

بررسی تمایز و ساختار ژنتیکی ماهی سوف معمولی (*Sander lucioperca*) در دریاچه سد ارس و تالاب انزلی

چکیده

هدف این مطالعه بررسی تمایز و ساختار ژنتیکی جمعیت ماهی سوف معمولی (*Sander lucioperca*) در دو منطقه تالاب انزلی و دریاچه سد ارس بود. در کل ۶۰ نمونه ماهی سوف معمولی بالغ از این دو منطقه در تابستان ۹۱ جمع آوری شدند. از پنج جفت پرایمر میکروستلایت، بر روی DNA ژنومی ماهی سوف معمولی استفاده گردید که همگی پرایمرها چند شکل (پلی مورف) نشان دادند و از آن‌ها برای تعیین تمایز ژنتیکی استفاده شد. میانگین اللی (Na) در جایگاه‌ها ۵ (با دامنه ۴ تا ۷ ال) بود. هر دو منطقه نمونه برداری الهای اختصاصی در تمامی جایگاه‌ها نشان دادند. میانگین هتروزیگوسیتی قابل انتظار و مشاهده شده به ترتیب ۰/۷۳۱ و ۰/۶۵۰ محاسبه شد. میانگین ضریب خویشاوندی در ۵ جایگاه میکروستلایت منفی بود. در بررسی تعادل هاردی وینبرگ (H-W) تمامی جایگاه‌ها به طور معنی داری خارج از تعادل هاردی-وینبرگ بودند ($P \leq 0/001$). میزان شاخص تمایز (Fst) و جریان ژنی (Nm) بر اساس فراوانی اللی به ترتیب ۰/۰۹۲ و ۲/۴ محاسبه شد. بر اساس آزمون AMOVA میزان Rst و Fst بین جمعیت‌های دو منطقه معنی دار بود ($P \leq 0/01$). میانگین ضریب خویشاوندی (Fis) در پنج جایگاه منفی بود. میزان فاصله ژنتیکی بین جمعیت‌ها ۰/۶۱۶ به دست آمد که نشان دهنده تمایز ژنتیکی بین جمعیت‌های مورد مطالعه است. این بررسی، وجود تنوع و تمایز ژنتیکی جمعیت‌های ماهی سوف معمولی در تالاب انزلی و دریاچه سد ارس را نشان داد.

واژگان کلیدی: تمایز ژنتیکی، میکروستلایت، ماهی سوف معمولی، *Sander lucioperca*.

مقدمه

ماهی سوف معمولی *Sander lucioperca* از گونه‌های با ارزش ماهیان استخوانی محسوب می‌شود. زیستگاه آن آب‌های شیرین داخلی، نواحی مصبی و آب لب شور دریاها با شوری کمتر از ۱۲ قسمت در هزار می‌باشد. این ماهی از ماهی مروارید، شیشه ماهی، کلمه، سیم و کپورچه تغذیه می‌نماید. پراکنش این ماهی به صورت طبیعی در ایران مربوط به منطقه جنوبی دریای خزر می‌باشد. این گونه به دریاچه سد ارس منتقل گردیده است و هم اکنون در این منطقه تراکم زیادی از آن وجود دارد (عبدلی و نادری، ۱۳۸۷). ذخایر ماهی سوف معمولی پس از برداشت بسیار شدید و بی رویه در طی چند سال در دهه اول و دوم سده حاضر (شمسی) توسط لیانازوف‌ها و سپس شرکت مختلط ایران-شوروی کاملاً آسیب دید (رضوی صیاد، ۱۳۷۸) و دیگر به وضعیت عادی خود بازنگشت و میزان صید کنونی آن ناشی از رها کرد سالیانه چند میلیون عدد بچه ماهی توسط شیلات ایران به تالاب انزلی و دریاچه سد ارس می‌باشد. با وجود اینکه ماهی سوف در حال حاضر از لحاظ فراوانی پس از ماهی سیم دومین گونه غالب ماهیان دریاچه سد ارس محسوب می‌شود (اکبرزاده و همکاران، ۱۳۸۸) اما برای احیای کامل ذخایر آن، نیازمند حفاظت و کنترل بهره برداری از آن می‌باشد. این ماهی در وضعیت کنونی نیازمند حفاظت است (عبدلی و نادری، ۱۳۸۷).

فرشاد میرزا احمدی^۱

مهرنوش نوروزی^{۲*}

آمنه امیر جنتی^۳

محمد هادی سمیعی^۴

محمد بهروز^۵

۱، ۲، ۳، ۴، ۵. گروه شیلات و بیولوژی دریا، واحد تنکابن، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن، تنکابن، ایران

* نویسنده مسئول مکاتبات

Mjahantigh2000@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۰۳/۰۲

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۰۸/۱۵

کد مقاله: ۱۳۹۳۰۴۰۰۷۳

این مقاله برگرفته از پایان نامه کارشناسی ارشد است.

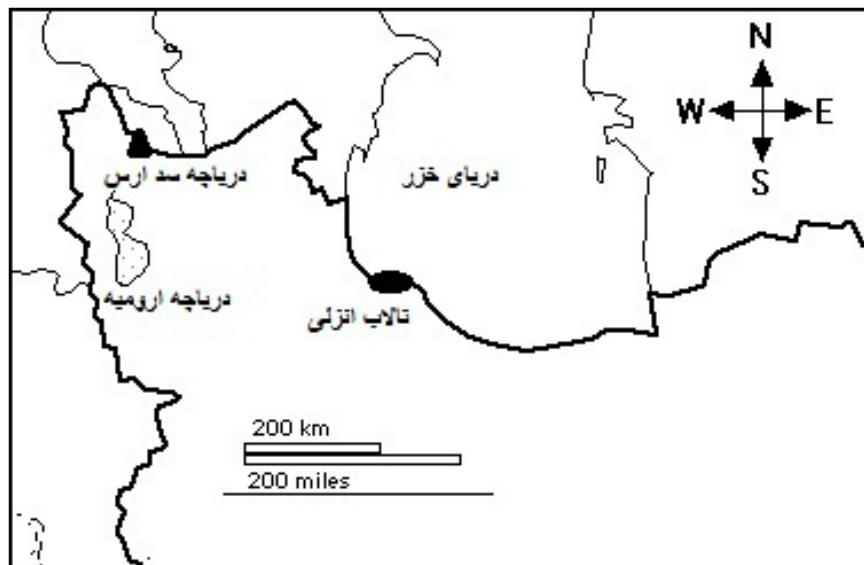


در طول قرن گذشته پراکنش و فراوانی اندازه جمعیت بسیاری از گونه ها به شدت تحت تأثیر فعالیت‌های انسانی قرار داشته است. تکثیر مصنوعی و یا حمل انواع گونه‌ها به محل‌های دیگر ساختار جمعیت‌ها را تحت تأثیر قرار داده است و می‌تواند سبب یکسان‌سازی ژنتیکی شود، بنابراین شناخت جمعیت‌های بومی و ساختار ژنتیکی جمعیت هر گونه امری مهم و ضروری است (Zhao, *et al.*, 2005). پیشرفت علم، استفاده از مارکرهای مولکولی که متاثر از فاکتورهای محیطی نمی‌باشد را جهت شناسایی ساختار ژنتیکی ذخایر، امکان‌پذیر کرده است. از جمله این مارکرها، میکروستلایت‌ها می‌باشند که قادرند سطوح بالایی از پلی‌مورفیسم (چندشکل) را نشان دهند (Zhao, *et al.*, 2005; Chistiakov, *et al.*, 2005). طبیعت چند الی میکروستلایت‌ها، توارث هم‌بازر، پوشش ژنومی وسیع و فراوانی بالا موجب شده است که میکروستلایت‌ها کاربری موفقی در رشته‌های مختلف تحقیقی و عملی داشته باشد (Sekar *et al.*, 2009).

در سال‌های اخیر محققین مختلفی بر روی تفکیک جمعیت سوف معمولی با استفاده از نشانگرهای میکروستلایت در داخل (قریب‌خانی و همکاران، ۱۳۹۰) و خارج از ایران (Poulet *et al.*, 2009; Khurshut and Kohlmann, 2009; Kohlmann and Kersten, 2008; Bjorklund *et al.*, 2009; Wirth *et al.*, 1999) مطالعه کرده اند. مطالعه حاضر با این فرض انجام پذیرفت که ماهی سوف معمولی دارای جمعیت‌های متفاوت در دریاچه سد ارس و تالاب انزلی می‌باشد و فراوانی ژنوتیپی و الی هر یک از جمعیت‌ها با یکدیگر متفاوت است. بنابراین نمونه‌برداری از این دو منطقه انجام شد تا وجود جمعیت‌های احتمالی و تمایز ژنتیکی بین آنها با استفاده از مارکرهای میکروستلایت شناسایی شود و ضرورت اعمال مدیریتی متفاوت، بر ذخایر این گونه در تالاب انزلی و دریاچه سد ارس بررسی گردد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌گیری از ۶۰ نمونه ماهی بالغ از دو منطقه دریاچه سد ارس (۴۰°۱′ E, ۴۸°۲۷′ N) و تالاب انزلی (۳۷°۲۸′ E, ۴۹°۲۷′ N) از قسمت باله‌ی سینه‌ای صورت گرفت (شکل ۱). قسمت‌های جدا شده هر یک از نمونه‌ها جداگانه درون میکروتیوپ ۱/۵ میلی‌لیتری قرار گرفت و در الکل ۹۶ درصد ذخیره گردید. سپس جهت انجام آزمایشات ملکولی به آزمایشگاه تحقیقات ژنتیک انتقال یافت. برای نگهداری بهتر، نمونه‌ها تا شروع مرحله‌ی استخراج در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. استخراج DNA با استفاده از کیت (شرکت روچ آلمان، کد ۱۱۷۹۶۸۲۸۰۰۱) انجام گردید. به منظور بررسی کمیت و کیفیت DNA استخراج شده از روش‌های اسپکتروفتومتری و الکتروفورز ژل آگارز ۱ درصد استفاده شد.



شکل ۱: نمایی از مناطق نمونه برداری ماهی سوف معمولی (*Sander lucioperca*) تالاب انزلی و دریاچه سد ارس (۱۳۹۱).

برای بررسی تنوع ژنتیکی ماهی سوف معمولی از ۵ جفت پرایمر میکرو ستلایت طراحی شده برای این ماهی (Kohlmann and Kersten, 2008) استفاده گردید (جدول ۱). واکنش زنجیره‌ای پلیمرز در حجم ۲۵ میکرولیتر و دامنه مواد مصرفی در پرایمرها شامل: dNTPs، ۰/۵ میلی مولار؛ پرایمر ۱/۱ میکرولیتر؛ DNA، ۲۰۰ نانوگرم؛ تگ DNA پلی‌مراز هات‌استارت ۰/۴ واحد، PCR بافر ۱ x؛ کلرید منیزیم ۰/۷۵-۱/۵ میلی‌مولار، آب مقطر دیونیزه برای رساندن به حجم مورد نظر در pH: ۸/۷ انجام گرفت. شرایط چرخه دمایی و مشخصات داده شده به دستگاه ترموسایکلر برای واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز به ترتیب مرحله جداسازی ۹۵ درجه سانتی‌گراد از ۳۰ تا ۴۰ ثانیه، مرحله اتصال پرایمرها به هدف از ۵۰ تا ۵۶ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه تا یک دقیقه، مرحله بسط پرایمر ۷۲ درجه سانتی‌گراد، ۴۵ ثانیه تا ۲ دقیقه و ۲۵ تا ۴۰ چرخه بهینه‌سازی گردید. محصول PCR بر روی ژل پلی‌اکریل آمید ۱۰ درصد (دیونیزه) الکتروفورز شد و رنگ‌آمیزی ژل با نیترات نقره انجام گرفت (Bassam *et al.*, 1991). سپس تصویر ژل‌ها با استفاده از نرم افزار Uvitec مورد بررسی قرار گرفت. در جدول ۱، اندازه الی، تعداد ال اختصاصی، تعداد الی، دمای الصاق (درجه سانتی‌گراد)، میزان $MgCl_2$ (میلی‌مولار)، نام جایگاه و توالی هر یک از پرایمرها (Kohlmann and Kersten, 2008) نشان داده شده‌است.

جدول ۱: اندازه اللی، تعداد ال اختصاصی، تعداد ال دمای الصاق (درجه سانتی گراد)، میزان $MgCl_2$ (میلی مولار)، نام جایگاه، توالی هر یک از پرایمرها (Kohlmann and Kersten, 2008).

جایگاه	توالی پرایمرها	$MgCl_2$ (mM)	دمای الصاق	تعداد ال	تعداد ال اختصاصی	اندازه اللی
MSL-1	F-TGTTTGTTCAGCGTCAAGAGG R-TTCCGCTCCAACATATCACA	۰/۷۵	۵۶	۸	۵	۱۳۴-۱۸۶
MSL-2	F-TTTTCACACCGTGCATGACT R-ACCCTCAGCCTCTGTGTACG	۰/۷۵	۵۰	۷	۲	۱۹۱-۲۲۵
MSL-5	F-CAATCGCTCTGAGGATGTCA R-AAGGGTGGGAAATTATTCG	۱/۵	۵۰	۵	۱	۱۹۸-۳۲۰
MSL-6	F-GTCGTCATCGTCAGCACAGT R-ACTACACGGGACGCTGGA	۱	۵۰	۸	۳	۲۰۸-۲۸۶
MSL-9	F-GCATCACTTGCGTCACTTTC R-GCAGTCAGTGCTTGAAGTGG	۱/۵	۵۵	۷	۲	۲۱۰-۲۶۴

پس از رتبه‌دهی به ال‌ها محاسبات آماری شامل فراوانی اللی (Allel frequency)، تعداد اللی (Na) و تعداد ال‌های مؤثر (Ne)، هتروزیگوسیتی مورد انتظار (He) و مشاهده شده (Ho)، ضریب خویشاوندی (Fis)، تعادل هاردی وینبرگ براساس χ^2 ، تست تمایز بر اساس فراوانی اللی، فاصله ژنتیکی (Genetic distance) بر اساس Nei (۱۹۷۲)، مقادیر شاخص تمایز Rst و Fst بر اساس تست AMOVA (Analysis of MOlecular Variance) در سطح اطمینان ۹۹ درصد و با نرم‌افزار GeneAlec محاسبه گردید (Peakall and Smouse, 2006). نمودار سنجش ژنتیکی (Assignment test) جمعیت‌ها نیز بوسیله نرم‌افزار فوق رسم گردید.

نتایج

در این مطالعه از پنج جایگاه مورد بررسی، همگی در PCR تکثیر شدند و چندشکل (پلی‌مورف) بودند. در هنگام شمارش الگوی بانندی در تمامی جایگاه‌ها یکی و در برخی موارد دو باند دیده شد که از خصوصیات الگوی دیپلوئید است. اندازه اللی بدست آمده از ۱۳۴ تا ۳۲۰ جفت باز بود (جدول ۱). در کل ۳۳ ال در نمونه‌ها شناسایی شد. در نمونه‌های انزلی ۲۲ ال و در نمونه‌های ارس ۲۱ ال در فراوانی بیشتر از ۰/۰۵ قرار داشتند. حداکثر فراوانی اللی ۰/۴۳۳ در هر دو منطقه نمونه‌برداری بدست آمد که نمونه‌های ارس آنرا در جایگاه Msl2 در ال شماره ۶ و در اندازه اللی ۲۵۶ جفت باز و نمونه‌های انزلی آنرا در جایگاه Msl9 در ال شماره یک و در اندازه اللی ۲۱۲ جفت باز نشان دادند.

میانگین تعداد ال واقعی و مؤثر به ترتیب ۵ و ۳/۸ بود. در مقایسه مناطق مورد مطالعه، میانگین تعداد ال واقعی و مؤثر در نمونه‌های ارس به ترتیب ۴/۸۰۰ و ۳/۷۷۵ و در انزلی به ترتیب ۵/۲۰۰ و ۳/۸۸۰ بود (جدول ۲). ۱۳ ال اختصاصی (۷ ال انزلی و ۶ ال ارس) در مجموع یافت شد. این ال‌ها در منطقه دیگر نمونه‌برداری شناسایی نشد. بیش‌ترین ال اختصاصی را جایگاه MSL1 با تعداد ۵ ال (۲ ال انزلی به فراوانی ۰/۲۵۰، ۰/۳۵۰ و ۳ ال ارس به فراوانی ۰/۲۸۳، ۰/۲۸۳ و ۰/۲۱۷) نشان داد. جایگاه MSL6 تعداد ۳ ال اختصاصی (دو ال انزلی به فراوانی ۰/۳۳۳، ۰/۱۵۰ و یک ال ارس به فراوانی ۰/۲۵۰) نشان داد. جایگاه MSL9 تعداد ۲ ال اختصاصی در ارس (به فراوانی ۰/۳۶۷ و ۰/۱۱۷) نشان داد. جایگاه MSL2 تعداد ۲ ال اختصاصی (هر دو در انزلی به فراوانی ۰/۱۱۷ و ۰/۱۳۳) نشان داد. جایگاه MSL5 تعداد ۱ ال اختصاصی (در انزلی به فراوانی ۰/۳۶۷) نشان داد.

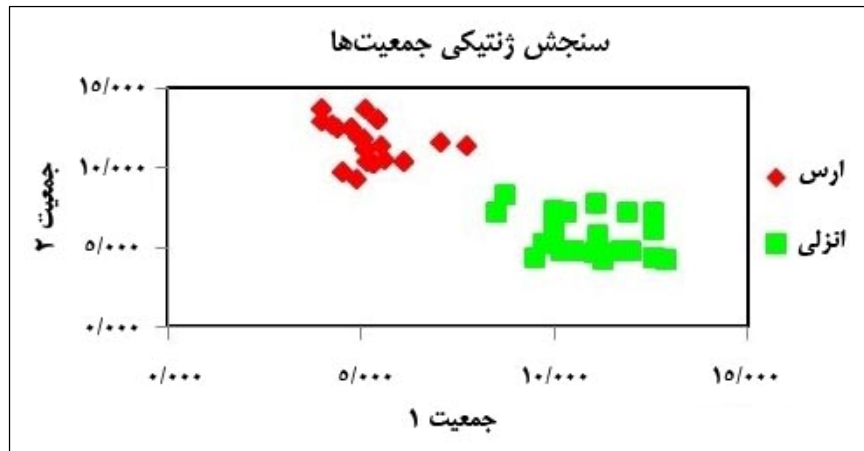
میانگین کل هتروزیگوستی مشاهده شده و مورد انتظار به ترتیب ۰/۶۵۰ و ۰/۷۳۱ بود. در مقایسه مناطق مورد مطالعه، میانگین هتروزیگوستی مشاهده شده و مورد انتظار در منطقه ارس به ترتیب ۰/۶۶۲ و ۰/۷۳۱ و در منطقه انزلی به ترتیب ۰/۶۳۹ و ۰/۷۳۱ بود (جدول ۲). در بررسی تعادل هاردی وینبرگ (H-W) همه جایگاه‌ها خارج از تعادل بودند ($P \leq 0.01$). میانگین ضریب خویشاوندی (Fis) بین دو منطقه 0.1 ± 0.013 -

به دست آمد و Fis در برخی جایگاه‌های میکروستلایتی مثبت بود و دامنه آن از ۰/۱۴۰- در جایگاه MSL1 تا ۰/۳۱۳ در جایگاه MSL9 محاسبه گردید (جدول ۲). مقادیر مثبت Fis نشان دهنده کاهش هتروزیگوسیتی است. جایگاه MSL1 با کمترین میزان Fis بالاترین میزان هتروزیگوسیتی را در تمامی جایگاه‌ها نشان داد.

میزان Fst بر اساس فراوانی الی، ۰/۰۹۲ بدست آمد که نشان دهنده تمایز ژنتیکی متوسط می‌باشد (Balloux and Lugon-Moulin, 2002). جریان ژنی ($\pm 0/75$) محاسبه شد. اما میزان Rst و Fst بر اساس تست AMOVA؛ معنی دار بود ($P \leq 0/01$) و نشان دهنده جدا شدن جمعیت‌ها می‌باشد. فاصله ژنتیکی بر اساس Nei (۱۹۷۲)، ۰/۶۱۶ به دست آمد. نمودار سنجش ژنتیکی جمعیت‌ها در شکل ۲ نشان داده شده است. این نمودار نمایشی از درجه تفکیک ژنتیکی بین جمعیت‌ها را میسر می‌سازد و روش مناسبی برای سنجش اختلاف جمعیت‌ها به کمک نمودار بر اساس تست‌های سنجش می‌باشد. اعداد نمایش داده شده روی محور بر اساس درجه تمایز است (Paetkau et al., 2004). بر اساس این نمودار جمعیت‌ها هیچ هم‌پوشانی بر یکدیگر ندارند و از هم جدا هستند (شکل ۲).

جدول ۲: تنوع ژنتیکی جمعیت‌های مورد مطالعه ماهی سوف معمولی (*Sander lucioperca*) (با تعداد نمونه، تعداد الی (Na)، تعداد الی مؤثر (Ne)، هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Ho) و قابل انتظار (He) (تعداد نمونه در هر منطقه ۳۰ عدد).

جایگاه	ارسی	انزلی		
MSL-1	NA (Ne)	۵ (۴/۲)	۴ (۳/۷)	
	Ho(He)	۰/۹۱۲ (۰/۷۶۲)	۰/۸۵۰ (۰/۷۳۰)	
MSL-2	NA (Ne)	۴ (۳/۱)	۶ (۵/۳)	
	Ho(He)	۰/۵۸۰ (۰/۶۸۱)	۰/۵۵۴ (۰/۸۱۲)	
MSL-5	NA (Ne)	۵ (۳/۷)	۵ (۳/۷)	
	Ho(He)	۰/۶۵۰ (۰/۷۳۲)	۰/۵۹۰ (۰/۷۳۱)	
MSL-6	NA (Ne)	۴ (۳/۴)	۷ (۳/۹)	
	Ho(He)	۰/۷۶۷ (۰/۷۰۶)	۰/۷۹۰ (۰/۷۴۴)	
MSL-9	NA (Ne)	۷ (۴/۴)	۴ (۲/۷)	
	Ho(He)	۰/۴۰۰ (۰/۷۷۳)	۰/۴۱۲ (۰/۶۳۸)	
تعداد الی با فراوانی $0/05$	۲۱	۲۲	کل	
میانگین	Na(Ne)	۴/۸ (۳/۷)	۵/۲ (۳/۸)	۵ (۳/۸)
	Ho(He)	۰/۶۶۲ (۰/۷۳۱)	۰/۶۳۹ (۰/۷۳۱)	۰/۶۵۰ (۰/۷۳۱)



شکل ۲: نمودار تعیین سنجش دو جمعیت ارس و انزلی در پنج جایگاه میکروستلایت در ماهی سوف معمولی (*Sander lucioperca*) (بر حسب درجه تمایز).

بحث و نتیجه‌گیری

ماهی سوف معمولی در تالاب انزلی، دریاچه سد ارس و به صورت پراکنده در سواحل دریای خزر مشاهده می‌شود. صید بیش از حد این گونه به همراه تخریب محل‌های تولید مثل آن، باعث شده بود تا نسل آن شدیداً کاهش پیدا کند، اما تکثیر مصنوعی در سالهای اخیر و معرفی آن به برخی از تالاب‌ها و آبگیرهای حوضه جنوبی دریای خزر و دریاچه سد ارس، باعث بهبود نسبی وضعیت آن شده است. فهم اینکه گونه‌های غیربومی که به زیستگاه دیگری معرفی شده‌اند آیا با موفقیت در زیستگاه جدید تشکیل جمعیت داده‌اند یک چالش بزرگ برای پیش‌بینی وضعیت آن گونه در اکوسیستم محسوب می‌شود. ارزیابی ژنتیکی جمعیت چشم‌انداز مناسبی برای درک این مسأله است که تنوع ژنتیکی تظاهر یافته به عنوان یک فاکتور کلیدی برای درک وضعیت موجود آن گونه در زیستگاه جدید است (Lee, 2002; Roman and Darling, 2007).

یکی از ملزومات در توصیف تنوع ژنتیکی یک جمعیت، تشخیص تنوع اللی است. تعداد اللی و هتروزیگوسیتی از شاخص‌های مهم تنوع ژنتیکی جمعیت‌ها در مواجهه شدن با تغییرات محیطی هستند (Frankham, 2008) و ویژگی‌هایی همچون رقابت و توانایی برای بقای یک موجود در زیستگاه‌های طبیعی را مشخص می‌نماید (Hakansson and Jensen, 2005). در بررسی حاضر دامنه اللی ماهی سوف معمولی *Sander lucioperca* ۵ تا ۸ ال در هر جایگاه و در مجموع مناطق نمونه‌برداری ۳۳ ال بدست آمد. نتایج این مطالعه در مقایسه دامنه اللی ماهی سوف معمولی با سایر پژوهش‌های مشابه ۳ تا ۶ ال در هر جایگاه و در مجموع ۳۴ ال (Kohlmann and Kersten, 2008)؛ دامنه اللی ۵/۵۶ تا ۱۴/۲۲ ال در بررسی ساختار جمعیت ماهی سوف معمولی دریاچه آرال در ازبکستان (Khurshut and Kohlmann, 2009)؛ دامنه اللی ۲ تا ۹ ال در ماهی سوف معمولی (Dubut et al., 2010)؛ دامنه اللی ۲ تا ۹ ال در نمونه‌های سوف معمولی دریاچه (Wirth et al., 1999). قریب خانی و همکاران (۱۳۹۰) در مطالعه‌ای مشابه در بررسی ساختار جمعیت ماهی سوف سفید در تالاب انزلی میانگین اللی را ۲/۵ و دامنه اللی را ۲ تا ۳ ال بدست آوردند. به نظر آن‌ها کاهش شدید اللی به علت تکثیر مصنوعی این ماهی در سالیان اخیر می‌باشد.

نتایج بررسی حاضر بر روی ماهی سوف معمولی نشان می‌دهد که میانگین تعداد اللی به دست آمده در این بررسی (۵ ± ۰/۳۹) در محدوده مقدار اعلام شده برای ماهیان آب شیرین (۷/۵ ± ۸/۱) است (Dewoody and Avis, 2000). با وجود اینکه دامنه اللی و میانگین اللی در این بررسی در دامنه اللی سایر محققین در این گونه به دست آمده است، اما در این مطالعه تعدادی ال با فراوانی پایین دیده شد که علت آن را می‌توان

به تکثیر مصنوعی این ماهی نسبت داد زیرا بر اساس اطلاعات موجود امکان تکثیر طبیعی ماهی سوف معمولی در سواحل جنوبی دریای خزر و به خصوص تالاب انزلی ناچیز است؛ لذا سال‌هاست که مولدین صید شده در مراکز تکثیر مصنوعی مورد تکثیر قرار می‌گیرند. در نهایت بچه ماهیان حاصله به تالاب انزلی و دریاچه سد ارس رهاسازی می‌شوند. از اینرو این احتمال وجود دارد که استفاده از تعداد محدود مولدماهی سوف معمولی و ادغام گامت‌ها برای لقاح موجب از دست رفتن تعدادی از ال‌ها و کاهش تنوع ژنتیکی می‌شود. در این بررسی دامنه کل هتروزیگوسیتی مشاهده شده ۰/۴۰ تا ۰/۹۱۲ و هتروزیگوسیتی مورد انتظار ۰/۶۳۸ تا ۰/۸۱۲ بود و در مناطق نمونه‌برداری اختلاف معنی‌داری بین دو منطقه دیده نشد. در مقایسه با مطالعات مشابه بر روی ماهی سوف معمولی، Dubut و همکاران (۲۰۱۰) دامنه هتروزیگوسیتی قابل انتظار را بین ۰/۳۲ تا ۰/۸۵ به‌دست‌آوردند. Kohlmann و Khurshut (۲۰۰۹) دامنه هتروزیگوسیتی مشاهده شده را بین ۰/۵۷۶ تا ۰/۷۴۳ و دامنه هتروزیگوسیتی قابل انتظار را ۰/۴۷۱ تا ۰/۷۶۰ به‌دست‌آوردند. Kerste و Kohlmann (۲۰۰۸) دامنه هتروزیگوسیتی مشاهده شده را بین ۰/۳۶ تا یک و دامنه هتروزیگوسیتی قابل انتظار را ۰/۳۳۴ تا ۰/۷۷۷ به‌دست‌آوردند. Wirth و همکاران (۱۹۹۹) میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده را در نمونه‌های رودخانه ۰/۷۲ و دامنه آن را بین ۰/۴۶ تا ۱ و میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده را در نمونه‌های دریاچه ۰/۵۰ و دامنه آن را بین ۰/۷۱ تا ۰/۱۳ به‌دست‌آوردند. قریب‌خانی و همکاران (۱۳۹۰) در ماهی سوف سفید میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده را ۰/۵۶ و دامنه آن را بین ۰/۳۰ تا ۰/۸۰ و میانگین هتروزیگوسیتی قابل انتظار را ۰/۵۰ و دامنه آن را بین ۰/۲۵ تا ۰/۶۳ به‌دست‌آوردند. نتایج بررسی حاضر بر روی ماهی سوف معمولی نشان می‌دهد که میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده (۰/۱ ± ۰/۶۵) و قابل انتظار (۰/۰۲ ± ۰/۷۳۱) در محدوده مقدار اعلام شده برای ماهیان آب شیرین (۰/۳۴ ± ۰/۴۶) است (Dewoody and Avis, 2000). در این بررسی هر دو منطقه تالاب انزلی و دریاچه سد ارس، در برخی جایگاه‌ها هتروزیگوسیتی مشاهده شده نسبت به هتروزیگوسیتی قابل انتظار پایین‌تر بود. به طور کلی بررسی‌های تنوع ژنتیکی و خصوصاً در مورد گونه‌هایی که تحت برنامه‌های تکثیر مصنوعی و بازسازی ذخایر قرار دارند، هتروزیگوسیتی نمی‌تواند شاخص مناسبی برای نشان دادن وضعیت ژنتیکی باشد (Petit et al., 1998). با این حال، کاهش هتروزیگوسیتی مشاهده شده نسبت به هتروزیگوسیتی قابل انتظار و همچنین وجود ال‌هایی با فراوانی پایین، را می‌توان تحت تاثیر عواملی همچون صید بی‌رویه، کاهش تکثیر طبیعی و شیوه‌های نادرست تکثیر مصنوعی دانست که دلیل دیگری بر کاهش تنوع ژنتیکی است. کاهش تنوع ژنتیکی، آمادگی برای بیماری و سایر فاکتورهای انتخابی را افزایش داده و در نتیجه موجب کاهش در اندازه جمعیت می‌شود (Shen and Gong, 2004). به نظر Alam و Islam (۲۰۰۵) در ذخایر (حاصل از تکثیر مصنوعی) با گذشت زمان، کاهش اللی و هتروزیگوسیتی بر اثر آمیزش‌های خویشاوندی و تنگنای ژنتیکی افزایش می‌یابد. همچنین کاهش تنوع ژنتیکی در ذخایر وحشی به علت استرس وارده به جمعیت ناشی از صید بی‌رویه و زوال تولید مثل در محیط طبیعی است. برای مثال صید ماهیان مولد در طول فصل تولید به‌وسیله مردم محلی موجب کاهش تخمه‌گشایی در هر سال می‌شود (Alam and Islam, 2005).

در بررسی تعادل هاردی وینبرگ همه مناطق در همه جایگاه‌ها خارج از تعادل بودند ($P \leq 0/001$). Kohlmann و Khurshut (۲۰۰۹) انحراف معنی دار از تعادل هاردی وینبرگ در ماهی سوف معمولی را وجود ال‌های نول، نمونه‌برداری غیرتصادفی از افراد خویشاوند و ترکیب جمعیت‌ها بیان کردند. Bjorklund و همکاران (۲۰۰۷) انحراف معنی دار از تعادل هاردی وینبرگ را به علت کاهش هتروزیگوسیتی دانستند که به تاریخچه تولیدمثلی جمعیت و از دست رفتن برخی ال‌ها در تکثیر مصنوعی ماهی سوف معمولی تفسیر نمودند. Kersten و Kohlmann (۲۰۰۸) انحراف از تعادل هاردی وینبرگ را به علت اندازه کوچک جمعیت و نمونه‌برداری غیرتصادفی دانستند. Poulet و همکاران (۲۰۰۹) انحراف از تعادل هاردی وینبرگ را به علت وجود ال‌های نول و از دست رفتن ال‌ها دانستند. قریب‌خانی و همکاران (۱۳۹۰) انحراف از تعادل هاردی وینبرگ را به عدم تصادفی بودن نمونه‌گیری به‌جهت کوچک بودن اندازه جمعیت و آمیزش خویشاوندی ناشی از تکثیر مصنوعی تفسیر کردند. در بررسی حاضر به‌نظر می‌رسد علت انحراف از تعادل، مخلوط‌شدن نمونه‌ها و ترکیب جمعیت‌ها به‌علت جابه‌جایی بچه ماهیان حاصل از تکثیر مصنوعی، خطای نمونه‌برداری با توجه به اندازه کوچک جمعیت‌ها و تعداد کم نمونه‌ها دانست.

در بررسی شاخص تمایز Fst پیشنهاد شده است که مقدار بین صفر تا ۰/۰۵ نشان‌دهنده تمایز ژنتیکی پایین، مقدار بین ۰/۰۵ تا ۰/۱۵ تمایز متوسط و مقدار بین ۰/۱۵ تا ۰/۲۵ تمایز بالاست و مقدار بالای ۰/۲۵ تمایز ژنتیکی خیلی بالاست (Wright, 1978). میزان Fst بر اساس فراوانی اللی ۰/۰۹۲ بدست آمد که نشان‌دهنده تمایز ژنتیکی متوسط می‌باشد و میزان جریان ژنی ۲/۴ محاسبه گردید. تست تمایز Rst و Fst بر اساس تست AMOVA بین نمونه‌ها معنی‌دار بود ($P < 0.01$). بنابراین جمعیت‌ها از یکدیگر جدا هستند. با وجود تمایز ژنتیکی بین دو جمعیت مورد مطالعه، علت تمایز ژنتیکی متوسط وجود جریان ژنی بین دو منطقه است. اگرچه دو منطقه با وجود فاصله جغرافیایی، ارتباط آبی با یکدیگر ندارند اما جابجایی مولدین و بچه ماهیان حاصل از تکثیر مصنوعی بین دو منطقه موجب برقراری جریان ژنی گردیده است. Shaklee و همکاران (۱۹۸۲)؛ Thorpe and Sole-Cava (۱۹۹۴) میزان فاصله ژنتیکی (Nei, 1972) برای جدایی جمعیت‌ها را به طور میانگین ۰/۳ (دامنه آن از ۰/۰۳ تا ۰/۶۱) ذکر کرده‌اند که با فاصله ژنتیکی مشاهده شده در این بررسی مطابقت دارد (۰/۶۱۶) و نشان‌دهنده تمایز ژنتیکی بین جمعیت‌های مشاهده شده است.

در سالیان گذشته، صید بی‌رویه ماهی سوف معمولی همراه با تخریب محل‌های تولیدمثل آن، باعث شده است تا ذخایر آن شدیداً کاهش پیدا کند. سال‌هاست که شیلات ایران اقدام به تکثیر مصنوعی و رهاسازی بچه ماهیان در مناطقی در جنوب دریای خزر و سد ارس در شمال غربی ایران نموده است. باید توجه داشت تکثیر مصنوعی و رهاسازی بچه ماهیان بدون در نظر گرفتن مدیریت صحیح می‌تواند معایب مختلفی مانند از دست رفتن تنوع ژنتیکی و در نهایت کاهش شدید ذخایر را در پی داشته باشد. بررسی حاضر، مطالعه اولیه‌ای است بر وجود جمعیت‌های متمایز ژنتیکی ماهی سوف معمولی که در دو منطقه تالاب انزلی و دریاچه سد ارس زیست می‌کنند. وجود ال‌های اختصاصی، Rst و Fst معنی‌دار در هر یک از جمعیت‌های شناسایی شده، تایید کننده وجود جمعیت‌های ژنتیکی متمایز در این دو منطقه است. این احتمال وجود دارد که جمعیت‌های دیگری از این ماهی در دریای خزر وجود داشته باشد که نیازمند، به مطالعه و بررسی بیشتری است. شناسایی ساختار ژنتیکی ماهی سوف معمولی می‌تواند در صنعت شیلات و پیشبرد برنامه‌های مدیریتی آینده در جهت تکثیر مصنوعی و طبیعی و حفاظت از ذخایر آن سودمند باشد.

سپاسگزاری

این پژوهش در آزمایشگاه تحقیقات ژنتیک مولکولی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن انجام پذیرفت. از تمامی همکاران گرامی در آزمایشگاه تحقیقات ژنتیک مولکولی به‌ویژه جناب آقای دکتر ناظمی تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

- اکبرزاده، الف.، کرمی، م.، نظامی، ش. و خارا، ح.، ۱۳۸۸. ارزیابی رابطه طول و وزن، چاقی ضریب و مشخصه‌های ماهی رشد سوف، (Linnaeus, 1785) *Sander lucioperca* در دریاچه ارس سد، مجله شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دوره ۶۲، شماره ۱، صفحات ۱-۱۰.
- رضوی صیاد، ب.، ۱۳۷۸. مقدمه‌ای بر اکولوژی دریای خزر، چاپ اول، موسسه تحقیقات شیلات ایران، تهران، ۹۰ ص.
- قریب خانی، م.، پورکاظمی، م.، رضوانی گیل‌کلائی، س. و تاتینا، م.، ۱۳۹۰. بررسی تنوع ژنتیکی ماهی سوف سفید (*Sander lucioperca*) در تالاب انزلی با استفاده از نشانگرهای ریزماهوره، مجله تالاب، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز، سال دوم، شماره هفتم، صفحات ۳-۱۰.
- عبدالملکی، ش.، ۱۳۸۳. ارزیابی ذخایر ماهی سوف (*Stizostedion lucioperca*) در سواحل ایرانی دریای خزر در سال ۱۳۷۹-۱۳۸۰، مجله علمی شیلات ایران، سال سیزدهم، شماره ۴، صفحات ۹۵-۱۱۰.
- عبدلی، الف. و نادری، م.، ۱۳۷۸. تنوع زیستی ماهیان حوضه جنوبی دریای خزر. چاپ اول، انتشارات علمی آذربایجان، صفحات ۱۹۷-۲۰۰.

Alam, S. and Islam, Sh., 2005. Population genetic structure of *Catla* (Hamilton) revealed by microsatellite DNA markers. *Aquaculture* 246, 151-160.

- Balloux, F. and Lugon-Moulin, N., 2002.** The estimate of population differentiation with microsatellite markers. *Molecular Ecology* 11, 155-165.
- Bassam, B. J., Caetano-Anolles, G. and Gressoff, G. M., 1991.** Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide gels. *Annual Biochemistry* 84, 680-683.
- Bjorkund, M., Aho, T. and Larsson, L. C., 2007.** Genetic differentiation in pikeperch (*Sander lucioperca*): the relative importance of gene flow, drift and common history. *Journal of Fish Biology* 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., 2005.** A microsatellite linkage map of the European sea bass *Dicentrarchus labrax* L. *Genetics* 170, 1821-1826.
- Dewoody, J. A. and Avise, J. C., 2000.** Microsatellite variation in marine, freshwater and anadromous fishes compared with other animals. *Journal of Fish Biology* 56, 461-473.
- Dubut, V., Grenier, R., Meglécz, R., and Chappaz, R., 2010.** Development of 55 novel polymorphic microsatellite loci for the critically endangered *Zingel asper* L. (Actinopterygii: Perciformes: Percidae) and cross-species amplification in five other Percids. *European Journal Wild Research* 56, 931-938.
- Frankham, R., 2008.** Genetic adaptation to captivity in species conservation programs. *Molecular Ecology* 17, 325-333.
- Hakansson, J. and Jensen, P., 2005.** Behavioral and morphological variation between captive populations of red jungle fowl (*Gallus gallus*) possible implications for conservation. *Biological Conservation* 122, 431-439.
- Khurshut, E. and Kohlmann, K., 2009.** Application of nine species-specific microsatellite loci to characterize three pike-perch (*Sander lucioperca*) populations from the Aral Sea basin in Uzbekistan. *Environmental Biotechnology* 5, 3-10.
- Kohlmann, K. and Kersten, P., 2008.** Isolation and characterization of nine microsatellite loci from the pike-perch, *Sander lucioperca* (Linnaeus, 1758). *Molecular Ecology Resources* 8, 1085-1087.
- Lee, C. E., 2002.** Evolutionary genetics of invasive species. *Trends in Ecology & Evolution* 17, 386-391.
- Nei, M., 1972.** Genetic distance between populations. *American Naturalist* 106, 283-292.
- Paetkau, D., Calvert, W., Stirling, I. and Strobeck, C., 1995.** Microsatellite analysis of population structure in Canadian polar bears. *Molecular Ecology* 4, 347-354.
- 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., Balaesque, 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.
- Petit, R. J., Mousadik, A. E. and Pons, A. O., 1998.** Identifying populations for conservation on the basis of genetic markers. *Conservation Biology* 12, 844-855.
- Roman, J. and Darling, J. A., 2007.** Paradox lost: genetic diversity and the success of aquatic invasions. *Trends in Ecology & Evolution* 22, 454-464.
- Sekar, M., Suresh, E., Kumar, N. S., Nayak, S. K. and Balakrishna, C., 2009.** Microsatellite DNA markers a fisheries perspective Part I: The nature of microsatellites. *Genetics and Biodiversity*, 27-29.
- Shaklee, J. B., Tamaru, C. S. and Waples, R. S., 1982.** Speciation and evolution of marine fishes studied by electrophoretic analysis of proteins. *Pacific Science* 36, 141-157.
- Shen, X. Y. and Gong, Q. L., 2004.** Population genetic structure analysis of the imported turbot seedlings *Scophthalmus maximus* Using RAPD and microsatellite technique. *Journal of Oceanology and Limnology* 35, 332-341.
- Thorpe, J. P. and Sole-Cava, A. M., 1994.** The use of allozyme electrophoresis in invertebrate systematics. *Zoologica Scripta* 23, 3-18.
- Zhao, N., Ai, W., Shao, Z., Zhu, B., Brosse, S. and Chang, J., 2005.** Microsatellites assessment of Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis* Gray) genetic variability. *Journal of Applied Ichthyology* 21, 7-13.

Wirth, T., Saint-Laurent, R. and Bernatchez, L., 1999. Isolation and characterization of microsatellite loci in the walleye (*Stizostedion vitreum*), and cross-species amplification within the family Percidae. *Molecular Ecology* 8, 1960–1962.

Archive of SID