دانشگاه گنبد کاووس
نشریه "پژوهش‌های ماهی شناسی کاربردی"
دوره سوم، شماره اول، بهار ۹۴
http://jair.gonbad.ac.ir

بررسی ژنتیک جمعیت سگ‌ماهی جویباری *Paracobitis hircanica* (Mousavi-Sabet *et al.*, 2015) رودخانه‌های استان گلستان با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره

علی شعبانی[۱]، حدیثه کشیری*[۲] و زهره قدسی[۳]

[۱]دانشیار گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
[۲]استادیار گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
[۳]دانشجوی دکتری شیلات، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران

تاریخ ارسال: ۹۳/۱۱/۶ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۳/۱۲/۱۷

چکیده

به‌منظور تعیین تنوع ژنتیکی ماهی *P. hircanica* در رودخانه‌های تیل‌آباد، توسکستان و زرین‌گل استان گلستان، از شش نشانگر ریزماهواره استفاده شد که همگی چندشکلی نشان دادند. در بررسی تمایز ژنتیکی افراد، شاخص Fst، ۰/۰۲۸ بدست آمد که نشان از وجود تمایز ژنتیکی پایین بین نمونه‌های مناطق مورد بررسی می‌باشد. در بررسی تعادل هاردی- وینبرگ نیز ۱۶ نمونه از ۱۸ تست جمعیت- جایگاه ژنی انحراف معنی‌دار از تعادل نشان دادند که دلیل عمده آن را می‌توان به کسری هتروزیگوسیتی مشاهده شده نسبت داد. تعداد الل‌ها و هتروزیگوسیتی مشاهده شده نیز به‌ترتیب در محدوده ۱۶-۸ (میانگین: ۱۱/۹۴) و ۱-۰/۰۳ (میانگین: ۰/۵۲) بدست آمد که نسبت به مقادیر گزارش شده برای ماهیان آب شیرین کمی بالاتر است. نتایج حاصله نشان داد که سگ‌ماهی جویباری در مناطق مورد بررسی از غنای اللی و تنوع ژنتیکی قابل قبولی برخوردار است. همچنین در آنالیز واریانس مولکولی مشخص گردید که قسمت عمده تنوع مشاهده شده مربوط به درون جمعیت‌ها بوده و تنوع پایینی بین جمعیت‌ها وجود دارد. نتایج حاصل از فاصله ژنتیکی نیز نشان داد که احتمالا جمعیت‌های جدایی از گونه *P. hircanica* در رودخانه‌های استان گلستان وجود دارد.

***واژه‌های کلیدی*: *P. hircanica*، تنوع ژنتیکی، تمایز ژنتیکی، نشانگر ریزماهواره**

*نویسنده مسئول: hadiskashiri@gmail.com

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-12]

مقدمه

از اهداف کلی ژنتیک جمعیت، تعیین وسعت تنوع ژنتیکی در بین افراد متعلق به یک گونه می‌باشد (Ciftci and Okumus, 2002). تنوع ژنتیکی که از تفاوت در توالی نوکلئوتیدهای DNA در بین افراد حاصل می‌گردد، به‌عنوان اولین پیش نیاز جهت حفظ سازگاری جمعیت‌ها در شرایط محیطی در حال تغییر مطرح بوده و دارای اهمیتی حیاتی برای مدیریت و حفاظت از منابع طبیعی آبی می‌باشد (Diz and Presa, 2009)، به‌طوری‌که کاهش تنوع بین افراد و جمعیت‌ها می‌تواند منجر به کاهش قدرت سازگاری و پتانسیل بازمانی ماهیان در طبیعت گشته و بقای آن‌ها را به مخاطره اندازد (Lucentini *et al.*, 2009). در واقع، آگاهی از ذخایر توارثی و تنوع ژنتیکی بین افراد یک گونه بسیار حایز اهمیت بوده و داشتن اطلاعات ژنتیکی به‌عنوان جزیی ضروری از برنامه‌های مدیریتی در علم زیست‌شناسی حفاظت درنظر گرفته می‌شود (Ludwig, 2006). امروزه کاهش ذخایر آبزیان در بسیاری از نقاط دنیا توجه محققین را به اعمال روش‌های دقیق مولکولی جهت آگاهی از وضعیت جمعیت گونه‌های مختلف آبزی به خود جلب نموده است (Lin *et al.*, 2002). در ابتدا ارزیابی ساختار جمعیت‌ها، از طریق بررسی صفات مورفومتریک و مریستیک انجام می‌پذیرفت اما با در نظر گرفتن عواملی همچون حساسیت بالای این صفات به تغییرات محیطی و یا محدود بودن داده‌های حاصل از تفسیر آن، نشانگرهای مولکولی گوناگونی توسعه یافتند که در بین آن‌ها، نشانگرهای ریزماهواره کاربرد گسترده‌تری نسبت به سایرین در مطالعات ژنتیک جمعیت داشته (Verspoor and Jordan, 1989) و به‌عنوان ابزاری مناسب، دقیق و ساده جهت ارزیابی ساختار ژنتیکی و روابط فیلوژنتیک در بین ماهیان مطرح می‌باشند (Rashed *et al.*, 2011). ریزماهواره‌ها، توالی‌های کوتاه و تکراری DNA هستند که دارای کاربردهای فراوانی در ژنتیک تکاملی و حفاظتی می‌باشند (Angers and Bernatchez, 1998). این نشانگرها به علت بالا بودن تعداد الل‌هایشان، در بین تمام نشانگرها بالاترین میزان هتروزیگوسیتی را نشان می‌دهند (Liu, 2007). این چند شکلی بسیار بالا نشان می‌دهد که نشانگرهای ریزماهواره می‌توانند برای آنالیز ژنتیک جمعیت و تعیین نژادها بسیار مفید باشند (Dunham, 2004).

گونه سگ‌ماهی جویباری با نام علمی *P. malapterura* متعلق به خانواده لوچ ماهیان و بومی ایران می‌باشد که اخیراً نام علمی آن به *Paracobitis hircanica* تغییر کرده است (Mousavi-Sabet *et al.*, 2015). سگ‌ماهیان جویباری، عنوان دومین خانواده بزرگ ماهیان آب شیرین ایران را به خود اختصاص داده‌اند (Keivany, 2008). عواملی همچون ورود فاضلاب‌های تصفیه نشده، استخراج سنگ از بستر رودخانه‌ها، سد سازی و انحراف جریان رودها به‌منظور آبیاری اراضی از عوامل اصلی تهدید کننده جمعیت این ماهیان می‌باشد (Abdoli *et al.*, 2011). از آن‌جا که حفظ تنوع زیستی یکی از شاخص‌های توسعه یافتگی کشورهاست و هر گونه می‌تواند با توجه به جایگاه خود در هرم‌های

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-12]

اکولوژیکی نقش غیر قابل انکاری در اکوسیستم ایفا نماید، لذا شناسایی ساختار ژنتیکی اعضای این خانواده می‌تواند نقش مهمی در حفظ و بقای نسل این گونه داشته باشد. در این راستا، تاکنون اطلاعات اندکی در خصوص ساختار ژنتیکی جمعیت سگ‌ماهیان ایران منتشر شده که محدود به بررسی ژنتیکی برخی گونه‌ها همچون *Oxynoemacheilus kiabii* در سه رودخانه متعلق به استان‌های کرمانشاه و همدان (Askari *et al.*, 2014)، *Paraschistura nielseni* در سه رودخانه متعلق به استان‌های فارس و بوشهر (Amooee *et al.*, 2014) و یا گونه *Oxynoemacheilus argyrogramma* در سه رودخانه متعلق به استان‌های کرمانشاه و کردستان (Kolangi-Miandare and Askari, 2014) بوده است. با توجه به عدم وجود اطلاعات در خصوص ساختار و تنوع ژنتیکی گونه *P. malapterura* و *P. hircanica* در بررسی حاضر به ارزیابی تنوع ژنتیکی سگ‌ماهی جویباری با استفاده از شش نشانگر ریزماهواره در رودخانه‌های زرین‌گل، تیل‌آباد و توسکستان استان گلستان که از مناطق مهم پراکنش این گونه می‌باشند پرداخته شد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه‌ها: سگ‌ماهیان جویباری *P. hircanica* از رودخانه‌های زرین‌گل، تیل‌آباد و توسکستان واقع در استان گلستان (شکل ۱) با استفاده از دستگاه الکتروشوکر با جریان ۲۰۰-۳۰۰ ولت جمع‌آوری و براساس کلیدهای شناسایی معتبر برای گونه مورد نظر (Coad, 2014) شناسایی شدند. حدود ۲-۳ گرم از باله دمی یا سینه‌ای هر ماهی (۲۸ قطعه ماهی برای هر منطقه مورد بررسی) جدا شده و در ظروف نمونه‌گیری حاوی الکل اتیلیک ۹۶ درصد قرار داده شدند. در نهایت نمونه‌ها جهت انجام آزمایشات مولکولی به آزمایشگاه بیوتکنولوژی آبزیان دانشکده شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انتقال داده شدند.



شکل ۱- مناطق نمونه‌برداری سگ‌ماهی جویباری *P. hircanica* (۱: تیل‌آباد، ۲: زرین‌گل و ۳: توسکستان)

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-12]

استخراج DNA: DNA هسته‌ای نمونه‌ها طبق روش هیلیس و همکاران (Hillis *et al.*, 1996) با استفاده از هضم بافت توسط پروتئیناز K، خالص‌سازی فنل-کلروفرم و رسوب اتانولی استخراج گردید. رسوب DNA به‌دست آمده در ۱۰۰ میکرولیتر آب مقطر دو بار تقطیر استریل حل و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان انجام PCR نگهداری گردید. جهت تعیین کمیت و کیفیت DNA استخراج شده به‌ترتیب از روش الکتروفورز با ژل آگارز ۱ درصد و اسپکتروفتومتری استفاده گردید.

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز و الکتروفورز: به‌منظور بررسی تنوع ژنتیکی گونه *P. hircanica* از جایگاه‌های ژنی Bbar3, Bbar7, Bbar8, Bbar11 (Taylor *et al.*, 2001)، IC720 و IC487 (Bang *et al.*, 2009) تهیه شده از شرکت تکاپوزیست استفاده شد (جدول ۱). تکثیر لکوس‌ها با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) انجام گرفت. شرایط چرخه دمایی برای هر جایگاه ژنی در جدول (۲) آورده شده است. محصولات PCR روی ژل پلی‌اکریل‌آمید ۸ درصد (غیریونیزه) جداسازی و ژل‌های بدست آمده توسط نیترات نقره رنگ آمیزی شدند (Benbouza *et al.*, 2006). پس از تهیه تصاویر ژل‌ها توسط دستگاه مستند ساز ژل (Gel Doc XR, BIO-RAD)، جهت محاسبه طول قطعات از نرم افزار ژل پرو آنالیزور (Gel pro analyzer 3.0) استفاده شد.

جدول ۱- ویژگی جایگاه‌های مورد استفاده در این بررسی

جایگاه ژن	تعداد الل	دامنه‌طولی (جفت باز)	نقطه‌ذوب (^{0}C)	توالی	دمای‌اتصال (^{0}C)
Bbar3	۱۱	۳۶۴-۴۶۸	F:۵۳/۸ R:۵۳/۷	F: TACCCTCCTAGGCTTGCTGA R: CTGGGGCTTTTCATTTTGAG	۵۵
Bbar7	۱۲	۳۵۲-۴۴۰	F:۵۲/۸ R:۵۲/۷	F: GAGCAACAGCTGCTGTAGGA R: GTCGGACCAACCTGAAAACT	۵۸
Bbar8	۱۳	۲۱۲-۳۰۴	F:۵۲/۷ R:۵۳/۹	F: CTCCCTGGATTACTCCCTGA R: AGCGCGTCTGTGAAGTTTCT	۵۸
Bbar11	۱۳	۱۴۰-۲۱۲	F:۵۳/۴ R:۵۳/۴	F: GCGGAGGAAGAGAAACACAG R: CTATGCCATTGCCACACATC	۵۸
IC720	۱۰	۱۵۶-۲۱۲	F:۵۸/۷ R:۵۸/۷	F: CGCAATGCATTCTCCAATCTCAA R: GACCCCACTCATCACTGCCTCTC	۵۵
IC487	۱۱	۱۴۴-۲۲۸	F:۵۷/۶ R:۵۷/۴	F: GATTATGCCATGCCGTTGACTGT R: GCTGTTGAAAACTCACCCCTGTG	۵۲

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-12]

جدول ۲- چرخه حرارتی واکنش زنجیره‌ای پلیمراز

تعداد چرخه	مرحله	زمان	دما (^{0}C)
۱چرخه	واسرشت	۳ دقیقه	۹۴
	واسرشت	۳۰ ثانیه	۹۴°C
۳۵ چرخه	اتصال	۳۰ ثانیه	درجه حرارت اتصال (جدول ۱)
	تکثیر	۶۰ ثانیه	۷۲°C
۱ چرخه	تکثیرنهایی	۳ دقیقه	۷۲°C

فراوانی اللی، تعداد الل در هر جایگاه ژنی، تعداد الل مؤثر، هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار با استفاده از نرم‌افزار GenAlex 6.3 محاسبه گردید (Peakall and Smouse, 2006). از نرم‌افزار Microchecker 2.2.1 (Oosterhout *et al.*, 2004) جهت بررسی امکان وجود الل‌های نول استفاده شد. ضریب درون‌آمیزی نیز به‌عنوان معیاری جهت تعیین میزان انحراف از مدل هاردی- وینبرگ ناشی از درون‌آمیزی با استفاده از نرم‌افزار FSTAT 2.9.3 محاسبه شد (Weir and Cockerham, 1984). از نرم‌افزار Genepop 3.1 برای ارزیابی انحراف از تعادل با استفاده از مقایسه هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار استفاده شد (Raymond and Rousset, 1995). دندروگرام بر اساس فاصله ژنتیکی (UPGMA) نیز با استفاده از نرم‌افزار NTSYS ترسیم گردید.

نتایج

هر شش جایگاه مورد استفاده در این بررسی، چندشکلی نشان دادند. با توجه به نتایج حاصل از نرم‌افزار Microchecker نیز می‌توان بیان داشت که احتمالاً در برخی از جایگاه‌های ژنی مورد استفاده، الل‌های نول وجود دارد. این موضوع به‌ویژه برای جایگاه‌های Bbar8 و Ic487 بسیار واضح بود. چرا که نتایج مؤید وجود الل‌های نول در دو جایگاه مذکور برای هر سه منطقه مورد بررسی بود. تعداد الل واقعی و مؤثر در شش لکوس مورد نظر برای گونه *P. hircanica* محاسبه گردید (جدول ۳). کمترین الل واقعی مربوط به لکوس‌های IC720 و IC487 و کمترین الل مؤثر مربوط به لکوس Bbar3 بود. همچنین کمترین تعداد الل واقعی در نمونه‌های توسکستان و زرین‌گل و کمترین الل مؤثر در نمونه‌های زرین‌گل بدست آمد. بیشترین تعداد الل واقعی نیز در لکوس Bbar8 در نمونه‌های منطقه تیل‌آباد (۱۶ الل) مشاهده گردید. اطلاعات بدست آمده مربوط به هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Ho) و قابل انتظار (He) نیز در جدول (۳) آورده شده است. با توجه به این جدول، دامنه Ho در نمونه‌های گروه‌های مختلف بین ۱/۰۰-۰/۰۳ قرار داشت طوری‌که کمترین مقدار Ho، در لکوس IC487 در منطقه زرین‌گل مشاهده گردید. دامنه He نیز در گروه‌های مختلف در محدوده ۰/۹۲-۰/۷۸ قرار داشت که در این

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-12]

میان، بیشترین میزان هتروزیگوسیتی مورد انتظار در لکوس Bbar3 در نمونه‌های منطقه توسکستان (۰/۹۲) و کمترین میزان در لکوس Bbar3 و در نمونه‌های منطقه زرین‌گل (۰/۷۸) مشاهده شد. مقادیر مربوط به Ho و He در سطح لکوس‌ها نیز در جدول (۴) آورده شده است. به‌طورکلی متوسط هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار بین سه رودخانه در سطح لکوس‌های مورد بررسی به‌ترتیب، ۰/۵۲ و ۰/۸۷ بدست آمد.

انحراف از تعادل هاردی- وینبرگ برای تمام ترکیبات جایگاه ژنی- جمعیت محاسبه گردید (جدول ۳). انحراف از تعادل بالایی در اکثر جایگاه‌های ژنی مشاهده شد به‌طوری‌که بعد از اعمال ضریب تصحیح بونفرونی، از میان هجده تست جایگاه ژنی- جمعیت (سه جمعیت در شش جایگاه ژنی)، تنها دو تست شامل جایگاه‌های ژنی Bbar3 در منطقه تیل‌آباد و Bbar7 در منطقه توسکستان در تعادل قرار داشتند. شاخص F_{Is} بیان‌گر میزان آمیزش خویشاوندی است که مقادیر آن در تمام لکوس‌های مورد بررسی مثبت بدست آمد (جدول ۵). محاسبه جریان ژنی نیز در سطح لکوس‌ها (جدول۵) و در مقایسه میان جمعیت‌ها (جدول۶) انجام شد. بیشترین میزان جریان ژنی (۱۱/۶۹) میان دو منطقه توسکستان و تیل‌آباد و کمترین میزان آن (۶/۶۲)، بین زرین‌گل و توسکستان مشاهده شد.

جدول ۳- تنوع ژنتیکی شش جایگاه مورد بررسی برای گونه *P. hircanica*

منطقه/جایگاه		Bbar3	Bbar7	Bbar8	Bbar11	IC720	IC487
تیل‌آباد	Na	۱۰	۱۲	۱۶	۱۱	۱۳	۱۴
	Ne	۸/۲۹	۹/۰۱	۱۱/۰۴	۸/۰۸	۱۰/۵۹	۱۰/۳۱
	Ho	۰۰/۱	۳۹/۰	۵۰/۰	۰۰/۱	۵۰/۰	۱۴/۰
	He	۸۷/۰	۸۸/۰	۹۰/۰	۰/۸۷	۹۰/۰	۹۰/۰
	pHw	ns	***	***	*	***	***
توسکستان	Na	۱۶	۱۲	۱۲	۱۶	۸	۸
	Ne	۱۲/۵۴	۹/۵۶	۸/۸۰	۱۰/۵۲	۴/۸۷	۶/۱۴
	Ho	۰۰/۱	۸۵/۰	۵۰/۰	۷۱/۰	۱۰۷/۰	۱۴/۰
	He	۹۲/۰	۸۹/۰	۸۸/۰	۹۰/۰	۷۹/۰	۸۳/۰
	pHw	***	ns	***	*	***	***
زرین‌گل	Na	۹	۱۲	۱۳	۱۲	۱۳	۸
	Ne	۵۴/۴	۸/۹۰	۶/۷۰	۷/۶۸	۹/۸۰	۳۵/۵
	Ho	۳۵/۰	۶۴/۰	۲۵/۰	۳۲/۰	۸۹/۰	۰/۰۳
	He	۸۷/۰	۸۸/۰	۸۵/۰	۸۷/۰	۸۹/۰	۸۱/۰
	pHw	***	***	***	***	***	***

pHw: تست احتمال تعادل هاردی-وینبرگ پس از ضریب تصحیح بونفرونی (ns: عدم معنی‌داری، *p<۰/۰۵، **p<۰/۰۱، ***p<۰/۰۰۱)

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-12]

جدول ۴-مقادیر هتروزایگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار در سطح ۶ جایگاه ژنی در گونه *P. hircanica*

جایگاه ژنی	H_o	H_e
Bbar3	۰/۷۸	۰/۸۶
Bbar7	۰/۶۳	۰/۸۹
Bbar8	۰/۴۱	۰/۸۸
Bbar11	۰/۶۷	۰/۸۸
IC720	۰/۵۰	۰/۸۶
IC487	۰/۱۰	۰/۸۵
میانگین	۰/۵۲	۰/۸۷

جدول ۵- میزان ضرایب تمایز و درون آمیزی و جریان ژنی در جایگاه‌های مختلف در گونه *P. hircanica*

	Bbar3	Bbar7	Bbar8	Bbar11	IC487	IC720
Fst	۰/۰۳۸	۰/۰۱۸	۰/۰۳۵	۰/۰۳۰	۰/۰۲۸	۰/۰۳۱
F_{Is}	۰/۰۸۶	۰/۲۹۲	۰/۵۲۹	۰/۲۳۲	۰/۴۲۳	۰/۸۷۴
N_m	۶/۳۴	۱۳/۷۸	۶/۹۶	۸/۷۰	۸/۲۰	۶/۲۳

جدول۶-میزان جریان ژنی محاسبه شده در گونه *P. hircanica* بین مناطق مورد بررسی

مناطق نمونه برداری	تیل‌آباد	توسکستان	زرین‌گل
تیل‌آباد	۰/۰۰۰		
توسکستان	۱۱/۶۹	۰/۰۰۰	
زرین‌گل	۶/۶۲	۸/۶۲	۰/۰۰۰

مقدار F_{st} به‌عنوان معیاری برای جدایی جمعیت‌ها، براساس آزمون واریانس مولکولی و احتمال ۹۹ درصد بین نمونه‌های مناطق مورد بررسی محاسبه گردید. همان‌طورکه در جدول (۷) پیداست، حداکثر میزان این شاخص بین نمونه‌های زرین‌گل و تیل‌آباد (۰/۰۳۰) بدست آمد و کمترین اختلاف بین نمونه‌های توسکستان و تیل‌آباد (۰/۰۱۶) مشاهده شد. مقادیر F_{st} بالاتر از ۰/۲۵ نشان‌دهنده جدایی کامل جمعیت‌ها از یکدیگر می‌باشد که در بررسی حاضر در هیچ یک از نتایج بدست آمده F_{st} به عدد مذکور نرسید. متوسط F_{st} در این بررسی ۰/۰۲۸ بدست آمد. همچنین با توجه به نتایج حاصله می‌توان بیان داشت که درصد بسیار بالایی از تنوع (۹۷ درصد) مربوط به درون جمعیت‌ها می‌باشد این در حالیست که تنوع بین جمعیت‌ها بسیار پائین (۳ درصد) بدست آمد.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-12]

جدول۷- میزان Fst بر اساس فراوانی در گونه *P. hircanica* برای مناطق نمونه‌برداری

مناطق نمونه‌برداری	تیل‌آباد	توسکستان	زرین‌گل
تیل‌آباد	۰/۰۰۰		
توسکستان	۰/۰۱۶	۰/۰۰۰	
زرین‌گل	۰/۰۳۰	۰/۰۲۵	۰/۰۰۰

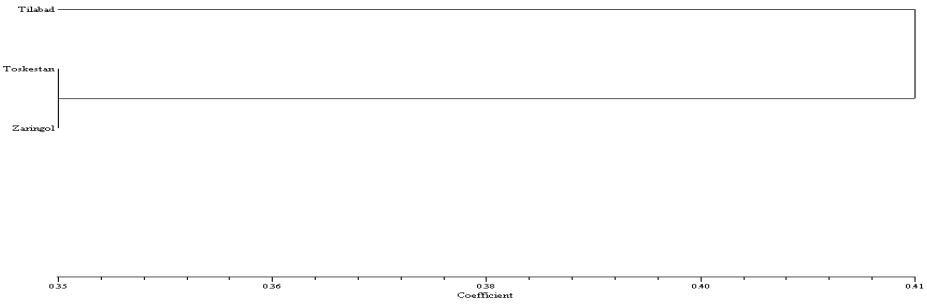
جهت محاسبه شباهت و فاصله ژنتیکی از معیار «نی» (Nei, 1978) استفاده شد. بر این اساس بیشترین فاصله ژنتیکی بین نمونه‌های مناطق زرین‌گل و تیل‌آباد (۰/۴۷) و کمترین فاصله بین نمونه‌های مناطق زرین‌گل و توسکستان (۰/۳۴) مشاهده شد (جدول ۸).

جدول۸- ماتریس شباهت و فاصله ژنتیکی در گونه *P. hircanica*

مناطق نمونه‌برداری	تیل‌آباد	توسکستان	زرین‌گل
تیل‌آباد	۰/۰۰۰	۰/۷۰۰	۰/۶۲
توسکستان	۰/۳۵	۰/۰۰۰	۰/۳۴
زرین‌گل	۰/۴۷	۰/۳۴	۰/۰۰۰

اعدای بالای و پایین قطر به‌ترتیب نشان دهنده شباهت و تفاوت ژنتیکی می‌باشد.

دندروگرام UPGMA بر اساس فاصله ژنتیکی حاکی از جدایی نمونه‌های استان گلستان بود به‌نحوی‌که در یک گروه منطقه تیل‌آباد و در گروه دیگر مناطق توسکستان و زرین‌گل قرار گرفتند (شکل ۲).



شکل ۲- دندوگرام UPGMA برای نشان دادن روابط فیلوژنتیک بین نمونه‌های مناطق مختلف در گونه *P. hircanica*

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-12]

بحث و نتیجه‌گیری

امروزه نشانگرهای ریزماهواره به‌دلیل مزایای بیشتر، کاربرد گسترده‌تری نسبت به سایر نشانگرها در مطالعات ژنتیک جمعیت و تنوع ژنتیکی دارند (Liu and Cordes, 2004). متأسفانه گونه *P. hircanica* فاقد جایگاه ژنی اختصاصی بوده و جایگاه‌های مورد استفاده در این بررسی از مطالعات انجام شده توسط تیلور و همکاران (Taylor *et al*., 2001) روی گونه *Barbatula barbatula* و بانگ و همکاران (Bang *et al*., 2009) روی گونه *Iksookimia choii* انتخاب شدند. هر شش جایگاه مورد استفاده در این تحقیق، چندشکلی نشان دادند. تعداد متوسط الل‌ها در هر جایگاه از مقیاس‌های رایج محاسبه تنوع جمعیت در اطلاعات حاصل از نشانگرهای ژنتیکی می‌باشد به‌طوری‌که کاهش تعداد الل‌های مشاهده شده در سطوح جمعیتی می‌تواند بیان‌گر کاهش تنوع ژنتیکی باشد (Lind *et al*., 2009). در واقع، بالا بودن غنای اللی نشان‌دهنده بالا بودن اندازه جمعیت مؤثر است (Diz and Presa, 2009).

هتروزیگوسیتی نیز شاخص بسیار مهمی برای ارزیابی تنوع ژنتیکی بوده و در مطالعات ساختار جمعیت گونه‌ها ارزش بسیاری دارد زیرا هر هتروزیگوت ناقل الل‌های متفاوتی بوده که نشان‌دهنده تنوع است. در بررسی حاضر، تفاوت معنی‌داری از نظر تعداد الل و هتروزایگوسیتی بین نمونه‌های مناطق مورد بررسی مشاهده نشد ($p>0/05$). تعداد الل و هتروزیگوسیتی مشاهده شده به‌ترتیب در محدوده ۱۶-۸ (تعداد متوسط: ۱۱/۹۴) و ۱/۰۰-۰/۰۳ (میانگین: ۰/۵۲) بدست آمد. دوودی و آویس (Dewoody and Avise, 2000)، در بررسی تنوع مایکروستلایتی سه جمعیت ماهیان آب شیرین، دریایی و آنادروموس نشان دادند که روند افزایش هتروزیگوسیتی و تنوع ژنتیکی از ماهیان آب شیرین به سمت ماهیان آنادروموس و سپس دریایی محسوس می‌باشد. آن‌ها با بررسی ۴۰۰۰۰ نمونه متعلق به ۷۸ گونه آب شیرین، بیان داشتند که متوسط تعداد الل برای این ماهیان معمولاً ۷/۵ می‌باشد. با توجه به این موضوع، تعداد متوسط الل و هتروزیگوسیتی مشاهده شده برای گونه *P. hircanica* (۱۱/۹۴) بالاتر از تعداد گزارش شده برای ماهیان آب شیرین می‌باشد. میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده (۰/۵۲) در این بررسی نیز قدری بالاتر از میزان گزارش شده برای ماهیان آب شیرین (۰/۴۶) بدست آمد. بررسی‌ها نشان داده که ارزیابی غنای اللی نسبت به هتروزیگوسیتی در مطالعات تنوع ژنتیکی دارای ارزش بالاتری بوده به‌طوری‌که هتروزیگوسیتی بیشتر مبتنی بر تغییرات تصادفی در فراوانی ژن‌ها می‌باشد (Diz and Presa, 2009). بنابراین با توجه به غنای اللی مشاهده شده می‌توان اذعان داشت که گونه مورد نظر از نظر تنوع ژنتیکی در شرایط مناسبی قرار دارد.

در شرایط بزرگ بودن بیش از اندازه جمعیت، تصادفی بودن آمیزش‌ها و عدم وجود جهش، به‌گزینی و مهاجرت، فراوانی اللی و ژنوتیپی می‌تواند از نسلی به نسل دیگر ثابت بماند که تحت عنوان تعادل هاردی- واینبرگ بیان می‌شود. با توجه به این موضوع، انتظار انحراف از تعادل هاردی- واینبرگ

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-12]

در جمعیت‌های وحشی وجود دارد (Dixon *et al.*, 2008). در این بررسی اغلب نمونه‌ها پس از اعمال ضریب تصحیح بونفرونی انحراف معنی‌داری از تعادل نشان دادند. در این راستا، کسری هتروزیگوسیتی مشاهده شده در برخی جایگاه‌ها می‌تواند به‌عنوان یک عامل عمده انحراف از تعادل مطرح باشد. در واقع با مقایسه مقادیر هتروزیگوسیتی، مشاهده می‌شود که میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده از میزان هتروزیگوسیتی مورد انتظار کمتر بوده است. دلایل زیستی چنین کسری به خوبی شناخته نشده و فاکتورهای زیادی همچون اثر وهلاند، درون‌آمیزی و الل نول برای توضیح آن مطرح شده‌اند. در این خصوص، با توجه به نتایج حاصل از نرم‌افزار Microchecker، وجود الل‌های نول را می‌توان به‌عنوان عاملی مهم در کسری مشاهده شده معرفی نمود. جدا از دلایل بیولوژیکی معمول در ایجاد کسری هتروزیگوسیتی، ریزماهواره‌ها نیز به‌طور خاص مستعد این پدیده می‌باشند (Diz and Presa, 2009).

در بررسی شاخص درون‌آمیزی، میزان متوسط F_{IS} ۰/۴۰۶ بدست آمد که چون این مقدار بیشتر از صفر است، می‌تواند بیانگر کاهش هتروزیگوسیتی باشد. میزان F_{St} نیز به‌عنوان یک شاخص مهم جهت تفکیک و تمایز ژنتیکی بین جمعیت‌ها (Ballox and Lugon-Moulin, 2002) مورد ارزیابی قرار گرفت. بر اساس معیار رایت (Wright, 1978) مقادیر F_{St} از ۰ تا ۰/۰۵ میزان کم تمایز ژنتیکی، ۰/۰۵ تا ۰/۱۵ مقدار متوسط و ۰/۱۵ تا ۰/۲۵ مقدار بالای تمایز را نشان می‌دهد. با توجه به نتایج حاصل از این بررسی تمایز بین نمونه‌ها در محدوده ۰-۰/۰۵ قرار دارد. اگرچه متوسط F_{st} بدست آمده در این بررسی پایین می‌باشد، اما ممکن است تمایز ژنتیکی مهمی را نمایان سازد (Alam and Islam, 2005). در این راستا، بیشترین میزان تمایز ژنتیکی بین نمونه‌های مناطق زرین‌گل و تیل‌آباد مشاهده شد. این درحالی بود که نتایج حاصل از بررسی جریان ژنی بین نمونه‌های مناطق مختلف نیز مؤید وجود پایین‌ترین میزان جریان ژنی بین دو منطقه مذکور بود. همچنین کمترین تمایز ژنتیکی و بالاترین میزان جریان ژنی میان نمونه‌های مناطق توسکستان و تیل‌آباد مشاهده شد که با توجه به به‌هم پیوستن این دو رودخانه در گرگان‌رود، این مسئله منطقی می‌باشد. جریان ژنی بالا می‌تواند ناشی از مهاجرت طبیعی بین مناطق باشد. این موضوع به‌ویژه در رودخانه‌هایی که باهم در ارتباط هستند می‌تواند منجر به کاهش تنوع و تمایز ژنتیکی بین افراد گردد. در واقع، با تبادل افراد، تبادل ژن‌ها نیز پیش می‌آید و تبادل بیشتر منجر به کم شدن تمایز ژنتیکی بین جمعیت‌ها می‌گردد. نتایج حاصل از آنالیز واریانس مولکولی نیز حاکی از تباین ژنتیکی بالا در داخل گروه‌ها بوده به‌طوری‌که ۹۷٪ تنوع مشاهده شده در داخل جمعیت‌ها و تنها ۳٪ تنوع در بین نمونه‌های مناطق مورد بررسی مشاهده گردید. این موضوع بیانگر آن است که بین جمعیت‌های مختلف ساختار ژنتیکی بارزی وجود ندارد (Diz and Presa, 2009). در بررسی مقادیر شباهت و فاصله ژنتیکی بر اساس معیار «نی» نیز، بالاترین و پایین‌ترین میزان فاصله ژنتیکی به‌ترتیب بین نمونه‌های مناطق زرین‌گل با تیل‌آباد و زرین‌گل با توسکستان مشاهده شد.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-12]

بررسی‌ها نشان می‌دهد که در میان معیارهای فاصله ژنتیکی، معیار فاصله ژنتیکی « نی» مبین ارزیابی دقیق‌تری بوده و در ترسیم فیلوژنوگرافی نیز کارآیی بهتری دارد (King *et al.*, 2001). بر اساس مقادیر فاصله ژنتیکی و دندروگرام UPGMA بدست آمده می‌توان عنوان نمود که احتمالاً دو جمعیت جدا از گونه *P. hircanica* در مناطق مورد بررسی در استان گلستان وجود دارد.

منابع

Abdoli A., Golzarianpoor K., Kiabi K.H., Patimar R. 2011. Status of the endemic loaches of Iran. Folia Zooligica, 60(4): 362-367.

Alam M.S., Islam M.S. 2005. Population genetic structure of *Catla catla* (Hamilton) revealed by microsatellite DNA markers. Aquaculture, 246: 151–160.

Amooee E., Shabani A., Kolangi H. 2014. Genetic diversity of stone loach *Paraschistura nielseni* in rivers of Shapour (Fars Province), dalaki and Mend (Boushehr Province) using microsatellite markers. Journal of Aquatic Ecology, 4(2): 71-79. (In Persian).

Angers B., Bernatchez L. 1998. Combined use of SMM and non SMM methods to infer fine structure and evolutionary history of brook charr (*Salvelinus fontinalis*) populations from microsatellites. Molecular Biology Evolution, 15: 143–159.

Askari G.H., Shabani A., Ghodsi Z., Noferesti H. 2014. Genetic comparison of *Oxynoemacheilus Kiabii* (Golzarianpour, Abdoli and Frehof 2011) from Gamasiab River in Kermanshah and Hamadan Province, using microsatellite markers. Modern Genetics Journal, 3: 387-390. (In Persian).

Avise J.C. 2000. Phylogeography: The history and formation of species. Harward University Press. USA, 447 p.

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

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.

Benbouza H., Jacquemin J.M., Baudoin J.P., Mergeai G. 2006. Optimization of the reliable, fast, cheap and sensitive silver staining method to detect SSR markers in polyacrylamide gels. Biotechnology Agronomic Society, Environment, 10: 77-81.

Ciftci Y., Okumus I. 2002. Fish Population Genetics and Applications of Molecular Markers to Fisheries and Aquaculture: I-Basic Principles of Fish Population Genetics. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Science, 2: 145-155.

Coad B.W. 2014. Freshwater Fishes of Iran (Available at http://www.briancoad.com).

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-12]

Dewoody J.A., Avise J.C. 2000. Microsatellite variation in Marine, freshwater and anadromous fishes compare with other. Animal Journal of Fish Biology, 56: 461-473.

Dixon T.J., Coman G.J., Arnold S.J., Sellars M.J., Lyons R.E., Dierens D., Preston N.P., Li Y. 2008. Shifts in genetic diversity during domestication of Black Tiger shrimp, *Penaeus monodon*, monitored using two multiplexed microsatellite systems. Aquaculture, 283: 1–6.

Diz P.A., Presa P. 2009. The genetic diversity pattern of *Mytilus alloprovincialis* in Galician Rias (NW Iberian estuaries). Aquaculture, 287(3–4): 278–285.

Dunham R.A. 2004. Aquaculture and Fisheries Biotechnology Genetic Approaches. CABI Publishing, 400p.

Hillis D.M., Moritz C., Mable B.K. (eds). 1996. Molecular systematic. 2nd edn. Sinauer Associates Inc. Sunderland, 125 p.

Keivany Y. 2008. A Summary of the Phylogenetic Classification of Fishes. Isfahan University of Technology Press, Iran, 200 p. (In Persian)

King T.L., Kalinowski S.T., Schill W.B., Spidle A.P., Lubinski B.A. 2001. Population structure of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.), a range-wide perspective from microsatellite DNA variation. Molecular Ecology, 10: 807-821.

Kolangi-Miandare H., Askari G.H. 2014. Genetic population structure and differentiation of Western Iranian *Oxynoemacheilus argyrogramma* (Heckel, 1847) using SSR markers. Molecular Biology Research Communications, 3(3): 197-204.

Lin Y.S., Poh Y.P., Lin S.M., Tzeng C.S. 2002. Molecular techniques to identify freshwater eels. Zoological Studies, 41(4): 421-430.

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 Z.J. 2007. Aquaculture Genome Technologies. Blackwell Publishing, Oxford.

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

Lucentini L., Palomba A., Gigliarelli L., Sgaravizzi G., Lancioni H., Lanfaloni L., 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.

Ludwig A.A. 2006. Sturgeon view on conservation genetics. European Journal of Wild Research, 52: 3-8.

Mousavi-Sabet H., Sayyadzadeh G., Esmaeili H.R., Eagderi S., Patimar P., Freyhof F. 2015. Paracobitis hircanica,a new crested loach from the southern Caspian Sea basin (Teleostei: Nemacheilidae). Ichthyological Exploration of Freshwaters, 25(4): 339-346.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-12]

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

Oosterhout C.V., Hutchinson W.F., Wills D.P.M., Shipley P. 2004. Micro-checker: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. Molecular Ecology Notes, 4: 535-538.

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.

Rashed M.A., Saad Y.M., Atta A.H., Ahmed N.E. 2011. Reconstruction of phylogenetic relations among Four Tilapia species. World Applied Science Journal, 3(14): 456-462.

Raymond M., Rousset F. 1995. GENEPOP (Ver. 1.3): Population genetic software for exact tests and ecumenicisim. Journal of Heredity, 86: 248-249.

Taylor M., Blust R., Verheyen E. 2001. Characterization of microsatellite loci in stone loach, *Barbatula barbatula* L. Molecular Ecology Notes, 1: 96-97.

Verspoor E., Jordan W.C. 1989. Genetic variation at the Me-2 locus in the Atlantic salmon within and between rivers: evidence for its selective maintenance. Fish Biology, 35: 205-213.

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

Wright S. 1978. Evolution and the genetics of populations. Volume 4: Variability within and Among Natural Populations. University of Chicago Press, Chicago, 590p.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-12]

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-12]