دانشگاه گنبد کاووس
نشریه "پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی"
دوره دوم، شماره اول، بهار ۹۳
http://jair.gonbad.ac.ir

بررسی تنوع ژنتیکی ماهی شیربت (*Barbus grypus* Heckel, 1843) در رودخانه‌های کارون و دز استان خوزستان با استفاده از نشانگر میکروستلایت

محبوبه کرمی نسب[۱]، علی شعبانی[۲]، حامد کلنگی میاندره[۳]، سعید شربتی[۴]

[۱]دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد، دانشکده شیلات و محیط‌زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
[۲]دانشیار گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
[۳]استادیار گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
[۴] مربی گروه تولید و بهره برداری، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

تاریخ ارسال: ۹۳/۲/۱۶ تاریخ پذیرش: ۹۳/۴/۳۰

چکیده

ماهی شیربت (*Barbus grypus*) یکی از گونه‌های مهم تجاری در آبزی‌پروری ایران به شمار می‌رود که متعلق به خانواده کپور ماهیان (Cyprinidae) است و در منابع آبی غرب و جنوب‌غرب ایران به ویژه آب‌های استان خوزستان حضور گسترده‌ای دارد. اطلاعات مولکولی راجع به این‌گونه محدود می‌باشد. دراین تحقیق، به منظور بررسی ساختار ژنتیکی ماهی شیربت در مناطق دز و کارون از ۷ جایگاه میکروستلایتی استفاده شد که همگی پلی‌مورف بودند. طبق نتایج بدست آمده متوسط میزان F_{st}، ۰/۰۲۵ بدست آمد که نشان از تمایز ژنتیکی پایین بین جمعیت‌های مورد بررسی می‌باشد. در بررسی تعادل هاردی-واینبرگ، نمونه‌ها در اکثر لکوس‌ها انحراف از تعادل را نشان دادند. تعداد الل‌ها در محدوده ۲۰-۷ و هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار به ترتیب در محدوده ۱-۰/۱۶ (میانگین ۰/۷) و ۰/۹۳۳-۰/۷۳۶ (میانگین ۰/۸۵۶) بدست آمد که بیانگر این مطلب می‌باشد که جمعیت‌های مورد بررسی از فراوانی 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 مشاهده شده مربوط به درون جمعیت‌ها می‌باشد. نتایج حاصل از بررسی فاصله ژنتیکی جدایی جمعیت‌های ماهی شیربت در مناطق مورد بررسی را نشان داد.

***واژگان کلیدی*: ماهی شیربت، تنوع ژنتیکی، میکروستلایت، تعادل هاردی-واینبرگ**

*نویسنده مسئول: hkolangi@gmail.com

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-12-08]

مقدمه

تنوع ژنتیکی، قابلیت بقای یک گونه یا جمعیت را از طریق ایجاد توانایی سازگاری با تغییرات محیطی فراهم می‌کند. بنابراین، تنوع ژنتیکی برای بقای طولانی مدت یک گونه ضروری است (Bataillon *et al*., 1996). بطورکلی مدیریت تنوع ژنتیکی در موجودات، نیازمند ارزیابی ساختار ژنتیکی و تفکیک ذخایر گونه مورد نظر است (Pujolar *et al*., 2009). یکی از مهم‌ترین نشانگرهای ژنتیکی که برای توصیف ساختار ذخایر بسیاری از گونه‌های ماهیان به کار رفته است ریزماهواره‌ها هستند که عبارتند از توالی کوتاهی از DNA به طول کمتر از ۶ نوکلئوتید که به صورت توالی پشت سرهم بدون هیچ قطع و یا انفصال در ژنوم.

با توجه به مطالعات وسیع انجام شده مشخص گردید که ریزماهواره‌ها در اکثر موجودات وجود دارد و در همه آن‌ها تنوع ژنتیکی بسیار بالایی از خود نشان داده‌است. یکی از کاربردهای ریزماهواره‌ها جداسازی جمعیت‌ها و ذخایر مختلف متعلق به یک گونه است (Hancock, 2000). نشانگرهای ریزماهواره به دلیل فراوانی و گستردگی بالا در ژنوم، هم‌بارز بودن، توارث مندلی، کوچک بودن اندازه جایگاه ژنی و در نتیجه سهولت تعیین ژنوتیپ از طریق واکنش زنجیره‌ای پلیمراز و همچنین چند شکلی بالایشان مناسب‌تر هستند (Dewoody and Avise, 2000; Chen *et al*., 2008)، زیاد بودن تعداد الل در ریزماهواره‌ها موجب گردیده تا در میان تمام نشان‌گرها بالاترین میزان هتروزیگوسیتی را نشان دهند (Liu, 2007). این پلی‌مورفیسم بسیار بالا نشان می‌دهد که نشان‌گرهای ریزماهواره‌ای می‌توانند برای آنالیز ژنتیک جمعیت و تعیین نژادها بسیار مفید باشند (Dunham, 2004).

ماهی شیربت با نام علمی (*Barbus grypus* Heckel, 1843) متعلق به خانواده کپور ماهیان (Cyprinidae) و زیر خانواده Barbus می‌باشد و در حوضه آبریز خلیج فارس، رودخانه‌های دشت خوزستان و حوزه رودخانه‌های دجله و فرات پراکنش دارد (Dorostghoal *et al*., 2009). این گونه به احتمال زیاد در اکثر منابع آبی ایران انتشار داشته اما آنچه مسلم است در منابع آبی غرب و جنوب غرب کشور به ویژه آب‌های خوزستان حضور گسترده‌ای دارد. ماهی شیربت دارای اهمیت اقتصادی در میان مردم محلی است و یک گونه مهم تجاری در آبزی‌پروری ایران به شمار می‌رود. برخی از گزارشات نشان می‌دهد که جمعیت این گونه در رودخانه‌های خوزستان کاهش یافته است. متاسفانه تاکنون اطلاعاتی درمورد تنوع ژنتیکی این گونه در میان مناطق مختلف منتشر نشده است. بنابراین با توجه به اهمیت این گونه در منطقه و همچنین از آنجا که داشتن اطلاعات درمورد ساختار ژنتیکی این گونه و تشخیص جمعیت‌های مختلف آن برای برنامه‌های بازسازی ذخایر و حفظ تنوع این گونه ضروری است، در این تحقیق، از هفت جایگاه ژنی ریزماهواره‌ای برای بررسی وضعیت ژنتیکی ماهی شیربت در دو رودخانه مهم استان خوزستان (کارون و دز) استفاده شد.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-12-08]

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری: در پاییز ۱۳۹۱ تعداد ۶۰ عدد ماهی شیربت از دو رودخانه کارون و دز واقع در استان خوزستان (۳۰ نمونه از هر منطقه) صید گردید. حدود ۳-۲ گرم از باله سینه‌ای هر ماهی جداسازی و تا زمان استخراج DNA در الکل ۹۶٪ مطلق نگه‌داری شد. سپس نمونه‌ها برای استخراج DNA به آزمایشگاه ژنتیک گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان منتقل گردید.

آماده‌سازی نمونه‌ها: استخراج DNA از نمونه‌ها به روش فنل-کلروفرم (Hillis *et al*., 1996) انجام پذیرفت. DNA استخراجی پس از افزودن ۱۰۰ میکرولیتر آب مقطر دو بار تقطیر تا زمان انجام مطالعات در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد. کیفیت و کمیت DNA استخراجی نیز با استفاده از ژل آگارز ۱٪ و روش اسپکتروفتومتری ارزیابی شد.

واکنش زنجیری پلیمراز و الکتروفورز: به منظور بررسی تنوع ژنتیکی ماهی شیربت از جایگاه‌های ژنی Bbar11, Bl1-153, GATA20, GGM024, MFW7, MFW26, MFW2 استفاده شد (جدول ۱). 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 ۱۰X PCR(Fermentas)، ۱/۵ میلی‌مولار کلرید منیزیم 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 (واسرشته‌سازی اولیه)، ۳۵ چرخه در دمای ۹۴ درجه به‌مدت ۳۰ ثانیه (واسرشته‌سازی)، درجه حرارت اتصال (جدول ۱) به‌مدت ۳۰ ثانیه (الحاق)، ۷۲ درجه به‌مدت ۱ دقیقه (بسط) و یک چرخه ۷۲ درجه‌ای به‌مدت ۳ دقیقه به‌عنوان مرحله بسط نهایی. محصولات واکنش زنجیره‌ای پلیمراز روی ژل پلی‌اکریل‌آمید ۸ درصد (غیر یونیزه) جداسازی شدند. از نشان‌گر (Ladder DNA (50 bp fermentas به‌عنوان شاخص برای تعیین اندازه اللی استفاده شد. در ادامه، ژل‌ها به روش نیترات نقره رنگ‌آمیزی شدند (Bassam *et al*., 1991). 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 الل در هر جایگاه، الل مؤثر، هتروزیگوسیتی مشاهده شده (H_o) و مورد انتظار (H_e) و تعادل هاردی-واینبرگ با استفاده از نرم‌افزار Gene Alex 6.3 (Peakall and Smouse, 2006) محاسبه شد. به منظورتعیین تنوع ژنتیکی درون و بین جمعیتی و همچنین میزان تمایز بین جمعیتی براساس مدل اللی بی‌نهایت (F_{st}) بااستفاده از آنالیز واریانس مولکولی (AMOVA) بسته نرم‌افزاری Gene Alex استفاده شد. تعیین فاصله (D) و شباهت ژنتیکی (Nei, 1978) (I) و رابطه فیلوژنیک بین جمعیت‌ها با

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-12-08]

استفاده از ترسیم درخت UPGMA و نیز با استفاده از نرم‌افزار PopGene (Yeh *et al*., 1999) صورت گرفت.

جدول ۱- خصوصیات جایگاه‌های ژنی مورد استفاده در این مطالعه

جایگاه ژنی	توالی	اندازه اللی (bp)	دمای اتصال (درجه سانتی‌گراد)
Bbar11	F: GCGGAGGAAGAGAAACACAG R: CTATGCCATTGCCACACATC	۱۰۸-۱۹۲	۴۹
Bl1-153	F: GCACAGCTCTAATCGGTCACT R:TATGGTCAAACACGGGTCAA	۱۶۸-۲۸۰	۵۶
GATA20	F: AATCATGGCGATGGAAAGAC R: AATGACACTTCACATCTAGC	۸۰-۱۳۲	۵۴
GGM024	F: TCCCTCTTTTTGCTCTCAGG R: TAGGTGAACAAATGGCATGG	۱۲۰-۱۸۰	۵۵
MFW2	F: CACACCGGGCTACTGCAGAG R: GTGCAGTGCAGGCAGTTTGC	۱۳۶-۲۴۴	۵۸
MFW7	F: TACTTTGCTCAGGACGGATGC R: ATCACCTGCACATGGCCACTC	۱۰۸-۱۴۸	۵۹
MFW26	F: CCCTGAGATAGAAACCACTG R: CACCATGCTTGGATGCAAAAG	۱۲۰-۲۰۸	۴۸

نتایج

با وجود اهمیت ماهی شیربت متأسفانه این گونه فاقد جایگاه ژنی (پرایمرها) اختصاصی می‌باشد. در مجموع ۷ لکوس در این تحقیق مورد استفاده قرار گرفت که همگی پلی‌مورف بودند. تعداد الل‌های مربوط به تمامی جایگاه‌های پلی‌مورف در جدول ۲ نشان داده شده است. متوسط میزان الل‌های مشاهده شده در مناطق کارون و دز به‌ترتیب ۱۱/۱۴ و ۱۳/۲۸ بدست آمد. همچنین کم‌ترین و بیش‌ترین میزان الل‌ها به‌ترتیب در جایگاه‌های GATA20 (۷ الل) و MFW2 (۲۰ الل) مشاهده شد. الل‌های مؤثر نیز در محدوده ۳/۷۸۸-۱۴/۸۸۱ بدست آمد که در این میان، پایین‌ترین میزان در جایگاه GGM024 (۳/۷۸۸) و بالاترین آن در جایگاه MFW2 (۱۴/۸۸۱) قرار داشت. هتروزیگوسیتی مشاهده شده (H_o) در محدوده ۰/۱۶-۱ (میانگین ۰/۷) بدست آمد، بطوری‌که پایین‌ترین مقدار مربوط به جایگاه GGM024 (کارون) و بالاترین آن مربوط به جایگاه GATA20 (دز) بود. هتروزیگوسیتی مورد انتظار (H_e) نیز در محدوده ۰/۹۳۳-۰/۷۳۶ (میانگین ۰/۸۵۶) بدست آمد که کم‌ترین مقدار مربوط به جایگاه GGM024 (کارون) و بالاترین آن مربوط به جایگاه MFW2 (دز) بود. همچنین از نظر میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار بین نمونه‌های مناطق مورد بررسی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P>0/05$)، اما بین نمونه‌های دو منطقه از نظر تعداد الل‌های مشاهده شده اختلاف معنی‌دار مشاهده شد ($P<0/05$). بررسی نمونه‌ها از نظر تعادل هاردی- واینبرگ نیز نشان داد که نمونه‌های منطقه کارون در جایگاه‌های Bbar11 و Bl1-

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-12-08]

153 در تعادل قرار داشتند و در سایر جایگاه‌ها انحراف از تعادل هاردی- واینبرگ نشان دادند. در نمونه‌های منطقه دز در تمام جایگاه‌ها انحراف از تعادل هاردی- واینبرگ مشاهده شد. متوسط شاخص درون‌آمیزی (F_{is}) و جریان ژنی (N_m) به‌ترتیب ۰/۲۰۲ و ۹/۸۷۲ بدست آمد. متوسط میزان ضریب تمایز (F_{st}) بین نمونه‌های مناطق مورد بررسی بر اساس فراوانی الل‌ها، ۰/۰۲۵ بدست آمد (جدول ۳). متوسط میزان R_{st} نیز به عنوان یکی دیگر از شاخص‌های تمایز ۰/۱۶۵ بدست آمد. همچنین نتایج براساس AMOVA نشان داد که ۹۶ درصد از تنوع مشاهده شده مربوط به درون جمعیت‌ها و تنها ۴ درصد از تنوع مربوط به بین جمعیت‌ها می‌باشد (شکل۱). بر اساس معیار فاصله ژنتیکی Nei میزان شباهت ژنتیکی بین دو منطقه ۰/۷۰۷ و مقدار فاصله ژنتیکی ۰/۳۴۷ بدست آمد. دندروگرام UPGMA بر اساس مقدار فاصله ژنتیکی نیز نشان داد که این دو منطقه در دو شاخه مجزا قرار دارند (شکل ۲).

جدول ۲- تنوع ژنتیکی جایگاه‌های ژنی مورد مطالعه در جمعیت‌های ماهی شیربت

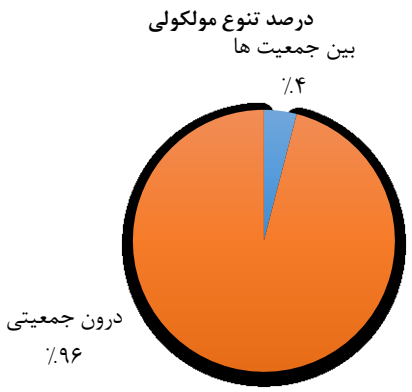
		Bbar11	Bl1-153	GATA20	GGM024	MFW2	MFW7	MFW26
کارون	N_a	۱۱	۱۷	۱۱	۹	۱۱	۹	۱۰
	N_e	۶/۱۵۸	۹/۴۷۰	۵/۵۰۷	۳/۷۸۸	۸/۹۲۹	۶/۷۲۰	۵/۴۱۱
	H_o	۰/۸۴	۰/۹۶	۰/۶۴	۰/۱۶	۰/۸۴	۰/۵۶	۰/۶۰
	H_e	۰/۸۳۸	۰/۸۹۴	۰/۸۱۸	۰/۷۳۶	۰/۸۸۸	۰/۸۵۱	۰/۸۱۵
	pHw	ns	ns	**	***	*	***	***
دز	N_a	۱۵	۱۷	۷	۹	۲۰	۹	۱۶
	N_e	۱۱/۶۸۲	۱۰/۴۱۷	۵/۸۶۹	۶/۱۲۷	۱۴/۸۸۱	۶/۷۲۰	۸/۲۲۴
	H_o	۰/۷۶۰	۰/۶۰۰	۱/۰۰۰	۰/۳۶۰	۰/۹۶۰	۰/۵۶۰	۰/۹۶۰
	H_e	۰/۹۱۴	۰/۹۰۴	۰/۸۳۰	۰/۸۳۷	۰/۹۳۳	۰/۸۵۱	۰/۸۷۸
	pHw	***	**	***	***	***	***	***

N_a: تعداد الل‌های مشاهده شده؛ N_e: تعداد الل‌های مؤثر، H_o: هتروزیگوسیتی مشاهده شده، H_e: هتروزیگوسیتی مورد انتظار، F_{is}: ضریب درون‌آمیزی، pHw: تست احتمال تعادل هاردی-واینبرگ (ns: عدم معنی‌داری، $P \leq ۰/۰۵$:*، $P \leq ۰/۰۱$:**، $P \leq ۰/۰۰۱$:***)

جدول ۳- میزان Fst (ضریب تمایز)، Fis (ضریب درون‌آمیزی)، N_m (جریان ژنی) درجایگاه‌های ژنی مورد مطالعه

جایگاه ژنی	Bbar11	Bl1-153	GATA20	GGM024	MFW2	MFW7	MFW26	میانگین
F_{st}	۰/۰۳۶	۰/۰۱۲	۰/۰۳۸	۰/۰۳۲	۰/۰۱۵	۰/۰۰۰	۰/۰۴۱	۰/۰۲۵
F_{is}	۰/۰۸۷	۰/۱۳۳	۰/۰۰۵	۰/۶۶۹	۰/۰۱۱	۰/۳۴۲	۰/۰۷۹	۰/۲۰۲
N_m	۶/۶۳۶	۲۰/۸۱۵	۶/۳۵۸	۷/۶۲۰	۱۶/۴۹۳	***	۵/۹۱۳	۹/۸۷۲

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-12-08]

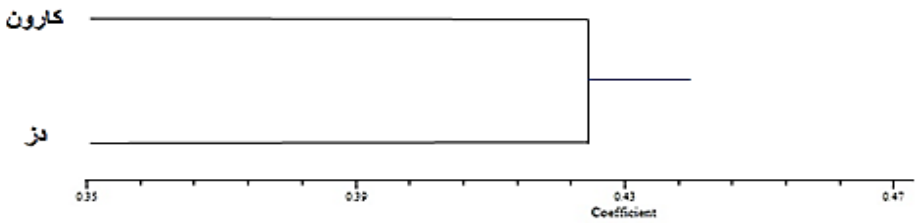


شکل ۱- تنوع ژنتیکی بدست آمده براساس معیار F_s

جدول ۴- آنالیز واریانس مولکولی (AMOVA) در R_{st}

	Df	SS	MS	Est.Var.	٪	Stat	Value	Prob
بین‌جمعیت	۱	۸۴۶/۴۷۰	۸۴۶/۴۷۰	۱۵/۲۸۷	۱۷			
بین افراد	۴۸	۳۹۴۲/۵۶۰	۸۲/۱۳۷	۴/۸۸۳	۵			
درون افراد	۵۰	۳۶۱۸/۵۰۰	۷۲/۳۷۰	۷۲/۳۷۰	۷۸	R_{st}	۰/۱۶۵	۰/۰۱۰

df (درجه آزادی)، SS (مجموع مربعات)، Ms (انحراف میانگین مربع)، Prob (معنی‌دار بودن انحراف بعد از ۹۹۹ جایگزینی تصادفی).



شکل ۲- دندروگرام UPGMA بر اساس مناطق مورد بررسی

بحث و نتیجه‌گیری

بررسی تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های طبیعی همیشه یکی از موضوعات قابل توجه برای محققان ژنتیک جمعیت و تکامل بوده است. تنوع ژنتیکی یکی از سه سطح تنوع زیستی پیشنهاد شده توسط سازمان حفاظت جهانی برای برنامه حفظ ذخایر است (Lucentini *et al*., 2009). درک و مدیریت تنوع

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-12-08]

ژنتیکی گونه‌ها نقش مهمی در ایجاد برنامه‌های هدف‌دار برای بهره‌برداری از ذخایر آبزیان دارد. ریزماهواره‌ها نشان‌گرهای ژنتیکی هستند که به صورت گسترده در مطالعات ژنتیک جمعیت گونه‌های پرورشی و وحشی ماهیان استفاده می‌شوند (Liu *et al*., 2009). با وجود اهمیت بالای اقتصادی و تجاری ماهی شیربت، این گونه فاقد جایگاه ژنی اختصاصی می‌باشد. در این بررسی جهت تعیین تنوع ژنتیکی ماهی شیربت در دو رودخانه مهم کار ون و دز از ۷ نشان‌گر ریزماهواره‌ای استفاده شد که همگی پلی‌مورف بودند.

هتروزیگوسیتی و تعداد الل‌ها جزو شاخص‌های مهم تنوع ژنتیکی جمعیت‌ها از لحاظ روبرو شدن با شرایط محیطی هستند (Frankham, 2008) و ویژگی‌هایی همچون قابلیت رقابت و توانایی یک موجود برای بقاء در زیستگاه‌های طبیعی را تعیین می‌سازند (Hakansson and Jensen, 2005). در این بررسی متوسط تعداد الل‌های مشاهده شده ۱۲/۲۱ بدست آمد که از مقادیر بدست آمده برای ماهیان آب شیرین (۷/۵) (Dewoody and Avise, 2000) بطور معنی‌داری بیشتر بود. 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 الل‌های واقعی مختلفی برای یک جایگاه معین بدست آید. وجود حداقل تعداد ۳۰ نمونه می‌تواند تعداد الل‌های واقعی را در بررسی‌های ریزماهواره نشان دهد (Goldstien and Scholottor, 1999; Silva and Russo, 2000; Peakall and Smous, 2006). همچنین، این اختلاف می‌تواند حاکی تنوع ژنتیکی قابل توجه در جمعیت‌های مورد بررسی در این تحقیق باشد. تعداد الل مؤثر در همه جایگاه‌ها کمتر از الل مشاهده شده می‌باشد که علت این امر محدود بودن تعداد مولدین مؤثر در عملیات تکثیر مصنوعی و امکان از دست رفتن الل‌ها در طی زمان می‌باشد.

میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده در سطح جمعیت‌های مورد بررسی ۰/۷ بدست آمد، که نسبت به مقادیر مشاهده شده در ماهیان آب شیرین (۰/۴۶) (Dewoody and Avise, 2000) بالاتر است. در بررسی میکروستلایتی تنوع جمعیت‌های بهاره و پاییزه ماهی سفید در دریای خزر، تعداد متوسط الل واقعی و مؤثر را به‌ترتیب ۹/۴ و ۵/۲۶ و دامنه هتروزیگوسیتی مشاهده شده و قابل انتظار را به ترتیب در محدوده ۰/۹۶-۰/۲۱ گزارش نمودند که بالابودن دامنه هتروزیگوسیتی در ماهی سفید دریای خزر را بیانگر سطح بالای تنوع ژنتیکی این ماهی دانستند. این نتایج نشان می‌دهد که به رغم مسائلی همچون تکثیر مصنوعی ماهی شیربت و فشار صید، تنوع ژنتیکی این ماهی در سطح بالایی قرار دارد. متأسفانه علی‌رغم مزایای تکثیر مصنوعی، این روش در درازمدت می‌تواند منجر به کاهش تنوع ژنتیکی ذخایر ژنی بومی گردد (Blanchet *et al*., 2008).

در این بررسی، مقایسه بین دو رودخانه نشان داد که متوسط تعداد الل و هتروزیگوسیتی مشاهده شده در رودخانه دز از کارون بیشتر است. در بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های ماهی کپور معمولی

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-12-08]

(*Cyprinus carpio*) در ۳ منطقه Iznik، Sapanca و Bafra در ترکیه با استفاده از ۴ جایگاه میکروستلایتی، تعداد الل‌ها و هتروزیگوسیتی مشاهده شده به ترتیب در محدوده ۸-۶/۷۵ و ۰/۸۱۷-۰/۵۷۵ گزارش گردید. در این میان، جمعیت ماهی کپور در منطقه Sapanca با دارا بودن بالاترین میزان متوسط الل و هتروزیگوسیتی مشاهده شده، تنوع میکروستلایتی بالاتری را نشان داد (Memis and Kohlmann, 2006). پس می‌توان این‌گونه بیان کرد که تنوع ژنتیکی ماهی شیربت در رودخانه دز از کارون بیشتر است که علت این امر می‌تواند کاهش فشار صید در رودخانه دز باشد.

در بررسی تعادل هاردی-واینبرگ، ۱۲ مورد از ۱۴ تست مورد بررسی انحراف از تعادل را نشان دادند که ضریب تصحیح بونفرونی در این بررسی لحاظ شد. انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ را می‌توان به وجود الل‌های نول در جمعیت‌های مورد بررسی نسبت داد. در واقع وجود الل‌های نول در ماهی پدیده‌ای کاملاً عادی می‌باشد و وجود این الل‌ها در توارث میکروستلایت در ماهیان مورد تأیید قرارگرفته است (Rodzen and May, 2002). در این‌جا انحراف از تعادل را می‌توان به غیراختصاصی بودن آغازگرها یا تعداد کم نمونه نسبت داد.

در این مطالعه متوسط میزان F_{is}، ۰/۲۰۲ بدست آمد و چون این مقدار بیشتر از صفر است می‌تواند دال بر آمیزش خویشاوندی و اختلاط بین جمعیت‌ها باشد (Wright, 1978). آمیزش خویشاوندی از جمله خطرات اصلی در جمعیت‌های ماهیان به شمار می‌رود که می‌تواند باعث کاهش هتروزیگوسیتی، کاهش میزان بقاء و عدم مقاومت در برابر بیماری‌ها و در نهایت به خطر انداختن جمعیت‌های بومی گردد (Fergusen, 1995). 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; Beacham *et al*., 2004). 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 (Li *et al*., 2007). از این‌رو نتایج حاضر نشان دهنده این است که عامل ایجاد تمایز ژنتیکی بین جمعیت‌ها جریان ژنی با میزان ۹/۸۷۲ بوده و دلیل مشاهده تنوع ژنتیکی بالا در جمعیت‌های این گونه را می‌توان وجود جریان ژنی بالا در بین جمعیت‌ها دانست.

فاکتور F_{st} توصیف کننده تمایز جمعیت در سطوح مختلف ساختار ژنتیکی می‌باشد. طبق نظر (Wright, 1978) هرگاه میزان F_{st} کمتر از ۰/۰۵ باشد، نشان دهنده وجود تمایز کم، مقدار بین ۰/۰۵تا ۰/۱۵ نشان دهنده تمایز متوسط، مقدار بین ۰/۱۵تا ۰/۲۵ نشان دهنده تمایز بالا و مقدار بالای ۰/۲۵ نیز نشان دهنده تمایز ژنتیکی خیلی بالا در بین جمعیت‌ها می‌باشد. در این بررسی میزان متوسط F_{st}، ۰/۰۲۵ می‌باشد که نشان دهنده تمایز پایین بین جمعیت‌ها می‌باشد و با توجه جریان ژنی بالا بین این دو منطقه،

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-12-08]

به سادگی قابل توجیه می‌باشد. با تبادل افراد، تبادل ژن‌ها نیز پیش می‌آید و تبادل بیشتر منجر به کم شدن تمایز ژنتیکی بین جمعیت‌ها می‌گردد .آنالیز واریانس مولکولی به عنوان یک آنالیز آماری، ابزاری مناسب برای مشخص کردن ساختار جمعیت و میزان تمایز ژنتیکی بین جمعیت‌هاست (Grassi *et al*., 2004). با توجه به این‌که R_{st} از اطلاعات مربوط به اندازه اللی استفاده می‌کند و وابسته به جهش نیست، می‌تواند داده‌های بیولوژیک بهتری نسبت به معیار F_{st} فراهم کند (Balloux and Moulin, 2002). بنابراین نتایج آزمون AMOVA در این بررسی بر اساس R_{st} حاکی از تنوع ژنتیکی بالا در داخل جمعیت‌ها (۸۳٪) و در عین حال تنوع ژنتیکی پایین بین جمعیت‌ها (۱۷٪) می‌باشد (جدول ۴). برای ریزماهواره‌ها میزان R_{st} می‌تواند بیشتر از F_{st} باشد (Slatkin, 1995) که در این بررسی میزان F_{st} و R_{st} به عنوان شاخص‌های تمایز به ترتیب ۰/۰۲۵ و ۰/۱۶۵ بدست آمد که نشان از وجود تمایز پایین بین مناطق مورد بررسی است. طبق پیراسنجی‌های عنوان شده توسط تروپ (Throp, 1982) که مقدار شباهت ژنتیکی را براساس سطوح فیلوژنی مختلف در شاخه مهره‌داران محاسبه کرد، برای جمعیت‌هایی که به گونه‌های مشابه تعلق دارند، شباهت ژنتیکی بین ۰/۸۰-۰/۹۰ و در گونه‌های متعلق به جنس‌های مشابه بین ۰/۳۵-۰/۸۵ قرار دارد. مقدار بدست آمده در این بررسی (۰/۷۰۷) بوده و در محدوده گونه‌های مشابه قرار دارد که با مقادیر تمایز پایین بدست آمده مطابق است.

با توجه به نتایج بدست آمده تنوع ژنتیکی ماهی شیربت در مناطق مورد بررسی در حد قابل قبولی قرار دارد، اما به دلیل تشابه ژنتیکی و تمایز پایین ممکن است در آینده با مشکل کاهش تنوع مواجه شوند. بنابراین به دلیل تکثیر مصنوعی این ماهی، باید با ایجاد تدابیری در خصوص حفظ و تقویت تنوع مشاهده شده و اجتناب از مشکلات درون‌آمیزی و برون‌آمیزی ناشی از تکثیر مصنوعی و در نتیجه کاهش بقاء آن‌ها در طبیعت و از دست رفتن تمایز ژنتیکی بین نمونه‌های مناطق مورد بررسی، از کاهش تنوع ژنتیکی این گونه جلوگیری شود. دراین خصوص بهترین روش، احیای محل‌های تخم‌ریزی طبیعی این گونه و در تکثیر مصنوعی نیز به کارگیری تدابیری، همچون استفاده از حداکثر تعداد مولد به منظور جلوگیری از کاهش اندازه مؤثر جمعیت می‌باشد.

منابع

Balloux F., Lugon-Moulin N. 2002. The estimate of population differentiation with microsatellite markers. Molecular Ecology, 11: 155-165.

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.

Bataillon T.M., David J.L., Schoen D.J. 1996. Neutral genetic markers and conservation: Simulated germplasm collections. Genetics, 144: 409-417.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-12-08]

Beacham T.D., Mcintosh M., MacConnachie C. 2004. Population structure of lake-type and river-type sockeye salmon in Trans Boundary Rivers of northern British Columbia. Journal of Fish Biology, 65:389-402.

Blanchet S., Paez D., Bernatchez L., Dodson J. 2008. An integrated comparison ofcaptive-bredand wild Atlantic salmon (*salmo salar*): Implications for supportive breeding programs. Biological Conservation, 141:1989-1999.

Chen L., Li Q.M., Yang J. 2008. Microsatellite genetic variation in wild and hatchery populations of the sea cucumber (*Apostichopus japonicus*) from northern China. Aquaculture Research, 39:1541-1549.

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.

Dorostghoal M., Peyghan R., Papan F., Khalili L. 2009. Macroscopic and microscopic studies of annual ovarian maturation cycle of Shirbot *Barbus grypus* in Karon river of Iran. Shiraz University. Iranian Journal of Veterinary Research, 27: 172–179.

Dunham R.A. 2004. Aquaculture and fisheries biotechnology Genetic Approaches. CABI Publishing, University of Auburn, Auburn.

Fergusen M. 1995. The role of molecular genetic markers in the management of cultured fish. G.R. Arvalhoand, T.J. Pitcher (Eds.), Molecular Genetics in Fisheries. London: Chapman and Hall. P: 81-104.

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

Goldstein D.B., Schlotterer C. 1999. Microsatellites: Evolution and Applications. Oxford University Press, New York. 368 pp.

Grassi F., Imazio S., Gomarasca S., Citterio S., Aina R., Sgorbati S., Sala F., Patrignani G., Labra M. 2004. Population structure and genetic variation within *Valeriana wallrothii* Kreyer in relation to different ecological locations. Plant Science, 166:1437-1441.

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

Hancock J.M. 2000. Microsatellite and other simple sequence. In the microsatellite, Evolution and application. Oxford University Press, p. 1-11.

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

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.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-12-08]

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

Liu Z. 2007.Aquaculture genome technologies. Blackwell Publishing, Oxford.

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

Memis D., Kohlmann K. 2006. Genetic characterization of wild common carp (*Cyprinus carpio* L.) from Turkey. Aquaculture, 258: 257–262.

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

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

Peakall R., Smouse P.E. 2006. Gene Alex 6: Genetic Analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. Molecular Ecology and Systemic, 28: 105-128.

Pujolar J.M., Deleo G.A., Ciccotti E., Zane L. 2009. Genetic composition of Atlantic and Mediterranean recruits of European eel (*Anguilla anguilla*) based on EST-linked microsatellite loci. Journal of Fish Biology, 74: 2034-2046.

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.

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

Silva E.P., Russo C.A.M. 2000. Techniques and statistical data analysis in molecular population genetics. Hydrobiologia, 420: 119-135.

Slatkin M. 1995. A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. Genetics, 139:457-462.

Thorp J.P. 1982. The molecular clock hypothesis: Biochemical evolution, genetic differentiation and systematic. Annual Review of Ecology and Systematics, 13:139-168.

Wright, B.S. 1951. The genetically structure of populations. Annual Eugenics, 15: 323-354.

Wright S. 1978. Evolution and the genetics of population's variability within and among natural populations. University of Chicago Press. 2nd Ed., University of Chicago Press, Chicago.

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

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-12-08]

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-12-08]