وَآيَةٌ لَّهُمُ الْأَرْضُ الْمَيْتَةُ أَحْيَيْنَاهَا وَأَخْرَجْنَا مِنْهَا حَبًّا فَمِنْهُ يَأْكُلُونَ ۝ وَجَعَلْنَا فِيهَا جَنَّاتٍ مِن نَّخِيلٍ وَأَعْنَابٍ وَفَجَّرْنَا فِيهَا مِنَ الْعُيُونِ ۝ لِيَأْكُلُوا مِن ثَمَرِهِ وَمَا عَمِلَتْهُ أَيْدِيهِمْ أَفَلَا يَشْكُرُونَ ۝ سُبْحَانَ الَّذِي خَلَقَ الْأَزْوَاجَ كُلَّهَا مِمَّا تُنبِتُ الْأَرْضُ وَمِنْ أَنفُسِهِمْ وَمِمَّا لَا يَعْلَمُونَ ۝ وَآيَةٌ لَّهُمُ اللَّيْلُ نَسْلَخُ مِنْهُ النَّهَارَ فَإِذَا هُم مُّظْلِمُونَ ۝ وَالْقَمَرَ قَدَّرْنَاهُ مَنَازِلَ حَتَّى عَادَ كَالْعُرْجُونِ الْقَدِيمِ ۝

آیات ۳۳-۳۹ سوره ی یس

زمین مرده برهانی است برای ایشان که آن را زنده گردانیدیم و دانه از آن برآوردیم که از آن می خورند ۝ و در آن [زمین] باغهایی از درختان خرما و تاک قرار دادیم و چشمه ها در آن روان کردیم ۝ تا از میوه آن و [از] کارکرد دست های خودشان بخورند آیا باز [هم] سپاس نمی گزارند ۝ پاک [خدایی] که از آنچه زمین می رویاند و [نیز] از خودشان و از آنچه نمی دانند همه را نر و ماده گردانیده است ۝ و نشانه ای [دیگر] برای آنها شب است که روز را [مانند پوست] از آن برمی کنیم و ناگاه آنان در تاریکی فرو می روند ۝ و خورشید به [سوی] قرارگاه ویژه خود روان است تقدیر آن عزیز دانا این است ۝ و برای ماه منزلهایی معین کرده ایم تا چون شاخک خشک خوشه خرما برگردد ۝

دانشکده علوم کشاورزی
گروه علوم دامی
(ژنتیک و اصلاح دام)

عنوان:

# شناسایی ژنتیکی و طبقه‌بندی آرتمیای ایران با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره

از:
**رضا زینالپور**

استاد راهنما:
**دکتر سیدضیاءالدین میرحسینی**

استادان مشاور:
**دکتر علی اسدپور**
**مهندس سید بنیامین دلیر صفت**

خرداد ۱۳۹۱

اگر در خور تقدیم باشد به رسم ادب تقدیم به سرور و مولایم امام زمان (عج)

و

پدر دلسوزم و همسر مهربانم

و

روح مادر عزیزم

## تشکر و قدردانی

پروردگارا، وجود من توان شکرگزاری نعمات بی کرانت را ندارد، تمام وجودم و هرآنچه پیرامونم است تو را فریاد می زنند و شکرگزار تو هستند اما گاه نا تمام گویا گوشایم را کر کرده و من چیزی را نمی شنوم، بارالها یاریم کن تا این دانش اندکم نردبانی شود برای رسیدن به تو و هرآنچه که تو خواهی.

حال که توفیق تهیه و جمع آوری این مجموعه را یافتم بر خود واجب می دانم از کلیه ی عزیزانی که بنده را در طی این مسیر همراهی کردند تشکر و قدردانی نمایم. ابتدا از مادرم که از نعمت داشتنش محروم، پدر و همسر عزیزم که بدون دعای خیر این عزیزان طی این مسیر پر پیچ و خم میسر نبود، نهایت امتنان را دارم.

از استاد راهنمای عزیز و صبورم جناب آقای دکتر سید ضیاء الدین میر حسینی که با سعه ی صدر بنده را راهنمایی نموده و با ارائه ی راهکارهای مناسب و رهنمودهای بی دریغ شان در پیشبرد مراحل علمیاتی و نگارش پایان نامه سعی تمام مبذول داشته اند نهایت تشکر و قدردانی را دارم. از استادان مشاور جناب آقای مهندس سید نیامین دلیر صفت و دکتر علی اسدپور به جهت راهنمایی های علمی شان کمال قدردانی را دارم.

از اساتید محترم آقایان دکتر نوید قوی حسین زاده و دکتر سید حسین حسینی مقدم که زحمت باز خوانی و داوری این مجموعه را داشته اند صمیمانه تشکر و قدردانی می نمایم. از حضور آقای دکتر شعبانپور به عنوان نماینده ی محترم تحصیلات تکمیلی در جلسه ی دفاع سپاسگزارم. از کلیه ی اساتید گرانقدر دانشگاه گیلان که در مقطع کارشناسی و کارشناسی ارشد از محضرشان کسب فیض نموده ام نهایت سپاسگزاری را دارم

از رفیق شفیقم جناب آقای جلال زارع که در طی مراحل اجرایی پایان نامه بهمون برادر و همکاری دلسوز یار و پشتیبان بنده بوده اند و همچنین از دوست عزیزم جناب آقای رضا طالبی که در مراحل اجرایی پایان نامه بنده را با راهنمایی هایشان بسیار کمک نموده اند، نهایت تشکر و قدردانی را دارم. از دوستان عزیزم آقایان ابوذر نجف زاده، حسن خانزاده، محمود حسین دخت نهیل، حسین مجتهدی فر، میلاد شاعری، محمد اسدی، حسین اعلایی، رسول قیامی و سایر عزیزانی که ذکر نامشان در مجال این محفل نمی گنجد، نهایت تشکر و قدردانی را دارم.

از پرسنل محترم اداره ی کل شیلات استان فارس، سازمان جهاد کشاورزی استان فارس، سازمان جهاد کشاورزی استان کرمان، اداره ی کل شیلات استان کرمان، اداره ی جهاد کشاورزی بخش نوق رفسنجان، سازمان جهاد کشاورزی استان خوزستان، اداره ی کل شیلات استان خوزستان و مرکز تحقیقات آبزیان کشور که در مراحل نمونه برداری بنده را یاری رساندند نهایت تشکر را دارم. از اساتید گرانقدر جناب آقای دکتر مونوز استاد گروه بیولوژی دانشگاه سویل اسپانیا و عضو شورای علمی تحقیقات اسپانیا و همچنین خانم دکتر صالحی استاد گروه زیست شناسی دانشکده ی علوم پایه ی دانشگاه گیلان به خاطر ارسال مقالات و راهنمایی های سازنده کمال امتنان را دارم.

خرداد ۱۳۹۱

**عنوان** **صفحه**

مقدمه ۲
فصل اول: کلیات و مرور منابع
۱- ۱- آرتمیا ۵
۱- ۱- ۱- معرفی آرتمیا ۵
۱-۱-۱-۱- خصوصیات ظاهری ۶
۱-۱-۱-۲- رده‌بندی آرتمیا ۷
۱-۱-۱-۳- سویه های آرتمیا ۸
۱-۱-۱-۴- تغذیه ۸
۱-۱-۱-۵- تولید مثل ۹
۱-۱-۱-۶- مراحل رشد و نمو ۱۰
۱-۱-۱-۷- سیست آرتمیا ۱۱
۱-۱-۲- پراکنش آرتمیا در ایران و جهان ۱۴
۱-۱-۳- اهمیت آرتمیا ۱۵
۱-۱-۳-۱- آرتمیا وآبزی پروری ۱۷
۱-۱-۳-۲- تشخیص سموم ۲۲
۱-۱-۳-۳- استفاده از آرتمیا به عنوان منبع پروتئینی برای انسان ۲۲
۱-۱-۳-۴- خوراک دام و طیور ۲۲
۱-۱-۳-۵- تولید نمک مرغوب ۲۳
۱-۲- تنوع و اهمیت آن ۲۳
۱-۲-۱- تنوع ژنتیکی ۲۴
۱-۲-۲- علل انقراض گونه‌ها و کاهش تنوع ۲۵
۱-۲-۳- کاربردهای تنوع ژنتیکی ۲۶
۱-۲-۳-۱- تنوع ژنتیکی و اصلاح نژاد ۲۶
۱-۲-۳-۲- تنوع ژنتیکی و حفاظت از نژادهای بومی و کمیاب ۲۶
۱-۲-۴- راهکارهای حفاظت از ذخایر ژنتیکی جانوری ۲۷
۱-۲-۵- منابع تنوع ژنتیکی ۲۷
۱-۲-۵-۱- تنوع ناشی از نوترکیبی ۲۸
۱-۲-۵-۲- تنوع ناشی از مهاجرت و جریان ژن ۲۸
۱-۲-۵-۳- تنوع ناشی از جهش ۲۸
۱-۲-۵-۴- تنوع ناشی از رانش ژنتیکی ۲۸
۱-۲-۵-۵- تنوع ناشی از انتخاب ۲۹
۱-۲-۶- راهکارهای حفظ تنوع ژنتیکی ۲۹
۱-۲-۶-۱- فاصله‌ی ژنتیکی ۲۹
۱-۲-۷- تبارزایی ۳۰
۱-۳- روش‌های تشخیص تنوع ژنتیکی (تشخیص چندشکلی) ۳۰

۱-۳-۱- نشانگرهای ژنتیکی ۳۰
۱-۳-۱-۱- ریزماهواره‌ها ۳۲
۱-۳-۱- ۲- ویژگی‌های ریزماهواره‌ها ۳۳
۱-۳-۱-۳- تاریخچه‌ی ریزماهواره ۳۴
۱-۳-۱-۴- کاربرد ریزماهواره‌ها ۳۴
۱-۳-۱-۵- مشکلات کار با ریزماهواره‌ها ۳۶
۱-۳-۱- ۶- انواع ریزماهواره‌ها ۳۷
۱-۴- مروری بر پژوهش‌های انجام شده در آرتمیا با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره ۳۸
۱- ۵- مروری بر پژوهش‌های انجام شده در آرتمیا با استفاده از سایر نشانگرهای مولکولی ۳۸
فصل دوم: مواد و روش ها
۲-۱- نمونه گیری ۴۴
۲-۱-۲- استخراج DNA ۴۴
۲-۱-۳- تعیین ویژگی‌های کمی و کیفی DNA ۴۴
۲-۲- جایگاه‌های ریزماهواره ۴۴
۲-۲-۱- معیارهای انتخاب جایگاه‌های ریزماهواره ۴۵
۲-۳- انجام آزمایش PCR ۴۶
۲-۳-۱- بهینه‌سازی شرایط PCR ۴۶
۲-۳-۲- چرخه‌های حرارتی PCR ۴۷
۲-۴- الکتروفورز عمودی ۴۷
۲-۴-۱- مواد لازم جهت تهیه‌ی ژل پلی آکریل آمید ۴۸
۲-۴-۲- تهیه‌ی ۶۰ سی سی از محلول ژل ۴۸
۲-۴-۳- ریختن ژل و نصب آن ۴۹
۲-۴-۴- بارگیری فرآورده‌های PCR و الکتروفورز آنها ۴۹
۲-۵- رنگ آمیزی ژل ۵۰
۲-۶- خواندن آلل‌ها ۵۲
۲-۷- تجزیه و تحلیل داده‌ها ۵۲
۲-۷-۱- تعادل هاردی- واینبرگ ۵۲
۲-۷-۲- معیارهای اندازه‌گیری تنوع ژنتیکی ۵۴
۲-۷-۲-۱- فراوانی آلل‌ها یا ژنوتیپ‌ها ۵۴
۲-۷-۲-۲- هتروزیگوسیتی یا تنوع ژنی ۵۴
۲-۷-۲-۳- شاخص اطلاعات شانون (H́) ۵۵
۲-۷-۳- معیارهای چندشکلی ۵۶
۲-۷-۳-۱- تعداد آلل‌های واقعی ۵۶
۲-۷-۳-۲- تعداد آلل‌های موثر ۵۶
۲-۷-۳-۳- چندشکلی ۵۶
۲-۷-۳-۴- نسبت جایگاه‌های چندشکل ۵۶

۲-۷-۳-۵- محاسبه‌ی محتوای اطلاعات چندشکلی ۵۷
۲- ۷- ۴- فاصله‌ی ژنتیکی استاندارد ۵۸
۲- ۷- ۵- جریان ژنی ۵۹
۲-۸- تشکیل درخت فیلوژنتیک ۶۰
فصل سوم: نتایج و بحث
۳-۱- کیفیت DNAی استخراج شد ۶۲
۳-۲- واکنش‌های PCR ۶۲
۳-۳- الگوی باندی و تعیین ژنوتیپ افراد ۶۲
۳-۳-۱- آلل‌ها ۶۴
۳-۴- تعادل هاردی- واینبرگ ۶۴
۳-۵- معیارهای چند شکلی ۶۷
۳-۶- معیارهای ارزیابی تنوع ژنتیکی ۷۲
۳- ۷- فاصله‌ی ژنتیکی ۷۵
۳- ۸- جریان ژنی ۷۶
۳- ۹- تشکیل درخت فیلوژنی ۷۸
۳- ۱۰- نتیجه‌گیری ۸۰
۳- ۱۱- پیشنهادها ۸۱
منابع ۸۴

**عنوان** **صفحه**

شکل ۱-۱- تصویر آرتمیا..... ۷
شکل۱-۲- تصویری از سیست آرتمیا در زیر میکروسکوپ نوری (مربوط به عصر یخبندان، اندازه‌ی این سیست در حدود ۲۳۵ میکرومتر است.) ..... ۱۲
شکل۱-۳- سیست‌های دهیدراته‌ی آرتمیا در مرحله‌ی نهفتگی..... ۱۳
شکل۱-۴- لارو ۱۰ روزه‌ای که در کف دریا از ناپلیوس آرتمیا تغذیه می‌کند..... ۲۰
شکل۱-۵- وضعیت ریزماهواره‌ها در DNA ژنومی، به‌طوری که دو جفت آغازگر PCR (Forward و Reverse) با خطوط بی‌رنگ در مجاورت هم طراحی شده‌اند..... ۳۳
شکل۲-۱- تصویر دستگاه الکتروفورز عمودی مورد استفاده در این تحقیق..... ۴۹
شکل۲- ۵- تصویری از نحوه‌ی ظاهرسازی باندها در محلول ظهور..... ۵۱
شکل ۳-۱- تصویر الگوی باندی جایگاه Apdq03TAIL برای ۱۷ نمونه از جمعیت آرتمیا اورمیانا که به‌همراه ژنوتیپ آنها مشخص شده است. ستون MW، ستون نشانگر اندازه و بر حسب جفت باز است..... ۶۳
شکل ۳-۲- تصویر الگوی باندی جایگاه Apdq03TAIL برای ۱۳ نمونه از جمعیت آرتمیا فرانسیسکانا که به‌همراه ژنوتیپ آنها مشخص شده است. ستون MW، ستون نشانگر اندازه و بر حسب جفت باز است..... ۶۳
شکل۳-۳- درخت فیلوزنتیک حاصل از فاصله‌ی ژنتیکی $D_A$ که با ۱۰۰۰ بار خودراه‌اندازی به روش UPGMA برای جمعیت آرتمیا فرانسیسکانا تشکیل گردیده است [Nei, 1978]. مقیاس بالای درخت نشان دهنده‌ی فواصل ژنتیکی بین افراد می باشد..... ۷۹
شکل۳-۴- درخت فیلوزنتیک حاصل از فاصله‌ی ژنتیکی $D_A$ که با ۱۰۰۰ بار خودراه‌اندازی به روش UPGMA برای جمعیت آرتمیا اورمیانا تشکیل گردیده است [Nei, 1978]. مقیاس بالای درخت نشان دهنده‌ی فواصل ژنتیکی بین افراد می باشد..... ۸۰

**عنوان** **صفحه**

جدول۱-۱- رده‌بندی علمی آرتمیا ۷
جدول۱-۲- گونه‌های آرتمیا ۸
جدول۱-۳- پراکنش آرتمیا در ایران ۱۵
جدول۱-۴- مقایسه‌ی اندازه‌ی بدن در چند گونه‌ی آرتمیا ۱۶
جدول۱-۵- مقایسه‌ی میزان اسیدهای آمینه‌ی چند گونه‌ی آرتمیا (میلی گرم) ۱۶
جدول۱-۶- میزان اسیدهای چرب با قابلیت غیر اشباعی بالا در مراحل مختلف زندگی آرتمیا ۱۶
جدول۱-۷- مقایسه‌ی اندازه‌ی سیست چند گونه‌ی آرتمیا از نقاط مختلف جهان ۱۷
جدول ۲-۱ مشخصات جایگاه‌های انتخاب شده برای تحقیق حاضر ۴۵
جدول ۲-۲ شرایط بهینه برای تمامی جایگاه‌های ریزماهواره‌ی تحقیق حاضر ۴۷
جدول ۲-۳- شرایط PCR برای تمامی جایگاه‌های ریزماهواره ۴۷
جدول ۳- ۱- مقایسه‌ی دامنه‌ی آللی آرتمیا ۶۴
جدول۳-۲- بررسی تعادل هاردی- واینبرگ برای جایگاه‌های ریزماهواره‌ای به‌کاربرده شده در جمعیت آرتمیا فرانسیسکانا با استفاده از آزمون مربع کای ($X^2_T$) و نسبت درست‌نمایی($G^2_T$) ۶۵
جدول۳-۳- بررسی تعادل هاردی- واینبرگ برای جایگاه‌های ریزماهواره‌ای به‌کاربرده شده در جمعیت آرتمیا اورمیانا با استفاده از آزمون مربع کای ($X^2_T$) و نسبت درست نمایی ($G^2_T$) ۶۵
جدول ۳-۴- بررسی تعادل هاردی- واینبرگ برای جمعیت‌ها ۶۶
جدول ۳-۵- تعداد آلل واقعی ($n_a$) و مؤثر ($n_e$) جایگاه‌های ریزماهواره‌ی تحقیق حاضر، میانگین و انحراف از آن در جمعیت آرتمیا فرانسیسکانا ۶۸
جدول ۳-۶- تعداد آلل واقعی ($n_a$) و مؤثر ($n_e$) جایگاه‌های ریزماهواره‌ی تحقیق حاضر، میانگین و انحراف از آن در جمعیت آرتمیا اورمیانا ۶۸
جدول ۳-۷- نامگذاری آلل‌های جایگاه‌ها به‌همراه فراوانی آللی، میانگین و اشتباه معیار آنها در جمعیت آرتمیا فرانسیسکانا ۶۹
جدول ۳- ۸- نامگذاری آلل‌های جایگاه ها به‌همراه فراوانی آللی، میانگین و اشتباه معیار آنها در جمعیت آرتمیا اورمیانا ۷۰
جدول ۳- ۹- نتایج محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) در جمعیت آرتمیا فرانسیسکانا برای جایگاه‌های مربوطه به‌همراه میانگین و انحراف معیار ۷۱
جدول ۳- ۱۰- نتایج محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) در جمعیت آرتمیا اورمیانا برای جایگاه‌های مربوطه به‌همراه میانگین و انحراف معیار ۷۱
جدول ۳- ۱۱- تنوع ژنی مشاهده شده و مورد انتظار برای هر جایگاه ریزماهواره در جمعیت آرتمیا فرانسیسکانا، میانگین و انحراف معیار آنها ۷۲
جدول ۳- ۱۲- تنوع ژنی مشاهده شده و مورد انتظار برای هر جایگاه ریزماهواره در جمعیت آرتمیا اورمیانا، میانگین و انحراف معیار آنها ۷۲
جدول ۳- ۱۳- نتایج شاخص اطلاعات شانون($H'$) برای جایگاه‌های مورد بررسی، میانگین و انحراف معیار آنها برای جمعیت آرتمیا فرانسیسکانا ۷۵
جدول ۳-۱۴- نتایج شاخص اطلاعات شانون($H'$) برای جایگاه‌های مورد بررسی، میانگین و انحراف معیار آنها برای جمعیت آرتمیا اورمیانا ۷۵

جدول ۳- ۱۵- مقدار $F_{ST}$ و مقدار جریان ژنی ($N_m$) بین دو جمعیت، میانگین و انحراف معیار آنها..... ۷۷

**چکیده**

**شناسایی ژنتیکی و طبقه بندی آرتمیای ایران با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره**

**رضا زینالپور**

در این تحقیق، تنوع ژنتیکی جمعیت آرتمیا اورمیانا و آرتمیا فرانسیسکانای موجود در ایران با استفاده از ۵ جفت آغازگر ریزماهواره‌ای (Af-B105TAIL، Af-A136، Apdq03TAIL، Apdq04TAIL و Apdq05TAIL) ویژه‌ی آرتمیا فرانسیسکانا و آرتمیا پارتنوژنتیکا بررسی شد. از ۵۰ سیست آرتمیای هر یک از این دو جمعیت به‌صورت انفرادی DNA با روش گلوله‌ی داغ استخراج شد. با استفاده از آغازگرهای پنج‌گانه و از طریق واکنش زنجیره‌ای پلی مراز (PCR)و DNA ، ژنومی تکثیر شد. محصولات PCR با موفقیت انجام و فرآورده‌های حاصل بر روی ژل پلی اکریل آمید غیر واسرشته‌ساز ۶٪ الکتروفورز و با نیترات تقره رنگ آمیزی گردیدند. تمامی جایگاه‌ها چندشکل بودند. میانگین تعداد آلل‌ها و محتوای اطلاعات چند شکلی ( PIC) برای جمعیت آرتمیا فرانسیسکانا و آرتمیا اورمیانا به‌ترتیب برابر با ۳، ۰/۵۴۲۸ و ۲/۵، ۰/۳۸۳۳ بود. در آرتمیا اورمیانا تمامی جایگاه‌ها در تعادل هاردی - واینبرگ قرار داشتند در حالی که در آرتمیا فرانسیسکانا تنها جایگاه Af-A136 در تعادل هاردی – واینبرگ قرار داشت. میانگین هتروزیگوسیتی مورد انتظار برای آرتمیا فرانسیسکانا و آرتمیا اورمیانا به‌ترتیب ۰/۶۲۰۹ و ۰/۴۵۳۱ محاسبه شد. دندروگرام فیلوژنتیکی در داخل جمعیت‌ها براساس فاصله‌ی ژنتیکی و با استفاده از روش UPGMA (جفت گروه‌های غیر وزنی) ترسیم گردید. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که ریزماهواره‌ها می‌توانند به‌عنوان ابزاری مناسب برای بررسی تنوع زیستی در حیوانات استفاده شوند. لذا می‌توان با برنامه‌های صحیح مدیریتی از انقراض این ذخایر ژنتیکی با ارزش جلوگیری به‌عمل آورد.

کلمات کلیدی: ریزماهواره، آرتمیا، تنوع ژنتیکی، هتروزیگوسیتی، چندشکلی

.

**Abstract**

**Genetic identification and classification of Iranian Artemia using microsatellite markers**

**Reza Zeynalpour**

This Study, Genetic variation of *Artemia urmiana* and *Artemia franciscana* populations were using, five microsatellite markers (Af-B105TAIL, Af-A136, Apdq03TAIL, Apdq04TAIL and Apdq05TAIL) from *Artemia franciscana* and *Artemia parthenogenetica*. DNA of samples extracted from 50 cysts *Artemia urmiana* and *Artemia franciscana* populations individually by Hot Shot method. The polymerase chain reactions (PCR) were successfully done with all primers and then the productes were electrophoresed in 6% (undenaturing) PAGE and stained with silver nitrate. Hence, all alleles were found polymorphic. Allelic and polymorphic information content (PIC) averages for *Artemia urmiana* and *Artemia franciscana* populations were 3, 0.5428 , 2.5 and 0.3833, respectivly. *Artemia urmiana* was in hardy-weinberg equilibrium (HWE) but *Artemia franciscana* was only in Af-A136 locous in hardy-weinberg equilibrium (HWE). The average expected heterozygosity for *Artemia franciscana* and *Artemia urmiana* were estimated as 0.6209 and 0.4531 , respectivly. The phylogeny denderograms based on the Distance Matrix, distances were drown using unweighted pair-group method by an arithmetic average (UPGMA) for inside population. On the base of findings of this research, microsatellite markers could be an useful tool for screening of biodiversity at animals, thus could be preserved from extinction by optimal breeding and management programs.

Keywords: Microsatellite, Artemia, Genetic Diversity, Heterozygosity, Polymorphism

# مقدمه

با افزایش جمعیت جهان و کاهش منابع غذایی، بررسی راهکارهای جدید برای تهیه‌ی غذا و افزایش بهره‌وری از منابع اولیه ضروری به نظر می رسد. در این راستا آبزی پروری و به‌کارگیری استعدادهای بالقوه‌ی موجود در این صنعت می‌تواند اثر بخش باشد. استفاده‌ی بهینه و مناسب از منابع موجود در آبها جهت پرورش صحیح ماهی و میگو از عوامل تأثیرگذار بر این صنعت محسوب می‌شود. یکی از این منابع مهم، آرتمیا و سیست آن است. آرتمیا یا میگوی آب شور موجود ظریفی از رده‌ی سخت پوستان است که به زندگی در آبهای شور عادت کرده و به دلیل عدم وجود جانوران شکارچی و رقبای غذایی در چنین محیط‌هایی سازگار شده است. این جانور به طور مداوم با دفع نمک اضافی، مقدار نمک بدن خود را ثابت نگه می‌دارد و به این دلیل می‌تواند شوری‌های بیشتر از ۲۲۰ گرم در لیتر را تحمل نماید. سیست‌های این موجود که در طی زمان‌های طولانی توسط عواملی نظیر باد و پرندگان مهاجر در آب‌های شور سراسر دنیا انتشار یافته‌اند، در برابر استرس‌های محیطی نسبت به سلول‌های حیوانی دیگرمقاومت بالایی را نشان می‌دهند[Clegg., 2001]. آرتمیا که از پلانکتون‌های جانوری تغذیه می‌نماید [Muñuz et al., 2009] دارای ۵۵٪-۴۰٪ پروتئین، ۲۰٪-۴٪ چربی و مقدار کافی اسیدهای آمینه‌ی ضروری و اسیدهای چرب می‌باشد [Manaffar et al., 2001].

با نگاه به دو دهه‌ی گذشته می‌توان دریافت که آرتمیا در توسعه‌ی صنعت پرورش لاروهای رده‌ی سخت‌پوستان و ماهی اهمیت فراوانی یافته است. از آنجا که آرتمیا به شکل ناپلیوس[1] تازه تفریخ شده مورد استفاده واقع می‌شود، لذا برای افزایش مقدار ناپلیوس، به کمک روش‌هایی مانند غنی سازی با اسیدهای چرب و ویتامین‌ها اقدام به بهبود ارزش غذایی آنها می‌شود [Sorgeloos., 2001]. در اروپا، آرتمیا تا حد زیادی در حوزه‌ی دریای سیاه و مدیترانه محدود شده است. در آمریکا در نواحی مختلفی مثل دریاچه‌ی بزرگ نمک در یوتا و خلیج سانفرانسیسکو وجود دارد، حال آنکه در هند در نمک‌زارها و در روسیه در نواحی غربی سیبری پراکنده‌اند [Stappen, 2001]. در ایران، آرتمیا در دریاچه‌های مهارلو، بختگان و طشک استان فارس، اینچه و شورگل استان گلستان، نوق استان کرمان، قم، تالاب ورمال سیستان و بلوچستان، کال شور کرج،کال شور گناباد، کال شور لرستان، کال شور ماهشهر، ارومیه و نمک‌زارهای بیشتر مناطق کشور ادامه‌ی حیات می‌دهد.

زیستگاه اصلی آرتمیا در ایران دریاچه‌ی ارومیه است که با مساحتی در حدود۵۵۰۰ کیلومتر مربع یکی از بزرگترین زیستگاه‌های آرتمیا در جهان شناخته شده است. آرتمیا در سال ۱۹۰۰میلادی توسط Gunter در دریاچه‌ی ارومیه پیدا شد و در سال ۱۹۷۶ میلادی توسط Clark و Bowen به آرتمیا اورمیانا[2] معروف شد [Agh et al., 2001].

---

۱- لاور اولیه‌ی آرتیما.

2- *Artemia urmiana*

گونه‌های آرتمیا شامل اورمیانا، فرانسیسکانا، سالینا، تیبتیانا، مونیکا، سینیکا، پرسیملیس، پارتنوژنتیکا، ترکمنستانی و قزاقستانی می‌باشد. البته در ایران، آرتمیا اورمیانا در دریاچه‌ی ارومیه، فرانسیسکانا در دریاچه‌های مهارلو و نوق، سینیکا و ترکمنستانی در شمال و شمال شرق و پارتنوژنتیکا در اکثر نقاط کشور وجود دارد.

جهت حفاظت و نگهداری جمعیت‌های مختلف آرتمیا و ایجاد ذخایر زیستی، تشکیل بانک ژن روش مطمئنی برای حفاظت از گونه‌ها و جمعیت‌های با ارزش است. امروزه جهت برآورد تنوع ژنتیکی و تعیین فواصل ژنتیکی بین جمعیت‌ها از تکنیک‌های پیشرفته‌ی مولکولی در سطوح DNA استفاده می‌شود [Beigi Nasiri et al., 2007]. روش‌های مولکولی که قادر به تشخیص تفاوت‌های ژنتیکی در سطح مولکول DNA هستند، ابزاری کارآمد برای دستیابی به تفاوت‌های ژنتیکی بین موجودات محسوب می‌شوند، لذا محققین زیادی در دنیا از روش‌های مولکولی مبتنی بر تجزیه و تحلیل اطلاعات DNA برای اهداف مختلف استفاده می‌کنند [Falconer & Mackay., 1996]. اگرچه به طور کلی تمامی انواع نشانگر-های مولکولی برای مطالعات مربوط به تنوع قابل استفاده هستند، ولی ۹۰٪ از این مطالعات توسط ریزماهواره‌ها صورت گرفته است [Baumung et al., 2004].

سازمان غذا و کشاورزی جامعه‌ی بین المللی ژنتیک حیوانی[1] نیز ریزماهواره‌ها را برای مطالعات تنوع ژنتیکی ایده‌آل معرفی نموده است [Spencer & Woolnough., 2010]. این نشانگرها به علت استفاده‌ی آسان درPCR معمولی، شناسایی و تعیین تعداد و اندازه‌ی آلل‌ها از طریق ژل‌های واسرشته‌ساز در الکتروفورز و دارا بودن درجه‌ی آللی بالا به ازای هر جایگاه حائز اهمیت بسزائی هستند [Beigi Nasiri et al., 2007]. همچنین میزان چند شکلی بدست آمده از این نشانگرهای ژنتیکی، یکی از پارامترهای قابل ارزیابی در بررسی جمعیت‌ها و درک تفاوت‌های ژنتیکی بین آنها را تشکیل می‌دهد. لذا این نشانگرها ابزار مولکولی مناسبی برای تعیین انساب، تنوع ژنتیکی و تمایز محسوب می‌شوند [Nolte., 2003].

تحقیق حاضر به دنبال بررسی تنوع ژنتیکی آرتمیا اورمیانای موجود در دریاچه‌ی ارومیه و آرتمیا فرانسیسکانای موجود در دریاچه‌ی نوق، با استفاده از جایگاه‌های ریزماهواره‌ی مربوط به آرتمیا فرانسیسکانا و آرتمیا پارتنوژنتیکا می‌باشد. تعیین میزان تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های مربوط به این دو منطقه، امکان ارائه‌ی راهکارهای مورد نیاز جهت برنامه‌های مرتبط با احیاء و جلوگیری از انقراض این ذخایر ژنتیکی با ارزش در کشور را فراهم می‌کند.

1- FAO-ISAG

# فصل اول

# کلیات و مرور منابع

## ۱-۱- آرتمیا

### ۱-۱- ۱- معرفی آرتمیا

آرتمیا از ۵/۵ میلیون سال پیش در برخی از نقاط دریای مدیترانه زندگی می‌کرده است [Mona, 2010]. بومیان مناطق مختلف دنیا، آرتمیا را به نام‌های گوناگونی می‌شناختند [Asem, 2008]. این موجود برای اولین بار در سال ۱۷۵۵ میلادی در لمینگتون انگلستان توسط اسکلوسر[1] کشف شد [Abatzopoulos et al., 2006] و در سال ۱۷۵۸ میلادی، لینیوس[2] آن را تحت عنوان خرچنگ آب شور شناسایی و به عنوان *Artemia salina* نامگذاری کرد. در سال ۱۸۱۹ میلادی، لیچ[3] آرتمیا را تحت عنوان میگوی آب شور نامید [مرکز تحقیقات آرتمیای کشور].

گونه‌های آرتمیا در بخش‌هایی از جهان که از لحاظ شرایط محیطی مناسب نیستند، زندگی می‌کنند. آنها برای تحمل نمک بالا، تابش مقدار زیاد اشعه‌ی فرابنفش، پایین بودن غلظت اکسیژن و دمای نامناسب سازگار هستند. این ویژگی سبب می‌شود که مطالعه‌ی آرتمیا از جهت ارزیابی و پاسخ‌های اکولوژیکی در مقابل استرس مفید باشد [Clegg et al., 2000; Tanguay et al., 2004]. جمعیت‌های آرتمیا در ۶۰۰ دریاچه‌ی نمک طبیعی، آبهای دارای کلر، سولفور و کربنات و نمک‌زارهای مصنوعی سراسر نواحی حاره‌ای یا نیمه حاره‌ای و مناطق معتدل و در طول سواحل به خوبی پراکنده شده‌اند [Mona, 2010; Cristopher et al., 2004; Abatzopoulos et al., 2006].

محدوده‌ی تحمل دمایی آرتمیا $۶^{\circ}C - ۳۵^{\circ}C$ می‌باشد. البته در برخی از مناطق مثل ماکائوی برزیل گونه‌ی آرتمیای موجود تا دمای $۴۰^{\circ}C$ را نیز تحمل می‌کند [Persoone & Sorgeloos,1980]. این موجود به دلیل فعالیت بسیار مناسب پمپ $Na^{+}/K^{+}$ ATPase فعالیت اسمتیک را به‌خوبی انجام می‌دهد [Eimanifar & Mohebbi, 2007]، لذا قادر به تحمل مقادیر زیاد نمک است [Cristopher et al., 2004]. آرتمیا به خوبی قادر است در آبهای با شوری ۲۲۰ - ۴۵ گرم در لیتر زندگی کند. البته باید متذکر شد که اکثر فعالیت‌های فیزیولوژیکی و متابولیکی آرتمیا در شوری‌های بسیار پائین و بسیار بالا متوقف می‌شود [Eimanifar & Mohebbi, 2007].

1- Schlosser
2 - Linius
3 - Leach

آرتمیا به آسانی توسط شکارچیانی مثل حشرات، لارو ماهی، سخت پوستان و دیگر گونه‌های گوشتخوار حتی پرندگانی مثل پلیکان و فلامینگو شکار می‌شود [Jellison et al., 2008]. تنها دفاع مناسب در برابر شکارچی، سازگاری با محیط های دارای نمک بالاست که بیشتر شکارچیان را از بین می‌برد [Benedictal et al., 2009].

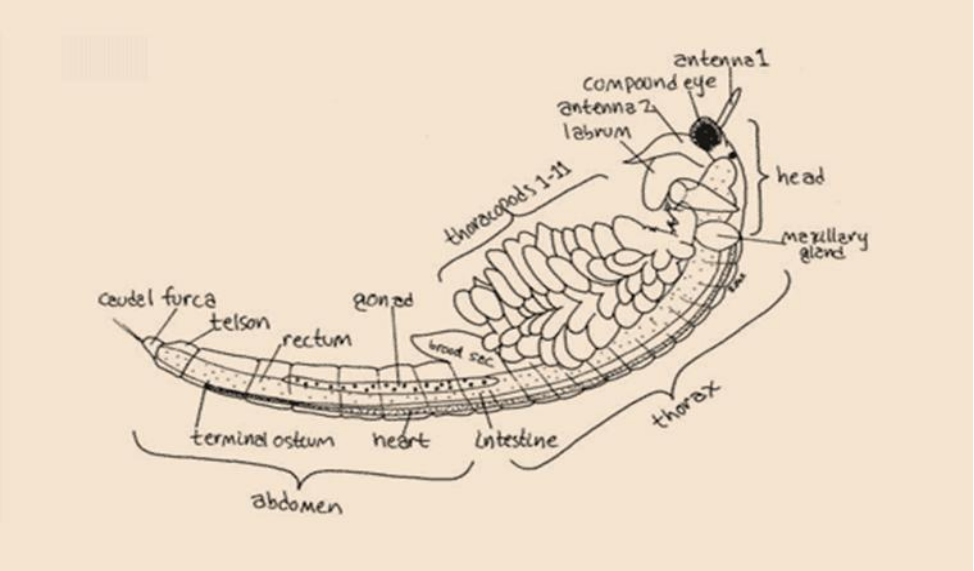
### ۱-۱-۱-۱- خصوصیات ظاهری

بدن آرتمیا از سه قسمت سر، سینه و شکم تشکیل شده است. در قسمت سر ضمایمی از جمله یک جفت شاخک‌های حسی کوچک[۱]، یک جفت چنگک یا شاخک‌های قلابدار بزرگ[۲]، یک جفت چشم مرکب[۳]، یک جفت آرواره[۴] و یک عدد لب بالا[۵] وجود دارد. شاخک‌های بزرگ در جنس نر، رشد بسیار زیادی کرده و به قلاب‌های عضلانی قوی تبدیل می‌شوند که صفت مشخصه‌ی جنس نر می‌باشد و در جفتگیری مورد استفاده قرار می‌گیرد. در جنس ماده این قلاب‌ها کوچک شده و به صورت یک جفت شاخک حسی تحلیل رفته باقی می‌مانند. در ناحیه‌ی سینه، یازده جفت پای سینه‌ای وجود دارد که ساختمان و نام آنها یکسان بوده و دارای وظایف بسیار مهمی هستند. پاهای سینه‌ای علاوه بر وظیفه‌ی حرکتی در تغذیه‌ی جانور نیز نقش دارند. اندام‌های تنظیم فشار اسمزی و آبشش‌ها نیز بر روی پاهای سینه‌ای واقع شده‌اند. در بخش میانی شکمی ناحیه‌ی سینه، شیار غذایی وجود دارد که با عمل مژکی باعث انتقال ذرات غذایی به طرف آرواره‌ها می‌گردد [مرکز تحقیقات آرتمیای کشور].

ناحیه‌ی شکمی آرتمیا، استوانه‌ای بوده و از هشت بند تشکیل یافته است. دو بند اول را به دلیل قرار گرفتن اندام‌های تولیدمثلی در آن، بندهای تولیدمثلی یا بندهای جنسی می‌گویند. در جنس نر اندام‌های تولیدمثلی شامل یک جفت بیضه، مجاری دفران و یک جفت آلت جفتگیری و در جنس ماده شامل یک جفت تخمدان، لوله‌های تخمک بر و رحم هستند. بیضه‌ها و تخمدان‌ها در درون شکم قرار دارند در حالی که آلت‌های جفتگیری جنس نر و رحم جنس ماده از سطح شکمی بندهای جنسی آویزانند. در انتهای ناحیه‌ی شکمی یک بند با

1- Antennula
2- Antenna
3- Compound eges
4- Mandibles
5- Labram

انتهای منشعب وجود دارد که تلسون[۱] نامیده می‌شود و دو انشعاب انتهایی آن فورکا [۲] نام دارند [مرکز تحقیقات آرتمیای کشور].




**شکل ۱- ۱ - تصویر آرتمیا**

### ۱-۱-۱-۲- رده‌بندی آرتمیا:

از نظر علم رده‌بندی آرتمیا به صورت ذیل تقسیم‌بندی می‌شود:

**جدول۱-۱- رده‌بندی علمی آرتمیا**

| | |
|---|---|
| شاخه | Arthropodo (بندپایان) |
| رده | Crustacea (سخت پوستان) |
| زیررده | Branchiopode (آبشش پایان) |
| راسته | Anostraca بی زرهیان یا بی پوششان |
| خانواده | Artemidea آرتمیده |
| جنس | Artemia آرتمیا |

1- Telson
2- Furca