

نشریه شیلات، مجله منابع طبیعی ایران  
دوره ۶۸، شماره ۱، بهار ۱۳۹۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۳/۲

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۹/۲

ص ۱۲۹-۱۳۸

# بررسی تنوع ژنتیکی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در آب‌های ایرانی دریای خزر با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره‌ای

- ❖ فرامرز لالویی\*: کارشناس ارشد، بخش بیوتکنولوژی، پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، ساری، ایران
- ❖ سهراب رضوانی گیل کلائی: استاد مؤسسه تحقیقات شیلات ایران، تهران، ایران
- ❖ محمدجواد تقوی: کارشناس، بخش بیوتکنولوژی، پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، ساری، ایران

## چکیده

تنوع ژنتیکی جمعیت‌های ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در حوزه جنوبی دریای خزر با نمونه‌برداری ۱۲۰ قطعه ماهی کپور معمولی از سواحل استان گلستان، مازندران و گیلان با استفاده از ده جفت پرایمر ریزماهواره بررسی شد. نتایج نشان داد که هشت جایگاه ریزماهواره‌ای از ده جایگاه مورد بررسی، چندشکل بودند. میانگین تعداد آلل‌های مشاهده‌شده و مؤثر به ترتیب ۷/۰۸ و ۴/۲۹ بود و حداکثر ناخالصی مشاهده‌شده و مورد انتظار به ترتیب ۰/۹۵ و ۰/۹۲ محاسبه شد. در بررسی تعادل هاردی-واینبرگ مناطق گلستان، گیلان و مازندران در تمامی جایگاه‌های مورد بررسی، به استثنای جایگاه Syp8، خارج از تعادل هاردی-واینبرگ بود ( $P < 0/05$ ). بر پایه محاسبات انجام‌شده حداکثر  $F_{ST}$  (۰/۰۲۸) بین نمونه‌های گلستان و مازندران بود که دارای کمترین میزان جریان ژنی (۱/۴) است و حداقل  $F_{ST}$  (۰/۰۰۴) بین نمونه‌های مازندران و گیلان با بیشترین میزان جریان ژنی (۳/۴۳) مشاهده شد. بیشترین فاصله ژنتیکی بین نمونه‌های منطقه گلستان و مازندران ۰/۰۸۴ و کمترین آن ۰/۰۳۳ بین منطقه مازندران و گیلان بوده است. با توجه به نتایج آزمون AMOVA و محاسبه  $F_{ST}$  همچنین تفاوت ژنتیکی معنادار بین نمونه‌ها ( $P < 0/01$ )، می‌توان بیان کرد که جمعیت واحدی از کپور معمولی در مناطق مورد بررسی وجود ندارد و حداقل سه گروه ژنتیکی متفاوت از این گونه یافت می‌شود.

واژگان کلیدی: ایران، تنوع ژنتیکی، دریای خزر، ریزماهواره، *Cyprinus carpio*.

## ۱. مقدمه

کپورماهیان یکی از خانواده‌های مهم ماهیان است که با متجاوز از ۲۰۰۰ گونه در چهار قاره جهان پراکنش دارد ( Helfman *et al.*, 1997; Kirpichnikov, 1999). زادگاه اصلی کپور معمولی در اروپا و آسیاست و از این مناطق به تمام گوشه و کنار جهان توسعه یافته است (Kohlmann *et al.*, 2003). دامنه پراکنش طبیعی ماهی کپور در آسیا و اروپا به دو منطقه غربی (حوزه‌های دریای خزر، آرال و دریای سیاه) و شرقی (آسیای شرقی و جنوب شرقی) تقسیم می‌شود که ظاهراً طی یخبندان‌های چندگانه پلیستوسن تفکیک شده است ( Kirpichnikov, 1999).

ماهی کپور از ماهیان اقتصادی دریای خزر است که در اکثر رودخانه‌های حوزه جنوبی، تالاب‌ها و خلیج‌ها یافت می‌شود. بر اساس آمار موجود، صید ماهی کپور در دهه گذشته دارای نوساناتی بوده است. در این مدت حداقل صید ۲۲۲ تن در سال ۱۳۸۱ و حداکثر آن ۳۹۲۴ تن در سال ۱۳۸۴ گزارش شده است (Daryanabard *et al.*, 2007). کاهش صید کپور معمولی در حوزه جنوبی دریای خزر در دهه‌های گذشته باعث شده که شیلات ایران از سال ۱۳۷۷ تکثیر نیمه‌مصنوعی و رهاسازی این گونه به دریا را در دستور کار خود قرار دهد (Ghaninejad *et al.*, 2002).

مدیریت ذخایر در صورتی که بر پایه اطلاعات دقیق از قبیل مطالعات مولکولی باشد، علاوه بر حفظ تنوع زیستی، میزان برداشت و بهره‌برداری را به حد معقول و حداکثر می‌رساند (Thai *et al.*, 2006). ریزماهواره‌ها شاخص حساسی برای محاسبه هموزایگوسیتی است، به همین دلیل برای تشخیص

تمایز کم بین جمعیت‌ها مناسب است (Alarcon *et al.*, 2004). امروزه، شناسایی گونه‌ها، زیرگونه‌ها و جمعیت‌های آبزیان از اهمیت بسیاری برخوردار است، چراکه علاوه بر مدیریت صحیح و بهره‌برداری مناسب، موجب اجرای برنامه‌های اصولی برای حفاظت از گونه‌ها یا جمعیت‌های باارزش، بازسازی ذخایر، همچنین ایجاد تنوع در موجودات می‌شود. تنوع ژنتیکی آبزیان یکی از شاخص‌های مهم تعیین شرایط اکولوژیک منابع آبی است (Zhou *et al.*, 2003).

در گذشته، ژنتیک جمعیت‌های کپور معمولی با استفاده از مارکرهای پروتئینی مطالعه شد. در این زمینه، مطالعات جمعیت‌های اهلی و وحشی کپور در ژاپن (Macaranas *et al.*, 1986)، ایتالیا (Cataudella *et al.*, 1987)، اندونزی (Sumantadinata & Taniguchi, 1990)، مجارستان (Csizmadia *et al.*, 1995) و فرانسه (Desvignes *et al.*, 2001) انجام شد. سپس، مطالعات mt (Froufe *et al.*, 2002) DNA، RAPD (Bartfai *et al.*, 2003) و بعد از آن مارکرهای مایکروساتلایت (Tanck *et al.*, 2001) انجام گرفت.

در ایران اطلاعات جامع و کاملی از ساختار ژنتیکی کپور معمولی در دست نیست. اطلاعات موجود محدود به مقایسه ساختار ژنتیکی جمعیت کپور معمولی در مناطق مختلف با استفاده از روش RFLP-PCR و ریزماهواره‌هاست (Ghelichpour *et al.*, 2008; Laloei *et al.*, 2008).

به دنبال تکثیر مصنوعی ماهی کپور، این سؤال مطرح می‌شود که آیا این گونه که در تمام طول سواحل ایرانی دریای خزر صید می‌شود، متعلق به یک جمعیت است؟ و اگر دارای جمعیت‌های متفاوت

استخراج شده با دستگاه بیوفتومتر (مدل اپندورف) و الکتروفورز ژل آگارز ۱ درصد انجام شد.

برای واکنش PCR از ده جفت پرایمر ریزماهواره استفاده شد (جدول ۱). واکنش PCR با استفاده از ۵ میکرولیتر بافر (X10) PCR، dNTP با غلظت ۲۰۰ میکرومول، ۱ واحد آنزیم Taq DNA polymerase با غلظت ۲/۵ میکرومول، ۲۰ نانوگرم DNA هدف و آب مقطر به اندازه‌ای که حجم نهایی محلول واکنش به ۲۵ میکرولیتر برسد، انجام شد.

محصول PCR با استفاده از الکتروفورز ژل پلی‌اکریل آمید ۸ درصد و رنگ‌آمیزی نیترات نقره همراه با نشانگر DNA 50 bp مشاهده شد. فراوانی آللی، ناخالصی مورد انتظار و مشاهده شده، تعداد آلل‌های واقعی و آلل‌های مؤثر برای هر جایگاه، ماتریس شباهت و فاصله ژنتیکی ( Nei, 1972; 1978)، تعادل هاردی-واینبرگ، مقادیر  $F_{ST}$ ، جریان ژنی، تنوع ژنتیکی و آزمون AMOVA با استفاده از نرم‌افزار GenAlEx Ver. 6 محاسبه شد (Peakall and Smouse, 2006).

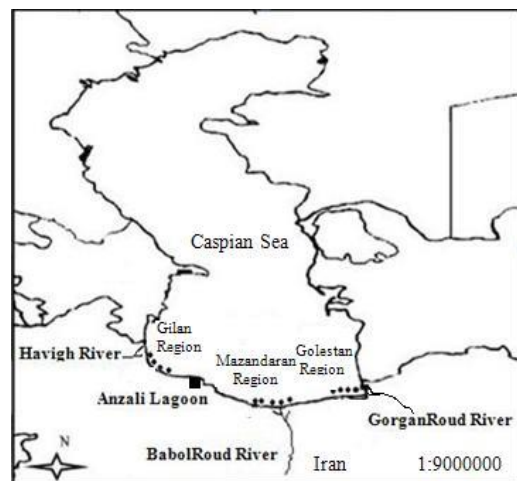
### ۳. نتایج

بر اساس نتایج، هشت جایگاه از ده جایگاه ریزماهواره حالت چندشکلی داشت. حداکثر تعداد آلل‌ها در سه منطقه نمونه‌برداری در جایگاه SYP4 با ۱۵ آلل و حداقل آن در جایگاه SYp5 با ۳ آلل دیده شد. حداکثر فراوانی آللی در منطقه گلستان ۰/۸۷۵ مربوط به جایگاه SYp6 و حداقل آن ۰/۰۱۳ در جایگاه CA5-6 در گیلان بود (جدول ۲). همچنین میانگین فراوانی آلل‌ها در منطقه گیلان ۰/۰۰۲ ± ۰/۱۲۵، مازندران ۰/۰۰۲ ± ۰/۳۴۵ و گلستان ۰/۰۰۲ ± ۰/۴۱۵ بود.

است، کدام جمعیت بیشتر از سایرین از لحاظ تنوع ژنتیکی و فراوانی ذخایر آسیب دیده است. هدف اصلی این تحقیق شناسایی ساختار ژنتیکی و جمعیت‌های احتمالی ماهی کپور معمولی در آب‌های ایرانی دریای خزر است.

### ۲. مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری از ماهی کپور معمولی در سال ۱۳۸۸ از دریا با استفاده از پره از سواحل استان گیلان ۴۰ نمونه (منطقه غازیان)، سواحل استان مازندران ۴۰ نمونه (منطقه لاریم و چپکروند) و سواحل استان گلستان ۴۰ نمونه (منطقه گمیشان) انجام شده است (شکل ۱). همه نمونه‌ها در سنین حدود ۳-۲ سال و بالغ بودند. از هر نمونه مقدار ۱ تا ۲ گرم بافت باله دمی جمع‌آوری و در اتانل ۹۵٪ نگهداری و به آزمایشگاه ژنتیک مولکولی پژوهشکده اکولوژی دریای خزر منتقل شد.



شکل ۱. مناطق نمونه‌برداری ماهی کپور معمولی از حوزه جنوبی دریای خزر

استخراج DNA با بهینه‌کردن روش فنل - کلروفرم با استفاده از باله ماهی (Fevolden & Pogson, 1997) و بررسی کمی و کیفی DNA

جدول ۱. توالی و مشخصات پرایمرهای ریزماهوره مورد استفاده برای ماهی کپور معمولی (Dimoski et al., 2000; Turner et al., 2004)

| محدوده آلی (bp) | دمای اتصال | توالی پرایمر   | جایگاه |
|-----------------|------------|--|--------|
| ۱۱۲-۱۳۲         | ۵۱         | F: AAGACGATGCTGGATGTTTAC<br>R: CTATAGCTTATCCCGGCAGTA         | CA1-2  |
| ۲۴۰-۲۸۴         | ۶۱         | F: GGACAGTGAGGGACGCAGAC<br>R: TCTAGCCCCAAATTTTACGG           | CA3-4  |
| ۱۴۰-۱۷۲         | ۵۵         | F: TTGAGTGGATGGTGCTTGTA<br>R: GCATTGCCAAAAGTTACCTAA          | CA5-6  |
| ۱۳۲-۱۵۲         | ۵۷         | F: GTGAAGCATGGCATAGCACA<br>R: CAGGAAAGTGCCAGCATAAC           | CA7-8  |
| ۲۰۴-۲۷۲         | ۵۸         | F: GCAGGAGCGAAACCATAAAT<br>R: AAACAGGCAGGACACAAAGG           | SYP2   |
| ۲۰۴-۲۸۸         | ۶۰         | F: CACGGGACAATTTGGATGTTTTAT<br>R: AGGGGGCAGCATAACAAGAGACAAC  | SYP4   |
| ۱۶۴-۲۰۰         | ۵۳         | F: ATTTTATAGGAGTGATGTTTCAGCAT<br>R: CAAGTGTGTCATTGAGGATGTGAG | SYP5   |
| ۱۳۲-۱۴۰         | ۵۷         | F: TTACACAGCCAAGACTATGT<br>R: CAAGTGATTTTGCTTACTGC           | SYP6   |

جدول ۲. فراوانی آلل‌ها در جایگاه‌های مورد بررسی و در مناطق مختلف نمونه‌برداری ماهی کپور معمولی

| جایگاه | حد اکثر |          | حداقل |          | گلستان |
|--------|---------|----------|-------|----------|--------|
|        | گیلان   | مازندران | گیلان | مازندران |        |
| CA1-2  | ۰/۴۵۰   | ۰/۳۷۵    | ۰/۴۶۳ | ۰/۰۱۳    | ۰/۰۶۳  |
| CA3-4  | ۰/۲۷۵   | ۰/۳۶۳    | ۰/۱۷۵ | ۰/۰۱۳    | ۰/۰۳۸  |
| CA5-6  | ۰/۴۰۰   | ۰/۳۲۵    | ۰/۳۵۰ | ۰/۰۱۳    | ۰/۰۲۵  |
| CA7-8  | ۰/۲۲۵   | ۰/۶۱۳    | ۰/۴۷۵ | ۰/۰۶۳    | ۰/۰۱۳  |
| SYP2   | ۰/۳۸۷   | ۰/۱۲۵    | ۰/۴۵۰ | ۰/۰۱۳    | ۰/۰۱۳  |
| SYP4   | ۰/۲۰۰   | ۰/۱۵۰    | ۰/۱۷۵ | ۰/۰۱۳    | ۰/۰۵۰  |
| SYP5   | ۰/۳۶۳   | ۰/۶۶۳    | ۰/۶۳۷ | ۰/۰۲۵    | ۰/۰۷۵  |
| SYP6   | ۰/۸۵۰   | ۰/۸۳۷    | ۰/۸۷۵ | ۰/۰۶۳    | ۰/۰۵۰  |

جدول ۳ نشان می‌دهد که بیشترین تعداد آلل‌های واقعی و آلل‌های مؤثر در منطقه مازندران به ترتیب ۱۵ و ۱۱/۸۶ و کمترین آن ۳ و ۱/۲۹ در گیلان بود. همان‌گونه که در جدول ۳ مشاهده می‌شود، در همه مناطق نمونه‌برداری و در همه جایگاه‌ها مقدار  $N_E$  از  $N_A$  کمتر است. همچنین، جایگاه‌های CA3-4، CA7-8، SYP2 و SYP4 دارای ۱ تا ۲ آلل اختصاصی بود. دامنه ناخالصی مشاهده‌شده بین مناطق نمونه‌برداری در جایگاه‌های هشت‌گانه بین ۰/۱۲ تا ۰/۹۵ بود. بیشترین مقدار ناخالصی مشاهده‌شده در جایگاه CA1-2 و در نمونه‌های منطقه گیلان و کمترین مقدار در جایگاه SYP5 در نمونه‌های منطقه مازندران است (جدول ۳). دامنه ناخالصی مورد انتظار در مناطق نمونه‌برداری بین ۰/۲۲ تا ۰/۹۲ بود. بیشترین مقدار ناخالصی مورد انتظار مربوط به جایگاه SYP4 و کمترین مقدار آن مربوط به جایگاه SYP6 در نمونه‌های مازندران مشاهده شده است.

جدول ۳ نشان می‌دهد که بیشترین تعداد آلل‌های واقعی و آلل‌های مؤثر در منطقه مازندران به ترتیب ۱۵ و ۱۱/۸۶ و کمترین آن ۳ و ۱/۲۹ در گیلان بود. همان‌گونه که در جدول ۳ مشاهده می‌شود، در همه مناطق نمونه‌برداری و در همه جایگاه‌ها مقدار  $N_E$  از  $N_A$  کمتر است. همچنین، جایگاه‌های CA3-4، CA7-8، SYP2 و SYP4 دارای ۱ تا ۲ آلل اختصاصی بود. دامنه ناخالصی مشاهده‌شده بین مناطق نمونه‌برداری در جایگاه‌های هشت‌گانه بین

جدول ۳. مقادیر ناخالصی مشاهده شده ( $H_0$ ) و مورد انتظار ( $H_E$ )، آل‌های واقعی ( $N_A$ ) و مؤثر ( $N_E$ ) و آل‌های اختصاصی ( $P_A$ ) در جایگاه‌های ریزماهواره چندشکل و در مناطق مختلف نمونه‌برداری ماهی کپور معمولی

| SYP6 | SYP5 | SYP4  | SYP2 | CA7-8 | CA5-6 | CA3-4 | CA1-2 |       |
|------|------|-------|------|-------|-------|-------|-------|-------|
| ۱/۲۹ | ۱/۸۶ | ۹/۶۴  | ۳/۸۶ | ۲/۵۹  | ۴/۳۸  | ۷/۲۲  | ۲/۹۸  | $N_E$ |
| ۲    | ۳    | ۱۲    | ۹    | ۴     | ۷     | ۹     | ۵     | $N_A$ |
| ۰/۲۲ | ۰/۴۳ | ۰/۹۰  | ۰/۷۴ | ۰/۶۱  | ۰/۷۷  | ۰/۸۶  | ۰/۶۶  | $H_E$ |
| ۰/۲۵ | ۰/۱۸ | ۰/۵۵  | ۰/۳۲ | ۰/۴۲  | ۰/۲۷  | ۰/۳۷  | ۰/۹۵  | $H_0$ |
| -    | -    | ۵     | ۴    | ۱     | ۲     | ۲     | -     | $P_A$ |
| ۱/۴۰ | ۱/۸۶ | ۱۱/۸۵ | ۳/۴۷ | ۲/۴۱  | ۴/۷۵  | ۴/۵۹  | ۳/۶۱  | $N_E$ |
| ۳    | ۳    | ۱۵    | ۱۰   | ۵     | ۶     | ۸     | ۶     | $N_A$ |
| ۰/۲۸ | ۰/۴۶ | ۰/۹۲  | ۰/۷۱ | ۰/۵۸  | ۰/۷۹  | ۰/۷۸  | ۰/۷۲  | $H_E$ |
| ۰/۳۲ | ۰/۱۲ | ۰/۸۲  | ۰/۵۲ | ۰/۳۲  | ۰/۵۵  | ۰/۳۳  | ۰/۷۷  | $H_0$ |
| -    | -    | ۱     | ۱    | -     | -     | ۲     | ۱     | $P_A$ |
| ۱/۳۶ | ۱/۹۷ | ۱۰/۱۹ | ۴/۹۵ | ۲/۶۱  | ۴/۱۸  | ۶/۵۳  | ۳/۳۷  | $N_E$ |
| ۳    | ۳    | ۱۵    | ۱۲   | ۵     | ۸     | ۱۱    | ۶     | $N_A$ |
| ۰/۲۷ | ۰/۴۹ | ۰/۹۰  | ۰/۸۰ | ۰/۶۲  | ۰/۷۶  | ۰/۸۴  | ۰/۷۰  | $H_E$ |
| ۰/۳۰ | ۰/۱۲ | ۰/۷۵  | ۰/۶۲ | ۰/۲۲  | ۰/۶۵  | ۰/۴۵  | ۰/۹۲  | $H_0$ |
| -    | -    | ۲     | ۲    | ۱     | -     | ۲     | -     | $P_A$ |

گیلان

مازندران

گلستان

۱۹۷۲) بین مناطق نمونه‌برداری را نشان می‌دهد. بر پایه نتایج، اختلاف ناخالصی مشاهده شده بین مناطق گلستان و گیلان، همچنین بین گلستان و مازندران معنادار است ( $P < ۰/۰۱$ ).

#### ۴. بحث و نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج، در ۱۲۰ نمونه بررسی شده، میانگین تعداد آل‌های مشاهده شده ۷/۰۸ و میانگین تعداد آل‌های مؤثر ۴/۲۹ بود. با توجه به اینکه تعداد آل‌های مشاهده شده در هر جایگاه ژنی به شدت تحت تأثیر اندازه نمونه است، این امکان هست که در مطالعات مختلف با تعداد نمونه‌های متفاوت تعداد آل‌های واقعی مختلفی برای یک جایگاه به دست آید (Peakal & Smous, 2006).

محاسبه ضرایب افت ناخالصی نشان می‌دهد که در مناطق نمونه‌برداری و در همه جایگاه‌ها به استثنای جایگاه CA1-2 در مناطق سه‌گانه افزایش ناخالصی یا به عبارت دیگر بیشتر بودن مقادیر  $H_E$  نسبت به  $H_0$  دیده می‌شود. در بررسی حاضر بیشترین مقدار شاخص شانون در جایگاه SYP4 در نمونه‌های مازندران (۲/۵۷) و کمترین مقدار آن (۰/۵۳) در جایگاه SYP6 در نمونه‌های گلستان مشاهده شد.

بر اساس نتایج آزمون کای (جدول ۴) در هر سه منطقه گیلان، مازندران و گلستان و جایگاه‌های مختلف ریزماهواره، به جز جایگاه SYP6، انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ مشاهده شده است ( $P < ۰/۰۵$ ).

جداول ۵ و ۶ مقدار  $F_{ST}$  بر اساس آزمون AMOVA، جریان ژنی و فاصله ژنتیکی ( Nei, )

جدول ۴. نتایج آزمون مربع کای ( $\chi^2$ ) برای تعادل هاردی-واینبرگ در جایگاه‌های ریزماهوره چندشکل در مناطق مورد مطالعه

| منطقه    | جایگاه   | CA 1-2 | CA 2-3 | CA 5-6 | CA 7-8 | SYP 2 | SYP 4 | SYP 5 | SYP 6 |
|----------|----------|--------|--------|--------|--------|-------|-------|-------|-------|
| گیلان    | df       | ۱۵     | ۵۵     | ۲۸     | ۱۰     | ۶۶    | ۱۰۵   | ۳     | ۳     |
|          | $\chi^2$ | ۴۷/۵   | ۱۶۰/۹  | ۷۱/۴   | ۵۲/۸   | ۱۳۹/۲ | ۲۱۲/۸ | ۲۸/۷  | ۱/۲   |
|          | p        | ۰/۰۰   | ۰/۰۰   | ۰/۰۰   | ۰/۰۰   | ۰/۰۰  | ۰/۰۰  | ۰/۰۰  | ۰/۷۴  |
|          | Pro.     | ***    | ***    | ***    | ***    | ***   | ***   | ***   | ns    |
| مازندران | df       | ۱۵     | ۲۸     | ۱۵     | ۱۰     | ۴۵    | ۱۰۵   | ۳     | ۳     |
|          | $\chi^2$ | ۴۱/۹   | ۱۱۱/۶  | ۹۰/۱   | ۶۰/۵   | ۱۳۳/۴ | ۲۲۰/۱ | ۲۸/۱  | ۱/۵   |
|          | p        | ۰/۰۰   | ۰/۰۰   | ۰/۰۰   | ۰/۰۰   | ۰/۰۰  | ۰/۰۰  | ۰/۰۰  | ۰/۶۸  |
|          | Pro.     | ***    | ***    | ***    | ***    | ***   | ***   | ***   | ns    |
| گلستان   | df       | ۱۰     | ۳۶     | ۲۱     | ۶      | ۳۶    | ۶۶    | ۱     | ۳     |
|          | $\chi^2$ | ۸۵/۸   | ۱۶۴/۷  | ۱۴۵/۱  | ۴۰/۴   | ۱۹۲/۳ | ۲۱۰/۸ | ۱۵/۴  | ۰/۸   |
|          | p        | ۰/۰۰   | ۰/۰۰   | ۰/۰۰   | ۰/۰۰   | ۰/۰۰  | ۰/۰۰  | ۰/۰۰  | ۰/۸۴  |
|          | Pro.     | ***    | ***    | ***    | ***    | ***   | ***   | ***   | ns    |

df: درجه آزادی،  $\chi^2$ : مجموع مربعات، p: احتمال، Pro.: معناداریجدول ۵. مقدار  $F_{ST}$  محاسبه شده برای مناطق مختلف نمونه برداری ماهی کپور معمولی (اعداد بالا  $F_{ST}$  بر اساس آزمون AMOVA، اعداد پایین Nm)

| مناطق    | گلستان | مازندران | گیلان |
|----------|--------|----------|-------|
| گلستان   | ۰/۰۰۰  | ۰/۰۲۸    | ۰/۰۲۲ |
| مازندران | ۸/۵۴   | ۰/۰۰۰    | ۰/۰۰۴ |
| گیلان    | ۱۰/۹۴  | ۶۹/۵۱    | ۰/۰۰۰ |

جدول ۶. فواصل و شباهت ژنتیکی بین مناطق مختلف نمونه برداری ماهی کپور معمولی (اعداد بالا فاصله ژنتیکی و اعداد پایین شباهت ژنتیکی)

| مناطق    | گلستان | مازندران | گیلان |
|----------|--------|----------|-------|
| گلستان   | ۰/۰۰۰  | ۰/۰۸۴    | ۰/۰۷۳ |
| مازندران | ۰/۹۶۰  | ۰/۰۰۰    | ۰/۰۳۳ |
| گیلان    | ۰/۹۳۰  | ۰/۹۷۰    | ۰/۰۰۰ |

جمعیت میزان ناخالصی است (Brightte *et al.*, 2005). در این بررسی در هر سه منطقه نمونه برداری شده و در همه جایگاه‌ها، به غیر از جایگاه ACI-2، ناخالصی مشاهده شده نسبت به ناخالصی قابل انتظار کمتر بود. کاهش ناخالصی مشاهده شده نسبت به ناخالصی قابل انتظار

میانگین ناخالصی مشاهده شده در سه منطقه نمونه برداری ۰/۴۷ و ناخالصی قابل انتظار در کل مناطق ۰/۶۶ به دست آمد، که بالابودن دامنه ناخالصی در ماهی کپور دریای خزر بیانگر سطح بالای تنوع ژنتیکی آن در مناطق مختلف نمونه برداری است. به همین دلیل، معمول ترین معیار تنوع ژنتیکی در یک

مازندران در تمامی جایگاه‌های مورد بررسی به استثنای جایگاه SYP6 نشان می‌دهد ( $P < 0/05$ ).

Zhou *et al.* (2003) ارزیابی تنوع ژنتیکی، انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ را به آل‌های صفر و تلاقی خویشاوندی نسبت دادند. Dahle *et al.* (2006)، ضمن بررسی ترکیب ذخایر ماهی روغن، *Gadus morhua* انحراف در تعادل هاردی-واینبرگ را به علت افزایش خلوص، آل‌های صفر، رانش ژنتیکی، انتخاب، مخلوط شدن جمعیت‌های مختلف و غیرکافی بودن نمونه‌ها می‌دانند. همچنین، Kitanishii *et al.* (2008) انحراف از تعادل مشاهده‌شده در مطالعه ساختار جمعیتی آزاد ماهی ماسو، *Oncorhynchus masou* را به خطای نمونه‌برداری نسبت دادند. به طور کلی، عوامل مختلفی در انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ دخالت دارند که مجموعه‌ای از عوامل از جمله تکثیر مصنوعی و برنامه‌های بازسازی ذخایر ماهی کپور معمولی در ایجاد انحراف از تعادل دخیل‌اند.

فاکتور  $F_{ST}$  بیان‌کننده تمایز جمعیت در سطوح مختلف ساختار ژنتیکی است و بیانگر آن است که هرچه میزان جریان ژنی بین مناطق بیشتر باشد، اختلاف ژنتیکی کمتر است. در این بررسی بیشترین مقدار  $F_{ST}$  بین دو منطقه گلستان و مازندران (0/028) بود. همچنین، بیشترین فاصله ژنتیکی بین نمونه‌های همین مناطق (0/084) محاسبه شده است. مقدار  $F_{ST}$  بین صفر تا 0/05 نشان‌دهنده تمایز ژنتیکی پایین، بین 0/05 تا 0/15 تمایز متوسط، بین 0/15 تا 0/25 تمایز بالا و بیش از 0/25 تمایز ژنتیکی خیلی بالاست (Jaime *et al.*, 2005). در این مطالعه میزان تمایز بین جمعیت‌های بررسی‌شده در محدوده تمایز ژنتیکی کم قرار دارد. یکی از علت‌های اصلی تمایز ژنتیکی کم در

نشان‌دهنده کاهش در تغییرپذیری ژنتیکی نمونه‌هاست. علت این کاهش تنگناهای ژنتیکی است که احتمالاً بر اثر شرایط زیست‌محیطی، تخریب زیستگاه‌های طبیعی و آمیزش‌های خویشاوندی رخ می‌دهد که در نتیجه با گذشت زمان موجب کاهش آل‌ها و کاهش ناخالصی در ذخایر می‌شود (Norris *et al.*, 1999).

بیشترین مقدار ناخالصی مشاهده‌شده در نمونه‌های سواحل گلستان دیده شد که نشان‌دهنده بالابودن تنوع در این ناحیه نسبت به جمعیت‌های نواحی دیگر است. از دلایل بالابودن تنوع ژنتیکی در سواحل گلستان می‌توان به رودخانه‌های تجن و گرگان‌رود، خلیج گرگان و تالاب گمیشان اشاره کرد که محل‌های مناسب زیست و تخم‌ریزی ماهی کپورند. با توجه به مزارع پرورشی متعدد در این منطقه، احتمالاً فرار ماهیان پرورشی از این مزارع و راهیابی آن‌ها به رودخانه‌ها باعث افزایش تنوع ژنتیکی در این ناحیه شده است. به طور کلی، تغییرات شرایط اقلیمی (شوری بالا، نوع بستر، نوع تغذیه و جزآن)، وجود خلیج گرگان و در جوار آن مزارع پرورش ماهی، تالاب گمیشان و رودخانه گرگان‌رود باعث شده که نمونه‌های سواحل استان گلستان نیز از تنوع ژنتیکی متفاوتی نسبت به نمونه‌های سایر مناطق برخوردار شود. علاوه بر این، نتایج نشان داده که مقدار  $N_E$  از  $N_A$  در همه مناطق نمونه‌برداری کمتر است، که یکی از دلایل آن تغییر نسبت جنسیت ماهیان است. مطالعات Ghaninejad *et al.* (2002) نشان داد که نسبت جنسی ماهی کپور ۱:۱ نیست و غالبیت با جنس ماده است.

نتایج مطالعه حاضر نیز انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ در مناطق گلستان، گیلان و

قلیچ‌پور و همکاران (۱۳۸۹) مقایسه ساختار ژنتیکی جمعیت کپور معمولی در مناطق قره‌سو و انزلی را با استفاده از هشت جایگاه ریزماهواره انجام داده‌اند. در این بررسی، ناخالصی مورد انتظار و مشاهده شده به ترتیب  $0/90$  و  $1/00$  به دست آمده است. همچنین، مقدار  $F_{ST}$   $0/17$  بود که نشان‌دهنده تمایز ژنتیکی پایین است. همچنین، لالویی و همکاران (۱۳۸۷) جمعیت‌های ماهی کپور حوزه جنوبی دریای خزر را با روش PCR-RFLP بررسی کردند که در نهایت سه گروه ژنتیکی متفاوت شناسایی شد.

در این بررسی با توجه به نتایج (جدول ۵) و اختلاف معنادار میزان  $F_{ST}$  بین مناطق مختلف نمونه‌برداری می‌توان گفت که سه گروه ژنتیکی متفاوت از این گونه در حوزه جنوبی دریای خزر یافت می‌شود. این نتیجه مشابه نتایج مطالعات قبلی است (Laloei et al., 2008). این تفاوت بین سه گروه ممکن است به علت عواملی از جمله وجود مزارع پرورشی متعدد در جوار رودخانه‌ها، تکثیر مصنوعی، نوع و شرایط زیست متفاوت (تغییرات محیطی) و جزآن باشد. به طور کلی، با توجه به موارد فوق، به خصوص تکثیر مصنوعی و صید غیرمجاز در رودخانه‌ها که منجر به حذف مولدان می‌شود، اتخاذ تدابیر لازم برای حفظ و تقویت تنوع ژنتیکی این ماهی ضروری است.

ماهی کپور معمولی، برقراری جریان ژنی احتمالی در دریای خزر (محدوده مطالعاتی) است. همچنین، مشابه بودن تقریبی شرایط زیست و نبود موانع فیزیکی در دریای خزر در مسیر حرکت ماهیان از دیگر عوامل پایین بودن تمایز ژنتیکی است. میزان جریان ژنی در مناطق مختلف بین  $8/54$  تا  $69/51$  متغیر بود که ظاهراً بیانگر مهاجرت در مناطق مورد بررسی است. از دیگر عوامل بالابودن جریان ژنی روش رهاسازی بیچه‌ماهیان حاصل از تکثیر مصنوعی است که بدون توجه به محل صید مولدان در محل‌های مختلف رهاسازی می‌شوند.

$F_{ST}$  به طور معمول در توصیف تمایز جمعیت در سطوح مختلف ساختار ژنتیکی استفاده می‌شود و مستقیماً یا از ارتباط با تعداد مهاجرت مؤثر برآوردکننده تمایزند. هدف اصلی حفاظت از ماهیان نگهداری دامنه وسیعی از تنوع ژنتیکی است. سازگاری و بقای گونه‌ها هنگامی حفظ می‌شود که تغییرپذیری ژنتیکی موجود از دست نرود (Skaala et al., 2005).

Thai et al. (2007) تنوع ژنتیکی کپور معمولی را با استفاده از چهار جایگاه ریزماهواره‌ای در ویتنام بررسی کردند. در این مطالعه میانگین تعداد آلل‌ها  $4/25$  تا  $11$  و میانگین ناخالصی مشاهده شده  $0/40$  تا  $0/83$  بود.



## References

- [1]. Alarcon, J.A., Magoulas, A., Alvarez, M.C., 2004. Genetic comparison of wild and collative European population of the gill head sea bream. *Aquaculture* 230, 65-80.
- [2]. Bartfai, R., Egedi, S., Yue, G.H., Kovacs, B., Urbanyi, B., Tamas, G., Horvath, L., Orban, L., 2003. Genetic analysis of two common carp brood stocks by RAPD and microsatellite markers. *Aquaculture* 219, 157-167.
- [3]. Brigitte, J., Hansen, M., Loeschker, V., 2005. Microsatellite DNA analysis of northern pike (*Esox lucius*) populations: Insights into the genetic structure and demographic history of a genetically depauperate specious. *Biology Journal of Linnaean Society* 84, 1-11.
- [4]. Cataudella, S., Sola, L., Corti, M., Arcangeli, R., La Rosa, G., Mattoccia, M., Coboldi Sbordoni, M., Sbordoni, V., 1987. Cytogenetic, genic and morphometric characterization of groups of common carp. *Cyprinus carpio*. In: Tiews, K. (Ed), Proc. World Symp. On Selection, Hybridization, and Genetic Engineering in Aquaculture, Bordeaux 27-30 May 1986. *Schriften der Bundesanstalt fur Fisheries Hamburg* 1, 113-129.
- [5]. Csizmadia, C., Jeney, Z., Szerencses, I., Gorda, S., 1995. Transferrin polymorphism of some race in a live gene bank of common carp. *Aquaculture* 129, 193-198.
- [6]. 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. *Journal of Fish Biology* 63, 209-215.
- [7]. Daryanabard, G., Abdolmaleki, S., Bandani, A., Kor, D., 2007. Stock assessment of bony fish in the Caspian Sea. Fisheries research organization of Iran, 89 pp.
- [8]. Desvignes, J.F., Laroche, J., Durand, J.D., Bouvet, Y., 2001. Genetic variability in reared stocks of common carp (*Cyprinus carpio* L.) based on allozymes and microsatellites. *Aquaculture* 194, 291-301.
- [9]. Dimsoski, P., Toth, G.P., Bagley, M.J., 2000. Microsatellite characterization in central stoneroller *Camp stoma anomalous* (Pisces: Cyprinidae). *Molecular Ecology* 9, 2187-2189.
- [10]. Froufe, E., Magyary, L., Lehocky, I., Weiss, S., 2002. mtDNA sequence data supports an Asian ancestry and single introduction of the common carp into the Danube Basin. *Journal of Fish Biology* 61, 301-304.
- [11]. Fevolden, S.E., 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* 51, 895-908.
- [12]. Ghaninejad, D., Sayadborani, M., Pourgholami, A., Fazli, H., Abasi, K., Bandani, A., 2002. Stock assessment of bony fish in the Caspian Sea. Fisheries research organization of Iran, 95 pp.
- [13]. Ghelichpour, M., Shabani, A., Shabanpourm B., 2008. Genetic diversity of two populations of Common carp in Gharasu and regions using microsatellite markers. *Taxonomy and Biosystematics* 5, 41-48.
- [14]. Helfman, G.S., Collet, B.B., Facey, D.E., 1997. The diversity of fishes. Blackwell Science, Malden, MS, 258 pp.
- [15]. Jaime, C., Ania, P., Miguel, H., Carmen, B., 2005. A microsatellite marker tool for parentage analysis in Senegal sole (*Solea senegalensis*): Genotyping errors, null alleles and conformance to theoretical assumptions. *Aquaculture* 261, 1194-1203.
- [16]. Kitanishi, S., Yamamoto, T., Higashi, S., 2008. Microsatellite variation reveals fine-scale genetic structure of masu salmon, *Oncorhynchus masou*, within the Atsuta River. *Ecology of Freshwater Fish* 32, 1-7.
- [17]. Kirpichnikov, V.S., 1999. Methods and Effectiveness of Rop-sha Carp Breeding. *ommunication*

- I. Breeding Aims, Original Forms and Cross System, Russian journal of genetic 8, 65–72.
- [18].Kohlmann, K., Gross, R., Murakaeva, A., Kersten, P., 2003. Genetic variation and structure of common carp populations throughout the distribution range inferred from allozyme, microsatellite and mtDNA marker. Aquatic Living Resource 16,421-431.
- [19].Laloei, F., Rezvani gilkolaei, S., Fatemi, S.M.R., Taghavi, M.J., 2008. Investigation of population genetic structure of Common carp in the south Caspian Sea using mtDNA method (PCR-RFLP). Iranian Scientific Fisheries Journal 17, 89-102.
- [20].Macaranas, J. M., Sato, J., Fujio, Y., 1986. Genetic characterization of culture populations of Japanese common carp. Tohoku Journal of Agricultural Research 37, 21-29.
- [21].Nei, M., 1972. Genetic distance between populations. American Naturalist 106, 283-292.
- [22].Nei, M., 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals Genetics. American Naturalist 89,583-590.
- [23].Norris, A.T., Bradley, D.G., Cunningham, E.D., 1999. Microsatellite genetic variation between and within farmed and wild Atlantic salmon populations. Department of Genetics, Trinity College Dublin, Ireland 247-264.
- [24].Peakall, M., Smouse, P.E., 2006. Gene Alex 6: Genetic analysis in Excel .Population genetic software for teaching and research. Molecular Ecology Resources 6, 288-295.
- [25].Skaala, Q., Hoyheim, B., Glover, K., Dahle, G., 2005. Microsatellite analysis in domesticated and Wild Atlantic salmon (*Salmo salar L.*): Allelic diversity and identification of individuals. Aquaculture 240, 131-143.
- [26].Sumantadinata, K., Taniguchi, N., 1990. Comparison of electrophoretic allele frequencies and genetic variability of common carp stocks from Indonesia and Japan. Aquaculture 88, 263-271.
- Tanck, M.W.T., Baars, H.C.A., Kohlmann, K., Van der Poel, J.J., Komen, J., 2001. Genetic characterization of wild Dutch common carp (*Cyprinus carpio L.*). Agriculture Resource 31, 779-783.
- [27].Thai, B.T., Pham, T.A., 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.
- [28].Thai, B.T., Burrige, C.P., Austin, C.M., 2007. Genetic diversity of common carp (*Cyprinus carpio L.*) in Vietnam using four microsatellite loci. Aquaculture 269, 174–186.
- [29].Turner, F., Dowling, T.E., Broughton, R.E., gold, J.R., 2004. Variable microsatellite marker amplify across divergent lineages of Cyprinidae fishes. Conservation Genetic 5, 279-281.
- [30].Zhou, J.F., Wu, Q.J., Ye, Y.Z., 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. Genetic 119, 93-97.