

شیلات، مجله منابع طبیعی ایران
دوره ۶۸، شماره ۲، پاییز ۱۳۹۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۰/۱۷

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۷/۲۹

ص ۴۶۷-۴۷۷

تنوع ژنتیکی اردک ماهی (*Esox lucius*, Linnaeus, 1758) در

شرق دریای خزر با استفاده از نشانگر ریزماهواره

- ❖ محمدرضا کلباسی*: استاد گروه شیلات دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تربیت مدرس، نور
- ❖ مونا تبرک: کارشناس ارشد رشته تکثیر و پرورش آبزیان دانشگاه تربیت مدرس، نور
- ❖ محمداصداق علوی یگانه: استادیار گروه زیست‌شناسی دریا دانشگاه تربیت مدرس، نور

چکیده

اردک ماهی یکی از گونه‌های اقتصادی و باارزش حوزه جنوبی دریای خزر است که اطلاعات درباره جمعیت‌های مختلف آن در حوزه جنوبی خزر در دسترس نیست. با توجه به اهمیت شناخت تنوع ژنتیکی در مدیریت ذخایر و حفاظت از گونه‌ها در این مطالعه از هفت جفت آغازگر ریزماهواهای برای بررسی ۹۰ نمونه اردک ماهی از سه منطقه دهانه رودخانه تجن، آب‌بندان‌های ایزدشهر و تالاب لپوی زاغمرز واقع در استان مازندران استفاده شد. میانگین تعداد آلل مشاهده شده در نمونه‌های رودخانه تجن ۰/۲۸۶ و ایزدشهر ۱/۰۱۰ و تالاب لپوی ۰/۸۰۰ و میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار برای مجموع نمونه‌ها به ترتیب ۰/۳۸۳ و ۰/۶۲۱ محاسبه شد. نتایج آزمون انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ نشان داد که تنها یکی از نمونه‌ها در تعادل قرار داشت. با توجه به نتایج، علائمی از تنگنای ژنتیکی در جمعیت‌ها دیده شد. دندروگرام ترسیمی و آزمون واریانس مولکولی بیانگر وجود سه جمعیت مجزا در سه منطقه مورد مطالعه بود که می‌بایست در مدیریت ذخایر این گونه مورد توجه قرار گیرد.

واژگان کلیدی: اردک ماهی، تالاب لپوی زاغمرز، تعادل هاردی-واینبرگ، خزر، ریزماهواره.

۱. مقدمه

شناسایی ساختار ژنتیکی ذخایر توسعه یافت
(Verapoor and Jordan, 1989).

ریزماهوره‌ها توالی‌های تکرارشونده از توالی DNA هستند، که به منزله نشانگری جمعیتی به سرعت در حال جایگزینی با دیگر نشانگرهایند و کاربردهای فراوانی در زمینه ژنتیک تکامل و حفاظت دارند (Ward et al., 2002). نشانگر ریزماهوره‌ها دارای چندریختی بالایی است به طوری که می‌تواند برای آنالیزهای ژنتیک جمعیت، به‌ویژه در مورد جمعیت‌هایی که در دیگر نشانگرها تنوع کمی نشان می‌دهند، بسیار مفید باشد (Evans et al., 2004) و امروزه نشانگرهای مولکولی به طور مستقیم قادرند پراکندگی و تنوع ژنتیکی را تشخیص دهند (Ferguson et al., 1995). بنابراین، یکی از ضروریات اصلی مدیریت علمی ذخایر شناخت ذخایر و جمعیت‌های تشکیل‌دهنده آن گونه است.

اردک‌ماهی با نام علمی *Esox lucius* متعلق به خانواده اردک‌ماهیان است. اعضای این خانواده عمدتاً ساکن آب شیرین و لب شورند و به طور گسترده در نیمکره شمالی زمین پراکنده‌اند. ارزش بالای اردک‌ماهی از نظر کیفیت بالای گوشت، داشتن استخوان‌های کم، پایین بودن مقدار چربی (۰/۵ تا ۱/۲ درصد) و پروتئین بالا (۱۸/۷ تا ۱۹ درصد) باعث شده تا این گونه جایگاه ویژه‌ای از نظر تغذیه‌ای در بین مردم دنیا به خود اختصاص دهد و نقش اقتصادی مهمی را در بازارهای منطقه‌ای و ملی ماهی ایفا کند. هم‌اکنون عمده صید اردک‌ماهی در ایران از تالاب انزلی صورت می‌گیرد و زندگی و معیشت بسیاری از صیادان منطقه به آن وابسته است، اما پراکنش این گونه محدود به این تالاب نیست و در اغلب

تنوع ژنتیکی قابلیت بقای یک گونه یا جمعیت را از طریق ایجاد توانایی سازگاری با تغییرات محیطی تعیین می‌کند و از این رو برای بقای طولانی مدت یک گونه ضروری است (Bataillon et al., 1996). در منابع آب شیرین نیز، تنوع ژنتیکی اهمیتی حیاتی در مدیریت و حفاظت از گونه‌ها دارد و به منزله اولین پیش‌نیاز برای حفظ سازگاری جمعیت‌ها در شرایط محیطی در حال تغییر قلمداد می‌شود (Diz and Persa, 2009). بسیاری از عوامل تکاملی در میزان و پراکنش تنوع ژنتیکی در میان جمعیت‌ها و در نتیجه اختلاف جمعیت‌ها تأثیرگذارند (Felsenstein, 1985).

آگاهی از میزان ذخایر توارثی و تنوع ژنتیکی بین افراد یک گونه از اهداف ارزشمند مدیریت ذخایر و اصلاح نژاد است، به طوری که بررسی‌های ژنتیک جمعیت یا اکولوژی مولکولی ماهیان باارزش اقتصادی به منظور حفاظت از جمعیت آن‌ها و حفظ صید پایدار بسیار ضروری است (Wang et al., 2007). هم‌اکنون، کاهش ذخایر آبزیان در اکثر نقاط دنیا توجه محققان را به اعمال روش‌های دقیق مولکولی برای مدیریت ذخایر آبزیان جلب کرده است (Lin et al., 2002). در ابتدا ارزیابی ساختار ذخایر، تشخیص گونه‌ها و جمعیت‌ها با استفاده از صفات مورفومتریک و مریستیک صورت می‌گرفت، اما با توجه به حساسیت بالای این صفات به تغییرات محیطی و آثار منفی دستکاری در نشانه‌گذاری بر سلامت ماهیان همچنین، محدود بودن تفسیر داده‌های حاصل از آن، علم استفاده از نشانگرهای مولکولی، همچون ریزماهوره‌ها، آلوزایم و RAPD برای

اردک‌ماهی در سواحل شرقی دریای خزر در استان مازندران و زیستگاه‌های اصلی این گونه یعنی منطقه تالاب لپوی زاغمرز، ایزدشهر و رودخانه تجن با روش مولکولی و استفاده از هفت جایگاه ریزماهواره بررسی شده است. با هدف تعیین تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیت اردک‌ماهی تالاب انزلی، به‌منزله یکی از گونه‌های باارزش تالاب انزلی، و با استفاده از نشانگرهای میکروستلایت تنوع ژنتیکی و جمعیت‌های احتمالی شناسایی می‌شود.

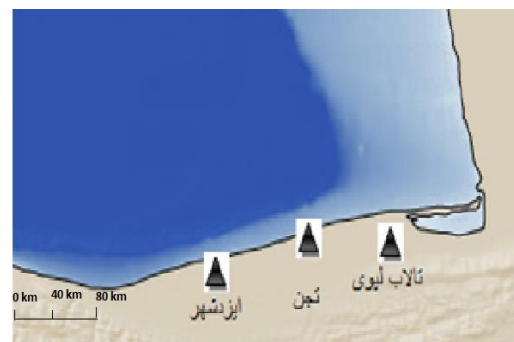
۲. مواد و روش‌ها

۹۰ عدد اردک‌ماهی از رودخانه تجن، آب‌بندان‌های ایزدشهر و تالاب لپوی زاغمرز در سال ۱۳۹۱ نمونه‌برداری شد (شکل ۱).

	N	E
تالاب لپو	۳۶ ۴۹ ۲۱	۵۳ ۲۰ ۱۲
امیر کلايه	۳۶ ۳۸ ۶۵	۵۲ ۳۷ ۷۰
ایزدشهر	۳۶ ۳۴ ۰۹	۵۲ ۱۱ ۱۵

تالاب‌های حاشیه‌ای جنوب خزر زیست می‌کند که این زیستگاه‌ها با توجه به مساحت کم‌تر و به‌تبع وجود جمعیت پایه اندک از حساسیت‌های بیش‌تری برخوردار است و ذخایر ژنی محدودتری را دربر می‌گیرد.

متأسفانه با وجود اهمیت موضوع، هیچ اطلاعاتی در خصوص جمعیت‌های مختلف اردک‌ماهی در ایران در دسترس نیست (Coad, 2012) و تاکنون هیچ‌گونه مطالعه‌ای درباره جمعیت‌شناسی و وضعیت ژنتیکی این گونه ارزشمند صورت نگرفته است. با توجه به ضروری بودن این اطلاعات برای مدیریت ذخایر این گونه و امکان استفاده از این اطلاعات در برنامه‌های بازسازی ذخایر و حفظ تنوع این ماهی، این مطالعه با هدف بررسی ساختار ژنتیکی



شکل ۱. مناطق نمونه‌برداری اردک‌ماهی

استفاده از ژل آگاروز یک درصد و روش اسپکتروفتومتری تعیین شد.

۱.۲. واکنش زنجیره‌ای پلیمرز و الکتروفورز

به منظور بررسی تنوع ژنتیکی از هفت جفت نشانگر ریزماهواره Elu19, Elu51, Elu78, Elu87, EluB38INRA, Elu276 (Launey et al., 2003 و Miller et al., 1996) استفاده شد (جدول ۱).

به منظور مطالعه مولکولی حدود ۲-۳ گرم از بافت باله سینه‌ای هر ماهی جدا و تا زمان استخراج DNA نگهداری شدند. استخراج DNA به روش فنل - کلروفورم (Hillis et al., 1996) انجام پذیرفت. DNA استخراج‌شده پس از افزودن ۱۰۰ میکرولیتر آب مقطر دوبار تقطیر تا زمان انجام مطالعات در فریزر نگهداری شد. کیفیت و کمیت DNA استخراجی نیز با

جدول ۱. خصوصیات جایگاه‌های به کار برده شده

کد آغازگر	توالی آغازگر	طول آلل
Elu19	CATCATGAACATTCAGACGC GAGATGCTAATTCATCCACTG	۱۴۷,۱۴۹,۱۵۵
Elu51	GTGGGCATTCAGCCGATATAGC CTGTCTCATTACTGCCTGGCTC	۱۳۸,۱۵۰
Elu76	ACCACATTCCACATCTGATGG AATCCCTTATTCTGACCCTGC	۱۶۵,۱۶۷
Elu78	CTAGAGGGGGAAAACAAACC CACTGTCCATCATCACCCCTCTC	۱۳۲,۱۳۶
Elu87	AGCACTGCCACACATGACGTG CCAGCTGCCTCAGATTGCTCCCC	۱۵۳,۱۵۷,۱۶۱
Elu276	CTCTCACAGTTCAAAGATGGC TCTTTAAACTGGGGGGGAGGAAAG	۱۴۹,۱۶۵
EluB38INRA	TGTCAGTGTGACTTGCTCC GTATTGTCAGCATTTCAGCTC	۱۸۸,۱۷۰

قطعات استفاده شد. تعداد آلل مشاهده شده و مؤثر، هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Ho) و مورد انتظار (He) با استفاده از نرم‌افزار Genealex (Peakall and Smouse, 2006) محاسبه شد. برای تست انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ، مقایسه بین هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار همچنین معنی دار بودن احتمال کسری هتروزیگوسیتی یا زیاد بودن هتروزیگوسیتی از نرم‌افزار Genepop (Raymond and Rousset, 1995) استفاده شد. به منظور تعیین تنوع ژنتیکی درون و بین جمعیتی همچنین، میزان تمایز بین جمعیتی بر اساس مدل آللی بی نهایت (Fst) با استفاده از آنالیز واریانس مولکولی (AMOVA) بسته نرم‌افزاری Genealex استفاده شد. تعیین فاصله و شباهت ژنتیکی نئی و رابطه تکاملی بین جمعیت‌ها با استفاده از ترسیم درخت UPGMA نیز با استفاده از نرم‌افزار PopGene (Yeh et al., 1999) صورت گرفت.

جایگاه‌ها با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمرز در حجم ۲۵ میکرولیتر شامل ۱۵ نانوگرم DNA، ۰/۵ میکرومولار از هر پرایمر، ۴۰۰ میکرومولار از نوکلئوتیدها، یک واحد بین‌المللی تگ DNA پلیمرز، ۱/۵ میلی‌مولار بافر PCR 1X، ۱/۵ میلی‌مولار کلرید منیزیم و آب مقطر تا رسیدن به حجم انجام گرفت. سیکل دمایی برای هر جایگاه عبارت بود از یک سیکل ۳ دقیقه‌ای در ۹۴ درجه، ۳۰ سیکل شامل ۹۴ درجه برای ۳۰ ثانیه، ۶۰ درجه برای ۴۰ ثانیه به منظور اتصال آغازگر به مدت ۳۰ ثانیه، بسطی نهایی در دمای ۷۲ درجه برای ۳ دقیقه و در انتها ۲۰ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد. محصول واکنش زنجیره‌ای پلیمرز روی ژل پلی‌آکریل‌آمید ۶ درصد (غیریونیزه) جداسازی شد. سپس ژل‌ها به روش نترات نقره (Sambrook et al., 1989) رنگ‌آمیزی شدند و پس از تهیه تصویر با دستگاه مستندساز ژل، از نرم‌افزار Gel pro analyzer برای محاسبه طول



شکل ۲. دندروگرام UPGMA برای نشان دادن روابط فیلوژنتیک بین نمونه‌های مناطق مختلف ایزدشهر، رودخانه تجن و تالاب لیوی زاغمرز

۳. نتایج

به ترتیب ۳/۸۵۷ و ۳/۱۵۰، در آب‌بندان‌های ایزدشهر ۳/۸۵۷ و ۳/۶۳۲ و در رودخانه تجن ۳/۲۸۶ و ۲/۹۴۲ به دست آمد. میانگین مقادیر هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده (H_o) و مورد انتظار در کل نمونه‌ها (H_e) ۰/۳۸۳ و ۰/۶۲۱ به دست آمد (جدول ۲).

هر هفت جفت آغازگر مورد استفاده چندشکلی را نشان دادند و بیش‌ترین تعداد آلل مشاهده‌شده در جایگاه EluB38 (۹) و کم‌ترین تعداد آلل مشاهده‌شده از جایگاه Elu76 (۲) بود. تعداد متوسط آلل‌های مشاهده‌شده و مؤثر در تالاب لیوی زاغمرز

جدول ۲. تنوع ژنتیکی هفت جایگاه مورد مطالعه در سه جمعیت اردک‌ماهی

EluB38INRA	Elu276	Elu87	Elu78	Elu76	Elu51	Elu19		
۵	۳	۳	۳	۳	۳	۳	N_a	رودخانه تجن
۴/۵۴۵	۲/۶۳۲	۲/۷۷۸	۲/۶۳۲	۲/۵۷۱	۲/۸۶۶	۲/۵۷۱	N_e	
۰/۷۳۳	۰/۶۰۰	۰/۲۰۰	۰/۱۳۳	۰/۳۰۰	۰/۲۶۷	۰/۳۳۳	H_o	
۰/۷۸۰	۰/۶۲۰	۰/۶۴۰	۰/۶۲۰	۰/۶۱۱	۰/۶۵۱	۰/۶۱۱	H_e	
***	**	**	**	**	**	*	pHw	
۹	۲	۲	۲	۵	۵	۲	N_a	ایزدشهر
۵/۰۰۰	۳/۸۴۶	۸/۳۳۳	۱/۹۹۱	۴/۵۰۰	۵/۰۰۰	۱/۹۶۵	N_e	
۱/۰۰۰	۰/۱۳۳	۰/۰۶۷	۰/۲۶۷	۰/۳۳۳	۰/۸۰۰	۰/۲۰۰	H_o	
۰/۸۸۰	۰/۳۹۱	۰/۴۹۸	۰/۴۹۸	۰/۷۷۸	۰/۸۰۰	۰/۴۹۱	H_e	
***	**	**	*	**	**	**	pHw	
۸	۲	۳	۴	۲	۵	۳	N_a	تالاب لیوی زاغمرز
۶/۰۸۱	۱/۹۹۱	۲/۶۶۳	۳/۰۸۲	۱/۲۲۰	۴/۵۹۲	۲/۴۱۹	N_e	
۰/۴۳۳	۰/۲۶۷	۰/۲۶۷	۰/۳۳۳	۰/۱۳۳	۰/۹۳۳	۰/۲۶۷	H_o	
۰/۸۳۶	۰/۴۹۸	۰/۶۲۴	۰/۶۷۶	۰/۱۸۰	۰/۷۸۲	۰/۵۸۷	H_e	
**	*	**	**	ns	**	**	pHw	

N_a : تعداد آلل، N_e : تعداد آلل مؤثر

H_o : هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده، H_e : هتروزیگوسیتی مورد انتظار، F_{is} : ضریب درون‌آمیزی

pHw: تست احتمال انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ (ns: عدم معنی‌داری، * $P \leq 0.05$ ، ** $P \leq 0.01$ ، *** $P \leq 0.001$)

بررسی به طور معنی داری ($p < 0.05$) انحراف از تعادل نشان دادند. متوسط شاخص درون آمیزی (Fis) و جریان ژنی به ترتیب ۰/۴۱۱ و ۱/۴۴۴ را نشان دادند (جدول ۳).

همچنین بین مناطق مورد بررسی تفاوت معنی داری، از نظر میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار، مشاهده نشد ($p > 0.05$). در بررسی تعادل هاردی-واینبرگ، ۲۰ نمونه از ۲۱ تست مورد

جدول ۳. شاخص Fit، شاخص Fis، میزان جریان ژنی (Nm) و شاخص Fst در میان جایگاه‌های مورد استفاده

	Elu19	۵۱Elu	۷۶Elu	۷۸Elu	۸۷Elu	۲۷۶Elu	۳۸B	میانگین
Fis	۰/۵۲۶	۰/۱۰۴	۰/۴۹۰	۰/۵۹۱	۰/۶۹۷	۰/۳۳۷	۰/۱۳۲	۰/۴۱۱
Fit	۰/۶۰۵	۰/۲۰۴	۰/۶۰۲	۰/۶۳۳	۰/۷۶۷	۰/۵۵۷	۰/۲۱۲	۰/۵۱۲
Fst	۰/۱۶۶	۰/۱۱۱	۰/۲۲۰	۰/۱۰۳	۰/۲۲۹	۰/۳۳۲	۰/۰۹۲	۰/۱۷۹
Nm	۱/۲۵۳	۱/۹۹۴	۰/۸۸۵	۲/۱۷۷	۰/۸۴۲	۰/۵۰۳	۲/۴۵۶	۱/۴۴۴

شاخص تمایز (Fst)، شاخص همخوانی در جمعیت (Fis)، شاخص همخوانی در کل نمونه‌ها (Fit)

ریزماهورها نشانگرهای ژنتیکی اند که به صورت گسترده در مطالعات ژنتیک جمعیت گونه‌های پرورشی و وحشی ماهیان استفاده می‌شوند (Liu et al., 2006). در واقع، این نشانگرها ارزش بالایی دارند به طوری که علاوه بر فراوانی بالا در ژنوم همه موجودات، تنوع قطعات تکرار شونده در آنها بالاست که علت آن را می‌توان به نرخ بالای جهش در این نشانگر نسبت داد و از طرفی، به دلیل هم‌بارز بودن، هتروزیگوسیتی و جهش را بهتر از سایر نشانگرها نشان می‌دهد (Liu and Cordes, 2004). با توجه به آمار میزان صید اردک‌ماهی در سال‌های گذشته مشخص می‌شود که حجم توده زنده این گونه با ارزش به علت صید بی‌رویه، آلودگی زیست‌محیطی و تخریب زیستگاه در معرض خطر است، به همین علت نیاز به آگاهی از ذخایر این ماهیان ضروری به نظر می‌رسد، که با وجود اهمیت بالای اردک‌ماهی اطلاعاتی درباره وضعیت ژنتیکی این ماهی در سواحل جنوبی خزر وجود ندارد.

از نظر تمایز بین مناطق میزان شاخص Fst و Rst به ترتیب بر اساس آنالیز واریانس مولکولی (AMOVA) ۰/۱۷۹ و ۰/۶۰۸ به دست آمد. بر اساس معیار فاصله ژنتیکی Nei بیش‌ترین میزان شباهت ژنتیکی بین مناطق ایزدشهر و تجن و بیش‌ترین فاصله ژنتیکی بین ایزدشهر و تالاب لپوی زاغمرز بود. تنوع ژنتیکی بین جمعیت‌ها ۲۳ درصد و درون جمعیت‌ها ۷۷ درصد محاسبه شد. دارنگاره UPGMA به دست آمده بر اساس مقدار فاصله ژنتیکی نیز جدایی را بین جمعیت‌های سه منطقه مورد بررسی نشان داد.

۴. بحث و نتیجه‌گیری

امروزه تنوع ژنتیکی یکی از شاخص‌های مهم وضعیت اکولوژیک اکوسیستم‌های آبی است که به منزله ابزاری منحصر به فرد و توانمند برای ارزیابی و مدیریت جوامع زیستی مطرح است (Avice, 2000). تنوع ژنتیکی یکی از سه سطح تنوع زیستی پیشنهاد شده سازمان حفاظت جهانی برای برنامه حفظ ذخایر است (Lucentini et al., 2009).

کاهش در تعداد آلل‌های مشاهده شده در لکوس‌های ریزماهوره می‌تواند نشانه‌ای از کاهش تنوع ژنتیکی کاربردی در دیگر نواحی ژنوم باشد. بنابراین، جلوگیری از آن باید به‌منزله اولویتی در آبرزی‌پروری بررسی شود (Lind et al., 2009). در مطالعه‌ای درباره‌ی پرورش *P. maxima* با وجود کاهش شایان توجه در غنای آللی افزایش زیادی در هموزیگوسیتی دیده نشد، همچنین این الگو در صدف‌های تولید هجری و چندین گونه از ماهیان مشاهده شد که موارد فوق این دیدگاه را، که هموزیگوسیتی همچون غنای آللی به سرعت در معرض کاهش قرار نمی‌گیرد، تأیید می‌کند (Lind et al., 2009). به طور کلی، تعداد کم آلل نشانه‌ای از تنگنای ژنتیکی است که در شرایط جمعیت وحشی ممکن است به علت جداشدن جمعیت یا کاهش شدید اندازه مؤثر باشد (Ha et al., 2009). از آنجا که میزان انحراف ژنتیکی نسبت معکوسی با اندازه جمعیت دارد، این اثر باعث افزایش انحراف ژنتیکی نیز می‌شود. تنگنای جمعیتی کوتاه‌مدت، همانند وقتی که جمعیت پرورشی پایه‌گذاری می‌شود، ممکن است اثر کمی در هموزیگوسیتی داشته باشد، اما انتظار می‌رود که به‌شدت تعداد آلل‌های موجود را کاهش دهد (Pampoulie et al., 2006).

تعادل هاردی-واینبرگ در جوامعی صادق است که شرایطی چون تعداد افراد بالا، جمعیت بسته، جفت‌گیری تصادفی و احتمال جهش بالا در آن حکمفرما باشد و به طور کلی انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ در جمعیت‌های ماهیان زیاد است (Lucentini et al., 2006). در این بررسی هر دو جمعیت در اکثر جایگاه‌ها انحراف از تعادل هاردی-

هموزیگوسیتی و تعداد آلل‌ها جزو شاخص‌های مهم تنوع ژنتیکی جمعیت‌ها از لحاظ روبه‌روشدن با تغییرات محیطی‌اند (Frankham, 2008) و ویژگی‌هایی همچون قابلیت رقابت و توانایی موجود برای بقا در زیستگاه‌های طبیعی را تعیین می‌کنند (Hakansson and Jensen, 2005). کاهش تعداد آلل‌های مشاهده شده در سطح جمعیتی می‌تواند بیانگر کاهش تنوع ژنتیکی باشد (Lind et al., 2009). هموزیگوسیتی در مطالعه ساختار جمعیت گونه‌ها ارزش بسیار دارد، زیرا هر هموزیگوت ناقل آلل‌های متفاوتی است که نشان‌دهنده تنوع است (Diz and Presa, 2009). در این بررسی متوسط تعداد آلل‌ها، هموزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار به ترتیب ۳/۶۶۷، ۰/۳۸۳ و ۰/۶۲۱ به دست آمد. روی هم رفته، تفاوت معنی‌داری ($P > 0.05$) از لحاظ تعداد آلل و هموزیگوسیتی بین مناطق مورد بررسی مشاهده نشد. همچنین، متوسط هموزیگوسیتی در جمعیت‌های مورد بررسی نزدیک به مقدار گزارش شده برای ماهیان آب شیرین به دست آمد (۰/۵۴، DeWoody and Avise, 2000). میانگین تعداد آلل‌ها در هر جایگاه ۷/۵ گزارش شده است (DeWoody and Avise, 2000). مقایسه داده‌های حاصل نشان می‌دهد که هموزیگوسیتی به دست آمده در این بررسی مناسب، ولی تعداد آلل آن پایین‌تر از تعداد آللی است که برای ماهیان آب شور بیان شده است (۱۳/۵، DeWoody and Avise, 2000). تحقیقات نشان می‌دهند که غنای آللی برای ارزیابی تنوع نمونه‌ها نسبت به هموزیگوسیتی مناسب‌تر است. همچنین بالابودن غنای آللی نشان‌دهنده بالابودن اندازه جمعیت مؤثر است (Diz and Presa, 2009). در سطح جمعیت

به *Fst* قوی تر دانسته‌اند. نتایج *Rst* نیز نشان‌دهنده تمایز بالا بین مناطق است، دندروگرام ترسیمی بر اساس فاصله ژنتیکی نیز جدایی بین مناطق را نشان داد به طوری که، در شرق دریای خزر ۳ جمعیت مجزای اردک‌ماهی شناسایی شد. بنابراین همه آنالیزها تمایز بالایی را بین مناطق نشان می‌دهند. با توجه به فواصل جغرافیایی محدود و کم عمق سواحل دریای خزر به نظر می‌رسد این جمعیت‌ها به‌ویژه در رودخانه تجن و ایزدشهر ارتباط محدودی با یکدیگر دارند. با تبادل نمونه‌ها تبادل ژن‌ها نیز پیش می‌آید و تبادل بیش‌تر منجر به کم‌شدن تمایز ژنتیکی بین جمعیت‌ها می‌شود. با این‌که قانون ثابتی وجود ندارد، ولی مورد قبول واقع شده است که تمایزهای ژنتیکی بارز یا مهم احتمالاً تنها بین جمعیت‌هایی به وجود می‌آیند که به طور میانگین تنها کم‌تر از یک نمونه در هر نسل بین آن‌ها جابه‌جا می‌شود (Ryman and Utter, 1987). در این مطالعه نیز متوسط مهاجرت نزدیک به یک بود (۱/۴۴) که می‌تواند یکی از دلایل اصلی تمایز جمعیت‌ها باشد. این مورد نیز بر پایه این فرضیه قرار دارد که تغییرات در فراوانی‌های آللی تنها بر اساس انحراف ژنتیکی تصادفی ایجاد می‌شود، به طور مشخص در برخی لکوس‌ها امکان ایجاد تفاوت‌های بارز به علت به‌گزینی و تغییرات مشابه وجود دارد (Hillis, 1996). با توجه به محدودبودن زیستگاه و تنگنای ژنی مشاهده‌شده این زیستگاه‌ها نیازمند حفاظت‌اند.

واینبرگ را نشان دادند. ۲۰ نمونه از ۲۱ تست مورد بررسی به طور معنی‌داری انحراف از تعادل نشان دادند. ضریب درون‌آمیزی در همه جایگاه‌های ژنی کسری هتروزیگوسیتی بالایی را نشان داد، علل زیست‌شناختی کسری هتروزیگوسیتی به‌خوبی شناخته نشده است و عوامل زیادی همچون اثر وهلانند، درون‌آمیزی، آلل صفر و به‌گزینی برای توضیح آن مطرح شده‌اند (Li et al., 2009). وجود آلل‌های تکثیرنشده یا صفر در ماهی پدیده‌ای کاملاً عادی است و وجود این آلل‌ها در توارث ریزماهواره در ماهیان تأیید شده است (Rodzen and May, 2002). Xu et al. (2001) نیز وجود آلل‌های صفر را از عوامل مهم کسری هتروزیگوسیتی برشمردند، البته یک فاکتور به‌تنهایی نمی‌تواند این کسری هتروزیگوسیتی را توضیح دهد. جدا از دلایل زیست‌شناختی معمول در ایجاد کسری هتروزیگوسیتی، ریزماهواره‌ها به طور خاص مستعد این پدیده‌اند (Diz and Presa, 2009).

مقادیر *Fst* (۰/۱۷۹) به‌دست‌آمده بر اساس معیار Wright (1987) میان ۰/۱۵ تا ۰/۲۵ مقدار بالای تمایز را بین جمعیت‌ها نشان می‌دهد. با توجه به ماهیت ریزماهواره و نوع جهش‌های مؤثر در آن بسیاری از محققان آنالیز *Rst* را برای آن مناسب‌تر دانسته‌اند. Wachirachakarn et al. (2009) نیز *Rst* را از آن رو که برای اندازه‌گیری تمایز جمعیت‌ها از اطلاعات مربوط به اندازه آللی استفاده می‌کند نسبت

References

- [1]. Bromage, N., Porter, M., Randall, C., 2001. The environmental regulation of maturation in farmed finfish
- [2]. with special reference to the role of photoperiod and melatonin. *Aquaculture* 197, 63-98.
- [3]. Avise, J. C., 2000. *Phylogeography the history and formation of species*. Harward University Press, Cambridge.
- [4]. Bataillon, T. M., David, J. L. and Schoen, D. J., 1996. Neutral genetic markers and conservation: simulated Germplasm collections. *Genetics* 144,409-417.
- [5]. Dewoody, J. A. and Avise, J. C. , 2000. Microsatellite variation in marine, freshwater and anadromous fishes compared with other animals. *Fish biology* 56, 461-473.
- [6]. Diz, P. A., and Presa, P., 2009. The genetic diversity pattern of *Mytilus alloprovincialis* in Galician Rías (NW Iberian estuaries). *Aquaculture* 287, 278-285.
- [7]. Frankham, R., 2008. Genetic adaptation to captivity in species conservation programs. *Molecular Ecology* 17, 325-333.
- [8]. Ferguson, A., Taggart, J. B., Prodohl, P. A., McMeel, O., Thompson, C., Stone, C., McGinnity, P. and Hynes, R. A., 1995. The application of molecular markers to the study and conservation of fish populations whit special reference to *Salmo*. *Fish Biology* 47,103-126.
- [9]. Felsenstein, J., 1985. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution* 39,783-791.
- [10]. Ferguson, A., Taggart, J. B., Prodohl, P. A., McMeel, O., Thompson, C., Stone, C., McGinnity, P. and
- [11]. Hynes, R. A., 1995. The application of molecular markers to the study and conservation of fish populations whit special reference to *Salmo*. *Fish Biology* 47,103-126.
- [12]. Ha, H. P., Nguyen, T. T., Poompuang, S., Na-Nakorn, U., 2009. Microsatellites revealed no genetic differentiation between hatchery and contemporary wild populations of striped catfish, *Pangasianodon hypophthalmus* (Sauvage 1878) in Vietnam. *Aquaculture* 291, 154-160.
- [13]. Hakansson, J. and Jensen, P., 2005. Behavioural and morphological variation between captive populations of red junglefowl (*Gallus gallus*) possible implications for conservation. *Biological Conservation* 122, 431-439.
- [14]. Hillis, D. M. and Mortiz, C. 1996. *Molecular systematic*. 2nd Ed, Sinauer Associates Inc, Publishers Sunderland, Massachusetts.
- [15]. Launey, S., Krieg, F., Morin, J., Laroche, J., 2003. Five new microsatellite markers for Northern pike (*Esox lucius*). *Mol. Ecol. Notes* 3, 366–368.

- [16]. Li, J., wang, G., and Bai, Z. 2009. Genetic variability in four wild and two farmed stocks of the Chines freshwater pearl mussel (*Hyriopsis cumingii*) estimated by microsatellite DNA markers. *Aquaculture* 287, 286-291.
- [17]. Lin, Y. S., Poh, Y. P., Lin, S. M. and Tzeng, C. S. , 2002. Molecular techniques to identify freshwater eels. *Zoological Studies* 41,421-430.
- [18]. Lind, C. U., Evans, B. S., Knauer, J., Taylor, J. J. U. and 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.
- [19]. Liu, Z. and Cordes, J. F., 2004. DNA marker technologies and their applications in aquaculture genetics. *Aquaculture* 238,1-37.
- [20]. Liu, F., Xia, J. H., Bai, Z. H., Fu, J. J., Li, J. L. and Yue, G. H., 2009. High genetic diversity and substantial population differentiation in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) revealed by microsatellite analysis. *Aquaculture* 297, 51-56.
- [21]. Lucentini, L., Palomba, A., Lancioni, H., Gigliarelli, L., Natali, M., Panara, F., 2006. Microsatellite polymorphism in Italian populations of northern pike (*Esox lucius* L.). *Fisheries Research* 80, 251-262.
- [22]. Lucentini, L., Palomba, A., Lancioni, H., Gigliarelli, L., Sgaravizzi, G., Natali, M., Panara, F., 2009. Temporal changes and effective population size of an Italian isolated and supportive-breeding managed northern pike (*Esox Lucius*) population. *Fisheries Research* 96,139-147.
- [23]. Miller, L.M., Kapuscinski, A.R., 1996. Microsatellite DNA markers reveal new levels of genetic variation in northern pike. *Trans. Am. Fish. Soc.* 125, 971–977.
- [24]. Nei, M., 1972. Genetic distance between populations. *American Naturalist* 106, 283- 92.
- [25]. Pampoulie, C., Jorundsdottir, T.D., Steinarsson, A., Petursdottir, G., tefansson, M.O., Danlelsdottir, A.K. , 2006. Genetic comparison of experimental farmed strains and wild Icelandic populations of Atlantic cod (*Gadus morhus* L.). *Aquaculture* 261,556-564.
- [26]. Peakall, R. and Smouse, P. E., 2006. GENALEX 6: genetic analysis in excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology* 6,288-295.
- [27]. Pinera, J. A., Blanco, G., Vázquez, E. and Sánchez, J. A., 2007. Genetic diversity of black spot seabream (*Pagellus bogaraveo*) populations Spanish Coasts: a preliminary study. *Marin Biology* 151,2153-2158.
- [28]. Raymond, M. and Rousset, F., 1995. GENEPOP (Version 1.3): Population genetic software for exact tests and ecumenicisim. *Heredity* 86,248-249.
- [29]. Rodzen, J.A., May, B., 2002. Inheritance of microsatellite loci in the polyploidy white sturgeon (*Acipenser transmontanus*). *Genome* 54, 1064-1076.
- [30]. Ryman, N. and Utter, F. (eds) 1987. Population genetics and fishery management. University of Washington Press, Washington.

- [31]. Sambrook J., Fritsch E. F, Maniatis T., 1989: Electrophoresis of RNA through Gels Containing Formaldehyde: Molecular Cloning, 2nd edn. Cold Spring Harbor, NY: CSH Laboratory Press, p: 743-745
- [32]. Verspoor, E. and 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.
- [33]. Wachirachaikaran, A., Rungsin, W., Srisapoom, P., 2009. Crossing of African catfish (*Clarias gariepinus*) strains based on strain selection using genetic diversity data. *Aquaculture*.
- [34]. Wang, C., Yu, X. and Tong, J. (2007) Microsatellite diversity and population genetic structure of redbfin culture (*Culter erythropterus*) in fragmented lakes of the Yangtze River. *Hydrobiologia* 586:321-329.
- [35]. Willson, A. C., Cann, S. M., Goerge, M., Gyhensten, V. B., Helm By Chcowsh, K. M., 1997 . Mitochondrial DNA and two perspective on evolutionary genetics. *Biological Journal of the Linnean Society* 26,375-400.
- [36]. Wright, S., 1987. Evolution and the genetics of populations. Vol. 4: variability within and among natural populations. University of Chicago Press, Chicago.
- [37]. 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.
- [38]. Yeh, F. C., Yang, R. C. and Boyle, T., 1999. POPGENE version 1.3.1. Microsoft Window-bases Freeware for population Genetic Analysis. Retrieved from: www.uallberta.ca/fyeh/. University of Alberta and the Centre for International Forestry Research.

