در نرم‌افزار Tracer 1.4 تحت بررسی قرار گرفت (Drummond & Rambaut, 2007). برای بررسی ارتباط بین هاپلوتایپ‌ها و ترسیم شبکهٔ هاپلوتایپی با استفاده از منطق اتصال میانه و نرم‌افزار Network 4.6.1.3 انجام گرفت (Bandelt *et al*., 1999).

نتایج

تحلیل داده‌ها با استفاده از توالی ۱۰۴۱ جفت باز ژن ND2 نشان داد که ۹۴۵ جایگاه حفاظت شده (غیرمخبر) و ۹۶ جایگاه چندشکلی بوده که شامل ۶۳ جایگاه حاوی اطلاعات پارسیمونی (مخبر) و ۳۳ جایگاه تک متغیر بوده است. مقدار Iss (۰/۰۰۷)

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-06]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1397.5.2.2.2]
[DOI: 10.29252/nbr.5.2.155]

نسبت به (۰/۷۶۱) Iss.c در تحلیل اشباع جایگزینی کوچک‌تر و معنی‌دار به‌دست آمد. همچنین نمودار نرخ جانشینی نوع اول و دوم در مقابل واگرایی ژنتیکی حاکی از اشباع جایگزینی بسیار اندک در توالی‌های تحت بررسی است (شکل ۲) از ۱۴۶ توالی تحت بررسی تعداد ۹۰ هاپلوتایپ به‌دست آمد که تعداد ۵۶ هاپلوتایپ منحصر به فرد بودند. همچنین از ۱۰ توالی تحت بررسی مربوط به دو جمعیت از رشته کوه زاگرس (کرمانشاه و یاسوج)، تعداد چهار هاپلوتایپ شناسایی شد که یک هاپلوتایپ در بین این دو جمعیت مشترک بودند. بیش‌ترین و کم‌ترین تنوع ژنتیکی (تنوع نوکلئوتیدی و هاپلوتایپی) در بین تبارهای آسیا و زاگرس مشاهده شد. شکل ۳ نتایج آزمون تطابق را نشان می‌دهد. براین اساس نمودار فراوانی هاپلوتایپ‌های مشاهده شده نسبت مورد انتظار در جمعیتهای تبار قفقاز، اروپا و آسیا یک حالت تک مدی را نشان دادند (شکل B، C وD). در حالی که جمعیت زاگرس فاقد این حالت تک مدی بوده است (شکلشماره شکل؟؟A).

آزمون معیارهای اطلاعات بیزین (BIC) و اطلاعات آکایکه (AIC) نشان داد که مدل (G= ۰/۰۹۱) TRN+G به عنوان بهترین مدل تکاملی نوکلئوتیدی برای توالی‌های مورد نظر شناسایی شد. توپولوژی درخت‌های تبارشناسی بیزین و حداکثر درست‌نمایی بر مبنای مدل تکاملی انتخاب شده نشان داد که جمعیت‌های زاگرس به ترتیب با احتمال پسین و بوت استرپ ۰/۹۹ و ۹۸/۹۸ از جمعیت قفقاز جدا شده است (شکل ۴). نتایج تحلیل شبکهٔ هاپلوتایپی براساس اتصال میانه نشان داد که جمعیت هایی زاگرس تنها با پنج جهش از جمعیت‌های قفقاز اختلاف دارد این در حالی است که سه هاپلوگروپ آسیا، قفقاز و اورپا با ۲۸ جهش از یکدیگر جدا شده‌اند (شکل ۵).

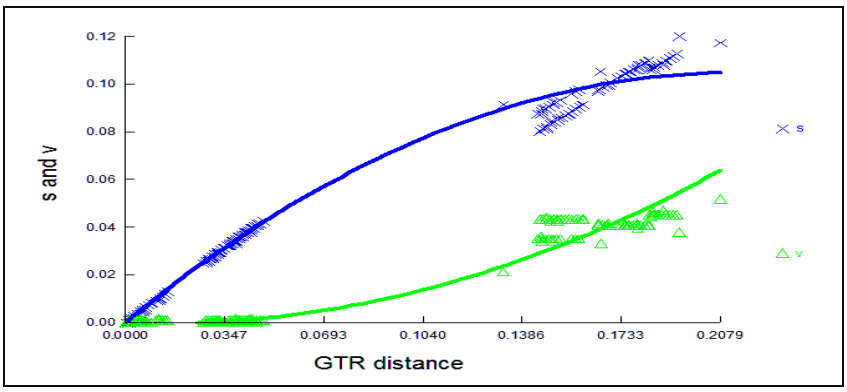
جدول ۲ نتایج حاصل از تجزیهٔ واریانس مولکولی (AMOVA) را نشان می‌دهد. این نتایج حاکی از آن است که ۹۳/۹۸ درصد از کل تغییرات ساختار ژنتیکی در بین جمعیت‌های کمرکولی جنگلی وجود دارد درحالی‌که درون جمعیت‌های این گونه ۶/۰۲ درصد تغییرات ساختار ژنتیکی را شامل شده است. همچنین اگر سه کلاد قفقاز، اروپا و آسیا در گروه‌های مجزا طبقه‌بندی شوند، تغییرات ساختار ژنتیکی در بین این گروه‌های مختلف ۹۵/۷۳، تغییرات در داخل جمعیتهای هر گروه ۳/۵۷ و تغییرات درون جمعیتی ۲/۷۰ درصد است. آماره‌های F_{ST} و F_{CT} در سطح خطای ۰/۰۰۱ و آمارهٔ F_{SC} در سطح خطای ۰/۰۵ معنی‌دار شدند. جدول ۳ میزان فاصلهٔ ژنتیکی در بین ۵ زیرگونهٔ کمرکولی جنگلی را نشان می‌دهد. بیشترین فاصلهٔ ژنتیکی در بین زیرگونه‌های *S.e asiatica* با *S.e. europaea* مشاهد شد. درحالی‌که کمترین فاصلهٔ ژنتیکی در بین دو زیر گونه *S.e. asiatica* با *S.e .amurensis* و *S.e. persica* با *S.e. caucasian* به‌دست آمد. شکل ۶، تحلیل بارکدینگ در بین زیرگونه‌های مختلف کمرکولی جنگی را نشان می‌دهد. نتایج این آزمون وجود یک گپ واگرایی در بین زیرگونه‌های مختلف را نشان می‌دهد. براین اساس یک آستانهٔ ۰/۰۳ تا ۰/۰۴ درصدی بعنوان گپ واگرایی ژنتیکی در مقایسه با افراد درون جمعیتی است.

بحث و نتیجه‌گیری

این مطالعه با توالی‌یابی کامل ژن ND2 میتوکندری ویژگی‌های ژنتیکی، ۱۳ جمعیت جوجه‌آور کمرکولی جنگلی را تحت بررسی قرار داد و در مجموع چهار هاپلوتایپ منحصر به فرد در زیستگاه‌های جنگلی زاگرس به ۵۲ هاپلوتایپ مطالعات قبلی (Hung *et al*., 2012) اضافه شد. تنوع ژنتیکی (تنوع هاپلوتایپی و نوکلوتیدی) جمعیت‌های زاگرس به مراتب پایین‌تر از سایر تبارهای تحت بررسی بود. پایین بودن تنوع ژنتیکی جمعیت‌های زاگرس احتمالاً می‌تواند به دلیل تکه شدگی شدید زیستگاه‌های جنگلی در این منطقه باشد لیکن برای قطعیت این موضوع نیاز به استفاده از تعداد نمونه‌های بیشتر به همراه مارکرهای ژنتیکی متفاوت (هسته‌ای و میتوکندری) است. همچنین تعداد اندک نمونه-ها از این منطقه تحلیل‌های گسترش ناگهانی جمعیت براساس نمودارهای پراکنش ناهمخوان وجود یک حالت تک مدی در بین تبارهای آسیا، قفقاز و اروپا نشان دادند براین اساس می‌توان احتمال یک گسترش ناگهانی جمعیتی در بین تبارهای مذکور را استنباط نمود.

در پژوهش صورت گرفته توسط Hung و همکاران (2012) وجود سه تبار اروپا، آسیا و قفقاز را براساس نتایج توالی هسته‌ای و میتوکندریایی اثبات نمودند و وجود ۲۹ تا ۳۲ جهش را براساس توالی کامل ژن ND2 در بین سه تبار مذکور نشان دادند. تحلیل تبارشناسی مطالعهٔ حاضر براساس توالی ژن ND2 نشان داد که جمعیت‌های زاگرس با احتمال پسین (۰/۹۹) و بوت استرپ (۹۸/۹۸ درصد) از جمعیت‌های قفقاز جدا شده است که در نتیجه

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-06]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1397.5.2.2.2]
[DOI: 10.29252/nbr.5.2.155]



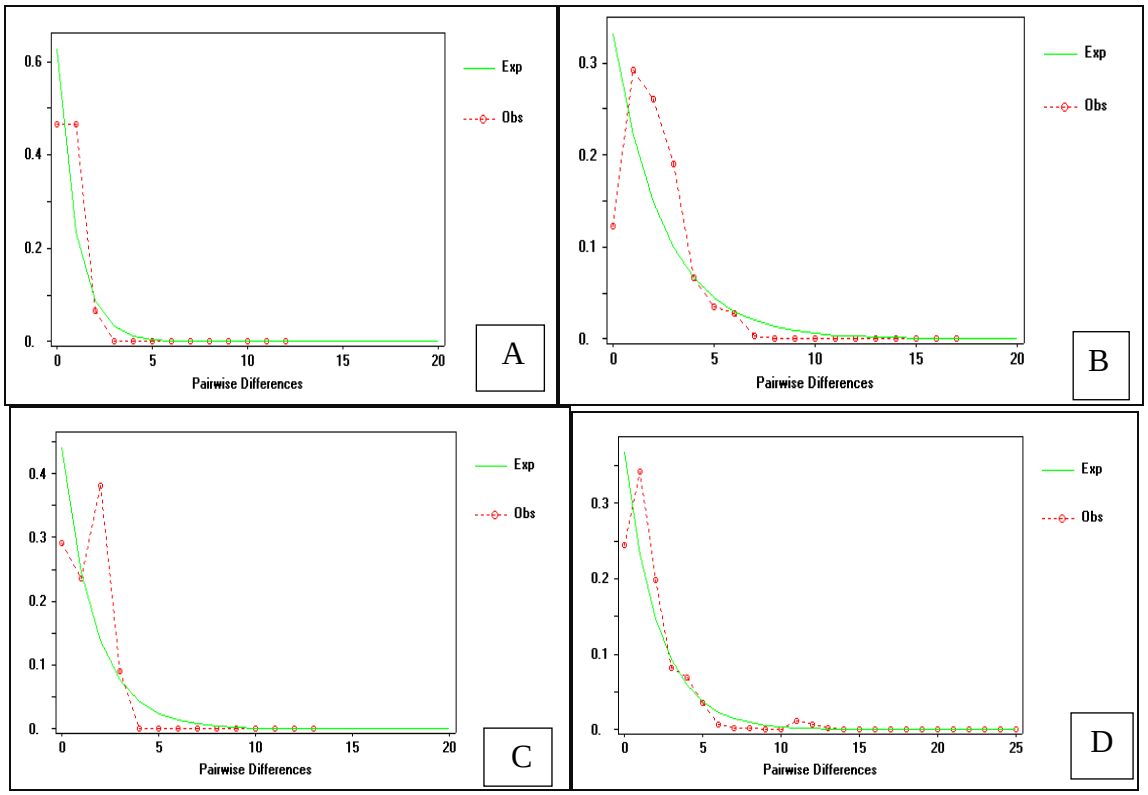
شکل ۲- پلات جانشینی‌های نوع اول و دوم در مقابل واگرایی ژنتیکی.

Fig. 2. Plotting the observed transitions and transversions against the genetic divergence.

جدول ۱- ویژگی‌های ژنتیکی تبارهای تحت بررسی و شاخص تنوع ژنتیکی (Hd = تنوع هاپلوتایپی، Pi= تنوع نوکلئوتیدی، n= تعداد نمونه‌ها، k= میانگین تعداد نوکلئوتیدهای مختلف).

Table 1. The genetic characteristics of lineage and genetic diversity index (Hd- haplotype diversity, Pi- nucleotide diversity, n: number of samples, K- The average number of different nucleotides).

تبار	n	H	Hd	pi	k
آسیا	۱۰۲	۳۷	۰/۷۵	۰/۰۰۱۶	۱/۷۲
قفقاز	۱۱	۳	۰/۷۰	۰/۰۰۱۲	۱/۲۷
زاگرس	۱۰	۴	۰/۵۳	۰/۰۰۰۵	۰/۶
اروپا	۲۳	۱۱	۰/۸۷	۰/۰۰۱۹	۲/۰۲

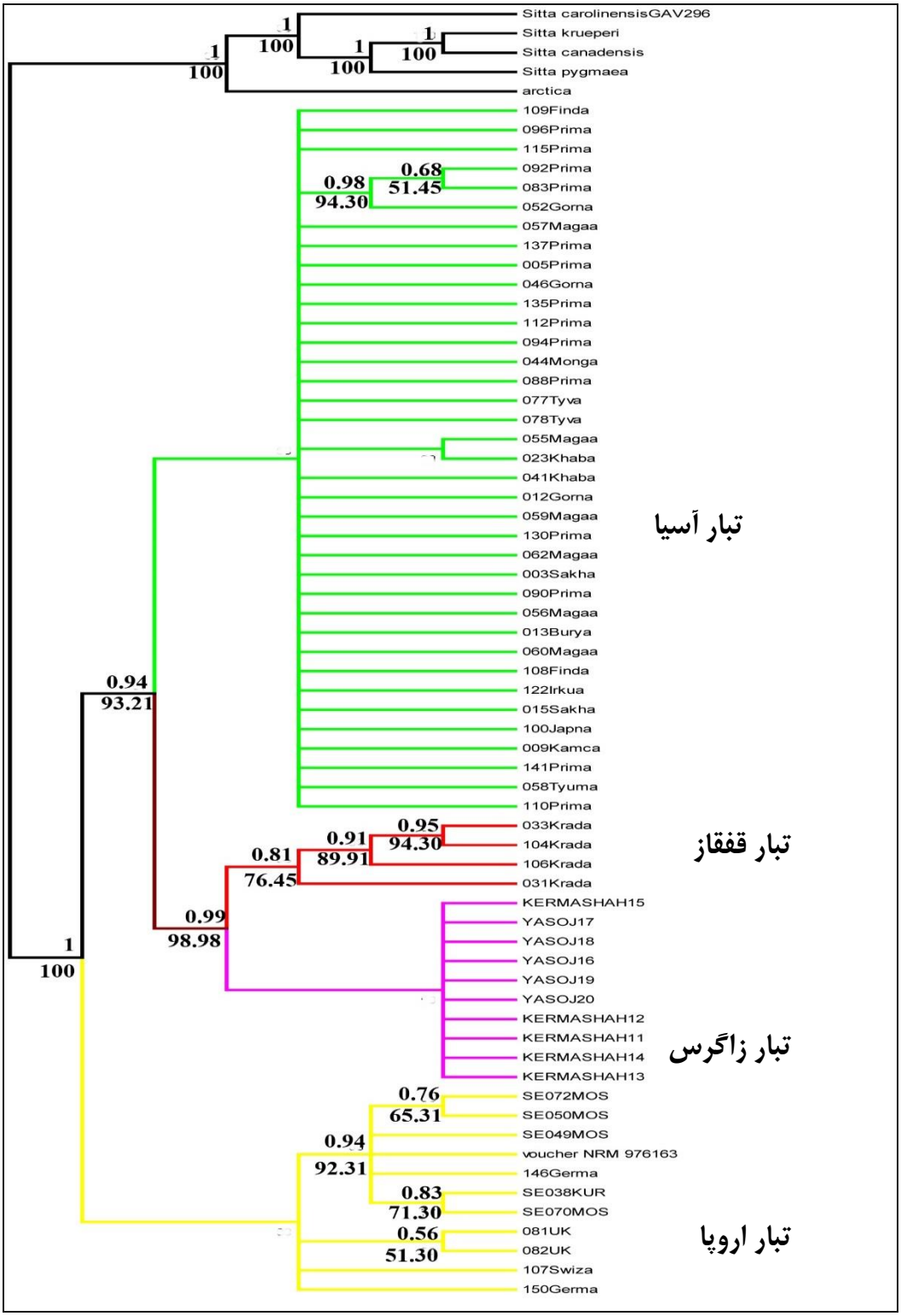


شکل ۳- نمودارهای پراکنش ناهمخوان براساس توالی کامل ژن ND2. **A:** تبار زاگرس، **B:** تبار قفقاز، **C:** تبار اروپا و **D:** تبار آسیا. محور افقی تعداد نوکلئوتیدهای مختلف در بین افراد و محور عمودی فراوانی نسبی تعداد نوکلئوتید مختلف نشان می‌دهد .

Fig. 3. Graphs of mismatch distribution based complete sequence ND2. **A:** Zagros lineage, **B:** Caucasian lineage, **C:** European lineage and **D:** Asian lineage. Horizontal axis is number of different nucleotides between individuals, and the vertical axis indicates the relative frequency of different nucleotide numbers.

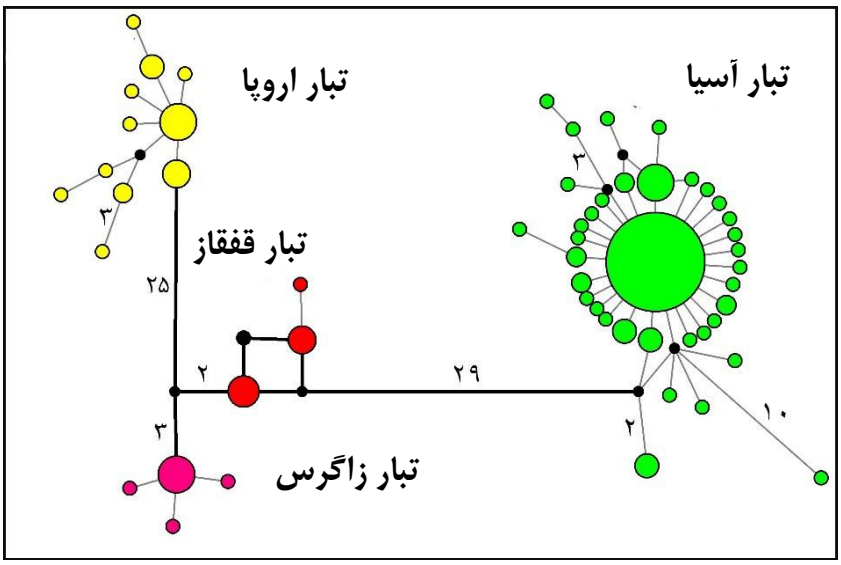
[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-06]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1397.5.2.2.2]
[DOI: 10.29252/nbr.5.2.155]

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-06]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1397.5.2.2.2]
[DOI: 10.29252/nbr.5.2.155]



شکل ٤- درخت تبارشناسی کمرکولی جنگلی در زیستگاه‌های زاگرس با استفاده از دو روش بیزین و حداکثر درست‌نمایی (توپولوژی یکسان). اعداد بالا نمایانگر احتمال پسین حاصل از درخت بیزین و اعداد پایین مربوط به شاخص بوت استرپ حاصل از روش حداکثر درست‌نمایی.

Fig. 4. Phylogenetic tree of Eurasian Nuthatches in habitat Zagros through two methods bayesian and maximum likelihood, with the values of top branches corresponding to posterior probabilities and the lower branches representing Bootstrap support.



شکل ۵- شبکه هاپلوتایپی مربوط به کمرکولی جنگلی (*S. europaea*) و دیگر کمرکولی‌های آسیایی براساس روش اتصال میانه و ژن ND2. اندازه و رنگ دایره‌ها به‌ترتیب براساس تعداد هاپلوتایپ‌ها و مکان هاپلوتایپ بوده است. اعداد بر روی خطوط اتصال بین هاپلوتایپ‌ها نمایانگر تعداد جهش هستند.

Fig. 5. Haplotype network (Median Joining network) of the Eurasian Nuthatch and other Eurasian Nuthatches, based on complete ND2 sequence. Size and color of circles represent the number and position of haplotypes respectively. The numbers above the connecting branches reflect the number of mutational steps joining the haplotypes.

جدول ۲- تجزیهٔ واریانس مولکولی (AMOVA) در بین جمعیت‌های کمرکولی جنگلی ۱) در نظر گرفتن همهٔ جمعیت‌ها بعنوان یک گروه ۲) گروبندی جمعیت‌ها براساس کلادهای مشخص شده در تحلیل‌های تبارشناسی.

Table 2. Analysis of molecular variance (AMOVA) for four lineages of the Eurasian Nuthatch 1) considering all populations as a unified group and 2) grouping of populations based on identified lineages by phylogenetic analysis.

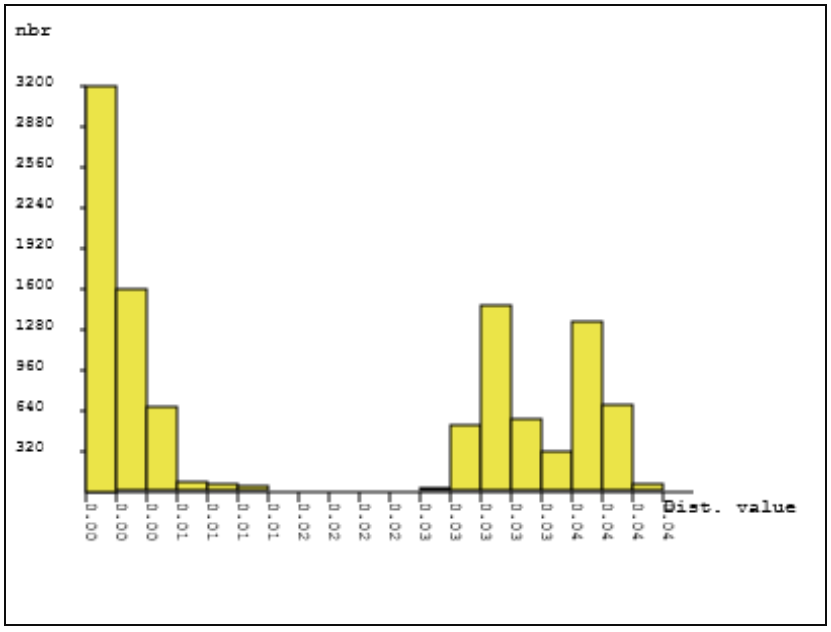
منابع تغییر	f.d.	مجموع مربعات	درصد واریانس	آمارهٔ F
(۱) بین جمعیت‌های مختلف	۱۲	۹۸۵/۱۹	۹۳/۹۸	F_{ST}= ۰/۹۴**
درون جمعیت‌ها	۱۰۹	۶۶/۳۷	۶/۰۲	
کل	۱۲۱	۱۰۵۱/۵۰		
(۲) بین گروه‌های مختلف	۳	۹۴۲/۴۰	۹۵/۷۳	F_{CT}=۰/۹۶**
بین جمعیت‌های داخل یک گروه	۱۰	۴۲/۷۸	۳/۵۷	F_{SC}=۰/۲۳*
بین افراد درون یک جمعیت	۱۰۹	۶۶/۳۰	۲/۷۰	F_{ST}=۰/۹۶**
کل	۱۲۱	۱۰۵۱/۵۰		

جدول۳ – فاصله ژنتیکی در بین پنج زیرگونه کمرکولی جنگلی در اوراسیا. (اعداد پایین و راست نشان‌دهندهٔ تفاوت‌های ژنتیکی و اعداد بالا و چپ نشاندهنده انحراف معیار هستند).

Table 3. Genetic distance among five subspecies of *S. europaea* in Eurasia (the below and right numbers represent the genetic differences and the upper and left numbers represent the standard deviation).

زیرگونه	تعداد	*europaea*	*persica*	*caucasian*	*asiatica*	*amurensis*
europaea	۱۷		۰/۰۰۶	۰/۰۰۶	۰/۰۰۶	۰/۰۰۶
persica	۱۰	۰/۰۲۹		۰/۰۰۶	۰/۰۰۵	۰/۰۰۶
caucasian	۱۱	۰/۰۲۹	۰/۰۰۶		۰/۰۰۲	۰/۰۰۵
asiatica	۴۵	۰/۰۳۹	۰/۰۳۲	۰/۰۳۱		۰/۰۰۰
amurensis	۴۸	۰/۰۳۸	۰/۰۳۲	۰/۰۳۰	۰/۰۰۱	

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-06]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1397.5.2.2.2]
[DOI: 10.29252/nbr.5.2.155]



شکل ٦- تحلیل بارکدینگ گپ براساس مدل جانشینی K2P.

Fig. 6. The Barcoding gap analysis based on K2P substitution model.

می‌توان جمعیت‌های زاگرس را بعنوان تبار مجزایی از تبار قفقاز محسوب نمود. با این وجود شبکهٔ هاپلوتایپی، وجود پنج جهش در بین جمعیت‌های زاگرس و قفقاز را نشان میدهد که این میزان جهش در مقایسه با تعداد جهش‌های جدایی تبارهای آسیا، اروپا و قفقاز (۲۹ تا ۳۲ جهش در بین سه تبار اصلی مشاهده شد) بسیار کمتر بوده است. نتایج تحلیل واریانس مولکولی (AMOVA) نشان داد که ۹۳/۹۸ درصد از کل تغییرات ژنتیکی در بین جمعیت‌های مختلف کمرکولی جنگلی وجود دارد که عمده‌ترین این تغییرات مربوط به جمعیت‌های هر کلاد جداگانه است. به عبارت دیگر، جمعیت‌های هر کلاد دارای کمترین درصد تغییرات در ساختار ژنتیکی هستند ولی با جمعیت‌های کلاد دیگر بیشترین تغییرات ژنتیکی را نشان می‌دهند. از سوی دیگر چنانچه مقادیر شاخص‌های تثبیت حاصل از تحلیل AMOVA بین ۰ تا ۰/۰۵ باشد، بیانگر تفاوت ژنتیکی اندک بین جمعیت‌های مختلف است. بر این اساس، مقادیر بین ۰/۰۵ تا ۰/۲۵ نشان‌دهنده تفاوت متوسط و بیش از ۰/۲۵ نشانگر تفاوت ژنتیکی زیاد بین جمعیت‌ها است (Antao *et al.*, 2008). مقادیر F_{ST} در مطالعهٔ حاضر حاکی از بروز یک تفاوت ژنتیکی معنادار در بین جمعیت‌های مختلف کمرکولی جنگلی است.

برآورد فاصلهٔ ژنتیکی بعنوان یک روش رایج برای اعتبارسنجی زیرگونه براساس داده‌های توالی ژنتیکی است (Torstrom *et al.*, 2014; Zink, 2004). بدین ترتیب چنانچه مقدار فاصلهٔ ژنتیکی بین دو زیرگونه زیاد باشد می‌توان هر کدام از آنها را بعنوان یک گونهٔ مجزا ارتقا داد این درحالی است که وجود فاصلهٔ ژنتیکی کم در بین دو زیر گونه نشان‌دهندهٔ نزول آنها به یک گونهٔ یکپارچه بوده است (Burbrink *et al.*, 2000). در یک مطالعهٔ مروری Torstrom و همکاران (2014) با استفاده از فاصلهٔ ژنتیکی داده‌های میتوکندریایی به بررسی اعتبار سنجی زیر گونه‌های خزندگان پرداختند. بر این اساس آنها دریافتند که بیش از ۶۰ درصد زیرگونه‌های تحت بررسی بایستی بعنوان گونه‌های مجزا شناخته شوند و ۴۰ درصد زیرگونه‌های خزندگان به یک گونهٔ یکپارچه معرفی شوند. به نظر می‌رسد که آرایه‌شناسی زیرگونه‌های پرندگان هم مانند خزندگان احتیاج به بازنگری اساسی دارد (Zink, 2004). نتایج مطالعهٔ حاضر با استفاده از توالی کامل ژن ND2 نشان داد که میانگین فاصلهٔ ژنتیکی پنج زیرگونهٔ کمرکولی جنگلی ۰/۰۳ است، درحالی‌که فاصلهٔ ژنتیکی زیرگونه‌های زاگرسی (*S.e. persica*) با زیرگونه قفقازی (*S.e. caucasian*) ۰/۰۰۶ محاسبه شد که نشان‌دهندهٔ عدم تفکیک ژنتیکی قابل توجه بین این دو زیرگونه است. همچنین این مقدار در زیرگونهٔ شرق آسیا (*S.e. amurensis*) با زیرگونه شرق و مرکز آسیا (*S.e. asiatica*) ۰/۰۰۱ به‌دست آمد. لذا بر این اساس بایستی اعتبار سنجی زیرگونه‌های مذکور مورد تردید بوده و با استفاده از ژن‌های بیشتری

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-06]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1397.5.2.2.2]
[DOI: 10.29252/nbr.5.2.155]

تحت بررسی مجدد قرار بگیرد. از سوی دیگر نتایج آزمون بارکدینگ گپ یک آستانهٔ سه تا چهار درصدی را برای واگرایی افراد بین زیرگونه‌ای و یک واگرایی یک درصد برای افراد درون جمعیتی نشان داد (شکل ۶). این درحالی است که واگرایی ژنتیکی زیرگونه‌های مذکور در آستانهٔ افراد درون جمعیت قرار گرفت. لذا شاید بتوان کمرکولی جنگلی زاگرس را بعنوان جمعیت جدا شده‌ای از زیرگونه قفقازی دانست. لیکن برای اعتبار سنجی مستدل زیرگونه‌های مذکور بایستی از تعداد بیشتری ژن‌های میتوکندریایی و هسته‌ای استفاده شود.

از آنجایی که تمامی زیرگونه‌ها به ندرت نشان‌دهندهٔ تاریخ تکاملی مستقلی هستند، لذا متخصصان معتقدند که همه زیرگونه‌ها نمی‌توانند به عنوان واحدهای مدیریتی مجزا جهت برنامه‌های حفاظت در نظر گرفته شوند (Zink, 2004; Zink *et al*., 2000). به‌طوریکه با مشخص کردن هر کلاد بعنوان یک واحد تکاملی، نقش اساسی در طراحی برنامه‌های حفاظتی ایفا کند (Hung *et al*., 2012). به عبارت دیگر چنانچه برنامه‌های حفاظتی برای هر واحد تکاملی به طور مجزا انجام گیرد، تاریخ تکاملی جمعیت‌های هر واحد در جهت افزایش سازگاری گونه نسبت به تغییرات محیطی حفظ می‌شود. بر این اساس (Hung *et al*. 2012) واحدهای تکاملی کمرکولی جنگلی را به سه دستهٔ آسیا، اروپا و قفقاز طبقه‌بندی نموده و هر واحد تکاملی را بعنوان گونه‌های تکاملی نژادی و حتی گونه‌های زیست‌شناختی معرفی نمودند. نتایج مطالعهٔ حاضر نشان داد که زیرگونهٔ *S.e. persica* در جنگل‌های زاگرس در تبارِی مجزا از تبار قفقاز است که با زیرگونهٔ *S.e.caucasian* دارای واگرایی ژنتیکی بسیار کمی است. لذا بر اساس پژوهش حاضر، می‌توان جمعیت‌های کمرکولی جنگلی در زیستگاه‌های زاگرس را بعنوان جمعیت جدا شده‌ای از زیرگونهٔ کمرکولی جنگلی قفقازی استنباط نمود.

سپاسگزاری

از تمامی محیط‌بانان فداکار سازمان حفاظت محیط‌زیست که طی مراحل نمونه‌برداری از هیچ کمکی دریغ نکردند، سپاسگزاری می‌شود. همچنین از دکتر Chih-Ming Hung برای فراهم نمودن برخی داده‌ها تشکر می‌شود.

REFERENCES

Antao, T., Lopes, A., Lopes, R. J., Beja-Pereira, A. and Luikart, G. 2008. LOSITAN: a workbench to detect molecular adaptation based on a F ST-outlier method. – BMC Bioinformatics 9: 323-333.

Ashton, K.G. and de Queiroz, A. 2001. Molecular systematics of the western rattlesnake, *Crotalus viridis* (Viperidae), with comments on the utility of the D-loop in phylogenetic studies of snakes. – Mol. Phyl. Evol. 21**:** 176-189.

Avise, J.C. and Wollenberg, K. 1997. Phylogenetics and the origin of species. – PNATLASCI, 94: 7748-7755.

Avise, J.C. 1996. Introduction: the scope of conservation genetics. In Conserv. Genetics (pp. 1-9). Springer US.

Avise, J.C. 2000. Phylogeography: the history and formation of species: Harvard Univ. Press, Cambridge, MA. Pp 447.

Baguette, M., Legrand, D., Fréville, H., Van Dyck, H., Ducatez, S., Clobert, J., Baguette, M. and Bullock, J. 2012. Evolutionary ecology of dispersal in fragmented landscape. – Disp. Ecolo. Evol. 19: 381-391.

Bandelt, H.J., Forster, P. and Röhl, A. 1999. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. – Mol. Biol. Evol. 16: 37-48.

Bianconi, R. Battisti, C., and Zapparoli, M. 2003. Pattern of richness, abundance and diversity of four interior bird species in a hilly landscape in Central Italy: a contribution to assess their sensitivity to habitat fragmentation. – J. Mediterranean Ecol. 4: 37-44.

Burbrink, F.T., Lawson, R. and Slowinski, J.B. 2000. Mitochondrial DNA phylogeography of the polytypic North American rat snake (*Elaphe obsoleta*): a critique of the subspecies concept. – Evol. 54: 2107-2118**.**

Clements, J., Schulenberg, T., Iliff, M., Robertson, D., Fredericks, T., Sullivan, B. and Wood, C. 2014. The eBird/Clements checklist of birds of the world: Version 6.9. Available at http://www. birds. cornell. edu/clementschecklist/downloadable-clements-check-list.

Darriba, D. and Posada, D. 2014. jModelTest 2.0 Manual v0. 1.1.

Drovetski, S.V., Zink, R.M., Fadeev, I.V., Nesterov, E. A., Koblik, E.A., Red'kin, Y. and Rohwer, S. 2004. Mitochondrial phylogeny of *Locustella* and related genera. – J. Avian Biol. 35: 105-110.

Drummond, A.J. and Rambaut, A. 2007. BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. – BMC J. Evol. Biol. 7: 214-221.

Excoffier, L. and Schneider, S. 1999. Why hunter-gatherer populations do not show signs of Pleistocene demographic expansions. – P. Natl. Acad. Sci. 96: 10597-10602.

Fu, Y.X. 1997. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. – Genetics, 147: 915-925.

González-Varo, J.P., López-Bao, J.V. and Guitián, J. 2008. Presence and abundanceof the Eurasian nuthatch *Sitta europaea* in relation to the size, isolation and the

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-06]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1397.5.2.2.2]
[DOI: 10.29252/nbr.5.2.155]

intensity of management of chestnut woodlands in the NW Iberian Peninsula. – Landscape. Ecol. 23: 79-89.

Guindon, S. and Gascuel, O. 2003. A simple, fast, and accurate algorithmto estimate large phylogenies by maximum likelihood. – Syst. Biol. 52: 696-704.

Hackett, S.J. 1996. Molecular phylogenetics and biogeography of tanagers in the genus *Ramphocelus* (Aves). – Mol. Phyl. Evol. 5: 368-382.

Harrap, S. and Quinn, D. 1995. Chickadees, tits, nuthatches & treecreepers Princeton University Press, Princeton. Pp 464.

Hiendleder, S., Lewalski, H., Wassmuth, R. and Janke, A. 1998. The complete mitochondrial DNA sequence of the domestic sheep (*Ovis aries*) and comparison with theother major ovine haplotype. – J. Mol. Evol. 47: 441-448.

Hrbek, T., Farias, I.P. Crossa, M. Sampaio, I. Porto, J.I. and Meyer, A. 2005. Population genetic analysis of *Arapaima gigas*, one of the largest freshwater fishes of the Amazon basin: implications for its conservation. – Anim. Conserv. 8: 297-308.

Huelsenbeck, J.P. and Ronquist, F. 2001. MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees. Bioinformatics 17: 754-755.

Hung, C.M. and Zink, R.M. 2014. Distinguishing the effects of selection from demographic history in the genetic variation of two sister passerines based on mitochondrial-nuclear comparison. – J. Hered. 113: 42-51.

Hung, C.M., Drovetski, S.V. and Zink, R.M. 2012. Multilocus coalescent analysis support a mtDNA-based phylogeographic history for a wide spread palearctic passerine bird, *Sitta europaea*. – Evol. 66: 2850-2864.

Kaboli, M., Aliabadian, M., Tohidifar, M., Musavi, S. B., Hashemi, A. and Roselaar, C.C. 2012: Atlas of birds of Iran. Tehran: Department of Environment of Iran. Pp: 628.

Khalilipour, O., Rezaei, H.R., Alizadeh Shabani, A., Kaboli, M. and Ashrafi, S. 2014. Genetic structure and differentiation of four populations of Afghan Pika (*Ochotona rufescens*) in Iran based on mitochondrial cytochrome b gene. – Zool. Midd. East. 60: 288-298.

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

Matthysen, E., Adriaensen, F. and Dhondt, A.A. 1995. Dispersal distances of nuthatches, *Sitta europaea*, in a highly fragmented forest habitat. – Oikos 1: 375-381.

Matthysen, E. and Currie, D. 1996. Habitat fragmentation reduces disperser success in juvenile nuthatches *Sitta europaea*: evidence from patterns of territory establishment. – Ecography 19: 67-72.

Mayr, E. 1970. Populations, species, and evolution: an abridgment of animal species and evolution. Harvard University Press. Pp: 240.

Mortelliti, A., Fagiani, S., Battisti, C., Capizzi, D. and Boitani, L. 2010. Independent effects of habitat loss, habitat fragmentation and structural connectivity on forest-dependent birds. – Divers. Distrib. 16: 941-951.

Mulcahy, D.G. 2008. Phylogeography and species boundaries of the western North American Nightsnake (*Hypsiglena torquata*): revisiting the subspecies concept. – Mol. Phyl. Evol.46: 1095-1115.

Nouri, S. and Aliabadian, M. 2014. Performance of two mitochondrial genes, ND2 and COI to identify Passerin birds of Khorasan Province. – 18th National and 6th International Congress of Biology in Iran.

Owen, J.C. 2011. Collecting, processing, and storing avian blood: a review. – J. Field. Ornithol. 82: 339-354.

Pravosudov, V.V. 1993. Breeding biology of the Eurasian Nuthatch in northeastern Siberia. – The Wilson Bulletin 475-482.

Puillandre, N., Macpherson, E., Lambourdière, J., Cruaud, C., Boisselier-Dubayle, M. C. and Samadi, S. 2011. Barcoding type specimens helps to identify synonyms and an unnamed new species in *Eumunida* Smith, 1883 (Decapoda: Eumunididae). – Inverteber. Syst. 25: 322-333.

Ramírez-Soriano, A., Ramos-Onsins, S.E., Rozas, J., Calafell, F. and Navarro, A. 2008. Statistical power analysis of neutrality tests under demographic expansions, contractions and bottlenecks with recombination. – Genetics 179: 555-567.

Ramos-Onsins, S.E. and Rozas, J. 2002. Statistical properties of new neutrality tests against population growth. – Mol. Biol. Evol. 19: 2092-2100.

Ronquist, F., and Huelsenbeck, J.P. 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. – Bioinformatics 19: 1572-1574.

Tajima, F. 1989. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. – Genetics 123: 585-595.

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. – Mol. Biol. Evol. 28: 2731-2739.

Thompson, J.D., Higgins, D.G., and Gibson, T.J. 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. – Nucleic Acids. Res. 22: 4673-4680.

Torstrom, S.M., Pangle, K.L. and Swanson, B.J. 2014. Shedding subspecies: The influence of genetics on reptile subspecies taxonomy. – Mol. Phyl. Evol. 76: 134–143.

Van Langevelde, F., Schotman, A., Claassen, F. and Sparenburg, G. 2000. Competing land use in the reserve site selection problem. – Landscape. Ecol. 15: 243-256.

Vaurie, C. 1950. Notes on some Asiatic nuthatches and creepers. – The American Museum of Natural history city of New York. pp: 1-10.

Wang, L.Y., Ikeda, H., Liu, T.L., Wang, Y.J. and Liu, J.Q. 2009. Repeated range expansion and glacial endurance of *Potentilla glabra* (Rosaceae) in the Qinghai-Tibetan Plateau. – J. Integ. Plant Biol. 51: 698-706.

Xia, X. and Lemey, P. 2009. Assessing substitution saturation with DAMBE. The phylogenetic handbook: a practical approach to DNA and protein phylogeny. – Cambridge University Press 2: 615-630.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-06]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1397.5.2.2.2]
[DOI: 10.29252/nbr.5.2.155]

Xia, X. and Xie, Z. 2001. DAMBE: Software package for data analysis in molecular biology and evolution. – J. Hered. 92: 371-373.

Yu, F., Li, S., Kilpatrick, W.C., McGuire, P.M., He, K., and Wei, W. 2012. Biogeographical studyof plateau pikas *Ochotona curzoniae* (*Lagomorpha*, Ochotonidae). – Zool. Sci. 29: 518-526.

Zink, R.M., Barrowclough, G.F., Atwood, J.L. and Blackwell- Rago, R.C. 2000. Genetics, taxonomy, and conservation of the threatened California gnatcatcher. – Conserv. Biol. 14: 1394-1405.

Zink, R.M. 2004 The role of subspecies in obscuring avian biological diversity and misleading conservation policy. – Biol. Sci. 271: 561-564.

Zink, R.M., Drovetski, S.V. and Rohwer, S. 2006. Selective neutrality of mitochondrial ND2 sequences, phylogeography and species limits in *Sitta europaea*. – Mol. Phyl. Evol. 40: 679-686.

Zuckerberg, B., Carling, M., Dor, R., Ferree, E., Spellman, G. and Townsend, A. 2014. Differential relationships between habitat fragmentation and within-population genetic diversity of three forest-dwelling birds. – BioRxiv 1: 14-40.

*****

How to cite this article:

Nazarizadeh, M., Kaboli, M., Rezaei, H.R., Imani, J., Mohmmadi, A. and Khaki, S. 2018. Evolutionary history of subspecies of Eurasian nuthatches (*Sitta europaea persica*) from Zagros Mountains, Iran. – Nova Biologica Rep. 2018: 155-167.

نظری‌زاده، م.، کابلی، م.، رضایی، ح.ر.، ایمانی، ج.، محمدی، ع. و سعید خاکی. ۱۳۹۷. بررسی تاریخ تکاملی زیرگونهٔ کمرکولی جنگلی در کوه‌های زاگرس، ایران. – یافته‌های نوین در علوم زیستی ۱۳۹۷: ۱۶۷–۱۵۵.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-06]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1397.5.2.2.2]
[DOI: 10.29252/nbr.5.2.155]