

تنوع ریزماهورهای ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در سواحل استان گلستان

- **آزاده سادات حسینی***: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، صندوق پستی: ۴۸۷-۴۹۱۷۵
- **علی شعبانی**: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، صندوق پستی: ۴۸۷-۴۹۱۷۵
- **حدیثه کشیری**: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، صندوق پستی: ۴۸۷-۴۹۱۷۵

تاریخ دریافت: تیر ۱۳۹۵ تاریخ پذیرش: مهر ۱۳۹۵

چکیده

کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) یکی از مهم‌ترین گونه‌های ماهیان استخوانی بومی با ارزش اقتصادی بالا می‌باشد. بازسازی ذخایر این ماهی از طریق تکثیر مصنوعی و رهاسازی بچه‌ماهیان انجام می‌گیرد که این امر می‌تواند موجب تغییراتی در تنوع ژنتیکی این گونه با ارزش گردد. هدف از این مطالعه بررسی تنوع و تمایز ژنتیکی ماهی کپور معمولی در رودخانه قره‌سو، خلیج گرگان و هم‌چنین تالاب گمیشان بوده که جهت انجام کار از تعداد ۹۰ ماهی نمونه برداری و DNA آن‌ها با استفاده از کیت‌های مخصوص (Gene All Tissue and Tissue plus sv mini) طبق دستورالعمل شرکت سازنده استخراج گردید. جهت PCR از پنج جفت جایگاه ریزماهوره (MFW^{۱۶}، MFW^۷، MFW^{۱۷}، MFW^۲ و MFW^{۲۰}) استفاده شد که تمامی آن‌ها چندشکلی نشان دادند. تعداد آلل‌ها، هتروزیگوسیتی مورد انتظار و مشاهده شده به ترتیب در محدوده ۱۷-۷، ۱۴/۷۸-۰/۰ و ۰/۷۶-۰/۹۰ به دست آمد. متوسط Fst به عنوان شاخصی از تمایز ژنتیکی، ۰/۰۵ به دست آمد. در بررسی تعادل هاردی واینبرگ از ۱۵ آزمون مورد بررسی ۱۴ نمونه انحراف معنی‌داری از تعادل را نشان دادند. نتایج حاصل از ترسیم دندروگرام نیز نشان داد که نمونه‌های مورد بررسی احتمالاً متعلق به یک جمعیت می‌باشند.

کلمات کلیدی: تمایز ژنتیکی، جمعیت، ریزماهوره، ماهی کپور



مقدمه

و نظایر آن جهت بررسی ساختار ژنتیکی ذخایر توسعه یافته است. نشانگرهای ریزماهوره به دلایل مختلف هم چون فراوانی و گستردگی بالا در ژنوم، همباز بودن، پلی مورفیسم بالا و سهولت استفاده دارای کاربرد گسترده تری نسبت به سایر نشانگرها می باشند (Chistiakov و همکاران، ۲۰۰۶). Bartfai و همکاران (۲۰۰۳) نیز ریزماهورها را به عنوان پرکاربردترین نشانگرها در بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت‌ها در بین سایر نشانگرها معرفی نمودند لذا در بررسی حاضر نیز از نشانگرهای ریزماهوره جهت ارزیابی تنوع ژنتیکی ماهی کپور معمولی استفاده گردید. با توجه به اهمیت بالای ماهی کپور و هم چنین بازسازی ذخایر آن از طریق تکثیر مصنوعی، آگاهی از وضعیت ساختار ژنتیکی این گونه ارزشمند بسیار ضروری به نظر می‌رسد. لذا هدف از این تحقیق ارزیابی تنوع ژنتیکی ماهی کپور معمولی در رودخانه قره‌سو، خلیج گرگان و تالاب گمیشان که از مناطق مهم پراکنش این ماهی محسوب می‌گردند، می‌باشد.

مواد و روش‌ها

نمونه برداری: در خرداد ماه سال ۱۳۹۴ تعداد ۹۰ قطعه ماهی کپور وحشی از تالاب گمیشان، خلیج گرگان و رودخانه قره‌سو واقع در استان گلستان به صورت تصادفی صید گردید. حدود ۱ گرم از باله دمی ۳۰ ماهی از هر منطقه جداسازی و تا شروع استخراج DNA در تیوب‌های حاوی الکل اتیلیک ۹۶٪ تثبیت گردیدند. نمونه‌ها جهت انجام آزمایشات مولکولی به آزمایشگاه ژنتیک و بیوتکنولوژی آبیان دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انتقال و تا شروع آزمایشات در یخچال در دمای ۴- درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند.



شکل ۱: نقشه مناطق مورد بررسی و نمونه برداری شده

استخراج DNA: DNA: هر نمونه با استفاده از کیت‌های مخصوص (Gene All Tissue and Tissue plus sv mini) طبق دستورالعمل شرکت سازنده، استخراج و تا زمان شروع آزمایشات مولکولی در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگاه‌داری شد. به منظور بررسی کمیت و کیفیت DNA استخراج شده به ترتیب از روش اسپکتوفوتومتری و الکتروفورز افقی با ژل آگارز ۱٪ استفاده گردید.

کپورماهیان یکی از خانواده‌های مهم ماهیان استخوانی محسوب می‌گردند که دارای ارزش اقتصادی بالایی بوده و با داشتن بیش از ۲۰۰۰ گونه در چهار قاره جهان پراکنش یافته‌اند (Kirpicknikov, ۱۹۷۲). ماهی کپور معمولی با نام علمی *Cyprinus carpio* یکی از گونه‌های مهم این خانواده و بومی آسیای مرکزی می‌باشد که طی قرون متمادی در نواحی مختلف جهان گسترش پیدا کرده است (Kohlmann و همکاران، ۲۰۰۳). این گونه به صورت بومی و طبیعی در سواحل دریای خزر، خلیج گرگان، تالاب گمیشان، تالاب انزلی و دریاچه سد ارس وجود داشته که برای تولیدمثل وارد مصب رودخانه‌ها می‌شود. متأسفانه طی سال‌های اخیر ذخایر این گونه با ارزش بنا به دلایل مختلف دستخوش تغییراتی قرار گرفته است به نحوی که جزو گونه‌های نیازمند حفاظت در منطقه به‌شمار می‌رود (عبدلی و نادری، ۱۳۸۷). هم‌اکنون حفاظت و بازسازی ذخایر این ماهی در ایران از طریق تکثیر مصنوعی و رهاسازی بچه‌ماهیان تولیدی به آب‌های طبیعی صورت می‌پذیرد. برنامه‌ریزی‌هایی که به منظور بازسازی و تقویت ذخایر وحشی این گونه صورت می‌گیرد می‌تواند در درازمدت منجر به کاهش تنوع ژنتیکی درون جمعیتی، تغییر در ذخایر ژنی بومی و در نهایت انقراض جمعیت‌های محلی گردد (Machado Schianffino و همکاران، ۲۰۰۷) در این راستا در بررسی انجام شده توسط Blanchet و همکاران (۲۰۰۸) روی آزاد ماهی اقیانوس اطلس نیز مشخص گردید که با وجود مزایای تکثیر مصنوعی، تغییرات مورفولوژیکی و ژنتیکی بارزی بین نمونه‌های حاصل از تکثیر مصنوعی و وحشی وجود داشته و به کارگیری این روش در طولانی مدت می‌تواند منجر به کاهش تنوع ژنتیکی درون جمعیتی در ذخایر ژنی بومی گردد. تنوع ژنتیکی منابع دریایی برای مدیریت و حفاظت از آن‌ها دارای اهمیت حیاتی بوده و به‌عنوان نخستین پیش‌نیاز جهت حفظ سازگاری جمعیت‌ها در شرایط محیطی متغیر محسوب می‌گردد (Diz, ۲۰۰۹). در این خصوص، کمیت و کیفیت تنوع ژنتیکی اثرات مستقیمی بر روی پایداری جمعیت‌های طبیعی دارد و چنین تأثیراتی بر جمعیت‌های کوچک ماهیان و هم چنین جمعیت‌هایی که بنا به دلایل مختلف در معرض کاهش قرار دارند بسیار تشدید می‌گردد (Frankham و همکاران، ۲۰۰۸).

امروزه کاهش ذخایر آبیان در بسیاری از نقاط دنیا توجه بسیاری از محققین را به اعمال روش‌های دقیق مولکولی جهت مدیریت ذخایر جلب نموده است (Lin و همکاران، ۲۰۰۲). در ابتدا ارزیابی ساختار ذخایر، تشخیص گونه‌ها و بررسی جمعیت‌ها با استفاده از صفات مورفومتریکی و مریستیک صورت می‌پذیرفت، اما امروزه روش‌های دقیق‌تری هم چون استفاده از نشانگرهای مولکولی مانند ریزماهورها

PCR توسط دستگاه ترموسایکلر ساخت شرکت (BIO-RAD) انجام شد. ویژگی‌های مربوط به جایگاه‌های مورد استفاده در جدول ۱ آورده شده است. واکنش‌های زنجیره ای پلی‌مرز برای هر یک از آغازگرها براساس بهترین دمای الحاق طی مراحل دناتوره شدن، الحاق و بسط در دستگاه ترموسایکلر صورت پذیرفت. در این راستا تکثیر جایگاه‌های ژنی طی واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز با استفاده از ترکیبی شامل DNA، آغازگرها، کیت مخصوص PCR و آب مقطر با حجم نهایی ۱۲/۵ میکرولیتر انجام گردید. در نهایت محصولات PCR روی ژل اکریل آمید ۸٪ (غیریونیزه) جداسازی شدند. سپس ژل‌های به دست آمده از الکتروفورز عمودی به روش نیترا نقره رنگ آمیزی و تصاویر مربوطه توسط دستگاه مستندساز ژل (Gel Doc XR, BIO-RAD) ثبت شد. در نهایت طول قطعات با استفاده از نرم‌افزار Gel Pro Analyzer ۶.۵ محاسبه گردید.

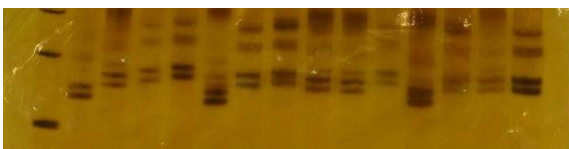


شکل ۲: تصویر ژل آگارز یک درصد جهت ارزیابی کیفیت DNA با استفاده از الکتروفورز افقی

آنالیز مولکولی: واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز با پنج جفت نشانگر ریزماهواره طراحی شده برای ماهی کپور (Mfw ۱۶، Mfw ۱۷، Mfw ۲۰، Mfw ۷ و Mfw ۲ (Crooijmans و همکاران، ۱۹۹۷) انجام و واکنش

جدول ۱: ویژگی جایگاه‌های ریزماهواره‌ای مورد استفاده برای ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

جایگاه ژنی	اندازه آلل	توالی	دمای اتصال (سانتی‌گراد)
MFW۲	۲۰۸-۳۰۰	F: CACACCGGGCTACTGCAGAG R: GTGCAGTGCAGGCAGTTTGC	۶۴
MFW۷	۱۷۰-۲۷۲	F: TACTTTGCTCAGGACGGATGC R: ATCACCTGCACATGGCCACTC	۶۲
MFW۱۶	۱۲۷-۲۰۶	F: GTCCATTGTGTCAAGATAGAG R: TCTTCATTTTCAGGCTGCAAAG	۵۷
MFW ۱۷	۲۰۳-۳۱۵	F: TCAACTACAGAGAAATTTTCATC R: GAAATGGTACATGACCTCAAG	۵۷
MFW ۲۰	۲۰۷-۳۰۵	F: CAGTGAGACGATTACCTTGG R: GTGAGCAGCCACATTGAAC	۶۰



شکل ۳: تصویر ثبت شده توسط دستگاه ژل داگ از باندهای تشکیل شده محصول PCR نشانگرهای مورد استفاده، بر روی ژل اکریل آمید ۸٪.

نتایج

در مجموع ۵ جایگاه ژنی در این تحقیق استفاده گردید که همگی تولید باندهای پلی‌مورف نمودند. امکان از دست دادن ال‌های بزرگ و هم‌چنین خطای دسته‌بندی در هیچ‌یک از جایگاه‌های مورد استفاده مشاهده نشد. با این وجود، امکان وجود ال‌های نول در جایگاه‌های mfw۲، mfw۱۷ و mfw۲۰ تایید گردید. تعداد آل‌های مربوط به تمامی جایگاه‌های مورد بررسی در جدول ۲ نشان داده شده است. متوسط تعداد آل‌ها در نمونه‌های متعلق به تالاب گمیشان، خلیج گرگان و رودخانه قره‌سو به ترتیب ۱۲، ۱۱/۸ و ۱۲/۴ به دست آمد. هم‌چنین کم‌ترین و بیش‌ترین میزان آل‌ها به ترتیب در جایگاه mfw۱۷ (۷ آل) و mfw۷

تجزیه و تحلیل آماری: جهت تعیین پارامترهای مربوط به

تنوع ژنتیکی درون و بین جمعیتی شامل تعداد آللی و تعداد آل‌های موثر، هتروزایگوسیتی مورد انتظار و مشاهده شده، تمایز ژنتیکی، جریان ژنی، ماتریس شباهت و فاصله ژنتیکی و هم‌چنین بررسی انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ، از نرم‌افزار ۶،۵ Gene Alex استفاده شد (Peakall و Smouse، ۲۰۰۶). از نرم‌افزار ۲،۹،۳ (FSTAT، Goudet، ۲۰۰۱) جهت بررسی علت انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ، شاخص FIS به‌عنوان ضریب درون آمیزی (کاهش یا افزایش هتروزایگوسیتی) و سطح معنی‌داری آن استفاده شد. از نرم‌افزار ۱،۳۱ PopGene (Yeh و همکاران، ۱۹۹۹) نیز جهت تعیین شباهت و فاصله ژنتیکی و هم‌چنین ترسیم دندروگرام UPGMA براساس مقادیر فاصله ژنتیکی استفاده گردید. به‌منظور تنظیم سطح معنی‌داری تست‌های تکرار شونده از ضریب تصحیح بونفرونی استفاده شد (Rice، ۱۹۸۹). هم‌چنین امکان وجود ال‌های نول، از دست دادن ال‌های بزرگ و خطای دسته‌بندی با استفاده از نرم‌افزار ۲،۲،۱ Microchecker (Oosterhout و همکاران، ۲۰۰۴) بررسی شد.



جدول ۲: پارامترهای تنوع ژنتیکی برای پنج جایگاه ریزماهورهای در گونه *C. carpio*

منطقه	جایگاه	Mfw۲	Mfw۷	Mfw۱۶	Mfw۲۰	Mfw۱۷
خلیج گرگان	Na	۹	۱۵	۱۲	۱۲	۷
	Ne	۴/۵۴	۸/۳۸	۷/۷۲	۷/۷۶	۶/۰۳
	Ho	۰/۳۶	۰/۴۳	۰/۶۴	۰/۳۹	۰/۲۵
	He	۰/۷۸	۰/۸۸	۰/۸۷	۰/۸۷	۰/۸۳
	pHw	***	***	ns	***	***
	FIS	۰/۵۴	۰/۵۱	۰/۲۶	۰/۵۵	۰/۷۰
قره‌سو	Na	۱۳	۱۲	۱۳	۱۰	۱۴
	Ne	۵/۳۹	۷/۹۲	۱۰/۰۵	۵/۷۲	۹/۹۲
	Ho	۰/۱۸	۰/۵۰	۰/۵۷	۰/۳۲	۰/۱۴
	He	۰/۸۱	۰/۸۷	۰/۹۰	۰/۸۲	۰/۹۰
	pHw	***	***	**	***	***
	FIS	۰/۷۸	۰/۴۳	۰/۳۶	۰/۶۱	۰/۸۴
گمیشان	Na	۸	۱۷	۱۴	۱۲	۱۳
	Ne	۴/۲۴	۷/۸۸	۹/۹۲	۷/۱۹	۷/۹۲
	Ho	۰/۱۴	۰/۳۹	۰/۷۸	۰/۲۵	۰/۱۸
	He	۰/۷۶	۰/۸۷	۰/۹۰	۰/۸۶	۰/۸۷
	pHw	***	*	***	***	***
	FIS	۰/۸۱	۰/۵۵	۰/۱۳	۰/۷۱	۰/۸۰

Na: تعداد آلل‌های واقعی، Ne: تعداد آلل‌های موثر، Ho: هتروزیگوسیتی مشاهده شده، He: هتروزیگوسیتی مورد انتظار، pHw: تست احتمال تعادل هاردی-واینبرگ پس از ضرب تصحیح بونفرونی (ns: عدم معنی داری، * $P < 0.05$ ، ** $P < 0.01$ ، *** $P < 0.001$)، FIS: ضرب درون آمیزی.

ترتیب بین نمونه‌های قره‌سو با خلیج گرگان (۴/۰۵) و قره‌سو با گمیشان (۴/۷۷) مشاهده شد (جدول ۳). هرچند تفاوت مشاهده شده بسیار اندک بود. تمایز ژنتیکی بین نمونه‌های مناطق مورد نظر نیز با بررسی شاخص Fst ارزیابی گردید که متوسط این شاخص Fst ۰/۰۵ به دست آمد (جدول ۳). در ارزیابی فاصله و شباهت ژنتیکی بین نمونه‌های مورد بررسی نیز، مقادیر فاصله و شباهت ژنتیکی به ترتیب در محدوده ۱/۲۸-۱/۰۰۳ و ۰/۳۷-۰/۲۸ قرار داشت (جدول ۴).

جدول ۳: جریان ژنی (Nm) و تمایز ژنتیکی بین نمونه‌های مناطق مورد بررسی

مناطق نمونه برداری	قره‌سو	گمیشان	خلیج گرگان
قره‌سو	۰/۰۰۰	۰/۰۵۰	۰/۰۵۸
گمیشان	۴/۷۷	۰/۰۰۰	۰/۰۵۵
خلیج گرگان	۴/۰۵	۴/۳۰	۰/۰۰۰

اعداد پایین و بالای قطر به ترتیب نشان دهنده جریان ژنی و تمایز ژنتیکی می‌باشد.

جدول ۴: فاصله و شباهت ژنتیکی بین نمونه‌های مناطق مورد بررسی

مناطق نمونه برداری	قره‌سو	گمیشان	خلیج گرگان
قره‌سو	۰/۰۰۰	۰/۳۷	۰/۲۸
گمیشان	۱/۰۰۳	۰/۰۰۰	۰/۳۴
خلیج گرگان	۱/۲۸	۱/۰۸	۰/۰۰۰

اعداد پایین و بالای قطر به ترتیب نشان دهنده جریان ژنی و تمایز ژنتیکی می‌باشد.

(۱۵ آلل) مشاهده شد. آلل‌های موثر نیز در محدوده ۴/۲۴ - ۱۰/۰۵ به دست آمد که در این میان، پایین‌ترین میزان در جایگاه mfw۲ و بالاترین آن در جایگاه mfw۱۶ قرار داشت. میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Ho) در محدوده ۰/۷۸-۰/۱۴ (میانگین: ۰/۳۷) به دست آمد (جدول ۲). متوسط هتروزیگوسیتی مورد انتظار (He) نیز ۰/۸۵ بود که پایین‌ترین میزان آن (۰/۷۶) در جایگاه mfw۲ و بالاترین مقدار (۰/۸۶) در جایگاه mfw۱۶ و mfw۱۷ مشاهده شد (جدول ۲). هم‌چنین از نظر تعداد آلل‌ها و میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار، بین نمونه‌های مناطق مورد بررسی اختلاف معنی داری مشاهده نشد ($P > 0.05$).

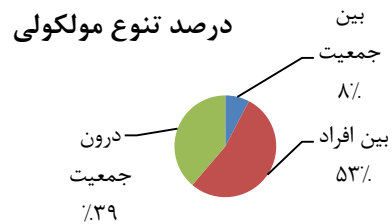
نتایج مربوط به بررسی تعادل هاردی واینبرگ در جدول ۲ آورده شده است. بر این اساس، پس از اعمال ضرب تصحیح بونفرونی، از ۱۵ تست انجام شده (۵ جایگاه ژنی \times ۳ منطقه) تنها ۱ مورد (جایگاه MFW۱۶ در منطقه خلیج گرگان) در تعادل HW قرار داشتند و بقیه نمونه‌ها انحراف معنی داری از تعادل نشان دادند. هم‌چنین شاخص درون آمیزی (Fis)، در محدوده ۰/۱۳ تا ۰/۸۴ (جایگاه mfw۱۶) تا ۰/۸۴ (جایگاه mfw۱۷) به دست آمد (میانگین: ۰/۵۷). میزان Fst براساس فراوانی آللی به عنوان شاخصی از تمایز ژنتیکی و میزان Nm به عنوان شاخص جریان ژنی به ترتیب در دامنه ۰/۰۵-۰/۰۵۸ (میانگین ۰/۰۵۴) و ۴/۴-۷۷/۰۵ (میانگین: ۴/۳۷) قرار داشت (جدول ۳). در بررسی جریان ژنی بین مناطق مورد بررسی، پایین‌ترین و بالاترین جریان به



هتروزایگوسیتی از اهمیت بالاتری در بررسی‌های تنوع ژنتیکی برخوردار بوده و هتروزایگوسیتی بیش‌تر مبتنی بر تغییرات تصادفی در فراوانی ژن‌ها می‌باشد (Diz و همکاران، ۲۰۰۹). در بررسی حاضر، تعداد آلل‌ها در محدوده ۱۷-۷ (میانگین: ۱۲/۰۶) به‌دست آمد که کمی پایین‌تر از میزان متوسط گزارش شده (Na:۱۵) توسط قلیچ‌پور و همکاران (۱۳۸۹) برای گونه مشابه در مناطق قره‌سو انزلی می‌باشد. این در حالی است که امیرجنتی و همکاران (۱۳۹۴) و لالویی و همکاران (۱۳۹۱) میانگین آللی برای ماهی کپور معمولی در سواحل جنوبی دریای خزر را به‌ترتیب ۷/۷ و ۷/۰۸ گزارش نمودند. در این خصوص، تفاوت مشاهده شده از نظر تنوع آللی در مطالعات مختلف می‌تواند مرتبط با مکان و نحوه نمونه‌برداری و هم‌چنین تفاوت در جایگاه‌های مورد استفاده باشد. به‌هر حال با توجه به تنوع آللی به‌دست آمده در تحقیق حاضر و مقایسه آن با میزان گزارش شده برای ماهیان آب شیرین (Dewody (Na:۷/۵) و Avise، ۲۰۰۰) می‌توان بیان داشت که با وجود مسایلی هم‌چون تکثیر مصنوعی و فشار بالای صید ماهی کپور، این گونه هم‌چنان از تنوع آللی مطلوبی در مناطق مورد ارزیابی برخوردار می‌باشد. با این وجود، با توجه به این‌که تکثیر مصنوعی به‌دلیل محدودیت‌های موجود در کارگاه‌های تکثیر هم‌چون استفاده از تعداد محدودی مولد برای تولید لارو می‌تواند در طولانی مدت منجر به کاهش تنوع ژنتیکی جمعیت‌های طبیعی گردد، ایجاد تدابیری جهت حفظ تنوع مشاهده شده ضروری به‌نظر می‌رسد.

انحراف از تعادل هاردی-وینبرگ در جمعیت‌های طبیعی ماهیان زیاد دیده می‌شود (Lucentini و همکاران، ۲۰۰۹). در تحقیق حاضر پس از اعمال ضریب تصحیح بونفرونی، ۱۴ نمونه از ۱۵ آزمون مورد بررسی (۵ جایگاه \times ۳ جمعیت) انحراف معنی‌داری از تعادل نشان دادند. انحراف از تعادل هاردی-وینبرگ می‌تواند ناشی از عوامل متعددی هم‌چون اندازه کوچک نمونه، اشتباه در خواندن و تفسیر آلل‌ها و وجود آلل‌های نول (Borrell و همکاران، ۲۰۰۸)، مهاجرت، رانش ژنتیکی و به‌گزینی (Bhassu و همکاران، ۲۰۰۴) باشد که دلایل ذکر شده می‌تواند در این تحقیق نیز شامل شود. که در این راستا، در جایگاه‌های ژنی mfw۲، mfw۱۷ و mfw۲۰ در هر سه منطقه و در جایگاه mfw۷ در منطقه گمیشان کسری هتروزایگوسیتی بالایی مشاهده شد. نتایج حاصل از نرم‌افزار Microcheker (Oosterhout و همکاران، ۲۰۰۴) نیز حاکی از وجود آلل‌های نول در برخی جایگاه‌های مورد بررسی بوده که می‌تواند به‌عنوان عاملی مهم در بروز کسری مشاهده شده مطرح باشد. جریان ژنی مشاهده شده (۴/۳۷) نیز می‌تواند در انحراف از تعادل مشاهده شده در این بررسی دخیل باشد. در مطالعات قبلی صورت گرفته نیز انحراف از تعادل هاردی-وینبرگ در جمعیت‌های طبیعی ماهی کپور معمولی به عواملی هم‌چون افزایش هتروزایگوسیتی

نتایج حاصل از آنالیز واریانس مولکولی نیز بیانگر تنوع ژنتیکی بالا در درون گروه‌ها (۹۱٪) و تنوع پایین بین آن‌ها می‌باشد (شکل ۳). هم‌چنین نتایج حاصل از دندروگرام UPGMA براساس مقادیر فاصله ژنتیکی نشان داد که احتمالاً هر سه گروه مورد بررسی متعلق به یک جمعیت می‌باشند.



شکل ۴: توزیع تنوع ژنتیکی تحت معیار F_{st}

بحث

تنوع ژنتیکی به‌عنوان پایه‌ای برای توانایی تکامل جمعیت‌ها قلمداد گشته به‌نحوی که آگاهی از آن جهت مدیریت و حفظ ذخایر ماهیان از اهمیت بالایی برخوردار می‌باشد لذا بررسی شرایط اکولوژیکی و ژنتیک جمعیت ماهیان ارزشمند از نظر اقتصادی، جهت حفظ صید پایدار و حفاظت از ذخایر آن‌ها امری ضروری به‌نظر می‌رسد (Wang و همکاران، ۲۰۱۱). پیراسنجه‌های مرتبط با تنوع ژنتیکی هم‌چون غنای آللی و هتروزایگوسیتی از نظر روبه‌رو شدن جمعیت‌ها با تغییرات شرایط محیطی بسیار مهم بوده (Frankham، ۲۰۰۸) و بر ویژگی‌های مهمی هم‌چون توانایی رقابت، بقا و اندازه بدن تاثیرگذار می‌باشد (Jensen و Hakansson، ۲۰۰۵). در بررسی حاضر، هتروزایگوسیتی مشاهده شده در محدوده ۰/۷۸-۰/۱۴ به‌دست آمد. در مطالعات پیشین صورت گرفته، هتروزایگوسیتی مشاهده شده در محدوده ۰/۲۵-۱ برای ماهی کپور در مناطق انزلی، گرگان‌رود، رامسر و سد ارس (امیرجنتی و همکاران، ۱۳۹۴)، ۰/۱۲-۰/۹۵ در مناطق غازیان، لاریم، چیکرود و گمیشان (لالویی و همکاران، ۱۳۹۱) و ۰/۹-۱/۰۰ در مناطق انزلی و قره‌سو (قلیچ‌پور و همکاران، ۱۳۸۹) گزارش گردید. به‌هر حال، در مطالعات تنوع ژنتیکی به‌ویژه در مورد گونه‌هایی که تحت برنامه‌های بازسازی ذخایر از طریق تکثیر مصنوعی می‌باشند، هتروزایگوسیتی به‌تنهایی نمی‌تواند شاخص چندان مناسبی برای نمایان ساختن وضعیت ژنتیکی باشد. در این راستا، ارزیابی تنوع آللی به‌عنوان شاخص کارآمدی در مطالعات تنوع ژنتیکی مطرح می‌باشد به‌نحوی که کاهش تعداد آلل‌های مشاهده شده در سطح جمعیت‌ها می‌تواند بیانگر کاهش سطح تنوع ژنتیکی و بالا بودن آن بیانگر بالاتر بودن اندازه موثر جمعیت باشد (Lind و همکاران، ۲۰۰۹). در واقع، ارزیابی غنای آللی نسبت به



۷. **Borrell, Y.J.; Bernardo, D.; Blanco, G.; Vazquez, E. and Sanchez, J.A., 2008.** Spatial and temporal variation of genetic diversity and estimation of effective population sizes in Atlantic salmon populations from Asturias using microsatellites. *Conservation Genetics*. Vol. 9, pp: 807-819.
۸. **Chistiakov, D.A.; Hellemans, B. and Volckaert, F.A. M., ۲۰۰۶.** Microsatellites and their genomic distribution, evolution, function and applications: A review with special reference to fish genetics, *Aquaculture*. Vol. ۲۵۵, pp: ۱-۲۹.
۹. **Crooijmans, R. P. M.; Bierbooms, V.; Komah, J.; Vanderpoe, J.J. and Groenen, M., ۱۹۹۷.** Microsatellite markers in Common Carp (*Cyprinus carpio*). *Animal Genetics*. Vol. ۲۸, pp: ۱۳۹-۱۳۴.
۱۰. **Dewoody, J.A. and Avise, J.C., 2000.** Microsatellite variation in Marine, freshwater and anadromous fishes compare with other. *Anim J Fish Biol*. Vol. 56, pp: 461-4۷۳.
۱۱. **Diz, P. and Presa, P., ۲۰۰۹.** The genetic diversity pattern of *Mytilus galloprovincialis* in Galician Rias (NW Iberian estuaries), *Aquaculture*. Vol. ۲۸۷, pp: ۲۷۸-۲۸۵.
۱۲. **Frankham, R., 2008.** Genetic adaptation to captivity in species conservation programs. *Molecular Ecology*. Vol. 17, pp: 325-333.
۱۳. **Goudet, J., 2001.** FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3). Retrieved from <http://www.unil.ch/izea/software/fstat.html>.
۱۴. **Hakansson, J. and Jensen, P., 2005.** Behavioural and morphological variation between captive populations of red jungle fowl breeding. *Biological Conservation*. Vol. 122, pp: 431-439.
۱۵. **Kirpichnikov, V.S., ۱۹۷۲.** Methods and effectiveness of Rop-sha carp breeding. *Communication lbreeding aims, original forms and cross system*. *Russian Journal of Genetics*. Vol. ۸, pp: ۶۵-۷۲.
۱۶. **Kohlmann, K.; Gross, R.; Murakaeva, A. and Kersten, P., ۲۰۰۲.** Genetic variation and structure of common carp populations throughout the distribution range inferred from allozyme, microsatellite and mtDNA marker. *Aquatic Living Resources*. Vol. ۱۶, pp: ۴۲۱-۴۳۱.
۱۷. **Lin, Y.S.; Poh, Y.P.; Lin, S.M. and Tzeng, C.S., ۲۰۰۲.** Molecular techniques to identify freshwater eels. *Zoological Studies*. Vol. ۴۱, pp: ۴۲۱-۴۳۰.
۱۸. **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. *Aquaculture*. Vol. 286, pp: 12-19.
۱۹. **Lucentini, L.; Palomba, A.; Gigliarelli, L.; Sgaravizzi, G.; Lancioni, H.; Lanfaloni, L.; Natali, M. and Panara, F., ۲۰۰۹.** Temporal changes and effective population size of an Italian isolated and supportive-breeding managed northern pike (*Esox lucius*) population. *Fisheries Research*. Vol. ۹۶, pp: ۱۳۹-۱۴۷.
۲۰. **Machado-Schiaffino, G.; Depico, E. and Garcivazquez, E., ۲۰۰۷.** Genetic variation losses in Atlantic salmon stocks created for supportive breeding. *Aquaculture*. Vol. ۲۶۴, pp: ۵۹-۶۵.
۲۱. **Oosterhout, C.V.; Hutchinson, W.F.; Wills, D.P.M. and Shipley, P., 2004.** Micro-checker: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes*. Vol. 4, pp: 535-538.
۲۲. **Peakall, R. and Smouse, P.E., 2006.** GENALEX 6: Genetic analysis in excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*. Vol. 6, pp: 288-29۵.
۲۳. **Rice, W.R., 1989.** Analysing tables of statistical tests. *Evolution*. Vol. 43, pp: 223-225.
۲۴. **Thorpe, J.P., 1982.** The molecular clock hypothesis: biochemical evolution, genetic differentiation & systematic. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*. Vol. ۱۳, pp: ۱۳۹-۱۶۸.
۲۵. **Wang, J.; Chenghui, W.; Long, Q.; Yuqing, M.A.; Xinxin, Y.; Zsigmond, J. and Sifa, L., 2011.** Genetic characterization of 18 novel microsatellite loci in northern pike. *Genetic and Molecular Biology*. Vol. 34, pp: 169-1۷۲.
۲۶. **Wright, S., 1978.** Evolution and the genetics of populations: Variability within and Among Natural Populations. University of Chicago Press, Chicago.
۲۷. **Yeh, F.C.; Yang, R.C. and Boyle, T., 1999.** POPGENE version 1.3.1. Microsoft Window-bases Freeware for population Genetic Analysis. University of Alberta, Canada.
- و اختلاط جمعیت‌ها (قلیچ پور و همکاران، ۱۳۸۹) و تکثیر مصنوعی (لالوئی و همکاران، ۱۳۹۱) عنوان شده است. به طور کلی نمی‌توان به تنهایی با یک پارامتر انحراف از تعادل را توجیه نمود، بلکه مجموعه‌ای از عوامل ذکر شده که عمدتاً ناشی از تکثیر مصنوعی و برنامه‌های بازسازی ذخایر ماهی کپور می‌باشند، می‌تواند در انحراف از تعادل مشاهده شده در این تحقیق تاثیرگذار باشد. مقادیر F_{st} ۰/۰۵-۰/۱۵ و ۰/۱۵-۰/۲۵ به ترتیب نشان دهنده سطح پایین، متوسط و بالای تمایز ژنتیکی می‌باشد (Wright, ۱۹۷۸). در تحقیق حاضر متوسط شاخص F_{st} ۰/۰۵ به دست آمد. بالاترین و پایین‌ترین میزان تمایز ژنتیکی مشاهده شده به ترتیب بین نمونه‌های خلیج گرگان با قره‌سو و قره‌سو با گمیشان وجود داشت که با توجه به جریان ژنی به دست آمده بین مناطق مذکور، قابل توجیه می‌باشد هر چند تفاوت مشاهده شده در ارتباط با این شاخص بین مناطق مورد بررسی بسیار اندک بود. نتایج مربوط به آزمون واریانس مولکولی نیز حاکی از تنوع ژنتیکی بالا در داخل گروه‌ها و تنوع پایین در میان آن‌ها بود. میزان شباهت ژنتیکی در تحقیق حاضر ۰/۷۲ به دست آمد که در محدوده گونه‌های هم‌جنس (Thorpe, ۱۹۸۲) قرار دارد. دندروگرام ترسیم شده بر اساس فاصله ژنتیکی نیز حاکی از آن بود که احتمالاً هر ۳ گروه مورد ارزیابی متعلق به یک جمعیت می‌باشند.

منابع

- امیرجنتی، ا.؛ نوروزی، م. و ناظمی، ع.، ۱۳۹۲. بررسی ساختار ژنتیک جمعیت ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در تالاب انزلی و مصب گرگانرود به روش مولکولی میکروستلایت. نشریه توسعه آبرزی پروری. سال ۷، شماره ۳، صفحات ۱ تا ۱۰.
- عبدلی، ا. و نادری، م.، ۱۳۸۷. تنوع زیستی ماهیان حوضه جنوبی دریای خزر. انتشارات علمی آریان، تهران. ۱۴۲ صفحه.
- قلیچ پور، م.؛ شعبانی، ع. و شعبان پور، ب.، ۱۳۸۹. مقایسه ساختار ژنتیکی دو جمعیت کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در مناطق قره‌سو و انزلی با استفاده از ۸ نشانگر ریزماهوره. تاکسونومی و بیوسستماتیک. سال ۲، شماره ۴، صفحات ۳۹ تا ۴۸.
- لالوئی، ف.؛ رضوانی‌گیل‌کلائی، س.؛ فاطمی، س.م.ر. و تقوی، م.ج.، ۱۳۹۱. بررسی ژنتیک جمعیت ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) حوضه جنوبی دریای خزر با استفاده از (PCR-RFLP) mtDNA. مجله علمی شبلیات ایران. شماره ۱۷، صفحات ۸۹ تا ۱۰۱.
- Beardmore, J.A.; Mair, G.C. and Lewis, R.I., 1997. Biodiversity in aquatic systems in relation to aquaculture. *Aquaculture Research*. Vol. 28, pp: 829-839.
- Bhassu, S.; Yusoff, K.Y.; Panandam, J. M.; Embong, W. K.; Oyyan, S. and Tan, S.G., 2004. The genetic structure of *Oreochromis* spp. (Tilapia) populations in Malaysia as revealed by microsatellite DNA analysis. *Biochemical Genetics*. Vol. 42, pp: 217-229.