



مقایسه ساختار ژنتیکی کپور دندان زاگرس (*Aphanius vladykovi*) در تالاب‌های گندمان و شلمزار در استان چهارمحال و بختیاری با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره

سیده آمنه حسینی^{۱*}، علی شعبانی^۱، حمیدرضا رضایی^۲

۱- دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گروه شیلات، گرگان، ایران

۲- دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گروه محیط زیست، گرگان، ایران

مسئول مکاتبات: Ahossaini.9571@gmail.com

تاریخ پذیرش: ۹۲/۲/۲۱

تاریخ دریافت: ۹۱/۹/۳

چکیده

کپور دندان زاگرس (*Aphanius vladykovi*) گونه‌ای کوچک و دارای ارزش بیولوژیکی است. این ماهی بومی ایران در استان چهارمحال و بختیاری بوده و در چشممه‌ها و تالاب‌های این استان زندگی می‌کند. در این پژوهش، جهت بررسی تنوع ژنتیکی این گونه، نمونه برداری از دو منطقه تالاب گندمان و شلمزار، ۲۳ عدد از هر منطقه، انجام شد. ۵ جفت آغازگر ریزماهواره جهت بررسی تنوع ژنتیکی مورد استفاده قرار گرفت که ۱۰۰٪ چندشکلی نشان دادند. میانگین هتروزیگوستیتی مشاهده شده برابر ۰/۹۶۵ و محسوبه شد که از میانگین هتروزیگوستیتی قابل انتظار ۰/۸۶۷ بیشتر است. میانگین جریان ژنی و ضریب درون آمیزی به ترتیب برابر ۲۳/۳۳ و ۰/۱۱ به دست آمد. نتایج حاصل از Fst (۰/۱۱) و Rst (۰/۱۴) تمایز ژنتیکی بسیار پائین و تنوع درون جمعیتی مناسبی را بین دو جمعیت نشان داد. آنالیز واریانس ملکولی ۱٪ تمایز بین جمعیت‌ها و ۹۹٪ تنوع درون جمعیتی نشان داد. فاصله ژنتیکی بین جمعیت‌ها ۰/۲۳۶ محسوبه شد. در بررسی تعادل هاردی - واینبرگ از میان ۱۰ تست جایگاه ژنی، در ۵ تست، پیروی از تعادل مشاهده شد.

کلمات کلیدی: تالاب گندمان، *Aphanius vladykovi*، ریزماهواره، هتروزیگوستیتی، تنوع ژنتیکی

مقدمه

شده است. سال‌های اخیر با کاهش شدید جمعیت‌های این ماهی مواجه شده‌ایم، در مطالعات جدید آزمایشگاهی و تجربی علت افزایش موارد انقراض، به کاهش تنوع ژنتیکی نسبت داده شده است. چندشکلی ژنوم، روشی است که امیدهای زیادی را ایجاد نموده و هر ساله تکنیک‌های جدیدی برای این منظور معرفی می‌شوند [۵]. یکی از مهم‌ترین مارکرهای ژنتیکی که برای توصیف ساختار ذخایر ماهیان به کار می‌رود، میکروستلایت‌ها (واحدهای تکراری ۴-۴ نوکلئوتیدی) هستند که تفاوت در تعداد واحدهای تکرار شونده‌ی آن‌ها باعث ایجاد تنوع می‌گردد [۷]. میکروستلایت‌ها به علت تنوع پذیری بالایی که دارند به عنوان نشانگرهای مولکولی توانمند، کاربردهای فراوانی در مباحثی چون تعیین تبار ماهیان [۱۱] ژنتیک جمعیت، حفظ منابع طبیعی و مدیریت منابع

کپور دندان‌ماهیان، آبزیان تزئینی زیبایی هستند که در تجارت ماهیان آکواریومی مورد استفاده‌اند، همچنین با خوردن تخم و لاور حشرات آبزی همچون پشه آنوفل که میزبان حد واسطی برای بیماری مalaria است، در مبارزه با بیماری مalaria از اهمیت بیولوژیکی فوق العاده‌ای برخوردار هستند. ماهی گورخری زاگرس (*Aphanius vladykovi*) گونه بومی کشور ایران بوده و زیستگاه آن چشممه‌ها، رودخانه‌ها و تالاب‌های استان چهارمحال و بختیاری می‌باشد، اغلب میل گوشتخواری دارد و از سخت پوستان ریزی که در محیط زیستشان یافت می‌شود تغذیه می‌کند [۱۶] (شکل ۲).

پیشینه‌ی تحقیقاتی بر روی این ماهی شامل مطالعات محدودی در زمینه‌ی ریخت‌شناسی [۳]، مورفو‌لوزی [۴]، بیولوژی [۱۶]، بیماری [۲۳] و کاربیولوژی [۱۲] آن انجام

تالاب به علت بهره برداری بیش از حد از منابع آبی و حاشیه تالاب، تأمین نشدن حق آبه آن از طریق سد چغاخور و خشکسالی، آسیب‌های زیست محیطی زیادی متحمل شده است که طبیعتاً روی جمعیت ماهی آفانیوس نیز بسیار تأثیرگذار است چرا که حتی تولید مثل آفانیوس وابسته به گیاهان آبزی است که با کاهش سطح آب و آلودگی، دچار نابودی می‌شوند. در این مطالعه به بررسی ساختار ژنتیکی جمعیت‌های آن در دو منطقه، تالاب گندمان و شلمزار پرداخته شده است.

مواد و روش کار

بررسی مناطق و نمونه برداری: نمونه برداری از ۲۳ عدد ماهی آفانیوس زاگرس در هر منطقه، تالاب گندمان در ۴ کیلومتری شهرستان گندمان با موقعیت جغرافیایی N^{۳۱°۰۴'۴۹"} E^{۵۱°۰۴'۲۷.۲۶"} و تالاب شلمزار که آن را دریاچه شلمزار می‌گویند، در نزدیکی شهرستان شلمزار با موقعیت جغرافیایی N^{۳۲°۰۱'۲۲.۶۹"} E^{۴۷.۰۴'۲۲.۷۲"} در پاییز سال ۱۳۹۰ صورت گرفت (شکل ۱). بالهی پشتی در اثانول مطلق فیکس شده و برای مطالعات ژنتیکی به آزمایشگاه بیوتکنولوژی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی گرگان منتقل گردید.

بیولوژیکی دارند [۲۸]. بررسی تنوع ژنتیکی چندین گونه از آبزیان با اهمیت و اقتصادی آب‌های دریای خزر مانند ماهی سفید، کلمه، اووزون برون، تاسماهی روسی، گامه‌ماهی خزری، کپور معمولی و همچنین دریای عمان و خلیج فارس مانند قباد، سوکلا و غیره طی سال‌های اخیر با مارکرهای میکروستلاتیت انجام شده است [۲]. نظر به کاهش سالانه جمعیت‌های این ماهی در استان چهارمحال و بختیاری و با توجه به ارزش بیولوژیکی و ژنتی Aphanius vladikovi بررسی تنوع ژنتیکی این موجود جهت درک میزان ذخایر و حفاظت از آن امری ضروری به شمار می‌آید چرا که تنوع ژنتیکی گونه‌ها یا جمعیت‌ها، نتیجه‌ی تاریخ تکاملی آن‌ها محسوب می‌شود و کاهش آن ممکن است پتانسیل سازگاری و بازنگری در شرایط محیطی متغیر را کاهش دهد [۱۴]. جوامع مورد بررسی تحت شرایط نامناسبی به سر می‌برند از آن جمله آلودگی و خشک شدن منابع آبی در سال‌های اخیر و حتی ابتلای شدید به بیماری ایک در هر دو زیستگاه مورد بررسی است. تالاب گندمان که با ارتفاع ۲۲۲۰ متر از سطح دریا به عنوان بلندترین تالاب بین‌المللی کشور، یکی از ۱۰ تالاب برتر در ایران بوده که در دفتر بین‌المللی تحقیقات پرندگان آبزی لندن به ثبت رسیده بود، این



شکل ۱- مناطق نمونه برداری آفانیوس در استان چهارمحال و بختیاری، تالاب گندمان و تالاب (دریاچه) شلمزار



استخراج DNA: استخراج DNA با استفاده از روش فنل-کلروفرم [۱۵] صورت گرفت. DNA استخراجی در ۱۰۰ میکرولیتر آب مقطر دو بار تقطیر حل شده و تا زمان انجام آزمایشات در فریزر -۲۰ - نگهداری شد. کمیت و کیفیت DNA استخراجی با الکتروفورز ژل آکاروز یک درصد تعیین شد.

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز: پنج جفت آغازگر میکروستلاپت شامل BA9، AC4، CmD1، BA9، GGM024 و BL2-114 [۱۰] و [۱۹] مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) برای هر یک از آغازگرهای انجام شد و دمای بهینه برای هر یک به دست آمد (جدول ۱). محصول واکنش زنجیره‌ای پلیمراز روی ژل پلی‌اکریل‌آمید ۰.۸٪ جداسازی شده و

درنهایت ژل‌ها به روش نیترات نقره رنگ‌آمیزی شدند [۲۴]. عکسبرداری از ژل‌ها توسط دستگاه مستندساز ژل (Gel Doc XR, BIO-RAD) انجام شد و از نرم‌افزار Gel-Pro Analyzer 6.0 استفاده گردید.

آنالیز آماری: آنالیزهای مربوط به ساختار ذخایر ژنتیکی شامل تعداد آلل مشاهده شده (Na)، تعداد آلل موثر (Ne)، هتروزیگوستی مشاهده شده (Ho) و مورد انتظار (He) و تست انحراف از تعادل هاردی - واینبرگ توسط نرم‌افزار GenAlex 6.3 [۲۱] محاسبه و با استفاده از ضریب بونفرونی تصحیح شد. مطالعه Fst و Rst نیز با استفاده از آزمون AMOVA در نرم‌افزار GenAlex 6.3 صورت گرفت.

جدول ۱- خصوصیات جایگاه‌های ژنی مورد استفاده در این بررسی

لوکوس	توالی آغازگر	دماهی اتصال	وزن	
BA9(F)	F:CACGCTCCTTGGGGAAAGCCTA R:GCCGTCTGCCTGTTGCCTTATC	۶۲	۲۵۰-۳۶۳	
CmD1(F)	F:AATGGATGGTGTGAATGGC R:GGATGGATAACAGAGCAGCAC	۵۵	۱۶۸-۲۲۵	
AC4(T)	F:CTGCTGCAGTCTGCAC R:TCACCTCCAAGGTTAGTCAT	۴۴	۱۳۴-۱۶۲	
BL2-114	F:ATCACTGCCATTATTATA R:CTGCTCCGCTCTGTTCCA	۵۰	۲۸۸-۳۸۰	
GGM024	F:TCCCTCTTTGGTCTCAGG R:TAGGTGAACAAATGGCATGG	۵۵	۱۴۰-۱۸۲	

نتایج

آلل مشاهده شده مربوط به جایگاه ژنی BA9(F) با ۲۱ آل در جمعیت گندمان و حداقل مربوط به جایگاه AC4 و GGM024 با ۷ آل در هر دو جمعیت دیده می‌شود. در مطالعه حاضر دامنه هتروزیگوستی مشاهده شده از ۰/۹۶۵ تا ۱، با میانگین ۰/۷۸۳ باشد. حداقل تعداد

از پنج جفت آغازگر ریزماهواره مورد بررسی در کپوردنдан زاگرس، هر پنج جفت پلی‌مورفی را نشان دادند که جزئیات محاسباتی در جدول ۲ آورده شده است. میانگین تعداد آلل مشاهده شده در تالاب گندمان و شلمزار به ترتیب ۱۲ و ۱۱/۸۰ محسوبه شد. حداقل تعداد



در ۵ تست، پیروی از تعادل مشاهده شد. شاخص درون آمیزی (F_{IS}) برابر -0.114 و میانگین جریان ژنی بر اساس آزمون AMOVA برابر $23/334$ به دست آمد. تمایز بین مناطق توسط شاخص F_{ST} و R_{ST} بر اساس آنالیز واریانس ملکولی (AMOVA) محاسبه گردید و مقدار F_{ST} برابر 0.010 و R_{ST} برابر 0.145 به دست آمد. همچنین آنالیز واریانس ملکولی طبق شکل ۳ تمایز بین جمعیت‌ها را بر اساس معیار $F_{ST} = 1\%$ و درون جمعیت‌ها را 99% نشان داد. این نمودار نشان می‌دهد که در بین این دو منطقه تمایز ساختار ژنتیکی بارزی وجود ندارد اما دارای تنوع درون جمعیتی بالایی هستند. بر اساس (Nei ۱۹۷۲) میزان شباهت و فاصله ژنتیکی بین مناطق نیز طبق جدول ۴ به ترتیب 0.790 و 0.236 به دست آمد.

Ho جایگاه AC4 در جمعیت تالاب گندمان و تالاب شلمزار به ترتیب برابر 0.957 و 0.783 در جایگاه BL2 در جمعیت تالاب شلمزار برابر 0.913 محاسبه شد و سایر مقادیر Ho برای دیگر جایگاه‌ها برابر ۱ بود. دامنه هتروزیگوستی مورد انتظار از 0.813 تا 0.941 با میانگین 0.867 به دست آمد که بیشترین مقدار مربوط به جایگاه ژنی BA9 در جمعیت گندمان و کمترین مقدار مربوط به جایگاه AC4 در جمعیت شلمزار محاسبه شد. نکته‌ی قابل توجه در این جمعیت‌ها نسبت جنسی نر ماده است، به گونه‌ای که نرها تقریباً 25% جمعیت و ماده‌ها 75% جمعیت را تشکیل می‌دهند. بررسی تعادل هاردی-وانینگ برای تمام جایگاه‌های ژنی انجام شد. همانطور که در جدول ۲ نشان داده شده است، پس از اعمال ضریب تصحیح بونفرونی، از میان 10 تست جایگاه ژنی،



شکل ۲- کپور دندان زاگرس (*Aphanius avladykovi*): الف) جنس نر، ب) جنس ماده.



جدول ۲- تنوع ژنتیکی ۵ جایگاه ژنی مورد مطالعه در جمعیت‌های کپوردنдан زاگرس

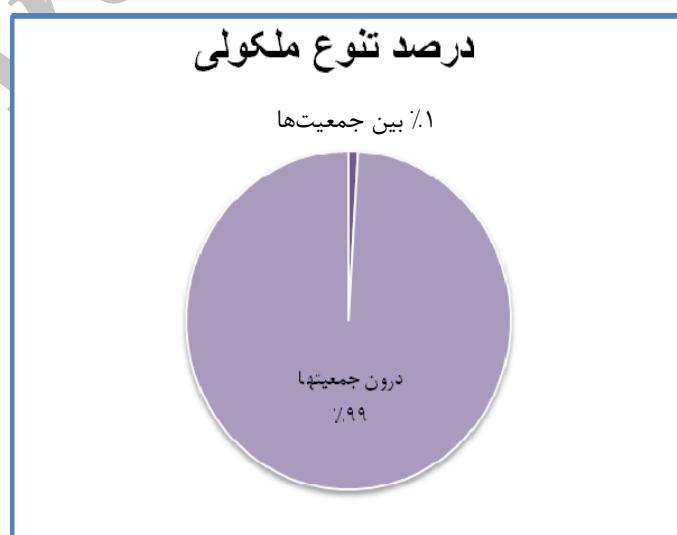
GGM024	AC4(T)	BA9(F)	CmD1(F)	BL2-114	
۷	۷	۲۱	۸	۱۷	Na
۵/۷۵۰	۵/۵۶۸	۱۷/۰۶۵	۵/۶۲۸	۱۲/۰۲۳	Ne
۱	۰/۹۵۷	۱	۱	۱	Ho
۰/۸۲۶	۰/۸۲۰	۰/۹۴۱	۰/۸۲۲	۰/۹۱۷	He
-۰/۲۱۱	-۰/۱۶۶	-۰/۰۶۲	-۰/۲۱۶	-۰/۰۹۱	Fis
ns	*	ns	**	ns	pHw
۷	۷	۱۵	۱۴	۱۶	Na
۵/۶۸۸	۵/۳۴۳	۱۰/۵۸۰	۱۰/۰۷۶	۱۰/۳۷۳	Ne
۱	۰/۷۸۳	۱	۱	۰/۹۱۳	Ho
۰/۸۲۴	۰/۸۱۳	۰/۹۰۵	۰/۹۰۱	۰/۹۰۴	He
-۰/۲۱۳	۰/۰۳۷	-۰/۱۰۴	-۰/۱۱۰	-۰/۰۱۰	Fis
***	ns	***	***	ns	pHw

Na: تعداد آلل، Ne: تعداد آلل مؤثر، Ho: هتروزیگوستی مشاهده شده، He: هتروزیگوستی مورد انتظار، Fis: ضریب درون آمیزی، تست احتمال

هاردی - واینبرگ بعد از ضریب تصحیح یونفروونی (ns: عدم معنی داری، * P≤۰/۰۵، ** P≤۰/۰۱، *** P≤۰/۰۰۱)

جدول ۳- میزان جریان ژنی (Nm) و تمایز (Fst) در جایگاه‌های ژنی مورد بررسی

میانگین	GGM024	AC4(T)	BA9(F)	CmD1(F)	BL2-114	لوکوس
۲۳/۳۳۴	۱۱/۴۸۷	۵۰/۸۲۴	۲۷/۹۱۴	۷/۹۲۵	۱۸/۵۱۹	Nm
۰/۰۱۶	۰/۰۲۱	۰/۰۰۵	۰/۰۰۹	۰/۰۳۱	۰/۰۱۳	Fst



شکل ۳- چگونگی توزیع تنوع ژنتیکی مشاهده شده تحت معیار Fst



جدول ۴- ماتریس فاصله و شباهت ژنتیکی (عدد بالای قطر مربوط به فاصله ژنتیکی و زیر قطر مربوط به شباهت ژنتیکی است)

منطقه	تالاب گندمان	تالاب شلمزار	تالاب گندمان	تالاب شلمزار
تالاب شلمزار		٠/٢٣٦		٠/٧٩٠

بحث

اهمیت دارد که هر هتروزیگوت ناقل آلل‌های متفاوتی است و این نشان دهنده وجود تنوع می‌باشد. به همین دلیل معمول‌ترین معیار تنوع ژنی در یک جمعیت میزان هتروزیگوستی است [۲۲].

در بررسی حاضر میانگین تعداد آلل مشاهده شده در جمعیت تالاب گندمان و شلمزار به ترتیب برابر ۱۲ و ۱۱/۸۰ به دست آمد، تعداد آلل و هتروزیگوستی می‌تواند تحت تأثیر تعداد نمونه و منطقه‌ی هدف نیز باشد [۹] در واقع یکی از مزایای میکروستلاتیت‌ها این است که اگر تعداد آلل‌ها در جایگاه‌های ریزماهواره‌ای بسیار زیاد باشد (هرچه جایگاه‌ها چند شکل تر باشند)، با تعداد نمونه کم نیز می‌توان تغییرپذیری ژنتیکی را بررسی نمود. در مجموع تفاوت معنی‌داری ($P < 0.05$) از نظر تعداد آلل و هتروزیگوستی بین مناطق مورد بررسی مشاهده نشد [۲۰].

بر اساس معیار Wright (۱۹۸۷) مقادیر F_{ST} بین ۰-۰/۰۵ نشان‌دهنده‌ی تمایز پایین میان نمونه‌های است و در جمعیت‌های مورد بررسی، معیار F_{ST} ، میزان ۰/۰۱ تمایز بین جمعیت‌ها نشان داد که بسیار اندک است، دلایل مشخصی برای آن یافت نشد اما یکی از دلایل اصلی می‌تواند کوچک بودن جمعیت باشد، در جوامع کوچک موجودات، به دلیل خطای نمونه‌برداری رانش سبب کاهش تنوع می‌گردد [۱ و ۲۷]. آلل‌ها به میزان متفاوتی از رانش ژنی و انتخاب طبیعی متأثر می‌شوند و این به اندازه جمعیت بستگی دارد. زمانی که جمعیت‌ها خیلی کوچک

حفظ تنوع زیستی هدف اصلی زیست شناسان تکاملی و حفاظت است [۱۴]. تنوع ژنتیکی، هم تنوع درون نژادی و هم تنوع بین نژادی را شامل می‌شود. تنوع درون نژادی پیوسته با ورود تنوع جدید ناشی از جهش مواجه است ولی تنوع ژنتیکی بین نژادی را نمی‌توان براحتی بازسازی نمود. هر نژاد یا سویه حاصل فرآیندهای جهش، رانش ژنتیکی، تکامل و سازگاری مجازی است که طی قرون متتمادی حاصل گردیده است. فشار انتخاب در طی این زمان تحت تأثیر آب و هوا، انگل‌ها و بیماری‌های بومی، تغذیه و معیارهای وضع شده از سوی انسان تغییر می‌کرده است. بنابراین می‌توان گفت هر نژاد مجموعه منحصر به فردی از ژن‌های است که مخزن ژنی آن نژاد را می‌سازند [۲۶]. در دهه گذشته نشانگرهای ریزماهواره بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند. علت اصلی کاربرد این نشانگر، قدرت آن در حل مشکلات بیولوژیکی و تجزیه و تحلیل-های جمعیتی و همچنین مطالعات اکولوژیکی می‌باشد. تنوع زیاد، قابلیت رتبه‌دهی آسان، همبارز بودن و پراکندگی یکنواخت در سراسر ژئوم از دلایل عمدۀ کاربرد وسیع این نشانگرها محسوب می‌شود.

بررسی هتروزیگوستی دارای اهمیت است چرا که هتروزیگوت‌ها ناقل آلل‌های متفاوتی هستند که نشان‌دهنده تنوع و سازگاری با شرایط متغیر محیطی است [۶ و ۸] میانگین هتروزیگوستی مشاهده شده ۰/۹۶۵ برآورد شد که نشان دهنده‌ی سطح بالایی از هتروزیگوستی در هر دو جمعیت بود. فراوانی هتروزیگوت‌ها از این جهت



از روش‌های معمولی که استفاده می‌شود این است که فرض می‌شود جمعیتی که در اندازه‌ی N_e کاهش داشته، کاهش در هتروزیگوستی و تعداد آلل در جایگاه‌های پلی‌مورفی دارد. هر چند که کاهش در تعداد آلل سریعتر از کاهش در هتروزیگوستی است بنابراین در تنگناهای ژنتیکی اخیر هتروزیگوستی مشاهده شده بیش از هتروزیگوستی مورد انتظار در تعادل است در حالی که تعداد آلل مشاهده شده کمتر از مقدار فرض شده برای اندازه‌ی پایدار جمعیت محاسبه می‌شود [۱۷].

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج حاصل از پژوهش حاضر، احتماً یک جمعیت از ماهی گورخری زاگرس در مناطق مورد بررسی وجود دارد، نتایج به دست آمده از این پژوهش ممکن است به سبب تعداد پرایمر، اختصاصی نبودن پرایمرها و یا رانش ژنتیکی در پی نمونه برداری، محدود باشد، بنابراین داده‌های ژنتیکی و آنالیزهای بیشتری برای تأیید وجود یا عدم وجود تفاوت‌های ژنتیکی بیشتر بین ذخایری که تفاوتی نشان نداده‌اند نیاز است. امید است که موفقیت در انجام تکثیر مصنوعی آفانیوس زاگرس و رسیدگی به زیستگاه‌های آن در دامنه‌ی زاگرس و احیای تلاab بین‌المللی گندمان که از جمله زیستگاه‌های اصلی آفانیوس است، به حفاظت از این گونه‌ی بومی و ارزشمند کمک کرده و آن را از خطر انقراض نجات دهد.

منابع

- ۱- امینی، ف. ۱۳۸۸. مبانی ژنتیک، اصلاح نژاد و بیوتکنولوژی ماهیان. انتشارات جهاد دانشگاهی تهران، تهران، ویرایش دوم، ۴۴۲ صفحه.
- ۲- حسینی، س. ا. و شعبانی، ع. ۱۳۹۱. روش‌های تعیین تنوع ژنتیکی آبزیان در سطح DNA با تأکید بر مارکر میکروستلاستیت. اولین همایش ملی شیلات و آبزیان ایران، بندرعباس.

هستند رانش غالب خواهد بود و ممکن است آلل‌های مطلوب را حذف و آلل‌های غیرمطلوب را حفظ کند. اثرات انتخابی ممکن است دیده نشوند، چون تغییرات کوچکی که در فراوانی آلل‌ها به وجود می‌آورند، توسط رانش تحت الشاعع قرار می‌گیرد.

رانش ژنتیکی، درون آمیزی و کاهش جریان ژنی می‌تواند تنوع ژنتیکی جمعیت‌های کوچک و مجزا را کاهش دهد. در واقع زیست‌شناسان حفاظت اهمیت زیادی نسبت به آگاهی از اندازه جمعیت قائلند زیرا جمعیت‌های کوچک می‌توانند با بی ثباتی محیط زیست، تغییرات جمعیتی اتفاقی، فقدان زیستگاه مناسب تولید مثل و فشار درون-آمیزی به طور جدی تحت تأثیر قرار گیرند [۱۴]. در جمعیت‌های آفانیوس نسبت جنسی نابرابر وجود داشته که سبب کاهش اندازه مؤثر جمعیت می‌شود و کاهش اندازه مؤثر متعاقباً سبب بروز تنگنای ژنتیکی خواهد شد [۱۵]. در بررسی تعادل هاردی- واینبرگ، ۵۰٪ جایگاه‌ها پیروی از تعادل و ۵۰٪ خروج از تعادل را نشان دادند. انحراف از تعادل در این جمعیت‌ها می‌تواند بر اساس کوچکی جمعیت، رانش ژنتیکی و احتماً آمیزش غیر تصادفی باشد البته احتمال دارد انتخاب طبیعی در این امر دخیل باشد که ممکن است به دلیل ابتلای شدید این ماهیان به بیماری ایک و در نتیجه انتخاب ماهیان مقاوم به بیماری توسط طبیعت باشد.

نکته قابل توجه در اینجا این است که با اینکه این جمعیت‌ها از نظر جغرافیایی کاملاً از هم جدا هستند اما جریان ژنی زیادی بین آن‌ها برآورده شده است که می‌تواند به دلیل شاهت فضای زیستگاه، محل‌های تخمیری و ویژگی‌های فیزیولوژیکی یکسان آب در دو منطقه باشد. از دیدگاه حفاظت، تشخیص تغییرات چشمگیر اخیر در اندازه‌ی جمعیت (تنگناهای جمعیت) یکی از جنبه‌های مهم هر برنامه نظارت بر جمعیت است [۱۳]، علائم تنگناهای گذشته‌ی جمعیت را می‌توان با استفاده از تجزیه و تحلیل ژنتیک ملکولی شناسایی کرد، به عنوان مثال یکی



- 12- Esmaeili, H.R., M. Ebrahimi, A. Teimori, H. Ansari (2009), first karyological analysis of an endemic fish, Zagros Tooth-carp, *Aphanius vladaykovi* Coad 1988 (Actinopterygii: Cyprinodontidae) from Iran. *Science and Technology*, 4: 33.
- 13- Frankham, R. (1995), Effective population size/ adult population size ratios in wildlife: *A Review of Genetical Research*, 66: 95-107
- 14- Frankham, R., J.D. Ballou, D.A. Briscoe (2004), *A primer of conservation genetics*, Cambridge University Press, pp: 236.
- 15- Hillis, D.M., B.K. Mable, A. Larson, S.K. Davis, E.A. Zimmer (1996), Nucleic Acids IV: sequencing and cloning. In: *Molecular Systematics* (eds. Hillis, D. M., Moritz, C. and Mable, B. K.) Sinauer Associates press, Sunderland, 321-384.
- 16- Keivany, Y., N.M. Soofiani, (2004), Contribution to the biology of Zagros tooth-carp, *Aphanius vladaykovi* (Cyprinodontidae) in central Iran. *Environmental Biology of Fishes*, 71: 165-169.
- 17- Luikart, G., J.M. Cornuet (1997), Empirical evaluation of a test for identifying recently bottlenecked populations from allele frequency data. *Conservation Biology*, 12: 228-237.
- 18- Machado-Schiaffino, G., E. Dopico, E. Garcia-Vazquez (2007), Genetic variation losses in Atlantic salmon stocks created for supportive breeding. *Aquaculture*, 264: 59-65.
- 19- Matura, R., S. Sharma, A. Barat, V. Pande, P.C. Mahanta (2012), Development and characterization of microsatellite markers in *Gara gutyla* (Family: Cyprinidae, Pisces). *Molecular Ecology Resources*, 12 (1): 185-189.
- 20- O'Reilly, P., J.M. Wright (1995), The evolving technology of DNA fingerprinting and its application to fisheries and aquaculture. *Fish Biology*, 47(Suppl. A): 29-55.
- ۳- کیوانی، ی. ۱۳۸۲. بررسی استخوانهای سطحی سر ماهی کپور دندان زاگرس. *مجله زیست‌شناسی ایران*, ۳۰-۲۵: (۳)
- ۴- مردانی کرانی، م. شیدایی، م. و پازوکی، ج. ۱۳۸۶. بررسی مورفو‌لوزیک و مریستیک جمعیت‌های محدود (Aphanius vladaykovi, Coad 1988) در استان چهارمحال و بختیاری. *مجله زیست‌شناسی ایران*, ۴۷-۴۵: (۴)
- ۵- هاشم‌زاده سقراوی، ا. ۱۳۸۴. اصول و روش‌های مطالعات ژنتیکی ماهیان. انتشارات نقش مهر ، تهران، ۴۴۸ صفحه.
- 6- Beardmore, J.A., G.C Mair, R.I. Lewis (1997), Biodiversity in aquatic systems in relation to aquaculture. *Aquaculture Resourse*, 28: 829- 839.
- 7- Beaumont, A.R., K. Hoare (2003), Biotechnology and Genetics in Fisheries and Aquaculture. University of Wales, Bangor, UK. Blackwell Science Ltd, p.p: 158.
- 8- Ciftci, Y., I. Okumus (2002), Fish Population Genetics and Applications of Molecular Markers to Fisheries and Aquaculture: I- Basic Principles of Fish Population Genetics. *Fisheries and Aquatic Science*, 2: 145-155.
- 9- Crooijmans, R.P.M.A., V.A.F. Bierbooms, J. Komen, J.J. Van Der Poel, M.A.M. Groenen (1997), Microsatellite markers in common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Animal genetics*, 28: 129-134.
- 10- Dubut, V., J. Martin, C. Costedoat, R. Chappaz, A. Gilles (2009), Isolation and characterization of polymorphic microsatellite loci in the freshwater fishes *Telestes souffia* and *Telestes muticellus* (Teleostei: Cyprinidae). Molecular Ecology Resources, 9 (3): 1001-1005.
- 11- E-Reith, M.R., T. Jackson, M. Robichaud (2004), Genetic improvement, avoiding genetic bottlenecks in bloodstock selection .*Global aquaculture advocate*: 57-58.



- Cloning, 2nd edn. Cold Spring Harbor, NY: CSH Laboratory Press, 743-745.
- 25- Strecker, U. (2006), Genetic differentiation and reproductive isolation in a *Cyprinodon* fish species Xock from Laguna Chichancanab, Mexico. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 39: 865–872.
- 26- Templeton, A.R. (2004), Statistical phylogeography: methods of evaluating and minimizing inference errors. *Molecular Ecology*, 13: 789–809.
- 27- Wright, S. (1978), Evolution and the genetics of populations: variability within and among natural population. Chicago; University of Chicago press. pp: 390.
- 28- Zane, L., L. Borgelloni, T. Patariollo, (2002), Strategies for microsatellite isolation. *Molecular Ecology*, 11: 1-16.
- 21- Peakall, R., P.E. Smouse (2006), Genalex 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*, 6: 288-295.
- 22- Plomion, C.H., J. Bousquet, C.H. Kole, (2011), Genetics, Genomics and breeding of Conifers. CRC press, *Science Publishers*, 449: 171-172.
- 23- Raissy, M., A. Namjoo, M. Ansari (2011), Histopathological changes in the Eyes of *Aphanius vladikovi* (Teleostei: Cyprinodontidae) Infect with *Ornithodiplostomum* sp. *Global Veterinaria*, 7(2): 175-178.
- 24- Sambrok, J., E.F. Fritsch, T. Maniatis (1989), Electrophoresis of RNA through gels containing formaldehyde: Molecular