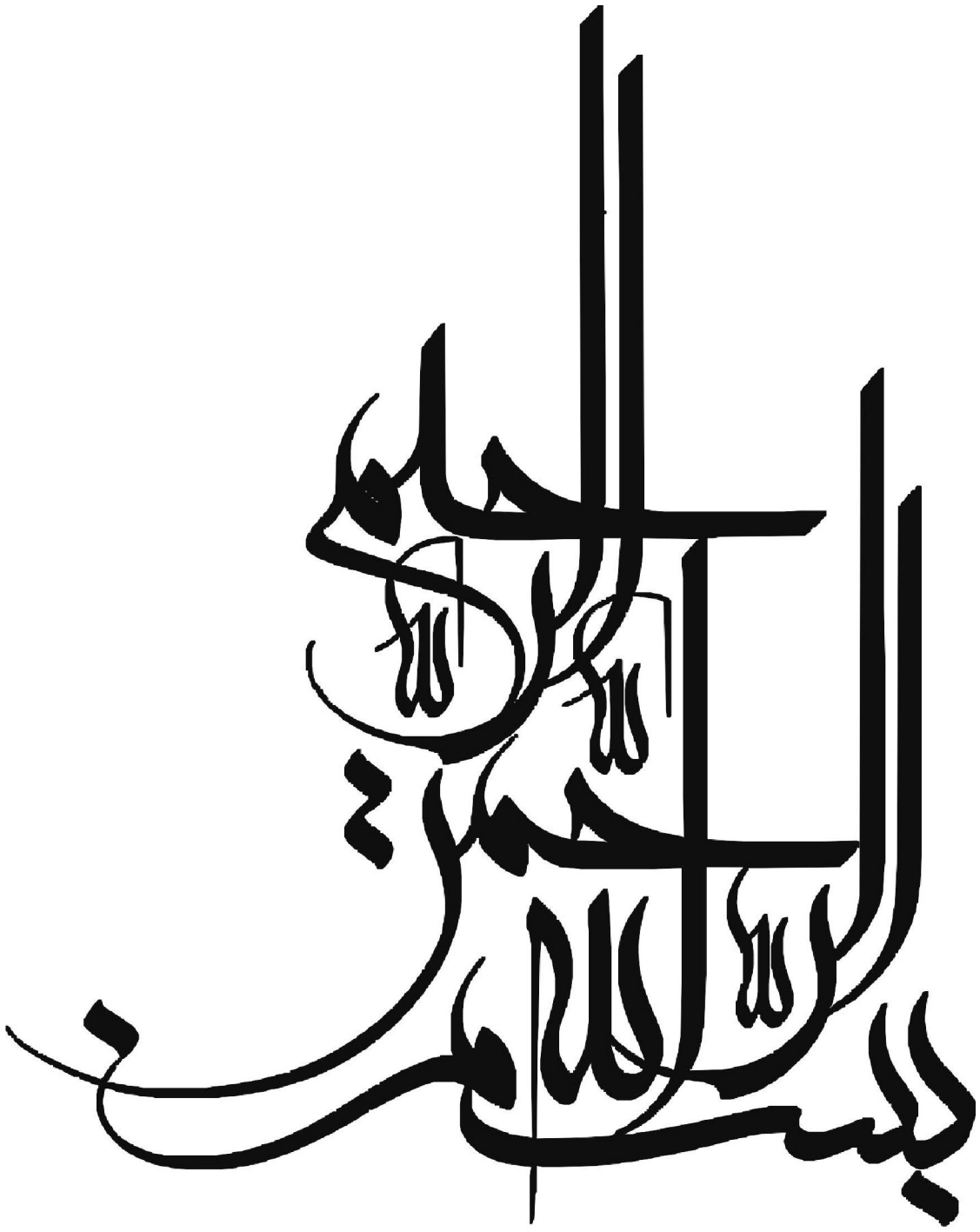
بسم الله الرحمن الرحيم

دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر

دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی

گروه بیولوژی دریا

پایان‌نامه کارشناسی ارشد رشته زیست‌شناسی دریا گرایش اکولوژی دریا

تعیین تنوع ژنتیکی جمعیت ماهی گورخری *Aphanius ginaonis* و *Aphanius dispar* در آبهای ساحلی هرمزگان و بوشهر با استفاده از نشانگر مولکولی PCR-RFLP

استادان راهنما:

دکتر حسین ذوالقرنین

دکتر بیتا ارچنگی

استادان مشاور:

دکتر محمدتقی رونق

دکتر مهدی محمدی

پژوهشگر:

عصمت سلیمی

مهر ۱۳۹۰

نام: عصمت
نام خانوادگی: سلیمی
مقطع تحصیلی: کارشناسی ارشد
رشته و گرایش: زیست‌شناسی دریا- اکولوژی دریا
اساتید راهنما: دکترحسین ذوالقرنین، دکتر بیتا ارچنگی
اساتید مشاور: دکتر محمدتقی رونق، دکتر مهدی محمدی

واژه‌های کالیدی: تنوع ژنتیکی، *Aphanius ginaonis* ، *Aphanius dispar* ، PCR-RFLP

تعیین تنوع ژنتیکی جمعیت ماهی گورخری *Aphanius ginaonis* و *Aphanius dispar* در آبهای ساحلی هرمزگان و بوشهر با استفاده از نشانگر مولکولی PCR-RFLP

چکیده:

در این مطالعه تنوع ژنتیکی جمعیت ماهی گورخری گنو و ماهی گورخری معمولی با استفاده از روش PCR-RFLP بررسی گردید. جهت تعیین و مقایسه تنوع ژنتیکی این دو ماهی در حوزه خلیج فارس، تعداد ۳۰ نمونه ماهی گورخری گنو از چشمه آب گرم گنو در استان هرمزگان و ۳۰ نمونه ماهی گورخری معمولی از چشمه آب گرم میراحمد در استان بوشهر طی یک سال جمع‌آوری گردید. نمونه‌ها در اتانول ۹۶٪ فیکس شد و برای انجام مطالعات ژنتیکی به آزمایشگاه بیوتکنولوژی خرمشهر منتقل گردید. DNA نمونه‌ها به روش فنل-کلروفرم استخراج و سپس کمیت و کیفیت DNA استخراج شده با استفاده از روش اسپکتروفتومتری و الکتروفورز ژل آگارز ۱٪ تعیین شد. با استفاده از توالی ناحیه D-loop و پرایمر اختصاصی ماهی آفانیوس، محصول PCR برای تمامی نمونه‌ها به دست آمد. جهت هضم آنزیمی محصول PCR به طول ۵۵۰ جفت‌باز، از ۵ آنزیم محدودگر *Alu*I, *Dpn*I, *Eco*47I, *Hin*dIII *Hin*fI استفاده شد، سپس باندهای DNA نمونه‌ها، با استفاده از الکتروفورز عمودی ژل پلی‌اکریل‌آمید و رنگ‌آمیزی نیترات نقره مشاهده گردید. آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار Arlequin 3.11 انجام گرفت. در نتیجه این آنالیزها، ۱۲ هاپلوتیپ متفاوت به دست آمد که ۹ هاپلوتیپ مربوط به ماهی گورخری گنو و ۳ هاپلوتیپ مربوط به ماهی گورخری معمولی بود. ۴ هاپلوتیپ به دست آمده در ماهی گورخری گنو جزء هاپلوتیپ‌های نادر بودند. در ماهی گورخری معمولی هاپلوتیپ AAAAA بیشترین فراوانی را دارا بود و در ماهی گورخری گنو هاپلوتیپ‌های EABAB، EACAB و CABAB بیشترین فراوانی را نشان دادند. محاسبه تنوع هاپلوتیپی و نوکلئوتیدی نشان داد که تنوع در ژنوم میتوکندریایی ماهی گورخری گنو بالاتر از ماهی گورخری معمولی است. بررسی‌های انجام شده بر ژنوتیپ‌های حاصله نشان داد که PCR-RFLP تکنیک مناسبی جهت تعیین تنوع ژنتیکی بین دو گونه ماهی مذکور می‌باشد.

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول: مقدمه و کلیات

۱-۱- مقدمه ۲

۱-۲- رده بندی خانواده Cyprinodontidae ۳

۱-۲-۱- رده بندی گونه *Aphanius ginaonis* ۵

۱-۲-۲- رده بندی گونه *Aphanius dispar* ۶

۱-۳- خصوصیات عمومی کپور ماهیان دندانداران ۷

۱-۳-۱- مشخصات زیست شناختی گونه *Aphanius ginaonis* ۸

۱-۳-۲- مشخصات زیست شناختی گونه *Aphanius dispar* ۸

۱-۴- موارد استفاده و اهمیت اقتصادی ۹

۱-۵- محدوده جغرافیایی پراکنش خانواده Cyprinodontidae در جهان ۹

۱-۶- محدوده جغرافیایی پراکنش خانواده Cyprinodontidae در ایران ۱۰

۱-۶-۱- پراکنش گونه *A. ginaonis* در ایران ۱۰

۱-۶-۲- پراکنش گونه *A. dispar* در ایران ۱۰

۱-۷- وضعیت حفاظتی خانواده Cyprinodontidae ۱۰

۱-۸- تعاریف و اصطلاحات ۱۱

۱-۸-۱- تنوع زیستی ۱۱

۱-۸-۲- تنوع ژنتیکی ۱۱

۱-۸-۳- جمعیت ۱۲

۱-۸-۴- ژنتیک جمعیت ۱۲

۱-۹- ژنوم میتوکندریایی ۱۳

۱-۹-۱- مزایای استفاده از mtDNA ۱۴

۱-۹-۲- کاربردهای mtDNA ۱۴

۱-۱۰-نشانگر مولکولی RFLP ۱۵

۱-۱۱- آنزیم محدودالاثر ۱۶

۱-۱۲- ویژگی‌های آغازگرها ۱۶

۱-۱۳- اهمیت و ارزش تحقیق ۱۷

۱-۱۳-۱- اهداف تحقیق ۱۸

۱-۱۴- پیشینه مطالعات انجام شده ۱۸

۱-۱۴-۱- مطالعات انجام شده در داخل کشور ۱۸

۱-۱۴-۲- مطالعات انجام شده در خارج از کشور ۲۰

فصل دوم: مواد و روش ها

۲-۱- مناطق نمونه‌برداری ۲۲
۲-۱-۱- چشمه آب گرم گنو ۲۲
۲-۱-۲- چشمه آب گرم میراحمد ۲۳
۲-۲- محل و مدت انجام پروژه ۲۴
۲-۳-آغازگر (پرایمر) ۲۵
۲-۴- استخراج DNA ۲۵
۲-۵- تعیین کمیت و کیفیت DNA استخراج شده ۲۶
۲-۵-۱- روش اسپکتروفتومتری ۲۶
۲-۵-۲- روش الکتروفورزی ۲۷
۲-۶- آماده‌سازی آغازگر ۲۸
۲-۷- واکنش زنجیره ای پلیمراز (PCR) ۲۹
۲-۷-۱- اجزاء واکنش PCR ۳۰
۲-۷-۲- غلظت اجزاء واکنش PCR ۳۱
۲-۷-۳- روش بهینه‌سازی PCR ۳۱
۲-۷-۴- بازدارنده‌های واکنش PCR ۳۲
۲-۸- انتخاب آنزیم ۳۲
۲-۹- آنالیز RFLP یا هضم آنزیمی محصول PCR ۳۳
۲-۱۰- روش تهیه ژل پلی‌اکریل‌آمید ۶٪ ۳۴
۲-۱۰-۱- محلول‌های مورد نیاز و مراحل رنگ‌آمیزی ۳۴
۲-۱۱- آنالیز اطلاعات ۳۵
۲-۱۱-۱- نرم افزار Arlequin ۳۵
۲-۱۱-۲- پارامترهای مورد سنجش در نرم‌افزار ۳۶

فصل سوم: نتایج

۳-۱- نتایج بررسی کمیت و کیفیت DNA استخراج شده ۳۹
۳-۱-۱- ارزیابی کمیت DNA استخراج شده با استفاده از روش اسپکتروفتومتری ۳۹
۳-۱-۲- ارزیابی کیفیت DNA استخراج شده با استفاده از روش الکتروفورز ژل آگارز ۴۰
۳-۲- ارزیابی محصول PCR ۴۰
۳-۳- هضم آنزیمی ۴۱
۳-۳-۱- تنوع ژنی و تنوع نوکلئوتیدی در *Aphanius dispar* ۵۴
۳-۳-۲- تنوع ژنی و تنوع نوکلئوتیدی در *Aphanius ginaonis* ۵۴

فصل چهارم: بحث و نتیجه‌گیری

۴-۱- عملکرد آنزیم‌ها ۵۹

۴-۲- آنالیز داده‌ها..... ۶۰
۴-۳- تکامل مولکولی گونه آفانیوس..... ۶۱
۴-۴- نتیجه‌گیری نهایی ۶۳
۴-۵- پیشنهادات..... ۶۴
پیوست ۶۵
منابع ۷۳
چکیده انگلیسی ۸۷

فهرست شکل ها

عنوان **صفحه**

شکل ۱-۱- ماهی گورخری گنو (*Aphanius ginaonis*) ۵
شکل ۱-۲- ماهی گورخری معمولی (*Aphanius dispar*) ۷
شکل ۲-۱- نقشه ایستگاه‌های نمونه‌برداری، تهیه شده در محیط Arc Gis 9.3 ..... ۲۴
شکل ۳-۱- نمونه ای از DNA استخراج شده به روش فنل-کلروفرم از ماهی گورخری گنو ۴۰
شکل ۳-۲- نمونه ای از DNA استخراج شده به روش فنل-کلروفرم از ماهی گورخری معمولی ۴۰
شکل ۳-۳- الکتروفورز محصول PCR ماهی گورخری گنو برروی ژل آگارز ۱٪ ۴۱
شکل ۳-۴- الکتروفورز محصول PCR ماهی گورخری معمولی برروی ژل آگارز ۱٪ ۴۱
شکل ۳-۵- نشانگرLadder 100 bp، به عنوان نشانگر طول قطعه DNA ۴۲
شکل ۳-۶- هضم محصول PCR در ماهی *Aphanius ginaonis* توسط آنزیم (*Ava*II) *Eco*47I ۴۲
شکل ۳-۷- هضم محصول PCR در ماهی *Aphanius dispar* توسط آنزیم (*Ava*II) *Eco*47I ۴۳
شکل ۳-۸- هضم محصول PCR در ماهی *Aphanius ginaonis* توسط آنزیم *HindIII* ۴۳
شکل ۳-۹- هضم محصول PCR در ماهی *Aphanius dispar* توسط آنزیم *Hin*dIII ۴۴
شکل ۳-۱۰- هضم محصول PCR در ماهی *Aphanius ginaonis* توسط آنزیم *Hin*fI ۴۴
شکل ۳-۱۱- هضم محصول PCR در ماهی *Aphanius dispar* توسط آنزیم *HinfI* ۴۵
شکل ۳-۱۲- هضم محصول PCR در ماهی *Aphanius ginaonis* توسط آنزیم *Alu*I ۴۶
شکل ۳-۱۳- هضم محصول PCR در ماهی *Aphanius dispar* توسط آنزیم *AluI* ۴۶
شکل ۳-۱۴- هضم محصول PCR در ماهی *Aphanius ginaonis* توسط آنزیم *DpnI* ۴۷
شکل ۳-۱۵- هضم محصول PCR در ماهی *Aphanius dispar* توسط آنزیم *Dpn*I ۴۷
شکل ۳-۱۶- فراوانی هر یک از هاپلوتیپ‌های به دست آمده از *Aphanius dispar* ۵۲
شکل ۳-۱۷- فراوانی هر یک از هاپلوتیپ‌های به دست آمده از *Aphanius ginaonis* ۵۲
شکل ۵-۱- آزمایشگاه بیوتکنولوژی دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر ۶۹
شکل ۵-۲- وسایل و مواد مورد استفاده در استخراج DNA ۷۰
شکل۵-۳- دستگاه الکتروفورز افقی ۷۰
شکل ۵-۴- دستگاه الکتروفورز عمودی ۷۰
شکل ۵-۵- دستگاه اسپکتروفتومتر ۷۱
شکل ۵-۶- دستگاه PCR ۷۱
شکل ۵-۷- دستگاه سانتریفیوژ یخچالی ۷۲

شکل ۵-۸- دستگاه مستندساز ژل..... ۷۲

فهرست جداول

عنوان **صفحه**

جدول ۱-۱- جایگاه ماهی گورخری گنو (*Aphanius ginaonis*) در طبقه‌بندی ۵
جدول ۱-۲- رده‌بندی ماهی گورخری معمولی (*Aphanius dispar*) ۶
جدول ۲-۱- نوع و مقدار مواد استفاده شده در واکنش PCR ۳۱
جدول ۲-۲- برنامه داده شده به دستگاه PCR ۳۲
جدول ۲-۳- آنزیم‌های مورد استفاده و محل‌های قطع هر آنزیم ۳۳
جدول ۳-۱- نام آنزیم، تعداد و طول قطعات ایجاد شده بر اثر هضم آنزیمی محصول PCR ۴۸
جدول ۳-۲- الگو و اندازه قطعات هضم شده توسط پنج آنزیم برشگر بر روی ناحیه D-loop میتوکندریایی ۴۸
جدول ۳-۳- ژنوتیپ‌های مشاهده شده در *Aphanius dispar* پس از هضم آنزیمی ۴۹
جدول ۳-۴- ژنوتیپ‌های مشاهده شده در *Aphanius ginaonis* پس از هضم آنزیمی ۵۰
جدول ۳-۵- فراوانی هر یک از هاپلوتیپ‌های به دست آمده از *Aphanius dispar* ۵۱
جدول ۳-۶- فراوانی هر یک از هاپلوتیپ‌های به دست آمده از *Aphanius ginaonis* ۵۱
جدول ۳-۷- اختلاف هاپلوتایپی به دست آمده در هر دو ماهی ۵۳
جدول ۳-۸- کدگذاری 0 و 1 در ژنوتیپ های مشاهده شده ۵۴
جدول ۳-۹- خلاصه محاسبات انجام شده در دو ماهی *Aphanius dispar* و *Aphanius ginaonis* ۵۵

فصل اول

مقدمه و کلیات

فصل اول: مقدمه و کلیات

۱-۱- مقدمه

کشور ایران، با پراکندگی وسیع جغرافیایی دارای زیستگاه‌های متعددی است و دارای اهمیت بوم‌شناسی بسیار بالایی می‌باشد. در میان مطالعات بوم شناسی، بررسی‌های انجام شده بر روی آب‌های داخلی ایران بسیار اندک است. آگاهی از ویژگی‌های زیست‌شناسی و همچنین بوم‌شناسی گونه‌های مختلف آبزیان در ایران می‌تواند اطلاعات مفیدی جهت مدیریت موثر ذخایر ماهیان در آینده فراهم نماید.

خانواده کپورماهیان دنداندار[1] از معمول‌ترین ماهیان آب‌های داخلی ایران است. مطالعات محدودی بر روی ماهیان این خانواده در زیستگاه‌های مختلف انجام شده است. علت انتخاب ماهی گورخری جهت مطالعه، اهمیت این ماهی در مهار زیستی پشه‌ها، ارزش اکولوژیک و ارزش زیبایی شناسی از نظر ماهیان زینتی و آکواریومی می باشد. با توجه به تنوع شکلی، جداسازی گونه‌های آفانیوس به شماری از خصوصیات ریخت‌شناسی محدود شده است. Wildekamp و همکاران در سال ۱۹۹۹ بیان کرده‌اند که شاخص‌های ریخت‌شناسی اصلی به کار رفته در طبقه‌بندی آفانیوس نظیر رنگ‌آمیزی، استخوان‌شناسی و ریخت‌شناسی دندان مخروطی، طبقه‌بندی‌های ناپایداری هستند، بنابراین استفاده از اینها در طبقه‌بندی و سیستماتیک محدود شده است (Bardakci *et al.*, 2004).

1. Cyprinodontidae

کار کمی روی جمعیت‌های ایرانی آفانیوس انجام شده است (Hrbek *et al*., 2006). اصولا مطالعه کپورماهیان دندانددار در ایران بر اساس ریخت‌شناسی می‌باشد و چون این نوع ریخت‌شناسی محافظه‌کارانه است شناسایی این ماهیان را مشکل ساخته است (Esmaeili *et al*., 2008). بنابراین بکارگیری روش‌های دیگر مثل مطالعات مولکولی، اکولوژیکی، تکوینی ممکن است در شناخت هر چه بهتر این گروه پیچیده از ماهیان موثر باشد (اسماعیلی و غلامی، ۱۳۸۶؛ Esmaeili *et al*., 2007; Esmaeili and Shiva, 2006).

روش‌های اصلی به کار رفته برای مطالعه گونه‌های آفانیوس شامل آزمایش‌های نژادآمیزی، آنالیز ژنتیکی و آنالیز مقایسه‌ای از صفات شمارشی، استخوان‌شناسی و رنگ‌آمیزی است (Villwock, 1977; Sienknecht1999a,b; Coad and Abdoli, 2000; Doadrio *et al*., 2002; Maltagliati *et al*., 2003; Esmaeili *et al*., 2006; Blanco *et al*., 2006; Hrbek *et al*., 2006; Tigano *et al*., 2006; Esmaeili *et al*., 2008. به نقل از Reichenbacher *et al*., 2009).

کاربرد روش‌های غیر مورفولوژیکی همچون مطالعات مولکولی در سال‌های اخیر منبعی از داده‌های مکمل برای دقت بیشتر و شناسایی دقیق این ماهی‌ها ایجاد کرده است (Galetti *et al.,* 2000; Ozouf-Costaz and Foresti, 1992; Esmaeili *et al*., 2007 به نقل از Esmaeili *et al*., 2008).

۱-۲- رده‌بندی خانواده Cyprinodontidae

اغلب ماهیان سازگار در لایه سطحی اقیانوس و خیلی از زیستگاه‌های آب شیرین، در سه راسته از سری ماهیان استخوانی بزرگتر Atherinomorpha یافت می‌شوند. تقریبا ۱۵۵۲ گونه در Atherinomorpha وجود دارند، آنها در سه راسته Atherinoformes، Beloniformes و Cyprinodontiformes طبقه‌بندی می‌شوند که شامل ۶ زیر راسته و ۲۱ خانواده و ۱۹۳ جنس می‌باشند (Helfman *et al*., 1997 به نقل از Setiamarga *et al.,* 2008).

راسته Cyprinodontiformes دارای ۲ خانواده به نام‌های Cyprinodontidae و Poecilidae می‌باشد. گروهی از ماهیان این راسته مانند خانواده Cyprinodontidae، تخم‌گذار و گروهی مانند خانواده Poecilidae، زنده‌زا هستند (وثوقی و مستجیر، ۱۳۸۱).

رده بندی جنس *Aphanius* (Shiva, 2005):

رده: Osteichthyes

زیر رده: Actinopterygii

راسته: Cyprinodontiformes

خانواده: Cyprinodontidae

جنس: *Aphanius*

جنس *Aphanius* تنها جنس از تیره کپور دندان ماهیان موجود در ایران است (Coad, 1988). تاکنون ۷ گونه اسمی از آن در ایران گزارش شده است (Coad, 1988,1995,1996; Hrbek *et al*.,2006; Scheel, 1990 به نقل از Esmaeili *et al*., 2008).

این گونه‌ها عبارتند از:

Aphanius ginaonis (Holly, 1929)

Aphanius mento (Heckel, 1843)

Aphanius dispar (Ruppell, 1828)

Aphanius vladykovi (Coad, 1988)

Aphanius sophiae (Heckel, 1849)

Aphanius persicus (Jekins, 1910)

Aphanius isfahanensis (Hrbek *et al.*, 2006)

حداقل هفت گونه و زیر گونه از خانواده کپورماهیان دنداندار در ایران وجود دارد. کپوردندان زاگرس(*A. vladykovi*) در سرچشمه‌های کارون در استان چهارمحال و بختیاری، کپوردندان اصفهان در رودخانه زاینده‌رود (*A. isfahanensis*) اصفهان، کپوردندان صوفی (*A. sophiae*) در حوضه رود کر، کپوردندان فارس (*A. persicus*) در حوضه دریاچه مهارلو در استان فارس، کپور دندان گنو(*A. ginaonis*) در چشمه آب گرم گنو در شمال بندرعباس، کپوردندان منتو یا اروند (*A. mento*) در اروندرود و کپوردندان معمولی (*A. dispar*) در کل حوضه‌های منتهی به خلیج فارس و دریای عمان پراکنش دارند (کیوانی و محبوبی صوفیانی، ۱۳۸۱؛ کیوانی و همکاران، ۱۳۸۵).

۱-۲-۱- رده‌بندی گونه *Aphanius ginaonis*

جدول ۱-۱- جایگاه ماهی گورخری گنو (*Aphanius ginaonis*) در طبقه‌بندی

Taxonomy
Kingdom: Animalia **Phylum:** Chordata **Class:** Actinopterygii **Order:** Cyprinidontiform **Family:** Cyprinodontidae **Genus:** *Aphanius* **Scientific name:** *Aphanius ginaonis* (Holly, 1929)

شکل ۱-۱- ماهی گورخری گنو(*Aphanius ginaonis*)

لازم به ذکر است که سوالات و ابهامات زیادی در مورد نحوه طبقه‌بندی گونه مذکور وجود دارد. برخی از محققان اعتقاد دارند که این گونه صرفا تغییر شکلی در گونه همه‌جازی *A. dispar* است. *A. ginaonis* از گونه وابسته *A. dispar* به وسیله یک خصوصیت ریخت‌شناسی (تعداد شعاع‌های باله پشتی) جدا شده است؛ در نتیجه موقعیت

ماهی مذکور در طبقه‌بندی جدال‌انگیز باقی مانده است. به عنوان مثال طی مطالعات Coad در سال‌های ۱۹۸۰ و ۱۹۹۸ به *A. ginaonis* به عنوان یک گونه منفرد اشاره شده است درحالی‌که Wildekamp در سال ۱۹۹۳ ماهی مذکور را زیرگونه *A. dispar* معرفی کرده است (Reichenbacher *et al*., 2009).

از یک سو داده‌های به دست آمده توسط عکس‌های میکروسکوب الکترونی نگاره[1] ، ریخت‌شناسی اتولیت و همچنین اطلاعات به دست آمده از آنالیز آماری نشان می‌دهد که *A. ginaonis* یک گونه محسوب می‌شود. از سوی دیگر اطلاعات به دست آمده از مطالعات مولکولی نشان داده‌اند که ماهی *A. ginaonis* از نظر جغرافیایی رده خواهری[2] ماهی *A. dispar* محسوب می‌شود (اسماعیلی و غلامی، ۱۳۸۶).

۱-۲-۲- رده‌بندی گونه *Aphanius dispar*

جدول ۱-۲- رده‌بندی ماهی گورخری معمولی (*Aphanius dispar*)

Taxonomy
Kingdom: Animalia
Phylum: Chordata
Class: Actinopterygii
Order: Cyprinidontiform
Family: Cyprinodontidae
Genus: *Aphanius*
Scientific name: *Aphanius dispar* (Ruppell, 1828)

1. SEM
2. Sister taxon

شکل ۱-۲- ماهی گورخری معمولی (*Aphanius dispar*)

ماهی *A. dispar* شامل یک زیرگونه شناخته شده به نام *Aphanius dispar* (Boulenger, 1907) *richardsoni* است. اما احتمالا چندین زیرگونه شرح داده نشده دیگر وجود داشته باشد، زیرا چندین جمعیت با احتمال زیاد متفاوت ازماهی *A. dispar* با توجه به اندازه باله، رنگ‌آمیزی و ریخت‌شناسی اتولیت دیده شده‌اند (Reichenbacher *et al*, 2009; Wildekamp, 1993).

۱-۳- خصوصیات عمومی کپور ماهیان دنداندار

دو جنس کاملا از یکدیگر متمایزند، الگوی رنگی متفاوتی دارند، اندازه آنها نسبتا کوچک است، مقاومت بالا نسبت به شرایط محیطی دارند و زادآوری بالا از دیگر ویژگی‌های این کپورماهیان دنداندار است (اسماعیلی و غلامی، ۱۳۸۶؛ Esmaeili *et al.*, 2008). این ماهیان با اندازه کوچک دارای تحرک بالایی هستند (وثوقی و مستجیر، ۱۳۸۱).

گونه‌های آفانیوس، به وسیله زیستگاه تکه‌ای طبیعی شناخته شده‌اند، در محیط‌های محدود شده به آب‌های سطحی و کم عمق با جریان آرام و یا بدون جریان و با بسترهای علفی توزیع شده‌اند و در همان بسترهای علفی تغذیه کرده و به شکار می‌پردازند (Maltagliati *et al.*, 2006). عموما درآبهای لب‌شور، چشمه‌ها، نهرها، رودخانه‌ها و دریاچه‌های کوچک در نزدیکی سواحل (Wildekamp, 1993; Wildekamp *et al.*, 1999) و در قسمت های پائین رودخانه‌ها و آبگیرهای پوشیده از گیاهان آبزی یافت می‌شوند، جایی که نرها قادر به حفاظت از قلمرو خود باشند (Abdoli, 2000).

گونه‌های موجود در جنس آفانیوس دارای توانایی قابل توجه‌ای در تحمل شرایط محیطی حداکثر یا بی‌ثبات هستند (Reichenbacher *et al*, 2009). دامنه بردباری آنها به دما و شوری بالاست و همچنین آلودگی مواد آلی و غیر آلی و نیز سطوح کم اکسیژن آب را تحمل می‌کنند (Frenkel and Goren, 2000). اغلب در محیط‌های با

شوری بالا که گونه‌های دیگر ماهی توانایی زیست ندارند یافت می‌شوند (Al-Daham *et al*., 1977; Leonardoes and Sinis, 1998).

به دلیل اینکه جنس‌های آفانیوس عموما در محیط‌هایی که مناسب برای دیگر گونه‌ها نیستند رونق یافته‌اند و بنابراین اغلب فاقد رقیب مستقیم و شکارچیان اصلی هستند (Reichenbacher *et al*, 2009; Clavero *et al*., 2007). آگاهی از حوضه آبریز و محل جمع‌آوری نمونه‌های کپور ماهیان دنداندار و نیز الگوی رنگ‌بندی آنها از مهمترین اطلاعات عملی برای شناسایی سریع گونه‌های آفانیوس است (اسماعیلی و غلامی، ۱۳۸۶).

۱-۳-۱- مشخصات زیست شناختی گونه *Aphanius ginaonis*

بررسی شاخص نسبی طول فلس در افراد نر و ماده این گونه نشان داده است که ماده‌ها به طور معنی‌داری دارای فلس‌های بزرگتری هستند. فلس این ماهی دارای زوائد مخروطی شکل ظریفی در بخش عقبی خود بوده و بنابراین از نوع شانه‌ای بسیار ظریف است که از این نظر با فلس شانه‌ای سایر ماهیان متفاوت می‌باشد (اسماعیلی و غلامی، ۱۳۸۶). این ماهی از جلبک‌ها و بی‌مهرگان آبزی تغذیه می‌کند. نمونه‌های بررسی شده در تابستان نشان داده‌اند که دارای تخمک‌های رسیده هستند.

۱-۳-۲- مشخصات زیست شناختی گونه *Aphanius dispar*

ماهی گورخری معمولی دارای دامنه وسیعی از تحمل شوری است و در آبهای شیرین ساکن می‌شود و محدوده شوری تا ۴ برابر آب دریا را نیز تحمل می‌کند (Lotan and Ben Tuvia, 1996 به نقل از Galil, 2007). این ماهی یوری‌هالین و یوری‌ترمال است (Whitehead *et al*., 1986)، درجه معینی از آلودگی آلی (Homiski *et al*., 1994) آلودگی غیر آلی (Hass, 1982) و درجه نسبی پائین اکسیژن (Homiski *et al*.,1994) را تحمل می‌کند (Frenkel and Goren, 2000).

ماهی *A. dispar* همه‌چیزخوار است، از سخت‌پوستان، لارو پشه و جلبک‌های رشته‌ای تغذیه می‌کنند (Goren, 1983;Hass and Pal, 1984 به نقل از Frenkel and Goren, 2000). در حالیکه محتویات روده در یک جمعیت وحشی *A. dispar* نشان داده است که این ماهی با چریدن با بیش از ۹۰٪ روی جلبک‌های تک سلولی تغذیه می‌کند. هر چند این ماهی قادر است در برابر یک دوره طولانی ازگرسنگی مقاومت کند (Frenkel and Goren, 2000).

ماهیان *Gambusia affinis* و *Poecillia latipinna* رقیب این ماهی برای غذا و فضا هستند به دلیل اینکه دارای منبع تغذیه یکسان‌اند و در سطوح یکسانی از محیط زندگی می‌کنند (Al-Akel, 2003; Al-Akel *et al*., 1987 به نقل از Al-Kahem-Al-Balawi *et al*., 2008).

۱-۴- موارد استفاده و اهمیت اقتصادی

کپور ماهیان دنداندار، آبزیان بسیار زیبایی هستند که اغلب به عنوان ماهیان آکواریومی مورد استفاده قرار می‌گیرند (اسماعیلی و غلامی، ۱۳۸۶؛ Esmaeili *et al*., 2006; Esmaeili *et al*., 2008). ماهی گورخری معمولی، بومی بسیاری از کشورها محسوب می‌شود. این ماهی می‌تواند به عنوان یک عامل بیولوژیکی مورد استفاده قرار گیرد به این دلیل که از جلبک‌های رشته‌ای و لارو پشه تغذیه می‌کند (Hass, 1982; Al-Akel *et al*., 1987به نقل از Al-.Kahem-Al-Balawi *et al*., 2008).

گزارش مثبتی از استفاده از این ماهی جهت کنترل پشه به خصوص پشه مالاریا در کشورهای ،اریترئا (Fletcher *et al*., 1992) عمان (Hass, 1982) و سومالی (Nasir, 1979) وجود دارد؛ همچنین این ماهی برای کنترل بعضی از سخت‌پوستان از جمله کوپه‌پودا[1] و همچنین در کشت جلبک گلاسیلاریا مناسب است (Frenkel and Goren, 2000) ماهی گورخری معمولی محدوده وسیعی از شوری و دما را تحمل می‌کند و می‌تواند به پژوهش های وابسته به محیط کمک کند (Al-Johany and Yousuf, 1993 به نقل از Al-Kahem-Al-Balawi *et al*., 2008).[2]

۱-۵- پراکنش جغرافیایی خانواده Cyprinodontidae در جهان

ماهیان راسته Cyprinodontiformes در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری به جز استرالیا زندگی می‌کنند (وثوقی و مستجیر، ۱۳۸۱). گونه‌های خانواده Cyprinodontidae در منطقه ترکیه، مدیترانه، پیرامون دریای سرخ، دریای عرب، خلیج فارس و آبگیرهای داخلی ایران سکنی گزیده‌اند (Hrbek *et al*., 2002).

جنس آفانیوس تقریبا از ۱۶ گونه تشکیل شده است و در طول سواحل قدیمی دریای تتیس (Jose *et al*.,2006 Hrbek *et al*., 2006) که در مرز میوسن/ الیگوسن (Smith *et al*., 1995) محصور شده، توزیع شده است. این منطقه شامل لاگون‌های ساحلی، مرداب‌ها و رودخانه‌ها در اطراف منطقه مدیترانه به خصوص شبه جزیره عرب به علاوه ایران و پاکستان می‌باشد (Villwock, 1999 به نقل از Doadrio *et al*., 2002).

کپور ماهیان دنداندار یا ماهیان جویباری *Aphanius* (Nardo, 1827) همچنین در تالاب‌های محصور در خشکی و دریاچه‌ها، در نهرهای کوچک و بعضی زمان‌ها در رودخانه‌های نسبتا بزرگ در ترکیه و ایران دیده می شوند (Villwock, 1977; Wildekamp, 1993; Coad, 2000 به نقل از Reichenbacher *et al*., 2009). همچنین تنوع بالایی از این گونه‌ها از ترکیه تا ایران نشان داده شده است (Hrbek *et al*., 2002; Hrbek *et al*., 2006).

1. Copepoda

۱-۶- پراکنش جغرافیایی خانواده Cyprinodontidae در ایران

به طور کلی ایران به عنوان یک مرکز برای منشا خیلی از گونه‌ها مطرح شده است. محدوده وسیعی از شرایط جغرافیایی و زمین‌شناسی به همراه تنوع آب و هوایی، محیطی برای تنوع بالا ایجاد کرده است. شمال و غرب ایران به عنوان قسمتی از لکه داغ زیستی Irano-Anatolian مطرح شده است که شامل خیلی از مراکز محلی و بومی است (Esmaeili *et al*., 2007).

ماهی آفانیوس عموما در همه جایگاه‌های آب شیرین حضور دارد زیستگاه‌هایی که گستره متفاوتی از جریان، شیمی آب، دما و جنس بستر دارند (Hass, 1982 به نقل از Al-Kahem-Al-Balawi *et al*., 2008). تنوع بالایی از گونه‌های آفانیوس از ترکیه تا ایران نشان داده شده است (Hrbek *et al*., 2002; Hrbek *et al*., 2006). Blanco و همکاران در سال ۲۰۰۶ تنوع بالایی از این گونه‌ها را از ایران گزارش کردند (Blanco *et al*., 2006; Coad, 2000 به نقل از Hrbek *et al*., 2006).

۱-۶-۱- پراکنش گونه *A. ginaonis* در ایران

ماهی گورخری گنو منحصرا در چشمه آب گرم گنو در استان هرمزگان وجود دارد و تنها گونه بومی این منطقه به شمار می‌رود (اسماعیلی و غلامی، ۱۳۸۶؛ Esmaeili and Shiva, 2006; Esmaeili *et al*., 2008؛ Coad, 1998; Reichenbacher *et al*., 2009).

۱-۶-۲- پراکنش گونه *A. dispar* در ایران

ماهی *A. dispar* در همه محیط‌های طبیعی و محیط‌های آب شیرین دست ساخته بشر و سواحل زهکشی شده با آب دریا، به طور موقتی یا دائمی حضور دارد (Alkahem, 1994).

سازگاری‌هایی اکولوژیکی و بیولوژیکی به این ماهی این امتیاز را داده است که در محدوده وسیعی از زیستگاه‌ها زندگی کند. به طوریکه در زیستگاه‌های مختلف شامل دریاچه‌ها، حوضچه‌ها، مصب‌ها، رودخانه‌ها، گودال‌های جزرومدی، چشمه‌ها، بیابان‌ها، جنگل‌ها و سواحل گلی و کوه‌ها یافت می‌شوند. این ماهیان بسترهای شنی، صخره‌ای و گیاهخاک نرم را ترجیح می‌دهند (Al-Kahem-Al-Balawi *et al*., 2008).

۱-۷- وضعیت حفاظتی خانواده Cyprinodontidae

گونه‌های متعدد آفانیوس در جمعیت‌های کم و مناطق کوچک وجود دارند و امروزه به علت زهکشی، استفاده از زمین و آلودگی اطراف زیستگاه‌های بومی در لیست گونه‌های در معرض خطر قرار گرفته‌اند (Moreno-Amich *et al*., 1999; Fernandes-Pedrosa *et al*., 1995 به نقل از Reichenbache *et al*., 2009). هم‌جنس شدگی زیستی از طریق ورود گونه‌های مهاجم و انقراض گونه‌های بومی، به عنوان یکی از آسیب‌های اصلی برای تنوع زیستی و عملکرد اکوسیستم، به‌خصوص اکوسیستم‌های آب شیرین بیان شده است. تهاجم توسط گونه‌های

غیربومی باعث ایجاد نگرانی گسترده‌ای گردیده است، زیرا اثرات مخرب روی اکوسیستم و دست‌آورد اقتصادی آن دارد و فعالیت‌های انسان اخیرا تصادفی یاعمدی، گسترش گونه‌ها را تسریع بخشیده است (Holway and Suarez, 2006; Marchetti *et al*., 2006; Alcaraz *et al*., 2005;Gido *et al*., 2004 به نقل از Alcaraz and Garcia-Berthou, 2007).

۱-۸- تعاریف و اصطلاحات

۱-۸-۱- تنوع زیستی[1]

تنوع زیستی به سه سطح کلی تنوع ژنتیکی، گونه‌ای و اکوسیستمی تقسیم می‌گردد، که در حقیقت کل تنوعات موجود در شبکه‌های حیاتی جهان را در بر می‌گیرد و این تنوعات حیات در تامین انرژی، غذا، دارو و سایر منابع با ارزش زیستی، گسترش صادرات غیر نفتی، گسترش صنعت جهانگردی و بهره‌برداری‌های اقتصادی به منظور توسعه پایدار دارای اهمیت فراوانی هستند (مصطفوی، ۱۳۸۵ ؛ فیروز، ۱۳۷۸).

براساس کنوانسیون ۱۹۹۲ ریو (کنفرانس ملل متحد در زمینه مطالعه زیست و توسعه) تنوع زیستی عبارت است از تفاوت بین موجودات زنده در یک مجموعه اکولوژیک و شامل تنوع دورن‌گونه‌ای درون یک اکوسیستم می‌باشد (Gray, 1997). شناسایی، حفظ و نگهداری تنوع زیستی در دنیا و یا در هر منطقه، از الویت خاصی برخوردار است. امروزه اکوسیستم‌ها که مهمترین عامل بقای تنوع زیستی‌اند، به دلایل مدیریت ضعیف و ناقص دچار مخاطره شده‌اند. به عنوان مثال اکنون در کشور شاهد انقراض برخی از گونه‌ها مانند شیر و ببر ایرانی در اولویت توجه قرار دارند و برخی از گونه‌ها مانند یوزپلنگ، خرس سیاه آسیایی در معرض خطر انقراض‌اند (مصطفوی، ۱۳۸۵؛ فیروز، ۱۳۷۸).

۱-۸-۲- تنوع ژنتیکی[2]

اتحادیه بین المللی حفاظت از گونه و منابع طبیعی (IUCN)[3] تنوع ژنتیکی را به عنوان یکی از سه عامل ضروری حفاظت از گونه‌ها بیان کرده است (Mcneely and Miller, 1990). اصطلاح تنوع ژنتیکی در معنای عام مشتمل بر تنوع ژنوم‌هایی است که منجر به پیدایش افراد مختلف ساکن این سیاره شده‌اند. این اصطلاح نه تنها اختلافات نسبتا کوچک بین ژنوم اعضا یک گونه را در بر می‌گیرد بلکه شامل اختلافات خیلی بزرگتر بین ژنوم گونه‌های مختلف نیز می‌باشد (نهاوند و همکاران، ۱۳۸۲).

اولین قدم برای شروع هر برنامه اصلاح نژادی، داشتن تنوع است. در اصلاح نژاد کلاسیک، اگر بنیان‌ها ضعیف باشند، اختلافات ژنتیک نسل‌های در حال تفرق جمعیت اصلاح شده، به تدریج کم می‌شود. در نتیجه فاصله ژنتیکی بین زاده‌ها و والدین کاهش یافته و هتروزیگوسیتی کافی حاصل نمی‌شود (Hedrick, 1998؛ عطایی، ۱۳۸۱). تمام گونه‌های موجوداتی که تاکنون مورد بررسی قرار گرفته‌اند تنوع ژنتیکی قابل‌توجه یا چندشکلی بارزی دارند که

1. Biodiversity
2. Genetic Diversity
3. International Union for Conservation of Nature