

## ارزیابی مقایسه‌ای تنوع ژنتیکی جمعیت قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) پرورشی استان لرستان و جمعیت وارداتی از فرانسه

♦ ابوالفتح علیپور؛ کارشناس ارشد رشته تکثیر و پرورش آبزیان دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان  
♦ سالار درافشان؛ استادیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان  
♦ سید احمد قاسمی؛ عضو هیئت علمی مرکز پژوهش‌های خلیج فارس، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر

### چکیده

با توجه به اهمیت مطالعه تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیت در مدیریت و انتخاب مولدین شایسته برای تکثیر در کارگاه‌ها، تنوع ژنتیکی جمعیت قزل‌آلای رنگین‌کمان پرورشی استان لرستان و جمعیت وارداتی از فرانسه با استفاده از ۴ جفت آغازگر ریزماهواره OMY۷۷، MM۱۳۲۹، OMM۱۳۳۲ و روی ۳۰ قطعه ماهی نمونه‌برداری شده از هر جمعیت، از مرکز تکثیر و پرورش قزل‌آلای پاچنار در استان لرستان، ارزیابی شد. پس از بهینه‌سازی واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز، میانگین تعداد آلل مشاهده‌شده در جمعیت پرورشی لرستان و فرانسوی به ترتیب معادل ۱۰/۷۵ و ۱۰ محاسبه شد. میانگین تعداد آلل مؤثر در این ۲ جمعیت به ترتیب ۷/۴۳ و ۷/۱۹ بود. دامنه بانندی در جایگاه‌های OMY۷۷، MM۱۳۲۹، MY۳۲۵ و OMM۱۳۳۲ به ترتیب ۱۰۲-۱۷۸، ۱۰۰-۱۵۰، ۱۲۲-۱۹۸ و ۱۷۲-۲۰۴ جفت باز بود. میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده در جمعیت لرستان ۰/۵۹۱ و فرانسوی ۰/۵۶۶ بود. میانگین هتروزیگوسیتی مورد انتظار در این ۲ جمعیت به ترتیب ۰/۸۶۱ و ۰/۸۵۴ بود. نتایج مولکولی انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ را در ۷ تست از ۸ تست مورد بررسی (جایگاه × جمعیت) نشان داد. همچنین، نتایج بیانگر افزایش نسبی هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده نسبت به هتروزیگوسیتی مورد انتظار در جایگاه OMY۳۲۵ هر ۲ جمعیت بود. از کل تنوع ژنتیکی مشاهده‌شده، مقدار اندکی (۰/۶٪) مربوط به بین جمعیت‌ها و بخش اعظم آن (۰/۹۴٪) مربوط به درون جمعیت‌ها بود. همچنین، میزان شباهت و فاصله ژنتیکی بین جمعیت‌ها به ترتیب ۰/۷۹۱ و ۰/۲۳۴ محاسبه شد. میزان FST معادل ۰/۰۱۷ بود. به طور کلی، نتایج این تحقیق بیانگر شباهت ژنتیکی درخور توجه بین ۲ جمعیت مورد بررسی است.

واژگان کلیدی: تنوع ژنتیکی، تمایز ژنتیکی، ریزماهواره، قزل‌آلای رنگین‌کمان، *Oncorhynchus mykiss*.

## ۱. مقدمه

ذخیره پرورشی (هر ذخیره حاوی ۴۷ قطعه ماهی) را از ۶ مزرعه جمع‌آوری و با استفاده از ۱۲ جایگاه ریزماهواره بررسی کرد. همه نمونه‌ها تنوع ژنتیکی درخور توجهی را در تمامی جایگاه‌ها نشان دادند. گستره تعداد آلل در هر جایگاه هر سویه بین ۵/۴-۸/۶ محاسبه شد. Pavlov و همکاران در سال ۲۰۱۱، با استفاده از ۱۰ جایگاه ریزماهواره، تمایز ژنتیکی جمعیت‌های مختلف قزل‌آلای رنگین‌کمان کامچاتکا را در مناطق مختلف بررسی کردند. نتایج آنها بیانگر حضور ۳ جمعیت متفاوت از این گونه (جمعیت‌های شمال غربی، جنوب غربی و شرقی) بود. بنابراین، به‌رغم ارزش اقتصادی درخور توجه این گونه، به‌منزله ماهی پرورشی در ایران، و نبود مطالعات جمعیتی در مورد آن با استفاده از نشانگر ریزماهواره، این تحقیق به منظور ارزیابی تنوع ژنتیکی ۲ جمعیت پرورشی از قزل‌آلای رنگین‌کمان در کشور طراحی و اجرا شد.

## ۲. مواد و روش‌ها

### ۲.۱. جمعیت‌های پرورشی نمونه‌برداری شده

انتخاب جمعیت‌های اصیل از گونه مورد مطالعه، با توجه به وجود جمعیت‌های پرورشی از کشورهای مختلف نظیر آمریکا، فرانسه، اسپانیا، استرالیا، دانمارک، ایتالیا و اخیراً آلمان در مزارع مختلف کشور و نیز نبود ثبت دقیق اطلاعات مرتبط با اختلاط جمعیت‌ها با یکدیگر در بسیاری از مراکز، امری بسیار دشوار و خطیر بود. بنابراین، از بین مراکز مختلف در استان لرستان، مرکز تکثیر و پرورش قزل‌آلای پاچنار واقع در ازنا در استان لرستان، که مورد تأیید سازمان دامپزشکی کشور و سازمان شیلات ایران بود، انتخاب شد. این مرکز دارای ۲ ذخیره مجزای ماهی قزل‌آلا: یکی حاصل از تخم وارداتی از منشأ فرانسه، که در زمان نمونه‌برداری هنوز به بلوغ جنسی نرسیده بودند، و دیگری ماهیان مولد نگهداری شده در مرکز از سالیان گذشته بود که، با توجه به بررسی صورت‌گرفته، به‌منزله جمعیت پرورشی لرستان مطرح شدند؛ چرا که این مرکز یکی از مراکز قدیمی و بزرگ تکثیر و پرورش قزل‌آلای رنگین‌کمان در غرب کشور، خصوصاً استان

ماهیان سردابی در بین ماهیان پرورشی از اهمیت ویژه‌ای برخوردارند؛ خصوصاً قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)، به علت کیفیت مطلوب، به‌منزله غذایی بازارپسند و لذیذ مورد توجه است (Maitland, 2000). سالانه میلیون‌ها قطعه بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با استفاده از تکثیر مصنوعی تولید و پرورش داده می‌شود، اما در این بین مسائل مربوط به ذخایر ژنتیکی، حفظ بانک ژنی، دورگه‌گیری و جلوگیری از هم‌خونی کمتر مدنظر قرار گرفته است. تکثیر غیراصولی و غیرعلمی در مزارع پرورشی و مراکز تکثیر سبب ایجاد اختلالات ژنتیکی و هم‌خونی در نسل مولدین و بروز صفات نامطلوب ناشی از آن شده است. به طور کلی، مدیریت تنوع ژنتیکی در موجودات نیازمند ارزیابی ساختار ژنتیکی و تفکیک ذخایر گونه مورد نظر است. بنابراین، آگاهی و بررسی دائمی وضعیت ژنتیکی گونه‌هایی که در معرض تکثیر مصنوعی قرار دارند، برای حفاظت و مدیریت آنها، ضروری است (Pujolar et al., 2009). در میان نشانگرهای مولکولی، که در مطالعات ژنتیک جمعیت استفاده می‌شوند، ریزماهواره‌ها به علت فراوانی و گستردگی بالا در ژنوم، هم‌بازبودن، توارث مندلی، کوچک بودن اندازه جایگاه ژنی، سهولت تعیین ژنوتیپ از طریق واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز هم‌چنین، چندشکلی بالا مناسب‌ترند (Dewoody and Avise, 2000; Chen et al., 2008). مطالعات مولکولی متعددی در زمینه ساختار ژنتیکی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان پرورشی و وحشی، با استفاده از ریزماهواره‌ها، صورت گرفته است. Yoon و همکاران، در سال ۲۰۰۷، در مطالعه آنالیز میتوکندریایی و ریزماهواره جمعیت‌های آزادماهی چام (*Oncorhynchus keta*)، تنوع ژنتیکی بالایی را در روش ریزماهواره نسبت به روش دی.ان.ا. میتوکندریایی مشاهده و اعلام کردند که بهتر است در مطالعه ساختار جمعیتی از هر ۲ نشانگر استفاده شود. Glover در سال ۲۰۰۸، برای تعیین ساختار ژنتیک سویه‌های مختلف قزل‌آلای رنگین‌کمان در نروژ ۷

برای بررسی تنوع ژنتیکی بین ۲ جمعیت این ماهی، از ۴ جفت آغازگر (OMM1332, OMY325, OMY77) و OMM1329 ریزماهوره پلی مورف استفاده شد که دارای فراوانی آلی بیشتری در مطالعات پیشین بودند و تنوع جمعیت‌ها را به خوبی نشان می‌دادند (جدول ۱). تکثیر جایگاه‌های ژنی با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز در حجم ۱۰ میکرولیتر و شرایطی شامل یک میکرولیتر دی.ان.ا، ۰/۴ میکرولیتر از هر آغازگر (۱۰pM)، ۰/۲ میکرولیتر از نوکلئوتیدها (۱۰mM)، ۰/۱۶ میکرولیتر Taq پلی‌مراز شرکت سیناژن ایران (۵u/μl)، یک میکرولیتر بافر ۱۰XPCR، ۰/۲ میکرولیتر کلرید منیزیم (۵۰mM) و آب مقطر تا رسیدن به حجم ۱۰ میکرولیتر انجام گرفت. شرایط چرخه دمایی برای هر جایگاه ژنی شامل ۳ دقیقه در ۹۴ درجه در ادامه ۳۵ چرخه شامل ۹۴ درجه برای ۶۰ ثانیه، درجه حرارت اتصال (جدول ۱) ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه برای ۴۵ ثانیه، با یک بسط نهایی ۷۲ درجه برای ۵ دقیقه بود. نتایج روی ژل اکریلامید ۱۲٪ با رنگ آمیزی نیرات نقره به همراه مارکر ۵۰bp از شرکت Fermentas بررسی و شاخص‌هایی نظیر هتروزیگوسیتی مشاهده شده Ho، هتروزیگوسیتی مورد انتظار He، I (شاخص شانون)، X<sub>۲</sub>، FIS (ضریب هم‌خونی)، FST، میزان تفاوت ژنتیکی D، تعداد آلل مشاهده شده Na و تعداد آلل مورد انتظار Ne همچنین، انحراف از تعادل هاردی - واینبرگ بین و درون جمعیت‌ها با استفاده از نرم‌افزارهای (۲۰۰۷) Excel و GenAlex ۶,۴ انجام گرفت.

لرستان، است که در توسعه آبی‌پروری در غرب کشور نقش ویژه‌ای داشته و دقت نظر کافی در تفکیک مناسب جمعیت‌های مختلف را اعمال کرده است. نمونه‌برداری از مرکز فوق از ۲ جمعیت پرورشی لرستان و فرانسوی (هر یک به تعداد ۳۰ قطعه) در مهر ۱۳۸۹ صورت گرفت. سپس، نمونه‌ها در تیوپ حاوی الکل ۹۶ درصد قرار داده شدند. اطلاعات هر نمونه با استفاده از برچسب روی تیوپ‌ها درج شد و، برای انجام دادن آزمایش مولکولی و استخراج دی.ان.ا، نمونه‌ها به آزمایشگاه ژنتیک و بیوتکنولوژی، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان منتقل و در دمای ۴ °C درون یخچال نگهداری شدند.

## ۲.۲. استخراج دی.ان.ا.

برای استخراج دی.ان.ا، از روش استات آمونیوم استفاده شد (Appleyard et al., 2002). پس از آن، به هر یک از ویال‌های حاوی دی.ان.ا استخراج شده پس از خشک شدن مقدار ۵۰-۲۵ μl آب مقطر تزریقی اضافه شد و به مدت ۲۴ ساعت به منظور حل شدن دی.ان.ا در یخچال قرار داده شدند. کیفیت دی.ان.ا استخراج شده بر اساس روش الکتروفورز ژل آگارز ۱ درصد و میزان فلورسانس ترکیب اتیدیوم بروماید جذب شده به وسیله دی.ان.ا روی دستگاه ترانس لومیناتور (TCP-۲۰، MCVilber lourmant, France) ارزیابی شد.

## ۳.۲. واکنش‌های زنجیره‌ای پلی‌مراز (پی.سی.آر)

جدول ۱. نام جایگاه، محدوده باندی، دمای اتصال و میانگین تعداد آلل مشاهده شده در جمعیت‌های مختلف قزل‌آلای رنگین‌کمان در هر مطالعه

ردیف	نام جایگاه	محدوده باندی (جفت باز)	دمای اتصال °C	تعداد آلل مشاهده شده (Na)	مأخذ
۱	OMY325	۱۰۰-۱۵۰	۵۸/۵	۱۲	(Morris et al., ۱۹۹۶)
۲	OMM1329	۱۲۲-۱۹۸	۶۰	۱۲/۵	(Palti et al., ۲۰۰۲)
۳	OMY77	۱۰۲-۱۷۸	۶۲/۵	۱۰/۲۵	(O'Connell et al., ۱۹۹۷)
۴	OMM1332	۱۷۲-۲۰۴	۶۱/۵	۸/۵	(Palti et al., ۲۰۰۲)

### ۳. نتایج

تمامی ۴ جایگاه ژنی ریزماهواره‌ای مورد استفاده پلی‌مورف بودند. قطعات تکثیرشده در ۴ جایگاه ریزماهواره در پی.سی.آر دامنه‌های متفاوتی را نشان دادند. کوچک‌ترین قطعه مربوط به جایگاه OMY325 با طول ۱۰۰-۱۵۰ جفت باز بود. بزرگ‌ترین قطعه نیز در جایگاه OMM1332 با طول ۱۷۲-۲۰۴ جفت باز مشاهده شد (جدول ۱). بیشترین تعداد آلل مشاهده‌شده (Na) در جایگاه OMY325 در جمعیت فرانسوی و OMM1329 در جمعیت پرورشی لرستان (۱۳) و کمترین آن در جایگاه OMM1332 در هر ۲ جمعیت (۸) مشاهده شد. بر اساس آزمون مربع کای به جز جایگاه OMY77 در نمونه‌های جمعیت فرانسوی خروج از تعادل هاردی-واینبرگ در همه جایگاه‌ها مشاهده شد (جدول ۳). میانگین هتروزیگوسیتی مورد انتظار (He) و هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده (Ho) به ترتیب ۰/۸۵۷ و ۰/۵۷۷ به دست آمد که میزان هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده در نمونه‌های جمعیت پرورشی لرستان ۰/۵۹۱ و فرانسوی ۰/۵۶۶ و میزان هتروزیگوسیتی مورد انتظار در ۲ جمعیت مورد بررسی به ترتیب ۰/۸۶۱ و ۰/۸۵۴ بود (جدول ۲). نتایج بررسی آلل‌های اختصاصی در ۴ جایگاه مورد مطالعه بین ۲ جمعیت مورد بررسی به شرح زیر بود. در جایگاه OMM1332 آلل اختصاصی

برای هیچ‌یک از جمعیت‌ها مشاهده نشد. به بیان دیگر، آلل‌های مشاهده‌شده بین ۲ جمعیت یکسان، اما با فراوانی متفاوت بودند. در جایگاه OMY325، فقط یک آلل اختصاصی برای جمعیت فرانسوی در اندازه باندی ۱۴۴ جفت باز مشاهده شد. در جایگاه OMY77، جمعیت پرورشی لرستان دارای ۳ آلل اختصاصی ۱۰۲، ۱۱۰ و ۱۳۸ جفت بازی و جمعیت فرانسوی دارای ۲ آلل اختصاصی ۱۵۸ و ۱۷۴ جفت باز بود. بیشترین آلل اختصاصی جمعیت پرورشی لرستان در جایگاه OMM1329 با ۵ آلل ۱۲۶، ۱۳۸، ۱۴۲، ۱۶۶ و ۱۷۸ جفت باز مشاهده شد؛ در حالی که، جمعیت فرانسوی در این جایگاه فقط یک آلل اختصاصی با اندازه ۱۷۰ جفت باز را دارا بود. شاخص اطلاعات شانون برای هر ۲ جمعیت نمونه‌برداری‌شده و به ازای ۴ جایگاه مورد مطالعه محاسبه شد که نتایج آن در جدول ۲ ارائه شده است. بیشترین مقدار شاخص شانون (۲/۳۹) در جایگاه OMY325 در جمعیت فرانسوی و کمترین مقدار آن (۱/۸۳) در جایگاه OMM1332 در نمونه‌های جمعیت فرانسوی بود. برای اندازه‌گیری تمایز جمعیت در سطوح مختلف ساختار ژنتیکی از عامل FST استفاده شد که مقدار FST بر اساس فراوانی بین نمونه‌های جمعیت پرورشی لرستان و فرانسوی به میزان ۰/۰۱۷ محاسبه شد.

جدول ۲. تعداد آلل واقعی و مؤثر، تنوع ژنتیکی و شاخص شانون ۴ جایگاه مورد مطالعه در قزل‌آلای رنگین‌کمان

جمعیت	جایگاه	OMY325	OMM1329	OMY77	OMM1332	میانگین
پرورشی لرستان	Na	۱۱	۱۳	۱۱	۸	۱۰/۷۵
	Ne	۹/۰۹	۶/۵۹	۸/۰۳	۶	۷/۴۳
	Ho	۰/۹۳	۰/۴۶	۰/۷۳	۰/۲۳	۰/۵۹۱
	He	۰/۸۹	۰/۸۴	۰/۸۷	۰/۸۳	۰/۸۶۱
فرانسوی	I	۲/۲۸	۲/۱۴	۲/۱۸	۱/۸۹	۲/۱۲
	Na	۱۳	۹	۱۰	۸	۱۰
	Ne	۹/۷۳	۶/۸۹	۶/۷۶	۵/۴۰	۷/۱۹
	Ho	۱	۰/۱۳	۰/۸۳	۰/۳۰	۰/۵۶
فرانسوی	He	۰/۸۹	۰/۸۵	۰/۸۵	۰/۸۱	۰/۸۵
	I	۲/۳۹	۲/۰۵	۲/۰۵	۱/۸۳	۲/۰۸

Na: تعداد آلل مشاهده‌شده، Ne: تعداد آلل مؤثر، Ho: هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده، He: هتروزیگوسیتی مورد انتظار.

(FIS) در سطح جایگاه‌ها بررسی شد. بیشترین میزان شاخص درون‌آمیزی (FIS) مشاهده شده مربوط به جایگاه OMM1329 در جمعیت فرانسوی (۰/۸۱۱) و کمترین میزان شاخص مربوط به جایگاه OMY325 در جمعیت فرانسوی (۰/۰۹۸-) بود (جدول ۴).

با توجه به آنالیز واریانس مولکولی، نتایج FST آنالیز واریانس مولکولی در سطح ۹۹ درصد نشان داد که تنوع ژنتیکی درون ۲ جمعیت حدود ۹۴ درصد و بین جمعیت‌ها معادل ۶ درصد از کل تنوع ژنتیکی محاسبه شده را شامل می‌شود. شاخص درون‌آمیزی

جدول ۳. بررسی تعادل هاردی-واینبرگ در جایگاه‌های مورد مطالعه در ۲ جمعیت قزل‌آلای رنگین‌کمان

جایگاه	درجه آزادی - سطح معنی‌داری	OMM1329	OMY325	OMM1322	OMY77
پرورشی لرستان	df	۷۸	۵۵	۲۸	۵۵
	$X^2$	۱۹۵/۲۷	۹۰/۵	۱۳۲/۲۰	۱۰۳/۹۳
	Prob	۰	۰/۰۰۲	۰	۰
	Sig	***	**	***	***
فرانسوی	df	۳۶	۷۸	۲۸	۴۵
	$X^2$	۱۷۹/۰۹	۱۱۸/۴۲	۱۱۶/۳۲	۴۲/۷۵
	Prob	۰	۰/۰۰۲	۰	۱/۵۶۸
	Sig	***	**	***	Ns

\*\*\*:  $(P \leq 0.001)$ ; \*\*:  $(P \leq 0.01)$ ; \*:  $(P \leq 0.05)$ ; ns: بدون اختلاف معنی‌دار.

جدول ۴. میزان شاخص درون‌آمیزی (FIS) در سطح ۴ جایگاه مورد بررسی

جمعیت جایگاه	پرورشی لرستان	فرانسوی
OMY77	۰/۱۷۹	۰/۰۰۹
OMM1322	۰/۷۲۸	۰/۶۸۰
OMY325	-۰/۰۳۲	-۰/۰۹۸
OMM1329	۰/۴۶۳	۰/۸۱۱
میانگین	۰/۳۲۹	۰/۳۴۳

می‌شوند. پلی‌مورف بودن جایگاه‌های مورد مطالعه در ۲ جمعیت پرورشی استان لرستان و جمعیت فرانسوی قاعدتاً به علت وجود هتروزیگوسیتی در جمعیت‌های مورد مطالعه در جایگاه‌های مذکور است، اما نمی‌توان از اختصاصی بودن آغازگرهای مورد استفاده در این تحقیق که پیش از این برای قزل‌آلای رنگین‌کمان در مطالعات دیگر استفاده شده بودند و چندشکلی بالای آنها، با توجه به تعداد آلل مشاهده شده در مطالعات قبلی، چشم‌پوشی کرد (جدول ۲). به هر روی، استفاده از آغازگرهای اختصاصی گونه، که در سایر مطالعات

#### ۴. بحث و نتیجه‌گیری

بررسی گوناگونی و تنوع ژنتیکی قزل‌آلای رنگین‌کمان، به‌منزله مهم‌ترین گونه پرورشی در ایران، ضروری است. از این‌رو، تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیت این گونه با استفاده از نشانگرهای مولکولی ریزماهواره بررسی شد. تمامی آغازگرهای مورد استفاده پلی‌مورف بودند. پلی‌مورف بودن آغازگرهای مورد استفاده مطلوبیت استفاده از آنها را افزایش می‌دهد، چرا که در بحث مطالعه به وسیله ریزماهواره‌ها فقط جایگاه‌های پلی‌مورف در ارزیابی نهایی استفاده

پایین بودن تنوع ژنتیکی می‌تواند حذف نوزادان ضعیف، به منظور بهبود عملکرد، در خلال انتخاب در مزارع تکثیر و میزان پایین اندازه جمعیت مؤثر باشد (Silverstein *et al.*, 2004). با توجه به علل اشاره‌شده، شاید مهم‌ترین علت کاهش تنوع ژنتیکی در جمعیت پرورشی لرستان نبود آمیزش شجره‌ای و برنامه اصلاحی در ایران، در مقایسه با کشورهای برتر این صنعت، باشد. در صورتی که، با توجه به وجود برنامه‌های اصلاحی در کشورهای اروپایی، علت کاهش تنوع ژنتیکی در جمعیت فرانسوی را می‌توان به به‌گزینی و حذف نوزادان ضعیف نسبت داد.

شاخص شانون به‌منزله یکی از معیارهای تنوع ژنی برای جمعیت‌ها استفاده می‌شود. با توجه به اینکه شاخص شانون در نمونه‌های مربوط به جمعیت پرورشی لرستان بیشترین (۲/۱۲) مقدار است، می‌توان نتیجه گرفت که این جمعیت دارای چندشکلی بالاتری نسبت به جمعیت فرانسوی است. وجود تعداد مکان‌های چندشکل، میانگین تعداد آلل و هتروزیگوسیتی مورد انتظار بالاتر در جمعیت پرورشی لرستان نسبت به جمعیت فرانسوی نیز میزان چندشکلی بالاتر را در نمونه‌های جمعیت پرورشی لرستان تأیید می‌کند.

نتایج جدول ۲ نشان داد که مقدار هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده در جایگاه‌های OMM1332، OMM1329 و OMYV در هر ۲ جمعیت مورد مطالعه از مقدار هتروزیگوسیتی مورد انتظار کمتر است. آلل‌های تکثیرنشده یا نول از مهم‌ترین عوامل ایجادکننده کسری در جایگاه‌های ژنی ریزماهواره‌ها هستند (Xu *et al.*, 2001). به جز فرضیه آلل‌های نول، کسری هتروزیگوسیتی در اثر فاکتورهایی همچون تنگنای ژنتیکی، جفت‌گیری غیرتصادفی و به‌گزینی نیز ایجاد می‌شود (Li *et al.*, 2007). جدا از علل زیستی معمول در ایجاد کسری هتروزیگوسیتی، ریزماهواره‌ها به طور خاص مستعد این پدیده‌اند (Diz and Presa, 2009). با توجه به نتایج و علل عنوان‌شده در بالا، علت کاهش هتروزیگوسیتی را در جمعیت پرورشی لرستان می‌توان

چندشکلی بالایی را نشان داده‌اند، احتمال دستیابی به پلی‌مورفیسم را در مطالعه جدید افزایش می‌دهد. در این بررسی میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده در سطح جمعیت‌های مورد بررسی ۰/۵۷۷ به دست آمد. هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده در جمعیت پرورشی لرستان ۰/۵۹۲ و جمعیت فرانسوی ۰/۵۶۷ بود. تعداد متوسط آلل در سطح جمعیت‌ها ۱۰/۳۷ محاسبه شد. تعداد متوسط آلل در جمعیت پرورشی لرستان ۱۰/۷۵ و فرانسوی ۱۰ بود.

Pavlov و همکاران در سال ۲۰۰۴، با استفاده از ۶ جایگاه ریزماهواره‌ای، تنوع ژنتیکی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان آنادروموس و مقیم رودخانه والا والا در جنوب واشنگتن را بررسی کردند و میانگین ۱۴/۱ آلل برای هر جایگاه و میانگین هتروزیگوسیتی ۰/۶۷ را برای هر ۲ جمعیت به دست آوردند. Silverstein و همکاران، در سال ۲۰۰۴، تنوع ژنتیکی میان ۳ سویه اهلی قزل‌آلای رنگین‌کمان در امریکا را، با استفاده از ۹ جایگاه ریزماهواره‌ای، بررسی کردند و میانگین ۱۴ آلل در هر جایگاه و هتروزیگوسیتی ۰/۷۲ را به دست آوردند. در مقایسه نتایج این تحقیق (متوسط هتروزیگوسیتی ۰/۵۹۶ و تعداد متوسط آلل ۱۰/۸۳) با تحقیقات ذکرشده، تنوع ژنتیکی کمتری در این تحقیق مشاهده می‌شود. به طور کلی، کم بودن تعداد آلل بدون اینکه تغییر خاصی در مقدار هتروزیگوسیتی مشاهده شود، نشان‌دهنده وقوع تنگنای ژنتیکی در جمعیت است (Allendorf, 1986). در جمعیت‌های پرورشی، معمولاً تنگنای ژنتیکی هنگامی رخ می‌دهد که تعداد کم مولد نتاج زیادی تولید کند که همه نسل بعد را تشکیل دهد (Allendorf *et al.*, 1987). استفاده از نسبت‌های جنسی نابرابر و بقای متفاوت نتاج نیز از طریق کاهش اندازه جمعیت مؤثر باعث بروز تنگنای ژنتیکی می‌شوند (Machado-Schiaffino *et al.*, 2007). برخی مطالعات کاهش تعداد آلل‌های ریزماهواره و هتروزیگوسیتی را به کاهش اندازه مؤثر جمعیت نسبت می‌دهند (Fumagalli *et al.*, 2002). همچنین، علت



توجه به نتایج این تحقیق، می‌توان گفت که یکی از علل اصلی انحراف از تعادل کسری هتروزایگوسیتی است. در واقع، با مقایسه هتروزایگوسیتی مشاهده‌شده و مورد انتظار در میان جمعیت‌ها و همه جایگاه‌های ژنی مورد بررسی در این تحقیق، مشاهده می‌شود که در اغلب موارد میزان هتروزایگوسیتی مشاهده‌شده از میزان هتروزایگوسیتی مورد انتظار کمتر است. انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ، با توجه به علل کاهش هتروزایگوسیتی، در جمعیت پرورشی لرستان را می‌توان به جفت‌گیری غیرتصادفی و در جمعیت فرانسوی به به‌گزینی و حذف نوزادان ضعیف نسبت داد. با وجود این، برخی عوامل دیگر می‌تواند از علل احتمالی انحراف از تعادل باشد؛ نظیر تداخل بین جمعیت‌ها، به علت اشتباه در نمونه‌برداری یا نبود آگاهی کامل از شجره‌نامه یا مهاجرت بین گروه‌های مختلف جانوری به صورت مختلف نظیر جابه‌جایی افراد مولد، و نتاج یا حتی سلول‌های جنسی آنها که ممکن است عمداً یا سهواً در مراکز تکثیر و پرورش ماهی بروز کنند. با وجود این، با توجه به نابالغی جنسی مولدین جمعیت فرانسوی در زمان نمونه‌برداری در کارگاه مذکور، تأثیر برخی از این عوامل اندک خواهند بود.

شاخص درون‌آمیزی (FIS)، در جمعیت‌های پرورشی لرستان و فرانسوی، به ترتیب ۰/۳۴۳ و ۰/۳۲۹ بود. بنابراین، بر اساس نتایج، جمعیت فرانسوی دارای سطح بالاتری از درون‌آمیزی است و به همان نسبت احتمال وجود افراد خویشاوند در این گله بیشتر از گله پرورشی لرستان است. شاید بتوان علت این مسئله را اختلاط گله‌های مختلف پرورشی قزل‌آلای رنگین‌کمان در نسل‌های قبل و اطلاق گله‌ای پرورشی لرستان به آن عنوان کرد؛ چرا که گله پرورشی لرستان حقیقی به علت غیربومی بودن ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در ایران وجود ندارد.

مقدار شاخص FST (۰/۰۱۷) تمایز پایینی را بین جمعیت‌ها نشان داد. برای تفسیر FST پیشنهاد شده است که مقدار آن بین صفر تا ۰/۰۵ تمایز پایین و

به جفت‌گیری غیرتصادفی و در جمعیت فرانسوی به به‌گزینی و حذف نوزادان ضعیف نسبت داد. نتایج جدول ۲ نشان می‌دهد که مقدار هتروزایگوسیتی مشاهده‌شده در جایگاه OMY۳۲۵ در هر ۲ جمعیت مورد مطالعه از مقدار هتروزایگوسیتی مورد انتظار بیشتر است. اشتباه در خواندن آلل‌ها، انحراف ژنتیکی تصادفی و خطای پی.سی.آر می‌تواند از علل ایجاد این افزایش باشد (Li et al., 2009). با توجه به اینکه در این تحقیق شرایط پی.سی.آر برای جایگاه‌های ژنی مورد مطالعه بهینه‌سازی شده بود، به نظر انحراف ژنتیکی تصادفی می‌تواند یکی از عوامل اصلی توجیه‌کننده افزایش هتروزایگوسیتی در این جایگاه باشد.

در بررسی تعادل هاردی-واینبرگ، ۷ تست از ۸ تست مورد بررسی (جایگاه  $\times$  جمعیت) انحراف معنی‌داری را از تعادل نشان دادند. با توجه به نتایج این تحقیق می‌توان اذعان کرد که اغلب جایگاه‌ها انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ را نشان می‌دهند. انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ را می‌توان به علت وجود آمیزش‌های خویشاوندی در بین گونه‌ها، پهلوگیری تعداد محدودی از آلل‌ها و ناکافی بودن تعداد نمونه‌ها و خطای نمونه‌برداری دانست (Skalla et al., 2004; Zhao et al., 2005; Dahle et al., 2006; Chauhan et al., 2007; Li et al., 2007). در این خصوص، Gross و همکاران، در سال ۲۰۰۷، تنوع و تفاوت ژنتیکی سوبه‌های قزل‌آلای رنگین‌کمان پرورشی را در شمال و شرق اروپا (فنلاند، دانمارک، سوئد، نروژ، استونی و لهستان)، با استفاده از ۱۰ جایگاه ریزماهواره، بررسی کردند و انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ را به کم‌بودن تعداد مولدین و نسبت نامساوی جنسی مولدین نسبت دادند.

به طور کلی، یک عامل به تنهایی نمی‌تواند علت انحراف از تعادل را توضیح دهد و مجموعه‌ای از عوامل فوق‌را، که بیشتر ناشی از تکثیر مصنوعی‌اند، می‌توان به‌منزله علل انحراف از تعادل در جمعیت‌های مورد بررسی قزل‌آلای رنگین‌کمان عنوان کرد. با

گله پرورشی لرستان خود مشتق شده از گله فرانسوی وارداتی به کشور باشد که در گذشته وارد ایران شده است و، به لحاظ ثبت‌نشدن دقیق وقایع، امروزه به‌منزله گله ایرانی مطرح می‌شود. همچنین، ممکن است که ۲ جمعیت پرورشی لرستان (جمعیت مورد بررسی) و جمعیت وارداتی از فرانسه، خود از یک جمعیت مشترک (جد مشترک) مشتق شده باشند که، با توجه به زمان اندک جدایی از یکدیگر، زمان کافی برای تثبیت آلل‌های خاص و ایجاد تمایز کافی بین ۲ جمعیت وجود نداشته است. این مطلب، با توجه به اینکه تمامی جمعیت‌های اروپایی گونه قزل‌آلای رنگین‌کمان خود از امریکای شمالی مشتق شده‌اند و انواع وارداتی به ایران در ابتدا از مبدأ اروپا وارد کشور شده، توجیه‌پذیر است. با این حال، اظهار نظر قطعی در این خصوص نیازمند بررسی دقیق‌تر با تعداد نشانگر بیشتر یا جمعیت‌هایی با شجره‌نامه مشخص‌تر است. با وجود این، برخی مطالعات دیگر نرخ بالای جهش و افزایش تنوع درون جمعیت‌ها را علت کاهش تمایز بین آنها می‌دانند (Fumagalli *et al.*, 2002). همچنین، کم‌بودن تمایز بین جمعیت‌ها می‌تواند به علت وجود جریان ژنی بالا در بین جمعیت‌ها باشد (Pinera *et al.*, 2007).

نتایج این بررسی مؤید این مطلب است که تنوع ژنتیکی درخور ملاحظه‌ای در ۲ جمعیت قزل‌آلای رنگین‌کمان پرورشی وجود دارد و روش ریزماهوره‌ای قادر به تمایز نسبی آنها از یکدیگر است. نظر به اینکه این ماهی در حال حاضر، به‌منزله مهم‌ترین ماهی پرورشی، در حال تکثیر است، سیاست‌های مدیریتی باید، به منظور ارزیابی تنوع ژنتیکی میان نتاج تکثیر، به طور مداوم پایش شود و با انتخاب تعداد مناسبی از مولدین از کاهش تنوع ژنتیکی موجود، به علت پدیده آمیزش خویشاوندی و رانش ژنتیکی، جلوگیری شود.

مقدار بین ۰/۱۵ - ۰/۲۵ تمایز متوسط و مقدار ۰/۲۵ تمایز ژنتیکی بالاست (Wright, 1978). اگرچه، به طور معمول مقدار FST در اکثر موارد کمتر از یک است، چرا که پلی‌مورفیسم (ناشی از جهش) به طور مؤثری میزان FST را کاهش می‌دهد (Headrick, 1999; Charlesworth, 1998; Agylaki, 1998; Wright, 1987). در تحقیق Gross و همکاران در سال ۲۰۰۷، تنوع و تفاوت ژنتیکی سویه‌های قزل‌آلای رنگین‌کمان پرورشی در شمال و شرق اروپا (فنلاند، دانمارک، سوئد، نروژ، استونی و لهستان)، با استفاده از ۱۰ جایگاه ریزماهوره، بررسی و میزان FST حدود ۰/۰۵ محاسبه شد. همچنین، در مطالعه‌ای دیگر میزان FST، ۳ سویه اهلی قزل‌آلای رنگین‌کمان در امریکا، با استفاده از ۹ جایگاه ریزماهوره، حدود ۰/۰۸۹ بود (Silverstein *et al.*, 2004). بنابراین، به نظر می‌رسد که میزان FST حاصل از این تحقیق نسبت به مطالعات پیشین کمتر است. پایین‌بودن شاخص FST، با توجه به نبود یا فراوانی اندک آلل‌های خاص، در ۲ جمعیت مورد مطالعه توجیه‌پذیر است، چرا که در مطالعه با ریزماهوره‌ها، تمایز بر اساس شاخص FST با توجه به تفاوت فراوانی‌های آللی محاسبه می‌شود. بنا به تحقیقات انجام‌شده جمعیت پرورشی لرستان، جمعیت مورد نمونه‌برداری، برای مدت حداقل ۲۰ سال به صورت جدا از جمعیت فرانسوی نگهداری و تکثیر شده است. با وجود این، اطلاع کافی از شجره این جمعیت پیش از ورود به کارگاه تکثیر و پرورش قزل‌آلای پاچنار وجود ندارد. با توجه به میزان اندک شاخص تمایز FST بین ۲ جمعیت پرورشی لرستان و جمعیت وارداتی از فرانسه و قطعیت نسبی از تداخل‌نداشتن این گله‌ها طی دوره ۲۰ سال قبل از نمونه‌برداری در مزرعه مذکور (حدود ۷ نسل)، این احتمال مطرح می‌شود که شاید



## References

- [1]. Allendorf, F.W., 1986. Genetic drift and the loss of alleles versus heterozygosity. *Zoological Biology* 5, 181-190.
- [2]. Allendorf, F.W., Ryman, N., Utter, F.M., 1987. Genetics and fishery management: past, present, and future. In: Ryman, N., Utter, F.M. (Eds.), *Population genetics and fishery management*. University of Washington Press, Seattle, USA, pp.1-19.
- [3]. Appleyard, S.A., Ward, R.D., Grewe, P.M., 2002. Genetic stock structure of bigeye tuna in the Indian ocean using mitochondrial DNA and microsatellite. *Journal of Fish Biology* 60, 767-770.
- [4]. Bataillon, T.M., David, J.L., Schoen, D.J., 1996. Neutral genetic markers and conservation: simulated germplasm collections. *Genetics* 144, 409-417.
- [5]. Charlesworth, B., 1998. Measures of divergence between population and the effect of forces that reduce variability. *Molecular Biology and Evolution* 15, 538-543.
- [6]. Chauhan, T., Lal, K.K., Mohindra, V., Singh, R., Punia, O., Gopalakrishnan, A., Sharma, P.C., Lakra, W.S., 2007. Evaluating genetic differentiation in wild populations of the Indian major carp. *Aquaculture* 269, 135-149.
- [7]. Chen, L., Li, Q., Yang, J., 2008. Microsatellite genetic variation in wild and hatchery populations of the sea cucumber (*Apostichopus japonicus selenka*) from northern China. *Aquaculture Research* 39, 1541-1549.
- [8]. Dahle, G., Jorstad, K.E., Rusaas, H.E., Ottera, H., 2006. Genetic characteristics of brood stock collected from four Norwegian coastal cod (*Gadus morpha*) populations. *Marine Science* 63, 209-215.
- [9]. Dewoody, J.A., Avise, J.C., 2000. Microsatellite variation in marine, freshwater and anadromous fishes compared with other animals. *Journal of Fish Biology* 56, 461-473.
- [10]. Diz, P.A., Presa, P., 2009. The genetic diversity pattern of *Mytilus alloprovincialis* in Galician Rías (NW Iberian estuaries). *Aquaculture* 287, 278-285.
- [11]. Fumagalli, L., Snoj, A., Jesensek, D., Balloux, F., Jug, T., Duron, O., Brossier, F., Crivelli, A. J., Berrebi, P., 2002. Extreme genetic differentiation among the remnant populations of marble trout (*Salmo marmoratus*) in Slovenia. *Molecular Ecology* 11, 4711-2716.
- [12]. Glover, K.A., 2008. Genetic characterization of farmed rainbow trout in Norway: intra- and inter-strain variation reveals potential for identification of escapees. *BMC Genetics* 9, 1-10.
- [13]. Gross, R., Lulla, P., Paaver, T., 2007. Genetic variability and differentiation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) strains in northern and Eastern Europe. *Aquaculture Research* 272, 139-146.
- [14]. Headrick, P.W., 1999. Highly variable loci and their interpretation in evolution and conservation. *Evolution* 53, 313-318.
- [15]. Li, Q., Xu, K., Yu, R., 2007. Genetic variation in Chinese's hatchery populations of the Japanese scallop (*Patinopecten yessoensis*) inferred from microsatellite data. *Aquaculture* 296, 211-219.

- [16]. Li, J., Wang, G., Bai, Z., 2009, Genetic variability in four wild and two farmed stocks of the Chinese freshwater pearl mussel (*Hyriopsis cumingii*) estimated by microsatellite DNA markers. *Aquaculture* 287, 286-291.
- [17]. Machado-Schiaffino, G., Depico, E., Garcia-Vazquez, E., 2007. Genetic variation losses in Atlantic salmon stocks created for supportive breeding. *Aquaculture* 264, 59-65.
- [18]. Morris, D.B., Richard, K.R., Wright, J.M., 1996. Microsatellites from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and their use for genetic study of salmonids. *Canadian Journal of Fisheries and Aquaculture* 53, 120-126.
- [19]. Nagylaki, T., 1998. Fixation indices in subdivided population. *Genetics* 148, 1325-1332.
- [20]. Narum, S.R., Contor, C., Talbot, A., Powell, M.S., 2004. Genetic divergence of sympatric resident and anadromous forms of *Oncorhynchus mykiss* in the Walla Walla River, USA. *Journal of Fish Biology* 65, 417-488.
- [21]. Nielsen, J.L., Carpanzano, C., Fountain, M.C., Gan, C.A., 1997. Mitochondrial DNA and nuclear microsatellite diversity in hatchery and wild *Oncorhynchus mykiss* from freshwater habitats in southern California. *Transactions of the American Fisheries Society* 126, 397-417.
- [22]. Maitland, P.S., 2000. Guide to freshwater fish of Britain and Europe. publishing group limited octopus, Essex, 256 p.
- [23]. O'Connell, M., Danzmann, R.G., Cornuet, J.M., Wright, J.M., Ferguson, M., 1997. Differentiation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) populations in Lake Ontario and the evaluation of the stepwise mutation and infinite allele mutation models using microsatellite variability. *Canadian Journal of Fisheries and Aquaculture* 54, 1391-1399.
- [24]. Pavlov, S.D., Semenova, A.V., Rubtsova, G.A., Afanasiev, K.I., 2011. Analysis of microsatellite variation in the rainbow trout parasalmo (*Oncorhynchus mykiss*) from Kamchatka, (Report). *Russian Journal of Genetics* 46, 1346-1356.
- [25]. Petit, R.J., Mousadik, A.E., Pons, A.O., 1998. Identifying populations for conservation on the basis of genetic markers. *Conservation Biology* 12, 844-855.
- [26]. Pinera, J. A., Blanco, G., Vázquez, E., Sánchez, J. A., 2007. Genetic diversity of black spot seabream (*Pagellus bogaraveo*) populations Spanish Coasts: a preliminary study. *Marine Biology* 1151, 2153-2158.
- [27]. Pujolar, J. M., Deleo, G. A., Ciccotti, E., Zane, L., 2009. Genetic composition of Atlantic and Mediterranean recruits of European eel *Anguilla anguilla* based on EST-linked microsatellite loci. *Journal of Fish Biology* 74, 2034-2046.
- [28]. Silverstein, J.T., Rexroad, C.E., King, T.L., 2004. Genetic variation measured by microsatellites among three strains of domesticated rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum). *Aquaculture Research* 35, 40-48.
- [29]. Skalla, A., Hbyheim, B., Glover, K., Dahle, D., 2004. Microsatellite analysis in domesticated and wild Atlantic salmon. *Aquaculture* 240, 131-143.
- [30]. Thorpe, J.P., Sol-Cave, A.M., 1994. The use of allozyme electrophoresis in vertebrate systematic. *Zoological Script* 23, 3-18.
- [31]. Wright, S., 1978. Evolution and the genetics of populations: variability within and among natural populations. University of Chicago Press, Chicago, 278 p.

- [32]. Xu, Z., Primavera, J.H., De la Pena, L.D., Pettit, P., Belak, J., Warren, A.A., 2001. Genetic diversity of wild and cultured black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) in the Philippines using microsatellites. *Aquaculture* 199, 13-40.
- [33]. Yoon, M., Sato, A.N., Seeb, J.E., Brykov, S. L.W., Varnavskaya, N., Wilmot, R.L., Jin, D.H., Urawa, S., Urano, A., Abe, S., 2007. Congruence of population genetic profiles obtained from mitochondrial and microsatellite DNA analysis in the pacific rim Chum Salmon population. *North pacific anadromous fish commission, Technical Report*. 7, 121-123.
- [34]. Zhao, N., Shao, Z., Ai, W., Zhu, B., Brosse, S., Chang, J., 2005. Microsatellite assessment of Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis* Gray) genetic variability. *Ichthyology* 21, 7-13.

Archive of SID