Genetic differences between the native ornamental fish species *Aphanius dispar* (Rüppell, 1828) and *Aphanius ginaonis* (*Holly, 1929)* were investigated using mitochondrial DNA (mtDNA) control region analysis

Mohammadi M.[1]*; Ghasemi S.A.[1]

mmohammadi@mail.pgu.ac.ir

1-Department of Biotechnology, Persian Gulf Research Institute, Persian Gulf University, Bushehr, 75169, Iran

Abstract

In this study, we investigated the genetic diversity of two populations of ornamental fish, *Aphanius dispar* and *A. ginaonis*, from the Geno hot springs in Hormozgan and the Mirahmad hot springs and Ben-e Jaberi drainage in Bushehr Province, southern Iran. The haplotype frequencies of the mitochondrial control region were determined. The structure and organization of the control region in Aphanius were found to be similar to those of other teleost fish. The population structure of both ecologically significant species in Hormozgan and Bushehr Provinces was examined. The results revealed that A. dispar is effectively distinct from A. ginaonis. Based on phylogenetic analyses, AMOVA indicated that the variance was significantly ($P < 0.001$) distributed among groups (64.15%), among populations within groups (11.84%), and within populations (24.0%). The two A. dispar populations from the Ben-e Jaberi drainage and the Mirahmad hot springs were well-differentiated based on haplotype diversity. Regional patterns of differentiation had not been previously explored in this geographic context for Aphanius dispar.

Keywords: Mitochondrial control region, *Aphanius dispar*, *Aphanius ginaonis*, population genetics, Southern Iran.

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2026-01-29]

[DOI: 10.22034/12.1.15]

CC BY

مقاله علمی – پژوهشی:

تفاوت‌های ژنتیکی بین گونه‌ای ماهی‌های زینتی بومی *Aphanius dispar* (Rüppell, 1828) و *Aphanius ginaonis* (Holly, 1929) با استفاده از تحلیل ناحیه کنترل میتوکندریایی (mtDNA)

مهدی محمدی*[۱]، سید احمد قاسمی[۱]
mmohammadi@mail.pgu.ac.ir

۱-گروه بیوتکنولوژی، پژوهشکده خلیج فارس، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر، ۷۵۱۶۹، ایران

تاریخ دریافت: مهر ۱۴۰۳ تاریخ پذیرش: آذر ۱۴۰۳

چکیده

در این مطالعه، تنوع ژنتیکی دو جمعیت از ماهی‌های زینتی *Aphanius dispar* و *A. ginaonis* را در چشمه‌های آب گرم گنو در هرمزگان و آبگرم میراحمد و زهکش بنه جابری در استان بوشهر در جنوب ایران بررسی گردید. فراوانی هاپلوتایپ‌های ناحیه کنترل میتوکندریایی تعیین شد. ساختار و سازمان‌دهی ناحیه کنترل *Aphanius* مشابه سایر ماهیان استخوانی (teleost) است. ساختار جمعیتی هر دو گونه اکولوژیک مهم در استان‌های هرمزگان و بوشهر مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که *A. dispar* به طور مؤثر از *A. ginaonis* متمایز است. بر اساس تحلیل‌های فیلوژنتیک، AMOVA نشان داد که واریانس به طور معناداری (P<0.001) بین گروه‌ها (۶۴٪/۱۵)، بین جمعیت‌ها درون گروه‌ها (۱۱/۸۴٪) و درون جمعیت‌ها (۲۴/۰٪) تقسیم شده است. دو جمعیت *A. dispar* از زهکش بنه جابری و چشمه آب گرم میراحمد بر اساس تنوع هاپلوتایپی به‌خوبی تفکیک شدند. الگوهای منطقه‌ای تفاوت‌گذاری قبلاً در این زمینه جغرافیایی برای *Aphanius dispar* بررسی نشده بود.

کلمات کلیدی: ناحیه کنترل میتوکندریایی، *Aphanius dispar*، *Aphanius ginaonis*، ژنتیک جمعیت، جنوب ایران.

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2026-01-29]

[DOI: 10.22034/12.1.15]

مقدمه

خانواده Cyprinodontidae از ماهیان استخوانی[1] در میان مهره‌داران، گروهی است که به‌ویژه برای مطالعه فرآیندهای ریزتکاملی[2] مفید است(Jawad *et al.*, 2025) این فرآیندها الگوهای ساختار ژنتیکی و تغییرات جغرافیایی در جمعیت‌های طبیعی یا فرآیندهای گونه‌زایی که همراه با شرایط اکولوژیک مختلف هستند، شکل می‌دهند (Meyer, 1993). جنس *Aphanius* تنها جنس از خانواده Cyprinodontidae است که در ایران یافت می‌شود و با شش گونه نام‌گذاری شده، نمایندگی می‌شوداین گونه‌ها عبارتند از:

- *Aphanius ginaonis* (Holly, 1929)
- *Aphanius mento* (Heckel, 1843)
- *Aphanius dispar* (Rüppell, 1828)
- *Aphanius vladykovi* (Coad, 1988)
- *Aphanius sophiae* (Heckel, 1849)
- *Aphanius persicus* (Jenkins, 1910)
- *Aphanius isfahanensis* (Esmaeili et al., 2014)

در میان این گونه‌ها، *A. ginaonis* و *A. dispar* در جنوب ایران (استان‌های ساحلی) در حوضه‌های بسته[3] پراکنده شده‌اند. *A. ginaonis* یک گونه بوم‌زاد است که به چشمه آب گرم گنو در نزدیکی بندرعباس در تنگه هرمز محدود شده است. در مقابل، *A. dispar* یک ماهی شوری‌پذیر[4] (دارای توانایی زندگی در محدوده وسیعی از شوری آب) است که به‌ظاهر در تمامی زهکش‌های ساحلی، چشمه‌های آب گرم و آبهای لب‌شور خلیج فارس یافت می‌شود. *A. ginaonis* فاقد مراحل پراکنش لاروی است و توانایی مهاجرت بزرگسالان آن نیز محدود است (Zare *et al.*, 2015).

مطالعات بر ماهیان دندان‌دار[5] ایران عمدتاً بر اساس ویژگی‌های ریخت‌شناسی انجام شده است، اما ریخت‌شناسی این ماهیان محافظه‌کارانه است و شناسایی گونه‌ها تنها بر این اساس همیشه امکان‌پذیر نیست (Jawad et al., 2025). بنابراین، استفاده از روش‌های غیر ریخت‌شناسی (مطالعات ژنتیکی)، منبع داده‌های تکمیلی را برای شناسایی دقیق‌تر و صحیح‌تر ماهیان جنس *Aphanius* فراهم می‌کند. کاربرد مطالعات فیلوژنتیک مولکولی در سال‌های اخیر توجه قابل‌توجهی را به‌خود جلب کرده است (Maltagliati 1999; Gilles *et al.*, 2001; Kim et al., 2002)

نشانگرهای مولکولی به طور فزاینده‌ای برای تخمین شاخص‌های ژنتیکی جمعیت‌ها که مرتبط با زیست‌شناسی حفاظت هستند، به‌کار گرفته می‌شوند. ژنتیک جمعیت لزوماً با تغییرات ژنوتیپی سروکار دارد، اما به تعریف، تنها تغییرات فنوتیپی قابل مشاهده هستند. رابطه بین فنوتیپ و ژنوتیپ از لحاظ سادگی از صفتی به صفت دیگر متفاوت است. در یک انتها، فنوتیپ ممکن است توالی DNA مشاهده‌شده از یک بخش از ژنوم باشد. در میان نشانگرهای مولکولی، توالی DNA میتوکندریایی[6] به دلیل وراثت مادری و نرخ جهش بالا، در شناسایی ساختار جمعیتی مادری[7] مفید بوده است (Avise, 1994; Jones and Avise , 2001; Rogers, and Harpending, 1992)این ویژگی آن را به ابزاری مرتبط با مطالعات جمعیتی تبدیل کرده است. به دلیل ماهیت هاپلوئید مولکول mtDNA، این مولکول می‌تواند اندازه مؤثر جمعیت را به میزان یک‌چهارم DNA هسته‌ای تشخیص دهد و در نتیجه، به‌شدت تحت تأثیر نیروی رانش ژنتیکی[8] قرار می‌گیرد. همچنین mtDNA دارای توالی‌های منحصربه‌فرد (هاپلوتایپ) در جمعیت‌هاست که ممکن است به‌سرعت به انزوا[9] پاسخ دهد (Moritz, 1994).

ناحیه کنترل میتوکندری به دلیل نرخ تکاملی سریع‌تر در مقایسه با ژن‌های tRNA و ژن‌های کدکننده پروتئین در ژنوم میتوکندریایی، منحصربه‌فرد است (Sbisa *et al.*, 1997; Escoffier,2004). فراوانی هاپلوتایپ‌های ناحیه کنترل mtDNA به عنوان یکی از مفیدترین مناطق برای مطالعات جمعیتی در نظر گرفته شده است و احتمالاً شناخته‌شده‌ترین ژن میتوکندریایی از نظر ساختار و عملکرد محصول پروتئینی آن است (Parson *et al.*, 1998). این نشانگر ژنتیکی ثابت کرده است که سطوح مناسبی از تغییرات توالی را در ماهیان خانواده کپور دندان داران[10] نشان می‌دهد. تاکنون هیچ مطالعه‌ای که

1 - Teleostean
2- Micro-evolutionary
3 - Endorheic basins
4- Euryhaline
5 -Tooth-carps

6 - mitochondrial control region(mtDNA)
7 - matrilineal
8 - Genetic drift
9 - Isolation
10- Cyprinodontidae

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2026-01-29]
[DOI: 10.22034/12.1.15]

ساختار ژنتیکی و تغییرات *A. dispar* را در استان بوشهر و *A. ginaonis* در استان هرمزگان با استفاده از روش‌های مولکولی بررسی کرده باشد، انجام نشده است. بنابراین، اهداف پژوهش حاضر دستیابی به دو موضوع است:

۱. شناسایی تفاوت‌های گونه‌ای بین این دو گونه اکولوژیک مهم در استان‌های هرمزگان و بوشهر در جنوب ایران

۲. تعیین ساختار ژنتیکی جمعیت‌های دو ماهی نماینده از استان بوشهر با استفاده از داده‌های توالی ناحیه کنترل DNA میتوکندریایی و بررسی این‌که آیا جمعیت‌های بوشهر به طور مؤثر از یکدیگر متمایز هستند یا خیر

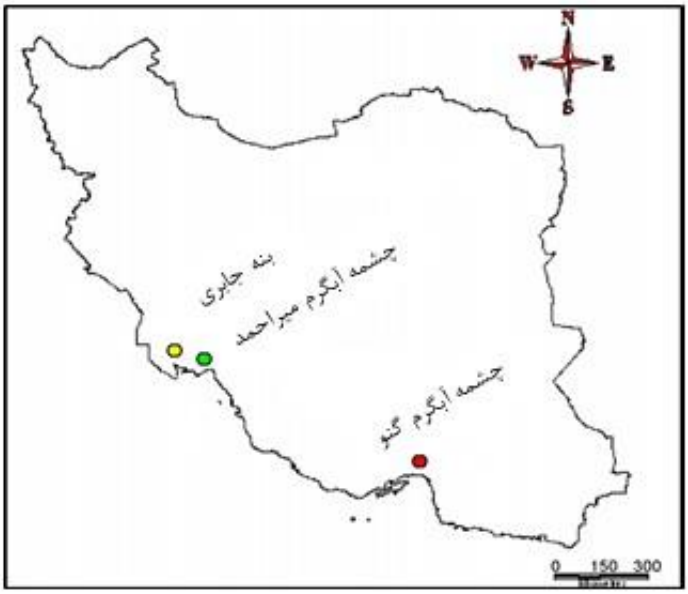
مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری

مکان‌های تقریبی نمونه‌برداری و موقعیت‌های جغرافیایی مرتبط در استان‌های بوشهر و هرمزگان قرار دارند. نمونه‌برداری از ماهی‌ها در سه مکان مختلف در بخش شمالی خلیج فارس انجام شد (جدول ۱). این مکان‌ها عبارتند از:

۱. چشمه آب گرم میراحمد (مختصات: °۲۷ ۸۰ شمالی؛ °۵۶ ۸۲ شرقی، ارتفاع: ۱۵۴ متر) در استان بوشهر
۲. زهکش بنه جابری (مختصات: °۲۷ ۸۳ شمالی؛ °۵۶ ۸۲۸۰ شرقی، ارتفاع: ۱۵۴ متر) در استان بوشهر
۳. چشمه آب گرم گنو در نزدیکی بندرعباس در تنگه هرمز (مختصات: ′۱۴°۲۷ شمالی و ′۴۶°۵۵ شرقی، ارتفاع: ۱۹۷ متر) در استان هرمزگان

در مجموع، ۲۵ نمونه از *A. dispar* (گونه‌های نر و ماده) و ۱۷ نمونه از *A. ginaonis* از استان‌های بوشهر و هرمزگان با استفاده از قلاب، تور پرتابی، تور دستی و روش‌های دستی جمع‌آوری شدند. تمام نمونه‌ها در الکل ۹۵٪ نگهداری شده و به آزمایشگاه بیوتکنولوژی برای تجزیه‌وتحلیل بیشتر انتقال داده شدند (شکل ۱).



شکل ۱ : مکان‌های نمونه‌برداری از ماهیان دندان‌دار در مناطق مختلف جنوب ایران

استخراج DNA ، تکثیر PCR

DNA کل از بافت ماهیچه‌ای و باله‌ها استخراج شد. هر نمونه هموژنیزه شده و در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد در بافر استخراج (سدیم EDTA 50 میلی‌مولار، Tris-HCl 100 میلی‌مولار با تنظیم pH به ۷/۵ با HCl-NaCl، SDS ۱۰٪ ۷۰۰ میلی‌مولار، β-مرکاپتواتانول ۱۴۰ میلی‌مولار و CATB (برماید ستیل‌تری‌متیل‌آمونیوم) ۱٪ و پروتئینازکا[1] ۰/۲۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) انکوبه شد. سپس DNA با استفاده از کلروفرم و رسوب‌دهی اتانول خالص‌سازی شد. DNA در بافر TE ۱۰ میلی‌مولار Tris، ۱۰ میلی‌مولار EDTA، (pH= ۸/۰) حل شد.

[1] - Proteinase K

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2026-01-29]
[DOI: 10.22034/12.1.15]

مقدار و کیفیت DNA با استفاده از رنگ‌آمیزی اتیدیوم بروماید تعیین شد.

انتهای ۵′ ناحیه کنترل میتوکندریایی نمونه‌های *Aphanius* با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) تکثیر شد. شرایط PCRشامل ۳۵ چرخه بود: ۱ دقیقه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۱ دقیقه در ۵۰ درجه سانتی‌گراد و ۱ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد. پرایمرهای مورد استفاده-5′) L ACTCTCACCCCTAGCTCCCAAAG-3′) وH (5′-CCTGAAGTAGGAACCAGATGCCAG-3′) بودند (Ostellari *et al*., 1996).

محصولات PCR بر ژل آگاروز ۱٪ همراه با نشانگرهای استاندارد اجرا شدند و باندهای به‌خوبی تکثیرشده برش داده شده و مطابق دستورالعمل سازنده (کیتQiaGen) خالص‌سازی شدند. محصولات PCR خالص‌سازی شده مستقیماً با استفاده از پرایمرهای تکثیر توالی‌یابی شدند. تمام توالی‌ها قبل از تحلیل به‌دقت بررسی شدند.

تحلیل داده‌های توالی

توالی‌های ناحیه کنترل میتوکندریایی Aphanius با استفاده از جستجویBLAST در بانک ژنی[1] و مقایسه با توالی‌های منتشره تأیید شدند. توالی‌ها با استفاده از نرم‌افزار ClustalW (Thompson *et al*., 1997) هم‌تراز شده و سپس به صورت دستی اصلاح شدند. فاصله‌های ناشی از هم‌ترازی به عنوان داده‌های مفقوده در نظر گرفته شدند. روابط فیلوژنتیک با استفاده از نرم‌افزار Mega4 (Tamura *et al*., 2007;) و روش نزدیکترین همجواری (NJ)[2] (Saitou and Nei, 1987; Nei, 1973; Nei &Tajima,1983; Tajima, 1989b) تخمین زده شدند. فاصله‌های ژنتیکی با استفاده از مدل تامورا (Tamura *et al*., 1997) اصلاح شدند که به طور خاص برای بازتولید تکامل ناحیه کنترل میتوکندریایی طراحی شده است. از گزینه Midpoint برای ریشه‌دهی درخت‌ها استفاده شد (به دلیل تفاوت زیاد توالی‌ها بین گونه‌ها، استفاده از گروه‌های خارجی درون‌گونه‌ای امکان‌پذیر نبود.).

نتایج

تفاوت‌ها بین هاپلوتایپ‌های mtDNA

توالی‌های ناحیه کنترل میتوکندریایی (mtCR) از ۱۸ نمونه تعیین شد. توالی‌های mtCR به طول تقریبی ۵۱۰ جفت باز (bp)به‌دست آمد. ترکیب پایه‌ای میانگین (٪) شامل: ۲۱/۹۳ سیتوزین (C) ، ۲۹/۲۱ تیمین (T) ، ۳۳/۶۷ آدنین (A) و ۱۵/۱۹ گوانین (G)، بود. بیشتر جایگزینی‌های باز، انتقالی[3] بودند و تعداد انتقالی‌ها و transversion به‌ترتیب ۲۳ و ۱۳ مشاهده شد. در مجموع، ۵۱۰ موقعیت نوکلئوتیدی (۸/۸٪) چندشکل[4] بودند و ۱۱ هاپلوتایپ را تعریف کردند (۴، ۱، ۶). تنوع نوکلئوتیدی میانگین (میانگین±خطای استاندارد) ۰/۰±۰۱۳۳۵۶/۰۲۲۵۴۷ و تنوع هاپلوتایپی میانگین ۱۱۳۸/۰±۰/۸۰۰۰ بود. در مجموع، ۱۱ هاپلوتایپ از ۱۸ نمونه شناسایی شدند (جدول ۱).

میانگین تعداد تفاوت‌های جفتی بیشترین مقدار را در جمعیت گنو (۵۰/۷۰± ۲۳/۰۹) و کمترین مقدار را در جمعیت بنه جابری (۷۹/۳±۷/۵۰) داشت. میانگین درصد(A+T)/(G+C) در جمعیت گنو بیشتر از سایر جمعیت‌ها بود. نسبت انتقالی به transversion در جمعیت گنو دارای کمترین مقدار بود، اما تعداد ترانس ورسیون‌های مشاهده شده در این جمعیت بیشترین بود (جدول ۱).

تنوع هاپلوتایپی دارای بیشترین مقدار در جمعیت گنو (۰/۹۰) بود درحالی‌که کمترین مقدار (۰/۰) در جمعیت بنه جابری مشاهده شد. تنوع نوکلئوتیدی نیز بیشترین مقدار (۰/۰۲۲) در جمعیت گنو و کمترین مقدار (۰/۰) در جمعیت بنه جابری بود (جدول ۲).

مقدار FST بین جمعیت‌ها در گنو بیشترین (۰/۷۱۸۹۶) و در بنه جابری کمترین (۰/۶۴۷۳۸) بود (جدول ۳).

تحلیل واریانس مولکولی (AMOVA)

تجزیه‌وتحلیل واریانس مولکولی (AMOVA) داده‌ها که به سه جمعیت تقسیم شده بودند، نشان داد که واریانس به طور معناداری (P<0.001) بین جمعیت‌ها (۱۱/۸۴٪) و درون جمعیت‌ها (۲۴/۰۱٪) تقسیم شده است (جدول ۴).

1- GenBank
2- Neighbor-Joining (NJ)
3- Transition
4- Polymorphic

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2026-01-29]
[DOI: 10.22034/12.1.15]

جدول ۱: ویژگی‌های پایه دو گونه *Aphanius*

جمعیت	میراحمد (*A. dispar*)	بنه جابری (*A. dispar*)	گنو (*A. ginaonis*)	میانگین	انحراف معیار (s.d.)	مقدار P
تعداد نسخه‌های ژنی	۶	۵	۷	۶/۰۰	۱/۰۰	
تعداد لوکوس‌ها	۵۱۱	۵۱۱	۵۱۱	۵۱۱	۰/۰۰	
تعداد لوکوس‌های قابل استفاده	۵۱۰	۵۰۸	۵۰۹	۵۰۹	۱/۰۰	
تعداد لوکوس‌های چندشکلی	۴	۰	۳۳	۱۲/۳۳۳	۱۲/۰۰۹	P<0.001

جدول ۲: تنوع نوکلئوتیدی و هاپلوتایپی در دو گونه *Aphanius*

موقعیت	تنوع نوکلئوتیدی	تنوع هاپلوتایپی
میراحمد	۰/۶۷۹۰± ۰/۴۶۵۰	۰/۸۰۰۰ ± ۰/۱۱۳۸
بنه جابری	۰/۰۰۰ ± ۰۰/۰۰۰۰	۰/۰۰۰۰ ± ۰/۰۰۰۰
گنو	۰/۰۲۲۵۴ ± ۰/۰۱۳۳۵	۰.۰۷۶۴ ± ۰.۹۰۰۰

جدول ۳: مقادیر FST بین جمعیت‌ها در دو گونه *Aphanius*

موقعیت	میراحمد	بنه جابری	گنو
میراحمد	۰		
بنه جابری	۰/۶۴۷۳۸	۰	
گنو	۰/۶۹۸۸۹	۰/۷۱۸۹۶	۰

جدول ۴: شاخص‌های تثبیت مربوط به ۳ گروه جمعیتی استنباط‌شده به‌وسیله الگوریتم‌های AMOVA برای ۳ جمعیت *Aphanius* که برای توالی‌های ناحیه کنترل میتوکندریایی آزمایش شدند (p<0.001*) .

منبع تغییرات	درجه آزادی(d.f.)	مجموع مربعات	اجزاء واریانس	درصد تغییرات
بین گروه‌ها (گونه‌ها)	۱	۷۷/۶۸۸	۷/۶۷۸۳۴ Va	۶۴/۱۵
بین جمعیت‌ها درون گروه‌ها	۱	۱۰/۶۰۶	۱۱/۴۱۷۷۲ Vb	۱۱/۸۴
درون جمعیت‌ها	۱۵	۴۳/۰۹۵	۲/۸۷۳۰۲ Vc	۲۴/۰۰
کل	**۱۷**	**۱۳۱/۳۸۹**	**۱۱/۹۶۹۰۸**	–

با ادغام جمعیت‌ها در گروه‌ها بر اساس تحلیل‌های فیلوژنتیک، AMOVA نشان داد که واریانس به طور معناداری (P<0.001) بین گروه‌ها (۶۴/۱۵٪)، بین جمعیت‌ها درون گروه‌ها (۱۱/۸۴٪) و درون جمعیت‌ها (۲۴/۰٪) تقسیم شده است (داده‌ها نشان داده نشده‌اند). آزمون مانتل همبستگی مثبتی بین مقادیر FST جفتی بین گونه‌های *Aphanius* با مقادیر P مربوط به FST نشان داد (Weir, & Cockerham 1984) . طراحی و نتایج :AMOVA (جداول ۵ و ۶). ترکیب برای دو گونه و آزمون‌های معناداری (۱۰۲۳ جایگشت).

جدول ۵: تحلیل واریانس مولکولی جمعیت‌های *Aphanius* شامل *A. dispar* و *A. ginaonis*

آزمون‌های معناداری	FSC	FST	FCT
میراحمد، بنه جابری و گنو	۳۳/۴۱	۰/۷۵۹۹۶	۰/۶۴۱۵۱
مقدارP	۰/۰۰۹۸	۰/۰۰۰۰	۰/۳۲۵۵۱

جدول۶: تحلیل واریانس مولکولی جمعیت‌های *Aphanius* شامل *A. dispar* و *A. ginaonis*

موقعیت	چشمه ابگرم میراحمد	زهکش بنه جابری	چشمه آبگرم گنو
میراحمد		P<0.01	P<0.001
بنه جابری	۰/۰۰۰۰ ± ۰/۰۰۰۹		P<0.001
گنو	۰/۰۰۰۰ ± ۰/۰۰۰۰	۰/۰۰۰۰ ± ۰/۰۰۰۰	

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2026-01-29]

[DOI: 10.22034/12.1.15]

بحث و نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر نشان داد که ناحیه کنترل میتوکندریایی ممکن است برای روشن‌سازی سیستماتیک جنس *Aphanius* بسیار مفید باشد. این مطالعه‌ای است که ساختار ژنتیکی جمعیت‌های *Aphanius dispar* و *A. ginaonis* را تعیین می‌کند. توالی نوکلئوتیدی انتهای ۵′ ناحیه کنترل میتوکندریایی به طور میانگین در ۶ فرد از هر جمعیت از استان‌های بوشهر و هرمزگان تعیین شد.

انعطاف‌پذیری فنوتیپی[1] متوسط و شباهت کم بین دو گونه، شناسایی گونه‌ها را ساده کرد. تحلیل خوشه‌ای نمونه‌ها، تفاوت ژنتیکی واضحی را بین نمونه‌های *A. dispar* و *A. ginaonis* نشان داد که به طور مستقل به دو کلاد تعلق داشتند و این تفاوت با مقادیر بالای Bootstrap (چارچوب طراحی وب)، به‌خوبی تأیید شد (Esmaeili *et al*., 2014). در مطالعه نهاوندی و همکاران (۱۴۰۰) این گونه ها در نواحی مختلف استان فارس (*A.vladykovi*) و کشور ترکیه از لحاظ ژنتیکی به هم نزدیک بودند و یک کلاید را با دو خوشه خواهری در کنار گونه‌های متعلق به عرض‌های شمالی‌تر از کشور ترکیه (*Aphanius anatoliae*، *Aphanius sureyanus*، *Aphanius maeandricus* و *Aphanius iconii*)، تشکیل می‌دهند.

نتایج مشابهی در مطالعه Coad (۱۹۸۰) در مقایسه ریخت‌شناسی نر و ماده *A. dispar* و *A. ginaonis* پیشنهاد شد. وی دریافت که *A. ginaonis* دارای بسیاری از ویژگی‌های مریستیک، مورفومتریک و سایر ویژگی‌ها است که آن را از *A. dispar* جدا می‌کند. علاوه‌براین، این گونه در یک محیط منحصربه‌فرد و ایزوله (چشمه آب گرم)، زندگی می‌کند. این عوامل به عنوان دلایل کافی برای تأیید مجدد *A. ginaonis* به عنوان گونه‌ای متمایز از *A. dispar* در نظر گرفته می‌شوند.

درجه تفاوت درون‌گونه‌ای مشاهده شده بین تبارهای *A. ginaonis* به طور غیرمعمولی برای گونه‌های ماهی (McCune and Lovejoy, 1998) و به طور کلی برای گروه‌های مهره‌داران (Avise and Walker, 2000) بالا است. با وجود این تفاوت ژنتیکی بالا، یک الگوی جغرافیایی قابل تشخیص است همان‌طوری‌که به‌وضوح در تحلیل خوشه‌ای هاپلوتایپ‌ها نشان داده شده است. تکنیک AMOVA (جدول ۳) که امکان شناسایی گروه‌های جغرافیایی همگن و بسیار متمایز از نمونه‌ها را فراهم می‌کند، ۳ گروه و ۱ نمونه پرت با حذف را در بین ۱۸ نمونه شناسایی کرد. بین جمعیت‌های *Aphanius dispar* در زهکش‌های بنه جابری و میراحمد (چاله چشمه آب گرم)، هیچ تبادل فردی مشاهده نشد و اشتراک هاپلوتایپ بین آنها و درون کلادها دیده نشد. بنابراین، تک‌تبار بودن [2] گروه‌ها به‌خوبی تأیید می‌شود (شکل ۲).

توالی‌های ناحیه کنترل میتوکندریایی *A. dispar* سطح مناسبی از چندشکلی را برای سؤال مورد نظر نشان دادند و سطح تنوع هاپلوتایپی مشابه با آنچه در چشمه آب گرم میراحمد یافت شد (کمتر از آن‌چه در بنه جابری یافت شد)، آشکار کردند. این فرضیه را Maltagliati (۱۹۹۹) به طور قوی در مورد *Aphanius fasciatus* در تالاب‌های مدیترانه تأیید نمود جایی‌که جمعیت مارسالا از نظر ژنتیکی بیشتر شبیه به جمعیت‌های تونس بود. خوشه‌بندی هاپلوتایپ‌های میراحمد با توالی‌های میتوکندریایی بنه جابری نیز این فرضیه را تأیید کرد (شکل ۲). ساختار متفاوت جمعیت‌های این دو گونه نزدیک به‌هم نیز با مقایسه‌های جفتی ΦST و آزمون‌های AMOVA تأیید شد. هیچ هاپلوتایپ مشترکی بین افراد میراحمد و بنه جابری یافت نشد و مقدار بالای Bootstrap که جدایی بین هاپلوتایپ‌های بنه جابری و میرحمد را تأیید می‌کند، ممکن است این فرضیه را تقویت کند (جدول ۳).

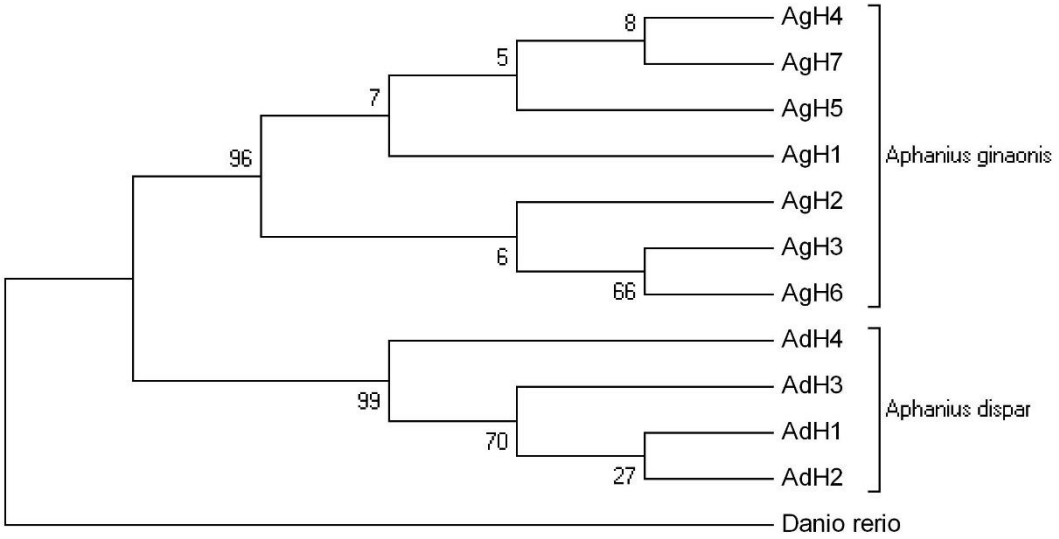
آزمون‌های AMOVA سطح معناداری از ساختار ژنتیکی بین جمعیت‌های *A. dispar* و *A. ginaonis* را نشان دادند. نتایج مشابه Maltagliati (۱۹۹۹) در مورد *Aphanius fasciatus* مشاهده شد جایی‌که جمعیت ایتالیا بیشتر شبیه به جمعیت‌های تونس بود تا جمعیت‌های ایتالیایی. *Aphanius ginaonis* هیچ توانایی پراکنشی ندارد (Zare Shahraki *et al*., 2024). به دلیل جریان ژنی محدود، *Aphanius ginaonis* موجودی ایده‌آل برای بررسی نقش رانش ژنتیکی و سازگاری محلی در شکل‌دهی ساختار جمعیتی است که به‌وسیله تغییرات اکولوژیک بزرگ و توزیع ناپیوسته این گونه در بخش شمالی خلیج فارس فراهم شده است.

[1] Phenotypic plasticity (به برخی از تغییرها در رفتار، ریخت‌شناسی و فیزیولوژی یک موجود زنده در پاسخ به یک محیط منحصربه‌فرد اشاره دارد.)

[2] Monophyletic

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2026-01-29]

[DOI: 10.22034/12.1.15]



شکل ۲: درخت Neighbour-joining بر اساس هاپلوتایپ‌های ناحیه کنترل یافت‌شده در *A. dispar* از جمعیت‌های بوشهر (AdH2، AdH3، AdH1، AdH4) و *A. ginaonis* از هرمزگان (AgH4، AgH7، AgH5، AgH1، AgH2، AgH3 و AgH6). همان‌طوری‌که در مطالعه اسماعیلی و همکاران (۲۰۱۴) در مطالعه کاریولوژیک ۵ گونه از ماهیان دندان‌دار ایران اشاره شد، فرمول تفاوت کاریوتیپی بین *A. dispar* و *A. ginaonis* (St۳۲Sm + ۱۶) در *A. dispar* و *A.ginaonis* (St۳۴Sm+۱۴) دریافت شد که تفاوت گونه‌ای با استفاده از ناحیه کنترل mtDNA در این مطالعه را تأیید می‌کند.

در این مورد، تمایز بین ژنوتیپ (مطالعه حاضر) و فنوتیپ (جدول ۱) وجود دارد (Coad, 1980) و می‌توان گفت که این گونه‌ها با استفاده از توالی‌یابی ناحیه کنترل از یکدیگر جدا شده‌اند. مطالعه حاضر، یک تحلیل ژنتیکی جامع در مورد جمعیت‌های *Aphanius* (*A. dispar* و *A. ginaonis*) ارائه می‌دهد و مطالعه‌ای است که ساختار ژنتیکی جمعیت‌های *Aphanius* را تعیین می‌کند. بر این اساس، استفاده از این نشانگر برای این هدف توصیه می‌گردد.

تشکر و قدردانی

نگارندگان از آقای مهندس علی فخری و خانم مهندس سکینه آویژگان برای کمک در مراحل مختلف این پروژه، تشکر و قدردانی می‌نمایند.

منابع

نهاوندی، ر.، تمدنی جهرمی، س.، بیاتی، ف.، پورمظفر، س. و گذری، م.،۱۴۰۰. شناسایی مولکولی ماهیان زینتی بومی آفانیوس زاگرس(*Aphanius vladykovi*) و آفانیوس گنو(*Aphanius ginaonis*) بااستفاده از ژن سیتوکرم اکسیداز در ایران فصنامه علمی محیطزیست جانوری، سال ۱۳، شماره ۲ ،تابستان۱۴۰۰

Avise, J.C., 1994. Molecular markers, natural history and evolution. Chapman and Hall, New York

Avise, J.C. and Walker, D., 2000. Abandon all species concepts? *A response Conservation Genetics*, 1:77-80.

Coad, Brian W., 1980. A re-description of *Aphanius ginaonis* (Holly, 1929) from southern Iran (Osteichthyes: Cyprinodontiformes). *Journal of Natural History*,14:1, 33 – 40.

Coad, Brian W., 1998. Systematic biodiversity in the freshwater fishes of Iran. Italian. *Journal of Zoology*, 65(A):101–108

Escoffier, L., 2004. Patterns of DNA sequence diversity and genetic structure after a range expansion: lessons from the infinite-island model. *Molecular Ecology*, 13:853–864

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2026-01-29]

[DOI: 10.22034/12.1.15]

Esmaeili, H. R., Teimori, A., Sayyadzadeh, G., Masoudi, M. and Reichenbacher, B. 2014. Phylogenetic relationships of the tooth-carp Aphanius (Teleostei: Cyprinodontidae) in the river systems of southern and south-western Iran based on mtDNA sequences. *Zoology in the Middle East*, *60*(1), 29-38.

Gilles, A., Lecointre, G., Miquelis, A., Loerstcher, M., Chappaz, R. and Brun, G., 2001. Partial combination applied to phylogeny of European cyprinids using the mitochondrial control region. *Molecular Phylogenetic Evolution*, 19: 22–33.

Jawad, L. A., Sayyadzadeh, G., & Esmaeili, H. R. 2025. Identification of loach fishes from Iran (Cypriniformes: Cobitoidea) using some osteological characters. *Acta Zoologica*.

Jones, A.G. and Avise, J.C., 2001. Mating systems and sexual selection in male-pregnant pipe¢shes and seahorses: insights from microsatellite-based studies of maternity. *Journal of Heredity*, 92,150-158.

Kim, K.I., Lee, J.H., Li K., Zhang, P.Y., Lee, S.S., Gongora, J. and Moran C., 2002. Phylogenetic relationships of Asian and European pig breeds determined by mitochondrial DNA D-loop sequence polymorphism. *Animal Genetics*, 33:19-25.

Maltagliati, F., 1999. Genetic divergence in natural populations of the Mediterranean brackish-water killifish Aphanius fasciatus. *Marine Ecology Progress Series*, 179:155–162

McCune, A.R. and Lovejoy, N.R., 1998. The relative rate of sympatric and allopatric speciation in fishes. Pp. 172–185 in D. J. Howard and S. H. Berlocher, eds. Endless forms: species and speciation. Oxford Univ. Press, New York.

Meyer, A., 1993. Phylogenetic relationships and evolutionary processes in East African cichlid fishes. *Trend to Ecology Evolution*, 8:279-284.

Moritz, C., 1994. Application of mitochondrial DNA analysis in conservation: a critical review. *Mollecular Ecology*, 3:401–411.

Nei, M., 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA 70: 3321-3323.

Nei, M., 1987. Molecular Evolutionary Genetics. New York, N.Y.: Columbia Univ. Press.

Nei, M. and Tajima, F., 1983. Maximum likelihood estimation of the number of nucleotide substitutions from restriction-site data. *Genetics*, 105:207–217.

Ostellari, L., Bargelloni, L., Penzo, E., Patarnello, P. and Patarnello, T., 1996. Optimization of single-strand confromation polymorphism and equence analysis of the mitochondrial control region in *Pagellus bogaraveo* (Sparidae, Teleostei): rationalized tools in fish population biology. *Animal Genetics*, 27, 423-427.

Parson, W., Parsons, T.J., Scheithauer, R. and Holland, M.M., 1998. Population data for 101 Austrian Caucasian mitochondrial DNA D-loop sequences: application of mtDNA sequence analysis to a forensic case. *International Journal Legal Medicine*, 111:124–32.

Rogers, A.R. and Harpending, H., 1992. Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences. *Molecular Biology and Evolution*, 9, 552–569.

Saitou, N. and Nei, M., 1987. The neighbor joining method: a new method for econstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*. 4:406–425.

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2026-01-29]

[DOI: 10.22034/12.1.15]

Sbisa, E., Tanzariello, F., Reyes, F., Pesole, G. and Saccone, C., 1997. Mammlian mitochondrial D-loop region structural analysis: identification of new conserved sequences and the functional and evolutionary implications. *Gene*, 205, 125– 140.

Tajima, F., 1989b. The eVect of change in population size on DNA polymorphism. Genetics 123, 597–601.

Tamura, K., Dudley, J., Nei, M. and Kumar, S., 2007. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *Molecular Biology and Evolution*, 24:1596-1599.

Thompson, J.D., Gibson, T.J., Plewniak, F., Jeanmougin, F. and Higgins, D.G., 1997. The CLUSTAL_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research*, 25, 4876–4882.

Weir, B.S. and Cockerham, C.C., 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, 38:1358–1370.

Zare Shahraki, M., Fathi, P., Ebrahimi Dorche, E., Flotemersch, J., Blocksom, K., Stribling, J., & Bruder, A. 2024. Environmental impact assessment and conservation planning of a Middle-Eastern River basin using a fish-based tolerance index. River research and applications, 40(3), 411-424.

Zare, P., Naderi, M. and Asghari, S., 2015. Reproductive biology of the Geno hot spring tooth-carp (*Aphanius ginaonis* Holly, 1929) in southern Iran. *Environmental Biology of Fishes*, 98, 1365-1371.

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2026-01-29]

[DOI: 10.22034/12.1.15]