

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: 49175-487
- **علی شعبانی**: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، صندوق پستی: 49175-487
- **حدیثه کشیری**: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، صندوق پستی: 49175-487

تاریخ دریافت: تیر 1395 تاریخ پذیرش: مهر 1395

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 کمیشان بوده که جهت انجام کار از تعداد 90 ماهی نمونه‌برداری 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 (MFW16، MFW7، MFW17، MFW2 و MFW20) استفاده شد که تمامی آن‌ها چندشکلی نشان دادند. تعداد آلل‌ها، هتروزیگوسیتی مورد انتظار و مشاهده شده به ترتیب در محدوده 7-17، 0/14-0/78 و 0/0-76/90 به دست آمد. متوسط F_{st} به عنوان شاخصی از تمایز ژنتیکی، 0/05 به دست آمد. در بررسی تعادل هاردی و اینبرگ از 15 آزمون مورد بررسی 14 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

(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 به‌منظور 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، 2007) 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 به‌کارگیری 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

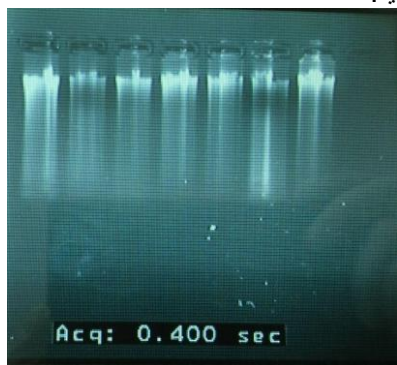
کپورماهیان یکی از خانواده‌های مهم ماهیان استخوانی محسوب می‌گردند که دارای ارزش اقتصادی بالایی بوده و با داشتن بیش از ۲۰۰۰ گونه در چهار قاره جهان پراکنش یافته‌اند (Kirpicknikov، 1972). ماهی کپور معمولی با نام علمی *Cyprinus carpio* یکی از گونه‌های مهم این خانواده و بومی آسیای مرکزی می‌باشد که طی قرون متمادی در نواحی مختلف جهان گسترش پیدا کرده است (Kohlmann و همکاران، 2003). این گونه به‌صورت بومی و طبیعی در سواحل دریای خزر، خلیج گرگان، تالاب کمیشان، 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 گرفته‌است به‌نحوی که جزو گونه‌های نیازمند حفاظت در منطقه به‌شمار می‌رود (عبدلی و نادری،





شکل 1: 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 20- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. به‌منظور بررسی کمیت و کیفیت DNA استخراج شده به‌ترتیب از روش اسپکتوفوتومتری و الکتروفورز افقی با ژل آگارز 1% استفاده گردید.



شکل 2: تصویر ژل آگارز یک درصد جهت ارزیابی کیفیت DNA با استفاده از الکتروفورز افقی

آنالیز مولکولی: واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز با پنج جفت نشانگر ریزماهوره طراحی شده برای ماهی کپور (Mfw 20، Mfw 17، Mfw 16، Mfw 7، Mfw 2 و Crooijmans) و همکاران، (1997) انجام و واکنش PCR توسط دستگاه ترموسایکلر ساخت شرکت (BIO-RAD) انجام شد. ویژگی‌های مربوط به جایگاه‌های مورد استفاده در جدول 1 آورده شده است. واکنش‌های زنجیره‌ای 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 12/5 میکرولیتر انجام گردید. در نهایت محصولات PCR روی ژل اکریل آمید 8% (غیریونیزه) جداسازی شدند. سپس ژل‌های به‌دست آمده از الکتروفورز عمودی به‌روش نیترات نقره رنگ‌آمیزی 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 6.5 محاسبه گردید.

جدول 1: ویژگی جایگاه‌های ریزماهوره‌ای مورد استفاده برای ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

جایگاه ژنی	اندازه آلل	توالی	دمای اتصال (سانتی‌گراد)
------------	------------	-------	-------------------------

اهمیت حیاتی بوده و به‌عنوان نخستین پیش‌نیاز جهت حفظ سازگاری جمعیت‌ها در شرایط محیطی متغیر محسوب می‌گردد (Diz, 2009). در این خصوص، کمیت و کیفیت تنوع ژنتیکی اثرات مستقیمی بر روی پایداری جمعیت‌های طبیعی دارد و چنین تأثیراتی بر جمعیت‌های کوچک ماهیان و همچنین جمعیت‌هایی که بنا به دلایل مختلف در معرض کاهش قرار دارند بسیار تشدید می‌گردد (Frankham و همکاران، 2008).

امروزه کاهش ذخایر آبزیان در بسیاری از نقاط دنیا توجه بسیاری از محققین را به اعمال روش‌های دقیق مولکولی جهت مدیریت ذخایر جلب نموده است (Lin و همکاران، 2002). در ابتدا ارزیابی ساختار ذخایر، تشخیص گونه‌ها و بررسی جمعیت‌ها با استفاده از صفات مورفومتریک و مریستیک صورت می‌پذیرفت، اما امروزه روش‌های دقیق‌تری همچون استفاده از نشانگرهای مولکولی مانند ریزماهوره‌ها و نظایر آن جهت بررسی ساختار ژنتیکی ذخایر توسعه یافته است. نشانگرهای ریزماهوره به‌دلایل مختلف همچون فراوانی و گستردگی بالا در ژنوم، همباز بودن، پلی‌مورفیسم بالا و سهولت استفاده دارای کاربرد گسترده‌تری نسبت به سایر نشانگرها می‌باشند (Chistiakov و همکاران، 2006). Bartfai و همکاران (2003) نیز ریزماهوره‌ها 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 همچنین بازسازی ذخایر آن از طریق تکثیر مصنوعی، آگاهی از وضعیت ساختار ژنتیکی این گونه ارزشمند بسیار ضروری به‌نظر می‌رسد. لذا هدف از این تحقیق ارزیابی تنوع ژنتیکی ماهی کپور معمولی در رودخانه قره‌سو، خلیج گرگان و تالاب گمیشان که از مناطق مهم پرکنش این ماهی محسوب می‌گردند، می‌باشد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری: در خرداد ماه سال 1394 تعداد 90 قطعه ماهی کپور وحشی از تالاب گمیشان، خلیج گرگان و رودخانه قره‌سو واقع در استان گلستان به‌صورت تصادفی صید گردید. حدود 1 گرم از باله دمی 30 ماهی از هر منطقه جداسازی و تا شروع استخراج DNA در تیوب‌های حاوی الکل اتیلیک 96% 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 4- درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند.

64	F: CACACCGGGCTACTGCAGAG R: GTGCAGTGCAGGCAGTTTGC	208-300	MFW2
62	F: TACTTTGCTCAGGACGGATGC R: ATCACCTGCACATGGCCACTC	170-272	MFW7
57	F: GTCCATTGTGTCAAGATAGAG R: TCTTCATTTCAGGCTGCAAAG	127-206	MFW16
57	F: TCAACTACAGAGAAATTTTCATC R: GAAATGGTACATGACCTCAAG	203-315	MFW 17
60	F: CAGTGAGACGATTACCTTGG R: GTGAGCAGCCCACATTGAAC	207-305	MFW 20



شکل 3: تصویر ثبت شده توسط دستگاه ژل داگ از باندهای تشکیل شده محصول PCR نشانگرهای مورد استفاده، بر روی ژل اکریل‌آمد 8%

نتایج

در مجموع 5 جایگاه ژنی در این تحقیق استفاده گردید که همگی تولید باندهای پلی‌مورف نمودند. امکان از دست دادن آلل‌های بزرگ و همچنین خطای دسته‌بندی در هیچ‌یک از جایگاه‌های مورد استفاده مشاهده نشد. با این وجود، امکان وجود آلل‌های نول در جایگاه‌های mfw2، mfw17 و mfw20 تایید گردید. تعداد آلل‌های مربوط به تمامی جایگاه‌های مورد بررسی در جدول 2 نشان داده شده است. متوسط تعداد آلل‌ها در نمونه‌های متعلق به تالاب گمیشان، خلیج گرگان و رودخانه قرم‌سو به ترتیب 12، 11/8 و 12/4 به دست آمد. همچنین کمترین و بیشترین میزان آلل‌ها به ترتیب در جایگاه mfw17 (7 آلل) و mfw7

تجزیه و تحلیل آماری: جهت تعیین پارامترهای مربوط به

تنوع ژنتیکی درون و بین جمعیتی شامل تعداد آللی و تعداد آلل‌های موثر، هتروزیگوسیتی مورد انتظار و مشاهده شده، تمایز ژنتیکی، جریان ژنی، ماتریس شباهت و فاصله ژنتیکی و هم‌چنین بررسی انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ، از نرم‌افزار Gene Alex 6.5 استفاده شد (Peakall و Smouse، 2006). از نرم‌افزار FSTAT 2.9.3 (Goudet، 2001) جهت بررسی علت انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ، شاخص FIS به‌عنوان ضریب درون آمیزی (کاهش یا افزایش هتروزیگوسیتی) و سطح معنی‌داری آن استفاده شد. از نرم‌افزار PopGene 1.31 (Yeh و همکاران، 1999) نیز جهت تعیین شباهت و فاصله ژنتیکی و هم‌چنین ترسیم دندروگرام UPGMA بر اساس مقادیر فاصله ژنتیکی استفاده گردید. به‌منظور تنظیم سطح معنی‌داری تست‌های تکرار شونده از ضریب تصحیح بونفرونی استفاده شد (Rice، 1989). هم‌چنین امکان وجود آلل‌های نول، از دست دادن آلل‌های بزرگ و خطای دسته‌بندی با استفاده از نرم‌افزار Microchecker 2.2.1 (Oosterhout و همکاران، 2004) بررسی شد.

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

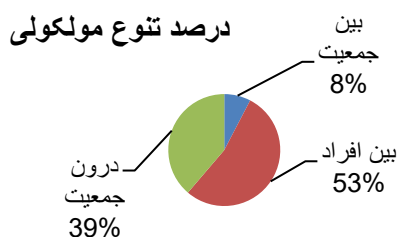
منطقه	جایگاه	Mfw2	Mfw7	Mfw16	Mfw20	Mfw17
خلیج گرگان	Na	9	15	12	12	7
	Ne	4/54	8/38	7/72	7/76	6/03
	Ho	0/36	0/43	0/64	0/39	0/25
	He	0/78	0/88	0/87	0/87	0/83
	pHw	***	***	ns	***	***
	FIS	0/54	0/51	0/26	0/55	0/70
قرم‌سو	Na	13	12	13	10	14
	Ne	5/39	7/92	10/05	5/72	9/92
	Ho	0/18	0/50	0/57	0/32	0/14
	He	0/81	0/87	0/90	0/82	0/90
	pHw	***	***	**	***	***
	FIS	0/78	0/43	0/36	0/61	0/84
گمیشان	Na	8	17	14	12	13
	Ne	4/24	7/88	9/92	7/19	7/92
	Ho	0/14	0/39	0/78	0/25	0/18
	He	0/76	0/87	0/90	0/86	0/87
	pHw	***	*	***	***	***
	FIS	0/81	0/55	0/13	0/71	0/80

Na: تعداد آلل‌های واقعی، Ne: تعداد آلل‌های موثر، Ho: هتروزیگوسیتی مشاهده شده، He: هتروزیگوسیتی مورد انتظار، pHw: تست احتمال تعادل هاردی-واینبرگ پس از ضریب تصحیح بونفرونی (ns: عدم معنی‌داری، * p<0/05، ** p<0/01، *** p<0/001) FIS: ضریب درون آمیزی.

mfw2 و بالاترین آن در جایگاه mfw16 قرار داشت. میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Ho) در محدوده 0/14-0/78

(15 آلل) مشاهده شد. آلل‌های موثر نیز در محدوده 4/24 - 10/05 به دست آمد که در این میان، پایین‌ترین میزان در جایگاه





شکل 4: توزیع تنوع ژنتیکی تحت معیار Fst

بحث

تنوع ژنتیکی به عنوان پایه‌ای برای توانایی تکامل جمعیت‌ها قلمداد گشته به نحوی 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 به نظر می‌رسد (Wang و همکاران، 2011). پیراسنجه‌های مرتبط با تنوع ژنتیکی همچون غنای آلی و هتروزیگوسیتی از نظر روبه‌رو شدن جمعیت‌ها با تغییرات شرایط محیطی بسیار مهم بوده (Frankham، 2008) و بر ویژگی‌های مهمی همچون توانایی رقابت، بقا و اندازه بدن تأثیرگذار می‌باشد (Jensen و Hakansson، 2005). در بررسی حاضر، هتروزیگوسیتی مشاهده شده در محدوده 0/14-0/78 به دست آمد. در مطالعات پیشین صورت گرفته، هتروزیگوسیتی مشاهده شده در محدوده 0/25-1 برای ماهی کپور در مناطق انزلی، گرگان‌رود، رامسر و سد ارس (امیرجنتی و همکاران، 1394)، 0/12-0/95 در مناطق غازیان، لاریج، چیکرود و گمیشان (لالویی و همکاران، 1391) و 1/00-0/9 در مناطق انزلی و قره سو (قلیچ‌پور و همکاران، 1389) گزارش گردید. به هر حال، در مطالعات تنوع ژنتیکی به‌ویژه در مورد گونه‌هایی که تحت برنامه‌های بازسازی ذخایر از طریق تکثیر مصنوعی می‌باشند، هتروزیگوسیتی به‌تنهایی نمی‌تواند شاخص چندان مناسبی برای نمایان ساختن وضعیت ژنتیکی باشد. در این راستا، ارزیابی تنوع آلی به عنوان شاخص کارآمدی در مطالعات تنوع ژنتیکی مطرح می‌باشد به نحوی 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، 2009). در واقع، ارزیابی غنای آلی نسبت به هتروزیگوسیتی از اهمیت بالاتری در بررسی‌های تنوع ژنتیکی برخوردار بوده و هتروزیگوسیتی بیش‌تر مبتنی بر تغییرات تصادفی در فراوانی ژن‌ها می‌باشد (Diz و همکاران، 2009). در بررسی حاضر، تعداد آلل‌ها در محدوده 7-17 (میانگین: 12/06) به دست آمد که کمی پایین‌تر از میزان متوسط گزارش شده (Na: 15) توسط قلیچ‌پور و همکاران (1389) برای گونه مشابه در مناطق قره سو انزلی می‌باشد. این در حالی است که امیرجنتی و همکاران (1394) و لالویی و همکاران (1391) میانگین آلی برای ماهی کپور معمولی در سواحل جنوبی دریای خزر را به ترتیب 7/7 و 7/08 گزارش نمودند. در این خصوص، تفاوت مشاهده شده از نظر تنوع آلی در مطالعات مختلف می‌تواند مرتبط با مکان و نحوه نمونه‌برداری و همچنین تفاوت در جایگاه‌های مورد استفاده باشد. به هر حال با توجه به تنوع آلی به دست

(میانگین: 0/37) به دست آمد (جدول 2). متوسط هتروزیگوسیتی مورد انتظار (He) نیز 0/85 بود که پایین‌ترین میزان آن (0/76) در جایگاه mfw2 و بالاترین مقدار (0/86) در جایگاه mfw16 و mfw17 مشاهده شد (جدول 2). همچنین از نظر تعداد آلل‌ها و میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار، بین نمونه‌های مناطق مورد بررسی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P > 0/05$).

نتایج مربوط به بررسی تعادل هاردی واینبرگ در جدول 2 آورده شده است. بر این اساس، پس از اعمال ضریب تصحیح بونفرونی، از 15 تست انجام شده (5 جایگاه ژنی \times 3 منطقه) تنها 1 مورد (جایگاه MFW16 در منطقه خلیج گرگان) در تعادل HW قرار داشتند و بقیه نمونه‌ها انحراف معنی‌داری از تعادل نشان دادند. همچنین شاخص درون آمیزی (Fis)، در محدوده 0/13 (جایگاه mfw16) تا 0/84 (جایگاه mfw17) به دست آمد (میانگین: 0/57). میزان Fst بر اساس فراوانی آلی به عنوان شاخصی از تمایز ژنتیکی و میزان Nm به عنوان شاخص جریان ژنی به ترتیب در دامنه 0/050-0/058 (میانگین 0/054) و 4/4-77/05 (میانگین: 4/37) قرار داشت (جدول 3). در بررسی جریان ژنی بین مناطق مورد بررسی، پایین‌ترین و بالاترین جریان به ترتیب بین نمونه‌های قره سو با خلیج گرگان (4/05) و قره سو با گمیشان (4/77) مشاهده شد (جدول 3). هر چند 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 0/05 به دست آمد (جدول 3). در ارزیابی فاصله و شباهت ژنتیکی بین نمونه‌های مورد بررسی نیز، مقادیر فاصله و شباهت ژنتیکی به ترتیب در محدوده 1/28-1/003 و 0/37-0/28 قرار داشت (جدول 4).

جدول 3: جریان ژنی (Nm) و تمایز ژنتیکی بین نمونه‌های مناطق مورد بررسی مناطق نمونه‌برداری قره سو گمیشان خلیج گرگان

مناطق نمونه‌برداری	قره سو	گمیشان	خلیج گرگان
قره سو	0/000	0/050	0/058
گمیشان	4/77	0/000	0/055
خلیج گرگان	4/05	4/30	0/000

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

جدول 4: فاصله و شباهت ژنتیکی بین نمونه‌های مناطق مورد بررسی مناطق نمونه‌برداری قره سو گمیشان خلیج گرگان

مناطق نمونه‌برداری	قره سو	گمیشان	خلیج گرگان
قره سو	0/000	0/37	0/28
گمیشان	1/003	0/000	0/34
خلیج گرگان	1/28	1/08	0/000

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

نتایج حاصل از آنالیز واریانس مولکولی نیز بیانگر تنوع ژنتیکی بالا در درون گروه‌ها (91%) و تنوع پایین بین آن‌ها می‌باشد (شکل 3). همچنین نتایج حاصل از دندروگرام UPGMA بر اساس مقادیر فاصله ژنتیکی نشان داد که احتمالاً هر سه گروه مورد بررسی متعلق به یک جمعیت می‌باشند.

منابع

1. امیرجنتی، ا.؛ نوروزی، م. و ناظمی، ع.، 1392. بررسی ساختار ژنتیک جمعیت ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در تالاب انزلی و مصب گرگانرود به روش مولکولی میکروستلایت. نشریه توسعه آبی پروری. سال 7، شماره 3، صفحات 1 تا 10.
2. عبدلی، ا. و نادری، م.، 1387. تنوع زیستی ماهیان حوضه جنوبی دریای خزر. انتشارات علمی اَبزبان، تهران. 142 صفحه.
3. قلیچ پور، م.؛ شعبانی، ع. و شعبان پور، ب.، 1389. مقایسه ساختار ژنتیکی دو جمعیت کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در مناطق قرمسو و انزلی با استفاده از 8 نشانگر ریزماهوره. تاکسونومی و بیوسیتماتیک. سال 2، شماره 4، صفحات 39 تا 48.
4. لالونی، ف.؛ رضوانی گیل کلانی، س.؛ فاطمی، س.م.ر. و نقوی، م.ج.، 1391. بررسی ژنتیک جمعیت ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) حوضه جنوبی دریای خزر با استفاده از mtDNA (PCR-RFLP). مجله علمی شیلات ایران. شماره 17، صفحات 89 تا 101.
5. 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.
6. 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.
7. 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.
8. Chistiakov, D.A.; Hellemans, B. and Volckaert, F.A. M., 2006. Microsatellites and their genomic distribution, evolution, function and applications: A review with special reference to fish genetics. *Aquaculture*. Vol. 255, pp: 1-29.
9. Crooijmans, R. P. M.; Bierbooms, V.; Komeh, J.; Vanderpoe, J.J. and Groenen, M., 1997. Microsatellite markers in Common Carp (*Cyprinus carpio*). *Animal Genetics*. Vol. 28, pp: 129-134.
10. 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: 461-473.
11. Diz, P. and Presa, P., 2009. The genetic diversity pattern of *Mytilus galloprovincialis* in Galician Rias (NW Iberian estuaries). *Aquaculture*. Vol. 287, pp: 278-285.
12. Frankham, R., 2008. Genetic adaptation to captivity in species conservation programs. *Molecular Ecology*. Vol. 17, pp: 325-333.
13. 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/softwares/fstat.html>.
14. Hakansson, J. and Jensen, P., 2005. Behavioural and morphological variation between captive populations of red jungle fowl possible implications for conservation. *Biological Conservation*. Vol. 122, pp: 431-439.
15. Kirpichnikov, V.S., 1972. Methods and effectiveness of Rop-sha carp breeding. *Communication breeding aims, original forms and cross system*. *Russian Journal of Genetics*. Vol. 8, No. 1, pp: 65-72.
16. Kohlmann, K.; Gross, R.; Murakaeva, A. and Kersten, P., 2003. Genetic variation and structure of common carp populations throughout the distribution range inferred from allozyme, microsatellite and mtDNA marker. *Aquatic Living Resources*. Vol. 16, pp: 421-431.
17. Lin, Y.S.; Poh, Y.P.; Lin, S.M. and Tzeng, C.S., 2002. Molecular techniques to identify freshwater eels. *Zoological Studies*. Vol. 41, No. 4, pp: 421-430.

آمده در تحقیق حاضر و مقایسه آن با میزان گزارش شده برای ماهیان آب شیرین (Na:7/5) (Avisé و Dewoody، 2000) می-توان بیان داشت که با وجود مسایلی همچون تکثیر مصنوعی و فشار بالای صید ماهی کپور، این گونه همچنان از تنوع آلی مطلوبی در مناطق مورد ارزیابی برخوردار می-باشد. با این وجود، با توجه به این که تکثیر مصنوعی به دلیل محدودیت های موجود در کارگاه های تکثیر همچون استفاده از تعداد محدودی مولد برای تولید لارو می-تواند در طولانی مدت منجر به کاهش تنوع ژنتیکی جمعیت های طبیعی گردد، ایجاد تدابیری جهت حفظ تنوع مشاهده شده ضروری به نظر می-رسد.

انحراف از تعادل هاردی-وینبرگ در جمعیت های طبیعی ماهیان زیاد دیده می-شود (Lucentini و همکاران، 2009). در تحقیق حاضر پس از اعمال ضریب تصحیح بونفرونو، 14 نمونه از 15 آزمون مورد بررسی (5 جایگاه \times 3 جمعیت) انحراف معنی-داری از تعادل نشان دادند. انحراف از تعادل هاردی-وینبرگ می-تواند ناشی از عوامل متعددی همچون اندازه کوچک نمونه، اشتباه در خواندن و تفسیر آلل ها و وجود آلل های نول (Borrell و همکاران، 2008)، مهاجرت، رانش ژنتیکی و بهگزینی (Bhassu و همکاران، 2004) باشد که دلایل ذکر شده می-تواند در این تحقیق نیز شامل شود. که در این راستا، در جایگاه های ژنی mfw2، 17 و mfw20 در هر سه منطقه و در جایگاه mfw7 در منطقه گمیشان کسری هتروزایگوسیتی بالایی مشاهده شد. نتایج حاصل از نرم افزار Microcheker (Oosterhout و همکاران، 2004) نیز حاکی از وجود آلل های نول در برخی جایگاه های مورد بررسی بوده که می-تواند به عنوان عاملی مهم در بروز کسری مشاهده شده مطرح باشد. جریان ژنی مشاهده شده (4/37) نیز می-تواند در انحراف از تعادل مشاهده شده در این بررسی دخیل باشد. در مطالعات قبلی صورت گرفته نیز انحراف از تعادل هاردی-وینبرگ در جمعیت های طبیعی ماهی کپور معمولی به عواملی همچون افزایش هتروزایگوسیتی و اختلاط جمعیت ها (قلیچ پور و همکاران، 1389) و تکثیر مصنوعی (لالونی و همکاران، 1391) عنوان شده است. به طور کلی نمی-توان به تنهایی با یک پارامتر انحراف از تعادل را توجیه نمود، بلکه مجموعه ای از عوامل ذکر شده که عمدتاً ناشی از تکثیر مصنوعی و برنامه های بازسازی ذخایر ماهی کپور می-باشند، می-تواند در انحراف از تعادل مشاهده شده در این تحقیق تاثیرگذار باشد. مقادیر F_{st} 0/05، 0/05-0/15 و 0/15-0/25 به ترتیب نشان دهنده سطح پایین، متوسط و بالای تمایز ژنتیکی می-باشد (Wright، 1978). در تحقیق حاضر متوسط شاخص F_{st} 0/05، به دست آمد. بالاترین و پایین ترین میزان تمایز ژنتیکی مشاهده شده به ترتیب بین نمونه های خلیج گرگان با قره سو و قره سو با گمیشان وجود داشت که با توجه به جریان ژنی به دست آمده بین مناطق مذکور، قابل توجیه می-باشد 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 گروه ها و تنوع پایین در میان آن ها بود. میزان شباهت ژنتیکی در تحقیق حاضر 0/72 به دست آمد که در محدوده گونه های همجنس (Thorpe، 1982) قرار دارد. دندروگرام ترسیم شده بر اساس فاصله ژنتیکی نیز حاکی از آن بود که احتمالاً هر 3 گروه مورد ارزیابی متعلق به یک جمعیت می-باشند.



23. **Rice, W.R., 1989.** Analysing tables of statistical tests. *Evolution*. Vol. 43, pp: 223-225.
24. **Thorpe, J.P., 1982.** The molecular clock hypothesis: biochemical evolution, genetic differentiation & systematic. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*. Vol. 13, pp: 139-168.
25. **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: 169-172.
26. **Wright, S., 1978.** *Evolution and the genetics of populations: Variability within and Among Natural Populations*. University of Chicago Press, Chicago.
27. **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.
18. **Lind, C.U.; Evans, B.S.; Knauer, J.; Taylor, J.J.U. and Jerry, D.R., 2009.** Decreased genetic diversity and a reduced effective population size in cultured silver-lipped pearl oysters. *Aquaculture*. Vol. 286, pp: 12-19.
19. **Lucentini, L.; Palomba, A.; Gigliarelli, L.; Sgaravizzi, G.; Lancioni, H.; Lanfaloni, L.; Natali, M. and Panara, F., 2009.** Temporal changes and effective population size of an Italian isolated and supportive-breeding managed northern pike (*Esox lucius*) population. *Fisheries Research*. Vol. 96, pp: 139-147.
20. **Machado-Schiaffino, G.; Depico, E. and Garciazquez, E., 2007.** Genetic variation losses in Atlantic salmon stocks created for supportivebreeding. *Aquaculture*. Vol. 264, pp: 59-65.
21. **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.
22. **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: 288-295.

