



دانشگاه گنبد کاووس

نشریه "پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی"

دوره سوم، شماره چهارم، زمستان ۹۴

<http://jair.gonbad.ac.ir>

بررسی تنوع ژنتیکی ماهی خیاطه (*Alburnoides eichwaldii* (De Filippi, 1863)

در رودخانه پلرود استان گیلان با استفاده از نشانگر ریز ماهواره

سیده معصومه حسینی^۱، علی شعبانی^۲، حامد کلنگی میاندره^{۳*}، رقیه صفری^۳

^۱ دانشجوی کارشناسی‌ارشد تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران، ^۲ دانشیار گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران، ^۳ استادیار گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

تاریخ ارسال: ۹۳/۱۱/۱۷ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۴/۲/۲

چکیده

هدف از این تحقیق بررسی تنوع ژنتیکی ماهی خیاطه *A. eichwaldii* در سه ایستگاه نمونه‌برداری از رودخانه پلرود رودسر با استفاده از پنج نشانگر ریز ماهواره Mfw17, LeA-07, Llec090, Ca3, Reser10 بود. برای انجام این تحقیق تعداد ۹۰ عدد ماهی خیاطه در سه ایستگاه از رودخانه پلرود رودسر نمونه‌برداری شد. از پنج نشانگر مورد استفاده در این مطالعه تنها سه نشانگر جهت ارزیابی تنوع ژنتیکی نتایج قابل قبولی را نشان دادند. آنالیز داده‌های تنوع ژنتیکی نشان داد که میزان متوسط هتروزیگوسیتی مشاهده شده (H_o) برابر با یک می‌باشد. میانگین هتروزیگوسیتی مورد انتظار (H_e) در بین این سه ایستگاه ۰/۷۵۵ است. همچنین میزان متوسط آلل مشاهده شده (N_a) در هر یک از جایگاه‌های ژنی برابر است با ۵/۵۵ و محدوده آن از ۴ تا ۸ آلل در جایگاه‌های ژنی بود. میانگین تعداد آلل مؤثر (N_e) در سطح جایگاهی برای این سه منطقه ۴/۲۷۶ به دست آمد. در بررسی تعادل هاردی واینبرگ، نمونه‌ها در اکثر لوکوس‌ها انحراف از تعادل را نشان دادند. آنالیز داده‌ها میزان {Fst: ۰/۰۶ و Rst: ۰/۰۶۶} را نشان داد که نشان دهنده تمایز ژنتیکی پایینی میان مناطق مورد مطالعه می‌باشد. همچنین، براساس آنالیز واریانس مولکولی، تنها ۵ درصد تنوع مشاهده شده مربوط به بین جمعیت‌ها بود. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که ماهی خیاطه در رودخانه پلرود رودسر دارای فراوانی اللی پایینی می‌باشد که باعث کاهش تنوع ژنتیکی می‌گردد، از دلایل این پدیده می‌توان به ورود آلودگی‌های شهری،

*نویسنده مسئول: hkolangi@gmail.com

صنعتی، کشاورزی و برداشت شن و ماسه بی رویه از بستر رودخانه می‌باشد که باید از لحاظ زیست‌محیطی بیشتر به آن توجه شود.

واژه‌های کلیدی: *A. eichwaldii*. تنوع ژنتیکی، ریزماهواری، تعادل هاردی-واینبرگ

مقدمه

گونه خیاطه (*Alburnoides eichwaldi* (De Filippi, 1863) جزء ماهیان کوچک سایز بوده و در حوضه‌های جنوبی دریای خزر دارای فراوانی نسبتاً خوبی می‌باشد (Abdoli, 2000). اهمیت ماهی خیاطه در شیلات، معمولاً به‌عنوان طعمه برای صید و از لحاظ تفریحی نگهداری در آکواریوم می‌باشد (Bogtskaya, 1997). روت (Rothe, 2008) ماهی خیاطه را یک گونه رودخانه‌ای معرفی کرد و بیان نمود که به علت فشارهای وارد شده از سوی انسان به رودخانه‌ها و همچنین کمیابی و اندازه کوچک جمعیت، این گونه در لیست قرمز گونه‌های در معرض خطر قرار گرفته و به شدت تحت حفاظت است. ماهی خیاطه تقریباً در تمامی رودخانه‌های منتهی به دریای خزر وجود دارد. رودخانه پل‌رود دومین رودخانه از لحاظ طول و میزان آب جاری پس از رودخانه سفید رود در استان گیلان می‌باشد. با توجه به دخالت‌های انسان در ساختار این رودخانه اعم از برداشت بی‌رویه ماسه و ورود آلاینده‌های مختلف صنعتی، شهری و کشاورزی به این رودخانه، از گونه خیاطه به‌عنوان گونه زیستی شاخص به‌منظور ارزیابی تنوع ژنتیکی بهره گرفته شد.

تنوع گونه‌ای و مهم‌تر از آن تنوع ژنتیکی از اساسی‌ترین پیش نیازهای لازم برای حفظ و بقای یک گونه جهت سازگاری با محیط‌هایی است که تحت تأثیر فشارهای زیست محیطی مختلفی قرار دارند. زیرا تصور بر این است که تنوع ژنتیکی بالا باعث ارتقاء شایستگی افراد و افزایش بقا می‌شود (Diz and Presa, 2009). آگاهی از میزان ذخایر ژنی و تنوع ژنتیکی در بین افراد یک گونه، از اهداف ارزشمند مدیریت ذخایر و اصلاح نژاد است؛ به‌طوری‌که بررسی ژنتیک جمعیت یا اکولوژی مولکولی ماهیان اقتصادی، برای حفاظت از جمعیت آن‌ها و حفظ صید پایدار بسیار ضروری است (Skaarud et al., 2014). در ابتدا ارزیابی ساختار ذخایر، تشخیص گونه‌ها و جمعیت‌ها با استفاده از صفات مورفومتریک و مرستیکی صورت می‌گرفت اما با توجه به حساسیت بالای این صفات به تغییرات محیطی و اثرات منفی دست‌کاری در نشانه‌گذاری بر سلامت ماهیان و همچنین محدود بودن تفسیر داده‌های حاصل از آن، علم استفاده از مارکرهای مولکولی همچون میکروستلایت، آلوزایم جهت شناسایی ساختار ژنتیکی ذخایر توسعه یافت. در این میان، نشانگرهای ریزماهواری در مطالعات ژنتیک جمعیت کاربرد گسترده‌تری نسبت به سایر نشانگرها دارند. در واقع این نشانگرها ارزش بالایی داشته به‌طوری‌که علاوه بر فراوانی بالا در ژنوم تمام موجودات، تنوع قطعات تکرار شونده در آن‌ها بالاست که دلیل آن را می‌توان به نرخ بالای جهش در

این نشانگرها نسبت داد. از طرفی به علت هم بارز بودن، هتروزیگوسیتی و جهش را بهتر نشان داده، لذا می‌توان ادعان نمود که این نشانگرها در بررسی‌های جمعیتی ماهیان بر برخی معایب روش‌های دیگر غلبه دارند (Verspoor and Jordan, 1989). ریزماهواره‌ها به‌علت بالا بودن تعداد الل‌هایشان، در بین تمام نشانگرها، بالاترین میزان هتروزیگوسیتی را نشان می‌دهند (Liu, 2007). در این مطالعه از ۵ جایگاه ژنی ریزماهواره برای بررسی وضعیت ژنتیکی ماهی خیاطه در رودخانه پل‌رود بهره گرفته شد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری: ماهیان مورد مطالعه از سه ایستگاه رودخانه پل‌رود در استان گیلان با استفاده از تور و ساچوک جمع‌آوری شد. به ترتیب ۳۰ نمونه از ارتفاعات بالا دست حوضه که عمدتاً منبع تأمین آب آن منشاء ذوب برف‌ها بوده و آلودگی کشاورزی وجود ندارد و ۳۰ نمونه از روستای رحیم آباد کلاچای که آلودگی کشاورزی در منطقه وجود دارد و همچنین ۳۰ نمونه از ارتفاعات نسبتاً پایین حوضه که بهره‌برداری بی‌رویه از شن و ماسه بستر آنها جهت فعالیت‌های عمرانی استفاده می‌شد، جمع‌آوری شد. حدود ۳ گرم از باله سینه‌ای هر ماهی نمونه‌برداری شده و تا زمان استخراج DNA در الکل اتیلیک مطلق نگهداری شد. سپس نمونه‌ها برای استخراج DNA به آزمایشگاه ژنتیک دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی گرگان منتقل گردید.

آماده‌سازی نمونه‌ها: استخراج DNA از نمونه با استفاده از کیت بایوزول (BIOZPL, China) انجام پذیرفت. نمونه‌ها به وسیله ازت مایع له شده و بعد به ویال انتقال داده شد. سپس ۶۰۰ میکرولیتر بایوزول به آنها اضافه شد و در دمای ۳۰ درجه به مدت ۳۰ دقیقه شیک شد و در مرحله بعد به مدت ۱۰ دقیقه در سانتریفیوژ دور ۱۳۰۰۰ rpm قرار گرفتند. بعد از این مرحله فاز آبی رویی را برداشته و ۷۰۰ میکرولیتر ایزوپرانول به آن اضافه شد و بعد از سانتریفیوژ رسوب باقیمانده را دو بار با الکل شستشو داده و به DNA استخراجی ۱۰۰ میکرولیتر آب مقطر دو بار تقطیر اضافه شد و تا زمان انجام مطالعات در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. کیفیت و کمیت DNA استخراجی نیز با استفاده از ژل آگارز یک درصد و روش اسپکتروفتومتری ارزیابی شد.

واکنش زنجیری پلیمرز و الکتروفورز: به‌منظور بررسی تنوع ژنتیکی ماهی خیاطه از پنج جایگاه ژنی Ca3, Reser 10, Mfw17, LeA-071, Llec090 استفاده شد (جدول ۱). تکثیر جایگاه‌های ژنی با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمرز در حجم ۱۲ میکرولیتر و ترکیبی شامل: ۲ میکرو لیتر DNA، ۱ میکرو لیتر از هر پرایمر، ۵ میکرو لیتر مستر کیت PCR و آب مقطر تا رسیدن به حجم، انجام گرفت. چرخه دمایی برای هر جایگاه ژنی عبارت بود از: یک چرخه ۳ دقیقه‌ای در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد (واسر رشته‌سازی اولیه)، ۳۵ چرخه در دمای ۹۴ درجه به مدت ۳۰ ثانیه (واسر رشته‌سازی)، درجه

حرارت اتصال (جدول ۱) به مدت ۳۰ ثانیه (الحاق)، ۷۲ درجه به مدت ۱ دقیقه (بسط) و یک چرخه ۷۲ درجه‌ای به مدت ۳ دقیقه به عنوان مرحله بسط نهایی صورت پذیرفت. محصولات واکنش زنجیره‌ای پلیمرز روی ژل پلی‌اکریل‌آمید ۸ درصد (غیر یونیزه) جداسازی شدند. از Ladder DNA (Ladder 100 fermentas) به عنوان شاخص برای تعیین اندازه الی استفاده شد. در ادامه، ژل‌ها به روش نیترا نقره رنگ‌آمیزی شدند و پس از تهیه تصویر آن‌ها توسط دستگاه مستندساز ژل (Gel Doc XR, BIO-RAD)، از نرم‌افزار Gel pro analyser برای محاسبه طول قطعات استفاده گردید.

آنالیز آماری: تعداد ال‌های مشاهده شده، ال‌های مؤثر، هتروزیگوسیتی مشاهده شده (H_o) و مورد انتظار (H_e) و تعادل هاردی-واینبرگ با استفاده از نرم‌افزار Genealex 6.3 (Peakall and Smouse, 2006) محاسبه شد. به منظور تعیین تنوع ژنتیکی درون و بین جمعیتی و همچنین میزان تمایز بین جمعیتی بر اساس مدل الی بی‌نهایت (F_{st}) با استفاده از آنالیز واریانس مولکولی (AMOVA) بسته نرم‌افزاری Genealex استفاده شد. تعیین فاصله (D) و شباهت ژنتیکی (I) (Nei, 1978) و رابطه فیلوژنیک بین جمعیت‌ها با استفاده از ترسیم درخت UPGMA و نیز با استفاده از نرم‌افزار PopGene (Yeh *et al.*, 1999) صورت گرفت.

نتایج

در این تحقیق از ۵ جایگاه ژنی نام‌برده شده ۳ جایگاه مورد بررسی قرار گرفت که پلی مورفیمی را نشان دادند. تعداد ال‌های مربوط به تمامی جایگاه‌های پلی‌مورف در جدول (۲) نشان داده شده است. تعداد کل ال در سطح جایگاه در دامنه ۸-۶ به دست آمد، به طوری که جایگاه Resar10 پایین‌ترین (۶ ال) و LieA-071 بالاترین تعداد ال (۸ ال) را نشان دادند. تعداد متوسط ال‌های مشاهده شده و مؤثر در رودخانه پل‌رود رودسر ۴/۲۷-۵/۵۵ به دست آمد. مقادیر هتروزیگوسیتی مشاهده شده (H_o) و مورد انتظار (H_e) به ترتیب ۱/۰۰۰ و ۰/۷۵۵ بود. همچنین بین مناطق مورد بررسی تفاوت معنی‌داری از نظر میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار، مشاهده نشد ($p > 0/05$). در بررسی نمونه‌ها از نظر تعادل هاردی-واینبرگ تمام نمونه‌های ۳ منطقه انحراف از تعادل را نشان دادند. در این بررسی ضریب تصحیح بونفرونی اعمال شد. متوسط شاخص درون‌آمیزی (F_{is}) و جریان ژنی (N_m) به ترتیب ۰/۳۲۸ و ۴/۸۱۸ به دست آمد. از نظر تمایز بین مناطق شاخص F_{st} و R_{st} بر اساس آنالیز واریانس مولکولی (AMOVA) به ترتیب ۰/۰۶۰ و ۰/۰۶۶ به دست آمد. همچنین نتایج براساس AMOVA نشان داد که ۹۵ درصد از تنوع مشاهده شده مربوط به درون جمعیت‌ها و تنها ۵ درصد از تنوع مربوط به بین جمعیت‌ها می‌باشد (شکل ۱).

جدول ۱: خصوصیات جایگاه‌های ژنی مورد استفاده در این تحقیق

T _m	توالی پرایمر	اندازه آلل	جایگاه ژن
۵۰	F: GTCTTAGATTGTGTAGCGGG R: ACTTCAGTTACTAAGAGATTAGTGA	۳۱۰-۳۴۶	LleA-071
۵۵	F: TCAGACACAACCTAACCGACC R: GGCGCTGTCCAGAACTGA	۱۵۲-۳۸۴	LleC-090
۶۰	F: TGCGTAATCGTGAAGCGGTG R: GCCACTAAAGCGCAGAAGCC	۱۸۴-۲۰۶	Rser10
۵۸	F: GGACAGTGAGGGACGCAGAC R: TCTAGCCCCCAAATTTTACGG	۲۴۸-۳۶۴	Ca3
۵۰	F: CTCAACTACAGAGAAATTTTCATC R: GAAATGGTACATGACCTCAAG	۱۷۴-۲۱۲	MFW17

جدول ۲: تنوع ژنتیکی جایگاه‌های ژنی مورد مطالعه در جمعیت‌های ماهی خیاطه

LleA-071	Reser10	Mfw17		
۸	۶	۷	N _a	منطقه ۱
۶/۶۸۰	۵/۳۱۱	۳/۶۰۰	N _e	
۱/۰۰۰	۱/۰۰۰	۱/۰۰۰	H _o	
۰/۸۵۰	۰/۸۱۲	۰/۷۲۲	H _e	
***	***	**	pHw	
۶	۶	۵	N _a	منطقه ۲
۴/۵۹۸	۴/۰۴۰	۳/۲۷۹	N _e	
۱/۰۰۰	۱/۰۰۰	۱/۰۰۰	H _o	
۰/۷۸۳	۰/۷۵۳	۰/۶۵۹	H _e	
***	**	***	pHw	
۴	۴	۴	N _a	منطقه ۳
۴/۰۰۰	۳/۵۲۴	۳/۴۴۸	N _e	
۱/۰۰۰	۱/۰۰۰	۱/۰۰۰	H _o	
۰/۷۵۰	۰/۷۱۶	۰/۷۱۰	H _e	
***	**	***	pHw	

N_a: تعداد آلل‌های مشاهده شده؛ N_e: تعداد آلل‌های مؤثر؛ H_o: هتروزیگوسیتی مشاهده شده؛

H_e: هتروزیگوسیتی مورد انتظار؛ F_{is}: ضریب درون‌آمیزی؛ pHw: تست احتمال تعادل هاردی-واینبرگ

(ns: عدم معنی‌داری، p ≤ ۰/۰۵، * p ≤ ۰/۰۱، ** p ≤ ۰/۰۰۱، *** p ≤ ۰/۰۰۰)

جدول ۳: میزان F_{st} (ضریب تمایز)، F_{is} (ضریب درون‌آمیزی)، Nm (جریان ژنی) در جایگاه‌های ژنی مورد مطالعه

میانگین	LleA-071	Reser10	Mfw17	جایگاه ژنی
۰/۰۵۱	۰/۰۳۸	۰/۰۵۳	۰/۰۶۳	F _{st}
۰/۳۲۸	۰/۲۵۹	۰/۳۱۶	۰/۴۱۰	F _{is}
۴/۸۱۸	۶/۲۵۴	۴/۴۵۵	۳/۷۴۴	N _m



شکل ۱: تنوع ژنتیکی به‌دست آمده براساس معیار F_{st}

بحث و نتیجه‌گیری

ماهی خیاطه یکی از ماهیان بسیار مهم رودخانه‌های حوضه دریای خزر می‌باشد. شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد ماهیان این حوضه به دلیل جدایی جغرافیایی از یکدیگر جدا شده‌اند (Samaee et al., 2006). از موارد مهم برای ارزیابی‌های ژنتیکی تعیین تعداد نمونه‌های مورد نیاز می‌باشد. تعداد نمونه به‌طور خاص وابسته به نوع نشانگری است که مورد استفاده قرار می‌گیرد، زیرا نشانگرهای متنوع‌تر به تعداد نمونه بیشتری نیاز دارند. صفری (Safary, 2007) از تعداد ۱۰۸ نمونه جهت بررسی ساختار جمعیت ماهی شیپ (*Acipenser nudiventris*) رودخانه اورال قزاقستان و خزر جنوبی با استفاده از روش ریزماهواره استفاده نمود. قلیچ‌پور (Qelichpoor, 2010) از ۱۱۲ نمونه جهت بررسی ساختار جمعیت ماهی کپور معمولی با روش ریزماهواره در حوضه جنوبی دریای خزر استفاده نمود. جهانگیری (Jahangiri, 2013) از ۹۰ نمونه جهت بررسی ساختار جمعیت ماهی خیاطه با روش ریزماهواره در رودخانه‌های تیل آباد، شیر آباد و کبودوال استفاده نمود. با توجه به مشکلات نمونه‌برداری و دسترسی به مناطق مورد نظر تعداد ۹۰ نمونه از ۳ منطقه در رودخانه پل‌رود رودسر جمع‌آوری شد.

هتروزیگوسیتی در مطالعه ساختار جمعیت گونه‌ها ارزش بسیار دارد؛ زیرا هر فرد هتروزیگوت ناقل آلل‌های متفاوتی بوده که نشان‌دهنده تنوع است (Diz and Presa, 2009). در این بررسی میانگین مقادیر به‌دست آمده برای تعداد آلل‌ها، هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار به ترتیب ۵/۵۵، ۱/۰۰۰ و ۰/۷۵۵ به‌دست آمد که میان مناطق مختلف بر اساس تعداد آلل و هتروزیگوسیتی مشاهده

شده اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. میانگین هتروزایگوسیتی مشاهده شده در سطح جمعیت‌های مورد بررسی (۱/۰۰۰) نسبت به مقادیر مشاهده شده در ماهیان آب شیرین و رودکوچ (به ترتیب ۰/۴۶ و ۰/۶۸) (Dewood and Avise, 2000) بالاتر است. کشیری (Kashiri, 2009) در بررسی تنوع ژنتیکی پنج جمعیت ماهی کلمه در حوضه جنوبی دریای خزر و همچنین میانگین هتروزایگوسیتی مشاهده شده را ۰/۷ و رضایی (Rezaiy, 2009) در بررسی ساختار ژنتیکی ماهی سفید دریای خزر با استفاده از نشانگر ریزماهوره، میانگین هتروزایگوسیتی مشاهده شده را ۰/۸۱ گزارش نمودند.

تعداد متوسط ال‌ال واقعی در سطح جمعیت‌های سه منطقه ۷/۰۰۰ و ۵/۶۶۷ و ۴/۰۰۰ محاسبه شد که تفاوت معنی‌داری از این نظر بین سه جمعیت مورد بررسی مشاهده نشد. این مقدار به شدت تحت تأثیر تعداد نمونه‌ها می‌باشد. بر همین اساس، این امکان وجود دارد که در آزمایشات گوناگون با تعداد نمونه‌های متفاوت تعداد ال‌ال‌های واقعی مختلفی برای یک جایگاه معین به دست آید. تعداد ال مؤثر در همه جایگاه‌ها کمتر از ال مشاهده شده می‌باشد که علت این امر محدود بودن تعداد مولدین مؤثر در اثر آلودگی‌های کشاورزی و از بین رفتن ماهیان مولد و امکان از دست رفتن ال‌ها در طی زمان می‌باشد. این نتایج نشان می‌دهد که به رغم مسائلی همچون آلودگی‌های کشاورزی و از بین رفتن زیستگاه، تنوع ژنتیکی این ماهی در سطح قابل قبولی قرار دارد. از نظر میزان ال واقعی و هتروزایگوسیتی اختلاف معنی‌داری بین این جمعیت‌ها مشاهده نشد که این می‌تواند به علت وقوع درون‌آمیزی در جمعیت باشد که دلیل آن وجود تنگنای ژنتیکی می‌باشد که در طولانی مدت باعث روند کاهش در تنوع ژنتیکی جمعیت می‌شود.

در صورت بزرگ بودن بیش از اندازه جمعیت، تصادفی بودن آمیزش‌ها و عدم وجود جهش، به‌گزینی و مهاجرت (جابجایی ماهیان از یک جمعیت به جمعیت دیگر)، فراوانی آلی و ژنوتیپی می‌تواند از نسلی به نسل دیگر ثابت بماند که تحت عنوان تعادل هاردی-واینبرگ بیان می‌شود. در جمعیت‌های ماهیان، انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ زیاد دیده می‌شود (Lucentini *et al.*, 2006). در بررسی تعادل هاردی-واینبرگ، همه موارد انحراف از تعادل را نشان دادند که ضریب تصحیح بونفرونی در این بررسی لحاظ شد. انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ می‌تواند علل متعددی داشته باشد. رضایی (Rezaiy, 2009) با بررسی جمعیت‌های ماهی سفید، علت انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ را عملیات تکثیر مصنوعی و بازسازی ذخایر عنوان کرد. ژائو و همکاران (Zhao *et al.*, 2005) در ارزیابی تنوع ژنتیکی *Acipenser sinensis* انحراف را به وجود ال‌های صفر و تلاقی خویشاوندی نسبت دادند. در واقع وجود ال‌های صفر در ماهی پدیده‌ای کاملاً عادی می‌باشد و وجود این ال‌ها در توارث میکروستلایت در ماهیان مورد تأیید قرار گرفته است (Ren *et al.*, 2015). اپلیارد و همکاران (Appleyard *et al.*, 2002) در مطالعه ساختار ژنتیکی تن‌ماهی چشم‌درشت (*Thunnus*)

obesus) انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ را مربوط به خطای نمونه‌گیری دانست. در اینجا علاوه بر دلایل ذکر شده، انحراف از تعادل را می‌توان به نزدیک بودن مناطق نمونه‌برداری دانست. در این بررسی متوسط میزان F_{is} ۰/۳۲۸ به‌دست آمد و چون این مقدار بیشتر از صفر است می‌تواند دال بر آمیزش خویشاوندی و اختلاط بین جمعیت‌ها باشد (Wright, 1969). آمیزش خویشاوندی از جمله خطرات اصلی در جمعیت‌های ماهیان به‌شمار می‌رود که می‌تواند باعث کاهش هتروزیگوسیتی، کاهش میزان بقا و عدم مقاومت در برابر بیماری‌ها و در نهایت به‌خطر انداختن جمعیت‌های بومی گردد (Ferguson, 1994). میزان جریان ژنی (N_m) به تعداد مولدین مهاجر از یک منطقه به منطقه دیگر اطلاق می‌شود که هرچه این میزان بین دو منطقه بیشتر باشد به این معنی است که مهاجرت بین دو منطقه بیشتر و اختلاف ژنتیکی کمتر و میزان تنوع ژنتیکی در دو منطقه بیشتر می‌شود (Rezvani Gilkolaei, 2009). هرگاه $N_m > 1$ باشد، جریان ژنی اصلی‌ترین عامل ایجاد تمایز ژنتیکی است و هرگاه $N_m < 1$ باشد رانش ژنی عامل اصلی ایجاد تمایز ژنتیکی می‌شود (Liu, 2007). از این‌رو نتایج به‌دست آمده نشان دهنده این است که عامل ایجاد تمایز ژنتیکی بین جمعیت‌ها جریان ژنی با میزان ۶/۲۵۴ بوده و دلیل مشاهده تنوع ژنتیکی بالا در جمعیت‌های این گونه را می‌توان وجود جریان ژنی بالا در بین جمعیت‌ها دانست. احتمالاً دلیل بالا بودن جریان ژنی را می‌توان مهاجرت‌های تغذیه‌ای و تولیدمثلی ماهیان بین مناطق مورد بررسی دانست. در بررسی‌های جمعیتی میزان F_{st} به‌عنوان یک شاخص مهم جهت تفکیک و تمایز ژنتیکی بین جمعیت‌ها به کار می‌رود (Ballox and Lugon, 2002). یکی از مهمترین و هدفمندترین موضوعات در تحقیقات روی جمعیت‌های گونه‌های مختلف نیز دستیابی به اختلاف فراوانی الی میان جمعیت‌ها یا به عبارتی همان F_{st} به‌عنوان مقیاسی از تنوع جمعیتی است. از این رو محققین در بررسی‌های پیشین، با محاسبه این شاخص به نتایج ارزشمندی در خصوص گونه‌های مختلف دست یافته‌اند. کشیری (Kashiri, 2009) میزان F_{st} جمعیت‌های ماهی کلمه در دریای خزر را در دامنه ۰/۰۳۴-۰/۰۱۳ و جریان ژنی را ۶/۵۱۰ به‌دست آورده و تمایز ژنتیکی میان جمعیت‌ها را پایین گزارش نمود. رضایی (Rezaei, 2009) در بررسی میان جمعیت‌های ماهی سفید در حوضه جنوبی دریای خزر، بالاترین میزان F_{st} را در بین نمونه‌های منطقه تنکابن و گهرباران (۰/۰۵) و کمترین آن را در بین نمونه‌های منطقه قره سو و تجن (۰/۰۰۶) به دست آورد. بنابراین تمایز ژنتیکی پایینی میان جمعیت‌ها مشاهده شد. قلیچ‌پور (Qelichpoor, 2010) میزان F_{st} را در جمعیت‌های ماهی کپور در حوضه جنوبی دریای خزر در محدوده ۰/۰۱۷-۰/۰۰۲ اعلام کرد که نشان دهنده تمایز پایینی بین جمعیت‌های موجود در دریای خزر بود. سالاری علی‌آبادی و همکاران (Salari Aliabadi et al., 2008) در بررسی ساختار ژنتیکی شش جمعیت *Rachycentron canadum* در سواحل شمالی خلیج فارس و دریای عمان میزان F_{st} را ۰/۰۶۳

گزارش کردند که حاکی از تفاوت ژنتیکی بالای میان این شش جمعیت است. در بررسی توسط آگویره و همکاران (Aguirre *et al.*, 2010) که روی سه جمعیت مار ماهی صورتی (*Genypterus blacodes*) در شیلی انجام پذیرفت، میزان F_{st} را ۰/۰۳۲ اعلام کرد که حاکی از عدم تفاوت ژنتیکی در میان سه منطقه نمونه برداری شده در این گونه است.

با توجه به نتایج این تحقیق می توان تمایز ژنتیکی گونه خیاطه را در سطح قابل قبولی قرار داد. اما آنالیز داده ها نشان می دهد که ماهی خیاطه در رودخانه پلرود رودسر دارای فراوانی اللی پایینی می باشد که در آینده زنگ خطری برای کاهش تنوع ژنتیکی می باشد. از دلایل این پدیده می توان به ورود آلودگی های شهری، صنعتی، کشاورزی و برداشت شن و ماسه بی رویه از بستر رودخانه می باشد که باید از لحاظ محیط زیستی و مدیریت شیلاتی بیشتر به آن توجه شود.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله نویسندگان مقاله از دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی به خاطر پرداخت هزینه های این پروژه تحقیقاتی، همچنین از کارشناس محترم آزمایشگاه ژنتیک و بیوتکنولوژی آبریان آقای مهندس خالقی و جناب آقای مهندس محمد رضایی کمال تشکر و قدردانی را دارد.

منابع

- Abdoli A. 2000. The Inland Water Fishes of Iran. Iranian Museum of Nature and Wildlife, Tehran. 377 P. (In Persian).
- Aguirre C.B.C., Ferrada S., Hernandez C.E., Galleguillod R. 2010. Population structure and demographic history of *Genypterus blacodes* using microsatellite loci. Fisheries Research, 106: 102-106.
- Appleyard S.A., Ward, R.D., Grewe P.M. 2002. Genetic stock structure of bigeye tuna in the Indian ocean using mitochondrial DNA and microsatellite. Journal of Fish Biology, 62: 987-999.
- Ballox F., Lugon-Moulin N. 2002. The estimate of population diffrention with microsatellite markers. Molecular Ecology, 11: 155-165.
- Bogtskaya N.G. 1997. Contribution of the knowledge of lencicsine fishes of Asia Minor. Mitteilungen aus dem Hamburgschen Zoologischen Museum und Institute, 94: 161-186.
- Dewood J.A., Avise, J.C. 2000. Microsatellite variation in Marin, freshwater and anadromous fishes compare with other animal. Journal of Fish Biology, 56: 461-473.
- Diz P.A., Presa P. 2009. The genetic diversity pattern of *Mytilus alloprovincialis* in Galician Rías (NW Iberian estuaries). Aquaculture, 287: 278-285.

- Ferguson M. 1994. The role of molecular genetic markers in the management of cultured fish. In Carvalho G.R., Pitcher T.J. (Eds.). *Molecular Genetics in Fisheries*. Chapman and Hall, UK, pp. 81-104.
- Jahangiri L. 2013. Genetic diversity study *Alburnoides eichwaldi* the river tillabad, shirabad, kabudval using microsatellite markers. M.Sc. thesis, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran. (In Persian).
- Kashiri H. 2009. Genetic diversity study *Rutilus rutilus caspius* fish in the southern shores of the Caspian using microsatellite markers. MSc. thesis, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. (In Persian).
- Liu Z. 2007. *Aquaculture Genome Technologies*. Blackwell Publishing, Oxford, 584 P.
- 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.
- Nei M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from small number of Individuals. *Genetics*, 89(3): 583-590.
- Peakall R., Smouse P.E. 2006. GENALEX 6: genetic analysis in excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*, 6(1): 288-295.
- Qelichpoor M, 2010. Genetic diversity study *Cyprinus carpio* fish in the southern shores of the Caspian using microsatellite markers. M.Sc. degree thesis, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran. (In Persian).
- Ren G.J., Hu J.J., Gao T.X., Han Z.Q. 2105. Population structure and genetic diversity of *Ammodytes personatus* in the Northwestern Pacific revealed by microsatellites markers. *Biochemical Systematics and Ecology*, 61: 303-311.
- Rezaei M. 2009. Genetic diversity study *Rutilus frisii kutum* fish using microsatellite markers. MSc. thesis, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. (In Persian).
- Rezvani Gilkolaei K., Salari Aliabadi M.A., Zolgharnain H., Nabavi S.M.B. 2009. Population genetic structure of Cobia, *Rachycentron canadum* revealed by microsatellite markers. *Iranian Journal of Fisheries Science*, 3: 61-69.
- Rothe U. 2008. Der Schneider *Alburnoides bipunctatus* (Bloch, 1782) erstmal in Brandenbug nachgewiesen. *Zoosystematics and Evolution*, 78(1): 183-185.
- Salari Aliabadi M.A., Rezvani S., Savari A., Nabavi S.M.B. 2008. Population structure of *Rachycentron canadum* in Persian Gulf and Oman Sea using microsatellite marker. *Iranian Journal of Fisheries Science*, 2(1): 1-9.
- Samaee S.M.R., Mojazi-Amiri B., Hosseini-Mazinani S.M. 2006. Comparison of *Capoeta capoeta gracilis* populations in the south Caspian Sea River basin, using morphometric ratios and genetic markers. *Folia Zoologica*, 55(3): 323-335.

- Safary R. 2007. Genetic Diversity study in the southern shores of the Caspian Sea and the Ural River using microsatellite markers. M.Sc. thesis, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. (In Persian).
- Skaarud, A., Woolliams, J.A., Gjøen, H.M. 2014. Optimising resources and management of genetic variation in fish-breeding schemes with multiple traits. *Aquaculture*, 420-421: 133-138.
- Verspoor E., Jordan W.C. 1989. Genetic variation at the Me-2locus in the Atlantic salmon within and between rivers: evidence for its selective maintenance. *Fish Biology*, 35: 205-213.
- Wright S. 1969. *The Theory of Gene Frequencies*. The University of Chicago Press, 520 P.
- Yeh, F.C., Yang, R.C., 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.
- Zhao N., Shao Z., Zhu B. 2005. Microsatellite assessment of Chinese sturgeon *Acipenser sinensis* genetic variability. *Journal of Applied Ichthyology*, 21: 7-13.

