Archive of SID

Downloaded from jmb.iauahvaz.ac.ir at 17:14 +0330 on Tuesday November 7th 2017

بررسی ساختار ژنتیکی جمعیت‌های ماهی کلمه (*Rutilus caspicus*) در نواحی جنوب شرقی دریای خزر با استفاده از جایگاه‌های ریز ماهواره

حدیثه کشیری[1*]
علی شعبانی[2]
سعید گرگین[3]
محمدرضا یی[4]
احمدرضا چیله[5]

۱، ۳. استادیار گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط‌زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی، گرگان، ایران
۲. دانشیار گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط‌زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی، گرگان، ایران
۴، ۵. دانشجوی دکتری شیلات، دانشکده شیلات و محیط‌زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی، گرگان، ایران

همسئول مکاتبات:
hadiskashiri@gmail.com

کد مقاله: ۱۳۹۶۰۱۰۳۹۴
تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۰/۱۸
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۱/۰۹
این مقاله برگرفته از طرح پژوهشی است.

چکیده

ماهی کلمه (*Rutilus caspicus*) یکی از گونه‌های باارزش و بومی دریای خزر محسوب می‌گردد که ذخایر آن طی سال‌های اخیر کاهش قابل‌توجهی یافته است. بازسازی ذخایر این ماهی از طریق رهاسازی لاروهای تولیدشده در کارگاه تکثیر به طبیعت انجام می‌گیرد. در تحقیق حاضر به ارزیابی و مقایسه ساختار ژنتیکی جمعیت‌های کارگاهی (دو گروه وحشی و پرورشی) و طبیعی ماهی کلمه (رودخانه قره‌سو، خلیج گرگان و تالاب گمیشان) با استفاده از ده جایگاه ریز ماهواره پرداخته شد. همه جایگاه‌های مورداستفاده در تمامی نمونه‌های موردبررسی چندشکلی نشان دادند. متوسط تعداد آل‌های مشاهده برای جمعیت‌های کارگاهی و طبیعی به ترتیب ۱۰ و ۱۰/۷ به دست آمد. همچنین متوسط هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده و مورد انتظار در جمعیت‌های موجود در کارگاه (He:۰/۸۲۳،Ho:۰/۶۳) کمی پایین‌تر از جمعیت‌های طبیعی (He:۰/۸۵۳،Ho:۰/۷) به دست آمد (P>۰/۰۵). در بررسی جمعیت‌ها ازنظر انحراف از تعادل هاردی-وینبرگ، ۳۲ مورد از ۵۰ تست موردبررسی انحراف معنی‌دار از تعادل نشان دادند که عمده دلیل آن را می‌توان به کاهش هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده نسبت داد. در این خصوص، کسری هتروزیگوسیتی بالا و ضریب درون آمیزی معنی‌داری (P<۰/۰۰۲) در برخی از جایگاه‌های موردبررسی مشاهده شد که وجود آل‌های نول را می‌توان به‌عنوان یکی از دلایل اصلی مطرح نمود. متوسط Fst و Rst به‌عنوان شاخص‌های تمایز ژنتیکی به ترتیب ۰/۰۲۲ و ۰/۰۳۹ به دست آمد به‌نحوی‌که بالاترین و پایین‌ترین میزان تمایز به ترتیب بین نمونه‌های پرورشی کارگاه و خلیج گرگان و نمونه‌های قره‌سو و گمیشان مشاهده شد. بالاترین فاصله و پایین‌ترین شباهت ژنتیکی نیز بین نمونه‌های پرورشی سپیدوال و خلیج گرگان مشاهده شد. با توجه به نتایج می‌توان اذعان داشت که باوجود مسائلی همچون آلودگی، صید بی‌رویه و همچنین بازسازی ذخایر از طریق رهاسازی لاروهای تولیدشده در کارگاه تکثیر، ماهی کلمه توانسته همچنان تنوع ژنتیکی خود را در سطح مطلوبی حفظ نماید. بااین‌وجود، کاهش اندک مشاهده‌شده در پارامترهای تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های موجود در کارگاه تکثیر را نمی‌توان نادیده گرفت چراکه باگذشت زمان، احتمال بروز مسائلی همچون درون آمیزی و خلوص ژنتیکی وجود دارد.

واژگان کلیدی: جمعیت، دریای خزر، ریز ماهواره، ساختار ژنتیکی، ماهی کلمه.

مقدمه

ماهی کلمه خزر باانام علمی *Rutilus caspicus* متعلق به خانواده کپور ماهیان و بومی دریای خزر می‌باشد. این ماهی یکی از گونه‌های باارزش تجاری است. متأسفانه طی سال‌های اخیر جمعیت این‌گونه ارزشمند به دلایلی همچون صید بی‌رویه و از بین رفتن مناطق طبیعی تخم‌ریزی به‌طور قابل‌توجهی کاهش‌یافته است به‌نحوی‌که جزو گونه‌های در معرض تهدید منطقه محسوب می‌گردد (Kiabi *et al.*, 1999). برای حفظ ذخایر

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jmb.iauahvaz.ac.ir at 17:14 +0330 on Tuesday November 7th 2017

این ماهی، بچه ماهیان از طریق تکثیر مصنوعی تولید و به دریای خزر رهاسازی می‌شوند. علی‌رغم مزایای بالقوه این روش، بازسازی ذخایر با استفاده از تعداد محدودی مولد جهت تولید نارو می‌تواند منجر به بروز مسائلی همچون کاهش تنوع ژنتیکی (Roodt-Wilding, 2007; Grant, 2012)، افزایش واگرایی ژنتیکی بین مناطق از طریق رانش ژنتیکی و افزایش ارتباط بین افراد درون مناطق (Roodt-Wilding, 2007; Lemer and Planes, 2012) می‌گردد.

تنوع ژنتیکی که ناشی از تفاوت در اجزای وراثتی افراد یک‌گونه می‌باشد، برای بقای گونه‌ها ضروری بوده و باعث بالا بردن ظرفیت گونه‌ها در سازش‌پذیری با تغییرات محیطی می‌گردد (Chauhan and Rajiv, 2010) به‌نحوی‌که تنوع ژنتیکی بالای درون جمعیتی ماهیان، می‌تواند به‌عنوان عاملی حفاظت کننده در برابر استرس‌های محیطی (همچون تغییرات آب و هوایی و آلاینده‌ها) و شیوع بیماری‌ها عمل نماید (Hiddink *et al.*, 2008)؛ بنابراین آگاهی از ذخایر توارثی و تنوع ژنتیکی بین افراد یک‌گونه از اهمیت بالایی برخوردار بوده و به‌عنوان بخشی ضروری در امر حفاظت و مدیریت ذخایر ماهیان در نظر گرفته می‌شود (Geist *et al.*, 2009). در این راستا، نشانگرهای مولکولی مختلفی در ارزیابی ساختار ژنتیکی جمعیت‌ها مطرح می‌باشند که در بین آن‌ها نشانگرهای ریز ماهواره به‌عنوان ابزاری مؤثر در مطالعات ژنتیکی جمعیت‌های ماهیان شناخته‌شده‌اند (Piorski *et al.*, 2008). ریز ماهواره‌ها توالی‌های کوتاه پشت سر هم از یک تا شش نوکلئوتید در ژنوم می‌باشند (Litt and Luty, 1989) که به دلیل پراکندگی بالا، میزان بالای پلی‌مورفیسم، وراثت مندلی (Selkoe and Toonen, 2006) و مکانیسم‌های تکاملی ساده (Piorski *et al.*, 2008) به‌طور گسترده‌ای در ارزیابی تنوع ژنتیکی (رضایی و همکاران، ۱۳۹۱؛ لالویی و همکاران، ۱۳۹۴؛ Matsumoto and Hilsdorf, 2009; Barroca *et al.*, 2012) و ساختار جمعیتی ماهیان کاربرد یافته‌اند (محمدیان و همکاران، ۱۳۸۹؛ کشیری و همکاران، ۱۳۹۰؛ Carvalho-Costa *et al.*, 2008; Matsumoto and Hilsdorf, 2009; Barroca *et al.*, 2012; Sanches *et al.*, 2012).

در تحقیق حاضر با در نظر گرفتن اهمیت بالای ماهی کلمه در منطقه و همچنین با توجه به اهمیت ارزیابی مداوم و آگاهی از وضعیت ژنتیکی گونه‌هایی که تحت برنامه‌های بازسازی ذخایر و تکثیر حمایتی قرار دارند، به بررسی و مقایسه ساختار ژنتیکی جمعیت‌های وحشی و پرورشی ماهی کلمه خزر پرداخته شد. نتایج حاصل از این پژوهش می‌تواند اطلاعات مفیدی را جهت مدیریت بهینه در امر حفاظت و بازسازی ذخایر این‌گونه ارزشمند فراهم سازد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری از تعداد ۹۳ قطعه ماهی کلمه خزر (*Rutilus caspicus*) از خلیج گرگان، رودخانه‌های قره‌سو و گرگان رود (۳۱ نمونه برای هر منطقه) واقع در استان گلستان صورت پذیرفت. همچنین از تعداد ۶۲ قطعه ماهی کلمه موجود در کارگاه تکثیر و پرورش ماهیان استخوانی سیجوال استان گلستان در غالب دو جمعیت وحشی و پرورشی نمونه‌برداری به عمل آمد. حدود ۱ تا ۲ گرم از باله دمی هرماهی جداسازی و تا زمان استخراج DNA در تیوب‌های حاوی الکل اتیلیک ۹۶ درصد نگهداری شد.

DNA نمونه‌ها با استفاده از کیت مخصوص (GeneAll Tissue and Tissue plus sv mini) مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده استخراج گردید. بدین منظور، نمونه‌های پودر شده پس از افزودن ۲۰۰ میکرولیتر بافر TL و ۲۰ میکرولیتر پروتئیناز K به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۵۶ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. پس‌ازآن، ۴۰۰ میکرو لیتر بافر TL اضافه و سانتریفیوژ در دور ۸۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱ دقیقه انجام گرفت. پس از انتقال محتوای تیوب به تیوب‌های فیلتر دار، ۶۰۰ میکرو لیتر بافر BW اضافه و مجدداً سانتریفیوژ (۹۰۰۰ دور در دقیقه، ۳۰ ثانیه) صورت گرفت. در مراحل بعدی با افزودن بافرهای TW و AE و سانتریفیوژ نهایی در دور ۱۳۰۰ دور در دقیقه به مدت ۶۰ ثانیه، رسوب DNA حاصل

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jmb.iauahvaz.ac.ir at 17:14 +0330 on Tuesday November 7th 2017

گردید. درنهایت، آب مقطر استریل به رسوب DNA به‌دست‌آمده اضافه گردید. پس‌ازآن کیفیت DNA استخراج‌شده از طریق الکتروفورز افقی با ژل آگارز ۱ درصد مورد ارزیابی قرار گرفت. همچنین کمیت DNA با خوانش میزان جذب نوری نمونه‌ها در طول‌موج‌های ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر در دستگاه بایوفتومتر (Eppendorf, Germany) تعیین گردید (King *et al.*, 2001). نمونه‌های DNA تا زمان انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

به‌منظور انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمراز، از ده جایگاه ریز ماهواره استفاده شد. اطلاعات مربوط به جایگاه‌های ژنی موردمطالعه در جدول ۱ آورده شده است. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با استفاده از ترکیبی شامل DNA، مستر میکس (Red Load Taq Master/high yield, Jena Bioscience)، آغازگرهای رفت‌وبرگشت و آب مقطر استریل در حجم نهایی ۱۲/۵ میکرو لیتر در دستگاه ترموسایکلر (Bio-RAD MJ Mini Thermal Cycler, USA) طی ۱ چرخه واسرشت اولیه (۳ دقیقه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد)، ۳۵ چرخه (واسرشت: ۳۰ ثانیه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد، اتصال: ۳۰ ثانیه در ۵۵-۶۰ درجه سانتی‌گراد (جدول ۱) و بسط: ۶۰ ثانیه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد) و ۱ چرخه بسط نهایی (۷۲ درجه سانتی‌گراد برای ۳ دقیقه) انجام پذیرفت. محصول به‌دست‌آمده بر روی ژل پلی‌اکریل‌آمید ۸ درصد جداسازی شد. در این خصوص از Ladder (۱۰۰ جفت باز) (Fermentas) به‌عنوان شاخص جهت تعیین اندازه آللی استفاده شد. پس از اتمام الکتروفورز عمودی، ژل‌های به‌دست‌آمده به روش نیترات نقره رنگ‌آمیزی (Benbouza *et al.*, 2006) شدند. پس از ثبت تصاویر مربوط به ژل‌ها (شکل ۱) با استفاده از دستگاه مستندساز ژل (Gel Doc XR, Bio-RAD, USA)، طول قطعات با نرم‌افزار Gel pro analyzer 3.0 تعیین گردید.

جدول ۱: ویژگی‌های جایگاه‌های ریز ماهواره مورداستفاده برای ماهی کلمه (*Rutilus caspicus*) در نواحی جنوب شرق دریای خزر.

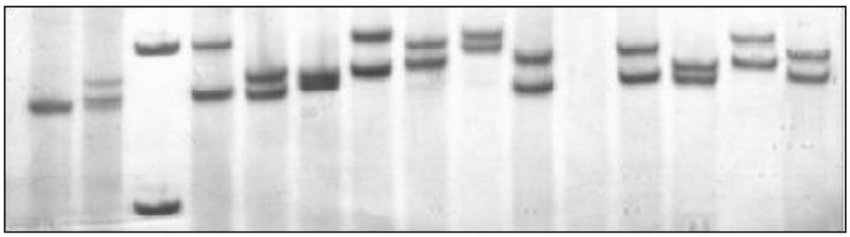
جایگاه ریز ماهواره	توالی	تعداد آلل	دمای اتصال (°C)	کد دستیابی در بانک ژن	منبع
Ca1	F: AAG ACG ATG CTG GAT GTT TAC R: CTA TAG CTT ATC CCG GCA GTA	۸	۵۵	AF277573	(Dimsoski *et al.*, 2000)
Ca3	F: GGA CAG TGA GGG ACG CAG AC R: TCT AGC CCC CAA ATT TTA CGG	۱۹	۵۲	AF277575	(Dimsoski *et al.*, 2000)
CypG3	F: AGT AGG TTT CCC AGC ATC ATT GT R: GAC TGG ACG CCT CTA CTT TCA TA	۱۸	۵۹	AY439122	(Baerwald and May, 2004)
CypG24	F: CTG CCG CAT CAG AGA TAA ACA CTT R: TGG CGG TAA GGG TAG ACC AC	۱۴	۵۸	AY439142	(Baerwald and May, 2004)
CypG27	F: AAG GTA TTC TCC AGC ATT TAT R: GAG CCA CCT GGA GAC ATT ACT	۱۷	۴۹	AY439145	(Baerwald and May, 2004)
CypG30	F: GAA AAA CCC TGA GAA ATT CAA AAG A R: GGA CAG GTA AAT GGA TGA GGA GAT A	۱۶	۵۲	AY439148	(Baerwald and May, 2004)

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jmb.iauahvaz.ac.ir at 17:14 +0330 on Tuesday November 7th 2017

جایگاه ریز ماهواره	توالی	تعداد آلل	دمای اتصال (°C)	کد دستیابی در بانک ژن	منبع
Lid1	F: TAA AAC ACA TCC AGG CAG ATT R: GGA GAG GTT ACG AGA GGT GAG	۹	۵۱	AB112732	(Barinova *et al.*, 2004)
Rru1	F: TTC CAG CTC AAC TCT AAA GA R: GCA CCA TGC AGT AAC AAT	۷	۴۶	AB112738	(Barinova *et al.*, 2004)
Rru4	F: TAA GCA GTG ACC AGA ATC CA R: CAA AGC CTC AAA AGC ACA A	۷	۵۴	AB112740	(Barinova *et al.*, 2004)
Z21908	F: ATT GAT TAG GTC ATT GCC CG R: AGG AGT CAT CGC TGG TGA GT	۶	۵۹	G40277	(http://zfin.org)



شکل ۱: نمونه‌ای از ژل پلی‌اکریل‌آمید ثبت‌شده برای *Rutilus caspicus* (جایگاه Ca3، نمونه‌های گمیشان).

از نرم‌افزار GeneAlex 6.3 به‌منظور محاسبه تعداد آلل‌های واقعی و مؤثر، هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده و مورد انتظار، شاخص‌های تمایز ژنتیکی شامل Fst و Rst و همچنین جریان ژنی استفاده شد (Peakall and Smouse, 2006). مقایسه تنوع آللی و هتروزیگوسیتی بین نمونه‌های مناطق موردبررسی و همچنین مقایسه داده‌های حاصل از این تحقیق با داده‌های حاصل از نمونه‌های جمع‌آوری‌شده در سال ۸۶ با استفاده از تست ویلکاکسون غیر پارامتریک در نرم‌افزار SPSS ویرایش شانزدهم انجام شد (Zar, 1999). با استفاده از نرم‌افزار Genepop 3.1 (Raymond and Rousset, 1995)، ارزیابی جمعیت‌ها ازنظر قرار گرفتن در تعادل هاردی–وینبرگ یا انحراف از آن و همچنین تست عدم تعادل پیوستگی مورد انجام گرفت. شاخص درون آمیزی و معنی‌داری یا عدم معنی‌داری آن با استفاده از نرم‌افزار FSTAT 2.9.3 (Goudet, 2001) تعیین گردید. از نرم‌افزار Microchecker 2.2.1 (Oosterhout *et al.*, 2004) به‌منظور ارزیابی امکان حضور آلل‌های نول، از دست دادن آلل‌های بزرگ و خطای دسته‌بندی استفاده شد. از نرم‌افزار PopGene 1.3.1 (Yeh *et al.*, 1999) نیز جهت تعیین شباهت و فاصله ژنتیکی و همچنین ترسیم دندروگرام UPGMA استفاده شد.

نتایج

تمامی ده جایگاه ریز ماهواره مورداستفاده چندشکلی نشان دادند که میزان این چندشکلی بسته به جایگاه متفاوت بود. با توجه به نتایج حاصل از نرم‌افزار Microchecker، علائمی دال بر وجود خطای دسته‌بندی و از دست رفتن آلل‌های بزرگ وجود نداشت اما آلل‌های نول در جایگاه‌های

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jmb.iauahvaz.ac.ir at 17:14 +0330 on Tuesday November 7th 2017

Rru4 و Z21908 در تمامی نمونه‌ها، جایگاه‌های CypG30 و Lid1 در نمونه‌های گمیشان، جایگاه‌های CypG27 و CypG30 در نمونه‌های قره‌سو و خلیج گرگان و جایگاه‌های CypG3، CypG27 و Lid1 در نمونه‌های وحشی و پرورشی سیجوال مشاهده شد. تنوع ژنتیکی در هر جمعیت در جدول ۲ آورده شده است. تعداد آلل‌های مشاهده‌شده و مؤثر به ترتیب در محدوده ۱۹-۴ (میانگین: ۱۰/۴۴) و ۱۳/۵۳-۱۳/۳۲۳ (میانگین: ۷/۰۳۳) به‌دست‌آمده آمد. در این میان، بالاترین و پایین‌ترین تعداد آلل به ترتیب در سطح جایگاه Ca3 در منطقه گمیشان و جایگاه Z21908 در منطقه قره‌سو مشاهده شد. همچنین بالاترین میانگین آللی متعلق به نمونه‌های منطقه گمیشان بود (۱۱/۲) هرچند تفاوت مشاهده‌شده بین نمونه‌های موردبررسی معنی‌دار نبود ($p>0/05$). در بررسی آلل‌های منحصربه‌فرد، میانگین این میزان برای جمعیت‌های وحشی و کارگاهی به ترتیب ۳۲/۳۳ و ۲۸ به‌دست‌آمده آمد. هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده و مورد انتظار به ترتیب در محدوده ۰/۹۸۶-۰/۱۶۷ و ۰/۹۶۱-۰/۷۰۶ به‌دست‌آمده آمد. در این خصوص، بالاترین هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده و مورد انتظار به ترتیب متعلق به جایگاه Ca1 (نمونه‌های وحشی سیجوال) و Ca3 (نمونه‌های گمیشان) بود. ازنظر میزان متوسط هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده در سطح نمونه‌های موردبررسی نیز، بالاترین و پایین‌ترین مقادیر به ترتیب در نمونه‌های خلیج گرگان و نمونه‌های پرورشی سیجوال مشاهده شد.

در بررسی جمعیت‌ها ازنظر انحراف از تعادل هاردی-وینبرگ، ۳۲ مورد از ۵۰ تست موردبررسی (۱۰ جایگاه × ۵ جمعیت) انحراف معنی‌دار پس از اعمال ضریب تصحیح بونفرونی نشان دادند و تنها ۱۶ تست در تعادل قرار داشتند. نتایج مربوط به تعادل هاردی-وینبرگ در جدول ۲ آورده شده است. بین جایگاه‌های ژنی موردمطالعه، عدم تعادل پیوستگی مشاهده نشد. در اغلب جایگاه‌های موردبررسی، کاهش هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده در مقابل هتروزیگوسیتی مورد انتظار وجود داشت (جدول ۲). همچنین در برخی از جایگاه‌ها افزایش هتروزیگوسیتی مشاهده شد که هیچ‌یک معنی‌دار نبود ($p\leq0/002$).

جدول ۲: پارامترهای تنوع ژنتیکی برای ده جایگاه ریز ماهواره در ماهی کلمه (*Rutilus caspicus*) در نواحی جنوب شرق دریای خزر.

		Cal	Ca3	CypG3	CypG24	CypG27	CypG30	Lid1	Rru2	Rru4	Z21908
گمیشان	A_o	۷	۱۹	۱۶	۱۳	۱۱	۱۶	۹	۸	۸	۵
	A_e	۵/۷۲	۱۲/۶۵۹	۹/۲۶۵	۱۰/۱۲	۷/۸۰۱	۱۱/۶۳۳	۶/۳۸۲	۶/۵۸۳	۳/۲۳۱	۳/۸۹
	U	۲	۶	۵	۴	۳	۴	۳	۲	۲	۲
	H_o	۰/۹۸۵	۰/۸۰۶	۰/۷۶۹	۰/۸۲۵	۰/۷۹۷	۰/۶۳۲	۰/۵۹۳	۰/۸۷۶	۰/۲۹۶	۰/۲۳۷
	H_e	۰/۸۱۱	۰/۹۶۱	۰/۹۳۳	۰/۹۵۲	۰/۸۶۶	۰/۹۵۳	۰/۸۵۹	۰/۸۶۳	۰/۷۵۱	۰/۷۳۹
	Fis	-۰/۱۹۳	۰/۱۹۱	۰/۲۱۵	۰/۱۶۳	۰/۱۰۸	۰/۲۳۸	۰/۲۳۳	-۰/۰۱	۰/۲۳۲	۰/۵۷۱
	pHw	ns	*	***	***	Ns	Ns	***	ns	**	***
قره‌سو	A_o	۸	۱۷	۱۶	۱۳	۱۱	۱۴	۷	۷	۶	۴
	A_e	۴/۹۲۸	۱۲/۲۳	۱۱/۰۱۸	۸/۲۸۹	۷/۰۱۰	۹/۸۱۲	۵/۶۱۶	۴/۳۲۲	۴/۰۳۱	۰/۸۱۲
	U	۴	۵	۴	۳	۳	۵	۳	۲	۱	۱
	H_o	۰/۹۲۳	۰/۸۷۰	۰/۵۰۹	۰/۸۲۶	۰/۶۵۱	۰/۶۷۳	۰/۵۷۳	۰/۹۳۳	۰/۴۶۲	۰/۲۶۳
	H_e	۰/۷۸۹	۰/۹۲۶	۰/۹۲۵	۰/۸۶۳	۰/۹۰۸	۰/۹۱۵	۰/۷۹۳	۰/۷۹۶	۰/۷۴۱	۰/۷۵۷
	Fis	-۰/۱۳۸	۰/۰۹۱	۰/۳۶۶	۰/۰۷۱	۰/۳۰۴	۰/۲۸۵	۰/۲۹۷	-۰/۱۶۳	۰/۲۸۴	۰/۶۶۰
	pHw	ns	*	***	ns	ns	***	ns	*	Ns	***
خلیج گرگان	A_o	۷	۱۷	۱۷	۱۲	۹	۱۵	۱۰	۷	۶	۶
	A_e	۵/۶۲۱	۱۲/۵۳	۱۱/۷۸۲	۸/۳۱۶	۵/۲۶۹	۸/۷۰۶	۸/۲۲۶	۵/۲۲۱	۴/۶۳۳	۴/۲۹۹
	U	۳	۵	۶	۴	۲	۴	۳	۲	۲	۱

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jmb.iauahvaz.ac.ir at 17:14 +0330 on Tuesday November 7th 2017

		Ca1	Ca3	CypG3	CypG24	CypG27	CypG30	Lid1	Rru2	Rru4	Z21908
	H_o	۰/۹۱۷	۰/۹۳۱	۰/۸۳۹	۰/۹۲۶	۰/۸۸۳	۰/۶۳۱	۰/۸۶۳	۰/۸۶۵	۰/۳۴۸	۰/۳۸۷
	H_e	۰/۸۴۶	۰/۹۲۱	۰/۸۸۵	۰/۸۹۹	۰/۸۳۶	۰/۸۸۹	۰/۸۷۱	۰/۸۰۳	۰/۷۷۰	۰/۷۷۳
	Fis	−۰/۰۵۱	−۰/۰۰۸	۰/۰۸۲	−۰/۰۱۰	۰/۳۲۶	۰/۲۹۹	۰/۰۳۱	۰/۰۶۳	۰/۶۸۸	۰/۵۰۸
	pHw	ns	*	ns	**	***	***	ns	ns	***	**
	A_o	۸	۱۳	۱۵	۱۲	۱۰	۱۳	۹	۸	۷	۵
	A_e	۶/۱۶۸	۱۰/۱۸۳	۸/۳۶۴	۴/۸۳۰	۶/۹۷۱	۹/۶۸۱	۶/۵۲۱	۵/۹۳۶	۳/۷۰۶	۳/۴۸۲
	U	۴	۴	۴	۴	۲	۴	۴	۲	۲	۱
سیجوال (وحشی)	H_o	۰/۹۸۶	۰/۹۷۴	۰/۴۸۲	۰/۸۷۶	۰/۲۹۸	۰/۷۸۲	۰/۵۴۳	۰/۸۷۸	۰/۴۱۸	۰/۱۷۲
	H_e	۰/۸۱۲	۰/۸۸۴	۰/۸۸۱	۰/۸۱۲	۰/۸۳۳	۰/۸۷۴	۰/۸۴۶	۰/۸۳۴	۰/۷۳۳	۰/۷۱۹
	Fis	−۰/۱۸۳	−۰/۰۷۱	۰/۴۷۶	−۰/۰۳۷	۰/۶۵۴	۰/۱۳۱	۰/۴۷۴	−۰/۰۲۵	۰/۴۵۱	۰/۷۷۴
	pHw	*	ns	**	***	**	*	ns	ns	**	***
	A_o	۷	۱۳	۱۵	۱۲	۱۰	۱۳	۸	۸	۷	۵
	A_e	۶/۱۱۹	۹/۸۴۵	۸/۲۲۱	۴/۶۲۷	۶/۸۴۷	۹/۶۱۸	۵/۹۲۸	۵/۷۴۳	۳/۶۲۱	۳/۳۲۴
	U	۳	۳	۴	۴	۲	۴	۳	۲	۱	۰
سیجوال (پرورشی)	H_o	۰/۹۶۴	۰/۹۳۵	۰/۴۹۶	۰/۸۶۱	۰/۳۱۶	۰/۷۵۴	۰/۴۸۲	۰/۸۳۴	۰/۴۳۳	۰/۱۶۷
	H_e	۰/۸۰۶	۰/۸۷۴	۰/۸۵۶	۰/۷۹۵	۰/۸۴۰	۰/۸۶۴	۰/۸۲۸	۰/۸۱۴	۰/۷۳۹	۰/۷۰۶
	Fis	−۰/۱۶۲	−۰/۰۳۷	۰/۴۳۳	−۰/۰۵۱	۰/۶۱۳	۰/۱۳۶	۰/۴۳۷	−۰/۰۰۸	۰/۳۳۶	۰/۷۷۴
	pHw	*	ns	***	***	***	***	**	ns	**	***

Ao: تعداد آل‌های واقعی، Ae: تعداد آل‌های مورد انتظار، U: تعداد آل‌های یونیک، Ho: هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده، He: هتروزیگوسیتی مورد انتظار، Fis: ضریب درون آمیزی، pHw: تست احتمال تعادل هاردی-وینبرگ پس از اعمال ضریب تصحیح بونفرونی (ns: عدم معنی‌داری، $p\leq ۰/۰۵$: *، $p\leq ۰/۰۰۱$: ** و $p\leq ۰/۰۰۰۱$: ***)

در بررسی تمایز ژنتیکی بین نمونه‌های موردمطالعه، متوسط شاخص‌های Fst و Rst بر اساس فراوانی آللی، به ترتیب ۰/۰۲۲ و ۰/۰۴۹ به‌دست‌آمده آمد. در این خصوص بالاترین و پایین‌ترین میزان تمایز ژنتیکی به ترتیب بین نمونه‌های پرورشی سیجوال و خلیج گرگان و نمونه‌های قره‌سو و گمیشان مشاهده شد (جدول ۴). نتایج حاصل از آنالیز واریانس مولکولی نیز نشان داد که ۹۷ درصد تنوع مشاهده‌شده مربوط به درون جمعیت‌ها بوده و تنوع بین جمعیتی پایینی بین نمونه‌های موردبررسی وجود دارد. همچنین میزان جریان ژنی بالایی بین مناطق موردبررسی مشاهده شد. در این خصوص بالاترین میزان شاخص Nm، بین نمونه‌های مناطق گمیشان و قره‌سو (۱۹/۲۳) بود (جدول ۴).

جدول ۴: تمایز ژنتیکی بین نمونه‌های موردبررسی ماهی کلمه (*Rutilus caspicus*) بر اساس فراوانی آللی.

مناطق نمونه‌برداری	گمیشان	قره‌سو	خلیج گرگان	کارگاه سیجوال (وحشی)	کارگاه سیجوال (پرورشی)
گمیشان	۰/۰۰	۰/۰۲۳	۰/۰۴۶	۰/۰۳۹	۰/۰۶۲
قره‌سو	۰/۰۱۳	۰/۰۰	۰/۰۳۱	۰/۰۳۵	۰/۰۵۲
خلیج گرگان	۰/۰۱۹	۰/۰۱۶	۰/۰۰	۰/۰۵	۰/۰۶۶
کارگاه سیجوال (وحشی)	۰/۰۲۰	۰/۰۱۸	۰/۰۲۵	۰/۰۰	۰/۰۳۷
کارگاه سیجوال (پرورشی)	۰/۰۳۱	۰/۰۲۹	۰/۰۳۴	۰/۰۱۹	۰/۰۰

اعداد بالا و پایین قطر به ترتیب نشان‌دهنده مقادیر Rst و Fst می‌باشد

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jmb.iauahvaz.ac.ir at 17:14 +0330 on Tuesday November 7th 2017

جدول ٤: جریان ژنی بین نمونه‌های موردبررسی ماهی کلمه (*Rutilus caspicus*).

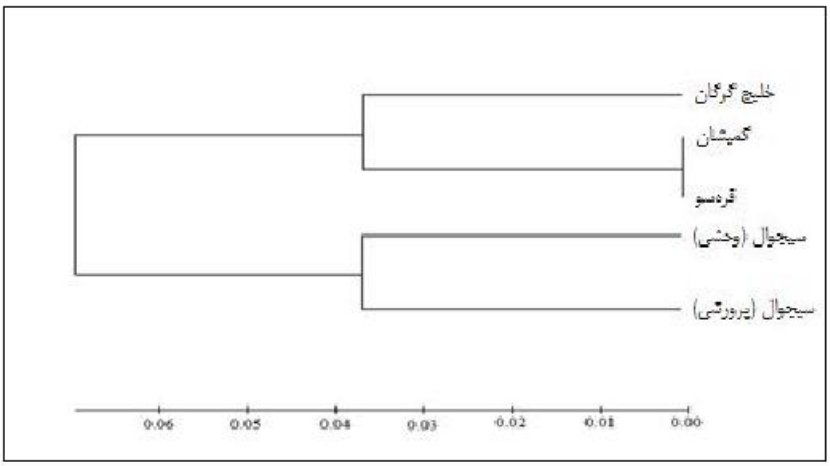
مناطق نمونه‌برداری	گمیشان	قره‌سو	خلیج گرگان	کارگاه سیجوال (وحشی)	کارگاه سیجوال (پرورشی)
گمیشان	۰/۰۰	۱۹/۲۳	۱۳/۲۰	۱۲/۲۵	۷/۸۱
قره‌سو		۰/۰۰	۱۵/۳۲	۱۳/۶۳	۸/۳۷
خلیج گرگان			۰/۰۰	۹/۷۵	۷/۱۰
کارگاه سیجوال (وحشی)				۰/۰۰	۱۲/۹۰
کارگاه سیجوال (پرورشی)					۰/۰۰

میزان شباهت و فاصله ژنتیکی بین نمونه‌های موردمطالعه به ترتیب ۰/۷۲۴ و ۰/۳۲۱ به‌دست‌آمده آمد به‌نحوی‌که بالاترین میزان شباهت و پایین‌ترین فاصله ژنتیکی بین نمونه‌های قره‌سو و گمیشان وجود داشت. همچنین پایین‌ترین شباهت و بالاترین فاصله ژنتیکی بین نمونه‌های پرورشی سیجوال و خلیج گرگان مشاهده شد (جدول ۵). بر طبق دندروگرام UPGMA ترسیم‌شده بر اساس فاصله ژنتیکی، نمونه‌های مورد ارزیابی در ۲ گروه مجزا قرار گرفتند. گروه اول که شامل دو زیرگروه نمونه‌های خلیج گرگان و نمونه‌های گمیشان با قره‌سو بود و گروه دوم شامل دو زیرگروه نمونه‌های وحشی و پرورشی کارگاه سیجوال بود (شکل ۲).

جدول ۵: ماتریس شباهت و فاصله ژنتیکی بین نمونه‌های موردبررسی ماهی کلمه (*Rutilus caspicus*) در نواحی جنوب شرق دریای خزر.

مناطق نمونه‌برداری	گمیشان	قره‌سو	خلیج گرگان	کارگاه سیجوال (وحشی)	کارگاه سیجوال (پرورشی)
گمیشان	۰/۰۰	۰/۸۵۶	۰/۷۷۱	۰/۶۹۸	۰/۶۲۷
قره‌سو	۰/۱۸۸	۰/۰۰	۰/۸۱۵	۰/۷۸۴	۰/۶۷۱
خلیج گرگان	۰/۲۶۲	۰/۲۱۳	۰/۰۰	۰/۶۷۷	۰/۶۰۵
کارگاه سیجوال (وحشی)	۰/۳۱۸	۰/۲۴۲	۰/۳۵۸	۰/۰۰	۰/۷۲۵
کارگاه سیجوال (پرورشی)	۰/۳۶۲	۰/۳۹۶	۰/۳۹۳	۰/۳۷۹	۰/۰۰

اعداد بالا و پایین قطر به ترتیب نشان‌دهنده شباهت و فاصله ژنتیکی می‌باشد.



شکل ۲: دندروگرام UPGMA بر اساس فاصله ژنتیکی بین نمونه‌های موردبررسی ماهی کلمه (*Rutilus caspicus*) در نواحی جنوب شرق دریای خزر.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jmb.iauahvaz.ac.ir at 17:14 +0330 on Tuesday November 7th 2017

بحث و نتیجه‌گیری

در تحقیق حاضر از ده جایگاه ریز ماهواره جهت تعیین تفاوت‌های ژنتیکی بین جمعیت‌های وحشی و پرورشی ماهی کلمه خزر استفاده شد که همگی در تمام نمونه‌های موردمطالعه چندشکلی نشان دادند. تنوع ژنتیکی مولکولی در ماهیان با ویژگی‌های تاریخچه زندگی آن‌ها مرتبط بوده (Dewoody and Avise, 2000) و پایه و اساس سازگاری گونه‌ها در محیط‌های مختلف می‌باشد (Li *et al.*, 2007). در این خصوص، ارزیابی تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های وحشی و پرورشی می‌تواند اطلاعات سودمندی را برای برنامه‌های تکثیر و ژنتیک حفاظت در بر داشته باشد (Allendorf, 1986; Lacy, 1987). درواقع، شناخت و آگاهی از تنوع ژنتیکی برای گونه‌های تحت برنامه بازسازی ذخایر همچون ماهی کلمه خزر باید به‌عنوان یک اولویت در توسعه و اجرای استراتژی‌های مدیریتی قرار گیرد تا بتوان خطر کاهش تنوع ژنتیکی جمعیت‌های وحشی و درون آمیزی در ذخایر کارگاهی را به حداقل رسانید (Aguiar *et al.*, 2013). تعداد آلل‌ها، هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده و مورد انتظار به‌عنوان پارامترهای تنوع ژنتیکی جمعیت‌ها مطرح می‌باشند. در این بررسی متوسط هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده و مورد انتظار در جمعیت‌های موجود در کارگاه سیجوال کمی پایین‌تر از جمعیت‌های وحشی بود که این تفاوت ازنظر آماری معنی‌دار نبود ($P>0/05$). این امر در تطابق با نتایج به‌دست‌آمده توسط An و همکاران (۲۰۱۳) بود که میزان هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده در جمعیت‌های پرورشی *Cynoglossus semilaevis* را تنها کمی پایین‌تر از جمعیت‌های وحشی گزارش نمودند. به‌هرحال کاهش هتروزیگوسیتی در جمعیت‌های موجود در کارگاه‌های تکثیر می‌تواند به دلیل تعداد پایین مولدین مورداستفاده و به‌تبع آن درون آمیزی و رانش ژنتیکی باشد (Rana *et al.*, 2004). ازآنجایی‌که ارتباط آلل‌های نادر با هتروزیگوسیتی به دلیل فراوانی پایین، کم می‌باشد لذا حذف شدن این آلل‌ها نمی‌تواند تأثیر چندانی روی هتروزیگوسیتی داشته باشد (Kitada *et al.*, 2009)؛ بنابراین، هتروزیگوسیتی به‌عنوان شاخص دقیق و کاملی برای ارزیابی تنوع ژنتیکی گونه‌های تحت برنامه‌های تکثیر و بازسازی ذخایر در نظر گرفته نمی‌شود (Petit *et al.*, 1998). در این خصوص، تعداد آلل‌های مشاهده‌شده در سطح هر جایگاه از مقیاس‌های رایج در ارزیابی تنوع ژنتیکی می‌باشد به‌نحوی‌که کاهش تعداد آلل در سطح جمعیت می‌تواند بیان‌گر کاهش تنوع ژنتیکی باشد (Lind *et al.*, 2009). در تحقیق حاضر، متوسط تعداد آلل‌های مشاهده‌شده در جمعیت‌های کارگاهی (۱۰) تنها کمی پایین‌تر از جمعیت‌های وحشی (۱۰/۷) به‌دست‌آمده آمد. همچنین متوسط آلل‌های منحصربه‌فرد در سطح جمعیت‌های وحشی کمی بالاتر (۳۲/۳۳) از متوسط مشاهده‌شده برای جمعیت‌های موجود در کارگاه تکثیر (۲۸) بود. به‌طورکلی پایین‌تر بودن غنای آللی در جمعیت‌های موجود در کارگاه تکثیر در مقایسه با جمعیت‌های وحشی می‌تواند ناشی از به‌گزینی و درون آمیزی باشد (An *et al.*, 2010). کاهش تنوع آللی در جمعیت‌های کارگاهی ماهیان در برخی مطالعات گزارش‌شده است (Hutchings and Fraser, 2008; An *et al.*, 2014). در این راستا، Tessier و همکاران (۱۹۹۷) نمونه حادتری را گزارش نمودند که در آن زادههای ذخیره‌سازی شده منجر به رانش ژنتیکی قابل‌توجه و کاهش ۵۰ درصدی اندازه جمعیت مؤثر در جمعیت سالمون اطلس گردید که محققین علت این امر را استفاده از تعداد محدودی مولد برای ایجاد جمعیت کارگاهی عنوان نمودند. در ارزیابی آلل‌های مؤثر در این بررسی، میزان آلل‌های واقعی در تمامی موارد بالاتر از آلل‌های مؤثر به‌دست‌آمده آمد که می‌تواند نشان‌گر پویایی جمعیت‌های وحشی ماهی کلمه باشد. به‌طورکلی، در شرایطی که آلل‌های مختلف فراوانی یکسانی داشته باشند، میزان آلل‌های مؤثر با آلل‌های واقعی برابر می‌باشد اما به‌طورمعمول به دلایلی همچون مهاجرت بین جمعیت‌ها و به‌تبع آن تغییرات فراوانی آللی در سطح جایگاه‌ها (Vahidi *et al.*, 2014)، تعداد بالای آلل‌های حفظ‌شده در فراوانی خیلی پایین و همچنین تعداد بالای آلل‌های خیلی کمیاب که سهم ناچیزی در هموزیگوسیتی دارند، تفاوت بین آلل‌های واقعی و مؤثر امری معمول می‌باشد (Crow and Dove, 2000). درواقع، بسیاری از آلل‌ها تنها یک یا دو بار در جمعیت نمایان می‌شوند درحالی‌که یک یا تعداد کمی از آلل‌ها فراوانی بالا دارند. این امر باعث می‌شود تا میزان آلل‌های واقعی بیشتر از آلل‌های مؤثر گردد (Le Cam *et al.*, 1972).

این‌طور تصور می‌شود که معمولاً ساختار ژنتیکی جمعیت‌های ماهیان طی گذشت زمان پایدار باشد (Wenne *et al.*, 2016). در تحقیق صورت گرفته توسط Tessier و Bernatchez (۱۹۹۹) در خصوص امکان تغییر یا پایداری ساختار جمعیتی و تنوع ژنتیکی ماهی سالمون اطلس در

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jmb.iauahvaz.ac.ir at 17:14 +0330 on Tuesday November 7th 2017

چهار اکوسیستم آبی واقع در کانادا مشخص شد که تنوع آللی و هتروزیگوسیتی طی سال‌های ۸۱-۱۹۷۰ تا ۱۹۹۴ در برخی نواحی کاهش و یا افزایش بسیار جزئی نشان داده به‌نحوی‌که تغییرات مشاهده‌شده معنی‌دار نبود. محققین در تحقیق مذکور بیان داشتند که جمعیت‌های این ماهی توانسته علی‌رغم کاهش ذخایر تنوع ژنتیکی خود را طی چندین نسل حفظ نماید و تغییرات جمعیتی نتوانسته اندازه جمعیت مؤثر را کاهش دهد. مقایسه پارامترهای تنوع ژنتیکی نمونه‌های وحشی در این تحقیق (گمیشان: Ao:۱۱/۲،Ho:۰/۷۱۲،He:۰/۸۷۱؛ قره‌سو: Ao:۱۰/۳،Ho:۰/۶۶۹،He:۰/۸۴۱؛ خلیج گرگان: Ao:۱۰/۶، Ho:۰/۷۲۱، He:۰/۸۳۹) با مقادیر به‌دست‌آمده از مطالعه قبلی روی نمونه‌های جمع‌آوری‌شده در سال ۸۶ (گمیشان: Ao:۱۱/۴، Ho:۰/۶۹،He:۰/۸۵۹؛ قره‌سو: Ao:۱۰/۲،Ho:۰/۶۹۶،He:۰/۸۳۷؛ خلیج گرگان: Ao:۱۰/۴،Ho:۰/۶۹۲،He:۰/۸۴۶) (کشیری و همکاران، ۱۳۸۸) نشان داد که علی‌رغم مسائلی همچون کاهش جمعیت و ذخیره‌سازی مجدد با لاروهای تولیدشده در کارگاه تکثیر طی این مدت، تفاوت معنی‌داری ازنظر تنوع ژنتیکی درون جمعیتی حاصل نشده است ($P>0/05$). به‌هرحال با توجه به کاهش ذخایر و تداوم برنامه بازسازی ذخایر ماهی کلمه از طریق آزادسازی لاروهای تولیدشده در کارگاه، ارزیابی ساختار ژنتیکی این ماهی باارزش طی دوره‌های زمانی مختلف امری ضروری به نظر می‌رسد.

طی نزدیک به ۲۰ سال بازسازی ذخایر ماهی کلمه از طریق رهاسازی لاروهای تولیدشده از مولدین وحشی انجام پذیرفته است. متأسفانه اطلاعاتی در خصوص وضعیت ژنتیکی جمعیت‌های وحشی ماهی کلمه قبل از شروع برنامه بازسازی ذخایر وجود ندارد تا بتوان تصویر دقیقی از اثر برنامه‌های بازسازی ذخایر بر ساختار ژنتیکی ماهی کلمه طی این مدت ارائه داد. بااین‌وجود، نتایج حاصل از این تحقیق مبنی بر عدم وجود تفاوت معنی‌دار ازنظر هتروزیگوسیتی و تنوع آللی بین جمعیت‌های وحشی و پرورشی می‌تواند دال بر مناسب بودن مدیریت صورت گرفته در برنامه‌های تکثیر حمایتی ماهی کلمه طی بازسازی ذخایر باشد. در این خصوص، مقایسه مقادیر به‌دست‌آمده در این تحقیق با مقادیر حاصل از تحقیق قبلی نیز حاکی از عدم وجود تفاوت معنی‌دار در پارامترهای تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های وحشی ماهی کلمه بوده که می‌تواند مرتبط با عدم انحراف قابل‌توجه از تعادل مهاجرت/رانش در جمعیت‌های طبیعی طی این مدت باشد (Tessier and Bernatchez, 1999). علی‌رغم تمامی این موارد، نباید حتی کاهش اندک در پارامترهای تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های پرورشی موجود در کارگاه را هم نادیده گرفت. چراکه تنها سه سال از برپایی جمعیت پرورشی ماهی کلمه در کارگاه تکثیر می‌گذرد و طی این مدت نتایج تولیدشده از طریق تکثیر نیمه‌طبیعی مولدین پرورشی نیز به طبیعت رهاسازی می‌شوند. با توجه به این‌که زمان زیادی از برپایی جمعیت پرورشی ماهی کلمه نمی‌گذرد و همچنین با در نظر گرفتن این موضوع که ذخایر پرورشی طی این مدت به میزان ۱۰ تا ۲۰ درصد با مولدین وحشی صیدشده در هرسال جایگزین شده‌اند، نزدیکی سطح تنوع مشاهده‌شده در این جمعیت (Ao:۱۰،Ho:۰/۶۲۱) به سطح تنوع مشاهده‌شده در جمعیت‌های وحشی خیلی دور از انتظار نبود. بااین‌حال باید تدابیر جدی جهت حفظ و تقویت تنوع مشاهده‌شده در جمعیت‌های کارگاهی اندیشیده شود چراکه باگذشت زمان احتمال بروز مسائلی همچون درون آمیزی و خلوص ژنتیکی در چنین جمعیت‌هایی (Deepak *et al.*, 2006) وجود دارد.

در بررسی جمعیت‌ها ازنظر انحراف از تعادل هاردی-وینبرگ، هم در جمعیت‌های کارگاهی و هم در جمعیت‌های وحشی انحراف از تعادل بالایی مشاهده شد به‌نحوی‌که از ۵۰ تست موردبررسی، ۳۲ مورد انحراف معنی‌دار از تعادل نشان دادند. انحراف از تعادل هاردی-وینبرگ در بسیاری از جمعیت‌های ماهیان گزارش‌شده (Yue *et al.*, 2004; Lucentini *et al.*, 2006; Bang *et al.*, 2009) که می‌تواند ناشی از عوامل متعددی همچون جریان ژنی بالا، جفت‌گیری غیر تصادفی، وجود آلل‌های نول و درون آمیزی نمونه باشد (Bhassu *et al.*, 2004; Borrell *et al.*, 2008). با توجه به نتایج تحقیق حاضر، جریان ژنی نسبتاً بالایی بین نمونه‌های موردبررسی مشاهده شد (جدول ۳)؛ بنابراین مهاجرت و جریان ژنی را می‌توان به‌عنوان یکی از دلایل عمده انحراف از تعادل مشاهده‌شده در نظر گرفت. در این راستا، کسری هتروزیگوسیتی بالا و ضریب درون آمیزی معنی‌داری ($P\leq0/002$) نیز در برخی از جایگاه‌ها مشاهده شد (جدول ۲). چنین کسری برای بسیاری از گونه‌های ماهیان گزارش‌شده است (Waldman and McKinnon, 1993; Hoarau *et al.*, 2002; An *et al.*, 2010). در این خصوص، نتایج حاصل از نرم‌افزار

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jmb.iauahvaz.ac.ir at 17:14 +0330 on Tuesday November 7th 2017

Microchecker امکان وجود آلل‌های نول در برخی جایگاه‌ها را تائید نمود. شایان‌ذکر است آلل‌های نول به‌طور واقعی باعث انحراف از مدل هاردی–وینبرگ نمی‌شوند بلکه عملکرد آن‌ها از طریق افزایش هموزیگوسیتی و کسری هتروزیگوسیتی باعث بروز چنین پدیده‌ای می‌گردد (Beaumont, 1994). علاوه بر این موارد، بهگزینی و جفت‌گیری غیر تصادفی نیز می‌تواند در بروز انحراف از تعادل مشاهده‌شده در جمعیت‌های کارگاهی نقش داشته باشد.

در ارزیابی تمایز ژنتیکی بین نمونه‌های موردبررسی، متوسط شاخص‌های Fst و Rst به ترتیب ۰/۰۲۲ و ۰/۰۳۹ به‌دست‌آمده آمد. در این تحقیق، در تمامی موارد، مقادیر Rst بالاتر از Fst به‌دست‌آمده آمد. میزان Rst تحت مدل جهش پله‌ای می‌تواند بالاتر از میزان Fst باشد (Slatkin *et al.*, 1995) این در حالی است که در شرایطی همچون کوتاه بودن زمان جدایی جمعیت‌ها که منجر به مستقل شدن تمایز از مدل جهش می‌گردد، ممکن است این دو شاخص مشابه هم باشند (Rousset, 1996). به‌هرحال، در مقایسه بین نمونه‌های موردبررسی بالاترین مقادیر تمایز بین جمعیت پرورشی سیجوال و جمعیت‌های طبیعی مشاهده شد که احتمالاً به دلیل به‌گزینی و کاهش تعداد مولدین مؤثر در کارگاه تکثیر باشد (An *et al.*, 2010). همچنین پایین‌ترین تمایز ژنتیکی بین نمونه‌های قره‌سو و گمیشان وجود داشت. در این خصوص، بالاترین جریان ژنی نیز بین نمونه‌های قره‌سو و گمیشان مشاهده شد. فرآیندهای انحراف ژنتیکی تصادفی و سازگاری با محیط (از طریق به‌گزینی در جایگاه‌های خاص) منجر به افزایش تمایز جمعیتی می‌گردد این در حالی است که مهاجرت به‌عنوان عاملی مهم در کاهش تمایز بین جمعیت‌ها مطرح می‌باشد (Beaumont and Hoare, 2003). درواقع، زمانی که هیچ جریان ژنی و یا جریان ژنی اندکی بین جمعیت‌ها وجود داشته باشد، بین آن‌ها تمایز ژنتیکی قابل‌ملاحظه‌ای به وجود خواهد آمد درحالی‌که با افزایش مهاجرت میزان شباهت ژنتیکی بین جمعیت‌ها افزایش می‌یابد (Chakraborty and Leimar, 1987). درمجموع با توجه به معیار Wright (۱۹۷۸)، میزان تمایز ژنتیکی مشاهده‌شده در این بررسی در سطح پایینی قرار دارد که عامل اصلی آن می‌تواند جریان ژنی مشاهده‌شده بین نمونه‌های موردبررسی باشد. در بررسی شباهت و فاصله ژنتیکی نیز، پایین‌ترین شباهت و بالاترین فاصله ژنتیکی بین نمونه‌های پرورشی سیجوال و خلیج گرگان وجود داشت. نتایج حاصل از ترسیم دندروگرام UPGMA بر اساس فاصله ژنتیکی نیز نشان داد که جمعیت‌های کارگاهی در گروهی مجزا نسبت به جمعیت‌های طبیعی قرار گرفتند.

درمجموع، مقایسه پارامترهای تنوع ژنتیکی بین جمعیت‌های کارگاهی و طبیعی حاکی از کاهش اندک در تنوع آللی و هتروزیگوسیتی در جمعیت‌های کارگاهی بود هرچند تفاوت‌های مشاهده‌شده ازنظر آماری معنی‌دار نبود ($P>0/05$). بر طبق نتایج حاصل از این تحقیق می‌توان اذعان داشت که باوجود مسائلی همچون آلودگی، صید بی‌رویه و همچنین اجرای برنامه‌های بازسازی ذخایر از طریق رهاسازی لاروهای تولیدشده در کارگاه تکثیر، ماهی کلمه توانسته همچنان تنوع ژنتیکی خود را حفظ نماید. به‌هرحال با توجه به این‌که زمان زیادی از برپایی جمعیت پرورشی ماهی کلمه و رهاسازی لاروهای تولیدی از آن به طبیعت نمی‌گذرد و با در نظر گرفتن این موضوع که بالاترین مقادیر تمایز ژنتیکی بین جمعیت پرورشی سیجوال و جمعیت‌های وحشی مشاهده شد، ارزیابی ژنتیکی ذخیره مولدین، فرزندان و جمعیت‌های هدف به‌صورت دوره‌ای جهت برقراری استراتژی کارآمد در بازسازی ذخایر ضروری به نظر می‌رسد.

منابع

رضایی، م.، شعبانی، ع.، شعبانپور، ب. و کشوری، ح. ۱۳۹۱. تنوع ریز ماهواره‌ای و ساختار ژنتیک جمعیت ماهی سفید *Rutilus frisii kutum* در سواحل استان مازندران. مجله زیست‌شناسی ایران، ۲۵(۴): صفحات ۵۵۸-۵۴۸.

تالوبی، ف.، رضوانی گیل کلایی، س. و تقوی، م. ج. ۱۳۹٤. بررسی تنوع ژنتیکی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در آبهای ایرانی دریای خزر با استفاده از نشانگرهای ریز ماهواره‌ای. نشریه شیلات، مجله منابع طبیعی ایران، ۶۸(۱): صفحات ۱۳۸-۱۲۹.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jmb.iauahvaz.ac.ir at 17:14 +0330 on Tuesday November 7th 2017

کشمیری، ح.، شعبانی، ع. و شعبانپور، ب.، ۱۳۸۸. بررسی تنوع ژنتیکی ماهی کلمه (*Rutilus rutilus caspicus*) در سواحل جنوبی دریای خزر. پایان‌نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ۵۷ ص.

کشمیری، ح.، شعبانی، ع.، شعبانپور، ب. و رضایی، م.، ۱۳۹۰. بررسی ساختار جمعیتی ماهی کلمه (*Rutilus rutilus caspicus*) در مناطق انزلی و گمیشان با استفاده از نشانگر ریز ماهواره. مجله علوم و فنون دریایی، ۱۰(۳): صفحات ۱۳-۳.

محمدیان، س.، رضوانی گیل کلایی، س.، کاظمیان، م.، کمالی، ا.، تقوی، م. ج.، روح الهی، ش.، لالویی، ف. و نهرانی، م.، ۱۳۸۹. مطالعه تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیتی ماهی سیاه کولی (*Vimba vimba persa* (Pallas, 1814)) در سواحل شرقی و غربی دریای خزر (رودخانه‌های حویق و گرگان رود) با استفاده از نشانگرهای ریز ماهواره. مجله تاکسونومی و بیوسیستماتیک، ۲(۵): صفحات ۳۸-۲۹.

Aguiar, J., Schneider, H., Gomes, F., Carneiro, J., Santos, S., Rodrigues, L. R. and Sampaio, I., 2013. Genetic variation in native and farmed populations of Tambaqui (*Colossoma macropomum*) in the Brazilian Amazon: regional discrepancies in farming systems. Annals of the Brazilian Academy of Sciences, pp. 1-9.

Allendorf, F. W., 1986. Genetic drift and the loss of alleles versus heterozygosity. Zoo Biology, 5: 181-190.

An, H. S., Hong, S. W., Lee, J. U., Park, J. Y. and Kim, K. K., 2010. Genetic diversity of wild and farmed black sea bream populations in Jeju. Animal Cells and Systems, 14(1): 37-44.

An, H. S., Kim, E. M., Kang, H. W., Han, H. S., Lee, J. W., Park, J. Y., Myeong, J. I. and An, C. M., 2013. **Comparative Genetic Diversity of Wild and Hatchery-Produced Populations of Tongue Sole (*Cynoglossus Semilaevis*) Using Multiplex PCR Assays With Polymorphic Microsatellite Markers. Genetics and Molecular Research, 12 (4): 6331-6343.**

An, H. S., Yang, S. G., Moon, T. S., Park, J. Y., Hong, C. G., Hwang, H. K., Myeong, Y. J. and An, C. M., 2014. Comparison of genetic diversity between wild-caught broodstock and hatchery-produced offspring populations of the vulnerable Korean kelp grouper (*Epinephelus bruneus*) by microsatellites. Genetics and Molecular Research, 13 (4): 9675-9686.

Baerwald, M. R. and May, B., 2004. Characterization of microsatellite loci for five members of the minnow family Cyprinidae found in the Sacramento–San Joaquin Delta and its tributaries. Molecular Ecology Notes, 4: 385–390.

Bang, I., Kim, W. J. and Lee, I. R., 2009. Characterization of polymorphic microsatellite loci in the endangered Miho spine loach (*Iksookimia choii*) and cross-species amplification within the Cobitidae family. Molecular Ecology Resources, 9: 281-284.

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

Barroca, T. M., Arantes, F. P., Magalhaes, B. F., Siqueira, F. F., Horta, C. C. R., Pena, I. F., Dergam, J. A. and Kalapothakis, E., 2012. Genetic diversity and population structure of *Prochilodus costatus* and *Prochilodus argenteus* preceding dam construction in the Paraopeba River, Sao Francisco River Basin, Minas Gerais, Brazil. Open Journal of Genetics, 2: 121-130.

Beaumont, A. R., 1994. Genetics and Evolution of Aquatic Organisms. Chapman and Hall, London, 539 p.

Beaumont, A. and Hoare, K., 2003. Biotechnology and Genetics in Fisheries and Aquaculture. Wiley-Blackwell, 176 p.

Benbouza, H., Jacquemin, J. M., Baudoin, J. P. and Mergeai, G., 2006. Optimization of the reliable, fast, cheap and sensitive silver staining method to detect SSR markers in polyacrylamide gels. Biotechnology Agronomy Society and Environment, 10: 77-81.

Bhassu, S., Yusoff, K., Panandam, J. M., Embong, W. K., Oyyan, S. and Tan, S. G., 2004. The genetic structure of Oreochromis spp. (Tilapia) populations in Malaysia as revealed by microsatellite DNA analysis. Biochemical Genetics, 42: 217-229.

Borrell, Y. J., Bernardo, D., Blanco, G., Vazquez, E. and Sanchez, J. A., 2008. Spatial and temporal variation of genetic diversity and estimation of effective population sizes in Atlantic salmon (*Salmo salar,* L.) populations from Asturias (Northern Spain) using microsatellites. Conservation Genetics, 9: 807-819.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jmb.iauahvaz.ac.ir at 17:14 +0330 on Tuesday November 7th 2017

Carvalho-Costa, L. F., Hatanaka, T. and Galetti, P. M., 2008. Evidence of lack of population substructuring in the Brazilian freshwater fish *Prochilodus costatus*. Genetics Molecular Biology, 31(1): 377-380.

Chakraborty, R. and Leimar, O., 1987. Genetic variation within a subdivided population. Ryman, N. and Utter, F. M. (Eds), Population genetics and fishery management. Washington: University of Washington, pp. 89-120.

Chauhan, T. and Rajiv, K., 2010. Molecular markers and their applications in fisheries and Aquaculture. Advances in Bioscience and Biotechnology, 1: 281-291.

Crow, J. F. and Dove, W. F., 2000. **Perspectives on genetics: anecdotal, historical, and critical commentaries, 1987-1998.** Medical History, **pp. 46.**

Deepak, P. K., Jahageerdar, S., Sharada, M. K. and Indira, N. K., 2006. Cumulative inbreeding rate in hatchery reared Indian major carps of Karnataka and Maharashtra states. Lournal of Indian Fisheries Association, 33: 141-160.

Dewoody, J. A. and Avise, J. C., 2000. Microsatellite variation in Marine, freshwater and anadromous fishes compare with other. Animal Journal of Fish Biology, 56: 461-473.

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

Geist, J., Kolahsa, M., Gum, B. and Kuehn, R., 2009. The importance of genetic cluster recognition for the conservation of migratory fish species: the example of the endangered European huchen *Hucho hucho* (L.). Journal of Fish Biology, 75: 1063-1078.

Goudet, J., 2001. FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3). Available from http://www.unil.ch/izea/ softwares/fstat.html.

Grant, W. S., 2012. **Understanding the adaptive consequences of hatchery-wild interactions in Alaska salmon. Environmental Biology of Fishes, 94(1): 325-342.**

Hiddink, J. G., Mackenzie, B. R., Rijnsdorp, A. D. and Ojaveer, H., 2008. **Importance of fish biodiversity for the management of fisheries and ecosystems. Fisheries Research, 90(1-3):6-8.**

Hoarau, G., Rijnsdrop, A. D., Van der Veer, H. W., Stam, W. T. and Olsen, J. L., 2002. Population structure of plaice (*Pleuronectes platessa* L.) in northern Europe: microsatellites revealed largescale spatial and temporal homogeity. Molecular Ecology, 11: 1165-1176.

Hutchings, J. A. and Fraser, D. J., 2008. The nature of fisheries- and farming induced evolution. Molecular Ecology, 17: 294–313.

Kiabi, B. H., Abdoli, A. and Naderi, M., 1999. Status of the fish fauna in the South Caspian basin of Iran. Journal of Zoology in the Middle East, 18: 57-65.

King, T. L., Kalinowski, S. T., Schill, W. B., Spidle, A. P. and Lubinski, B. A., 2001. Population structure of Atlantic salmon (Salmo salar L.); a range-wide perspective from microsatellite DNA variation. Molecular Ecology, 10: 807-821.

Kitada, S., Shishidou, H., Sugaya, T., Kitakado, T., Hamasaki, K. and Kishino, H., 2009. Genetic effects of long-term stock enhancement program. Aquaculture, 290: 69-79.

Lacy, R. C., 1987. Loss of genetic diversity from managed populations: interacting effects of drift, mutation, immigration, selection and population subdivision. Conservation Biology, 1: 143–158.

Le Cam, L. M., Neyman, J. and Scott, E. L., 1972. Sixth Berkeley Symposium on Mathematical Statistics and Probability. University of California Press, 760 p.

Lemer, S. and Planes, S., 2012. Translocation of wild populations: Conservation implications for the genetic diversity of the black-lipped pearl oyster *Pinctada margaritifera*. Molecular Ecology, 21: 2949–2962.

Li, J. L., Wang, G. L., Bai, Z. Y. and Yue, G. H., 2007. Ten polymorphic microsatellites from freshwater pearl mussel, *Hyriopsis cumingii*. Molecular Ecology Notes, 7(6): 1357-1359.

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

Litt, M. and Luty, J. A. 1989. A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. American journal of Human Genetic, 44: 397-401.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jmb.iauahvaz.ac.ir at 17:14 +0330 on Tuesday November 7th 2017

Lucentini, L., Palomba, A., Lancioni, H., Gigliarelli, L., Natali, M. and Panara, F., 2006. Microsatellite polymorphism in Italian populations of northern pike (*Esox lucius*). Fisheries Research, 80: 251-262.

Matsumoto, C. K. and Hilsdorf, A. S., 2009. Microsatellite variation and population genetic structure of a Neotropical endangered Bryconinae species *Brycon insignis* Steindachner, 1877: Implications for its conservation sustainable management. Neotropical Ichthyology, 7: 395-402.

Oosterhout, C.V., Hutchinson, W.F., Wills, D.P.M. and Shipley, P., 2004. Micro-checker: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. Molecular Ecology Notes, 4: 535-538.

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.

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.

Piorski, N. M., Sanches, A., Carvalho-Costa, L. F., Hatanaka, T., Carrillo-Avila, M., Freitas, P. D. and Galetti, P. M., 2008. Contribution of conservation genetics in assessing neotropical freshwater fish biodiversity. Brazilian Journal of Biology, 68:1039-1050.

Rana, R. S., Bhat, K. V., Lakhanpal, S. and Lakra, W. S., 2004. Comparative genetic diversity in natural and hatchery populations of Indian major Carps (*C. catla* and *L. rohita*). Asian-Australas Journal of Animal Science, 17(9): 1197-1203.

Raymond, M. and Rousset, F., 1995. GENEPOP (VERSION 1.3): Population genetic software for exact tests and ecumenicisim. Journal of Heredity, 86: 248-249.

Roodt-Wilding, R., 2007. Abalone ranching: A review on genetic considerations. Aquaculture Research, 38: 1229–1241.

Rousset, F., 1996. Equilibrium values of measures of population subdivision for stepwise mutation patterns. Genetics, 142: 1357-1362.

Sanches, A., Galetti, P., Galzerani, F., Derazo, J., Cutilak-Bianchi, B. and Hatanaka, T., 2012. Genetic population structure of two migratory freshwater fish species (*Brycon orthotaenia* and *Prochilodus argenteus*) from the São Francisco River in Brazil and its significance for conservation. Latin American Journal of Aquatic Research, 40: 177-186.

Selkoe, K. A. and Toonen, R. J., 2006. Microsatellites for ecologists: a practical guide to using and evaluating microsatellite markers. Ecology Letters, 9: 615 – 629.

Slatkin, M., 1995. A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. Genetics, 139: 457-462.

Tessier, N., Bernatchez, L., Wright, J. M., 1997. Population structure and impact supportive breeding inferred from mitochondrial and microsatellite DNA analyses in landlocked Atlantic salmon *Salmo salar* L. Molecular Ecology, 6: 735-750.

Tessier, N. and Bernatchez, L., 1999. Stability of population structure and genetic diversity across generations assessed by microsatellites among sympatric populations of landlocked Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). Molecular Ecology, 8: 169-179.

Vahidi, S. M. F., Tarang, A. R., Naqvi, A. N., Anbaran, M. F. Boettcher, P., Joost, S., Colli, L., Garcia, J. F. and Ajmone-Marsan, P., 2014. Investigation of the genetic diversity of domestic Capra hircus breeds reared within an early goat domestication area in Iran. Genetics Selection Evolution, 46 (27): 1-12.

Waldman, B. and McKinnon, J. S., 1993. Inbreeding and outbreeding in fishes, amphibians and reptiles. In: Thornbel NW, editor. The natural history of inbreeding and outbreeding. Chicago: University of Chicago Press. pp. 250-282.

Wenne, R., Bernas, R., Pokwierz-Kotus, A., Drywa, A. and Was, A., 2016. Recent genetic changes in enhanced populations of sea trout (*Salmo trutta* m. *trutta*) in the southern Baltic rivers revealed with SNP analysis. Aquatic Living Resource, 29: 103-116.

www.SID.ir

Archive of SID

Wright, S., 1978. Evolution and the genetics of populations. Volume 4: Variability within and Among Natural Populations. University of Chicago Press, Chicago.

Yeh, F. C., Yang, R. C. and Boyle, T., 1999. POPGENE version 1.3.1. Microsoft Windowbases Freeware for population Genetic Analysis. Available: www.uallberta.ca/fyeh/. University of Alberta and the Centre for International Forestry Research.

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

Zar, J. H., 1999. Biostatistical analysis. 4nd edn. Pentice Hall, New Jersey.

Downloaded from jmb.iauahvaz.ac.ir at 17:14 +0330 on Tuesday November 7th 2017

www.SID.ir