بررسی ساختار ژنتیک جمعیت گاو ماهی سرگنده (*Neogobius gorlap*) دریای خزر در سواحل استان‌های گلستان و مازندران با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره‌ای

حمزه پورغلام*[۱]، عباسعلی زمینی[۲]، فرامرز لالوئی[۳]، حسین خارا[۴]، محمد جواد تقوی[۵]

۱*،۲و۴- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد لاهیجان، دانشکده منابع طبیعی، گروه شیلات، لاهیجان، ایران، صندوق پستی: ۱۶۱۶

۳و۵- پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، ساری، صندوق پستی:۹۶۱

hamze.p12@gmail.com

تاریخ دریافت: ۸۹/۷/۲۶ تاریخ پذیرش: ۹۰/۱/۲۹

چکیده

به منظور مطالعه ساختار ژنتیک جمعیت‌های گاو ماهی سرگنده (*Neogobius gorlap*) با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره‌ای، تعداد ۱۰۰ نمونه ماهی از سواحل استان‌های گلستان و مازندران جمع‌آوری شد. DNA ژنومی نمونه‌ها از بافت نرم باله ماهی به روش فنل- کلروفرم استخراج و سپس کمیت و کیفیت DNA استخراج شده با استفاده از بیوفتومتر و الکتروفورز ژل آگارز ۱ درصد تعیین شد. واکنش PCR با استفاده از ۶ جفت پرایمر میکروستلایت صورت گرفت. محصول PCR با استفاده از ژل پلی آکریل آمید ۸٪ الکتروفورز و با نیترات نقره رنگ‌آمیزی شد. مقادیر مربوط به فراوانی آللی، تعداد آلل‌های واقعی و موثر، هتروزایگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار، میزان شباهت و فاصله ژنتیکی، تعادل هاردی- واینبرگ، مقادیر F_{ST}، R_{ST} و جریان ژنی بر اساس آزمون AMOVA با استفاده از نرم افزار ژنتیکی Gene Alex محاسبه گردید. نتایج بدست آمده نشان داد که هر ۶ جایگاه ریزماهواره‌ای بررسی شده در گاوماهی سرگنده پلی‌مورف بودند. میانگین تعداد آلل‌های مشاهده شده و موثر به ترتیب ۱۲/۴۱ و ۸/۰۲ بوده و میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار به ترتیب ۰/۶۹۵ و ۰/۸۴۵ محاسبه شد. بر اساس نتایج بدست آمده در هر دو منطقه مازندران و گلستان و در جایگاه‌های مختلف بجز جایگاه‌های NG71، NG111 و NG215 در سواحل گلستان انحراف از تعادل هاردی- واینبرگ مشاهده شده است ($P <$ ۰/۰۰۱). همچنین مقدار F_{ST} بین نمونه‌های سواحل گلستان و مازندران ۰/۰۳۴ و مقدار Nm بین دو منطقه ۸/۷۲۶ بود. فاصله ژنتیکی و شباهت ژنتیکی بین نمونه‌های دو منطقه ۰/۳۵۴ و ۰/۷۰۲ بود. با توجه به مقدار F_{ST} حاصل از آزمون AMOVA، تنوع ژنتیکی بین نمونه‌های سواحل مازندران و گلستان معنی‌دار بوده است ($P <$ ۰/۰۱). بر این اساس می‌توان عنوان نمود که ۲ گروه ژنتیکی متفاوت از این گونه در حوضه جنوبی دریای خزر(سواحل مازندران و گلستان) وجود دارد.

کلمات کلیدی: دریای خزر، *Neogobius gorlap*، تنوع ژنتیکی، ریزماهواره.

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

گاو ماهیان خانواده بزرگی از ماهیان استخوانی می‌باشند که بیشتر در آب‌های مناطق معتدل و گرمسیری اقیانوس‌ها و اساساً نزدیک سواحل دریاها و بسیاری از مصب‌ها و آب‌های شیرین زندگی می‌کنند. مناطق مهم پراکنش آن‌ها دریای خزر، سیاه، مدیترانه، دریاچه اورال و رودخانه‌های حوضه آبریز آن‌ها می‌باشد. دریای خزر حدود ۳۵ گونه و زیر گونه از خانواده گاوماهیان را در خود جای داده است (۷). گاوماهیان علی رغم تراکم و گسترش وسیعی که در دریای خزر دارند، متاسفانه به علت صید غیر اقتصادی کمتر مورد مطالعات بیولوژیک قرار گرفته است. در هر صورت پراکنش گونه‌های مختلف گاو ماهیان در ماه‌های مختلف سال از شمال تا جنوب دریای خزر متفاوت است که در این بین دو عامل مهم نوع بستر و کمیت و کیفیت غذا در پراکنش و میزان زیتوده آن‌ها دخیل می‌باشد (۲). با توجه به مطالعات انجام شده گاو ماهی سرگنده (*Neogobius gorlap*) به عنوان گونه غالب در کرانه جنوبی در یای خزر شناخته شده است (۲). گاو ماهی سرگنده مهاجرت‌هایی را در فصول مختلف سال مخصوصاً در زمان تولید مثل انجام می‌دهد و از قسمت‌های عمیق‌تر به سمت ساحل مهاجرت نموده و در اواخر اسفند اقدام به تخم‌ریزی در سواحل جنوبی دریای خزر می‌نماید. زمان تخم‌ریزی آن‌ها پس از آمادگی و تکامل گنادها تحت اثر عوامل مختلف محیطی (غذا، درجه حرارت، استرس و...) قرار دارد و در صورت فراهم شدن کلیه عوامل درونی و محیطی مناسب رفتار تخم‌ریزی در حضور جنس نر از اواخر زمستان آغاز می‌شود. بدین ترتیب گاوماهیان بیشتر در بهار برای تخم‌ریزی و تغذیه به سواحل دریا مهاجرت می‌نمایند که زمان مهاجرت آن‌ها تحت تاثیر درجه حرارت آب می‌باشد. گاوماهیان مناطق جنوبی دریای خزر نسبت به مناطق مرکزی آن زودتر مهاجرت خود را آغاز می کنند(۳).

بهره برداری از ذخایر گونه‌های مختلف آبزیان نیاز به شناخت کافی از وضعیت گونه‌ها و نژادها و جمعیت‌های متعدد آن دارد تا بتوان مدیریت اصولی را برای بهره برداری پایدار اعمال نمود. یکی از روش‌های ارزیابی ساختار ذخایر، تشخیص گونه‌ها، جمعیت‌ها و نژادها، استفاده از صفات مرفومتریک ومریستیک بوده است، اما باتوجه به حساسیت بالای این صفات به تغییرات محیطی و اثرات منفی دستکاری هنگام نشانه‌گذاری بر سلامت و بقای ماهیان، و همچنین محدود بودن تفسیر داده‌های نشانه گذاری به زمان جمع آوری آن‌ها، استفاده از نشانگرهای مولکولی مثل ریزماهواره‌ها که متاثر از فاکتورهای محیطی نمی‌باشند از اهمیت خاصی برخوردار شده است (۴ و ۲۱).

رضوانی و همکاران (۱) ساختار ژنتیکی گاو ماهی خزری در سواحل شرقی و مرکزی حوضه جنوبی دریای خزر را با استفاده از جایگاه‌های ریز ماهواره‌ای بررسی نمودند. Vyskocilova و همکاران (۲۵) تنوع ژنتیکی *Neogobios kessleri* را در مناطق بالا و میانی رودخانه دانوب با استفاده از ۱۲ نشانگر ریزماهواره مطالعه نمودند. همچنین Dougherty و همکاران (۱۳) با استفاده از آنالیز mtDNA جمعیت *N. melanostomus* را در دریاچه Lauretian مورد بررسی قرار دادند.

با توجه به اینکه تاکنون مطالعاتی در مورد تنوع ژنتیکی و بررسی مولکولی جمعیت‌های احتمالی گاوماهی سرگنده دریای خزر صورت نگرفته است،

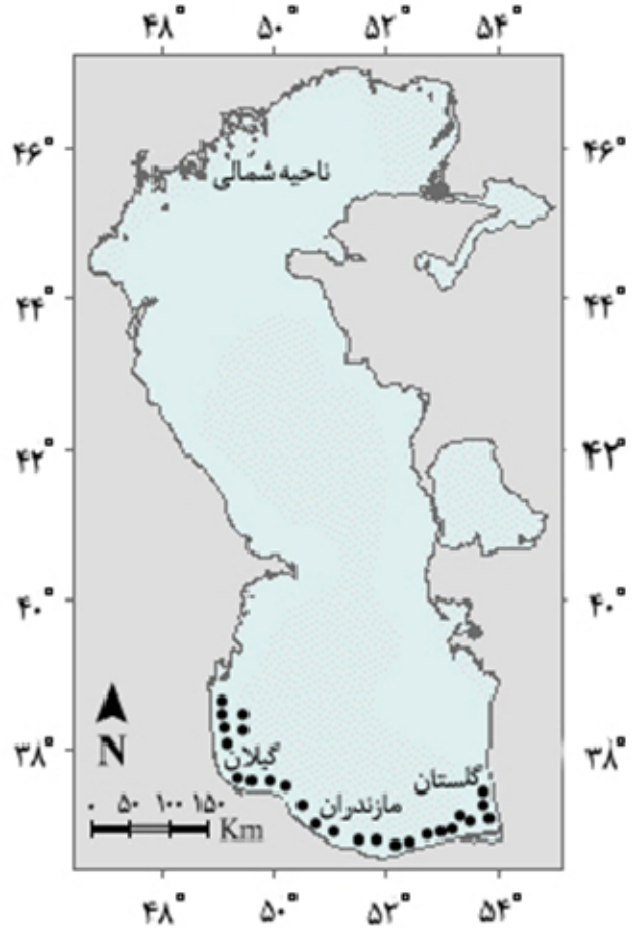
Archive of SID

www.SID.ir

این بررسی با هدف شناسائی جمعیت‌های این گونه با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره در سواحل استان گلستان و مازندران انجام شده است.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری از ۱۰۰ نمونه گاو ماهی سرگنده از سواحل استان مازندران ۵۳ نمونه (منطقه امیرآباد تا بابلسر) و سواحل استان گلستان (منطقه بندر گز تا گمیشان) ۴۷ نمونه از دریا با استفاده از تور ترال و پره در فصل پائیز انجام شد (شکل ۱). از هر نمونه مقدار ۱ تا ۳ گرم بافت باله دمی جمع‌آوری و در اتانل ۹۵ درصد نگهداری و به آزمایشگاه ژنتیک مولکولی پژوهشکده اکولوژی دریای خزر واقع در فرح آباد ساری منتقل گردید.



شکل۱: مناطق نمونه‌برداری گاو ماهی سرگنده از سواحل استان‌های گلستان و مازندران

استخراج DNA از باله ماهی با بهینه کردن روش فنل- کلروفرم با استفاده انجام شد (۱۳). بررسی کمی و کیفی DNA استخراج شده توسط دستگاه بیوفتومتر (مدل اپندورف) و الکتروفورز ژل آگارز ۱ درصد صورت پذیرفت.

برای انجام واکنش PCR از ۶ جفت آغازگر ریزماهواره مربوط به گونه *Neogobius gorlap*

www.SID.ir

(۲۵) استفاده گردید (جدول ۱). واکنش PCR با استفاده از ۵ µl بافر PCR (۱۰X)، dNTP با غلظت ۱،۲۰۰µM واحد آنزیمTaq DNA polymerase، $MgCl_2$ با غلظت ۲/۵ mM، ۲۰ نانوگرم DNA هدف و آب مقطر به اندازه‌ای که حجم نهایی محلول واکنش به ۲۵µl برسد، انجام شد.

جدول ۱: توالی و مشخصات آغاز گرهای ریزماهواره مورد استفاده برای گاوماهی سرگنده (۲۵)

جایگاه	توالی آغازگر	محل تکرار	دمای اتصال	محدوده اللی (bp)
NG111	F: GTGTGGATCGGTGCCTAACT R: ACTCGGCTTTCTCTGCTCTG	$(GA)_8GG(GA)_3GG$ $(GA)_2GG(GA)_5$	۵۱	۱۶۸–۱۹۶
NG115	F: CACTTCCCTGTGGTGTGATG R: CCTTGTCTGTCTCCAACTGC	$(AG)_4TCTGC(GT)_5$ $N5_8(GT)_9$	۵۸	۱۸۸–۲۲۰
NG70	F: CGATTCTGTCACGGTGTTAT R: CACAACAAGCCATGTCCAAA	$(TG)_{12}$	۵۷	۱۴۰–۱۹۲
NG71	F: GAAGCCATTCTGCCTTTCTG R: GTGTCGCATGAGTTGAATGG	$(GC)_4TCTGC$ $(CT)_{24}GC(CT)_4$	۵۵	۲۷۶–۲۰۴
NG92	F: AAGCAACTCACGCCAAAGTC R: AGTGCTGCCATGTCAATCTG	$(CA)_8(CGCA)_6$ $(CG)_2(CGCA)_5$	۵۰	۲۶۴–۲۰۴
NG215	F: GCACAATGCCACACTTTAGG R: CGGTAACACACTCTGGCTCA	$(TC)_{14}(GT)_{21}$	۵۷	۱۵۶–۲۴۴

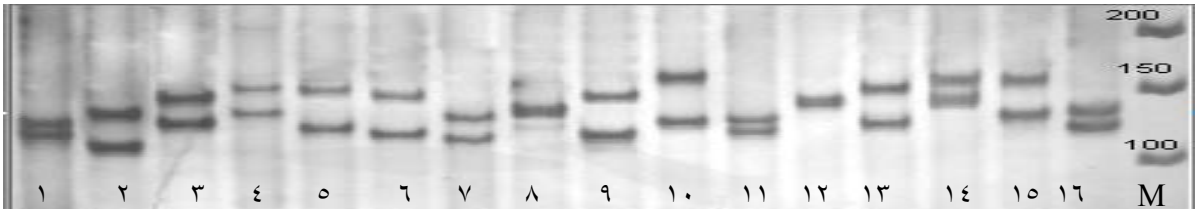
برنامه دستگاه ترمال سایکلر (مدل Auto-Q شرکت Quanta biotech) بترتیب: مرحله اول واسرشته شدن ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، مرحله دوم اتصال آغازگرها به هدف، ۵۸–۵۰ درجه سانتیگراد به مدت ۴۵ ثانیه و مرحله سوم بسط آغازگرر، ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه برای ۳۰ چرخه تنظیم گردید. الکتروفورز محصول PCR (۸–۷ µl) با استفاده از ژل پلی‌اکریل آمید ۸ درصد و رنگ‌آمیزی نیترات نقره همراه با نشانگر 50 bp DNA، انجام شد. فراوانی آللی، هتروزیگوسیتی مورد انتظار و مشاهده شده، تعداد آلل‌های واقعی و آلل‌های موثر برای هر جایگاه، ماتریس شباهت و فاصله ژنتیکی (۱۷)، تعادل هاردی- واینبرگ، مقادیر R_{ST} و F_{ST}، جریان ژنی و تنوع ژنتیکی با استفاده از نرم‌افزار GenAlEx Ver. 6 (۱۹) محاسبه گردید.

نتایج

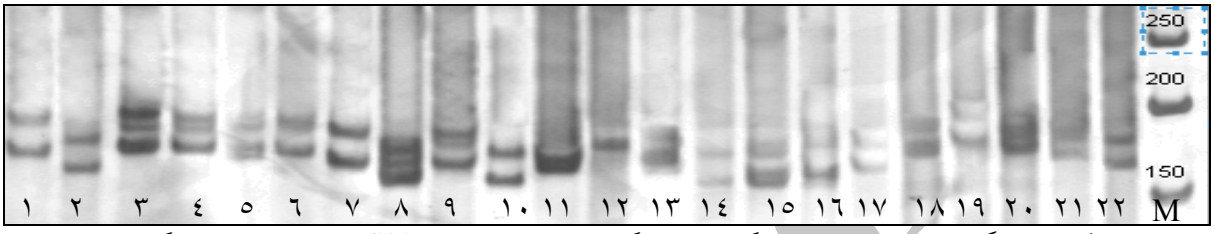
در این بررسی، غلظت DNA درتمامی نمونه‌ها جهت انجام واکنش PCR مناسب بود (۵۰ تا۱۰۰ نانوگرم) و با توجه به نتایج الکتروفورز ژل آگارز از کیفیت مناسبی برخوردار بودند. نتایج حاصل از الکتروفورز ژل پلی اکریل آمید، در هر ۶ جایگاه در نمونه‌های مورد بررسی حالت پلی مورف نشان دادند (شکل‌های ۱ و ۲).

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۱: جایگاه های ریز ماهواره ای در گاو ماهی سر گنده با استفاده از پرایمر NG71، ستون ۸-۱ استان گلستان، ستون ۱۶-۹ استان مازندران، ستون M مارکر



شکل ۲: جایگاه های ریز ماهواره ای در گاو ماهی سر گنده با استفاده از پرایمر NG215، ستون ۱۰-۱ استان گلستان، ستون ۲۲-۱۰ استان مازندران، ،ستون M مارکر

بر اساس نتایج بدست‌آمده حداکثر تعداد آلل‌ها در دو منطقه نمونه‌برداری در جایگاه NG215 با ۱۹ آلل و حداقل آن در جایگاه NG71 با ۷ آلل دیده شد.

با توجه به جدول ۲ حداکثر فراوانی آللی در منطقه مازندران ۰/۵۱۰ مربوط به جایگاه NG71 و حداقل آن ۰/۰۱ بوده است. همچنین حداکثر فراوانی آللی در جایگاه‌های NG71 و NG92 در منطقه سواحل گلستان ۰/۳۷۵ و حداقل آن ۰/۰۱۸ بود.

جدول ۲: فراوانی آلل‌ها در جایگاه‌های مورد بررسی و در مناطق مختلف نمونه‌برداری

جایگاه	حداکثر		حداقل	
	مازندران	گلستان	مازندران	گلستان
NG70	۰/۲۰۲	۰/۱۷۹	۰/۰۱۰	۰/۰۱۸
NG71	۰/۵۱۰	۰/۳۷۵	۰/۰۲۹	۰/۰۳۶
NG92	۰/۳۸۵	۰/۳۷۵	۰/۰۱۰	۰/۰۱۸
NG111	۰/۱۵۴	۰/۱۷۹	۰/۰۱۰	۰/۰۱۸
NG115	۰/۱۸۳	۰/۲۳۲	۰/۰۱۹	۰/۰۱۸
NG215	۰/۱۳۵	۰/۱۴۲	/۰۱۰	۰/۰۱۸

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۳: مقادیر هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Ho) و مورد انتظار (He)، آلل‌های واقعی (Na) و موثر (Ne) در ۶ جایگاه ریزماهواره پلی مورفیک در مناطق مختلف نمونه برداری(SE: Standard deviation)

استان	گلستان				مازندران			
جایگاه	Ne	Na	He	Ho	Ne	Na	He	Ho
NG70	۸/۵۲۲	۱۱	۰/۸۸۳	۰/۸۲۱	۸/۷۳۷	۱۴	۰/۸۸۶	۰/۷۸۸
NG71	۴/۶۸۱	۷	۰/۷۸۶	۰/۳۹۳	۳/۱۱۳	۷	۰/۶۷۹	۰/۴۰۴
NG92	۳/۲۷۳	۵	۰/۶۹۵	۰/۹۲۹	۵/۰۶۴	۱۲	۰/۸۰۳	۰/۵۵۸
NG111	۹/۳۳۳	۱۵	۰/۸۹۳	۰/۹۶۴	۱۰/۵۴۲	۱۷	۰/۹۰۵	۰/۴۲۳
NG115	۸/۵۶۸	۱۳	۰/۸۸۳	۰/۸۵۷	۹/۷۹۷	۱۴	۰/۸۹۸	۰/۶۵۴
NG215	۹/۹۲۴	۱۵	۰/۸۹۹	۰/۷۸۸	۱۴/۷۳۶	۱۹	۰/۹۳۲	۰/۷۶۹
میانگین	۷/۳۸۴	۱۱	۰/۸۴۰	۰/۷۹۲	۸/۶۶۵	۱۳/۸۳	۰/۸۵۰	۰/۵۹۹
S.E.	±۱/۱۱۳	±۱/۷۱۳	±۰/۰۳۴	±۰/۰۴۵	±۱/۶۸۸	±۰/۷۰۱	±۰/۰۳۹	±۰/۰۸۹

جدول ۳ نشان می‌دهد که بیشترین تعداد آلل‌های مشاهده شده و آلل‌های موثردر منطقه مازندران بترتیب ۱۹ و ۱۴/۷۳۶ و کمترین آن ۷ و ۳/۱۱۳ بود. در سواحل گلستان نیز بیشترین تعداد آلل‌های مشاهده شده و آلل‌های موثر بترتیب ۱۵ و ۹/۹۲۴ و کمترین آن ۵ و ۳/۲۷۳ بود. همانگونه که جدول نشان می‌دهد در تمامی مناطق نمونه‌برداری و برای تمام جایگاه‌ها مقدار آلل‌های موثر از آلل‌های واقعی کمتر می‌باشد.

دامنه هتروزیگوسیتی مشاهده شده بین مناطق نمونه‌برداری در جایگاه‌های شش‌گانه بین ۰/۳۹۳ تا ۰/۹۶۴ بود. بیشترین مقدار هتروزیگوسیتی مشاهده شده در جایگاه NG111 و کمترین مقدار در جایگاه NG71 در نمونه‌های منطقه گلستان می‌باشد.

دامنه هتروزیگوسیتی مورد انتظار در مناطق نمونه‌برداری بین ۰/۶۷۹ تا ۰/۹۳۲ بود. بیشترین مقدار هتروزیگوسیتی مورد انتظار مربوط به جایگاه NG215 و کمترین مقدار آن مربوط به جایگاه NG71 در نمونه‌های منطقه مازندران مشاهده شده است.

محاسبه مقادیر هتروزیگوسیتی نشان می‌دهد که در مناطق نمونه‌برداری و در تمام جایگاه‌ها به استثنای جایگاه‌های NG70 و NG111 در سواحل استان گلستان، هتروزیگوسیتی مورد انتظار بیشتر از هتروزیگوسیتی مشاهده شده می‌باشد.

بر اساس نتایج آزمون کای (جدول ۴) در هر دو منطقه مازندران و گلستان و در جایگاه‌های مختلف ریزماهواره‌ای بجز جایگاه‌های NG71،NG111 و NG215 در سواحل گلستان انحراف از تعادل هاردی – واینبرگ مشاهده شده است.

Archive of SID

www.SID.ir

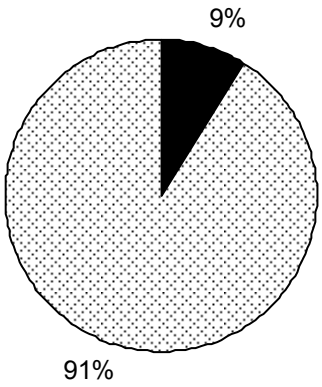
جدول ۴: نتایج آزمون کای(χ^2) برای تعادل هاردی–واینبرگ در جایگاه‌های ریزماهواره‌ای پلی مورفیک در مناطق نمونه برداری شده از گاو ماهی سرگنده

منطقه	عوامل تعادل χ^2	NG70	NG71	NG92	NG111	NG115	NG215
مازندران	درجه آزادی	۹۱	۲۱	۶۶	۱۳۶	۹۱	۱۷۱
	آزمون مربع کای	۲۸۴/۸۲۸	۷۵/۱۲۶	۲۰۱/۵۰۵	۳۸۹/۶۹۳	۱۸۴/۸۴۴	۳۱۸/۶۴۱
	احتمال	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰
	معنی دار بودن	***	***	***	***	***	۱۳۸/۲۹
گلستان	درجه آزادی	۵۵	۲۱	۱۰	۱۰۵	۷۸	۱۰۵
	آزمون مربع کای	۱۴۳/۸۸۰	۲۸/۹۸۰	۶۶/۲۰۴	۱۱۴/۹۹۷	۱۳۲/۴۱۷	۱۲۴/۹۶۹
	احتمال	۰/۰۰۰	۰/۱۱۴	۰/۰۰۰	۰/۲۳۷	۰/۰۰۰	۰/۰۸۹
	معنی دار بودن	***	ns	***	ns	***	ns

***: اختلاف با احتمال خطای کمتر از ۰/۱ درصد(P <۰/۰۰۱). ns: معنی دار نیست

میزان F_{ST}، R_{ST} و جریان ژنی (Nm) بین دو منطقه مازندران و گلستان به ترتیب ۰/۰۳۴، ۰/۱۲۹ و ۸/۷۲۶ بوده است. با توجه به مقدار F_{ST} حاصل از آزمون AMOVA، تنوع ژنتیکی بین نمونه های سواحل مازندران و گلستان معنی دار بوده است (P <۰/۰۱). بر این اساس می‌توان عنوان نمود که ۲ گروه ژنتیکی متفاوت از این گونه در حوضه جنوبی دریای خزر (سواحل مازندران و گلستان) وجود دارد.

ماتریس فواصل و شباهت ژنتیکی با استفاده از معیار فاصله ژنتیکی (۱۵) انجام شد. محاسبات انجام شده نشان داد که فاصله ژنتیکی و شباهت ژنتیکی بین نمونه‌های منطقه مازندران و گلستان بترتیب ۰/۳۵۴ و ۰/۷۰۲ می‌باشد. شکل ۳ تنوع ژنتیکی در درون و بین مناطق نمونه‌برداری از گاوماهی سرگنده را نشان می‌دهد.



شکل ۳: تنوع ژنتیکی بین نواحی و افراد هر منطقه در ۶ جایگاه پلی مورفیک ریزماهواره ای در گاوماهی سرگنده

Archive of SID
www.SID.ir

بحث

حالت پلی مورفیسم در ژنوم هسته موجودات به عنوان شاخص ژنتیکی ارزشمند برای ارزیابی تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیتی به منظور محافظت از ذخایر ژنی گونه‌ها محسوب می‌شود (۵). مدیریت ذخایر در صورتی‌که بر پایه اطلاعات دقیق مانند مطالعات مولکولی باشد، می‌تواند علاوه بر حفظ تنوع زیستی، میزان برداشت و بهره‌برداری را به حد پایدار و بهینه برساند (۲۴). تنوع ژنتیکی آبزیان یکی از شاخص‌های مهم تعیین شرایط اکولوژیک منابع آبی می‌باشد (۲۶). کاهش تنوع ژنتیکی برای جمعیت‌ها زیان بار بوده و بر میزان برداشت آن‌ها تاثیرگذار می‌باشد.

در این بررسی تنوع ژنتیکی گاو ماهی سرگنده در ۶ جایگاه ریزماهواره‌ای در سواحل استان‌های مازندران و گلستان مورد مطالعه قرار گرفت. بر اساس نتایج بدست آمده، میانگین تعداد آلل‌های مشاهده شده در نمونه‌های سواحل مازندران و گلستان بترتیب ۱۳/۸۳ و ۱۱ بود. همچنین میانگین تعداد آلل‌های موثر در نمونه‌های مازندران گلستان به ترتیب ۸/۶۶ و ۷/۳۸۴ بوده است.

قابل ذکر است که آلل‌های مشاهده شده در هر جایگاه ژنی به شدت تحت تاثیر اندازه نمونه بوده و به همین جهت این امکان وجود دارد که در آزمایشات گوناگون با تعداد نمونه‌های متفاوت تعداد آلل‌های واقعی مختلفی برای یک جایگاه معین به دست آید (۱۹).

نتایج بدست آمده نشان داد که میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده در دو منطقه نمونه‌برداری ۰/۶۹۵ و هتروزیگوسیتی قابل انتظار ۰/۸۴۵ بود که بیانگر سطح بالای تنوع ژنتیکی در گاوماهی سرگنده دریای خزر می باشد.

رضوانی و همکاران (۱) ساختار ژنتیکی گاوماهی خزری را در مرکز و شرق سواحل جنوبی دریای خزر با استفاده از ۱۲ جایگاه ریزماهواره‌ای مورد بررسی قرار دادندکه ۵ جایگاه پلی مورف بود. در این بررسی تعداد آلل‌های مشاهده شده ۵ (جایگاه NG71) تا ۲۲ (جایگاه NG115) بوده و میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار بترتیب ۰/۷۹۸ و ۰/۸۴۳ بود. همچنین با توجه به مقادیر F_{ST} و R_{ST} بدست آمده، اختلاف بین دو منطقه مورد بررسی معنی‌دار بوده است ($P <$ ۰/۰۵). در مطالعه حاضر میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده در نمونه‌های سواحل گلستان ۰/۷۹۲ و در سواحل مازندران ۰/۵۹۹ بود.

Vyskocilova و همکاران (۲۵) تنوع ژنتیکی گاوماهی *Neogobios kessleri* را در مناطق بالا و میانی رودخانه دانوب با استفاده از ۱۲ نشانگر ریزماهواره مطالعه نمودند. تعداد آلل‌ها در ۳۲ نمونه ماهی ۲ تا ۴ و هتروزیگوسیتی بین ۰/۱۳ تا ۰/۷۵ بود. همچنین در مطالعات دیگر مقدار هتروزیگوسیتی مشاهده شده و قابل انتظار در ماهی *N. melanostomus* به ترتیب ۰/۱۳ تا ۰/۵۲ و ۰/۱۵ تا ۰/۵۰ بود (۱۰). فراوانی هتروزیگوت‌ها از این جهت اهمیت داردکه هر هتروزیگوت ناقل آلل‌های متفاوتی است که این نشان دهنده وجود تنوع می‌باشد. به همین دلیل معمول‌ترین معیار تنوع ژنی در یک جمعیت میزان هتروزیگوسیتی می‌باشد (۱۰). هتروزیگوسیتی بیانگر طیف وسیعی از ژنوتیپ به عنوان پاسخ به سازش‌پذیری در شرایط متغیر محیطی است و بسیاری از خصوصیات

Archive of SID

www.SID.ir

مهم اقتصادی مثل رشد، باروری و مقاومت در برابر بیماری را تحت تاثیر قرار می‌دهد (۹).

در این بررسی هردو منطقه نمونه‌برداری شده و در تمام جایگاه‌ها به غیر از جایگاه NG92 و NG111 در سواحل گلستان، هتروزیگوسیتی مشاهده شده نسبت به هتروزیگوسیتی قابل انتظار کمتر بود. کاهش هتروزیگوسیتی مشاهده شده نسبت به هتروزیگوسیتی قابل انتظار نشان دهنده کاهش در تغییرپذیری ژنتیکی نمونه‌ها است. علت این کاهش، احتمالاً تنگناهای ژنتیکی می‌باشند که احتمالاً بر اثر شرایط زیست محیطی، تخریب زیستگاه‌های طبیعی، آمیزش‌های خویشاوندی بوجود می‌آید و در نتیجه با گذشت زمان موجب کاهش آلل و کاهش هتروزیگوسیتی در ذخائر می‌شود (۱۸). با توجه به میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده در نمونه‌های دو استان، به نظر می‌رسد جمعیت گاو ماهی سرگنده در استان گلستان وضعیت بهتری نسبت به جمعیت استان دیگر داشته باشد زیرا دارای تنوع ژنتیکی بالاتری بوده که این امر می‌تواند سبب افزایش سازگاری این گونه با تغییرات زیست محیطی گردد.

نتایج مطالعه حاضر نیز انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ در دو منطقه گلستان و مازندران را در تمامی جایگاه‌های مورد بررسی بجز جایگاه NG71، NG111 و NG215 در منطقه گلستان، نشان می‌دهد ($P < ۰/۰۰۱$). همچنین مشاهده می‌گردد که جمعیت گاو ماهی سرگنده در سواحل مازندران خارج از تعادل هاردی – واینبرگ بوده و انحراف از تعادل نسبت به نمونه‌های گلستان بیشتر می‌باشد. در بررسی که توسط رضوانی و همکاران (۱) انجام گرفت انحراف معنی‌دار از تعادل هاردی واینبرگ (W.H) در تمام جایگاه‌ها و در تمام نمونه‌ها (گاو ماهی خزری) مشاهده شده است ($P<۰/۰۰۱$). یکی از دلایل وجود انحراف از تعادل هادی – واینبرگ احتمالاً وجود الل‌های صفر و استفاده از پرایمرهای غیر اختصاصی می‌توان عنوان نمود. در واقع وجود الل‌های صفر در ماهیان پدیده‌ای معمولی می‌باشد (۱۸).

Dahle و همکاران (۱۲) ضمن بررسی ترکیب ذخایر *Gadus morhua* انحراف در تعادل هاردی-واینبرگ را به علت افزایش هموزیگوسیتی، آلل‌های صفر، رانش ژنتیکی، انتخاب، مخلوط شدن و غیر کافی بودن نمونه‌ها می‌داند. همچنین Kitanishii و همکاران (۱۵) انحراف از تعادل مشاهده شده در مطالعه ساختار جمعیتی *Oncorhynchus masou* را به خطای نمونه‌برداری نسبت دادند. با توجه به مطالعات انجام شده، عدم صدق فرضیات مربوط به مدل هاردی-واینبرگ ممکن است ناشی از مکانیزم‌های بوم شناختی باشد.

فاکتور F_{ST} بیان کننده توصیف تمایز جمعیت در سطوح مختلف ساختار ژنتیکی می‌باشد و بیانگر آن است که هرچه میزان جریان ژنی بین مناطق بیشتر باشد اختلاف ژنتیکی کمتر است (۸). در این بررسی مقدار F_{ST} بین دو منطقه گلستان و مازندران ۰/۰۳۴ بود که بر اساس معیارهای در نظر گرفته شده، میزان تمایز بین جمعیت‌های بررسی شده در محدوده تمایز ژنتیکی پایین قرار دارد (۶ و ۲۳).

نظر به اینکه پدید آمدن گونه‌های جدید منوط به افزایش اختلافات ژنتیکی میان جمعیت‌های جدا یا نسبتاً جدا از یکدیگر می‌باشد، بنابراین به طور قطع می‌توان میان پارامترهایی نظیر جریان ژنی، فواصل جغرافیایی و گونه زایی ارتباط برقرار نمود (۸). میزان جریان ژنی در

Archive of SID
www.SID.ir

بین دو منطقه نمونه‌برداری بیانگر عدم وقوع اختلافات زیاد بین جمعیت‌ها می‌باشد.

R_{ST} و F_{ST} به طور معمول در توصیف تمایز جمعیت در سطوح مختلف ساختار ژنتیکی استفاده می‌شوند و هر یک مستقیماً و یا از میان ارتباط با تعداد مهاجرت موثر برآورد کننده تمایز هستند. هدف اصلی در محافظت از ماهیان، نگهداری دامنه وسیعی از تنوع ژنتیکی است. سازگاری و بقای گونه‌ها هنگامی حفظ می‌شود که تغییر پذیری ژنتیکی موجود از دست نرود (۲۲).

در این بررسی با توجه به فراوانی آللی، هتروزایگوسیتی، تعادل هاردی- واینبرگ، F_{ST} و R_{ST} حاصل از آزمون AMOVA مربوط به گاو ماهی سرگنده، می‌توان عنوان نمود که تنوع ژنتیکی متفاوتی از این گونه در دریای خزر (سواحل مازندران و گلستان) وجود دارد ($P <$ ۰/۰۱). این تفاوت بین ۲ گروه می تواند بخاطر اختلاف در نوع بستر، شیب بستر، وسعت عمق کم در نواحی مختلف، شوری و برخی پارامترهایی مانند pH باشد. همچنین نوع تغذیه (بدلیل تفاوت در تنوع ماکروبنتوزها در غرب و شرق حوضه جنوبی) و نیز تقابل بین گونه‌ای در این تنوع موثر است. علاوه بر این گاوماهیان غذای اصلی ماهیان خاویاری بوده و موضوع صید و شکار و سایر کنش‌های بین گونه تفاوت در سازگاری زیستگاه‌ها را می‌تواند بوجود آورد. در شرق و غرب حوضه جنوبی در یای خزر، خلیج گرگان و تالاب انزلی به عنوان دو زایشگاه بزرگ با مواد غنی بالا وجود دارد که این ویژگی در مناطق مرکزی کمتر دیده می‌شود. این شرایط زیست محیطی می‌تواند باعث تغییراتی در ساختار گاو ماهیان گردد.

سپاسگزاری

بدینوسیله از آقایان دکتر نادری، طالشیان، باقرزاده و سرکار خانم نیرانی و سایر پرسنال پژوهشکده اکولوژی دریای خزر به جهت همکاری در اجراء این تحقیق سمیمانه تشکر و قدردانی بعمل می‌آید.

منابع

۱. رضوانی، س.؛ رزمجو، ا.؛ قوام مصطفوی، پ.گ.؛ لالوئی، ف.؛ تقوی، م.ج. و نیرانی، م.، ۱۳۸۹. بررسی ساختار ژنتیکی جمعیت گاو ماهی خزری در غرب و مرکز سواحل جنوبی دریای خزر. موسسه تحقیقات شیلات ایران. ۲۶ صفحه.

۲. مرادی، م.ع.، ۱۳۷۵. پراکنش و خصوصیات مهم زیستی گاوماهی سرگنده (*Neogobius kessleri Gorlap*) در سواحل جنوب شرقی دریای خزر. پایان نامه کارشناسی ارشد بیولوژی دریا، گروه آموزشی علوم دریایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال. ۱۴۵ صفحه.

۳. نادری، م. و عبدلی، ا.، ۱۳۷۸. تنوع زیستی ماهیان حوضه جنوبی دریای خزر.۲۲۳ صفحه.

4. Adams, B.K. and Hutchings, A. 2003. Micro geographic population structure of brook char: a comparison of microsatellite and mark-recapture data. Journal of Fish Biology. 62. 517-533.
5. Alarcon, J.A.; Magoulas, A. and Alvarez, M.C., 2004. Genetic comparision of wild and cultative European population of the gill head sea bream. Aquaculture.Vol. 230, pp.65-80.
6. Avise, J., 2004. Molecular Markers, Natural History and Evolution.Chapman and Hall. New York, 511 pp.
7. Azizova, N.A., 1965. Obzervations on the food of gobies in the Caspian sea. Zh Biol. NO. 6120

Archive of SID

www.SID.ir

8. Beacham, T.D. and Macconachi, C., 2004. Microsatellite identification of individual sockeye salmon in Barkley Sound, British Colombia. Journal of Fish biology. Vol. 61, pp.1021-1032.
9. Beardmore, J.A.; Mair, G.C. and Lewis, R.I., 1997. Biodiversity in aquatic systems in relation to aquaculture. Aquaculture, Vol.28, pp.829-839.
10. Brighitte, J.; Hansen, M. and 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 Linnaean Society. Vol.84,pp. 1-11.
11. Dillon, A.K. and Stepien, C.A., 2001.Genetic and Biogeographic Relationships of the Invasive Round (*Neogobius melanostomus*) and Tubenose (*Proterorhinus marmoratus*)Gobies in the Great Lakes Versus Eurasian Populations. Journal of Great Lakes research. Vol. 27(3), pp.267-280
12. Dahle, G.; Jorstad, K.E.; Rusaas, H.E. and Ottera, H., 2006. Genetic characteristics of brood stock collected from four Norwegian coastal cod (*Gadus morpha*) populations. ICES Journal of Marine Science. 63, 209-215.
13. Dougherty, J. D.; Moore, W.S. and Ram, J. L., 1996. Mitochondrial DNA analysis of round goby (*Neogobius melanostomus*) and tubenose goby (*Proterorhinus marmoratus*) in the Great Lakes basin Can. J. Fish. Aquat. Sci. 53: 474–480.
14. Fevolden, S.E. and Pogson, G.H., 1997. Genetic divergence at the synaptophysin locus among Norwegian Coastal and North – east Arctic population of Atlantic Cod. Journal of fish Biology. Vol.51, pp.895-908.
15. Kitanishi, S.; Yamamoto, T. and Higashi, S., 2008. Microsatellite variation reveals fine-scale genetic structure of masu salmon, *Oncorhynchus masou*, within the Atsuta River. Ecology of Freshwater Fish. pp.1-7.
16. Nei, M., 1972. Genetic distance between populations. American Naturalist. Vol.106, pp.283-292.
17. Nei, M., 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance frome a small numer of individuals. Genetics. Vol. 89, pp.583-590.
18. Norris, A. T.; Bradley. D. G. and Cunning ham, E. D.; 1999**.** Microsatellite genetic variation between and within farmed and wild Atlantic salmon populations. Department of Genetics, Trinity College Dublin, Ireland. 247-264.
19. Peakall, M. and Smouse, A., 2005. Gene Alex 6: Genetic analysis in Exel. Population genetic software for teacheng and research. The Australian national university, Canbera, Australia. http://www.anu.edu.au/BoZo/GenALEx/.
20. Rodzen, J.A. and May, B., 2002. Inheritance of microsatellite loci in the polyploidy white sturgeon(Acipencer transmontanus) using a dominant marker approach for duplicated microsatellite loci, Aquaculture.232 , 165-182.
21. Ryman, N., 1991. Conservation genetics considerations in fishery management. Journal of Fish Biology. 39 (Supplement A) 211-224.
22. Skaala, Q.; Hoyheim, B.; Glovera, K. and Dahlea, G., 2004. Microsatellite analysis in domesticated and Wild Atlantic salmon (*Salmo salar* L.): allelic diversity and identification of individuals. Aquaculture. Vol.240, pp.131-143.
23. Smith, P. and Mcveagh, M., 2005. Allozyme and microsatellite DNA markers of tothfish population structure in the Southern Ocean. Journal of Fish Biology. Vol. pp.57. 72-83.
24. Thai, B.T.; Pham, T.A. and Austin, G.M., 2006. Genetic diversity of common carp in vietnam using direct sequencing and SSCP analysis of the mitochondrial DNA control region. Aquaculture 258: 228-240.
25. Vyskoilov, M.; Ondrackova, M. and sinkova, A., 2007. Isolation and characterization of microsatellites in *Neogobius kessleri*(Perciformes, Gobiidae) and cross-species amplification within the

Archive of SID
www.SID.ir

family Gobiidae. Molecular Ecology Notes. Vol.7, pp.701-704.
26. Zhou, J.F.; Wu, Q.J.; Ye, Y.Z. and Tong, J.G., 2003. Genetic divergence between *Cyprinus carpio carpio* and *Cyprinus carpio* haematopterus as assessed by mitochondrial DNA analysis, with emphasis on origin of European domestic carp. Genetica, Vol. 119, pp.93-97.

Archive of SID

www.SID.ir