تعیین تنوع مولکولی و بررسی جمعیتی ماهی سفید (*Rutilus frisii kutum*) مهاجر به تالاب انزلی و رودخانه شیرود با روش ژنتیک مولکولی

فریدون چکمه دوز قاسمی[1*]، شهرام بهمنش[1]، مهتاب یارمحمدی[2]، محمد حسن زاده صابر[2]

۱ـ پژوهشکده آبزی پروی آبهای داخلی، بندر انزلی، ایران
۲ـ موسسه تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری دریای خزر، رشت، ایران
مسئول مکاتبات: chakmehdouz13@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۳/۶/۲۶ تاریخ پذیرش: ۹۳/۸/۱۵

چکیده

با توجه به اهمیت اقتصادی این ماهی، ساختار ژنتیکی و جمعیتی آن در این دو منطقه با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور تعداد ۵۰ نمونه ماهی سفید از هر منطقه صید (جمعا ۱۰۰ نمونه) و بافت باله دمی آنها پس از برش داخل الکل ۹۶ درجه جمع‌آوری و DNA ژنومی آنها استخراج شد. جهت انجام واکنش‌های زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) از ۱۰ جفت آغازگر استفاده شد که همگی تولید باندهای چندشکلی نمودند. در نتایج حاصله ۱۹۱ الل بدست آمد که بیشترین تعداد الل (۱۸) متعلق به جایگاه‌های ژنی Ca1 و Ca3 و کمترین تعداد الل (۲) در جایگاه ژنی MFW1 بود. بر اساس میانگین تعداد الل در هر جایگاه ژنی و هتروزایگوسیتی مشاهده شده بین نمونه‌های دو منطقه، تفاوت آماری معنی‌دار نبود ($p > ۰/۰۵$). شاخص Fst که تفاوت جمعیتی را نشان می‌دهد بین نمونه‌های دو منطقه ۰/۰۵۶ محاسبه شده و معنی دار بود ($p < ۰/۰۱$). نمونه‌های دو منطقه در اکثر جایگاه‌های ژنی با آزمون هاردی واینبرگ (HW) در تعادل نبودند. فاصله ژنتیکی محاسبه شده بین دو جمعیت در حد بالایی بود (۰/۴۰۷). نتایج بدست آمده از این بررسی نشان داد که ماهی سفید تالاب انزلی و رودخانه شیرود هر یک جمعیت مستقلی می‌باشند. بنابر این حفظ تنوع ژنی و اجرای برنامه های مدیریتی شیلاتی مبنی بر ازدیاد ذخایر هر یک از این جمعیت‌ها بایستی مد نظر قرار گیرد.

کلمات کلیدی: ماهی سفید دریای خزر، ساختار ژنتیکی، ساختار جمعیتی، نشانگرهای ریزماهواره، تالاب انزلی

مقدمه

ماهی سفید (*Rutilus frisii kutum*) با توجه به طعم مطلوب، ارزش غذایی بالا و کیفیت عالی گوشت، در بین ذخایر ماهیان استخوانی دریای خزر یکی از گونه‌های با ارزش و اقتصادی در حوضه جنوبی این دریا می‌باشد که بیش از ۸۰ درصد کل صید پره را به خود اختصاص داده بطوری که میزان صید آن در سال ۱۳۹۰ بالغ بر ۱۰ هزار تن بوده است [۴]. صید بی‌رویه، ماهیگیری غیرمسئولانه، احداث سد و برداشت آب رودخانه‌های محل مهاجرت در زمان کشاورزی و ورود انواع سموم و آلاینده‌های شیمیایی به رودخانه‌ها سبب شده تا ذخایر جمعیتی اختصاصی ماهی سفید هر رودخانه کاهش یابد [۵، ۶، ۱۰، ۱۹]. به همین دلیل مولدین ناگزیر از مهاجرت در تمامی نوار ساحلی دریای خزر بوده و احتمال تکثیر آنها بدون اطلاع از ساختار ژنتیکی و جمعیتی آنها می‌تواند سبب افزایش ضریب همخونی در جمعیت‌های آن گردد. این روند در درازمدت می‌تواند تأثیرات سویی به دنبال داشته و به صورت تدریجی سبب تخریب ذخایر ژنتیکی و نابودی تدریجی خزانه ژنی جمعیت‌های ماهی سفید گردد که از عوارض آن کاهش سرعت رشد، کاهش میانگین طول، کاهش درصد هم‌آوری و افزایش لاروهایی که دارای ناهنجاری‌های ریختی می‌باشند در یک دوره ۲۵ الی ۴۰ ساله است [۷]. بطور کلی اطلاع از تنوع ژنتیکی آبزیان

Archive of SID
www.SID.ir

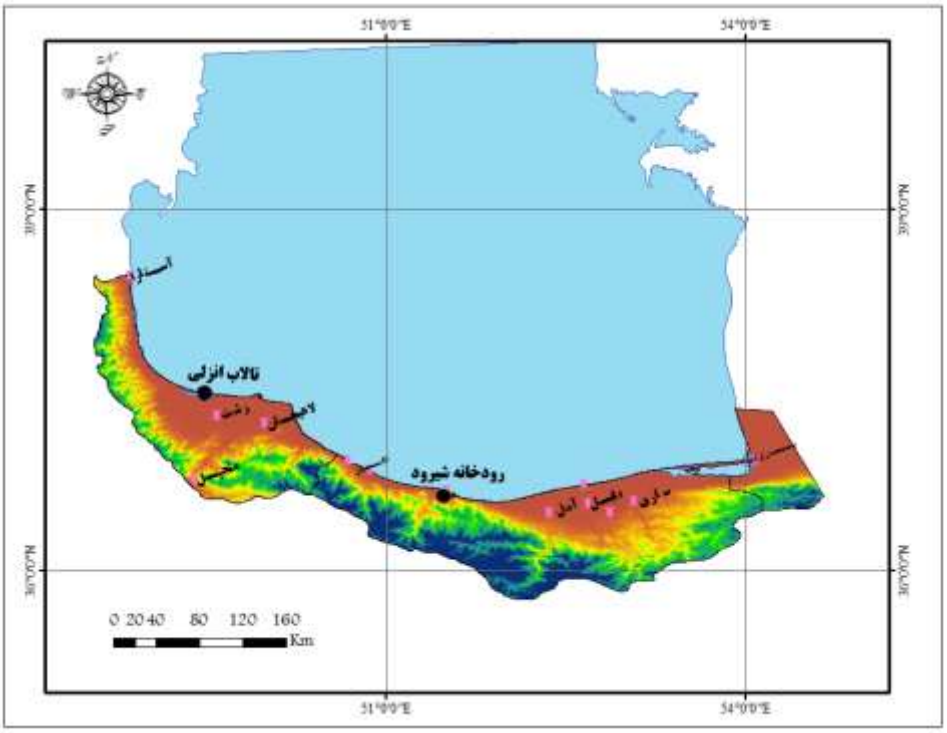
در راستای حفظ ذخایر آنها سودمند است [۴۲]. حفظ تنوع ژنتیکی یا هتروزیگوسیتی هم برای جمعیت‌های وحشی و هم برای جمعیت‌های پرورشی ضروری می‌باشد زیرا تامین کننده طیف وسیعی از ژنوتیپ بعنوان پاسخی به سازش‌پذیری در شرایط متغییر محیطی است. هتروزیگوسیتی اختصاصی بوده و بسیاری از خصوصیات مهم اقتصادی مثل رشد، باروری و مقاومت در برابر بیماری‌ها تحت تأثیر آن است [۱۴، ۱۵، ۲۳]. در واقع هدف مدیریت شیلاتی حفاظت و بهره‌برداری پایدار از ذخایر ماهیان می‌باشد که دستیابی به این هدف نیازمند آگاهی از کیفیت، تنوع و پراکنش ذخایر این ماهیان است. از نشانگرهای مولکولی مورد استفاده در ژنتیک جمعیت، مارکرهای مایکروستلایتی می‌باشد که به دلیل همبارز بودن، قابلیت رتبه‌دهی آسان، پراکندگی یکنواخت در سراسر ژنوم، امتیازدهی آسان و دقیق الل‌ها، نشان دادن چندشکلی بسیار زیاد (polymorphism)، از اهمیت بالایی در تعیین ساختار ژنتیکی جمعیت آبزیان برخوردار می‌باشند [۱۸، ۳۷]. در سال‌های اخیر مطالعات متعددی توسط محققین علوم شیلاتی برروی این گونه اقتصادی سواحل جنوبی دریای خزر انجام شده است [۱، ۲، ۳، ۹، ۱۷، ۲۹] و ضروری است این مطالعات بصورت پایش انجام یابند. بنابر این هدف از این تحقیق آگاهی از ساختار ژنتیکی و جمعیتی ماهی سفید مهاجر سواحل جنوبی دریای خزر به تالاب انزلی و رودخانه شیرود سواحل جنوبی دریای خزر با نشانگرهای ریزماهواره‌ای بوده است تا در آینده با نگرش علمی‌تری مبنی بر ازدیاد ذخایر بومی هر منطقه اقدام گردد.

مواد و روش کار

در سال ۱۳۹۱ از تالاب انزلی (طول جغرافیایی ′۲۵ °۴۹ و عرض جغرافیایی ′۲۸ °۳۶) ۵۰ نمونه و از رودخانه شیرود نیز (طول جغرافیایی ′۴۹ °۵۵ و عرض جغرافیایی ′۴۵ °۳۶) تعداد ۵۰ عدد ماهی سفید توسط صیادان محلی توسط پره صید (شکل ۱) و توسط قیچی حدود ۱ سانتی‌متر مربع از قسمت نرم بافت باله دمی بریده شده و داخل تیوپ ۱/۵ میلی‌لیتری حاوی الکل ۹۶ درصد قرار داده شد. در آزمایشگاه ژنتیک مولکولی از هر نمونه مقدار ۳۰ تا ۵۰ میلی‌گرم توسط قیچی بریده و DNA ژنومی با روش فنل کلروفرم ایزوآمیل الکل استخراج شد [۲۶]. پس از استخراج، غلظت و خلوص آنها با روش اسپکتروفتومتری در طول موج‌های ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر توسط دستگاه نانودراپ مدل ND1000 و کیفیت آنها توسط الکتروفورز ژل آگارز ۱ درصد تعیین و تا زمان استفاده در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد قرار داده شد [۲۶]. جهت دستیابی به داده‌های مولکولی از ۱۰ جفت آغازگر ریزماهواره‌ای شامل Ca1، Ca3، Ca5، Ca12 [۲۲]، Lco1، Lco3، Lco5 [۴۱]، Lid1، Rru2 [۱۲]، MFW1 [۲۰] استفاده شد. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) شامل ۱۰۰ نانوگرم DNA ژنومی، ۰/۴ مایکرولیتر آنزیم *Taq* DNA پلیمراز، ۱۵ پیکومول از هر آغازگر، ۲۰۰ میکرومول dNTPs، ۱/۵ میلی‌مولار $MgCl_2$، ۲ مایکرولیتر بافر PCR با غلظت X10 (سیناژن، ایران) و آب مقطر جهت رسیدن به حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر بود. واکنش PCR داخل دستگاه ترمال سایکلر اپندورف (Mastercycler ep gradient, 96 plus, eppendorf, Germany) انجام و چرخه‌های حرارتی شامل ۱ مرحله ۵ دقیقه‌ای در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به عنوان واسرشته‌سازی اولیه (Denaturing)، متعاقب آن ۳۰ سیکل شامل ۹۴ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ ثانیه، دمای ۶۱ – ۵۳ درجه سانتی-گراد مناسب هر آغازگر به مدت ۳۰ ثانیه و۳۰ ثانیه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد، سپس ۱ مرحله ۵ دقیقه‌ای در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد بعنوان مرحله بسط نهایی (elongation) بود (جدول ۱). محصول PCR تمامی نمونه‌ها بر روی ژل پلی آکریل آمید ۶ درصد و استفاده از دستگاه الکتروفورز هوفر (Pharmacia-Biotech, USA) با جریان ۱۲۰ ولت جداسازی و سپس با نیترات نقره [۳۴] رنگ‌آمیزی گردید تا باندها رویت گردند (شکل

www.SID.ir

۲). آنالیز آماری شامل تعداد الل‌های مشاهده شده (Observed allels)، هتروزایگوسیتی مشاهده شده (Ho)، هتروزایگوسیتی مورد انتظار (He)، فاصله ژنتیکی براساس [۳۲]، تعادل هاردی واینبرگ بر اساس X^2، شاخص *Fst* که نشانه جدایی جمعیت‌هاست بر اساس آزمون AMOVA درسطح احتمال ۰/۰۱ بود. برای آنالیز آماری از نرم افزار GeneAlex نسخه ۶ [۳۳] استفاده شد.

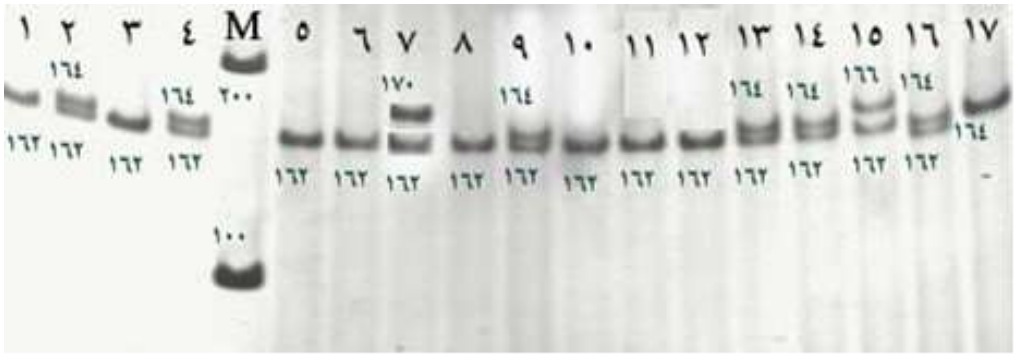


شکل ۱ـ مکان‌های نمونه برداری: تالاب انزلی و رودخانه شیرود

جدول ۱ـ مشخصات ۱۰ جایگاه ژنی مورد استفاده در این بررسی

جایگاه ژنی	توالی جایگاه ژنی	اندازه مورد انتظار(باز)	دمای اتصال
Ca1	F-AAGACGATGCTGGATGTTTAC R-CTATAGCTTATCCCGGCAGTA	۱۰۴-۱۴۸	۵۹
Ca3	F-GGACAGTGAGGGACGCAGAC R-TCTAGCCCCCAAATTTTACGG	۲۲۴-۳۰۰	۶۱
Ca5	F-TTGAGTGGATGGTGCTTGTA R-GCATTGCCAAAAGTTACCTAA	۱۶۴-۲۰۴	۶۰
Ca12	F-GTGAAGCATGGCATAGCACA R-CAGGAAAGTGCCAGCATACAC	۱۶۸-۲۰۰	۶۱
Lco1	F-ACGGGACAATTTGGATGTTTTAT R-GGGGCAGCATACAAGAGACAAC	۲۴۸-۳۰۰	۵۸
Lco3	F-AAACAGGCAGGACACAAAGG R-GCAGGAGCGAAACCATAAAT	۲۴۸-۳۰۰	۶۰
Lco5	F-TTACACAGCCAAGACTATGT R-CAAGTGATTTTGCTTACTGC	۱۶۰-۱۷۴	۵۸
Lid1	F-TAAAACACATCCAGGCAGATT R-GGAGAGGTTACGAGAGGTGAG	۲۲۴-۲۸۰	۶۰
Rru2	F-TTCCAGCTCAACTCTAAAGA R-GCACCATGCAGTAACAAT	۱۰۴-۱۵۲	۵۳
MFW1	F-GTCCAGACTGTCATCAGGAG R-CAGGTGTACACTGAGTCACGC	۷۴-۷۶	۶۱

www.SID.ir



شکل ۲ـ محصول PCR آغازگر Lco5 پس از الکتروفورز ژل پلی آکریل آمید و رنگ آمیزی با نیترات نقره

نتایج

در مجموع از ۱۰ جایگاه ژنی مورد بررسی، ۱۹۱ الل بدست آمد. بیشترین الل بدست آمده (۱۸ الل) متعلق به جایگاه های ژنی Ca1 و Ca3 در نمونه‌های رودخانه شیرود و کمترین الل بدست آمده (۲ الل) مربوط به جایگاه ژنی MFW1 در هر دو منطقه بود. میانگین تعداد الل‌های محاسبه شده هر جایگاه ژنی برای نمونه‌های رودخانه شیرود ۹/۵ و برای نمونه‌های تالاب انزلی ۹/۳ بدست آمد. میانگین هتروزایگوسیتی (تنوع ژنی) مشاهده شده به ترتیب برای رودخانه شیرود و تالاب انزلی ۰/۶۵۵ و ۰/۵۵۷ بود (جدول ۲). اختلاف آماری معنی‌داری بر اساس تعداد الل‌های بدست آمده و هتروزایگوسیتی مشاهده شده بین دو منطقه بدست نیامد (P>۰/۰۵). به غیر از جایگاه ژنی MFW1 در نمونه‌های رودخانه شیرود و جایگاه ژنی Lid1 در نمونه‌های تالاب انزلی، سایر نمونه‌های دو منطقه در بقیه جایگاه های ژنی در تعادل با آزمون هاردی واینبرگ نبودند (جداول ۲ و ۳). شاخص Fst کم (۰/۰۵۶) ولی معنی‌دار بود و نشان داد که ماهی سفید دو منطقه مورد مطالعه از دو جمعیت متفاوت می باشند. فاصله ژنتیکی ۰/۴۰۷ محاسبه شد که یک فاصله ژنتیکی خوب بین دو جمعیت می‌باشد.

جدول ۲ـ میانگین تعداد الل و تنوع مولکولی مشاهده شده (Ho) در تمامی جایگاه‌های ژنی بین دو منطقه

منطقه	میانگین تعداد الل در هر جایگاه ژنی	میانگین Ho	میانگین He
شیرود	۹/۵ ± ۴/۹۹	۰/۶۵۵ ± ۰/۲۶	۰/۷۶۵ ± ۰/۱۶
تالاب انزلی	۹/۳ ± ۴/۴۵	۰/۵۵۷ ± ۰/۲۶	۰/۷۱۸ ± ۰/۲۳

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۳ـ تنوع مولکولی ماهی سفید در مناطق مورد مطالعه (تعداد الل‌ها = A، تنوع مشاهده شده = Ho، تنوع قابل انتظار = He، تعادل هاردی واینبرگ = *P*، تعادل = ❋)

منطقه	شاخص های آماری				جایگاه ژنی
	P	He	Ho	A	
شیرود	۰/۰۰۱	۰/۹۰۴	۰/۹۵۷	۱۸	Ca1
تالاب انزلی	۰/۰۰۰	۰/۸۷۳	۰/۹۵۸	۱۵	
شیرود	۰/۰۰۰	۰/۹۰۷	۰/۷۲۳	۱۸	Ca3
تالاب انزلی	۰/۰۰۳	۰/۹۱۰	۰/۷۵۰	۱۶	
شیرود	۰/۰۰۰	۰/۷۷۱	۰/۳۴۰	۸	Ca5
تالاب انزلی	۰/۰۰۰	۰/۸۶۴	۰/۴۳۸	۱۱	
شیرود	۰/۰۱۳	۰/۸۳۳	۰/۷۴۵	۹	Ca12
تالاب انزلی	۰/۰۰۴	۰/۸۳۲	۰/۶۰۴	۹	
شیرود	۰/۰۰۰	۰/۷۴۹	۰/۳۴۰	۶	Lco1
تالاب انزلی	۰/۰۰۵	۰/۵۷۳	۰/۳۳۳	۵	
شیرود	۰/۰۰۰	۰/۸۰۰	۰/۵۵۳	۸	Lco3
تالاب انزلی	۰/۰۰۰	۰/۷۹۴	۰/۴۱۷	۱۰	
شیرود	۰/۰۰۰	۰/۷۳۲	۰/۶۳۸	۱۰	Lco5
تالاب انزلی	۰/۰۰۰	۰/۴۹۲	۰/۴۵۸	۵	
شیرود	۰/۰۰۱	۰/۷۵۴	۰/۹۵۷	۷	Lid1
تالاب انزلی	۰/۲۳۸ ❋	۰/۸۵۶	۰/۸۹۶	۱۲	
شیرود	۰/۴۴۷ ❋	۰/۳۳۵	۰/۲۹۸	۲	MFW1
تالاب انزلی	۰/۰۲۲	۰/۱۸۷	۰/۱۲۵	۲	
شیرود	۰/۰۰۱	۰/۸۶۲	۱/۰۰	۱۰	Rru2
تالاب انزلی	۰/۰۰۰	۰/۸۰۲	۰/۹۷۲	۹	

بحث

در معرض خطر بودن گونه‌های ماهیان را می‌توان از طریق سنجش تنوع اللی، تنوع ژنی، اندازه جمعیت مؤثر و در حالت کلی تعیین ساختار ژنتیکی آن تعیین نمود [۴۴]. وجود تنوع ژنی، بمنزله توانایی جمعیت‌های یک گونه در مقابله با تغییرات شرایط محیطی، مقابله با بیماری‌ها و نیز انتقال صفات بارز آن جمعیت به نسل‌های بعدی می‌باشد [۱۴، ۲۳]. با توجه به ذخایر قابل توجه و اهمیت اقتصادی ماهی سفید در سواحل جنوبی دریای خزر، مطالعات ژنتیکی صورت گرفته در راستای بهره‌برداری پایدار از ذخایر ژنتیکی جمعیت آن اندک می‌باشد. بنابر این، این مطالعه با روش مولکولی ریزماهواره‌ای به منظور شناسایی ساختار ژنی و تفکیک جمعیتی دو منطقه مهم مهاجرتی و تولیدمثلی این گونه انجام گردید.

بر اساس نتایج حاصل از داده‌های مولکولی تفاوت آماری معنی‌داری بر اساس میانگین تعداد الل در هر جایگاه ژنی و هتروزایگوسیتی مشاهده شده بین نمونه‌های دو منطقه بدست نیامد. از شاخص‌های تعیین تنوع ژنتیک جمعیت‌ها یا پلی‌مورفیسم، تعداد الل در جایگاه‌های ژنی و هتروزایگوسیتی می‌باشد [۲۴]. الل‌های واقعی (Na) یعنی تعداد الل‌های مشاهده شده در هر جایگاه ژنی که این معیار تحت تاثیر اندازه نمونه می‌باشد بطوریکه با تعداد نمونه‌های مختلف تعداد الل‌های واقعی مختلف در هر

Archive of SID

www.SID.ir

جایگاه مایکروستلایتی بدست می‌آید، کاهش تعداد الل-های مشاهده شده در سطح جمعیت می‌تواند بیانگر کاهش تنوع ژنتیکی باشد [۳۰]. در این بررسی میانگین تعداد الل برای نمونه‌های دو منطقه ۹/۵–۹/۳ و هتروزایگوسیتی مشاهده شده (Ho) ۰/۶۵۵–۰/۵۵۷ بدست آمد که تا حدود زیادی نشان‌دهنده وجود پلی-مورفیسم در این گونه و در مناطق مورد مطالعه می‌باشد. در بررسی که توسط رضایی و همکاران در سال ۱۳۸۹ با روش مایکروستلایت بر روی ماهی سفید دو منطقه گرگانرود و چشمه کیله تنکابن انجام شد میانگین تعداد الل ۷/۹۵ و میانگین هتروزیگوسیتی را ۰/۷۷ محاسبه نمودند. ایشان با توجه به میانگین تعداد اللی محاسبه شده نسبت به ماهیان رودکوچ (۱۱/۳) [۲۱] را نشان از یک تنگنای ژنتیکی در ماهی سفید این دو منطقه دانستند. میانگین تعداد الل در تمامی جایگاه‌های ژنی برای ماهیان دریایی ۹/۹، آب شیرین ۹/۱ و ماهیان رودکوچ ۱۱/۳ و هتروزایگوسیتی به ترتیب ۰/۶۶۰، ۰/۵۴ و ۰/۶۸ گزارش شده است [۲۱] ولی این مقادیر در نتایج مطالعات سایر محققین، متفاوت بوده است [۱۳، ۱۶، ۲۵، ۲۷، ۲۸]. کاهش تعداد الل‌های مشاهده شده در سطح جمعیت می-تواند بیانگر کاهش تنوع ژنتیکی باشد [۳۰] و این عامل آمادگی آنها را برای بروز یا شیوع به بیماری‌ها را افزایش داده و در دراز مدت سبب کوچک شدن اندازه جمعیت‌ها گردد [۳۹] که این مسئله در این مطالعه مشاهده نگردید و در واقع میانگین تعداد الل‌های بدست آمده با ماهیان آب شیرین و رودکوچ مطابقت دارد. میانگین هتروزایگوسیتی مشاهده شده (Ho) دو منطقه از میانگین هتروزایگوسیتی مورد انتظار (He) کمتر بود که این عامل می‌تواند به سبب احتمال استفاده از مولدین زیاد و هم خون در زمان تکثیر بوده باشد. در واقع عواملی همچون تخریب رودخانه‌های محل مهاجرت و صید بیرویه می‌تواند عاملی برای ایجاد تنگناهای ژنتیکی باشد، بنابر این به منظور صید و بهره برداری پایدار از این ذخایر ارزشمند و جلوگیری از کاهش تنوع ژنی و افزایش ضریب همخونی انجام همه ساله بررسی‌های مولکولی در این رابطه ضروری می‌باشد. از شاخص‌های آماری نشان‌دهنده جدایی و استقلال جمعیت تعیین میزان Fst است [۱۱]. در بررسی حاضر این میزان بر اساس تست ANOVA بین نمونه‌های دو منطقه ۰/۰۵۶ بدست آمد هرچند که مقدار شاخص جدایی جمعیت‌ها اندک بود ولی معنی‌دار بود ($p<0/01$). کیوانشکوه و همکاران در سال ۲۰۰۷ Fst کلمه تالاب انزلی و خلیج گرگان را ۰/۰۷ محاسبه و عنوان نمودند که با وجود مقدار کم این شاخص، تفاوت معنی‌دار بوده و این دو جمعیت از هم جدا می‌باشند. در بررسی دیگر نوروزی و همکاران در سال ۱۳۹۲ به بررسی ساختار ژنتیکی و جمعیتی ماهی کیلکا دریای خزر پرداخته و با استفاده از همین شاخص جدایی جمعیت‌ها در دو فصل نمونه‌برداری در منطقه بابلسر را اعلام نمودند. Shaklee و همکاران (۱۹۸۲) و Thorpe و Sol-Cave (۱۹۹۴) با بررسی‌های خود دامنه فاصله ژنتیکی بر اساس [۳۲، ۳۸] بین جمعیت‌ها را ۰/۰۳ الی ۰/۶۱ عنوان نمودند و فاصله ژنتیکی محاسبه شده این بررسی برای ماهی سفید (۰/۴۰۷) نشان‌دهنده فاصله ژنتیکی مناسبی بود، بر اساس فاصله ژنتیکی بدست آمده و حد معنی‌دار بودن شاخص Fst می‌توان بیان نمود که جمعیت‌های ماهی سفید تالاب انزلی و رودخانه شیرود هر یک جمعیت مستقلی می-باشند. در صورت جدایی جمعیت‌ها نمونه‌ها بایستی در جایگاه‌های مورد بررسی در تعادل با آزمون هاردی واینبرگ باشند. در بررسی حاضر اکثر جایگاه‌های ژنی دو منطقه در تعادل با این آزمون نبودند. این آزمون فرض را بر این می‌گذارد که جمعیت‌ها بی‌اندازه بزرگ هستند، آمیزش تصادفی است، جهش وجود ندارد، بهگزینی صورت نگرفته و مهاجرت بین جمعیت‌ها نباشد. وجود الل‌های پوچ در آغازگرهای ریزماهواره که سبب انحراف از تعادل هاردی واینبرگ می‌شوند نیز در مطالعات بسیاری از محققین بیان شده است [۲۸، ۳۱، ۳۶، ۴۳]، انحراف از هر یک از پیش شرط‌ها می‌تواند دلیل انحراف از تعادل در جمعیت‌های ماهی سفید این بررسی بوده باشد. از دلایل

www.SID.ir

بسیار دیگر عدم تعادل جمعیت‌های مورد مطالعه با آزمون هاردی واینبرگ، تخریب محیط زیست و افزایش فشار صید می‌باشد [۳۵]. در واقع طی سال‌های گذشته و ادامه روند آن فرسایش و تخریب رودخانه‌ها و مکان‌های مهاجرتی و تولیدمثلی ماهی سفید در سواحل جنوبی دریای خزر و نیز افزایش صید این گونه در تمامی فصول چه بصورت مجاز و چه بصورت غیرمجاز می‌تواند توضیح قابل ملاحظه‌ای مبنی بر تعادل نبودن دو جمعیت در اکثر جایگاه‌های ژنی مورد بررسی در این تحقیق باشد.

نتیجه‌گیری

از اهداف مدیریت شیلاتی ازدیاد و بهره‌برداری پایدار از ذخایر می‌باشد بنابر این با توجه به نتایج این تحقیق می‌توان بیان نمود که هرچند با توجه به تخریب رودخانه‌های محل مهاجرت، آلودگی دریای خزر و عدم وجود موانع فیزیکی در این پهنه آبی، ماهی سفید در این دو منطقه هنوز از تنوع ژنتیکی برخوردار می‌باشد بنابر این حفظ ساختار ژنتیکی جمعیت‌های ماهی سفید تالاب انزلی و رودخانه شیرود استان مازندران دارای اهمیت اساسی می‌باشد. در آینده با توجه موارد ذکر شده احتمال مهاجرت هر یک از جمعیت‌های ماهی سفید، اخلاط ژنتیکی آنها را در پی داشته و بر همین اساس بررسی‌های همه جانبه بصورت پایش بایستی مد نظر قرار گیرد.

منابع

۱- رضایی، م.، شعبانی، ع.، شعبانپور، ب.، کشیری، ح.، ۱۳۸۹. مقایسه ژنتیکی ماهی سفید دریای خزر *Rutilus frisii kutum* (Kamenskii, 1901) در رودخانه‌های گرگانرود و چشمه کیله (تنکابن) با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره. مجله تاکسونومی و بیوسیستماتیک، سال دوم، شماره اول (پیاپی ۲)، صفحات ۱۴-۱.

۲- رضایی، م.، شعبانی، ع.، شعبانپور، ب.، کشیری، ح.، ۱۳۸۹. بررسی ساختار ژنتیکی جمعیتی ماهی سفید (*Rutilus frisii kutum*) در سواحل استان گلستان با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره. ۱۳۸۹. مجله علمی شیلات ایران، یافته علمی کوتاه، سال نوزدهم، شماره ۳، صفحات ۱۵۶-۱۵۱.

۳- رضایی، م.، شعبانی، ع.، شعبانپور، ب.، کشیری، ح.، ۱۳۸۹. بتنوع ریزماهواره‌ای و ساختار ژنتیک جمعیت ماهی سفید *Rutilus frisii kutum* در سواحل استان مازندران. ۱۳۹۱. مجله زیست‌شناسی ایران، جلد ۲۵، شماره ۴، صفحات ۵۵۸-۵۴۸.

۴- سازمان شیلات ایران. سالنامه آماری سازمان شیلات ایران. ۱۳۹۱.

۵- غنی نژاد، د.، مقیم، م.، عبدالملکی، ش.، ۱۳۷۹. ارزیابی ذخایر ماهیان استخوانی دریای خزر در سال ۷۹-۷۸. مرکز تحقیقات شیلات گیلان، بندر انزلی، ۱۴۹ صفحه.

۶- عبدالملکی، ش.، غنی نژاد، د.، بورانی، م.، پورغلامی، ا.، فضلی، ح.، بندانی، غ.، ۱۳۸۳. ارزیابی ذخایر ماهیان استخوانی دریای خزر در سال ۸۳ – ۸۲ . مرکز تحقیقات ماهیان استخوانی دریای خزر، بندر انزلی، ۱۴۵ صفحه.

۷- پورکاظمی، م.، ۱۳۷۹. مدیریت و بازسازی ذخایر پایدار. مجموعه مقالات بازسازی ذخایر، معاونت تکثیر و پرورش آبزیان، اداره کل آموزش و ترویج، تهران. صفحات ۳۰ - ۱۷.

۸- نوروزی، م.، ناظمی، ع.، دانشور، ف.، سمیعی، م.ه.،۱۳۹۲. ساختار ژنتیکی جمعیت‌های مختلف ماهی کیلکای معمولی (*Clupeonella cultriventris*) سواحل حوضه جنوبی دریای خزر در استان مازندران با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره. مجله علوم و فنون دریایی، دوره ۱۲، شماره ۱، صفحات ۱۹-۱۱.

9- Abdolhay H.A., Daud Siti K., Rezvani Gilkolahi S., Pourkazemi M., Siraj Siti S., Javanmard A. (2012), Genetic diversity of

Archive of SID
www.SID.ir

Mahisefid (*Rutilus frisii kutum* Kamensky 1901) in different rivers of the south Caspian Sea using PCR-RFLP. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 11(2): 235-251.

10- Azari Takami Gh. (1984), Principles of Fish Breeding and Culture, Organization of Aquatics Breeding and Development, *Deputy Aquatic Fisheries Publications*, p.152 (In Persian).

11- Ballox F., Lugon,-Moulin N. (2002), The estimate of population diffrention with microsatellite markers. *Molecular Ecology*, 11: 155-165.

12- Barinova A., Yadrenkina E., Nakajima M., Taniguchi N. (2004), Identification and characterization of microsatellite DNA markers developed in ide Leuciscus idus and Siberian roach *Rutilus rutilus*. *Molecular Ecology Notes*, 4: 86-88.

13- Bartfai R., Egedi S., Yue G.H., Kovacs B., Urbanyi B., Tamas G., Horvath L., Orban L. (2003), Genetic analysis of two common carp broodstocks by RAPD and microsatellite markers. *Aquaculture*, 219: 157-167.

14- Bataillon T.M., David J.L., Schoen D.J. (1996), Neutral genetic markers and conservation: simulated Germ plasm collections. *Genetics*, 144: 409-417.

15- Beardmore J.A., Mair G.C., Lewis R.I. (1997), Biodiversity in aquatic systems in relation to aquaculture. *Aquaculture Research*, 28: 829-839.

16- Brighitte J., Hansen M., Loeschcker V. (2005), Microsatellite DNA analysis of northern pike (*Esox lucius*) populations:insights into the genetic structure and demographic history of a genetically depauperatee specious. *Biology Journal of Linnean Society*, 84: 1-11.

17- Chakmehdouz Ghasemi F., Pourkazemi M., Zamini A., Yarmohammadi M., Baradaran Noveiri S. S., Hasanzadeh Saber M., Rezvani S., Azizzadeh L. (2009), Genetic analysis of spring and autumn races of Caspian Sea kutum (*Rutilus frisii kutum*) using microsatellite markers. *Iranian Journal of Animal Biosystematics*, 5(1): 1-8.

18- Chistiakov D.A., Hellemans B., Haley C.S., Law A.S., Tsigenopoulos C.S., Kotoulas G., Bertotto D., Libertini A., Volckaert F.A. (2005), A microsatellite linkage map of the European sea bass *Dicentrarchus labrax* L. *Genetics*, 170: 1821-1826.

19- Coad B.W. (1980), Environmental change and its impact on the freshwater fishes of Iran. *Biological Conservation*, 19: 51-80.

20- Crooijmans R.P.M.A., Bierbooms V.A.F., Komen J., Van der Poel J.J., Groenen M.A.M. (1997), Microsatellite markers in common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Animal Genetics*, 28: 129-134.

21- Dewoody J.A., Avise J.C. (2000), Microsatellite variation in marine, freshwater and anadramous fishes compared with other animals. *Journal of Fish Biology*, 56: 461-473.

22- Dimsoski P., Toth G.P., Bagley M.J. (2000), Microsatellite characterization in central stoneroller Campostoma anomalum (Pisces: Cyprinidae). *Molecular Ecology*, 9: 2187-2189.

23- Diz P.A., Presa P. (2009), The genetic diversity pattern of *Mytilus alloprovincialis* in Galician Rías (NW Iberian estuaries). *Aquaculture*, 287: 278-285.

24- Frankham R. (2008), Genetic adaptation to captivity in species conservation programs. Molecular Ecology, 17: 325-333.

Archive of SID

www.SID.ir

25- Hamilton P.B., Tyler C.R. (2007), Identification of microsatellite loci for parentage analysis in roach *Rutilus rutilus* and eigth other cyprinid fish by cross-species amplification, and a novel test for detecting hybrids between roach and other cyprinids. *Molecular Ecology Notes*, 2007.

26- Hillis D.M., Mable B.K., Larson A., Davis S.K., Zimmer E.A. (1996), Nucleic acids IV: sequencing and cloning. In: Hillis, D.M., Moritz, C., Mable, B, (Eds.), *Molecular Systematics*, second ed. Sinauer Associates, Sunderland, pp. 321-381.

27- Jug T., Berrebi P., Snoj A. (2005), Distribution of non-native trout in Slovenia and their introgression with native trout populations as observed through microsatellite DNA analysis. *Biological Conservation*, 123: 381-388.

28- Keyvanshokooh S., Ghasemi A., Shahriari-Moghadam M., Nazari R.M., Rahimpour M. (2007), Genetic analysis of *Rutilus rutilus caspicus* (Jakowlew 1870) populations in Iran by microsatellite markers. *Aquacultur Research*, 38: 953-956.

29- Kotlik P., Markova S., Choleva L., Bogutskaya G., Guler Ekmekcis N.F., Ivanova P. (2008), Divergence with gene flow between Ponto-Caspian refugia in an anadromous cyprinid *Rutilus frisii* revealed by multiple gene phylogeography. *Molecular Ecology*, 17: 1076-1088.

30- Lind C.E., Evans B.S., Knauer J., Taylor J.J.U., Jerry D.R. (2009), Decreased genetic diversity and a reduced effective population size in cultured silver-lipped pearl oysters (*Pinctata maxima*). *Aquaculture*, 286: 12-19.

31- Miller K.M., Laberee K., Schulze A.D., Kaukinen K.H. (2001), Development of microsatellite loci in Pacific herring (*Clupea pallasi*). *Molecular Ecology Notes*, 1: 131-132.

32- Nei M. (1972), Genetic distance between populations. *American Naturalist*, 106: 283-292.

33- Peakall R., Smouse P.E. (2006), GENALEX 6: genetic analysis in excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*, 6: 288-295.

34- Pourkazemi M. (1996), Molcular and Biochemical Genetc Analysis of sturgeon stocks from the south Caspian Sea .Ph.D Thesis.260 pp. School of Biological Sciences, University of Wales, Swan Sea.

35- Quan Y.C., Sun X.W., Liang L.Q. (2006), Genetic Polymorphism of Microsatellite DNA in Two Populations of Northern Sheatfish (*Silurus soldatovi*). *Acta Genetica Sinica*, 33(10): 908–916.

36- Rico C., Ibrahim K.M., Rico I., Hewitt G.M. (1997), Stock compodition in North Atlantic population of whiting using microsatellie markers. *Journal of Fish Biology*, 51: 462-475.

37- Sekar M., Suresh E., Kumar N.S., Nayak S.K., Balakrishna C. (2009), Microsatellite DNA markers a fisheries perspective Part 1: The nature of microsatellites. *Genetics and Biodiversity*, 27-29.

38- Shaklee J.B., Tamaru C.S., Waples R.S. (1982), Speciationand evolution of marine fishes studied by electrophoretic analysis of proteins. *Pacific Science*, 36: 141-157.

39- Shen X.Y., Gong Q.L. (2004), Population genetic structure analysis of the imported turbot seedlings *Scophthalmus maximus* using RAPD and microsatellite technique. *Oceanology and Limnology Science*, 35: 332-341.

40- Thorpe J.P., Sole-Cava A.M. (1994), The use of allozyme electrophoresis in

Archive of SID

www.SID.ir

43- Wirgin I., Waldman J., Stabile J., Lubinski B., King T. (2002), Comparison of mitochondrial DNA control region sequence and microsatellite DNAanalysis in estimating population structure and gene flow rates in Atlanic sturgeon *Acipenser oxyrinchus*. *Journal of Applied Ichthyology*, 18: 313-319.

44- Yue G.H., Li Y., Lim L.C., Orban L. (2004), Monitoring the genetic diversity of three Asian arowana (*Scleropages formosus*) captive stocks using AFLP and mictosatellite. *Aquaculture*, 237: 89-102.

invertebrate systematics. *Zoologica Scripta*, 23: 3-18.

41- Turner T.F., Dowling T.E., Broughton R.E., Gold J.R. (2004), Variable microsatellite markers amplify across divergent lineages of cyprinid fishes (subfamily Leusicinae). *Conservation Genetics*, 5: 279-281.

42- Wang C., Yu X., Tong J. (2007), Microsatellite diversity and population genetic structure of redfin culture (*Culter erythropterus*) in fragmented lakes of the Yangtze River. *Hydrobiologia*, 586: 321-329.

Archive of SID

www.SID.ir