مجله بوم شناسی آبزیان

Journal homepage: http://jae.hormozgan.ac.ir

# مطالعه تنوع ژنتیکی سگ ماهی جویباری *Paraschistura nielseni* (Nalbant and Bianco, 1998) رودخانه‌های شاپور (استان فارس)، دالکی و مند (استان بوشهر) با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره

**الهه عمویی خوزانی[1*]، علی شعبانی[2]، حامد کلنگی میاندره [2]**

[1] *گروه تولید و بهره برداری ، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان*

[2] *گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان*

**نوع مقاله:**
پژوهشی

**تاریخچه مقاله:**
دریافت: ۹۳/۰۲/۱۰
اصلاح: ۹۳/۰۵/۰۲
پذیرش: ۹۳/۰۶/۱۷

**کلمات کلیدی:**
تنوع ژنتیکی
ریزماهواره
چند شکلی
سگ ماهی جویباری

**چکیده**

هدف تحقیق حاضر بررسی تنوع ژنتیکی سگ ماهی جویباری *Paraschistura nielseni* رودخانه های شاپور (فارس)، دالکی و مند (بوشهر) با استفاده از نشانگر ریزماهواره (IC230، IC228، IC654، Bbar4 و Bbar7) بود. تعداد ۹۰ قطعه ماهی (۳۰ عدد از هر رودخانه) نمونه‌برداری شد. از پنج جایگاه ژنی در مجموع تعداد ۱۲۴ الل برای هر سه رودخانه به دست آمد. متوسط الل مشاهده شده ($N_a$) در رودخانه‌های شاپور، دالکی و مند به ترتیب ۸/۴، ۸/۴ و ۸ به دست آمد. نتایج حاصل از بررسی تنوع ژنتیکی نشان داد که میزان متوسط $H_o$ ۰/۴۲۶ بود که مقدار متوسط آن در رودخانه های شاپور، دالکی و مند به ترتیب ۰/۴۶۱، ۰/۴۵۲ و ۰/۳۶۵ به دست آمد. متوسط هتروزیگوسیتی $H_o$ و $H_e$ برای تمامی مناطق به ترتیب ۰/۴۲۶ و ۰/۸۱۷ محاسبه گردید. بیشترین و کمترین میزان $H_o$ به ترتیب برای جایگاه های IC654 (۰/۷۳۹) دالکی و IC228 (۰/۱۷۴) مند مشاهده شد. بررسی انحراف از تعادل هاردی- واینبرگ در رودخانه های شاپور در سه جایگاه IC230، IC654 و Bbar7، دالکی جایگاه IC230 و مند جایگاه IC654 تعادل برقرار بوده و در سایر جایگاه ها انحراف معنی داری مشاهده شد. شاخص Fst تنوع ژنتیکی درون جمعیتی بالا (۹۸٪) و میزان تمایز بین جمعیتی پایینی (۲٪) را نشان داد. دندروگرام UPGMA بر اساس فاصله ژنتیکی ترسیم شده و جمعیت های رودخانه های شاپور و دالکی از هم جدا نشده اما احتمالا جمعیت رودخانه مند از جمعیت های دو رودخانه دیگر جدا شده است.

## مقدمه

آگاهی از تنوع و ساختار ژنتیکی جمعیت ها از اساسی‌ترین شاخص های لازم برای حفظ و بقای یک گونه جهت سازگاری با محیط هایی است که تحت تأثیر فشارهای زیست‌محیطی مختلف قرار دارند، زیرا تصور براین است که تنوع ژنتیکی بالا باعث بهبود توانایی افراد و افزایش شانس بقای افراد جمعیت‌ها می‌شود (Zhang *et al.*, 2009; Hall and Bardley, 1995). عوامل متعددی همچون انتخاب طبیعی، رانش ژنتیکی، مهاجرت، پراکنش، جفت گیری (McRae *et al.*, 2005)، تخریب و تکه تکه شدن زیستگاه (Reiley *et al.*, 2006; Keller and Largiader, 2002)، اثرات bottleneck و کاهش جمعیت‌ها اهمیت بسزایی در ایجاد تنوع ژنتیکی جمعیت‌های وحشی دارد. تنوع ژنتیکی بیان کننده تفاوت در تعداد و نوع آلل‌های موجود در لوکوس‌های

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: e.amooee67@gmail.com



[ Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-24 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222751.1393.4.2.8.4 ]

کروموزومی است و نیازمند توجه ویژه بوده و طی چند سال اخیر علاقه‌مندان زیادی را به دلیل نقش کلیدی در ساختار ذخایر طبیعی به خود جلب کرده است. لذا بررسی ژنتیک جمعیت ذخایر می‌تواند کمک شایانی به برنامه‌های ارزیابی ذخایر و مدیریت حفاظتی گونه ها نماید (Waldman *et al.*, 1999). جهت ارزیابی ساختار ژنتیکی جمعیت تا به امروز از نشانگرهای مختلفی همچون RFLP، AFLP و... استفاده شده است که از میان این نشانگرها امروزه ریزماهواره‌ها (SSRs) یکی از پرکاربردترین نشانگرها می باشند (Crooijmans *et al*., 1997, Li *et al*., 2007). نشانگرهای ریزماهواره ها میزان چند شکلی قابل قبولی را در بین افراد نشان می‌دهد. این نشانگر کاربرد وسیعی در ارزیابی تنوع ژنتیکی، مطالعه ساختار ژنتیکی جمعیت ها، تفاوت‌های ژنتیکی بین جمعیت‌ها و محاسبه جریان ژنی بین گونه ها دارند (Balloux and Lugon-Moulin, 2002; Kohn *et al*., 1999). در میان ماهیان آب‌های داخلی ایران، خانواده سگ ماهی جویباری با ۲۳ گونه و ۱۱٪ فراوانی رتبه دوم فون ماهیان ایران را به خود اختصاص داده‌اند (Coad, 2012). از لحاظ زیستگاهی، سگ ماهیان، قسمت‌های فوقانی و میانی رودخانه ها با بستر سنگلاخی و قلوه سنگی (آب‌های سرد و غنی از اکسیژن) را برای زیستن ترجیح داده و در هنگام روز در زیر سنگ‌ها مخفی شده و گونه هایی شب فعال می‌باشند (Cihar, 1976; Abdoli, 199). گونه *Paraschistura nielseni* از جنس *Paraschistura* و خانواده Nemacheilidae می باشد. این گونه بومی ایران بوده و پراکندگی آن مربوط به حوضه آبریز خلیج فارس می باشد. اطلاعات محدودی در خصوص تنوع ژنتیکی این گونه در ایران وجود دارد. بنابراین در این مطالعه تلاش شده است تا تنوع ژنتیکی سه جمعیت این گونه در دو استان فارس و بوشهر مورد بررسی قرار گیرد. تاکنون در خصوص معرفی نشانگرهای اختصاصی برای مطالعات ژنتیکی این گونه گزارشی منتشر نشده است. در نهایت، باتوجه به متنوع بودن عوامل اکولوژیکی مانند عمق، جنس بستر و شدت جریان در رودخانه های مورد مطالعه و از سوی دیگر پراکنش بالای گونه مورد مطالعه در حوضه خلیج فارس، تنوع ژنتیکی ماهی *Paraschistura nielseni* با استفاده از نشانگر ریز ماهواره مورد ارزیابی قرار گرفت.

## مواد و روش‌ها

### نمونه برداری و استخراج DNA

در مهر ماه سال ۱۳۹۲ تعداد ۹۰ قطعه ماهی (۳۰ قطعه برای هر منطقه) در سه رودخانه شاپور دالکی و مند نمونه برداری گردید. از هر ماهی باله دمی را گرفته و تا زمان استخراج DNA در اتانول ۹۶ درصد نگهداری شد. استخراج DNA با استفاده از روش فنول-کلروفرم صورت پذیرفت (Hillis *et al*., 1990). به منظور بررسی کیفیت و کمیت DNA استخراجی از ژل آگارز یک درصد و دستگاه اسپکتوفتومتر (Eppendorf AG, Bio photometer 8.5mm, Germany) استفاده شد. DNA استخراجی تا زمان استفاده در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد.

### آنالیز مولکولی

جهت بررسی تنوع ژنتیکی سگ ماهی جویباری *Paraschistura nielseni* پنج جفت نشانگر ریزماهواره (IC230، IC228، IC654، Bbar4 و Bbar7) که دارای تعداد آلل بالا و دامنه وزنی مناسبی بودند و حالت پلی‌مورفیسم از خود نشان داده بودند، (Bang *et al*., 2009, Taylor *et al*., 2001) انتخاب گردید (جدول ۱). واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز در دستگاه ترموسایکلر(BIO-RAD, MJ Mini Thermal Cycler, USA) درون میکروتیوپ‌های مخصوص PCR به حجم ۲۵ میکرولیتر شامل ۱۵ نانوگرم DNA استخراجی، ۰/۵ میکرولیتر از پرایمر مستقیم (F) و ۰/۵ میکرولیتر از پرایمر معکوس (R)، چهارصدم میکرولیتر از نوکلئوتیدها، یک واحد بین المللی تگ DNA پلی‌مراز (Fermentas, Thermo fisher, Lithuania)، بافر۱۰ X PCR (Fermentas, Thermo fisher, Lithuania)، ۵/۱ میلی‌مولار کلریدمنیزیم و اضافه نمودن آب مقطر استریل تا رسیدن به حجم



[ Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-24 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222751.1393.4.2.8.4 ]

۲۵ میکرولیتر انجام شد. مراحل انجام واکنش زنجیره پلی مراز به این صورت بود: در واسرشتگی اول، دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت سه تا پنج دقیقه اعمال و DNA دو رشته از هم جدا گردید (Denaturation)، در ادامه ۳۵ چرخه شامل ۴۵ ثانیه در دمای ۹۴ درجه، دمای الحاق دو رشته DNA باز شده به مدت ۳۰ ثانیه، ۴۵ ثانیه در دمای ۷۲ درجه و در بسط نهایی سه تا پنج دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد صورت پذیرفت. سپس محصول PCR بر روی ژل اکریل آمید شش درصد در دستگاه الکتروفورز لود شد. از نشانگر (Ladder DNA 100 bp Fermentas, Thermo fisher, Lithuania )به عنوان معیار جهت تعیین اندازه آلل ها استفاده گردید. بعد از اتمام کار دستگاه الکتروفورز، ژل ها با استفاده از روش رنگ‌آمیزی نیترات نقره طی مراحلی رنگ‌آمیزی شدند (Bassam *et al*., 1991). پس از رنگ آمیزی با استفاده از دستگاه مستند ساز ژل تصویر مناسبی از ژل جهت انجام مراحل بعدی و آنالیزها تهیه شد. سپس با استفاده از دستگاه ژل پرو آنالایزر (Gel pro analyser 3.0. Gene, USA ) وزن باندهای مشاهده شده در باند اصلی مشخص گردید.

جدول ۱. جایگاه‌های ژنی مورد استفاده در این مطالعه و خصوصیات آن‌ها (Bang *et al*., 2009; Taylor *et al*., 2001)

| جایگاه ژنی | طول (جفت باز) | تعداد الل | پرایمر | دمای مناسب اتصال |
|---|---|---|---|---|
| **IC228** | ۱۷۲ - ۲۴۴ | ۷ | F: AATACGAAACTACTTGGTAATGGC<br>R: GTGAAAAGGTCCAGTTAAAAGC | ۴۸ |
| **IC230** | ۱۷۶-۲۶۰ | ۹ | F:GGGTATAGGTGAAAAGGTCC<br>R:ATACGAAACTACTTGGTAATGGC | ۴۸ |
| **IC654** | ۱۵۶-۲۰۸ | ۱۱ | F:TGAGCCGACACTAGAAACAGAGC<br>R:GACAAAGTGCAGGCACAGAATG | ۴۹ |
| **Bbar4** | ۸۰ – ۱۲۰ | ۶ | F: ATAATCACAGCCCCGCAGAG<br>R: GGGTGGTGGAATATATTGGAAA | ۵۵ |
| **Bbar7** | ۳۲۰ -۳۹۶ | ۸ | F: GAGCAACAGCTGCTGTAGGA<br>R: GTCGGACCAACCTGAAAACT | ۵۰ |

**آنالیز آماری**

جهت ارزیابی تعداد آلل در هر یک از لوکوس ها، هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار در بررسی تنوع ژنتیکی سه جمعیت در رودخانه های مورد مطالعه و همچنین به منظور تست آزمون انحراف از تعادل هاردی- واینبرگ از نرم افزار GenAlex 6.41 (Peakall and Smouse, 2006) استفاده شد. وجود و یا عدم وجود آلل پوچ[1]، خطاهای دسته‌بندی و یا از دست دادن آلل بزرگ، از نرم افزار Microchecker 2.2.1(Oosterhout *et al*., 2004) استفاده گشت. به منظور تعیین تفاوت در مقادیر هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Ho) و مورد انتظار (He) و همچنین مشخص نمودن تنوع آللی از آزمون ویلکاکسون غیر پارامتریک (Zar, 1999) در نرم‌افزار SPSS ver 19 استفاده شد. آنالیز غنای آللی، میزان ضریب درون آمیزی (Fis) و سطح معنی‌داری آن با استفاده از نرم افزار FSTAT (ver 2.9.3) مشخص گردید (Goudet, 2001). میزان تنوع درون و بین جمعیتی و همچنین میزان تمایز بین مناطق بر اساس معیار مدل آللی بی‌نهایت (Fst) توسط آنالیز واریانس مولکولی (AMOVA) در نرم افزار GenAlex محاسبه شد (Peakall and Smouse, 2006). همچنین میزان آلل واقعی (Na)، آلل مؤثر (Ne)، جریان ژنی (Nm)، مقادیر فاصله ژنتیکی (D) و شباهت ژنتیکی (I) (Nei, 1978) نیز در همین نرم‌افزار به دست‌آمد. در نهایت مقادیر

1. Null alleles



[ Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-24 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222751.1393.4.2.8.4 ]

مربوط به غنای آللی و هتروزیگوسیتی بر اساس مقادیر ارایه شده برای ماهیان آب شیرین مورد مقایسه قرار گرفتند (Dewoody and Avise, 2000).

## نتایـج

در این تحقیق از پنج جایگاه ژنی ریزماهواره استفاده شد که تمامی این جایگاه‌ها حالت پلی‌مورفیسم نشان دادند (جدول ۱). تعداد آلل‌های مربوط به هر یک از جایگاه‌های ژنی پلی مورف در جدول ۲ ارایه شده است. از پنج جایگاه ژنی ریزماهواره استفاده و در مجموع تعداد ۱۲۴ الل برای هر سه رودخانه به دست آمد. متوسط تعداد آلل مشاهده شده در سطح هریک از جایگاه‌های ژنی ۸ آلل در هر لوکوس محاسبه شد و گستره آن در جایگاه‌های ژنی از ۱۲-۵ آلل بود.

جدول ۲. تنوع ژنتیکی جایگاه های ژنی مورد استفاده در مناطق مورد بررسی

| | | IC654 | IC230 | IC228 | Bbar7 | Bbar4 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| رودخانه شاپور | $N_a$ | ۹ | ۱۱ | ۷ | ۱۰ | ۵ |
| | $N_e$ | ۷/۱۴۹ | ۹/۱۲۱ | ۴/۴۲۷ | ۷/۳۹۹ | ۳/۳۵۹ |
| | $H_o$ | ۰/۵۶۵ | ۰/۶۰۹ | ۰/۳۴۸ | ۰/۵۲۲ | ۰/۲۶۱ |
| | $H_e$ | ۰/۸۶۰ | ۰/۸۹۰ | ۰/۷۷۴ | ۰/۸۶۵ | ۰/۷۰۲ |
| | $F_{IS}$ | ۰/۳۴۳ | ۰/۳۱۶ | ۰/۵۵۱ | ۰/۳۹۷ | ۰/۶۲۹ |
| | pHw | ns | ns | *** | ns | *** |
| رودخانه دالکی | $N_a$ | ۱۲ | ۸ | ۷ | ۷ | ۸ |
| | $N_e$ | ۷/۵۰۴ | ۶/۴۵۱ | ۴/۸۳۱ | ۵/۰۱۴ | ۵/۵۱۰ |
| | $H_o$ | ۰/۷۳۹ | ۰/۵۶۵ | ۰/۳۴۸ | ۰/۲۶۱ | ۰/۳۴۸ |
| | $H_e$ | ۰/۸۶۷ | ۰/۸۴۵ | ۰/۷۹۳ | ۰/۸۰۱ | ۰/۸۱۹ |
| | $F_{IS}$ | ۰/۱۴۷ | ۰/۳۳۱ | ۰/۵۶۱ | ۰/۶۷۴ | ۰/۵۷۵ |
| | pHw | *** | ns | *** | *** | *** |
| رودخانه مند | $N_a$ | ۱۱ | ۹ | ۷ | ۸ | ۵ |
| | $N_e$ | ۵/۹۷۷ | ۵/۵۳۹ | ۴/۶۸۱ | ۵/۸۷۸ | ۴/۳۱۸ |
| | $H_o$ | ۰/۵۶۵ | ۰/۴۳۵ | ۰/۱۷۴ | ۰/۳۹۱ | ۰/۲۶۱ |
| | $H_e$ | ۰/۸۳۳ | ۰/۸۱۹ | ۰/۷۸۶ | ۰/۸۳۰ | ۰/۷۶۸ |
| | $F_{IS}$ | ۰/۳۲۱ | ۰/۴۶۹ | ۰/۷۷۹ | ۰/۵۲۸ | ۰/۶۶۱ |

$N_a$: 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 (ns: عدم معنی داری، $P \leq ۰/۰۵$*، $P \leq ۰/۰۱$**، $P \leq ۰/۰۰۱$***).

متوسط تعداد آلل واقعی و مؤثر در رودخانه های شاپور، دالکی و مند به ترتیب ۸/۴ ، ۶/۳ و ۸/۴ ، ۵/۸۷ و ۸ ، ۵/۲۷ بود و از این حیث به لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری را با یکدیگر در سطح ۵ درصد نشان ندادند ($p>۰/۰۵$). کمترین تعداد الل در جایگاه Bbar4 ، ۵ الل در دو رودخانه شاپور و مند و بیشترین تعداد الل در جایگاه IC654 ۱۲ الل در رودخانه شاپور مشاهده گردید. متوسط الل مشاهده شده (Na) در رودخانه‌های شاپور، دالکی و مند به ترتیب ۸/۴، ۸/۴ و ۸ به دست آمد. میزان الل مشاهده شده (Na)، الل مورد انتظار (Ne)، هتروزیگوسیتی مشاهده شده (HO)، مورد انتظار (He) و شاخص درون آمیزی در جدول ۲ نشان داده شده است. متوسط هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار به ترتیب ۰/۴۲۶ و ۰/۸۱۷ به دست آمد. متوسط هتروزیگوسیتی مشاهده شده در رودخانه های شاپور، دالکی و مند به ترتیب ۰/۴۶۱، ۰/۴۵۲ و ۰/۳۶۵ به دست آمد. بیشترین و کمترین میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده به ترتیب برای جایگاه های IC654 (۰/۷۳۹) رودخانه دالکی و IC228 (۰/۱۷۴) رودخانه مند مشاهده شد. در بررسی انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ در سطح جایگاه ها، در جمعیت رودخانه شاپور در سه جایگاه IC230، IC654 و Bbar7، در جمعیت رودخانه دالکی جایگاه IC230 و در جمعیت رودخانه مند جایگاه IC654



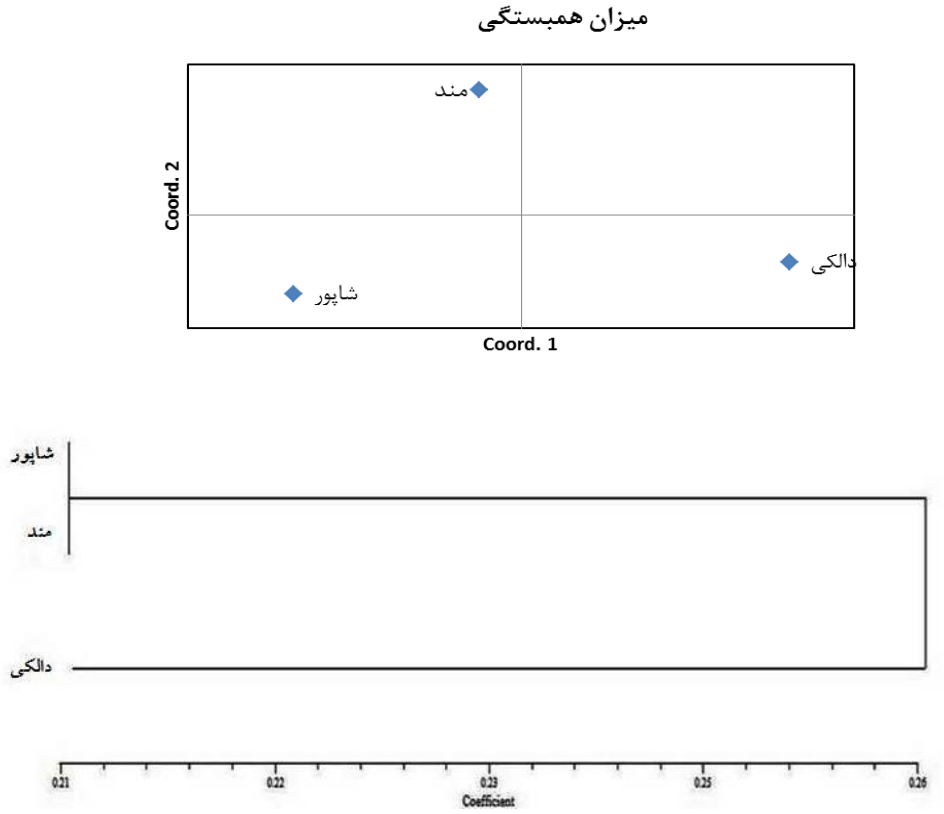
[ Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-24 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222751.1393.4.2.8.4 ]

تعادل برقرار بوده و در سایر جایگاه ها انحراف معنی داری برقرار بود (جدول ۲). متوسط شاخص درون آمیزی ۰/۴۸۶ بود. متوسط جریان ژنی ($N_m$) در بین مناطق ۸/۵۸، کمترین و بیشترین میزان آن به ترتیب برای جایگاه های Bbar4 (۵/۱۱۷) و Bbar7 (۱۲/۸۵۷) محاسبه گردید (جدول ۳). بر اساس شاخص PCA سه جمعیت در سه ناحیه متفاوت از نمودار همبستگی قرار گرفتند (شکل ۱). نتایج آنالیز واریانس مولکولی و شاخص $F_{st}$ در سطح ۹۹ درصد نشان داد که تنوع ژنتیکی بالایی (۹۸ درصد) در درون جمعیت‌ها و تنوع پایینی (۲ درصد) در بین جمعیت ها وجود دارد. بر اساس دندروگرام UPGMA سه جمعیت مورد بررسی در دو شاخص اصلی قرار گرفتند. جمعیت های رودخانه های شاپور و مند در یک شاخص و جمعیت رودخانه دالکی در شاخه ای مجزا قرار گرفت (شکل ۲).

جدول ۳. میزان جریان ژنی ($N_m$) و تمایز ($F_{st}$) در سطح سه جایگاه ژنی مورد استفاده

| جایگاه ژنی | Bbar4 | Bbar7 | IC228 | IC230 | IC654 | میانگین |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Nm** | ۵/۱۱۷ | ۱۲/۸۵۷ | ۵/۸۷۳ | ۹/۴۲۹ | ۹/۶۲۶ | ۸/۵۸۰ |
| **$F_{st}$** | ۰/۰۴۷ | ۰/۰۱۹ | ۰/۰۴۱ | ۰/۰۲۶ | ۰/۰۲۵ | ۰/۰۳۲ |




شکل ۲. مقایسه فاصله ژنتیکی سه جمعیت *Paraschistura nielseni* بر اساس ترسیم دندروگرام UPGMA

## بحث

مطالعه تنوع و ساختار ژنتیکی جمعیت آبزیان از مهم ترین و اساسی ترین اصول لازم جهت حفاظت و مدیریت منابع آبی جهت بقا و تکامل موجودات می‌باشد (Diz and Presa, 2009). همچنین مطالعه افراد یک جمعیت در اکوسیستم های آبی از نظر تکاملی، بوم‌شناسی، رفتارشناسی، حفاظت و مدیریت منابع آبی، بهره برداری از ذخایر و پرورش آنها حائز اهمیت است (Mostafavi, 2006). اعمال مدیریت صحیح بر ذخایر آبزیان و توسعه آبزی پروری زمانی با موفقیت همراه خواهد بود که ذخایر ژنی گونه ها،



[ Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-24 ]
[ DOR: 20.1001.1.23222751.1393.4.2.8.4 ]

مورد مطالعه قرار گرفته و اولین گام در این زمینه، تشخیص صحیح گونه ها، جمعیت ها و یا نژادها می باشد. این امر از نظر مدیریت شیلاتی و برنامه ریزی‌های حفاظتی گونه ها حائز اهمیت است (Coad, 1980). تنوع ژنتیکی برای فرآیندهای تکاملی محیط زیست و اکولوژیکی در محدوده عملکرد اکوسیستم ها بسیار مهم و حیاتی می باشد ( Rezvani Gilkolaei *et al.*, 2012). امروزه بی نظمی و عدم قانونمندی در میزان صید و وجود عوامل استرس‌زای فراوان و همچنین دیگر عوامل محیطی همچون آلودگی‌های محیطی سبب کاهش اندازه جمعیت مؤثر شده و در نهایت قابلیت جمعیت را برای حفظ تنوع کاهش می‌دهد و بقای آن‌ها را به‌خطر می‌اندازد. پارامترهای متعددی همچون میزان هتروزیگوسیتی و تعداد آلل (واقعی و مؤثر) در مطالعات ژنتیک جمعیت مورد بررسی قرار می گیرد و در این گونه از مطالعات نمی توان به تنهایی براساس یک پارامتر قضاوت صحیحی در ارتباط با افزایش یا کاهش تنوع ژنتیکی جمعیت ماهیان داشت. مطالعات متعددی نشان می دهد که میزان تنوع اللی نسبت به هتروزیگوسیتی از اهمیت بالاتری برخوردار می باشد هر گونه تغییر در میزان آن می تواند نشان دهنده تغییرات در سایز جمعیت موثر گونه مورد مطالعه باشد (Diz and Presa, 2009). نشانگرهای متعددی در ارزیابی تنوع ژنتیکی استفاده می‌گردد؛ یکی از پرکاربردترین نشانگرها ریزماهواره‌ها هستند که به صورت گسترده ای در مطالعات ژنتیک جمعیت گونه‌های پرورشی و وحشی ماهیان استفاده می شود (Liu *et al*., 2009). گونه *Paraschistura nielseni* فاقد جایگاه ژنی اختصاصی بوده و جایگاه ژنی مورد استفاده در این بررسی از مطالعات صورت گرفته توسط Taylor و همکاران (۲۰۰۱) بر روی گونه *Barbatula barbatula* و توسط Bang و همکاران (۲۰۰۹) بر روی گونه *Iksookimia choii* انتخاب شدند. با وجود غیراختصاصی بودن هر ۵ جایگاه ژنی دارای چند شکلی بودند. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که میزان متوسط تعداد الل و هترزیگوسیتی مشاهده شده ($N_a$=۸ ، $H_o$= ۰/۴۲۶) با میانگین گزارش شده برای ماهیان آب شیرین ($N_a$=۷/۵، $H_o$=۰/۴۶) همخوانی دارد ( Dewoody and Avise, 2000). نتایج به دست آمده با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره نشان می‌دهد که تنوع ژنتیکی بالایی در درون جمعیت‌های مورد بررسی و تنوع پایینی در بین جمعیت های مورد بررسی وجود دارد. با این حال هتروزیگوسیتی مشاهده شده پایین نشان دهنده وضعیت نه چندان مناسب ساختار ژنتیکی جمعیت *Paraschistura nielseni* در رودخانه های مورد بررسی می باشد (اثر Wahlund). اثر Wahlund به این نکته اشاره داشته که زمانی که در یک جمعیت دو یا تعداد بیشتری زیر جمعیت با فراوانی اللی متفاوت وجود دارند در نهایت باعث کاهش هتروزیگوسیتی مشاهده شده کلی در جمعیت می گردند. هر چند ممکن است زیر جمعیت ها در تعادل هاردی واینبرگ نیز قرار گیرند. از دلایل ایجاد این زیر جمعیت ها می توان به موانع جغرافیایی و رانش ژنتیکی اشاره نمود. برخی از جایگاه‌های ژنی در هر سه جمعیت انحراف از تعادل هاردی- واینبرگ را نشان دادند. با توجه به اینکه تعادل هاردی- واینبرگ بر اساس جفت گیری تصادفی در یک جمعیت است، در صورت بزرگ بودن بیش از حد جمعیت، تصادفی بودن آمیزش ها و عدم وجود جهش، بهگزینی و مهاجرت (جابجایی ماهیان از یک جمعیت به جمعیت دیگر)، فراوانی اللی و ژنوتیپی می تواند از نسلی به نسل دیگر ثابت بماند که تحت عنوان تعادل هاردی- واینبرگ بیان می شود. بنابراین انتظار انحراف از تعادل هاردی- واینبرگ در جمعیت های وحشی وجود دارد (Dixon *et al*., 2008). جمعیت های طبیعی زیادی از ماهیان انحراف از تعادل هاردی- واینبرگ را نشان داده اند ( Castric *et al*., 2002؛ Yue *et al*., 2004 ؛ Lucentini *et al*., 2006؛ Bang *et al*., 2009 ؛ Askari and Shabani, 2013). بر اساس آنالیزهای صورت گرفته الل های نول در هر سه منطقه نشان داده شدند. هتروزیگوسیتی ممکن است در جمعیت های طبیعی از طریق همخونی، نمونه برداری غیر تصادفی، ساختار درون جمعیتی (Castric *et al*., 2002)، رانش ژنتیکی، الل نول ( Angel *et al*., 2006)، فشار صید بی رویه (Bergh and Getz, 1989) و یا ترکیبی از عوامل فوق رخ دهد. در این رودخانه ها شاید ترکیبی از عوامل فوق دلیل اکثر هتروزیگوسیتی و انحراف از تعادل هاردی واینبرگ باشد.



[ Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-24 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222751.1393.4.2.8.4 ]

آنالیز واریانس مولکولی (AMOVA) معیاری مناسب برای بررسی ساختار جمعیت، تعیین میزان تمایز و شباهت ژنتیکی بین جمعیت ها می باشد (Grassi *et al*., 2004). شاخص Fst بیانگر میزان تمایز ژنتیکی جمعیت ها در سطوح مختلف می باشد. نتایج آنالیز واریانس مولکولی بر اساس شاخص Fst تنوع ژنتیکی پایینی، معادل ۲درصد را بین جمعیت‌ها نشان داد. همچنین شاخص جدایی Fst میزان ۰/۰۳۲را نشان داد. هرگاه میزان Fst از ۰/۰۵ کمتر باشد نشان دهنده تمایز ژنتیکی اندک می‌باشد (Balloux *et al*., 2002). بر اساس گزارش Li و همکاران (۲۰۰۷) هرگاه Nm>1 باشد، جریان ژنی عامل اصلی در تمایز ژنتیکی بوده و هر گاه Nm<1 باشد، رانش ژنی عامل اصلی تمایز ژنتیکی می باشد که میزان جریان ژنی بالایی در جمعیت‌ها (۸/۵۸۰) مشاهده شد که این جریان ژنی بالا می‌تواند عامل مهمی در تمایز ژنتیکی پایین بین جمعیت‌ها در این تحقیق باشد. همچنین میزان شباهت ژنتیکی به دست‌آمده در این مطالعه ۰/۹۰ بود. طبق معیار استاندارد تعریف شده توسط Thorpe (۱۹۸۲)، بر اساس شباهت و فاصله ژنتیکی، میزان شباهت ژنتیکی بین ۰/۹۰ -۰/۸۰ در ارتباط با جمعیت‌هایی است که به یک گونه تعلق دارند که با نتایج حاصل از این تحقیق تطابق دارد.

مطالعه حاضر به عنوان اولین تحقیق پایه برای جنس *Paraschistura* در رابطه با ساختار ژنتیکی آن‌ها می‌باشد. متأسفانه با توجه به نبود اطلاعات قبلی از ساختار ژنتیکی گونه *P. nielseni* در این مناطق نمی‌توان درباره افت داشتن یا نداشتن تنوع ژنتیکی این گونه در چند سال اخیر قضاوتی داشت اما با توجه به نتایج به دست آمده در این تحقیق می‌توان بیان نمود که ماهی *P. nielseni* در حال حاضر در مناطق مورد بررسی دارای تنوع ژنتیکی مطلوبی نبوده و با توجه به اهمیت اکولوژیکی این گونه در پالایش رودخانه ها حفظ تنوع ژنتیکی آن در مناطق مورد بررسی لازم و ضروری به نظر می رسد. پیشنهاد می شود به منظور دستیابی به اطلاعات دقیق تر در ارتباط با این گونه با ارزش بومی ایران در آینده مطالعاتی بر روی ژنوم میتوکندریایی این گونه صورت گیرد.

## منابـع


Abdoli, A. 1998. Freshwater fishes of Iran. Museum of Nature and Wildlife Iran. 378 p.

Angel, P., Mercedes, G., Philippe, L., Concepcion, M., Jose, A. 2006. Effects of fishing protection on the genetic structure of fish populations. Biological Conservation. 129: 244–255.

Bang, I., Kim, W.J., Rolee, I. 2009. Characterization of polymorphic microsatellite loci in the endangered Miho spine loach (*Iksookimia choii*) and cross-species amplification within the Cobitidae family. Molecular Ecology Research. 9: 281-284.

Balloux, F., Goudet, J. 2002. Statistical properties of population differentiation estimators under stepwise mutation in a finite island model. Molecular Ecology. 11: 711-783.

Bassam, B. J., Caetano-Anolles, G., Gresshoff, G.M. 1991. Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide gels. Analytical biochemistry. 84: 680-683.

Bergh, M.O., Getz, W.M. 1989. Stability and harvesting of competing populations with genetic variation in life history strategy. Genetic. 113: 939–965.

Castric, V., Bernatchez, L., Belkhir, K., Bonhomme, F. 2002. Heterozygote deficiencies in small lacustrine populations of brook charr Salvelinus Fontinalis Mitchill (Pisces, Salmonidae): a test of alternative hypotheses. Heredity.89: 27–35.

Cihar, J. 1976. A color guide to familiar freshwater fishes. Octopus Books limited London. 165p.

Coad., B.W. 2012. Fereshwater fishes of Iran. www.briancoad.com.

Coad, B.W. 1980. Environmental change and its impact on the freshwater fishes of Iran. Biological conservation. 10: 51-80.




[ Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-24 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222751.1393.4.2.8.4 ]

Crooijmans, R.P.M. A., Poel, J. J., Groenen, M. A. M., Bierbooms, V.A. F. 1997. Microsatellite markers in common carp (*Cyprinus carpio* L.). Genetics. 28: 129-134.

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

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.

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

Goudet, J. 2001. Fstat, a program to Estimate and Test Gene Diversities and Fixation Indices (version 2.9.3). Retrieved from http://www2.unil.ch/popgen/softwares/fstat.htm. On: 17 June 2008.

Grassi, F., Imazio, S., Gomarasca, S., Citterio, S., Aina, R., Sgorbati, S., Sala, F., Patrignani, G., Labra, M. 2004. Population structure and genetic variation within *Valeriana wallrothii* Kreyer in relation to different ecological locations. Journal of Plant Science. 166: 1437-1441.

Hall, S.J.G., Bradley, D.G. 1995. Conserving livestock breed biodiversity. Trends Ecology and Evolution. 10: 267-270.

Hillis, D.M., Mortiz, C., Mable, B.K. 1990. Molecular systematic. Signature associated. 4: 201-210.

€Keller, I., Largiader, C.R. 2002. Recent habitat fragmentation caused by major roads leads to reduction of gene flow and loss beetles. Proceeding of the royal society of London of genetic variability in ground biological sciences. 270: 417-423.

Kohn, M.H., York, E.C., Kamradt, D.A., Haught, G., Sauvajot, R.M., Wayne, R.K. 1999. Estimating population size by genotyping faces. Proceedings of the Royal Society London Biology. 266: 657-663.

Li, D., Kang, D., Yin, Q., Sun, Z., Liang, L. 2007. Microsatellite DNA marker analysis of genetic diversity in wild common carp (*Cyprinus carpio* L.) Populations. Genetics and Genomics. 34: 984-993.

Liu, F., Xia, J.H., Bai, Z.H., Fu, J.J., Li, J.L., Yue, G.H. 2009.High genetic diversity and substantial population differentiation in grass carp *Ctenopharyngodon idella* revealed by microsatellite analysis. Aquaculture. 297: 51-56.

Lucentini, L., Palomba, A., Lancioni, H., Gigliarelli, L., Natali, M., Panara, F. 2006. Microsatellite polymorphism in Italian populations of northern pike (*Esox lucius*). Fisheries Research 80: 251-262.

McRae, B.H., Beier, P., Dewald, L.E., Huynh, L.Y., Keim, P. 2005. Habitat barriers limit gene flow and illuminate historical events in a wide-ranging carnivore, the American puma. Molecular Ecology. 14: 1965-1977.

Mostafavi, H. 2006. Biodiversity of Talar River fishes in Mazandaran Province. Environmentology Journal. 40: 127-135.

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

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

Peakall, R., Smouse, P.E. 2006.Genalex 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. Molecular Ecology Notes. 6: 288-295.

Reiley, S.P.D., Pollinger, J.P., Sauvajot, R.M. 2006. A southern California freeway is a physical and social barrier to gene flow in carnivores. Molecular Ecology. 15: 1733-1741.

Rezvani Gilkolaei, S., Kavan, S.L., Safari, R. 2012. A Study of Genetic Structure of *Rutilus frisii kutum* in Anzali Lagoon, Using Microsatellite Markers. Journal of Agricultural Science and Technology. 14: 327-337.



[ Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-24 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222751.1393.4.2.8.4 ]

Askari, G., Shabani, A., Moradi, A. 2013. Genetic variation of *Garra rufa* (Heckel, 1843) in Kermanshah and Bushehr provinces (Iran) using SSR (microsatellite) markers. Moulecular Biology Research Communications. 2(3): 81-88.

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

Thorpe, J.P. 1982. The molecular clock hypothesis: biochemical evolution, genetic differentiation and systematic. Annual Review of Ecology and Systematics. 13: 139-168.

Waldman, D.A., Yammarino, F.J. 1999. CEO charismatic leadership: levels-of-management and levels-of-analysis effects. Academy of Management Review. 24: 266-285.

Yue, G.H., Li, Y., Lim, L.C., Orban, L. 2004. Monitoring the genetic diversity of three Asian arowana (*Scleropagesformosus*) captive stocks using AFLP and microsatellites. Aquaculture. 237: 89–102.

Zar, J.H. 1999. Biostatistical analysis. 4th edithon. Prentice Hall. New Jersey. 718 p.

Zhang, X.Y., Zhou, M.L., Zhang, X.H., Wu, D.J. 2009. Study on population genetic structure of Liangshan semi-wool sheep using microsatellite markers. Pakistan Journal of Biological Sciences. 11: 2423-7.

[ Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-24 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222751.1393.4.2.8.4 ]