

بررسی تنوع ژنتیکی ماهی سیم دریای خزر (*Abramis brama orientalis*; Berg, 1905) در سواحل چمخاله و بندرانزلی استان گیلان با استفاده از نشانگرهای ریزماهوره

- **زینب حسین‌نیا***: 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
- **حامد کلنگی‌میاندرد**: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، صندوق پستی: ۴۸۷-۴۹۱۷۵

تاریخ دریافت: فروردین ۱۳۹۴ تاریخ پذیرش: تیر ۱۳۹۴

چکیده

ماهی سیم (*Abramis brama orientalis*) از جمله ماهیان استخوانی دریای خزر می‌باشد. تعداد ۳۰ قطعه ماهی از هر یک از مناطق چمخاله و بندرانزلی تهیه و مورد بررسی ژنتیکی قرار گرفتند. در این بررسی همه ۷ جایگاه ریزماهوره‌ای (Ic654، Rser10، M4، B11-153، B12-114، MFW26، MFW7) چندشکلی را نشان دادند. نتایج نشان داد که تمایز بارز ژنتیکی بین دو منطقه از لحاظ Rst، Fst و آنالیز واریانس مولکولی وجود نداشته و میانگین تعداد ال در سطح جمعیت‌ها ۱۰/۵ و میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار نیز به ترتیب ۰/۶۱۵ و ۰/۸۲۰ می‌باشد. تقریباً اکثر جایگاه‌های ژنی انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ را نشان دادند. شباهت و فاصله ژنتیکی بین دو منطقه به ترتیب ۰/۶۸۴ و ۰/۳۱۶ بود. براساس آنالیزهای موجود به نظر می‌رسد، گونه *Abramis brama* دارای تنوع ژنتیکی مطلوبی در مناطق مورد بررسی نمی‌باشد.

کلمات کلیدی: ماهی سیم، ریزماهوره، تنوع ژنتیکی، چندشکلی



مقدمه

تکنیک PCR-RFLP روی قطعه‌ای از ژنوم میتوکندریایی شامل *Cyt b* و *ND 5/6 tRNA-glu tRNA-lu* انجام دادند که نتایج، تنوع ژنتیکی بارزی را در نمونه‌های ماهی سیم دریای خزر (سواحل جمهوری آذربایجان) نسبت به نمونه‌های ماهی سیم دریاچه سد ارس نشان داد. کیوان‌شکوه و همکاران (۱۳۸۷) به مقایسه سطح تنوع ژنتیکی جمعیت‌های ایرانی و آذربایجانی ماهی سیم دریای خزر با استفاده از ۵ نشانگر ریزماهوره پرداختند که در طی آن نیز کاهش تنوع ژنتیکی ذخایر ایرانی نسبت به جمعیت‌های آذربایجانی مشاهده شد.

هر ساله تعداد زیادی بچه ماهی سیم توسط سازمان شیلات در دریای خزر رهاسازی می‌شود، از آن‌جایی که یکی از مباحث مهم و اساسی در حفظ تنوع ژنتیکی استفاده غیرانتخابی و فراوان مولدین می‌باشد، لذا هدف از این مطالعه ارزیابی وضعیت تنوع ژنتیکی جمعیت‌های ماهی سیم در دو ایستگاه نمونه‌برداری در استان گیلان می‌باشد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری: نمونه‌برداری از ۶۰ عدد ماهی سیم از دو ایستگاه در سواحل جنوبی خزر (به‌طور متوسط ۳۰ عدد از هر منطقه) در پاییز سال ۱۳۹۱ انجام شد. بدین‌صورت که حدود ۲-۳ گرم از باله سینه‌ای هر ماهی جمع‌آوری و تا زمان استخراج در الکل ۹۶٪ قرار داده شدند. سپس نمونه‌ها برای استخراج DNA به آزمایشگاه ژنتیک و بیوتکنولوژی آبیان دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان منتقل گردیدند.

آماده‌سازی نمونه‌ها: استخراج DNA از نمونه‌ها به روش فنل-کلروفرم (Hillis و همکاران، ۱۹۹۶) انجام پذیرفت. کیفیت و کمیت DNA استخراجی نیز با استفاده از روش الکتروفورز با ژل آگارز یک درصد و روش اسپکتروفتومتری تعیین گردید.

آنالیز مولکولی: در این مطالعه به‌منظور بررسی تنوع ژنتیکی از هفت جایگاه ریزماهوره استفاده گردید (جدول ۱). هر واکنش زنجیره پلی‌مرز در حجم ۲۵ میکرولیتر با ۰/۲ میلی‌مولار کلرید منیزیم، ۰/۲ میکرومولار نوکلئوتید، ۰/۵ میکرومولار از هر پرایمر، ۱ واحد بین‌المللی DNA پلیمرز (*Taq DNA polymerase*)، بافر PCR1X، ۱۰۰ نانوگرم DNA و آب مقطر انجام گرفت. سیکل دمایی برای هر جایگاه عبارت بود از ۳ دقیقه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد، در ادامه ۳۵ چرخه شامل ۹۴ درجه برای ۳۰ ثانیه، درجه حرارت اتصال ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه برای ۱ دقیقه، با یک بسط نهایی ۷۲ درجه برای ۳ دقیقه. محصول زنجیره پلی‌مرز بر روی ژل پلی‌اکریل آمید ۸ درصد (غیریونیزه شده) جداسازی و به‌وسیله روش نیترا نقره رنگ آمیزی گردید (Bassam و همکاران، ۱۹۹۱).

ماهی سیم از جمله ماهیان استخوانی دریای خزر است. این ماهی متعلق به خانواده کپورماهیان (*Cyprinidae*) و جنس *Abramis* می‌باشد که از لحاظ اکولوژیک، بیولوژیک و اقتصادی اهمیت ویژه‌ای دارد (حسینی و سیرنگ، ۱۳۶۹). تالاب‌انزلی و مناطق هم‌جوار آن در سواحل دریای خزر به‌عنوان زیستگاه اصلی این گونه به‌شمار می‌آید (Kiabi و همکاران، ۱۹۹۹). مقدار صید این ماهی در سال ۵۹-۱۳۵۸ در سواحل جنوبی دریای خزر تا حد صفر کاهش یافت (حسینی و سیرنگ، ۱۳۶۹). به‌دلیل کاهش جمعیت این ماهی در سواحل جنوبی دریای خزر سازمان شیلات ایران بر آن شد تا در سال ۱۳۶۵ با تکثیر مصنوعی تنها چند جفت مولد سیم نر و ماده صید شده از پره‌های صیادی سواحل جنوبی دریای خزر و رهاسازی بچه ماهیان به رودخانه‌ها و تالاب‌های منتهی به دریای خزر آن را بازسازی نماید. این عمل در سال‌های بعد، با استفاده از نسل‌های حاصل از همان مولدین ادامه یافت. این فعالیت در طی چند دهه اخیر باعث کاهش تنوع ژنتیکی جمعیت ماهی سیم در سواحل ایران شد (خارا و همکاران، ۱۳۸۷).

به‌طورکلی مدیریت تنوع ژنتیکی در موجودات نیازمند ارزیابی ساختار ژنتیکی و تفکیک ذخایر گونه مورد نظر است. بنابراین جهت تحقق اهداف مدیریتی، مطالعات مولکولی جمعیت روی ماهیان تجاری انجام می‌گیرد (Moran و Park، ۱۹۹۵؛ Allenford و همکاران، ۱۹۸۷). بررسی مولکولی جمعیت‌ها وابسته است به وجود نشانگرهای پلی‌مورفی که تاثیرپذیری از محیط نداشته باشند. نشانگرهای مولکولی به‌طور مستقیم توانایی تعیین پراکندگی و تنوع ژنتیکی را دارند (Ferguson و همکاران، ۱۹۹۵). از مهم‌ترین نشانگرهای ژنتیکی که برای توصیف ذخایر ماهیان به‌کار می‌رود، میکروستلایت‌ها (واحدهای تکراری ۲-۴ نوکلئوتیدی) هستند (Beaumont و همکاران، ۲۰۰۳) که قادرند اطلاعات لازم در مورد تنوع ژنتیکی، تنوع اللی و پارامترهای دیگری که در ایجاد جمعیت‌ها نقش تعیین‌کننده دارند را در اختیار قرار دهند (Beacham و همکاران، ۲۰۰۰؛ Neigel و همکاران، ۱۹۹۷). این نشانگرها به‌عنوان کارآمدترین نشانگرها در آنالیز تنوع ژنتیکی در بین سایر نشانگرها در نظر گرفته شده‌اند (Askari و همکاران، ۲۰۱۳؛ Bartfai و همکاران، ۲۰۰۳). از بررسی‌های تنوع ژنتیکی ماهی سیم می‌توان به مطالعات Fuchs و همکاران (۱۹۹۸) در رودخانه‌های مین و دانوب و هم‌چنین Wolter و همکاران (۲۰۰۳) در رودخانه آلب آلمان اشاره کرد که وجود چند جمعیت درون گونه‌ای را در این ماهی تأیید کرده‌اند. خارا و همکاران (۱۳۸۴) مطالعه‌ای را بر روی ماهی سیم دریای خزر (سواحل جمهوری آذربایجان) و دریاچه سد ارس با استفاده از



گردید. به منظور تعیین فاصله و شباهت ژنتیکی (Nei) و همکاران، (۱۹۷۸) و رابطه فیلوژنیک جمعیت‌ها از نرم‌افزار PopGene ver 1.31 استفاده شد (Yeh و همکاران، ۱۹۹۹).

آنالیز آماری: تعداد ال در هر جایگاه ژنی، هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Ho)، هتروزیگوسیتی مورد انتظار (He)، تعداد ال‌های مشاهده شده (Na)، تعداد ال مؤثر (Ne)، تعادل هاردی واینبرگ، مقادیر F_{st} و جریان ژنی با استفاده از نرم‌افزار Genealex ver.6.5 (Peakall و Smouse، ۲۰۱۲) محاسبه

جدول ۱: خصوصیات جایگاه ژنی مورد استفاده در این تحقیق

نام جایگاه	طول (جفت باز)	توالی آغازگر	دمای اتصال
BI2-114	۱۶۸-۲۷۲	F:ATCACTGCCATTTTATTA R:CTGCTCCGCTCTGTTCCA	۵۲
BI1-153	۲۰۰-۲۷۶	F:GCACAGCTCTAATCGGTCCT R:TATGGTCAAACACGGGTCAA	۵۳
M4	۱۰۰-۲۰۰	F:ACCGGGCTTTAGGCTGTTGGTCA R:TGAGACACATCCCATCACTGCCTACG	۵۹
Ic654	۱۲۸-۱۷۲	F:TGAGCCGACACTAGAAAACAGAGC R:GACAAAAGTGCAGGCACAGAATG	۵۲
Mfw7	۱۶۰-۲۰۰	F:TACTTTGCTCAGGACGGATGC R:ATCCCTGCACATGGCCACTC	۶۱
Mfw26	۱۰۰-۱۴۸	F:CCCTGAGATAGAAACCACTG R:CACCATGCTTGGATGCAAAAAG	۴۸
Rser10	۱۶۰-۲۳۲	F:TGCGTAATCGTGAAGCGGTG R:GCCACTAAAGCGCAGAAGCC	۵۷

مورد بررسی تفاوت معنی‌داری از نظر هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار وجود نداشت ($P > 0.05$). در بررسی تعادل هاردی-واینبرگ ۸ نمونه از ۱۴ تست مورد بررسی (۷ جایگاه × ۲ منطقه) به طور معنی‌داری با در نظر گرفتن ضریب تصحیح بونفرونی انحراف از تعادل را نشان دادند. متوسط شاخص درون آمیزی (F_{is}) و جریان ژنی (Nm) به ترتیب ۰/۱۷۵ و ۱۵/۵۰۹ را نشان دادند. از نظر تمایز بین مناطق میزان شاخص F_{st} ، R_{st} و براساس آنالیز واریانس مولکولی (AMOVA)، به ترتیب ۰/۰۲۶ و ۰/۰۲۵ به دست آمد. همچنین نتایج براساس AMOVA نشان داد که ۹۶ درصد از تنوع مشاهده شده مربوط به درون جمعیت‌ها و تنها ۴ درصد از تنوع مربوط به بین جمعیت‌هاست (شکل ۲).

نتیجه

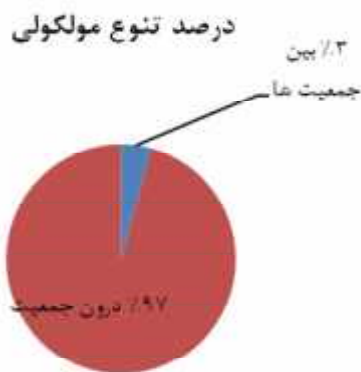
با وجود اهمیت ماهی سیم، متأسفانه این گونه فاقد جایگاه ژنی اختصاصی می‌باشد، هفت جایگاه ژنی مورد استفاده در این بررسی با وجود غیراختصاصی بودن همگی دارای چندشکلی بودند. تعداد کل ال در سطح جایگاه در دامنه ۱۴-۷ به دست آمد. به طوری که جایگاه BL2-114 بالاترین و جایگاه MFW26 پایین‌ترین تعداد ال را نشان دادند. میزان ال مشاهده شده (Na)، ال مورد انتظار (Ne)، هتروزیگوسیتی مشاهده شده (H_0)، هتروزیگوسیتی مورد انتظار (He) و شاخص درون‌آمیزی در جدول ۲ نشان داده شده است. مقادیر متوسط هتروزیگوسیتی مشاهده شده (H_0) و هتروزیگوسیتی مورد انتظار (He) به ترتیب ۰/۱۶۱۵ و ۰/۸۲ به دست آمد (جدول ۲). همچنین بین مناطق

جدول ۲: آماره‌های مربوط به تنوع ژنتیکی جایگاه‌های ژنی مورد استفاده در مناطق مورد بررسی

مناطق	M4	IC654	Rser10	MFW26	MFW7	BL1-153	BL2-114	جایگاه
منطقه								
Na	۹	۹	۱۳	۷	۱۰	۱۳	۱۴	Na
Ne	۶/۱۵۴	۵/۴۷۹	۱۰/۱۲۷	۵/۰۶۳	۷/۰۸۰	۹/۶۳۹	۱۰/۶۶۷	Ne
H_0	۰/۶۵	۰/۵۵	۰/۸۵	۰/۶۰	۰/۹۰	۰/۸۵	۰/۸۵	H_0 بندرانزلی
H_e	۰/۸۳۸	۰/۸۱۸	۰/۹۰۱	۰/۸۰۳	۰/۸۵۹	۰/۸۹۶	۰/۹۰۶	H_e
pHw	***	***	Ns	***	***	Ns	Ns	pHw
Na	۹	۸	۱۳	۷	۸	۱۳	۱۲	Na
Ne	۶/۶۶۷	۴/۶۷۸	۸/۳۳۳	۴/۵۲۰	۵/۶۷۴	۱۰/۱۲۷	۹/۴۱۲	Ne
H_0	۰/۷۵	۰/۷۰	۰/۶۵	۰/۳۰	۰/۵۵	۱/۰۰	۰/۷۰	H_0 چمخاله
He	۰/۸۵۰	۰/۷۸۶	۰/۸۸۰	۰/۷۰۹	۰/۸۲۴	۰/۹۰۱	۰/۸۹۴	He
pHw	ns	Ns	***	**	Ns	Ns	Ns	pHw

Na: تعداد ال مشاهده شده، Ne: تعداد ال مؤثر، H_0 : هتروزیگوسیتی مشاهده شده، H_e : هتروزیگوسیتی مورد انتظار، pHw: تست تعادل هاردی-واینبرگ (ns: عدم معنی‌داری، $p < 0.01$ ، $**$ ، $***$ $p < 0.001$)



شکل ۱: چگونگی توزیع تنوع ژنتیکی به دست آمده براساس معیار F_{st} جدول ۳: میزان F_{st} (ضریب تمایز)، F_{is} (ضریب درون آمیزی)، Nm (جریان ژنی) در جایگاه‌های ژنی مورد مطالعه

شاخص	جایگاه							
	M4	Ic654	Rser10	MFW26	MFW7	BI1-153	BI2-114	
F_{st}	۰/۰۳۹	۰/۰۱۶	۰/۰۱۵	۰/۰۰۷	۰/۰۳۸	۰/۰۱۵	۰/۰۱۶	
F_{is}	۰/۱۷۰	۰/۲۲۱	۰/۱۵۸	۰/۴۳۱	۰/۱۳۸	- ۰/۱۲۹	۰/۱۳۹	
Nm	۱۵/۵۰۹	۰/۲۲۱	۰/۱۵۸	۰/۴۳۱	۰/۱۳۸	۱۵/۹۷۸	۱۵/۳۱۹	

جدول ۴: آنالیز واریانس مولکولی (AMOVA) در R_{st}

Prob	Value	Stat	%	Est.Var.	MS	SS	Df	
			۲درصد	۱/۳۸۵	۱۰۵/۱۵۰	۱۰۵/۱۵۰	۱	بین جمعیت‌ها
			۰درصد	۰/۰۰۰	۴۹/۷۳۳	۱۸۸۹/۸۵۰	۳۸	بین افراد
۰/۰۶	۰/۰۲۵	R_{st}	۹۸درصد	۵۷/۸۵۰	۵۷/۸۵۰	۲۳۱۴/۰۰۰	۴۰	درون افراد

df (درجه آزادی)، SS (مجموع مربعات)، Ms (انحراف میانگین مربع)، Prob (معنی دار بودن انحراف بعد از ۹۹۹ جایگزینی تصادفی)

کشف گردیده و در بررسی‌های ژنتیکی و بوم‌شناسی حائز اهمیت می‌باشد (Dunhaum و همکاران، ۲۰۰۴). قبلاً نیز بررسی‌های ژنتیکی روی ماهی سیم (*Abramis brama*) انجام شده است (Wolter و همکاران، ۲۰۰۳؛ Fuchus و همکاران، ۱۹۹۸).

براساس نتایج، میانگین تعداد الل‌های مشاهده شده از مناطق مورد مطالعه ۱۰/۵ به دست آمد. تعداد الل مؤثر در همه جایگاه‌ها کمتر از الل واقعی می‌باشد از آنجا که شیلات ایران هر ساله ۱۵ میلیون بچه‌ماهی سیم را به خزر رهاسازی می‌کند، می‌توان آن را به محدود بودن تعداد مولدین مؤثر (N_e) در کارگاه‌های تکثیر مصنوعی و امکان از دست رفتن الل‌ها در طی زمان نسبت داد، هم‌چنان که حذف اللی در گونه قزل‌آلای قهوه‌ای نیز مشاهده گردید (Was و همکاران، ۲۰۰۲؛ Elegren و همکاران، ۱۹۹۲). هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار نیز بین جمعیت‌ها قابل قیاس می‌باشد. در مقدار هتروزیگوسیتی جمعیت‌های ماهی سیم نیز کاهش مشاهده شد

براساس معیار فاصله ژنتیکی Nei مقدار فاصله ژنتیکی ۰/۳۱۶ و شباهت ژنتیکی ۰/۶۸۴ به دست آمد. دندروگرام UPGMA به دست آمده براساس فاصله ژنتیکی نیز جدایی را بین جمعیت‌های دو منطقه مورد بررسی نشان نداده است.

بحث

امروزه تنوع ژنتیکی به‌عنوان یکی از شاخص‌های مهم وضعیت اکولوژیک اکوسیستم‌های آبی است که به‌عنوان ابزار منحصر به فرد و توانمندی برای ارزیابی و مدیریت جوامع زیستی مطرح است (Avisé، ۲۰۰۰). آگاهی از وجود تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های یک گونه از دیدگاه آبی‌پروری و انتخاب مولدین شایسته جهت تکثیر در کارگاه‌ها و هم‌چنین بهره‌برداری از ذخایر طبیعی و حمایت از سیاست‌های دولتی برای حفاظت از گونه‌های در معرض خطر انقراض حائز اهمیت می‌باشد. نشانگرهای ریزماهواره که جهت مطالعه ساختار ژنتیکی جمعیت‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد، در ژنوم بسیاری از ماهی‌ها

حفظ تنوع ژنتیکی آن در مناطق مورد بررسی لازم و ضروری به نظر می‌رسد. بنابراین مدیریت تنوع ژنتیکی مراکز تکثیر باید طوری باشد که موجب افزایش موفقیت ماهیان رهاسازی شده در زیست بوم‌های طبیعی شود.

تشکر و قدردانی

از دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان جهت تامین تجهیزات و امکانات آزمایشگاهی و دکتر علی شعبانی و دکتر حامد کلنگی جهت تامین مالی و از همکاری خانم محبوبه کریمی‌نسب در آزمایشگاه و خانم فاطمه حسین‌نیا جهت جمع‌آوری نمونه‌ها تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

- حسینی، س.ا. و سیرنگ، ه.، ۱۳۶۹. ماهی سیم. انتشارات مرکز تحقیقات شیلات گیلان، بندرانزلی. ۱۲۲ صفحه.
- خارا، ح.؛ کیوان، ا.؛ پورکازمی، م.؛ وثوقی، غ.م.؛ رضوانی، س.؛ نظامی، ش.ع.؛ قاسمی، ا.؛ حسن‌زاده، م.؛ احمدنژاد، م. و قناعت‌پرست، ا.، ۱۳۸۷. تنوع ژنتیکی ماهی سیم (*Abramis brama orientalis*, berg 1905) در تالاب انزلی، سواحل جنوب (ایران) و جنوب غربی دریای خزر (جمهوری آذربایجان). مجله زیست‌شناسی ایران. جلد ۴، صفحات ۳۳ تا ۴۸.
- کیوان‌شکوه، س. و قاسمی، ا.، ۱۳۸۹. بررسی مقایسه‌ای ساختار ژنتیکی ماهی سیم دریای خزر (*Abramis brama orientalis*) با استفاده از نشانگرهای ریزماهوره. ژنتیک نوین. دوره ۵، شماره ۱، صفحات ۴۷ تا ۵۲.
- Allendorf, F.; Ryman, N. and Utter, F., 1987. Genetics and fishery management. University of Washington. Wasngington. 127 p.
- Askari, G.H.; Shabani, A. and Kolangi, H., 2013. Application of molecular markers in fisheries and aquaculture. Scientific Journal of Animal Science. Vol. 2, No. 4, pp: 82-88.
- Avise, J.C., 2000. Phylogeography the history and formation of species. Harward University Press, Cambridge. 281 p.
- Balloux, F. and Moulin, N., 2002. The estimate of population diffrention with microsatellite markers. Molecular Ecology. Vol. 11, pp: 155-165.
- Bassam, B.J.; Caetano-Anolles, G. and Gresshoff, G.M., 1991. Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide gels. Annu. Rev. Biochem. Vol. 84, pp: 680-683.
- Bartfai, R.; Egedi, S.; Yue, G.H.; Kovacs, B.; Urbanyi, B.; Tamas, G.; Horvath, L. and Orban, L., 2003. Genetic analysis of two common carp brood stocks by RAPD and microsatellite markers. Aquaculture. Vol. 219, pp: 157-167.
- Beacham, T.D.; Mcintosh, M. and MacConnachie, C., 2004. Population structure of lake-type and river-type sockeye salmon in Transboundary Rivers of northern British Columbia. Journal of Fish Biology. Vol. 65, pp: 389-402.

که با نتایج تحقیقات قبلی از این حیث مطابقت دارد (کیوان شکوه و همکاران، ۱۳۸۹).

فاکتور F_{st} که توصیف‌کننده تمایز جمعیت در سطوح مختلف ساختار ژنتیکی می‌باشد در نمونه‌های بررسی شده، مقدار ۰/۰۲۶ به دست آمد. اگر میزان F_{st} کم‌تر از ۰/۰۵ باشد، نشان‌دهنده وجود تمایز کم در بین جمعیت‌ها می‌باشد. بنابراین نمونه‌های بررسی شده، دارای دو جمعیت مجزا از هم نیستند. در بررسی کیوان شکوه و همکاران (۱۳۸۹) نیز در جمعیت‌های ایرانی مقدار F_{st} به‌طور معنی‌داری کم‌تر از صفر شد که تمایز کم بین جمعیت‌ها را نشان داد. از آن‌جاکه معیار R_{st} وابسته به جهش نمی‌باشد، داده‌های بیولوژیک مناسب‌تری را نسبت به معیار F_{st} فراهم می‌کند (Moulin و Balloux، ۲۰۰۲). طبق نتایج R_{st} ، ۹۸٪ تنوع مربوط به درون جمعیت‌ها و تنها ۲٪ مربوط به بین جمعیت‌هاست. کم بودن تنوع بین جمعیتی و معیار F_{st} ، نشانه جریان ژنی بالا در بین جمعیت‌هاست (Pinera و همکاران، ۲۰۰۷). این جریان ژنی بالا با توجه به فاصله مناطق مذکور و مهاجرت بین مناطق قابل توجیه می‌باشد. از طرفی مقدار عددی Nm ، ۱۵/۵۰ می‌باشد که در تحقیق کیوان شکوه و همکاران (۱۳۸۹) این مقدار بین جمعیت‌های ایرانی ۱۶/۳۰ به دست آمد. هرگاه $Nm > 1$ باشد، جریان ژنی عامل اصلی در تمایز ژنتیکی بوده و هر گاه $Nm < 1$ باشد، رانش ژنی عامل اصلی تمایز ژنتیکی می‌باشد (Li و همکاران، ۲۰۰۷). از این‌رو نتایج حاکی از سطح بالای جریان ژنی بین دو منطقه و تعلق آن‌ها به یک جمعیت واحد می‌باشد. فاصله ژنتیکی میان جمعیت‌ها نیز ۰/۳۱۶ بود که دلیل دیگری بر عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین جمعیت‌های مذکور می‌باشد که با نتایج به دست آمده از تحقیق قبلی از این حیث مطابقت دارد (کیوان‌شکوه و همکاران، ۱۳۸۹). علاوه بر این مقادیر F_{is} به‌طور معنی‌داری ($p < ۰/۰۵$) در جمعیت‌های مذکور بالاتر از صفر بود که حاکی از آمیزش غیرتصادفی میان افراد جمعیت می‌باشد. در بررسی تعادل هاردی-واینبرگ، هر دو منطقه در بیش‌تر جایگاه‌ها انحراف از تعادل را نشان دادند ($P < ۰/۰۵$) (۸ مورد از ۱۴ تست مورد بررسی). با توجه به این‌که تعادل هاردی-واینبرگ براساس جفت‌گیری تصادفی در یک جمعیت است، بنابراین انتظار انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ در جمعیت‌های وحشی وجود دارد (Dixon و همکاران، ۲۰۰۸).

براساس آنالیزهای موجود به نظر می‌رسد، گونه *Abramis brama orientalis* دارای تنوع ژنتیکی مطلوبی در مناطق مورد بررسی نمی‌باشد و از آن‌جا که ماهی سیم را می‌توان جزء ماهیان مهاجر به حساب آورد، کاهش تنوع ژنتیکی بین دو منطقه را می‌توان به جریان ژنی بالای بین ماهیان دو منطقه نسبت داد. با توجه به اهمیت اقتصادی این گونه در دریای خزر،



28. Sambrook, J.; Fritsch, E.F. and Maniatis, T., 1989. Electrophoresis of RNA through gels containing formaldehyde: Molecular Cloning, 2nd edn. Cold Spring Harbor, NY: CSH Laboratory Press. pp: 743-745.
29. Was, A. and Wenne, R., 2002. Genetic differentiation in hatchery and wild sea trout (*Salmo trutta*) in the SouthernBaltic at microsatellite loci. Aquaculture. Vol. 204, pp: 493-506.
30. Wolter, C.; Kirschbaum, F. and Ludwig, A., 2003. Sub-population Structure of Common Fish Species in the Elbe River estimated from DNA analysis. J. Appl. Ichthyol. Blakwell verlage, Berlin. Vol. 19, pp: 278-283.
31. Wright, S., 1978. Evolution and the genetics of populations variability within and among natural populations. University of Chicago Press. 2nd Ed., University of Chicago Press, Chicago. 402 P.
32. Yeh, F.C.; Yang, R.C. and Boyle, T., 1999. POPGENE version 1.3.1. Microsoft Windowbases Freeware for population Genetic Analysis. Available: www.uallberta.ca/fyeh/. University of Alberta and the Centre for International Forestry Research. 374 P.
33. Yue, G.H.; Li, Y.; Lim, L.C. and Orban, L., 2004. Monitoring the genetic diversity of three Asian arowana (*Scleropages formosus*) captive stocks using AFLP and mictosatellite. Aquaculture. Vol. 237, pp: 89-102.
11. 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.
12. Beaumont, A.R. and Hoare, K., 2003. Biotechnology and Genetics in Fisheries and Aquaculture. University of Wales, Bangor, UK. Published by Blackwell Science Ltd, 158 P.
13. Dewoody, J.A. and Avise, J.C., 2000. Microsatellite variation in marine, freshwater and anadromous fishes compared with other animals. Fish biology. Vol. 56, pp: 461-473.
14. Dixon, T.J.; Coman, G.J.; Arnold, S.J.; Sellars, M.J.; Lyons, R.E.; Dierens, D.; Preston, N.P. and Li, Y., 2008. Shifts in genetic diversity during domestication of Black Tiger shrimp, *Penaeus monodon*, monitored using two multiplexed microsatellite systems. J. Aquaculture. Vol. 283, pp: 1-6.
15. Dunham, R.A., 2004. Aquaculture and fisheries biotechnology genetic approaches, CABI Pub, Wallingford, Oxfordshire, UK; Cambridge, MA, USA. 349 P.
16. Ellegren, H., 1992. Polymerase Chain Reaction (PCR) analysis of microsatellites - a new approach to studies of genetic-relationships in birds. Auk. Vol. 109, pp: 886-895.
17. Felsenstein, J., 1985. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. Evolution. Vol. 39, pp: 783-791.
18. 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. Vol. 47, pp: 103-126.
19. Fuchs, H.; Gross, R.; Stein, H. and Rottmann, O., 1998. Application of molecular genetic markers for the differentiation of bream (*Abramis brama L.*) populations from the rivers main and Danube. Journal of Ichthyology. Vol. 14, No. 1-2, pp: 49-55.
20. Hassanien, H.A.; Elnady, M.; Obeida, A. and Itriby, H., 2004. Genetic diversity of Nile tilapia populations elevated by randomly amplified polymorphic DNA (RAPD). Aquaculture Research. Vol. 35, pp: 587-593.
21. Kiabi, B.H.; Abdoli, A. and Naderi, M., 1999. Status of the fish fauna in the south Caspian Basin of Iran. Zoology in the Middle East. Vol. 18, pp: 57-65.
22. Lucentini, L.; Palomba, A.; Lancioni, H.; Gliarelli, L.; Natali, M. and Panara, F., 2006. Microsatellite polymorphism in Italian populations of northern pike (*Esox lucius L.*). Fisheries Research. Vol. 80, pp: 251-262.
23. Nei, M., 1972. Genetic distance between populations. American Naturalist. Vol. 106, pp: 283-292.
24. Neigel, J.E., 1997. A comparison of alternative strategies for estimating gene flow from genetic markers. Annual Review of Ecology and Systematics. Vol. 28, pp: 105-128.
25. Park, L.K. and Moran, P., 1995. Developments in molecular genetic techniques in fisheries. Molecular Genetics in Fisheries. London. 296 P.
26. 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. Vol. 151, pp: 2153-2158.
27. Rezvani Gilkolaei, K.; Salari Aliabadi, M.A.; Zolgharnain, H. and Nabavi, S.M.B., 2009. Population genetic structure of Cobia, *Rachycentron canadum* revealed by microsatellite markers. Iranian journal of Fisheriescience. Vol. 3, pp: 61-69.

