"مقاله پژوهشی"

مقایسه ساختار ژنتیکی ماهی کلمه دریای خزر (*Rutilus caspicus*) در منطقه گرگانرود و بندرانزلی با استفاده از نشانگر ریزماهواره

زینب حسین نیا[1]، رقیه صفری[1*]، حامد پاکنژاد[1]

۱- گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران،

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۰/۲۳ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱/۱۹

چکیده

در تحقیق حاضر، بررسی تنوع ژنتیکی ماهی کلمه (*Rutilus caspicus*) به‌عنوان گونه بومی دریای خزر در دو منطقه گرگانرود و بندرانزلی با استفاده از شش جفت نشان‌گر ریزماهواره (Lc03، Lc04، Lid1، Cyp6، Ca1 و Ca3) انجام شد. بدین‌منظور، تعداد ۶۰ قطعه ماهی از این گونه در دو منطقه گرگانرود و بندرانزلی (۳۰ قطعه از هر منطقه) با صید پره نمونه‌برداری شد. طبق نتایج حاصل از بررسی تنوع ژنتیکی، متوسط میزان Fst، ۰/۰۱۶ به‌دست آمد که نشان از تمایز ژنتیکی پایین بین جمعیت‌های مورد بررسی بود. میانگین جریان ژنی و ضریب درون‌آمیزی محاسبه‌شده به‌ترتیب برابر ۲۴/۵۵۲ و ۰/۱۹ محاسبه شد. در بررسی تعادل هاردی-واینبرگ، نمونه‌ها در اکثر لکوس‌ها انحراف از تعادل را نشان دادند که دلیل عمده آن را می‌توان به وجود الل‌های نول و تکثیر مصنوعی نسبت داد. تعداد الل‌ها به‌ترتیب در محدوده ۱۵-۶ میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده و مورد انتظار نیز به ترتیب ۰/۶۲ و۰/۷۶ به‌دست آمد، که بیانگر این مطلب می‌باشد که جمعیت‌های مورد بررسی از غنای اللی و تنوع ژنتیکی قابل توجهی برخوردار می‌باشند. همچنین آنالیز واریانس مولکولی نشان داد که تنوع پایینی بین جمعیت‌ها وجود داشته و بخش عمده تنوع مشاهده‌شده مربوط به درون جمعیت‌هاست. نتایج حاصل از بررسی فاصله ژنتیکی نیز حاکی از جدایی جمعیت‌های ماهی کلمه در مناطق مورد بررسی می‌باشد.

کلمات کلیدی: ماهی کلمه، تنوع ژنتیکی، هتروزیگوسیتی، ریزماهواره.

* عهده‌دار مکاتبات: rsafari@gau.ac.ir

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-08-01]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1402.17.2.4.5]

[DOI: 10.61186/aqudev.17.2.59]

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-08-01]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1402.17.2.4.5]

[DOI: 10.61186/aqudev.17.2.59]

مقدمه

دریای خزر بزرگترین پیکره بسته آبی در سطح زمین است و اقامت‌گاهی برای حدود ۱۱۵ گونه و زیرگونه ماهی به‌شمار می‌رود. یکی از ماهیان با ارزش تجاری بالای این دریا، ماهی کلمه (*Rutilus caspiucus*) از راسته کپور ماهی‌شکلان (Cypriniforms) می‌باشد. در سال‌های اخیر به‌دلایل مختلفی از جمله آلودگی آب‌ها، تخریب رودخانه‌ها، ایجاد سد بر مسیر مهاجرت و همچنین صید قاچاق میزان ذخایر آن به‌شدت کاهش‌یافته است (Kiabi *et al*., 1999). جهت حفاظت و بازسازی ذخایر این گونه ارزشمند، شیلات ایران تلاش‌های قابل توجهی نموده است. احداث کارگاه (مرکز تکثیر و پرورش ماهیان استخوانی سیجوال و سد وشمگیر)، جهت تکثیر و رهاسازی میلیون‌ها عدد بچه‌ماهی انگشت‌قد در دریا از جمله این اقدامات محسوب می‌شود که در آن بالغین از طبیعت صید و در شرایط کنترل شده تکثیر می‌شوند و نتاج به‌دست آمده را بعدها در طبیعت رهاسازی می‌کنند. این روند در هر سال یا هر دوره انجام می‌شود (Fiumera *et al*., 1999). هرچند برنامه‌های بازسازی ذخایر به‌منظور تقویت جمعیت وحشی صورت می‌پذیرد اما این روش در طولانی‌مدت می‌تواند با کاهش تنوع ژنتیکی موجب تغییر ذخایر ژنی بومی و در نهایت حذف گونه مورد نظر شود (Machado-Schiaffino *et al*., 2007). در مطالعه انجام‌شده بر روغن‌ماهی اقیانوس اطلس (*Gadus morhua*) (Pampuli *et al*., 2006) و همچنین در بررسی اویستر (*Pinctada maxima*) (Lind *et al*., 2007) مشخص شد که تفاوت‌های ژنتیکی قابل ملاحظه‌ای بین نمونه‌های تکثیر مصنوعی و وحشی دیده می‌شود.

تنوع ژنتیکی آبزیان یکی از شاخص‌های مهم تعیین شرایط اکولوژیک منابع آبی است (Zhou *et al*., 2003) و از اساسی‌ترین پیش نیازهای لازم برای حفظ و بقای یک گونه جهت سازگاری با محیط‌هایی است که تحت تأثیر فشارهای زیست‌محیطی مختلفی قرار دارند، زیرا تصور براین است که تنوع ژنتیکی بالا باعث ارتقاء شایستگی افراد و افزایش احتمال بقای جمعیت‌ها می‌شود (Zoller *et al*., 1999; Diz and Presa, 2009). تنوع ژنتیکی، سطحی از تنوع زیستی است که نمایان‌گر تفاوت در تعداد و نوع الل‌های جایگاه‌های کروموزومی در ساختار یک گونه یا جنس می‌باشد (Freeland, 2007). بنابراین ارزیابی تنوع ژنتیکی ذخایر می‌تواند کمک شایانی به برنامه‌های بازسازی ذخایر نماید. تا به امروز برای بررسی تنوع ژنتیکی آبزیان از نشان‌گرهای مولکولی مختلفی استفاده شده است که از میان این نشان‌گرها، ریزماهواره‌ها (SSRs) بسیار پرکاربرد هستند (Crooijmans *et al*., 1997; Liu, 2007; Li *et al*., 2007). این نشان‌گرهای مولکولی، شکلی از توالی‌های تکراری DNA هستند که از نظر سرعت، دقت، سهولت کار، ماهیت وراثت هم‌بارزی و سطح یالای چندشکلی، فراوانی اللی بالا و فراوانی زیاد در ژنوم موجودات به‌منظور شناسایی ارقام و ژنوتیپ‌های مطالعات ژنتیک جمعیت و مطالعات فیلوژنی بی‌نظیر هستند. از این روش در مطالعه بر روی ماهیان مختلفی از قبیل ماهی سیم (Hosseinnia *et al*., 2014)، ماهی سفید (رضایی و همکاران، ۱۳۹۱) و ماهی کفال (قدسی و همکاران، ۱۳۹۰) استفاده شده است. از مطالعاتی که بر ساختار ژنتیک ماهی کلمه صورت گرفته، می‌توان به آنالیز ژنتیکی صورت‌گرفته توسط کشیری و همکاران (۱۳۹۱) در مناطق قره سو و

گمیشان با استفاده از ۱۰ جایگاه ریزماهواره و همچنین بررسی تنوع ژنتیکی در خلیج گرگانرود و انزلی با استفاده از نشانگر RAPD (Keyvanshokooh *et al.*, 2007) اشاره نمود.

انتخاب ماهی کلمه به‌دلیل اهمیت اقتصادی، لزوم انتخاب مولدین مناسب جهت برنامه‌های بازسازی ذخایر و همچنین با توجه به اهمیت اکولوژیکی این گونه به‌عنوان یکی از منابع غذایی فیل‌ماهی دریای خزر می‌باشد. هدف از انجام این تحقیق ارائه اطلاعات بیشتر در مورد ساختار ژنتیکی جمعیت‌های این گونه می‌باشد. همان‌طور که در متن اشاره شد، پیش از این نیز مطالعاتی در زمینه ساختار ژنتیک این گونه صورت گرفته، یکی از مطالعات مذکور (Keyvanshokooh *et al.*, 2007) در مناطقی مشابه با مطالعه حاضر اما با نشان‌گری متفاوت (RAPD) به بررسی میزان تنوع پرداخته است و مطالعه دیگر (کشیری و همکاران، ۱۳۹۱) که با استفاده از نشان‌گرهای ریزماهواره انجام شده، مربوط به یک استان (استان گلستان) و با فاصله جغرافیایی اندک صورت گرفته است که کاهش تنوع حاصله از نتایج آن ممکن است به نزدیکی جغرافیایی مرتبط باشد. به‌همین منظور، با استفاده از روش ریزماهواره شباهت و فاصله ژنتیکی ماهی کلمه در دو منطقه گرگانرود و بندرانزلی با فاصله جغرافیایی نسبتاً زیاد، مورد مقایسه قرار می‌گیرد. اطلاعات حاصل از این تحقیق می‌تواند در بهبود و اجرای روش‌های مدیریتی مناسب در بخش بازسازی ذخایر ماهی کلمه سودمند واقع گردد.

مواد و روش‌ها

در سال ۱۳۹۲ تعداد ۶۰ عدد ماهی کلمه (۳۰ عدد از هر منطقه) از رودخانه گرگانرود در استان گلستان و منطقه بندر انزلی در استان گیلان نمونه‌برداری شدند. حدود ۳-۲ گرم از باله سینه‌ای ماهی جمع‌آوری و تا زمان استخراج DNA در ظروف نمونه‌گیری حاوی الکل اتیلیک ۹۶ درصد قرار داده شد. سپس نمونه‌ها برای استخراج DNA به آزمایشگاه ژنتیک و بیوتکنولوژی آبزیان دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان منتقل گردیدند. استخراج DNA از نمونه‌ها به روش فنل-کلروفرم انجام پذیرفت (Hillis *et al.*, 1996). DNA استخراجی پس از افزودن ۱۰۰ میکرولیتر آب مقطر استریل تا زمان انجام آزمایش‌های مربوطه در فریزر ۲۰- نگهداری شدند. کیفیت و کمیت DNA استخراجی با استفاده از الکتروفورز ژل آگارز ۱درصد و اسپکتروفتومتر (با استفاده از دستگاه بیوفتومتر ساخت شرکت اپندروف آلمان) تعیین گردید (Sambroke *et al.*, 1989). به‌منظور بررسی تنوع ژنتیکی ماهی کلمه از جایگاه‌های ژنی Lc03 و Lc04، Cyp6، Ca1 و Ca3 و Lid1 استفاده شد (جدول۱). تکثیر جایگاه‌های ژنی با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در حجم ۲۵ میکرولیتر و شرایطی شامل ۱۵ نانوگرم DNA، ۰/۵ میکرومولار از هر پرایمر، ۴۰۰ میکرومولار از نوکلئوتیدها، یک واحد بین‌المللی Taq پلیمراز (Fermentas) بافر PCR X ۱ (Fermentas)، ۱/۵ میلی‌مولار کلرید منیزیم و آب مقطر تا رسیدن به حجم (۲۵ میکرولیتر) انجام گرفت. شرایط چرخه دمایی برای هر جایگاه ژنی عبارت بود از: ۳ دقیقه در ۹۴ درجه و در ادامه ۳۵ چرخه شامل ۹۴ درجه برای ۳۰ ثانیه، درجه حرارت اتصال (جدول۱) ۳۰ ثانیه و ۷۲

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-08-01]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1402.17.2.4.5]
[DOI: 10.61186/aqudev.17.2.59]

درجه برای ۱ دقیقه، با یک بسط نهایی ۷۲ درجه برای ۳ دقیقه. محصول واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز بر روی ژل پلی‌اکریل آمید ۸ درصد جداسازی و به روش نیترات نقره رنگ آمیزی گردید (Bassam *et al.*, 1991). پس از تهیه تصویر آنها توسط دستگاه مستندساز ژل، از نرم‌افزار (Gel pro analyser 3.0) برای محاسبه طول قطعات استفاده گردید. خطاهای دسته‌بندی، از دست دادن الل‌های بزرگ و وجود الل‌های نول با استفاده از نرم‌افزار Microchecker2.2.1 (Oosterhout *et al.*, 2004) بررسی شد. تست‌های احتمال انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ نیز با استفاده از نرم‌افزار GENEPOP3.1 (Raymond and Rousset, 2003) انجام شد. تعداد الل در هر جایگاه ژنی، هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Ho)، هتروزیگوسیتی مورد انتظار (He)، تعداد الل‌های مشاهده‌شده (Na)، تعداد الل مؤثر (Ne)، تعادل هاردی- واینبرگ و جریان ژنی با استفاده از نرم‌افزار GeneAlex ver.6.5 (Peakall and Smouse, 2012) محاسبه گردید. به‌منظور تعیین تنوع درون و بین جمعیتی و همچنین میزان تمایز بین جمعیتی براساس مدل اللی بی‌نهایت (F_{st}) با استفاده از آنالیز واریانس مولکولی (AMOVA) بسته نرم‌افزاری GeneAlex استفاده شد. برای تعیین تفاوت بین دو منطقه در مقادیرهتروزیگوسیتی مشاهده‌شده، مورد انتظار و تنوع اللی از تست ویلکاکسون غیرپارامتریک در نرم‌افزار SPSS 16 استفاده شد (Zar, 1999). به‌منظور تعیین فاصله و شباهت ژنتیکی (Nei *et al.*, 1978) از نرم‌افزار PopGene ver 1.31 استفاده شد (Yeh *et al.*, 1999).

نتایج

در تحقیق حاضر، از ۶ جایگاه ژنی ریزماهواره استفاده شد که همگی حالت چندشکلی نشان دادند (جدول ۱). تعداد کل الل در سطح جایگاه در گستره‌ی ۶-۱۵ به‌دست آمد به‌طوریکه جایگاه Lid1 در منطقه گرگانرود و بندرانزلی و جایگاه Ca1 در منطقه بندرانزلی با ۶ الل پایین‌ترین و جایگاه Lc03 با ۱۵ الل بالاترین تعداد الل را نشان داد (جدول ۲). متوسط تعداد الل‌های واقعی و مؤثر در مناطق گرگانرود و بندرانزلی به‌ترتیب ۸/۸۳، ۷/۵۰، ۵/۰۴ و ۴/۹۹ به‌دست آمد و از این‌نظر به‌لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نشان ندادند (p<۰/۰۵). نتایج حاصل از نرم‌افزار Microchecker علائمی مبنی بر از دست دادن الل بزرگ یا خطاهای دسته‌بندی نشان نداد. اما گویای احتمال حضور الل نول با میانگین ۰/۱۹۶ در جایگاه‌های ژنی بود. میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده و هتروزیگوسیتی مورد انتظار به‌ترتیب در گستره ۰/۳۰ تا ۰/۸۶ (با میانگین ۰/۶۲) و ۰/۶۳ تا ۰/۹۰ (با میانگین ۰/۷۶) قرار داشت. به‌طوریکه پایین‌ترین مقدار هتروزیگوسیتی مشاهده شده مربوط به جایگاه ژنی Ca3 در منطقه گرگانرود و بالاترین مقدار آن مربوط به جایگاه ژنی Cyp6 در منطقه بندرانزلی بود. همچنین بین مناطق مورد بررسی اختلاف معنی‌داری از لحاظ هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار، مشاهده نشد (p>۰/۰۵).

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-08-01]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1402.17.2.4.5]
[DOI: 10.61186/aqudev.17.2.59]

جدول ۱: شش آغازگر مورد استفاده و ویژگی‌های آنها

جایگاه ژنی	کد دسترسی در بانک ژنی (NCBI)	توالی پرایمر (5′ 3′)	دمای الحاق (درجه سانتی‌گراد)
Lc03	AY318779	F: GCAGGAGCGAAACCATAAAT R:AAACAGGCAGGACACAAAGG	۵۳
Lc04	AY318780	F:ATCAGGTCAGGGGTGTCACG R:TGTTTATTTGGGGTCTGTGT	۵۰
Lid1	–	F:TAAAACACATCCAGGCAGATT R:GGAGAGGTTACGAGAGGTGAG	۵۱
Cyp6	–	F:TTA CAC AGC CAA GAC TATGT R:CAAGTGATT TTGCTTACTGC	۴۹
Ca1	AF277573	F:AAGACGATGCTGGATGTTTAC R:CTATAGCTTATCCCGGCAGTA	۵۵
Ca3	AF277575	F:TTGAGTGGATGGTGCTTGTA R:GCATTGCCAAAAGTTACCTAA	۵۲

جدول۲: مقادیر مربوط به تنوع ژنتیکی در سطح شش جایگاه ژنی استفاده شده

منطقه / جایگاه		Lc03	Lc04	Cyp6	Ca1	Ca3	Lid1
گرگانرود	N_a	۱۵	۷	۹	۸	۸	۶
	N_e	۸/۳۷	۴/۶۳	۵/۹۸	۴/۵۱	۲/۷۱	۴/۰۴
	H_0	۰/۷۳	۰/۵۳	۰/۸۶	۰/۷۶	۰/۳۰	۰/۵۰
	H_e	۰/۸۸	۰/۷۸	۰/۸۳	۰/۷۷	۰/۶۳	۰/۷۵
	F_{is}	۰/۱۶	۰/۳۲	−۰/۰۴	۰/۰۱	۰/۵۲	۰/۳۳
	pHw	*	*	Ns	Ns	***	***
بندرانزلی	N_a	۱۴	۵	۷	۶	۷	۶
	N_e	۱۰/۵۸	۳/۸۷	۴/۲۷	۳/۹۲	۳/۴۱	۳/۹۲
	H_0	۰/۷۳	۰/۵۶	۰/۸۰	۰/۸۰	۰/۵۳	۰/۳۶
	H_e	۰/۹۰	۰/۷۴	۰/۷۶	۰/۷۴	۰/۷۰	۰/۷۴
	F_{is}	۰/۱۹	۰/۲۳	−۰/۰۴	−۰/۰۷	۰/۲۴	۰/۵۰
	pHw	*	*	***	Ns	Ns	***

Na: تعداد الل واقعی در هر جایگاه ژنی، Ne: تعداد الل مؤثر، Ho: هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده، He: هتروزیگوسیتی مورد انتظار، Fis: ضریب درون‌آمیزی (مقادیر معنی‌دار با خط زیر هر عدد مشخص شده است)، pHw: آزمون احتمال وجود تعادل هاردی-واینبرگ (ns: عدم اختلاف معنی‌دار ، *: $p<$ ۰/۰۵، **: $p<$ ۰/۰۱، ***: $p<$ ۰/۰۰۱).

آزمون انحراف از تعادل هاردی- واینبرگ برای همه ۱۲ حالت ممکن (۶ جایگاه ژنی و ۲جمعیت) اعمال شد و نمونه‌های منطقه گرگانرود در جایگاه‌های Cyp6 و Ca1 و نمونه‌های منطقه بندرانزلی در جایگاه‌های Ca1 و Ca3 در تعادل قرار داشتند و در سایر جایگاه‌ها انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ را نشان دادند (جدول ۲). متوسط شاخص درون‌آمیزی (F_{is}) و جریان ژنی (Nm) به‌ترتیب ۰/۱۹ و ۲۴/۵۵۲ نشان دادند.

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-08-01]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1402.17.2.4.5]
[DOI: 10.61186/aqudev.17.2.59]

شکل ۱: چگونگی توزیع تنوع ژنتیکی بدست آمده بر اساس معیار F_{st}

از نظر تمایز بین مناطق میزان شاخص Fst بر اساس آنالیز واریانس مولکولی (AMOVA)، ۰/۰۱ به‌دست آمد. همچنین نتایج به‌دست آمده براساس (AMOVA) نشان داد که ۹۹ درصد از تنوع مشاهده‌شده مربوط به درون جمعیت‌ها و تنها یک درصد از تنوع مربوط به بین جمعیت‌هاست (شکل ۱).

جدول۳: میزان تمایز(F_{st}) و جریان ژنی (Nm) در سطح جایگاه‌های مورد بررسی

جایگاه ژنی / شاخص	Lc03	Lc04	Cyp6	Ca1	Ca3	Lid1	میانگین
F_{st}	۰/۰۰۸	۰/۰۰۷	۰/۰۱۰	۰/۰۰۸	۰/۰۱۲	۰/۰۴۹	۰/۰۱۶
Nm	۳۲/۱۵۰	۳۴/۳۳۸	۲۵/۶۹۶	۳۰/۴۶۷	۱۹/۷۶۲	۴/۹۰۲	۲۴/۵۵۲

جدول ۴: میزان شباهت ژنتیکی (عدد بالای خط) و تفاوت ژنتیکی (عدد پایین خط) ماهی کلمه بین دو منطقه بندرانزلی و گرگانرود

مناطق	گرگانرود	بندر انزلی
گرگانرود		۰/۶۴
بندرانزلی	۰/۳۶	

بر اساس معیار فاصله ژنتیکی Nei میزان شباهت ژنتیکی بین دو منطقه ۰/۶۴ و مقدار فاصله ژنتیکی ۰/۳۶ به‌دست آمد.

بحث

تنوع ژنتیکی در آبزیان، اهمیتی حیاتی جهت مدیریت و حفاظت از آن‌ها داشته، به‌عنوان اولین پیش‌نیاز برای حفظ سازگاری جمعیت‌ها در شرایط محیطی در حال تغییر قلمداد می‌شود (Diz and Persa, 2009). آگاهی از تنوع ژنتیکی بین افراد یک گونه یا جمعیت به‌ویژه برای آبزیانی که ازدیاد نسل آن‌ها از طریق برنامه‌های بازسازی ذخایر صورت می‌گیرد، بسیار

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-08-01]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1402.17.2.4.5]
[DOI: 10.61186/aqudev.17.2.59]

دارای اهمیت می‌باشد زیرا عواملی چون استفاده از تعداد محدود مولدین و عدم رعایت قوانین اصلاح نژاد در تکثیر مصنوعی گونه‌ها باکاهش اندازه جمعیت مؤثر قابلیت جمعیت را برای حفظ تنوع کاهش می‌دهد و بقای آنها را به خطر می‌اندازد که در طولانی‌مدت اثرات شدیدی را بر جای می‌گذارد. از فاکتورهای مهم بررسی‌های تنوع ژنتیکی جمعیت می‌توان شاخص‌های مختلفی از جمله میزان هتروزیگوسیتی و تعداد الل (واقعی و مؤثر) را نام برد. هتروزیگوسیتی بیان‌کننده طیف وسیعی از ژنوتیپ به‌عنوان پاسخ به سازش پذیری در شرایط متغیر محیطی است و بسیاری از خصوصیات مهم اقتصادی از قبیل رشد، باروری و مقاومت در برابر بیماری‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهد، با این وجود بررسی‌ها نشان داده که ارزیابی غنای اللی نسبت به هتروزیگوسیتی در مطالعات تنوع ژنتیکی دارای ارزش بالاتری بوده، به‌طوریکه هر هتروزیگوت دارای الل‌های متفاوتی است که نشان‌دهنده‌ی تنوع می‌باشد (Diz and Persa, 2009). در این بررسی متوسط تعداد الل‌ها، هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار ۱۰/۵ ، ۰/۶۲ و ۰/۷۶ به‌دست آمد که در مجموع، تفاوت معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ از لحاظ تعداد الل، هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار بین مناطق مورد بررسی مشاهده نشد. در این بررسی میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده در سطح جمعیت‌های مورد بررسی ۰/۶۲ به‌دست آمد که نسبت به مقادیر مشاهده شده برای ماهیان آب شیرین (۰/۴۶) (Dewoody and Avise, 2000) بالاتر است. با توجه به اینکه الل‌های نادر فراوانی پایینی دارند، بنابراین ارتباطشان با هتروزیگوسیتی کم است و حذف چنین الل‌هایی اثر چندانی بر روی هتروزیگوسیتی نمی‌گذارد (*et al.*, Kitada 2009). بنابراین در بررسی‌های تنوع ژنتیکی و خصوصاً در مورد گونه‌هایی که تحت برنامه‌های تکثیر مصنوعی و بازسازی ذخایر قرار دارند، هتروزیگوسیتی نمی‌تواند شاخص مناسبی برای نشان دادن وضعیت ژنتیکی باشد (Petit *et al.*, 1998). تعداد متوسط الل در سطح جمعیت ۸/۱۶۵ محاسبه شد که بیش از مقدار به‌دست‌آمده در ماهیان آب شیرین (۷/۵) (Dewoody and Avise, 2000) بود. میزان بالای هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده و تعداد الل‌ها نسبت به مقدار گزارش‌شده برای ماهیان آب شیرین، می‌تواند بیان‌گر این موضوع باشد که با وجود تکثیر مصنوعی این گونه، فشار بالای صید و بسته بودن دریای خزر، تنوع ژنتیکی این گونه همچنان در حد قابل قبولی قرار دارد و با نتایج مطالعات Hamilton و Taylor (۲۰۰۷)، کشیری و همکاران (۱۳۹۱) و نوروزی و همکاران (۱۳۹۲) از این حیث برابری می‌کند. در حالی‌که در مطالعه جمعیت روغن ماهی اقیانوس اطلس و لای‌ماهی کاهش تنوع اللی در جمعیت‌های پرورشی گزارش شد (Pampoulie و همکاران، ۲۰۰۶؛ Kohlmann و همکاران، ۲۰۰۷). متأسفانه برخلاف مزایای تکثیر مصنوعی، این عمل در طولانی‌مدت ممکن است به کاهش تنوع ژنتیکی ذخایر ژنی بومی منجر گردد (Blanchet *et al.*, 2008). تخمین این موضوع در جمعیت ماهیان، به‌علت مهاجرت به داخل جمعیت و بازگشت شیلاتی در کوتاه‌مدت ممکن است به‌راحتی تشخیص داده نشود اما در بلندمدت آثار شدیدی بر جای گذارد (Theodorakis and Shugart, 1997; Amy *et al.*, 2006). باتوجه به این‌که بازسازی ذخایر این گونه ارزشمند در ایران، از طریق تکثیر مصنوعی هم‌چنان ادامه دارد، ایجاد راه‌کارهایی جهت حفظ تنوع

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-08-01]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1402.17.2.4.5]
[DOI: 10.61186/aqudev.17.2.59]

مشاهده‌شده و جلوگیری از مشکلات تکثیر مصنوعی ضروری به‌نظر می‌رسد. میزان هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده در همه جایگاه‌ها کم‌تر از هتروزیگوسیتی موردانتظار می‌باشد که در این مطالعه، دلیل آن را می‌توان به وجود الل‌های نول و تحت به‌گزینی بودن نسبت داد. در حضور الل‌های نول، هتروزیگوسیتها می‌توانند اشتباهاً به‌عنوان هموزایگوت‌هایی برای الل دیگر در نظر گرفته شوند که می‌تواند علتی برای کاهش هتروزیگوسیتی در جمعیت‌ها باشند.

در این تحقیق، از ۱۲ تست (۲جمعیت و ۶ جایگاه ژنی)، تست انحراف از تعادل هاردی واینبرگ را نشان دادند. لازم به توضیح است که انحراف از تعادل هاردی- واینبرگ در جمعیت ماهیان به‌دلایلی مانند حضور الل‌های نول، اختلاط جمعیت‌ها و آمیزش خویشاوندی قابل انتظار است (McQuown *et al.*, 2003; Liu *et al.*, 2005; Zhao *et al.*, 2005; Dahle *et al.*, 2006; Lucentini *et al.*,2006)، که در رابطه با تحقیق حاضر، می‌توان به حضور الل نول و جریان ژنی بالا اشاره کرد. کشیری و همکاران ۱۳۹۱ نیز در بررسی جمعیت ماهی کلمه در مناطق قره سو و گمیشان دلیل عمده انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ را به کسری هتروزیگوسیتی به‌علت حضور الل‌های نول نسبت دادند. قدسی و همکاران (۱۳۹۰) در بررسی ماهی کفال طلایی (*Aurata liza*) و سالاری علی‌آبادی و همکاران (۲۰۰۸) در جمعیت‌های ماهی سوکلا (*Rachycentron canadum*) علت عمده انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ را به وجود الل‌های نول و کسری هتروزیگوسیتی نسبت دادند این در حالی است که عابدی و همکاران (۱۳۸۹)، دلیل انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ در جمعیت شیرماهی (*Scomberomorus commerson*) خلیج فارس را مهاجرت این ماهی در طول خط ساحلی دانستند.

در پژوهش حاضر، متوسط شاخص F_{is}، ۰/۱۹ به‌دست آمد و چون متوسط این مقدار بیشتر از صفر است، می‌تواند دلیلی بر درون‌آمیزی بین جمعیت‌ها باشد (Wright, 1951). متوسط شاخص Nm در جمعیت‌های مورد بررسی، ۲۴/۵۵۲ به‌دست آمد. براساس گزارش Li در سال ۲۰۰۷ هرگاه Nm >۱ باشد، جریان ژنی اصلی‌ترین عامل در ایجاد تمایز ژنتیکی است و با افزایش میزان مهاجرت، میزان شباهت ژنتیکی بین جمیت‌ها افزایش می‌یابد (Neigel, 1997).

نتایج آنالیز واریانس مولکولی براساس شاخص F_{st} تنها یک درصد از تنوع مشاهده‌شده را مربوط به بین جمعیت‌ها نشان داد. همچنین فاکتور F_{st} که توصیف‌کننده تمایز جمعیت در سطوح مختلف ساختار ژنتیکی می‌باشد، در نمونه‌های بررسی‌شده، مقدار ۰/۰۱۶ به‌دست آمد. براساس معیار Wright (۱۹۷۸) مقدار F_{st} کم‌تر از ۰/۰۵، نشان‌دهنده وجود تمایز کم در بین جمعیت‌ها می‌باشد. بنابراین نمونه‌های بررسی‌شده، دارای دو جمعیت مجزا از هم نیستند. کم بودن تنوع بین جمعیتی و معیار F_{st}، نشانه جریان ژنی بالا در بین جمعیت‌هاست (Pinera *et al.*, 2007). جریان ژنی بالای بین مناطق در این تحقیق، می‌تواند عامل مهمی جهت تمایز کم به‌دست آمده باشد. رضایی (۱۳۸۹) در بررسی جمعیت ماهی سفید حوزه جنوبی دریای خزر، میزان F_{st} را ۰/۰۰۸ گزارش کردند که نتایج حاکی از تنوع بین جمعیتی پایین می‌باشد. میزان جریان ژنی (N_m) بالایی (۱۷/۱۸) نیز میان مناطق به‌دست آمد. نتایج این پژوهش به تأثیر برنامه‌های بازسازی ذخایر و تکثیر مصنوعی این‌گونه نسبت داده شد. باروسو و همکاران

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-08-01]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1402.17.2.4.5]
[DOI: 10.61186/aqudev.17.2.59]

در سال ۲۰۰۵ در بررسی تنوع ژنتیکی (*Brycon opalinus*) در جمعیت‌های وحشی و پرورشی میزان F_{st} را ۰/۰۴۳ گزارش کردند و تمایز ژنتیکی بین مناطق را اندک دانستند. همچنین میزان فاصله ژنتیکی به‌دست‌آمده در این مطالعه برابر با ۰/۳۶ بود که با مقدار به‌دست‌آمده در مطالعه Keyvanshokooh و همکاران (۲۰۰۷) بر ماهی کلمه در مناطق گرگانرود و انزلی مشابهت دارد. طبق معیار استاندارد تعریف‌شده توسط Thrope و Solcave (۱۹۹۴) بر اساس شباهت و فاصله ژنتیکی، میزان شباهت ژنتیکی بین ۰/۰۳ تا ۰/۶۱ در ارتباط با گونه‌های هم‌جنس می‌باشد. میزان شباهت ژنتیکی به‌دست‌آمده در این بررسی در محدوده گونه‌های هم‌جنس قرار می‌گیرد که با نتایج به‌دست‌آمده از بررسی کشیری و همکاران (۱۳۹۱) مطابقت دارد.

با توجه به پژوهش حاضر، ماهی کلمه دریای خزر، از تنوع نسبتاً مناسبی برخوردار است نتایج نشان می‌دهد که شیوه تکثیر و رهاسازی نامناسب لاروها می‌تواند دلیل اصلی کم‌بودن تمایز، همچنین عامل بروز تنگنای ژنتیکی میان جمعیت‌های مورد بررسی ماهی کلمه باشد. بازسازی رودخانه‌های محل تخم‌ریزی این گونه و فراهم‌آوردن امکان تکثیر طبیعی مولدین، بهترین شیوه برای جلوگیری از ادامه این فرآیند است. با توجه به کاهش شدید جمعیت این گونه در طی صید بی‌رویه در سال‌های اخیر، تکثیر مصنوعی این گونه الزامی به‌نظر می‌رسد، باید سیاست‌های دولتی به شکلی باشد که تنوع ژنتیکی میان نتاج حاصل از تکثیر بطور مداوم مورد پایش قرار گیرد و از کاهش تنوع ژنتیکی موجود به‌دلیل پدیده آمیزش خویشاوندی (Inbreeding) و رانش ژنتیکی (Genetic drift) جلوگیری شود.

سپاسگزاری

در اینجا بر خود لازم می‌دانیم که از زحمات تمام کسانی که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند سپاسگزاری نماییم.

منابع

۱. رضایی، م.، شعبانی، ع.، شعبانپور، ب.، کشیری، ح.، ۱۳۸۹. مقایسه ژنتیکی ماهی سفید دریای خزر (*Rutilus frisii kutum*) در رودخانه‌های گرگانرود و چشمه کیله (تنکابن) با استفاده از نشان‌گرهای ریزماهواره. مجله تاکسونومی و بیوسیستماتیک، ۱، ۱-۱۴.

۲. سالاری علی‌آبادی، م.ع.، رضوانی گیل کلایی، س.، سواری، ا.، ذوالقرنین، ح.، نبوی، م. ۱۳۸۷. مقایسه ژنتیکی جمعیت سوکلای (*Rachycentron canadu*) خلیج فارس و دریای عمان با استفاده از روش میکروستلایت. مجله شیلات، ۲(۱)، ۱۷-۹.

۳. عابدی، ا.، ذوالقرنین، ح.، سالاری علی‌آبادی، م.ع.، قاسمی، ا.، ارچنگی، ب. و میرزا، ر.، ۱۳۸۹. بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت شیرماهی (*Scomberomorus commerson*) خلیج فارس با استفاده از نشان-گرهای ریزماهواره. مجله علوم و فنون دریایی، ۹(۴)، ۸۳-۹۱.

۴. قدسی، ز.، شعبانی، ع.، شعبانپور، ب.، ۱۳۹۰. بررسی تنوع ژنتیکی ماهی کفال طلایی (*Liza aurata*) در سواحل استان گلستان با استفاده از نشان‌گر ریزماهواره. مجله تاکسونومی و بیوسیستماتیک، ۳(۶)، ۴۶-۳۵.

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-08-01]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1402.17.2.4.5]
[DOI: 10.61186/aqudev.17.2.59]

۵. کشیری، ح.، شعبانی، ع.، شعبان‌پور، ب.، ۱۳۹۱. بررسی تنوع ژنتیکی ماهی کلمه خزر (*Rutilus rutilus caspicus*) در مناطق قره سو و گمیشان به روش میکروستلایت. مجله زیست شناسی ایران، ۲۵(۱)، ۱۳۹-۱۴۷.

۶. نوروزی، م.، ناظمی، ع.، دانشور، ف. و سمیعی، م.ه.، ۱۳۹۲. ساختار ژنتیکی جمعیت‌های مختلف ماهی کیلکای معمولی(*Clupeonella cultriventris*) سواحل حوضه جنوبی دریای خزر در استان مازندران با استفاده از نشان‌گرهای ریزماهواره. مجله علوم و فنون دریایی، ۱۲(۱)، ۱۹-۱۱.

7. Amy, M., Mark, J., Suzanne, A., Diane, E., 2006. Genetic diversity and structure of an estuarine fish (*Fundulus heteroclitus*) indigenous to sites associated with a highly contaminated urban harbor. Ecotoxicology, 15, 539-548.
8. Barroso, R.M., Hilsdorf, W.S.A., Moreira, L.M.H., Cabello, H.P., Traub-Cseko, Y.M. 2005. Genetic diversity of wild and cultured populations of *Brycono palinus* (Cuvier, 1819) (Characiforme, Characidae, Bryconiae) using microsatellites. Aquaculture, 247, 51-65.
9. Bassam, B.J., Caetano-Anolles, G., Gresshoff, G.M., 1991. Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide gels. Analytical Biochemistry, 84, 680-683.
10. Blanchet, S., Paez, D., Bernatchez, L., Dodson, J., 2008. An integrated comparison of captive-bred and wild Atlantic salmon (*Salmo salar*): Implications for supportive breeding programs. Biological Conservation, 141, 1989-1999.
11. Crooijmans, R.P.M. A., Poel, J.J., Groenen, M.A.M., Bierbooms, V.A.F., 1997. Microsatellite markers in common carp (*Cyprinus carpio* L.). Genetics, 28, 129-134.
12. Dahle, G., Jorstad, K.E., Rusaas, H.E., Ottera, H., 2006. Genetic characteristics of brood stock collected from four Norwegian coastal cod (*Gadus morpha*) populations. Marine Science, 63, 209-215.
13. Dewoody, J.A., Avise, J.C., 2000. Microsatellite variation in marine, freshwater and anadromous fishes compared with other animals. Journal of Fish Biology, 56, 461-473.
14. Diz, P.A., Presa, P., 2009. The genetic diversity pattern of *Mytilus alloprovincialis* in Galician Rías (NW Iberian estuaries). Aquaculture, 287, 278–285.
15. Fiumera, A.C., Wu, L., Parket, P.G., Fuetst, P.A., 1999. Effective population size in the captive breeding program of the Lake Victoria cichlid *Paralabidochromis chilotes*. Zoo Biology, 18, 886-892.
16. Freeland, J.R., 2007. Molecular ecology. John Wiley & Sons Ltd., Chichester.
17. Hamilton, P.B., Tylor, C.R., 2007. Identification of microsatellite loci for parentage analysis in roach (*Rutilus rutilus*) and eight other cyprinid fish by cross-species amplification and a novel test for detecting hybrids between roach and other cyprinids. Molecular Ecology Notes. 1, 12-22
18. Hillis, D.M., Mable, B.K., Larson, A., Davis, S.K., Zimmer, E.A., 1996. Nucleic Acids IV:sequencing and cloning. In: Molecular Systematics (eds. Hillis, D. M., Moritz, C. and Mable, B.K.), 4,321-384.
19. Hosseinnia, Z., Shabany, A., Kolangi miandare, H., 2014. Comparison of genetic variation of wild and farmed Bream (*Abramis brama orientalis*) using microsatellite markers. Molecular Biology Research Communications, 3, 187-195.
20. Keyvanshokooh, S., Ghasemi, A., Shahriari- Moghadam, M., Nazari, R.M., Rahimpour, M., 2007. Genetic analysis of *Rutilus rutilus caspicus* (Jakowlew 1870) populations in Iran by microsatellite markers. Aquaculture Research, 38, 953-956.
21. Kiabi, B.H., Abdoli, A., Naderi, M., 1999. Status of the fish fauna in the South Caspian basin of Iran. Journal of Zoology in the Middle East, 18, 57-65.
22. Kitada, S., Shishidou, H., Sugaya, T., Kitakado, T., Hamasaki, K., Kishino, H., 2009. Genetic effects of long-term stock

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-08-01]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1402.17.2.4.5]
[DOI: 10.61186/aqudev.17.2.59]

33. Pampoulie, Ch., Jorundsdottir, T.D., Steinarsson, A., Petursdottir, G., Stefansson, M.O., Danielsdottir, A.K., 2006. Genetic comparison of experimental farmed strains and wild Icelandic populations of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). Aquaculture, 261,556-564.
34. Peakall, R., Smouse, P.E., 2006. Genalex 6: genetic analysis in excel. Population genetic software for teaching and research. Molecular Ecology Notes, 6, 288-295.
35. Petit, R.J., Mousadik, A.E., Pons, A.O., 1998. Identifying populations for conservation on the basis of genetic markers. Conservation Biology, 12, 844-855.
36. Pinera, J.A., Blanco, G., Vázquez, E., Sánchez, J.A., 2007. Genetic diversity of blackspot seabream (*Pagellus bogaraveo*) populations off Spanish Coasts: a preliminary study. Marin Biology, 151, 2153-2158.
37. Raymond, M., Rousset, F., 2003. Genepop 3.4., an updated version of Genepop v.1.2., 1995: population genetics software for exact tests and ecumenicism. Journal of Heredity, 86, 248-249.
38. Sambrok, J., Fritsch, E.F., Maniatis, T., 1989. Electrophoresis of RNA through gels containing formaldehyde: Molecular Cloning, 2nd edn. Cold Spring Harbor, NY: CSH Laboratory Press, 743-745.
39. Theodorakis, C.W., Shugart, L.R., 1997. Genetic ecotoxicology II: population genetic structure in mosquitofish exposed in situ to radionuclides. Ecotoxicology, 6, 335-354.
40. Thorpe, J.P., Sol-cava, A.M., 1994. The use of allozyme electrophoresis in vertebrate systematics. Zoologica scripta, 23: 3-18.
41. Waldman, D.A., Yammarino, F.J., 1999. CEO charismatic leadership: levels of management and levels-of-analysis effects. Academy of Management Review, 24, 266-285.
42. Wright, B.S., 1951. The genetical structure of populations. Annual Eugenics, 15, 323-354.
43. Yeh, F.C., Yang, R.C., Boyle, T., 1999. POPGENE version 1.3.1. Microsoft Windowbases Freeware for population enhancement program. Aquaculture, 290, 69-79.
23. Kohlmann, K; Kersten, P. and Flajshans, M. 2007.Comparison of microsatellite variability in wild and cultured tench (*Tinca tinca*). Aquaculture, 1, 147-151.
24. Li, D., Kang, D., Yin, Q., Sun, Z., Liang, L., 2007. Microsatellite DNA marker analysis of genetic diversity in wild common carp (*Cyprinus carpio* L.) Populations. Genetics and Genomics, 34, 984-993.
25. Lind, C.U., Evans, B.S., Knauer, J., Taylor, J.J.U., 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.
26. Liu, Y., Chen, S., Li, J., Li, B., 2005. Assessing the Genetic structure of three Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) stocks by microsatellite markers. Aquaculture, 243, 103-111.
27. Lucentini, L., Palomba, A., Lancioni, H., Gigliarelli, L., Natali, M., Panara, F., 2006. Microsatellite polymorphism in Italian populations of northern pike (*Esox lucius*). Fisheries Research, 80: 251-262.
28. Machado-schiaffino, G., Depico, E., Garciavazquez, E., 2007. Genetic variation losses in Atlantic salmon stocks created for supportive breeding. Aquaculture, 264, 59–65.
29. McQuown, E., Krueger, C.C., Kincaid, H.L., Gall, G.A.E., May, B., 2003. Genetic comparison of Lake Sturgeon population: differentiation based on allelic frequencies at seven microsatellite Loci. Great Lakes Research, 29, 3-13.
30. Nei, M., 1972. Genetic distance between populations. American Naturalist. Vol.106, pp. 283- 292.
31. Neigel, J.E., 1997. A comparison of alternative strategies for estimating gene flow from genetic markers. Annual Review of Ecology and Systematics, 28, 105-128.
32. Oosterhout, C.V., Hutchinson, W.F., Wills, D.P.M., Shipley, P., 2004. Micro-checker: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. Molecular Ecology Notes, 4, 535-538.

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-08-01]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1402.17.2.4.5]
[DOI: 10.61186/aqudev.17.2.59]

Genetic Analysis. Available: www.uallberta.ca/fyeh/. University of Alberta and the Centre for International Forestry Research.

44. Zar, J.H., 1999. Biostatistical analysis. 4th edition, Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey.

45. Zhao, N., Shao, Z., Ai, W., Zhu, B., Brosse, S., Chang, J., 2005. Microsatellite assessment of Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis* Gray) genetic variability. Ichthyology, 21, 7-13.

46. Zoller, S., Lutzoni, F., Scheidegger, C., 1999. Genetic variation within and among populations of the threatened lichen Lobaria pulmonaria in Switzerland and implications for its conservation. Molecular Ecology Notes, 8, 2049-2059.

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-08-01]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1402.17.2.4.5]

[DOI: 10.61186/aqudev.17.2.59]