دانشگاه صنعتی اصفهان
دانشکده منابع طبیعی

تنوع ژنتیکی شاه‌کولی جنوبی *Alburnus mossulensis* Heckel, 1843 در حوضه دجله با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره

پایان نامه کارشناسی ارشد -بوم‌شناسی آبزیان شیلاتی

زهراشفیعی فلاورجانی

اساتید راهنما

دکتر سالار درافشان

دکتر یزدان کیوانی

۱۳۹۰

دانشگاه صنعتی اصفهان

دانشکده منابع طبیعی

پایان نامه کارشناسی ارشد -بوم‌شناسی آبزیان شیلاتی زهراشفیعی فلاورجانی

تحت عنوان

تنوع ژنتیکی شاه‌کولی جنوبی *Alburnus mossulensis* Heckel, 1843 در حوضه دجله با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره

در تاریخ ۱۳۹۰/۱۲/۶ توسط کمیته تخصصی زیر مورد بررسی و تصویب نهایی قرار گرفت.

۱- استاد راهنمای پایان نامه	دکتر سالار درافشان
۲- استاد راهنمای پایان نامه	دکتر یزدان کیوانی
۳ – استاد مشاور	مهندس احمد قاسمی
۳- استاد داور	دکترمنصوره ملکیان
۴- استاد داور	دکتر امیدوار فرهادیان
سرپرست تحصیلات تکمیلی دانشکده	دکتر محمدرضا وهابی

تشکر و قدردانی

خدا را شاکرم که توانسته‌ام در راه علم و معرفت گام دیگری به جلو بردارم و مسیر زندگی را با آگاهی و بینش وسیع‌تری طی نمایم. یقیناً هیچ اثری بدون زحمت و مشورت و رایزنی شکل نمی‌گیرد و این پایان‌نامه نیز حاصل عنایت و توجه نظارتی و مشورتی:

- جناب آقایان دکتر سالار درافشان و دکتر بزدان کیوانی که در تمامی مراحل اجرای پایان نامه از هیچ مساعدتی دریغ ننمودند و بر من منت نهادند و راهنمایی پایان نامه را بر عهده داشته‌اند.
- جناب آقای دکتر مجید طالبی عضو هیئت علمی دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان که در آنالیزهای آماری بنده را یاری نمودند و دکتر وینسنت دوبوت از دانشگاه آکس- مارسیل فرانسه که در انتخاب بهترین آغازگر و ارسال آنها بر من منت نهادند.
- جناب آقای دکتر نصراله محبوبی صوفیانی ریاست محترم دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان،
- کارشناس محترم آزمایشگاه شیلات دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان خانم مهندس نرگس رجایی آقای مهندس کوشیار مختاری کارشناس محترم آزمایشگاه خاک شناسی.

در پایان از تمامی عزیزانی که از همکاری و دلگرمیشان برخوردار بودم تشکر و قدردانی می نمایم.

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

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فهرست مطالب ..... هفت

فهرست اشکال ..... نه

فهرست جداول ..... ده

چکیده ۱

فصل اول : مقدمه

مقدمه ۲

فصل دوم : بررسی منابع و تعاریف

۲ ۱- معرفی شاه کولی جنوبی *Alburnus mossulensis* Heckel, 1843

۲ ۱-۱ رده بندی ۵

۲-۱-۲- پراکندگی ۶

۲-۱-۳- زیست‌شناسی و زیستگاه ۷

۲-۲- اهمیت مطالعه ژنتیکی و حفظ ذخایر ۸

۲-۳- نشانگرهای ژنتیکی ۹

۲-۳-۱- نشانگرهای مورفولوژیکی ۹

۲ ۳-۲ نشانگرهای مولکولی ۱۰

۲ ۴- نشانگر ریزماهواره

۲ ۴-۱ تعریف و نامگذاری ۱۱

۲ ۴-۲ توزیع و پراکندگی ۱۲

۲ ۴-۳ ویژگی‌های ژنتیکی ریزماهواره ۱۳

۲ ۴-۴ تکامل ریزماهواره‌ها ۱۳

۲ ۵- کاربرد ریزماهواره ۱۵

۲ ۶- ارزیابی تنوع ژنتیکی جمعیت ۱۵

۲ ۷-۱ دانش ژنتیکی ۱۶

۲ ۷-۲ انتخاب طبیعی ۱۶

۲ ۷-۳ روش تولیدمثل ۱۸

۲ ۷- بیان چندشکلی در داخل یک جمعیت

۲ ۷-۱- تعادل هاردی - واینبرگ ۱۸

۲ ۷-۲- محتوای اطلاعات چندشکلی ۱۹

۲ ۷-۳ تنوع ژنی و هتروزایگوسیتی ۲۰

۲ ۸- تمایز بین جمعیت‌ها ۲۰

۲ ۸-۱ فاصله ژنتیکی ۲۱
۲ ۸-۲ آماره F ۲۱
۲ ۸-۳ جریان ژنی ۲۲
۲ ۹- روش‌های تجزیه و تحلیل تنوع ژنتیکی ۲۲
۲ ۹-۱ تجزیه خوشه‌ای ۲۳
۲ ۹-۲ تجزیه به مولفه‌های اصلی ۲۳
۲ ۱۰- مرور منابع ۲۳
فصل سوم : مواد و روش ها
۳ ۱- ایستگاه‌های نمونه‌برداری ۲۵
۳ ۲- استخراج دی.ان.ا.
۳ ۲ - ۱- تجهیزات مورد استفاده ۲۷
۳ ۲ - ۲- استخراج دی.ان.ا. با کمک کیت و روش استات - آمونیوم ۲۷
۳-۲-۳- ارزیابی کیفی دی.ان.ا. با روش الکتروفورز ژل آگارز ۲۸
۳-۳- واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ۲۹
۳-۳-۱- بهینه‌سازی شرایط واکنش زنجیره ای پلیمراز ۳۰
۳ ۳-۲ انجام واکنش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ۳۰
۳ ۴- الکتروفورز محصول واکنش زنجیره‌ای پلیمراز، با استفاده از ژل پل اکریل آمید ۲% ۳۱
۳ ۴-۱ طرز تهیه ژل پلی اکریل‌آمید ۱۲%از استوک ۳۰% ۳۱
۳ ۴-۲ رنگ‌آمیزی ژل پلی‌اکریل‌آمید با نیترات نقره ۳۲
۳ ۵- تجزیه و تحلیل آماری ۳۲
فصل چهارم : نتایج و بحث
۴ ۱- بررسی کیفیت دی.ان.ا. ۳۴
۴ ۲- گروه‌بندی جمعیت‌ها
۴ ۲-۱ تجزیه به مولفه‌های اصلی ۳۵
۴ ۲-۲ تجزیه خوشه‌ای ۳۷
۴ ۲- تنوع ژنتیکی درون جمعیت‌ها ۳۹
۴ ۳- روابط و تفاوت ژنتیکی بین جمعیت‌ها ۴۶
۴ ۴- نتیجه‌گیری کلی ۵۲
۴ ۵- پیشنهادات ۵۳
منابع ۵۴
ضمیمه ۶۲

فهرست اشکال

عنوان **صفحه**

شکل ۲-۱ نقشه پراکنش گونه شاه‌کولی جنوبی *Alburnus mossulensis* در ایران ۶
شکل ۲-۲ شاه‌کولی جنوبی *Alburnus mossulensis* از رودخانه بی‌بی‌سیدان از حوضه کارون ۷
شکل ۲-۳ کراسینگ‌آور نابرابر بین کروموزوم‌های مشابه ۱۴
شکل ۲-۴ سرخوردن دی.ان.ا. پلی‌مراز در همانندسازی ۱۵
شکل ۲-۵ اثر اندازه جمعیت بر رانش ژنتیکی ۱۷
شکل ۳-۱ موقعیت محل‌های نمونه برداری ۲۶
شکل ۴-۱ الگوی الکتروفورز دی.ان.ا. به دست آمده از دو روش کیت و استات آمونیوم بر روی ژل آگارز ۱ درصد ۳۵
شکل ۴-۲ نمایش دو بعدی تجزیه به مولفه‌های اصلی با کمک داده‌های حاصل از نشانگرهای ریزماهواره ۳۶
شکل ۴-۳ گروه‌بندی جمعیت‌های مورد مطالعه براساس داده‌های ریزماهواره با استفاده از الگوریتم نیبرجوینیگ ۳۸
شکل ۴-۴ گروه‌بندی سه حوضه کارون، کرخه و دیاله براساس داده‌های ریزماهواره با استفاده از الگوریتم نیبرجوینیگ ۳۸
شکل ۴-۵ الگوی باندی حاصل از تکثیر چهار جفت آغازگر CypG24، BL1-2b، BL1-98 و Rser10 ..... ۴۰
شکل ۴-۶ موقعیت سه حوضه کارون، کرخه و دیاله و ارتباط آن‌ها ۴۸

فهرست جداول

عنوان **صفحه**

جدول ۲ - ۱ - تقسیم بندی ریزماهواره‌ها براساس نوع توالی تکرار شونده ۱۲

جدول۳- ۱ - محل و موقعیت جغرافیایی جمع‌آوری ماهی شاه‌کولی جنوبی *Alburnus mossulensis* ۲۵

جدول۳-۲ مشخصات آغازگرهای مورد استفاده در این مطالعه ۲۹

جدول ۳-۳- نوع و مقدار مواد استفاده شده در واکنش‌های زنجیره‌ای پلیمراز ۳۰

جدول۳-۴ برنامه های استاندارد اجرا شده برای واکنش ریزماهواره. ۳۰

جدول ۴-۱ نتایج حاصل از آنالیز تجزیه به مولفه‌های اصلی ۳۵

جدول ۴-۲ - فاصله و تشابه ژنتیکی نی (۱۹۷۲) بین دو به دو جمعیت‌های مورد مطالعه ۳۷

جدول ۴-۳- جایگاه‌های بررسی شده و آلل‌هایی که در شش جمعیت مورد مطالعه یافت شده‌اند ۴۳

جدول ۴-۴- تنوع و روابط ژنتیکی چهار جایگاه چندشکل ریزماهواره در پنج جمعیت شاه‌کولی جنوبی ۴۴

جدول ۴-۵- انحراف از تعادل هاردی - واینبرگ برای چهار جایگاه ریزماهواره در پنج جمعیت شاه‌کولی جنوبی ۴۶

جدول ۴-۶- ارزیابی تفاوت بین دو به دو جمعیت‌ها با کمک مقادیر F_{ST} ۴۹

جدول ۴-۷- تجزیه واریانس مولکولی داده‌های حاصل از نشانگر ریزماهواره براساس پنج جمعیت شاه‌کولی جنوبی ۴۹

جدول ۴-۸- تجزیه واریانس مولکولی داده‌های حاصل از نشانگر ریزماهواره براساس سه حوضه دیاله، کارون و کرخه ۵۱

جدول ۴-۹- ارزیابی سطح معنی‌دار بودن اختلاف بین سه حوضه کرخه، کارون و دیاله ۵۱

چکیده

شاه‌کولی جنوبی *Alburnus mossulensis* Heckel, 1843 در ایران پراکنش وسیعی در حوضه فارس، اصفهان، دجله و بوشهر دارد. با توجه به اهمیت مطالعه تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیت در مدیریت و حفاظت از گونه‌ها، تنوع ژنتیکی ذخایر شاه‌کولی جنوبی با استفاده نشانگر مولکولی ریزماهواره مورد مطالعه قرار گرفت. در این بررسی ۳۰ قطعه ماهی از هر یک از رودخانه‌های کنجان‌چم، کشگان، گاماسیاب، دورود و دوپلان و ۲۵ قطعه ماهی از رودخانه داوودعرب صید شد. استخراج دی.ان.ا. به دو روش استات آمونیوم و کیت تاکارا از قسمتی از بدن انجام گرفت و واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با استفاده از چهار جفت آغازگر CypG24، BL1-2b، BL1-98 و Rser10 ریزماهواره در دمای الحاق $56^{\circ}C$ انجام شد. محصولات واکنش زنجیره‌ای پلیمراز روی ژل اکریلامید ۱۲ درصد الکتروفورز و به روش نیترات نقره رنگ آمیزی شد و نتایج حاصل از آنها با استفاده از نرم افزارهای PowerMarker ver 3.0، PopGene ver 3.2، ARLEGUIN ver 3.11، MEGA ver 4 و NTSYS ver 2.02 آنالیز شد. چهار جفت آغازگر منتخب در این مطالعه، ۸ آلل (BL1-98) تا ۱۴ آلل (CypG24) و در مجموع ۴۳ آلل، با میانگین ۱۰/۷۵ به ازای هر مکان ژنی تکثیر کردند. محدوده آللی برای نشانگر CypG24 بین۱۳۸-۲۱۵ جفت باز، برای نشانگر BL1-2b بین ۱۴۱-۱۸۰ جفت باز، نشانگر BL1-98 ۲۷۲-۳۰۰ جفت باز و Rser10 بین ۱۷۶- ۲۴۰ جفت باز ارزیابی شد. ارزش میانگین محتوای اطلاعات چندشکلی برای تمامی مکان‌های ژنی ۰/۸۳۵ محاسبه شد. در میان چهار جایگاه چندشکل، نشانگر BL1-98 در پایین‌ترین چندشکلی و نشانگر CypG24 بالاترین چندشکلی را نشان داد. هترزایگوسیتی مورد انتظار از ۰/۷۹ (داوودعرب) تا ۰/۸۴ (کنجان‌چم، کشگان) با میانگین ۰/۸۲۵ و هتروزایگوسیتی مشاهده شده از ۰/۶۹ در جمعیت کنجان‌چم تا ۰/۸۱ در جمعیت کشگان با میانگین ۰/۷۵ متغیر بود. آزمون تعادل هاردی- واینبرگ برای تمام مکان‌های ژنی در تمام جمعیت‌ها نشان داد که نشانگرهای BL1-98، BL1-2b و CypG24 در تمام جمعیت‌ها و نشانگر Rser10 در جمعیت داوودعرب به طور معنی‌داری از تعادل منحرف بودند ($p<0/001$). میانگین F_{ST} در بین جمعیت‌های مورد مطالعه ۰/۰۲ و بین سه حوضه ۰/۰۰۷۱ محاسبه شد. نتایج حاصل از تجزیه واریانس مولکولی نشان داد که ۲/۰۱ بین جمعیت‌ها، ۱۵/۶ درصد تنوع بین افراد داخل جمعیت‌ها و ۸۲/۴ درصد داخل افراد وجود داشت یعنی این که بیشتر تنوع کل به تفاوت در داخل افراد تعلق داشت و فقط سهم کوچکی از تنوع به تفاوت بین جمعیت‌ها اختصاص داشت. میزان شباهت و فاصله ژنتیکی بین جمعیت‌ها به ترتیب از دامنه ۰/۶۹۶- ۰/۸۹۴ و ۰/۱۱۱- ۰/۳۴ به دست آمد. در مطالعه حاضر تنوع ژنتیکی جمعیت‌های شاه‌کولی جنوبی بالا بود ولی مقایسه مقادیر هتروزایگوسیتی مورد انتظار نشان داد که این جایگاه‌ها تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال یک صدم بین جمعیت‌ها ایجاد نکردند. با وجود این که تفاوت بسیار معنی داری در تنوع ژنتیکی بین جمعیت‌ها مشاهده نشد ولی تفاوت ژنتیکی بین جمعیت‌ها معنی‌دار بود ($p<0/05$). در مطالعه حاضر علت پایین بودن تفاوت ژنتیکی را می‌توان جریان ژنی بالا بین جمعیت‌ها و یا کوتاه بودن زمان چند تکه شدن زیستگاه این ماهی در گذشته دانست. جهت درک بهتر ساختار جمعیتی شاه‌کولی جنوبی مطالعه ساختار جمعیتی آن با استفاده از دیگر نشانگرهای مولکولی از تمامی مناطق پراکنش آن و همچنین مطالعات بیولوژیکی و اکولوژیکی توصیه می‌شود.

کلمات کلیدی: شاه‌کولی جنوبی، *Alburnus mossulensis*، ریزماهواره، تنوع ژنتیکی، تفاوت ژنتیکی.

فصل اول
مقدمه

اعمال مدیریتی صحیح بر ذخایر آبزیان و توسعه پایدار آبزی‌پروری زمانی با موفقیت همراه خواهد بود که ذخایر ژنی گونه‌های بومی، مورد مطالعه قرار گرفته باشند [۱۸]. از آن جا که فراوانی یک جمعیت به دلیل تغییراتی که در احتمال بقا و موفقیت تولیدمثلی رخ می‌دهد، تغییر می کند، یک حوضه آبریز ممکن است دارای چندین جمعیت از یک گونه باشد [۸]. بنابراین اولین گام در این زمینه، تشخیص صحیح گونه‌ها، جمعیت‌ها و یا نژادها است که این امر هم از نظر مدیریت شیلاتی و هم حفاظت از گونه‌ها حائز اهمیت است [۱۸].

برای شناسایی جمعیت‌های مختلف از یک گونه روش‌های متفاوتی وجود دارد که یکی از آن‌ها بررسی صفات مورفومتریک و مریستیک است ولی توصیف و اندازه‌گیری صفات زیستی- مرفولوژیکی مشکل و در برخی موارد گمراه‌کننده است [۸و۷۹]. اعضای یک نژاد یا جمعیت ممکن است بر حسب ظاهر شبیه به هم ولی از لحاظ ژنتیکی کاملاً با هم متفاوت باشند. متقابلاً برخی از نژادها ممکن است خیلی متفاوت به نظر برسند ولی از لحاظ ژنتیکی نزدیک به یکدیگر باشند [۲۷]. مشکل اصلی در استفاده از داده‌های فنوتیپی از آن‌جا ناشی می‌شود که رابطه مستقیم خطی بین فنوتیپ و ژنوتیپ وجود ندارد. این، به این معنی است که صفات و ویژگی‌های فنوتیپی تحت تاثیر ژن‌ها و همچنین متغیر-های محیطی هستند [۱۴]. نشانگرهای مولکولی در شناسایی دقیق و مطمئن ژنوتیپ‌ها ابزار مکملی برای روش شناسایی مورفولوژیکی هستند [۷۹]. نشانگرهای مولکولی در مطالعه ژنتیک جمعیت، جهت ارزیابی اثر فاکتورهای مختلف روی تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیت مفید است [۹۴].

چندین نوع نشانگر در ژنتیک آبزی‌پروری رایج است که شامل آلوزایم، دی.ان.ا. میتوکندریایی[1]، آر.اف.ال.پی.[2]، رپید[3]، ا.ف.ال.پی.[4]، ریزماهواه[5]، اس.ان.پی.[6] و ای.اس.تی.[7] است [۶۷]. در میان نشانگرها، ریزماهواره فرمی از توالی‌های تکراری دی.ان.ا. هستند که در اوایل دهه‌ی ۱۹۸۰ کشف شدند [۹۹] و به لحاظ سرعت، دقت، سهولت کار، ماهیت وراثت هم بارزی، سطح بالای چندشکلی، فراوانی آللی بالا و فراوانی زیاد در ژنوم موجودات به عنوان بسیار مناسب و کارا در جهت شناسایی ارقام و ژنوتیپ‌ها، مطالعات ژنتیک جمعیت و مطالعات فیلوژنی کاربرد دارد [۸۳].

ماهی‌های آب‌های شیرین ایران، حتی بدون در نظرگرفتن ماهی‌های آب‌های لب شور دریای خزر، بسیار متنوع و جالب توجه هستند. حدود ۱۴۰ گونه ماهی در آب‌های داخلی ایران وجود دارد که اغلب آنها از سه خانواده کپورماهیان (Cyprinidae)، سگ‌ماهیان جویباری (Balitoridae) و رفتگرماهیان (Cobitidae) هستند و بیشتر آنها دارای ارزش صید اقتصادی، صید ورزشی، زیبائی شناسی، مبارزه بیولوژیک و حفاظتی هستند [۱۳]. از آن جایی که کپورماهیان به رودخانه‌ها و دریاچه‌ها محدود شده‌اند، توزیع آنها تقریبا منعکس‌کننده تاریخچه جغرافیای زیستی آنهاست. بنابراین کپور ماهیان برای فهم مکانیسم‌های تکاملی که باعث تنوع و توزیع گونه‌ها می‌شوند، مناسب هستند [۷۱].

شاه‌کولی جنوبی *Alburnus mossulensis* Heckel, 1843 متعلق به رده پرتوبالگان Actionopterygii، درجه ماهیان استخوانی عالی Teleostei، راسته کپورماهی‌شکلان Cypriniformes، خانواده کپورماهیان Cyprinidae، زیرخانواده عروس‌ماهی‌سان‌ها Leuciscinae و جنس *Alburnus* است. این جنس در جهان دارای ۳۹ گونه ثبت شده است که ۷ گونه از آن در آب‌های ایران زیست می‌کند [۳۶]. پراکنش این ماهی در حوضه دجله و فرات و نیزآب‌های داخلی ایران در حوضه فارس، اصفهان، دجله و بوشهر گزارش شده است [۱۳].

از آن جایی که هر فرد به عنوان یک خزانه ژنی محسوب می‌شود و جمعیت‌ها مجموعه متنوعی از ژن‌ها هستند که عواملی همچون آلودگی، صید بی رویه، شرایط نامناسب آب‌وهوایی، از بین رفتن زیستگاه‌ها منجر به کاهش اندازه موثر جمعیت‌ها و در نتیجه کاهش تنوع ژنتیکی ذخایر می‌گردد، این گونه به لحاظ ذخیره ژنتیکی حائز اهمیت است. همه موجودات هدف عوامل جهش‌زا هستند که منجر به تنوع ژنتیکی می‌شود. تنوع ژنتیکی در گونه‌ها توانایی موجودات را در سازگاری با تغییرات محیطی افزایش می‌دهد و برای بقای گونه‌ها لازم است. در ارتباط با سایر فاکتورهای تکاملی، انتخاب طبیعی و رانش ژنتیکی، تنوع ژنتیکی را افزایش می‌دهد که منجر به تفاوت در سطح جمعیت، گونه‌ها و گروه‌های تاکسونومی بالاتر می‌گردد [۹۰].مطالعات ژنتیکی جمعیت به درک ما از چگونگی جدایی ژنتیکی گونه‌ها به جمعیت‌های مجزای تولیدمثلی در گستره زیستگاهی آنها کمک می‌کند. چنین دانشی در مدیریت شیلاتی حائز اهمیت است، چرا که جمعیت‌های وحشی اغلب ارزش حفاظتی قابل ملاحظه‌ای را به سبب سهم منحصر به فردشان در تنوع ژنتیکی درون گونه ای دارا هستند [۵۶].

تنوع ژنتیکی کلید پایداری دراز مدت جمعیت‌ها است [۱۴]. چندین علت برای حفظ پایداری جمعیت‌ها وجود دارد. جوامع ماهیان وحشی از ارزش ذاتی برخوردارند [۷۲]؛ و نقش‌های بوم‌شناسی مهمی را در ساختار و عملکرد جوامع آبزی

---

[1] Mitochondrial DNA markers
[2] Restriction fragment length polymorphism
[3] Random amplified polymorphic DNA
[4] Amplified fragment length polymorphism
[5] Microsatellite
[6] Single nucleotide polymorphism
[7] Expressed sequence tags

به لحاظ ارزش اقتصادی و یا زیباشناختی داشته و فراتر از آن، حفظ پایداری جوامع آنها لازم است. مطالعات اندکی در مورد زیست شناختی، زیستگاه، بوم‌شناسی و کاریولوژی این گونه وجود دارد [۲۲،۲۵،۴۷، ۶۲،۹۲و۶۱]. لذا به دلیل گستره‌ی وسیع پراکنش و عدم وجود اطلاعات در زمینه تنوع ژنتیکی آن، حفظ و حراست ذخایر ژنی شاه‌کولی جنوبی در زیستگاه‌های بومی و لزوم انجام مطالعات تنوع ژنتیکی احساس می‌شود.

هدف از این مطالعه ارزیابی ساختار جمعیتی شاه‌کولی جنوبی در سه رودخانه حوضه دجله یعنی کارون، کرخه و سر شاخه‌های دیاله در ایران است. در این بررسی تفاوت ژنتیکی در میان برخی از جمعیت‌های این گونه در ایران مورد ارزیابی قرار گرفت و وجود قرابت ژنتیکی بین افراد این گونه در هر کدام از حوضه‌ها با هم مورد سنجش قرار گرفت. همچنین دو فرضیه زیر مورد بررسی قرار گرفت:

۱) جمعیت‌های متفاوتی از شاه‌کولی جنوبی حوضه دجله زیست می‌نمایند.

۲) آغازگرهای ریزماهواره طراحی شده در زیر خانواده Leuciscinae قادر به تمایز جمعیت‌های شاه‌کولی جنوبی هستند.

این مطالعه اطلاعات پایه‌ای در زمینه ژنتیک این گونه فراهم می‌کند و چنین اطلاعاتی به دلیل درک ساختار اکوسیستم و کارکرد و سیر تحول آن می‌تواند برای اهداف مدیریتی حفظ ذخایر این گونه، حفظ تنوع زیستی رودخانه و نهایتاً حفظ تعادل اکولوژیکی اکوسیستم رودخانه در منطقه مورد مطالعه مورد استفاده قرار گیرد.

فصل دوم
کلیات و مرور منابع

۲-۱- معرفی شاه‌کولی جنوبی *Alburnus mossulensis* (Heckel, 1843)

۲-۱-۱- رده بندی

این ماهی در ایران به نام‌های مختلفی از قبیل شاه‌ماهی، شاه‌کولی، شاه‌کولی جنوبی و به زبان عربی در موصل به نام‌هایی همچون سیمن[۱]، سمن[۲] یا زوری[۳] معروف است. جایگاه این ماهی در بین ماهی‌های استخوانی عالی به شرح زیر است:

رده	Actinopterygii
درجه	Teleostei
فوق راسته	Ostariophysi
راسته	Cypriniformes
خانواده	Cyprinidae
زیرخانواده عروس‌ماهی‌سان‌ها	Leuciscinae
جنس	*Alburnus*

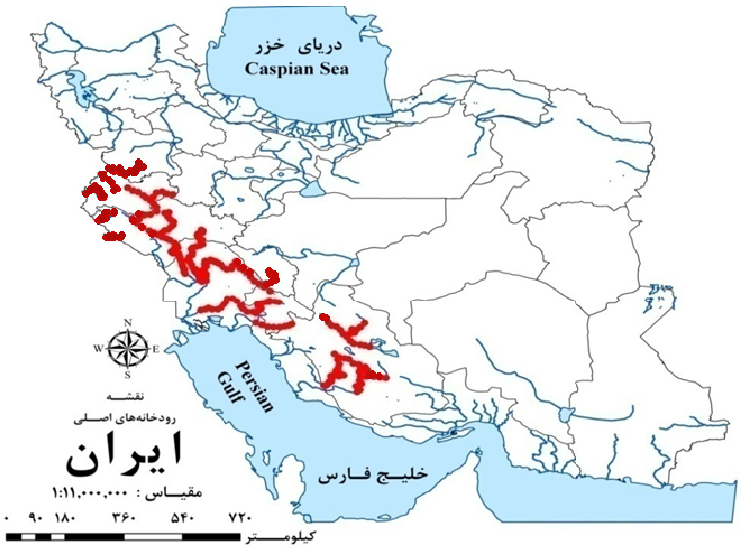
گونه *Alburnus capito* (Heckel, 1843) از روخانه کر و *Leuciscus maxillaris* (Valenciennes, 1844) در رودخانه‌های کردستان و *Alburnus iblis* (Heckel, 1849) در رودخانه سیون[۴]، نزدیک تخت جمشید و رود کر که هر هر دو در فارس واقع‌اند و *Alburnus schejtan* (Heckel, 1849) و *Alburnus megcephalus* (Heckel,1849) با این گونه مترادف هستند [۳۶]. یک زیرگونه به نام *Alburnus mossulensis delineatus* (Battalgil, 1942) از دیاربکیر[۵] در

[1] Simnan
[2] Semnan or samnan
[3] Zurri
[4] Sivan
[5] Diyarbakir

در بالادست دجله در ترکیه گزارش شده است. کروپ[۱] و همکاران یک هیبرید با *Acanthobrama marmid* از هور الحمار[۲] در جنوب عراق گزارش دادند او همچنین ذکر کرد که *A. mossulensis* احتمالاً مترادف *Alburnus sellal* (Heckel, 1843) گونه اصلی رودکیووایک[۳] در حلب است. گرچه آنها شاه‌کولی را به دلیل تفاوت در رنگ به عنوان گونه‌ای جداگانه در نظر گرفتند. هکل[۴] *A.mossulensis* را از *A.sellal* به وسیله شکل سیلندری‌تر و کشیده‌تر و باله‌های شکمی، پشتی و مخرجی قدامی‌تر، همچنین ساقه دمی کشیده‌تر، چشم‌های بزرگتر و تحتانی‌تر و نیز یک خط راه راه که قسمت بالای بدن را از قسمت پایین جدا می‌کند، مشتق می‌کند [۳۶]. برگ[۵] حدس می‌زند که ممکن است *A.mossulensis* چیزی بیشتر از یک زیرگونه *A.sellal* نباشد. تجزیه عاملی بر روی انواع نمونه‌های *A. mossulensis* و *A.sellal* با استفاده از ۳۲ خصوصیت مورفومتریک و مریستیک تفکیک در بعضی مشخصات بین دو آرایه[۶] را نشان داد و آنالیز تابع تشخیص جدایی بیشتری را (اما نه در تمام نمونه‌ها) نشان داد. شواهد برای جدایی یا مترادف بودن این دو آرایه قطعی نیست [۱۹].

۲-۱-۲- پراکندگی

شاه‌کولی جنوبی گسترش وسیعی در کشورهای ایران، عراق و ترکیه دارد. در ایران در حوضه‌های دجله، بوشهر، فارس، قسمت‌های بالایی حوضه هرمزگان و به احتمالاً از حوضه اصفهان، همچنین از رودخانه‌های شاپور، دالکی در حوضه بوشهر و قسمت‌های بالایی مند شامل کورا و سر شاخه‌های شور، دشت پلنگ از توابع شور، قسمت‌های بالایی زهره، مارون و جراحی، قسمت‌های بالایی حوضه کارون، خرسان، دز، تمام قسمت‌های میانی تا بالایی حوضه کرخه از قبیل سیمره[۷]، قره‌سو و گاماسیاب گزارش شده است (شکل ۲-۲) [۳۶].



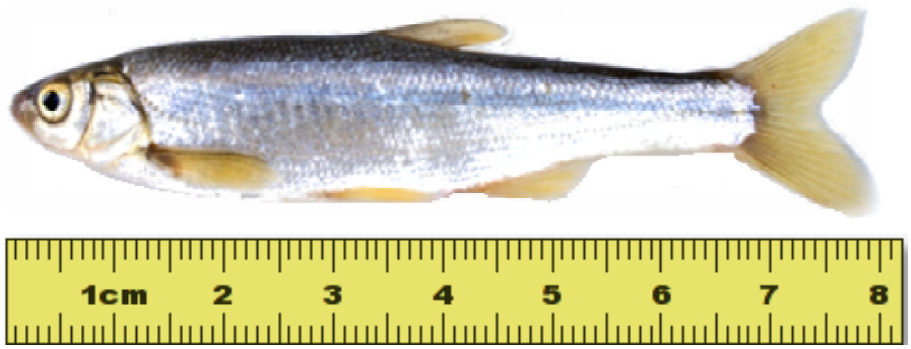
شکل ۲-۱ نقشه پراکنش گونه *A.mossulensis* در ایران [۱۳]

[4] Krupp
[۲] Hawr al Hammar
[6] Quwayq
[7] Heckel
[۵] Berg
[9] Taxa
[۷] Simarreh

۲-۱-۳- زیست‌شناسی و زیستگاه

خصوصیات کلیدی که باعث تمایز آن از سایرگونه‌ها می‌گردد شامل ۸ شعاع منشعب در باله پشتی، کیل شکمی کوتاه، ۱۸-۱۱ خار آبششی، ۱۴-۱۰ شعاع منشعب باله مخرجی و ۸۹- ۵۸ فلس خط جانبی است (شکل۲-۱). این گونه دارای ۳ شعاع غیرمنشعب و ۹-۷ شعاع منشعب در باله پشتی، ۳ شعاع غیرمنشعب و ۱۴-۱۰ شعاع منشعب در باله مخرجی، ۱۸ - ۱۳ شعاع غیرمنشعب در باله سینه‌ای، ۹-۷ شعاع غیر منشعب باله شکمی، ۱۸ - ۱۱ خار آبششی و دندان حلقی دو ردیفه ۲، ۵-۴ و ۲ است که دندان‌های حلقی دارای قلاب و لبه‌های دندانک‌دار تا قسمت تاج، در نمونه‌های مختلف به فرمول ۲، ۵- ۵، ۲، ۳، ۵- ۵، ۳ و یا ۲، ۵- ۵، ۳ نیز مشاهده شده است. بوگاتسکایا[1] و همکاران درجمعیت‌های مختلف هم ناحیه تعداد کل مهره‌های ستون فقرات ۴۳-۴۰ و ۴۵-۴۲ شمردند که در ناحیه شکمی ۲۲-۲۰ و ۲۴-۲۲ عدد مهره وجود داشت [۳۶].

رنگ بدن این ماهی در کل نقره‌ای است. پشت بدن قهوه‌ای متمایل به قرمز، آبی، آبی تیره یا متمایل به تیره است. در پهلوها یک خط جانبی به رنگ تیره تقریباً به قطر چشم ماهی وجود دارد. فلس‌های بالای خط جانبی دارای ملانوفور هستند. حاشیه باله پشتی، دمی و مخرجی تیره است. ممکن است نقاط تیره‌ای در پایه باله دمی و شعاع‌های ابتدایی باله سینه‌ای وجود داشته باشد. باله‌های سینه‌ای و شکمی و مخرجی در پایه متمایل به زرد هستند. باله‌های شکمی و مخرجی ممکن است متمایل به قرمز باشند. پرده صفاق، قهوه‌ای است اما ممکن است به خاطر لکه‌های قهوه‌ای تیره تقریباً تیره به نظر برسد. حداکثر اندازه شاه‌کولی جنوبی تقریباً به ۲۲ سانتی‌متر می‌رسد [۳۶].



شکل ۲-۲ *Alburnus mossulensis* از رودخانه بی‌بی‌سیدان از حوضه کارون [۱۹]

مطالعات کروموزومی که بر روی این گونه توسط سلیمان گل[2] و همکاران انجام شد عددکروموزومی این گونه را به صورت ۲n=۴۸ مشخص شد که کاریوتایپ آن به صورت ۶ جفت کروموزوم متاسنتریک[3]، ۱۰ جفت کروموزوم ساب-متاسنتریک[4] و ۸ جفت کروموزوم آکروسنتریک[5] به دست آمد [۵۴]. در مطالعه دیگری که در ترکیه توسط جعفر اقلو[6] و و ایسرف ایفکسل[7] با نشان‌دار کردن هستک‌ها انجام شد عدد کروموزومی شاه‌کولی جنوبی ۲n=۵۰ تعیین گردید که

---

[1] Bogutskaya
[1] Süleyman Gül
[2] Metacentric
[3] Submetacentric
[4] Acrocentric
[5] Gaffaroğlu
[6] Eşref Yüksel

کاریوتایپ آن شامل ۶ جفت کروموزوم متاسنتریک، ۸ جفت ساب متاسنتریک، ۵ جفت ساب‌تلوسانتریک[1] و ۶ جفت آکروسانتریک مشخص شد [۵۲].

در مورد خصوصیات تولیدمثلی این ماهی اطلاعات بسیار محدودی وجود دارد. یلدیریم[2] و همکاران در سال ۲۰۰۳ با مطالعه این گونه در روخانه قره‌سو واقع در شرق و جنوبی‌ترین قسمت ترکیه از حوضه فرات توانستند برخی از خصوصیات رشد و تولیدمثلی آن را مشخص کنند. از جمله مواردی که این محققین توانستند به آن دست یابند شامل زمان ظهور فلس‌ها در سن ۱۰-۹ ماهگی است، تعداد نرها در جوانی بیشتر از ماده بود و در پیری برعکس تعداد ماده‌ها بیشتر بود، نرها در سن ۱/۲۶ سالگی با متوسط اندازه ۹/۲۴ سانتی‌متر و ماده‌ها در سن ۱/۸۱ سالگی و متوسط اندازه ۹/۶۵ سانتی - متری به بلوغ می‌رسند. فصل تولیدمثل از خرداد تا شهریور وقتی که دمای آب به ۱۵ درجه سانتی‌گراد می‌رسد، است [۱۹].

در رابطه با عادات غذایی این گونه یونس و همکاران در شط‌العرب دریافتند که این ماهی از فیتوپلانکتون‌ها (جلبک‌ها و دیاتومه‌ها)٪۴۴، مواد دتریتی٪۳۶/۷ و سخت پوستان٪۳/۱ تغذیه می‌کند که٪۸۹ همپوشانی رژیم غذایی با *Barbus luteus* در اردیبهشت ماه داشت. در یک مطالعه دیگر در عراق، در هور الحمار جیره آن شامل٪۶۷/۹۵ حشرات و ٪۱۴/۳۴ جلبک با دیاتومه، گیاهان، سخت‌پوستان و ماهی کمتر از٪۱۰، در هور الهویزه٪۶۶/۲ حشرات و٪۱۹/۲ جلبک-ها با مقداری دیاتومه و سخت‌پوستان کمتر از٪۱۰ بود، و در هور الکبایش٪۷۳/۷ حشرات و٪۱۳/۱ جلبک‌ها با مقداری دیاتومه، گیاهان و سخت‌پوستان کمتر از٪۱۰ بود [۱۹].

زیستگاه این گونه نهرها، رودخانه‌ها، دریاچه‌ها، آب‌انبارها و مرداب‌ها است. الحبیب به صورت آزمایشی برای نمونه‌های گرفته شده از رودخانه الاوکا[4] در شمال موصل عراق نشان داده است که این گونه می‌تواند تقریبا دمای بین ۳۶/۲- ۲۵/۱ درجه سانتی‌گراد را تحمل کند. ایپلر[5] و همکاران دریافتند که این گونه دومین گونه غالب در دریاچه‌های حبانیه[6]، تارتار[7] و رزازه[8] در عراق است که در مجموع ۱۰ درصد کل ماهی‌ها را شامل می‌شد. این ماهی یکی از فراوان‌ترین گونه-گونه‌ها در مرداب‌های بهبود یافته در جنوب عراق در طی سال‌های ۲۰۰۶- ۲۰۰۵ بود [۳۶].

۲-۲- اهمیت مطالعه ژنتیکی و حفظ ذخایر

تنوع زیستی عبارت است از اشکال مختلف حیات بر روی سیاره زمین و در برگیرنده تنوع گونه‌ای و تنوع ژنتیکی است. برای ارزش‌گذاری و حفظ تنوع زیستی دلایل متعددی وجود دارد. مهم‌ترین دلیل این است که حیات ما بر روی سیاره زمین بدون وجود تنوع گونه‌ای ممکن نخواهد بود. گونه‌های مختلف، تامین‌کننده غذا (گیاهان زراعی و دام‌ها)، پوشاک (کتان و پشم)، مواد دارویی و سرگرمی و تفریح (پیاده‌رویی در طبیت، گردشگری در طبیعت، باغ‌وحش‌ها، باغبانی، ماهی‌گیری، تماشای پرندگان) هستند. اگر از دیدگاهی غیر از منافع انسان نگاه شود، گونه‌ها به دلیل اینکه دارای حق حیات هستند دارای اهمیت هستند نه به خاطر سودمندی‌هایی که برای انسان دارند.

---

[7] submetacentric
[8] Yidirim
[1] Al Kaba'ish
[2] Aloka
[3] Epler
[4] Habbaniyah
[5] Tharthar
[6] Razzazah

براساس فسیل‌های باقی مانده، تنوع زیستی در طول ۶۰۰ میلیون سال گذشته روند افزایشی ثابتی داشته است. گرچه ۹۹ درصد از گونه‌هایی که تاکنون می‌زیسته‌اند، منقرض شده‌اند. براساس اطلاعات موجود در فهرست قرمز سال ۲۰۰۳ حدود ۲۳ درصد از گونه‌های پستاندار و ۱۲ درصد از گونه‌های پرنده تهدید شده‌اند.

- حال سوال این‌جاست که چرا گونه‌های بسیار زیادی در معرض خطر انقراض هستند؟ پاسخ در بسیاری از شرایط فعالیت های انسانی است. کشاورزی، جنگل‌تراشی، معدن‌کاری، سدسازی و شهرسازی زیستگاه تعداد بی شماری از گونه‌ها را در سرتاسر جهان نابود کرده است. گونه‌های بسیار زیادی به دلیل ورود گونه‌های وارداتی توسط انسان به صورت غیرعمدی یا غیرعمد در معرض نابودی قرار گرفته‌اند. شکار و صید و تجارت گونه‌ها اجزای آن‌ها به بهره‌برداری بی‌رویه از آن‌ها منجر شده است و بسیاری از گونه‌ها از آلودگی‌های صنعتی و کشاورزی متاثر شده‌اند. گرچه فرایندهای تهدید کننده بسیار متنوع هستند. نتیجه همه آنها کاهش اندازه جمعیت‌های وحشی است. در چنین شرایطی گونه‌ها دچار کاهش تنوع
- ژنتیکی و درون‌آمیزی[۱] می‌شوند. ژنتیک مولکولی می‌تواند به ما کمک کند تا در مدیریت جمعیت‌های وحشی تصمیم درستی گرفته شود و در این‌جاست که حفاظت ژنتیک اهمیت پیدا می‌کند [۱۴].

ابزارهای ژنتیکی به طور موفقیت‌آمیزی برای تشخیص روابط بین افراد، جوامع و گونه‌ها به‌کار رفته است ازآن جایی که حفاظت از تنوع زیستی یک دیدگاه مهم در حفاظت پایدار و طولانی‌مدت گونه‌ها است، افزایش نیاز درباره اطلاعات جزئی از تنوع ژنتیکی درون‌گونه‌ای احساس می‌شود. دانستن سطح تفاوت در داخل و بین زیرجمعیت‌ها فقط برای بهینه کردن تلاش حفاظتی با در نظر گرفتن ذخیره‌ها و زیرجمعیت‌های خاص نیست بلکه قسمت مهمی از مطالعات اکولوژیکی جوامع ماهی در محیط‌های متغیر است و وسیله‌ای برای مدیریتی شیلاتی و پروژهای بازسازی ذخایر آبزیان است [۹۴،۷۱و۹۸].

سطح تنوع ژنتیکی ممکن است نشان‌دهنده اطلاعاتی درباره اندازه ساختار جمعیت پایه باشد. برای مدیریت یک گونه، دانستن تنوع ژنتیکی بین گونه‌ای برای توسعه بیشتر آبزی‌پروری، بررسی جغرافیای زیستی و ارزیابی خطرات انقراض مثل درون‌آمیزی و ظرفیت تکاملی[۲] در جهان در حال تغییر کمک می‌کند [۵۳و۹۴].

۲-۳- نشانگرهای ژنتیکی

تفاوت‌های بین توالی‌های دی.ان.ا. در هر موجود از والدین به نتاج یا نسل پس از والدین منتقل می‌شود و همین می‌تواند به عنوان یک نشانگر ژنتیکی به‌کار رود. به طورکلی برای اینکه صفتی به عنوان نشانگر ژنتیکی مورد استفاده قرار گیرد باید خصوصیاتی نظیر قابلیت توارث و تنوع بین افراد یا جوامع یا گونه‌های مختلف مورد مطالعه و امکان مقایسه نتایج با مطالعات مشابه را داشته باشند [۲۰و۹۶]. نشانگرهای ژنتیکی به دو گروه نشانگرهای مورفولوژیکی و مولکولی تقسیم می
- شوند که به شرح آنها می‌پردازیم:

۲-۳-۱- نشانگرهای مورفولوژیکی

کاربرد نشانگرهای مورفولوژیکی به ده‌ها سال پیش از کشف دی.ان.ا. به عنوان ماده ژنتیکی مربوط می‌شود [۲۰]. این نشانگرها شامل دامنه وسیعی از ژن‌های کنترل کننده صفات فنوتیپی هستند که اکثراً به صورت غالب به ارث می‌رسند. این

---

[۱] Inbreeding
[۲] evolutionary potential

نشانگرها پیامد جهش‌های قابل رویت در مورفولوژی موجودات هستند. گرچه نشانگرهای مورفولوژیکی به طور سنتی در علوم زیستی مورد استفاده قرار گرفته‌اند ولی دارای محدودیت‌های اساسی هستند که موجب شده است محققین به انواع دیگری از نشانگرهای ژنتیکی توجه نمایند. تحت تاثیر محیط بودن، وابستگی به سن و مرحله رشدی موجود، تعداد کم نشانگر و عدم مشخص بودن اساس و ماهیت ژنتیکی نشانگرها از جمله مهم‌ترین محدودیت‌های استفاده از نشانگرهای موفولوژیکی است[۳۰].

واقعیت کلی بر این است که جمعیت‌هایی که از نظر ریختی از تنوع بالایی برخوردارند، دارای تنوع ژنتیکی بالایی نیز هستند. هر چند با توجه به خصوصیات فنوتیپی می‌توان به تنوع ژنتیکی یک جمعیت تا حدودی پی برده شود، اما در مدیریت جمعیت ها ممکن است اشتباه ایجاد کند. مشکل اصلی در استفاده از داده‌های فنوتیپی از آن‌جا ناشی می‌شود که رابطه ۱:۱ بین فنوتیپ و ژنوتیپ وجود ندارد این به این معنا است که صفات و ویژگی‌های فنوتیپی تحت تاثیر ژن‌ها و همچنین متغیرهای محیطی هستند [۱۴].

توانایی یک ژنوتیپ در ایجاد فنوتیپ‌های متعدد در شرایط محیطی متفاوت شکل‌پذیری فنوتیپی[۱] نامیده می‌شود. شکل-پذیری فنوتیپی می‌تواند به برآورد غلط تنوع ژنتیکی منتهی شود، یعنی سبب شود که تنوع ژنتیکی بیش از مقدار واقعی آن برآورد شود [۱۴].

۲-۳-۲ - نشانگرهای مولکولی

در سال‌های اخیر استفاده از نشانگرهای مولکولی برای مطالعات پایه‌ای و کاربردی در انسان، حیوان و گیاه با کشف انواع مختلفی از نشانگرهای مولکولی باعث پیشرفت عمده‌ای در مطالعات ژنتیکی گردیده است. یکی از مهم‌ترین موارد استفاده از نشانگرهای مولکولی ایجاد نقشه‌های فیزیکی و ژنتیکی در موجودات زنده و مکان‌یابی ژن‌های کنترل‌کننده صفات کیفی و کمی است [۳۰و۲۰]. قدرت نشانگرهای مولکولی معمولاً از طریق مقدار چندشکلی[۲] ایجاد شده تعیین می-شود و عمدتاً تابع مقدار جهش در جایگاه‌های ژن هدف است [۲۰]. نشانگرهای مولکولی در دو گروه نشانگرهای بیوشیمیایی و دی.ان.ا. قابل مطالعه می‌باشند.

الف - نشانگرهای بیوشیمیایی

نشانگرهای بیوشیمیایی، پروتئین‌هایی هستند که نتیجه بیان ژن‌ها هستند. لذا به این نشانگرها، نشانگر های مولکولی در سطح پروتئین گفته می‌شوند. از مهم‌ترین انواع نشانگرهای بیوشیمیایی می‌توان به آیزوزایم‌ها و آلوزایم‌ها اشاره کرد. در دهه ۱۹۶۰ روشی تحت عنوان الکتروفورز پروتئین‌های آلوزایمی ابداع شد. این روش که تحول نوینی در زیست‌شناسی محسوب می‌شود به محققان امکان مطالعه خصوصیات ژنتیکی گونه ها، افراد، جمعیت‌ها و حتی سطوح بالاتر رده‌بندی را می‌دهد [۱۴]. آلوزایم‌ها محصول تنوع ژنتیکی در جایگاه‌های رمزکننده آنزیم‌ها هستند، که نباید با آیزوزایم‌ها، که اشکال مختلف یک آنزیم بوده و در جایگاه‌های مختلف تولید می‌شوند، یکسان دانست [۲].

تعداد آلوزایم‌های قابل ثبت و مشاهده به عنوان نشانگر به صد نمی‌رسد. این محدودیت در تعداد نشانگرهای آلوزایم از عمده‌ترین معایب آنها محسوب می‌شود و موجب کاهش کارایی این نشانگرها می گردد. از نکات منفی دیگر این نشانگر -

---

۱ Phenotypic plasticity
۲ Polymorphism