

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشگاه صنعتی اصفهان
دانشکده منابع طبیعی

پایان نامه کارشناسی ارشد رشته مهندسی شیلات – بوم‌شناسی آبزیان شیلاتی خانم صدیقه محمودی -
ده‌علی نقی

تحت عنوان

تاکسونومی ماهی خیاطه *Alburnoides spp.* در ایران

در تاریخ 91/11/2 توسط کمیته تخصصی زیر مورد بررسی و تصویب نهایی قرار گرفت.

دکتر یزدان کیوانی

1- استاد راهنمای پایان‌نامه

دکتر سالار درافشان

2- استاد راهنمای پایان‌نامه

دکتر منصوره ملکیان

3- استاد مشاور پایان‌نامه

دکتر عیسی ابراهیمی

4- استاد داور

دکتر محمودرضا همامی

5- استاد داور

دکتر محمدرضا وهابی

سرپرست تحصیلات تکمیلی دانشکده



دانشگاه صنعتی اصفهان
دانشکده منابع طبیعی

تاکسونومی ماهی خیاطه *Alburnoides spp.* در ایران

پایان نامه کارشناسی ارشد - بوم‌شناسی آبزیان شیلاتی
صدیقه محمودی ده‌علی‌نقی

اساتید راهنما
دکتر یزدان کیوانی
دکتر سالار درافشان

مشکر و قدردانی

سپاس و ستایش مرخداى راجل و جلاله که آثار قدرت او بر چهره روز روشن، تابان است و انوار حکمت او در دل شب تار، در فشان. آفریدگاری که خویش را به ما شناساند و درهای علم را بر ما گشود و عمری و فرصتی عطا فرمود تا بدان، بنده ضعیف خویش را در طریق علم و معرفت بیازماید و به من این فرصت را داد تا به این مرحله از علم رسیده و از پیچ محبتی دریغ نکردم و در تمام مراحل زندگیم مراقبت قلب بود.

سپاس و تشکر خاص و فراوان خودم را به اساتید راهنمای بزرگوارم جناب آقای دکتر نژدان کیوانی و جناب آقای دکتر سالار دانشان که در این مهم مریاری رسانند و در تمامی مراحل اجرایی پایان نامه از پیچ مساعدتی دریغ ننمودند و از تجربیات و علم آنان بهره مند شدم تقدیم می کنم و از سرکار خانم دکتر منصوره ملکیان که مشاوره پایان نامه و اساتید ارجمندم جناب آقای دکتر عیسی ابراهیمی و آقای دکتر محمود رضا همامی که زحمت داوری و بازخوانی پایان نامه را بر عهده داشتند، کمال تشکر را دارم.

از سایر اساتید محترم گروه شیلات که افتخار ساگردیشان را داشتم تشکر می کنم و در پایان از تمامی دوستان و بهکلاسی هایم که حضورشان در این دوره تحصیل و زندگی بنده بسیار ارزشمند بود تشکر و قدردانی کرده و از خداوند سلامتی و عاقبت به خیری برایشان خواستارم.

صدیقه محمودی

بهمین ۹۱

کلیه حقوق مادی مترتب بر نتایج مطالعات،
ابتکارات و نوآوری‌های ناشی از تحقیق موضوع
این پایان‌نامه متعلق به دانشگاه صنعتی اصفهان است.

تقدیم بابوسہ بردستان پدر و مادر عزیزم:

به آنان که نمی دانم از بزرگی شان بگویم یا سخاوت و مهربانی شان و

اکنون حاصل دستان پر مهرشان رمز موفقیتم شد،

تقدیم به روح پاک دوست عزیزم نعمتہ جان (برای شادی روحش صلوات)

فهرست مطالب

<u>صفحه</u>	<u>عنوان</u>
هشت.....	فهرست مطالب.....
ده.....	فهرست اشکال.....
یازده.....	فهرست جداول.....
۱.....	چکیده.....
	فصل اول: مقدمه
2.....	1-1 مقدمه.....
4.....	2-1 اهداف مطالعه.....
4.....	3-1 فرضیه‌ها.....
	فصل دوم: کلیات و مرور منابع
5.....	1-2 معرفی <i>Alburnoides</i>
5.....	1-1-2 رده‌بندی و مشخصات ظاهری.....
8.....	2-2 گونه‌های <i>Alburnoides</i>
8.....	1-2-2 <i>Alburnoides eichwaldii</i> (De Filippii, 1863).....
9.....	2-2-2 <i>Alburnoides idignensis</i> (Bogutskaya and Coad, 2009).....
11.....	3-2-2 <i>Alburnoides namaki</i> (Bogutskaya and Coad, 2009).....
13.....	4-2-2 <i>Alburnoides nicolausi</i> (Bogutskaya and Coad, 2009).....
14.....	5-2-2 <i>Alburnoides petrubanarescui</i> (Bogutskaya and Coad, 2009).....
16.....	6-2-2 <i>Alburnoides qanati</i> (Coad and Bogutskaya, 2009).....
18.....	3-2 فیلوژنی و سیستماتیک مولکولی.....
20.....	4-2 تنوع فنوتیپی.....
21.....	5-2 تنوع ژنتیکی.....
22.....	1-5-2 انواع تنوع ژنتیکی.....
23.....	6-2 انواع نشانگرها.....
23.....	7-2 ژنوم میتوکندریایی.....
25.....	1-7-2 نشانگرهای دی.ان.ا. میتوکندریایی.....
26.....	8-2 توالی‌یابی.....
27.....	9-2 مرور منابع.....
	فصل سوم: مواد و روش‌ها
31.....	1-3 ایستگاه‌های نمونه‌برداری.....
32.....	2-3 چگونگی ارزیابی صفات مورفومتریک و مریستیک.....
32.....	1-2-3 صفات اندازه‌شی نسبی.....
33.....	2-2-3 صفات شمارشی.....
34.....	3-3 استخراج دی.ان.ا.....
34.....	1-3-3 تجهیزات مورد استفاده.....
34.....	4-3 ارزیابی کیفی دی.ان.ا. با روش الکتروفورز ژل آگارز.....
35.....	5-3 واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز.....

35.....	1-5-3	بهینه‌سازی شرایط واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز
35.....	2-5-3	ارزیابی کیفی محصول پی.سی.آر با الکتروفورز ژل آگارز
36.....	6-3	توالی‌یابی
36.....	7-3	تجزیه و تحلیل‌های آماری
36.....	1-7-3	آزمون مقایسه واریانس (ANOVA)
36.....	2-7-3	تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (PCA)
37.....	3-7-3	تجزیه خوشه‌ای
38.....	8-3	آنالیزهای فیلوژنتیک
38.....	1-8-3	درخت فیلوژنی حداکثر پارسیمونی
38.....	2-8-3	درخت فیلوژنی نزدیکترین همسایه
38.....	3-8-3	درخت فیلوژنی حداقل تکامل
38.....	4-8-3	بررسی استحکام و تأیید تبارنگار

فصل چهارم: نتایج و بحث

39.....		ریخت‌سنجی
39.....	1-4	صفات اندازه‌شی نسبی
41.....	1-1-4	تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (PCA) صفات اندازه‌شی نسبی
44.....	2-1-4	تجزیه خوشه‌ای صفات اندازه‌شی نسبی
44.....	2-4	صفات شمارشی
45.....	1-2-4	تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (PCA) صفات شمارشی
47.....	2-2-4	تجزیه خوشه‌ای صفات شمارشی
48.....	3-2-4	تلفیق داده‌های صفات اندازه‌شی نسبی و شمارشی گونه‌های مورد مطالعه
49.....	3-4	تعداد و درصد فراوانی فلس‌های خط جانبی
50.....	4-4	تعداد و درصد فراوانی شعاع‌های باله‌ها
55.....	5-4	مطالعات ژنتیکی
55.....	1-5-4	استخراج دی.ان.ا. و بررسی کیفیت آن
55.....	2-5-4	پی.سی.آر ژن سیتوکروم b و تعیین کیفیت محصول نهایی
56.....	3-5-4	آماده‌سازی و تحلیل توالی‌ها
58.....	6-4	تحلیل‌های فیلوژنتیک

فصل پنجم: نتیجه‌گیری نهایی و پیشنهادها

۶۵.....	1-5	پیشنهادها
66.....		منابع

فهرست اشکال

صفحه

عنوان

- شکل 2-1 نقشه پراکنش جنس *Alburnoides* در جهان (برگرفته از سایت <http://www.briancoad.com>) 8
- شکل 2-2 گونه *Alburnoides eichwaldii* 8
- شکل 2-3 گونه *Alburnoides idignensis* 10
- شکل 2-4 گونه *Alburnoides namaki* 11
- شکل 2-5 گونه *Alburnoides nicolausi* 13
- شکل 2-6 گونه *Alburnoides petrubanarescui* 15
- شکل 2-7 گونه *Alburnoides qanati* 17
- شکل 2-8 ژنوم میتوکندریایی (cytb-mtDNA) 25
- شکل 2-9 الکتروفوروگرام حاصل از توالی یابی دی.ان.ا. (برگرفته از سایت NCBI) 27
- شکل 3-1 نقشه حوضه ایستگاه‌های نمونه برداری شده 32
- شکل 3-2 طرح رسم شده برای صفات اندازه گیری شده در این مطالعه 32
- شکل 3-3 طرح رسم شده برای صفات شمارشی اندازه گیری شده در این مطالعه 33
- شکل 4-1 موقعیت هر یک از گونه‌های جنس *Alburnoides* بر اساس صفات اندازه‌گیری نسبی و با استفاده از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی 43
- شکل 4-2 موقعیت گونه‌های جنس *Alburnoides* در نمودار برهم‌کنش دو صفت نسبی قطر حلقه چشم به طول سر و فاصله باله مخرجی تا نوک پوزه به طول استاندارد 43
- شکل 4-3 دندوگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای جهت گروه‌بندی گونه‌های مورد مطالعه بر اساس 22 صفت اندازه‌گیری نسبی 44
- شکل 4-4 موقعیت هر یک از گونه‌های جنس *Alburnoides* بر اساس صفات شمارشی با استفاده از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی 47
- شکل 4-5 دندوگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای جهت گروه‌بندی گونه‌های مورد مطالعه بر اساس 9 صفت شمارشی 48
- شکل 4-6 دندوگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای جهت گروه‌بندی گونه‌های مورد مطالعه بر اساس صفات اندازه‌گیری نسبی و شمارشی 49
- شکل 4-7 نمودار خوشه‌ای حاصل از تفاوت گونه‌های جنس *Alburnoides* در تعداد شعاع‌های منشعب باله مخرجی در مطالعات کد (2009) 54
- شکل 4-8 الف - دی.ان.اهای استخراج شده از گونه‌های مورد مطالعه جنس *Alburnoides* 55
- شکل 4-9 ب - محصول پی.سی.آر قطعه 409bp 55
- شکل 4-10 بخشی از توالی ژن سیتوکروم *b* در نمونه *A. namaki* با استفاده از آغازگر رفت 56
- شکل 4-11 درخت فیلوژنی رسم شده با روش ML برای گونه‌های مورد مطالعه و برون‌گروه‌ها 60
- شکل 4-12 درخت فیلوژنی رسم شده با روش NJ برای گونه‌های مورد مطالعه و برون‌گروه‌ها 60
- شکل 4-13 درخت فیلوژنی رسم شده با روش ME برای گونه‌های مورد مطالعه و برون‌گروه‌ها 60
- شکل 4-14 درخت فیلوژنی رسم شده با روش MP برای گونه‌های مورد مطالعه و برون‌گروه‌ها 61

فهرست جداول

صفحه

عنوان

- جدول 1-2- نام گونه‌های جنس *Alburnoides* و محل پراکنش آنها در جهان 6
- جدول 1-3- مشخصات حوضه‌های نمونه‌برداری گونه‌های مورد مطالعه 31
- جدول 2-3- صفات اندازه‌گیری شده در این مطالعه 33
- جدول 3-3- صفات شمارشی اندازه‌گیری شده در این مطالعه 34
- جدول 4-3- نوع و مقدار مواد استفاده شده در واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز 35
- جدول 5-3- مراحل انجام واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز 36
- جدول 1-4- دامنه، میانگین و انحراف معیار صفات اندازه‌گیری نسبی گونه‌های مورد مطالعه 40
- جدول 2-4- نتایج آنالیز صفات اندازه‌گیری به عامل‌های اصلی و واریانس آنها 41
- جدول 3-4- همبستگی میان صفات اندازه‌گیری نسبی و 5 مؤلفه حاصل از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی 42
- جدول 4-5- نتایج آنالیز صفات شمارشی به عامل‌های اصلی و واریانس آنها 45
- جدول 6-4- همبستگی میان صفات شمارشی و 3 مؤلفه به دست آمده در تجزیه به مؤلفه‌های اصلی 45
- جدول 4-4- دامنه، میانگین و انحراف معیار صفات شمارشی گونه‌های مورد مطالعه 46
- جدول 7-4- تعداد و درصد فراوانی فلس‌های روی خط جانبی گونه‌های مورد مطالعه 50
- جدول 8-4- تعداد و درصد فراوانی فلس‌های بالای خط جانبی گونه‌های مورد مطالعه 50
- جدول 9-4- تعداد و درصد فراوانی فلس‌های پایین خط جانبی گونه‌های مورد مطالعه 50
- جدول 10-4- تعداد و درصد فراوانی شعاع‌های منشعب و غیرمنشعب باله پشتی در گونه‌های مورد مطالعه 51
- جدول 11-4- تعداد و درصد فراوانی شعاع‌های منشعب و غیرمنشعب باله مخرجی در گونه‌های مورد مطالعه 51
- جدول 12-4- تعداد و درصد فراوانی شعاع‌های منشعب باله سینه‌ای در گونه‌های مورد مطالعه 52
- جدول 13-4- تعداد و درصد فراوانی شعاع‌های منشعب باله شکمی در گونه‌های مورد مطالعه 52
- جدول 14-4- مقایسه صفات شمارشی در مطالعات کد و این تحقیق برای گونه‌های مورد مطالعه 53
- جدول 15-4- درصد تعداد نوکلئوتیدها قطعه توالی‌یابی شده در گونه‌های مورد مطالعه 57
- جدول 16-4- تعداد اختلاف تک نوکلئوتیدی بین ژنوتیپ‌های گونه‌های مورد مطالعه 57
- جدول 17-4- درصد شباهت بین گونه‌های مورد مطالعه و برون‌گروه (نرم‌افزار DNAMAN) 57
- جدول 18-4- میزان تفاوت بین گونه‌های مورد مطالعه و برون‌گروه (نرم‌افزار DNAMAN) 58
- جدول 19-4- فاصله ژنتیکی بین گونه‌های مورد مطالعه و برون‌گروه (نرم‌افزار MEGA5) 58
- جدول 20-4- تعداد مکان‌های حفظ‌شده، متغیر، پارسیمونی و منحصر به فرد در قطعه مورد مطالعه ژن سیتوکروم *b* 59

چکیده

جنس *Alburnoides* متعلق به خانواده کپورماهیان به عنوان گونه‌های مرکب با تنوع زیاد مطرح بوده است. از ایران شش گونه ماهی خیاطه شامل *A. nicolausi*، *A. petrubanarescui*، *A. namaki*، *A. idignensis*، *A. eichwaldii* و *A. qanati* به ترتیب از حوضه‌های کرخه، ارومیه، دریاچه نمک، کرخه، دریاچه خزر و کر گزارش شده است. در پژوهش حاضر، وضعیت آرایه‌شناختی گونه‌های مذکور با استفاده از صفات ریختی شامل 22 صفت اندازه‌شی‌نسبی و نه صفت شمارشی از شش گونه که مجموعاً از 144 نمونه مورد ارزیابی قرار گرفت. صفات ریختی با استفاده از کولیس دیجیتال با دقت 0/01 میلی‌متر و صفات شمارشی در زیر لوپ مورد ارزیابی قرار گرفتند. در مطالعات مولکولی سه نمونه از محصول پی.سی.آر (مجموعاً 18 محصول پی.سی.آر) قطعه 409bp ژن سیتوکروم *b* میتوکندریایی هر گونه توالی‌یابی گردید. در تجزیه به مؤلفه‌های اصلی صفات اندازه‌شی‌نسبی هم‌پوشانی بالایی بین گونه‌ها نشان داد اما تا حدودی می‌توان گونه‌های *A. nicolausi* و *A. idignensis* را بر اساس مؤلفه اول و گونه‌های *A. petrubanarescui* و *A. idignensis* را بر اساس مؤلفه دوم از یکدیگر تفکیک کرد. در مورد صفات شمارشی نیز هم‌پوشانی خوبی دیده می‌شود ولی نسبت به صفات ریخت‌شناسی میزان هم‌پوشانی آن‌ها کمتر است. گونه‌های *A. nicolausi* و *A. idignensis* بر اساس مؤلفه اول از یکدیگر مجزا می‌شوند و گونه *A. eichwaldii* بر اساس مؤلفه دوم از سایر گونه‌ها جدا می‌شود. در تجزیه خوشه‌ای صفات اندازه‌شی‌نسبی دو گونه *A. namaki* و *A. nicolausi* و همچنین دو گونه *A. qanati* و *A. eichwaldii* شباهت بیشتری با یکدیگر دارند اما در صفات شمارشی دو گونه *A. qanati* و *A. eichwaldii* دارای شباهت بیشتری با یکدیگر هستند. در تجزیه داده‌های مولکولی گونه‌های *A. eichwaldii* و *A. petrubanarescui* بیشترین شباهت (99%) و گونه *A. idignensis* (85%) بیشترین تفاوت را نسبت به دیگر گونه‌ها نشان دادند که این نتایج تا حدودی داده‌های به دست آمده از بررسی ریخت‌شناسی و شمارشی را تأیید می‌کند. همچنین درخت‌های فیلوژنی حاصل از روش‌های حداکثر احتمال و حداکثر پارسیمونی، گونه *A. idignensis* را از دیگر گونه‌ها مجزا کرد و دو گونه *A. eichwaldii* و *A. petrubanarescui* را به صورت خواهر گروه نشان داد. نتایج به دست آمده از داده‌های توالی‌یابی این قطعه از ژن سیتوکروم *b* نشان می‌دهد که این قطعه برای بررسی روابط فیلوژنتیک گونه‌های مورد مطالعه جنس *Alburnoides* مفید بوده است، ممکن است ویژگی‌هایی همچون اندازه کوچک این ماهیان، قدرت پراکنش اندک و تحرک پایین، ایزوله یا محدود بودن جمعیت‌های این ماهی و اندازه کوچک زیستگاه یا فضای اشغال شده توسط ماهی منجر به تکامل بسیار بومی و منطقه‌ای در اغلب گونه‌های این جنس شده باشد و این امر منجر به بروز اختلافات ریخت‌سنجی و شمارشی در گونه‌های مورد مطالعه شده است.

کلمات کلیدی: تاکسونومی، ماهی خیاطه، صفات ریخت‌سنجی، صفات شمارشی، سیتوکروم *b* میتوکندریایی.

فصل اول

مقدمه

1-1 مقدمه

مطالعات ماهی‌شناسی در آبهای داخلی ایران سابقه‌ای کمتر از 150 سال دارد، این در حالی است که هنوز در کشور ما، مطالعات تنوع زیستی و ماهی‌شناسی بسیار ضعیف و ابتدایی و بدون برنامه بوده و ناشناخته‌های زیادی از نظر سیستماتیک، زیست‌شناسی و اکولوژی ماهی‌ها وجود دارد. اکنون نیز با توجه به رشد روزافزون فعالیت‌های کشاورزی، صنعتی، ماهیدار کردن آبهای داخلی، ضرورت مطالعات در این زمینه بیشتر احساس می‌شود [23]. بررسی ماهی‌ها در اکوسیستم‌های آبی از لحاظ تکاملی، بوم‌شناسی، رفتارشناسی، حفاظت، مدیریت منابع آبی، بهره‌برداری ذخایر و پرورش ماهی حائز اهمیت است [74]. تنوع زیستی یا تنوع حیات به مفهوم تنوع ژنتیکی، گونه‌ای و اکوسیستمی است که در حقیقت کل تنوع‌های موجود در شبکه‌های حیاتی جهان را در برمی‌گیرد. شناسایی، حفظ و نگهداری تنوع زیستی در دنیا یا در هر منطقه از اولویت خاصی برخوردار است. امروزه اکوسیستم‌ها که مهم‌ترین عامل بقای تنوع زیستی هستند که به دلیل مدیریت ضعیف و ناقص دچار مخاطره شده‌اند و اکنون در کشورمان شاهد انقراض برخی از گونه‌ها هستیم [15]. فراوانی یک جمعیت به دلیل تغییراتی که در امکان بقا و موفقیت تولیدمثلی ماهی رخ می‌دهد، تغییر می‌کند. یک حوزه آبریز ممکن است دارای چندین جمعیت از یک گونه باشد. برای شناسایی جمعیت‌های مختلف یک گونه روش‌های متفاوتی وجود دارد که یکی از آن‌ها بررسی صفات مورفومتریک و مرستیکی است، بنابراین با مطالعه صفات قابل اندازه‌گیری و صفات قابل شمارش هر یک از ماهی‌ها و بکارگیری روش‌های آماری می‌توان تعدادی از صفات مورفولوژیکی شاخص یک جمعیت را به دست آورد [84].

ماهی خیاطه از راسته کپورماهی‌شکلان و خانواده کپورماهیان است که یکی از مهم‌ترین و بزرگ‌ترین خانواده‌های ماهیان آب شیرین است. این خانواده شامل 220 جنس و 2420 گونه و بزرگ‌ترین خانواده در بین مهره‌داران است. خانواده کپورماهیان در آمریکای شمالی و اوراسیا یافت می‌شوند [19].

مدت‌هاست مجموعه‌ای از گونه‌ها با تعدادی از زیرگونه‌های که در شمال اروپا در فرانسه از رشته‌کوه‌های شرقی آلپ تا حوضه دریای سیاه، دریای خزر و دریای آرال یافت می‌شوند را به عنوان *Alburnoides bipunctatus* در نظر می‌گرفته‌اند [33 و 41]. اطلاعات درباره گونه‌های جنس *Alburnoides* نسبت به گونه‌های دیگر بسیار اندک است و در نتیجه، فاقد یک نظام طبقه‌بندی و تشخیص مناسب است. اطلاعات پایه زیست‌شناسی برای این جنس وجود دارد ولی به دست آوردن اطلاعات بیشتر لازم به نظر می‌رسد. اخیراً با استفاده از یکسری ویژگی‌های مورفومتریک و مریستیک، جنس *Alburnoides* به چندین گونه جدید تقسیم شده است. گونه‌هایی که در نواحی از ایران پراکنش دارند عبارتند از *A. petrubanarescui* در حوضه دریاچه ارومیه، *A. namaki* در حوضه دریاچه نمک، *A. nicolausi* در حوضه رودخانه کرخه و *A. idignensis* در حوضه رودخانه کرخه و *A. eichwaldii* در حوضه دریاچه خزر و گونه *A. qanati* از قناتی در دره رودخانه پلوار (انشعابی از رودخانه کر) گزارش داده شده است [51 و 53]. روابط فیلوژنتیک این جنس مورد بحث است و هیچ‌گونه اطلاعات مولکولی برای شش گونه مذکور وجود ندارد.

در ابتدا ارزیابی ساختار ذخایر، تشخیص گونه‌ها، جمعیت‌ها و نژادها با استفاده از صفات مورفومتریک و مریستیک نظیر تعداد فلس‌های خط جانبی و نظایر آن صورت می‌گرفت. این روش‌ها امروزه نیز مورد استفاده قرار می‌گیرد اما با توجه به حساسیت بالای صفات مورفومتریک و مریستیک به تغییرات محیطی و زمان‌بر بودن این مطالعات، امروزه روش‌های متکی بر واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز¹ از قبیل ریید²، ریزماهورها³، آ.اف.ال.پی⁴ و تعیین توالی نوکلئوتیدی رشته‌های دی.ان.ا. جهت بررسی و شناسایی ژنوتیپ گونه‌ها و جمعیت‌های مختلف به کار می‌رود. هر چند که روش تعیین توالی دی.ان.ا. بسیاری از مشکلات محققین را برطرف نموده ولی اصولاً روش پرهزینه‌ای است [56 و 91]. دی.ان.ا. میتوکندریایی می‌تواند یک ابزار کارآمد برای جمع‌آوری اطلاعات برای تجزیه و تحلیل ژنتیکی جمعیت باشد از آنجا که دارای ویژگی‌های منحصر به فرد به علت کوچکی مولکول (در اکثر ماهیان در حدود 16500 ± 500 جفت باز است)، توارث تک والدی (توارث مادری)، نرخ سریع تغییرات تکاملی، انتقال بدون نوترکیبی و سرعت موتاسیون بالا (پنج تا ده برابر ژنوم هسته‌ای، به نحوی که در میلیون سال 2 درصد تغییرات را متحمل می‌شود) سبب شده که به عنوان ساعت تکاملی مورد استفاده قرار گیرد [34 و 81]. آنالیز دی.ان.ا. میتوکندریایی به طور گسترده در مطالعات فیلوژنی و ساختار جمعیتی ماهی‌ها، تأیید هویت محصولات ماهی‌ها و برای دستیابی به نشانگرهای ژنتیکی در گونه‌های جانوری مورد استفاده قرار می‌گیرد [86]. توالی‌هایی از ژن سیتوکروم *b*⁵ برای بهبود آشکارسازی تکامل نژادی در میان انواع گروه‌های ماهی‌ها از جمله کپورماهیان یافت شده است [117]. مطالعه ژنتیک جمعیت به درک ما از چگونگی جدایی گونه‌ها به جمعیت‌های مجزای تولیدمثلی در گستره زیستگاهی آن‌ها کمک می‌کند. چنین دانشی در مدیریت شیلاتی حائز اهمیت است، چرا که جمعیت‌های بومی ارزش حفاظتی قابل ملاحظه‌ای را به سبب منحصر به فرد بودنشان در تنوع ژنتیکی درون گونه‌ای دارا هستند [64].

¹ Polymerase chain reaction

² Random amplified polymorphic DNA

³ Microsatellite

⁴ Amplified fragment length polymorphic DNA

⁵ Cytochrome *b* gene

2-1 اهداف مطالعه

ماهی خیاطه براساس ویژگی‌ها یا صفات ریخت‌شناسی و تشریحی مورد مطالعه قرار گرفته است اما در رابطه با شناسایی جمعیت‌های این گونه و تفاوت‌های جمعیتی و گونه‌ای آن در حوضه‌های مختلف مطالعه‌ای صورت نگرفته است. با توجه به پراکنش این جنس در ایران و اهمیت آن به عنوان ماهی بومی و حفظ ذخایر ژنتیکی آن انجام تحقیق و بررسی بیشتر ضروری به نظر می‌رسد. هدف از این تحقیق بررسی و مقایسه مورفولوژی و مولکولی برای تأیید یا رد تمایز گونه‌های مختلف این جنس در حوضه‌های پراکنش آن است.

3-1 فرضیه‌ها

- 1- گونه‌های مورد مطالعه در این پژوهش از نظر صفات ریخت‌شناسی و شمارشی متفاوت نیستند.
- 2- تعیین توالی ژن سیتوکروم b دی.ان.ا. میتوکندریایی قادر به تمایز این گونه‌ها از هم نیست.

فصل دوم کلیات و مرور منابع

1-2 معرفی *Alburnoides*

1-1-2 رده‌بندی و مشخصات ظاهری

ماهی خیاطه از لحاظ رده‌بندی متعلق به رده شعاع‌بالگان (*Actinopterygii*)، راسته کپورماهی‌شکلان (*Cypriniformes*)، خانواده کپورماهیان (*Cyprinidae*) و جنس *Alburnoides* است و با نام‌های انگلیسی Riffle Minnow، Bleak و Spirilin و در ایران با نام‌های ماهی خیاطه، لپک در مازندران¹، سیما² و کولی³ شناخته می‌شود [13].

Alburnoides (Bloch, 1782) نامی کاربردی برای بسیاری از جمعیت‌ها در سراسر اروپا و آسیا از شمال کوه‌های آلپ در فرانسه به طرف شرق دریای سیاه، حوضه‌های دریای خزر و دریای آرال است اما پژوهش‌های حاضر نشان‌دهنده تنوع بیشتری است [42]. از این جنس 12 گونه در اروپا، 8 گونه در آسیا و 3 گونه آن هم در اروپا و هم در آسیا یافت می‌شود که 6 گونه نیز از ایران گزارش شده است (جدول 1-2). جنس *Alburnoides* به طور گسترده در ایران و معمولاً در رودخانه‌های کوچک و کمتر در مناطق اصلی حوضه‌های رودخانه‌های دریای خزر، دریاچه ارومیه، رودخانه تجن، کویر، دریاچه نمک، زاینده‌رود (اصفهان)، رودخانه شور و رودخانه کر پراکنش دارد [42].

¹ Lapak

² Sima

³ Coley

جدول 1-2- نام گونه‌های جنس *Alburnoides* و محل پراکنش آن‌ها در جهان

پراکنش	سال گزارش گونه	نام محقق	نام گونه	
آسیا و اروپا	1782	Bloch	<i>Alburnoides bipunctatus</i>	1
اروپا	1782	Bloch	<i>A. fangfangae</i>	2
اروپا	1859	Kessler	<i>A. maculatus</i>	3
آسیا و اروپا	1863	De Filippi	<i>A. eichwaldii</i>	4
اروپا	1874	Kessler	<i>A. taeniatus</i>	5
آسیا	1923	Bulgakov	<i>A. oblongus</i>	6
اروپا	1924	Karaman	<i>A. prespensis</i>	7
اروپا	1924	Berg	<i>A. rossicus</i>	8
اروپا	1928	Karaman	<i>A. ohridanus</i>	9
اروپا	1932	Berg	<i>A. kubanicus</i>	10
اروپا	1933	Chichkoff	<i>A. tzanevi</i>	11
اروپا	1940	Chichkoff	<i>A. strymonicus</i>	12
اروپا	1950	Stephanidis	<i>A. thessalicus</i>	13
آسیا	1972	Dadikyan	<i>A. armeniensis</i>	14
آسیا و اروپا	1997	Kottelat	<i>A. fasciatus</i>	15
اروپا	2009	Bogutskaya & Coad	<i>A. gmelini</i>	16
آسیا	2009	Bogutskaya & Coad	<i>A. idignensis</i>	17
آسیا	2009	Bogutskaya & Coad	<i>A. namaki</i>	18
آسیا	2009	Bogutskaya & Coad	<i>A. nicolausi</i>	19
آسیا	2009	Bogutskaya & Coad	<i>A. petrubanarescui</i>	20
آسیا	2009	Coad & Bogutskaya	<i>A. qanati</i>	21
آسیا	2009	Bogutskaya & Coad	<i>A. varentsovi</i>	22
اروپا	2010	Bogutskaya, Zupancic & Naseka	<i>A. devolli</i>	23

جنس *Alburnoides* در ظاهر مشابه جنس *Alburnus* که آن هم در اروپا و شمال آسیای جنوب غربی پراکنش دارد اما به جای دندان‌های حلقی دندان‌دار، دارای دندان‌های حلقی صاف است. مسلماً این تفاوت برای جدایی جنس‌ها مناسب نیست اما در این مورد تحقیقات زیادی صورت نگرفته است ولی این جنس‌ها استفاده گسترده‌ای دارند. قطعاً پیدا کردن افرادی از *Alburnus hohenackeri* که دارای دندان حلقی فاقد دندان‌ها هستند غیر معمول نیست. دندان حلقی در *Alburnoides* دو ردیفی با نوک به شدت قلاب شده، اما فاقد دندان‌ها هستند. اندازه فلس‌ها متوسط، کیل در پشت باله‌های شکمی معمولاً دارای فلس‌های کوچک اما ممکن است به طور کامل فلس‌دار باشد. باله پشتی کوتاه و تا وسط باله مخرجی امتداد دارد، آخرین شعاع غیر منشعب باله پشتی ضخیم است. خط جانبی اغلب با یک الگوی مشخص لکه‌ای در بالا و پایین هر منفذ و خارهای آبخشی کوتاه و اندک است [52]. دندان حلقی دو ردیفی معمولاً 4.2-2.5 و ندرتاً 5.2-2.5 در طرفین خط جانبی نوار تیره باریکی وجود دارد. قاعده باله‌های سینه‌ای، شکمی و مخرجی نارنجی و با افزایش کدورت آب، رنگ طبیعی از بین رفته و ماهی بی-

رنگ می‌شود. ارتفاع بدن زیاد است. حداکثر طول کل آن 15 سانتی‌متر (بیشترین فراوانی طولی از 110-100 میلی-متر) و حداکثر وزن 20 گرم، متوسط طولی و وزنی آن 7/8 سانتی‌متر و 4/3 گرم است [13].

این جنس یکی از فراوان‌ترین ماهیان به لحاظ تعداد در رودخانه‌های حوضه جنوب دریای خزر و حوضه دریاچه نمک است که به صورت دسته‌جمعی در قسمت‌های فوقانی و میانی غنی از اکسیژن آبهای زلال رودخانه‌ها و یا قنات‌هایی با جریان سریع، بسترهای قلوه‌سنگی و سنگلاخی که دارای دمای 20-5 درجه سانتی‌گراد زیست می‌کنند و در آبهای راکد، دریاچه‌های آب شیرین مناطق کوهستانی و قسمت‌های پایینی برخی رودخانه‌ها نیز مشاهده می‌شود [13]. زیستگاه مورد نیاز آن‌ها برای تخم‌ریزی یک محدوده بسیار کوچک است و تعداد زیستگاه مناسب برای تخم‌ریزی و پرورش آن‌ها بسیار محدود است [107]. تخم‌ریزی در فصل بهار (آوریل تا ژوئن) در دمای 13-15/6 درجه سانتی‌گراد انجام می‌شود و تخم‌های چسبنده بر روی شن و یا ماسه در جریان سریع آب گذاشته می‌شوند. هم‌آوری به 6496 تخم و قطر تخم‌ها به 2/16 میلی‌متر می‌رسد. تخم‌ریزی‌های متعدد در طی یک دوره 15 هفته‌ای در شرایط آزمایشگاهی گزارش شده است. در آزمایش‌های که بر روی نمونه‌های اروپایی، توسط بلس¹ (1996) انجام شد دریافتند که برای تولید مثل، به سرعت جریان 0/4 متر بر ثانیه و بستر شنی با قطر 2-5 سانتی‌متر که اجازه می‌دهد تا جریان بینابینی داشته باشد نیاز است. با بررسی که در آذربایجان بر روی سن و رشد انجام شده است، بلوغ در 1-2 سالگی و طول عمر 3 سال به دست آمده است [31]. زمان تخم‌ریزی از اردیبهشت تا اوایل تیر بوده و از پلانکتون‌ها، نکتوبنتوزها و حشرات روی آب (از جمله پشه مالاریا) تغذیه می‌کند. اندازه آن کوچک است، بنابراین ارزش صید ورزشی و اقتصادی ندارد اما با توجه به رنگ‌های زیبای بر روی بدن دارای ارزش زیبایی و تزئینی است [13].

غذا را از پایین یا از سطح آب می‌گیرند که غذای آن‌ها را بیشتر لارو حشرات و موجودات خشکی که روی آب قرار می‌گیرند، تشکیل می‌دهند. *Trichoptera* و *Chironomidae*, *Ephemeroptera*, *Plecoptera* لیست غذای آن ثبت کردند. دیاتومه‌ها نیز در محتویات روده یافت می‌شوند. انگل دیژن چشم *Diplostomum spathaceum* را از این ماهی جداسازی کرده‌اند [67]. این جنس بسیار حساس به فعالیت‌های انسانی است مخصوصاً در مقابل آب‌های آلوده‌شده توسط مواد زائد صنعتی، کشاورزی و شهری تحمل کمی دارند، بنابراین شاخص بیولوژیکی خوبی برای تعیین کیفیت محیط‌زیست خواهد بود. در نتیجه، این جنس به شدت در معرض تهدید و تقریباً نزدیک به انقراض در آبهای بسیاری از کشورهای اروپایی است که در جمهوری چک توسط قانون جز گونه‌های تحت حفاظت محسوب شده است [107].

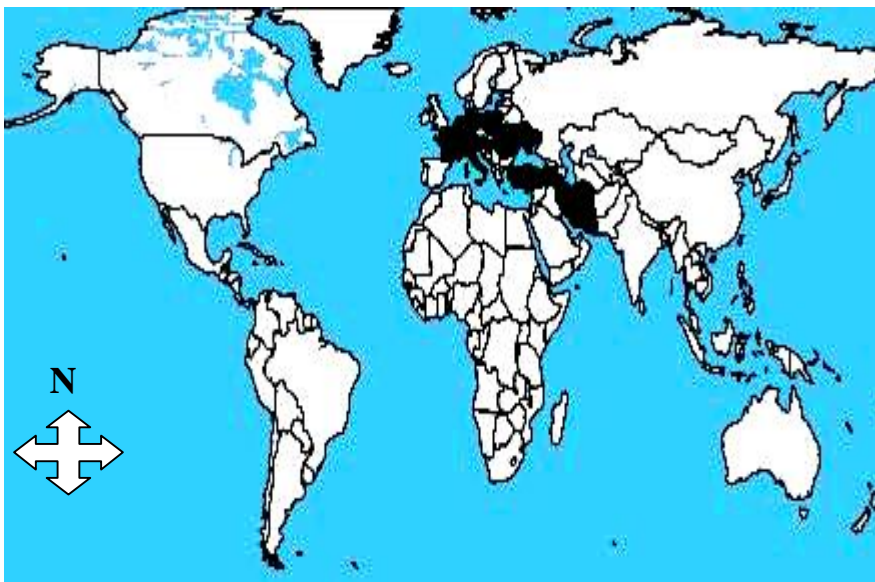
فریک² و همکاران گونه‌های جنس *Alburnoides* (2007) را به عنوان گونه‌های آسیب‌پذیر³ و در معرض خطر در اروپا از طریق آلودگی و یوتریفیکاسیون آب‌ها مطرح کرده است همچنین به عنوان گونه‌های در معرض خطر در ترکیه نیز ذکر شده است [61]. کیایی و همکاران (1999) در بررسی گونه‌های ایرانی *Alburnoides* حداقل نگرانی در حوضه جنوبی دریای خزر با توجه به ضوابط IUCN بیان کرده‌اند. این ضوابط شامل فراوانی در

¹ Bless

² Fricke

³ Vulnerable

تعداد، زیستگاه تخریب شده و محدوده گسترش است که این جنس در 75% از پیکره‌های آبی ایران وجود دارد و در حال حاضر در خارج از حوضه دریای خزر نیز به فراوانی یافت می‌شود [72].



شکل 1-2 نقشه پراکنش جنس *Alburnoides* در جهان (بر گرفته از سایت <http://www.briancoad.com>)

2-2 گونه‌های *Alburnoides*

1-2-2 *Alburnoides eichwaldii* (De Filippii, 1863) (شکل 2-2)

این گونه توسط ویژگی‌هایی توصیف می‌شود که این ویژگی‌ها نظیر بدن عمیق، طول بدن چهار برابر بیشتر از عرض بدن، چشم‌های بزرگ، تعداد شعاع‌های منشعب باله پشتی 8 عدد، شعاع‌های منشعب باله مخرجی 12 عدد، تعداد فلس‌های خط جانبی 50، 11 فلس در بالا و 7 فلس در پایین خط جانبی است و لوب‌های باله دم نسبتاً گرد و عمیقاً چنگالی، تعداد فلس‌های کیل شکمی اندک است اما در برخی نمونه‌های این گونه به طور کامل از فلس پوشیده شده که با پوزه‌ای گرد از دیگر گونه‌ها قابل تشخیص است. از سایر ویژگی‌های این گونه می‌توان به فک بالا کمی از فک پایین بیشتر بیرون‌زده، نوک شکاف دهان کمی پایین‌تر از سطح میانی چشم و یا در پایین‌تر از مردمک چشم، فرمول دندان حلقی معمولاً 2.5-4.2 و کمتر، 2.5-5.2 و یا 2.5-5.1 است [42 و 52].



شکل 2-2- گونه *Alburnoides eichwaldii* [نگارنده]

تعداد فلس‌های خط جانبی از 44-56، تعداد خارهای آبششی 6-10 عدد، تعداد کل مهره‌ها 40-43 و تعداد مهره‌های شکمی 18-22 و مهره‌های ناحیه دمی 19-22، تعداد مهره‌های ناحیه دمی معمولاً 1 مهره از ناحیه شکمی کوتاه‌تر یا برابر و یا یک مهره طولانی‌تر است و تفاوت بین تعداد مهره‌های ناحیه شکمی و دمی از 3+ تا 1- می‌تواند باشد که رایج‌ترین فرمول ستون مهره 21+21، 20+21 و 21+20 است. شعاع‌های غیرمنشعب باله پشتی و مخرجی 2-3 عدد است. تعداد خارهای آبششی این گونه 5-12 عدد است که از تعداد خارهای آبششی *Alburnus hohenackeri* که 16-29 عدد بسیار کمتر است ولی این دو گونه در تعداد فلس‌ها و شعاع باله‌ها مشابه هستند. این گونه از *A. gmelini* با داشتن تعداد کمتر شعاع‌های منشعب باله مخرجی (11-14 در مقابل 13-16) و تعداد بیشتر مهره‌های کل (41/3 عدد در مقابل 40/6) متفاوت است. نظری و همکاران (2009) تعداد کروموزوم‌های این گونه را $2n=50$ گزارش داده‌اند [42 و 52].

دو شکلی جنسی: عبدالرحمانوف (1962) برای این گونه در آذربایجان، در جنس نر طول باله شکمی را بلندتر و طول پوزه را کوتاه‌تر از ماده گزارش کرده است [42 و 52].

مشخصه‌های رنگی: رنگدانه‌هایی در طول خط جانبی همراه با لکه‌هایی کوچک در بالا و پایین بدن وجود دارد که این ویژگی تنها در ماهی‌های زنده مشاهده می‌شود ولی روی هم رفته رنگ آن نقره‌ای است. پهلو دارای یک نوار خاکستری کم‌رنگ است. در بالای خط جانبی ممکن است حدود 5-9 عدد خطوط سیاه و سفید که از لکه‌های مثلثی تشکیل شده‌اند و 3-5 عدد خط مشابه در زیر خط جانبی نیز وجود داشته باشد. پشت بدن و سر زیتونی تیره یا تقریباً سیاه و سفید و یا سبز و قهوه‌ای تیره است. رنگ پهلو در بالای خط جانبی می‌تواند ارغوانی و یا زرد طلایی باشد. رنگ ناحیه شکمی و پایین سر سفید مرواریدی است. رنگ باله‌های پشتی و دمی خاکستری روشن یا تیره است. رنگ قاعده باله‌های سینه‌ای، باله شکمی و مخرجی نارنجی رو به قرمز است که در جوانی به خوبی توسعه نیافته است. وسعت و شدت رنگدانه‌ها در بین باله‌ها متغیر است اگر چه در برخی ماهی‌ها به طور مساوی در تمام باله‌ها گسترش یافته‌اند [42 و 52].

شرایط زیستگاه: این گونه تنوع و گسترش قابل توجهی را از اروپا به سمت جنوب ایران نشان می‌دهد و همچنین می‌تواند در ترکیب اغلب دریاچه‌ها وجود داشته باشد و در حال حاضر حداقل در بخش‌های غربی حوضه دریای خزر و در حوضه غرب سفیدرود یافت می‌شود [42 و 52]. دادیکن¹ (1973) تنوع این گونه را در حوضه رودخانه ارس در یک منطقه کوهستانی ارمنستان گزارش داده است که بالای 10 مشخصه را برای تشخیص جمعیت‌های این گونه در این حوضه به کار برده است. جمعیت‌ها در ارتفاعات مشابه اما در رودخانه‌های مختلف و در شرایط زیستگاهی متفاوت به عنوان مثال در سرعت جریان‌های صخره‌ای در مقایسه با یک سرعت جریان در یک باتلاق متفاوت بوده است [57].

2-2-2 *Alburnoides idignensis* (Bogutskaya and Coad, 2009) (شکل 2-3)

کیل شکمی در بین باله سینه‌ای و مخرجی است که در حدود 1/2 طول آن از فلس پوشیده شده است. فلس‌ها روی پایه پروگزیمال غلاف باله مخرجی گسترش یافته‌اند. پروفایل فوقانی بدن شبیه پروفایل پایینی بدن محدب است. لوب‌های باله دمی گرد و چنگالی است. پوزه گرد و چاق است. دهان کوچک، بین انتهایی و

¹ Dadikyan