نشریه پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی

Journal homepage: http://jair.gonbad.ac.ir

وزارت علوم، تحقیقات و فناوری
دانشگاه گنبد کاووس

مقایسه تنوع ژنتیکی بچه‌ماهیان کُلمه *Rutilus caspicus* (Yakovlev, 1870) حاصل از تکثیر مولدین وحشی، پرورشی و ترکیبی (پرورشی×وحشی) با استفاده از نشانگر ریزماهواره

احمدرضاجبله*[1]، رسول قربانی[2]، حامد پاک‌نژاد[3]، غلامعلی بندانی[4]، سعید شربتی[5]

[1] دانش‌آموخته کارشناسی ارشد تولید و بهره‌برداری، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

[2] دانشیار، گروه تولید و بهره‌برداری، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

[3] دانشیار، گروه تکثیروپرورش، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

[4] مربی، موسسه تحقیقات شیلات آب‌های داخلی، گرگان، ایران

[5] مربی، گروه تولید و بهره‌برداری، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

نوع مقاله:
پژوهشی اصیل

تاریخچه مقاله:

دریافت: ۹۵/۰۲/۱۰
پذیرش: ۹۵/۰۶/۰۹

نویسنده مسئول مکاتبه:
احمدرضا جبله، دانش‌آموخته کارشناسی ارشد تولید و بهره‌برداری، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
ایمیل: J.ahmadreza89@yahoo.com

چکیده

هدف از تحقیق حاضر بررسی تنوع ژنتیکی بچه‌ماهیان کلمه (*R. caspicus*) حاصل از زاده‌های مولدین وحشی، پرورشی و ترکیبی با استفاده از ۵ نشانگر ریزماهواره (Rru4،Lid1،CypG27،CA7،CA1) بود. در مجموع ۹۰ عدد بچه‌ماهی (۳۰ نمونه از هر جمعیت) صید و جهت بررسی‌های ژنتیکی در الکل اتیلیک ۹۶٪ به‌منظور استخراج DNA نگهداری شد. متوسط تعداد آلل در سه جمعیت وحشی، پرورشی و ترکیبی به‌ترتیب ۱۰/۴، ۱۰/۴ و ۹ بود. در مجموع، تعداد ۲۹ آلل در هر سه جمعیت مشاهده گردید. تعداد آلل مؤثر از زاده‌های وحشی، پرورشی و ترکیبی به‌ترتیب ۶/۷۸، ۷/۵۸ و ۶/۸۰ آلل در سه جمعیت بود. فراوانی آلل در میان جمعیت‌های وحشی، پرورشی و ترکیبی به‌ترتیب ۷، ۸ و ۸ بود. همه کاهش فراوانی آلل در ماهی وحشی به‌خاطر هم‌خوانی و رانش ژنتیکی بود. میانگین ارزش هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Ho) در زاده‌های جمعیت وحشی، پرورشی و ترکیبی به‌ترتیب ۰/۸۵، ۰/۷۷ و ۰/۸۵ بود. همچنین هتروزیگوسیتی مؤثر (He) در جمعیت وحشی، پرورشی و ترکیبی به‌ترتیب ۰/۸۲۸، ۰/۸۵۹ و ۰/۸۴۹ بود. حدوداً همه جایگاه‌ها انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ را نشان دادند. فاصله ژنتیکی در میان جمعیت زاده‌های وحشی، پرورشی و ترکیبی به‌ترتیب ۰/۴۵۹، ۰/۲۹۸ و ۰/۶۸۴ به‌دست آمد. نتایج حاصل از تجزیه واریانس مولکولی نشان داد که تنوع درون افراد ۹۰٪ بود، درحالی که این تنوع در میان آن‌ها تنها ۳٪ بود. مقدار متوسط ضریب تمایز Fst (۰/۰۳۲) نشان داد که تمایز ژنتیکی کم بین سه جمعیت می‌تواند توسط تعداد آلل کم در سطح جمعیت توضیح داده شود. علاوه براین، مهاجرت طبیعی (Nm) بین دو ایستگاه ۷/۳۹۴ به‌دست آمد. تجزیه و تحلیل خوشه UPGMA براساس فاصله ژنتیکی نشان داد که جمعیت پرورشی و ترکیبی در یک شاخه جداگانه از شاخه جمعیت وحشی قرار دارند.

واژه‌های کلیدی:
***R. caspicus*، تنوع ژنتیکی، نشانگر ریزماهواره**

۱ | مقدمه

یکی از اساسی‌ترین شاخص‌های لازم برای حفظ و بقای یک گونه جهت سازگاری با محیط‌هایی که تحت تأثیر فشارهای زیست‌محیطی مختلف قرار دارند تنوع و ساختار ژنتیکی جمعیت‌ها است، زیرا تصور براین است که تنوع ژنتیکی بالا باعث بهبود توانایی افراد و افزایش شانس بقای افراد جمعیت‌ها می‌شود (Zhang *et al.*, 2009). ماهی‌ها متنوع‌ترین و پرتعدادترین گروه مهره‌داران را تشکیل می‌دهند که در بیشتر آب‌های جهان گسترده شده و این پراکنش بالا به‌واسطه تنوع شگفت‌آور آن‌ها از نظر سازگاری‌های ریخت‌شناسی، فیزیولوژیک و رفتاری می‌باشد (Sattari, 2002). باتوجه به اینکه آبزی‌پروری در جهان دارای فعالیت‌های متنوعی است و راه حفاظت از این تنوع، فهم اصولی است که می‌تواند بر توسعه آتی آن مؤثر باشد، تنوع ژنتیکی، اهمیتی حیاتی برای مدیریت و حفاظت از منابع دریایی دارد و به‌عنوان اولین پیش‌نیاز

© ۱۳۹۹ | دانشگاه گنبدکاووس

برای حفظ سازگاری جمعیت‌ها در شرایط محیطی درحال تغییر قلمداد می‌گردد (Diz and Persa, 2009). آگاهی از میزان ذخایر توارثی و تنوع ژنتیکی در بین افراد یک گونه، از اهداف ارزشمند مدیریت ذخایر و اصلاح نژاد است؛ به‌طوری‌که مطالعه ژنتیک جمعیت یا اکولوژی مولکولی ماهیان باارزش اقتصادی، برای حفاظت از جمعیت آن ها و حفظ صید پایدار بسیار ضروری است (Wang *et al.*, 2007). در این میان ماهی کلمه خزری (*Rutilus rutilus caspicus*) از ماهیان استخوانی متعلق به خانواده کپورماهیان (Cyprinidae) یکی از گونه-های ارزشمند و بومی دریای خزر می‌باشد که اخیرا به دلایلی چون تخریب رودخانه‌ها، ایجاد سد بر مسیر مهاجرت، آلودگی‌ها و تخریب مناطق تخم‌ریزی طبیعی این ماهیان و در نهایت جلوگیری از تجدید حیات آن‌ها (تکثیر طبیعی)، مهاجرت و تولید مثل این ماهیان کاهش یافته و به دنبال این عوامل، صید قاچاق و خارج از حد مجاز، میزان ذخایر آن‌ها را به شدت کاهش داده است (Kiabi *et al.*, 1999). در جمعیت‌های ماهیان می‌توان با مطالعه فراوانی آللی به وضعیت جمعیت ماهیان پی‌برد. کاهش تعداد آلل‌های مشاهده شده در سطح جمعیت می‌تواند بیانگر کاهش تنوع ژنتیکی باشد (Lind *et al.*, 2009). از طرفی هتروزیگوسیتی به‌عنوان معیاری از سنجش تنوع ژنتیکی جمعیت‌ها، مورد توجه اکولوژیست‌ها و آبزی‌پروران است (Xu *et al.*, 2001). اولین مرحله مهم تدوین استراتژی مدیریت ذخایر آبزیان در منابع آبی، مشخص‌شدن ساختار ژنتیکی جمعیت‌های درحال بهره-برداری است.

به‌طورکلی اطلاع از تنوع ژنتیکی آبزیان در راستای حفظ ذخایر آن‌ها سودمند است (Wang *et al.*, 2007). تنوع ژنتیکی از تفاوت در توالی نوکلئوتیدهای DNA در میان افراد حاصل می‌شود (Utter, 1991). در همین راستا از تکنیک‌های متعددی جهت ارزیابی تنوع ژنتیکی بهره گرفته می‌شود. عمده مطالعات در گذشته بر پایه نشانگرهای پروتئینی بوده ولیکن این نشانگرها فراوانی بالایی نداشته و تا حدود زیادی تابع شرایط محیط بودند لذا در ادامه از نشانگرهای ژنتیکی بر پایه DNA استفاده شد. از نشانگرهای مورد استفاده می-توان به ریزماهواره اشاره نمود. ریزماهواره‌ها به‌علت بالا بودن تعداد آلل‌هایشان، در بین تمام نشانگرها، بالاترین میزان هتروزیگوسیتی را نشان می‌دهند (Liu, 2007). این چندشکلی بسیار بالا نشان می‌دهد که نشانگرهای ریزماهواره می‌تواند برای آنالیز ژنتیک جمعیت و تعیین نژادها بسیار مفید باشد (Dunham, 2004). در پژوهش‌های متعددی که در زمینه بررسی تنوع ژنتیکی در آبزیان با استفاده از نشانگرهای ریز ماهواره صورت گرفته است که می‌توان به تحقیق کشیری (Kashiri, 2009) که به‌منظور بررسی تنوع ژنتیکی ماهی کلمه خزر (*Rutilus rutilus caspius*) گرگانرود، قره‌سو، تالاب گمیشان، خلیج گرگان و تالاب انزلی از ۱۰ لکوس میکروستلایت استفاده نمود اشاره کرد؛ همچنین کیوان‌شکوه و همکاران در سال (Keyvanshokooh *et al.*, 2007) به‌منظور بررسی دقیق‌تر تمایز ژنتیکی جمعیت‌های ماهی کلمه در ایران از ۶ لکوس ریزماهواره‌ای استفاده نمودند. قاسمی و همکاران (Ghasemi *et al.*, 2007) نیز با استفاده از ریزماهواره‌ها تنوع ژنتیکی ماهی سیم دریای خزر را مورد بررسی قرار دادند.

باتوجه به اهمیت بالای ماهی کلمه در بحث بازسازی ذخایر و همچنین، جایگاه مهم آن در زنجیره غذایی ماهیان خاویاری به‌عنوان غذای مناسب برای فیل‌ماهی (*Huso hoso*)، در این تحقیق سعی شد با به‌کارگیری ۵ جایگاه ژنی ریزماهواره به بررسی هرچه بهتر ساختار ژنتیکی بچه‌ماهیان کُلمه (*R. caspicus*) پرورشی، وحشی و ترکیبی حاصل از مولدین پس از نسل اول در استخرهای خاکی مرکز تکثیر و پرورش ماهیان استخوانی، سیجوال استان گلستان صورت گیرد.

۲ | مواد و روش‌ها

در بهار سال ۱۳۹۴ طی دوره پرورش بچه‌ماهیان کلمه تا مرحله رهاسازی به دریا (مرحله انگشت‌قد)، در مجموع ۹۰ نمونه از بچه‌ماهیان کلمه (پرورشی ۳۰ نمونه، وحشی ۳۰ نمونه و ترکیبی ۳۰ نمونه) از استخرهای خاکی کارگاه تکثیر و پرورش ماهیان استخوانی سیجوال صید شد. جهت بررسی‌های ژنتیکی نمونه‌ها پس از صید به آزمایشگاه ژنتیک گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان منتقل و به‌طور کامل تا زمان استخراج DNA در الکل اتیلیک ۹۶٪ نگهداری شد.

تمامی مراحل استخراج DNA براساس دستورالعمل شرکت سازنده صورت گرفت بدین صورت که به میزان مورد نیاز طی این روش بافت نمونه‌ها (بچه‌ماهیان) را به‌خوبی با کمک ازت مایع و روش دستی پودر کرده و در ادامه میزان ۲۰۰ میکرولیتر از بافر لیزینگ (هضم‌کننده) به هر نمونه اضافه شد سپس در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد جهت هضم کامل نمونه‌ها نگهداری شد. سپس در ادامه نمونه‌ها با دور ۹۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شدند و فاز رویی را به ویال جدید اضافه نموده و در نهایت به ویال فیلتردار منتقل گردید. در انتها با استفاده از محلول شستشو چند بار فیلترها را با کمک سانتریفیوژ شسته سپس با استفاده از بافر حل‌کننده DNA به ویال منتقل گردید. DNA استخراج شده پس از ارزیابی از لحاظ کمی و کیفی در فریزر ۲۰- نگهداری شدند.

در این مطالعه به‌منظور بررسی تنوع ژنتیکی بچه‌ماهیان کلمه *Rutilus rutilus caspicus* از پنج جایگاه ریزماهواره Lid1،CypG27،CA7،CA1 و Rru4 که دارای تعداد فراوانی آللی بالا و دامنه وزنی مناسبی و همچنین حالت پلی‌مورفیسم از خود نشان داده بودند، (Bang *et al.*, 2009) انتخاب گردید (جدول ۱). واکنش زنجیره پلی‌مراز (PCR) با کمک دستگاه ترموسایکلر مدل (BIO-RAD) شرکت (MJ Mini Thermal Cycler) ساخت آمریکا (USA) با استفاده از میکروتیوب‌های مخصوص PCR به حجم ۲۵ میکرولیتر که شامل ۱۵ نانوگرم DNA استخراجی، ۰/۵ میکرولیتر از پرایمر مستقیم (Forward) و ۰/۵ میکرولیتر از پرایمر معکوس (Reverse)، ۴۰۰ میکرولیتر از نوکلئوتیدها، یک واحد بین‌المللی تگ DNA پلی-مراز (Fermentas, Thermo fisher, Lithuania)، بافر PCR X۱۰، ۱/۵ میلی‌مولار کلریدمنیزیم و اضافه‌کردن آب مقطر استریل تا رسیدن به

حجم ۲۵ میکرولیتر انجام شد. مراحل انجام واکنش زنجیره پلی‌مراز به این صورت بود: در واسرشتگی اول، دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به‌مدت سه تا پنج دقیقه اعمال و DNA دو رشته از هم جدا گردید (دناتوره شدن)، در ادامه ۳۵ چرخه شامل ۴۵ ثانیه در دمای ۹۴ درجه، دمای الحاق دو رشته DNA باز شده به‌مدت ۳۰ ثانیه، ۴۵ ثانیه در دمای ۷۲ درجه و در بسط نهایی سه تا پنج دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد صورت پذیرفت. از نشانگر (Ladder DNA 100 bp fermentas, Thermo fisher, Lithuania) به‌عنوان معیار جهت تعیین اندازه آل-ها استفاده شد. قطعات تکثیر شده در واکنش زنجیره پلی‌مراز روی ژل پلی‌اکریل‌آمید ۸٪ پس از انجام الکتروفورز به‌وسیله نیترات‌نقره رنگ-آمیزی و آرایش باندها ثبت شد. پس از رنگ آمیزی با استفاده از دستگاه مستندساز ژل تصویر مناسبی از ژل جهت انجام مراحل بعدی و آنالیزها تهیه شد و با استفاده از نرم‌افزار ژل پرو آنالایزر (Gel pro analyzer 3.0. Gene, USA) وزن باندهای مشاهده شده در باند اصلی مشخص گردید.

جدول ۱- جایگاه‌های ژنی مورد استفاده در مطالعه تنوع ژنتیکی بچه‌ماهیان کُلمه (*R. caspicus*) حاصل از زاده‌های مولدین وحشی، پرورشی و ترکیبی

جایگاه ژنی	توالی پرایمر	کد دستیابی در بانک ژن	اندازه آللی (جفت باز)	دمای مناسب اتصال
Ca1	F: AAG ACG ATG CTG GAT GTT TAC R: CTA TAG CTT ATC CCG GCA GTA	AF277573	۱۰۴-۱۳۲	۵۵
Ca7	F: ACACGGGCTCAGAGCTAGTC R: CAAATGTCAGGAGTTCTCCGA	AF277579	۱۱۴-۱۴۲	۵۹
CypG27	F: AAG GTA TTC TCC AGC ATT TAT R: GAG CCA CCT GGA GAC ATT ACT	AY439145	۲۴۴-۳۰۸	۴۹
Lid1	F: TAA AAC ACA TCC AGG CAG ATT R: GGA GAG GTT ACG AGA GGT GAG	AB112732	۲۲۰-۲۵۶	۵۱
Rru	F: TAA GCA GTG ACC AGA ATC CA R: CAA AGC CTC AAA AGC ACA A	AB112740	۱۸۴-۲۲۰	۵۴

در این تحقیق به‌منظور محاسبه تعداد آلل حاصل، از پنج جفت آغازگر مایکروستلایت مورد تجزیه و تحلیل، هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار در بررسی تنوع ژنتیکی بین سه جمعیت و همچنین آزمون انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ از نرم افزار GenAlex (نسخه ۶/۴۱) استفاده گردید (Peakall and Smouse, 2006). برای تعیین تفاوت بین سه جمعیت بچه‌ماهی وحشی، پرورشی و ترکیبی در مقادیر هتروزیگوسیتی مشاهده شده، مورد انتظار و همچنین تنوع آللی از تست ویلکاکسون غیرپارامتریک در نرم‌افزار SPSS-19 استفاده شد (Zar, 1999). با استفاده از نرم‌افزار FSTAT (نسخه ۲/۹/۳) آنالیز غنای آللی، ضریب درون‌آمیزی (Fis) و سطح معنی‌داری آن مشخص شد (Goudet, 2001). با استفاده از نرم‌افزار GeneAlex میزان تنوع درون جمعیتی و بین جمعیتی و همچنین میزان تمایز بین مناطق بر اساس معیار مدل آللی بی‌نهایت (Fst) توسط آنالیز واریانس مولکولی (AMOVA) و همچنین میزان آلل واقعی (Na)، آلل مؤثر (Ne)، جریان ژنی (Nm)، مقادیر فاصله ژنتیکی (D) و شباهت ژنتیکی (I) محاسبه شد (Peakall and Smouse, 2006). آزمون عدم تعادل پیوستگی نیز بین جفت جایگاه‌های ژنی توسط نرم‌افزار GENEPOP (نسخه ۳/۱) صورت گرفت (Raymond and Rousset, 2003). همچنین از نرم افزار POPGENE به‌منظور تعیین شباهت و فاصله ژنتیکی و رابطه فیلوژنیک بین جمعیت‌ها ترسیم دندروگرام (UPGMA) استفاده گردید.

۳ | نتایج

در این مطالعه در مجموع از ۵ جایگاه ژنی استفاده شد که همگی پلی-مورفیسم نشان دادند. جدول ۲ تعداد آلل‌های مربوط به تمامی جایگاه-های پلی‌مورف را نشان می‌دهد. متوسط میزان آلل‌های مشاهده شده در سه جمعیت وحشی، پرورشی و ترکیبی به‌ترتیب ۱۰/۴، ۱۰/۴ و ۹ به‌دست آمد. در مجموع، تعداد ۲۹ آلل در هر سه جمعیت مشاهده شد. همچنین براساس نتایج به‌دست آمده، کمترین و بیشترین میزان آلل‌ها در بین سه جمعیت مورد مطالعه به‌ترتیب در جایگاه‌های CypG27 (۷ آلل) و Rru4 (۱۸ آلل) در جمعیت وحشی مشاهده شد. بیشترین میزان آلل مشاهده شده (Na) و مورد انتظار (Ne) در جمعیت وحشی به‌ترتیب ۱۸ و ۱۱/۹۴۰ و کمترین میزان آن به‌ترتیب ۷ و ۳/۴۶۳ بود. در جمعیت پرورشی بیشترین میزان آلل مشاهده شده و مورد انتظار به‌ترتیب ۱۲ و ۱۰/۱۲۷ و کمترین میزان آن به‌ترتیب ۹ و ۴/۹۰۸ بود. در جمعیت ترکیبی نیز بیشترین میزان آلل مشاهده شده و مورد انتظار ۱۱ و ۸/۰۸۱ و کمترین میزان آن به‌ترتیب ۸ و ۵/۲۶۳ بود (جدول ۲). میانگین هتروزایگوسیتی مشاهده شده (Ho) و مورد انتظار (He) به-ترتیب ۰/۸۲۳ و ۰/۸۴۵ و متوسط هتروزایگوسیتی مشاهده شده برای جمعیت وحشی، پرورشی و ترکیبی به‌ترتیب ۰/۸۵، ۰/۷۷ و ۰/۸۵ بود. کمترین میزان هتروزایگوسیتی مشاهده شده (۰/۵۵) برای جایگاه Lid1 جمعیت پرورشی و بیشترین میزان آن (۱/۰۰۰) برای جایگاه Ca1 و CypG27 جمعیت ترکیبی محاسبه شد. آلل‌های مؤثر نیز در

محدوده ۱۱/۹۴۰ – ۳/۴۶۳ به‌دست آمد که در این میان، پایین‌ترین میزان در جایگاه CypG27 و بالاترین آن در جایگاه Rru4 قرار داشت. هتروزیگوسیتی مورد انتظار (He) نیز در محدوده ۰/۹۱۶ – ۰/۷۱۱ به‌دست آمد که کمترین مقدار مربوط به جایگاه (CypG27) جمعیت وحشی و بالاترین آن مربوط به جایگاه (Rru4) جمعیت وحشی بود. همچنین براساس نتایج متوسط شاخص درون‌آمیزی (Fis) و جریان ژنی (Nm) بین جمعیت‌ها به‌ترتیب ۰/۰۳۹ و ۷/۳۹۴ به‌دست آمد.

متوسط میزان ضریب تمایز (Fst) بین نمونه‌های جمعیت مورد بررسی براساس فراوانی آلل‌ها، ۰/۰۳۹ به‌دست آمد جدول (۳). همچنین نتایج براساس AMOVA نشان داد که ۹۲٪ از تنوع مشاهده شده مربوط به درون افراد، ۵٪ بین افراد و تنها ۳٪ از تنوع مربوط به بین جمعیت‌ها می‌باشد (شکل ۱، جدول ۴). دندروگرام UPGMA براساس مقدار فاصله ژنتیکی نیز نشان داد که دو جمعیت پرورشی و ترکیبی در یک شاخه و مجزا از شاخه جمعیت وحشی قرار دارند (شکل ۲).

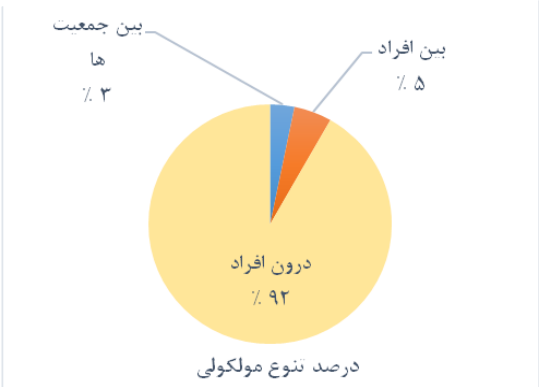
جدول ۲- تنوع ژنتیکی جایگاه‌های ژنی مورد مطالعه در جمعیت‌های بچه‌ماهی کُلمه (*R. caspicus*)

جمعیت		Ca1	CypG27	Ca7	Rru4	Lid1	میانگین
وحشی	Na	۸	۷	۸	۱۸	۱۱	۱۰/۴
	Ne	۶/۲۵۰	۳/۴۶۳	۵/۹۷۰	۱۱/۹۴۰	۶/۲۹۹	۶/۷۸۴
	Ho	۰/۹۰۰	۰/۷۵۰	۰/۸۰۰	۰/۹۵۰	۰/۸۵۰	۰/۸۵
	He	۰/۸۴۰	۰/۷۱۱	۰/۸۳۳	۰/۹۱۶	۰/۸۴۱	۰/۸۲۸
	p_{HW}	**	***	**	***	***	–
پرورشی	Na	۱۰	۱۲	۹	۱۱	۱۰	۱۰/۴
	Ne	۸/۲۴۷	۱۰/۱۲۷	۴/۹۰۸	۸/۴۲۱	۶/۲۰۲	۷/۵۸۱
	Ho	۰/۹۰۰	۰/۹۰۰	۰/۶۰۰	۰/۹۰۰	۰/۵۵۰	۰/۷۷
	He	۰/۸۷۹	۰/۹۰۱	۰/۷۹۶	۰/۸۸۱	۰/۸۳۹	۰/۸۵۹
	p_{HW}	ns	***	***	***	***	–
ترکیبی	Na	۹	۹	۸	۱۱	۸	۹
	Ne	۷/۵۴۷	۷/۲۷۳	۵/۸۸۲	۸/۰۸۱	۵/۲۶۳	۶/۸۰۹
	Ho	۱/۰۰۰	۱/۰۰۰	۰/۶۵۰	۰/۹۰۰	۰/۷۰۰	۰/۸۵
	He	۰/۸۶۸	۰/۸۶۳	۰/۸۳۰	۰/۸۷۶	۰/۸۱۰	۰/۸۴۹
	p_{HW}	**	*	*	***	***	–

Na: تعداد آلل، Ne: تعداد آلل مؤثر، Ho: هتروزیگوسیتی مشاهده شده، He: هتروزیگوسیتی مورد انتظار، Fis: ضریب درون‌آمیزی، pHw: تست احتمال هاردی- واینبرگ (ns: عدم معنی‌داری، $p \leq ۰/۰۵$*، $p \leq ۰/۰۱$**، $p \leq ۰/۰۰۱$***)

جدول ۳- میزان ضریب تمایز (Fst)، ضریب درون‌آمیزی (Fis)، جریان ژنی (Nm) درجایگاه‌های ژنی بچه‌ماهی کُلمه (*R. caspicus*)

جایگاه ژنی	Ca1	CypG27	Ca7	Rru4	Lid1	میانگین
Fst	۰/۰۲۹	۰/۰۷۲	۰/۰۴۵	۰/۰۲۱	۰/۰۳۰	۰/۰۳۹
Fis	-۰/۰۸۳	-۰/۰۷۱	۰/۱۶۶	-۰/۰۲۹	۰/۱۵۷	۰/۱۰۱
Nm	۸/۴۸۰	۳/۲۱۴	۵/۳۶۵	۱۱/۸۸۳	۸/۰۳۲	۷/۳۹۴

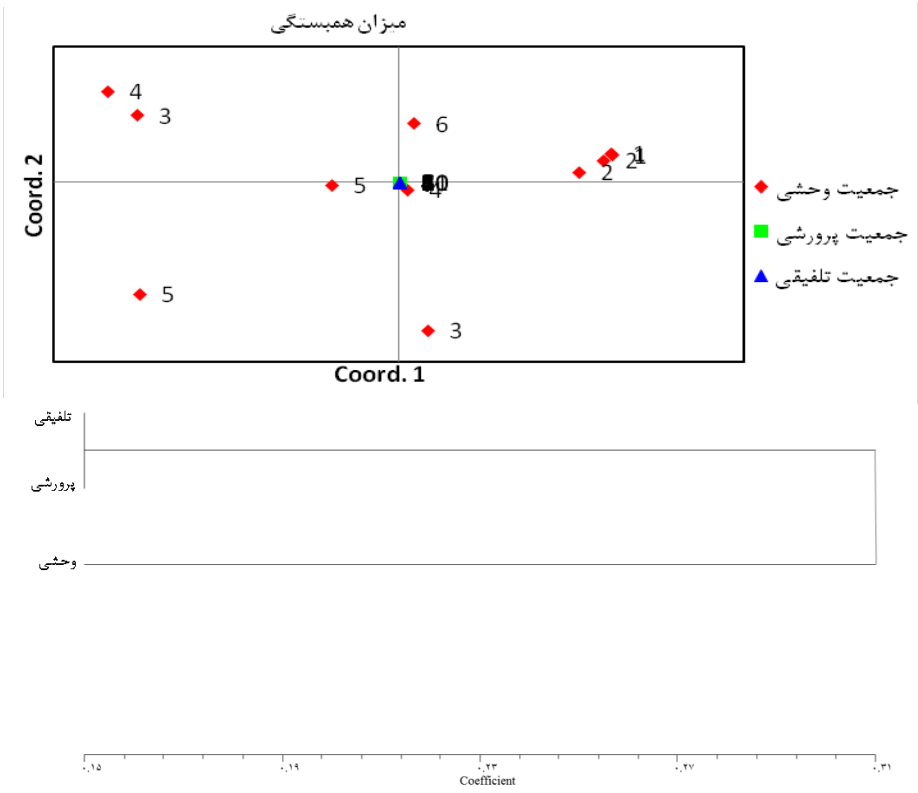


شکل ۱- تنوع ژنتیکی به‌دست آمده براساس معیار F_s جمعیت‌های بچه‌ماهی کُلمه (*R. caspicus*)

جدول ۴- آنالیز واریانس مولکولی (AMOVA) در Rst جمعیت‌های بچه‌ماهی کُلمه (*R. caspicus*)

	Df	SS	MS	Est.Var.	%	Stat	Value	Prob
بین جمعیت	۲	۴۲۶/۵۰۰	۲۱۳/۲۵۰	۳/۴۰۶	۷			
بین افراد	۵۷	۴۳۸۹/۷۰۰	۷۷/۰۱۲	۳۴/۴۴۸	۷۵	Rst	۰/۰۷۴	۰/۰۱۰
درون افراد	۶۰	۴۸۷/۰۰۰	۸/۱۱۷	۸/۱۱۷	۱۸			

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



شکل ۲- مقایسه فاصله ژنتیکی سه جمعیت بچه‌ماهی کُلمه (*R. caspicus*) براساس ترسیم دندروگرام UPGMA.

۴ | بحث و نتیجه‌گیری

در مطالعات ژنتیک مولکولی آبزیان هدف اصلی آنالیز ساختار جمعیتی، تنوع ژنتیکی، ارتباطات گونه‌ای، سیستماتیک و طبقه‌بندی آن‌هاست (Rezvani Gilkolaei, 1997). حفاظت از ماهی کلمه در ایران از طریق تکثیر و رهاسازی این گونه در آب‌های طبیعی صورت می‌گیرد. انتخاب ماهی کلمه در این بررسی به دلیل اهمیت آن در بحث بازسازی ذخایر و انتخاب مولدین است. از آنجاکه درک ساختار ذخایر ماهیان یکی از مولفه‌های بسیار مهم و اساسی در موفقیت و دستیابی به مدیریت پایدار زیست‌شناختی، شیلاتی و ژنتیکی است (Shaklee and Currens, 2003)، ژنتیک مولکولی به‌عنوان ابزاری مدرن، توانایی شناسایی و تعیین ساختار ذخایر ماهیان را دارد (Magoulas, 2005). در این میان ریزماهواره‌ها (نشانگرهای ژنتیکی) که به‌صورت گسترده در مطالعات ژنتیک جمعیت گونه‌های وحشی و پرورشی ماهیان استفاده می‌گردند (Liu *et al.*, 2009). ارزش بالایی دارند؛ به‌طوری‌که علاوه بر فراوانی بالا در ژنوم تمام موجودات، تنوع قطعات تکرار شونده در آن‌ها بالاست و علت آن‌را می‌توان به نرخ بالای جهش دراین نشانگر نسبت داد. ازطرفی، به‌دلیل هم‌بارز بودن، هتروزیگوسیتی و جهش را بهتر از سایر نشانگرها نشان می‌دهد (Liu and Cordes, 2004). بررسی انجام شده توسط بلانچت و همکاران (Blanchet *et al.*, 2008) روی آزادماهی اقیانوس‌اطلس نشان داد که با وجود مزایای تکثیر مصنوعی، تغییرات ژنتیکی بارزی بین نمونه‌های تکثیرمصنوعی و وحشی دیده می‌شود و این روش در طولانی‌مدت ممکن‌است منجربه کاهش تنوع ژنتیکی درون‌جمعیتی در ذخایر ژنی بومی گردد. باتوجه به اهمیت پارامترهای متعددی همچون میزان هتروزیگوسیتی و تعداد آلل واقعی و مؤثر در مطالعات ژنتیک جمعیت، نمی‌توان به تنهایی براساس یک پارامتر قضاوت صحیحی در ارتباط با افزایش یا کاهش تنوع ژنتیکی جمعیت ماهیان داشت.

در بررسی‌های ژنتیک جمعیت از شاخص‌های مختلفی مثل میزان هتروزیگوسیتی و تعداد آلل (واقعی و مؤثر) استفاده می‌شود و براساس

یک شاخص به تنهایی نمی‌توان قضاوت صحیحی راجع به افزایش یا کاهش تنوع ژنتیکی جمعیت ماهیان داشت. مطالعات نشان می‌دهد که میزان تنوع آللی نسبت به هتروزیگوسیتی در مطالعات ژنتیک جمعیت از اهمیت بیشتری برخوردار می‌باشد و افزایش یا کاهش آن می‌تواند منعکس کننده افزایش یا کاهش اندازه مؤثر جمعیت باشد (Diz and Presa, 2009). نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان داد میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده از هتروزیگوسیتی مورد انتظار بیشتر است که جریان ژنی بالا و خطا در هنگام خواندن آل‌ها از دلایل این امر است (Li *et al.*, 2007). همچنین افزایش هتروزیگوسیتی مشاهده شده نسبت به هتروزیگوسیتی مورد انتظار را می‌توان به عواملی نظیر: درون‌آمیزی، آلل نول و ویژگی ذاتی آغازگرها نسبت داد. در تحقیق حاضر میانگین ضریب درون‌آمیزی معادل ۰/۱۰۱ به‌دست آمد که این ضریب درون‌آمیزی می‌تواند دلیل مؤثری بر افزایش هتروزیگوسیتی مشاهده شده باشد. طبق نظر آلارکن و همکاران (Alarcon *et al.*, 2004) پلی‌مورفیسم در ژنوم هسته موجودات، به منزله شاخص ژنتیکی ارزشمندی، برای ارزیابی تنوع و ساختار ژنتیکی با هدف حفاظت از ذخایر ژنی گونه‌ها مطرح است.

در این بررسی جهت مقایسه تنوع ژنتیکی سه جمعیت بچه‌ماهی کلمه وحشی، پرورشی و ترکیبی از ۵ نشانگر ریزماهواره استفاده شد که همگی پلی‌مورف بودند. براساس نتایج، میانگین تعداد آلل مشاهده شده در جمعیت وحشی، پرورشی و ترکیبی به‌ترتیب ۱۰/۴، ۱۰/۴ و ۹ به‌دست آمد. همچنین، میانگین تعداد آلل مؤثر در این سه جمعیت به‌ترتیب ۶/۷۸۴، ۷/۵۸۱ و ۶/۸۰۹ بود. میانگین هتروزایگوسیتی مشاهده شده در سه جمعیت نمونه‌برداری شده ۰/۸۲۳ و هتروزایگوسیتی مورد انتظار ۰/۸۴۵ بود. هتروزیگوسیتی و تعداد آل‌ها جزو شاخص‌های مهم تنوع ژنتیکی جمعیت‌ها از لحاظ روبرو شدن با شرایط محیطی هستند (Frankham, 2008). در بررسی‌های تنوع ژنتیکی و خصوصا 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). فراوانی هتروزایگوت‌ها از این نظر که هر هتروزایگوت ناقل آل‌های متفاوتی است و باعث تنوع می‌شود با اهمیت بوده، به‌همین علت، معمول‌ترین معیار تنوع ژنتیکی در یک جمعیت میزان هتروزایگوسیتی است (Brighitte *et al.*, 2005) که در واقع بیانگر طیف وسیعی از ژنوتیب جهت پاسخ به سازش‌پذیری در شرایط متغیر محیطی و شرایطی همچون رشد، باروری و مقاومت در برابر بیماری‌ها است (Beardmore *et al.*, 1997).

چکمه‌دوز و همکاران (Chakmedoz *et al.*, 2008) در بررسی میکروستلایتی تنوع جمعیت‌های بهاره و پاییزه ماهی سفید در دریای خزر، تعداد متوسط آلل واقعی و مؤثر را به‌ترتیب ۹/۴ و ۵/۲۶ و دامنه هتروزیگوسیتی مشاهده شده و قابل انتظار را به‌ترتیب در محدوده ۰/۹۶-۰/۲۱ گزارش نمودند که بالا بودن دامنه هتروزیگوسیتی در ماهی سفید دریای خزر را بیانگر سطح بالای تنوع ژنتیکی این ماهی دانستند. این نتایج نشان می‌دهد که اگرچه مسائلی همچون تکثیر مصنوعی ماهی کلمه و فشار صید، تنوع ژنتیکی این ماهی را در سطح بالایی نشان می‌دهد؛ ولی متأسفانه علی‌رغم مزایای تکثیر مصنوعی، این روش در درازمدت می‌تواند منجر به کاهش تنوع‌ژنتیکی ذخایر ژنی بومی گردد (Blanchet *et al.*, 2008). در پژوهشی دیگر رضایی (Rezaee, 2009) در مطالعه ساختار ژنتیکی ماهی سفید دریای خزر با استفاده از نشانگر ریزماهواره، میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده را ۰/۸۱ گزارش نمود.

در مطالعات ژنتیک تعادل هاردی-واینبرگ به تصادفی بودن آمیزش‌ها و عدم وجود جهش، بهگزینی و مهاجرت عنوان می‌شود. در این بررسی، از ۱۵ تست تعادل هاردی-واینبرگ تقریباً همه موارد انحراف از تعادل را نشان دادند که ضریب تصحیح بونفرونی در این بررسی لحاظ شد. لازم به ذکر است که انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ می‌تواند علل متعددی همچون، عملیات تکثیر مصنوعی و بازسازی ذخایر (Rezaee, 2009)؛ وجود آل‌های صفر و تلاقی خویشاوندی (Zhao *et al.*, 2005)؛ خطای نمونه‌گیری (Appleyard *et al.*, 2002) دانست. در این مطالعه نیز علاوه بر موارد ذکر شده، انحراف از تعادل را می‌توان به جریان ژنی بالا، حضورآل‌های نول، اختلاط جمعیت‌ها و آمیزش خویشاندی نسبت داد.

فاکتور F_{st} توصیف‌کننده تمایز جمعیت در سطوح مختلف ساختار ژنتیکی است و هر چه میزان جریان ژنی بین مناطق بیشتر باشد، تمایز ژنتیکی کمتر است. در مطالعه حاضر میزان F_{st} به‌دست آمده برای سه جمعیت مورد بررسی ۰/۰۳۲ بود که بیانگر تمایز پایینی بین سه جمعیت است. باتوجه به این اصل که گونه‌زایی منوط به افزایش اختلاف ژنتیکی در جمعیت‌های جدا یا نسبتاً جدا از همدیگر است، بنابراین، به‌طور قطع می‌توان در بین پارامترهایی نظیر جریان ژنی، فواصل جغرافیایی و گونه‌زایی ارتباط برقرار کرد (Beacham and Macconachi, 2004). میزان جریان ژنی در بین سه جمعیت مورد مطالعه نشان‌دهنده نبود اختلاف زیاد ژنتیکی در بین جمعیت‌هاست. از آنجا که معیار R_{st} وابسته به جهش نمی‌باشد، داده‌های بیولوژیک مناسب‌تری را نسبت به معیار F_{st} فراهم می‌کند (Balloux and Goudet, 2002). براساس شاخص R_{st} و معیار F_{is} تنها ۳٪ بین سه جمعیت تنوع ژنتیکی حاصل شد.

در تحقیق حاضر متوسط میزان F_{is}، ۰/۱۰۱ به‌دست آمد و چون این مقدار از صفر بیش‌تر است می‌تواند دلیلی بر آمیزش خویشاوندی و اختلاط بین جمعیت‌ها باشد (Wright, 1978). آمیزش خویشاوندی ازجمله خطرات اصلی در جمعیت‌های ماهیان به‌شمار می‌رود که می‌تواند باعث کاهش هتروزیگوسیتی، کاهش میزان بقاء و عدم مقاومت در برابر بیماری‌ها و در نهایت به‌خطر انداختن جمعیت‌های بومی گردد (Fergusen, 1995). مطابق نتایج به‌دست‌آمده، استفاده از نشانگرهای ریزماهواره نشان می‌دهد که تنوع ژنتیکی بالایی در درون جمعیت‌های مورد بررسی (۹۲٪) و تنوع پایینی در بین جمعیت‌ها (۳٪) وجود دارد (شکل ۱). آنالیز واریانس مولکولی (AMOVA) معیاری مناسب برای بررسی ساختار جمعیت، تعیین میزان تمایز و شباهت ژنتیکی بین جمعیت‌ها می‌باشد (Grassi *et al.*, 2004). طبق‌نظر بالوکس و گرودت

(Balloux and Goudet, 2002) هرگاه میزان F_{st} از ۰/۰۵ کمتر باشد نشان‌دهنده تمایز ژنتیکی اندک است. براساس گزارش لی و همکاران (Li *et al*., 2007) هرگاه جریان ژنی بیشتر از یک باشد، جریان ژنی عامل اصلی در تمایز ژنتیکی بوده و هرگاه کمتر از یک باشد، رانش ژنی عامل اصلی تمایز ژنتیکی است که در مطالعه حاضر میزان جریان ژنی بالایی در جمعیت‌ها (۷/۳۹۴) مشاهده شد که این جریان ژنی بالا می‌تواند عامل مهمی در تمایز ژنتیکی پایین بین جمعیت‌ها در این تحقیق باشد. براساس ارزیابی اطلاعات به‌دست آمده از فراوانی آللی، هتروزایگوسیتی، تعادل هاردی –واینبرگ، شاخص F_{st} و ترسیم دندروگرام سه جمعیت بچه‌ماهی کلمه وحشی، پرورشی و ترکیبی از نظر تنوع ژنتیکی می‌توان نتیجه‌گرفت که دو جمعیت پرورشی و ترکیبی شباهت ژنتیکی بیشتری نسبت به یکدیگر داشته و جمعیت وحشی شباهت ژنتیکی پایین با به دو جمعیت پرورشی و ترکیبی را ازخود نشان می‌دهد.

باتوجه به نتایج به‌دست آمده تنوع ژنتیکی بچه‌ماهی کلمه در سه جمعیت مورد بررسی (وحشی، پرورشی و ترکیبی) در حد قابل قبولی قرار دارد، ولی به‌دلیل تشابه ژنتیکی و تمایز پایین ممکن است در آینده با مشکل کاهش تنوع مواجه گردد. بنابراین باتوجه به تکثیر مصنوعی و نیمه طبیعی این ماهی، لازم است تدابیری در خصوص حفظ و تقویت تنوع مشاهده شده و اجتناب از مشکلات درون‌آمیزی و برون‌آمیزی ناشی از تکثیر مصنوعی و درنتیجه کاهش بقاء آن‌ها در طبیعت صورت گیرد تا به نوعی از کاهش تمایز ژنتیکی بین نمونه‌های جمعیت‌های مورد بررسی، این گونه جلوگیری شود. باتوجه به اهمیت اقتصادی ماهی کلمه در دریای خزر و اهمیت حفظ تنوع ژنتیکی آن، مدیریت تنوع ژنتیکی مراکز تکثیر باید طوری باشد که موجب افزایش موفقیت ماهیان رهاسازی شده در اکوسیستم‌های طبیعی شود. در این خصوص بهترین روش، احیای محل‌های تخم‌ریزی طبیعی این گونه و در تکثیر مصنوعی نیز به‌کارگیری تدابیری، همچون استفاده از حداکثر تعداد مولد به‌منظور جلوگیری از کاهش اندازه مؤثر جمعیت می‌باشد.

۵ | تشکر و قدردانی

از پرسنل زحمت‌کش مرکز تکثیر و پرورش ماهیان استخوانی سیجوال به‌ویژه آقای مهندس ایری و همچنین از مجموعه دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان به‌خاطر فراهم آوردن شرایط لازم جهت انجام این پژوهش، سپاسگزاری می‌شود.

پست الکترونیک نویسندگان

احمدرضا جبله: J.ahmadreza89@yahoo.com
رسول قربانی: rasulghorbani@gmail.com
حامد پاک‌نژاد: hkolangi@gmail.com
غلامعلی بندانی: banda_GH@yahoo.com
سعید شربتی: s_sharbaty@yahoo.com

REFERENCES

Alarcon J.A., Magoulas A., Alvarez M.C. 2004. Genetic comparison of wild and cultative European population of the gill head sea bream. Aquaculture, 230: 65-80.

Appleyard S.A, Ward R.D., Grewe P.M. 2002. Genetic stock structure of big eye tuna in the Indian Ocean using mitochondrial DNA and microsatellite. Journal of Fish Biology, 62: 987-999.

Balloux F., Goudet J. 2002. Statistical properties of population differentiation estimators under stepwise mutation in a finite island model. Molecular Ecology, 11: 711-783.

Bang I., Kim W.J., Rolee I. 2009. Characterization of polymorphic microsatellite loci in the endangered Miho spine loach (*Iksookimia choii*) and cross-species amplification within the Cobitidae family. Molecular Ecology Research, 9: 281-284.

Beacham T.D., Macconachi C. 2004. Microsatellite identification of individual sockeye salmon in Barkley Sound, British Colombia. Journal of Fish Biology, 61: 1021-1032.

Beardmore J.A., Mair G.C., Lewis R.I. 1997. Biodiversity in aquatic systems in relation to aquaculture. Aquaculture, 28: 829-839.

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.

Brighitte J., Hansen M., Loeschcker V. 2005. Microsatellite DNA analysis of northern pike (*Esox lucius*) populations: insights into the genetic structure and demographic history of a genetically depauperatee specious. Biology Journal of Linnaean Society, 84: 1-11.

Chakmedoz F., Porkazemi M., Zamini D., Yarmohamadi M., Rezvani S.,Azizzade L. 2008. Evaluation of the genetic structure of white fish breed in spring and autumn (*Rutilus frisii kutum*) using microsatellite markers. Proceedings of the First National Congress of fishery resources in the Caspian Sea. Iran. (In Persian).

Diz P.A., Presa P. 2009. The genetic diversity pattern of *Mytilus alloprovincial*is in Galician Rías (NW Iberian estuaries). Aquaculture, 287: 278-285.

Dunham R.A. 2004. Aquaculture and fisheries biotechnology genetic approaches. Canadian Association of Business Incubation Publishing, London, 146 p.

Fergusen M. 1995. The role of molecular genetic markers in the management of cultured fish. In: Arvalhoand GR, Pitcher TJ (Eds.). Molecular Genetics in Fisheries, Chapman and Hall. London, UK, pp: 81-104.

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

Ghasemi A., Keyvanshokooh S., Shahriari-Moghadam M., Khara H., Sourinejad I. 2007. Genetic comparison of Iranian

and Azeri populations of the oriental bream *Abramis brama orientalis* (Berg) using microsatellites. Aquatic Research, 38: 1742-1746.

Goudet J. 2001. Fstat, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version2.9.3). Retrieved from http:// www.unil.ch/ popgen/ softwares/ fstat.htm. Updated on 17 June 2008.

Grassi F., Imazio S., Gomarasc, 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. Journal of Plant Science, 166: 1437-1441.

Kashiri H. 2009. Genetic diversity roach (*Rutilus rutilus caspius*) on the southern coast of the Caspian Sea using microsatellite markers. Fisheries graduate dissertation. Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran. (In Persian).

Keyvanshokooh S., Ghasemi A., Shahriari-Moghadam M., Nazari R.M., Rahimpour M. 2007. Genetic analysis of *Rutilus caspicus* (Jakowlew 1870) populations in Iran by microsatellite markers. Aquatic Research, 38: 953-956.

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.

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.

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.

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. London, UK. 576 P.

Liu Z., Cordes J.F. 2004. DNA marker technologies and their applications in aquaculture genetics. Aquaculture, 238: 1-37.

Magoulas A. 2005. Mitochondrial DNA. In: Kerr LA, Cadrin SX, Friedland KD, Mariani S, Waldman JR (Eds.). Stock identification methods applications in fishery science, Academic Press; 2nd edition, pp: 311-330.

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.

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.

Raymond M., Rousset F. 2003. Genepop 3.4., an updated version of Genepop v.1.2 (1995): population genetics

Rezaee M. 2009. Determine the genetic structure of white fish (*Rutilus frisii kutum*) using microsatellite markers. Fisheries graduate thesis. Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources. Gorgan, Iran. (In Persian).

Rezvani Gilkolaei S. 1997. Molecular population genetic studies of sturgeon species in the south Caspian Sea. Ph.D. Thesis School of biological Sciences, university of Wales, Swansea. UK.

Sattari 2002. Ichthyology 1 (anatomy and physiology). Guilan University. Guilan, Iran. 862 p. (In Persian).

Shaklee J.B., Currens K.P. 2003. Genetic stock identification and risk assessment. In population genetics principles and applications for fisheries scientists. pp: 291-328.

Software for exact tests and ecumenism. Journal of Heredity, 86: 248-249.

Utter F.M. 1991. Biochemical genetics and fishery management: an historical perspective. Journal of Fish Biology, 39: 1-20.

Wang C., Yu X., Tong J. 2007. Microsatellite diversity and population genetic structure of red fin culture (*Culter erythropterus*) in fragmented lakes of the Yangtze River. Hydrobiologia, 586: 321-329.

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, USA. 590 p.

Xu Z., Primavera J.H., De La Pena L.D., Pettit P., Belak J., Warren A.A. 2001. Genetic diversity of wild and cultured black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) in the Philippines using microsatellites, Aquaculture, 199: 13-40.

Zar J.H. 1999. Bio statistical analysis, 4th ed., Prentice Hall Inc., Upper Saddle River, New Jersey. USA. 663 p.

Zhang X.Y., Zhou M.L., Zhang X.H., Wu D.J. 2009. Study on population genetic structure of Liang Shan semi-wool sheep using microsatellite markers. Pakistan Journal of Biological Sciences, 11: 2423-2427.

Zhao N., Shao Z., Zhu B. 2005. Microsatellite assessment of Chinese sturgeon *Acipenser sinensis* genetic variability. Journal of Applied Ichthyology, 21: 7-13.

نحوه استناد به این مقاله:

جبله ا.ر.، قربانی ر.، پاک‌نژاد ح.، بندانی غ.ع.، شربتی س. مقایسه تنوع ژنتیکی بچه-ماهیان کُلمه *Rutilus caspicus* (Yakovlev, 1870) حاصل از تکثیر مولدین وحشی، پرورشی و ترکیبی (پرورشی× وحشی) با استفاده از نشانگر ریزماهواره. نشریه پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی دانشگاه گنبدکاووس. ۱۳۹۹، ۸(۲): ۳۰-۳۸.

Jebeleh A.R., Ghorbani R., Paknejad H., Bandani Gh.A., Sharbati S. Comparison of genetic diversity of *Rutilus caspicus* (Yakovlev, 1870) resulting from the proliferation of wild, breeding, and hybrid (wild) breeding using microsatellite markers. Journal of Applied Ichthyological Research, University of Gonbad Kavous. 2020, 8(2): 30-38.

Comparison of genetic diversity of roach *Rutilus caspicus* (Yakovlev, 1870) derived from the reproduction of wild broodstock, breeding and hybrid (wild broodstock × breeding) using microsatellite markers

Jabaleh A[*1]., Ghorbani R[2]., Paknejad H[3]., Bandani Gh[4]., Sharbati S[5].

[1] Fisheries student, Dept. of Fisheries and Environment, University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Golestan, Iran
[2] Associate Prof., Dept. of Fisheries and Environment, University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Golestan, Iran
[3] Dept. of Fisheries and Environment, University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Golestan, Iran
[4] Educational supervisors Inland Fisheries Research Institute, Gorgan, Golestan, Iran
[5] Instructor, Dept. of Fisheries and Environment, University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Golestan, Iran

Type:

Original Research Paper

Paper History:

Received: 29- 4-2016
Accepted: 30- 8- 2016

Corresponding author:

Jabaleh A. Fisheries student, Department of Fisheries and Environment, University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Golestan, Iran

Email: J.ahmadreza89@yahoo.com

Abstract

The present study aimed to compare the genetic diversity in offsprings derived from wild, farmed, and mixed roach (*R. caspicus*) using five microsatellite loci (CA1, CA7, CypG27, Lid1, Rru4). A total of 90 fish (30 specimens from each population) were collected and then fixed in ethanol 96% for DNA extraction to investigate the genetic diversity. The number of alleles at offsprings derived from different broodstocks (wild, farmed, and mixed) was 10.4, 10.4, and 9 alleles, respectively, and indeed 29 alleles were observed in all three populations. The number of effective alleles at wild, farmed, and mixed offsprings was 6.78, 7.58, and 6.80, respectively. The allele frequency among wild, farmed, and mixed populations was 7, 8, and 8, respectively. The allele frequency declined in offspring from wild broodstock due to the inbreeding and genetic drift. The mean heterozygosis (HO) was 0.85, 0.77, and 0.85 in offsprings from wild, farmed, and mixed broodstocks, respectively. Also, effective heterozygosis (He) was 0.828, 0.859, and 0.849 in offsprings from wild, farmed, and mixed broodstocks, respectively. Approximately, all of the loci showed deviation from Hardy-Weinberg equilibrium. The genetic distance among wild, farmed, and mixed offspring populations was 0.459, 0.298, and 0.684, respectively. The results of the analysis of molecular variance revealed that the genetic diversity within the individual was 90%, while it was only 3% among them. FST value was 0.032 that indicated the low genetic differentiation among three populations, which might be because of the low number of alleles in three populations. Furthermore, Natural Migration (Nm) between two stations was recorded at 7.394. UPGMA cluster analysis based on genetic distance showed that the breeding and hybrid populations were in a separate branch of the wild population branch.

Keywords: *Rutilus caspicus*, Genetic diversity, Microsatellite marker