

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

۱۰۲۵۲۱



دانشگاه شهید بهشتی
دانشکده علوم زیستی

پایان نامه
دوره کارشناسی ارشد زیست شناسی
گرایش سیستماتیک جانوری

عنوان:

بررسی سیستماتیکی جنس *Aphanius* در چشمه های آبگرم استان هرمزگان

اساتید راهنما:

دکتر جمیله پازوکی

دکتر بهرام کاظمی

استاد مشاور:

دکتر مسعود شیدایی

دانشجو:

اتابک مهجور آزاد

۱۳۸۶ / ۱۸ / ۲۸

بهمن ماه ۱۳۸۵

۱۰۳۵۲۸

مهره امانت‌داران علمی
تاسیس ۱۳۸۰



دانشگاه شهید بهشتی

بسمه تعالی

تاریخ
شماره
پیوست

« صور تجلسه دفاع پایان نامه دانشجویان دوره کارشناسی ارشد »

تهران ۱۹۸۳۹۶۳۱۱۳ اوین

تلفن: ۲۹۹۰۱

بازگشت به مجوز دفاع مورخ جلسه هیأت داوران ارزیابی
پایان نامه آقای اتابک مهجور آزاد به شماره شناسنامه ۲۴ صادره از بندرلنگه متولد
۱۳۵۹ دانشجوی دوره کارشناسی ارشد ناپیوسته رشته زیست شناسی -
بیوسیستماتیک جانوری

با عنوان :

بررسی مقدماتی بیوسیستماتیک ماهی آفانیوس چشمه های آب گرم استان هرمزگان

به راهنمایی:

دکتر جمیله پازوکی و دکتر بهرام کاظمی

طبق دعوت قبلی در تاریخ ۱۳۸۵/۱۱/۱۸ تشکیل گردید و براساس رأی هیأت داوری و با
عنایت به ماده ۲۰ آئین نامه کارشناسی ارشد مورخ ۷۵/۱۰/۲۵ پایان نامه مزبور با
نمره ۱۹٫۹ و درجه عالی مورد تصویب قرار گرفت.

۱- استاد راهنما: خانم دکتر جمیله پازوکی

۲- استاد راهنما: آقای دکتر بهرام کاظمی

۳- استادمشاور: آقای دکتر مسعود شیدایی

۴- استاد داور : آقای دکتر اصغر عبدلی

۵- استاد داور و نماینده تحصیلات تکمیلی : آقای دکتر بهرام حسن زاده کیابی

تقدیم به

پدر و مادر عزیزم

سپاس‌گزاری

در ابتدا از خانم دکتر جمیله پازوکی و آقای دکتر مسعود شیدایی به خاطر کمک‌ها و راهنمایی‌هایشان تشکر می‌کنم.

همچنین از آقای دکتر بهرام کاظمی که علی‌رغم تمامی مشکلات با صمیمیتی خاص تا سر حد امکان در انجام این تحقیق مرا یاری نمودند و نکات علمی و اخلاقی ارزشمندی به من آموختند، نهایت سپاس را دارم.

با سپاس از استاد، دوست و همراه بزرگوارم جناب آقای مهندس بهرام زهزاد که در تمام دوران تحصیل دانشگاهی نکات ارزشمندی به من آموختند و همواره از راهنمایی‌های بی‌ماندشان در مباحث علمی و سایر ابعاد زندگی بهره‌مند شدم، که بخش زیادی از آموخته‌ها و داشته‌های من مرهون آشنایی و همنشینی با ایشان است.

از راهنمایی‌ها، کمک‌ها و حمایت‌های آقای دکتر بهرام کیایی در طول دوران تحصیل نهایت سپاس‌گزاری را دارم.

در اینجا از Brian W. Coad ماهی‌شناس موزه تاریخ طبیعی کانادا که بخش مطالعات مورفولوژیکی با راهنمایی و نظارت ایشان صورت گرفت و همچنین Wolfgang Villwock از دانشگاه هامبورگ آلمان و Tomas Hrbek از دانشگاه پورتوریکو که در زمینه مطالعات مولکولی و هیبریدگیری اطلاعات ارزشمندی را در اختیار من قرار دادند نهایت تشکر و قدردانی را دارم.

از آقای دکتر اصغر عبدلی که داوری این پایان‌نامه را بر عهده گرفتند و همچنین سرکار خانم مهوش سیفعلی به خاطر کمک‌هایشان سپاس‌گزارم.

از خانم‌ها بنده پور، سید و رضانی و سایر همکاران آزمایشگاه تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه پزشکی شهید بهشتی به خاطر همراهی و همکاری صمیمانه ایشان تشکر و قدردانی می‌کنم.

با تشکر ویژه از حامد چیت‌سازان، هدا پارسیان، هادی حیدری، مهدی رجبی‌زاده، میثم حبیبی و مجید قربانی که در طول انجام پایان‌نامه و تحصیل همیشه همراه من بودند.

در نهایت از خانواده عزیزم که همواره از پشتیبانی‌ها و حمایت‌های بی‌دریغشان در تمام مسیر زندگی بهره‌مند بوده‌ام و همچنین در طول انجام این کار در بخش زیادی از مطالعات صحرائی مرا یاری رساندند نهایت تشکر و سپاس‌گزاری خود را ابراز می‌دارم.

چکیده

در این پژوهش ۶ جمعیت چشمه آبگرم و ۳ جمعیت رودخانه ای متعلق به کمپلکس گونه ای *dispar-ginaonis* از استان هرمزگان و با استفاده از داده‌های مورفولوژیکی و مولکولی بررسی شدند تا سطوح تنوع مورفولوژیکی و ژنتیکی و همچنین جریان ژنی بین این جمعیت ها در ارتباط با جدایی جغرافیایی و عوامل اکولوژیکی تعیین شود.

وضعیت تاکسونومیکی این کمپلکس گونه ای در گذشته نیز مورد بحث قرار گرفته و یکی از پیچیده ترین گروه ها در این جنس به شمار می‌رود و تنوع بالای درون گونه ای از ویژگی‌های این گروه محسوب می‌شود، به این منظور ۲۵ صفت مورفومتریک، ۱۶ صفت مرستیکی و ۳۲ صفت نسبی اندازه‌گیری و با رویکرد فنیتیک تحلیل شدند. همچنین بخشی از ژن سیتوکروم *b* تعیین توالی شد و با رویکرد فیلوژنتیک آنالیز و درختچه‌های مربوطه ترسیم شدند. نتایج تحلیل های مورفولوژیکی واگرایی بالایی را در مورد گونه‌ی *A. ginaonis* نشان می‌دهد که تاحدی با داده های مولکولی نیز تایید می‌شود و ۱/۹۱ درصد جایگاه های نوکلئوتیدی برای این جمعیت متمایز کننده است.

در بین جمعیت های گونه‌ی *A. dispar* بیشتر آن ها دارای تفاوت های مورفولوژیکی نسبتاً زیادی هستند و در اغلب موارد با داده‌های مولکولی تایید نمی‌شوند و بیانگر تاثیر شرایط محیطی (غیر ژنتیکی) و سطح متداولی از تنوع ظاهری در این تاکسون است. این جدایی مورفولوژیکی در مورد جمعیت تنگ خون بیشتر بوده و با داده های مولکولی و آنالیزهای فیلوژنی نیز همخوانی دارد به طوری که ۲/۱۱ درصد جایگاه های نوکلئوتیدی متمایز کننده بوده و موید درجات بالایی از ایزوله شدن و قطع جریان ژنی در این جمعیت است.

کلمات کلیدی: ایران، هرمزگان، آفانیوس، چشمه آبگرم، سیستماتیک، سیتوکروم *b*، فیلوژنی.

Abstract

In this study, 6 hot spring populations and 3 river populations of *dispar-ginaonis* species complex from **Hormuzgan** province have been analyzed, using with morphological and molecular data to determine morphologic , genetic variation and gene flow among populations due to geographic isolation and ecological factors.

In previous studies, taxonomic status of this species complex was discussed and it is one of the most complex group among this genus that characterized by Intraspecific variation. 25 morphometric, 16 meristic, 32 proportional index measured and analyzed in phonetic approach. Also partial sequence of **cytochrome b** has been used for reconstructing phylogenetic trees.

A. ginaonis is clearly distinct in morphological analysis that more or less supported by molecular results and 1.91% of molecular characters were autapomorphic.

Populations of *A. dispar* showed morphological differences that most of them didn't supported by molecular results so it's showing environmental effects (none genetically), in the other word, this taxon has morphological variation ordinarily.

Tange khoon population has high morphological divergence that strongly supported by molecular results and 2.11% of nucleotide were autapomorphic which is showing high degree of isolation and discontinuous gene flow.

Keywords: Iran, Hormuzgan, Aphanis, Hotspring, Systematic, cytochrome b, phylogeny.

کپور دندان داران دنیای قدیم که متعلق به جنس *Aphanius* Nardo, 1827 هستند، اولین بار توسط Kosswig آلمانی و دانشجویان ترکیه ای او در سال ۱۹۳۷ در ترکیه و در چارچوب بررسی فون ماهیان بومی آناتولی مطالعه شدند. در ادامه پس از بازگشت Kosswig در سال ۱۹۵۵ به آلمان، این مطالعات توسط برخی از دانشجویان آلمانی و عمدتاً Villwock ادامه پیدا کرد و گونه های غیر آناتولی را نیز در بر گرفت.

این ماهیان از بازماندگان اجدادی هستند که در سواحل دریای باستانی تتیس می زیسته اند. این دریا در مرز زمانی الیگوسن/میوسن تفکیک شده و امروزه در حدود ۲۰ گونه معتبر از این جنس شناسایی شده که در قسمت های ساحلی و همچنین آب های داخلی ساکن هستند. مطالعات انجام شده نشان می دهد که بخش آناتولی ترکیه و همچنین فلات ایران از کانون های اصلی تنوع این گونه به شمار می روند (Coad, 2000a; Hrbek, et al., 2006; Wildekamp et al., 1999).

جنس *Aphanius* دارای دو تبار عمده شرقی و غربی است که از گروه اول ۳ گونه و از گروه دوم ۴ گونه تاکنون از ایران گزارش شده است و این مطالعه بر روی دو گونه از شاخه شرقی شامل *A. dispar* و *A. ginaonis* انجام شده است.

الگوهای تنوع ژنتیکی مربوط به پراکنش جغرافیایی یک گونه، به جریان ژنی در بعد زمان و واگرایی جمعیت ها مربوط بوده که استفاده از رویکرد فیلوژنتیکی تفسیری دقیق تر از فرایندهای کوچک تکاملی (Microevolutionary processes) در طبیعت ارائه می دهد (Avisé, 2000).

در بین مهره داران ، کپوردندان داران یکی از مناسب ترین گروه ها برای مطالعه فرایند های کوچک تکاملی در راستای تنوع جغرافیایی در جمعیت های طبیعی و همچنین سازگاری تحت تاثیر عوامل اکولوژیکی هستند (Villwock, 1976).

گونه *A. dispar* در بخش های ساحلی و همچنین در آب های لب شور داخلی به خوبی پراکنده شده و در بخش هایی نیز در زیستگاه هایی ایزوله و با شرایط اکولوژیکی خاص همانند چشمه های آبگرم ساکن شده که این آب ها به لحاظ فاکتورهای فیزیکوشیمیایی دارای اختصاصات منحصر به فردی هستند. در این راستا برای بررسی ساختار و الگوی تنوع ژنتیکی و مورفولوژیکی و نحوه ارتباط این دو و همچنین بررسی ابعاد این تنوعات و تعیین سطح تاکسونومیک، جمعیت هایی از حوضه ی آبریز هرمز مورد مطالعه قرار گرفتند.

بر این اساس فرضیه ای به این شکل تعریف شد: با توجه به این که جمعیت گنو تحت تاثیر جدایی جغرافیایی و عوامل اکولوژیکی خاص دارای جدایی مورفولوژیکی بوده و به عنوان گونه ای متمایز از *A. dispar* در نظر گرفته شده و اینکه جمعیت های دیگری با شرایطی مشابه به لحاظ جغرافیایی و اکولوژیکی از گونه ی *A. dispar* در سایر چشمه های آبگرم زیست می کنند، می توان انتظار داشت که جمعیت های دیگری نیز تحت چنین شرایطی دارای واگرایی باشند و یا برعکس اگر سایر جمعیت های آبگرم را از گونه *A. dispar* قلمداد کنیم شاید جمعیت گنو نیز گونه ای مجزا نبوده و نوعی تنوع در سطح پایین تر از گونه باشد.

این مطالعه با هدف تعیین جایگاه تاکسونومیک جمعیت گنو و بررسی نحوه‌ی واگرایی و تنوع ژنتیکی و مورفولوژیکی جمعیت‌های ایزوله‌ی *A. dispar* انجام شده است.

فهرست جدول ها و شکل ها

جدول های فصل دوم

- جدول ۱-۲- لیست و توصیف صفات مورفومتریک ۳۲
- جدول ۲-۲- لیست و توصیف صفات مریستیک ۳۳
- جدول ۳-۲- لیست و توصیف صفات نسبی ۳۴

شکل های فصل دوم

- شکل ۱-۲- صفات مورفومتریک مربوط به اندازه های بدن که در این مطالعه استفاده شده اند ۳۵
- شکل ۲-۲- صفات مورفومتریک مربوط به اندازه های سر که در این مطالعه استفاده شده اند ۳۶
- شکل ۳-۲- تصویر شماتیک صفات ستون مهره که روی نمونه ای ماده از جمعیت تیربوییه نشان داده شده است ۳۷

جدول های فصل سوم

- جدول ۱-۳- مقادیر دامنه ی تغییرات، کمیته، بیشینه، میانگین و انحراف استاندارد در افراد نر همه ی جمعیت ها الف) صفات مورفومتریک و مریستیک ۴۴
- ب) صفات نسبی ۴۵
- جدول ۲-۳- مقادیر دامنه ی تغییرات، کمیته، بیشینه، میانگین و انحراف استاندارد در افراد ماده همه ی جمعیت ها الف)
- صفات مورفومتریک و مریستیک ۴۶
- ب) صفات نسبی ۴۷
- جدول ۳-۳- تفاوت های معنی دار بین جنس های مختلف در صفات مورفولوژیک بر اساس مقادیر متفاوت احتمال معنی دار بودن $(p < 0.05)$ • $(p < 0.01)$ ■ ۴۸
- الف) صفات مورفومتریک بین جمعیت های چشمه ای و رودخانه ای ۴۸
- ب) صفات مریستیک بین جمعیت های چشمه ای و رودخانه ای ۴۸
- ج) صفات نسبی بین جمعیت های چشمه ای و رودخانه ای ۴۹
- جدول ۴-۳- مقدار ضریب تغییرات صفات در جمعیت های مختلف در بین افراد ماده ۵۴
- الف) صفات مورفومتریک ۵۴
- ب) صفات مریستیک و نسبی ۵۵
- جدول ۵-۳- مقدار ضریب تغییرات صفات در جمعیت های مختلف در بین افراد نر ۵۶
- الف) صفات مورفومتریک ۵۶
- ب) صفات مریستیک و نسبی ۵۷
- جدول ۶-۳- مقادیر دامنه تغییرات، میانگین و انحراف استاندارد در جمعیت های آبگرم خست. راست) افراد نر چپ) افراد ماده ۶۱-۶۹

- جدول ۳-۷- همبستگی صفات مریستیک و نسبی با مولفه های استخراج شده..... ۷۱
- جدول ۳-۸- میزان تشابه نمونه های بررسی شده در این مطالعه..... ۸۵
- جدول ۳-۹- میزان تشابه نمونه های بررسی شده در شاخه ی شرقی جنس آفانیوس..... ۸۶
- جدول ۳-۱۰- میزان تشابه نمونه شاخه ی غربی جنس آفانیوس در ایران..... ۸۷

شکل های فصل سوم

- شکل ۳-۱- آنالیز تجزیه به مولفه های اصلی بین افراد جنس های مختلف جمعیت های چشمه آبگرم..... ۵۰
- شکل ۳-۲- آنالیز تجزیه به مولفه های اصلی بین افراد جنس های مختلف جمعیت های رودخانه ای..... ۵۲
- شکل ۳-۳- آنالیز تجزیه به مولفه های اصلی در جمعیت های مختلف..... ۷۰
- شکل ۳-۴- نمودار پراکندگی حاصل از آنالیز تابع تشخیص (DFA) در افراد ماده..... ۷۲
- شکل ۳-۵- نمودار پراکندگی حاصل از آنالیز تابع تشخیص (DFA) در افراد نر..... ۷۳
- شکل ۳-۶- کلادوگرام های حاصل از آنالیزهای فیلوژنتیکی..... ۹۰-۹۱

شکل های فصل چهارم

- شکل ۴-۱- نمودار رسته بندی افراد جمعیت های مختلف براساس فاکتورهای اول و دوم استخراج شده از آنالیز تجزیه به مؤلفه های اصلی با استفاده از صفات مریستیک و نسبی. الف) افراد نر ب) افراد ماده..... ۱۰۷

فهرست مطالب

فصل اول : کلیات

- ۱-۱- فیلوژنی جنس آفانیوس..... ۲
- ۲-۱- تعیین زمان واگرایی جمعیت ها و گونه های جنس آفانیوس..... ۳
- ۳-۱- زمین شناسی حوضه تتیس و گونه زایی ویکاریانت در جنس *Aphanius*..... ۴
- ۴-۱- سازگاری های اکولوژیکی و پراکنش گونه های جنس آفانیوس..... ۵
- ۵-۱- توصیف خانواده Cyprinodontidae..... ۶
- ۶-۱- معرفی جنس آفانیوس *Aphanius* Nardo, 1827..... ۷
- ۷-۱- گونه های جنس *Aphanius* در ایران..... ۱۰
- ۱-۷-۱- کپور دندان دار زاگرس..... ۱۰
- ۲-۷-۱- کپور دندان دار فارس..... ۱۲
- ۳-۷-۱- کپوردندان دار اصفهان..... ۱۳
- ۴-۷-۱- کپوردندان دار صفیه..... ۱۶
- ۵-۷-۱- کپوردندان دار ایرانی..... ۱۸
- ۶-۷-۱- کپوردندان دار باله بلند..... ۲۰
- ۷-۷-۱- کپور دندان دار گنو..... ۲۳

فصل دوم: مواد و روش ها

- ۱-۲- مناطق نمونه برداری..... ۲۶
- ۱-۱-۲- چشمه آبگرم تنگ خون..... ۲۶
- ۲-۱-۲- چشمه آبگرم فاریاب سنگویه..... ۲۶
- ۳-۱-۲- چشمه آبگرم تیربوئییه..... ۲۷
- ۴-۱-۲- چشمه آبگرم خست..... ۲۷
- ۵-۱-۲- چشمه آبگرم تدرویه..... ۲۸
- ۶-۱-۲- چشمه آبگرم گنو..... ۲۸
- ۷-۱-۲- رودخانه فتویه..... ۲۸
- ۸-۱-۲- نهر هورمودر..... ۲۹
- ۹-۱-۲- رودخانه شور اول..... ۲۹
- ۲-۲- مواد زیستی..... ۲۹
- ۱-۲-۲- روش صید نمونه ها..... ۲۹
- ۲-۲-۲- فیکس کردن و انتقال نمونه ها به آزمایشگاه..... ۳۰

- ۳-۲- مطالعات مورفولوژیکی..... ۳۰
- ۲-۳-۱- صفات استفاده شده در مطالعات مورفولوژیکی..... ۳۱
- ۲-۳-۱-۱- صفات مورفومتریک..... ۳۱
- ۲-۳-۱-۲- صفات مرستیک..... ۳۱
- ۲-۴- مطالعات مولکولی..... ۳۸
- ۲-۴-۱- استخراج DNA..... ۳۸
- ۲-۴-۲- فرایند PCR..... ۳۸
- ۲-۴-۲-۱- انتخاب و طراحی پرایمر..... ۳۸
- ۲-۴-۲-۲- بهینه سازی PCR..... ۳۹
- ۲-۴-۲-۳- الکترو فورز محصول PCR..... ۳۹
- ۲-۴-۲-۳- خالص کردن DNA از ژل آگارز..... ۳۹

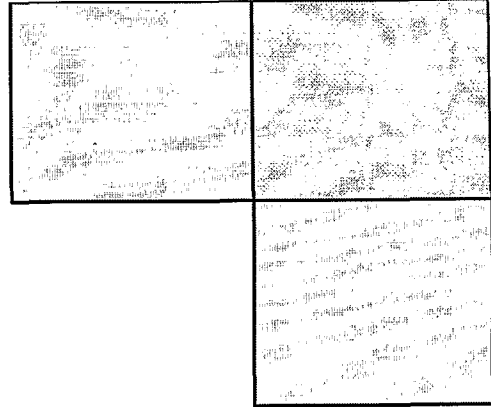
فصل سوم: نتایج

- ۳-۱- آنالیز داده های مورفولوژیکی..... ۴۲
- ۳-۱-۱- دو شکلی جنسی (Sexual dimorphism)..... ۴۲
- ۳-۱-۲- تنوع درون جمعیتی..... ۵۳
- ۳-۱-۳- تنوع بین جمعیت ها..... ۵۸
- ۳-۲- توصیف الگوی رنگ در جمعیت های بررسی شده..... ۷۴
- ۳-۲-۱- جمعیت آبگرم خست..... ۷۴
- ۳-۲-۲- جمعیت آبگرم سنگویه..... ۷۴
- ۳-۲-۳- جمعیت آبگرم تنگ خون..... ۷۵
- ۳-۲-۴- جمعیت آبگرم تیربوئییه..... ۷۶
- ۳-۲-۵- جمعیت آبگرم تدرویه..... ۷۶
- ۳-۲-۶- جمعیت رودخانه فتویه..... ۷۶
- ۳-۲-۷- جمعیت رودخانه شورا..... ۷۷
- ۳-۲-۸- جمعیت نهر هورمودر..... ۷۷
- ۳-۲-۹- جمعیت آبگرم گنو..... ۷۷
- ۳-۳- نتایج مطالعات مولکولی..... ۷۸
- ۳-۳-۱- نتایج استخراج DNA..... ۷۸
- ۳-۳-۲- نتایج PCR..... ۷۸
- ۳-۳-۳- نتایج DNA sequencing..... ۷۹
- ۳-۳-۵- بررسی تشابه های بین جمعیت ها به صورت دو به دو..... ۸۴
- ۳-۳-۵- بررسی فیلوژنی و ترسیم درختچه..... ۸۸

فصل چهارم: بحث

- ۹۳-۴-۱- دو شکلی جنسی.....
- ۹۴-۴-۲- تنوع درون جمعیتی.....
- ۹۴-۴-۳- تنوع مورفولوژیکی بین جمعیت ها.....
- ۹۶-۴-۴- تکامل صفات مرستیک در خانواده‌ی *Cyprinodontidae*.....
- ۱۰۲-۴-۵- تنوع ژنتیکی بین جمعیت ها.....
- ۱۰۳-۴-۶- بررسی صفات *Autapomorphic* و متمایز کننده‌ی مولکولی در جمعیت های مختلف.....
- ۱۰۵-۴-۷- نتایج هیبریدگیری بین گونه های جنس *Aphanius*.....
- ۱۰۶-۴-۸- آیا جدایی مورفولوژیکی *A. ginaonis* به دلیل کاهش باله های پشتی و مخرجی است؟.....
- ۱۰۸-۴-۹- نتیجه گیری نهایی و تصمیم گیری تاکسونومیک.....
- ۱۰۸-۴-۹-۱- *A. ginaonis* : گونه، زیر گونه یا اکومورفی از *A. dispar*.....
- ۱۰۹-۴-۹-۲- وضعیت حفاظتی گونه های جنس *Aphanius* در جهان و ایران.....
- ۱۱۲..... فصل پنجم: پیشنهادات.....
- ۱۱۴..... فصل ششم: فهرست منابع.....

فصل اول



کلیات

Generality

۱-۱- فیلوژنی جنس آفانیوس

محدود شدن دریای تتیس در حدود مرز زمانی الیگوسن و میوسن تاثیر بسیار زیادی بر توزیع و تنوع موجودات داشته است. تا قبل از تجزیه ابر قاره پانگه آ در حدود ۲۰۰ میلیون سال قبل، عناصر دو منطقه لوراسیا (Laurasia) و گندوانا (Gondwana) در تبادل بوده که برخی تشابهات کنونی عناصر فونی و فلوری این دو منطقه محصول این تبادلات می باشد. در ادامه، قطع شدن راه های دریایی، باعث قطع شدن ارتباط عناصر دریای تروپیکال بین اقیانوس های هند و اطلس شد.

اگرچه تاثیر مشابه رخدادهای زمین شناسی ناشی از محدود شدن دریای تتیس بر تنوع ارگانسیم ها خیلی کم مطالعه شده، اما شکل گیری و ایزوله شدن تعداد زیادی از واحدهای جدید زمین شناسی احتمالاً منجر به گونه زایی ویکاریانت در کل فون و فلور شده است؛ هرچند داده های اندکی در تایید این فرضیه وجود دارد و اغلب بررسی ها مربوط به گستره های محدود جغرافیایی هستند.

اولین بار این فرضیه توسط Kosswig در سال 1967 مطرح شد که پراکنش کپور دندان داران های متعلق به زیر خانواده *Aphaniini* بازمانده دریای تتیس بوده و می توان توزیع آن ها را بر اساس محدود شدن این دریا به خوبی نشان داد. تمامی گونه های امروزی و گونه های فسیلی مربوط به جنس *Aphanius* به صورت گسترده ای در امتداد خط ساحلی قدیمی دریای تتیس پراکنش یافته اند و پراکنش امروزی آن ها شامل نواحی ساحلی مدیترانه و نواحی ساحلی شبه جزیره جیر (Gir Peninsula) در شمال غربی هند تا شمال شرقی سومالی شامل دریای سرخ و خلیج فارس است.

پراکنش در حوضه های داخلی عمدتاً به کمربند کوهزایی مدیترانه ای و شرق نزدیک شامل ترکیه و ایران محدود می شود. این قسمت ها تمامی نواحی تاثیر گرفته از محصور شدن دریای تتیس هستند.

در مطالعات انجام شده توسط Hrbek & Meyer در سال 2003 برای آزمودن فرضیه ی گونه زایی ویکاریانت بر اساس شواهد زمین شناسی مربوط به محدود شدن (closing) دریای تتیس روابط فیلوژنتیکی جنس *Aphanius* به عنوان یک کپور دندان دار غالب در آن دوران بازسازی شده است. در این بررسی ۱۳ گونه از این جنس در قالب ۴۹ جمعیت به عنوان درون گروه (Ingroup) و ۱۱ گونه دیگر متعلق به جنس های نزدیک، به عنوان برون گروه (Out group) در نظر گرفته شده و این مطالعه با استفاده از توالی ۳۲۶۳ جفت باز از ۱۴ ژن میتوکندریایی انجام شده است.

نتیجه مطالعات، دو شاخه عمده شرقی و غربی را نشان می دهد. گونه های *A. sirhani*، *A. mento*، *A. dispar* و *A. ginaonis* در شاخه شرقی قرار گرفته و سایر گونه های این جنس در شاخه غربی قرار می گیرد. *A. sirhani* یک گروه خواهری نسبت به *A. dispar* و *A. ginaonis* است. هرچند گونه *A. ginaonis* به لحاظ مورفولوژی از نزدیکترین گونه به لحاظ تکاملی و جغرافیایی یعنی *A. dispar* کاملاً متفاوت است، اما کاملاً در شاخه *A. dispar* قرار می گیرد. زیر گونه *A. dispar richardosni* که در دره ی بحرالمتیت پراکنش دارد نیز گروه خواهری جمعیت این گونه در شبه جزیره Sinai است که به لحاظ جغرافیایی به این زیر گونه نزدیک است و در شاخه *A. dispar* قرار می گیرد. بنابراین *A. dispar* یک تاکسون پارافیلتیک است.

شاخه غربی در بر گیرنده سایر گونه های این جنس بوده که در این شاخه، همه ی گونه ها حالت منوفایلیتیک دارند. پس از جدا شدن *A. apodus* در مراحل اولیه از این شاخه، سپس گونه *A. iberus* از سایر اعضای باقیمانده شاخه غربی جدا می شود و در ادامه دو گونه ی ایرانی *A. sophiae* و *A. vladykovi* از بقیه این شاخه جدا می شوند. *A. fasciatus* که گونه آب لب شور شاخه ی غربی است، گروه خواهری تمامی گونه های ترکیه است که *A. asquamatus* از کردستان ترکیه (در شرق ترکیه) را نیز شامل می شود. شاخه آناتولی مرکزی در بر گیرنده شش تبار (Lineage) افتراقی اصلی شامل دو گونه توصیف شده *A. anatoliae* و *A. danfordii* و گونه توصیف نشده *A. sp. aff. danfordii* است که در ادامه توسط Hrbek & Wildekamp, 2003 به عنوان گونه ی *Aphanius villwoki* توصیف شد.

۲-۱- تعیین زمان واگرایی جمعیت ها و گونه های جنس آفاینوس

مشخص کردن تاریخ رخدادهای تکاملی گذشته هم از دیدگاه تئوری و هم تجربی کاری مشکل است. نرخ جهش معمولاً از طریق فسیل های کشف شده و یا رویداد های زمین شناسی منطقه کالیبره می شود و سپس زمان واگرایی بر اساس تعداد نوکلئوتید های جایگزین شده (جهش ها) محاسبه می شود.

تا کنون چندین فسیل مربوط به این جنس کشف شده که توصیف یک کپور دندان دار شبه آفاینوس از الیگوسن میانی از اروپا و کشف یک فسیل آفاینوس از حوضه ارومیه در شمال غربی ایران (حوضه ی ارومیه) توسط Prime در ۱۹۰۸ نمونه وار هستند. سایر فسیل های شبه آفاینوس از الیگوسن و میوسن مربوط به اسپانیا، فرانسه و سوئیس هستند. فسیل هایی از این جنس شامل *Aphanius kirgiscus* و *A. longipinnis* از قرقیزستان و از میوسن توصیف شده اند (Yakovlev, 1959).

نتایج مطالعات انجام شده در این زمینه توسط Hrbek & Meyer در سال ۲۰۰۳ و Hrbek و همکاران در سال ۲۰۰۲ نشان داده که بر اساس واگرایی های مشاهده شده در توالی ها و با این فرض که تمامی آن ها حاصل تجمع جهش ها از زمان جدایی نهایی جمعیت هاست؛ می توان گفت که پلی مورفیسم در بین اجداد این جنس خیلی کم بوده و یا وجود نداشته است.

هر نوع جریان ژنی و یا وجود پلی مورفیسم ژنتیکی در جمعیت های اولیه منجر به کاهش واگرایی و در نتیجه تخمین حداقل مدت زمان واگرایی می شود. با توجه به فسیل های کشف شده حداقل سن جنس آفاینوس در حدود ۳۰ میلیون سال تخمین زده می شود. بر اساس داده های کالیبره شده با استفاده از تاریخ دقیق نفوذ دریای سرخ به وادی سیرهان در اردن در حدود ۱۳ میلیون سال قبل به عنوان زمان تفکیک نیای مشترک دو گونه *A. dispar* و *A. sirhani*، یک نرخ جایگزینی مولکولی معادل $1 \times 10^{-9} \pm 8/6$ جفت باز در هر سال برآورد شده است. این رقم با $7/4 \times 10^{-9}$ جفت باز در سال در جنس *Rivulus* از خانواده Cyprinodontidae و همچنین نرخ جایگزینی 7×10^{-9} جفت باز در سال برای مهره داران خونسرد قابل مقایسه است (Hrbek and Meyer, 2003).

در بین گونه های جنس آفاینوس تنها دو گونه ی *A. dispar* و *A. fasciatus* در سواحل دریاها یافت می شوند و سایر گونه ها در حوضه های بسته داخل خشکی زندگی می کنند.

بر اساس اطلاعات موجود فرایندهای کوهزایی ویکاریانت در طول زمان محدود شدن تئیس عامل اصلی جدایی جمعیت ها و گونه های این جنس است و توافق و همخوانی بالایی بین فیلوژنی گونه ها و روابط بین مناطق و همچنین بین رخدادهای زمین شناسی و واگرایی های درون این جنس وجود دارد.

در بررسی های انجام شده در جنس آفاینوس برای کالیبره کردن ساعت مولکولی از دو نوع داده مختلف یعنی شواهد فسیلی و رخدادهای زمین شناسی استفاده شده است و از آنجا که شواهد فسیلی و واگرایی های عملی را نشان می دهند بنابراین نرخ تکامل مولکولی حاصل از آن ها بالاتر از حالت طبیعی است و در مقابل رخدادهای زمین شناسی نرخ حقیقی تکامل مولکولی را نشان می دهند.

قدیمی ترین واگرایی در جنس آفاینوس بین دوشاخه شرقی و غربی و در حدود $6/99 \pm 37/44$ میلیون سال قبل رخ داده است. شواهد فسیلی حداقل سن جنس آفاینوس را ۳۰ میلیون سال قبل تخمین می زنند و این در حالی است که تفکیک نهایی تئیس در حدود ۲۰ میلیون سال قبل رخ داده است؛ این مساله نشان می دهد که قبل از تجزیه شدن تئیس بین جمعیت هایی که ایجاد کننده شاخص های شرقی و غربی بوده اند به نوعی جریان ژنی قطع شده است.

شکل گیری راه های دریایی با شوری بالا که به صورت تناوبی خشک شده اند و همچنین شرایط اکولوژیکی متفاوت بین دو قسمت شرقی و غربی تئیس عوامل واگرایی این دو شاخه قبل از تفکیک نهایی تئیس بوده اند.

۱-۳- زمین شناسی حوضه تئیس و گونه زایی ویکاریانت در جنس *Aphanius* (برگرفته از Meyer & Hrbek 2003)

با این فرض که نیای جنس *Aphanius* در نواحی ساحلی تئیس ساکن بوده است، پس از تحلیل رفتن این دریای باستانی در حدود ۲۰ میلیون سال قبل این جمعیت اجدادی به دو گروه شرقی و غربی تقسیم شده است (در آن زمان تشکیلات دریای سرخ در حال شکل گیری بوده است).

در مورد گروه شرقی این فرضیه مطرح شده که اجداد *A. mento* به حاشیه شمالی صفحه عربستان نفوذ کرده و سپس در طول زمان در انشعابات امروزی و باستانی حوضه های آبریز دجله و فرات گسترش یافته و منجر به متمایز شدن این گونه از سایر اعضای گروه شرقی شده است. در حدود ۱۳ میلیون سال قبل یک نفوذ عمده از دریای سرخ به حوضه وادی سیرهان در اردن منجر به جد شدن گونه *A. sirhani* از جد آن یعنی *A. dispar* شد (Villwock et al., 1983 Hrbek & Meyer, 2003).

در منطقه غربی کوه های اطلس شامل دو منطقه Tellian (محل پراکنش *A. apodus*) و Rif Atlas و همچنین سیستم Bedic در جنوب اسپانیا (محل پراکنش *A. iberus*) هر دو از برجستگی بستر تئیس حاصل شده اند. کوهزایی و فشردگی این منطقه در اواسط الیگوسن (حدود ۳۰ میلیون سال قبل) شروع شده و در مراحل مختلف تا اوایل پلیوسن (حدود ۸ میلیون سال قبل) ادامه داشته است و در نهایت دو گونه *A. iberus* و *A. apodus* در بلوک های زمین شناسی متفاوت از نیای شبه *A. fasciatus* در اواخر اولیگوسن از یکدیگر ایزوله شده اند و گونه ی

A. iberus در شبه جزیره ایبری و کوه های اطلس پراکنده شده است؛ هرچند در نهایت در حدود ۵/۳ میلیون سال قبل با شکل گیری تنگه جبل الطارق جمعیت های شبه جزیره ایبری از جمعیت های آفریقایی این گونه تفکیک شدند.

تاریخ زمین شناسی کوه های آناتولی - زاگرس پیچیده است؛ این منطقه از صفحات کوچکی تشکیل شده است که در ایران شامل صفحات ایران، هلمند، فرح و لوت و برآمدگی هایی از قبیل کردستان و کوه های قفقاز کوچک و بزرگ می باشد. به واسطه حرکت تدریجی صفحه عربستان در جهت شمال این صفحات کوچک به هم فشرده شده و به صورت یک توده واحد در آمده اند.

ایزوله شدن واقعی گروه های زمین شناسی در ترکیه احتمالاً در حدود ۱۰ میلیون سال قبل رخ داده و این مساله که چرا ارتباط بیوجرافیایی در آناتولی وجود دارد، هنوز مبهم است. با این وجود آناتولی حالتی مونوفایلیتیک داشته و جمعیت های آفاینوس در چهار منطقه اصلی ساکن شده اند که دارای بیشترین واگرایی نسبت به یکدیگر هستند. مطالعات زمین شناسی ایران ایزوله شدن سریع چند منطقه را نسبت به بقیه نشان می دهد. فرو رفتگی وسیع صفحه عربستان به زیر صفحه ایران در حدود ۱۰ میلیون سال قبل آغاز شد و منجر به برآمدن کوه های زاگرس در حاشیه جنوب و غرب ایران شد. ادامه حرکت صفحه عربستان به سمت شمال شرق و حرکت هند در جهت شمال باعث کوهزایی در قسمت شمالی ایران (۵ میلیون سال قبل) و همچنین باعث اتصال صفحات ایران، لوت، هلمند و فرح شده که ایران کنونی را تشکیل می دهد. بر اساس این رخدادهای، این فرضیه مطرح شده که جمعیت های مختلف آفاینوس در حوضه های ایزوله زاگرس، قفقاز کوچک و کوه های البرز ایجاد شده و در همین زمان فلات ایران یک گروه مونوفایلیتیک را ایجاد کرده است.

یک فرایند کوهزایی در کردستان شامل مناطق مرزی کوهستانی ترکیه، ایران و عراق و همچنین برآمدگی های سازنده کمپلکس Maden در جنوب شرقی ترکیه در حدود ۱۲ میلیون سال قبل رخ داده است، دریاچه Hazer و حوضه آبریز آن در همین زمان تشکیل شده اند، اما جدایی نهایی آناتولی از ایران قبل از اوایل تا اواسط میوسن (۲۰ میلیون سال قبل) شروع شده است.

بر این اساس این فرضیه مطرح می شود که اولین تفکیک در بین جنس آفاینوس که از نیای آب لب شور جدا شده به دو شاخه شرقی و غربی است که در هر شاخه نیای آب لب شور به صورت گونه های درون حوضه های بسته داخلی در آمده است.

۱-۴- سازگاری های اکولوژیکی و پراکنش گونه های جنس آفاینوس

جنس آفاینوس را می توان به دو گروه عمده اکولوژیکی تقسیم کرد: گونه هایی که در آب های لب شور و محیط های ساحلی شور ساکن شده اند؛ و گونه هایی که در آب های شیرین، چشمه ها، نهرها، باتلاق ها، تلاب ها و دریاچه های حوضه های بسته داخلی زندگی می کنند. از دو گونه آب لب شور *A. fasciatus* قسمت های مرکزی و غربی حوضه مدیترانه را اشغال کرده (هرچند تعدادی زیستگاه ایزوله آب شیرین نیز برای این گونه شناخته شده است؛ برای مثال در دریاچه بافا در ترکیه و نواحی شمالی آفریقا) و گونه دوم یعنی *A. dispar* در نواحی اطراف دریای

سرخ، خلیج فارس و قسمت هایی از دریای عرب وجود دارد، همچنین جمعیت هایی از این گونه در قسمت های جنوب شرقی حوضه مدیترانه و در محیط های لب شور مثلاً در مصر (همراه با گونه *A. fasciatus*) و در آب های شیرین واحه های شبه جزیره عربستان و چشمه های خیلی شور دره بحرالمت زندگی می کنند (Hrbek and Meyer, 2003).

Ben-Tuvia (1966) پیشنهاد کردند که حضور این گونه در انتهای جنوب شرقی مدیترانه نتیجه یک مهاجرت موفق از طریق کانال سوئز است، در حالیکه Kornfield & Nevo (1976) دلیل این مساله را انتشار قبل از پلیوسن از طریق دره بحر المیت مطرح کردند.

A. iberus متعلق به شبه جزیره ایبری و غرب مراکش بوده و در آب های شور و شیرین زندگی می کنند. *A. apodus* بومی منطقه Tellian در رشته کوه های اطلس (الجزایر) و فقط در آب شیرین یافت می شود. سایر گونه های آب شیرین باقی مانده در آسیا پراکنده اند. *A. mento* در حوضه آبریز دجله و فرات و همچنین دره بحرالمت و منطقه سیهان در اردن و تعداد زیادی از آبریزهای کوچک ساحلی جنوب ترکیه یافت می شود. متنوع ترین گروه گونه های آفانیوس در مناطق کوهستانی مرکز آناتولی ترکیه و فلات ایران زندگی می کنند. در سال های اخیر از این منطقه (ایران و ترکیه) و دو نقطه در افریقا و منطقه ایبری چند گونه جدید توصیف شده که عبارتند از :

- Sakarya در آناتولی *Aphanius villwocki* Hrbek & wildekamp, 2003 از حوضه رودخانه ی رودخانه ی *Sakarya* در آناتولی ترکیه توصیف شده که تاکسون خواهری دو گونه ی *A. danfordii* و *A. anatoliae* است.
- *Aphanius isfahanensis* Hrbek, Keivany & Coad, 2006 از حوضه ی زاینده رود در حوضه ی آبریز اصفهان در زاگرس مرکزی توصیف شده که تاکسون خواهری گونه های *sophiae - persicus* است.
- *Aphanius saourensis* Blanco, Hrbek & Doadrio, 2006 از دره ای در شمال غربی الجزایر توصیف شده که از گونه ی *A. iberus* اشتقاق یافته است.
- *Lebias(=Aphanius) stiassnyae* Getahun & Lazara, 2001 از دریاچه ای با شوری بالا به نام Afdera و از اتیوپی توصیف شده که احتمالاً از گونه ی *A. dispar* جدا شده است.
- *Aphanius baeticus* Doadrio, Carmona and Fernandez-Delgado, 2002 از رودخانه ی Salado و از حوضه ی رودخانه ی Guadalquivir در اسپانیا

و احتمالاً ۴ گونه توصیف نشده نیز در ایران وجود دارد (Coad, 2000).

۱-۵- توصیف خانواده Cyprinodontidae

این خانواده در برگیرنده حدود ۱۰۰ گونه از ماهیان کوچکی است که در آب های شیرین، لب شور و آب دریا و در مناطق گرمسیری تا اقلیم های گرم و تقریباً در تمامی جهان یافت می شوند و با نام های Killfish ، Toothcarp و Pupfish شناخته می شوند.