نشریه شیلات، مجله منابع طبیعی ایران
دوره ٦٦، شماره ٢، تابستان ١٣٩٢

تاریخ دریافت: ١٣٩٠/٩/١٢
تاریخ پذیرش: ١٣٩١/١٠/٣٠

ارزیابی مقایسه‌ای تنوع ژنتیکی جمعیت قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) پرورشی استان لرستان و جمعیت وارداتی از فرانسه

ابوالفتح علیپور؛ کارشناس ارشد رشتهٔ تکثیر و پرورش آبزیان دانشکدهٔ منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان
سالار درافشان*؛ استادیار گروه شیلات، دانشکدهٔ منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان
سید احمد قاسمی؛ عضو هیئت علمی مرکز پژوهش‌های خلیج فارس، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر

چکیده

با توجه به اهمیت مطالعهٔ تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیت در مدیریت و انتخاب مولدین شایسته برای تکثیر در کارگاه‌ها، تنوع ژنتیکی جمعیت قزل‌آلای رنگین‌کمان پرورشی استان لرستان و جمعیت وارداتی از فرانسه با استفاده از ٤ جفت آغازگر ریزماهواره OMY٣٢٥ ، MM١٣٢٩، OMY٧٧ و OMM١٣٣٢ روی ٣٠ قطعه ماهی نمونه‌برداری‌شده از هر جمعیت، از مرکز تکثیر و پرورش قزل‌آلای پاچنار در استان لرستان، ارزیابی شد. پس از بهینه‌سازی واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز، میانگین تعداد آلل مشاهده‌شده در جمعیت پرورشی لرستان و فرانسوی به ترتیب معادل ١٠/٧٥ و ١٠ محاسبه شد. میانگین تعداد آلل مؤثر در این ٢ جمعیت به ترتیب ٧/٤٣ و ٧/١٩ بود. دامنهٔ باندی در جایگاه‌های MY٣٢٥، MM١٣٢٩، OMY٧٧ و OMM١٣٣٢ به ترتیب ١٠٢-١٧٨، ١٠٠-١٥٠، ١٢٢-١٩٨ و ١٧٢-٢٠٤ جفت باز بود. میانگین هتروزایگوسیتی مشاهده‌شده در جمعیت لرستان ٠/٥٩١ و فرانسوی ٠/٥٦٦ بود. میانگین هتروزایگوسیتی مورد انتظار در این ٢ جمعیت به ترتیب ٠/٨٦١ و ٠/٨٥٤ بود. نتایج مولکولی انحراف از تعادل هاردی- واینبرگ را در ٧ تست از ٨ تست مورد بررسی (جایگاه × جمعیت) نشان داد. همچنین، نتایج بیانگر افزایش نسبی هتروزایگوسیتی مشاهده‌شده نسبت به هتروزایگوسیتی مورد انتظار در جایگاه OMY٣٢٥ هر ٢ جمعیت بود. از کل تنوع ژنتیکی مشاهده‌شده، مقدار اندکی (٦٪) مربوط به بین جمعیت‌ها و بخش اعظم آن (٩٤٪) مربوط به درون جمعیت‌ها بود. همچنین، میزان شباهت و فاصلهٔ ژنتیکی بین جمعیت‌ها به ترتیب ٠/٧٩١ و ٠/٢٣٤ محاسبه شد. میزان FST معادل ٠/٠١٧ بود. به طور کلی، نتایج این تحقیق بیانگر شباهت ژنتیکی درخور توجه بین ٢ جمعیت مورد بررسی است.

واژگان کلیدی: تنوع ژنتیکی، تمایز ژنتیکی، ریزماهواره، قزل‌آلای رنگین‌کمان، *Oncorhynchus mykiss*.

* نویسنده مسئول تلفن: ٠٣١١ ٣٩١٣٥٨٠
E. mail: sdorafshan@cc.iut.ac.ir

۱. مقدمه

ماهیان سردابی در بین ماهیان پرورشی از اهمیت ویژه‌ای برخوردارند؛ خصوصاً قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)، به علت کیفیت مطلوب، به‌منزلهٔ غذایی بازارپسند و لذیذ مورد توجه است (Maitland, 2000). سالانه میلیون‌ها قطعه بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با استفاده از تکثیر مصنوعی تولید و پرورش داده می‌شود، اما در این بین مسائل مربوط به ذخایر ژنتیکی، حفظ بانک ژنی، دورگه‌گیری و جلوگیری از هم‌خونی کمتر مدنظر قرار گرفته است. تکثیر غیراصولی و غیرعلمی در مزارع پرورشی و مراکز تکثیر سبب ایجاد اختلالات ژنتیکی و هم‌خونی در نسل مولدین و بروز صفات نامطلوب ناشی از آن شده است. به طور کلی، مدیریت تنوع ژنتیکی در موجودات نیازمند ارزیابی ساختار ژنتیکی و تفکیک ذخایر گونهٔ مورد نظر است. بنابراین، آگاهی و بررسی دائمی وضعیت ژنتیکی گونه‌هایی که در معرض تکثیر مصنوعی قرار دارند، برای حفاظت و مدیریت آنها، ضروری است (Pujolar *et al*., 2009). در میان نشانگرهای مولکولی، که در مطالعات ژنتیک جمعیت استفاده می‌شوند، ریزماهواره‌ها به علت فراوانی و گستردگی بالا در ژنوم، هم‌بارزبودن، توارث مندلی، کوچک‌بودن اندازهٔ جایگاه ژنی، سهولت تعیین ژنوتیپ از طریق واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز همچنین، چندشکلی بالا مناسب‌ترند (Dewoody and Avise, 2000; Chen *et al*., 2008). مطالعات مولکولی متعددی در زمینهٔ ساختار ژنتیکی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان پرورشی و وحشی، با استفاده از ریزماهواره‌ها، صورت گرفته است. وYoon همکاران، در سال ۲۰۰۷، در مطالعهٔ آنالیز میتوکندریایی و ریزماهوارهٔ جمعیت‌های آزادماهی چام (*Oncorhynchus keta*)، تنوع ژنتیکی بالایی را در روش ریزماهواره نسبت به روش دی.ان.ا میتوکندریایی مشاهده و اعلام کردند که بهتر است در مطالعهٔ ساختار جمعیتی از هر ۲ نشانگر استفاده شود. Glover، در سال ۲۰۰۸، برای تعیین ساختار ژنتیک سویه‌های مختلف قزل‌آلای رنگین‌کمان در نروژ ۷ ذخیرهٔ پرورشی (هر ذخیره حاوی ٤٧ قطعه ماهی) را از ٦ مزرعه جمع‌آوری و با استفاده از ۱۲ جایگاه ریزماهواره بررسی کرد. همهٔ نمونه‌ها تنوع ژنتیکی درخور توجهی را در تمامی جایگاه‌ها نشان دادند. گسترهٔ تعداد آلل در هر جایگاه هر سویه بین ٥/٤–٨/٦ محاسبه شد. Pavlov و همکاران در سال ۲۰۱۱، با استفاده از ۱۰ جایگاه ریزماهواره، تمایز ژنتیکی جمعیت‌های مختلف قزل‌آلای رنگین‌کمان کامچاتکا را در مناطق مختلف بررسی کردند. نتایج آنها بیانگر حضور ۳ جمعیت متفاوت از این گونه (جمعیت‌های شمال غربی، جنوب غربی و شرقی) بود. بنابراین، به‌رغم ارزش اقتصادی درخور توجه این گونه، به‌منزلهٔ ماهی پرورشی در ایران، و نبود مطالعات جمعیتی در مورد آن با استفاده از نشانگر ریزماهواره، این تحقیق به منظور ارزیابی تنوع ژنتیکی ۲ جمعیت پرورشی از قزل‌آلای رنگین‌کمان در کشور طراحی و اجرا شد.

۲. مواد و روش‌ها

۱.۲. جمعیت‌های پرورشی نمونه‌برداری‌شده

انتخاب جمعیت‌های اصیل از گونهٔ مورد مطالعه، با توجه به وجود جمعیت‌های پرورشی از کشورهای مختلف نظیر امریکا، فرانسه، اسپانیا، استرالیا، دانمارک، ایتالیا و اخیراً آلمان در مزارع مختلف کشور و نیز نبود ثبت دقیق اطلاعات مرتبط با اختلاط جمعیت‌ها با یکدیگر در بسیاری از مراکز، امری بسیار دشوار و خطیر بود. بنابراین، از بین مراکز مختلف در استان لرستان، مرکز تکثیر و پرورش قزل‌آلای پاچنار واقع در ازنا در استان لرستان، که مورد تأیید سازمان دامپزشکی کشور و سازمان شیلات ایران بود، انتخاب شد. این مرکز دارای ۲ ذخیرهٔ مجزای ماهی قزل‌آلا: یکی حاصل از تخم وارداتی از منشأ فرانسه، که در زمان نمونه‌برداری هنوز به بلوغ جنسی نرسیده بودند، و دیگری ماهیان مولد نگهداری‌شده در مرکز از سالیان گذشته بود که، با توجه به بررسی صورت‌گرفته، به‌منزلهٔ جمعیت پرورشی لرستان مطرح شدند؛ چرا که این مرکز یکی از مراکز قدیمی و بزرگ تکثیر و پرورش قزل‌آلای رنگین‌کمان در غرب کشور، خصوصاً استان

لرستان، است که در توسعهٔ آبزی‌پروری در غرب کشور نقش ویژه‌ای داشته و دقت نظر کافی در تفکیک مناسب جمعیت‌های مختلف را اعمال کرده است. نمونه‌برداری از مرکز فوق از ۲ جمعیت پرورشی لرستان و فرانسوی (هر یک به تعداد ۳۰ قطعه) در مهر ۱۳۸۹ صورت گرفت. سپس، نمونه‌ها در تیوپ حاوی الکل ۹۶ درصد قرار داده شدند. اطلاعات هر نمونه با استفاده از برچسب روی تیوپ‌ها درج شد و، برای انجام‌دادن آزمایش مولکولی و استخراج دی.ان.ا، نمونه‌ها به آزمایشگاه ژنتیک و بیوتکنولوژی، دانشکدهٔ منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان منتقل و در دمای ٤ ^{o}C درون یخچال نگهداری شدند.

۲.۲. استخراج دی.ان.ا

برای استخراج دی.ان.ا، از روش استات آمونیوم استفاده شد (Appleyard *et al.,* 2002). پس از آن، به هر یک از ویال‌های حاوی دی.ان.ا استخراج‌شده پس از خشک‌شدن مقدار ۵۰-۲۵ µl آب مقطر تزریقی اضافه شد و به مدت ٢٤ ساعت به منظور حل‌شدن دی.ان.ا در یخچال قرار داده شدند. کیفیت دی.ان.ا استخراج‌شده بر اساس روش الکتروفورز ژل آگارز ۱ درصد و میزان فلورسانس ترکیب اتیدیوم بروماید جذب‌شده به وسیلهٔ دی.ان.ا روی دستگاه ترانس لومیناتور (TCP-۲۰. MCVilber lourmant, France) ارزیابی شد.

۳.۲. واکنش‌های زنجیره‌ای پلی‌مراز (پی.سی.آر)

برای بررسی تنوع ژنتیکی بین ۲ جمعیت این ماهی، از ٤ جفت آغازگر (OMY۳۲۵،OMY۷۷ ، OMM۱۳۳۲ و OMM۱۳۲۹) ریزماهوارهٔ پلی‌مورف استفاده شد که دارای فراوانی آللی بیشتری در مطالعات پیشین بودند و تنوع جمعیت‌ها را به خوبی نشان می‌دادند (جدول ۱). تکثیر جایگاه‌های ژنی با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز در حجم ۱۰ میکرولیتری و شرایطی شامل یک میکرولیتر دی.ان.ا، ۰/٤ میکرولیتر از هر آغازگر (۱۰pM)، ۰/۲ میکرولیتر از نوکلئوتیدها (۱۰mM)، ۰/۱٦ میکرولیتر Taq پلی‌مراز شرکت سیناژن ایران (۵u/µl)، یک میکرولیتر بافر ۱۰XPCR، ۰/۲ میکرولیتر کلرید منیزیم (۵۰mM) و آب مقطر تا رسیدن به حجم ۱۰ میکرولیتر انجام گرفت. شرایط چرخهٔ دمایی برای هر جایگاه ژنی شامل ۳ دقیقه در ۹٤ درجه در ادامه ۳۵ چرخه شامل ۹٤ درجه برای ٦۰ ثانیه، درجهٔ حرارت اتصال (جدول ۱) ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه برای ٤۵ ثانیه، با یک بسط نهایی ۷۲ درجه برای ۵ دقیقه بود. نتایج روی ژل اکریلامید ۱۲% با رنگ‌آمیزی نیترات نقره به همراه مارکر ۵۰bp از شرکت Fermentas بررسی و شاخص‌هایی نظیر هتروزایگوسیتی مشاهده‌شدهٔ Ho، هتروزایگوسیتی مورد انتظار He، I (شاخص شانون)، X۲، FIS (ضریب هم‌خونی)، FST، میزان تفاوت ژنتیکی D، تعداد آلل مشاهده‌شده Na و تعداد آلل مورد انتظار Ne همچنین، انحراف از تعادل هاردی - واینبرگ بین و درون جمعیت‌ها با استفاده از نرم‌افزارهای (۲۰۰۷) Excel و GenAlex ٦,٤ انجام گرفت.

جدول ۱. نام جایگاه، محدودهٔ باندی، دمای اتصال و میانگین تعداد آلل مشاهده‌شده در جمعیت‌های مختلف قزل‌آلای رنگین‌کمان در هر مطالعه

ردیف	نام جایگاه	محدودهٔ باندی (جفت باز)	دمای اتصال °C	تعداد آلل مشاهده‌شده (Na)	مأخذ
۱	OMY۳۲۵	۱۰۰-۱۵۰	۵۸/۵	۱۲	(Morris *et al.*, ۱۹۹۶)
۲	OMM۱۳۲۹	۱۲۲-۱۹۸	۶۰	۱۲/۵	(Palti *et al.*, ۲۰۰۲)
۳	OMY۷۷	۱۰۲-۱۷۸	۶۲/۵	۱۰/۲۵	(O'Connell *et al.*, ۱۹۹۷)
۴	OMM۱۳۳۲	۱۷۲-۲۰۴	۶۱/۵	۸/۵	(Palti *et al.*, ۲۰۰۲)

۳. نتایج

تمامی ٤ جایگاه ژنی ریزماهواره‌ای مورد استفاده پلی‌مورف بودند. قطعات تکثیرشده در ٤ جایگاه ریزماهواره در پی.سی.آر دامنه‌های متفاوتی را نشان دادند. کوچک‌ترین قطعه مربوط به جایگاه OMY۳۲۵ با طول ۱۰۰-۱۵۰ جفت باز بود. بزرگ‌ترین قطعه نیز در جایگاه OMM۱۳۳۲ با طول ۱۷۲-۲۰٤ جفت باز مشاهده شد (جدول ۱). بیشترین تعداد آلل مشاهده‌شده (Na) در جایگاه OMY۳۲۵ در جمعیت فرانسوی و OMM۱۳۲۹ در جمعیت پرورشی لرستان (۱۳) و کمترین آن در جایگاه OMM۱۳۳۲ در هر ۲ جمعیت (۸) مشاهده شد. بر اساس آزمون مربع کای به جز جایگاه OMY۷۷ در نمونه‌های جمعیت فرانسوی خروج از تعادل هاردی- واینبرگ در همهٔ جایگاه‌ها مشاهده شد (جدول ۳). میانگین هتروزایگوسیتی مورد انتظار (He) و هتروزایگوسیتی مشاهده‌شده (Ho) به ترتیب ۰/۸۵۷ و ۰/۵۷۷ به دست آمد که میزان هتروزایگوسیتی مشاهده‌شده در نمونه‌های جمعیت پرورشی لرستان ۰/۵۹۱ و فرانسوی ۰/۵٦٦ و میزان هتروزایگوسیتی مورد انتظار در ۲ جمعیت مورد بررسی به ترتیب ۰/۸٦۱ و ۰/۸۵٤ بود (جدول ۲). نتایج بررسی آلل‌های اختصاصی در ٤ جایگاه مورد مطالعه بین ۲ جمعیت مورد بررسی به شرح زیر بود. در جایگاه OMM۱۳۳۲ آلل اختصاصی برای هیچ‌یک از جمعیت‌ها مشاهده نشد. به بیان دیگر، آلل‌های مشاهده‌شده بین ۲ جمعیت یکسان، اما با فراوانی متفاوت بودند. در جایگاه OMY۳۲۵، فقط یک آلل اختصاصی برای جمعیت فرانسوی در اندازهٔ باندی ۱٤٤ جفت باز مشاهده شد. در جایگاه OMY۷۷، جمعیت پرورشی لرستان دارای ۳ آلل اختصاصی ۱۰۲، ۱۱۰ و ۱۳۸ جفت بازی و جمعیت فرانسوی دارای ۲ آلل اختصاصی ۱۵۸ و ۱۷٤ جفت باز بود. بیشترین آلل اختصاصی جمعیت پرورشی لرستان در جایگاه OMM۱۳۲۹ با ۵ آلل ۱۲٦، ۱۳۸، ۱٤۲، ۱٦٦و ۱۷۸ جفت باز مشاهده شد؛ در حالی که، جمعیت فرانسوی در این جایگاه فقط یک آلل اختصاصی با اندازهٔ ۱۷۰ جفت باز را دارا بود. شاخص اطلاعات شانون برای هر ۲ جمعیت نمونه‌برداری‌شده و به ازای ٤ جایگاه مورد مطالعه محاسبه شد که نتایج آن در جدول ۲ ارائه شده است. بیشترین مقدار شاخص شانون (۲/۳۹) در جایگاه OMY۳۲۵ در جمعیت فرانسوی و کمترین مقدار آن (۱/۸۳) در جایگاه OMM۱۳۳۲ در نمونه‌های جمعیت فرانسوی بود. برای اندازه‌گیری تمایز جمعیت در سطوح مختلف ساختار ژنتیکی از عامل FST استفاده شد که مقدار FST بر اساس فراوانی بین نمونه‌های جمعیت پرورشی لرستان و فرانسوی به میزان ۰/۰۱۷ محاسبه شد.

جدول ۲. تعداد آلل واقعی و مؤثر، تنوع ژنتیکی و شاخص شانون ٤ جایگاه مورد مطالعه در قزل‌آلای رنگین‌کمان

جمعیت	جایگاه	OMY۳۲۵	OMM۱۳۲۹	OMY۷۷	OMM۱۳۳۲	میانگین
پرورشی لرستان	Na	۱۱	۱۳	۱۱	۸	۱۰/۷۵
	Ne	۹/۰۹	۶/۵۹	۸/۰۳	۶	۷/۴۳
	Ho	۰/۹۳	۰/۴۶	۰/۷۳	۰/۲۳	۰/۵۹۱
	He	۰/۸۹	۰/۸۴	۰/۸۷	۰/۸۳	۰/۸۶۱
	I	۲/۲۸	۲/۱۴	۲/۱۸	۱/۸۹	۲/۱۲
فرانسوی	Na	۱۳	۹	۱۰	۸	۱۰
	Ne	۹/۷۳	۶/۸۹	۶/۷۶	۵/۴۰	۷/۱۹
	Ho	۱	۰/۱۳	۰/۸۳	۰/۳۰	۰/۵۶
	He	۰/۸۹	۰/۸۵	۰/۸۵	۰/۸۱	۰/۸۵
	I	۲/۳۹	۲/۰۵	۲/۰۵	۱/۸۳	۲/۰۸

Na: تعداد آلل مشاهده‌شده، Ne: تعدادآلل مؤثر، Ho: هتروزایگوسیتی مشاهده‌شده، He: هتروزایگوسیتی مورد انتظار.

با توجه به آنالیز واریانس مولکولی، نتایج FST آنالیز واریانس مولکولی در سطح ۹۹ درصد نشان داد که تنوع ژنتیکی درون ۲ جمعیت حدود ۹٤ درصد و بین جمعیت‌ها معادل ٦ درصد از کل تنوع ژنتیکی محاسبه‌شده را شامل می‌شود. شاخص درون‌آمیزی (FIS) در سطح جایگاه‌ها بررسی شد. بیشترین میزان شاخص درون‌آمیزی (FIS) مشاهده‌شده مربوط به جایگاه OMM۱۳۲۹ در جمعیت فرانسوی (۰/۸۱۱) و کمترین میزان شاخص مربوط به جایگاه OMY۳۲۵ در جمعیت فرانسوی (۰/۰۹۸-) بود (جدول ٤).

جدول ۳. بررسی تعادل هاردی- واینبرگ در جایگاه‌های مورد مطالعه در ۲ جمعیت قزل‌آلای رنگین‌کمان

جایگاه / جمعیت	درجهٔ آزادی – سطح معنی‌داری	OMY۳۲۵	OMM۱۳۲۹	OMY۷۷	OMM۱۳۳۲
پرورشی لرستان	df	۵۵	۷۸	۵۵	۲۸
	X^2	۹۰/۵	۱۹۵/۲۷	۱۰۳/۹۳	۱۳۲/۲۰
	Prob	۰/۰۰۲	۰	۰	۰
	Sig	**	***	***	***
فرانسوی	df	۷۸	۳۶	۴۵	۲۸
	X^2	۱۱۸/۴۲	۱۷۹/۰۹	۴۲/۷۵	۱۱۶/۳۲
	Prob	۰/۰۰۲	۰	/۵۶۸	۰
	Sig	**	***	Ns	***

***:($P \leq ۰.۰۰۱$) **: ($P \leq ۰.۰۱$) *: ($P \leq ۰.۰۵$) ns: بدون اختلاف معنی‌دار.

جدول ٤. میزان شاخص درون‌آمیزی (FIS) در سطح ٤ جایگاه مورد بررسی

جمعیت / جایگاه	پرورشی لرستان	فرانسوی
OMY۷۷	۰/۱۷۹	۰/۰۰۹
OMM۱۳۳۲	۰/۷۲۸	۰/۶۸۰
OMY۳۲۵	-۰/۰۳۲	-۰/۰۹۸
OMM۱۳۲۹	۰/۴۶۳	۰/۸۱۱
میانگین	۰/۳۲۹	۰/۳۴۳

٤. بحث و نتیجه‌گیری

بررسی گوناگونی و تنوع ژنتیکی قزل‌آلای رنگین‌کمان، به‌منزلهٔ مهم‌ترین گونهٔ پرورشی در ایران، ضروری است. از این‌رو، تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیت این گونه با استفاده از نشانگرهای مولکولی ریزماهواره بررسی شد. تمامی آغازگرهای مورد استفاده پلی‌مورف بودند. پلی‌مورف‌بودن آغازگرهای مورد استفاده مطلوبیت استفاده از آنها را افزایش می‌دهد، چرا که در بحث مطالعه به وسیلهٔ ریزماهواره‌ها فقط جایگاه‌های پلی‌مورف در ارزیابی نهایی استفاده می‌شوند. پلی‌مورف‌بودن جایگاه‌های مورد مطالعه در ۲ جمعیت پرورشی استان لرستان و جمعیت فرانسوی قاعدتاً به علت وجود هتروزایگوسیتی در جمعیت‌های مورد مطالعه در جایگاه‌های مذکور است، اما نمی‌توان از اختصاصی‌بودن آغازگرهای مورد استفاده در این تحقیق که پیش از این برای قزل‌آلای رنگین‌کمان در مطالعات دیگر استفاده شده بودند و چندشکلی بالای آنها، با توجه به تعداد آلل مشاهده‌شده در مطالعات قبلی، چشم‌پوشی کرد (جدول۲). به هر روی، استفاده از آغازگرهای اختصاصی گونه، که در سایر مطالعات

چندشکلی بالایی را نشان داده‌اند، احتمال دستیابی به پلی‌مورفیسم را در مطالعهٔ جدید افزایش می‌دهد. در این بررسی میانگین هتروزایگوسیتی مشاهده‌شده در سطح جمعیت‌های مورد بررسی ۰/۵۷۷ به دست آمد. هتروزایگوسیتی مشاهده‌شده در جمعیت پرورشی لرستان ۰/۵۹۲ و جمعیت فرانسوی ۰/۵٦۷ بود. تعداد متوسط آلل در سطح جمعیت‌ها ۱۰/۳۷ محاسبه شد. تعداد متوسط آلل در جمعیت پرورشی لرستان ۱۰/۷۵ و فرانسوی ۱۰ بود.

Pavlov و همکاران در سال ۲۰۰٤، با استفاده از ٦ جایگاه ریزماهواره‌ای، تنوع ژنتیکی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان آنادروموس و مقیم رودخانهٔ والا والا در جنوب واشنگتن را بررسی کردند و میانگین ۱٤/۱ آلل برای هر جایگاه و میانگین هتروزایگوسیتی ۰/٦۷ را برای هر ۲ جمعیت به دست آوردند. Silverstein و همکاران، در سال ۲۰۰٤، تنوع ژنتیکی میان ۳ سویهٔ اهلی قزل‌آلای رنگین‌کمان در امریکا را، با استفاده از ۹ جایگاه ریزماهواره‌ای، بررسی کردند و میانگین ۱٤ آلل در هر جایگاه و هتروزایگوسیتی ۰/۷۲ را به دست آوردند. در مقایسهٔ نتایج این تحقیق (متوسط هتروزایگوسیتی ۰/۵۹٦ و تعداد متوسط آلل ۱۰/۸۳) با تحقیقات ذکرشده، تنوع ژنتیکی کمتری در این تحقیق مشاهده می‌شود. به طور کلی، کم‌بودن تعداد آلل بدون اینکه تغییر خاصی در مقدار هتروزایگوسیتی مشاهده شود، نشان‌دهندهٔ وقوع تنگنای ژنتیکی در جمعیت است (Allendorf, 1986). در جمعیت‌های پرورشی، معمولاً تنگنای ژنتیکی هنگامی رخ می‌دهد که تعداد کم مولد نتاج زیادی تولید کند که همهٔ نسل بعد را تشکیل دهد (Allendorf *et al*., 1987). استفاده از نسبت‌های جنسی نابرابر و بقای متفاوت نتاج نیز از طریق کاهش اندازهٔ جمعیت مؤثر باعث بروز تنگنای ژنتیکی می‌شوند (Machado–Schiaffino *et al*., 2007). برخی مطالعات کاهش تعداد آلل‌های ریزماهواره و هتروزایگوسیتی را به کاهش اندازهٔ مؤثر جمعیت نسبت می‌دهند (Fumagalli *et al*., 2002). همچنین، علت پایین‌بودن تنوع ژنتیکی می‌تواند حذف نوزادان ضعیف، به منظور بهبود عملکرد، در خلال انتخاب در مزارع تکثیر و میزان پایین اندازهٔ جمعیت مؤثر باشد (Silverstein *et al*., 2004). با توجه به علل اشاره‌شده، شاید مهم‌ترین علت کاهش تنوع ژنتیکی در جمعیت پرورشی لرستان نبود آمیزش شجره‌ای و برنامهٔ اصلاحی در ایران، در مقایسه با کشورهای برتر این صنعت، باشد. در صورتی که، با توجه به وجود برنامه‌های اصلاحی در کشورهای اروپایی، علت کاهش تنوع ژنتیکی در جمعیت فرانسوی را می‌توان به به‌گزینی و حذف نوزادان ضعیف نسبت داد.

شاخص شانون به‌منزلهٔ یکی از معیارهای تنوع ژنی برای جمعیت‌ها استفاده می‌شود. با توجه به اینکه شاخص شانون در نمونه‌های مربوط به جمعیت پرورشی لرستان بیشترین (۲/۱۲) مقدار است، می‌توان نتیجه گرفت که این جمعیت دارای چندشکلی بالاتری نسبت به جمعیت فرانسوی است. وجود تعداد مکان‌های چندشکل، میانگین تعداد آلل و هتروزایگوسیتی مورد انتظار بالاتر در جمعیت پرورشی لرستان نسبت به جمعیت فرانسوی نیز میزان چندشکلی بالاتر را در نمونه‌های جمعیت پرورشی لرستان تأیید می‌کند.

نتایج جدول ۲ نشان داد که مقدار هتروزایگوسیتی مشاهده‌شده در جایگاه‌های OMM۱۳۳۲، OMM۱۳۲۹و OMY۷۷ در هر ۲ جمعیت مورد مطالعه از مقدار هتروزایگوسیتی مورد انتظار کمتر است. آلل‌های تکثیرنشده یا نول از مهم‌ترین عوامل ایجادکنندهٔ کسری در جایگاه‌های ژنی ریزماهواره‌ها هستند (Xu *et al.,* 2001). به جز فرضیهٔ آلل‌های نول، کسری هتروزایگوسیتی در اثر فاکتورهایی همچون تنگنای ژنتیکی، جفت‌گیری غیرتصادفی و به‌گزینی نیز ایجاد می‌شود (Li *et al.,* 2007). جدا از علل زیستی معمول در ایجاد کسری هتروزایگوسیتی، ریزماهواره‌ها به طور خاص مستعد این پدیده‌اند (Diz and Presa, 2009). با توجه به نتایج و علل عنوان‌شده در بالا، علت کاهش هتروزایگوسیتی را در جمعیت پرورشی لرستان می‌توان

به جفت‌گیری غیرتصادفی و در جمعیت فرانسوی به به‌گزینی و حذف نوزادان ضعیف نسبت داد. نتایج جدول ۲ نشان می‌دهد که مقدار هتروزایگوسیتی مشاهده‌شده در جایگاه OMY۳۲۵ در هر ۲ جمعیت مورد مطالعه از مقدار هتروزایگوسیتی مورد انتظار بیشتر است. اشتباه در خواندن آلل‌ها، انحراف ژنتیکی تصادفی و خطای پی.سی.آر می‌تواند از علل ایجاد این افزایش باشد (Li *et al*., 2009). با توجه به اینکه در این تحقیق شرایط پی.سی.آر برای جایگاه‌های ژنی مورد مطالعه بهینه‌سازی شده بود، به نظر انحراف ژنتیکی تصادفی می‌تواند یکی از عوامل اصلی توجیه‌کنندهٔ افزایش هتروزایگوسیتی در این جایگاه باشد.

در بررسی تعادل هاردی- واینبرگ، ۷ تست از ۸ تست مورد بررسی (جایگاه ×جمعیت) انحراف معنی‌داری را از تعادل نشان دادند. با توجه به نتایج این تحقیق می‌توان اذعان کرد که اغلب جایگاه‌ها انحراف از تعادل هاردی- واینبرگ را نشان می‌دهند. انحراف از تعادل هاردی- واینبرگ را می‌توان به علت وجود آمیزش‌های خویشاوندی در بین گونه‌ها، پهلوگیری تعداد محدودی از آلل‌ها و ناکافی‌بودن تعداد نمونه‌ها و خطای نمونه‌برداری دانست (Skalla *et al*., 2004; Zhao *et al*., 2005; Dahle *et al*., 2006; Chauhan *et al*., 2007; Li *et al*., 2007). در این خصوص، Gross و همکاران، در سال ۲۰۰۷، تنوع و تفاوت ژنتیکی سویه‌های قزل‌آلای رنگین‌کمان پرورشی را در شمال و شرق اروپا (فنلاند، دانمارک، سوئد، نروژ، استونی و لهستان)، با استفاده از ۱۰ جایگاه ریزماهواره، بررسی کردند و انحراف از تعادل هاردی- واینبرگ را به کم‌بودن تعداد مولدین و نسبت نامساوی جنسی مولدین نسبت دادند.

به طور کلی، یک عامل به تنهایی نمی‌تواند علت انحراف از تعادل را توضیح دهد و مجموعه‌ای از عوامل فوق را، که بیشتر ناشی از تکثیر مصنوعی‌اند، می‌توان به‌منزلهٔ علل انحراف از تعادل در جمعیت‌های مورد بررسی قزل‌آلای رنگین‌کمان عنوان کرد. با توجه به نتایج این تحقیق، می‌توان گفت که یکی از علل اصلی انحراف از تعادل کسری هتروزایگوسیتی است. در واقع، با مقایسهٔ هتروزایگوسیتی مشاهده‌شده و مورد انتظار در میان جمعیت‌ها و همهٔ جایگاه‌های ژنی مورد بررسی در این تحقیق، مشاهده می‌شود که در اغلب موارد میزان هتروزایگوسیتی مشاهده‌شده از میزان هتروزایگوسیتی مورد انتظار کمتر است. انحراف از تعادل هاردی- واینبرگ، با توجه به علل کاهش هتروزایگوسیتی، در جمعیت پرورشی لرستان را می‌توان به جفت‌گیری غیرتصادفی و در جمعیت فرانسوی به به‌گزینی و حذف نوزادان ضعیف نسبت داد. با وجود این، برخی عوامل دیگر می‌تواند از علل احتمالی انحراف از تعادل باشد؛ نظیر تداخل بین جمعیت‌ها، به علت اشتباه در نمونه‌برداری یا نبود آگاهی کامل از شجره‌نامه یا مهاجرت بین گروه‌های مختلف جانوری به صور مختلف نظیر جابه‌جایی افراد مولد، و نتاج یا حتی سلول‌های جنسی آنها که ممکن است عمداً یا سهواً در مراکز تکثیر و پرورش ماهی بروز کنند. با وجود این، با توجه به نابالغی جنسی مولدین جمعیت فرانسوی در زمان نمونه‌برداری در کارگاه مذکور، تأثیر برخی از این عوامل اندک خواهند بود.

شاخص درون‌آمیزی (FIS)، در جمعیت‌های پرورشی لرستان و فرانسوی، به ترتیب ۰/۳۲۹ و ۰/۳۴۳ بود. بنابراین، بر اساس نتایج، جمعیت فرانسوی دارای سطح بالاتری از درون‌آمیزی است و به همان نسبت احتمال وجود افراد خویشاوند در این گله بیشتر از گلهٔ پرورشی لرستان است. شاید بتوان علت این مسئله را اختلاط گله‌های مختلف پرورشی قزل‌آلای رنگین‌کمان در نسل‌های قبل و اطلاق گله‌ای پرورشی لرستان به آن عنوان کرد؛ چرا که گلهٔ پرورشی لرستان حقیقی به علت غیربومی‌بودن ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در ایران وجود ندارد.

مقدار شاخص FST (۰/۰۱۷) تمایز پایینی را بین جمعیت‌ها نشان داد. برای تفسیر FST پیشنهاد شده است که مقدار آن بین صفر تا ۰/۰۵ تمایز پایین و

مقدار بین ۰/۱۵ – ۰/۲۵ تمایز متوسط و مقدار ۰/۲۵ تمایز ژنتیکی بالاست (Wright, 1978). اگرچه، به طور معمول مقدار FST در اکثر موارد کمتر از یک است، چرا که پلی‌مورفیسم (ناشی از جهش) به طور مؤثری میزان FST را کاهش می‌دهد (Headrick, 1999; Charlesworth, 1998; Agylaki, 1998; Wright, 1987). در تحقیق Gross و همکاران در سال ۲۰۰۷، تنوع و تفاوت ژنتیکی سویه‌های قزل‌آلای رنگین‌کمان پرورشی در شمال و شرق اروپا (فنلاند، دانمارک، سوئد، نروژ، استونی و لهستان)، با استفاده از ۱۰ جایگاه ریزماهواره، بررسی و میزان FST حدود ۰/۰۵ محاسبه شد. همچنین، در مطالعه‌ای دیگر میزان FST، ۳ سویهٔ اهلی قزل‌آلای رنگین‌کمان در امریکا، با استفاده از ۹ جایگاه ریزماهواره، حدود ۰/۰۸۹ بود (Silverstein *et al*., 2004). بنابراین، به نظر می‌رسد که میزان FST حاصل از این تحقیق نسبت به مطالعات پیشین کمتر است. پایین‌بودن شاخص FST، با توجه به نبود یا فراوانی اندک آلل‌های خاص، در ۲ جمعیت مورد مطالعه توجیه‌پذیر است، چرا که در مطالعه با ریزماهواره‌ها، تمایز بر اساس شاخص FST با توجه به تفاوت فراوانی‌های آللی محاسبه می‌شود. بنا به تحقیقات انجام‌شده جمعیت پرورشی لرستان، جمعیت مورد نمونه‌برداری، برای مدت حداقل ۲۰ سال به صورت جدا از جمعیت فرانسوی نگهداری و تکثیر شده است. با وجود این، اطلاع کافی از شجرهٔ این جمعیت پیش از ورود به کارگاه تکثیر و پرورش قزل‌آلای پاچنار وجود ندارد. با توجه به میزان اندک شاخص تمایز FST بین ۲ جمعیت پرورشی لرستان و جمعیت وارداتی از فرانسه و قطعیت نسبی از تداخل‌نداشتن این گله‌ها طی دورهٔ ۲۰ سال قبل از نمونه‌برداری در مزرعهٔ مذکور (حدود ۷ نسل)، این احتمال مطرح می‌شود که شاید گلهٔ پرورشی لرستان خود مشتق‌شده از گلهٔ فرانسوی وارداتی به کشور باشد که در گذشته وارد ایران شده است و، به لحاظ ثبت‌نشدن دقیق وقایع، امروزه به‌منزلهٔ گلهٔ ایرانی مطرح می‌شود. همچنین، ممکن است که ۲ جمعیت پرورشی لرستان (جمعیت مورد بررسی) و جمعیت وارداتی از فرانسه، خود از یک جمعیت مشترک (جد مشترک) مشتق شده باشند که، با توجه به زمان اندک جدایی از یکدیگر، زمان کافی برای تثبیت آلل‌های خاص و ایجاد تمایز کافی بین ۲ جمعیت وجود نداشته است. این مطلب، با توجه به اینکه تمامی جمعیت‌های اروپایی گونهٔ قزل‌آلای رنگین‌کمان خود از امریکای شمالی مشتق شده‌اند و انواع وارداتی به ایران در ابتدا از مبدأ اروپا وارد کشور شده، توجیه‌پذیر است. با این حال، اظهار نظر قطعی در این خصوص نیازمند بررسی دقیق‌تر با تعداد نشانگر بیشتر یا جمعیت‌هایی با شجره‌نامهٔ مشخص‌تر است. با وجود این، برخی مطالعات دیگر نرخ بالای جهش و افزایش تنوع درون جمعیت‌ها را علت کاهش تمایز بین آنها می‌دانند (Fumagalli *et al*., 2002). همچنین، کم‌بودن تمایز بین جمعیت‌ها می‌تواند به علت وجود جریان ژنی بالا در بین جمعیت‌ها باشد (Pinera *et al*., 2007).

نتایج این بررسی مؤید این مطلب است که تنوع ژنتیکی درخور ملاحظه‌ای در ۲ جمعیت قزل‌آلای رنگین‌کمان پرورشی وجود دارد و روش ریزماهواره‌ای قادر به تمایز نسبی آنها از یکدیگر است. نظر به اینکه این ماهی در حال حاضر، به‌منزلهٔ مهم‌ترین ماهی پرورشی، در حال تکثیر است، سیاست‌های مدیریتی باید، به منظور ارزیابی تنوع ژنتیکی میان نتاج تکثیر، به طور مداوم پایش شود و با انتخاب تعداد مناسبی از مولدین از کاهش تنوع ژنتیکی موجود، به علت پدیدهٔ آمیزش خویشاوندی و رانش ژنتیکی، جلوگیری شود.

References

[1]. Allendorf, F.W., 1986. Genetic drift and the loss of alleles versus heterozygosity. Zoological Biology 5, 181-190.

[2]. Allendorf, F.W., Ryman, N., Utter, F.M., 1987. Genetics and fishery management: past, present, and future. In: Ryman, N., Utter, F.M. (Eds.), Population genetics and fishery management. University of Washington Press, Seattle, USA, pp.1-19.

[3]. Appleyard, S.A., Ward, R.D., Grewe, P.M., 2002. Genetic stock structure of bigeye tuna in the Indian ocean using mitoghondrial DNA and microsatellite. Journal of Fish Biology 60, 767-770.

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

[5]. Charlesworth, B., 1998. Measures of divergence between population and the effect of forces that reduce variability. Molecular Biology and Evolution 15, 538-543.

[6]. Chauhan, T., Lal, K.K., Mohindra, V., Singh, R., Punia, O., Gopalakrishnan, A., Sharma, P.C., Lakra, W.S., 2007. Evaluating genetic differentiation in wild populations of the Indian major carp. Aquaculture 269, 135-149.

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

[8]. Dahle, G., Jorstad, K.E., Rusaas, H.E., Ottera, H., 2006. Genetic characteristics of brood stock collected from four Norwegian coastal cod (Gadus morpha) populations. Marine Science 63, 209-215.

[9]. Dewoody, J.A., Avise, J.C., 2000. Microsatellite variation in marine, freshwater and anadromous fishes compared with other animals. Journal of Fish Biology 56, 461-473.

[10]. Diz, P.A., Presa, P., 2009. The genetic diversity pattern of Mytilus alloprovincialis in Galician Rías (NW Iberian estuaries). Aquaculture 287, 278-285.

[11]. Fumagalli, L., Snoj, A., Jesensek, D., Balloux, F., Jug, T., Duron, O., Brossier, F., Crivelli, A. J., Berrebi, P., 2002. Extreme genetic differentiation among the remnant populations of marble trout (Salmo marmoratus) in Slovenia. Molecular Ecology 11, 4711-2716.

[12]. Glover, K.A., 2008. Genetic characterization of farmed rainbow trout in Norway: intra- and inter-strain variation reveals potential for identification of escapees. BMC Genetics 9, 1-10.

[13]. Gross, R., Lulla, P., Paaver, T., 2007. Genetic variability and differentiation of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) strains in northern and Eastern Europe. Aquaculture Research 272, 139-146.

[14]. Headrick, P.W., 1999. Highly variable loci and their interpretation in evolution and conservation. Evolution 53, 313-318.

[15]. Li, Q., Xu, K., Yu, R., 2007. Genetic variation in Chinese's hatchery populations of the Japanese scallop (Patinopecten yessoensis) inferred from microsatellite data. Aquaculture 296, 211-219.

[16]. Li, J., Wang, G., Bai, Z., 2009, Genetic variability in four wild and two farmed stocks of the Chinese freshwater pearl mussel (Hyriopsis cumingii) estimated by microsatellite DNA markers. Aquaculture 287, 286-291.

[17]. Machado-Schiaffino, G., Depico, E., Garcia-Vazquez, E., 2007. Genetic variation losses in Atlantic salmon stocks created for supportive breeding. Aquaculture 264, 59-65.

[18]. Morris, D.B., Richard, K.R., Wright, J.M., 1996. Microsatellites from rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) and their use for genetic study of salmonids. Canadian Journal of Fishies and Aquacultue 53, 120-126.

[19]. Nagylaki, T., 1998. Fixation indices in subdivided population. Genetics 148, 1325-1332.

[20]. Narum, S.R., Contor, C., Talbot, A., Powell, M.S., 2004. Genetic divergence of sympatric resident and andaromus forms of Oncorhynchus mykiss in the Walla Walla River, USA. Journal of Fish Biology 65, 417-488.

[21]. Nielsen, J.L., Carpanzano, C., Fountain, M.C., Gan, C.A., 1997. Mitochondrial DNA and nuclear microsatellite diversity in hatchery and wild Oncorhynchus mykiss from freshwater habitats in southern California. Transactions of the American Fisheries Society 126, 397-417.

[22]. Maitland, P.S., 2000. Guide to freshwater fish of britain and europe. publishing group limited octopus, Essex, 256 p.

[23]. O'Connell, M., Danzmann, R.G., Cornuet, J.M., Wright, J.M., Ferguson, M., 1997. Differentiation of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) populations in Lake Ontario and the evaluation of the stepwise mutation and infinite allele mutation models using microsatellite variability. Canadian Journal of Fisheries and Aquacultue 54, 1391-1399.

[24]. Pavlov, S.D., Semenova, A.V., Rubtsova, G.A., Afanasiev, K.I., 2011. Analysis of microsatellite variation in the rainbow trout parasalmo (Oncorhynchus mykiss) from Kamchatka, (Report). Russian Journal of Genetics 46, 1346-1356.

[25]. Petit, R.J., Mousadik, A.E., Pons, A.O., 1998. Dentifying populations for conservation on the basis of genetic markers. Conservation Biology 12, 844-855.

[26]. Pinera, J. A., Blanco, G., Vázquez, E., Sánchez, J. A., 2007. Genetic diversity of black spot seabream (Pagellus bogaraveo) populations Spanish Coasts: a preliminary study. Marine Biology 1151, 2153-2158.

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

[28]. Silverstein, J.T., Rexroad, C.E., King, T.L., 2004. Genetic variation measured by microsatellites among three strains of domesticated rainbow trout (Oncorhynchus mykiss, Walbaum). Aquaculture Research 35, 40-48.

[29]. Skalla, A., Hbyheim, B., Glover, K., Dahle, D., 2004. Microsatellite analysis in domesticated and wild Atlantic salmon. Aquaculture 240, 131-143.

[30]. Thorpe, J.P., Sol-Cave, A.M., 1994. The use of allozyme electrophoresis in vertebrate systematic. Zoological Script 23, 3-18.

[31]. Wright, S., 1978. Evolution and the genetics of populations: variability within and among natural populations. University of Chicago Press, Chicago, 278 p.

[32]. 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.

[33]. Yoon, M., Sato, A.N., Seeb, J.E., Brykov, S. L.W., Varnavskaya, N., Wilmot, R.L., Jin, D.H., Urawa, S., Urano, A., Abe, S., 2007. Congruence of population genetic profiles obtained from mitochondrial and microsatellite DNA analysis in the pacific rim Chum Salmon population. North pacific anadramous fish commission, Technical Report. 7, 121-123.

[34]. Zhao, N., Shao, Z., Ai, W., Zhu, B., Brosse, S., Chang, J., 2005. Microsatellite assessment of Chinese sturgeon (Acipenser sinensis Gray) genetic variability. Ichthyology 21, 7-13.