2026, 2(1): 79-90

JAER

Journal of Animal Environmental Reaserch

Journal homepage: http://www.journalaer.com

Research Article

Investigation of mitochondrial genome by PCR-RFLP method in the populations of Artemia species (Leach, 1819) in Iran

Mahbobeh Hajirostamlou [1*], Sohrab Rezvani Gilkolaei [2], Seyyed Mohammadreza Fatemi [3], Majid Sadeghizadeh [4]

[1] *Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Marand Branch, Islamic Azad University, Marand, Iran*
[2] *Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Tehran, Iran*
[3] *Department of Marine Sciences, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran*
[4] *Department of Genetics, Faculty of Biological Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran*

Key Words

Artemia
mtDNA
RFLP
Genetic diversity
Iran

Abstract

Introduction: *Artemia* or brine shrimp is a small crustacean found in different parts of the world except the Arctic. This research was done considering the importance of molecular studies in identifying the species populations and the genetic diversity in bisexual and unisexual forms of *Artemia* (together and among populations).

Materials & Methods: *Artemia* were sampling from 9 regions (Shoor, Inche Borun, Namak, Hoze Sultan, Mighan, Maharlu, Bakhteghan, Urmia and Nogh Lakes) and 315 samples were used according phenol-chloroform method for DNA extraction. The primers were designed based on the sequence of *Artemia*'s mitochondrial ribosomal gene and PCR was performed. Enzymatic digestion of the PCR product was performed with 10 enzymes (*AluI, Eco47I, HaeIII, HindIII, HinfI, MobI, MspI, RsaI, TaqI, EcoRI*). After identifying genotypes and calculating haplotypes, haplotype and nucleotide diversity within a population, nucleotide diversity and divergence between populations and genetic distance between haplotypes with Reap analysis software and frequency of geographic heterogeneity of haplotypes with Chi-square test and Monte-Carlo simulation were calculated.

Results: This study showed the presence of 25 different haplotypes, including 9 haplotypes in Urmia, 4 in Shoor and Inche Borun, 4 in Nogh, 1 in Namak and Hoze Sultan, 3 in Mighan, 1 jointly in Bakhteghan and Maharlu, and 3 in Maharlu. The lowest haplotype diversity in the samples was found in Hoze Sultan, Namak and Bakhteghan and the highest amount was seen in Maharlu. The lowest amount of nucleotide diversity in the samples belonged to Hoze Sultan, Namak and Bakhteghan and the most belonged to Urmia. In nucleotide diversity among the samples, the lowest value was observed between Hoze Sultan and Namak and the highest value was observed between Inche Borun and Shoor with Nogh. Nucleotide divergence between the samples was the lowest for the Inche Borun and shoor and the highest value for the Inche Borun and Shoor with Nogh. In the evolutionary distance between haplotypes, the highest amount belonged to Nogh and Mighan haplotypes with Inche Borun and Shoor haplotypes.

Conclusion: The study of population separation based on the frequency of haplotypes showed a significant statistical difference, except in the comparison of Hoze Sultan with Namak and Inche Borun with shoor ($p<0.001$), and at the haplotype level, it is possible to separate the *Artemia* population in Iran into 7 population as Hoze Sultan - Namak, Mighan, Maharlu, Bakhteghan, Nogh, Urmia and Inche Borun - Shoor was provided.

Article info

* Corresponding Author's email: hajirostamlo@marandiau.ac.ir

Received: 21 December 2024
Reviewed: 22 January 2025
Revised: 24 March 2025
Accepted: 29 April 2025

[Downloaded from mail.journalaer.com on 2026-09-18]

مقاله علمی - پژوهشی

بررسی ژنوم میتوکندریایی به‌روش PCR-RFLP در جمعیت‌های گونه‌های آرتمیا (Leach, 1819) در ایران

محبوبه حاجی‌رستملو*[۱]، سهراب رضوانی گیل کلایی[۲]، سیدمحمدرضا فاطمی[۳]، مجید صادقی‌زاده[۴]

[۱] گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد مرند، دانشگاه آزاد اسلامی، مرند، ایران

[۲] موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

[۳] گروه علوم دریایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

[۴] گروه ژنتیک، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

کلمات کلیدی

آرتمیا
mtDNA
RFLP
تنوع ژنتیکی
ایران

چکیده

مقدمه: آرتمیا یا میگوی آب‌شور سخت پوست کوچکی است که در بخش‌های مختلفی از جهان جز در قطب شمال دیده می‌شود. این تحقیق با توجه به اهمیت مطالعات مولکولی در شناسایی جمعیت‌های یک گونه و تنوع ژنتیکی موجود در اشکال دو جنسی و بکرزای آرتمیا (با هم و در بین جمعیت‌ها) صورت پذیرفت.

مواد و روش‌ها: نمونه برداری آرتمیا از ۹ منطقه (دریاچه‌های شور، اینچه برون، نمک، حوض سلطان، میقان، مهارلو، بختگان، ارومیه و نوغ) انجام و ۳۱۵ نمونه مورد استخراج DNA به‌روش فنل- کلروفرم‌صورت گرفت. پرایمرها براساس توالی ژن ریبوزومال میتوکندری آرتمیا، طراحی و PCR صورت پذیرفت. هضم آنزیمی محصول PCR با ۱۰ آنزیم (*AluI, Eco47I, HaeIII, HindIII, HinfI, MobI, MspI, RsaI, TaqI, EcoRI*) انجام گردید. پس از شناسایی ژنوتیپ‌ها و محاسبه هاپلوتیپ‌ها، تنوع هاپلوتیپی و نوکلئوتیدی درون جمعیتی، تنوع و اختلاف‌نوکلئوتیدی بین جمعیت و فاصله ژنتیکی میان هاپلوتیپ‌ها با نرم‌افزار Reap آنالیز و فراوانی ناهمگنی جغرافیایی هاپلوتیپ‌ها با آزمون مربع کای و شبیه‌سازی Monte-Carlo محاسبه گردیدند.

نتایج: این مطالعه وجود ۲۵ هاپلوتیپ متفاوت‌شامل۹ هاپلوتیپ در ارومیه، ٤ در شور و اینچه‌برون، ٤ در نوغ، ۱ در نمک و حوض سلطان، ۳ در میقان، ۱ مشترکاً در بختگان و مهارلو و۳ در مهارلو را نشان داد. کم‌ترین تنوع هاپلوتیپی درون نمونه‌ها در حوض سلطان، نمک و بختگان و حداکثر مقدار آن در مهارلو دیده شد. کم‌ترین میزان تنوع نوکلئوتیدی درون نمونه‌ها متعلق به حوض سلطان، نمک و بختگان و بیش‌ترین متعلق به ارومیه بود. در میزان تنوع نوکلئوتیدی بین نمونه‌ها کم‌ترین مقدار بین حوض‌سلطان با نمک و بیش‌ترین مقدار بین اینچه‌برون و شور با نوغ مشاهده‌شد. اختلاف‌نوکلئوتیدی‌بین نمونه‌ها نیز برای اینچه‌برون با شور کم‌ترین و برای اینچه‌برون و شور با نوغ بیش‌ترین مقدار به‌دست آمد. در فاصله تکاملی بین هاپلوتیپ‌ها بیش‌ترین مقدار به هاپلوتیپ‌های نوغ و میقان با هاپلوتیپ‌های اینچه‌برون و شور متعلق بود.

بحث و نتیجه‌گیری: بررسی جدایی جمعیت‌ها براساس فراوانی هاپلوتیپ‌ها تفاوت آماری‌معنی‌داری را به‌جز در مقایسه حوض‌سلطان با نمک و اینچه‌برون با شورنشان داد ($p<۰/۰۰۱$) و در سطح هاپلوتیپی امکان تفکیک جمعیتی آرتمیا در ایران به ۷ جمعیت حوض سلطان–نمک، میقان، مهارلو، بختگان، نوغ، ارومیه و اینچه‌برون–شور فراهم گردید.

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول:
hajirostamlo@marandiau.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱ دی ۱٤۰۳
تاریخ داوری: ۳ بهمن ۱٤۰۳
تاریخ اصلاح: ٤ فروردین ۱٤۰٤
تاریخ پذیرش: ۹ اردیبهشت ۱٤۰٤

[Downloaded from mail.journalaer.com on 2026-09-18]

مقدمه

آرتمیا یا میگوی آب‌شور (Order: Anostraca, Class: Branchiopoda) سخت‌پوست کوچکی است که در بخش‌های مختلفی از جهان جز در قطب شمال دیده می‌شود (۱۵). آرتمیا با سازش‌های فیزیولوژیک خاص مانند قابلیت سنتز هموگلوبین جهت جبران کمبوداکسیژن در محیط زیست، تولید سیست‌های مقاوم برای مقابله با شرایط نامساعد محیطی، داشتن سیستم تنظیم فشار اسمزی بسیار موثر و...به زندگی در آب‌های شور و بسیار شور سازش یافته و مجموعه‌ای است از ۹ گونه دوجنسی و تعداد زیادی جمعیت‌های بکرزا (با تفاوت‌های قابل توجه از نظر دستگی یا Ploidy) که همگی تحت عنوان *Artemia partenogenetica* نامیده می‌شوند (۴، ۲۵، ۲۳، ۳۳). تولیدمثل دوجنسی به‌عنوان نگهدارنده تفاوت‌های ژنتیکی در بین افراد یک جمعیت، توان زیست و پراکندگی در زیستگاه‌های مختلف را فراهم می‌کند و در تغییر شرایط محیطی سرعت تکامل را بالا می‌برد، پدیده بکرزایی دارای مزیت تولید آنی و سریع است و هر دو روش به دو شیوه تخمگذاری و زنده‌زایی انجام می‌گیرد (۲، ۱۲). آرتمیا به جهت تنوع ژنتیکی موجود در اشکال دو جنسی و بکرزا (با هم و در بین جمعیت‌ها)، وجود گونه‌های دارای تشابه مورفولوژیکی با تفاوت‌های قابل توجهی از نظر جدایی تولیدمثلی و استراتژی دوگانه تولیدمثلی (زنده‌زایی و تخمگذاری) پتانسیل بالایی جهت مطالعات تکاملی دارد و اثرات ناشی از تغییر خصوصیات و ترکیبات یونی آب بر جدایی اکولوژیک جمعیت‌ها، پراکنش سیست‌ها توسط باد، آب، پرندگان و مقاومت آن‌ها در مقابل تغییرات شرایط امکان مطالعه مقایسه‌ای جمعیت‌ها در مناطق مختلف را فراهم می‌کند (۱۳). مناطق پراکنش گونه‌های آرتمیا در مجموعه حوزه‌های آبریز دوازدگانه کشور شامل دریاچه ارومیه در استان آذربایجان‌غربی (واجد گونه دوجنسی *A. urmiana*)، آبگیر نوغ رفسنجان در استان کرمان (واجد گونه دوجنسی *A. franciscana*)، دریاچه‌های شور و اینچه‌برون در استان گلستان، دریاچه نمک و حوض سلطان در استان قم، آبگیر میقان اراک در استان مرکزی، دریاچه‌های مهارلو و بختگان در استان فارس که همگی دارای *A. partenogenetica* می‌باشند. دریاچه ارومیه در ۲۱ کیلومتری شرق شهر ارومیه بین ′۳۰ و °۳۷ عرض شمالی و ′۳۱ و °۴۵ طول شرقی قرار دارد. مساحت این دریاچه در حدود ۵۷۵۰ کیلومترمربع، طول آن ۱۳۰ تا ۱۴۶کیلومتر، عرض آن در پهن‌ترین قسمت ۵۸ کیلومتر و متوسط عمق در حدود ۶ متر است (۱۶). آبگیر نوغ در ۱۲۰ کیلومتری شمال غربی شهر رفسنجان با طول جغرافیایی ′۲۴ و °۶۱ شرقی و عرض ′۳ و °۳۱ شمالی می‌باشد. این آبگیر در مواقع پرآبی تا سطح ۶۰ هکتار را در بر می‌گیرد و عمق متوسط آن ۱/۵ متر و حداکثر ۵ متر گزارش شده است (۱۶). دریاچه شور بین ′۲۵ و °۳۷ عرض شمالی و ′۴۱ و °۵۴ طول شرقی، در شمال شهر گرگان و به فاصله ۶۰ کیلومتر از این شهر واقع شده است. این آبگیر دارای وسعت ۲۰۰ هکتار و در عمیق‌ترین نقاط در فصل تابستان تا حدود ۱/۵ متر و به‌طور متوسط ۰/۳ متر عمق دارد (۱۶). دریاچه اینچه برون با وسعت تقریبی ۶۰ هکتار در ′۲۷ و °۳۷ عرض شمالی و ′۴۴ و °۵۴ طول شرقی به فاصله ۴۵ کیلومتر از شمال شهر گرگان قرار دارد. حداکثر عمق این دریاچه ۱/۵ متر، عرض در باریک‌ترین نقطه ۲۵ متر و در پهن‌ترین نقطه ۱۰۰ متر می‌باشد (۱۶). دریاچه نمک در شمال شهر کاشان و جنوب شهر تهران با طول جغرافیایی ′۳۱ و °۵۱ و عرض جغرافیایی ′۲۰ و °۳۴ واقع شده است. طول این دریاچه ۸۰ کیلومتر، عرض تقریبی آن ۳۰ کیلومتر و مساحت تقریبی آن ۲۴۰۰ کیلومترمربع می‌باشد (۱۶). دریاچه حوض سلطان در شمال شهر قم و شرق شهر ساوه قرار گرفته وطول آن ′۵۳ و °۵۰ و عرض آن ′۵۷ و °۳۴ می‌باشد. مساحت دریاچه حوض‌سلطان ۱۰۶ کیلومترمربع، طول آن ۳۰ و عرض تقریبی آن ۱۵ کیلومتر می‌باشد (۱۶). آبگیر میقان در ۱۲ کیلومتری شمال شرق شهر اراک و ′۴۰ و °۴۹ طول شرقی و ′۵ و °۳۴ عرض شمالی قرار دارد، مساحت آن ۱۱۲ کیلومتر مربع و طول آن ۱۶ کیلومتر می‌باشد (۱۶). دریاچه مهارلو در ۲۰ کیلومتری جنوب شرق شیراز در ′۱۷ و °۲۹ عرض شمالی و ′۴۲ و °۵۲ طول شرقی با میانگین سطح ۶۰۰ کیلومترمربع، عمق متوسط حدود ۰/۵۵ متر، عرض ۱۵ کیلومتر و طول ۲۸ کیلومتر قرار دارد (۱۶). دریاچه بختگان در قسمت شرق شیراز قرار دارد، وسعت این دریاچه حدود ۳۱۲۰ کیلومتر مربع برآورد شده است. عمق آب دریاچه بختگان حداکثر حدود ۲ متر و به‌طور متوسط کم‌تر از ۴۰ سانتی‌متر بوده، طول آن حدود ۱۰۰ کیلومتر بوده در ′۳۰ و °۲۹ عرض شمالی و ′۵۵ و °۵۲ طول شرقی قرار گرفته است (۱۶).امروزه نشانگرهای آلوزایمی، mtDNA، ITs، RAPDs، AFLP، RFLP، SNP، DGGE و ریزماهواره‌ها از ابزارهای متداول برای شناسایی ارتباطات ژنتیکی جمعیت‌ها هستند. تکنیک PCR–RFLP نقش قابل توجهی در مطالعات مربوط به ساختار ژنومی موجودات داشته و از مطمئن‌ترین راه‌های مقایسه توالی یک ژن یا یک بخش از یک ژن خاص در میان افراد مختلف جمعیت‌های یک گونه و یا افراد متعلق به گونه‌های مختلف به‌شمار می‌رود (۱۰، ۱۴). روش RFLP به‌صورت موثری در بررسی ژن‌های میتوکندری مورد استفاده قرار گرفته (۴۱) و احتمال اشتباه در آن یک در میلیون است (۶) تا آن‌جاکه اختلافات بنیادی در بین سویه‌های بکرزا و دوجنسی آرتمیا ناشی از یک نوکلئوتید اختلاف توسط روش RFLP کشف شده است (۲۱). در این میان ژنوم میتوکندریایی به‌دلایل متعدد یک سیستم عمومی ژنتیکی برای مطالعات است: ژنوم

[Downloaded from mail.journalaer.com on 2026-09-18]

میتوکندری در ساختار و عملکرد در مقایسه با ژنوم هسته ساده است، حاوی اطلاعاتی است که در نشانگرهای هسته ای نگه داری نمی‌شوند، وراثت آن مادری است به‌همین دلیل و به‌دلیل نرخ سریع تکامل در اندازه‌گیری تفاوت ژنتیکی بین جمعیت‌ها کاربرد وسیعی دارد و کارآیی آن به‌عنوان گزینه‌ای مناسب جهت بررسی گونه‌زایی و شناسایی جمعیت های آرتمیا مورد تایید قرار گرفته است (۶، ۸، ۱۰، ۲۳، ۳۰، ۴۰، ۴۲). در این مطالعه برای طراحی پرایمر از ژن ۱۶S rRNA ژنوم میتوکندریایی استفاده شده است، مطالعات قبلی (۳، ۹، ۱۲، ۱۴، ۲۸) نشان می‌دهند این ژن از پتانسیل بالایی (به‌ویژه در مقایسه با سایر نشانگرهای میتوکندریایی نظیر COI و ۱۲S (۳) برای نشان دادن تنوع، تفاوت و نیز شباهت ژنتیکی آرتمیا برخوردار است. تقریباً تمام مطالعات صورت گرفته در زمینه ساختار و تنوع ژنتیکی گونه‌های آرتمیا در ایران (۱۲، ۱۷، ۲۵، ۳۵، ۳۶، ۴۵) مربوط به جمعیت‌های دریاچه‌های ارومیه، مهارلو، اینچه‌برون، نمک، ورمال، نوغ، طشک و بختگان بودند که برخی از این منابع آبی (ورمال و طشک) در مطالعه حاضر فاقد نمونه های زنده ارزیابی شدند و سایر منابع آبی مورد مطالعه در این تحقیق، قبلاً مورد بررسی قرار نگرفته‌اند. هم‌چنین در این مطالعات جمعیت‌های گونه‌های آرتمیا درون یک یا چند منبع آبی مورد مقایسه قرار گرفته‌اند و مطالعه‌ای که تمام منابع آبی واجد آرتمیا در کشور را در برداشته باشد و به مقایسه هر سه گونه گزارش شده از کشور پرداخته باشد، صورت نگرفته است. از سوی دیگر در برخی از مطالعات موجود (۱، ۲۵، ۴۵) نمونه‌برداری در محل دریاچه‌ها صورت نگرفته و نمونه‌ها به‌صورت سیست از بانک پژوهشکده آرتمیا تهیه شده‌اند که قدمت سیست‌ها نقش مهمی در ساختار ژنتیکی و میزان تنوع به‌دست آمده در این مطالعات دارد چرا که نتایج Asem و همکاران، نشان داده که در طی یک دهه به‌دلیل تغییر شرایط اکولوژیکی دریاچه ارومیه تنوع و ساختار ژنتیکی گونه *A.urmiana* به‌طور مشخص تغییر یافته است (۵). لذا مطالعه حاضر با هدف دستیابی به ساختار ژنتیکی، تعیین تفاوت‌ها در سطح مولکولی و جداسازی جمعیت‌های مختلف گونه های آرتمیا در ایران براساس PCR–RFLP با استفاده از ژن ریبوزومال مستقر بر ژنوم میتوکندریایی آرتمیا انجام گردیده است.

مواد و روش‌ها

طبق الگوی ارائه شده برای پراکنش آرتمیا در کشور نمونه‌ها از دریاچه‌های شور و اینچه برون در استان گلستان، دریاچه نمک و حوض سلطان در استان قم، آبگیر میقان اراک در استان مرکزی، دریاچه‌های مهارلو و بختگان در استان فارس، دریاچه ارومیه در استان آذربایجان غربی، آبگیر نوغ در استان کرمان پس از تعیین ایستگاه جمع‌آوری گردید. در هر ایستگاه نمونه‌برداری با تور با چشمه ۱۰۰ میکرون به شکل قیف، طول یک متر و قطر ۲۵ سانتی‌متر، به‌روش کشیدن به طول ۱۰۰ متر انجام و تشخیص دوجنسی یا بکرزا بودن نمونه‌ها و شناسایی گونه‌ها براساس دستورالعمل Browne و Halanych تعیین گردید (۱۱). نمونه‌های ایستگاه‌های مختلف هر منبع آبی باهم مخلوط و پس از شستشو، در اتانول خالص فیکس و به آزمایشگاه (پژوهشکده اکولوژی دریای خزر) منتقل گردید. استخراج DNA از ۳۵ عدد آرتمیا از هر جمعیت با سانتریفوژهای متوالی و به‌روش فنل کلروفرم (۱۸) انجام و غلظت و خلوص DNA استخراجی به روش اسپکتروفتومتری در طول موج ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر (Smart Spec TM RF 3000 BIO-RAD) تعیین و نمونه‌های در محدوده ۱/۸ الی ۲ g/mL برای ورود به واکنش PCR انتخاب شدند. کیفیت DNA استخراجی نیز به‌روش الکتروفورز با ژل آگارز ۱٪ در بافر TBE (1X) (Cinnagen) حاوی ۰/۵ g/ml اتیدیوم بروماید(Sigma)، با استفاده از اشعه UV و سیستم مستندسازی ژل مورد ارزیابی قرار گرفت. پرایمر براساس ترادف ژن ۱۶SrRNA از ژنوم میتوکندری *A. franciscana* (۴۳) به‌طول ۱۸ باز برای دو سر ژن طراحی، مورد آنالیز با نرم‌افزارهای DNA sis و Oligo قرار گرفته و برای سنتز به شرکت MWG-Biotech (کشور آلمان) سفارش داده شد که توالی آن به‌شرح زیر است:

Forward primer (ART-F): 5′-CCG GTC TGA ACT CAG ATC-3′
Reverse primer (ART-R): 5′-CTA GGA TTA GAT ACC CTA-3′

هر واکنش PCR با ۱ میکرولیتر DNA، ۲ میکرولیتر از هر یک از پرایمرها (با غلظت ۵۰pmol که به‌صورت ۱ به ۵ با آب مقطر رقیق شده)، ۰/۵ میکرولیتر dNTP (MBI Fermentas، حاوی ۱۰ میلی‌مول از هر یک از نوکلئوتیدهای خالص dGTP, dTTP, dATP, dCTP در بافری با pH = ۷/۵)، ۰/۵ میکرولیتر آنزیم Taq پلی مراز (Cinnagen، حاوی ۵ واحد Taq DNA Polymerase در هر میکرولیتر محلول)، ۵ میکرولیتر بافر PCR (10X) (Cinnagen، شامل ۵۰۰ Kcl میلی‌مولار و Tris-Hcl ۲۰۰ میلی‌مولار) و ۲ میکرویتر MgCl2 (Cinnagen، با غلظت ۵۰ میلی‌لیتر مولار) که حجم نهایی مجموعه با ۳۷ میکرولیتر آب مقطر (Nuclease Free) به ۵۰ میکرولیتر رسانده شده، با دستگاه ترموسایکلر (Corbett Research) طبق برنامه ذیل انجام گردید: ۴ دقیقه و ۳۰ ثانیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد برای واسرشته‌سازی اولیه، ۳۰ چرخه سه‌مرحله‌ای شامل ۱ دقیقه و ۱۵ ثانیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد برای واسرشته‌سازی، ۵۰ ثانیه در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد برای اتصال پرایمرها و ۱ دقیقه در دمای ۷۲ درجه برای توسعه، توسعه نهایی قطعات هدف نیز با یک چرخه ۴ دقیقه‌ای در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد انجام گردید. محصول PCR به روش

[Downloaded from mail.journalaer.com on 2026-09-18]

الکتروفورز با ژل آگارز ۱٪ مورد ارزیابی قرار گرفت و اندازه قطعات حاصل از PCR با مقایسه با مارکر DNA (Lambda DNA Marker,3، MBI Fermentas) بر روی ژل پلی آکریل آمید ۶٪ و با روش رنگ‌آمیزی با نیترات نقره به‌دست آمد. برای هر نمونه، l ۷-۴ از محصول PCR با ۱۰ آنزیم شامل آنزیم‌های AluI (با جایگاه ۴ جفت بازی برای برش و ایجاد انتهای چسبناک)، EcoRI (با جایگاه ۵ جفت بازی برای برش و ایجاد انتهای چسبناک)، Eco47I (با جایگاه ۵ جفت بازی برای برش و ایجاد انتهای چسبناک)، HaeIII (با جایگاه ۴ جفت‌بازی برای‌برش و ایجاد انتهای چسبناک)، HindIII (با جایگاه ۶ جفت بازی برای برش و ایجاد انتهای چسبناک)، HinfI (با جایگاه ۵ جفت بازی برای برش و ایجاد انتهای چسبناک)، MboI (با جایگاه ۴ جفت بازی برای برش و ایجاد انتهای صاف)، MspI (با جایگاه ۴ جفت بازی برای برش و ایجاد انتهای چسبناک)، RsaI (با جایگاه ۴ جفت بازی برای برش و ایجاد انتهای چسبناک) و TaqI (با جایگاه ۴ جفت بازی برای برش و ایجاد انتهای چسبناک) در درجه حرارت و مدت توصیه شده توسط شرکت سازنده (Thermo Fisher Scientific, USA) مورد هضم قرار گرفت. نمونه‌های هضم شده به انضمام ۲ میکرولیتر بافر ویژه بارگیری (Loading Buffers) (Bromophenol Blue) به‌طور جداگانه و همراه با مارکر DNA (50bp Ladder، MBI Fermentas) در ژل پلی‌آکریلامید ۶٪ ریخته شدند. باندهای حاصل از هضم پس از طی زمان الکتروفورز (۲/۵ تا ۳ ساعت با ولتاژ ۱۰۰ تا ۱۲۰ ولت) و رنگ‌آمیزی با روش نیترات نقره قابل رویت بودند که اندازه قطعات در مقایسه با مارکر (Ladder 50bp DNA، MBI Fermentas) به‌دست آمد. پس‌از هضم آنزیمی محصول PCR توسط ۱۰ آنزیم فوق‌الذکر، ژنوتیپ‌های مربوط به هر منطقه شناسایی و بر مبنای وجود یا عدم وجود قطعات مشابه برش خورده توسط هر آنزیم، باندهای حاصل کد گذاری شدند. به‌منظور محاسبه هاپلوتیپ‌ها، ژنوتیپ به‌دست آمده برای نمونه‌ها در اثر هضم با هر آنزیم با حروف (A, B, C, D, E, …) نامگذاری شده سپس جهت محاسبه هاپلوتیپ‌ها حروف‌مربوط به ژنوتیپ‌های ایجاد شده در کنار همدیگر قرار داده شده به‌طوری‌که تعداد حروف موجود در نمایش هاپلوتیپی نمایانگر تعداد آنزیم‌های به‌کار برده می‌باشد. این داده‌ها پس از موازنه یکسان صفات نوکلئوتیدی به‌منظور تعیین تنوع هاپلوتیپی و نوکلئوتیدی درون جمعیتی، تنوع و اختلاف نوکلئوتیدی بین جمعیت‌های احتمالی و فاصله ژنتیکی میان هاپلوتیپ‌های مختلف (۲۷) بانرم‌افزار Reap (Restriction Enzyme Analysis Package, version 4.0)(۲۶) آنالیز و فراوانی ناهمگنی (Heterogeneity) جغرافیایی هاپلوتیپ‌ها با آزمون مربع کای (X2) و شبیه‌سازی Monte-Carlo با هزار بار تکرار محاسبه گردیدند.

نتایج

پس از شناسایی، نمونه‌های دریاچه‌های شور، اینچه‌برون، نمک، حوض سلطان، میقان اراک، مهارلو و بختگان همگی بکرزا و از گونه *A. partenogenetica*، نمونه‌های دریاچه ارومیه دوجنسی و از گونه *A. urmiana*، نمونه‌های آبگیر نوغ دوجنسی و از گونه *A. franciscana* تشخیص داده شدند. بررسی باند DNA استخراجی با ژل آگارز ۱٪ و مشاهده تیزی و شدت باندهای تولید شده نشانگر کیفیت و کمیت قابل قبول برای استفاده در روند PCR و عدم وجود هر گونه آلودگی بود. بخش تکثیر یافته ژن ۱۶SrRNA ژنوم میتوکندری (با استفاده از آغازگرها و تکنیک PCR) بر روی ژل پلی آکریل آمید ۶٪ و در مقایسه با مارکر DNA (Lambda DNA Marker,3) مورد بررسی قرار گرفت. طول این قطعه (تقریبی) ۱۵۶۶ جفت‌باز بود که این اندازه در تمام نمونه‌ها مشابه بوده و اثری از پدیده هتروپلاسمی در آن‌ها دیده نشد. در این بررسی محصول PCR با ۱۰ آنزیم هضم گردید. هضم آنزیمی در شرایط کاملاً مطلوب انجام پذیرفت، تمام آنزیم‌ها موجب هضم DNA شدند و باندهای قطع شده از نظر کیفیت واضح و میانگین مجموع اندازه قطعات هضم شده با محصول نهایی PCR مطابقت داشت. هضم آنزیمی نمونه‌ها با آنزیم EcoRI الگوی مشابه و تنها یک‌نوع ژنوتیپ را در تمامی‌نمونه‌ها نشان‌داد. ۹ آنزیم‌محدودگر از ۱۰ آنزیم به‌کار رفته (AluI, Eco47I, HaeIII, HindIII, HinfI, MobI, MspI, RsaI, TaqI) الگوی چندشکلی جمعیتی‌را نشان دادند. چهار آنزیم HinfI, MobI, MspI, TaqI برای‌نمونه‌های *A. urmiana*، ۸ آنزیم AluI, Eco47I, HaeIII, HindIII, HinfI, MspI, RsaI, TaqIبرای نمونه‌های *A. partenogenetica* و ۳ آنزیم HaeIII, MspI, RsaI, برای *A. franciscana* الگوی چندشکلی جمعیتی‌را نشان‌دادند (جدول ۱) که نشانگر محل‌های شناسایی متفاوت بر روی توالی نوکلئوتیدی ژن مزبور بودند. استفاده از این آنزیم‌ها به‌طور متوسط حدود ۱۴۹ باز آلی را روی توالی این ژن مورد مطالعه و بررسی قرار داد (جدول ۲) که با توجه به طول قطعه تکثیر شده به‌نظر می‌رسد به‌طور متوسط ۱۰ ٪ از کل توالی قطعه ژن تکثیر شده مورد مطالعه قرار گرفته باشد.

[Downloaded from mail.journalaer.com on 2026-09-18]

جدول۱: الگوی هضم آنزیمی محصول PCR با آنزیم‌های پلی‌مورفیک

آنزیم‌های محدودگر	ژنوتیپ‌ها	توزیع الگوی چندشکلی در میان جمعیت‌ها								
		ارومیه	نوغ	اینچه‌برون	شور	بختگان	مهارلو	میقان	نمک	حوض‌سلطان
		A.urmiana	*A.franciscana*	*A.parthenogenetica*						
Msp I	A,B,C,D,E,F,G,H	A,E,F,G,H	C,D	A	A	A	A,B	A,B	A	A
Hinf I	A,B,C,D,E,F,G,H	A,E,F,G,H	D	A,B	A,B	B	A,B	C	A	A
Hind III	A,B	A	B	A	A	A	A	B	A	A
Eco47 I	A,B,C	A	C	B	B	A	A	C	A	A
Alu I	A,B,C	A	C	A	A	A	A	B	A	A
MboI	A,B,C,D,E	A,C,D,E	B	A	A	A	A	A	A	A
Hae III	A,B,C	A	A,C	A,B	A,B	A	A	A	A	A
Rsa I	A,B	A	A,B	A	A	A	A	A,B	A	A
Taq I	A,B,C,D,E	D,E	C	A,B	B	A,B	A,B	B	A	A

جدول ۲: محاسبه تعداد نوکلئوتیدهای بررسی شده از ژن مورد مطالعه با روش RFLP

میانگین تعداد بازهای بررسی شده	میانگین تعداد قطعات	کلاس آنزیمی
۱۰۱/۹۲	۲۵/۴۸	۴/۰
۰/۰۰	۰/۰۰	۴/۶
۳۰/۶۰	۶/۱۲	۵/۰
۰/۰۰	۰/۰۰	۵/۳

آنالیز RFLP از مجموع نهایی ژنوتیپ‌های حاصله برای ۹ آنزیم پلی‌مورفیک ۲۵ هاپلوتیپ متفاوت در جمعیت‌های مورد بررسی را نشان‌داد که همراه با فراوانی در جدول ۴ ملاحظه می‌گردند. کم‌ترین مقدار تنوع هاپلوتیپی درون جمعیتی در جمعیت‌های حوض‌سلطان، دریاچه نمک و بختگان و حداکثر مقدار آن در مهارلو، هم‌چنین کم‌ترین مقدار تنوع هاپلوتیپی درون گونه‌ای در *A. partenogenetica* و حداکثر مقدار آن در *A. urmiana* دیده شد (جدول ۳). کم‌ترین تنوع نوکلئوتیدی درون‌جمعیتی متعلق به جمعیت‌های حوض‌سلطان، دریاچه نمک و بختگان و بیش‌ترین تنوع متعلق به ارومیه بوده و کم‌ترین تنوع نوکلئوتیدی درون گونه‌ای در *A. partenogenetica* و بیش‌ترین مقدار در *A. urmiana* مشاهده گردید (جدول ۳). در میزان تنوع نوکلئوتیدی بین جمعیت‌های مورد بررسی هم‌چنان‌که در جدول ۴ آمده است کم‌ترین مقدار بین‌جمعیت‌های حوض‌سلطان و دریاچه نمک و بیش‌ترین مقدار بین جمعیت‌های اینچه‌برون و دریاچه‌شور با نوغ مشاهده شد، میانگین تنوع نوکلئوتیدی بین جمعیت‌ها نیز ۴/۷ درصد محاسبه گردید. در محاسبه اختلاف نوکلئوتیدی بین جمعیت‌های مورد بررسی (جدول ۴) حداقل و حداکثر اختلاف نوکلئوتیدی به‌ترتیب بین جمعیت‌های اینچه برون با دریاچه شور (۰/۰۲-٪) و جمعیت‌های اینچه برون و دریاچه شور با نوغ (۱۶/۱۸٪) دیده شد، میانگین‌اختلاف‌نوکلئوتیدی بین‌جمعیت‌ها نیز ۴/۲٪ محاسبه گردید. فاصله ژنتیکی میان ۲۵ هاپلوتیپ حاصل از آنالیز RFLP در جدول ۵ ارائه شده است. بیش‌ترین فاصله ژنتیکی بین هاپلوتیپ شماره ۵ (مشترک در اینچه‌برون و شور) با شماره ۱۷ (نوغ) به‌میزان ۰/۱۶۰۲ می‌باشد. در مجموع بیش‌ترین‌فاصله‌ژنتیکی به هاپلوتیپ‌های مختلف نوغ و میقان با هاپلوتیپ‌های اینچه برون و شور تعلق دارد. محاسبه میزان X^2 فراوانی ناهمگنی جغرافیایی پراکنش هاپلوتیپ ها بین جمعیت‌های مورد‌مطالعه نشان‌داد که جز جمعیت‌های دریاچه نمک با حوض‌سلطان به‌دلیل‌عدم‌مشاهده‌آنزیم پلی‌مورفیک و یکسان‌بودن هاپلوتیپ های حاصل و نیز دریاچه اینچه برون با دریاچه شور که تفاوت‌معنی‌داری بین پراکنش هاپلوتیپ‌های آن‌ها مشاهده نمی‌شود (X^2=۱۵/۲۷، P≥۰/۰۰۱). در سایر مقایسه‌ها جمعیت‌ها دارای تفاوت معنی‌داری در فراوانی هاپلوتیپ‌ها هستند (P≤۰/۰۰۱). در مجموع با توجه به مقادیر X^2 محاسبه شده و تفاوت های موجود در سطح هاپلوتیپی، مدارک کافی برای تفکیک جمعیتی آرتمیا در ایران به ۷ جمعیت‌جدا شامل جمعیت‌حوض‌سلطان-نمک، میقان اراک، مهارلو، بختگان، نوغ، ارومیه و اینچه‌برون- شور در اختیار قرار گرفت.

[Downloaded from mail.journalaer.com on 2026-09-18]

جدول۳: هاپلوتیپ‌های حاصل از هضم آنزیمی، پراکنش و فراوانی آن‌ها: تعداد نمونه‌ها (N)، تنوع هاپلوتیپی درون جمعیتی (h) و انحراف معیار، تنوع هاپلوتیپی درون گونه‌ای (h′) و انحراف معیار، درصد تنوع نوکلئوتیدی درون جمعیتی (n)، درصد تنوع نوکلئوتیدی درون گونه‌ای (n′)، تعداد کل هاپلوتیپ‌ها (T)

هاپلوتیپ	*A. parthenogenetica*							*A. franciscana*	*A. Urmiana*
	اینچه برون	شور	بختگان	مهارلو	میقان	نمک	حوض سلطان	نوغ	ارومیه
AAAAAAAAA (H1)	۳۵ (۱)	۳۵ (۱)	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
AAAAAAAAB (H2)	۰	۰	۰	۷(۰/۲۰)	۰	۰	۰	۰	۰
AAABAAAAA (H3)	۰	۰	۰	۰	۰	۱۰(۰/۲۸)	۱۰(۰/۲۸)	۰	۰
ABAAAAAAA (H4)	۰	۰	۰	(۰/۵۴) ۱۹	۰	۰	۰	۰	۰
AAABAABAA (H5)	۰	۰	۰	۰	۰	۴(۰/۱۱)	۴(۰/۱۱)	۰	۰
ABAAAAAAB (H6)	۰	۰	۰	۷(۰/۲۰)	۳۵ (۱)	۰	۰	۰	۰
ABABAAAAA (H7)	۰	۰	۰	۰	۰	۱۲(۰/۳۴)	۱۲(۰/۳۴)	۰	۰
AAABAABAB (H8)	۰	۰	۰	۰	۰	۹(۰/۲۵)	۹(۰/۲۵)	۰	۰
ACBCBAAAB (H9)	۰	۰	۵(۰/۵۴)	۰	۰	۰	۰	۰	۰
AAAAAAAAD (H10)	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۲۰(۰/۵۷)
BBAAAAAAA H(11)	۰	۰	۰	۲(۰/۰۵)	۰	۰	۰	۰	۰
BCBCBAAAB (H12)	۰	۰	(۰/۵۴) ۱۹	۰	۰	۰	۰	۰	۰
BCBCBAABB (H13)	۰	۰	(۰/۳۱) ۱۱	۰	۰	۰	۰	۰	۰
CDBCCBAAC (H14)	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۳(۰/۰۸)	۰
DDBCCBAAC (H15)	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۸(۰/۲۲)	۰
DDBCCBCAC (H16)	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۱(۰/۰۲)	۰
DDBCCBCBC (H17)	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۲۳(۰/۶۵)	۰
EAAAACAAD (H18)	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۲(۰/۰۵)
EAAAADAAD (H19)	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۱(۰/۰۲)
FEAAADAAD (H20)	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۱(۰/۰۲)
FEAAAEAAD (H21)	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۱(۰/۰۲)
FFAAAEAAE (H22)	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۱(۰/۰۲)
GFAAAEAAE (H23)	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۱(۰/۰۲)
GGAAAEAAE (H24)	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۴(۰/۱۱)
HHAAAEAAE (H25)	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۴(۰/۱۱)
N	۳۵	۳۵	۳۵	۳۵	۳۵	۳۵	۳۵	۳۵	۳۵
h	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۶۰۶	۰/۷۵۷	۰/۰۰۰	۰/۷۴۲	۰/۷۴۲	۰/۵۱۲	۰/۶۷۱
SE (%)	۰/۰۰	۰/۰۰	۵/۶۲	۴/۱۷	۰/۰۰	۳/۲۰	۳/۲۰	۸/۷۴	۹/۱۶
h′				۰/۴۰۶				۰/۵۱۲	۰/۶۷۱
SE (%)				۳/۸				۸/۷۴	۹/۱۶
n (%)	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۸۳	۰/۸۰	۰/۰۰	۰/۵۵	۰/۵۵	۰/۸۱	۰/۹۸
n′ (%)				۰/۳۹				۰/۸۱	۰/۹۸
T	۱	۱	۳	۴	۱	۴	۴	۴	۹

[Downloaded from mail.journalaer.com on 2026-09-18]

جدول ۴: تنوع (بالا) و اختلاف (پایین) نوکلئوتیدی بین جمعیت‌های مورد مطالعه

	حوض سلطان	نمک	میقان	مهارلو	بختگان	نوغ	اینچه برون	شور	ارومیه
حوض سلطان		۰/۰۰۰۰۰	۰/۰۷۷۰۰۳	۰/۰۰۸۳۹۰	۰/۰۱۱۷۹۶	۰/۰۹۶۰۶۵	۰/۰۰۹۵۲۰	۰/۰۰۹۵۲۰	۰/۰۱۳۱۵۳
نمک	۰/۰۰۰۰۰		۰/۰۷۷۰۰۳	۰/۰۰۸۳۹۰	۰/۰۱۱۷۹۶	۰/۰۹۶۰۶۵	۰/۰۰۹۵۲۰	۰/۰۰۹۵۲۰	۰/۰۱۳۱۵۳
میقان	۰/۰۷۲۸۲۷	۰/۰۷۲۸۲۷		۰/۰۶۵۱۳۱	۰/۰۵۹۱۷۸	۰/۰۹۲۹۳۸	۰/۱۱۷۳۹۱	۰/۱۱۷۳۹۱	۰/۰۷۲۳۴۶
مهارلو	۰/۰۰۴۳۸۳	۰/۰۰۴۳۸۳	۰/۰۵۶۹۴۷		۰/۰۰۵۶۹۷	۰/۰۹۸۸۵۲	۰/۰۱۴۵۶۷	۰/۰۱۴۵۶۷	۰/۰۱۴۵۴۶
بختگان	۰/۰۱۱۷۹۶	۰/۰۱۱۷۹۶	۰/۰۵۵۰۰۱	۰/۰۰۱۶۸۹		۰/۱۰۰۶۵۷	۰/۰۱۵۷۴۳	۰/۰۱۵۷۴۳	۰/۰۱۲۹۸۱
نوغ	۰/۰۹۱۹۶۹	۰/۰۹۱۹۶۹	۰/۰۸۴۶۶۶	۰/۰۹۰۷۴۸	۰/۰۹۶۵۶۱		۰/۱۴۱۲۸۹	۰/۱۴۱۲۸۹	۰/۰۹۶۸۹۱
اینچه برون	۰/۰۰۶۷۴۳	۰/۰۰۶۷۴۳	۰/۱۱۰۴۳۷	۰/۰۰۷۷۸۲	۰/۰۱۲۹۶۵	۰/۱۳۴۴۱۵		۰/۰۰۵۳۷۰	۰/۰۲۱۱۹۰
شور	۰/۰۰۶۷۴۳	۰/۰۰۶۷۴۳	۰/۱۱۰۴۳۷	۰/۰۰۷۷۸۲	۰/۰۱۲۹۶۵	۰/۱۳۴۴۱۵	-۰/۰۰۰۱۸۵		۰/۰۲۱۱۹۰
ارومیه	۰/۰۰۸۲۳۸	۰/۰۰۸۲۳۸	۰/۰۶۳۲۵۵	۰/۰۰۵۶۲۳	۰/۰۰۸۰۶۶	۰/۰۸۷۸۸۰	۰/۰۱۳۴۹۸	۰/۰۱۳۴۹۸	

	تنوع نوکلئوتیدی	اختلاف نوکلئوتیدی
میانگین	۰/۰۴۲۰۵۱ +/- ۰/۰۰۰۰۵۴	۰/۰۴۷۱۰۷ +/- ۰/۰۰۰۰۵۷۳
حداقل	-۰/۰۰۰۱۸۵	۰/۰۰۰۰۰
حداکثر	۰/۱۳۴۴۱۵	۰/۱۴۱۲۸۹

جدول ۵: میزان فاصله ژنتیکی میان هاپلوتیپ‌های مختلف براساس اطلاعات حاصل از قطعات هضم شده

	H1	H2	H3	H4	H5	H6	H7	H8	H9	H10	H11	H12	H13	H14
	H15	H16	H17	H18	H19	H20	H21	H22	H23	H24	H25			
H1														
H2	۰/۰۰۷۹													
H3	۰/۰۰۵۰	۰/۰۱۳۰												
H4	۰/۰۰۳۶	۰/۰۱۱۷	۰/۰۱۱۱											
H5	۰/۰۰۸۱	۰/۰۱۶۶	۰/۰۰۳۱	۰/۰۱۴۲										
H6	۰/۰۱۱۷	/۰۰۳۷	۰/۰۱۹۴	۰/۰۰۸۲	۰/۰۲۳۰									
H7	۰/۰۱۱۱	۰/۰۱۹۴	۰/۰۰۳۶	۰/۰۰۵۳	۰/۰۰۶۸	۰/۰۱۳۶								
H8	۰/۰۱۳۰	۰/۰۰۵۱	۰/۰۰۷۹	۰/۰۱۹۴	۰/۰۱۱۶	۰/۰۱۱۴	۰/۰۱۱۷							
H9	۰/۰۵۲۰	۰/۰۴۲۳	۰/۰۹۴۹	۰/۰۴۹۳	۰/۰۹۸۵	۰/۰۳۹۴	۰/۰۹۰۶	۰/۰۸۵۷						
H10	۰/۰۰۶۸	۰/۰۰۳۳	۰/۰۱۱۹	۰/۰۱۰۷	۰/۰۱۵۵	۰/۰۰۷۲	۰/۰۱۸۴	۰/۰۰۸۵	۰/۰۴۷۲					
H11	۰/۰۱۳۶	۰/۰۲۴۵	۰/۰۲۱۵	۰/۰۰۹۹	۰/۰۲۵۴	۰/۰۲۱۰	۰/۰۱۵۶	۰/۰۳۲۶	۰/۰۶۹۳	۰/۰۲۳۳				
H12	۰/۰۷۱۸	۰/۰۵۸۰	۰/۱۱۷۱	۰/۰۶۹۳	۰/۱۲۲۶	۰/۰۵۵۲	۰/۱۱۲۹	۰/۱۰۴۰	۰/۰۱۱۱	۰/۰۶۵۱	۰/۰۵۶۲			
H13	۰/۰۹۵۳	۰/۰۷۵۷	۰/۱۴۰۵	۰/۰۹۳۲	۰/۱۴۹۰	۰/۰۷۳۲	۰/۱۳۶۸	۰/۱۲۱۶	۰/۰۲۵۱	۰/۰۸۶۰	۰/۰۷۵۲	۰/۰۱۱۹		
H14	۰/۰۷۲۸	۰/۰۷۶۸	۰/۱۱۷۵	۰/۰۷۰۴	۰/۱۲۳۰	۰/۰۷۴۴	۰/۱۱۳۴	۰/۱۲۲۱	۰/۰۶۳۴	۰/۰۷۵۷	۰/۰۷۰۹	۰/۰۶۳۷	۰/۰۹۸۳	
H15	۰/۰۷۳۹	۰/۰۷۷۹	۰/۱۱۷۹	۰/۰۷۱۵	۰/۱۲۳۵	۰/۰۷۵۵	۰/۱۱۳۹	۰/۱۲۲۶	۰/۰۶۴۹	۰/۰۷۶۸	۰/۰۷۲۱	۰/۰۶۵۲	۰/۱۰۰۲	۰/۰۰۶۷
H16	۰/۰۸۰۱	۰/۰۸۴۶	۰/۱۲۳۵	۰/۰۷۷۸	۰/۱۲۹۷	۰/۰۸۲۴	۰/۱۱۹۷	۰/۱۲۸۷	۰/۰۷۳۰	۰/۰۸۳۵	۰/۰۷۸۸	۰/۰۷۳۹	۰/۱۱۵۰	۰/۰۱۱۱
	۰/۰۰۳۸													
H17	۰/۱۰۶۹	۰/۱۱۴۶	۰/۱۵۰۴	۰/۱۰۵۱	۰/۱۶۰۲	۰/۱۱۲۹	۰/۱۴۷۰	۰/۱۵۸۷	۰/۱۰۹۳	۰/۱۱۳۲	۰/۱۰۸۶	۰/۱۱۵۰	۰/۰۷۳۹	۰/۰۲۵۱
	۰/۰۱۵۶	۰/۰۱۰۷												
H18	۰/۰۱۴۷	۰/۰۱۰۸	۰/۰۱۹۹	۰/۰۱۸۷	۰/۰۲۴۰	۰/۰۱۴۷	۰/۰۲۶۵	۰/۰۱۶۰	۰/۰۵۷۱	۰/۰۰۷۰	۰/۰۲۶۸	۰/۰۹۲۷	۰/۰۷۰۷	۰/۰۶۷۱
	۰/۰۷۲۸	۰/۰۹۶۵	۰/۰۰۴۵											
H19	۰/۰۱۴۷	۰/۰۱۰۸	۰/۰۱۹۹	۰/۰۱۸۷	۰/۰۲۴۰	۰/۰۱۴۷	۰/۰۲۶۵	۰/۰۱۶۰	۰/۰۵۷۱	۰/۰۰۷۰	۰/۰۲۶۸	۰/۰۹۲۷	۰/۰۷۰۷	۰/۰۷۵۷
	۰/۰۷۱۸	۰/۰۷۷۹	۰/۱۰۴۳	۰/۰۰۴۵										
H20	۰/۰۱۸۲	۰/۰۱۴۳	۰/۰۲۵۷	۰/۰۲۴۱	۰/۰۲۹۷	۰/۰۲۰۳	۰/۰۴۰۵	۰/۰۲۲۰	۰/۰۵۲۷	۰/۰۱۰۷	۰/۰۳۵۸	۰/۰۶۹۳	۰/۰۹۳۲	۰/۰۷۵۵
	۰/۰۸۲۴	۰/۰۸۹۹	۰/۱۲۵۱	۰/۰۱۵۹	۰/۰۱۰۷									
H21	۰/۰۱۸۲	۰/۰۱۴۳	۰/۰۲۵۷	۰/۰۲۴۱	۰/۰۲۹۷	۰/۰۲۰۳	۰/۰۴۰۵	۰/۰۲۲۰	۰/۰۵۲۷	۰/۰۱۰۷	۰/۰۳۵۸	۰/۰۶۹۳	۰/۰۹۳۲	۰/۰۷۰۴
	۰/۰۷۶۷	۰/۰۸۳۶	۰/۱۱۴۳	۰/۰۱۵۹	۰/۰۱۵۹	۰/۰۰۴۴								
H22	۰/۰۲۱۴	۰/۰۱۷۶	۰/۰۳۲۰	۰/۰۲۴۱	۰/۰۳۹۵	۰/۰۲۰۳	۰/۰۴۰۵	۰/۰۲۸۳	۰/۰۵۲۷	۰/۰۱۴۰	۰/۰۳۵۸	۰/۰۶۹۳	۰/۰۹۳۲	۰/۰۷۰۴
	۰/۰۷۶۷	۰/۰۸۳۶	۰/۱۱۴۳	۰/۰۱۹۲	۰/۰۱۹۲	۰/۰۰۹۸	۰/۰۰۵۳							
H23	۰/۰۲۳۲	۰/۰۱۹۲	۰/۰۳۳۹	۰/۰۲۵۹	۰/۰۳۸۰	۰/۰۲۱۹	۰/۰۴۲۶	۰/۰۳۰۱	۰/۰۵۵۴	۰/۰۱۵۴	۰/۰۳۴۶	۰/۰۶۸۲	۰/۰۹۱۹	۰/۰۶۹۳
	۰/۰۷۰۴	۰/۰۷۶۷	۰/۱۰۳۸	۰/۰۱۸۱	۰/۰۱۸۱	۰/۰۱۶۲	۰/۰۱۱۱	۰/۰۰۵۷						
H24	۰/۱۰۹۲	۰/۰۱۵۳	۰/۰۲۵۹	۰/۰۲۴۵	۰/۰۲۹۹	۰/۰۲۰۶	۰/۰۳۶۰	۰/۰۲۲۱	۰/۰۶۰۶	۰/۰۱۱۶	۰/۰۳۲۸	۰/۰۷۳۳	۰/۰۹۶۲	۰/۰۷۴۳
	۰/۰۷۵۳	۰/۰۸۱۳	۰/۱۰۷۵	۰/۰۱۴۲	۰/۰۱۴۲	۰/۰۱۵۵	۰/۰۱۰۶	۰/۰۱۴۱	۰/۰۰۸۶					
H25	۰/۰۳۱۷	۰/۰۲۷۱	۰/۰۴۲۵	۰/۰۳۰۵	۰/۰۴۷۳	۰/۰۲۵۸	۰/۰۴۰۶	۰/۰۳۸۱	۰/۰۵۴۴	۰/۰۲۲۷	۰/۰۴۱۵	۰/۰۶۷۱	۰/۰۹۰۶	۰/۰۵۵۲
	۰/۰۵۶۲	۰/۰۶۱۳	۰/۰۸۱۲	۰/۰۲۹۲	۰/۰۲۹۲	۰/۰۳۱۱	۰/۰۲۴۸	۰/۰۲۰۷	۰/۰۱۹۶	۰/۰۲۲۳				

[Downloaded from mail.journalaer.com on 2026-09-18]

بحث

یکی از راه‌های بررسی ساختار ژنتیکی آبزیان، شناسایی تحولات درون گونه ای و ویژگی های جمعیتی می باشد. امروزه هدف اصلی آزمایشات ژنتیک مولکولی در آبزیان، آنالیز ساختار جمعیتی، تنوع ژنتیکی، ارتباطات گونه‌ای، سیستماتیک و طبقه‌بندی آن‌ها می‌باشد (۲۰، ۳۴). در زمینه ژنتیک مولکولی ره یافت‌های مختلفی ارائه شده است که به‌واسطه آن‌ها بررسی ساختار ژنتیکی و شناسایی جمعیت‌های ژنتیکی فراهم گردیده است از آن جمله می‌توان به‌روش PCR- RFLP اشاره نمود که می تواند جهت دستیابی به شاخص تفکیکی بین جمعیت‌ها و روابط ژنتیکی موجود بین گونه‌ها به‌کار برده شود (۱۴). در مطالعات مقایسه‌ای در بی‌مهرگان، از آرتمیا به‌عنوان الگوی تکاملی استفاده می‌شود، از فواید استفاده از آرتمیا قابلیت دسترسی، هزینه نسبتاً پایین نمونه، آداپتاسیون سریع با شرایط آزمایشگاهی و آگاهی از جنبه بیوشیمیایی ارگانیسم می‌باشد (۱۲). در طول سال‌ها، تجزیه و تحلیل 16SrRNA-RFLP ثابت کرده است که تکنیکی قابل اعتماد و مقرون به‌صرفه برای غربالگری ژنتیکی جمعیت آرتمیا است (۹). بررسی گونه‌ها در جنس آرتمیا براساس آنالیز DNA میتوکندریایی در نمونه‌های دوجنسی *A. franciscana* و *A. Salina* و دو جمعیت پارتنوژنز از کشور اسپانیا (۳۰) میزان بالای اختلاف در سطح نوکلئوتیدی را نشان داد (به‌طور متوسط ۱۵٪). فاصله ژنتیکی بین دو جمعیت *A. partenogenetica* بالا بوده و آن‌ها ارتباط واضحی را با هیچ‌کدام از نمونه‌های دوجنسی نشان ندادند. این محققین هم‌چنین وجود پلی‌مورفیسم در نمونه‌های *A. franciscana* را گزارش نمودند. استفاده هم‌زمان از مارکرهای مولکولی و نشانگرهای مورفولوژیک در این تحقیق نشان داد که تمام نمونه‌های آرتمیای مورد مطالعه حتی آرتمیاهای پارتنوژنز به جمعیت‌های متفاوت تعلق داشتند. نگاهی به اعداد جداول ۵ و ۶ نیز از وجوداختلاف نوکلئوتیدی و فاصله ژنتیکی قابل‌توجه در سطح ژنوم میتوکندریایی بین جمعیت‌های دوجنسی و پارتنوژنز آرتمیا در ایران حکایت‌دارد. Kappas و همکاران، در مطالعه DNA میتوکندریایی *A. franciscana* به‌روش RFLP در جمعیت‌های ویتنام، تنوع هاپلوتیپی درون جمعیتی را به‌طور میانگین ۰/۳۱۹ و تنوع نوکلئوتیدی درون جمعیتی را ۰/۳۹٪ به دست آوردند. آن‌ها تنوع نوکلئوتیدی بین جمعیت‌ها را ۰/۰۰۲ و اختلاف نوکلئوتیدی بین جمعیت‌های مورد بررسی را نیز ۰/۰۰۰۰۸ گزارش کردند که نتایج به‌دست‌آمده برای جمعیت *A. franciscana* در این مطالعه نیز نشانگر وجود تنوع هاپلوتیپی و نوکلئوتیدی درون جمعیتی و تنوع و اختلاف نوکلئوتیدی بین جمعیتی قابل توجهی می باشد. در سال ۲۰۰۴ جمعیت‌های آرتمیای موجود در شیلی توسط Gajardo و همکاران براساس آنالیز RFLPی mtDNA بررسی و تنوع بین نمونه های *A. franciscana* را ۱/۵٪ برآورد نمودند (۱۴) که با نتایج تحقیق حاضر درخصوص نمونه‌های آبگیر نوغ هم‌سو می‌باشد، گرچه تفاوت در شرایط زیست‌محیطی بر مقدار عددی پارامترهای بررسی شده تاثیرگذار هستند و وجود تفاوت‌های مقداری احتراز ناپذیر است. Baxevonis و همکاران با استفاده از نشانگر PCR-RFLP ژن 16SrRNA را در آرتمیاهای دوجنسی را مورد مطالعه قرار دادند و تنوع درون گونه‌ای در *A. franciscana* را ۰/۰۷۵٪ و در *A. urmiana* را ۰/۸٪ گزارش کردند (۷). آن‌ها هم‌چنین در سال ۲۰۱۴ با مطالعه ۲۷ جمعیت آرتمیا در جنوب‌آفریقا براساس RFLP۱۶sRNA ضمن گزارش وجود همزیستی نمونه‌های دوجنسی و بکرزا، تنوع‌هاپلوتیپی درون‌جمعیتی را بین ۰/۰۲۲ تا ۰/۰۹۳ مشاهده نمودند(۹)، که نتایج مطالعه حاضر با هردو مطالعه هم‌راستا می‌باشد و به‌نظر می‌رسد تفاوت در اعداد به تفاوت در گونه‌هاو شرایط اقلیمی حاکم براکوسیستم‌های‌مورد مطالعه برمی‌گردد. در مطالعه تنوع ژنوم mt DNA و با تکنیک PCR-RFLP در جمعیت‌های بالغ *A. urmiana*، ۴ آنزیم از ۱۱ آنزیم‌های استفاده شده پلی‌مورفیسم جمعیتی را نشان دادند و میانگین تنوع درون جمعیتی آرتمیا ۰/۵۶٪ به‌دست آمد (۱۲). با توجه به تشابه در روش و ژن مورد‌مطالعه، تعداد آنزیم‌های پلی‌مورفیک و فراوانی هاپلوتیپ‌ها و مقدار عددی تنوع گزارش شده با مطالعه حاضر مطابقت دارد. Manaffar و همکاران، با استفاده از نشانگر RFLP به مطالعه اگزون شماره ۷ از زیر واحد 2 ژن Na/K ATPase پرداخته و ضمن گزارش وجود اختلاف یک SNP بین آرتمیاهای دو جنسی و پارتنوژنز، با بررسی فاصله ژنتیکی بین آرتمیاهای دو جنسی و پارتنوژنز کم‌ترین فاصله ژنتیکی را بین *A. urmiana* با جمعیت‌های پارتنوژنز گزارش نمودند (۲۱) که علی‌رغم تفاوت در ژن مورد مطالعه نتایج تحقیق حاضر به جهت‌نزدیکی ژنتیکی *A. urmiana* و جمعیت‌های پارتنوژنز هم‌راستا با مطالعه ایشان می‌باشد. در مطالعه جمعیت آرتمیای موجود در نمک زارهای ساحلی کنیا Ogello و همکاران، براساس آنالیز PCR-RFLP قطعه‌ای از ناحیه 12S-16S ژنوم میتوکندریایی، تنوع هاپلوتیپی درون جمعیتی را برای تمام جمعیت‌ها به‌جز یک جمعیت (که مقدارش ۰/۷۶ بود) برابر با صفر مشاهده کردند، وجود هاپلوتیپ‌های منحصر به‌فرد در جمعیت‌های مورد مطالعه در این تحقیق به‌عنوان شواهدی از وجود تمایز ژنتیکی گزارش گردید(۲۸). وجود نتایج مشابه درخصوص جمعیت‌های ایران با توجه به تشابه قطعه‌ژن و روش آنالیز منطقی به نظر می‌رسد و مشابه با تحقیق فوق وجود هاپلوتیپ‌های منحصر به فرد را می توان دلیل وجود تمایز ژنتیکی در برخی از جمعیت‌ها نظیر ارومیه دانست. Subramani و همکاران در مطالعه تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیتی *A. franciscana* در جمعیت‌های

[Downloaded from mail.journalaer.com on 2026-09-18]

سواحل جنوبی هند براساس آنالیز ناحیه CR ژنوم میتوکندریایی به روش توالی‌یابی میانگین تنوع هاپلوتیپی و نوکلئوتیدی در جمعیت‌های مورد مطالعه را به‌ترتیب ۰/۷۴ و ۹/۰۱۲ و اختلاف نوکلئوتیدی بین جمعیت‌ها را بین ۰/۰۰۳ تا ۰/۰۱۶ نشان دادند. آن‌ها هم چنین وجود هاپلوتیپ‌های منحصر به‌فرد را در جمعیت‌های بررسی شده گزارش نمودند (۴۰) که با نتایج حاضر درخصوص نمونه‌های آبگیر نوق مطابقت دارد. Hami Tabari و همکاران، در تعیین ساختار ژنتیکی جمعیت آرتمیای دریاچه اینچه برون از ژن COI و روش PCR-RFLP استفاده کرده و با محاسبه تنوع هاپلوتیپی درون جمعیتی (بین ۰/۵۷۱ تا ۰/۵۸۸)، تنوع نوکلئوتیدی درون جمعیتی (بین ۰/۰۱۵ تا ۰/۰۲۴)، تنوع نوکلئوتیدی بین جمعیتی (۰/۰۲۳۳) و اختلاف نوکلئوتیدی بین جمعیتی (۰/۰۰۱۶) و نیز عدم وجود اختلاف معنی‌دار در فراوانی هاپلوتیپ‌ها نتیجه گرفتند که آرتمیا در این دریاچه دارای جمعیت واحد می‌باشد (۱۷). گرچه گذشت زمان و سخت شدن شرایط اقلیمی حاکم بر اکوسیستم که باعث کاهش تنوع در درون جمعیت‌ها می‌شود (۴۳) را می‌توان دلیل تفاوت در میزان تنوع و اختلاف گزارش شده در این تحقیق و مطالعه فوق دانست ولی نقش نوع ژن به‌کار رفته جهت مطالعه در بروز تفاوت در نتایج مطالعه حاضر و تحقیق فوق قابل اغماض نیست. تنوع ژنتیکی سیست‌های مربوط به جمعیت *A. urmiana* از دریاچه ارومیه و *A. franciscana* از آبگیر نوغ (تهیه شده از بانک سیست پژوهشکده آرتمیا) توسط Zeynalpour و همکاران، به کمک ریزماهواره‌ها بررسی گردید. این محققین با محاسبه تعداد آلل‌ها و محتوای اطلاعات چندشکلی (به ترتیب گونه‌ها ۳، ۰/۵۴۲۱ و ۲/۵، ۰/۳۸۳۳) و محاسبه میانگین ناهمگنی (به ترتیب گونه‌ها ۰/۶۲۰۹ و ۰/۴۰۳۱) دریافتند که این جمعیت‌ها از ترکیب ژنتیکی مناسبی برخوردار هستند (۴۵). علی‌رغم تفاوت در روش مطالعه وجود تنوع ژنتیکی در بین نمونه‌های دو جنسی آرتمیای کشور را می‌توان وجه مشترک مطالعه حاضر و مطالعه فوق دانست. Agh و همکاران به مطالعه سیست‌های یک جمعیت دوجنسی و پنج جمعیت پارتنوژنز در ایران (تهیه شده از بانک سیست پژوهشکده آرتمیا) پرداخته و آن‌ها را به جهت ویژگی‌های ژنتیکی و مورفومتریک مقایسه کردند. مطالعات ژنتیکی آن‌ها که روی قطعه‌ای ۱۵۰۰ جفت بازی از ژنوم میتوکندریایی به‌روش RFLP با دو آنزیم *HpaII* و *NaeII* انجام شده الگوی مشابه برای تمام جمعیت‌های مورد مطالعه را نشان داد و تفاوتی بین آن‌ها گزارش نگردید (۱). گرچه تفاوت در شرایط اقلیمی حاکم بر اکوسیستم آرتمیا در بازه‌های زمانی مختلف می‌تواند بر میزان تفاوت‌های ژنتیکی موثر باشد (۴۵) ولی تعداد کم آنزیم‌های به‌کار رفته در مطالعه از یک‌سو و استفاده از سیست‌ها که ممکن است مدت‌طولانی از نگه‌داری آن‌ها گذشته باشد حسب نظر Asem و همکاران، می‌تواند بر تفاوت نتایج مطالعه فوق و مطالعه حاضر موثر باشد (۵). چهار نشانگر مولکولی شامل ژن‌های Na/K ATPase و 2S-16S (با روش PCR-RFLP) و دو ناحیه COI و HSP26 را به‌روش تعیین توالی در نمونه‌های غیربومی و دوجنسی دریاچه طشک و بختگان مورد بررسی قرار گرفتند. Shafaie و همکاران، ضمن تاکید بر توانایی روش‌های مولکولی استفاده شده جهت شناسایی، گونه غیربومی را به‌عنوان *A. franciscana* شناسایی نمودند. مشابه با گزارش فوق در مطالعه حاضر نیز مشاهده گردید روش PCR-RFLP و ژن 16S قادر به شناسایی گونه *A. franciscana* می‌باشد ولی از آن‌جا که هدف مطالعه حاضر بررسی جمعیت‌های بومی منابع آبی کشور بود نمونه‌های پارتنوژنز و بومی این منبع آبی در مطالعه لحاظ شدند. در سال ۲۰۱۴، Moosavi Toomatari و همکاران با استفاده از اگزون شماره ۷ از ژن Na/K ATPase، به بررسی تنوع ژنتیکی در سیست‌های مربوط به جمعیت‌های آرتمیا در دریاچه‌های ارومیه، اینچه برون و مهارلو (تهیه شده از بانک سیست پژوهشکده آرتمیا) در مقایسه با دو جمعیت غیربومی *A. franciscana* و *A. sinica* به روش‌های PCR-RFLP و DGGE پرداختند. آن‌ها با محاسبه فاصله ژنتیکی، کم‌ترین مقدار را بین *A. urmiana* و نمونه‌های پارتنوژنز (۰/۰۲۳ و ۰/۲۹۲) و بالاترین فاصله را بین *A. franciscana* و *A. sinica* (۰/۷۲۶) گزارش کردند (۲۵). علی‌رغم تفاوت در ژن مورد مطالعه، در تحقیق حاضر نیز گونه دوجنسی *A. urmiana* در مقایسه با *A. franciscana* دارای فاصله ژنتیکی کم‌تری نسبت به نمونه‌های پارتنوژنز مشاهده شده است. طبق نتایج مطالعه حاضر، میزان فراوانی هاپلوتیپ غالب در مناطق مختلف یکسان نیست و وجود تعداد فراوان هاپلوتیپ نشان می‌دهد که تنوع در ژنوم میتوکندریایی آرتمیا در مناطق مورد مطالعه بالا است. این نتیجه با آن‌چه که برای موجودات با قابلیت پراکنش وسیع بیان شده است مشابهت دارد (۱۴). میزان تنوع هاپلوتیپی درون جمعیتی در نمونه‌های جمع‌آوری شده از جمعیت‌های موجود در مناطق مختلف محاسبه گردیده است (جدول ۴). تراز تنوع هاپلوتیپ می‌تواند از صفر (تمام افراد جمعیت دارای هاپلوتیپ یکسان) تا یک (همه افراد جمعیت دارای هاپلوتیپ‌های متفاوت) متغییر باشد. همان طور که قبلاً ذکر شد با آن‌که تنوع‌پذیری mt DNA در جمعیت‌های مورد مطالعه بالا است، به‌نظر می‌رسد در تعدادی از مناطق وجود جمعیت‌های مشابه و گاهی یک‌دست و یکنواخت طبق نظر Silberman و همکاران، ناشی از عواملی نظیر چرخه زندگی کوتاه و پراکنش وسیع آرتمیا توسط عواملی نظیر باد (که می‌توانند از زیر تقسیم ژنتیکی بین جمعیت‌ها جلوگیری کنند) باشد و گرچه فاصله اندک بین تعدادی از مناطق مورد مطالعه خود عامل دیگری برای همگنی ژنتیکی است، نقش پرندگان مهاجر را نیز به عنوان فاکتور اصلی همگن نمودن

[Downloaded from mail.journalaer.com on 2026-09-18]

پراکنش جمعیت ها نباید از نظر دور داشت (۳۲). مشخص شده است که اگر دو کمیت برابر باشند شاخص تنوع ژنی آن ها صفر یا نزدیک به صفر خواهد بود (۳۰)، لذا عدم وجود تنوع نوکلئوتیدی در جمعیت‌های حوض سلطان و دریاچه نمک ممکن است نمایانگر این مطلب باشد که این نمونه‌ها از یک ذخیره ژنتیکی واحد (افراد مربوط به یک جمعیت) برداشته شده‌اند (۳۹). از سوی دیگر معنی‌دار بودن تفاوت‌های عددی در میزان تنوع و اختلاف نوکلئوتیدی بین جمعیت‌ها دلیل بر محدود بودن جریان ژنی بین آن‌هاست (۲۹)، بنابراین عدم وجود تفاوت در تنوع و اختلاف نوکلئوتیدی حوض سلطان و دریاچه نمک نیز به‌دلیل جریان ژنی بین این جمعیت‌ها در مناطق پراکنش آن‌ها بوده و یا این‌که چون این نمونه‌ها جمعیت‌هایی قدیمی محسوب می‌شوند بنابراین به ثبات ژنتیکی رسیده و به اندازه سایر هاپلوتیپ‌ها پویا نمی‌باشند. لازم به ذکر است که عدد صفر نشانگر عدم وجود تنوع نوکلئوتیدی یا هاپلوتیپی درون یا میان جمعیت‌های مورد مطالعه و علامت منفی بعضی از ارقام مربوط به میزان اختلاف نوکلئوتیدی بین جمعیت‌ها نمایانگر آن است که مقدار تنوع بین این جمعیت‌ها بزرگ‌تر از اختلاف بین آن‌ها بوده و بنابراین جدایی اندکی میان این جمعیت ها به چشم می خورد (۴۴). نتایج حاصل از هضم آنزیمی هم‌چنین نشانگر وجود تفاوت‌های قابل ملاحظه بین نمونه‌های نوغ و سایر مناطق و شباهت های قابل مقایسه با گونه ای که طراحی پرایمر از ژنوم آن صورت گرفته (آرتمیا فرانسیسکانا) می‌باشد که نشانگر حضور این گونه خارجی در این آبگیر است. چنان‌که در جدول ۶ ملاحظه می گردد در برخی موارد میان جمعیت هایی که از لحاظ خصوصیات ظاهری، تولیدمثلی، زیستگاهی و... مجزا هستند فاصله ژنتیکی اندکی وجود دارد. به‌عنوان مثال می توان به فاصله ژنتیکی کوتاه در هاپلوتیپ‌های ۱ (مشترک در حوض‌سلطان و دریاچه نمک) و ۳ (از مهارلو) اشاره کرد. این امر احتمالاً می تواند مبین این مطلب باشد که ایجاد فاصله ژنتیکی بسیار اندک برای تمایز هاپلوتیپ‌ها از یکدیگر کفایت می نماید (۳۴). از طرفی ملاحظه می گردد که در میان هاپلوتیپ های گوناگون یک جمعیت فاصله ژنتیکی قابل توجه وجود دارد به‌عنوان مثال می توان به فاصله هاپلوتیپ‌های ۲۰ و ۲۵ ارومیه اشاره کرد. این مطلب احتمالاً بر این امر دلالت دارد که این جمعیت ها، جمعیت هایی پویا و درحال تغییر و تبدیل هستند لذا هنوز به یکنواختی و ثبات ژنتیکی نرسیده‌اند (۳۴)، البته اعداد مربوط به تنوع هاپلوتیپی و تنوع نوکلئوتیدی که در جدول ۴ ذکر گشتند نیز موید همین مطلب بودند. آنالیز X^2 برای سنجش ناهمگنی پراکنش هاپلوتیپ‌ها در بیش‌تر مناطق (جز نمونه‌های حوض‌سلطان و نمک، اینچه‌برون و شور که جمعیت‌های یکسانی هستند) اختلاف معنی‌داری را نشان داده بنابراین در سطح هاپلوتیپی مدارک کافی از جدایی جمعیت‌های مناطق مورد مطالعه مشاهده می‌شود.

نتیجه گیری: براساس نتایج حاصل به نظر می رسد به جهت تفاوت‌های اقلیمی محیط و تفاوت‌های فیزیکوشیمیایی آب، مناطق مختلف کشور جمعیت‌های متفاوتی از آرتمیا را در خود جای داده‌اند. بنابراین برای اولین‌بار در کشور وجود ۷ جمعیت متفاوت آرتمیا شامل جمعیت حوض سلطان- نمک، جمعیت میقان اراک، جمعیت مهارلو، جمعیت بختگان، جمعیت نوغ، جمعیت اینچه برون- شور و جمعیت ارومیه گزارش می گردد.

تشکر و قدردانی

این تحقیق با همکاری و حمایت مالی موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور انجام شده است.

منابع

1. **Agh, N., Bossier, P., Abatzopoulos, T.J., Beardmore, J.A., Van Stappen, G., Mohammadyari, A., Rahimian, H. and Sorgeloos, P., 2009.** Morphometric and preliminary genetic characteristics of *Artemia* populations from Iran, internatnational review. *Hydrobiology*. 94(2): 194-207. doi: 10.1002/iroh.200811077.
2. **Asem, A. and Rastegar-Pouyani, N., 2008.** Morphological differentiation of *Artemia urmiana* Günther, 1899 (Crustacea: Anostraca) in different geographical stations from the Urmia Lake, Iran. *Research Journal of Biological Sciences*. 3(2): 222-228. ISSN: 1815-8846
3. **Asem, A., Eimanifar, A. and Sun, S.C., 2016.** Genetic variation and evolutionary origins of parthenogenetic *Artemia* (Crustacea: Anostraca) with different ploidies. *Zoologica Scripta*. 45: 421-436. doi: 10.1111/zsc.12162
4. **Asem, A., Eimanifar, A., Li, W., Wang, P.Z., Brook, S.A. and Wink, M., 2018.** Phylogeography and population genetic structure of an exotic invasive brine shrimp, *Artemia* Leach, 1819 (Crustacea: Anostraca), in Australia. *Australian Journal of Zoology*. 66: 307-316. doi: 10.1071/ZO18077
5. **Asem, A., Eimanifar, A., Van Stappen, G. and Sun, S.C., 2019.** The impact of one-decade ecological disturbance on genetic changes: a study on the brine shrimp *Artemia urmiana* from Urmia Lake, Iran. Peer J-life & environment. 7: e7190. 10.7717/peerj.7190
6. **Avise, J.C., 2004.** Molecular markers, natural history and evolution. Massachusetts: Sinauer Associates Inc Publishers.
7. **Baxevanis, A.D., Triantaphyllidis, G.V., Kappas, I., Triantaphillidis, I., Triantaphyllidis, D.C. and Abatzopoulos, T.J., 2005.** Evolutionary assessment of *Artemia tibetiana* (Crustacea, Anostraca) based on morphometry and 16S rRNA RFLP analysis. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*. 43: 189-198. doi: 10.1111/j.1439-0469.2005.00309.x
8. **Baxevanis, A.D., Kappas, I. and Abatzopoulos, T.J., 2006.** Molecular phylogenetics and asexuality in the brine shrimp *Artemia*. Molecular Phylogenetics and Evolution.

[Downloaded from mail.journalaer.com on 2026-09-18]

Kornfield, J., 1991. REAP, The restriction enzyme analyses package, version4.0. Orono: University of Main.

23. **Mohebbi, F., Dadashpour, B., Seidgar, M., Alizadeh Osalou, Zh. and Rouhdad Golmankhaneh, Y., 2022.** The effect of Urmia Lake water withdrawal on *Artemia urmiana* population structure. *Journal of Animal Environment.* 13(4): 329-336. doi: 10.22034/AEJ.2020. 252122.2373 (In Persian)

24. **Mondal, D. and Mandal, N., 2020.** Molecular phylogeny of mitochondrial DNA: shrimp species identification by multiplex and real-time PCR. *Food Control*. 108: 106868. doi: 10.1016/j.foodcont.2019.106868

25. **Moosavi Toomatari, G., Manaffar, R. and Zare, S., 2014.** DGGE technique application to study genetic diversity of Na^{+}/K^{+} ATPase gene among *Artemia* populations. *Modern Genetics*. 9(4): 411-418. (In Persian)

26. **Naganawa, H. and Mura, G., 2017.** Two new cryptic species of *Artemia* (Branchiopoda, Anostraca) from Mongolia and the possibility of invasion and disturbance by the aquaculture industry in East Asia. *Crustaceana*. 90: 1679-1698. doi: 10.1163/15685403-00003744

27. **Nei, M., 1987.** Molecular Evolutionary Genetics. New York: Columbia University Press.

28. **Ogello, E.O., Nyonje, B.M. and Van Stappen, G., 2014.** Genetic differentiation of *Artemia franciscana* (Kellogg, 1906) in Kenyan coastal saltworks. *International Journal of Advanced Research*. 2(4): 1154-1164. doi: 10.13140/2. 1.1200.2886

29. **Ovenden, J.R., 1990.** Mitochondrial DNA and marine stock assessment: a review. *Australian journal of Marine and Freshwater Research*. 41: 835-853. doi: 10.1071/MF 9900835

30. **Ovenden, J.R. and Brasher, D.J.,** Stock identity of the red (*Jasus edwardsii*) and green (*Jasus verreauxi*) rock lobsters from mitochondrial DNA analysis. In: Phillips, B.F., Cobb, J.S. and Kittaka, J., 1994. Editors. Spiny Lobster Management. Cambridge: Blackwell Scientific. 230-249.

31. **Perez, M.L., Valverde, J.R., Batuecas, B., Amat, F., Marco, R. and Garesse, R., 1994.** Speciation in the *Artemia* genus: Mitochondrial DNA analysis of bisexual and parthenogenic brine shrimps. *Journal of molecular evolution*. 38:156-168. doi: 10.1007/BF00166162

32. **Persoone, G. and Sorgeloos, P., 1980.** General aspects of the ecology and biogeography of *Artemia*. In: Persoone, G., Sorgeloos, P., Roels, O. and Jaspers, E., 1980. editors. The brine shrimp *Artemia. Ecology, Culture, Use in Aquaculture*. Wettern: Universa Press. 3: 3-24.

33. **Ravantab, N., Ghasemi, Z. and Johari, S.A., 2024.** The effect of silver nanoparticles on the toxicity of mercury in *Artemia salina* (Linnaeus, 1758) in simultaneous and individual exposure. *Journal of Animal Environment*. 15(4): 293-300. doi: 10.22034/AEJ.2023.387227.2937 (In Persian)

34. **Rezvani Gilkolaei, S., 1997.** Molecular population genetic studies of sturgeon species in the south Caspian Sea. Ph. D Thesis. University of wales. 270 p.

35. **Shafaie, S., Zare, S., Manaffar, F. and Falahati, A., 2012.** Report for the Occurrence of *Artemia franciscana* Kellogg 1906 in Tashk Lake, Iran. *Journal of Natural Environment* (*Iranian Journal of Natural Resources*). 65(3): 393-401. doi: 10.22059/JNE.2012.29792 (In Persian)

36. **Shafaie, S., Zare, S., Manaffar, F. and Falahati, A., 2013.** Molecular Characterization *Artemia Franciscana* 40(3): 724-738. doi: 10.1016/j.ympev.2006.04.010

9. **Baxevanis, A.D., Maniatsi, S., Kouroupis, D., Marathiotis, K., Kappas, I., Kaiser, H. and Abatzopoulos, T.J., 2014.** Genetic identification of South African *Artemia* species: invasion, replacement and co-occurrence. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*. 94(4): 775-785. doi: 10.1017/S0025315414000083

10. **Bossier, P., Xiaomei, W., Catania, F., Dooms, S. and VanStappen, G., 2004.** An RFLP database for authentication of commercial cyst samples of the brine shrimp *Artemia* spp. international study on *Artemia*, LXX. *Aquaculture*. 231: 93-112. doi: 10.1016/j. aquaculture.2003.11.001

11. **Browne, R.A. and Halanych, K.M., 1989.** Competition between sexual and parthenogenetic *Artemia*: a re-evaluation (Branchiopoda, Anostraca). *Crustaceana*. 57(1): 57-71.

12. **Eimanifar, A., Rezvani, S. and Carapetian, J., 2006.** Genetic differentiation of *Artemia urmiana* from various ecological populations of Urmia Lake assessed by PCR amplified RFLP analysis. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 333: 275-285. doi: 10.1016/ j.jembe.2006.01.002

13. **Gajardo, G., Abatzopoolos, T.J., Kappas, I. and Beardmore, J.A., 2002**. Evolution and speciation, *Artemia*: Basic and Applied Biology. Dordrecht: Kluwer academic publishers.

14. **Gajardo, G., Crespo, J., Triantafyllidis, A., Tzika, A., Baxevanis, A., Kappas, I. and Abatzopoulos, T.J., 2004.** Species identification of Chilean *Artemia* population based on mitochondrial DNA RFLP analysis. *Journal of Biogeography*. 31: 547-555. doi: 10.1111/j. 1365-2699.2003.01046.x

15. **Gajardo, G.M. and Beardmore, J.A., 2012.** The brine shrimp *Artemia*: adapted to critical life conditions. *Frontiers in Physiology*. 3: 185. doi: 10.3389/fphys.2012. 00185

16. **Hafeziyeh, M., Sharifian, M. and Hosseinpour, H., 2015.** Biometric comparison of cyst and napulius of Iranian *Artemia*. *Journal of Aquaculture Development*. 9(1): 11-24. (In Persian).

17. **Hami Tabari, A., Shabani, A., Ghadirnejad, H., Shabanpour, B. and Shirangi, S.A., 2013.** Investigation and determination of population structure of parthenogenetic *Artemia* (Bowen and Sterling, 1978) in the Inche Lake using PCR-RFLP. *Iranian Journal of Biology*. 26(1): 119-127. (In Persian)

18. **Hillis, D.M. and Moritz, C., 1990.** Molecular taxonomy. Massachusetts: Sinauer Associates Inc Publishers.

19. **Kappas, I., Abatzopoulos, T.J., Van Hoa, N., Sorgeloos, P. and Beardmore, J.A., 2004.** Genetic and reproductive differentiation of *Artemia franciscana* in a new environment. *Marine Biology*. 146: 103-117. doi: 10. 1007/s00227-004-1420-9

20. **Lu, C.C., 1998.** Diversity of cephalopoda from the waters around Taiwan. *Phuket Marine Biological Center Special Publication*. 18(2): 331-340.

21. **Manaffar, R., Zare, S., Agh, N., Abdolahzadeh, N., Soltanian, S., Sorgeloos, P., Bossier, P. and Vansteppen, G., 2011.** SNP detection in Na⁄K ATP-ase gene α_1 subunit of bisexual and parthenogenetic *Artemia* strains by RFLP screening. *Journal of Molecular Ecology Resources*. 11: 211-214. doi: 10.1111/j.1755-0998.2010. 02908.x

22. **McElroy, D., Moran, P., Birmingham, E. and**

[Downloaded from mail.journalaer.com on 2026-09-18]

Kellogg 1906 in Bakhtegan Lake, Fars Province. *Agricultural knowledge and sustainable production*. 23(4): 107-117. (In Persian)

37. **Silberman, J.D., Sarver, S.K. and Walsh, P.J., 1994.** Mitochondrial DNA variation and population structure in the spiny lobster *Panulirus argus*. *Marine Biology*. 120: 601-608. doi: 10.1007/BF00350081

38. **Singh, P., Sahoo, R.K., Bulle, M. and Gupta, K.J., 2020.** An efficient method of mitochondrial DNA isolation from *Vigna radiata* for genomic studies. *Legume Genomics*. 305-315. doi: 10.1007/978-1-0716-0235-5_16

39. **Smith, P.J., McKoy, J.L. and Machin, P.J., 1980.** Genetic variation in the rock lobsters *Jasus edwardsii* and *Jasus novaehollandiae*. *New Zealand journal of Marine and Freshwater Research*. 14(1): 55-63. doi: 10.1080/00288330.1980.9515843

40. **Subramani, T., Gunasagaran, K. and Natesan, M., 2021.** Genetic diversity and population structure of *Artemia franciscana* from southeast coast of India. *Journal of Sea Research*. 178: 102-127. doi: 10.1016/j.seares.2021.102127

41. **Taggart, J.B., Hynes, R.A., Prodohi, P.A. and Fergusen, A., 1992.** A simplified protocol for Routine total DNA isolation from salmonid fishes. *Journal of Fish Biology*. 40: 963-965. doi: 10.1111/j.1095-8649.1992.Tb02641.x

42. **Thirunavukkarasu, S., Karunasagaran, G. and Munuswamy, N., 2021.** Genetic variability of *Artemia franciscana* populations from different salterns of southeast coast of India. *Meta Gene*. 28: 100887. doi: 10.1016/j.mgene.2021.100887

43. **Valverde, J.R., Batuecas, B., Moratilla, C., Marco, R. and Garesse, R., 1994.** The complete mitochondrial DNA sequence of the crustacean *Artemia Franciscana*. *Journal of molecular Evolution*. 39: 400-408. doi: 10.1007/BF00160272

44. **Wilding, C.S., Beaumont, A.R. and Latchford, J.W., 1997.** Mitochondrial DNA variation in the scallop *Pecten maximus* (L.) assessed by a PCR-RFLP method. *Heredity*. 79: 178-189. doi: 10.1038/hdy.1997.141

45. **Zeynalpour, R., Mirhosseini, S.Z., Dalirsefat, S.B. and Zare, J., 2015.** Genetic identification and classification of Iranian *Artemia* using microsatellite markers. *Journal of Agricultural Biotechnology*. 7(3): 149-162. doi: 10.22103/JAB.2015.1138 (In Persian)

[Downloaded from mail.journalaer.com on 2026-09-18]