ساختار جمعیتی ماهی اسبله (*Silurus glanis*) تالاب انزلی و دریاچه سد ارس با استفاده از روش مولکولی ریز ماهواره

آذر امیری[۱]، شهرام بهمنش [۲]، فریدون چکمه‌دوز قاسمی*[۲]، صابر زهری[۳]

۱- گروه شیلات، دانشکده بیولوژی، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران، صندوق پستی: ۱۹۱۵

۲- موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، پژوهشکده آبزی‌پروری آب‌های داخلی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندر انزلی، ایران، صندوق پستی: ۶۶

۳- گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران، صندوق پستی: ۱۷۹

تاریخ دریافت: ۲۳ شهریور ۱۳۹۶ تاریخ پذیرش: ۱۴ دی ۱۳۹۶

چکیده

ماهی اسبله (*Silurus glanis*) در بسیاری از کشورهای جهان از ارزش اقتصادی بالایی برخوردار است بطوریکه به‌منظور بهره‌برداری پایدار در صنعت آبزی‌پروری مطالعات جامع ژنتیکی با استفاده از نشانگرهای مختلف ژنتیکی بر روی جمعیت‌های آن انجام می‌گردد. از مهم‌ترین مکان‌های زیست ماهی اسبله در ایران، تالاب انزلی و دریاچه سد ارس است. گوشت ماهی اسبله همانند گوشت ماهیان خاویاری خوش‌طعم بوده و این مسئله یکی از دلایل صید بی‌رویه و مصرف زیاد آن در دو منطقه فوق است. تاکنون هیچ‌گونه مطالعه‌ای درزمینه جمعیتی آن در کشور ایران انجام‌نشده و به همین دلیل ساختار جمعیتی ماهی اسبله در دو منطقه تالاب انزلی و دریاچه سد ارس با استفاده از روش مولکولی ریز ماهواره (Microsatellite) موردبررسی قرار گرفت. بدین منظور تعداد ۶۰ قطعه باله دمی از هرماهی (هر منطقه ۳۰ قطعه) جمع‌آوری و جهت بررسی‌های مولکولی از ۸ آغازگر (primer) ریز ماهواره استفاده شد که ۲ آغازگر تولید باندهای تک‌شکلی (monomorphic) و ۶ آغازگر تولید باندهای چندشکلی (polymorphic) نمودند. جهت اطلاع از ساختار ژنتیکی و جمعیتی ماهی اسبله در دو منطقه موردمطالعه، شاخص‌های آماری ژنتیکی شامل تعداد الل‌ها، هتروزایگوسیتی مشاهده‌شده و قابل‌انتظار، شاخص F_{st} بر اساس آزمون AMOVA که نشان‌دهنده تمایز بین جمعیت‌ها است، فاصله ژنتیکی و تعادل هاردی واینبرگ بین نمونه‌های دو منطقه با استفاده از نرم‌افزارهای تخصصی ژنتیکی محاسبه شد و این نتایج به دست آمد: تعداد کل الل محاسبه‌شده ۸۸ الل بود که میانگین تعداد الل محاسبه‌شده برای تالاب انزلی ۹/۳ و برای نمونه‌های دریاچه پشت سد ارس ۵/۳ بود، اختلاف آماری قابل‌ملاحظه‌ای بر اساس میانگین تعداد الل در هر جایگاه ژنی و هتروزایگوسیتی بین دو جمعیت مشاهده شد ($P \leq$ ۰/۰۱)، میزان شاخص F_{st} محاسبه‌شده ۰/۱۶۵ و فاصله ژنتیکی ۰/۳۸ بود که هر دو این شاخص‌ها ازلحاظ آماری معنی‌دار بودند ($P \leq$ ۰/۰۱)، بین نمونه‌های هر دو منطقه کاهش و افزایش تنوع یا هتروزایگوسیتی مشاهده شد ولی نمونه‌های هر دو منطقه در تعادل با آزمون هاردی واینبرگ بودند. به‌طورکلی براساس نتایج حاصل از این بررسی، به نظر می‌رسد که ماهی اسبله تالاب انزلی و دریاچه سد ارس هرکدام جمعیت مستقلی می‌باشند. بنابراین توصیه می‌شود جهت افزایش گونه‌ای در صنعت آبزی‌پروری کشور، مدیریت شیلاتی مبنی بر تکثیر و پرورش هر دو جمعیت اعمال گردد.

کلمات کلیدی: ماهی اسبله، تالاب انزلی، دریاچه سد ارس، ریز ماهواره.

* عهده‌دار مکاتبات (✉)، chakmehdouz13@yahoo.com

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1397.12.1.2.6]

مقدمه

آگاهی از تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیتی آبزیان جهت مدیریت شیلاتی بسیار مهم و ضروری است. به‌طورکلی وجود تنوع یک فاکتور مهم و اساسی بین جمعیت‌های یک‌گونه از آبزیان است زیرا طیف وسیعی از صفات مهم نظیر پاسخ به تغییرات شدید محیط‌زیست و نظایر آن را برای هر فرد از آن جمعیت فراهم می‌نماید. افرادی که از تنوع بیشتری برخوردار هستند نسبت به افراد کم تنوع از ویژگی‌های زیادتری مثل رشد، هماوری، تحمل نسبت به بروز بیماری‌ها و ... برخوردارند (Beardmore *et al*., 1997). امروزه نشانگرهای ریز ماهواره در مطالعات ژنتیک جمعیت کاربرد زیادی دارد، این نشانگرها به‌صورت توالی‌های کوتاه و ساده تکرارشونده (SSRs)، توالی‌های ساده چندشکلی (SSLPs) و یا توالی‌های کوتاه در طول ژنوم (STR) شناخته می‌شوند و نواحی بر روی DNA هستند که دارای الگوهای کوتاهی از توالی بازهای آلی به‌اندازه ۶ – ۱ باز می‌باشند از قبیل CA، AGA، ATA و غیره. در سال‌های اخیر ریز ماهواره‌ها به‌عنوان وسیله‌ای برای دستیابی به شناسه‌های ژنتیکی مطرح بوده و در بسیاری از مطالعات ساختار ژنتیکی جمعیت آبزیان، شناسایی مولدین کارگاه‌های بازسازی ذخایر در راستای اعمال مدیریت شیلاتی، بررسی روند تکاملی آبزیان، کمک به اعمال سیاست‌های حفاظت از ذخایر و تهیه نقشه‌های ژنتیکی آبزیان توسط محققین بکار گرفته‌شده است (Triantafyllidis *et al*., 2002).

به‌طور طبیعی ماهی اسبله (*Silurus glanis*) دارای پراکنش جهانی است بطوریکه در دریای آرال، رودخانه انوب، دریاچه‌های یونان و در قسمت‌های غربی آناتولی نیز گزارش‌شده است (Banarescu, 1989; Economidis and Banarescu, 1991). بسیاری از گونه‌های ماهی اسبله از رودخانه دانوب به منابع آبی موجود در شمال و جنوب اروپا به‌عنوان یک‌گونه غیربومی منتقل‌شده‌اند (Triantafyllidis *et al*., 2002). ماهی اسبله در بسیار از کشورهای جهان دارای ارزش اقتصادی بوده و به همین دلیل مدیریت شیلاتی آبزی‌پروری بر روی آن اعمال می‌گردد (Proteau *et al*., 1996). درزمینه تولیدمثل، دست‌کاری‌های کروموزومی و مدیریت علمی سلول‌های جنسی مطالعات متعددی توسط محققین علوم شیلاتی و زیستی بر روی این‌گونه انجام‌شده است، (Legendre *et al*., 1996، Smitherman *et al*., 1996، Varkonyi *et al*., 1998، Brzuska and Adamek, 1999، Bolliet *et al*., 2001) ولی درزمینه جمعیت شناختی و ساختار ژنتیکی، مطالعات و بررسی‌ها بسیار اندک بوده و نتایج حاصله نیز متفاوت است بطوریکه بر اساس مطالعات انجام‌گرفته در سطح آلوزایم‌ها و mtDNA (DNA میتوکندریایی) تنوع بین جمعیت‌های وحشی و کارگاه‌های تکثیر و پرورش به دست نیامد (Triantafyllidis *et al*., 1999a، Triantafyllidis *et al*., 1999b، Krieg *et al*., 2000) ولی Triantafyllidis و همکاران (۲۰۰۰) توانستند با استفاده از آغازگرهای مایکروستلایتی سطح بالایی از تنوع جمعیتی را در این‌گونه به دست آورند.

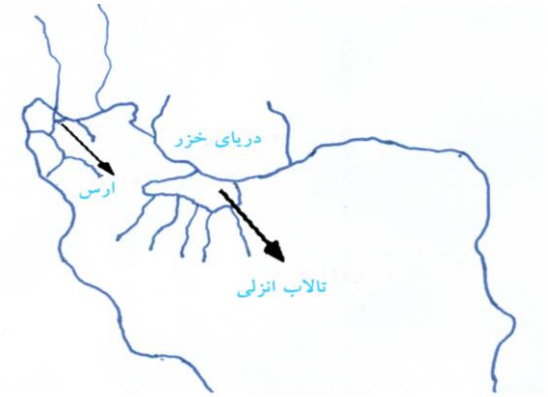
از مهم‌ترین مکان‌های زیست این‌گونه، تالاب بین‌المللی انزلی در شمال و دریاچه سد ارس در شمال غربی ایران است که در این مناطق معروف به ماهی اسبله است. گوشت این ماهی همانند گوشت ماهیان خاویاری خوش‌طعم بوده و این مسئله یکی از دلایل

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1397.12.1.2.6]

مصرف زیاد آن در مناطق یادشده است. در همین راستا مطالعات زیادی بر روی این ماهی درزمینه تغذیه (Nezami Balouchi *et al*., 2007)، بیماری‌ها (Khara *et al*., 2007) و غیره از سوی محققین علوم شیلاتی کشور انجام‌شده است ولی متأسفانه تاکنون هیچ‌گونه مطالعه‌ای درزمینهٔ جمعیتی و ساختار ژنتیکی آن در ایران انجام‌نشده و این بررسی برای اولین بار با یکی از تکنیک‌های ژنتیک مولکولی انجام گردید و هدف آن شناسایی و تفکیک جمعیتی ماهی اسبله در تالاب انزلی و دریاچه سد ارس با استفاده از روش مولکولی ریز ماهواره بوده است.

مواد و روش‌ها

تعداد ۶۰ ماهی اسبله طی سال‌های ۱۳۹۰ – ۱۳۸۹ از دو منطقه (شکل ۱) موردمطالعه (هر منطقه ۳۰ نمونه) توسط صیادان محلی صید و کمی از باله دمی آن‌ها توسط قیچی بریده و داخل الکل ۹۶ درجه قرار گرفت و سپس به آزمایشگاه ژنتیک پژوهشکده آبزی‌پروری آب‌های داخلی بندرانزلی انتقال یافت. در آزمایشگاه DNA ژنومی نمونه‌ها با استفاده از روش فنل کلروفرم (Hillis *et al*., 1996) استخراج و در یخچال ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. قبل از انجام PCR، کیفیت DNA های استخراج‌شده با استفاده از الکتروفورز ژل آگارز ۱ درصد تعیین شد.



شکل ۱: شکل شماتیک مکان‌های نمونه‌برداری

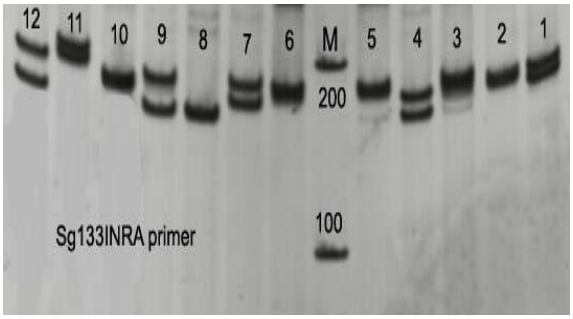
واکنش‌های زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) با کمی تغییرات در غلظت مواد و دمای اتصال با ۸ آغازگر مایکروستلایتی (Krieg *et al*., 1999) انجام گردید که دو آغازگر تولید باندهای تک‌شکلی یا مونومورف (*Sgl310INRA*, *Sgl325INRA*) و شش جفت دیگر تولید باندهای چندشکلی یا پلی‌مورف نمودند (جدول ۱). حجم واکنش PCR ۲۵ میکرو لیتر شامل: ۱۰۰ نانوگرم DNA، ۱۰ میلی‌مولار برای هر جفت از آغازگرها، ۲۰۰ ماکرمول از dNTPs، ۵ u/µl از آنزیم *taq* DNA polymerase (ساخت شرکت سیناژن، ایران)، ۵۰ میلی‌مولار $MgCl_2$، بافر PCR با غلظت ۱۰X و آب مقطر استریل بود. چرخه‌های حرارتی با استفاده از دستگاه ترمال سایکلر BIOER ساخت کشور چین (XP cycler gradient, 96 plus, Bioer, China) و تحت شرایط فوق انجام گردید: ۴ دقیقه واسرشته سازی اولیه (initial denaturation) در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۳۰ سیکل شامل ۳۰ ثانیه واسرشته سازی در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۶۰ ثانیه دمای اتصال (annealing) از ۵۵ الی ۶۰ درجه سانتی‌گراد برای هر آغازگر و ۶۰ ثانیه مرحله بسط (elongation) در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد و درنهایت ۱۰ دقیقه دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد برای بسط نهایی انجام شد.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1397.12.1.2.6]

جدول ۱: اطلاعات جایگاه‌های ژنی مایکروستلایتی (چندشکلی) استفاده‌شده در این بررسی

جایگاه ژنی	آغازگر	اندازه (bp)	دمای اتصال (^{o}C)	منبع
Sgl33INRA	F-CCACTTATGCACCTGAAGG R-GGCCAATTAAACAGGTACA	۱۵۰ – ۲۰۰	۵۸	Krieg *et al*. (1999)
Sgl5fINRA	F-CCAATTTACCTCAGACTACTTCTG R-GCACGTGCAAAGTCCTG	۱۲۵ – ۲۱۰	۵۵	//
Sgl695INRA	F-CTTTGGTGAGTCAGAAACACG R-GCACTACTGGTAGATGCT	۱۸۰ – ۲۵۰	۵۶	//
Sgl7159INRA	F-CTGCTCAATCAAAGTTGGTTC R-CAAACTAAGTTCAGCCAGGC	۲۲۰ – ۳۰۰	۵۵	//
Sgl7eINRA	F-GTGAATGTGCTTTAAGGGC R-GTTCATGGTGTCACTGCG	۲۰۰ – ۳۰۰	۵۹	//
Sgl7fINRA	F-GGCTGTATGTTAAGTTATTTTCAG R-CTGAGCAGTGGCCAGAATG	۲۲۰ – ۳۰۰	۶۰	//

محصول PCR هر آغازگر به همراه لدر ۱۰۰ باز (Fermentas GmbH, Germany) در ژل پلی اکریل-آمید ۶ درصد (29:1 acrylamide: bis acrylamide; 1x TBE buffer) و توسط دستگاه الکتروفورز عمودی (Cleaver Scientific Ltd, UK) جداسازی شد. عملیات جداسازی با ولتاژ ۱۲۰ و تا رسیدن بافر رنگی به انتهای ژل انجام و پس‌ازآن ژل در طی سه مرحله به روش نیترات نقره، رنگ‌آمیزی و بر اساس اندازه اللی هر نمونه توسط بسته نرم‌افزاری GENALEX (Peakall and Smouse, 2006) تعیین گردید (شکل ۲).



شکل ۲: محصول PCR جایگاه ژنی *Sg133INRA* ماهی اسبله بر روی الکتروفورز ژل پلی اکریل‌آمید

تعداد الل در هر جایگاه ژنی برای هر منطقه، هتروزایگوسیتی مشاهده‌شده (H_o) و قابل‌انتظار (H_e)، آزمون هاردی واینبرگ به‌صورت جفتی برای هر جایگاه ژنی، فاصله ژنتیکی بین جمعیت‌های دو منطقه بر اساس شاخص Nei (Nei, 1972) و شاخص F_{st} که نشانه جدایی جمعیت‌ها است بر اساس اختلاف جفتی بین نمونه‌های هر منطقه محاسبه شد. تمامی آزمون‌های آماری با استفاده از نرم‌افزارGENALEX نسخه ۶ انجام گردید.

نتایج

واکنش‌های زنجیره‌ای پلیمراز (PCR)

تمامی هشت آغازگر استفاده‌شده به‌خوبی در مرحله PCR تکثیر شدند بطوریکه دو جفت از آن‌ها (*Sgl*310INRA) و (*Sgl*325INRA) تولید باندهای تک‌شکلی یا مونومورف و بقیه تولید باندهای چندشکلی یا پلی‌مورف کردند. جایگاه ژنی *Sgl*5fINRA در نمونه‌های تالاب انزلی دارای بیشترین تعداد الل (۱۲) بود درحالی‌که جایگاه ژنی *Sgl*7eINRA در نمونه‌های دریاچه سد ارس دارای کمترین الل بود (۴).

اطلاعات تنوع ژنتیکی بین جمعیت‌ها بر اساس جایگاه‌های ژنی مایکروستلایتی

درمجموع ۸۸ الل به دست آمد. اطلاعات اختلاف ژنتیکی ۶ آغازگر چندشکلی بین نمونه‌های دو منطقه شامل تعداد الل (N_A)، هتروزایگوسیتی مشاهده‌شده

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1397.12.1.2.6]

(H_o) و قابل‌انتظار (H_e) در جدول ۲ آورده شده است. این پارامترها به ترتیب در اندازه ۱۲ – ۴، ۰/۸۰۷ – ۰/۱۹۷ و ۰/۷۳۳ – ۰/۲۲۶ بودند. میانگین مقادیر فوق برای تالاب انزلی به ترتیب ۹/۳، ۰/۶۳۹ و ۰/۵۸۹ بود که این مقادیر محاسبه‌شده نسبت به دریاچه سد ارس (۵/۳، ۰/۲۸۴، ۰/۳۲۴) بیشتر و معنی‌دار بودند ($P\leq$ ۰/۰۱).

جدول ۲: اطلاعات اختلاف ژنتیکی بین نمونه‌های تالاب انزلی و دریاچه سد ارس
(NA: تعداد الل‌ها، Ho: هتروزایگوسیتی مشاهده‌شده، He: هتروزایگوسیتی قابل‌انتظار)

جایگاه ژنی	پارامترها	تالاب انزلی	دریاچه سد ارس
	N_A	۱۰	۶
Sgl33INRA	H_o	۰/۷۹۵	۰/۲۸۹
	H_e	۷۰۲	۰/۴۲۵
	N_A	۱۲	۶
Sgl5fINRA	H_o	۰/۴۸۶	۰/۳۵۰
	H_e	۰/۳۸۵	۰/۳۱۸
	N_A	۸	۵
Sgl695INRA	H_o	۰/۸۰۷	۰/۱۹۷
	H_e	۰/۷۳۳	۰/۳۸۰
	N_A	۹	۵
Sgl7159INRA	H_o	۰/۶۲۱	۰/۳۹۵
	H_e	۰/۶۴۰	۰/۲۲۶
	N_A	۸	۴
Sgl7eINRA	H_o	۰/۶۱۰	۰/۲۷۴
	He	۰/۵۰۵	۰/۲۹۷
	A	۹	۶
Sgl7fINRA	H_o	۰/۵۱۵	۰/۲۰۱
	H_e	۰/۵۶۹	۰/۴۳۶
Mean N_A		۹/۳ ± ۳/۲۸	۵/۳ ± ۲/۱۸
Mean H_o		۰/۶۳۹ ± ۰/۰۵۵	۰/۲۸۴ ± ۰/۱۵۵
Mean H_e		۰/۵۸۹ ± ۰/۰۳۱	۰/۳۲۴ ± ۰/۰۹۸

اختلاف جمعیتی

مقدار F_{st} بر اساس آزمون AMOVA (آنالیز واریانس مولکولی) ۰/۱۶۵ محاسبه شد که نشان‌دهنده اختلاف جمعیتی بزرگی بین نمونه‌های دو منطقه بود. همچنین فاصله ژنتیکی بر اساس شاخص Nei ۰/۳۸ به دست آمد (جدول ۳). مقادیر محاسبه‌شده هر دو آزمون اختلاف ژنتیکی و جمعیتی قابل‌ملاحظه و معنی‌داری را بین نمونه‌های دو منطقه نشان دادند ($P\leq$ ۰/۰۱).

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1397.12.1.2.6]

جدول ۳: اطلاعات اختلاف ژنتیکی و جمعیتی و فاصله ژنتیکی نمونه‌های تالاب انزلی و دریاچه سد ارس

جمعیت‌ها	اختلاف ژنتیکی و جمعیتی (F_{st})	فاصله ژنتیکی
تالاب انزلی و دریاچه سد ارس	۰/۱۶۵	۰/۳۸

آزمون تعادل هاردی واینبرگ (HDE)

هر ۶ جایگاه ژنی پلی‌مورف استفاده‌شده در این مطالعه به‌منظور تعادل یا عدم تعادل از آزمون هاردی‌واینبرگ موردبررسی قرار گرفتند. جایگاه‌های ژنی *Sgl695INRA* و *Sgl7eINRA* در نمونه‌های تالاب انزلی و جایگاه ژنی *Sgl5fINRA* در نمونه‌های دریاچه سد ارس ازلحاظ هتروزیگوتی از خود افزایش نشان دادند. جایگاه ژنی *Sgl7159INRA* در نمونه‌های تالاب انزلی و جایگاه‌های ژنی *Sgl7eINRA* و *Sgl7fINRA* در نمونه‌های دریاچه سد ارس ازلحاظ هتروزیگوتی از خود کاهش نشان دادند. سایر جایگاه‌های ژنی در نمونه‌های دو منطقه در تعادل با آزمون هاردی واینبرگ بودند (جدول ۴).

جدول ۴: آزمون تعادل ژنتیکی (هاردی واینبرگ) جمعیت‌های ماهی اسبله تالاب انزلی و دریاچه سد ارس

جایگاه ژنی	تالاب انزلی	دریاچه سد ارس
Sgl33INRA	۰	۰
Sgl5fINRA	۰	- ۰/۰۲
Sgl695INRA	- ۰/۱	۰
Sgl7159INRA	۰/۲۰۵	۰
Sgl7eINRA	- ۰/۰۱۸	۰/۱۵۵
Sgl7fINRA	۰	۰/۰۳۵

بحث

طی دهه‌های اخیر، نشانگرهای مایکروستلایتی به دلیل نشان دادن تنوع اللی بالا به‌عنوان یک ابزار ژنتیکی منحصربه‌فرد و مفید مطرح بوده و بسیاری از محققان علوم شیلاتی از این روش در شناسایی و تفکیک جمعیت‌های مختلف آبزیان استفاده نموده‌اند (Dudu *et al*., 2008; Krieg *et al*., 1999). همچنین در سال‌های اخیر بسیاری از جمعیت‌های مختلف ماهیان با استفاده از همین مارکرهای مایکروستلایتی توسط محققین ایرانی و خارجی شناسایی و تفکیک‌شده است (De Woody and Avise, 2000، Markert, Reinartz *et al*., 2000، *et al*., 2001، Chakmehdouz *et al*., 2009، Chakmehdouz *et al*., 2011). ماهی اسبله در بسیاری از کشورهای اروپایی دارای ارزش اقتصادی است و با توجه به افزایش مصرف گوشت این ماهی در سال‌های اخیر در مناطق پراکنش آن بخصوص ساکنین حاشیه تالاب انزلی، متأسفانه هیچ‌گونه مطالعه مولکولی درزمینه ساختار ژنتیکی و جمعیتی آن موجود نیست؛ بنابراین هدف از این مطالعه شناسایی جمعیت‌های این‌گونه در دو منطقه پراکنش و زیست آن (تالاب انزلی و دریاچه سد ارس) با استفاده از نشانگرهای مایکروستلایتی بوده است.

بر اساس نتایج به‌دست‌آمده، تعداد الل‌های به‌دست‌آمده در هر جایگاه ژنی در محدوده ۱۲ – ۴ قرار داشتند و بیشترین میانگین اللی با میانگین ۹/۳ الل متعلق به نمونه‌های تالاب انزلی بود درحالی‌که این مقدار برای نمونه‌های دریاچه سد ارس ۵/۳ بود. کاهش میانگین اللی در نمونه‌های دریاچه سد ارس می‌تواند نشان از وقوع یک تنگنای ژنتیکی در ماهیان اسبله این منطقه و به خاطر کاهش مولدین بوده باشد. از

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1397.12.1.2.6]

پارامترهای تعیین میزان هتروزایگوستی یا تنوع ژنی، هتروزایگوسیتی مشاهده‌شده (H_o) و قابل‌انتظار (H_e) است. هتروزایگوسیتی یا تنوع ژنی محاسبه‌شده برای نمونه‌های تالاب انزلی ۰/۵۸۹ و بیشتر از مقدار محاسبه‌شده برای نمونه‌های دریاچه سد ارس بود (۰/۳۲۴). این مقدار تنوع ژنی بین جمعیت‌های دو منطقه نسبتاً زیاد و معنی‌دار بود ($P\leq$ ۰/۰۱). مقدار تنوع ژنی نسبتاً زیاد در جمعیت تالاب انزلی می‌تواند در ارتباط با تعداد الل‌های موجود و محاسبه‌شده در ماهی اسبله این منطقه باشد. تالاب انزلی دارای رودخانه‌های اصلی و فرعی متعددی است که به این تالاب می‌ریزند و تنوع ژنی موجود در نمونه‌های تالاب انزلی احتمال دارد در رابطه با آمیزش تصادفی جمعیت‌های مختلف موجود بین مولدین ماهی اسبله این رودخانه‌ها بوده باشد. خانواده Clariidae و Ictaluridae از راسته گربه‌ماهی شکلان بوده و به دلیل پراکنش جهانی دارای اهمیت اقتصادی می‌باشند، بنابراین علاقه‌مندی زیادی مبنی بر دستیابی به بیوتکنولوژی صنعت آبزی‌پروری و مطالعات جمعیتی بر اساس تکنیک‌های ژنتیک مولکولی این ماهیان وجود دارد. مطالعات انجام‌گرفته اخیر در سطح آلوزایم‌ها و DNA میتوکندریایی سطح تنوع ژنی اندکی رابین گونه‌های ماهی اسبله نشان داد (Trianfyllidis *et al*., 199a, 199b) درحالی‌که Krieg و همکاران در سال ۱۹۹۹ سطح بالایی از تنوع جمعیتی را در گونه‌های مختلف این خانواده به دست آوردند. متعاقب مطالعات صورت گرفته Triantafyllidis و همکاران در سال ۲۰۰۲ با ۱۰ آغازگر مایکروستلایتی به مطالعه ساختار ژنتیکی و جمعیتی ماهی اسبله در چندین منطقه مختلف پرداختند و توانستند سطح بالایی از تنوع ژنتیکی را در این گونه نسبت به آلوزایم‌ها و روش‌های مبتنی بر DNA میتوکندریایی به دست آورند. Quan و همکاران در سال ۲۰۰۶ در گونه *S. soldatovi* و با استفاده از نشانگرهای مولکولی مایکروستلایتی به مطالعه بین دو جمعیت وحشی رودخانه هیلونگ جیانگ و پرورشی رودخانه سانگوجیانگ پرداختند. در نتایج ایشان مقادیر تنوع ژنی (هتروزایگوسیتی مشاهده‌شده و قابل‌انتظار) بین دو جمعیت متفاوت ولی معنی‌دار نبود. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده در این بررسی بر اساس مقادیر تنوع ژنی و اللی بین دو جمعیت و مشابهت آن‌ها با نتایج محققین ذکرشده، می‌توان از آغازگرهای مایکروستلایتی استفاده‌شده این بررسی برای شناسایی و تفکیک سایر جمعیت‌های این خانواده استفاده نمود. از آزمون‌های آماری مورداستفاده جهت تمایز و تعیین اختلاف ژنتیکی بین جمعیت‌ها در نشانگرهای مایکروستلایتی، مقدار شاخص F_{st} بر اساس آزمون AMOVA است که بین ۱ – ۰ متغیر است (Ballox & Lugan-Moulin, 2002; Quan *et al*., 2006). هرچقدر مقدار F_{st} به عدد ۱ نزدیک‌تر باشد اختلاف ژنتیکی و جمعیتی بیشتر است و بالعکس. در رابطه با شناسایی جمعیت گونه‌های مختلف آبزیان با استفاده از این شاخص گزارش‌های متعددی وجود دارد (Chakmehdouz *et al*., Norouzi *et al*., 2008; Norouzi *et al*., Gharibkhani *et al*., 2009; 2009; 2013) و هریک از این محققین در مطالعات خود نتایج مختلف و معنی‌داری را به دست آورده‌اند. محمودی و همکاران (۱۳۹۳) در بررسی‌های خودبین ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان ایرانی و قزل‌آلای وارداتی از کشور فرانسه با روش مایکروستلایت، مقدار شاخص F_{st} را ۰/۰۵۸ و معنی‌دار به دست آوردند و بیان نمودند

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1397.12.1.2.6]

که تمایز ژنتیکی معنی‌داری بین جمعیت‌های قزل‌آلای ایرانی و وارداتی از کشور فرانسه وجود دارد. شریفی و همکاران (۱۳۹۵) با استفاده از روش توالی یابی DNA ژن سیتوکروم *b* میتوکندریایی میزان شاخص F_{st} بین جمعیت‌های ماهی کلمه دریاچه پشت سد ارس و دو جمعیت غرب و شرق دریای خزر را ۰/۱۲ به دست آورده و عنوان نمودند که جمعیت ماهی کلمه دریاچه پشت سد ارس با دو جمعیت دیگر دارای اختلاف معنی‌دار است. مسافر و همکاران (۱۳۹۶) با روش DNA sequencing ژن D-loop میتوکندریایی میزان شاخص F_{st} برای جمعیت‌های ماهی شبه شوریده دهان سیاه در سواحل شمال غربی دریای عمان را معنی‌دار عنوان نموده و بیان کردند که مطابق با سایر شاخص‌های آماری به‌دست‌آمده این جمعیت‌ها از یکدیگر جدا می‌باشند. در بررسی انجام‌گرفته مقدار شاخص F_{st} قابل‌ملاحظه (۰/۱۶۵) و معنی‌دار بود ($P\leq$ ۰/۰۱) که با توجه به جدایی جغرافیایی و عدم مهاجرت ماهیان موجود، مقدار شاخص محاسبه‌شده قابل‌انتظار بود. همچنین از دلایل بالا بودن نرخ اختلاف ژنتیکی و جمعیتی بین نمونه‌های ماهی اسبله دو منطقه می‌تواند نرخ بالای موتاسیون یا جهش در اندازه اللی به‌دست‌آمده باشد؛ بنابراین با توجه به دور بودن فاصله جغرافیایی دو منطقه از یکدیگر، فاصله ژنتیکی به‌دست‌آمده، مقدار بالا و معنی‌دار بودن شاخص F_{st} می‌توان بیان نمود که ماهی اسبله تالاب انزلی و دریاچه پشت سد ارس ازلحاظ ژنتیکی متفاوت بوده و هر یک جمعیت مستقلی می‌باشند. در بررسی‌های ژنتیکی با استفاده از مارکرهای مایکروستلایتی پیشنهاد می‌شود که جمعیت‌ها با آزمون هاردی واینبرگ در تعادل باشند و این‌زمانی است که مقدار عددی این شاخص به صفر نزدیک‌تر باشد. اگر این مقدار صفر باشد یعنی جمعیت با آزمون هاردی واینبرگ در تعادل است، مقادیر بالاتر از صفر یعنی کاهش افراد هتروزیگوت (دگر مانند) در جمعیت و مقادیر کمتر از صفر یعنی افزایش افراد هتروزیگوت در جمعیت (Quan *et al*., 2006). در این بررسی سه جایگاه ژنی در هر دو جمعیت در تعادل با آزمون هاردی واینبرگ بودند درحالی‌که بقیه جایگاه های ژنی در عدم تعادل با این آزمون بودند. دلایل متعددی مبنی بر فاصله گرفتن جمعیت‌ها با آزمون هاردی واینبرگ عنوان‌شده است از قبیل کم بودن نمونه‌ها، استفاده از آغازگرهای غیراختصاصی، سطح بسیار پایین پلی مورفیسم در جمعیت‌های موردمطالعه و بیشترین احتمال وجود الل‌های صفر (الل های نول) در وراثت‌پذیری جایگاه‌های ژنی مایکروستلایتی است (Paetkau and Strobeck, 1995، Sekino *et al*., 2003). Quan و همکارانش در سال ۲۰۰۶ عنوان کردند که تخریب محیط‌زیست و افزایش فشار صید می‌تواند دلیلی بر عدم تعادل جمعیت‌ها با آزمون هاردی واینبرگ باشد. در این بررسی وجود پلی‌مورفیسم بالا در نمونه‌های دو منطقه، عدم وجود الل‌های نول و نیز استفاده از آغازگرهای اختصاصی نمی‌تواند دلیلی بر انحراف از عدم تعادل هاردی واینبرگ بوده باشد و تنها دلیلی که می‌توان برای آن عنوان نمود فرسایش و تخریب محیط‌زیست ماهی اسبله بخصوص تالاب بین‌المللی انزلی و نیز افزایش فشار صید این‌گونه در دو منطقه فوق طی سالیان اخیر می‌تواند توضیح قابل‌ملاحظه‌ای مبنی بر عدم تعادل بودن دو جمعیت در اکثر جایگاه‌های ژنی باشد. در حال حاضر و با توجه به نتایج حاصل از این بررسی ماهی اسبله این دو منطقه از تنوع ژنتیکی خوبی برخوردارند ولی عدم توجه به

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1397.12.1.2.6]

مسائل زیست‌محیطی و همچنین برنامه‌های آبزی‌پروری بر مبنای اصول ژنتیکی می‌تواند سبب افزایش ضریب هم‌خونی و کاهش اندازه جمعیت ماهی اسبله در دو منطقه موردمطالعه گردد.

ماهی اسبله در بسیاری از کشورهای اروپایی و آسیایی دارای اهمیت اقتصادی است ولی با توجه به پراکنش این‌گونه در بسیاری از منابع آبی ایران، متأسفانه مصرف آن به دلیل عدم وجود فلس حلال نیست و به همین خاطر تکثیر و پرورش آن توسط آبزی پروران موردتوجه قرار نگرفته و مطالعات تنها در خصوص تغذیه، بیولوژی، بیوتکنولوژی ساخت غذا و غیره بوده است و به‌غیراز این بررسی هیچ‌گونه مطالعه دیگری در خصوص ساختار ژنتیکی و جمعیتی آن با استفاده از سایر نشانگرهای ژنتیکی انجام نگرفته است. درمجموع نتیجه حاصل از این بررسی نشان داد که ماهی اسبله تالاب انزلی و دریاچه پشت سد ارس ازلحاظ ژنتیکی جدا بوده و هر یک جمعیت مستقلی را تشکیل می‌دهند و بنابراین اجرای سیاست‌ها و برنامه‌های آبزی‌پروری این‌گونه در راستای تکثیر و پرورش آن‌ها به‌منظور صادرات و ارزآوری ضروری به نظر می‌رسد.

سپاسگزاری

نویسندگان این مقاله بر خود واجب می‌دانند تا از آقایان مهندس رضا نهرور و هیبت ا...نوروزی به جهت جمع‌آوری نمونه از دو منطقه موردمطالعه تشکر و قدردانی نمایند.

منابع

۱. شریفی، م.، نجات خواه معنوی، پ.، چکمه‌دوز قاسمی، ف.، بهمنش، ش.، ۱۳۹۵. ساختار ژنتیکی و جمعیتی ماهی کلمه (*Rutilus rutilus caspicus*) سواحل جنوبی دریای خزر و دریاچه پشت سد ارس با استفاده از روش توالی یابی DNA (DNA sequencing). نشریه توسعه آبزی‌پروری، ۱۰ (۴)، ۶۳ – ۷۶.

۲. محمودی، ر.، گندم‌کار، ح.، عبدالهی، ح.ع.، متین‌فر، ع.، رضوانی گیل‌کلایی، س.، نظری، س.، ۱۳۹۳. تفاوت‌های ژنتیکی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Onchorhynchus mikiss*) موجود در ایران و قزل‌آلای وارداتی از فرانسه. مجله علمی شیلات ایران، ۲۳ (۱)، ۷۵ – ۸۵.

۳. مسافر، م.، رضوانی گیل کلایی، س.، قوام مصطفوی، پ.، ۱۳۹۶. ژنتیک جمعیت ماهی شبه شوریده دهان سیاه *Atrobucca nibe* (Jordan and Thompson, 1911) در سواحل شمال غربی دریای عمان با استفاده از روش PCR-sequencing. نشریه توسعه آبزی‌پروری، ۱۱ (۲)، ۹۱ – ۱۰۳.

4. Ballox, F., Lugon-Moulin, N., 2002. The estimate of population differentiation with microsatellite markers. Molecular Ecology, Vol. 11, pp. 155-165.
5. Banarescu, P.M ., 1989. Zoogeography and History of the Freshwater Fish Fauna of Europe. In: The Freshwater Fishes of Europe (ed. Holcik J), Vol. I/ II, pp. 88–107. AULA Verlag, Wiesbaden.
6. Beardmore, A.L., Mair, C.G., Lewis, C.G., 1997. Biodiversity in aquatic systems in relation to aquaculture. Aquaculture Research, Vol. 28, pp. 829-839.
7. Bolliet, V., Aranda, A., Boujard, T., 2001. Demand-feeding rhythm in rainbow trout and European catfish. Synchronisation by photoperiod and food availability. Physiology and Behavior, Vol. 73, pp. 625–633.
8. Brzuska, E., Adamek, J., 1999. Artificial spawning of European catfish, *Silurus*

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1397.12.1.2.6]

glanis L.: stimulation of ovulation using LHRH-a, Ovaprim and carp pituitary extract. Aquaculture Research, Vol. 30, pp. 59–64.

9. Chakmehdouz Ghasemi, F., Pourkazemi, M., Tavakolli, M., Yarmohammadi, M., Hassanzadeh Saber, M., Baradaran Noveiri, S., 2011. Application of microsatellite markers to determine populations of the Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) in the South of Caspian Sea. Iranian Journal of Fisheries Sciences, Vol. 10, No. 4, pp. 596-606.
10. Chakmehdouz Ghasemi, F., Pourkazemi, M., Zamini, A., Yarmohammadi, M., Baradaran Noveiri, S., Hasanzadeh Saber, M., Rezvani, S., Azizzadeh, L., 2009. Genetic analysis of spring and autumn races of Caspian Sea kutum (*Rutilus frisii kutum*) using microsatellite markers. Iranian Journal of Animal Biosystematics, Vol. 5, No.1, pp. 1-8.
11. Dewoody, J.A., Avise, J.C., 2000. Microsatellite variation in marine, freshwater and anadramous fishes compared with other animals. Journal of Fish Biology, Vol. 56, pp. 461-473.
12. Dudu, A., Georgescu, S.E., Luca, C., Suciu, R., Costache, M., 2008. Microsatellite DNA variation in the Black Sea Stellate sturgeon (*Acipenser stellatus*). Lucrari stiintifice Zootehnie si Biotehnologii, Vol. 41, No. 1, pp. 78-82.
13. Economidis, P.S., Banarescu, P.M., 1991. The distribution and origins of freshwater fishes in the Balkan Peninsula, especially in Greece. International Revue Gesamten Hydrobiologie, 76, 257–283.
14. Gharibkhani, M., Pourkazemi, M., Soltani, M., Rezvani, S., Azizzadeh, L., 2009. Population Genetic Structure of Pikeperch (*Sander lucioperca* Linnaeus, 1758) in the Southwest Caspian Sea Using Microsatellite Markers. Journal of Fisheries and Aquatic Science, Vol. 4, No. 3, pp. 161-168.
15. Hillis, D.M., Mable, B.K., Larson, A., Davis, S.K., Zimmer, E.A., 1996. Nucleic acids IV: sequencing and cloning. In: Hillis, D.M., Moritz, C., Mable, B, (Eds.), Molecular Systematics, second ed. Sinauer Associates, Sunderland, pp. 321-381.
16. Khara, H., Nezami, S.H.A., Satari, M., Mir Hasheminasab, S.F.A.D., Mousavi, S.A., Ahmadinezhad, M., 2007. A survey of Wels (*Silurus glanis*) parasitical pollution of Amirkelayeh wetland, Lahijan. Journal of Biology Science, Vol. 1, No. 1, pp. 11-24.
17. Krieg, F., Triantafyllidis, A., Guyomard, R., 2000. Mitochondrial DNA variation in European populations of *Silurus glanis*. Journal of Fish Biology, Vol. 56, pp. 713–724.
18. Legendre, M., Linhart, O., Billard, R., 1996. Spawning and management of gametes, fertilized eggs and embryos in Siluroidei. Aquatic Living Resources, hors série, pp. 59–80.
19. Markert, J.A., Danley, P.D., Arnegard, M.E., 2001. New markers for new species: microsatellite loci and the East African cichlids. Trends in Ecology and Evolution, Vol. 16, pp. 100–107.
20. Nei, M., 1972. Genetic distance between populations. American Naturalist, Vol. 106, pp. 283-292.
21. Nezami Balouchi, S.A., Khara, H., Rashidi, S.H., Arefi N., 2007. Dite of Wels *Silurus glanis* of Amirkelayeh wetland of Lahijan. Iranian Journal of Biology, Vol. 20, No. 2, pp. 295-306.
22. Norouzi, M., Nazemi, A., Pourkazemi, M., Samiei, M.H., 2013. Population Genetic Study on Common Kilka, *Clupeonella cultriventris* Nordmann, 1840, in the Southwest Caspian Sea, Gilan Province, Using Microsatellite Markers. World Applied Sciences Journal, Vol. 21, No. 11, pp. 1675-1680.
23. Norouzi, M., Pourkazemi, M., Keyvan, A., Fatemi, S.M.R., Kazemi, B., 2008. Population Genetic Structure of Stellate Sturgeon (*Acipenser stellatus* Pallas, 1771) in the South Caspian Sea Using Microsatellite Markers. Journal of Fisheries and Aquatic Science, Vol. 3, No. 3, pp. 158-166.
24. Paetkau, D., Strobeck, C., 1995. The molecular basis and evolutionary history

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1397.12.1.2.6]

of a microsatellite null allele in bears. Molecular Ecology, Vol. 4, pp. 519–520.
25. Peakall, R., 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.
26. Proteau, J.P., Hilge, V., Linhart, O., 1996. Etat actuel et perspectives de la production aquacole des poissons-chats (Siluroidei) en Europe. Aquatic Living Resources, hors série, pp. 229–235.
27. Quan, Y.C., Sun, X.W., Liang, L.Q., 2006. Genetic Polymorphism of Microsatellite DNA in Two Populations of Northern Sheatfish (*Silurus soldatovi*). Acta Genetica Sinica, Vol. 33, No. 10, pp. 908–916.
28. Reinartz, G.E., Karron, J.D., Phillips, R.B., Weber, J.L., 2000. Patterns of microsatellite polymorphism in the range restricted bonobo (*Pan paniscus*): considerations for interspecific comparison with chimpanzees (*P. troglodytes*). Molecular Ecology, Vol. 9, pp. 315–328.
29. Sekino, M., Hamaguchi, M., Aranishi, F., Okoshi, K., 2003. Development of novel microsatellite DNA markers from the Pacific Oyster *Crassostrea gigas*. Marine Biotechnology, Vol. 5, pp. 227-233.
30. Smitherman, R.O., Dunham, R.A., Whitehead, P.K., 1996. Selection, hybridization and genome manipulation in Siluroidei. Aquatic Living Resources, hors série, pp. 93–102.
31. Triantafyllidis, A., Abatzopoulos, T.J., Economidis, P.S., 1999b. Genetic differentiation and phylogenetic relationships among Greek *Silurus glanis* and *Silurus aristotelis* (Pisces, Siluridae) populations, assessed by PCR-RFLP analysis of mitochondrial DNA segments. Heredity, Vol. 82, pp. 503–509.
32. Triantafyllidis, A., Krieg, F., Cottin, C., Abatzopoulos, T.J., Triantafyllidis, C., Guyomard, R., 2002. Genetic structure and phylogeography of European catfish (*Silurus glanis*) populations. Molecular Ecology, Vol. 11, pp. 1039–1055.
33. Triantafyllidis, A., Ozouf-Costaz, C., Rab, P., Suciu, R., Karakousis, Y., 1999a. Allozyme variation in European silurid catfishes, *Silurus glanis* and *Silurus aristotelis*. Biochemical Systematics and Ecology, Vol. 27, pp. 487–498.
34. Varkonyi, E., Bercsenyi, M., Ozouf-Costaz, C., Billard, R., 1998. Chromosomal and morphological abnormalities caused by oocyte ageing in *Silurus glanis*. Journal of Fish Biology, Vol. 52, pp. 899–906.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1397.12.1.2.6]