بررسی تنوع ژنتیکی ماهی سوف سفید (*Sander lucioperca*) در تالاب انزلی با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره

قریب خانی، م.، پورکاظمی، م.، رضوانی گیل کلائی، س. و تاتینا، م.، ۱۳۹۰. بررسی تنوع ژنتیکی ماهی سوف سفید (*Sander lucioperca*) در تالاب انزلی با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره. مجله تالاب، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز، سال دوم، شماره هفتم، بهار ۱۳۹۰، صفحات ۱۰-۳.

مهتاب قریب خانی [1*]
محمد پورکاظمی [2]
سهراب رضوانی گیل کلائی [3]
مصطفی تاتینا [4]

۱، ۴. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آستارا، گروه شیلات، آستارا، ایران
۲. انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان، رشت، ایران
۳. موسسه تحقیقات شیلات ایران، تهران، ایران

* **نویسنده مسئول مکاتبات**
m.gharibkhani@iau-astara.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۰۲/۱۴
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۰۴/۲۳

این مقاله برگرفته از پایان نامه دکتری می‌باشد.

چکیده

این بررسی با هدف بررسی تنوع ژنتیکی ماهی سوف سفید در تالاب انزلی با استفاده از نشانگرهای ریز ماهواره‌ای انجام گرفت. بدین منظور تعداد ۵۰ عدد نمونه بالغ ماهی سوف سفید در سال ۱۳۸۸ از تالاب انزلی جمع آوری گردید. از هر ماهی حدود ۲ گرم از بافت نرم باله پشتی جدا و سپس در الکل ۹۶ درصد نگهداری گردید. DNA ژنومی هر یک از نمونه‌ها استخراج گردید و سپس کمیت و کیفیت DNA استخراج شده با استفاده از روش اسپکتروفتومتری و الکتروفورز ژل آگارز تعیین شد. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) با استفاده از ۱۵ جفت آغازگر ریز ماهواره انجام گردید. محصولات تکثیر شده از PCR با ژل پلی آکریل آمید ۶ درصد الکتروفورز و با محلول نیترات نقره رنگ آمیزی شد. تصویر ژلهای تهیه شده توسط دستگاه مستند سازی ژل با استفاده از نرم افزار Biocapt ثبت گردید. پس از رتبه دهی به الل ها، محاسبات ژنتیکی بر اساس تست AMOVA محاسبه گردید. از میان ۱۵ جفت آغازگر ریز ماهواره تنها ۶ جفت تولید باند های پلی مورفیک نمودند. میانگین الل های مشاهده شده به ازای هر جایگاه ژنی ۲/۵ بود. دامنه Ho و He در تمامی لوکوس ها به ترتیب ۰/۸۰- ۰/۳۰ و ۰/۶۳- ۰/۲۵ بود که کم‌ترین مقادیر در لوکوس YP110 و بیشترین مقادیر در لوکوسPfla L9 مشاهده شد. علت کم بودن میانگین اللی و تنوع ژنتیکی در ماهی سوف سفید به تکثیر مصنوعی این ماهی نسبت داده شد. انحراف از تعادل هاردی واینبرگ در تعدادی از الل ها مشاهده شد که علت آن نیز به عدم تصادفی بودن نمونه گیری به جهت کوچک بودن اندازه جمعیت و آمیزش خویشاوندی ناشی از تکثیر مصنوعی نسبت داده شد.

واژگان کلیدی: تنوع ژنتیکی، ماهی سوف سفید، تالاب انزلی، نشانگر، ریز ماهواره

مقدمه

تالاب انزلی یکی از ۱۰ تالاب ارزشمند جهان بوده که در شمال گیلان و ساحل جنوبی دریای خزر قرار دارد. این تالاب در موقعیت ۳۷ درجه و ۲۷ دقیقه تا ۳۷ درجه و ۳۰ دقیقه عرض شمالی و ۴۹ درجه و ۱۵ دقیقه و ۴۹ دقیقه تا ۳۷ درجه طول شرقی محدود گردیده است. تالاب انزلی از پس روی آب‌های دریای خزر بجا مانده و بیش از ۱۰ رودخانه پیش از رسیدن به دریای خزر به آن منتهی می‌گردند. در حال حاضر گستره آبی تالاب انزلی حدود ۲۱۸ کیلومتر مربع است که تنها یک سوم آن را بخش غربی (حوضچه غربی) تشکیل می‌دهد (عباسی و همکاران، ۱۳۷۸). این تالاب یکی از مهم‌ترین تالاب‌های ایران و استان گیلان است که به دلیل شرایط منحصر به فرد بوم شناختی و زیستی زیستگاه انواع جانوران (ماهیان، پرندگان، دوزیستان، پستانداران، خزندگان، زئوپلانکتونها) و گیاهان (فیتوپلانکتونها، جلبک‌ها و گیاهان عالی) می‌باشد (اصلاح عربانی، ۱۳۸۰). بر طبق پژوهش‌های انجام گرفته در تالاب انزلی ۴۲ گونه و زیر گونه ماهی

Archive

www.SID.ir

زیست می‌کند که اردک ماهی، ماهی کپور، ماهی کلمه، ماهی سوف سفید، ماهی سوف حاجی طرخان و ماهی سیم از جمله ماهیان با ارزش این تالاب می‌باشد (کریم پور، ۱۳۷۷؛ عباسی و همکاران، ۱۳۷۸). ریزماهواره ها یا توالی‌های کوتاه تکراری (SSRs)، نوع بی نظیری از تکرار های پشت سر هم توالی‌های ژنومی هستند که به فراوانی در طول ژنوم پراکنده شده‌اند و همچنین میزان بالایی از پلی مورفیسم آللی را نشان می‌دهند. آن‌ها نشانگرهایی هم بارز، با اندازه نسبتاً کوچک هستند که به راحتی در PCR تکثیر شده و توسط روش‌های سریع آزمایشگاهی تشخیص داده می‌شوند. این ویژگی‌ها موجب شده است تا این نشانگرها به طور گسترده و موفقیت آمیزی در زمینه‌های محض و کاربردی زیست شناسی و پزشکی از جمله پزشکی قانونی، همه گیر شناسی مولکولی، انگل شناسی، ژنتیک جمعیت و حفاظت، تعیین نقشه ژنی و توصیف ژنتیکی صفات خاص مورد استفاده قرار گیرند (Chistiakov *et al*., 2006). ریزماهواره ها در شیلات و آبزی پروری برای توصیف ذخایر ژنتیکی، انتخاب ذخایر مولدین، شناسایی ژن‌های کد گذاری کننده صفات مهم اقتصادی، برنامه‌های تولید مثلی، مطالعات ساختار جمعیتی، تفکیک نژادهای پرورشی از طبیعی، ارزیابی رابطه ژنتیکی والدین با فرزندان، مدیریت ژنتیکی والدین، تشخیص ماده زایی، پلی پلوئیدی و دورگه‌ها و همچنین ارزیابی روند تکاملی کارایی بالایی دارند (Chistiakov *et al*., 2005).

مطالعات مختلفی به منظور تفکیک جمعیت‌های خانواده سوف ماهیان در مناطق مختلف دنیا انجام شده است. بطوریکه Wirth و همکاران در سال (۱۹۹۹)، ۱۱ جفت پرایمر ماکروستلایت را برای مطالعات مربوط به ژنتیک جمعیت از ماهی Walleye (*Sander vitreus*) جداسازی نموده و کارایی آن‌ها را برای چهار گونه دیگر از ماهیان این خانواده مورد بررسی قرار دادند. Leclerc و همکاران در سال (۲۰۰۰)، نیز ۱۰ جفت پرایمر میکروستلایتی را از ماهی سوف زرد (*Perca flavescens*) شناسایی و جداسازی نمودند و امکان استفاده از این پرایمرها را در مورد چهار گونه دیگر از خانواده سوف ماهیان مطالعه نمودند. Bjorklund و همکاران در سال (۲۰۰۷) در مطالعه‌ای که به منظور بررسی تمایز ژنتیکی و جریان ژنی جمعیت‌های ماهی سوف سفید (*Sander lucioperca*) در نواحی شمالی و جنوبی منطقه Fennoscandian انجام دادند از مارکرهای میکروستلایت استفاده نمودند. Strange و Stepien (۲۰۰۷) نیز با استفاده از مارکر های میکروستلایت ارتباط و انشقاق ژنتیکی را بین جمعیت‌های مولد رودخانه‌ای و سواحل مرجانی ماهی Walleye (*Sander vitreus vitreus*) در دریاچه Erie مورد مطالعه قرار دادند. با این حال تا کنون هیچ گونه مطالعه‌ای در داخل کشور در زمینه بررسی تنوع ژنتیکی این گونه ماهی با استفاده از روش‌های مولکولی مبتنی بر DNA انجام نشده است. این مطالعه با هدف تعیین تنوع ژنتیکی ماهیان سوف سفید تالاب انزلی به عنوان یکی از ماهیان با ارزش اقتصادی بالای این تالاب با استفاده از نشانگرهای ریز ماهواره‌ای صورت گرفته است.

مواد و روش‌ها

تعداد ۵۰ عدد نمونه بالغ ماهی سوف سفید از تالاب انزلی جمع آوری گردید (شکل ۱). از هر ماهی حدود ۲ گرم از بافت نرم باله پشتی جدا و سپس در الکل ۹۶ درصد نگهداری گردید. سپس نمونه‌ها به آزمایشگاه ژنتیک مولکولی انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان واقع در جوار سد سنگر رشت منتقل شد.

شکل ۱: ماهی سوف سفید (*Sander lucioperca*) صید شده از تالاب انزلی

Archive of SID

www.SID.ir

DNA ژنومی هر یک از نمونه‌ها به روش استات آمونیوم (چکمه دوز،۱۳۸۳ و McQuown *et al*., 2000) استخراج گردید و سپس کمیت و کیفیت DNA استخراج شده با استفاده از روش اسپکتروفتومتری و الکتروفورز ژل آگارز تعیین شد. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) با استفاده از ۱۵ جفت آغازگر میکروستلایت (جدول ۱) انجام گردید.

جدول ۱: لوکوس های میکروستلایت، تکرار موتیف، توالی پرایمر، شماره بانک ژنی و منبع آن

شماره	لوکوس	تکرار موتیف	توالی پرایمر	شماره بانک ژنی	منبع مورد استفاده
۱	YP13	$(GTA)_{11}$	F- GGCACCCAAACTACCACT R-CAGTCGGGCGTCATCATCAAACAAGCCCCATACA	DQ826683	Li *et al*., 2007
۲	YP17	$(TAG)_{10}TANGTG$ $(TAG)_2$	F-CAGTCGGGCGTCATCACAGCGTTTCCACAGTATTGACC R- GGGTTTTACACTGTTGATGGGAT	DQ826686	
۳	YP41	$(TCTT)_{11}$	F- CGCTCCCTCCCTCTATCC R-CAGTCGGGCGTCATCATTGCTGTGCT GCCATTTC	DQ826692	
۴	YP60	$(AGAA)_{10}$	F- ATGTGTTATTGCTTTGCGTA R- CAGTCGGGCGTCATCAGCTGTTCCTG TAATGTGTTG	DQ826697	
۵	YP68	$(AC)_5GCACGC$ $(AC)_5AT(AC)_9$	F- GACAGAAAGCAAGAAGGGAA R-CAGTCGGGCGTCATCAATCCTTTTCTCCAATCCTGA	DQ826701	
۶	YP78	$(GTA)_{13}$	F- GCAGCCCCTACAATGGTT R-CAGTCGGGCGTCATCAGCCTTCTTCTGTTATTTTTCC	DQ826705	
۷	YP110	$(TTG)_{18}$	F-CAGTCGGGCGTCATCATTCAGACCCCTTCACTTTTG R- ATCAGAGCAATGACCAAGCC	DQ826719	
۸	YP111	$(CTA)_{16}(A)_{18}$	F-CAGTCGGGCGTCATCATGTGTATGGCTATTGTGCTC R- TTTGTTCAGTGTTTTTTCGC	DQ826720	
۹	YP113	$(GT)_{17}$	F-CAGTCGGGCGTCATCACGGTTGGGACACAGAGACAC R- TGGTGTGGATTGGGGCAT	DQ826721	
۱۰	*Pfla* L1	$(GA)_{27}$	F- AAGCAGCCTGATTATATATC R- CAGACAATTAAACATGCAAC	AF211826	Leclerc *et al*., 2000
۱۱	*Pfla* L2	$(CA)_{23}$	F- GTAAAGGAGAAAGCCTTAAC R- TAGCATGACTGGCAAATG	AF211827	
۱۲	*Pfla* L3	$(TG)_{18}$	F- GCCGAATGTGATTGAATG R- CGCTAAAGCCAACTTAATG	AF211828	
۱۳	*Pfla* L8	$(TG)_{39}$	F- GCCTTATTGTGTGACTTATCG R- GGATCTTTCACTTTTTCTTTCAG	AF211833	
۱۴	*Pfla* L9	$(TG)_{24}$	F- GTTAGTGTGAAAGAAGCATCTGC R- TGGGAAATGTGGTCAGCGGC	AF211834	
۱۵	*Pfla* L10	$(TG)_{14}$	F- TCCACCCTTTGATAAGGGAC R- ACAAATCTCCTGTCAAACGC	AF211835	

برای آماده کردن مواد مورد نیاز جهت PCR ابتدا بافر و محلول‌های dNTP پس از خروج از فریزر در شرایط دمایی اتاق در زیر هود لامینار قرار داده شد تا از حالت انجماد خارج شود. برای یکسان شدن مخلوط، مواد به مدت نیم دقیقه ورتکس شد. برای هر نمونه یک ویال ۰/۲ میلی لیتری استریل انتخاب و شماره نمونه روی آن ثبت گردید. سپس ترکیبات ضروری برای انجام PCR روی یخ با مقادیر مشخص به ویال ها افزوده شد. محتویات ویال ها توسط سمپلر خوب به هم زده شد و سپس ویال ها به مدت ۱۰ ثانیه سانترفیوژ شدند تا محتویات آن‌ها در ته آن‌ها جمع شود. برای بهینه کردن PCR در مرحله اول با دادن دامنه حرارتی، بهترین دمای اتصال هر کدام از آغازگرها به رشته الگو بدست آمد و در مرحله بعد جهت ظاهر شدن خوب باندها و حذف شکستگی (اسمیر) غلظت $MgCl_2$، DNA ژنومی و dNTPs بهینه سازی گردید. به این منظور برای هر نمونه یک ویال ۰/۲ میلی لیتری استریل انتخاب و ترکیبات مورد نظر (مطابق جدول ۲) بر روی یخ به حجم ۲۰ میکرو لیتر رسانده شد و سپس در دستگاه ترموسایکلر با چرخه‌های حرارتی مشخص قرار داده شدند (جدول ۳).

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۲: نوع و مقدار مواد استفاده شده در واکنش زنجیره‌ای پلیمراز

ماده	غلظت مواد	مقدار برای واکنش ۲۰ میکرو لیتری
DNA	۵۰ نانوگرم	۱-۲ میکرولیتر
پلیمراز Taq DNA آنزیم	۵ یونیت در میکرولیتر	۰/۲ میکرولیتر
DNTPs	۱۰ میلی مولار	۰/۵ میکرولیتر
$MgCl_2$	۵۰ میلی مولار	۰/۸ میکرولیتر
PCR Buffer	۱۰X	۲ میکرولیتر
پرایمر ۱	۱۰ میلی مولار	۰/۷ میکرولیتر
پرایمر ۲	۱۰ میلی مولار	۰/۷ میکرولیتر
آب مقطر	ـــ	تا ۲۰ میکرولیتر

جدول ۳ : چرخه‌های حرارتی PCR با استفاده از آغازگرهای مایکروستلایت

تعداد چرخه (سیکل)	زمان (دقیقه)	درجه حرارت (سانتی‌گراد)	مراحل	لوکوس
۱	۲	۹۴	واسرشته سازی اولیه	YP13, YP17, YP41, YP60, YP68, YP78, YP110, YP111, YP113
۳۵	۰/۵	۹۴	واسرشته سازی	
	۰/۵	۵۳-۶۲	الحاق	
	۰/۵	۷۲	بسط	
۱	۵	۷۲	بسط نهایی	
۱	۳	۹۶	واسرشته سازی اولیه	Pfla L1, Pfla L2, Pfla L3, Pfla L8, Pfla L9, Pfla L10
۳۰	۰/۵	۹۶	واسرشته سازی	
	۰/۵	۵۳-۶۲	الحاق	
	۱	۷۲	بسط	
۱	۵	۷۲	بسط نهایی	

محصول تکثیر شده با ژل پلی آکریل آمید ۶ درصد الکتروفورز و با محلول نیترات نقره رنگ آمیزی شد. تصویر ژل‌های تهیه شده توسط دستگاه مستند سازی ژل ساخت شرکت Viber lourmant با استفاده از نرم افزار Biocapt ثبت گردید. پس از رتبه دهی به آلل ها بر مبنای اندازه و طول هر باند بر حسب جفت باز (bp) محاسبات ژنتیکی از جمله فراوانی آللی، تنوع ژنتیکی بر اساس میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Ho) و قابل انتظار (He) و همچنین تعادل هاردی -واینبرگ (H-W) بر اساس تست AMOVA با استفاده از نرم افزار GenAlex (Peakall and Smouse, 2006) محاسبه گردید.

نتایج

به منظور بررسی ژنتیک جمعیت نمونه‌های ماهی سوف سفید در مناطق مختلف نمونه برداری از ۱۵ جفت آغازگر مایکروستلایت استفاده گردید که پس از PCR و الکتروفورز ژل پلی آکریل آمید تعداد ۶ جفت از آغازگرها (YP13، YP60، YP110، Pfla L2، Pfla L8 و Pfla L9) تولید باندهای پلی مورفیک و ۵ جفت (YP17، YP41، YP78، YP111و Pfla L3) تولید باندهای مونومورف نمودند. همچنین ۴ جفت از آغازگرها (YP68، YP113، Pfla L1 و Pfla L10) هیچ گونه واکنشی انجام ندادند. جدول ۴ اندازه آلل های ایجاد شده توسط لوکوس های پلی مورفیک را نشان می‌دهد.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۴: آللها و اندازه‌های آن (جفت باز) در شش لوکوس مختلف پلی مورفیک در ماهی سوف سفید (*Sander lucioperca*)

لوکوس / ردیف	YP13	YP60	YP110	Pfla L2	Pfla L8	Pfla L9
۱	۲۸۸	۲۰۴	۴۶۲	۲۱۲	۱۸۲	۱۸۸
۲	۳۰۳	۲۴۴	۴۷۴	۲۱۸	۱۸۸	۲۰۸
۳	۳۰۶			۲۳۰		۲۴۲

همان‌گونه که در جدول ۴ مشاهده می‌شود، بیشترین تعداد آلل مشاهده شده ۳ آلل در لوکوس های YP13، Pfla L2 و Pfla L9 می‌باشد. کم‌ترین تعداد آلل مشاهده شده ۲ آلل در لوکوس YP60، Pfla L8 و YP110 می‌باشد. همچنین میانگین آلل های مشاهده شده ۲/۵ می‌باشد.

در بررسی و مطالعات تنوع ژنتیکی یک گونه از معیارهایی نظیر هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Ho) و مورد انتظار (He) برای هر لوکوس مورد استفاده قرار می‌گیرد. در این بررسی دامنه Ho و He در تمامی لوکوس ها به ترتیب ۰/۸۰- ۰/۳۰ و ۰/۶۳- ۰/۲۵ بود که کم‌ترین مقادیر در لوکوسYP110 و بیشترین مقادیر در لوکوسPfla L9 مشاهده شد (جدول ۴). محاسبه ضرایب افت هتروزیگوسیتی نشان می‌دهد که در لوکوس YP13، افزایش هتروزیگوسیتی یا به عبارت دیگر بیشتر بودن مقادیر He نسبت به Ho وجود دارد.

جدول ۴: مقادیر هتروزیگوسیته مشاهده شده (*Ho*) و مورد انتظار (*He*) در شش لوکوس میکروستلایت در ماهی سوف سفید (*Sander lucioperca*) در مناطق مختلف

	لوکوس	تالاب انزلی
Ho (He)	**YP13**	۰/۵۲ (۰/۶۲)
	YP60	۰/۴۸ (۰/۴۶)
	YP110	۰/۳۰ (۰/۲۵)
	Pfla L2	۰/۶۰ (۰/۴۷)
	Pfla L8	۰/۶۶ (۰/۵۵)
	Pfla L9	۰/۸۰ (۰/۶۳)
	میانگین	۰/۵۶±۰/۱۷ (۰/۵۰±۰/۱۵)

مقادیر *He* در داخل پرانتز نوشته شده است.

به منظور بررسی تعادل هاردی- واینبرگ (H-W) ماهی سوف سفید در لوکوس های مختلف از آزمون X^2 استفاده شد. نمونه‌های مورد مطالعه در تعدادی از لوکوس ها خارج از تعادل و در تعدادی دیگر در تعادل بودند. بدین معنی که در لوکوس های YP13 و Pfla L9 به طور معنی داری ($P\leq0.001$) خارج از تعادل و در لوکوس های YP110, YP60، Pfla L2 و Pfla L8 در تعادل بودند (جدول ۵).

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۵: بررسی تعادل H-W از طریق مقایسه X^2، درجه آزادی، سطح و احتمال معنی دار بودن در ۶ جایگاه آللی
(*** : P≤0.001 و ns:معنی دار نیست)

جمعیت	جایگاه آللی	درجه آزادی	X^2	سطح معنی دار بودن	احتمال معنی دار بودن
	YP13	۳	۳۴/۲۲	۰/۰۰۰	***
	YP60	۱	۰/۰۹	۰/۷۶۸	ns
تالاب انزلی	YP110	۱	۱/۵۶	۰/۲۱۲	ns
	Pfla L2	۳	۵/۸۸	۰/۱۱۷	ns
	Pfla L8	۳	۳/۹۵	۰/۲۶۷	ns
	Pfla L9	۳	۳۱/۹۰	۰/۰۰۰	***

بحث و نتیجه گیری

در این بررسی به منظور استخراج DNA از بافت باله ماهی سوف سفید از روش استات آمونیوم (چکمه دوز، ۱۳۸۳) مبتنی بر روش استخراج DNA از کیت (McQuown *et al*., 2000) استفاده گردید. از آنجا که استفاده از این روش برای بافت‌های تازه مناسب می‌باشد DNA های استخراج شده در این بررسی نیز از کمیت و کیفیت قابل قبولی برخوردار بودند و در طی فرایند PCR باند های بسیار مطلوبی را تولید نمودند. ریز ماهواره‌ها در مناطق پهلوگیری بسیار حفاظت شده بوده و منبع بسیار مهمی برای آغازگرهای اختصاصی محسوب می‌شوند. از ریز ماهواره‌ها می‌توان جهت شناسایی جمعیت‌هایی با خویشاوندی نزدیک که از جد مشترکی هستند، استفاده نمود (Chistiakov *et al*., 2006). در این بررسی به منظور شناسایی جمعیت‌های مختلف ماهی‌های سوف سفید از ۱۵ جفت آغازگر میکروستلایت استفاده گردید این آغازگرها اختصاصاً برای ماهی سوف زرد (*Perca flavescens*) طراحی شده است (Li *et al*., 2007 و Leclerc *et al*., 2000). با این حال تمامی این آغازگرها برای انجام تکثیر متقابل در چهار گونه دیگر از خانواده سوف ماهیان مورد آزمایش قرار گرفته و در تعداد زیادی از لوکوس های این گونه‌ها تولید باندهای پلی مورفیک نموده‌اند.

در بررسی حاضر از ۱۵ جفت آغازگر مورد استفاده برای ماهی سوف سفید نیز ۵ جفت (YP17، YP41، YP78، YP111و Pfla L3) تولید باندهای مونومورف نموده و فقط ۴ جفت از آغازگرها (YP68، YP113،Pfla L1 و Pfla L10) هیچ گونه واکنشی انجام ندادند؛ لذا به نظر می‌رسد که آغازگر های مورد استفاده به خصوص آغازگرهایی که برای اولین بار در این گونه مورد بررسی قرار گرفته‌اند (YP13، YP60 و YP110) نیز از کارایی نسبتاً خوبی در تولید باندهای پلی مورفیک برخوردار بوده‌اند. یکی از اقدامات ضروری برای توصیف تنوع ژنتیکی یک جمعیت تشخیص تنوع آللی است. Wirth و همکاران (۱۹۹۹) در مطالعه‌ای که به منظور جداسازی ۱۱ جفت پرایمر ماکروستلایت در مطالعات مربوط به ژنتیک جمعیت ماهی walleye (*Sander vitreus*) انجام دادند تعداد آللهای مشاهده شده برای هر لوکوس را برای نمونه‌های رودخانه‌ای و دریاچه‌ای به ترتیب در محدوده ۱۱–۷ و ۹–۳ اعلام نمودند. Zipfel (۲۰۰۶) در مطالعه‌ای که به منظور تعیین نحوه توزیع ذخایر بومی ماهی سوف (*Sander vitreus*) در ویرجینیای غربی انجام داد، تعداد آلل های مشاهده شده برای جمعیت‌های مختلف مورد بررسی را در محدوده ۱۲–۲ و میانگین آن‌را ۳/۹ گزارش نمود.

Strange و Stepien (۲۰۰۷) در مطالعه‌ای که با استفاده از مارکر های میکروستلایت بر روی ارتباط و انشقاق ژنتیکی بین جمعیت‌های مولد رودخانه‌ای و سواحل مرجانی ماهی Walleye (*Sander vitreus*) در دریاچه Erie انجام دادند، تعداد آلل های مشاهده شده را در محدوده ۲۲–۹ آلل تعیین نمودند. Poulet و همکاران (۲۰۰۹) نیز در مطالعه‌ای که با استفاده از مارکر های میکروستلایتی بر روی ساختار ژنتیک جمعیت ماهی سوف سفید (*Sander lucioperca*) به عنوان یک گونه معرفی شده به دلتای رود Rhone در نزدیکی دریای مدیترانه انجام دادند میزان آلل مشاهده شده را در محدوده ۱۰–۴ و میانگین ۵/۱ اعلام نمودند.

Archive of SID

www.SID.ir

نتایج بررسی حاضر بر روی ماهی سوف سفید تالاب انزلی میانگین آللی ۲/۵ را برای این گونه نشان می‌دهد که بسیار کمتر از مقادیر اعلام شده حاصل از بررسی‌های اشاره شده است. علت کم بودن میانگین آللی در ماهی سوف سفید را می‌توان به تکثیر مصنوعی این ماهی نسبت داد زیرا طبق شواهد و اطلاعات موجود در سواحل جنوبی دریای خزر و به خصوص تالاب انزلی امکان تکثیر طبیعی این ماهی وجود ندارد؛ لذا سال‌هاست که مولدین از دریاچه سد ارس صید شده و در مراکز تکثیر مصنوعی مورد تکثیر قرار می‌گیرند. در نهایت بچه ماهیان حاصل به دریای خزر و تالاب انزلی رهاسازی می‌شوند. از اینرو واضح است که نمونه گیری‌های غیر تصادفی و ادغام گامتها برای لقاح موجب از دست رفتن مقداری از تنوع و افزایش سطح آمیزش خویشاوندی می‌شود. اما به نظر می‌رسد مهم‌ترین عامل اثر موسس (Founder effect) است زیرا معمولاً از تعداد کم مولدین بدین منظور استفاده می‌شود. یکی از روش‌های موثر برای ارزیابی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های مختلف محاسبه میزان هتروزیگوسیتی می‌باشد زیرا هر هتروزیگوت ناقل آلل های متفاوتی که نشان دهنده تنوع و سازش پذیری نسبت به شرایط متغیر محیطی است بوده و بسیاری از خصوصیات مهم اقتصادی مثل رشد، باروری و مقاومت در برابر بیماری تحت تأثیر آن است (Beardmore *et al*., 1997; Ciftci and Okumus, 2002).

در این بررسی دامنه Ho برای ماهی سوف سفید در تمامی لوکوس ها ۰/۸۰- ۰/۳۰ و متوسط آن ۰/۵۶ بود که کم‌ترین مقدار در لوکوسYP110 و بیشترین مقدار در لوکوسPfla L9 مشاهده شد. دامنه He بین مناطق نمونه برداری در تمامی لوکوس ها ۰/۶۳- ۰/۲۵ و متوسط آن ۰/۵۰ بود که کم‌ترین و بیشترین مقدار باز هم به ترتیب در لوکوس های YP110 و Pfla L9 مشاهده شد.

Strange و Stepien (۲۰۰۷) میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده برای گروه‌های مختلف مولدین ماهی Walleye دریاچه Erie را مشابه و در محدوده ۰/۷۸۰-۰/۶۶۰ تعین نمودند. Poulet و همکاران (۲۰۰۹) در مطالعه خود بر روی ساختار ژنتیک جمعیت معرفی شده ماهی سوف سفید در بخش‌هایی از دلتاهای دریای مدیترانه میزان هتروزیگوسیته مشاهده شده و قابل انتظار را به ترتیب در محدوده ۰/۶۸۶-۰/۳۶۷ و ۰/۷۴۴-۰/۶۴۷ بدست آوردند. همچنین آن‌ها تنوع ژنتیکی بالاتری را در گونه‌های معرفی شده نسبت به گونه‌های بومی مشاهده نموده و آن‌را به عوامل مختلفی از جمله ورزشی بودن صید این ماهی در منطقه مورد مطالعه و رهاسازی سالیانه تعداد زیادی ماهی در این منطقه نسبت دادند.

در واقع امروزه یکی از مشکلات جدی در آبزی پروری و شیلات کاهش در میزان تولید ذخایر مولدین در نتیجه آمیزش‌های درون خویشاوندی غیر عمدی است. گفته شده است که برنامه‌های آمیزشی بیشتر مزارع پرورش ماهی نرخ آمیزش درون خویشاوندی را در هر نسل ۵-۳ درصد افزایش می‌دهد (Tave, 1999). نتایج حاصل از بررسی حاضر نیز کم بودن هتروزیگوسیتی مشاهده شده را نسبت به هتروزیگوسیتی پیش بینی شده در اکثر لوکوس های هر دو گونه نشان می‌دهد. عمده‌ترین دلیل این امر را می‌توان به عدم انجام آمیزش تصادفی در گونه‌های مورد مطالعه در این بررسی نسبت داد که می‌تواند به دلایل مختلفی اتفاق بیفتد. آمیزش خویشاوندی که نوعی جفت‌گیری گزینشی است و پیش از این در ماهیان سیچلیده (Thunken and Bakker, 2007) گزارش شده است در صورتیکه افراد خویشاوند به صورت انبوه و مجتمع وجود داشته باشند نیز می‌تواند در ماهیان سوف سفید مشاهده شود. از سوی دیگر صید ماهیان ماده بزرگتر منجر به آمیزش درون خویشاوندی گسترده‌تری می‌شود. با این حال رقابت در طی جفت‌گیری، زمان های مختلف تولید مثل و همچنین سایر مکانیزم‌های دخیل در امر تولید مثل این گونه ماهیان از دیگر عواملی هستند که تأثیر آن‌ها بر روی ایجاد ساختارهای زیر جمعیتی که خود نقش مهمی در آمیزش تصادفی دارند باید مورد بررسی دقیق‌تر قرار گیرد. تمامی موارد ذکر شده می‌تواند کم بودن هتروزیگوسیتی مشاهده شده را نسبت به هتروزیگوسیتی پیش بینی شده توجیه نماید.

Strange و Stepien (۲۰۰۷) در مطالعه بر روی روابط ژنتیکی بین جمعیت‌های مولد رودخانه‌ای و سواحل مرجانی ماهی Walleye در دریاچه Erie، در تمامی گروه‌های مورد مطالعه انحراف از تعادل هاردی واینبرگ را تنها در یک لوکوس مشاهده نمودند و آن‌را به وجود آللهای صفر نسبت دادند. از اینرو آن‌ها سایر تجزیه تحلیل‌های ژنتیکی را بدون در نظر گرفتن لوکوس خارج از تعادل ادامه دادند. در مطالعه حاضر نمونه‌های ماهی سوف سفید در لوکوس های YP13 و Pfla L9 خارج از تعادل هاردی واینبرگ (H-W) بودند ($P\leq 0.001$). در این

Archive of SID

www.SID.ir

مطالعه علت مشاهده انحراف از تعادل هاردی واینبرگ را می‌توان به تکامل غیر هم جهتی که در نمونه‌های مناطق مختلف برای یک جایگاه خاص در طول زمان در اثر تفاوت‌های جغرافیایی مناطق پراکنش آن‌ها روی داده است و یا عدم تصادفی بودن نمونه گیری به جهت کوچک بودن اندازه جمعیت و همچنین آمیزش خویشاوندی ناشی از تکثیر مصنوعی نسبت داد.

منابع

اصلاح عربانی، ا.، ۱۳۸۰. کتاب گیلان. جلد اول. انتشارات وزارت فرهنگ و ارشاد اسلامی. ۷۴۸ ص.

چکمه دوز قاسمی، ف.، ۱۳۸۳. مقایسه روش‌های استخراج DNA در آبزیان و دستورالعمل کاربردی آن. پایان نامه کارشناسی، مرکز آموزش عالی علوم و صنایع شیلاتی میرزاکوچک خان (رشت). ۵۳ ص.

عباسی، ک. ولی پور، ع. ر. طالبی حقیقی، د. سرپناه، ع. و نظامی بلوچی، ش.، ۱۳۷۸. اطلس ماهیان ایران، آبهای داخلی گیلان، رودخانه سفید رود و تالاب انزلی. انتشارات مرکز تحقیقات شیلاتی استان گیلان. ۱۱۳ ص.

کریم پور، م.، ۱۳۷۷. ماهیان تالاب انزلی. مجله علمی شیلات ایران. سال هفتم. شماره ۲، صفحات ۹۴-۸۳.

Beardmore, J.A., Mair, G.C. and Lewis, R.I., 1997. Biodiversity in aquatic systems in relation to aquaculture. *Aquaculture. Res.* 28, 829- 839.

Bjorklund, M., Aho, T. and Larsson, L.C., 2007. Genetic differentiation in pikeperch (Sander lucioperca):the relative importance of gene flow, drift and common history. J. Fish Biol., 71: 264–278.

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

Chistiakov, D.A., Hellemans, B. and Volckaert, F.A.M., 2006. Microsatellites and their genomic distribution, evolution, function and applications: A review with special reference to fish genetics. *Aquaculture* 255 , 1–29.

Ciftci, Y. and Okumus, I., 2002. Fish Population Genetics and Applications of Molecular Markers to Fisheries and Aquaculture: I- Basic Principles of Fish Population Genetics. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 2: 145-155.

Leclerc, D., Wirth T.H. and Bernatchez, L., 2000. Isolation and characterization of microsatellites in yellow perch (*Perca favesens*), and cross-species amplification within the family Percidae. *Mol. Ecol. Notes*, 9: 995-997.

Li, L., Wang, H.P., Civens, C., Czensny, S. and Brown, B., 2007. Isolation and characterization of microsatellites in yellow perch (*Perca flavescens*). Moecular Ecology Notes, Volume 7, pp. 600-603.

McQuown, E.C., Sloss, B.L., Sheehan, R.J., Rodzen, J., Tranah, G. and May, B., 2000. Microsatellite analysis of genetic variation in sturgeon: new sturgeon primer sequences for *Scaphirhynchus* and *Acipenser*. *Transactions of the American Fisheries Society*. 139, 1380-1388.

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

Poulet, N., Balaresque, P., Aho, T. and Bjorklund, M., 2009. Genetic structure and dynamics of a small introduced population:the pikeperch, *Sander lucioperca*, in the Rhone delta. *Genetica.,* 135(1) : 77-86.

Strange, R.M. and Stepien, C.A. 2007. Genetic divergence and connectivity among river and reef spawning groups of walleye (*Sander vitreus vitreus*) in Lake Erie. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 64: 437–448.

Tave, D., 1999. *Inbreeding and Broodstock management.* FAO fish. Tech. Paper, vol. 392. 122pp.

Thunken, T., and Bakker, T.C.M., 2007. Active inbreeding in a cichlid fish and its adaptive significance. *Curr. Biol.,* 17, 225-229.

Wirth, T.H., Saint-Laurent, V. and Bernatchez, L., 1999. Isolation and characterization of microsatellites in walleye (*Stizostedion vitreum*), and cross-species amplification within the family Percidae. *Mol. Ecol.*, 8: 1960-1962.

Zipfel, K. J., 2006. The distribution and status of native walleye (*Sander vitreus*) stocks in west virginia. A thesis presented to the faculty of the College of Arts and Sciences of Ohio University. 45 pp.

Archive of SID

www.SID.ir