



Investigating reproductive isolation in freshwater Anostraca populations *Branchinecta orientalis* (Crustacea: Anostraca)

Behrooz Atashbar Kangarloei¹  | Ahmad Mahmoudi² 

1. Corresponding Author, Department of Ecology and Resource Assessment, Artemia and Aquatic Research Institute, Urmia University, Iran. E-mail: b.atashbar@urmia.ac.ir

2. Department of Biology, Faculty of Sciences, Urmia University, Urmia, Iran. E-mail: a.mahmoudi@urmia.ac.ir

Article Info

Article type:

Research Article

Article history:

Received 05 May 2024

Received in revised form 28 June 2024

Accepted 06 July 2024

Published online 22 July 2024

Keywords:

Adaptation,

Crossbreeding,

Geographic isolation,

Reproductive isolation.

ABSTRACT

This research investigated the reproductive isolation of *Branchinecta orientalis* populations from three different geographical locations in Azerbaijan, Iran. The collected eggs of Anostraca were tested for biometry and hybridization studies. Based on the obtained results, the diameter of hydrated cysts, the diameter of decapsulated cysts and the chorion thickness of eggs in the Aigher Goli (AIG) habitat were observed to be larger than other groups. The percentage of hatching in the eggs obtained from crossbred populations showed a significant decrease compared to pure populations ($P < 0.05$). The lowest hatching rate was observed in the eggs produced by the AIG population (8.99 ± 1.70). Also, the mortality rate of newly hatched nauplius from crossbred populations was significantly higher than other studied samples ($P > 0.05$). Thus, the highest early mortality was observed in AIG-KAS(L) ($8.27 \pm 2.87\%$) and the lowest in KHS(F). The growth rates of different populations were almost the same and no significant difference was observed between them at the end of the breeding period ($P > 0.05$). In general, it can be concluded that the difference in reproductive performance among *B. orientalis* populations is due to relative reproductive isolation due to geographic isolation and environmental adaptation.

Cite this article: Atashbar Kangarloei, B., & Mahmoudi, A. (2024). F Investigating reproductive isolation in freshwater Anostraca populations *Branchinecta orientalis* (Crustacea: Anostraca). *Journal of Natural Environment*, 77 (Special Issue), 245-255. DOI: <http://doi.org/10.22059/jne.2024.375308.2659>



© The Author(s).

Publisher: University of Tehran Press.

DOI: <http://doi.org/10.22059/jne.2024.375308.2659>

بررسی جدایی تولیدمثلی در جمعیت‌های آنوستراکای آب شیرین *Branchinecta orientalis* (Crustacea: Anostraca)

بهروز آتشبار کنگرلویی^۱ | احمد محمودی^۲

۱. نویسنده مسئول، گروه اکولوژی و مدیریت ذخایر آبی، پژوهشکده آرتمیا و آبی‌پروری، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران. رایانامه: b.atashbar@urmia.ac.ir
۲. گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران. رایانامه: a.mahmoudi@urmia.ac.ir

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله پژوهشی	این تحقیق جدایی تولیدمثلی جمعیت‌های <i>Branchinecta orientalis</i> از سه زیستگاه متفاوت در منطقه آذربایجان، ایران مورد بررسی قرار داده است. تخم‌های جمع‌آوری شده‌ی آنوستراکا جهت بررسی‌های زیست‌سنجی و آمیخته‌گری مورد آزمایش قرار گرفتند. براساس نتایج به‌دست آمده اندازه تخم‌های هیدراته، تخم‌های پوسته‌زدایی شده و ضخامت لایه کوریونی تخم‌ها در زیستگاه آیتقرگل (AIG) بزرگتر از سایر گروه‌ها بود. درصد تخم‌گشایی در تخم‌های حاصل از جمعیت‌های آمیخته‌گری شده در مقایسه با جمعیت‌های خالص کاهش معنی‌داری نشان داد ($P < 0.05$). کمترین میزان تخم‌گشایی در تخم‌های تولید شده توسط جمعیت آیتقرگل (AIG) مشاهده گردید (8.99 ± 1.70). همچنین میزان مرگ و میر ناپلی‌های تازه هیچ‌گونه حاصل از جمعیت‌های آمیخته‌گری شده به‌طور معنی‌داری بیشتر از سایر نمونه‌های مورد بررسی بود ($P < 0.05$). به‌طوری‌که بیشترین مرگ و میر زود هنگام در گروه AIG-KAS (L) ($87.27 \pm 2.87\%$) و کمترین میزان در گروه KHS (F) مشاهده شد. میزان رشد متعلق به جمعیت‌های مختلف تقریباً یکسان بود و هیچ تفاوت معنی‌داری بین آن‌ها در پایان دوره پرورش جمعیت مشاهده نشد ($P > 0.05$). به‌طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که تفاوت در عملکرد تولیدمثلی جمعیت‌های <i>B. orientalis</i> ناشی از جدایی تولیدمثلی نسبی می‌باشد که در اثر جدایی جغرافیایی و سازش با محیط رخ داده است.
تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۲/۱۶	
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۰۴/۰۸	
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۴/۱۶	
تاریخ انتشار: ۱۴۰۳/۰۵/۰۱	
کلیدواژه‌ها: آمیخته‌گری، جدایی تولیدمثلی، جدایی جغرافیایی، سازگاری.	

استناد: آتشبار کنگرلویی، بهروز؛ و محمودی، احمد (۱۴۰۳). بررسی جدایی تولیدمثلی در جمعیت‌های آنوستراکای آب شیرین *Branchinecta orientalis* (Crustacea: Anostraca). محیط زیست طبیعی، ۷۷ (ویژه نامه)، ۲۴۵-۲۴۵.

DOI: <http://doi.org/10.22059/jne.2024.375308.2659>



© نویسندگان.

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

مقدمه

آنوستراکاهای آب شیرین یا پریان میگوها سخت‌پوستان کوچکی هستند که از پراکنش جهانی برخوردار بوده که توانسته‌اند در مکان‌های دور دست روی کره زمین گسترش یابند. زیستگاه‌های این موجودات اکوسیستم‌های کوچکی هستند که همانند جزایری بر روی پهنه‌های خاکی بوده و بر اساس تئوری جغرافیای زیستی اهمیت زیادی در گونه‌زایی و تنوع زیستی دارند (MacArthur and Wilson, 1967; March and Bass, 1995). از مهمترین ویژگی آنوستراکاها تولید تخم مقاوم است که به آنها اجازه می‌دهد تا بتوانند شرایط سخت محیطی را تحمل کنند و بعد از مساعد شدن شرایط زیستی بتوانند به زندگی خود ادامه دهند (Brendonck and De Meester, 2003).

پراکنش آنوستراکاها به لحاظ تولید تخم مقاوم (Restricted egg) از الگوهای خاصی پیروی می‌کند که می‌تواند در مقیاس های محلی یا منطقه‌ای و یا حتی جهانی انجام پذیرد. جریان‌های آبی، باد، جانوران و پرندگان مهاجر از جمله مهمترین این عوامل به‌شمار می‌آیند که در این میان پرندگان، عامل اصلی انتشار آبشش پایان در سطح وسیعی می‌باشند (Thiéry, 1996; Atashbar, 2014). پرندگان هنگام تغذیه از آنوستراکای ماده بال‌غ، تخم‌های موجود در کیسه تخمی را هم وارد سیستم گوارشی کرده و بدون هیچ نوع تغییری (به لحاظ داشتن پوسته سخت) به مکان‌های دیگر انتقال می‌دهند. همچنین تخم‌ها می‌توانند با چسبیدن به بدن موجودات مختلف به مکان‌های جدید انتقال پیدا کنند (Thiéry, 1996; Green and Figuerola 2005; Green et al., 2005). ظرفیت و جدایی تولیدمثلی از جمله مسائل مهم در موضوع اکولوژی تکاملی موجودات مختلف به‌شمار می‌آیند (Gajardo et al., 2001)، به طوری که این موضوع یک عامل کلیدی در بیان مفهوم گونه‌های زیستی محسوب می‌گردد (Mayr, 1969). همچنین به‌حد اکثر رسیدن سازگاری یک موجود با محیط از طریق الگوهای تولیدمثلی موضوع بسیار مهم و مورد علاقه در بحث انتخاب طبیعی می‌باشد (Rose and Lauder, 1996). هرچند، فرآیند گونه‌زایی معادل با ایجاد موانعی در نظر گرفته می‌شود که باعث جدایی جمعیت‌ها می‌گردد. به همین دلیل است که آمیخته‌گری و یا هیبریداسیون‌سازی بین جمعیت‌ها می‌تواند اهمیت تکاملی کم و یا زیادی داشته باشد، زیرا هیبریدهای تشکیل شده ممکن است قدرت کم و یا زیادی برای مقاومت در برابر محیطی که اجداد آنها می‌زیستند، داشته باشند (Gajardo et al., 2001). مطالعات تولیدمثلی به روش آمیخته‌گری (Crossbreeding) برای تشخیص میزان جدایی تولیدمثلی و جدایی جمعیت‌ها در گونه‌های مختلف بسیار مؤثر بوده است (Dobzhansky, 1951; Mayr, 1969; Correa et al., 1993). استفاده از این روش بر روی تولیدمثل آرتیمیا برای اولین توسط Bowen (۱۹۶۵) انجام گرفته است. Bowen و همکاران (۱۹۸۰) با توجه به مشابهت‌هایی که در بین جمعیت‌های یک گونه مشخص آرتیمیا مشاهده کرد، مسئله وجود گونه‌های هم‌نوع را مطرح نمود. مطالعات زیادی در مورد تولیدمثل آرتیمیا به روش آمیخته‌گری انجام شده است که همگی نشان‌دهنده تغییر در میزان باروری جمعیت‌های مختلف در والدین و یا در نسل‌های بعدی می‌باشد (Gallardo and Castro, 1999; Zúñiga et al., 1999; Correa et al., 1993; Gajardo et al., 1998). براین اساس استفاده از روش جدایی تولیدمثلی از طریق آمیخته‌گری به همراه روش‌های مختلف دیگر از قبیل ریخت‌شناسی، فاصله ژنتیکی، سیتوژنتیک به‌منظور توصیف جمعیت‌های جدید آرتیمیا لازم و ضروری است (Castro et al., 2004).

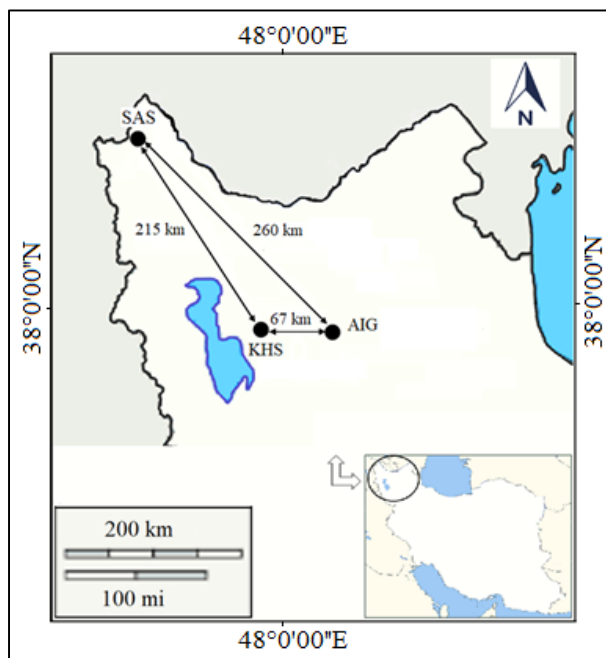
Branchinecta orientalis از گونه‌های بومی ایران به‌شمار می‌آید که در مناطق مختلفی از آذربایجان‌های شرقی و غربی پراکنش دارد (Atashbar and Roohi, 2021; Atashbar, 2014; Mura and Azari Takami, 2000). سازگاری این گونه به زیستگاه‌های آبی موقت و نقاط جغرافیایی جدا از هم، شرایط لازم را برای تغییرات فنوتیپی و ژنوتیپی در این موجودات را به‌وجود می‌آورد (Hebert, 1978). در این راستا تغییرات ژنتیکی و ریختی در بین جمعیت‌های گونه *B. orientalis* از زیستگاه‌های مختلف در منطقه آذربایجان به اثبات رسیده است (Atashbar et al., 2016). بنابراین پژوهش حاضر در تلاش است میزان جدایی تولیدمثلی در بین جمعیت‌های متعلق به این گونه در منطقه آذربایجان را مورد مطالعه قرار دهد.

روش‌شناسی پژوهش

جمع‌آوری تخم: این مطالعه براساس تخم‌های جمع‌آوری شده‌ی آنوستراکا از سه منطقه جغرافیایی در شمال غرب ایران (جدول ۱ و شکل ۱) انجام گرفت. خاک حاوی تخم زیستگاه‌ها پس از انتقال به آزمایشگاه با استفاده از توری با منافذ ۵۰۰-۲۵۰-۱۵۰ میکرون با هدف جمع‌آوری تخم‌ها شستشو داده شد. تخم‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد داخل یک انکوباتور خشک و به مدت ۴۵ روز در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (Atashbar *et al.*, 2012). مختصات جغرافیایی محل نمونه‌برداری با استفاده از دستگاه GPS (GARMIN, USA) ثبت شد.

جدول ۱- مشخصات جغرافیایی زیستگاه‌های نمونه‌برداری شده

زیستگاه	کد	موقعیت جغرافیایی		ارتفاع از سطح دریا (m.a.s.l)
		N	E	
ساری سو	SAS	۳۹° ۲۴'	۴۴° ۴۴'	۱۴۰۵
خاصبان	KHS	۳۷° ۴۹'	۴۵° ۵۲'	۱۲۹۷
ایقرگل	AIG	۳۷° ۴۶'	۴۶° ۳۵'	۲۵۶۰



شکل ۱- موقعیت جغرافیایی زیستگاه‌های جمع‌آوری تخم (طبق جدول ۱)

منبع نقشه: [www/http://browse.ir](http://www/browse.ir)

زیست‌سنجی تخم: برای اندازه‌گیری قطر تخم ابتدا تعداد ۲۰۰ عدد تخم آبیگری شده از هر جمعیت (ساری سو، خاصبان و ایقرگل) با استفاده از لوگول ۱٪ تثبیت گردید. سپس با استفاده از هیپوکلریت تخم‌های زیست‌سنجی شده به‌منظور اندازه‌گیری ضخامت پوسته و قطر تخم کپسول‌زدایی شده و به مدت ۳ تا ۵ دقیقه در داخل لوگول ۱٪ تثبیت گردید (Sorgeloos, 1980). تمام اندازه‌گیری‌ها با استفاده از میکروسکوپ نوری مجهز به خط‌کش چشمی انجام شد.

پرورش و زیست‌سنجی: در این مرحله ابتدا مقداری از تخم هر جمعیت را داخل ظرف‌های یک لیتری حاوی آب شیر کلرزدایی شده تحت شرایط (دما=۲۱-۲۰°C، pH=۸/۵) زیر نور لامپ فلورسنت هج کرده و ناپلی‌های تازه تفریح شده را پس از شمارش در داخل ظرف‌های ۲ لیتری، جهت پرورش انتقال داده شد. پرورش هر تیمار در سه تکرار ۱۰۰ تایی به‌طور جداگانه برای هر ایستگاه انجام گرفت. در طول دوره پرورش آنوستراکاها با استفاده از جلبک تک سلولی سندسموس و مخمر نانوبی تغذیه شدند (Atashbar *et al.*, 2012). برای تعیین رشد، طول ۱۵ جفت آنوستراکا از هر تیمار (از قدمی‌ترین قسمت سر تا آخرین بخش شکم) با استفاده از استریومیکروسکوپ مجهز به لوله ترسیم و دستگاه دیجیتایزر (Summa Sketch TM III) متصل به کامپیوتر، اندازه‌گیری شد.

همچنین برای تعیین رشد در روز اول، طول ۱۰۰ عدد ناپلی تازه هیچ شده با استفاده از میکروسکوپ نوری مجهز به خط‌کش چشمی اندازه‌گیری شد.

پرورش به روش آمیخته‌گری: به‌طور کلی ۳۰ جفت (۳۰ عدد نر و ۳۰ عدد ماده) آنوستراکای بالغ برای بررسی تولیدمثل در روش آمیخته‌گری و کنترل مورد استفاده قرار گرفت. در روش آمیخته‌گری تعداد ۳۰ عدد از ماده‌های یک جمعیت (مثال خاصان: KHS) با ۳۰ عدد از نرهای جمعیت دیگر (مثال ساری سو: SAS) به‌ترتیب KAS × SAS, KAS × AIG, KAS × AIG پرورش داده شدند. به‌منظور بررسی تولیدمثل در جمعیت خالص تعداد ۳۰ جفت از آنوستراکاهای هر جمعیت نیز به‌طور جداگانه و به‌مدت ۲۰ روز پرورش داده شدند. در طی دوره پرورش آنوستراکاها با استفاده از جلبک تک سلولی سندسموس و مخمر نانواپی تغذیه شدند.

بررسی کمی و کیفی تخم‌های تولید شده: تخم‌های تولید شده در جمعیت‌های مختلف (به روش آمیخته‌گری و خالص از هر جمعیت) از لحاظ تعداد زاده‌ها، درصد هیچ و زیست‌سنجی مورد بررسی قرار گرفت. تخم‌های جمع‌آوری شده از هر جمعیت در طی دوره پرورش شمارش شده و تعداد زاده‌ها مشخص گردید. در ادامه تعداد ۱۰۰ عدد از تخم‌های تولید شده برای هر جمعیت با استفاده از میکروسکوپ مجهز به لام مدرج زیست‌سنجی شد. بخشی از تخم‌های تولید شده پس از شستشو در انکوباتور 37°C به‌مدت ۲۴ ساعت خشک گردیده و برای رفع دیابوز به‌مدت ۴۵ هفته در فریزر نگهداری گردید. بعد از دوره سرمادهی، تعداد ۵۰ عدد از تخم‌های هر تیمار در ۳ تکرار در میکروپلیت‌های ۱۰ سی‌سی حاوی آب شیر ریخته و در دمای $21-20^{\circ}\text{C}$ به‌مدت ۱۰ روز قرار داده شدند (Atashbar, 2012). تعداد ناپلی‌های هیچ شده در هر روز شمارش شدند. در انتهای دوره، تخم‌های باقی‌مانده در میکروپلیت‌های پوسته‌زدایی شده و تعداد جنین‌های موجود در آنها شمارش گردید. همچنین درصد ناپلی‌های مرده نسبت به کل هیچ به‌وسیله تقسیم تعداد ناپلی‌های هیچ شده به تعداد مرگ و میر ناپلی‌های اولیه $100 \times$ محاسبه گردید.

آنالیز آماری: برای آنالیز داده‌ها از برنامه نرم‌افزار آماری SPSS (نسخه ۲۵) و آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) در سطح اطمینان ۹۵ درصد استفاده شد. نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون شاپیروویک مورد ارزیابی قرار گرفت. ترسیم نمودارها توسط نرم‌افزار Excel (نسخه ۲۰۱۶) انجام شد.

یافته‌های پژوهش

ویژگی‌های تخم: برخی از خصوصیات تخم‌های مربوط به جمعیت‌های *B. orientalis* جمع‌آوری شده از جمعیت‌های مربوط به زیستگاه‌های طبیعی و همچنین تولید شده در آزمایشگاه به‌صورت جمعیت خالص و یا آمیخته‌گری شده در جدول ۲ خلاصه شده است. تخم‌های جمع‌آوری شده از زیستگاه طبیعی آیقرگل AIG(F) از لحاظ برخی از خصوصیات زیست‌سنجی شامل: قطر تخم‌های هیدراته ($373/91 \pm 20/38$) و دکپسوله ($261/25 \pm 14/09$) و ضخامت کوریون ($56/33 \pm 10/90$) به‌طور معنی‌داری از سایر گروه‌های مطالعه شده بزرگ‌تر بود (ANOVA, $P < 0.05$). نتایج مشابهی را می‌توان در تخم‌های تولید شده در آزمایشگاه به‌وسیله جمعیت AIG (L) در مقایسه با سایر گروه‌ها مشاهده کرد. در جمعیت AIG (L) قطر تخم‌های هیدراته ($337/19 \pm 44/46$) و پوسته‌زدایی شده ($258/59 \pm 17/04$) و ضخامت کوریون ($39/30 \pm 22/02$) به‌طور معنی‌داری از سایر گروه‌های مطالعه شده بزرگ‌تر بود (ANOVA, $P < 0.05$).

تخم‌گشایی یا هیچ: درصد تخم‌گشایی جمعیت‌های مختلف *B. orientalis* جمع‌آوری شده از زیستگاه‌های طبیعی و همچنین تولید شده در آزمایشگاه به‌صورت جمعیت خالص و یا آمیخته‌گری شده در شکل ۲ نشان داده شده است. درصد هیچ کل بعد از ۱۰ روز در جمعیت KHS (F) نسبت به سایر گروه‌ها به‌طور معنی‌داری بیشترین ($67/33 \pm 8/91$) و در جمعیت AIG (L) پایین‌ترین ($8/99 \pm 1/7$) مقدار بود (ANOVA, $P < 0.05$). همچنین تفاوت معنی‌داری در داخل جمعیت‌های آمیخته‌گری شده در میزان تخم‌گشایی مشاهده شد، به‌طوری‌که بالاترین درصد هیچ ($24/77 \pm 6/35$) در جمعیت KHS-SAS برآورد شد (ANOVA, $P < 0.05$).

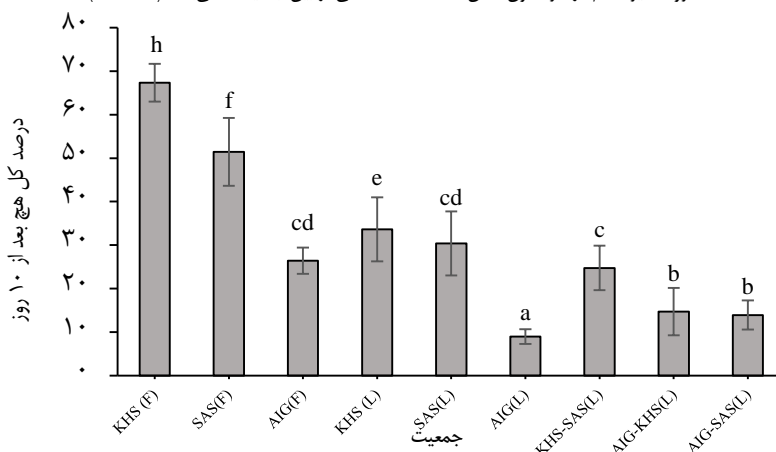
نسبت مرگ و میر به تخم‌گشایی: میزان مرگ و میر زود هنگام ناپلی‌های تازه تفریح شده نسبت به ناپلی‌های زنده در جمعیت‌های مختلف *B. orientalis* در شکل ۳ مورد مقایسه قرار گرفته است. به‌طور کلی میزان مرگ و میر در جمعیت‌های آمیخته‌گری شده بسیار بیشتر از جمعیت‌های خالص مشاهده گردید (ANOVA, $P < 0.05$). به‌طوری‌که بیشترین میزان مرگ و

میر نسبت به هیچ کل در جمعیت (L) AIG-KAS (۸/۱۷±۲/۸۷٪) و کمترین مقدار مرگ و میر در گروه KHS (F) ثبت گردید. در بین جمعیت‌های آمیخته شده کمترین میزان مرگ و میر در تخم‌های حاصل از جمعیت (L) KHS-SAS محاسبه گردید (۵/۴۵±۲/۰۸٪). مقایسه نسبت مرگ و میر به ناپلی‌های هیچ شده در بین تخم‌های جمع‌آوری شده از زیستگاه‌های طبیعی هیچگونه اختلاف معنی‌داری نشان نداد (ANOVA, $P > 0.05$).

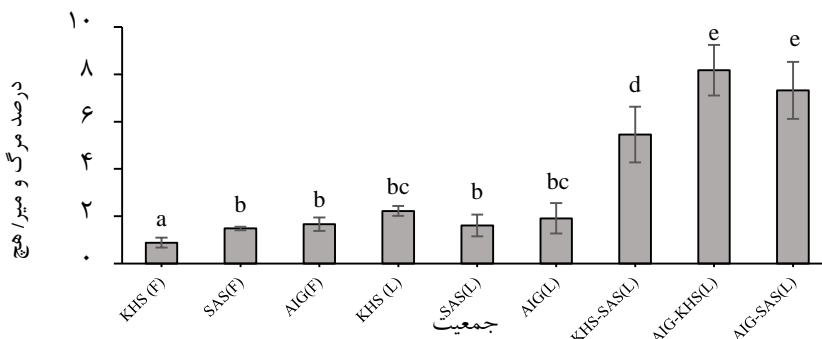
جدول ۲- مقایسه میانگین قطر تخم‌های هیدراته و دکپسوله و ضخامت کوریون در بین جمعیت‌های *Branchinecta orientalis*

نمونه	جمعیت	کد	قطر تخم دهیدراته (μm)	قطر تخم دکپسوله (μm)	ضخامت کوریون (μm)
زیستگاه طبیعی	آیقرگل	AIG (F)	۳۷۳/۹۱±۲۰/۳۸ ^d	۲۶۱/۲۵±۱۴/۰۹ ^d	۵۶/۳۳±۱۰/۹۰ ^c
	ساری سو	SAS (F)	۲۹۴/۶۳±۲۶/۳۳ ^b	۲۲۸/۹۳±۱۵/۳۳ ^{ab}	۲۷/۸۵±۱۳/۶۱ ^{bc}
	خاصیان	KHS (F)	۲۸۶/۹۷±۱۹/۷۳ ^b	۲۳۱/۳۹±۱۰/۸۱ ^{ab}	۲۷/۷۹±۱۰/۴۷ ^{bc}
تولید شده در آزمایشگاه	آیقرگل	AIG (L)	۳۳۷/۱۹±۴۴/۴۶ ^c	۲۵۸/۵۹±۱۷/۰۴ ^d	۳۹/۳۰±۲۲/۰۳ ^d
	ساری سو	SAS (L)	۲۸۹/۸۶±۱۶/۱۲ ^{ab}	۲۳۴/۹۴±۱۰/۱۱ ^{ab}	۲۷/۴۶±۹/۱۳ ^b
	خاصیان	KHS (L)	۲۷۷/۹۱±۱۹/۸۳ ^a	۲۲۸/۸۸±۱۳/۷۱ ^{ab}	۲۴/۲۲±۱۲/۸۹ ^a
	ساری سو X آیقرگل	AIG x SAS	۳۰۸/۲۶±۲۱/۲۳ ^b	۲۴۲/۷۸±۱۶/۵۶ ^c	۳۲/۷۴±۹/۸۴ ^c
	خاصیان X آیقرگل	AIG x KHS	۲۹۵/۵۶±۱۷/۳۳ ^b	۲۳۷/۱۲±۱۴/۱۹ ^a	۲۹/۲۲±۱۰/۷۵ ^c
	ساری سو X خاصیان	KHS x SAS	۲۸۳/۳۳±۱۳/۳۵ ^{ab}	۲۲۹/۹۱±۱۰/۷۳ ^a	۲۶/۷۱±۸/۴۴ ^{ab}

- حروف غیرهمنام در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین جمعیت‌ها می‌باشد ($P < 0.05$).



شکل ۲- میانگین درصد کل هیچ در جمعیت‌های مختلف *Branchinecta orientalis* (حروف ناهمنام بالای نمودارها نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین جمعیت‌ها می‌باشد ($P < 0.05$))



شکل ۳- مقایسه میانگین نسبت مرگ و میر به تخم‌گشایی در بین جمعیت‌های خالص و آمیخته شده *Branchinecta orientalis* (حروف ناهمنام بالای نمودارها نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین جمعیت‌ها می‌باشد ($P < 0.05$))

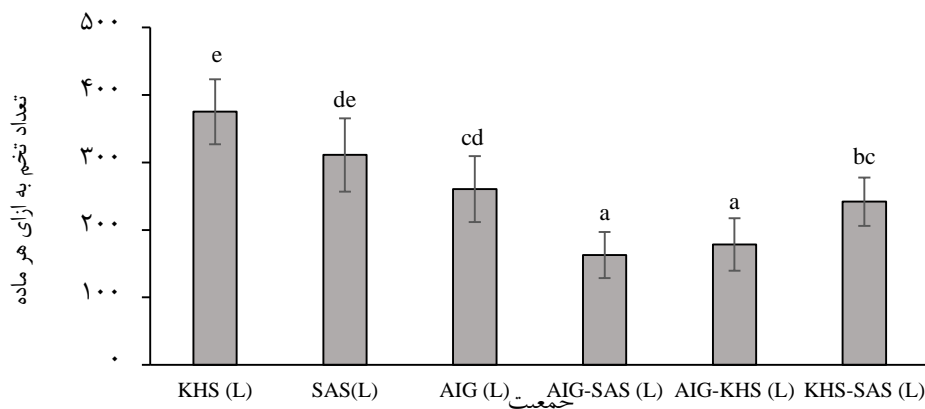
مقایسه رشد در بین جمعیت‌ها: از آنجا که اندازه موجود به‌خصوص در مرحله بلوغ ممکن است در موفقیت آمیخته‌گری و در نهایت میزان تولیدمثل بین جمعیت‌ها مانع ریختی محسوب گردد. بنابراین رشد طولی گونه *B. orientalis* در سه جمعیت خالص قبل آمیخته‌گری در طی هفته‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفت (جدول ۳). در پایان دوره رشد و در مرحله بلوغ جنسی هیچ تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها در طول کل موجودات مشاهده نگردید ($P > 0.05$, ANOVA). با این حال، میانگین طول کل جمعیت SAS ($15/79 \pm 0/83$) کوچکتر از جمعیت‌های AIG ($16/41 \pm 1/54$) و KHS ($16/67 \pm 0/48$) در پایان هفته چهارم ثبت گردید.

جدول ۳- مقایسه میانگین رشد در بین جمعیت‌های *Branchinecta orientalis*

جمعیت	کد	روز ۱	روز ۸	روز ۱۴	روز ۲۱	روز ۲۸
آیقرگل	AIG (F)	$0/51 \pm 0/05^a$	$4/32 \pm 0/59^a$	$8/02 \pm 0/86^a$	$14/70 \pm 0/81^a$	$16/41 \pm 1/54^a$
ساری‌سو	SAS (F)	$0/51 \pm 26/05^a$	$3/87 \pm 0/38^a$	$7/82 \pm 0/28^a$	$11/76 \pm 0/84^a$	$15/79 \pm 0/83^a$
خاصبان	KHS (F)	$0/48 \pm 0/03^a$	$3/69 \pm 0/43^a$	$8/56 \pm 0/38^a$	$12/04 \pm 0/59^a$	$16/68 \pm 0/48^a$

حروف ناهمنام بالای هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین جمعیت‌ها می‌باشد ($P < 0.05$).

مقایسه تولید تخم در جمعیت‌ها: میانگین تولید تخم توسط آنوستراکا در جمعیت‌های مختلف در شکل ۴ مورد مقایسه قرار گرفت. مقایسه داده‌های آماری نشان داد که بیشترین میزان تولید تخم در جمعیت خالص از زیستگاه طبیعی KHS (به‌صورت انفرادی: $375/10 \pm 63/19$) مشاهده شد، که نسبت به سایر گروه‌های آزمایشی ($P < 0.05$, ANOVA) بیشترین مقدار را داشت. کمترین مقدار تولید تخم در ماده‌های مربوط به جمعیت آمیخته‌گری شده AIG-SAS ($15/79 \pm 0/83$) در مقایسه با تمام گروه‌های آزمایشی مشاهده گردید. بیشترین مقدار تولید تخم در بین جمعیت‌های کراس شده هم در گروه KHS-SAS ($241/75 \pm 42/05$) ثبت شد.



شکل ۴- نمودار میانگین تولید تخم به‌ازای هر آنوستراکای ماده از جمعیت‌های مختلف: خالص و آمیخته‌گری شده. حروف ناهمنام بالای نمودارها نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین جمعیت‌ها می‌باشد ($P < 0.05$).

بحث و نتیجه‌گیری

یکی از موضوعات مهم در در مباحث زیست‌شناسی و اکولوژی تکاملی، تشخیص محرک‌های ایجاد تمایز و تنوع خصوصیات زیستی در بین جمعیت‌های جانوری و گیاهی، و تعامل آنها با محیط اطراف است. این الگوها می‌توانند با یک طیف گسترده‌ای از فاکتورهای محیطی و جغرافیایی مرتبط باشند که تمایز جمعیتی را از طریق روندهای سازشی (انتخاب) و غیرسازشی (رانس ژنتیکی) تحت تأثیر قرار می‌دهند (Pérez-Moreno, 2017). این مطالعه تغییرات به‌وجود آمده در برخی از ویژگی‌های زیستی و تولیدمثلی جمعیت‌های *B. orientalis* از سه نقطه مختلف جغرافیایی در منطقه آذربایجان را در شرایط آزمایشگاهی مورد ارزیابی قرار می‌دهد.

زیست‌سنجی تخم‌های جمع‌آوری شده از زیستگاه طبیعی و همچنین تولید شده در آزمایشگاه نشان می‌دهد که جمعیت‌های AIG تخم‌های بزرگ‌تر با پوسته ضخیم‌تر در مقایسه با دو جمعیت دیگر از جمع‌آوری شده از زیستگاه‌های KHS و SAS تولید

می‌کنند. اگرچه عوامل محیطی و تغذیه مناسب تأثیر بسیار مهمی در شکل‌گیری ضخامت پوسته تخم آنوستراکاها ایفا می‌کنند اما بزرگ بودن تخم دکپسوله، جدایی نسبی جمعیت AIG را نسبت به دو گروه جمعیتی دیگر را به صورت معنی‌داری نشان می‌دهد. براساس قانون برگمان یا قانون اندازه-دما: اندازه جانوران با تغییر عرض جغرافیایی و آب و هوا تغییر می‌کند. به بیان دیگر جانورانی که در نواحی گرمسیری زندگی می‌کنند کوچکتر از جانورانی هستند که در نواحی خنک‌تر زندگی می‌کنند (Bergmann, 1848). تغییرات مشابهی در کوپه‌پودها و دافنی‌های آب شیرین (Villalobos and Zuñiga, 1991; Gillooly, 2000)، گونه‌های مختلف روتیفرها (Stelzer, 2002)، آنوستراکای آب شور یا آرتیمیا (Gajardo et al., 1998) و آنوستراکای آب شیرین *B. orientalis* (Atashbar et al., 2016) نیز گزارش شده است. اثرات محیطی بر اندازه بدن از اهمیت اکولوژیک ویژه‌ای برخوردار است، اما درک ما از این اثرات توسط یک پارادوکسی از عوامل محیطی پنهان شده است. بزرگ بودن جثه موجودات در هوای سرد نسبت به هم‌تایان خود در ارتفاعات پایین از این قاعده مستثنی نمی‌باشد (Atkinson and Sibly, 1997).

براساس نتایج به دست آمده همبستگی نسبتاً پایداری بین ضخامت کوریون و ویژگی‌های هیچ و تخم‌گذاری در جمعیت‌های *B. orientalis* وجود دارد. پوسته تخم در نمونه‌های مربوط به زیستگاه AIG نسبت به دو نمونه دیگر (SAS و KHS) به طور چشمگیری ضخیم‌تر می‌باشد. بنابراین می‌توان تصور کرد که ضخامت زیاد پوسته در جمعیت AIG یکی از مهمترین دلایل در کاهش هیچ نسبت به جمعیت‌های دیگر به حساب می‌آید.

ارتباط بین کارایی هیچ و ضخامت دیواره تخم در گونه‌های مختلف آرتیمیا به عنوان آنوستراکای آب شور مورد بررسی قرار گرفته است. براساس نتایج حاصل از این تحقیقات پوسته تخم که یک ساختار چند لایه کیتینی است که دسترسی جنین به بسیاری از مولکول‌های حیاتی را محدود می‌سازد (Morris and Afzelius, 1967; Anderson et al., 1970; Clegg, 1986; Clegg et al., 1996). پوسته تخم‌های در حال استراحت و غیر فعال زئوپلانکتون‌های سخت‌پوست حاوی رنگدانه‌های خونی جاذب نور است، که مکانیسمی را برای به تأخیر انداختن تخم‌گذاری یا برای حفاظت جنین در برابر نورهای مضر به وجود می‌آورد (Van der Linden et al., 1986). همچنین میزان حساسیت به علائم تخم‌گذاری در تخم‌های خفته و غیرفعال در برخی از روتیفرها و کوپه‌پودها می‌تواند وابسته به سویه یا ژنوتیپ متفاوت باشد (Pancella and Stross, 1963). علاوه بر این، مطالعه‌ای توسط De Roeck و همکاران (۲۰۱۰) نشان داد که تفاوت‌هایی در الگوهای تولیدمثل بین جمعیت‌های *Streptocephalus purcelli* در آبگیرهای صخره‌ای و برکه‌های گلی وجود دارد که احتمالاً ریشه ژنتیکی داشته و یا تحت تأثیر خواص مادری می‌باشند. در دسترس بودن غذا برای مادر ممکن است بر الگوی تولیدمثل، اندازه یا زمان بلوغ آنوستراکا تأثیر بگذارد.

یکی از یافته‌های جالب در این مطالعه یافتن نسبت مرگ و میر به ناپلی‌های هیچ شده در گونه *B. orientalis* بود، همان‌طور که در نتایج مشاهده شد، تعدادی از ناپلی‌ها به صورت طبیعی بلافاصله یا چند ساعت بعد از هیچ شدن از بین می‌روند. اما آنچه که مهم است درصد بالا و چند برابری مرگ و میر در تخم‌هایی است که از جمعیت‌های آمیخته‌گری شده و یا هیبرید شده حاصل شده‌اند. به نظر می‌رسد که این نسبت از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است و نیاز به تحقیقات بیشتری می‌باشد چون می‌تواند با جدایی نسبی بین جمعیت‌ها که به دلایل جغرافیایی و غیره اتفاق می‌افتد، ارتباط مستقیمی داشته باشد. آمیخته‌گری در چندین گونه از سخت‌پوستان از جمله میگو، خرچنگ دریایی، خرچنگ دراز و انواع دیگر خرچنگ‌ها مورد آزمایش قرار گرفته است و نتایج نشان داده که سطح عملکرد تولیدمثلی در هیبریدهای به دست آمده بسیار پایین می‌باشد (Syafaat et al., 2023). هیبریدهای تولید شده از میگوهای خانواده پنائیده نشان داده است که توانایی تولیدمثلی آنها نسبت والدین بسیار کاهش پیدا می‌کند و در اغلب موارد تخمک‌های بارور شده هیبریدی در مراحل اولیه جنینی از بین می‌روند اگرچه از نظر ژنتیکی بسیار به هم نزدیک باشند (Benzie et al., 1995). به عنوان مثال میزان تخم‌گذاری در تخم‌های حاصل از آمیخته‌گری گونه‌هایی *Penaeus setiferus* و *Penaeus schmitti* بسیار ناچیز گزارش شده است و مولدین در دوران لاروی تلف می‌شوند (Bray et al., 1990).

اندازه‌گیری رشد آنوستراکاها با هدف بررسی احتمال تأثیرگذاری تفاوت اندازه آنها بر روی جفتگیری موفق انجام گرفت. مقایسه نتایج به دست آمده از رشد جمعیت‌ها نشان داد که اندازه طول نهایی آنها در دوران بلوغ جنسی تفاوت قابل ملاحظه‌ای پیدا نمی‌کند

و همه جمعیت‌ها تقریباً در زمان مشابهی بالغ می‌شوند. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که تفاوت جزئی در اندازه طول جمعیت‌ها نقش مهمی را در کاهش تولیدمثل در طی آمیخته‌گری و یا Crossbreeding بازی نمی‌کند و عوامل مهم دیگری در کاهش تولیدمثل بین جمعیت‌های آمیخته‌گری شده تأثیر گذارند. مطالعه یک جمعیت مکزیکی *Artemia franciscana* نشان داده است که جدایی تولیدمثلی از ترجیحات اکولوژیکی و یا سازگاری هر جمعیت با زیستگاه خاص خود نتیجه می‌شود، که این ممکن است در ژنوتیپ موجود منعکس شود و باعث ایجاد تغییرات قبل و بعد از جفت‌گیری گردد (Castro et al., 2004). از طرفی، اگرچه آنوستراکاها به احتمال بسیار زیاد دارای مشکلات همخونی و یا نژادی هستند که عملکرد تولیدمثلی آنها را تحت تأثیر قرار می‌دهد، ولی بدون شواهد مستقیم ممکن است فرض شود که این جمعیت‌ها دارای ژنوتیپ‌های هتروزیگوت هستند که از تعادل ژنتیکی هاردی-واینبرگ پیروی می‌کند (Edwards, 2008).

تفاوت در ویژگی‌های تولیدمثلی از جمله تعداد تخم‌های تولید شده در طول دوره زندگی در بین گونه‌های *proboscideus* و *Streptocephalus* و *S. sirindhornae* از شرایط آب و هوایی مختلف نشان می‌دهد که *S. sirindhornae* خود را برای زندگی در زیستگاه‌های قابل پیش‌بینی سازگار می‌کند (Dararat et al., 2011)، در حالی که بیشترین تولید در *S. proboscideus* در محیط‌های نوسان‌دار یا غیرقابل پیش‌بینی اتفاق می‌افتد (Brendonck, 1991). در هیبریدهای حاصل از گونه *Daphnia galeata* توانایی تولیدمثل نسبت به والدین بسیار کاهش پیدا می‌کند. که به نوبه خود می‌تواند توانایی پراکنش گونه را از طریق کاهش توانایی مهاجرت به زیستگاه‌های جدید و کاهش احتمال بقا در شرایط سخت محیطی محدود سازد (Johannesson et al., 1995). به‌طور کلی یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که هر سه جمعیت بررسی شده از نظر تولیدمثلی با درصد‌های مختلفی از همدیگر جدا شده‌اند که می‌تواند با جدایی جغرافیایی زیستگاه آنها در ارتباط باشد. خصوصاً جمعیت AIG زمانی که با جمعیت‌های دیگر آمیخته‌گری شد، کمترین مقدار تولید تخم و هج را داشت در صورتی که موفقیت هج در تخم‌های تولید شده از آمیخته‌گری جمعیت‌های SAS و KAS بیشتر از ۶۰٪ می‌باشد.

تقدیر و تشکر

از مسئولین و کارشناسان محترم پژوهشکده آرتمیا و جانوران آبی دانشگاه ارومیه به دلیل حمایت مالی، امکانات آزمایشگاهی و مشارکت‌های فکری و فنی سپاسگزاری می‌نماییم.

References

- Anderson, E., Lochhead, J. H., Lochhead, M. S., Huebner, E., 1970. The origin and structure of the tertiary envelope in thick-shelled eggs of the brine shrimp, *Artemia*. *Journal of Ultrastructure Research* 32(5), 497-525.
- Atashbar, A., Agh, N., Beladjal, L., Jalili, R., Mertens, J., 2012. Effects of temperature on Survival, Growth, Reproductive and life span characteristics of *Branchinecta orientalis* (Branchipoda: Anostraca) from Iran. *Crustaceana* 85(9), 1099-1114.
- Atashbar, B., 2014. Biodiversity of the large Branchiopoda in Azerbaijan, Iran. PhD thesis. Ghent University. Ghent, Belgium, 145 p.
- Atashbar, B., Agh, N., Manaffar, R., Van Stappen, G., Mohamadyari, A., Mertens, J., Beladjal, L., 2016. Morphometric and preliminary genetic characteristics of *Branchinecta orientalis* populations from Iran (Crustacea: Anostraca). *Zootaxa* 4109(1), 31-45.
- Atashbar, B., Agh, N., Van Stappen G., Beladjal, L., 2014. Diversity and distribution patterns of large branchiopods (Crustacea: Branchiopoda) in temporary pools (Iran). *Journal of Arid Environments* 111, 27-34.
- Atashbar, B., Manaffar, R., Agh, N., Falahati, A., Moshtaghiyan, M., 2009. First record of *Phallocryptus spinosa* from Yazd and Fars Provinces in the South of Iran (Crustacea; Anostraca). *Journal of Marine Science and Technology* 12(2), 1-10. (In Persian)
- Atashbar, B., Roohi, M., 2021. First record of *Branchipodopsis affinis* Sars, 1901 (Crustacea: Anostraca) in Iran (Bazargan, West Azerbaijan): Ecology, Morphology and Genetics. *Zootaxa* 4908(4), 558-570.
- Atkinson, D., Sibly, R. M., 1997. Why are organisms usually bigger in colder environments? Making sense of a life history puzzle. *Trends in Ecology and Evolution* 12(6), 235-239.

- Benzie, J.A.H., Kenway, M., Ballment, E., Frusher, S., Trott, L., 1995. Interspecific hybridization of the tiger prawns *Penaeus monodon* and *Penaeus esculentus*. *Aquaculture* 133(2), 103-111.
- Bergmann, C. 1847. Ueber die Verhältnisse der Wärmeökonomie der Thiere zu ihrer Größe. *Vandenhoeck & Ruprecht* 3, 595-708.
- Bowen S.T., Davis, M.L., Fenster, S.R., Lindwall, G.A., 1980. Sibling species of *Artemia*. In: Persoone, G., Sorgeloos, P., Roels, O., Jaspers, E. (Eds), *The brine shrimp Artemia*. Universa Press, Wetteren, Belgium, pp. 151-167.
- Bray, W.A., Lawrence, A.L., Lester, L.J., Smith, L.L., 1990. Hybridization of *Penaeus setiferus* (Linnaeus, 1767) and *Penaeus schmitti* Burkenroad, 1936 (Decapoda). *Journal of Crustacean Biology* 10(2), 278-283.
- Bowen, S.T. 1965. The genetics of *Artemia salina*. V. Crossing over between the X and Y chromosomes. *Genetics* 52(3), 695-710.
- Brendonck, L., De Meester, L., 2003. Egg banks in freshwater zooplankton: evolutionary and ecological archives in the sediment. *Hydrobiologia* 491, 65-84.
- Castro, M. J., Castro-Barrera, T., Arredondo-Figueroa, J., 2004. Cross-breeding studies in seven *Artemia franciscana* strains from Mexico. *Journal of Biological Research* 2, 35- 41.
- Clegg, J. S., Drinkwater, L. E. Sorgeloos, P., 1996. The metabolic status of diapause embryos of *Artemia franciscana*. *Physiological and Biochemical Zoology* 69(1), 49-66.
- Clegg, J.S., 1986. *Artemia* cysts as a model for the study of water in biological systems. *Methods in Enzymology* 127, 230-239.
- Correa, F. S., Buckle L. F., De la Rosa, J. V., 1993. Hibridación en algunas poblaciones de *Artemia franciscana* (Anostraca: Artemiidae). *Revista Biología Tropical* 41(1), 97-101.
- Dararat, W., Starkweather, P. L., Sanoamuang, L., 2011. Life history of three fairy shrimp from Thailand. *Journal of Crustacean Biology* 31(4), 623-629.
- De Roeck, E. R., Waterkeyn, A., Brendonck, L., 2010. Life history traits of *Streptocephalus purcelli* Sars, 1898 (Branchiopoda, Anostraca) from temporary waters with different phenology. *Water* 36(3), 323-328.
- Dobzhansky, T., 1951. *Genetics and the origin of species*. Columbia University Press, New York, 364p.
- Edwards, A.W.F., 2008. G. H. Hardy (1908) Hardy-Weinberg equilibrium. *Genetics* 179: 1143-1150.
- Gajardo, G., Colihueque, N., Parraguez, M., Sorgeloos, P., 1998. International study on *Artemia* LVIII. Morphologic differentiation and reproductive isolation of *Artemia* populations from South America. *International journal of Salt Lake research* 7, 133-151.
- Gajardo, G., Parraguez, M., Beardmore J.A., Sorgeloos, P., 2001. Reproduction in the brine shrimp *Artemia*: evolutionary relevance of laboratory cross-fertility tests. *Journal of Zoology* 253(1), 25-32.
- Gallardo, C., Castro, M. J., 1987. Reproduction and genetics of Mexican *Artemia*. In: Sorgeloos, P., Bengston, D.A., Declair, W., Jaspers, E. (Eds.), *Artemia Research and Its Application: Morphology, Genetics, Strain characterization, Toxicology*. Universa Press, Wetteren, Belgium, pp. 249-253.
- Gillooly, G.F., 2000. Effect of body size and temperature on generation time in zooplankton. *Journal of Plankton Research* 22(2), 241-251.
- Green, A.J., Figuerola, J., 2005. Recent advances in the study of long-distance dispersal of aquatic invertebrates via birds. *Diversity and Distributions* 11, 149-156.
- Green, A.J., Sanchez, M.I., Amat, F., Figuerola, J., Hontoria, F., Ruiz O., Hortas, F., 2005. Dispersal of invasive and native brine shrimps *Artemia* (Anostraca) via waterbirds. *Limnology and Oceanography* 50(2), 737-742.
- Hebert, P.D.N., 1978. The population biology of *Daphnia* (Crustacea: Daphniidae). *Biological Reviews* 53(3), 387-426.
- Johannesson, K., Rolan-Alvarez, E., Eken Dahl, A., 1995. Incipient reproductive isolation between two sympatric morphs of the intertidal snail *Littorina saxatilis*. *Evolution* 49(6), 1180-1190.
- Linden, V. L., Vankerckhoven, A. I., Caubergs, R., Declair, W., 1986. Action spectroscopy of light-induced hatching of *Artemia* cysts (Branchiopoda: Crustacea). *Marine Biology* 91, 239-243.
- MacArthur, R.H., Wilson, E.O., 1967. *The Theory of Island Biogeography*. Princeton University Press, Princeton, 203 p.
- March, F., Bass, D., 1995. Application of island biogeography theory to temporary pools. *Journal of Freshwater Ecology* 10(1), 83-85.

- Mayr, E., 1969. Principles of Systematic Zoology. McGraw- Hill, New York, 428 p.
- Morris, J.E., Afzelius, B.A., 1967. The structure of the shell and outer membranes in encysted *Artemia salina* embryos during cryptobiosis and development. Journal of Ultrastructure Research 20, 244-59.
- Mura, G., Azari Takami, G., 2000. A contribution to the knowledge of the anostracan fauna of Iran. Hydrobiologia 441(1), 117-121.
- Pancella, J.R., Stross, R.G., 1963. Light induced hatching of Daphnia resting eggs. Chesapeake Science 4(3), 135-140.
- Pérez-Moreno, J.L., Balázs, G., Wilkins, B., Herczeg, G., Bracken-Grissom, H.D., 2017. The role of isolation on contrasting phylogeographic patterns in two cave crustaceans. BMC Evolutionary Biology 17, 247.
- Rose, M., Lauder, G.V., 1996. Post-Spandrel Adaptationism. In: Michael, R., Lauder, G.V. (Eds.). Adaptation. Academic Press, San Diego, 511 p.
- Sorgeloos, P., 1980. The use of the brine shrimp *Artemia* in aquaculture. In: Persoone, G., Sorgeloos, P., Roels, O., Jaspers, E. (Eds.). The brine shrimp *Artemia* Ecology culturing, us in aquaculture. Universa press, Wetternen, 620 p.
- Stelzer, C.P., 2002. Phenotypic plasticity of body size at different temperatures in a planktonic rotifer: mechanisms and adaptive significance. Functional Ecology 16(6), 835-841.
- Syafaat, M.N., Abualreesh, M.H., Yatim, N.I., Fazhan, H., Waiho, K., Hongyu, M., Okomoda, V.T., Ikhwanuddin, M., 2023. Interspecific hybridization of decapod crustacean species with commercial interest. Review In Aquaculture 16, 741-758.
- Thiéry, A., 1996. Large branchiopods (Crustacea: Anostraca, Notostraca, Spinicaudata, Laevicaudata) from temporary inland waters of the Arabian Peninsula. Fauna Saudi Arabia 15, 37-98.
- Villalobos, L., Zuñiga, L., 2017. Latitudinal gradient and morphological variability of copepods in Chile: *Boeckella gracilipes* Daday 1901. Verhandlungen des Internationalen Verein Limnologie 24, 2834-2838.
- Zúniga, O., Wilson, R., Amat, F., Hontoria, F., 1999. Distribution and characterization of Chilean populations of the brine shrimp *Artemia* (Crustacea, Branchiopoda, Anostraca). International Journal of Salt Lake Research 8(1), 23-40.