شجره‌شناسی ماهی قزل‌آلای خال‌قرمز (*Salmo trutta* L. 1758) رودخانهٔ جاجرود با استفاده از توالی ناحیهٔ D-Loop

غفار خسروانی‌اصل[۱]، ایرج هاشم‌زاده[۱*]، اسماعیل پیرعلی[۱]، اصغر عبدلی[۲]

دریافت مقاله: ۹۴/۱/۱۸ / پذیرش مقاله: ۹۵/۳/۲۵

[۱] گروه شیلات و محیط زیست، دانشکدهٔ منابع طبیعی و علوم زمین، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد
[۲]گروه تنوع زیستی و مدیریت اکوسیستم، پژوهشکدهٔ علوم محیطی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران
[*]مسئول مکاتبات: ihashem@nres.sku.ac.ir

چکیده. در این بررسی روابط شجره‌شناسی ماهی قزل‌آلای خال‌قرمز *Salmo trutta* L.1758 در رودخانهٔ جاجرود حوضهٔ دریاچهٔ نمک با استفاده از توالی کامل ناحیهٔ D-Loop ژنوم میتوکندریایی ۵ قطعه ماهی در مقایسه با دیگر جمعیت‌های این گونه در ایران تحت بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که جمعیت ماهی قزل-آلای خال‌قرمز رودخانهٔ جاجرود نیز مثل دیگر جمعیت‌های ایرانی این ماهی متعلق به گروه شجره‌شناختی دانوب است. هاپلوتایپ مشاهده‌شده در جمعیت رودخانهٔ جاجرود مشابه هاپلوتایپ گزارش‌شده در جمعیت رودخانهٔ کرج است. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده ماهی قزل‌آلای خال‌قرمز حوضهٔ نمک به جمعیت‌های حوضهٔ خزر نسبت داده شد و نسبت آن با گونه *Salmo macrostigma* تأیید نشد. با توجه به مشاهده نشدن هاپلوتایپ جمعیت‌های کرج و جاجرود در حوضهٔ خزر و روابط آن با دیگر هاپلوتایپ‌های ایرانی و دانوبی شاید بتوان این هاپلوتایپ را از هاپلوتایپ‌های قدیمی دانست که ممکن است در حوضهٔ خزر هم وجود داشته باشند. با توجه به بحث‌های موجود در رابطه با زیست‌شناسی، ویژگی‌های جغرافیایی و نیز با توجه به نوع هاپلوتایپ ماهی قزل‌آلای خال‌قرمز حوضهٔ نمک می‌توان عنوان کرد که این جمعیت‌ها احتمالاً بومی حوضهٔ نمک بوده و توسط انسان به حوضهٔ یادشده معرفی نشده‌اند.

واژه‌های کلیدی. ژنوم میتوکندری، ماهی قزل‌آلا، حوضهٔ خزر، هاپلوتایپ قدیمی، بومی

The phylogenetic position of Brown trout (*Salmo trutta* L.) in the Jajrud River using D-Loop sequence

Seyed Ghafar Khosravani Asl[1], Iraj Hashemzadeh Segherloo[2*], Esmaeil Pirali[3], Asghar Abdoli[3]

Received: 06/04/2015 / Accepted: 12/06/2016

[1]Department of Fisheries and Environmental Sciences, Faculty of Natural resources and Earth sciences, Shahr-e-Kord University, Shahr-e-Kord, Iran
[2]Department of Biodiversity and Ecosystem Management, Environmental Sciences Research Centre, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran
[*]**Corresponding author**: ihashem@nres.sku.ac.ir

Abstract. In this study the phylogenetic relationship of the Jajrud River Brown trout *Salmo trutta* L. 1758 in the Namak Lake basin was analyzed using complete D-Loop sequence of the mitochondrial genome, in comparison with other Iranian populations of the species. According to the results, Jajrud brown trout, like other Iranian brown trout populations, belongs to the Danube phylogenetic lineage. The observed haplotype in the Jajrud population is similar to the reported haplotype in the Karaj River. The results showed that the Namak Lake basin brown trout affined to the Caspian populations, while its relationship to *Salmo macrostigma* was not confirmed. Although the Karaj and Jajrud River haplotypes have not been observed in the Caspian Sea basin, because of its relationship to other Iranian and Danube haplotypes, it is plausible to consider this haplotype as an old haplotype that also may exist in the Caspian Sea basin. According to the biology of brown trout, geographic characteristics, and based on the properties of the Namak haplotype, it may be inferred that the Namak basin brown trout populations are native to the habitat and not introduced.

Keywords. mitochondrial genome, trout, Caspian basin, old haplotype, native

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-03-29]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1395.3.1.4.8]
[DOI: 10.21859/acadpub.nbr.3.1.39]

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-03-29]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1395.3.1.4.8]
[DOI: 10.21859/acadpub.nbr.3.1.39]

مقدمه

ماهی قزل‌آلای خال‌قرمز *Salmo trutta* L. 1758 متعلق به خانوادهٔ آزادماهیان (Salmonidae) است و در میان گونه‌های این خانواده گسترده‌ترین دامنهٔ پراکنش طبیعی را دارد. این ماهی از ایسلند در غرب تا سرچشمه‌های رودخانهٔ آمودریا در ارتفاعات افغانستان در شرق و از شمال کشورهای روسیه و نروژ تا کوه‌های اطلس در شمال قاره آفریقا به‌صورت طبیعی قابل مشاهده است (Bernatchez, 2001). تاکنون هفت گروه شجره‌شناسی شامل گروه‌های اطلس، مدیترانه، آدریاتیک، دوئرو، مرمره، دانوب و بالکان با استفاده از توالی ناحیهٔ کنترلی (D-Loop) ژنوم میتوکندریایی شناسایی شده است Suarez *et* Maric *et al*., 2006(*al*., 2001;). در ایران جمعیت‌های بومی این ماهی در سه حوضهٔ خزر، ارومیه و نمک وجود دارند و جمعیت‌های یاد شده در حوضهٔ خزر، ارومیه و رودخانهٔ کرج در حوضهٔ نمک متعلق به گروه شجره‌شناسی دانوب هستند، ولی نسبت به دیگر اعضای این گروه تمایز نسبتاً زیادی را نشان می‌دهند (Hashemzadeh Segherloo *et al*., 2012). گفتنی است که گونهٔ *Salmo trutta* دارای سه شکل بوم‌شناختی است؛ به این مفهوم که پس‌از تکثیر در رودخانه گروهی در رودخانه باقی مانده و دارای لکه‌های قرمزی روی پهلوها و بدن می‌شوند و آنها را *S. trutta fario* می‌نامند. گروهی دیگر از بچه‌ماهیان بعد از مدتی زیست‌گذرانی در رودخانه به محیط‌های دریایی مهاجرت می‌کنند که آنها را *S. trutta caspius* (درمورد ماهی آزاد دریای خزر) می‌نامند. برخی نیز به دریاچه‌های آب شیرین مهاجرت می‌کنند که آنها را *S. trutta lacostris* می‌نامند (Elliot, 1994).

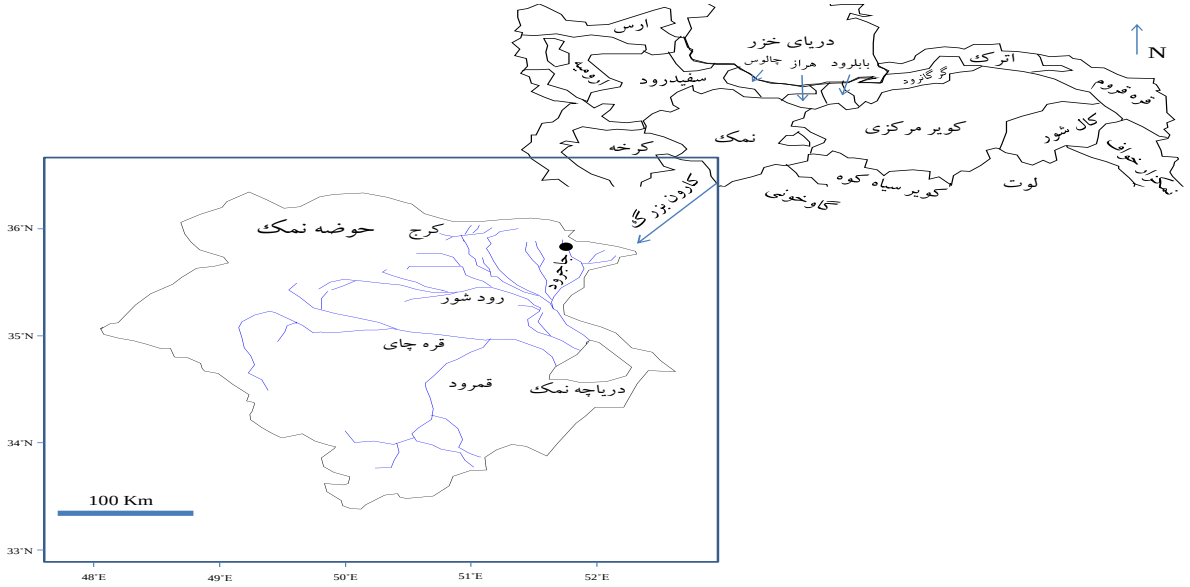
در منابع موجود جمعیت‌های ارومیه و خزر جمعیت‌های بومی شناخته می‌شوند، ولی دربارهٔ جمعیت رودخانهٔ کرج نظرهای متفاوتی مطرح شده است (Coad, 2015). سعادتی (۱۹۷۷) منشأ آنها را از حوضهٔ خزر معرفی و عنوان می‌کند که جمعیت حوضهٔ نمک نژاد متمایز ماهی آزاد دریای خزر *Salmo trutta caspius* است (Saadati, 1977). پژوهشگران دیگر ماهی قزل‌آلای خال‌قرمز حوضهٔ نمک را *S. trutta macro stigma* دانسته‌اند که اولین‌بار در کشور الجزایر مورد بررسی و توصیف شده است (Coad, 2015). همچنین بیان شده است که قزل‌آلای خال‌قرمز حوضهٔ نمک احتمالاً ازطریق حوضهٔ‌های آبریز خلیج فارس و از حوضهٔ مدیترانه به حوضهٔ نمک راه یافته است، ولی سعادتی (۱۹۷۷) با توجه به فقدان قزل‌آلای خال‌قرمز در حوضهٔ‌های آبریز خلیج فارس و همچنین با توجه به شباهت‌های موجود بین قزل‌آلای خال‌قرمز حوضهٔ نمک و خزر آنها را مشابه می‌داند. اوزینوف هم در سال ۱۹۸۸ با بررسی الکتروفورتیک آنها شواهدی مبنی بر وجود منشأ مدیترانه‌ای جمعیت حوضهٔ نمک این نوع نیافته است (Coad, 2015). در مطالعات جدید، رابطهٔ بسیار نزدیک یکی از جمعیت‌های حوضهٔ نمک با جمعیت‌های حوضهٔ خزر و ارومیه تأیید شد (Hashemzadeh Segherloo *et al*., 2012)، اما یکی از سؤالاتی که باتوجه به اظهارات قدیمی می‌توان طرح کرد نحوه راه‌یابی ماهی قزل‌آلای خال قرمز به حوضهٔ نمک است. این موضوع که آیا جمعیت‌های حوضهٔ نمک بومی هستند یا معرفی شده کاملاً روشن نیست. نیومان در سال ۱۹۶۹ ظاهراً بیان می‌کند که جمعیت رودخانهٔ کرج حدود سال ۱۸۶۹ در رودخانهٔ کرج ذخیره‌سازی شده است (Coad, 2015). با توجه به کارهای هاشم‌زاده سقرلو و همکاران (۱۳۹۱) مشخص شد که منشأ احتمالی این جمعیت از حوضهٔ خزر است اما در مورد معرفی‌شدن این جمعیت و منشأ دقیق آن تردید وجود دارد. برای پاسخ به این سؤال می‌توان با بررسی دیگر جمعیت‌های حوضهٔ نمک و مقایسهٔ آنها با جمعیت کرج و نیز با بررسی جمعیت‌های حوضهٔ خزر که ازنظر جغرافیایی به جمعیت کرج نزدیک هستند، به این سؤال پاسخ داد.

در این مطالعه تلاش شده است با بررسی جمعیت رودخانهٔ جاجرود حوضهٔ نمک، که متعلق به حوضهٔ نمک است و فاصلهٔ نزدیکی به رودخانهٔ هراز دارد، جایگاه شجره‌شناسی آن شناسایی شود و رابطه و نقش احتمالی آن در انتقال ماهی قزل‌آلای خال‌قرمز به حوضهٔ نمک مورد بحث قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

عملیات نمونه‌برداری در مرداد ۱۳۹۰ در رودخانهٔ جاجرود با استفاده از الکتروشوکر کوله‌پشتی انجام شد. برای جلوگیری از نمونه‌برداری افراد خویشاوند، عملیات صید در بیش‌از ۱۰۰ متر از طول رودخانه انجام شد (شکل ۱). در زمان نمونه‌برداری باله سینه‌ای و یا بالهٔ شکمی یک سمت بدن ماهی‌ها قطع شد و در

الکل اتانول ۹۶ درصد جهت بررسی‌های مولکولی تثبیت شد. ۱۲ ساعت پس‌از نمونه‌برداری، الکل نمونه‌ها به‌طور کامل تعویض شد. با توجه به اینکه حتی در الکل در دمای معمولی نیز ممکن است DNA تخریب شود، نمونه‌های یادشده در فریزر ۲۰- درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شدند. برای بررسی مولکولی ۵ نمونه از باله‌های یادشده استفاده شد.



شکل ۱- موقعیت رودخانه‌های جاجرود، کرج و حوضهٔ نمک نسبت به حوضه‌های مجاور (فرهنگ جغرافیایی رودهای کشور (۱۳۸۳). دایرهٔ سیاه نشان دهندهٔ موقعیت تقریبی نمونه‌برداری است.

Fig. 1. Position of the Jajrud and Karaj Rivers and Namak Lake basin relative to adjacent basins (the map is produced based on data provided in "the Gazetteer of rivers in the I.R. of Iran, (2005). The black circle denotes the approximate sampling locality.

برای استخراج DNA از روش Chelex 100/200 استفاده شد (Estoup *et al.*, 1996). برای انجام این مطالعه از ناحیهٔ کنترلی میتوکندری (D-Loop) که از توالی‌های اینترون یا بدون کارکرد محسوب می‌شود و به‌دلیل ضریب جهش بالاتر نسبت به توالی‌های موظف (اگزون) برای انجام مطالعات روابط شجره‌شناسی درون گونه‌ای مفید است، استفاده شد (Hallerman, 2003). برای تکثیر ناحیهٔ D-Loop از آغازگرهای *BrtD-F20* (5'-GAGATTTTAACTCCCACCCT-3') و *BrtD-R20* (5'-TAGGGTCCATCTTAACAGCT-3') که ناحیهٔ یادشده را به‌طور کامل تکثیر می‌کنند، استفاده شد (Hashemzadeh Segherloo *et al.*, 2012). هر واکنش زنجیرهٔ پلیمراز (PCR) به حجم ۲۵ میکرولیتر شامل ۱۸ میکرولیتر آب‌مقطر، ۲/۵ میکرولیتر بافر 10X، ۰/۵ میکرولیتر کلریدمنیزیم (50mM)، ۰/۵ میکرولیتر از هر آغازگر با غلظت ۱۰ میلی‌مولار، ۰/۵ میکرولیتر dNTP (25 nM)، ۰/۵ میکرولیتر آنزیم پلیمراز (500U; www.sinaclon.com) و ۲ میکرولیتر DNA بود. چرخه‌های دمایی که جهت انجام PCR به دستگاه ترموسایکلر داده شد (A & E; http://aelabuk.com) شامل یک مرحله به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۹۴ درجهٔ سانتی‌گراد، ۳۵ چرخه شامل ۹۴ درجهٔ سانتی‌گراد به‌مدت ۱ دقیقه، ۵۲ درجهٔ سانتی‌گراد به‌مدت یک دقیقه و ۷۲ درجهٔ سانتی‌گراد به‌مدت ۱ دقیقه و در نهایت یک مرحله بسط نهایی در ۷۲ درجهٔ سانتی‌گراد به‌مدت ۱۰ دقیقه بود.

پس‌از تکثیر ناحیهٔ کنترلی و بررسی موفقیت عمل تکثیر، ۵ نمونه ازطریق شرکت فزاپژوه (www.fazabiotech.com) جهت تعیین توالی به خارج از کشور ارسال شدند. با توجه به اینکه قطعهٔ تکثیرشده دارای طول حدود ۱۰۲۰ جفت باز است، تعیین توالی به‌صورت دوطرفه و با استفاده از هردو آغازگر پیشرو و پسرو انجام شد.

برای ویرایش توالی‌ها از نرم‌افزار Bioedit V7.0.0 استفاده شد. ویرایش بازهای مبهم در توالی‌ها با توجه به فایل‌های

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-03-29]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1395.3.1.4.8]
[DOI: 10.21859/acadpub.nbr.3.1.39]

کروماتوگرام و با توجه به توالی‌های همین گونه که در مطالعات گذشته گزارش شده‌اند، انجام شد. برای یافتن توالی‌های مشابه از جست‌جوی BLAST در بانک ژن (NCBI) استفاده شد (Altschul *et al.*, 1997). برای تطبیق‌دادن یا هم‌ردیف‌کردن توالی‌ها و ایجاد فایل‌های لازم برای دیگر نرم‌افزارهای مورد استفاده، از نرم‌افزار ClustalX 1.8 استفاده شد (Thompson *et al.*, 2002).

برای محاسبهٔ فواصل ژنتیکی K2P در بین توالی‌ها و ترسیم دارنگاره‌ها از نرم‌افزار MEGA 6 استفاده شد (Tamura *et al.*, 2013). در ترسیم دارنگاره الحاق همسایگی که مبتنی بر فاصلهٔ ژنتیکی است (Hallerman, 2003) از فاصله K2P و برای تأیید شاخه‌های دارنگاره از آزمون بوسترپ با ۱۰۰۰ تکرار استفاده شد. برای ترسیم دارنگاره ماکزیمم پارسیمونی طبق تنظیمات اولیهٔ نرم‌افزار تعداد دارنگارهٔ اولیه ۱۰ و بیشترین تعداد دارنگاره‌هایی که باید نرم‌افزار حفظ می‌کرد ۱۰۰ دارنگاره بود و آزمون بوسترپ نیز با ۵۰۰ تکرار انجام شد.

از گونه‌های *Salmo ohridanus* و *Salmo salar* به مثابه گروه‌های خارجی استفاده شد. برای مشاهدهٔ روابط بین هاپلوتایپ‌ها (اشکال مختلف توالی) شبکهٔ هاپلوتایپی با استفاده از نرم‌افزار TCS1.21 ترسیم شد (Clement *et al.*, 2000).

نتایج

در این مطالعه فقط یک هاپلوتایپ مشاهده شد که مشابه هاپلوتایپ گزارش‌شده برای جمعیت قزل‌آلای خال‌قرمز در رودخانهٔ کرج است (جدول ۱). ترکیب نوکلئوتیدی هاپلوتایپ مشاهده‌شده شامل ۱۴/۴ درصد G، ۲۲/۶ درصد C، ۳۱/۴ درصد A و ۳۱/۶ درصد T است.

دارنگاره‌های ترسیم‌شده به دو روش الحاق همسایگی و ماکزیمم پارسیمونی دارای شکل تقریباً مشابه بودند (شکل ۲) اما دارنگارهٔ ترسیم‌شده با روش ماکزیمم پارسیمونی برخلاف دازنگاره ترسیم‌شده با روش الحاق همسایگی فاقد پلی‌تومی بود. در هر دو دارنگاره، هاپلوتایپ جمعیت رودخانهٔ جاجرود درکنار دیگر هاپلوتایپ‌های ایرانی در گروه شجره‌شناسی دانوب قرار گرفت و این گروه با ضرایب ۱۰۰ (ماکزیمم پارسیمونی) و ۹۶ درصد (الحاق همسایگی) تأیید شد (شکل ۲).

ماهی *Salmo trutta macrostigma* در دارنگاره در گروه شجره‌شناسی آدریاتیک قرار گرفت. گروه‌های شجره‌شناسی دوئرو و اطلس در دارنگاره به‌صورت دو گروه خواهری قرار گرفتند که با ضریب بوسترپ ۷۸ درصد در روش الحاق همسایگی و با ضریب ۱۰۰ درصد در روش ماکزیمم پارسیمونی تأیید شدند (شکل ۲).

گروه شجره‌شناسی مدیترانه نیز با ضریب بوسترپ ۸۶ درصد و ۱۰۰ درصد به‌ترتیب در روش‌های الحاق همسایگی و ماکزیمم پارسیمونی تأیید شد. در دارنگاره ماکزیمم پارسیمونی گروه شجره‌شناسی آدریاتیک در گروه خواهری تیرهٔ مدیترانه‌ای قرار گرفت، اما این رابطه در دارنگارهٔ الحاق همسایگی تأیید نشد.

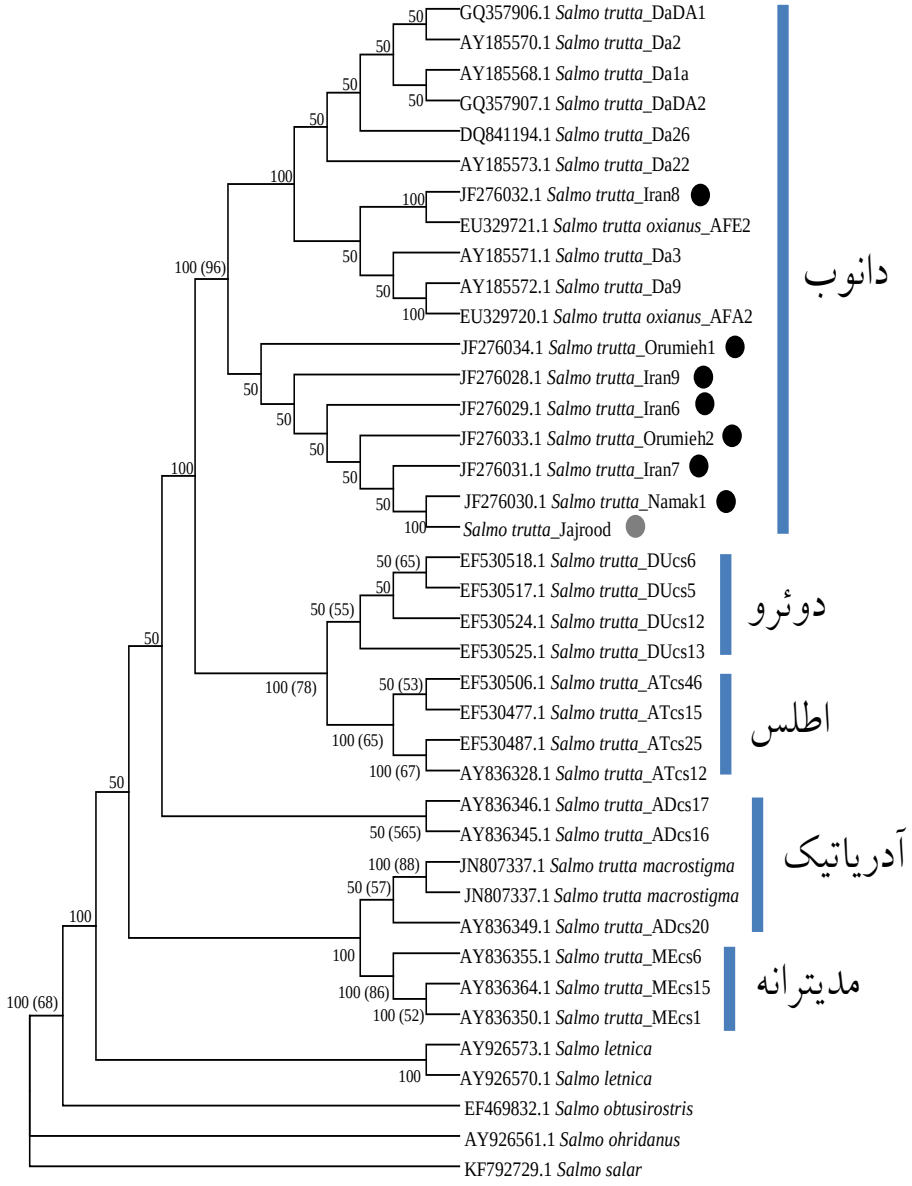
فواصل ژنتیکی در بین هاپلوتایپ رودخانهٔ جاجرود و دیگر هاپلوتایپ‌های ایرانی از ۰/۱ تا ۰/۲ درصد برپایهٔ فاصلهٔ ژنتیکی K2P متغیر بود. میانگین فاصلهٔ ژنتیکی هاپلوتایپ‌های ایرانی نسبت به دیگر هاپلوتایپ‌ها و گروه‌های شجره شناسی مورد استفاده از ۰/۴۲ تا ۱/۰۲ درصد متغیر بود (جدول۱) و کمترین فاصله در بین هاپلوتایپ‌های ایرانی و گروه شجره‌شناسی دانوب مشاهده شد. بیشترین فاصله نیز در بین هاپلوتایپ‌های ایرانی و گروه شجره‌شناسی مرمره مشاهده شد (جدول ۱).

هاپلوتایپ مشاهده‌شده با دو هاپلوتایپ خزری (Ba و Ca+O) با فاصلهٔ یک جهش از هرکدام مرتبط است و ازسوی دیگر به هاپلوتایپ‌های حوضهٔ آرال (Ar-*S. trutta oxianus*)، خلیج فارس (Da26) و دانوب (Da1a) به‌واسطهٔ دو جهش ارتباط دارد (شکل ۳). با توجه به داده‌های موجود در شبکهٔ هاپلوتایپی بیشتر ارتباطات هاپلوتایپ‌های ایرانی و دیگر هاپلوتایپ‌های گروه شجره‌شناسی دانوب از مسیر هاپلوتایپ حوضهٔ نمک (Na) می‌گذرد (شکل۳).

بحث

در این مطالعه مشاهده شد که هاپلوتایپ موجود در رودخانهٔ جاجرود نیز از هاپلوتایپ‌های متعلق به گروه شجره‌شناسی دانوب است که این نتیجه با گزارش هاشم‌زاده سقرلو و همکاران (۱۳۹۱) در بارهٔ جمعیت رودخانهٔ کرج و حوضهٔ‌های ارومیه و خزر مطابقت دارد. در باب منشأ جمعیت‌های حوضهٔ نمک نظرهای مختلفی مطرح شده است. گروهی از محققان منشأ آنها را از حوضهٔ مدیترانه دانسته‌اند (Coad, 2015).

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-03-29]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1395.3.1.4.8]
[DOI: 10.21859/acadpub.nbr.3.1.39]



شکل۲- دارنگارهٔ ترسیم‌شده با روش ماکزیمم پارسیمونی برای هاپلوتایپ‌های متعلق به جمعیت حوضهٔ نمک، دیگر هاپلوتایپ‌های ایرانی و گروه‌های شجره‌شناسی مختلف قزل‌آلای خال قرمز. اعداد روی شاخه‌های دارنگاره مقادیر بوسترپ بالاتر از ۵۰ درصد است. اعداد بوسترپ خارج از پرانتز متعلق به دارنگاره ماکزیمم پارسیمونی و اعداد داخل پرانتز متعلق به دارنگاره ترسیم‌شده با روش الحاق همسایگی (Neigbohr-joining) هستند. کدهای ارائه‌شده در کنار اسامی علمی کدهای دسترسی هاپلوتایپ‌ها در بانک ژن (NCBI) هستند. دایره‌های سیاه رنگ و دایره خاکستری به ترتیب هاپلوتایپ‌های ایرانی گزارش شده در بانک ژن و هاپلوتایپ مشاهده شده در این مطالعه را نشان می‌دهند.

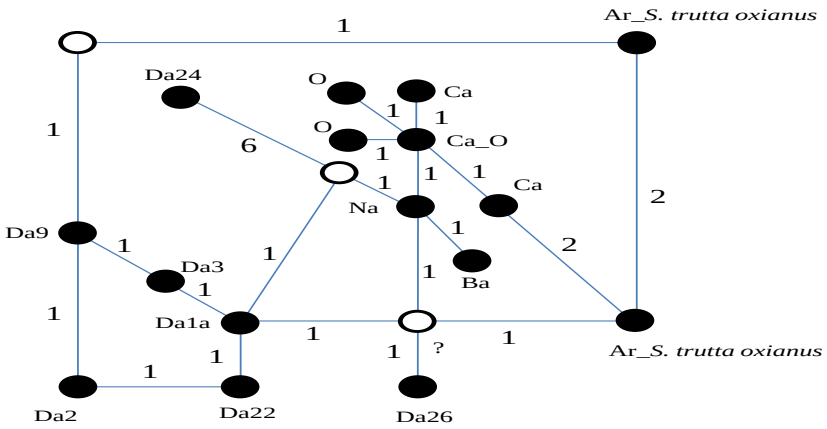
Fig. 2. Maximum Parsimony dendrogram reconstructed for the haplotypes belonging to Namak Basin, other Iranian basin, and other phylogenetic lineages of Brown trout. The figures denoted on the branches are bootstrap values greater than 50 %. The figures standing out of the parentheses are bootstrap values for Maximum Parsimony and the figures between parentheses are boot strap values of the Neighbor-Joining threes. The cods before the specific names are GenBank (NCBI) accession nos. The black and grey circles denote previously reported Iranian from the GenBank and the haplotype observed in this study, respectively.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-03-29]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1395.3.1.4.8]
[DOI: 10.21859/acadpub.nbr.3.1.39]

جدول ۱ – میانگین فواصل ژنتیکی K2P محاسبه شده برای شجره‌های مختلف قزل‌آلای خال‌قرمز و همچنین گونه‌های *Salmo trutta macrostigma* و *Salmo salar* با استفاده از نرم‌افزار MEGA6

Table 1. Mean between group K2P genetic distances calculated using MEGA6 for different phylogenetic groups of Brown trout and *Salmo trutta macrostigma* and *S. salar*.

گروه شجره‌شناسی	نمک	ایران	دانوب	دوئرو	آدریاتیک	اطلس	مدیترانه	مرمره	*S. macrostigma*
نمک	۰								
ایران	۰/۱۷	۰							
دانوب	۰/۲۶	۰/۴۲	۰						
دوئرو	۰/۸۸	۰/۸۸	۱/۱۱	۰					
آدریاتیک	۰/۷۹	۰/۸۵	۰/۹۹	۰/۷۲	۰				
اطلس	۰/۹۱	۰/۸۵	۱/۱۳	۰/۵۶	۰/۷۹	۰			
مدیترانه	۰/۸۶	۰/۹۲	۱/۱۱	۰/۷۳	۰/۵۱	۰/۷۷	۰		
مرمره	۰/۹۶	۱/۰۲	۱/۰۲	۰/۹	۰/۴۲	۰/۹۶	۰/۶۹	۰	
S. macrostigma	۰/۹	۰/۹۶	۱/۱۶	۰/۸۴	۰/۳۹	۰/۷۹	۰/۴۵	۰/۶۲	۰
S. salar	۴/۷۸	۴/۷۸	۴/۸۲	۴/۷۶	۴/۴۵	۴/۹۷	۴/۷۳	۴/۱۲	۴/۶۶



شکل ۳ – شبکه هاپلوتایپی ترسیم شده برای هاپلوتایپ‌های ایرانی و هاپلوتایپ‌های دانوب. در این شبکه هرکدام از دایره‌های سیاه نشان‌دهنده یک هاپلوتایپ شناخته-شده و هر کدام از دوایر سفید نشان‌دهنده یک هاپلوتایپ یا جهش گزارش نشده هستند. اختصارات ارائه شده در شکل شامل Ca حوضهٔ خزر، O حوضهٔ ارومیه، Ca + O حوضهٔ خزر و ارومیه، Ar حوضهٔ دریای آرال و Da گروه دانوبی هستند. خطوطی که بین هر دو دایره ترسیم شده‌اند به همراه اعداد کنار خطوط نشان‌دهنده تعداد اختلاف جهشی هستند.

Fig. 3. Haplotype network drawn for the Iranian and Danube haplotypes. On the network each black circle denotes a previously reported haplotype and each white circle shows an unreported haplotype or mutation. The abbreviations are Ca: Caspian basin; O: Orumieh basin; Ca+O: Caspian + Orumieh; Ar: Aral Sea basin; Da: Danube lineage. Each line interconnecting two circles and the related numbers beside it indicate mutational differences.

سعادتی (۱۹۷۷) دربارهٔ منشأ ماهی قزل‌آلای خال‌قرمز حوضهٔ نمک عنوان می‌کند که این جمعیت‌ها به ماهی آزاد دریای خزر *Salmo trutta caspius* نزدیکی دارد، که با مشاهدات این مطالعه مطابقت دارد. برخی محققان ماهی قزل‌آلای خال‌قرمز حوضهٔ نمک را *S. trutta macrostigma* دانسته‌اند (Coad, 2015) که نتایج این مطالعه نظر آنها را رد می‌کند، همان‌طور که در دارنگاره می‌توان مشاهده کرد، *S. trutta macrostigma* با گروه شجره‌شناسی آدریاتیک رابطهٔ نزدیکی دارد، ولی ماهی قزل‌آلای خال‌قرمز حوضهٔ نمک در گروه شجره‌شناسی دانوب قرار گرفته است.

بحث دیگری که درباب جمعیت‌های قزل‌آلای خال‌قرمز وجود دارد نحوهٔ راه‌یابی آنها به حوضهٔ نمک است؛ به این مفهوم که آیا حضور آن در حوضهٔ نمک طبیعی است یا خیر. این موضوع را می‌توان از سه دیدگاه زیست‌شناختی، روابط ژنتیکی و امکانات (زیرساخت‌های ارتباطی و تجهیزات حمل ماهی زنده)، جغرافیا و تاریخچهٔ معرفی ماهی در ایران بررسی کرد:

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-03-29]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1395.3.1.4.8]
[DOI: 10.21859/acadpub.nbr.3.1.39]

در دیدگاه اول، ماهی قزل‌آلای خال‌قرمز، از نظر زیست‌شناسی و نیازهای مرتبط، گونه بسیار حساسی است که برای زنده ماندن به آب خنک با مقدار اکسیژن محلول بالا نیاز دارد (Elliot, 1994) و درصورت انتقال باید در شرایط خاص و در زمان محدودی منتقل شود تا بتوان ماهی یادشده را به‌صورت زنده از یک زیست‌گاه به زیست‌گاه دیگر انتقال داد. با درنظرگرفتن وضعیت راه‌ها و مسیرهای ارتباطی در ایران در زمان مورد ادعا (اواسط قرن نوزدهم) و با توجه به امکانات ترابری و تجهیزات لازم برای زنده‌نگاه‌داشتن ماهی، احتمال اینکه این انتقال به‌دست انسان صورت گرفته باشد بعید به‌نظر می‌رسد؛ زیرا درصورت استفاده از وسائل ترابری مرسوم در زمان یادشده و با توجه به وضعیت مسیرهای ارتباطی، عمل انتقال ماهی قزل‌آلا در بازهٔ زمانی مناسب برای انتقال ماهی زنده دوراز انتظار است.

ازسوی دیگر، باتوجه به جغرافیای پراکنش رودخانه‌های حوضهٔ خزر و با فرض وجود جمعیت‌های خزری در همهٔ رودخانه‌های این حوضهٔ چند مسیر انتقال شامل انتقال از رودخانهٔ هراز به جاجرود و کرج، انتقال از رودخانهٔ چالوس-سردابرود به رودخانهٔ کرج و جاجرود و یا انتقال از سرشاخه‌های سفیدرود در استان قزوین به حوضهٔ نمک را می‌توان متصور شد. شاید نزدیک‌ترین و محتمل‌ترین مسیر انتقال از طریق رودخانهٔ هراز باشد، زیرا این رودخانه و سرشاخه‌های آن در پارک ملی لار با سرشاخه‌های رودخانهٔ جاجرود فاصله کمتری دارند. بااین‌حال، انتقال ماهی با امکانات و در زمان یادشده با توجه به کوهستانی بودن این مناطق بعید به نظر می‌رسد.

درباب هاپلوتایپ مشاهده‌شده در ماهی قزل‌آلای خال‌قرمز رودخانه‌های جاجرود و کرج باید گفت که هاپلوتایپ یادشده از هاپلوتایپ‌های قدیمی حوضهٔ خزر است و در مطالعهٔ نمونه-های رودخانهٔ هراز، بابلرود و شیرین‌رود حوضهٔ خزر (هاشم‌زاده سقرلو و همکاران ۱۳۹۱) هاپلوتایپ یادشده در حوضهٔ خزر مشاهده نشده است. با توجه به این‌که هاپلوتایپ حوضهٔ نمک در رودخانه‌های یادشده مشاهده نشده است، می‌توان آن را یکی از هاپلوتایپ‌های نادر در حوضهٔ خزر دانست و به‌همین‌دلیل نیز شاید بتوان ادعا نمود که انتقال یک هاپلوتایپ نادر به دست انسان به حوضهٔ نمک دور از انتظار و بعید به نظر می‌رسد زیرا در همهٔ رودخانه‌های مطالعه‌شده در حوضهٔ خزر و ارومیه یک هاپلوتایپ معمولی مشترک مشاهده شده است (Hashemzadeh *et al.*, 2012). نکتهٔ جالب دربارهٔ هاپلوتایپ حوضهٔ نمک نحوهٔ قرارگیری و ارتباط آن با دیگر هاپلوتایپ‌های ایرانی و هاپلوتایپ‌های دانوبی است (شکل ۳). در حوضهٔ خزر در رودخانهٔ بابلرود یک هاپلوتایپ نادر گزارش شده است که هاپلوتایپ رودخانهٔ جاجرود و کرج نسبت به هاپلوتایپ یادشده و هاپلوتایپ معمولی حوضهٔ خزر جایگاه حد واسط دارد؛ به این مفهوم که مسیر جهش از هاپلوتایپ معمولی خزر پس‌از عبور از هاپلوتایپ نمک به هاپلوتایپ بابلرود (Ba) می‌رسد (شکل۳).

ازسوی دیگر، این هاپلوتایپ با یک واسطه به هاپلوتایپ‌های خلیج فارس (Da26)، دانوب و حوضهٔ آرال (Ar) متصل است که می‌تواند نشان‌دهندهٔ قدمت این هاپلوتایپ باشد؛ زیرا برپایهٔ اصول و معیارهای ترسیم شبکهٔ هاپلوتایپی، هاپلوتایپ‌هایی که در مسیر جهش بین هاپلوتایپ‌های دیگر قرار داشته‌اند، یا از ارتباطات بیشتری برخوردارند، قدیمی محسوب می‌شوند و هاپلوتایپ‌هایی که ارتباط کمتری داشته‌اند یا در شبکه در موقعیت حاشیه‌ای قرار می‌گیرند، هاپلوتایپ‌های جدید در نظر گرفته می‌شوند (Freeland, 2005).

در مجموع، می‌توان از مشاهدات این مطالعه و دیگر مطالعات منتشر شده به این نتیجه رسید که جمعیت‌های ماهی قزل‌آلای حوضهٔ نمک احتمالاً از جمعیت‌های قدیمی است و با توجه به گزارش‌نشدن یا نادربودن هاپلوتایپ آنها در حوضهٔ خزر، احتمال انتقال مصنوعی آنها به این حوضهٔ بعید به نظر می‌رسد، اما با توجه به موقعیت این هاپلوتایپ نسبت به دیگر هاپلوتایپ-های ایرانی می‌توان احتمال وجود آن را در حوضهٔ خزر مطرح کرد. اثبات این مسئله و مسیر تاریخی راه‌یابی جمعیت حوضهٔ نمک نیازمند مطالعه دیگر جمعیت‌های حوضهٔ خزر به‌ویژه در رودخانه‌های مسیر هراز، سردابرود و شاخه‌های رودخانهٔ چالوس است.

سپاسگزاری

نگارندگان بر خود لازم می‌دانند از معاونت پژوهشی دانشگاه شهرکرد، پژوهشکده علوم محیطی دانشگاه شهیدبهشتی، دفتر تنوع زیستی و حیات وحش سازمان حفاظت محیط زیست و ادارهٔ کل محیط زیست استان تهران که امکان انجام این مطالعه را فراهم کردند، قدردانی کنند. این پژوهش با استفاده از پژوهانه

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-03-29]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1395.3.1.4.8]
[DOI: 10.21859/acadpub.nbr.3.1.39]

شماره 688M1GRD94 معاونت پژوهشی دانشگاه شهرکرد انجام شده است.

منابع/References

سازمان جغرافیایی نیروهای مسلح. ۱۳۸۳. فرهنگ جغرافیایی رودهای کشور: حوضهٔ آبریز ایران مرکزی. انتشارات سازمان جغرافیایی نیروهای مسلح. صفحه ۱۴.

Altschul, S.F., Madden, T. L., Schäffer, A.A., Zhang, J., Zhang, Z., Miller, W. and Lipman, D.J. 1997. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. –Nucleic Acids Res. 25(17): 3389-3402.

Bernatchez, L. 2001. The evolutionary history of brown trout (*Salmo trutta* L.) inferred from phylo-geographic, nested clade, and mismatch analyses of mitochondrial DNA variation. – Evolution 55: 351-379.

Clement, M., Posada, D. & Crandall, K.A. 2000. TCS: a computer program to estimate gene genologies. – Mol. Ecology 9(10): 1657-1660.

Coad, B. 2015. Freshwater Fishes of Iran. Available at http://www.briancoad.com/contents.

Elliot, J.M. 1994. Quantitative Ecology and the Brown Trout. Oxford: Oxford University Press.

Estoup, A., Largiad`er, C.R., Perrot, E. and Chourrout, D. 1996. Rapid one tube DNA extraction for reliable PCR detection of fish polymorphic markers and transgenes. – Mol. Marine Biol. Biotech. 5: 295-298.

Freeland, J.R. 2005. Molecular Ecology. Chichester: John Wiley & Sons, Ltd.

Hallerman, E.M. 2003. Population genetics: principles and applications for fisheries scientists. –American Fisheries Society.

Hashemzadeh Segherloo, I., Farahmand, H., Abdoli, A., Bernatchez, L., Primmer, C.R., Swatdipong, A., Karami, M. and Khalili, B. 2012. Phylogenetic status of brown trout *Salmo trutta* populations in five rivers from the southern Caspian Sea and two inland lake basins, Iran: a morphogenetic approach. – J. Fish Biol. 81: 1479-1500.

Maric, S., Susnik, S., Simonovi´c, P. and Snoj, A. 2006. Phylogeographic study of brown trout from Serbia, based on mitochondrial DNA control region analysis. – Genetics Selection Evolution 38: 411-430.

Saadati, M.A.G. 1977. Taxonomy and Distribution of the Freshwater Fishes of Iran. MS Thesis. Colorado State University: Fort Collins, Co, USA.

Suarez, J., Bautista, J.M., Almod´ovar, A. and Machordom, A. 2001. Evolution of the mitochondrial control region in Palaearctic brown trout (*Salmo trutta*) populations: the biogeographical role of the Iberian Peninsula. – Heredity 87: 198-206.

Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A. and Kumar, S. 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. – Mol. Biol. Evolution 30: 2725-2729.

Thompson, J.D., Gibson, T. and Higgins, D.G. 2002. Multiple sequence alignment using ClustalW and ClustalX. – Current Protocols in Bioinformatics 2-3.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-03-29]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1395.3.1.4.8]
[DOI: 10.21859/acadpub.nbr.3.1.39]

*****

Khosravani Asl, Q., Hashemzade, I., PirAli, I. and Abdoli, A. 2016. The phylogenetic position of Brown trout (*Salmo trutta*) in the Jajrud River using D-Loop sequence. – Nova Biol. Rep. 3: 39-47.

خسروانی‌اصل، غ.، هاشم‌زاده، ا.، پیرعلی، ا. و عبدلی، ا. ۱۳۹۵. شجره‌شناسی ماهی قزل‌آلای خال‌قرمز (*Salmo trutta* L. 1758) رودخانهٔ جاجرود با استفاده از توالی ناحیهٔ D-Loop. – یافته‌های نوین در علوم زیستی ۳: ۴۷-۳۹.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.24236330.1395.3.1.4.8]

[DOI: 10.21859/acadpub.nbr.3.1.39]