شیلات، مجله منابع طبیعی ایران
دوره ۶۸، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۴
ص ۴۶۷-۴۷۷

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۰/۱۷
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۷/۲۹

تنوع ژنتیکی اردک‌ماهی (*Esox lucius*; Linnaeus, 1758) در شرق دریای خزر با استفاده از نشانگر ریزماهواره

❖ **محمدرضا کلباسی*:** استاد گروه شیلات دانشکدهٔ منابع طبیعی دانشگاه تربیت مدرس، نور
❖ **مونا تبرک:** کارشناس ارشد رشتهٔ تکثیر و پرورش آبزیان دانشگاه تربیت مدرس، نور
❖ **محمدصادق علوی یگانه:** استادیار گروه زیست‌شناسی دریا دانشگاه تربیت مدرس، نور

چکیده

اردک‌ماهی یکی از گونه‌های اقتصادی و باارزش حوزهٔ جنوبی دریای خزر است که اطلاعات دربارهٔ جمعیت‌های مختلف آن در حوزهٔ جنوبی خزر در دسترس نیست. با توجه به اهمیت شناخت تنوع ژنتیکی در مدیریت ذخایر و حفاظت از گونه‌ها در این مطالعه از هفت جفت آغازگر ریزماهواره‌ای برای بررسی ۹۰ نمونه اردک‌ماهی از سه منطقهٔ دهانهٔ رودخانهٔ تجن، آب‌بندان‌های ایزدشهر و تالاب لپوی زاغمرز واقع در استان مازندران استفاده شد. میانگین تعداد آلل مشاهده‌شده در نمونه‌های رودخانهٔ تجن ۰/۲۸۶ و ایزدشهر ۱/۰۱۰ و تالاب لپوی ۰/۸۰۰ و میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده و مورد انتظار برای مجموع نمونه‌ها به ترتیب ۰/۳۸۳ و ۰/۶۲۱ محاسبه شد. نتایج آزمون انحراف از تعادل هاردی- واینبرگ نشان داد که تنها یکی از نمونه‌ها در تعادل قرار داشت. با توجه به نتایج، علائمی از تنگنای ژنتیکی در جمعیت‌ها دیده شد. دندروگرام ترسیمی و آزمون واریانس مولکولی بیانگر وجود سه جمعیت مجزا در سه منطقهٔ مورد مطالعه بود که می‌بایست در مدیریت ذخایر این گونه مورد توجه قرار گیرد.

واژگان کلیدی: اردک‌ماهی، تالاب لپوی زاغمرز، تعادل هاردی- واینبرگ، خزر، ریزماهواره.

* نویسندهٔ مسئول تلفکس: ۰۹۱۱۲۲۰۴۳۳۶
Email: kalbassi_m@modares.ac.ir

Archive of SID
www.SID.ir

۱. مقدمه

تنوع ژنتیکیْ قابلیت بقای یک گونه یا جمعیت را از طریق ایجاد توانایی سازگاری با تغییرات محیطی تعیین می‌کند و از این رو برای بقای طولانی‌مدت یک گونه ضروری است (Bataillon *et al.*, 1996). در منابع آب شیرین نیز، تنوع ژنتیکی اهمیتی حیاتی در مدیریت و حفاظت از گونه‌ها دارد و به‌منزلهٔ اولین پیش‌نیاز برای حفظ سازگاری جمعیت‌ها در شرایط محیطی در حال تغییر قلمداد می‌شود (Diz and Persa, 2009). بسیاری از عوامل تکاملی در میزان و پراکنش تنوع ژنتیکی در میان جمعیت‌ها و در نتیجه اختلاف جمعیت‌ها تأثیرگذارند (Felsenstein, 1985).

آگاهی از میزان ذخایر توارثی و تنوع ژنتیکی بین افراد یک گونه از اهداف ارزشمند مدیریت ذخایر و اصلاح نژاد است، به طوری که بررسی‌های ژنتیک جمعیت یا اکولوژی مولکولی ماهیان باارزش اقتصادی به منظور حفاظت از جمعیت آن‌ها و حفظ صید پایدار بسیار ضروری است (Wang *et al.*, 2007). هم‌اکنون، کاهش ذخایر آبزیان در اکثر نقاط دنیا توجه محققان را به اعمال روش‌های دقیق مولکولی برای مدیریت ذخایر آبزیان جلب کرده است (Lin *et al.*, 2002). در ابتدا ارزیابی ساختار ذخایر، تشخیص گونه‌ها و جمعیت‌ها با استفاده از صفات مورفومتریک و مریستیک صورت می‌گرفت، اما با توجه به حساسیت بالای این صفات به تغییرات محیطی و آثار منفی دستکاری در نشانه‌گذاری بر سلامت ماهیان همچنین، محدودبودن تفسیر داده‌های حاصل از آن، علم استفاده از نشانگرهای مولکولی، همچون ریزماهواره‌ها، آلوزایم و RAPD برای شناسایی ساختار ژنتیکی ذخایر توسعه یافت (Verapoor and Jordan, 1989).

ریزماهواره‌ها توالی‌های تکرارشونده از توالی DNA هستند، که به‌منزلهٔ نشانگری جمعیتی به‌سرعت در حال جایگزینی با دیگر نشانگرهایند و کاربردهای فراوانی در زمینهٔ ژنتیک تکامل و حفاظت دارند (Ward *et al.*, 2002). نشانگر ریزماهواره‌ها دارای چندریختی بالایی است به طوری که می‌تواند برای آنالیزهای ژنتیک جمعیت، به‌ویژه در مورد جمعیت‌هایی که در دیگر نشانگرها تنوع کمی نشان می‌دهند، بسیار مفید باشد (Evans *et al.*, 2004) و امروزه نشانگرهای مولکولی به طور مستقیم قادرند پراکندگی و تنوع ژنتیکی را تشخیص دهند (Ferguson *et al.*, 1995). بنابراین، یکی از ضروریات اصلی مدیریت علمی ذخایر شناخت ذخایر و جمعیت‌های تشکیل‌دهندهٔ آن گونه است.

اردک‌ماهی با نام علمی *Esox lucius* متعلق به خانوادهٔ اردک‌ماهیان است. اعضای این خانواده عمدتاً ساکن آب شیرین و لب شورند و به طور گسترده در نیمکرهٔ شمالی زمین پراکنده‌اند. ارزش بالای اردک‌ماهی از نظر کیفیت بالای گوشت، داشتن استخوان‌های کم، پایین‌بودن مقدار چربی (۰/۵ تا ۱/۲ درصد) و پروتئین بالا (۱۸/۷ تا ۱۹ درصد) باعث شده تا این گونه جایگاه ویژه‌ای از نظر تغذیه‌ای در بین مردم دنیا به خود اختصاص دهد و نقش اقتصادی مهمی را در بازارهای منطقه‌ای و ملی ماهی ایفا کند. هم‌اکنون عمدهٔ صید اردک‌ماهی در ایران از تالاب انزلی صورت می‌گیرد و زندگی و معیشت بسیاری از صیادان منطقه به آن وابسته است، اما پراکنش این گونه محدود به این تالاب نیست و در اغلب

Archive of SID

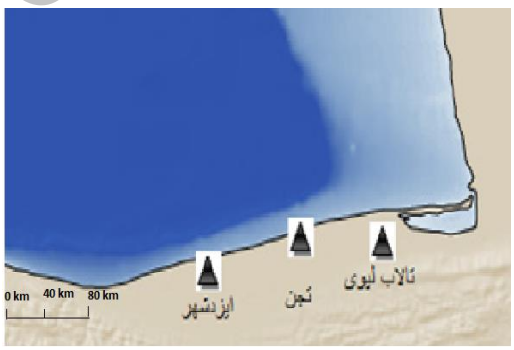
www.SID.ir

تالاب‌های حاشیه‌ای جنوب خزر زیست می‌کند که این زیستگاه‌ها با توجه به مساحت کم‌تر و به‌تبع وجود جمعیت پایهٔ اندک از حساسیت‌های بیش‌تری برخوردار است و ذخایر ژنی محدودتری را دربر می‌گیرد.

متأسفانه با وجود اهمیت موضوع، هیچ اطلاعاتی در خصوص جمعیت‌های مختلف اردک‌ماهی در ایران در دسترس نیست (Coad, 2012) و تاکنون هیچ‌گونه مطالعه‌ای دربارهٔ جمعیت‌شناسی و وضعیت ژنتیکی این گونهٔ ارزشمند صورت نگرفته است. با توجه به ضروری‌بودن این اطلاعات برای مدیریت ذخایر این گونه و امکان استفاده از این اطلاعات در برنامه‌های بازسازی ذخایر و حفظ تنوع این ماهی، این مطالعه با هدف بررسی ساختار ژنتیکی اردک‌ماهی در سواحل شرقی دریای خزر در استان مازندران و زیستگاه‌های اصلی این گونه یعنی منطقهٔ تالاب لپوی زاغمرز، ایزدشهر و رودخانهٔ تجن با روش مولکولی و استفاده از هفت جایگاه ریزماهواره بررسی شده است. با هدف تعیین تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیت اردک‌ماهی تالاب انزلی، به‌منزلهٔ یکی از گونه‌های باارزش تالاب انزلی، و با استفاده از نشانگرهای میکروستلایت تنوع ژنتیکی و جمعیت‌های احتمالی شناسایی می‌شود.

۲. مواد و روش‌ها

۹۰ عدد اردک‌ماهی از رودخانهٔ تجن، آب‌بندان‌های ایزدشهر و تالاب لپوی زاغمرز در سال ۱۳۹۱ نمونه‌برداری شد (شکل ۱).



	N	E
تالاب لپو	۳۶ ۴۹ ۲۱	۵۳ ۲۰ ۱۲
امیر کلایه	۳۶ ۳۸ ۶۵	۵۲ ۳۷ ۷۰
ایزدشهر	۳۶ ۳۴ ۰۹	۵۲ ۱۱ ۱۵

شکل ۱. مناطق نمونه‌برداری اردک‌ماهی

به منظور مطالعهٔ مولکولی حدود ۳-۲ گرم از بافت بالهٔ سینه‌ای هر ماهی جدا و تا زمان استخراج DNA نگهداری شدند. استخراج DNA به روش فنل- کلروفرم (Hillis *et al.*, 1996) انجام پذیرفت. DNAاستخراج‌شده پس از افزودن ۱۰۰ میکرولیتر آب مقطر دوبارتقطیر تا زمان انجام مطالعات در فریزر نگهداری شد. کیفیت و کمیت DNA استخراجی نیز با استفاده از ژل آگاروز یک درصد و روش اسپکتروفتومتری تعیین شد.

۱.۲. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز و الکتروفورز

به منظور بررسی تنوع ژنتیکی از هفت جفت نشانگر ریزماهوارهٔ Elu19، Elu51، Elu78، Elu87، EluB38INRA، Elu276 (Launey *et al.*, 2003 و Miller *et al.*, 1996) استفاده شد (جدول ۱).

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱. خصوصیات جایگاه‌های به‌کار برده‌شده

کد آغازگر	توالی آغازگر	طول آلل
Elu19	CATCATGAACATTCAGACGC GAGATGCTAATTCATCCACTG	۱۴۷,۱۴۹,۱۵۵
Elu51	GTGGGCATTCAGCCGATATAGC CTGTCTCATTACTGCCTGGCTC	۱۳۸,۱۵۰
Elu76	ACCACATTCCACATCTGATGG AATCCCTTATTCTGACCCTGC	۱۶۵,۱۶۷
Elu78	CTAGAGGGGGAAAACAAACC CACTGTCCATCATCACCCCTCTC	۱۳۲,۱۳۶
Elu87	AGCACTGCCACACATGACGTG CCAGCTGCCTCAGATTGCTCCCC	۱۵۳,۱۵۷,۱۶۱
Elu276	CTCTCACAGTTCAAAGATGGC TCTTTAAACTGGGGGGGAGGAAAG	۱۴۹,۱۶۵
EluB38INRA	TGTCAGTGTGACTTGCTCC GTATTGTCAGCATTTCAGCTC	۱۸۸,۱۷۰

جایگاه‌ها با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در حجم ۲۵ میکرولیتر شامل ۱۵ نانوگرم DNA، ۰/۵ میکرومولار از هر پرایمر، ۴۰۰ میکرومولار از نوکلئوتیدها، یک واحد بین‌المللی تگ DNA پلیمراز، ۱/۵ میلی‌مولار بافر 1X PCR، ۱/۵ میلی‌مولار کلرید منیزیم و آب مقطر تا رسیدن به حجم انجام گرفت. سیکل دمایی برای هر جایگاه عبارت بود از یک سیکل ۳ دقیقه‌ای در ۹۴ درجه، ۳۰ سیکل شامل ۹۴ درجه برای ۳۰ ثانیه، ۶۰ درجه برای ۴۰ ثانیه به منظور اتصال آغازگر به مدت ۳۰ ثانیه، بسطی نهایی در دمای ۷۲ درجه برای ۳ دقیقه و در انتها ۲۰ دقیقه در دمای ۷۲ درجهٔ سانتی‌گراد. محصول واکنش زنجیره‌ای پلیمراز روی ژل پلی‌آکریل‌آمید ۶ درصد (غیریونیزه) جداسازی شد. سپس ژل‌ها به روش نیترات نقره (Sambrook *et al.*, 1989) رنگ‌آمیزی شدند و پس از تهیهٔ تصویر با دستگاه مستندساز ژل، از نرم‌افزار Gel pro analyzer برای محاسبهٔ طول قطعات استفاده شد. تعداد آلل مشاهده‌شده و مؤثر، هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده (Ho) و مورد انتظار (He) با استفاده از نرم‌افزار Genealex (Peakall and Smouse, 2006) محاسبه شد. برای تست انحراف از تعادل هاردی- واینبرگ، مقایسه بین هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده و مورد انتظار همچنین معنی‌داربودن احتمال کسری هتروزیگوسیتی یا زیادبودن هتروزیگوسیتی از نرم‌افزار Genepop (Raymond and Rousset, 1995) استفاده شد. به منظور تعیین تنوع ژنتیکی درون و بین‌جمعیتی همچنین، میزان تمایز بین جمعیتی بر اساس مدل آللی بی‌نهایت (Fst) با استفاده از آنالیز واریانس مولکولی (AMOVA) بستهٔ نرم‌افزاری Genealex استفاده شد. تعیین فاصله و شباهت ژنتیکی نئی و رابطهٔ تکاملی بین جمعیت‌ها با استفاده از ترسیم درخت UPGMA نیز با استفاده از نرم‌افزار PopGene (Yeh *et al.*, 1999) صورت گرفت.

Archive of SID

www.SID.ir

شکل ۲. دندروگرام UPGMA برای نشان‌دادن روابط فیلوژنتیک بین نمونه‌های مناطق مختلف ایزدشهر، رودخانهٔ تجن و تالاب لپوی زاغمرز

۳. نتایج

هر هفت جفت آغازگر مورد استفاده چندشکلی را نشان دادند و بیش‌ترین تعداد آلل مشاهده‌شده در جایگاه EluB38 (۹) و کم‌ترین تعداد آلل مشاهده‌شده از جایگاه Elu76 (۲) بود. تعداد متوسط آلل‌های مشاهده‌شده و مؤثر در تالاب لپوی زاغمرز به ترتیب ۳/۸۵۷ و ۳/۱۵۰، در آب‌بندان‌های ایزدشهر ۳/۸۵۷ و ۳/۶۳۲ و در رودخانهٔ تجن ۳/۲۸۶ و ۲/۹۴۲ به دست آمد. میانگین مقادیر هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده (Ho) و مورد انتظار در کل نمونه‌ها (He) ۰/۳۸۳ و ۰/۶۲۱ به دست آمد (جدول ۲).

جدول ۲. تنوع ژنتیکی هفت جایگاه مورد مطالعه در سه جمعیت اردک‌ماهی

		Elu19	Elu51	Elu76	Elu78	Elu87	Elu276	EluB38INRA
رودخانهٔ تجن	N_a	۳	۳	۳	۳	۳	۳	۵
	N_e	۲/۵۷۱	۲/۸۶۶	۲/۵۷۱	۲/۶۳۲	۲/۷۷۸	۲/۶۳۲	۴/۵۴۵
	H_o	۰/۳۳۳	۰/۲۶۷	۰/۳۰۰	۰/۱۳۳	۰/۲۰۰	۰/۶۰۰	۰/۷۳۳
	H_e	۰/۶۱۱	۰/۶۵۱	۰/۶۱۱	۰/۶۲۰	۰/۶۴۰	۰/۶۲۰	۰/۷۸۰
	pHw	*	**	***	***	***	***	***
ایزدشهر	N_a	۲	۵	۵	۲	۲	۲	۹
	N_e	۱/۹۶۵	۵/۰۰۰	۴/۵۰۰	۱/۹۹۱	۸/۳۳۳	۳/۸۴۶	۵/۰۰۰
	H_o	۰/۲۰۰	۰/۸۰۰	۰/۳۳۳	۰/۲۶۷	۰/۰۶۷	۰/۱۳۳	۱/۰۰۰
	H_e	۰/۴۹۱	۰/۸۰۰	۰/۷۷۸	۰/۴۹۸	۰/۴۹۸	۰/۳۹۱	۰/۸۸۰
	pHw	**	***	***	*	***	***	***
تالاب لپوی زاغمرز	N_a	۳	۵	۲	۴	۳	۲	۸
	N_e	۲/۴۱۹	۴/۵۹۲	۱/۲۲۰	۳/۰۸۲	۲/۶۶۳	۱/۹۹۱	۶/۰۸۱
	H_o	۰/۲۶۷	۰/۹۳۳	۰/۱۳۳	۰/۳۳۳	۰/۲۶۷	۰/۲۶۷	۰/۴۳۳
	H_e	۰/۵۸۷	۰/۷۸۲	۰/۱۸۰	۰/۶۷۶	۰/۶۲۴	۰/۴۹۸	۰/۸۳۶
	pHw	***	***	ns	***	***	*	***

N_a: تعداد آلل، N_e: تعداد آلل مؤثر

H_o: هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده، H_e: هتروزیگوسیتی مورد انتظار، F_{is}: ضریب درون‌آمیزی

pHw: تست احتمال انحراف از تعادل هاردی- واینبرگ (ns: عدم معنی‌داری، P≤۰/۰۵ *، P≤۰/۰۱ **، P≤۰/۰۰۱ ***)

Archive of SID
www.SID.ir

همچنین بین مناطق مورد بررسی تفاوت معنی‌داری، از نظر میزان هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده و مورد انتظار، مشاهده نشد ($p >$ ۰/۰۵). در بررسی تعادل هاردی- واینبرگ، ۲۰ نمونه از ۲۱ تست مورد بررسی به طور معنی‌داری ($p <$ ۰/۰۵) انحراف از تعادل نشان دادند. متوسط شاخص درون آمیزی (Fis) و جریان ژنی به ترتیب ۰/۴۱۱ و ۱/۴۴۴ را نشان دادند (جدول ۳).

جدول ۳. شاخص Fit، شاخص Fis، میزان جریان ژنی (Nm) و شاخص Fst در میان جایگاه‌های مورد استفاده

	Elu19	۵۱Elu	۷۶Elu	۷۸Elu	۸۷Elu	۲۷۶Elu	۳۸B	میانگین
Fis	۰/۵۲۶	۰/۱۰۴	۰/۴۹۰	۰/۵۹۱	۰ /۶۹۷	۰/۳۳۷	۰/۱۳۲	۰/۴۱۱
Fit	۰/۶۰۵	۰/۲۰۴	۰/۶۰۲	۰/۶۳۳	۰/۷۶۷	۰/۵۵۷	۰/۲۱۲	۰/۵۱۲
Fst	۰/۱۶۶	۰/۱۱۱	۰/۲۲۰	۰/۱۰۳	۰/۲۲۹	۰/۳۳۲	۰/۰۹۲	۰/۱۷۹
Nm	۱/۲۵۳	۱/۹۹۴	۰/۸۸۵	۲/۱۷۷	۰/۸۴۲	۰/۵۰۳	۲/۴۵۶	۱/۴۴۴

شاخص تمایز (Fst)، شاخص همخونی در جمعیت (Fis)، شاخص همخونی در کل نمونه‌ها (Fit)

از نظر تمایز بین مناطق میزان شاخص Fst و Rst به ترتیب بر اساس آنالیز واریانس مولکولی (AMOVA) ۰/۱۷۹ و ۰/۶۰۸ به دست آمد. بر اساس معیار فاصلهٔ ژنتیکی Nei بیش‌ترین میزان شباهت ژنتیکی بین مناطق ایزدشهر و تجن و بیش‌ترین فاصلهٔ ژنتیکی بین ایزدشهر و تالاب لپوی زاغمرز بود. تنوع ژنتیکی بین جمعیت‌ها ۲۳ درصد و درون جمعیت‌ها ۷۷ درصد محاسبه شد. دارنگارهٔ UPGMA به‌دست‌آمده بر اساس مقدار فاصلهٔ ژنتیکی نیز جدایی را بین جمعیت‌های سه منطقهٔ مورد بررسی نشان داد.

۴. بحث و نتیجه‌گیری

امروزه تنوع ژنتیکی یکی از شاخص‌های مهم وضعیت اکولوژیک اکوسیستم‌های آبی است که به‌منزلهٔ ابزاری منحصر به فرد و توانمند برای ارزیابی و مدیریت جوامع زیستی مطرح است (Avise, 2000). تنوع ژنتیکی یکی از سه سطح تنوع زیستی پیشنهادشدهٔ سازمان حفاظت جهانی برای برنامهٔ حفظ ذخایر است (Lucentini *et al.*, 2009).

ریزماهواره‌ها نشانگرهای ژنتیکی‌اند که به صورت گسترده در مطالعات ژنتیک جمعیت گونه‌های پرورشی و وحشی ماهیان استفاده می‌شوند (Liu *et al.*, 2006). در واقع، این نشانگرها ارزش بالایی دارند به طوری که علاوه بر فراوانی بالا در ژنوم همهٔ موجودات، تنوع قطعات تکرارشونده در آن‌ها بالاست که علت آن را می‌توان به نرخ بالای جهش در این نشانگر نسبت داد و از طرفی، به دلیل هم‌بارزبودن، هتروزیگوسیتی و جهش را بهتر از سایر نشانگرها نشان می‌دهد (Liu and Cordes, 2004). با توجه به آمار میزان صید اردک‌ماهی در سال‌های گذشته مشخص می‌شود که حجم تودهٔ زندهٔ این گونهٔ باارزش به علت صید بی‌رویه، آلودگی زیست‌محیطی و تخریب زیستگاه در معرض خطر است، به همین علت نیاز به آگاهی از ذخایر این ماهیان ضروری به نظر می‌رسد، که با وجود اهمیت بالای اردک‌ماهی اطلاعاتی دربارهٔ وضعیت ژنتیکی این ماهی در سواحل جنوبی خزر وجود ندارد.

Archive of SID

www.SID.ir

هتروزیگوسیتی و تعداد آلل‌ها جزو شاخص‌های مهم تنوع ژنتیکی جمعیت‌ها از لحاظ روبه‌روشدن با تغییرات محیطی‌اند (Frankham, 2008) و ویژگی‌هایی همچون قابلیت رقابت و توانایی موجود برای بقا در زیستگاه‌های طبیعی را تعیین می‌کنند (Hakansson and Jensen, 2005). کاهش تعداد آلل‌های مشاهده‌شده در سطح جمعیتی می‌تواند بیانگر کاهش تنوع ژنتیکی باشد (Lind *et al.*, 2009). هتروزیگوسیتی در مطالعهٔ ساختار جمعیت گونه‌ها ارزش بسیار دارد، زیرا هر هتروزیگوت ناقل آلل‌های متفاوتی است که نشان‌دهندهٔ تنوع است (Diz and Presa, 2009). در این بررسی متوسط تعداد آلل‌ها، هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده و مورد انتظار به ترتیب ۳/۶۶۷، ۰/۳۸۳ و ۰/۶۲۱ به دست آمد. روی هم رفته، تفاوت معنی‌داری ($P>0.05$) از لحاظ تعداد آلل و هتروزیگوسیتی بین مناطق مورد بررسی مشاهده نشد. همچنین، متوسط هتروزیگوسیتی در جمعیت‌های مورد بررسی نزدیک به مقدار گزارش‌شده برای ماهیان آب شیرین به دست آمد (۰/۵۴، DeWoody and Avise, 2000). میانگین تعداد آلل‌ها در هر جایگاه ۷/۵ گزارش شده است (DeWoody and Avise, 2000). مقایسهٔ داده‌های حاصل نشان می‌دهد که هتروزیگوسیتی به‌دست‌آمده در این بررسی مناسب، ولی تعداد آلل آن پایین‌تر از تعداد آللی است که برای ماهیان آب شور بیان شده است (۱۳/۵، DeWoody and Avise, 2000). تحقیقات نشان می‌دهند که غنای آللی برای ارزیابی تنوع نمونه‌ها نسبت به هتروزیگوسیتی مناسب‌تر است. همچنین بالابودن غنای آللی نشان‌دهندهٔ بالابودن اندازهٔ جمعیت مؤثر است (Diz and Presa, 2009). در سطح جمعیت کاهش در تعداد آلل‌های مشاهده‌شده در لکوس‌های ریزماهواره می‌تواند نشانه‌ای از کاهش تنوع ژنتیکی کاربردی در دیگر نواحی ژنوم باشد. بنابراین، جلوگیری از آن باید به‌منزلهٔ اولویتی در آبزی‌پروری بررسی شود (Lind *et al.*, 2009). در مطالعه‌ای دربارهٔ پرورش P.maxima با وجود کاهش شایان توجه در غنای آللی افزایش زیادی در هموزیگوسیتی دیده نشد، همچنین این الگو در صدف‌های تولید هچری و چندین گونه از ماهیان مشاهده شد که موارد فوق این دیدگاه را، که هتروزیگوسیتی همچون غنای آللی به‌سرعت در معرض کاهش قرار نمی‌گیرد، تأیید می‌کند (Lind *et al.*, 2009). به طور کلی، تعداد کم آلل نشانه‌ای از تنگنای ژنتیکی است که در شرایط جمعیت وحشی ممکن است به علت جداشدن جمعیت یا کاهش شدید اندازهٔ مؤثر باشد (Ha *et al.*, 2009). از آن‌جا که میزان انحراف ژنتیکی نسبت معکوسی با اندازهٔ جمعت دارد، این اثر باعث افزایش انحراف ژنتیکی نیز می‌شود. تنگناهای جمعیتی کوتاه‌مدت، همانند وقتی که جمعیت پرورشی پایه‌گذاری می‌شود، ممکن است اثر کمی در هتروزیگوسیتی داشته باشد، اما انتظار می‌رود که به‌شدت تعداد آلل‌های موجود را کاهش دهد (Pampoulie *et al.*, 2006).

تعادل هاردی- واینبرگ در جوامعی صادق است که شرایطی چون تعداد افراد بالا، جمعیت بسته، جفت‌گیری تصادفی و احتمال جهش بالا در آن حکمفرما باشد و به طور کلی انحراف از تعادل هاردی- واینبرگ در جمعیت‌های ماهیان زیاد است (Lucentini *et al.*, 2006). در این بررسی هر دو جمعیت در اکثر جایگاه‌ها انحراف از تعادل هاردی-

Archive of SID

www.SID.ir

واینبرگ را نشان دادند. ۲۰ نمونه از ۲۱ تست مورد بررسی به طور معنی‌داری انحراف از تعادل نشان دادند. ضریب درون‌آمیزی در همهٔ جایگاه‌های ژنی کسری هتروزیگوسیتی بالایی را نشان داد، علل زیست‌شناختی کسری هتروزیگوسیتی به‌خوبی شناخته نشده است و عوامل زیادی همچون اثر وهلاند، درون‌آمیزی، آلل صفر و به‌گزینی برای توضیح آن مطرح شده‌اند (Li *et al.*, 2009). وجود آلل‌های تکثیرنشده یا صفر در ماهی پدیده‌ای کاملاً عادی است و وجود این آلل‌ها در توارث ریزماهواره در ماهیان تأیید شده است (Rodzen and May, 2002). Xu *et al.* (2001) نیز وجود آلل‌های صفر را از عوامل مهم کسری هتروزیگوسیتی برشمردند، البته یک فاکتور به‌تنهایی نمی‌تواند این کسری هتروزیگوسیتی را توضیح دهد. جدا از دلایل زیست‌شناختی معمول در ایجاد کسری هتروزیگوسیتی، ریزماهواره‌ها به طور خاص مستعد این پدیده‌اند (Diz and Presa, 2009).

مقادیر Fst (۰/۱۷۹) به‌دست‌آمده بر اساس معیار Wright (1987) میان ۰/۱۵ تا ۰/۲۵ مقدار بالای تمایز را بین جمعیت‌ها نشان می‌دهد. با توجه به ماهیت ریزماهواره و نوع جهش‌های مؤثر در آن بسیاری از محققان آنالیز Rst را برای آن مناسب‌تر دانسته‌اند. Wachirachaikarn *et al.* (2009) نیز Rst را از آن رو که برای اندازه‌گیری تمایز جمعیت‌ها از اطلاعات مربوط به اندازهٔ آللی استفاده می‌کند نسبت به Fst قوی‌تر دانسته‌اند. نتایج Rst نیز نشان‌دهندهٔ تمایز بالا بین مناطق است، دندروگرام ترسیمی بر اساس فاصلهٔ ژنتیکی نیز جدایی بین مناطق را نشان داد به طوری که، در شرق دریای خزر ۳ جمعیت مجزای اردک‌ماهی شناسایی شد. بنابراین همهٔ آنالیزها تمایز بالایی را بین مناطق نشان می‌دهند. با توجه به فواصل جغرافیایی محدود و کم‌عمق سواحل دریای خزر به نظر می‌رسد این جمعیت‌ها به‌ویژه در رودخانهٔ تجن و ایزدشهر ارتباط محدودی با یک‌دیگر دارند. با تبادل نمونه‌ها تبادل ژن‌ها نیز پیش می‌آید و تبادل بیش‌تر منجر به کم‌شدن تمایز ژنتیکی بین جمعیت‌ها می‌شود. با این‌که قانون ثابتی وجود ندارد، ولی مورد قبول واقع شده است که تمایزهای ژنتیکی بارز یا مهم احتمالاً تنها بین جمعیت‌هایی به وجود می‌آیند که به طور میانگین تنها کم‌تر از یک نمونه در هر نسل بین آن‌ها جابه‌جا می‌شود (Ryman and Utter, 1987). در این مطالعه نیز متوسط مهاجرت نزدیک به یک بود (۱/۴۴) که می‌تواند یکی از دلایل اصلی تمایز جمعیت‌ها باشد. این مورد نیز بر پایهٔ این فرضیه قرار دارد که تغییرات در فراوانی‌های آللی تنها بر اساس انحراف ژنتیکی تصادفی ایجاد می‌شود، به طور مشخص در برخی لکوس‌ها امکان ایجاد تفاوت‌های بارز به علت به‌گزینی و تغییرات مشابه وجود دارد (Hillis, 1996). با توجه به محدودبودن زیستگاه و تنگنای ژنی مشاهده‌شده این زیستگاه‌ها نیازمند حفاظت‌اند.

Archive of SID

www.SID.ir

References

[1]. Bromage, N., Porter, M., Randall, C., 2001. The environmental regulation of maturation in farmed finfish

[2]. with special reference to the role of photoperiod and melatonin. Aquaculture 197, 63-98.

[3]. Avise, J. C., 2000. Phylogeography the history and formation of species. Harward University Press, Cambridge.

[4]. Bataillon, T. M., David, J. L. and Schoen, D. J., 1996. Neutral genetic markers and conservation: simulated Germplasm collections. Genetics 144,409-417.

[5]. Dewoody, J. A. and Avise, J. C. , 2000. Microsatellite variation in marine, freshwater and anadromous fishes compared with other animals. Fish biology 56, 461-473.

[6]. Diz, P. A., and Presa, P., 2009. The genetic diversity pattern of *Mytilus alloprovincialis* in Galician Rías (NW Iberian estuaries). Aquaculture 287, 278-285.

[7]. Frankham, R., 2008. Genetic adaptation to captivity in species conservation programs. Molecular Ecology 17, 325-333.

[8]. Ferguson, A., Taggart, J. B., Prodohl, P. A., McMeel, O., Thompson, C., Stone, C., McGinnity, P. and Hynes, R. A., 1995. The application of molecular markers to the study and conservation of fish populations whit special reference to Salmo. Fish Biology 47,103-126.

[9]. Felsenstein, J., 1985. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. Evolution 39,783-791.

[10]. Ferguson, A., Taggart, J. B., Prodohl, P. A., McMeel, O., Thompson, C., Stone, C., McGinnity, P. and

[11]. Hynes, R. A., 1995. The application of molecular markers to the study and conservation of fish populations whit special reference to Salmo. Fish Biology 47,103-126.

[12]. Ha, H. P., Nguyen, T. T., Poompuang, S., Na-Nakorn, U., 2009. Microsatellites revealed no genetic differentiation between hatchery and contemporary wild populations of striped catfish, *Pangasianodon hypophthalmus* (Sauvage 1878) in Vietnam. Aquaculture 291, 154-160.

[13]. Hakansson, J. and Jensen, P., 2005. Behavioural and morphological variation between captive populations of red junglefowl (*Gallus gallus*) possible implications for conservation. Biological Conservation 122, 431-439.

[14]. Hillis, D. M. and Mortiz, C. 1996. Molecular systematic. 2nd Ed, Sinauer Associates Inc, Publishers Sunderland, Massachusetts.

[15]. Launey, S., Krieg, F., Morin, J., Laroche, J., 2003. Five new microsatellite markers for Northern pike (*Esox lucius*). Mol. Ecol. Notes 3, 366–368.

Archive of SID

www.SID.ir

[16]. Li, J., wang, G., and Bai, Z. 2009. Genetic variability in four wild and two farmed stocks of the Chines freshwater pearl mussel (Hyriopsis cumingii) estimated by microsatellite DNA markers. Aquaculture 287 ,286-291.

[17]. Lin, Y. S., Poh, Y. P., Lin, S. M. and Tzeng, C. S. , 2002. Molecular techniques to identify freshwater eels. Zoological Studies 41,421-430.

[18]. 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 silver-lipped pearl oysters (*Pinctada maxima*). Aquaculture 286,12-19.

[19]. Liu, Z. and Cordes, J. F., 2004. DNA marker technologies and their applications in aquaculture genetics. Aquaculture 238,1-37.

[20]. Liu, F., Xia, J. H., Bai, Z. H., Fu, J. J., Li, J. L. and Yue, G. H., 2009. High genetic diversity and substantial population differentiation in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) revealed by microsatellite analysis. Aquaculture 297, 51-56.

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

[22]. Lucentini, L., Palomba, A., Lancioni, H., Gigliarelli, L., Sgaravizzi, G., Natali, M., Panara, F., 2009. Temporal changes and effective population size of an Italian isolated and supportive-breeding managed northern pike (*Esox Lucius*) population. Fisheries Research 96,139-147.

[23]. Miller, L.M., Kapuscinski, A.R., 1996. Microsatellite DNA markers reveal new levels of genetic variation in northern pike. Trans. Am. Fish. Soc. 125, 971–977.

[24]. Nei, M., 1972. Genetic distance between populations. American Naturalist 106, 283- 92.

[25]. Pampoulie, C., Jorundsdottir, T.D., Steinarsson, A., Petursdottir, G., tefansson, M.O., Danlelsdottir, A.K. , 2006. Genetic comparison of experimental farmed strains and wild Icelandic populations of Atlantic cod (*Gadus morhus* L.). Aquaculture 261,556-564.

[26]. Peakall, R. and Smouse, P. E., 2006. GENALEX 6: genetic analysis in excel. Population genetic software for teaching and research. Molecular Ecology 6,288-295.

[27]. Pinera, J. A., Blanco, G., Vázquez, E. and Sánchez, J. A., 2007. Genetic diversity of black spot seabream (*Pagellus bogaraveo*) populations Spanish Coasts: a preliminary study. Marin Biology 151,2153-2158.

[28]. Raymond, M. and Rousset, F., 1995. GENEPOP (Version 1.3): Population genetic software for exact tests and ecumenicisim. Heredity 86,248-249.

[29]. Rodzen, J.A., May, B., 2002. Inheritance of microsatellite loci in the polyploidy white sturgeon (*Acipenser transmontanus*). Genome 54, 1064-1076.

[30]. Ryman, N. and Utter, F. (eds) 1987. Population genetics and fishery management. University of Washington Press, Washington.

Archive of SID

www.SID.ir

[31]. Sambrook J., Fritsch E. F, Maniatis T., 1989: Electrophpresis of RNA through Gels Containing Formaldehyde: Molecular Cloning, 2nd edn. Cold Spring Harbor, NY: CSH Laboratory Press, p: 743-745

[32]. Verspoor, E. and Jordan, W. C., 1989. Genetic variation at the Me-2 locus in the Atlantic salmon within and between rivers: evidence for its selective maintenance. Fish Biology 35, 205-213.

[33]. Wachirachaikaran, A., Rungsin, W., Srisapoome, P., 2009. Crossing of African catfish (Clarias gariepinus) strains based on strain selection using genetic diversity data. Aquaculture.

[34]. Wang, C., Yu, X. and Tong, J. (2007) Microsatellite diversity and population genetic structure of redfin culture (*Culter erythropterus*) in fragmented lakes of the Yangtze River. Hydrobiologia 586:321-329.

[35]. Willson, A. C., Cann, S. M., Goerge, M., Gyhensten, V. B., Helm By Chcowsh, K. M., 1997. Mitochondrial DNA and two perspective on evolutionary genetics. Biological Journal of the Linnean Society 26,375-400.

[36]. Wright, S., 1987. Evolution and the genetics of populations. Vol. 4: variability within and among natural populations. University of Chicago Press, Chicago.

[37]. 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.

[38]. Yeh, F. C., Yang, R. C. and Boyle, T., 1999. POPGENE version 1.3.1. Microsoft Window-bases Freeware for population Genetic Analysis. Retrieved from: www.uallberta.ca/fyeh/. University of Alberta and the Centre for International Forestry Research.

Archive of SID

www.SID.ir