Archive of SID

بررسی ساختار جمعیتی ماهی شیپ (*Acipenser nudiventris*) در سواحل جنوبی دریای خزر و رودخانه اورال با استفاده از روش ریزماهواره

رقیه صفری[۱] *؛ محمد پورکاظمی[۲]؛ سهراب رضوانی گیل‌کلایی [۳] و علی شعبانی[۴]

roghi_safari@yahoo.com

۱ و ٤ - دانشگاه علوم کشاورزی ومنابع طبیعی گرگان، صندوق پستی:۱۵۷۳۹-۴۹۱۳۸

۲- انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان، رشت صندوق پستی: ٦١١٦-٤١٦٣٥

۳- موسسه تحقیقات شیلات ایران، تهران صندوق پستی: ٦١١٦-١٤١٥٥

تاریخ دریافت: شهریور ۱۳۸۶ تاریخ پذیرش: اسفند ۱۳۸۶

چکیده

ساختار جمعیتی ماهی شیپ در سواحل جنوبی دریای خزر و رودخانه اورال با استفاده از روش ریزماهواره مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور۷۳ نمونه ماهی از ۵ منطقه در ۲ ناحیه نمونه‌برداری شدند. ناحیه اول مناطق انزلی، رودخانه سفید رود، بابلسر، گرگان و ناحیه دوم رودخانه اورال بود. با استفاده از ۴ پرایمر ریز ماهواره ماهیان مورد بررسی قرار گرفتند. ۴ پرایمر مورد استفاده در ۵ جایگاه ژنی تولید باند DNA نمودندکه ازبین آنها ۳ جایگاه پلی مورف بود. متوسط هتروزایگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار بترتیب ۰/۷۵ و ۰/۸۶ بدست آمد. آنالیز AMOVA اختلاف بین نواحی نمونه‌برداری را ۳ درصد ($P\leq$ ۰/۰۸)، بین مناطق نمونه‌برداری را ۳ درصد ($P\leq$ ۰/۰۲) و داخل مناطق ۹۴ درصد ($P\leq$ ۰/۰۳) را معنی‌دار نشان داد. برطبق نتایج بدست آمده ماهی شیپ رودخانه اورال از ماهی شیپ مناطق جنوبی دریای خزر جداست که این امر باید در مراکز تکثیر و بازسازی ذخایر ماهی شیپ مد نظر قرار گیرد.

کلمات کلیدی: ریزماهواره، ماهی شیپ، استروژن، رودخانه اورال، دریای خزر

مقدمه

ماهیان خاویاری از جمله آبزیان کم نظیری هستند که از قدمت چند صد میلیون ساله که به عصر ژوراسیک برمی‌گردد برخوردارند. ماهیان خاویاری را فسیلهای زنده جهان می‌نامند که همراه با تکامل فیلوژنی تا امروز باقیمانده و از زمانهای گذشته بعنوان منبع با ارزش غذایی (گوشت و خاویار) بشمار می‌روند (Gardiner, 1984). از جمله این ماهیان ماهی شیپ (*Acipenser nudiventris*) می‌باشد که کمترین تعداد را در بین همه گونه‌های اقتصادی ماهیان خاویاری مهاجر دارد (قاسمی، ۱۳۸۲). امروزه جمعیت تاسماهیان در اکثر اکوسیستمهای جهان و از جمله دریای خزر بعلت صید غیرمجاز و غیرقانونی به شدت کاهش یافته و همین اندک ذخایر باقیمانده ماهیان خاویاری هم به جهت تخریب بسترهای تخمریزی و ایجاد موانع بر سر راه مهاجرت (احداث سدها) با مشکلاتی مواجه می‌باشند. لذا تکثیر طبیعی این ماهیان از جمله در حوضه جنوبی دریای خزر به حداقل خود رسیده است (Pourkazemi, 1996). در حال حاضر مراکز تکثیر مصنوعی مولدین مورد نیاز خود را از صیدگاههای حاشیه رودخانه‌ها و از دریا تامین می‌کنند درحالیکه به رغم هزینه‌های بالای بازسازی

* نویسندهٔ مسئول

www.SID.ir

Archive of SID

ذخایر مشخص نیست که مولدین تکثیر شده مولدین بومی آبهای ایران می‌باشند یا ماهیان حوضه شمالی هستند که به جهت تغذیه به جنوب دریای خزر مهاجرت نموده‌اند (شعبانی، ۱۳۸۴). اخیراً علاوه بر نقش مراکز تکثیر در افزایش اندازه جمعیت بر نقش این مراکز در تغییر غیرطبیعی منابع ژنتیکی و بازسازی ذخایر تحت فشار تاکید می‌گردد تا از خطراتی همچون انقراض، از دست رفتن تنوع درون جمعیتی، بین جمعیتی و انتخاب اهلی‌گری جلوگیری گردد و جمعیتهای تحت مدیریت بطور پیوسته و مرتبط با اجداد اصلی خود باقی بمانند (هالرمن، ۱۳۸۴). بدین منظور ابتدا باید به شناخت ساختار ذخایر اقدام کرد. ارزیابی ساختار ذخایر، تشخیص گونه‌ها، جمعیتها، نژادها در ابتدا با استفاده از صفات مورفومتریک و مریستیک مثل طول بدن تعداد فلس روی خط جانبی، تگهای مصنوعی و ... صورت می‌گرفت. اما با توجه به حساسیت بالای صفات مورفومتریک و مریستیک به تغییرات محیطی و اثرات منفی دستکاری در نشانه‌گذاری بر سلامت و بقای ماهیان، از طرفی محدود بودن تفسیر داده‌های نشانه‌گذاری به زمان جمع‌آوری آنها، پیشرفت علم استفاده از مارکرهای مولکولی مانند RFIP, AFIP, RAPD, Allozyme, ریزماهواره‌ها که متاثر از عوامل محیطی نمی‌باشد، جهت شناسایی ساختار ژنتیکی ذخایر را امکانپذیر کرده است (Adams & Hutchings, 2002). ریزماهواره‌ها، توالی‌های تکراری DNA بطول یک تا شش جفت باز می‌باشند (O'Reilly & Wright, 1995). چند نظریه در تولید این توالی‌ها وجود دارد، یکی از مهمترین آنها نظریه لغزش رشته مکمل طی فرآیند تکثیر می‌باشد. براساس این نظریه، در خلال نسخه‌برداری نسخه جدید DNA سنتز شده می‌تواند به شکل غیرعادی قرار گیرد ولی به دلیل ساختار تکرارشده DNA ریز ماهواره‌ها اکثر بازهای دو رشته‌ای جدید هنوز بصورت جفت شده باقی می‌مانند و تنها یک ساختار حلقه‌ای کوچک بصورت جفت نشده برجای می‌ماند در صورتیکه سنتز DNA ادامه پیدا کند، تعداد تکرارها در رشته جدید تغییر خواهد کرد و از اینرو لغزش نسخه‌برداری منجر به ایجاد یک سری از آللها با اندازه متفاوت (آللهای پلی مورف) در افراد جمعیت می‌شود. قدرت این نشانگرها در حل مشکلات زیستی و تجزیه و تحلیل‌های جمعیتی و همچنین مطالعات اکولوژیک بررسی رفتارهای تولید مثلی، شناسایی ساختار جمعیت‌های گیاهی و جانوری تشخیص نژادهای پرورشی از طبیعی، ارزیابی رابطه ژنتیکی والدین با فرزندان، مدیریت والدین، تشخیص ژینوژنز، پلی‌پلوئیدی، تشخیص دورگه‌ها، ارزیابی تکاملی می‌باشد (O'Reilly & Wright, 1995). تنوع زیاد، قابلیت رتبه‌دهی آسان، همباز بودن و پراکندگی یکنواخت در سراسر ژنوم از دلائل عمده کاربرد وسیع این نشانگر محسوب می‌شود (O'Reilly & Wright, 1995).

هدف تحقیق حاضر، بررسی ساختار جمعیتی ماهی شیپ در سواحل جنوبی دریای خزر و رودخانه اورال است تا از اطلاعات بدست آمده بتوان در مراکز تکثیر جهت بازسازی ذخایر و همچنین در تعیین میزان برداشت از ذخایر ماهیان بومی که کشورهای حوضه دریای خزر با آن مواجه می‌شوند، استفاده نمود.

مواد و روش کار

مقدار ۲ گرم از بافت نرم انتهای باله دمی و باله پشتی ۷۳ نمونه ماهی شیپ صید شده طی پاییز ۱۳۸۲ تا بهار ۱۳۸۴ از صیدگاههای سواحل جنوبی دریای خزر در استانهای گلستان (۲۳ نمونه)، مازندران (۲۱ نمونه)، گیلان (۲۱ نمونه) و همچنین رودخانه اورال درشمال دریای خزر (۸ نمونه) جمع‌آوری و سپس نمونه‌ها جهت انجام مراحل آزمایش در الکل اتانول ۹۶ درصد در آزمایشگاه ژنتیک انستیتو تحقیقات ماهیان خاویاری نگهداری گردید.

استخراج DNA از نمونه‌ها به روش فنل- کلروفرم انجام گردید (Pourkazemi, 1996). در این روش بافتها در بافر استاندارد STE به همراه پروتئیناز K به مدت ۲۴ ساعت هضم و خالص‌سازی با استفاده از روش فنل- کلروفرم انجام گرفت و پس از رسوب DNA با الکل، در بافر TE حل گردید. کمیت وکیفیت DNA استخراجی بترتیب با استفاده از دستگاه اسپکترو فتومتر (مدل CECIL، CE2040) و الکتروفورز ژل آگارز یک درصد تعیین گردید (Pourkazemi, 1996).

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز جهت تکثیر جایگاههای مورد بررسی (LS68 ، LS62، LS57 و LS19) (May *et al.*, 1997) که مشخصات آنها در جدول ۱ آمده است، در حجم ۲۵ میکرولیتر در دستگاه ترموسایکلر (اپندورف مدل Mastercycler 384) در سیکلهای دمایی ۶۴ درجه برای ۴ دقیقه (واسرشته شدن اولیه)، ۹۴ درجه ۳۰ثانیه (واسرشته شدن)، ۶۰ تا ۶۴ درجه، ۳۰ ثانیه (الحاق)، ۷۲درجه، ۳۰ ثانیه با تعداد ۳۵ سیکل (بسط) و یک بسط نهایی ۷۲ درجه برای ۵ دقیقه انجام گرفت که هر واکنش شامل مواد زیر می‌باشد: کلرید منیزیم ۱/۵ میلی مولار، ۱ واحد بین‌المللی تگ DNA پلیمراز، ۵۰ نانوگرم DNA، ۰/۲ میکرومول از هر پرایمر،

www.SID.ir

Archive of SID

بافر PCR (1x). قطعات تکثیر شده در واکنش زنجیره‌ای پلیمراز بر روی ژل اکریل آمید ۶ درصد غیردناتوره در الکتروفورز عمودی بارگیری و سپس ژل آماده شده با استفاده از نیترات نقره رنگ آمیزی گردید (May *et al.*, 1997).

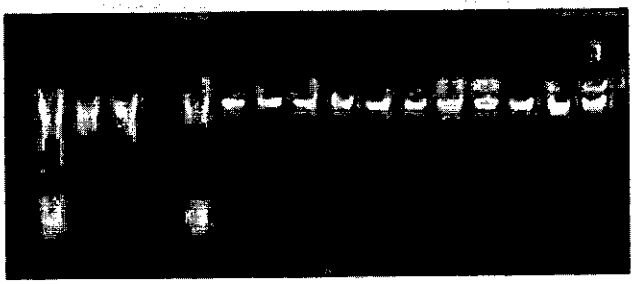
شکل ژل مورد نظر با استفاده از دستگاه مستند سازی ژل (vilber lourmat) تهیه و اندازه قطعات با استفاده از نرم‌افزار بیوکپ (Biocap) محاسبه گردید. شاخصهای تنوع شامل تعداد آلل واقعی، تعداد آلل موثر، هتروزیگوسیتی مورد انتظار و مشاهده شده، شاخص شانون، تعادل هاردی واینبرگ و آزمون آنالیز واریانس مولکولی با استفاده از نرم افزار Gene Alex (Peakal & Smouse, 2005) و شاخص Tevfic Dorak, Rst (2005) مورد تجزیه و تحلیل قرارگرفت.

نتایج

نتایج ثبت شده از DNA استخراجی از نمونه‌ها و محصول تکثیر DNA نمونه ها با پرایمرهای مورد بررسی در تصاویر ۱ تا ۵ آمده است. نتایج تعداد آلل واقعی و موثر، هتروزایگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار واکنش زنجیره ای پلیمراز در تکثیر جایگاههای ریزماهواره مورد بررسی در جدول ۲ آمده است.

بیشترین تعداد آلل مشاهده شده در جایگاه U72739 مربوط به مناطق بابلسرو گرگان، کمترین مقدارآن درجایگاه U72739 در منطقه بندر انزلی ، U72736 در منطقه اورال می‌باشد. بیشترین و کمترین تعداد آلل موثر در جایگاه U72739 بترتیب برای مناطق بابلسر و سفیدرود مشاهده شد. بیشترین و کمترین مقدار He در جایگاه U72739 بترتیب درمناطق با بلسر و سفیدرود می باشد. بیشترین مقدار Ho در جایگاه U72730 در منطقه بندر انزلی و درجایگاه U72739 در منطقه اورال و کمترین مقدار آن در جایگاه U72730 در منطقه بندر انزلی اورال مشاهده شد.

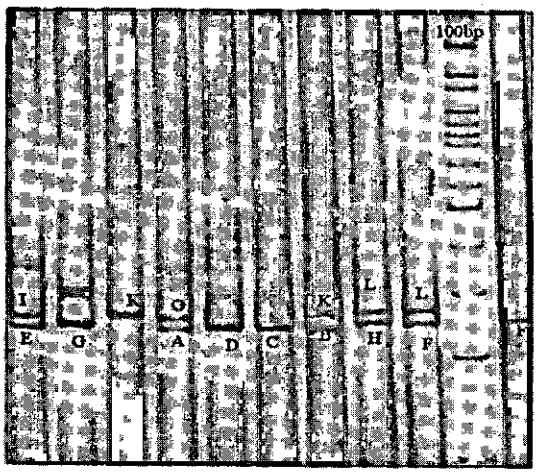
بیشترین و کمترین مقدار شاخص شانون در جایگاه U72739 بترتیب در منطقه بابلسر و بندر انزلی دیده شد (جدول ۲). در بررسی تعادل هاردی واینبرگ در ترکیبات جایگاه - منطقه نمونه‌های منطقه گرگان در جایگاه U72739 و U72730 ($P< ۰/۰۵$) و در جایگاه U72736 ($P<۰/۰۰۱$)، نمونه‌های منطقه بابلسر در جایگاه U72739 ($P<۰/۰۰۱$) و در جایگاه U72730 ($P<۰/۰۵$) و نمونه‌های منطقه اورال در جایگاه U72730 ($P<۰/۰۵$) انحراف از تعادل هاردی واینبرگ را نشان دادند (جدول ۳). همچنین در تمامی مناطق برای هر جایگاه ($P<۰/۰۱$) انحراف از تعادل هاردی واینبرگ مشاهده شد (جدول ۴). از آنجائیکه Fst زمانی می‌تواند معنی‌دار بودن اختلافات را نشان دهد که مقدار آن بالای ۰/۲۵ باشد (Tevfic Dorak, 2005)، از معیار دیگری به نام Rst برای تعیین اختلاف و معنی‌دار بودن اختلافات بین مناطق نمونه برداری استفاده شد. معیار Rst معنی‌دار بودن اختلاف نمونه‌های رودخانه اورال با کلیه مناطق در سطح ۹۵ درصد و درصد ۹۹ نشان داد. نمونه‌های سفید رود با کلیه مناطق در سطح ۹۵ درصد و ۹۹ درصد اختلاف معنی‌داری را نشان دادند. اختلاف نمونه‌های بندر انزلی و بابلسر معنی‌دار نیست (جدول ۵). آنالیز AMOVA با در نظرگرفتن ۲ ناحیه نمونه‌برداری، ناحیه اول مناطق بندر انزلی، رودخانه سفید رود، بابلسر، گرگان و ناحیه دوم شمال دریای خزر منطقه اورال، اختلاف میان نواحی نمونه‌برداری ۳۲ درصد ($P\leq ۰/۰۰۱$) و اختلاف میان مناطق نمونه‌برداری ۵ درصد ($P\leq ۰/۰۰۱$) و اختلاف داخل مناطق نمونه‌برداری ۶۳ درصد ($P\leq ۰/۰۰۱$) نشان داد (جدول۶).



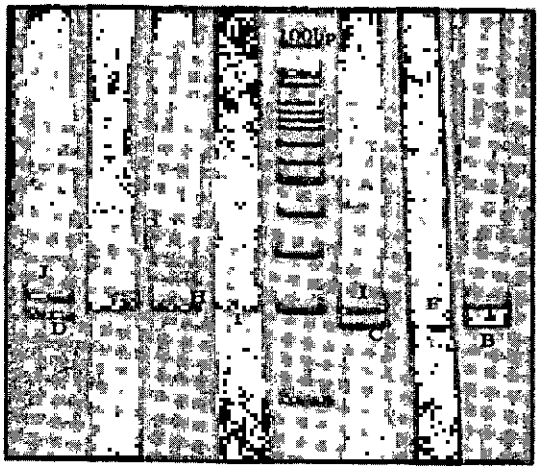
شکل ۱: نمونه‌ای از DNA استخراج شده به روش فنل- کلروفورم برروی ژل آگاروز ۱ درصد

www.SID.ir

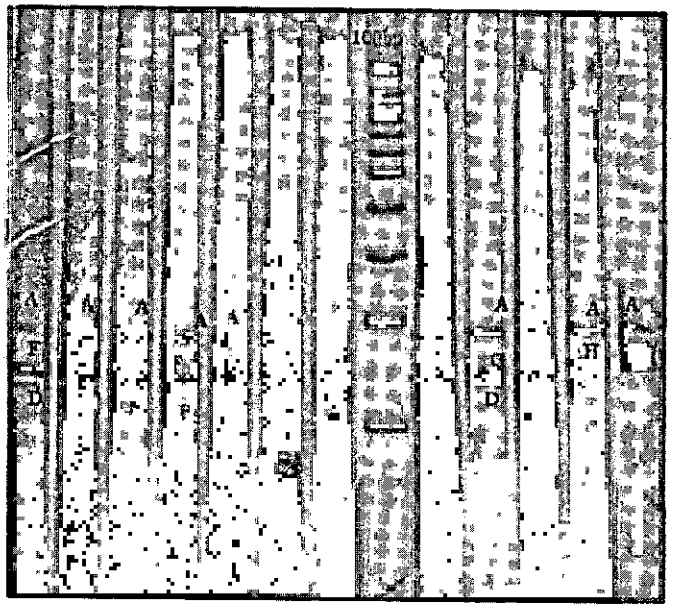
Archive of SID



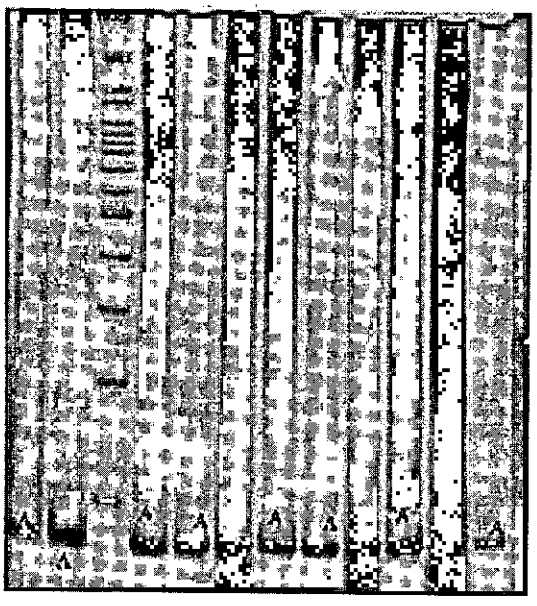
شکل ۲: محصول PCR وآرایش باند DNA ماهی شیپ دریای خزر با استفاده از پرایمر LS-68(U72739) روی ژل اکریل آمید پس از رنگ آمیزی با نیترات نقره (حروف معرف آللها)



شکل ۳: محصول PCR و آرایش باند DNA ماهی شیپ دریای خزر با از پرایمر LS-67(U72736) روی ژل اکریل آمید پس از رنگ امیزی با نیترات نقره (حروف معرف آللها)



شکل ٤: محصول PCR و آرایش باند DNA ماهی شیپ دریای خزر با استفاده از پرایمر LS-57(U72730) روی ژل اکریل آمید پس از رنگ‌آمیزی با نیترات نقره (حروف معرف آللها)



شکل ۵: محصول PCR و آرایش باند DNA ماهی شیپ دریای خزر با استفاده از پرایمر LS- 62(U72738) روی ژل اکریل آمید پس از رنگ‌آمیزی با نیترات نقره (حروف معرف آللها)

www.SID.ir

Archive of SID

جدول۱: جایگاهها و توالی پرایمرهای مورد استفاده درآنالیز ریزماهواره ماهی شیپ

Locus	توالی تکراری	دمای اتصال (درجه سانتیگراد)	توالی پرایمر	Mgcl2 (mM)	نتیجه
LS-68	(GATA)13	۶۱/۵	TTATTGGATGGTGTAGCTAAAC AGCCCAACACACGAATATC	۱/۵	p
LS-57	(GAA)29	۶۲	GATCAGGAGCGACVAAC CCCTGGATTTGAATTAACAG	۱/۵	p
LS-19	(TTG)9	۶۱/۵	GCTTGGTTGCTAGTTTGC GTACAGATGACCAGAGGA	۱/۵	M و p
LS-62	(GACA)7	۵۷	CATCTTAG-CCGTCTGTGGTAC CAGGTCCCTAAT/ACA/AT/GGC	۱/۵	M

P: جایگاه پلی مورف می‌باشد و M: جایگاه مونومورف است.

جدول۲: مقادیر N: تعداد نمونه، Na :تعداد آلل، Ne: تعداد آلل موثر، I: شاخص شانون، He: هتروزیگوستی مورد انتظار، Ho : هتروزیگوسیتی مشاهده شده در ترکیبات مختلف جایگاه- منطقه

نمونه‌های منطقه	locus	N	Na	Ne	I	He	Ho
بندر انزلی	u72739	۱۰	۷	۵/۵۷	۱/۸	۰/۸۲	۰/۵
بندر انزلی	u72730	۱۰	۱۰	۷/۴	۲/۱	۰/۸۶۵	۱
بندر انزلی	u72736	۱۰	۱۲	۹/۵	۲/۳۷	۰/۸۹۵	۰/۶
رودخانه سفید رود	u72739	۱۱	۹	۴/۷۴	۱/۸۴	۰/۷۸۹	۰/۶۳۶
رودخانه سفید رود	u72730	۱۱	۸	۵/۹	۱/۸۹	۰/۸۳۱	۰/۶۳۶
رودخانه سفید رود	u72736	۱۱	۹	۶/۵	۲/۰۲	۰/۸۴۷	۰/۹۳۹
بابلسر	u72739	۲۱	۱۴	۱۱/۲	۲/۴۹	۰/۹۰۹	۰/۶۱۹
بابلسر	u72730	۲۱	۱۳	۸/۳	۲/۳۱	۰/۸۸	۰/۹۵۲
بابلسر	u72736	۲۱	۱۱	۷/۷	۲/۱۷	۰/۸۷	۰/۹۰۵
گرگان	u72739	۲۳	۱۴	۹/۱	۲/۳۹	۰/۸۹	۰/۸۲۶
گرگان	u72730	۲۳	۱۲	۸/۸۹	۲/۳	۰/۸۸	۰/۹۱۳
گرگان	u72736	۲۳	۱۳	۸/۳۹	۲/۳۲	۰/۸۸۱	۰/۵۶۵
رودخانه اورال	u72739	۸	۹	۶/۴	۲/۰۱	۰/۸۴۴	۱
رودخانه اورال	u72730	۸	۸	۶/۴	۱/۹۶	۰/۸۴۴	۰/۳۷۵
رودخانه اورال	u72736	۸	۷	۵/۸	۱/۸۴	۰/۸۲۸	۰/۸۷۵

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۳: بررسی تعادل هاردی- وایتبرگ در مناطق مختلف نمونه‌برداری

جایگاه / منطقه	پارامترهای آماری	U72730	U72736	U72739
بندر انزلی	df	۲۸	٤٥	٤٥
	X^2	۳۳	٥٦	٤٦
	pro	۰/۲۲	۰/۱۲	۰/٤۲
	sig	ns	ns	ns
رودخانه سفید رود	df	۲۸	۳٦	۳٦
	X^2	۳۲/٥	٤۰	٤۰/٥
	pro	۰/۲٥	۰/۲۸	۰/۲۷
	sig	ns	ns	ns
بابلسر	df	۷۸	٥٥	۹۱
	X^2	۱۰۱	٤٤/٥	۱٤۸
	pro	۰/۰٤	۰/۸٤	۰/۰۰
	sig	*	ns	***
گرگان	df	٦٦	۱۰٥	۹۱
	X^2	۸۸	۱۷۱	۱۲۳/۲۷
	pro	۰/۰۳٦	۰/۰۰	۰/۰۱٤
	sig	*	***	*
رودخانه اورال	df	۲۸	۲۱	۳٦
	X^2	٤٦	۲۰/٦٦	۳۱
	pro	۰/۰۱۷	۰/٤۷۹	۰/۷
	sig	*	ns	ns

prob : احتمال، df : درجه آزادی، ns: عدم معنی‌داری،

***: معنی‌داری در سطح ۰/۹۹۹ (P≤0.001)، *: معنی‌داری در سطح ۰/۹٥ (P≤0.05)

جدول۴: نتایج ازمون x^2 برای تعادل هاردی-وایتبرگ در سطح جایگاهها برای همه نمونه‌ها

	جایگاه	X^2	احتمال	معنی‌داربودن اختلاف
کل نمونه‌ها	U72739	٦٤۹/٥	۰/۰۰	***
کل نمونه‌ها	U72730	۳۳٥/۰۷	۰/۰۰	***
کل نمونه‌ها	U72736	۳۷۷/٦۸	۰/۰۰	***

***: معنی‌داری در سطح ۰/۹۹۹ (P≤0.001)

www.SID.ir

Archive of SID

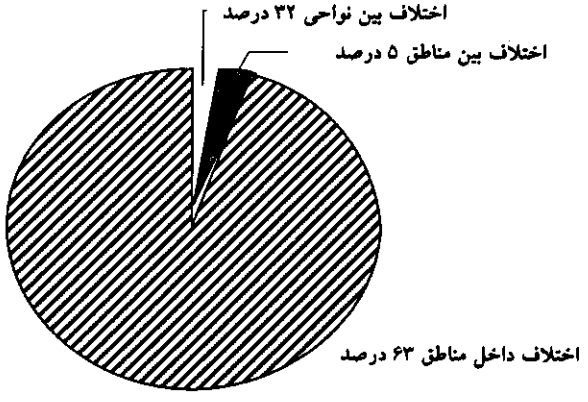
جدول ۵ : اختلاف بین مناطق نمونه برداری

(اعداد زیر قطر مقادیر Rst و اعداد بالای قطر میزان احتمال اختلاف بین مناطق نمونه‌برداری)

	رودخانه اورال	گرگان	بابلسر	رودخانه سفید رود	بندر انزلی
بندر انزلی	۰/۰۱۵	۰/۰۳۱	۰/۱٤٥	۰/۰۰۷	----
رودخانه سفید رود	۰/۰۰۱	۰/۰۰٦	۰/۰۱٦	----	۰/۱٤٤
بابلسر	۰/۰۰۱	۰/۰۲۱	----	۰/۰۷۸	۰/۰۳۱
گرگان	۰/۰۰۱	----	۰/۰٤۷	۰/۱۰۸	۰/۰٦۴
رودخانه اورال	----	۰/۳۷۸	۰/۳۸۲	۰/۴۰۳	۰/۱۷

جدول۶: آنالیز AMOVA اختلاف میان نواحی نمونه‌برداری و مناطق نمونه‌برداری و داخل مناطق

	درصد	احتمال
اختلاف بین نواحی نمونه‌برداری	۳۲	۰/۰۰۱
اختلاف بین مناطق نمونه‌برداری	۵	۰/۰۰۱
اختلاف داخل مناطق	۶۳	۰/۰۰۱



نمودار ۱: آنالیز واریانس مولکولی AMOVA

بحث

تکثیر موفقیت آمیز جایگاههای مورد استفاده در این بررسی که در مطالعه May و همکاران در سال ۱۹۹۷ در بعضی از گونه‌های تاسماهیان آمریکای شمالی بعنوان جایگاههای پلی‌مورف معرفی شده بودند حاکی از حفاظت شدگی جایگاههای ریزماهواره می‌باشد.

سه جایگاه از چهار جایگاه مورد مطالعه تنوع بالا (۰/۷۵) را نشان داد که شبیه به هتروزایگوسیتی مشاهده شده در مطالعه Wirgin و همکاران در سال ۲۰۰۲ در تاسماهی آتلانتیک (*Atlantic oxyrhincus*) (۰/۴۴ تا ۰/۶۴)، Shaw و همکاران در سال ۱۹۹۹ در مطالعه شگ ماهی اطلس (*Clupea harengus*) (۰/۹ تا ۰/۹۳) است. سطح تنوع ژنتیکی در هرگونه و در جمعیتهای مختلف یک گونه که در هر منطقه می‌باشد، متفاوت است. میزان تنوع در ماهیان شور بیشتر از ماهیان آب شیرین است و مقدار آن در ماهیان رودکوچ بینابین ماهیان آب شیرین و شور است (Dewoody & Avise, 2000). مقایسه تنوع مشاهده شده در ماهی شیپ با استفاده از روش ریزماهواره‌ها (۰/۷۵) با مطالعه مشابه

www.SID.ir

Archive of SID

قاسمی در سال ۱۳۸۲ با استفاده از ژن ND5/6 و روش PCR-RFLP (میزان تنوع هاپلوتیپی و نوکلئوتیدی بترتیب ۰/۸۱۶ و ۰/۰۰۷) بر تنوع بالای ریزماهواره‌ها دلالت دارد. در بررسی حاضر انحراف از تعادل هاردی واینبرگ مشاهده شده در بعضی جایگاهها را می‌توان به اندازه کوچک جمعیت و تاثیر آن در نمونه‌برداری، جریان ژنی و مهاجرت نسبت داد. Rico و همکاران در سال ۱۹۹۷ در بررسی ذخایر وایتینگ (*Merlangius merlangus*) جریان ژنی، Zhao و همکاران در سال ۲۰۰۵ در مطالعه تاسماهی چینی (*Acipenser sinensis*) رانش ژنتیکی، Birgtte و همکاران در سال ۲۰۰۵، در بررسی جمعیت اردک ماهی (*Esox lucius*) اندازه کوچک جمعیت ناشی از عصر یخبندان را در انحراف از تعادل هاردی واینبرگ موثر دانستند. فرضیه تعادل هاردی واینبرگ براساس چگونگی توزیع ژنها و ژنوتیپهای مختلف در یک جمعیت بنا شده است و بنابر این فرضیه، حصول تعادل ژنتیکی مبتنی بر چند شرط اصلی می‌باشد که از آنجمله می‌توان به بسته بودن جمعیت و عدم مهاجرت، بزرگی جمعیت و عدم رانش ژنتیکی، جفت‌گیری تصادفی و عدم انتخاب (بقا و کارآیی یکسان همه ژنوتیپها در تولید اخلاف)، عدم جهش اشاره کرد (استانسفیلد، ۱۳۷۳).

جمعیت گروهی از افراد درون آمیزش است که از نظر تولید مثلی از گروههای دیگر همان گونه جدا می‌باشند و به علت عدم جداسازی میان جمعیتها بعنوان گونه تلقی نمی‌گردند، اعضای دو جمعیت از یک گونه اگر فرصت پیدا نمایند قادرند فرزندان بارور تولید کنند (قاسمی، ۱۳۸۲). ساختار جمعیتی یک گونه می‌تواند یک جمعیت تولید مثلی منفرد، جمعیتهای متعدد مجزا که تنها گاهی با هم تبادلات گامتی دارند ولی در اصل بوسیله فاصله جغرافیایی از هم جدا هستند، جمعیتهایی که در کنار هم زندگی می‌کنند ولی از نظر تولید مثلی مجزا هستند یا ترکیبی از تمام حالات بالا باشند (Whitemore, 1990). ساختار ژنتیکی جمعیتهای مختلف آبزیان ممکن است در اثر عوامل مختلف همچون رانش، انتخاب، مهاجرت و جریان ژنی و عواملی مانند تجمع افراد بعد از عصر یخبندان تغییر کند (Birgtte *et al.*, 2005) . در بین ماهیان، گونه‌های دریایی تمایز ژنتیکی پایین‌تری را نسبت به ماهیان دریایی نشان می‌دهند که این امر را به اندازه بزرگ جمعیت موثر و پتانسیل بالای جریان ژنی در محیطهای دریایی و اندازه کوچک جمعیت موثر و جریان ژنی محدود در جمعیتهای آب شیرین نسبت داده می‌شود. Shaw و همکاران در سال ۱۹۹۹ عدم معنی‌دار بودن اختلاف بین جمعیت شگ ماهیان بهار تخم‌ریز نروژ و شگ ماهیان منطقه بالسفجورد را ناشی از مهاجرت برای تغذیه این ماهیان دانستند. Adams و همکاران در سال ۲۰۰۲ در بررسی ساختار جمعیتی قزل‌آلای جویباری (*Salvelinus fontinalis*) نشان دادند که برغم عدم وجود سد فیزیکی برای مهاجرت بین دریاچه‌های حوضه آبریز خلیج هند هر دریاچه جمعیت تولید مثلی مجزایی دارد و این امر را به شرایط هیدروجغرافیایی نسبت دادند.

رفتارهای تولید مثلی از جمله بازگشت به زادگاه اصلی نوعی رفتار تولید مثلی برای جدایی هر چه بیشتر یک نژاد یا جمعیت می‌باشد. اکثر جمعیتهای تاسماهیان دریارو (Potadramous) یا رودکوچ (Anadramous) هستند که از دریا یا آب شیرین (دریاچه) جهت تخم‌ریزی وارد رودخانه می‌شوند. Wirgin و همکاران در سال ۲۰۰۲ بیان کردند که میزان بازگشت به زادگاه ماهیان خاویاری در گونه‌های مختلف و در جنسهای نر و ماده متفاوت و این میزان در ماهیان خاویاری کمتر از سایر ماهیان رود کوچ می‌باشد. در مطالعه آنان بین دو گونه مختلف ماهیان خاویاری، در تاسماهی آتلانتیک (*Atlantic oxyrhincus*) کمتر از تاسماهی خلیج مکزیک و در جنس ماده بیشتر از جنس نر گزارش گردید. در مطالعه حاضر اختلاف مشاهده شده میان نواحی نمونه‌برداری در آزمون AMOVA نشان می‌دهد نمونه‌های رودخانه اورال جدا از نمونه‌های مناطق جنوبی دریای خزر می‌باشند که به زادگاه خودشان برگشته‌اند که این تایید کننده مطالعه قاسمی در سال ۱۳۸۲ با استفاده از روش PCR-RFLP است که نشان داد بین جمعیت شیپ رودخانه اورال و حوضه جنوب دریای خزر اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($P\leq$ ۰/۰۰) (X^2 =۱۳۷/۳۵). اختلاف مشاهده شده در نمونه‌های سفید رود با سایر مناطق جنوب دریای خزر نیز می‌تواند گواهی بر توانایی مارکر ریزماهواره در تفکیک جمعیتهای احتمالی موجود در جنوب خزر باشد، مطلبی که مطالعه مشابه با استفاده از روش RFLP نتوانست آن را نشان دهد و باید مطالعه بیشتری در این مورد صورت پذیرد.

از آنجا که طبق تصمیمات کنوانسیون CITES کشورهای مشترک در یک اکوسیستم آبی باید سهمیه سالانه برای هر یک از گونه‌ها خود براساس نتایج گشت ارزیابی ذخایر تعیین نمایند، احتمال می‌رود در آینده تعیین سهمیه برای هر یک از گونه‌ها بر مبنای جمعیتهای شناسایی شده، صورت پذیرد. در حال حاضر بعضی کشورهای حاشیه دریای خزر ادعای بومی بودن بعضی از گونه‌های تاسماهیان در محدوده آبی خود (بعنوان نژاد و جمعیتی خاص) را داشته و حتی پیشنهاد ممنوعیت صید گونه فوق را برای سایر کشورها می‌نمایند تا براساس صید در آبهای خود معادل سهمیه تعیین شده را برای کشور مورد نظر استحصال نمایند (شعبانی، ۱۳۸۴). بنابراین، نتیجه این تحقیق می‌تواند در بازسازی ذخایر و جلوگیری از انقراض جمعیتهای احتمالی و حفظ تنوع ژنتیکی ماهی شیپ مورد استفاده قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

این تحقیق در قالب طرحی پژوهشی با تامین مالی از طرف موسسه تحقیقات شیلات ایران انجام گرفته که مراتب قدردانی نگارندگان مقاله از مسئولین موسسه تحقیقات شیلات، انستیتو بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان وکلیه کسانی که به

www.SID.ir

Archive of SID

نوعی محققین را یاری داده‌اند ابراز می‌گردد. همچنین از داوران محترم که با نظرات خویش بر غنای این مقاله افزودند صمیمانه سپاسگزاری می‌گردد.

منابع

استانسفیلد، و. ، ۱۳۷۳. ژنتیک، تئوری و مسائل. ترجمه: محمد صبور و حمیده علمی غروی. انتشارات فاطمی، ۶۹۳ صفحه.

شعبانی،ع. ، ۱۳۸۴. مقایسه جمعیتهای مولدین ماهی اوزون برون (*Acipenser stellatus*) در بخش شمالی (رودخانه ولگا) و جنوبی دریای خزر با روشهای مولکولی (PCR-RFLP)، مورفولوژیکی و برخی از نرماتیوهای تکثیر آن. پایان نامه دکتری شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. ۱۲۰ صفحه.

قاسمی، ا. ، ۱۳۸۲. مقایسه تنوع ژنتیکی ماهی شیپ (*Acipenser nudiventris*) در سواحل جنوبی دریای خزر و رودخانه اورال با استفاده از روش PCR-RFLP. پایان نامه کارشناسی بیولوژی دریا، دانشکده علوم دریایی و منابع طبیعی دانشگاه تربیت مدرس. ۷۳ صفحه.

هالرمن، ا. ، ۱۳۸۴. کاربرد ژنتیک جمعیت در شیلات (جلد دوم). ترجمه: ایرج هاشم زاده سقرلو، انتشارات نقش مهر، ۱۵۲ صفحه.

Adams, B.K. and Hutchings, J.K. , 2002. Micro geographic population structure of brook charr: A comparison of microsatellite and mark-recapture data. Journal of Fish Biology. Vol. 62, pp.517-533.

Birgitte, J. ; Hansen, M. and Loeschcke, V. , 2005. Microsatellite DNA analysis of northern pike (*Esox luscious*) population: Insights into the genetic structure and demographic history of a genetically depauperate species.Biological Journal of the Linnean Society. Vol. 84, pp.1-11.

Dewoody, J.A. and Avise, J.C. , 2000. Microsatellite variation marine, freshwater and anadramous fishes compared with other animals. Journal of Fish Biology. Vol. 56. pp.461-473.

Gardiner, B.G. , 1984. Sturgeons as living fossils. Springer-Verlag, New York. USA. pp.148–152.

May, B. ; Charles, C. ; Krueeger, C. and Kincaid, L. , 1997. Genetic variation at microsatellite loci in sturgeon primer sequence homology in Acipenser and Scaphirhincus. Canadian Journal of Fish. Aquatic Sciences. Vol. 54. pp.1542-1547.

O'Reilly, P. and Wright, J.M. , 1995. The evoling technology of DNA fingerprinting and its application to fisheries and aquaculture. Journal of Fish Biology. Vol. 47, pp.29-55.

Peakal, M. and Smouse, A. , 2005. Gene Alex Analysis in Exel. Version 6.

Pourkazemi, M. , 1996. Molcular and biochemical genetic analysis of sturgeon stock from the south Caspian Sea. PhD. Thesis School of Biochemical Sciences, University of Wales, Swansea. 200P.

Rico, C. ; Ibrahim, K.M. ; Rico, I. and Hewitt, G.M. , 1997. Stock composition in north Atlantic population of whiting using microsatellite markers. Journal of Fish Biology. Vol. 51, pp.462-475.

Shaw, P.W. ; Turan, C. ;Wright, J.M. ; Connel, M. and Carvalno, G.R. , 1999. Microsatellite DNA analysis of population structure in Atlantic herring (*Clupea harengus*), with direct comparison to allozyme and mtDNA RFLP analyses. Heredity. Vol. 82, pp.490-499.

Tevfic Dorak, M. , 2005. Baisic population genetics. http:www.dorak.info/genetic/popgen.html.

Whithmore, H. , 1990. Electrophoresis and isoelectric focusing technique in fisheries management, PCR. Press, INC.150P.

Wirgin, I. ; Waldman, J.R. ; Stabile, J. ; Lubinski, B. and King, T. , 2002. Comparison mitochondrial DNA control region sequence and gene flow rates in Atlantic sturgeon *Acipenser oxyrinchus*. Journal of Applied Ichthyology. Vol. 18, pp.313-319.

Zhao, N.A. ; Shao, W. ; Zhu, Z. ; Brosse, B. and Chang, J. , 2005. Microsatellite assessment of Chinese sturgeon (*Asipenser sinensis*). Journal of Applied Ichthyology. Vol. 21, pp.7-13.

www.SID.ir

Archive of SID

Population structure of *Acipenser nudiventris* in the south coast of Caspian Sea and Ural River using Microsatellite method

Safari R.[(1)*] ; Pourkazemi M.[(2)] ; Rezvani Gilkolaei S.[(3)] and Shabani A.[(4)]

roghi_safari@yahoo.com

1,4- Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan University, P.O.Box:49138-15739 Gorgan, Iran

2 -International Sturgeon Research Institute, P.O.Box:41635-6116 Rasht, Iran

3- Iranian Fisheries Research Organization, P.O.Box:14155-6116 Tehran ,Iran

Received: September 2007 Accepted: March 2008

Keywords: Microsatellite, *Acipenser nudiventris*, Sturgeon, Ural River, Caspian Sea

Abstract

Population structure of Ship sturgeon, *Acipenser nudiventris*, from the south coast of Caspian Sea and Ural River was investigated using Microsatellite method. For this reason, 73 specimens of the sturgeon were collected from five locations in two sampling regions the first consisted of Bandar Anzali, SefidRud River, Babolsar, and Gorgan, and the second was Ural River. Four SSR markers were used in this investigation, of which 5 loci produced DNA band, with three of them being polymorph. One primer showed two loci with one of them being polymorph and another was monomorphic). Average expected and observed heterozygosity was 0.86 and 0.75 respectively. Genetic variation was assessed through analysis of molecular variance (AMOVA) that indicated almost all of the variance in data namely %94 ($P \leq 0.03$) was within locations. Genetic variance among locations was 3% ($P < 0.02$) and among regions was %3 ($P \leq 0.08$). According to the results, we suggest that the sturgeon population from Ural River is different from that of the south Caspian Sea samples. This information is of utmost importance in artificial reproduction and stock rebuilding of the fish.

* **Corresponding author**

www.SID.ir