تعیین ساختار ژنتیکی جمعیت گاوماهی سرگنده (*Neogobius kessleri gorlap*) دریای خزر با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره‌ای در سواحل ایرانی دریای خزر (گلستان و گیلان)

*حمزه پورغلام[1]، عباسعلی زمینی[2]، فرامرز لالوئی[1]، حسین خارا[2] و محمدجواد تقوی[1]
[1]پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، ساری، [2]دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد لاهیجان

چکیده

به‌منظور مطالعه ساختار ژنتیکی جمعیت‌های گاوماهی سرگنده (*Neogobius kessleri gorlap*) با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره‌ای، تعداد 100 نمونه ماهی از سواحل گلستان و گیلان جمع‌آوری شد. DNA ژنومی نمونه‌ها از بافت نرم باله به روش فنل- کلروفرم استخراج گردید که غلظت آن در کلیه نمونه‌ها 50 تا 100 نانوگرم بود. واکنش PCR با استفاده از 6 جفت پرایمر میکروستلایت انجام و محصول PCR با استفاده از ژل پلی‌آکریل‌آمید 8 درصد الکتروفورز و با نیترات نقره رنگ‌آمیزی شدند. نتایج به‌دست آمده از این بررسی نشان داد که هر 6 جفت پرایمر میکروستلایتی بررسی شده در گاوماهی سرگنده الگوی باندی پلی‌مورف داشتند. میانگین تعداد آلل‌های مشاهده شده و مؤثر درسواحل گلستان به‌ترتیب 11/333 و 7/660 و در استان گیلان 10/200 و 5/737 بود. همچنین میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار به‌ترتیب 0/571 و 0/812 محاسبه شد. براساس نتایج به‌دست آمده در هر دو منطقه گیلان و گلستان و در جایگاه‌های مختلف میکروستلایت به‌جز جایگاه‌های NG71، NG111 و NG215 در سواحل گلستان انحراف از تعادل هاردی- واینبرگ به‌دست آمد. همچنین مقدار F_{ST} بین نمونه‌های سواحل گلستان و گیلان 0/052 و مقدار Nm بین دو منطقه 4/521 بود. فاصله ژنتیکی و شباهت ژنتیکی بین نمونه‌های دو منطقه 0/634 و 0/366 بود. نتایج به‌دست آمده از تست AMOVA و مقدار F_{ST} نشان داد که بین نمونه‌های دو منطقه اختلاف معنی‌دار وجود دارد. بر این اساس می‌توان عنوان نمود که 2 گروه ژنتیکی متفاوت از این گونه در سواحل ایرانی دریای خزر (گیلان و گلستان) وجود دارد.

واژه‌های کلیدی: تنوع ژنتیکی، میکروستلایت، دریای خزر، *Neogobius kessleri gorlap*

مقدمه

گاوماهیان در آب‌های شیرین، لب شور و دریایی نواحی گرمسیری و نیمه‌گرمسیری زیست نموده و با 5 زیر خانواده بیش از 212 جنس و حداقل 1875 گونه، بزرگترین تیره ماهیان دریایی محسوب می‌شوند (Sapota، 2004).

دریای خزر حدود 35 گونه و زیر گونه از خانواده گاوماهیان را در خود جای داده است (نادری و عبدلی، 1387). با توجه به مطالعات انجام شده، گاوماهی سرگنده با نام علمی *Neogobius kessleri gorlap* به‌عنوان گونه غالب در کرانه جنوبی دریای خزر شناخته شده است. ترکیب غذایی این گونه به‌طور عمده از گاوماهیان شنی دریای خزر و تا حدی گاوماهی *Bentophilus stellatus* و سایر منابع شامل صدف کاردیوم، میگو، کیلکا، خرچنگ پهن و همچنین بچه‌ماهی کفال به‌عنوان غذای ثانویه می‌باشد (مرادی، 1375).

*مسئول مکاتبه: hamze.p12@gmail.com

Archive of SID
www.SID.ir

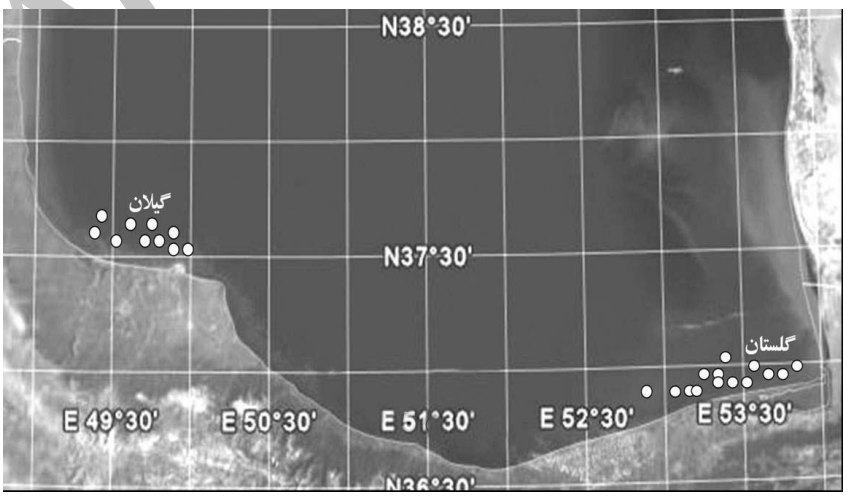
زمان مهاجرت و تخم‌ریزی اغلب گاوماهیان در دریای خزر در 2 و یا 3 سالگی بوده و تخم‌ریزی آن‌ها از ماه اسفند تا شهریور و به‌صورت متفاوت و بر روی بسترهای سنگی و در داخل لانه یا پوسته صدف صورت می‌گیرد. گاوماهیان مناطق جنوبی دریای خزر نسبت به مناطق مرکزی زودتر مهاجرت خود را آغاز می‌کنند، به‌طوری‌که گونه‌های *N. syman* و *N. kessleri* نسبت به سایر گونه‌ها زودتر مهاجرت نموده و بعد از تخم‌ریزی به مناطق عمیق مهاجرت می‌نمایند (عباسی و همکاران، 1388). گاوماهیان دریای خزر به جهت تغذیه از بی‌مهرگان کف‌زی و سایر ماهیان کوچک از رقبای غذایی سایر ماهیان دریای خزر محسوب می‌شوند. اما با این وجود خود آن‌ها نیز مورد تغذیه سایر ماهیان با ارزش شیلاتی از جمله تاس‌ماهیان، شگ‌ماهیان، ماش‌ماهی، ماهی اسبله، سوف و تنها پستاندار دریای خزر، فک دریای خزر قرار می‌گیرند. اعتقاد بر این است که نزدیک به 40 درصد از غذای فک دریای خزر و بیشتر از 50 درصد جیره غذایی فیل‌ماهی در نواحی جنوب‌شرقی دریای خزر را گاوماهیان تشکیل می‌دهند (فیلاتووا، 1373).

Vyskocilova و همکاران (2007) تنوع ژنتیکی *Neogobios kessleri* در مناطق بالا و میانی رودخانه دانوب را با استفاده از 12 نشانگر میکروستلایت مطالعه نمودند. همچنین Dougherty و همکاران (1996) با استفاده از آنالیز mtDNA جمعیت *N. melanostomus* را در دریاچه Lauretian مورد بررسی قرار دادند.

از آنجا که تاکنون تحقیقی در مورد تنوع ژنتیکی و بررسی جمعیت‌های احتمالی گاوماهی سرگنده در سواحل ایرانی دریای خزر صورت نگرفته است، در این مطالعه سعی شده است تا جمعیت‌های این گونه توسط نشانگرهای میکروستلایت در سواحل استان گلستان و گیلان انجام شود.

روش کار

نمونه‌برداری از گاوماهی سرگنده از دریا با استفاده از تور ترال و پره از سواحل استان گیلان (منطقه ساحل غازیان تا گرگانرود) به تعداد 53 قطعه و سواحل استان گلستان (منطقه خلیج گرگان تا گمیشان) به تعداد 47 قطعه انجام شد (شکل 1). از هر نمونه ماهی به‌میزان 1 تا 3 گرم بافت باله دمی جدا شد و در الکل اتیلیک 96 درصد نگهداری و به آزمایشگاه ژنتیک مولکولی پژوهشکده اکولوژی دریای خزر منتقل گردید.



شکل 1- مناطق نمونه‌برداری گاوماهی سرگنده در سواحل استان گلستان و گیلان

Archive of SID

www.SID.ir

استخراج DNA با بهینه کردن روش فنل- کلروفرم از باله دمی ماهی انجام شد (Fevolden و Pogson، 1997) و بررسی کمی و کیفی DNA استخراج شده توسط دستگاه بیوفتومتر (مدل اپندورف) و الکتروفورز ژل آگارز 1 درصد صورت پذیرفت.

برای انجام واکنش PCR از 6 جفت پرایمر میکروستلایت مربوط به ماهی *N. kessleri kessleri* استفاده گردید که توالی و مشخصات آن در جدول 1 آمده است (Vyskocilova، 2007). واکنش PCR با حجم 25 میکرولیتر با استفاده از 5 میکرولیتر بافر PCR (10X)، dNTP با غلظت 200 میکرومول، 1-0/5 میکرولیتر آنزیم Taq DNA polymerase، $MgCl_2$ با غلظت 2/5 میلی‌مول، 20 نانوگرم DNA هدف و آب مقطر انجام شد.

جدول 1- توالی و مشخصات پرایمرهای میکروستلایت مورد استفاده برای گاوماهی سرگنده

جایگاه	کد بانک ژن	توالی پرایمر	محل تکرار	دمای اتصال	محدوده اللی (bp)*
NG111	EF029924	F: GTGTGGATCGGTGCCTAACT R: ACTCGGCTTTCTCTGCTCTG	(GA)8GG(GA)3GG (GA)2GG(GA)5	51	204-274
NG115	EF029925	F: CACTTCCCTGTGGTGTGATG R: CCTTGTCTGTCTCCAACTGC	(AG)4TCTGC(GT)5 N58(GT)9	58	204-264
NG70	EF029937	F: CGATTCTGTCACGGTGTTAT R: CACAACAAGCCATGTCCAAA	(TG)12	57	168-296
NG71	EF029938	F: GAAGCCATTCTGCCTTTCTG R: GTGTCGCATGAGTTGAATGG	(GC)4TCTGC (CT)24GC(CT)4	55	188-220
NG92	EF029939	F: AAGCAACTCACGCCAAAGTC R: AGTGCTGCCATGTCAATCTG	(CA)8(CGCA)6 (CG)2(CGCA)5	50	140-192
NG215	EF029933	F: GCACAATGCCACACTTTAGG R: CGGTAACACACTCTGGCTCA	(TC)14(GT)21	57	156-244

*محدوده آللی ذکر شده مربوط به مطالعه حاضر می‌باشد.

برنامه دستگاه ترمال سایکلر (مدل Auto-Q شرکت Quanta biotech) به‌ترتیب: مرحله اول واسرشته شدن 95 درجه سانتی‌گراد به‌مدت 30 ثانیه، مرحله دوم اتصال پرایمرها به هدف 58-50 درجه سانتی‌گراد به‌مدت 45 ثانیه و مرحله سوم بسط پرایمر 72 درجه سانتی‌گراد به‌مدت 1 دقیقه برای 30 چرخه تنظیم گردید.

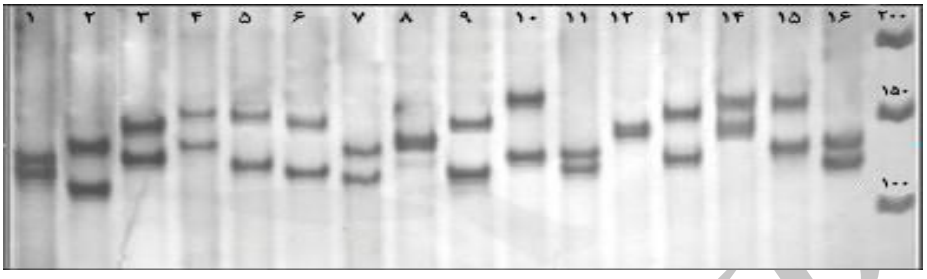
الگوی باندی محصول PCR (8-7 میکرولیتر) با استفاده از الکتروفورز ژل پلی‌اکریل آمید 8 درصد و رنگ‌آمیزی نیترات نقره همراه با نشانگر bp Ladder 50 NA، مشاهده گردید. فراوانی آللی، هتروزیگوسیتی مورد انتظار و مشاهده شده، تعداد آل‌های واقعی و آل‌های مؤثر برای هر جایگاه، ماتریس شباهت و فاصله ژنتیکی (Nei، 1972؛Nei، 1978)، تعادل هاردی-واینبرگ، مقادیر R_{ST} و F_{ST}، جریان ژنی و تنوع ژنتیکی با استفاده از نرم‌افزار GenAlex Ver. 6 (Peakall و Smouse، 2005) محاسبه گردید.

نتایج

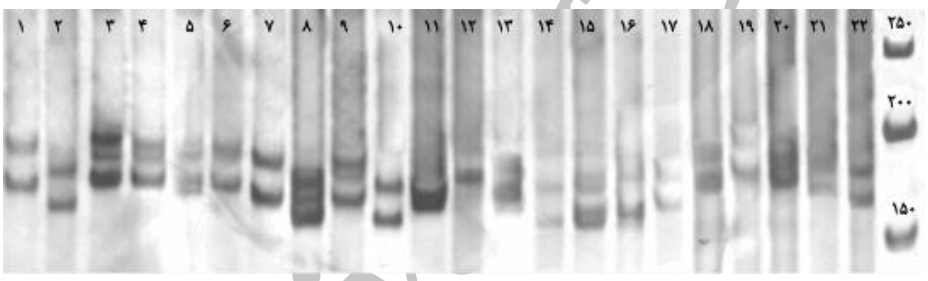
در این بررسی از 100 نمونه بافت باله دمی گاوماهی سرگنده، استخراج DNA انجام شد. غلظت DNA در کلیه نمونه‌ها جهت انجام واکنش PCR مناسب بود (50 تا 100 نانوگرم) و با توجه به نتایج الکتروفورز ژل آگارز، از کیفیت مناسبی برخوردار بود. نتایج حاصل از الکتروفورز ژل پلی‌اکریل آمید در هر 6 جایگاه در نمونه‌های مورد بررسی حالت پلی‌مورف نشان دادند (شکل‌های 2 و 3).

Archive of SID
www.SID.ir

براساس نتایج به‌دست آمده حداکثر تعداد آلل‌ها در دو منطقه نمونه‌برداری در جایگاه NG215 با 20 آلل و حداقل آن در جایگاه NG71 با 8 آلل دیده شد. با توجه به جدول 2 حداکثر فراوانی آللی در منطقه گیلان 0/575 مربوط به جایگاه NG71 و حداقل آن 0/009 بوده است. همچنین حداکثر فراوانی آللی در منطقه سواحل گلستان 0/400 در جایگاه‌های NG92 و حداقل آن 0/020 بود.



شکل 2- جایگاه‌های ریزماهواره‌ای در گاوماهی سرگنده با استفاده از پرایمر NG71، ستون 8-1 سواحل گلستان، ستون 16-9 سواحل گیلان، ستون M مارکر



شکل 3- جایگاه‌های ریزماهواره‌ای در گاوماهی سرگنده با استفاده از پرایمر NG215، ستون 10-1 سواحل گلستان، ستون 22-11 سواحل گیلان، ستون M مارکر

جدول 2- فراوانی آلل‌ها در جایگاه‌های مورد بررسی و در مناطق مختلف نمونه‌برداری

جایگاه	حداکثر		حداقل	
	گیلان	گلستان	گیلان	گلستان
NG70	0/264	0/180	0/009	0/020
NG71	0/575	0/36	0/028	0/040
NG92	0/415	0/400	0/028	0/020
NG111	0/236	0/140	0/038	0/020
NG115	0/245	0/200	0/019	0/020
NG215	0/179	0/160	0/009	0/020

www.SID.ir

جدول 3- مقادیر هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Ho) و مورد انتظار (He)، آللهای واقعی (Na) و مؤثر (Ne) در 6 جایگاه میکروستلایت پلیمورفیک در مناطق مختلف نمونهبرداری

جایگاه	منطقه نمونهبرداری							
	گلستان				گیلان			
	Ne	Na	He	Ho	Ne	Na	He	Ho
NG70	9/191	13	0/891	0/880	6/736	12	0/852	0/585
NG71	4/296	7	0/767	0/840	2/505	7	0/601	0/245
NG92	3/666	5	0/727	0/440	3/470	7	0/712	0/132
NG111	10/000	15	0/900	0/920	6/015	9	0/834	0/660
NG115	8/389	13	0/881	0/960	5/828	10	0/828	0/792
NG215	10/417	15	0/904	0/880	10/867	18	0/908	0/906
میانگین	7/660	11/333	0/852	0/585	5/737	10/200	0/777	0/547

جدول 3 نشان میدهد که بیشترین تعداد آلهای مشاهده شده و آلهای مؤثر در منطقه گیلان بهترتیب 18 و 10/867 و کمترین آن 7 و 2/505 بود. در سواحل گلستان نیز بیشترین تعداد آلهای مشاهده شده و آلهای مؤثر بهترتیب 15 و 10/417 و کمترین آن 5 و 3/666 بود. همانگونه که جدول نشان میدهد در تمامی مناطق نمونهبرداری و برای تمام جایگاهها مقدار Ne از Na کمتر میباشد.

دامنه هتروزیگوسیتی مشاهده شده بین مناطق نمونهبرداری در جایگاههای ششگانه بین 0/132 تا 0/960 بود. بیشترین مقدار هتروزیگوسیتی مشاهده شده مربوط به جایگاه NG115 در نمونههای منطقه گلستان و کمترین مقدار در جایگاه NG92 در منطقه گیلان میباشد.

دامنه هتروزیگوسیتی مورد انتظار در مناطق نمونهبرداری بین 0/601 تا 0/908 بود. بیشترین مقدار هتروزیگوسیتی مورد انتظار مربوط به جایگاه NG215 و کمترین مقدار آن مربوط به جایگاه NG71 در نمونههای منطقه گیلان مشاهده شده است.

محاسبه ضرایب افت هتروزیگوسیتی نشان میدهد که در مناطق نمونهبرداری و در تمام جایگاهها به استثنای منطقه گلستان در جایگاههای NG71 و NG111، افزایش هتروزیگوسیتی یا بهعبارت دیگر بیشتر بودن مقادیر He نسبت به Ho وجود دارد.

براساس نتایج آزمون مربع کای (جدول 4) در هر دو منطقه گیلان و گلستان و در جایگاههای مختلف میکروستلایتی بهجز جایگاههای NG71، NG111 و NG215 در سواحل گلستان انحراف از تعادل هاردی- واینبرگ مشاهده شده است.

ماتریس فواصل و شباهت ژنتیکی با استفاده از معیار فاصله ژنتیکی Nei (1972) انجام شد. محاسبات انجام شده نشان داد که فاصله ژنتیکی و شباهت ژنتیکی بین نمونههای منطقه گیلان و گلستان بهترتیب 0/634 و 0/366 میباشد. میزان F_{ST}، R_{ST} و جریان ژنی (Nm) بین دو منطقه گیلان و گلستان بهترتیب 0/052، 0/255 و 4/521، محاسبه شده است. براساس نتایج حاصل از تست و مقدار F_{ST} بین نمونههای سواحل گلستان و گیلان اختلاف معنیدار مشاهده شده است ($P<0/01$). شکل 2 تنوع ژنتیکی درون و بین مناطق نمونهبرداری گاوماهی سرگنده را نشان میدهد.

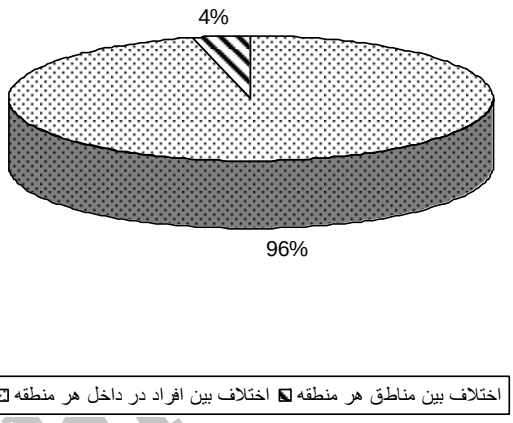
Archive of SID

www.SID.ir

جدول 4- نتایج آزمون مربع کای (χ^2) برای تعادل هاردی- واینبرگ برای جایگاه‌های میکروستلایتی پلی‌مورفیک در مناطق نمونه‌برداری شده از گاوماهی سرگنده

منطقه	عوامل تعادل χ^2	NG70	NG71	NG92	NG111	NG115	NG215
گیلان	درجه آزادی	66	21	21	36	45	153
	آزمون مربع کای	245/861	158/214	237/394	122/998	142/562	269/301
	احتمال	0/000	0/000	0/000	0/000	0/000	0/000
	معنی‌دار بودن	***	***	***	***	***	***
گلستان	درجه آزادی	78	21	10	105	78	105
	آزمون مربع کای	184/680	23/587	59/111	114/159	129/333	125/438
	احتمال	0/000	0/314	0/000	0/255	0/000	0/085
	معنی‌دار بودن	***	ns	***	ns	***	ns

*** ($P<0/01$)، ns غیرمعنی‌دار.



شکل 2- تنوع ژنتیکی بین نواحی و افراد هر منطقه در ۶ جایگاه میکروستلایت پلی‌مورفیک در گاوماهی سرگنده

بحث و نتیجه‌گیری

در این بررسی تنوع ژنتیکی گاوماهی سرگنده در 6 جایگاه میکروستلایتی در سواحل استان‌های گیلان و گلستان مورد مطالعه قرار گرفت. براساس نتایج به‌دست آمده، میانگین تعداد آلل‌های مشاهده شده در نمونه‌های سواحل گیلان و گلستان به‌ترتیب 10/20 و 5/73 بود. همچنین میانگین تعداد آلل‌های مؤثر در نمونه‌های گیلان و گلستان به‌ترتیب 11/33 و 7/66 بوده است.

قابل ذکر است که آلل‌های مشاهده شده در هر جایگاه ژنی به‌شدت تحت‌تأثیر 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 به‌دست آید (Peakal و Smous، 2005).

میانگین هتروزایگوسیتی مشاهده شده در دو منطقه نمونه‌برداری 0/566 و هتروزایگوسیتی قابل انتظار 0/814 به‌دست آمده همان‌گونه که نتایج نشان می‌دهد، میانگین هتروزایگوسیتی قابل انتظار در سواحل گلستان از نمونه‌های سواحل گیلان بیشتر بوده و علاوه‌بر این اختلاف هتروزایگوسیتی قابل انتظار و مشاهده شده در سواحل گلستان بیشتر از گیلان می‌باشد. بیشتر بودن این اختلاف در سواحل

www.SID.ir

گلستان بیانگر این است که گاوماهی سرگنده در این منطقه باید از تنوع ژنتیکی بیشتری نسبت به وضعیت فعلی برخوردار باشد. احتمالاً یکی از دلایل را می‌توان به وجود ذخایر تاس‌ماهیان و به‌خصوص فیل‌ماهی در سواحل گلستان نسبت داد که از گاوماهیان تغذیه نموده و این امر موجب می‌شود که تا حدودی ذخایر گاوماهی کاهش یافته و از تنوع ژنتیکی قابل انتظاری برخوردار نباشد.

Vyskocilova و همکاران (2007) تنوع ژنتیکی *Neogobios kessleri* در مناطق بالا و میانی رودخانه دانوب را با استفاده از 12 نشانگر میکروستلایت مطالعه نمودند. تعداد آلل‌ها در 332 نمونه ماهی 2 تا 4 و هتروزایگوسیتی بین 0/13 تا 0/75 بود. همچنین در مطالعات دیگر مقدار هتروزایگوسیتی مشاهده شده در ماهی *N. melanostomus* به‌ترتیب 0/13 تا 0/52 و 0/15 تا 0/50 بود (Vyskocilova و همکاران، 2007). مقادیر هتروزایگوسیتی مشاهده شده در این مطالعات تقریباً متناسب با مطالعه حاضر می‌باشد.

فراوانی هتروزیگوت‌ها از این جهت اهمیت دارد که 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 (Adams و Hutchings، 2003). هتروزیگوسیتی بیانگر طیف وسیعی از ژنوتیپ به‌عنوان پاسخ به سازش‌پذیری در شرایط متغیر محیطی است و بسیاری از خصوصیات مهم اقتصادی مثل رشد، باروری و مقاومت در برابر بیماری را تحت‌تأثیر قرار می‌دهد (Brightte و همکاران، 2005).

در این بررسی در هر دو منطقه نمونه‌برداری شده و در تمام جایگاه‌ها به غیر از جایگاه NG71 و NG111 در سواحل گلستان، هتروزیگوسیتی مشاهده شده نسبت به هتروزیگوسیتی قابل انتظار کمتر بود. کاهش هتروزیگوسیتی مشاهده شده نسبت به هتروزیگوسیتی قابل انتظار نشان‌دهنده کاهش در تغییرپذیری ژنتیکی نمونه‌ها است. علت این کاهش تنگناهای ژنتیکی می‌باشد که احتمالاً بر اثر شرایط زیست‌محیطی، تخریب زیستگاه‌های طبیعی، آمیزش‌های خویشاوندی به‌وجود می‌آید و در نتیجه با گذشت زمان موجب کاهش آلل و کاهش هتروزیگوسیتی در ذخائر می‌شود (Norris و همکاران، 1999).

نتایج مطالعه حاضر نیز نشان می‌دهد که به استثنای جایگاه‌های NG71، NG111 و NG215 در سواحل گلستان در سایر جایگاه‌ها، انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ مشاهده می‌گردد ($P<0/001$). در صورتی‌که جمعیت گاوماهی سرگنده در سواحل گیلان در تمام جایگاه‌های مورد بررسی خارج از تعادل هاردی- واینبرگ بوده و انحراف از تعادل نسبت به نمونه‌های گلستان بیشتر می‌باشد. وجود آلل‌های صفر، تلاقی خویشاوندی و استفاده از پرایمرهای غیراختصاصی از دلایل انحراف از تعادل هاردی- واینبرگ می‌باشد.

Zhou و همکاران (2005) در مطالعه ارزیابی تنوع ژنتیکی ماهی *Acipenser sinensis* نیز انحراف از تعادل هاردی- واینبرگ را به‌وجود آلل‌های صفر و تلاقی خویشاوندی نسبت دادند.

Dahle و همکاران (2006) ضمن بررسی ترکیب ذخایر *Gadus morhua*، انحراف در تعادل هاردی- واینبرگ را به‌علت افزایش هوموزایگوسیتی، آلل‌های

Archive of SID
www.SID.ir

نول، رانش ژنتیکی، انتخاب، مخلوط شدن و غیرکافی بودن نمونه‌ها نسبت داده‌اند. با توجه به مطالعات انجام شده، عدم صدق فرضیات مربوط به مدل هاردی- واینبرگ ممکن است ناشی از مکانیزم‌های بوم‌شناختی باشد (Kitanishii و همکاران، 2008).

فاکتور F_{ST} بیان‌کننده 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 (Beacham و Macconachi، 2004؛ Avise، 2004). در این بررسی مقدار F_{ST} بین دو منطقه گلستان و مازندران 0/028 بود که براساس معیارهای در نظر گرفته شده (F_{ST} کمتر از 0/05 نشان‌دهنده تمایز ژنتیکی پایین است)، میزان تمایز بین جمعیت‌های بررسی شده در محدوده تمایز ژنتیکی پایین قرار دارد (Hartle و Clark، 1989).

مقادیر R_{ST} و F_{ST} برای توصیف تمایز جمعیت‌ها در سطوح مختلف ساختار ژنتیکی به‌کار می‌رود. هدف اصلی از بازسازی و حفاظت از ماهیان حفظ دامنه وسیعی از تنوع ژنتیکی (ذخایر ژنی) می‌باشد. سازگاری و بقای گونه‌ها هنگامی حفظ می‌شود که تغییرپذیری ژنتیکی موجود از دست نرود (Skaala و همکاران، 2005؛ Smith و Meveagh، 2005).

در این بررسی با توجه به نتایج حاصل از آزمون AMOVA و مقدار F_{ST} در سواحل گلستان و گیلان می‌توان عنوان نمود که دو گروه ژنتیکی متفاوت از این گونه در دریای خزر (سواحل گیلان و گلستان) وجود دارد. عوامل مختلفی بر روی ساختار جمعیتی ماهیان در یک منطقه خاص تأثیر می‌گذارند که می‌توان از شرایط زیستی (تغییرات کمیت و کیفیت غذایی، بیولوژی تولیدمثل نظیر بسترهای تخم‌ریزی، رفتارهای تولیدمثلی، حضور ماهیان هم‌سفره، رقابت و مهاجرت) و شرایط غیرزیستی متنوع (نوع بستر، تغییر جریانات آبی، دمای آب، اکسیژن محلول و...) نام برد (Ford و همکاران، 2004؛ Belanger و همکاران، 2004). بنابراین تفاوت بین 2 گروه می‌تواند به خاطر اختلاف در نوع بستر، شیب بستر، وسعت، عمق کم در نواحی مختلف، شوری و برخی پارامترهایی مانند pH در سواحل گلستان و گیلان باشد. همچنین نوع تغذیه (تنوع ماکروبنتوزها در غرب و شرق حوضه جنوبی با هم متفاوت می‌باشد) و تقابل بین گونه‌ای در این تنوع مؤثر است. علاوه‌بر این همان‌گونه که ذکر گردید گاوماهیان غذای اصلی ماهیان خاویاری بوده و موضوع صید و شکار و سایر کنش‌های بین گونه‌ای می‌تواند تفاوت در سازگاری زیستگاه‌ها را به‌وجود آورد. این شرایط زیست‌محیطی احتمالاً می‌تواند باعث تغییراتی در ساختار ژنتیکی گاوماهیان گردد.

منابع

عباسی، ک.، سرپناه، ع.، عبدالملکی، ش.، سبک‌آرا، ج.، مکارمی، م.، بابائی، ه.، باقری، س.، ماهی‌صفت، ف.، و سکری، م.، 1388. بررسی پراکنش و زیست‌شناختی گاو ماهی خزری *Neogobius caspius* در سواحل استان گیلان. مؤسسه تحقیقات شیلات ایران، 135 صفحه.

فیلاتووا، م.، 1373. جانوران و تولیدات زیستی دریای خزر. ترجمه شریعتی. شرکت سهامی شیلات ایران، 171 صفحه.

Archive of SID

www.SID.ir

مرادی، م.ع.، 1375. پراکنش و خصوصیات مهم زیستی گاوماهی سرگنده (*Neogobius kessleri Gorlap*) در سواحل جنوب‌شرقی دریای خزر. دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، 145 صفحه.

Archive of SID

www.SID.ir

نادری، م.، و عبدلی، ا.، 1387. تنوع زیستی ماهیان حوضه جنوبی دریای خزر، 223 صفحه.

Adams, B.K. and Hutchings, A., 2003. Micro geographic population structure of brook char: a comparison of micro satellite and mark-recapture data. Journal of Fish Biology, 62, 517-533.

Avise, J., 2004. Molecular Markers, Natural History and Evolution. Chapman and Hall, NewYork. 511p.

Beacham, T.D., and Macconachi, C., 2004. Micro satellite identification of individual sockeye salmon in Barkley Sound, British Colombia. Journal of Fish biology 61, 1021-1032.

Belanger, A.J., Arbuckle, W.J., Corkum, L.D., Gammon, D.B., Li, W., Scott, A.P., and Zielinski, B.S., 2004. Behavioural and electrophysiological responses by reproductive female *Neogobius melanostomus* to odors released by nonspecific males. Journal of Fish Biology 65, 933-946.

Brighitte, J., Hansen, M. and Loeschcker, V., 2005. Micro satellite 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 84, 1-11.

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.

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.

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 51, 895-908.

Ford, J., Tibbetts, I., and Carseldine, L., 2004. Ventilation rate and behavioral responses of two species of inter tidal goby (Pisces: Gobiidae) at extreme environmental temperature. Hydrobiologia 528, 63-73.

Hartle, D.L., and Clark, A.G., 1989. Principles of population genetics. Sinauer Associates Inc publishers, Massachusetts. U.S.A. 107p.

Kitanishii, 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.

Nei, M., 1972. Genetic distance between populations. American Naturalist. 106, 283-292.

Nei, M., 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. Genetics 89, 583-590.

Norris, A.T., Bradley, D.G., and Cunning ham, E.D., 1999. Microsatellite genetic variation between and with in farmed and wild Atlantic salmon populations. Department of Genetics, Trinity College Dublin, Ireland. pp. 247-264.

Peakall, M., and Smouse, A., 2005. Gene Alex 6: Genetic analysis in Excel .Population genetic software for teaching and research. The Australian National University, Canbera, Australia.

Sapota, M.R., 2004. The round goby (*Neogobius melanostomus*) in the gulf of Gdansk-A species introduction into the Baltic Sea. Hydrobiologia 514, 219-224. Netherlands.

Skaala, Q., Hoyheim, B., Glovera, K., and Dahlea, G., 2005. Microsatellite analysis in domesticated and Wild Atlantic salmon (*Salmo salar* L.): allelic diversity and identification of individuals. Aquaculture 240, 131-143.

Smith, P., and Mcveagh, M., 2005. Allozyme and microsatellite DNA markers of tothfish population structure in the Southern Ocean. Journal of Fish Biology 57, 72-83.

Vyskocilova, M., Ondrackova, M., and Sinkova, A., 2007. Isolation and characterization of microsatellites in *Neogobius kessleri* (Perciformes, Gobiidae) and cross-species amplification within the family Gobiidae. Molecular Ecology Notes 7, 701-704.

Archive of SID

www.SID.ir

Zhou, J.F., Wu, Q.J., Ye, Y.Z., and Tong, J.G., 2005. 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 119, 93-97.

Archive of SID

www.SID.ir

Journal of Fisheries, Islamic Azad University, Azadshahr Branch
Vol. 4, No. 4, March 2011

Determination of *Neogobius kessleri gorlap* population genetic structure in Iranian coasts of the Caspian Sea (Guilan and Golestan) by microsatellite markers

***H. Pour Gholam[1], A.A. Zamini[2], F. Lalouei[1], H. Khara[2] and M.J. Taghavi[1]**
[1]Caspian Sea Ecology Center, Sari,
[2]Faculty of Natural Resources, Islamic Azad University, Lahijan Branch

Abstract

Genetic diversity of *Neogobius kessleri gorlap* poplution was examined by 100 samples from Iranian coasts of the Caspian Sea (Guilan and Golestan). Genomic DNA was extracted from fin tissue by phenol-chlorophorm method and its concentration was 50 to 100 nanogram. PCR was performed using 6 microsatellite primers. PCR products were resolved through vertical non-denaturing 8% polyacrylamide gels electrophoresis. The amplified microsatellite loci were visualized through silver staining. The results showed that each of 6 primers were polymorphism in *Neogobius kessleri gorlap*. The mean of observed and effective allel number was 11.333 and 7.066 respectively in Golestan coast and 10.200 and 5.737 in Guilan coast. Also the mean of observed and expected heterozygosity was 0.571 and 0.812 respectively. It was also seen that specimens from two regions (exception locus NG71, NG111 and NG215 in Golestan coast) were not in Hardy-Weinberg Equibrium in all of the loci. Based on Analysis of Molecular Variance (AMOVA) F_{ST} was 0.052 between Golestan and Guilan coasts. Also Nm value was 4.521 between two regions. Genetic distance was 0.634 between specimens from Guilan and Golestan coasts. As result, there is a significant genetic divergence between some of samples. Therefore, two genetic group of *Neogobius kessleri gorlap* were identified in Iranian coasts of the Caspian Sea (Guilan and Golestan coasts).

Keywords: Genetic variation; Microsatellite; Caspian Sea; *Neogobius kessleri gorlap*

Archive of SID

* Corresponding Author; Email: hamze.p12@gmail.com

www.SID.ir