نشریه پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی
Journal homepage: http://jair.gonbad.ac.ir
وزارت علوم، تحقیقات و فناوری
دانشگاه گنبد کاووس

بررسی ژنتیکی مولدین فیل‌ماهی (*Huso huso*)، توصیه‌هایی برای مدیریت ذخایر و آبزی‌پروری

رضوان‌اله کاظمی[1]، مهتاب یارمحمدی *[1]، ایوب یوسفی جوردهی[1]، محمد حسن‌زاده صابر[1]
[1] مؤسسه تحقیقات بین‌المللی تاس‌ماهیان دریای خزر، سازمان تحقیقات، ترویج و آموزش کشاورزی، رشت، ایران

نوع مقاله:
پژوهشی اصیل

تاریخچه مقاله:
دریافت: ۹۹/۰۸/۰۶
پذیرش: ۹۹/۰۹/۳۰
DOI: 10.22034/jair.9.1.61

نویسنده مسئول مکاتبه:
مهتاب یارمحمدی، مؤسسه تحقیقات بین‌المللی تاس‌ماهیان دریای خزر، سازمان تحقیقات، ترویج و آموزش کشاورزی، رشت، ایران
ایمیل:
mahtabyarmohammadi@gmail.com

چکیده

فیل ماهی (*Huso huso*) یکی از مهمترین گونه‌های پرورشی خاویاری ایران است که مدیریت مؤثر این گونه جهت حفظ ذخایر و توسعه آبزی‌پروری، نیاز به آگاهی از ساختار، الگوهای جفت شدن و تنوع ژنتیکی مولدین آن دارد. هدف از این پژوهش ارزیابی تنوع ژنتیکی مولدین پرورشی نسل اول در دو مرکز بانک ژن زنده مؤسسه تحقیقات بین‌المللی تاس‌ماهیان دریای خزر و مرکز بازسازی و حفاظت از ذخایر ژنتیکی ماهیان خاویاری شهید بهشتی استان گیلان با استفاده از نشانگر مولکولی ریزماهواره بود. نمونه بافت باله‌دمی ۱۴۷ مولد و پیش مولد فیل‌ماهی پرورشی در دو سایت پرورش ماهیان خاویاری (۴۷ نمونه از مرکز بانک ژن و ۱۰۰ نمونه از مرکز شهید بهشتی) در سال‌های ۱۳۹۹- ۱۳۹۷ جمع‌آوری شدند. DNA ژنومی جهت تکثیر جایگاه‌های ریزماهواره با استفاده از استات آمونیوم استخراج گردید. چهار جایگاه ریزماهواره (LS68 ، LS57، LS19 و LS39) جهت بررسی تنوع ژنتیکی در دو گروه از ماهیان مورد مطالعه تکثیر شد. از بین ۱۴۷ نمونه فیل‌ماهی دو جمعیت مورد مطالعه، ۱۹۸ آلل شناسایی شد (۱۲۳ آلل در جمعیت مولدین بانک ژن و ۷۵ آلل در جمعیت مولدین شهید بهشتی) که تمامی آن‌ها به‌صورت دو باندی بودند. تنوع ژنتیکی در دو جمعیت بانک ژن و مرکز شهید بهشتی به‌ترتیب ۰/۴۴ و ۰/۶۸ بود. نتایج نشان داد که مولدین مرکز شهید بهشتی از غنای آللی و تنوع ژنتیکی مناسب و مولدین بانک ژن از غنای آللی مطلوب ولی شاخص هتروزیگوسیتی کاهش یافته برخوردار بودند. شاخص تمایز ژنتیکی (F_{ST}) بین دو جمعیت ۰/۳۴ بود که نشان‌دهنده تمایز ژنتیکی پایین بین دو جمعیت مورد مطالعه بود. همچنین فاصله و شباهت ژنتیکی Nei براساس ماتریکس جمعیت به‌ترتیب، ۱/۴۹۱ و ۰/۲۲۵ بود، درحالی‌که براساس آنالیز واریانس مولکولی (AMOVA) تنوع ژنتیکی بین دو جمعیت فیل‌ماهی مورد مطالعه ۹۲ درصد و داخل جمعیت ۸ درصد مشخص شد. مطالعه ژنتیکی جمعیت‌های فیل‌ماهی در دو مرکز مهم شیلاتی کشور توانست اطلاعات اولیه شرایط ژنتیکی ذخایر این ماهیان باارزش را از نقطه نظر حفاظت ذخایر و نیز برنامه‌های مدیریتی آبزی‌پروری تجاری، فراهم سازد.

واژه‌های کلیدی:
فیل ماهی، *Huso huso*، ریزماهواره، تنوع ژنتیکی، حفاظت ذخایر

۱ | مقدمه

تاس‌ماهیان با قدمت بیش از ۲۵۰ میلیون سال، یکی از قدیمی‌ترین ماهیان و به‌عنوان فسیل زنده روی زمین بوده، در نیم‌کره شمالی زمین پراکنش دارند (Billard and Lecointre, 2000). از لحاظ حفاظتی همه گونه‌های تاس‌ماهیان در پیوست ۲ کنوانسیون نظارت بر تجارت گونه‌های درحال انقراض (CITES) قرار دارند (IUCN Red List, 2017). از ۲۷ گونه تاس‌ماهی شکلان (Acipenseriformes)، تعداد ۶ گونه ارزشمند آن شامل فیل‌ماهی (*Huso huso*)، تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*)، تاس‌ماهی روسی (*A. gueldenstadtii*)، ازون‌برون (*A. stellatus*)، شیپ (*A. nudiventris*) و استرلیاد (*A.ruthenus*) در دریای خزر و حوضه آبریز آن، به‌عنوان بزرگترین زیستگاه طبیعی ماهیان خاویاری جهان، زیست می‌نمایند. تاس‌ماهیان دریای‌خزر از گونه‌های با ارزش و اقتصادی شیلاتی بوده که صرف‌نظر از اهمیت آنها در اقتصاد، به‌دلیل مشکلات زیستگاهی و آلودگی‌های دریای خزر و صید بی‌رویه به‌شدت درمعرض خطر انقراض قرار دارند (Pourkazemi, 2006). به‌طوری‌که براساس آخرین آمارها میزان صید ماهیان خاویاری از حدود ۲۰۵۸ تن در سال ۱۳۷۱ به حدود ۱۳ تن در سال ۱۳۹۸ در آب‌های ایرانی دریای‌خزر رسیده است که بیش از ۹۹ درصد کاهش نشان می‌دهد (Statistical Yearbook of Iran Fisheries Organization, 2019) . درسال‌های اخیر، جهت به‌حداقل رساندن فشار بر جمعیت‌های وحشی، آبزی‌پروری تاس‌ماهیان با اهداف

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-05]
[DOI: 10.22034/jair.9.1.61]

تولید گوشت و خاویار در ایران گسترش یافته است (Pourali Fashtami, 2006). در بین گونه‌های تاس‌ماهی، فیل‌ماهی به‌علت رشد سریع و سازگاری با رژیم‌های غذایی مختلف، به‌عنوان گونه اصلی پرورشی در ایران مورد توجه قرار گرفته است (Kalbasi *et al*., 2013). پرورش تجاری تاس‌ماهیان در کشور از سال ۱۳۸۷ آغاز گردیده است و درحال حاضر پرورش ماهیان خاویاری در ۱۳۲ مزرعه در ۲۵ استان کشور درحال انجام می‌باشد (Statistical Yearbook of Iran Fisheries Organization, 2019). به‌منظور توسعه پایدار این صنعت در کشور نیاز به تأمین بچه‌ماهیان با کیفیت می‌باشد که این امر مستلزم وجود مولدین با کیفیت است. بنابراین شناسایی ساختار ژنتیکی و تهیه شناسنامه ژنتیکی مولدین پرورشی نسل اول تاس‌ماهیان دریای خزر از اولین اقدامات مهم به‌منظور حفاظت از آنها و توسعه آبزی‌پروری تاس‌ماهیان در کشور می‌باشد. از جمله فعالیت‌هایی که در زمینه بهبود و توسعه پایدار آبزی‌پروری ماهیان خاویاری کشور درحال انجام می‌باشد ارزیابی ژنتیکی مولدین نسل F_1 و تهیه شناسنامه ژنتیکی در مراکز تولید تاس‌ماهیان پرورشی است (Yarmohammadi, *et al*.,2019; Farasati *et al*., 2020). مطالعات ژنتیکی با استفاده از جایگاه‌های ریزماهواره به‌عنوان نشانگرهای ژنتیکی برای بسیاری از اهداف از جمله شناسایی افراد، تجزیه و تحلیل دودمان و بررسی تمایز ژنتیکی در میان جمعیت‌های موجود خصوصاً در ماهیان خاویاری به‌طور گسترده‌ایی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Zane *et al*., 2002; Welsh *et al*., 2003; Liu *et al*., .2009; Mugue and Barmintseva, 2018). به‌دلیل بالا بودن تنوع قطعات تکرار شونده در نتیجه جهش و همچنین به‌علت الگوی توارث هم‌بارز در نشانگرهای ریز ماهواره، ارزش به‌کارگیری آن‌ها در مطالعات ژنتیکی دو چندان می‌شود (Liu and Cordes, 2004). به‌عنوان مثال در مطالعات انجام شده با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره مشخص شد که در برنامه‌های بازسازی ذخایر تاسماهی چینی (*A. sinensis*)، ۵ تا ۱۰ درصد جمعیت ماهیان جوان در دریا حاصل از فعالیت‌های تکثیر مصنوعی این گونه می‌باشد (Zhu *et al*., 2002). در همین راستا در نتیجه بررسی ساختار ژنتیک جمعیت تاسماهی روسی (*A. gueldenstaedtii*) مشخص گردید که روش ریزماهواره از توانایی بالایی در نشان دادن تنوع ژنتیکی تاس‌ماهیان روسی برخوردار است (Khoshkholgh *et al*., 2007). در بررسی ساختار ژنتیکی جمعیت‌های ازون‌برون (*A. stellatus*) در قسمت‌های شمالی و جنوبی دریای خزر با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره میزان تنوع ژنتیکی اندک برآورد شد که علت آن به کاهش تعداد افراد جمعیت‌ها نسبت داده شد (Norouzi and Pourkazemi, 2016).

مولدین نسل F_1 نگهداری شده در بانک ژن زنده مؤسسه تحقیقات بین‌المللی تاس‌ماهیان دریای خزر و نیز مرکز بازسازی و حفاظت از ذخایر ژنتیکی ماهیان خاویاری شهیدبهشتی، باتوجه به وظایف سازمانی این دو مرکز، به‌عنوان ذخایر ارزشمند گونه‌های درحال انقراض تاس‌ماهیان دریای خزر می‌باشند. به‌طوری‌که علاوه بر استفاده از نتاج حاصل در توسعه آبزی‌پروری تاس‌ماهیان در کشور، با مدیریت صحیح این ذخایر در صورت انقراض کامل تاس‌ماهیان در دریای‌خزر از آنها می‌توان به‌منظور اهداف بازسازی ذخایر نیز استفاده نمود. درحال حاضر برخی از برنامه‌های بازسازی ذخایر و تشکیل بانک‌های ژن تاس‌ماهیان بدون توجه به مدیریت ژنتیکی و فقط از تعداد کمی از مولدین استفاده می‌شود که این امر سبب کاهش تنوع ژنتیکی و افزایش احتمال درون آمیزی در جمعیت نسل اول و نسل‌های متعاقب آن خواهد شد. تاکنون مطالعه‌ای مبنی بر ارزیابی ژنتیکی مولدین پرورشی نسل F_1 در گونه-های مختلف تاس‌ماهیان در کشور ارائه نشده است. باتوجه به مطالعه انجام شده روی جمعیت‌های وحشی تاس‌ماهیان دریای خزر توسط (Pourkazemi *et al*., 2008)، بیشتر جمعیت‌های ماهیان دریای‌خزر از بین رفته‌اند. بنابراین به‌منظور توسعه پایدار صنعت آبزی‌پروری تاس‌ماهیان با اهداف بازسازی ذخایر و آبزی پروری، نیاز به حفظ تنوع ژنتیکی در نسل‌های آتی این ماهیان می‌باشد. هدف از پژوهش حاضر مطالعه تنوع ژنتیکی مولدین و پیش مولدین فیل ماهی نسل F_1 موجود در بانک ژن زنده تاس‌ماهیان مؤسسه تحقیقات بین‌المللی تاس‌ماهیان دریای‌خزر و مرکز بازسازی ذخایر شهیدبهشتی با استفاده از روش ریزماهواره (میکروستلایت) به‌منظور دستیابی به اطلاعات مورد نیاز مدیریت ژنتیکی تکثیر و برنامه‌های مرتبط با بازسازی ذخایر و آبزی-پروری در گونه فیل‌ماهی است.

۲ | مواد و روش‌ها

نمونه‌های بافتی باله دمی از ۱۴۷ فیل ماهی پرورشی (*Huso huso*) در دو سایت پرورش ماهیان‌خاویاری در سال‌های ۱۳۹۹-۱۳۹۷ جمع‌آوری و تا شروع آزمایش‌ها در اتانول ۹۶ درصد نگهداری شدند. جمعیت‌های فیل‌ماهی پرورشی نسل اول (F_1) شامل پیش‌مولدین و مولدین از مراکز بانک ژن مؤسسه تحقیقات بین‌المللی تاس‌ماهیان دریای‌خزر (۴۷ نمونه) و مرکز بازسازی و حفاظت از ذخایر ژنتیکی ماهیان خاویاری شهیدبهشتی (۱۰۰ نمونه) مورد مطالعه قرار گرفتند.

DNA ژنومی جهت تکثیر ریزماهواره‌ها از نمونه‌های بافت باله‌دمی با استفاده از روش استات آمونیوم استخراج گردید (Chakmehdouz, 2005). از میان ۱۲ جایگاه ریزماهواره مورد بررسی شامل (LS68، LS57، LS19، LS39، LS54، LS34، SPL104، AFUG9، AFUG56، AFUG36، AFUG74، AFUG112)، چهار جایگاه LS68، LS57، LS19 و LS39 که دارای بیشترین حالت چندشکلی (پلی‌مورفیسم) برای انجام آنالیز ژنتیکی بودند مورد استفاده قرار گرفت (ay *et al*., 1997; McQuown *et al*., 2000, Welsh *et el*., 2003) (جدول ۱). مخلوط واکنش PCR با حجم کلی ۲۵ میکرولیتر شامل DNA الگو با غلظت ۴۰ نانوگرم، بافر 1X واکنش PCR، پرایمرها با غلظت نهایی ۰/۴ میلی‌مولار، dNTPها با غلظت نهایی ۰/۲۵ میلی‌مولار، Mgcl2 با غلظت نهایی ۳/۳ میلی‌مولار و آنزیم Taq DNA Polymerase به میزان ۰/۶ واحد (سیناکلون، ایران) آماده گردید و از آب مقطر دوبار تقطیر استریل جهت رسیدن به حجم نهایی موردنظر استفاده شد. واکنش PCR با استفاده از دستگاه ترمال سایکلر (Mastercycler ep gradient, 96 plus, Eppendorf, Germany)

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-05]
[DOI: 10.22034/jair.9.1.61]

و تحت شرایط زیر صورت پذیرفت: واسرشته‌سازی اولیه (Denaturation) در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۵ دقیقه، در ادامه ۳۰ چرخه ۳۰ ثانیه‌ای در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۶۰ ثانیه در دمای اتصال اختصاصی پرایمر (Annealing) مربوطه، ۶۰ ثانیه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد. به‌منظور بسط (Extension) و در پایان به‌مدت ۱۰ دقیقه در درجه حرارت ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌منظور بسط نهایی تیمارهای دمایی اعمال گردید (جدول ۱).

جدول ۱- جایگاه‌ها، توالی پرایمر، محدوده بازی، توالی تکرار شونده و دمای اتصال آغازگرهای ریزماهواره

جایگاه ژن/ کد دسترسی در بانک ژنی	توالی پرایمر (′۳-′۵)	محدوده اندازه (bp)	توالی تکراری	دمای اتصال (°C)
LS68/U72739	F-TATTGCATGGTGTAGCTAAAC R-TCCTCTTTGGCATTTGTTCC	۱۷۴-۱۴۰	(TTG_9)	۵۵
LS57/ AF276173	F-TTATATGGGTGGGGTGGATG R-TCCTCTTTGGCAATTTGTTCC	۲۹۰-۱۸۱	$(TCRT_{12})$	۵۷
LS19/U72730	F-ATCTTAGCCGTCTGTGGTAC R-CAGGTCCCTAATACAATGGC	۱۷۴-۱۴۰	(TTG_9)	۵۵
Ls39/U72734	F-TTCTGAAGTTCACACATTG R-ATGGAGCATTATTGGAAGG	۱۷۲-۱۱۹	(GTT_{10})	۵۵

به‌منظور انجام آشکارسازی محصولات PCR، الکتروفورز محصول PCR با استفاده از ژل پلی‌آکریل آمید ۶٪ انجام شد. بعد از اتمام الکتروفورز، فرآیند رنگ‌آمیزی ژل‌ها با استفاده از روش نیترات نقره صورت پذیرفت (Blum *et al.*, 1987). اندازه باندها و آلل‌ها با استفاده از نرم‌افزار BIO-GEN (Vilbert-Lumart, France) براساس دستورالعمل شرکت سازنده، تعیین شد. پروفایل ژنتیکی شامل لیست اندازه آلل‌ها در جایگاه‌های مورد مطالعه برای هر نمونه تهیه گردید. فراوانی آللی، هتروزیگوسیتی مشاهده شده (H_O)، هتروزیگوسیتی مورد انتظار (H_e)، تعادل هاردی-واینبرگ، تعداد آلل مؤثر (N_e)، تعداد آلل اختصاصی (N_{pa})، شاخص ثبات (fixatin index) (F)، ماتریکس فاصله (DA)، و آنالیز واریانس مولکولی (AMOVA) برای هر جمعیت با استفاده از نرم‌افزار GenAlex (V6.5) (Peakall and Smouse, 2012) محاسبه گردید.

۳ | نتایج

به‌منظور بررسی تنوع ژنتیکی گله مولدین فیل‌ماهی پرورشی از چهار جفت نشانگر ریزماهواره شامل LS68، LS57، LS19 و LS39 استفاده شد که همگی آن‌ها باندهای چندشکلی را تولید کردند. نشانگرهای مورد مطالعه همگی دو باندی (دیسومیک) و بین ۱ تا ۲ آلل در هر نمونه را تکثیر نمودند. جدول ۲ شامل اطلاعات در مورد تعداد آلل، تعداد آلل اختصاصی، تعداد آلل‌های مؤثر، هتروزیگوسیتی مورد انتظار و مشاهده شده، شاخص ثبات (Fixation Index) و تعداد آلل‌های اختصاصی می‌باشد. متوسط هتروزیگوسیتی مشاهده و مورد انتظار به‌ترتیب از ۰/۶۸۰ تا ۰/۸۸۸ (جمعیت مرکز شهیدبهشتی) و ۰/۴۴۱ تا ۰/۹۵۰ (جمعیت بانک ژن) بود. بالاترین متوسط تعداد الل (۳۰/۷۵) در جمعیت بانک ژن و کمترین تعداد متوسط الل (۱۸/۷۵) در جمعیت شهیدبهشتی مشاهده شد (جدول ۲). آلل‌های اختصاصی در همه جمعیت‌ها مشاهده شدند، به‌طوری‌که بیشترین تعداد آلل‌های اختصاصی (۲۴/۷۵) در جمعیت بانک ژن مشاهده شد (جدول ۲).

تعداد ۱۹۸ آلل در این دو جمعیت شناسایی شد (۷۵ آلل در جمعیت مولدین شهیدبهشتی و ۱۲۳ آلل در جمعیت مولدین بانک ژن) که تمامی آن‌ها به‌صورت دو باندی (دیسومیک) بودند. در جمعیت مولدین شهید بهشتی جایگاه LS19 با ۲۲ و در جمعیت مولدین بانک ژن جایگاه LS57 با ۴۱ آلل، بالاترین میزان چند ریختی را به‌خود اختصاص دادند (جدول ۳).

جدول۲ – اطلاعات ژنتیکی دو جمعیت فیل‌ماهی مطالعه شده براساس آنالیز DNA میکروستلایت. N_a: تعداد آلل‌های متفاوت، Ne: تعداد آلل‌های مؤثر، H_o: هتروزیگوسیتی مشاهده شده، H_e: هتروزیگوسیتی مورد انتظار، F: شاخص ثبات، Npa: تعداد آلل‌های خصوصی.

جمعیت	تعداد	N_a	N_e	H_o	H_e	F	N_{pa}
شهید بهشتی	۱۰۰	۱۸/۷۵	۹/۱۹	۰/۶۸	۰/۸۹	۰/۲۳	۱۲/۷۵
بانک ژن	۴۷	۳۰/۷۵	۲۰/۷۵	۰/۴۴	۰/۹۵	۰/۵۴	۲۴/۷۵

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-05]

[DOI: 10.22034/jair.9.1.61]

جدول۳-: تعداد آلل‌های ثبت شده در این بررسی به تفکیک جمعیت و میانگین آنها در سطح جمعیت

	N_a		N_e	
جایگاه آللی	شهید بهشتی	بانک ژن	شهید بهشتی	بانک ژن
LS68	۱۵	۳۲	۹/۲۴	۲۱/۱۳
LS57	۱۹	۴۱	۶/۸۷	۲۸/۱۴
LS19	۲۲	۲۵	۱۱/۴۸	۱۷/۹۶
LS39	۱۹	۲۵	۹/۱۸	۱۵/۷۸
میانگین	۲۴/۷۵		۱۴/۹۷	

میزان تنوع ژنتیکی برآورد شده در جمعیت مولدین پرورشی با استفاده از شاخص‌هایی از قبیل هتروزیگوسیتی مشاهده شده (H_o) و مورد انتظار (H_e) و همچنین بررسی تعادل هاردی–وایبنرگ با استفاده از آزمون X^2 در هر دو جمعیت در جدول ۴ ارائه شده است. همه جایگاه‌ها در دو جمعیت مورد مطالعه، عدم انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ را نشان دادند.

جدول۴-: تنوع ژنتیکی چهار جایگاه مورد بررسی در دو جمعیت مولدین پرورشی فیل‌ماهی

	شهید بهشتی	بانک ژن
	جایگاه آللی	**LS68**
H_o	۰/۵۳۰	۰/۲۹۸
H_e	۰/۸۹۲	۰/۹۵۳
H-W	***	***
	LS57	
H_o	۰/۷۷	۰/۶۴
H_e	۰/۸۵	۰/۹۶
H-W	***	***
	LS19	
H_o	۰/۹۵	۰/۶۶
H_e	۰/۹۱	۰/۹۴
H-W	***	***
	LS39	
H_o	۰/۴۷	۰/۱۷
H_E	۰/۸۹	۰/۹۴
H-W	***	***

H_o هتروزیگوسیتی مشاهده شده، H_e هتروزیگوسیتی مورد انتظار، H-W احتمال در تعادل هاردی - واینبرگ (ns عدم معنی داری، **۰/۰۱>p، ***۰/۰۰۱>p).

ساختار ژنتیک جمعیت برای هر کدام از جایگاه‌های ژنی در این دو جمعیت از طریق مؤلفه F_{st} (شاخص ثبات کل جمعیتی) مورد بررسی قرار گرفت (Weir and Cockerham., 1984). میانگین این شاخص F_{st} در جایگاه‌های LS68، LS57، LS19، LS39 به‌ترتیب ۰/۰۳۶، ۰/۰۴۲، ۰/۰۲۸، ۰/۰۳۰ و میانگین ۰/۰۳۴ به ثبت رسید. براساس نتایج به‌دست آمده از آنالیز GenAlex، فاصله و شباهت ژنتیکی Nei بر اساس ماتریکس جمعیت به‌ترتیب، ۱/۴۹۱ و ۰/۲۲۵ بود. در بررسی صورت پذیرفته با آنالیز واریانس مولکولی (AMOVA) در سطح ۹۹ درصد مشخص شد که تنوع ژنتیکی میان دو جمیعت ۹۲٪ ، درحالی‌که در داخل جمعیت‌ها ۸٪ بود.

۴ | بحث و نتیجه‌گیری

فعالیت‌های آبزی‌پروری ممکن است تنوع ژنتیکی موجود در ذخایر پرورشی را از طریق لقاح خویشاوندی و یا تکثیر تعدادی معدودی از مولدین کاهش دهد (Norris *et al.*, 1999). بنابراین شناسایی ژنتیکی ذخایر و یا جمعیت‌های ماهیان نه تنها برای حفاظت جمعیت‌های طبیعی، بلکه برای تکثیر ذخایر گونه‌های ارزشمند در شرایط آبزی‌پروری مهم می‌باشد (Fopp-Bayat and Ciereszko, 2012; Kaczmarczyk and Fopp-Bayat, 2013). آنالیز مولکولی ارائه شده در این پژوهش اولین مطالعه جهت مقایسه تنوع ژنتیکی (براساس آنالیز DNA میکروستلایت) دو جمعیت از مولدین پرورشی فیل‌ماهی در دو مرکز بازسازی ذخایر و بانک ژن در کشور می‌باشد. در این مطالعه، متوسط تعداد آلل (۳۰/۷۵ – ۱۸/۷۵)، هتروزیگوسیتی مشاهده شده (۰/۶۸- ۰/۴۴) و هتروزیگوسیتی قابل انتظار (۰/۹۵–۰/۸۹) در جمعیت‌های مطالعه شده فیل‌ماهی می‌باشد که با گزارش‌های ارائه شده در جمعیت‌های دیگر تاس‌ماهیان قابل مقایسه بود (Pekarik *et al.*, 2019; Ivanova *et al.*, 2017; Fopp-Bayat *et al.*, 2015; Fopp-bayat and Furgata-Selezniow, 2010). به‌عنوان مثال، در مطالعه انجام شده توسط خوش‌خلق و همکاران (Khoshkholgh *et al.*, 2013) با استفاده از نشانگر ریزماهواره روی جمعیت‌های طبیعی

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-05]
[DOI: 10.22034/jair.9.1.61]

تاس‌ماهیان حوضه جنوبی دریای‌خزر، میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده از مقادیر هتروزیگوسیتی مورد انتظار پایین‌تر بود که این امر نشان‌دهنده کاهش تنوع ژنتیکی و وجود احتمالی درون آمیزی در افراد جمعیت ماهیان وحشی بود. همچنین براساس نتایج مطالعه ددو و همکاران (Dudu *et al.*, 2014) پایین‌تر بودن میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده نسبت به هتروزیگوسیتی قابل انتظار در جمعیت مولدین وحشی فیل ماهی (*Huso huso*) در رودخانه دانوب، در نتیجه کاهش جمعیت مولدین و افزایش درون آمیزی بیان گردید.

در مطالعه حاضر میانگین تعداد آلل و هتروزیگوسیتی مشاهده شده در جمعیت مولدین مجتمع شهید بهشتی به ترتیب (۱۸/۷۵ و ۰/۶۸) و در جمعیت مولدین بانک ژن این مقادیر به ترتیب (۳۰/۷۵ و ۰/۴۴) بود که در مقایسه با مقادیر گزارش شده برای ماهیان رودکوچ (تعداد آلل ۱۰/۸ و هتروزیگوسیتی مشاهده شده ۰/۶۸) (Dewoody and Avise, 2000) می‌توان نتیجه گرفت؛ مولدین پرورشی جمعیت مرکز شهید بهشتی از غنای آللی و تنوع ژنتیکی مناسبی برخوردار بودند اما جمعیت مولدین پرورشی فیل ماهی بانک ژن، دارای غنای آللی در حد مطلوب، ولی شاخص هتروزیگوسیتی کاهش یافته بودند. همچنین تعداد آلل خصوصی در جمعیت مولدین فیل ماهی پرورشی بانک ژن بیشتر بود که نشان دهنده خصوصیات ویژه آنها می‌باشد. بنابراین، پایش مدام ژنتیکی جمعیت‌های مطالعه شده بر اساس شاخص‌های گزارش شده در این مطالعه در آینده توصیه می‌گردد. مطالعه حاضر نشان داد که تنوع ژنتیکی در جمعیت بانک ژن بالا نیست. بنابراین، ادامه مطالعات ژنتیکی و دستیابی به اطلاعات بیشتر در رابطه با شرایط ژنتیکی جمعیت‌های مطالعه شده و طراحی یک نقشه مناسب و همچنین راهبرد حفاظت ذخایر فیل ماهیان به منظور اهداف آبزی پروری و استفاده از آنها در بازسازی ذخایر بسیار مهم می‌باشد.

از ضریب تمایز F_{ST} به‌عنوان یکی از شاخص‌های مهم جهت تفکیک بین جمعیت‌ها استفاده می‌شود (Ballox and Moulin, 2002). میزان F_{ST} در دو جمعیت مطالعه شده برابر با ۰/۳۴ ثبت شد که نشان‌دهنده تمایز ژنتیکی پایین بین این دو جمعیت بود (Wright, 1978). پایین بودن فاصله ژنتیکی نشان دهنده جزئی بودن جریان ژنی در بین دو جمعیت مورد مطالعه می‌باشد. چون هر دو جمعیت مورد مطالعه در این تحقیق از حوضه جنوبی دریای‌خزر منشاء گرفته بودند، بنابراین وجود مقادیر جزئی جریان ژنی امکان‌پذیر است. مقادیر مشابه F_{ST} در جمعیت‌های مطالعه شده تاس‌ماهی دریاچه‌ای (*A. fulvescens*) در رودخانه اتاوا (Wozney *et al.*, 2011) و همچنین در تاس‌ماهی نر آتلانتیک نژادهای بهاره و پاییزه در روخانه جیمز ایالت ویرجینیا به مقدار ۰/۴۸ مشاهده شد که نشان‌دهنده افتراق ژنتیکی نرهای پاییزه و بهاره بود (Balazik *et al.*, 2017).

باتوجه به نتایج به‌دست آمده در این پژوهش، به‌نظر می‌رسد که نیاز به بهبود خزانه ژنتیکی مولدین موجود در مرکز بانک ژن می‌باشد که این امر با استفاده از مولدین فیل ماهی در مرکز شهیدبهشتی امکان‌پذیر می‌باشد. باتوجه به همجواری این دو مرکز، استفاده از مولدین فیل‌ماهیان پرورشی موجود در مرکز شهیدبهشتی می‌تواند گزینه مناسبی جهت حفظ تنوع ژنتیکی جمعیت بانک ژن باشد. در مولدین فیل‌ماهی پرورشی، حفظ تنوع ژنتیکی این ماهیان با پایش منظم تنوع ژنتیکی در مولدین و نتاج حاصل، اهمیت زیادی دارد و این امر با نشان گذاری همه مولدین و بررسی ژنتیکی میسر می‌گردد. آگاهی از ژنوتیپ مولدین نشان‌گذاری شده، کنترل تولیدمثل براساس پروفایل‌های مولدین، حفظ تنوع ژنتیکی در سطح مطلوب و در نتیجه اجتناب از لقاح خویشاوندی در گله امکان‌پذیر می‌شود (Kaczmarczyk and Fopp- Bayat, 2013). مولدین پرورشی گاهی اوقات به‌دلیل مدیریت ضعیف تکثیر، به‌عنوان مثال استفاده از تعداد افراد کم جهت تولیدمثل، دچار کاهش تنوع ژنتیکی می‌شوند (Wedekind, 2002).

باتوجه به نتایج پژوهش حاضر به‌نظر می‌رسد که مولدین پرورشی فیل‌ماهی در بانک ژن، حاصل از تعداد محدودی مولد صید شده از دریا باشند. درصورت رهاسازی ماهیان دارای تنوع ژنتیکی کم حاصل از فعالیت مراکز تکثیر به محیط‌های طبیعی به‌منظور بازسازی ذخایر، ممکن است که به‌دلایل از بین رفتن تنوع ژنتیکی، افزایش رقابت و آلودگی با عوامل بیماری‌زا و انگل‌ها، سبب آسیب به جمعیت‌های وحشی شوند (Aho, 2006). همچنین در صورت استفاده از گله مولدین با تنوع ژنتیکی کم جهت اهداف آبزی‌پروری تاس‌ماهیان در درازمدت شاهد افزایش هم‌خونی و تبعات ناشی از آن و در نتیجه کاهش تولید خواهیم بود. چنین مطالعاتی براساس آنالیزهای ژنتیکی این امکان را برای محققین فراهم می‌سازد که مناسب‌ترین مولد را برای تشکیل گله مولدین انتخاب نمایند.

اطلاع از تنوع ژنتیکی گله مولدین تازه تشکیل شده، پایش ژنتیکی و پیگیری تغییرات ژنتیکی در جمعیت‌های طبیعی و آبزی‌پروری را امکان‌پذیر می‌سازد. کمبود اطلاعات در مورد ساختار ژنتیکی مولدین پرورشی فیل‌ماهی در ایران، اهداف درنظر گرفته شده برای توسعه پایدار آبزی‌پروری و بازسازی ذخایر طبیعی دریای‌خزر را به‌طور اساسی محدود می‌سازد. بنابراین، وجود اطلاعات ژنتیکی پایه جهت هدایت برنامه‌های آینده بازسازی ذخایر و توسعه پایدار آبزی‌پروری، ضروری به‌نظر می‌رسد.

بر پایه نتایج این پژوهش، خصوصیات ژنتیکی دو جمعیت فیل‌ماهیان پرورشی مورد مطالعه، اطلاعات مهمی را در ارتباط با تنوع ژنتیکی موجود در هر یک از جمعیت‌ها و پتانسیل‌های حفظ و افزایش تنوع ژنتیکی در ذخایر پرورشی این گونه، فراهم آورده است. تنوع ژنتیکی جمعیت‌های مورد مطالعه در این تحقیق، می‌تواند به‌عنوان شاخص خزانه ژنتیکی در جمعیت‌های مولدین فیل‌ماهی پرورشی تشکیل شده در این دو مرکز باشد.

۵ | تشکر و قدردانی

این پژوهش با حمایت مالی مؤسسه تحقیقات بین‌المللی تاس‌ماهیان دریای‌خزر انجام گرفت. از کلیه افرادی که در اجرا و تکمیل این پژوهش ما را یاری نمودند تشکر و قدردانی می‌نماییم.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-05]

[DOI: 10.22034/jair.9.1.61]

interbreeding between hatchery and wild brown trout (*Salmo trutta* L.). Molecular Ecology, 9: 583-594.
IUCN. 2017. Red List of Threatened Species. Available: https://www.iucnredlist.org/ Updated on 2021.
Ivanova P.P., Kardjeva V., Raykov S.V., Dzhembekova N.S. 2017. Microsatellite and Allozyme variations in starlet sturgeon wild broodstock and hatchery-produced offspring, used for restocking of lower Danube River. Aquaculture Engineering and Fisheries Research, .3(4):199-206.
Kaczmarczyk D., Fopp Bayat D. 2013. Assemblage of spawning pairs based on their individual genetic profiles–as tool for maintaining genetic variation within sturgeon populations. Aquaculture Research, 44(4):677-682.
Kalbassi M.R., Abdollahzadeh E.A., Salari-Joo H. 2013. A review on aquaculture development in Iran. Journal of Ecopersia, 1: 159-179.
Khoshkholgh M.R., Nazari S., Pourkazemi M. 2013. Population Structure of Persian Sturgeon (*Acipenser persicus* Borodin, 1897) in the southern part of Caspian Sea. Iranian Journal of Animal Biosystematics, 9(1): 29-39.
Khoshkholqh M.R., Pourkazemi M., Kamali A., Rezvani S. 2007. Investigation of the genetic structure of the Russian sturgeon population (*Acipenser gueldenstaedtii*) in the North Caspian (Volga River) and South Caspian (Iranian and Turkmen waters) Using the microsatellite method, Iranian Journal of Fisheries, 16: 69-80.
Liu Z., Cordes J.F. 2004. DNA marker technologies and their applications in aquaculture genetics. Aquaculture, 238:1-37.
May B., Chales C., Krueger C., Kincaid L. 1997. Genetic variation at Microsatellite loci in sturgeon primer sequences homology in Acipenser and Scaphyrhinchus. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 54: 1542-1547.
McQuown E.C., Sloos B.L., Sheehen R.J., May B. 2000. Microsatellite analysis of genetic variation in sturgeon: New primer sequences for *Scaphyrhinchus* and *Acipenser*. American Fisheries Society, 129:1380-1388.
Mugue N., Barmintseva A. 2018. Genetic Variability in Wild Populations and Farmed Broodstocks of the Siberian Sturgeon in Russia. In The Siberian Sturgeon (*Acipenser baerii*, Brandt, 1869), Farming, Springer, Cham, 2: 347-369.
Norouzi M., Pourkazemi M. 2016. Microsatellite DNA markers for analysis of genetic population structure of stellate sturgeon (*Acipenser stellatus* Pallas, 1771) in the North (Volga and Ural Rivers) and South Caspian Sea (Sefidrud and Gorganrud Rivers). Iranian Journal of Fisheries Sciences, 15(2): 687-700.
Norris A.T., Bradley D.G., Cunningham E.P. 1999. Microsatellite genetic variation between and within farmed and wild Atlantic salmon (*Salmo salar*) populations. Aquaculture, 180(3-4):247-264.
Peakall R., Smouse P.E. 2012. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. Bioinformatics, 28: 2537- 2539.

پست الکترونیک نویسندگان

مهتاب یارمحمدی: mahtabyarmohammadi@gmail.com
رضوان‌اله کاظمی: Rezkazemi2000@yahoo.com
ایوب یوسفی‌جوردهی: ayoub2222002@yahoo.com
محمد حسن‌زاده صابر: saber.merag@gmail.com

REFERENCES

Aho T., Rönn J., Piironen J., Björklund M. 2006. Impacts of effective population size on genetic diversity in hatchery reared Brown trout (*Salmo trutta* L.) populations. Aquaculture, 253(1-4):244-248.
Balazik M.T., Farrae D.J., Darden T.L., Garman, G.C. 2017. Genetic differentiation of spring-spawning and fall-spawning male Atlantic sturgeon in the James River, Virginia. PloS one, 12(7):1-8.
Balloux F., Lugon-Moulin N. 2002. The estimate of population differentiation with microsatellite markers. Molecular Ecology, 11: 155-165.
Billard R., Lecointre G. 2000. Biology and conservation of sturgeon and paddlefish. Reviews in Fish Biology and Fisheries, 10(4): 355-392.
Blum H., Beier H., Gross H.J. 1987. Improved silver staining of plant proteins, RNA and DNA in polyacrylamide gels. Electrophoresis, 8(2):93-99.
Chakmehdouz Ghasemi F. 2005. Comparison of DNA extraction methods in aquatic animals and its practical instructions. B.Sc. Thesis, Mirza Kuchak Khan Center for Higher Education, Science and Technology of Fisheries, Comprehensive University of Applied Sciences. Guilan. 53p. (In Persian).
Dewoody J.A., Avise J.C. 2000. Microsatellite variation in marine, freshwater and anadromous fishes compared with other animals. Fish biology, 56:461-473.
Dudu A., Burcea A., Costache M., Florescu I., Georgescu S.E. 2014. Analysis of Genetic Diversity in Beluga Sturgeon, *Huso huso* from the Lower Danube River using DNA Markers. Animal Science and Biotechnologies, 47 (1):64-68.
Farasati S., Khoshkholgh M.R., Yarmohammadi M. 2020. Genetic diversity of cultured beluga sturgeon (*Huso huso*) brood stocks by using Microsatellite method. Journal of Aquatic Physiology and Biotechnology, 8(8):55-72.
Fopp-Bayat D., Ciereszko A. 2012. Microsatellite genotyping of cryopreserved spermatozoa for the improvement of whitefish semen cryobanking. Cryobiology, 65(3):196-201.
Fopp-Bayat D., Furgała-Selezniow G. 2010. Application of microsatellite DNA variation in Russian sturgeon (*Acipenser gueldenstaedti*) and sterlet (*Acipenser ruthenus*) cultured in a Polish fish farm. Polish Journal of Natural Sciences, 25(2):173-181.
Fopp-Bayat D., Kuzniar P., Kolman R., Liszewski T., Kucinski M. 2015. Genetic analysis of six sterlet (*Acipenser ruthenus*) populations-recommendations for the plan of restitution in the Dniester River. Iranian Journal of Fisheries Sciences, 14(3): 634-645.
Hansen M.M., Ruzzante D.E., Nielsen E.E., Mensberg K.D. 2000. Microsatellite and mitochondrial DNA polymorphism reveals life history dependent

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-05]
[DOI: 10.22034/jair.9.1.61]

Pekárik L., Čiamporová-Zaťovičová Z., Arendt D., Čiampor F. 2019. Current stocking program of the sterlet (*Acipenser ruthenus*, L.) can negatively shape its genetic variability in the Middle Danube. Knowledge & Management of Aquatic Ecosystems, 19(420): 1-8.

Pourali Fashtami H., Mohseni M., Alizadeh M. 2006. A comparative study of the growth of *Huso huso* in two breeding environments of brackish water and fresh water. Iranian Journal of Fisheries, 15(1): 43-50.

Pourkazemi M. 2006. Caspian Sea sturgeon conservation and fisheries: past present and future. Journal of Applied Ichthyology, 22: 12-16.

Statistical Yearbook of Iran Fisheries Organization 1397-1392. 2019. Iran Fisheries Organization, 64p.

Wedekind C. 2002. Sexual selection and life-history decisions: implications for supportive breeding and the management of captive populations. Conservation Biology, 16(5): 1204-1211.

Weir B.S., Cockerham C.C. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure, Evolution, 38: 1358-1370.

Welsh A.B., Blumberg M., May B. 2003. Identification of microsatellite loci in lake sturgeon, *Acipenser fulvescens*, and their variability in green sturgeon, A. medirostris. Molecular Ecology Notes, 3(1):47-55.

Wozney K.M., Haxton T.J., Kjartanson S., Wilson C.C. 2011. Genetic assessment of lake sturgeon (*Acipenser fulvescens*) population structure in the Ottawa River. Environmental Biology of Fishes, 90(2):183-195.

Yarmohammadi M., Kazemi R., Hallajian A., Yousefi Jordehi A., Yazdani Sadati M.A., Hassanzadeh Saber M., Hosseinpour A. 2019. Selection of appropriate sturgeon breeders based on genetic identity. Scientific - Extension Journal of Sturgeon, 2:35-25.

Zane L., Bargelloni L., Patarnello T. 2002. Strategies for microsatellite isolation: a review. Molecular ecology, 11(1): 1-16.

Zhu B., Zhou F., Cao H., Shao Z., Zhao N., May B., Chang J. 2002. Analysis of genetic variation in the Chinese sturgeon, *Acipenser sinensis*: estimating the contribution of artificially produced larvae in a wild population. Journal of Applied Ichthyology, 18(4-6): 301-306.

نحوه استناد به این مقاله:

کاظمی ر.، یارمحمدی م.، یوسفی جوردهی ا.، حسن‌زاده صابر م. بررسی ژنتیکی مولدین فیل‌ماهی (*Huso huso*)، توصیه‌هایی برای مدیریت ذخایر و آبزی‌پروری. نشریه پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی دانشگاه گنبدکاووس. ۱۴۰۰، ۶۴-۵۷ :(۱)۹ .

Kazemi R.A., Yarmohammadi M., Yousefi Jordehi A., Hassanzadeh Saber M. Genetic characterization of great sturgeon (*Huso huso*) brood stocks, recommendations for the conservation management and aquaculture. Journal of Applied Ichthyological Research, University of Gonbad Kavous. 2021, 9(1): 57-64.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-05]

[DOI: 10.22034/jair.9.1.61]

Genetic characterization of great sturgeon (*Huso huso*) brood stocks, recommendations for the conservation management and aquaculture

Yarmohammadi M[*1]., Kazemi R.A[1]., Yousefi Jordehi A[1]., Hassanzadeh Saber M[1].
[1] International Sturgeon Research Institute, Agricultural Research, Extension and Education Organization (AREEO), Rasht, Iran

Type:
Original Research Paper

Paper History:

Received: 27-10-2020
Accepted: 20-12- 2020

Corresponding author:

Yarmohammadi M. International Sturgeon Research Institute, Agricultural Research, Extension and Education Organization (AREEO), Rasht, Iran.

Email: mahtabyarmohammadi@gmail.com

Abstract

The great sturgeon, *Huso huso*, is one of the most important cultured sturgeon species in Iran, which effective management of aquaculture production of this species requires knowledge of broodstock structure, mating patterns, and genetic diversity of broodstock. The aim of the present study was the application of microsatellite DNA analysis for genetic diversity assessment in the first generation of cultured great sturgeon farmed at two centers of the live gene bank at the International Sturgeon Research Institute and Shahid Dr. Beheshti center for restoration and conservation of genetic stocks of sturgeon in Guilan province. Fin clips were sampled from 147 spawners and pre-spawners of great sturgeon at the two centers (47 samples from gene bank and 100 samples from Shahid Beheshti) in 1397-1399. Genomic DNA for amplification of microsatellite loci was extracted using ammonium acetate. Four microsatellite loci (LS68, LS57, LS19, and LS39) were amplified for examination of the genetic diversity of the two group studied sturgeons. Within 147 individuals of the great sturgeon, 198 alleles were detected (123 alleles in genebank and 75 alleles in Shahid Beheshti stocks) and all loci were disomic. The genetic diversity in gene bank and Shahid Beheshti populations were 0.44 and 0.68, respectively. Results showed that the Shahid Beheshti Center broodstocks had good allelic richness and genetic diversity and the gene bank broodstocks had good allelic richness but with reduced heterozygosity index. The genetic differentiation index (F_{ST}) between the two populations was 0.34, which indicated a low genetic differentiation between the two populations. Also, the genetic distance and similarity of Nei based on the population matrix were 1.491 and 0.225, respectively, while based on Analysis of Molecular Variance (AMOVA) genetic diversity between the two populations of great sturgeon was 92% and within the population was 8%. Genetic study of fish populations in two important fisheries centers of the country was able to provide basic information on the genetic conditions of the stocks of these valuable fish from the point of view of conservation of stocks as well as commercial aquaculture management programs.

Keywords: great sturgeon, *Huso huso*, microsatellites, genetic diversity, conservation

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-05]

[DOI: 10.22034/jair.9.1.61]