

بررسی تمایز و ساختار ژنتیکی ماهی سوف معمولی (*Sander lucioperca*) در دریاچه سد ارس و تالاب انزلی

چکیده

هدف این مطالعه بررسی تمایز و ساختار ژنتیکی جمعیت ماهی سوف معمولی (*Sander lucioperca*) در دو منطقه تالاب انزلی و دریاچه سد ارس بود. در کل ۶۰ نمونه ماهی سوف معمولی بالغ از این دو منطقه در تابستان ۹۱ جمع آوری شدند. از پنج جفت پرایمر میکروستلایت، بر روی DNA ژنومی ماهی سوف معمولی استفاده گردید که همگی پرایمرها چند شکل (پلی مورف) نشان دادند و از آن‌ها برای تعیین تمایز ژنتیکی استفاده شد. میانگین اللی (Na) در جایگاه‌ها ۵ (با دامنه ۴ تا ۷ ال) بود. هر دو منطقه نمونه‌برداری اللهای اختصاصی در تمامی جایگاه‌ها نشان دادند. میانگین هتروزیگوسیتی قابل انتظار و مشاهده شده به ترتیب ۰/۷۳۱ و ۰/۶۵۰ محاسبه شد. میانگین ضریب خویشاوندی در ۵ جایگاه میکروستلایت منفی بود. در بررسی تعادل هاردی وینبرگ (H-W) تمامی جایگاه‌ها به‌طور معنی‌داری خارج از تعادل هاردی-وینبرگ بودند ($P \leq 0/001$). میزان شاخص تمایز (Fst) و جریان ژنی (Nm) بر اساس فراوانی اللی به ترتیب ۰/۰۹۲ و ۲/۴ محاسبه شد. بر اساس آزمون AMOVA میزان Rst و Fst بین جمعیت‌های دو منطقه معنی‌دار بود ($P \leq 0/01$). میانگین ضریب خویشاوندی (Fis) در پنج جایگاه منفی بود. میزان فاصله ژنتیکی بین جمعیت‌ها ۰/۶۱۶ به دست آمد که نشان دهنده تمایز ژنتیکی بین جمعیت‌های مورد مطالعه است. این بررسی، وجود تنوع و تمایز ژنتیکی جمعیت‌های ماهی سوف معمولی در تالاب انزلی و دریاچه سد ارس را نشان داد.

واژگان کلیدی: تمایز ژنتیکی، میکروستلایت، ماهی سوف معمولی، *Sander lucioperca*.

فرشاد میرزا احمدی^۱

مهرنوش نوروزی^{۲*}

آمنه امیر جنتی^۳

محمد هادی سمیعی^۴

محمد بهروز^۵

۱، ۲، ۳، ۴، ۵. گروه شیلات و بیولوژی دریا، واحد تنکابن، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن، تنکابن، ایران

* نویسنده مسئول مکاتبات

Mnoroozi@toniau.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۰۳/۰۲

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۰۸/۱۵

کد مقاله: ۱۳۹۳۰۴۰۷۳

این مقاله برگرفته از پایان نامه کارشناسی ارشد است.

مقدمه

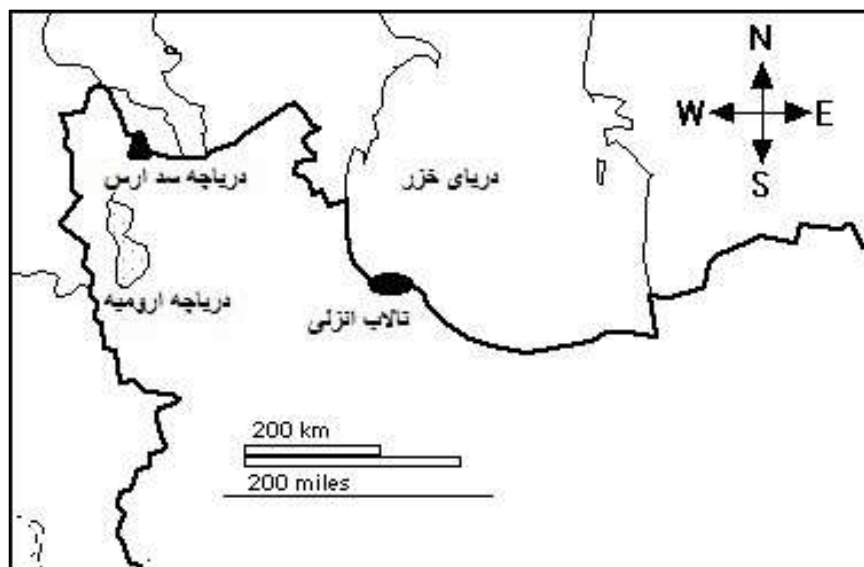
ماهی سوف معمولی *Sander lucioperca* از گونه‌های با ارزش ماهیان استخوانی محسوب می‌شود. زیستگاه آن آب‌های شیرین داخلی، نواحی مصبی و آب لب شور دریاها با شوری کمتر از ۱۲ قسمت در هزار می‌باشد. این ماهی از ماهی مروارید، شیشه ماهی، کلمه، سیم و کپورچه تغذیه می‌نماید. پراکنش این ماهی به صورت طبیعی در ایران مربوط به منطقه جنوبی دریای خزر می‌باشد. این گونه به دریاچه سد ارس منتقل گردیده است و هم اکنون در این منطقه تراکم زیادی از آن وجود دارد (عبدلی و نادری، ۱۳۸۷). ذخایر ماهی سوف معمولی پس از برداشت بسیار شدید و بی رویه در طی چند سال در دهه اول و دوم سده حاضر (شمسی) توسط لیانازوف‌ها و سپس شرکت مختلط ایران-شوروی کاملاً آسیب دید (رضوی صیاد، ۱۳۷۸) و دیگر به وضعیت عادی خود بازنگشت و میزان صید کنونی آن ناشی از رها کرد سالیانه چند میلیون عدد بچه ماهی توسط شیلات ایران به تالاب انزلی و دریاچه سد ارس می‌باشد. با وجود اینکه ماهی سوف در حال حاضر از لحاظ فراوانی پس از ماهی سیم



دومین گونه غالب ماهیان دریاچه سد ارس محسوب می شود (اکبرزاده و همکاران، ۱۳۸۸) اما برای احیای کامل ذخایر آن، نیازمند حفاظت و کنترل بهره برداری از آن می باشد. این ماهی در وضعیت کنونی نیازمند حفاظت است (عبدلی و نادری، ۱۳۸۷). در طول قرن گذشته پراکنش و فراوانی اندازه جمعیت بسیاری از گونه ها به شدت تحت تأثیر فعالیت های انسانی قرار داشته است. تکثیر مصنوعی و یا حمل انواع گونه ها به محل های دیگر ساختار جمعیت ها را تحت تأثیر قرار داده است و می تواند سبب یکسان سازی ژنتیکی شود، بنابراین شناخت جمعیت های بومی و ساختار ژنتیکی جمعیت هر گونه امری مهم و ضروری است (Zhao, et al., 2005). پیشرفت علم، استفاده از مارکرهای مولکولی که متاثر از فاکتورهای محیطی نمی باشد را جهت شناسایی ساختار ژنتیکی ذخایر، امکان پذیر کرده است. از جمله این مارکرها، میکروستالیت ها می باشند که قادرند سطوح بالایی از پلی مورفیسم (چندشکل) را نشان دهند (Zhao, et al., 2005; Chistiakov et al., 2005). طبیعت چند الی میکروستالیت ها، توارث هم بارز، پوشش ژنومی وسیع و فراوانی بالا موجب شده است که میکروستالیت ها کاربری موفقی در رشته های مختلف تحقیقی و عملی داشته باشد (Sekar et al., 2009). در سال های اخیر محققین مختلفی بر روی تفکیک جمعیت سوف معمولی با استفاده از نشانگرهای میکروستالیت در داخل (قریب خانی و همکاران، ۱۳۹۰) و خارج از ایران (Poulet et al., 2009; Khurshut and Kohlmann, 2009; Kohlmann and Kersten, 2008; Bjorklund et al., 2009; Wirth et al., 1999) مطالعه کرده اند. مطالعه حاضر با این فرض انجام پذیرفت که ماهی سوف معمولی دارای جمعیت های متفاوت در دریاچه سد ارس و تالاب انزلی می باشد و فراوانی ژنوتیپی و الی هر یک از جمعیت ها با یکدیگر متفاوت است. بنابراین نمونه برداری از این دو منطقه انجام شد تا وجود جمعیت های احتمالی و تمایز ژنتیکی بین آنها با استفاده از مارکرهای میکروستالیت شناسایی شود و ضرورت اعمال مدیریتی متفاوت، بر ذخایر این گونه در تالاب انزلی و دریاچه سد ارس بررسی گردد.

مواد و روش ها

نمونه گیری از ۶۰ نمونه ماهی بالغ از دو منطقه دریاچه سد ارس ($48^{\circ}27'N$, $40^{\circ}1'E$) و تالاب انزلی ($49^{\circ}27'N$, $37^{\circ}28'E$) از قسمت باله ای سینه ای صورت گرفت (شکل ۱). قسمت های جدا شده هر یک از نمونه ها جداگانه درون میکروتیوپ ۱/۵ میلی لیتری قرار گرفت و در الکل ۹۶ درصد ذخیره گردید. سپس جهت انجام آزمایشات ملکولی به آزمایشگاه تحقیقات ژنتیک انتقال یافت. برای نگهداری بهتر، نمونه ها تا شروع مرحله ای استخراج در فریزر $-80^{\circ}C$ درجه سانتی گراد قرار گرفت. استخراج DNA با استفاده از کیت (شرکت روچ آلمان، کد ۱۱۷۹۶۸۲۸۰۰۱) انجام گردید. به منظور بررسی کمیت و کیفیت DNA استخراج شده از روش های اسپکتروفتومتری و الکتروفورز ژل آگارز ۱ درصد استفاده شد.



شکل ۱: نمایی از مناطق نمونه برداری ماهی سوف معمولی (*Sander lucioperca*) تالاب انزلی و دریاچه سد ارس (۱۳۹۱).

برای بررسی تنوع ژنتیکی ماهی سوف معمولی از ۵ جفت پرایمر میکرو ستالیت طراحی شده برای این ماهی (Kohlmann and Kersten, 2008) استفاده گردید (جدول ۱). واکنش زنجیره‌ای پلیمرز در حجم ۲۵ میکرولیتر و دامنه مواد مصرفی در پرایمرها شامل: dNTPs، ۰/۵ میلی مولار؛ پرایمر ۱/۱ میکرولیتر؛ DNA، ۲۰۰ نانوگرم؛ تگ DNA پلی‌مراز هات استارت ۰/۴ واحد، PCR بافر ۱×؛ کلرید منیزیم ۱/۵-۰/۷۵ میلی مولار، آب مقطر دیونیزه برای رساندن به حجم مورد نظر در pH: ۸/۷ انجام گرفت. شرایط چرخه دمایی و مشخصات داده شده به دستگاه ترموسایکلر برای واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز به ترتیب مرحله جداسازی ۹۵ درجه سانتی‌گراد از ۳۰ تا ۴۰ ثانیه، مرحله اتصال پرایمرها به هدف از ۵۰ تا ۵۶ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه تا یک دقیقه، مرحله بسط پرایمر ۷۲ درجه سانتی‌گراد، ۴۵ ثانیه تا ۲ دقیقه و ۲۵ تا ۴۰ چرخه بهینه‌سازی گردید. محصول PCR بر روی ژل پلی‌اکریل آمید ۱۰ درصد (دیونیزه) الکتروفورز شد و رنگ‌آمیزی ژل با نیترات نقره انجام گرفت (Bassam et al., 1991). سپس تصویر ژل‌ها با استفاده از نرم افزار Uvitec مورد بررسی قرار گرفت. در جدول ۱، اندازه الی، تعداد ال اختصاصی، تعداد ال، دمای الصاق (درجه سانتی‌گراد)، میزان $MgCl_2$ (میلی مولار)، نام جایگاه و توالی هر یک از پرایمرها (Kohlmann and Kersten, 2008) نشان داده شده است.

جدول ۱: اندازه اللی، تعداد ال اختصاصی، تعداد ال دمای الصاق (درجه سانتی گراد)، میزان $MgCl_2$ (میلی مولار)، نام جایگاه، توالی هر یک از پرایمرها (Kohlmann and Kersten, 2008).

اندازه اللی	تعداد ال اختصاصی	تعداد ال دمای الصاق	$MgCl_2$ (mM)	توالی پرایمرها	جایگاه
۱۳۴-۱۸۶	۵	۸	۰/۷۵	F-TGTTTGTCTCAGCGTCAAGAGG R-TTCCGCTCCAACATATCACA	MSL-1
۱۹۱-۲۲۵	۲	۷	۰/۷۵	F-TTTTCACACCGTGCATGACT R-ACCCTCAGCCTCTGTGTACG	MSL-2
۱۹۸-۳۲۰	۱	۵	۱/۵	F-CAATCGCTCTGAGGATGTCA R-AAGGGTGGGAAAATTATTCG	MSL-5
۲۰۸-۲۸۶	۳	۸	۱	F-GTCGTCATCGTCAGCACAGT R-ACTACACGGGACGCTGGA	MSL-6
۲۱۰-۲۶۴	۲	۷	۱/۵	F-GCATCACTTGCGTCACCTTC R-GCAGTCAGTGCTTGAAGTGG	MSL-9

پس از رتبه‌دهی به ال‌ها محاسبات آماری شامل فراوانی اللی (Allel frequency)، تعداد اللی (Na) و تعداد ال‌های مؤثر (Ne)، هتروزیگوسیتی مورد انتظار (He) و مشاهده شده (Ho)، ضریب خویشاوندی (Fis)، تعادل هاردی وینبرگ براساس χ^2 ، تست تمایز بر اساس فراوانی اللی، فاصله ژنتیکی (Genetic distance) بر اساس Nei (۱۹۷۲)، مقادیر شاخص تمایز Rst و Fst بر اساس تست AMOVA (Analysis of MOlecular Variance) در سطح اطمینان ۹۹ درصد و با نرم‌افزار GeneAlex محاسبه گردید (Peakall and Smouse, 2006). نمودار سنجش ژنتیکی (Assignment test) جمعیت‌ها نیز بوسیله نرم‌افزار فوق رسم گردید.

نتایج

در این مطالعه از پنج جایگاه مورد بررسی، همگی در PCR تکثیر شدند و چندشکل (پلی مورف) بودند. در هنگام شمارش الگوی باندهای تمامی جایگاه‌ها یکی و در برخی موارد دو باند دیده شد که از خصوصیات الگوی دیپلوئید است. اندازه اللی بدست آمده از ۱۳۴ تا ۳۲۰ جفت باز بود (جدول ۱). در کل ۳۳ ال در نمونه‌ها شناسایی شد. در نمونه‌های انزلی ۲۲ ال و در نمونه‌های ارس ۲۱ ال در فراوانی بیشتر از ۰/۰۵ قرار داشتند. حداکثر فراوانی اللی ۰/۴۳۳ در هر دو منطقه نمونه‌برداری بدست آمد که نمونه‌های ارس آن‌را در جایگاه Msl2 در ال شماره ۶ و در اندازه اللی ۲۵۶ جفت باز و نمونه‌های انزلی آن‌را در جایگاه Msl9 در ال شماره یک و در اندازه اللی ۲۱۲ جفت باز نشان دادند.

میانگین تعداد ال واقعی و مؤثر به ترتیب ۵ و ۳/۸ بود. در مقایسه مناطق مورد مطالعه، میانگین تعداد ال واقعی و مؤثر در نمونه‌های ارس به ترتیب ۴/۸۰۰ و ۳/۷۷۵ و در انزلی به ترتیب ۵/۲۰۰ و ۳/۸۸۰ بود (جدول ۲). ۱۳ ال اختصاصی (۷ ال انزلی و ۶ ال ارس) در مجموع یافت شد. این ال‌ها در منطقه دیگر نمونه‌برداری شناسایی نشد. بیش‌ترین ال اختصاصی را جایگاه MSL1 با تعداد ۵ ال (۲ ال انزلی به فراوانی ۰/۲۵۰، ۰/۳۵۰ و ۳ ال ارس به فراوانی ۰/۲۸۳، ۰/۲۸۳ و ۰/۲۱۷) نشان داد. جایگاه MSL6 تعداد ۳ ال اختصاصی (دو ال انزلی به فراوانی ۰/۳۳۳، ۰/۱۵۰ و یک ال ارس به فراوانی ۰/۲۵۰) نشان داد. جایگاه MSL9 تعداد ۲ ال اختصاصی در ارس (به فراوانی ۰/۳۶۷ و ۰/۱۱۷) نشان داد. جایگاه MSL2 تعداد ۲ ال اختصاصی (هر دو در انزلی به فراوانی ۰/۱۱۷ و ۰/۱۳۳) نشان داد. جایگاه MSL5 تعداد ۱ ال اختصاصی (در انزلی به فراوانی ۰/۳۶۷) نشان داد.

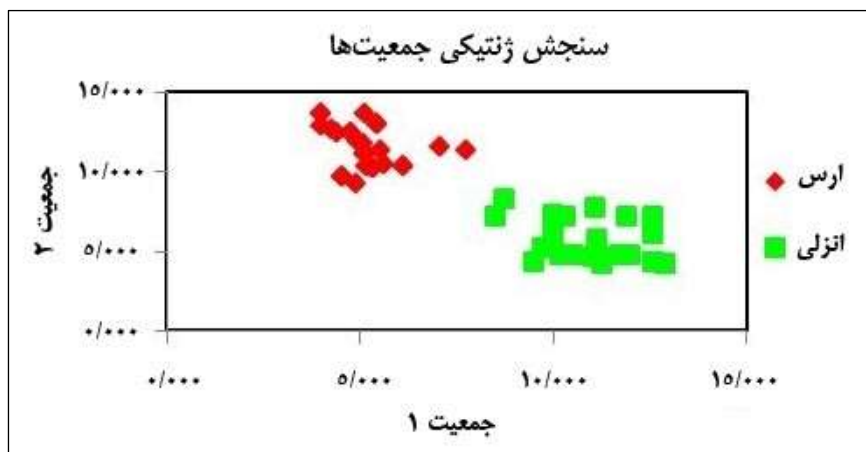
میانگین کل هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار به ترتیب ۰/۶۵۰ و ۰/۷۳۱ بود. در مقایسه مناطق مورد مطالعه، میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار در منطقه ارس به ترتیب ۰/۶۶۲ و ۰/۷۳۱ و در منطقه انزلی به ترتیب ۰/۶۳۹ و ۰/۷۳۱ بود (جدول ۲). در بررسی تعادل هاردی وینبرگ (H-W) همه جایگاه‌ها خارج از تعادل بودند ($P \leq ۰/۰۰۱$). میانگین ضریب خویشاوندی (Fis) بین دو منطقه

۰/۱ ± ۰/۰۱۳ - به دست آمد و Fis در برخی جایگاه‌های میکروستلایتی مثبت بود و دامنه آن از ۰/۱۴۰ - در جایگاه MSL1 تا ۰/۳۱۳ در جایگاه MSL9 محاسبه گردید (جدول ۲). مقادیر مثبت Fis نشان دهنده کاهش هتروزیگوسیتی است. جایگاه MSL1 با کمترین میزان Fis بالاترین میزان هتروزیگوسیتی را در تمامی جایگاه‌ها نشان داد.

میزان Fst بر اساس فراوانی الی، ۰/۰۹۲ به دست آمد که نشان دهنده تمایز ژنتیکی متوسط می‌باشد (Balloux and Lugon-Moulin, 2002). جریان ژنی ($2/4 (\pm 0/75)$) محاسبه شد. اما میزان Rst و Fst بر اساس تست AMOVA؛ معنی‌دار بود ($P \leq 0/01$) و نشان دهنده جدا شدن جمعیت‌ها می‌باشد. فاصله ژنتیکی بر اساس Nei (۱۹۷۲)، ۰/۶۱۶ به دست آمد. نمودار سنجش ژنتیکی جمعیت‌ها در شکل ۲ نشان داده شده است. این نمودار نمایشی از درجه تفکیک ژنتیکی بین جمعیت‌ها را می‌سازد و روش مناسبی برای سنجش اختلاف جمعیت‌ها به کمک نمودار بر اساس تست‌های سنجش می‌باشد. اعداد نمایش داده شده روی محور بر اساس درجه تمایز است (Paetkau et al., 2004). بر اساس این نمودار جمعیت‌ها هیچ هم‌پوشانی بر یکدیگر ندارند و از هم جدا هستند (شکل ۲).

جدول ۲: تنوع ژنتیکی جمعیت‌های مورد مطالعه ماهی سوف معمولی (*Sander lucioperca*) با تعداد نمونه، تعداد الی (Na)، تعداد الی مؤثر (Ne)، هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Ho) و قابل انتظار (He) (تعداد نمونه در هر منطقه ۳۰ عدد).

جایگاه	ارس	انزلی	
MSL-1	NA (Ne)	۵ (۴/۲)	۴ (۳/۷)
	Ho(He)	۰/۹۱۲ (۰/۷۶۲)	۰/۸۵۰ (۰/۷۳۰)
MSL-2	NA (Ne)	۴ (۳/۱)	۶ (۵/۳)
	Ho(He)	۰/۵۸۰ (۰/۶۸۱)	۰/۵۵۴ (۰/۸۱۲)
MSL-5	NA (Ne)	۵ (۳/۷)	۵ (۳/۷)
	Ho(He)	۰/۶۵۰ (۰/۷۳۲)	۰/۵۹۰ (۰/۷۳۱)
MSL-6	NA (Ne)	۴ (۳/۴)	۷ (۳/۹)
	Ho(He)	۰/۷۶۷ (۰/۷۰۶)	۰/۷۹۰ (۰/۷۴۴)
MSL-9	NA (Ne)	۷ (۴/۴)	۴ (۲/۷)
	Ho(He)	۰/۴۰۰ (۰/۷۷۳)	۰/۴۱۲ (۰/۶۳۸)
تعداد الی با فراوانی < ۰/۰۵		۲۱	۲۲
میانگین	Na(Ne)	۴/۸ (۳/۷)	۵/۲ (۳/۸)
	Ho(He)	۰/۶۶۲ (۰/۷۳۱)	۰/۶۳۹ (۰/۷۳۱)



شکل ۲: نمودار تعیین سنجش دو جمعیت ارس و انزلی در پنج جایگاه میکروستلایت در ماهی سوف معمولی (*Sander lucioperca*) (بر حسب درجه تمایز).

بحث و نتیجه‌گیری

ماهی سوف معمولی در تالاب انزلی، دریاچه سد ارس و به صورت پراکنده در سواحل دریای خزر مشاهده می‌شود. صید بیش از حد این گونه به همراه تخریب محل‌های تولید مثل آن، باعث شده بود تا نسل آن شدیداً کاهش پیدا کند، اما تکثیر مصنوعی در سالهای اخیر و معرفی آن به برخی از تالاب‌ها و آبگیرهای حوضه جنوبی دریای خزر و دریاچه سد ارس، باعث بهبود نسبی وضعیت آن شده است. فهم اینکه گونه‌های غیر-بومی که به زیستگاه دیگری معرفی شده‌اند آیا با موفقیت در زیستگاه جدید تشکیل جمعیت داده‌اند یک چالش بزرگ برای پیش‌بینی وضعیت آن گونه در اکوسیستم محسوب می‌شود. ارزیابی ژنتیکی جمعیت چشم‌انداز مناسبی برای درک این مسأله است که تنوع ژنتیکی تظاهر یافته به عنوان یک فاکتور کلیدی برای درک وضعیت موجود آن گونه در زیستگاه جدید است (Lee, 2002; Roman and Darling, 2007).

یکی از ملزومات در توصیف تنوع ژنتیکی یک جمعیت، تشخیص تنوع اللی است. تعداد اللی و هتروزیگوسیتی از شاخص‌های مهم تنوع ژنتیکی جمعیت‌ها در مواجهه شدن با تغییرات محیطی هستند (Frankham, 2008) و ویژگی‌هایی همچون رقابت و توانایی برای بقای یک موجود در زیستگاه‌های طبیعی را مشخص می‌نماید (Hakansson and Jensen, 2005). در بررسی حاضر دامنه اللی ماهی سوف معمولی *Sander lucioperca* ۵ تا ۸ ال در هر جایگاه و در مجموع مناطق نمونه‌برداری ۳۳ ال بدست آمد. نتایج این مطالعه در مقایسه دامنه اللی ماهی سوف معمولی با سایر پژوهش‌های مشابه ۳ تا ۶ ال در هر جایگاه و در مجموع ۳۴ ال (Kohlmann and Kersten, 2008)؛ دامنه اللی ۵/۵۶ تا ۱۴/۲۲ ال در بررسی ساختار جمعیت ماهی سوف معمولی دریاچه آرال در ازبکستان (Khurshut and Kohlmann, 2009)؛ دامنه اللی ۲ تا ۹ ال در ماهی سوف معمولی (Dubut et al., 2010)؛ دامنه اللی ۲ تا ۹ ال در نمونه‌های سوف معمولی رودخانه و بین ۳ تا ۹ ال در نمونه‌های سوف معمولی دریاچه (Wirth et al., 1999). قریب خانی و همکاران (۱۳۹۰) در مطالعه‌ای مشابه در بررسی ساختار جمعیت ماهی سوف سفید در تالاب انزلی میانگین اللی را ۲/۵ و دامنه اللی را ۲ تا ۳ ال بدست آوردند. به نظر آن‌ها کاهش شدید اللی به علت تکثیر مصنوعی این ماهی در سالیان اخیر می‌باشد.

نتایج بررسی حاضر بر روی ماهی سوف معمولی نشان می‌دهد که میانگین تعداد اللی به دست آمده در این بررسی (5 ± 0.39) در محدوده مقدار اعلام شده برای ماهیان آب شیرین (7.5 ± 1) است (Dewoody and Avis, 2000). با وجود اینکه دامنه اللی و میانگین اللی در این بررسی در دامنه اللی سایر محققین در این گونه به دست آمده است، اما در این مطالعه تعدادی ال با فراوانی پایین دیده شد که علت آن را می‌توان

توان به تکثیر مصنوعی این ماهی نسبت داد زیرا بر اساس اطلاعات موجود امکان تکثیر طبیعی ماهی سوف معمولی در سواحل جنوبی دریای خزر و به خصوص تالاب انزلی ناچیز است؛ لذا سال‌هاست که مولدین صید شده در مراکز تکثیر مصنوعی مورد تکثیر قرار می‌گیرند. در نهایت بچه ماهیان حاصله به تالاب انزلی و دریاچه سد ارس رهاسازی می‌شوند. از اینرو این احتمال وجود دارد که استفاده از تعداد محدود مولد ماهی سوف معمولی و ادغام گامت‌ها برای لقاح موجب از دست رفتن تعدادی از ال‌ها و کاهش تنوع ژنتیکی می‌شود. در این بررسی دامنه کل هتروزیگوسیتی مشاهده شده ۰/۴۰۰ تا ۰/۹۱۲ و هتروزیگوسیتی مورد انتظار ۰/۶۳۸ تا ۰/۸۱۲ بود و در مناطق نمونه‌برداری اختلاف معنی‌داری بین دو منطقه دیده نشد. در مقایسه با مطالعات مشابه بر روی ماهی سوف معمولی، Dubut و همکاران (۲۰۱۰) دامنه هتروزیگوسیتی قابل انتظار را بین ۰/۳۲ تا ۰/۸۵ به دست آوردند. Kohlmann و Khurshut (۲۰۰۹) دامنه هتروزیگوسیتی مشاهده شده را بین ۰/۷۴۳ تا ۰/۵۷۶ و دامنه هتروزیگوسیتی قابل انتظار را ۰/۴۷۱ تا ۰/۷۶۰ به دست آوردند. Kerste و Kohlmann (۲۰۰۸) دامنه هتروزیگوسیتی مشاهده شده را بین ۰/۳۶ تا یک و دامنه هتروزیگوسیتی قابل انتظار را ۰/۳۳۴ تا ۰/۷۷۷ به دست آوردند. Wirth و همکاران (۱۹۹۹) میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده را در نمونه‌های رودخانه ۰/۷۲ و دامنه آن را بین ۰/۴۶ تا ۱ و میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده را در نمونه‌های دریاچه ۰/۵۰ و دامنه آنرا بین ۰/۷۱ تا ۰/۱۳ به دست آوردند. قریب خانی و همکاران (۱۳۹۰) در ماهی سوف سفید میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده را ۰/۵۶ دامنه را بین ۰/۳۰ تا ۰/۸۰ و میانگین هتروزیگوسیتی قابل انتظار را ۰/۵۰ دامنه را بین ۰/۲۵ تا ۰/۶۳ به دست آوردند. نتایج بررسی حاضر بر روی ماهی سوف معمولی نشان می‌دهد که میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده (۰/۱ ± ۰/۶۵) و قابل انتظار (۰/۰۲ ± ۰/۷۳۱) در محدوده مقدار اعلام شده برای ماهیان آب شیرین (۰/۳۴ ± ۰/۴۶) است (Dewoody and Avis, 2000). در این بررسی هر دو منطقه تالاب انزلی و دریاچه سد ارس، در برخی جایگاه‌ها هتروزیگوسیتی مشاهده شده نسبت به هتروزیگوسیتی قابل انتظار پایین‌تر بود. به طور کلی بررسی‌های تنوع ژنتیکی و خصوصاً در مورد گونه‌هایی که تحت برنامه‌های تکثیر مصنوعی و بازسازی ذخایر قرار دارند، هتروزیگوسیتی نمی‌تواند شاخص مناسبی برای نشان دادن وضعیت ژنتیکی باشد (Petit et al., 1998). با این حال، کاهش هتروزیگوسیتی مشاهده شده نسبت به هتروزیگوسیتی قابل انتظار و همچنین وجود ال‌هایی با فراوانی پایین، را می‌توان تحت تاثیر عواملی همچون صید بی‌رویه، کاهش تکثیر طبیعی و شیوه‌های نادرست تکثیر مصنوعی دانست که دلیل دیگری بر کاهش تنوع ژنتیکی است. کاهش تنوع ژنتیکی، آمادگی برای بیماری و سایر فاکتورهای انتخابی را افزایش داده و در نتیجه موجب کاهش در اندازه جمعیت می‌شود (Shen and Gong, 2004). به نظر Alam و Islam (۲۰۰۵) در ذخایر (حاصل از تکثیر مصنوعی) با گذشت زمان، کاهش الی و هتروزیگوسیتی بر اثر آمیزش‌های خویشاوندی و تنگنای ژنتیکی افزایش می‌یابد. همچنین کاهش تنوع ژنتیکی در ذخایر وحشی به علت استرس وارده به جمعیت ناشی از صید بی‌رویه و زوال تولید مثل در محیط طبیعی است. برای مثال صید ماهیان مولد در طول فصل تولید به وسیله مردم محلی موجب کاهش تخمه‌گذاری در هر سال می‌شود (Alam and Islam, 2005).

در بررسی تعادل هاردی وینبرگ همه مناطق در همه جایگاه‌ها خارج از تعادل بودند ($P \leq 0.001$). Kohlmann و Khurshut (۲۰۰۹) انحراف معنی دار از تعادل هاردی وینبرگ در ماهی سوف معمولی را وجود ال‌های نول، نمونه‌برداری غیرتصادفی از افراد خویشاوند و ترکیب جمعیت‌ها بیان کردند. Bjorklund و همکاران (۲۰۰۷) انحراف معنی دار از تعادل هاردی وینبرگ را به علت کاهش هتروزیگوسیتی دانستند که به تاریخچه تولیدمثلی جمعیت و از دست رفتن برخی ال‌ها در تکثیر مصنوعی ماهی سوف معمولی تفسیر نمودند. Kohlmann و Kersten (۲۰۰۸) انحراف از تعادل هاردی وینبرگ را به علت اندازه کوچک جمعیت و نمونه‌برداری غیرتصادفی دانستند. Poulet و همکاران (۲۰۰۹) انحراف از تعادل هاردی وینبرگ را به علت وجود ال‌های نول و از دست رفتن ال‌ها دانستند. قریب خانی و همکاران (۱۳۹۰) انحراف از تعادل هاردی وینبرگ را به عدم تصادفی بودن نمونه‌گیری به جهت کوچک بودن اندازه جمعیت و آمیزش خویشاوندی ناشی از تکثیر مصنوعی تفسیر کردند. در بررسی حاضر به نظر می‌رسد علت انحراف از تعادل، مخلوط شدن نمونه‌ها و ترکیب جمعیت‌ها به علت جابه‌جایی بچه ماهیان حاصل از تکثیر مصنوعی، خطای نمونه‌برداری با توجه به اندازه کوچک جمعیت‌ها و تعداد کم نمونه‌ها دانست.

در بررسی شاخص تمایز Fst پیشنهاد شده است که مقدار بین صفر تا ۰/۰۵ نشان دهنده تمایز ژنتیکی پایین، مقدار بین ۰/۰۵ تا ۰/۱۵ تمایز متوسط و مقدار بین ۰/۱۵ تا ۰/۲۵ تمایز بالاست و مقدار بالای ۰/۲۵ تمایز ژنتیکی خیلی بالاست (Wright, 1978). میزان Fst بر اساس فراوانی الی ۰/۰۹۲ بدست آمد که نشان دهنده تمایز ژنتیکی متوسط می باشد و میزان جریان ژنی ۲/۴ محاسبه گردید. تست تمایز Fst و Rst بر اساس تست AMOVA بین نمونه ها معنی دار بود ($P < ۰/۰۱$). بنابراین جمعیت ها از یکدیگر جدا هستند. با وجود تمایز ژنتیکی بین دو جمعیت مورد مطالعه، علت تمایز ژنتیکی متوسط وجود جریان ژنی بین دو منطقه است. اگرچه دو منطقه با وجود فاصله جغرافیایی، ارتباط آبی با یکدیگر ندارند اما جابجایی مولدین و بچه ماهیان حاصل از تکثیر مصنوعی بین دو منطقه موجب برقراری جریان ژنی گردیده است. Shaklee و همکاران (۱۹۸۲)؛ Thorpe and Sole-Cava (۱۹۹۴) میزان فاصله ژنتیکی (Nei, 1972) برای جدایی جمعیت ها را به طور میانگین ۰/۳ (دامنه آن از ۰/۰۳ تا ۰/۶۱) ذکر کرده اند که با فاصله ژنتیکی مشاهده شده در این بررسی مطابقت دارد (۰/۶۱۶) و نشان دهنده تمایز ژنتیکی بین جمعیت های مشاهده شده است.

در سالیان گذشته، صید بی رویه ماهی سوف معمولی همراه با تخریب محل های تولیدمثل آن، باعث شده است تا ذخایر آن شدیداً کاهش پیدا کند. سال هاست که شیلات ایران اقدام به تکثیر مصنوعی و رهاسازی بچه ماهیان در مناطقی در جنوب دریای خزر و سد ارس در شمال غربی ایران نموده است. باید توجه داشت تکثیر مصنوعی و رهاسازی بچه ماهیان بدون در نظر گرفتن مدیریت صحیح می تواند معایب مختلفی مانند از دست رفتن تنوع ژنتیکی و در نهایت کاهش شدید ذخایر را در پی داشته باشد. بررسی حاضر، مطالعه اولیه ای است بر وجود جمعیت های متمایز ژنتیکی ماهی سوف معمولی که در دو منطقه تالاب انزلی و دریاچه سد ارس زیست می کنند. وجود ال های اختصاصی، Fst و Rst معنی دار در هر یک از جمعیت های شناسایی شده، تایید کننده وجود جمعیت های ژنتیکی متمایز در این دو منطقه است. این احتمال وجود دارد که جمعیت های دیگری از این ماهی در دریای خزر وجود داشته باشد که نیازمند، به مطالعه و بررسی بیشتری است. شناسایی ساختار ژنتیکی ماهی سوف معمولی می تواند در صنعت شیلات و پیشبرد برنامه های مدیریتی آینده در جهت تکثیر مصنوعی و طبیعی و حفاظت از ذخایر آن سودمند باشد.

سپاسگزاری

این پژوهش در آزمایشگاه تحقیقات ژنتیک مولکولی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن انجام پذیرفت. از تمامی همکاران گرامی در آزمایشگاه تحقیقات ژنتیک مولکولی به ویژه جناب آقای دکتر ناظمی تشکر و قدردانی می گردد.

منابع

- اکبرزاده، الف.، کرمی، م.، نظامی، ش. و خارا، ح.، ۱۳۸۸. ارزیابی رابطه طول و وزن، چاقی ضریب و مشخصه های ماهی رشد سوف، *Sander lucioperca* (Linnaeus, 1785) در دریاچه ارس سد، مجله شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دوره ۶۲، شماره ۱، صفحات ۱-۱۰.
- رضوی صیاد، ب.، ۱۳۷۸. مقدمه ای بر اکولوژی دریای خزر، چاپ اول، موسسه تحقیقات شیلات ایران، تهران، ۹۰ ص.
- قریب خانی، م.، پورکاظمی، م.، رضوانی گیل کلائی، س. و تاتینا، م.، ۱۳۹۰. بررسی تنوع ژنتیکی ماهی سوف سفید (*Sander lucioperca*) در تالاب انزلی با استفاده از نشانگرهای ریزماهوره، مجله تالاب، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز، سال دوم، شماره هفتم، صفحات ۳-۱۰.
- عبدالملکی، ش.، ۱۳۸۳. ارزیابی ذخایر ماهی سوف (*Stizostedion lucioperca*) در سواحل ایرانی دریای خزر در سال ۱۳۷۹-۱۳۸۰، مجله علمی شیلات ایران، سال سیزدهم، شماره ۴، صفحات ۹۵-۱۱۰.
- عبدلی، الف. و نادری، م.، ۱۳۷۸. تنوع زیستی ماهیان حوضه جنوبی دریای خزر. چاپ اول، انتشارات علمی آذربایجان، صفحات ۱۹۷-۲۰۰.

- Alam, S. and Islam, Sh., 2005.** Population genetic structure of *Catla* (Hamilton) revealed by microsatellite DNA markers. *Aquaculture* 246, 151-160.
- Balloux, F. and Lugon-Moulin, N., 2002.** The estimate of population differentiation with microsatellite markers. *Molecular Ecology* 11, 155-165.
- Bassam, B. J., Caetano-Anolles, G. and Gressoff, G. M., 1991.** Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide gels. *Annual Biochemistry* 84, 680-683.
- Bjorkund, M., Aho, T. and Larso, L. C., 2007.** Genetic differentiation in pikeperch (*Sander lucioperca*): the relative importance of gene flow, drift and common history. *Journal of Fish Biology* 71, 264-278.
- Chistiakov, D. A. , Hellemans, B. , Haley, C. S., Law, A. S., Tsigenopoulos, C. S., Kotoulas, G., Bertotto, D., Libertini, A. and Volckaert, F.A., 2005.** A microsatellite linkage map of the European sea bass *Dicentrarchus labrax* L. *Genetics* 170, 1821-1826.
- Dewoody, J. A. and Avise, J. C., 2000.** Microsatellite variation in marine, freshwater and anadromous fishes compared with other animals. *Journal of Fish Biology* 56, 461-473.
- Dubut, V., Grenier, R., Meglécz, R., and Chappaz, R., 2010.** Development of 55 novel polymorphic microsatellite loci for the critically endangered *Zingel asper* L. (Actinopterygii: Perciformes: Percidae) and cross-species amplification in five other Percids. *European Journal Wild Research* 56, 931-938.
- Frankham, R., 2008.** Genetic adaptation to captivity in species conservation programs. *Molecular Ecology* 17, 325-333.
- Hakansson, J. and Jensen, P., 2005.** Behavioral and morphological variation between captive populations of red jungle fowl (*Gallus gallus*) possible implications for conservation. *Biological Conservation* 122, 431-439.
- Khurshut, E. and Kohlmann, K., 2009.** Application of nine species-specific microsatellite loci to characterize three pike-perch (*Sander lucioperca*) populations from the Aral Sea basin in Uzbekistan. *Environmental Biotechnology* 5, 3-10.
- Kohlmann, K. and Kersten, P., 2008.** Isolation and characterization of nine microsatellite loci from the pike-perch, *Sander lucioperca* (Linnaeus, 1758). *Molecular Ecology Resources* 8, 1085-1087.
- Lee, C. E., 2002.** Evolutionary genetics of invasive species. *Trends in Ecology & Evolution* 17, 386-391.
- Nei, M., 1972.** Genetic distance between populations. *American Naturalist* 106, 283-292.
- Paetkau, D., Calvert, W., Stirling, I. and Strobeck, C., 1995.** Microsatellite analysis of population structure in Canadian polar bears. *Molecular Ecology* 4, 347-354.
- Peakall, R. and Smouse, P. E., 2006.** GENALEX 6: genetic analysis in excel Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes* 6, 288-295.
- Poulet, N., Balaresque, P., Aho, T. and Bjorklund, M., 2009.** Genetic structure and dynamics of a small introduced population: the pikeperch, *Sander lucioperca*, in the Rhone delta. *Genetica* 135(1): 77-86.
- Petit, R. J., Mousadik, A. E. and Pons, A. O., 1998.** Identifying populations for conservation on the basis of genetic markers. *Conservation Biology* 12, 844-855.
- Roman, J. and Darling, J. A., 2007.** Paradox lost: genetic diversity and the success of aquatic invasions. *Trends in Ecology & Evolution* 22, 454-464.
- Sekar, M., Suresh, E., Kumar, N. S., Nayak, S. K. and Balakrishna, C., 2009.** Microsatellite DNA markers a fisheries perspective Part 1: The nature of microsatellites. *Genetics and Biodiversity*, 27-29.
- Shaklee, J. B., Tamaru, C. S. and Waples, R. S., 1982.** Speciation and evolution of marine fishes studied by electrophoretic analysis of proteins. *Pacific Science* 36, 141-157.
- Shen, X. Y. and Gong, Q. L., 2004.** Population genetic structure analysis of the imported turbot seedlings *Scophthalmus maximus* Using RAPD and microsatellite technique. *Journal of Oceanology and Limnology* 35, 332-341.
- Thorpe, J. P. and Sole-Cava, A. M., 1994.** The use of allozyme electrophoresis in invertebrate systematics. *Zoologica Scripta* 23, 3-18.
- Zhao, N., Ai, W., Shao, Z., Zhu, B., Brosse, S. and Chang, J., 2005.** Microsatellites assessment of Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis* Gray) genetic variability. *Journal of Applied Ichthyology* 21, 7-13.

Wirth, T., Saint-Laurent, R. and Bernatchez, L., 1999. Isolation and characterization of microsatellite loci in the walleye (*Stizostedion vitreum*), and cross-species amplification within the family Percidae. *Molecular Ecology* 8, 1960–1962.