ژنتیک نوین
دوره نهم، شماره ۱، بهار ۱۳۹۳
صفحه ۴۸- ۳۹

مقایسه ژنتیک جمعیت سیاه‌ماهی (*Capoeta capoeta gracilis*) در رودخانه‌های مادرسو و گرگانرود با استفاده از نشانگر ریزماهواره

Comparison of *Capoeta capoeta gracilis* genetic populations in Madarsu and Gorganrud rivers by using of microsattelite marker

اکرم علی‌اکبریان*[۱]، علی شعبانی[۱]، بهاره شعبانپور[۱]

۱- به ترتیب دانشجوی دکتری، استادیار و دانشیار دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

Aliakbarian A*[1], Shabani A[1], Shabanpour B[1]

1. PhD student, Assistant Professor and Associate Professor, Gorgan University of Agriculture Science and Natural Resources

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: akbarian.akram@yahoo.com

(تاریخ دریافت: ۹۰/۱۱/۱۷- تاریخ پذیرش: ۹۱/۷/۴)

چکیده

به منظور بررسی ساختار جمعیتی سیاه‌ماهی (*Capoeta capoeta gracilis*) که یکی از گونه‌های بومی مهم رودخانه‌ای حوضه دریای خزر است، تعداد ۳۰ قطعه ماهی از هر کدام از رودخانه‌های مادرسو در پارک ملی گلستان و گرگانرود صید و به آزمایشگاه منتقل شدند. پس از استخراج دی ان ای از بافت باله آنها، با استفاده از ۹ جفت آغازگر ریزماهواره در واکنش زنجیره‌ای پلیمراز مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که هر ۹ جایگاه استفاده شده، چند شکل بوده و مناطق مورد بررسی از غنای اللی (تعداد الل:۱۰/۲۲) و ژنی (هتروزایگوسیتی:۰/۹۸) بالایی برخوردار می‌باشند. بر اساس آزمون تعادل هاردی-واینبرگ در اکثر جایگاه‌ها انحراف از تعادل وجود داشت که می‌توان آن را به افزایش هتروزایگوسیتی نسبت داد. فاصله ژنتیکی Nei بین دو جمعیت ۰/۱۳۹ بدست آمد که نشان داد تمایز ژنی بین دو جمعیت مورد بررسی قابل بیان می‌باشد. نتایج حاصل از این تحقیق می‌تواند اطلاعات سودمندی جهت برنامه‌های حفاظتی و مدیریتی این گونه با ارزش بومی ایران فراهم سازد.

واژه‌های کلیدی

استان گلستان
تنوع ژنتیکی
سیاه‌ماهی
نشانگر ریزماهواره
DNA

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.1.6.5]

مقدمه

سیاه‌ماهی *Capoeta capoeta gracilis* ازخانواده Cyprinidae، بزرگترین خانواده ماهیان آب شیرین (Nelson 1994)، ازگونه‌های بومی مهم رودخانه‌ای ایران محسوب می‌شود که پراکنش آن در ایران در حوضه‌های جنوب دریای خزر، حوضه دریاچه ارومیه، اطراف اصفهان و در جنوب شرقی خراسان می‌باشد (Abdoli 1999). سیاه‌ماهی در منابع آب شیرین کشور ما حضور گسترده‌ای دارد. این ماهی جز آن دسته از کپور ماهیانی است که بیشتر عادت به زندگی در دمای زیر ۲۰ درجه سانتی‌گراد را دارد. عدم گسترش این ماهی در قاره اروپا و آمریکا سبب شده تا از دسترس بیشتر محققان دور مانده و جنبه‌های زیستی آن تا حدودی به صورت مبهم باقی بماند. پراکنش وسیع گونه سیاه‌ماهی احتمالا به دامنه وسیع رژیم غذایی و کم توقعی آن، عدم قلمروطلبی و زندگی گله‌ای سیاه‌ماهی و وجود زیستگاه‌های گسترده مناسب زیست آن بستگی دارد (Eskandari 1998). بیوماس بالای این ماهی در آب‌های داخلی سبب می‌شود مطالعه ویژگی‌های زیستی و کوشش در جهت معرفی آن به سیستم پرورشی برای مصارف انسانی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار باشد (Abdoli et al. 1999).

امروزه شناسایی گونه‌ها، زیرگونه‌ها و جمعیت‌های آبزیان دارای اهمیت فراوانی می‌باشد، چرا که علاوه بر مدیریت صحیح و بهره-برداری مناسب از منابع، سبب اجرای برنامه‌های اصولی در راستای حفاظت از گونه‌ها و جمعیت‌های با ارزش، بازسازی ذخایر و همچنین ایجاد تنوع در گونه‌های مختلف می‌شود. تنوع ژنتیکی آبزیان یکی از شاخص‌های مهم تعیین شرایط اکولوژیک منابع آبی می‌باشد (Zhu et al. 2002). کاهش تنوع ژنتیکی برای جمعیت‌های مختلف مضر و بر میزان برداشت آنها تاثیرگذار است. بهره‌برداری از ذخایر گونه‌های مختلف نیاز به شناخت کافی از وضعیت ذخایر گونه‌ها، نژادها و جمعیت‌های متعددآن دارد تا بتوان مدیریت اصولی بر ذخایر اعمال کرد.

در ابتدا ارزیابی ساختار ذخایر، تشخیص گونه‌ها و جمعیت‌ها با استفاده از صفات مورفومتریک و مریستیک انجام می‌شد اما با توجه به حساسیت بالای این صفات به تغییرات محیطی و اثرات منفی دستکاری در نشانه‌گذاری بر سلامت ماهیان و همچنین محدود بودن تفسیر داده‌های حاصل از آن، علم استفاده از مارکرهای مولکولی همچون ریزماهواره، آلوزایم و راپید جهت شناسایی ساختار ژنتیکی ذخایر توسعه یافت. در این میان، نشانگرهای ریزماهواره در مطالعات ژنتیک جمعیت کاربرد گسترده‌تری نسبت به سایر نشانگرها دارند. در واقع این نشانگرها ارزش بالایی داشته به طوری‌که علاوه بر فراوانی در ژنوم موجودات، تنوع قطعات تکرار شونده در آنها بالاست که دلیل آن را می‌توان به نرخ بالای جهش در این نشانگرها نسبت داد. از طرفی به علت همبارز بودن، هتروزیگوسیتی و جهش را بهتر نشان داده، لذا می‌توان اذعان کرد که این نشانگرها در بررسی‌های جمعیتی ماهیان بر برخی معایب روش‌های دیگر غلبه دارند (Verspoor and Jordan 1989). میکروستلایت‌ها را به عنوان کارآمدترین نشانگرها در تجزیه تنوع ژنتیکی در بین سایر نشانگرها معرفی کرده‌اند، لذا در این بررسی از نشانگرهای ریزماهواره جهت ارزیابی تنوع ژنتیکی سیاه‌ماهی استفاده شد (Bartfai et al. 2003). با توجه به اینکه در این تحقیق از نشانگر ژنتیکی ریزماهواره جهت بررسی تنوع ژنتیکی سیاه‌ماهی استفاده شده، به مختصری از مطالعات صورت گرفته نشانگرهای ریزماهواره پرداخته می‌شود. Safari (2006) با استفاده از چهار جایگاه ریزماهواره‌ای به بررسی ساختار ژنتیک جمعیت ماهی شیپ دریای خزر (*Acipenser nudiventris*) پرداخت و تنوع بالایی را در این گونه گزارش کرد. همچنین اختلاف معنی‌داری بین نمونه‌های رودخانه اورال و سواحل جنوبی دریای خزر وجود دارد و به نظر می‌رسد بیش از یک جمعیت در حوضه جنوبی دریای خزر وجود دارد. Rezayi (2009) در بررسی تنوع ژنتیکی ماهی سفید (*Rutilus frisii kutum*) در مناطق قره‌سو، گرگانرود، تجن، تنکابن و گهرباران از ۱۰ نشانگر ریزماهواره استفاده کرد که تفاوت بین‌جمعیت‌ها از نظر تعداد الل در جایگاه و هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار معنی‌دار نبود ($P>0/05$). آنالیز توزیع تنوع ژنتیکی نشان داد که میزان تنوع درون جمعیتی (۹۸ درصد) بسیار بالاست در حالیکه تنوع بین جمعیتی (دو درصد) پایین است. Kashiri (2009) در بررسی تنوع ژنتیکی کلمه خزر (*Rutilus rutilus caspius*) در مناطق گرگانرود، قره‌سو، تالاب گمیشان، خلیج گرگان و تالاب انزلی از ده جایگاه ریزماهواره استفاده کرد و طبق نتایج حاصله، جمعیت-

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.1.6.5]

های مورد نظر از تمایز ژنتیکی پایینی برخوردار بودند. همچنین تعداد الل‌ها و میزان هتروزیگوسیتی در این بررسی حاکی از این مطلب است که علی‌رغم مسائلی همچون تکثیر مصنوعی ماهی کلمه، تنوع ژنتیکی آن هنوز هم در سطح قابل توجهی قرار دارد و احتمالا سه جمعیت مجزا از ماهی کلمه در مناطق مورد بررسی وجود دارد. با توجه به اینکه تاکنون مطالعاتی در زمینه تنوع ژنتیکی و بررسی جمعیت‌های احتمالی سیاه‌ماهی در ایران و سایر کشورها صورت نگرفته است، این بررسی با هدف شناسایی جمعیت‌های این گونه مهم اکولوژیکی با استفاده از نشانگر ریزماهواره انجام شد. استفاده از اطلاعات حاصل از این تحقیق می‌تواند در بهبود و اجرای روش‌های حفاظتی و مدیریتی مناسب، سودمند واقع شود.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری و استخراج DNA

نمونه‌برداری از سیاه‌ماهی با استفاده از دستگاه الکتروشوکر از مناطق مادرسو (۳۰ نمونه) در پارک ملی گلستان و رودخانه گرگانرود (۳۰ نمونه) انجام شد. از هر نمونه یک تا دو گرم بافت نرم باله جدا و در اتانول ۹۵ درصد نگهداری شد. استخراج DNA از نمونه‌های باله به روش فنل-کلروفرم (Hillis et al. 1996) انجام گرفت. DNA استخراجی پس از افزودن ۱۰۰ میکرولیتر آب مقطر دو بار تقطیر تا زمان انجام مطالعات در فریزر۲۰- نگهداری شد. بررسی کیفی و کمی DNA استخراج شده نیز با الکتروفورز ژل آگارز یک درصد و دستگاه اسپکتروفتومتر تعیین شد.

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) و الکتروفورز

جهت انجام واکنش PCR (واکنش زنجیره‌ای پلیمراز) از ۹ جفت آغازگر ریزماهواره استفاده شد (جدول۱). واکنش‌ها برای هر یک از آغازگرها انجام و بهترین دمای الحاق برای هر یک از آن‌ها به دست آمد. حجم واکنش PCR، ۲۵ میکرولیتر شامل ۱۵ نانوگرم DNA هدف، ۰/۵ میکرومولار از هر آغازگر، ۴۰۰ میکرومولار dNTP، یک واحد آنزیم Tag DNA polymerase، بافر PCR (1X)، ۱/۵ میلی‌مولار $Mgcl_2$ و آب مقطر استریل تا رسیدن به حجم بود. برنامه چرخه حرارتی واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در جدول۲ نشان داده شده است. محصولات واکنش زنجیره‌ای پلیمراز بر روی ژل پلی‌آکریل‌آمید ۸ درصد (غیریونیزه) جداسازی شدند. سپس ژل‌ها به روش نیترات نقره (Bassam et al.1991) رنگ‌آمیزی و پس از تهیه تصویر آن‌ها توسط دستگاه مستندساز ژل، از نرم‌افزار Gel pro analyzer (Media Cybernetics 2002) برای محاسبه طول قطعات استفاده شد.

تجزیه آماری

ارزیابی تعداد الل در هر جایگاه، هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار در بررسی پلی‌مورفیسم ژنتیکی جمعیت‌ها و همچنین آزمون انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ با استفاده از نرم افزار GeneAlex6.3 (Peakall and Smouse 2006) انجام شد. تعیین فاصله و شباهت ژنتیکی و رابطه فیلوژنیک بین جمعیت‌ها با استفاده از ترسیم درخت UPGMA نیز با استفاده از نرم‌افزار PopGene (Yeh et al. 1999) انجام شد. به منظور تعیین تنوع ژنتیکی درون و بین جمعیتی و همچنین میزان تمایز بین جمعیتی بر اساس مدل اللی بی‌نهایت (Fst) و مدل جهش پله‌ای (Rst) با استفاده از تجزیه واریانس مولکولی بسته نرم‌افزاری GeneAlex 6.3 مورد استفاده قرار گرفت.

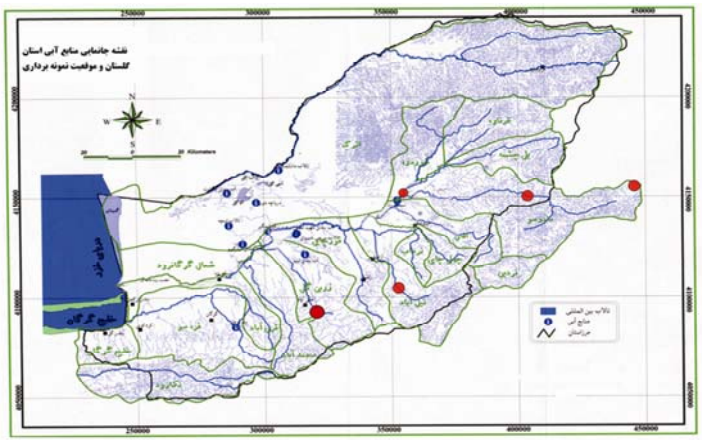
نتایج و بحث

غلظت DNA در نمونه‌ها جهت انجام واکنش PCR مناسب بود (۵۰ تا ۱۰۰ نانوگرم) و با توجه به نتایج الکتروفورز ژل آگارز از کیفیت مناسبی برخوردار بودند. نتایج حاصل از الکتروفورز ژل پلی‌اکریلامید نشان داد که در هر ۹ جایگاه مورد بررسی در نمونه-ها حالت پلی‌مورف وجود دارد (شکل۱). تعداد الل‌های مشاهده شده در سطح جایگاه‌های مورد مطالعه در محدوده ۱۶-۶ بدست آمد به‌طوری‌که جایگاه‌های CypG3 بالاترین (۱۶) و جایگاه Rru2 پایین‌ترین (۶) تعداد الل را نشان دادند (میانگین۱۰/۲). همچنین میانگین الل‌های موثر در این بررسی ۷/۴۵ بدست آمد. مقادیر هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Ho) و مورد انتظار (He) به-ترتیب در دامنه ۱/۰-۰/۸ (میانگین ۰/۹۸۵) و ۰/۹۰۷-۰/۷۷۴ (میانگین ۰/۸۵۳) قرار داشت. متوسط هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده در سطح مناطق نیز به‌ترتیب ۰/۹۹۳ و ۰/۹۷۸ برای رودخانه‌های

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.1.6.5]

جدول۱- خصوصیات جایگاه‌های مورد استفاده در این تحقیق

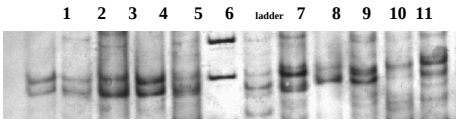
جایگاه ژن	کد دستیابی در بانک ژن	تعداد الل	اندازه الل (جفت باز)	توالی (′۳-′۵)	دمای اتصال (°C)
CypG24	AY439142	۱۱	۱۶۸- ۱۲۴	F:CTG CCGCAT CAG AGA TAA ACA CTT R: TGG CGG TAA GGG TAG ACC AC	۵۸
CypG30	AY439148	۱۴	۲۳۶- ۱۷۲	F: GAA AAA CCC TGA GAA ATT CAA AAG A R: GGA CAG GTA AAT GGA TGA GGA G A	۵۲
Lid1	AB112732	۱۳	۲۳۲- ۱۸۸	F: TAA AAC ACA TCC AGG CAG ATT R: GGA GAG GTT ACG AGA GGT GAG	۵۱
Rru2	AB112738	۶	۸۴- ۶۴	F: TTC CAG CTC AAC TCT AAA GA R: GCA CCA TGC AGT AAC AAT	۴۶
Z21908	Z21908	۱۰	۱۷۲- ۱۲۴	F: ATT GAT TAG GTC ATT GCC CG R: AGG AGT CAT CGC TGG TGA GT	۵۹
CypG3	AY439122	۱۶	۲۹۶- ۱۶۸	F: AGT AGG TTT CCC AGC ATC ATT GT R: GAC TGG ACG CCT CTA CTT TCA TA	۵۹
MFW13	MFW13	۱۲	۲۰۴- ۱۵۶	F: ATGATGAGAACATTGTTTACAG R: TGAGAGAACAATGTGGATGAC	۵۶
MFW17	MFW17	۱۳	۲۳۲- ۱۷۲	F: CTCAACTACAGAGAAATTTCATC R: GAAATGGTACATGACCTCAAG	۵۷
MFW26	MFW26	۱۰	۱۲۸- ۹۲	F: CCCTGAGATAGAAACCACTG R: CACCATGCTTGGATGCAAAAG	۶۰



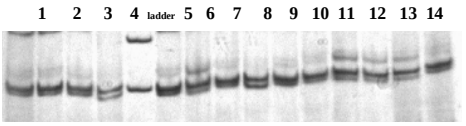
شکل۱- نقشه ایستگاه‌های مورد بررسی

مادرسو و گرگانرود به‌دست آمد. همچنین بین مناطق مورد بررسی تفاوت معنی‌داری بین میزان هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده و مورد انتظار مشاهده نشد. در بررسی تعادل هاردی- واینبرگ، ۱۳ نمونه از ۱۸ آزمون مورد بررسی (۹ جایگاه × ۲ منطقه) به طور معنی-داری ($P\leq$۰/۰۵) انحراف از تعادل را نشان دادند (جدول۳). از نظر تمایز میان مناطق بر اساس مقدار F_{ST} بر اساس فراوانی ۰/۰۱۱ و از طریق تجزیه واریانس مولکولی نیز ۰/۰۰۸ ($P\leq$۰/۰۵) محاسبه شد. مقادیر R_{ST} و G_{ST} از دیگر معیارهای تمایز نیز به ترتیب ۰/۰۲۸ و ۰/۰۰۸ به دست آمدند. نتایج حاصل از تجزیه واریانس مولکولی (جدول۴ و شکل۲) نیز نشان داد که بیشترین تنوع مشاهده شده مربوط به درون جمعیت‌ها (F_{ST} (۹۹درصد)، R_{ST} (۷۰درصد) می‌باشد و تنوع بین‌جمعیتی پائین است. میزان جریان ژنی (N_m) بالایی (۲۵/۸۵) نیز میان مناطق به دست آمد. در سطح جایگاه‌ها نیز میزان جریان ژنی (N_m) و تمایز (F_{ST}) محاسبه شد (جدول۵)، کمترین میزان تمایز مشاهده شده (۰/۰۰۶) در جایگاه MFW13 و بیشترین میزان جریان ژنی (۴۱/۶۵) در همان جایگاه به دست آمد.

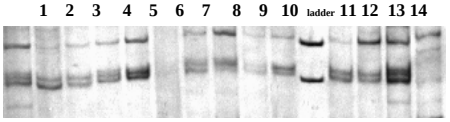
[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.1.6.5]



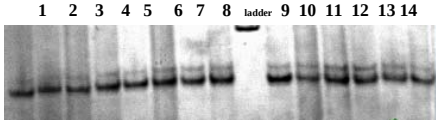
۲-۱-الگوی باندی جایگاهCypG30. چاهک ۷-۱) نمونه‌های مادرسو؛ ۱۱-۸) نمونه‌های گرگانرود



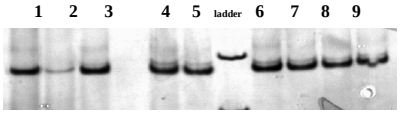
۲-۲-الگوی باندی جایگاه CypG24. چاهک۶-۱) مادرسو؛ ۱۴-۷) گرگانرود



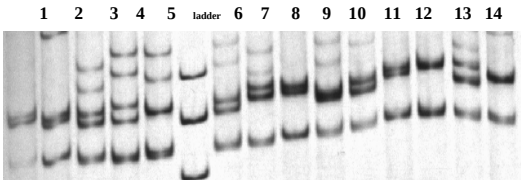
۲-۳-الگوی باندی جایگاه Lid1. چاهک۳-۱ و۱۴-۱۱) مادرسو؛۱۰-۴) گرگانرود



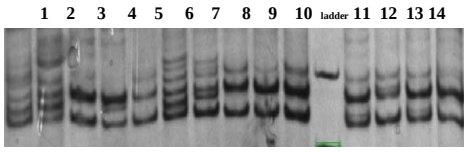
۲-۴-الگوی باندی جایگاه Rru2. چاهک۸-۱) گرگانرود؛ ۱۴-۹) مادرسو



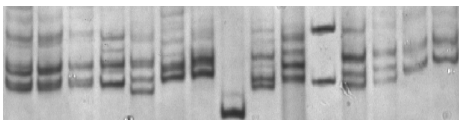
۲-۵-الگوی باندی جایگاه Z21908. چاهک۵-۱) مادرسو؛ ۹-۶) گرگانرود



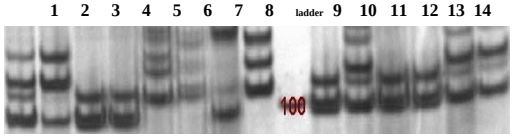
۲-۶-الگوی باندی جایگاه CypG3. چاهک۷-۱) مادرسو؛ ۱۴-۸) گرگانرود



۲-۷-الگوی باندی جایگاه MFW13. چاهک ۸-۱) گرگانرود؛ ۱۴-۹) مادرسو



۲-۸-الگوی باندی جایگاه MFW17. چاهک۷-۱) مادرسو؛ ۱۴-۸) گرگانرود



۲-۹-الگوی باندی جایگاه MFW26. چاهک۸-۱) گرگانرود؛ ۱۴-۹) مادرسو

شکل۲- الگوی باندی ۹ جایگاه مورد استفاده در سیاه ماهی

متوسط شاخص (F_{Is}) ۰/۱۵۹- محاسبه شد که مقادیر آن در تمام جایگاه‌های مورد بررسی به غیر از جایگاه CypG3 منفی به دست آمد. بر اساس معیار نئی میزان فاصله و شباهت ژنتیکی بین دو منطقه به ترتیب ۰/۸۷ و ۰/۱۳ محاسبه شد. بر اساس دندروگرام UPGMA ترسیم شده بر مبنای مقدار فاصله ژنتیکی تصور می‌شود که جمعیت‌های رودخانه مادرسو و گرگانرود در دو گروه جدا قرار دارند.

جدول۲-برنامه چرخه‌های حرارتی واکنش زنجیره‌ای پلیمراز

مراحل	درجه حرارت (درجه سانتی‌گراد)	زمان	تعداد چرخه
واسر رشته‌سازی اولیه	۹۴	۵ دقیقه	۱
واسر رشته‌سازی	۹۴	۳۰ ثانیه	۱
الحاق	۶۴-۵۶	۳۰ ثانیه	۳۵
بسط	۷۲	۶۰ ثانیه	۱
بسط نهایی	۷۲	۱۰ دقیقه	۱

حالت پلی‌مورفیسم در ژنوم هسته موجودات به عنوان شاخص ژنتیکی ارزشمند جهت ارزیابی تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیتی به منظور محافظت از ذخایر ژنی گونه‌ها محسوب می‌شود. مدیریت ذخایر در صورتی‌که بر پایه اطلاعات دقیق از قبیل مطالعات مولکولی باشد، می‌تواند علاوه بر حفظ تنوع زیستی، میزان برداشت و بهره‌برداری را به حد معقول و حداکثر برساند (Thai et al. 2006). با توجه به اینکه متاسفانه این گونه بومی با ارزش فاقد جایگاه اختصاصی می‌باشد، جایگاه‌های مورد استفاده در این بررسی بر اساس پلی‌مورفیسم بالایشان در ماهی کلمه (*Rutilus rutilus*) و (Hamylton and Tyler 2008) ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) (Crooijmans et al. 1997) انتخاب شدند. با وجود غیر اختصاصی بودن، هر ۹ جایگاه در سیاه‌ماهی (*Capoeta capoeta gracilis*) دارای پلی‌مورفیسم بودند.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.1.6.5]

جدول۳- تنوع ژنتیکی ۹ جایگاه مورد بررسی در جمعیت‌های سیاه‌ماهی

		CypG24	CypG30	Lid1	Rru2	Z21908	CypG3	MFW13	MFW17	MFW26
مادرسو	N_a	۹	۱۳	۱۱	۶	۱۰	۱۴	۱۱	۱۳	۷
	N_e	۷/۱۱۵	۹/۵۲۴	۷/۹۳۰	۴/۳۶۹	۴/۷۷۵	۹/۸۹۰	۸/۵۳۱	۹/۲۳۱	۶/۱۲۲
	H_o	۱/۰۰۰	۱/۰۰۰	۱/۰۰۰	۱/۰۰۰	۱/۰۰۰	۰/۹۳۳	۱/۰۰۰	۱/۰۰۰	۱/۰۰۰
	H_e	۰/۸۵۹	۰/۸۹۵	۰/۸۷۴	۰/۷۷۱	۰/۷۹۱	۰/۸۹۹	۰/۸۸۳	۰/۸۹۲	۰/۸۳۷
	F_{IS}	−۰/۱۶۴	−۰/۱۱۷	−۰/۱۴۴	−۰/۲۹۷	−۰/۲۶۵	−۰/۰۳۸	−۰/۱۳۳	−۰/۱۲۱	−۰/۱۹۵
	pHw	***	*	ns	***	***	***	ns	***	***
گرگانرود	N_a	۱۰	۱۳	۱۲	۵	۶	۱۴	۱۰	۱۱	۹
	N_e	۷/۲۰۰	۱۰/۰۵۶	۷/۲۸۷	۴/۵۶۹	۴/۴۲۳	۱۰/۷۷۸	۸/۰۷۲	۹/۱۳۷	۵/۱۸۷
	H_o	۱/۰۰۰	۱/۰۰۰	۱/۰۰۰	۱/۰۰۰	۱/۰۰۰	۰/۸۰۰	۱/۰۰۰	۱/۰۰۰	۱/۰۰۰
	H_e	۰/۸۶۱	۰/۹۰۱	۰/۸۶۳	۰/۷۸۱	۰/۷۷۴	۰/۹۰۷	۰/۸۷۶	۰/۸۹۱	۰/۸۰۷
	F_{IS}	−۰/۱۶۱	−۰/۱۱۰	−۰/۱۵۹	−۰/۲۸۰	−۰/۲۹۲	۰/۱۱۸	−۰/۱۴۱	−۰/۱۲۳	−۰/۲۳۹
	pHw	***	ns	ns	***	**	ns	*	***	***

N_a) تعداد الل؛ N_e) تعداد الل موثر؛ H_o) هتروزیگوسیتی مشاهده شده؛ H_e) هتروزیگوسیتی مورد انتظار؛ F_{is}) ضریب درون آمیزی؛ pHw) تست احتمال هاردی- واینبرگ بعد از ضریب تصحیح بونفرونی(ns، * ،** و *** به ترتیب عدم معنی‌داری و معنی‌داری در سطح ($P\leq$۰/۰۵)، ($P\leq$۰/۰۱) و ($P\leq$۰/۰۰۱)

جدول۴- تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) بر اساس ماتریکس F_{st}. df (درجه آزادی)، SS (مجموع مربعات)، Ms (انحرافات میانگین مربع)، Prob (معنی‌دار بودن انحراف بعد از ۹۹ جایگزینی تصادفی).

	df	SS	MS	Est.var.	%	Stat	Value	Prob
بین جمعیت‌ها	۵۸		۵/۱۳۳	۰/۰۳۰	یک درصد			
درون جمعیت‌ها	۶۰	۲۶۶/۰۰	۴/۴۳۳	۴/۴۳۳	۹۹ درصد	F_{ST}	۰/۰۰۸	۰/۰۲۰

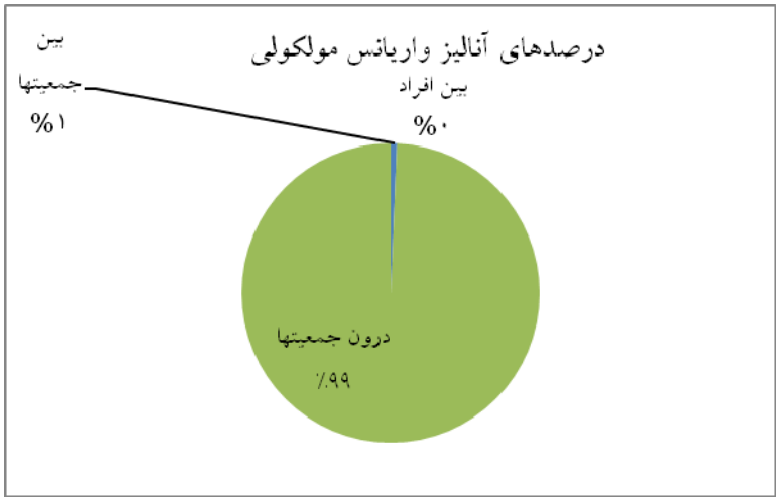
تعداد متوسط آلل‌ها در هر جایگاه از مقیاس‌های رایج محاسبه تنوع جمعیت در اطلاعات حاصل از نشانگرهای ژنتیکی می‌باشد. کاهش تعداد آلل‌های مشاهده شده در سطوح جمعیتی می‌تواند بیانگر کاهش تنوع ژنتیکی باشد (Lind et al. 2009) و بالا بودن غنای آللی نشان دهنده بالا بودن اندازه جمعیت موثر است. بنابراین استفاده از غنای آللی برای ارزیابی تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های که برای برنامه‌های به‌گزینی یا حفاظت انتخاب شده-اند، مناسب‌تر می‌باشد (Diz et al. 2009). مطالعه تنوع زیستی در جوامع مشخص کننده وسعت تنوع ژنی آن جامعه می‌باشد. معمول‌ترین معیار تنوع ژنی در یک جمعیت میزان هتروزیگوسیتی می‌باشد (Brighitte et al. 2005). هتروزیگوسیتی بیانگر طیف وسیعی از ژنوتیپ به‌عنوان پاسخ به سازش‌پذیری در شرایط متغیر محیطی است و بسیاری از خصوصیات مهم اقتصادی مثل رشد، باروری و مقاومت در برابر بیماری را تحت تاثیر قرار می‌دهد (Beardmore et al. 1997). در مطالعه حاضر، میانگین تعداد آلل در هر جایگاه ۱۰/۲ و میانگین تعداد آلل موثر نیز ۷/۴۵ به دست آمد که نشان‌دهنده غنای آللی و در نتیجه تنوع ژنی بالای این گونه در جمعیت‌های مورد بررسی می‌باشد. میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار نیز در پنج منطقه مورد نمونه‌برداری به ترتیب ۰/۹۸۵ و ۰/۸۵۳ بدست آمد که نشان‌دهنده این است که علیرغم بروز حوادث طبیعی نظیر خشکسالی و سیل و همچنین برخی از فعالیت‌های انسان ساخت نظیر سدسازی، احداث پل، لایروبی بستر رودخانه‌ها، جاده‌سازی و برنامه‌های انتقال آب که تاثیر بسزایی در از بین رفتن و انقراض گونه‌های وحشی دارد، تنوع ژنتیکی این گونه ارزشمند بومی در دو منطقه مذکور در سطح بالایی قرار دارد.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.1.6.5]

جدول۵- میزان تمایز (F_{ST}) و جریان ژنی (N_m)در لکوس‌های مورد بررسی

	CypG24	CypG30	Lid1	Rru2	Z21908	CypG3	MFW13	MFW17	MFW26
F_{ST}	۰/۰۱۹	۰/۰۱۱	۰/۰۰۸	۰/۰۱۴	۰/۰۱۱	۰/۰۰۷	۰/۰۰۶	۰/۰۰۷	۰/۰۱۷
Nm	۱۲/۶۹۳	۲۳/۰۸۶	۳۱/۸۹۸	۱۷/۲۴۷	۲۳/۴۶۷	۳۳/۸۶۵	۴۱/۶۵۸	۳۴/۱۲۸	۱۴/۶۴۹



شکل۳- نحوه توزیع تنوع ژنتیکی مشاهده شده تحت معیار F_{ST}

در صورت بزرگ بودن بیش از اندازه جمعیت، تصادفی بودن آمیزش‌ها و عدم وجود جهش، به‌گزینی و مهاجرت (جابجایی ماهیان از یک جمعیت به جمعیت دیگر) فراوانی آللی و ژنوتیپی می‌تواند از نسلی به نسل دیگر ثابت بماند که تحت عنوان تعادل هاردی‌واینبرگ بیان می‌شود. در جمعیت‌های ماهیان، انحراف از تعادل هاردی‌واینبرگ زیاد دیده می‌شود (Lucentini et al. 2006). بررسی ترکیب ذخایر *Gadus morhua* انحراف در تعادل هاردی- واینبرگ را به دلیل افزایش هموزیگوسیتی، آلل‌های صفر، رانش ژنتیکی، انتخاب، مخلوط شدن و غیر کافی بودن نمونه ها می‌داند (Dahl et al. 2006). همچنین انحراف از تعادل مشاهده شده در مطالعه ساختار جمعیتی *Onchorhynchus masous* به خطای نمونه‌برداری نسبت داده شده است (Kitanishi et al. 2008). علت عمده انحراف از تعادل هاردی- واینبرگ در جمعیت‌های ماهی کلمه (*Rutilus rutilus caspius*) به وجود آلل‌های صفر و هتروزیگوسیتی پایین نسبت داده شد (Kashiri 2009). با بررسی جمعیت‌های ماهی سفید (*Rutilus frisii kutum*)، علت انحراف را عملیات تکثیر مصنوعی و بازسازی ذخایر عنوان کرده‌اند (Rezayi 2009). در بررسی ژنتیک جمعیت *Catla catla* علت انحراف از تعادل هاردی- واینبرگ را به اندازه کم نمونه‌ها نسبت دادند (Alam and Islam 2005). در تحقیق حاضر، در بررسی تعادل هاردی-واینبرگ اغلب جایگاه‌ها انحراف معنی‌داری از تعادل نشان دادند که علت عمده آن را می‌توان به فزونی هتروزیگوسیتی نسبت داد. مقایسه هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار در میان دو جمعیت و تمام جایگاه‌های مورد بررسی بیانگر افزایش هتروزیگوسیتی می‌باشد که این افزایش ممکن است به دلایلی همچون عدم آمیزش خویشاوندی، جریان ژنی بالا و در نتیجه مهاجرت‌های زیاد صورت پذیرد. نتایج تجزیه واریانس بر اساس F_{ST} تنها یک درصد از تنوع مشاهده شده را مربوط به بین- جمعیت‌ها می‌داند و مقدار به دست آمده F_{ST} (۰/۰۱۱) نیز تمایز بسیار پایین را میان جمعیت‌ها نشان داد که معنی‌دار نبود

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.1.6.5]

($P\leq$۰/۰۵). بر اساس معیار Wright (1978) میزان F_{ST} بین صفر تا ۰/۰۵ نشان‌دهنده تمایز و تفکیک جمعیتی پایین می‌باشد. ماهیان دریایی تنوع ژنتیکی بالاتر و تمایز ژنتیکی پایین‌تری را نسبت به ماهیان آب شیرین نشان می‌دهند که این تنوع به اندازه بزرگ جمعیت و جریان بالای ژنی در محیط‌های دریایی و اندازه کوچک جمعیت مؤثر و جریان ژنی محدود در جمعیت‌های آب شیرین نسبت داده می‌شود (Dewoody and Avise 2000). همان‌طور که قبلا توسط Hartel and Clarck (1997) تاکید شده، اگرچه میزان F_{st} به دست آمده در این بررسی پایین می‌باشد، اما ممکن است تمایز ژنتیکی مهمی را نشان دهد. نتایج به‌دست آمده جریان ژنی (Nm) بسیار بالایی را میان دو منطقه (۲۵/۸۵) نشان می‌دهد که می‌تواند ناشی از مهاجرت طبیعی بین مناطق باشد. در صورتی‌که هیچ جریان ژنی و یا جریان ژنی اندکی بین زیرجمعیت‌ها باشد، بین آنها تفاوت ژنتیکی قابل ملاحظه‌ای بوجود خواهد آمد (Chakraborty 1987). با افزایش میزان مهاجرت، میزان شباهت ژنتیکی بین جمعیت‌ها افزایش می‌یابد (Neigel 1997). از آنجایی‌که پدید آمدن گونه‌های جدید منوط به افزایش اختلاف ژنتیکی میان جمعیت‌های جدا یا نسبتا جدا از یکدیگر می‌باشد، بنابراین بطور یقین می‌توان میان پارامترهایی نظیر جریان ژنی، فواصل جغرافیایی و گونه‌زایی ارتباط برقرار کرد (Beacham and Macconachi 2004). محاسبه شاخص Nm در این تحقیق نیز حاکی از جریان ژنی بسیار بالایی بین جمعیت‌های مورد بررسی بود که بیانگر انجام مهاجرت‌های زیاد و تفاوت ژنتیکی پایین میان این جمعیت‌ها می‌باشد. شاخص F_{Is} (ضریب درون آمیزی) بیانگر میزان آمیزش خوشاوندی است و به توزیع هاردی–واینبرگ ژنوتیپ نمونه‌های درون زیرجمعیت‌ها مربوط می‌شود، در حالیکه F_{St} به تنوع ژنتیکی زیر جمعیت‌های درون جمعیت کل اشاره دارد (Carvalho 1998). در این بررسی، متوسط شاخص F_{IS}، ۰/۱۵۹- به دست آمد و از آنجایی‌که این مقدار کمتر از صفر است، بیانگر این است که آمیزش خویشاوندی در این جمعیت‌ها صورت نمی‌گیرد و یا میزان آن بسیار پایین است که این موضوع می‌تواند دلیل دیگری بر فزونی هتروزایگوسیتی باشد (Wright 1969). به طور کلی حوادثی همچون سیل های سال های ۱۳۸۰، ۱۳۸۱ و ۱۳۸۴ در زیر حوضه آبریز رودخانه مادرسو در پارک ملی گلستان و رودخانه زاو (سرشاخه گرگانرود) باعث بروز تغییرات فیزیکی در ساختار طبیعی بستر رودخانه شده که تأثیر زیادی بر فون آبزیان رودخانه را نیز به دنبال داشته است. خشکسالی از جمله حوادث طبیعی دیگری است که در چند سال اخیر دبی و رژیم آبی رودخانه‌ها را به شدت تحت تاثیر قرار داده و در فصل تابستان باعث خشک شدن برخی از جویبارها و سرشاخه‌های فرعی رودخانه‌ها شده است. همچنین برخی از فعالیت‌های انسان ساخت نظیر برنامه‌های سدسازی مانند سد گلستان و بوستان روی رودخانه گرگانرود، برنامه‌های آبخیزداری، آبخوان‌داری و لایروبی بستر رودخانه‌ها از دیگر اقدامات توسعه است که علاوه بر جدایی اکوسیستم‌های یکپارچه رودخانه‌ای باعث تخریب بستر طبیعی رودخانه‌ها، تغییر اکوسیستم طبیعی رودخانه‌ها و انحراف مسیر طبیعی آنها می‌شود. تمامی برنامه‌های فوق بدون در نظر گرفتن مسیرهای مهاجرت ماهیان رودخانه رو و محل تکثیر طبیعی آنها می‌باشد که در نهایت این فعالیت‌ها سبب جدایی جمعیت‌های ماهیان وحشی رودخانه‌ها گشته و می‌تواند در دراز مدت تنوع ژنتیکی جمعیت‌های وحشی را به مخاطره اندازد.

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به نتایج بدست آمده از این تحقیق، به نظر می‌رسد علیرغم حوادث طبیعی همچون سیل و خشکسالی و فعالیتهای انسان ساخت که علاوه بر جدایی اکوسیستم‌های یکپارچه رودخانه‌ای باعث تخریب بستر طبیعی رودخانه‌ها، تغییر اکوسیستم طبیعی و انحراف مسیر طبیعی آنها می‌شود، تنوع ژنتیکی گونه سیاه‌ماهی در سطح قابل توجهی قرار دارد. بنابراین می‌توان بیان کرد که وجود راهکارهای مناسب جهت حفظ و مدیریت تنوع ژنتیکی این گونه بومی ضروری به نظر می‌رسد. از طرف دیگر با توجه به کاهش تمایز ژنتیکی بین این دو منطقه لازم است که هرگونه فعالیت و برنامه توسعه روی اکوسیستم‌های یکپارچه رودخانه‌ای با در نظر گرفتن زیستگاه طبیعی فون آبزیان صورت پذیرد.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.1.6.5]

منابع

Abdoli A (1999) The inland water fishes of Iran. Mana press, Tehran, Iran 122 (In Farsi).
Abdoli A, Eskandari S (1999) Natural breeding of Siahmahi (*Capoeta capoeta grasilis*). Journal of Gorgan Agricultural Science and Natural Resources 38-51 (In Farsi).
Alam S, and Islam S (2005) Population genetic structure of *Catla catla* (Hamilton) revealed by microsatellite DNA markers. Aquaculture 246: 151-160.
Bartfai R, Egedi S, Yue GH, Kovacs B, Urbany B, Tamas G, Horvath L, Orban L (2003) Genetic analysis of two common carp broodstocks by RAPD and microsatellite markers. Aquaculture 219: 157-167.
Bassam BJ, Caetano-Anolles G, Gresshoff GM (1991) Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide gels. Analytical Biochemistry 84: 680-683.
Beacham TD, Macconachi C (2004) Microsatellite identification of individual sockeye salmon in Barkley Sound, Biritish Colombia. Journal of Fish Biology 61: 1021-1032.
Beardmore JA, Mair GC, Lewis RI (1997) Biodiversity in aquatic systems in relation to aquaculture. Aquaculture 28: 829-839.
Berg IS (1949) Freshwater fishes of the U.S.S.R and adjacent countries. Israel Program for Scientific Translations [available from the Office of Technical Services, United State Department of Commerce, Washington] 1965. The University of Michigan 217-230.
Brighitte J, Hansen M, Loeschcker V (2005) Microsatellite DNA analysis of northern pike (*Esox lusius*) population: insights in to the genetic structure and geographic history of a genetically depauperatee species. Biology Journal of Linnean Society 84:1-11.
Carvalho GR (ed.) (1998) Advances in Molecular Ecology. IOS Press, Amsterdam.
Chakraborty R, Leimar O (1987) Genetic variation within a subdivided population and conservation genetic. Journal of Heridity (1986) 57: 189-198.
Crooijmans RPMA, Bierbooms VAF, Komen J, Van der poal JJ, Groenen MAM (1997) Microsatellite markers in common carp (*Cyprinus carpio* L.). Animal Genetic 28:129-134.
Dahle G, Jorstad KE, Rusaas HE, Ottera H (2006) Genetic characteristics of brood stock collected from four Norwegian coastal cod (*Gadus morpha*) populations. ICES Journal of Marine Science 63: 209-215.
Dewoody JA, Avise JC (2000) Microsatellite variation in Marin, freshwater and anadromous fishes compare with other animal. Journal of Fish Biology 56: 461-473.
Diz PA, Presa P (2009) The genetic diversity pattern of Mytilus alloprovincialis in Galician Rías (NW Iberian estuaries). Aquaculture 287:278-285.
Eskandari S (1998) Investigation of some biological, ecological and parasitological characteristics of Golestan National Park Siahmahi. Dissertation, Tarbiat modares university, Iran (In Farsi).
Hamilton PB, Tyler CR (2008) Identification of microsatellite loci for parentage analysis in roach *Rutilus rutilus* and eight other cyprinidae fish by cross-species amplification, and a novel test for detecting hybrids between roach and other cyprinids. Molecular Ecology Resources 8: 462-465.
Hartl DL, Clark AG (1997) Principles of Population Genetics, 3nd edn. Sinauer Associates, Inc, Sunderland, MA.
Hillis DM, Moritz C (eds) (1996) Molecular systematics, 2nd edn. Sinauer Associates Inc.,Sunderland.
Kashiri H (2009) Genetic diversity of Caspian Roach (*Rutilus rutilus caspius*) in Caspian sea using microsatellite markers. Dissertation, University of Gorgan, Iran (In farsi).
Kiabi B, Gghemi R, Abdoli A (1999) Wetland and riverain ecosystems of Golestan province, Department of the environment Golestan province. Gorgan, Iran 123-147 (In Farsi).
Kitanishi S, Yamamoto T, Higashi S (2008) Microsatellite variationrevealsfine-scale genetic structure of masu salmon (*Oncorhynchus maqsou*) within the Atsute River. Ecology of Freshwater Fish 32: 1-7.
Lind CU, Evans BS, Knauer J, Taylor JJU, Jerry DR (2009) Decreased genetic diversity and a reduced effective population size in cultured silver-lipped pearl oysters (*Pinctada maxima*). Aquaculture 286: 12-19.
Lucentini L, Palomba A, Gigliarelli L, Sgaravizzi G, Lancioni H, Lanfaloni L, Natali M, Panara F (2006) Temporal changes and effective population size of an Italian isolated and supportive-breeding managed northern pike (Esox lucius) population. Fisheries Research 96: 139-147.
Nei M (1972) Genetic distance between populations. American Naturalist 106:283-292.
Neigel JE (1997) A comparison of alternative strategies for estimating gene flow from genetic markers. Annual Review of Ecology and Systematics 28:105-128.
Nelson J (1994) Fishes of the World, 3rd edn.Wiley, NewYork, NY, USA.
Peakall R, Smouse PE (2006) GenAlex 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. Molecular Ecology Notes 6: 288-295
Rezai M (2009) Genetic variability of *Rutilus frisii kutum* with using of microsatellite method. Dissertation, University of Gorgan, Iran (In Farsi).
Ryman N, Utter FM (1987) Population Genetics and Fishery management. Blackburn Press (October 1, 2009): 89-120
Safari R (2006) Investigation of genetic structure of Ship (*Acipenser nudiventris*) in south coastal of Caspian Sea and Ural river using microsatellite markers. Dissertation, University of Gorgan, Iran. (In Farsi).
Thai BT, Pham TA, Austin GM (2006) Genetic diversity of common carp in Vietnam using direct sequencing and

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.1.6.5]

SSCP analysis Of the mitochondrial DNA control region. Aquaculture 258: 228-240.
Verspoor E, Jordan WC (1989) Genetic variation at the Me-2locus in the Atlantic salmon within and between rivers: evidence for its selective maintenance. Fish Biology 35: 205-213.
Wright S (1969) The theory of gene frequencies. London: The University of Chicago.
Yeh FC, Yang RC, Boyle T (1999) POPGENE version 1.3.1. Microsoft Window-bases Freeware for population Genetic Analysis. Available: www.uallberta.ca/fyeh/. University of Alberta and the Centre for International Forestry Research.
Zar JH (1999) Biostatistical analysis, 4th ed. Prentice Hall, Upper Saddle River New Jwesey 07458.
Zhu F, Shao Z, Zhao N, May B, Chang J (2002) Analysis of genetic variation in the Chines sturgeon (Acipenser sinensis): estimating the contribution of artificially produced larvae in a wild population. Journal of Applied Ichthyology 18: 301-306.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.1.6.5]