بررسی ساختار ژنتیک جمعیت ماهی کپور معمولی *Cyprinus carpio* Linnaeus 1758در تالاب انزلی و مصب گرگانرود به روش مولکولی میکروستلایت

آمنه امیرجنتی[۱]، مهرنوش نوروزی*[۱]، علی ناظمی[۲]

۱- دانشگاه ازاد اسلامی واحد تنکابن،گروه شیلات وبیولوژی دریا، تنکابن، ایران، صندوق پستی: ۴۶۸۱۷

۲- دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن گروه زیست شناسی، تنکابن، ایران، صندوق پستی: ۴۶۸۱۷

تاریخ دریافت: ۲۲ فروردین ۱۳۹۲ تاریخ پذیرش: ۲۰ تیر ۱۳۹۲

چکیده

ماهی کپور معمولی، *Cyprinus carpio* متعلق به خانواده Cyprinidae، بزرگ‌ترین خانواده ماهیان استخوانی حقیقی آب شیرین و یکی از گونه‌های مهم اقتصادی در دریای خزر است. در دهه‌های اخیر جهت بازسازی ذخایر کپور معمولی از طریق تکثیر مصنوعی اقدام شده که می‌تواند منجر به تغییر در تنوع ژنتیکی شود. از این رو ساختار ژنتیک جمعیت آن در تالاب انزلی و مصب گرگانرود با استفاده از میکروستلایت‌ها مورد بررسی قرارگرفت. در مجموع ۶۰ نمونه ماهی بالغ از دو منطقه جمع‌آوری شد و از هفت جفت پرایمر میکروستلایت، بر روی DNA ژنومی ماهی کپور استفاده گردید که پنج جفت از پرایمرها چند شکل (پلی مورف) نشان دادند. میانگین اللی آن‌ها در لوکوس‌ها ۵/۹ (دامنه Na ، ۷ تا ۱۲ الل در جایگاه‌ها) بود. هر دو منطقه نمونه‌برداری الل‌های اختصاصی در تمامی لوکوس‌ها نشان دادند. میانگین هتروزیگوسیتی قابل انتظار و هتروزیگوسیتی مشاهده شده به ترتیب ۰/۸۴۹ و ۰/۸۱ محاسبه شد. در بررسی تعادل هاردی وینبرگ (H-W) به جز یک جایگاه در نمونه‌های انزلی (Syp4)، سایر جایگاه‌ها خارج از تعادل هاردی- وینبرگ بودند (P<۰/۰۱). بر اساس تست AMOVA میزان Fst و Rst بین دو منطقه معنی دار بود (P<۰/۰۱). این بررسی، وجود حداقل دو جمعیت متمایز ژنتیکی ماهی کپور در تالاب انزلی و مصب گرگانرود را نشان می‌دهد.

کلمات کلیدی: تالاب انزلی، مصب گرگانرود، ماهی کپور، *Cyprinus carpio* ، ژنتیک جمعیت، میکروستلایت.

* عهده دار مکاتبات (✉). mnoroozi@toniau.ac.ir

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-03]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1392.7.3.2.5]

مقدمه

ماهیان در بین مهره‌داران بیشترین تنوع را به خود اختصاص داده‌اند. بررسی ماهیان در بوم‌سازگان‌های آبی به دلایل متعددی از جمله حفاظت از آن‌ها، مدیریت منابع آبی و بهره‌برداری ذخایر و پرورش ماهی حائز اهمیت است. استفاده اصولی و پایدار از این ذخایر ارزشمند زیستی در دریای خزر در درجه اول نیازمند شناخت کامل از ذخایر و جمعیت‌های موجود این ماهیان می‌باشد. این آگاهی می‌تواند راهگشای برنامه‌ریزی برای مسئولین مربوطه و کلیه عوامل بهره‌بردار در جهت کمک به حفظ ذخایر موجود، کاهش فشار صید، رهاسازی اصولی بچه ماهیان تکثیر شده در مراکز مربوطه و گسترش فعالیت‌های تکثیر و پرورش مصنوعی کپور ماهیان دریای خزر باشد. در طول قرن گذشته پراکنش و فراوانی اندازه جمعیت بسیاری از گونه‌ها به شدت تحت تاثیر فعالیت‌های انسانی قرار داشته است. انقراض گونه‌ها، تکثیر مصنوعی و یا انتقال و معرفی انواع گونه‌ها به محل دیگر به یک امر متداول تبدیل شده و در مورد این که این اعمال چگونه پراکنش افراد واختلاف ژنتیکی در یک جمعیت را تحت تاثیر قرار می‌دهد، شناخت کمی وجود دارد. فعالیت‌های انسانی ساختار جمعیت‌ها را تحت تاثیر قرار داده تا جاییکه افزایش تکثیر مصنوعی سبب یکسان سازی ژنتیکی می‌شود، بنابراین شناخت ترکیب طبیعی و ساختار ژنتیکی جمعیت گونه‌ها امری مهم است (Zhao *et al*., 2005). ماهی کپور معمولی، *Cyprinus carpio* Linnaeus 1758 از خانواده Cyprinidae، بومی آسیای مرکزی است که طی قرن‌های متمادی در نواحی مختلف جهان گسترش پیدا کرده‌است (Kohlmann *et al*., 2003). این ماهی از گونه‌های اقتصادی دریای خزر است و به عنوان منبع غذایی مهمی محسوب می‌گردد. هرچند این گونه به صورت بومی و طبیعی در تمام سواحل دریای خزر وجود دارد و برای تولید مثل وارد مصب رودخانه‌ها می‌شود، اما در سال‌های اخیر به علت صید بیش از حد و از بین رفتن محل‌های تولید مثل، نسل آن کاهش پیدا کرده، به طوری که جزء گونه‌های نیازمند به حفاظت در منطقه به شمار می‌رود (عبدلی و نادری، ۱۳۸۷). در از سالیان گذشته، حفاظت و بازسازی ذخایر این ماهی با ارزش در ایران از طریق تکثیر مصنوعی و رهاسازی بچه ماهیان تولیدی در آب‌های طبیعی صورت می‌پذیرد. تنوع ژنتیکی منابع دریایی اهمیتی حیاتی برای حفاظت و مدیریت از آن‌ها داشته و به عنوان اولین پیش نیاز برای حفظ سازگاری جمعیت‌ها در شرایط محیطی در حال تغییر محسوب می‌گردد (Diz and Persa, 2009). لذا اطلاعات درباره تاریخچه جمعیت‌ها و ساختار ژنتیکی آن‌ها برای پیشبرد برنامه‌های مربوط به حفاظت از گونه‌هایی که در معرض تکثیر مصنوعی قرار دارند، سودمند خواهد بود (Zhang *et al*., 2002). از آنجاییکه اثر روش‌های تکثیر مصنوعی بر ذخایر ژنتیکی آبزیان اثبات شده‌است و هم اکنون نیز بخشی از ذخایر این گونه از تکثیر مصنوعی حاصل می‌گردد، اطلاع از وضعیت ژنتیکی این گونه بسیار ضروری است.

روش‌های مختلفی برای بررسی تنوع ژنتیکی آبزیان وجود دارد از جمله این تکنیک‌ها استفاده از ریز ماهواره‌ها یا همان میکروستلایت (Microsatellite) است که به علت مزایای زیاد از جمله فراوانی و گستردگی بالا در ژنوم، همبارز بودن، پلی مورفیسم بالا و رتبه دهی آسان و دقیق کاربرد گسترده‌ای دارند (Chen *et al*., 2008). لذا در این بررسی از نشانگرهای

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-03]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1392.7.3.2.5]

میکروستلایت برای ارزیابی هر چه بهتر ساختار جمعیتی این گونه در مناطق انزلی و گلستان که از مناطق مهم پراکنش این ماهی هستند استفاده شد.

از مطالعات انجام شده با استفاده از روش مولکولی میکروستلایت بر روی ماهی کپور معمولی می‌توان به Lior و همکاران (۲۰۰۳)، Hanfeling و همکاران (۲۰۰۵)، Kohlman و همکاران (۲۰۰۵) ، Mondo و همکاران (۲۰۰۶)، Thai و همکاران (۲۰۰۷)، Yousefian and Laloei (۲۰۱۱)، Yousefian (۲۰۱۱) قلیچ پور و همکاران (۱۳۸۹) اشاره شود.

مطالعه حاضر با استفاده از جایگاه‌های میکروستلایتی برای مطالعه ساختار جمعیت‌های این ماهی کپور معمولی در حوضه جنوبی دریای خزر در تالاب انزلی و مصب گرگانرود انجام گردید. با این فرض که ماهی کپور معمولی دارای جمعیت‌های مختلف در این دو منطقه است و فراوانی ژنوتیپی و اللی هر یک از جمعیت‌ها با یکدیگر متفاوت است، بنابراین نمونه برداری از این دو منطقه انجام شد تا وجود جمعیت‌های احتمالی و تمایز ژنتیکی بین دو منطقه با استفاده از جایگاه‌های میکروستلایت شناسایی شود و ضرورت اعمال مدیریتی متفاوت بر ذخایر این گونه در دریای خزر بررسی گردد.

مواد و روش‌ها

از هر منطقه (تالاب انزلی و مصب گرگانرود) ۳۰ نمونه ماهی بالغ کپور وحشی در پاییز ۱۳۹۰، از قسمت باله‌ی دمی انجام گرفت. سپس نمونه‌ها در الکل ۹۶٪ تثبیت گردید و در نهایت به آزمایشگاه ژنتیک دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن انتقال یافت و در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد، تا شروع مرحله‌ی استخراج DNA نگهداری شدند. استخراج DNA از بافت باله‌ی دمی ماهی کپور معمولی با استفاده از کیت شرکت Roach آلمان و طبق دستورالعمل شرکت سازنده انجام گردید. به منظور بررسی کمیت و کیفیت DNA استخراج شده از روش‌های اسپکتروفتومتری (CECIL مدل CE2040) و الکتروفورز ژل آگارز ۱٪ استفاده گردید.

واکنش زنجیره‌ای پلی مراز PCR با ۷ جفت پرایمر میکروستلایت MFW6، MFW7، MFW9 (Thai *et al*., 2007)، Ca3/4 (Dimsoski *et al*., 2000)، SyP4 (Crooijmans *et al*., 1997) و Z9/10، Loc5 (Turner *et al*., 2004) انجام گردید (جدول ۱). واکنش PCR توسط دستگاه ترموسایکلر ساخت شرکت BIO-RAD با استفاده از ۲/۵ میکرولیتر بافر PCR، ۰/۵ میلی مولار dNTP، یک میکرولیتر پرایمر، (۵۰ میلی مولار) MgCl2 ۱ میکرولیتر، ۰/۴ واحد آنزیم Taq DNA Polymerase و 2-3 میکرومولار DNA هدف و با آب مقطر تا رسیدن به حجم ۲۵ میکرولیتر انجام شد. شرایط چرخه دمایی و مشخصات داده شده به دستگاه ترموسایکلر برای واکنش زنجیره‌ای پلی مراز به ترتیب مرحله جدا سازی ۹۵ – ۹۴ درجه سانتی‌گراد از ۳۰-۴۵ ثانیه، مرحله اتصال پرایمرها به هدف از ۵۸ تا ۶۳ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰-۴۰ ثانیه و ۳۵ چرخه، مرحله بسط پرایمر ۷۲ درجه سانتی‌گراد، ۴۰ ثانیه تا یک دقیقه بهینه‌سازی گردید. محصول PCR بر روی ژل پلی اکریل آمید ۸ درصد (دیونیزه) الکتروفورز شد و رنگ‌آمیزی ژل با نیترات نقره انجام گرفت (Bassam *et al*., 1991) و تصویر ژل‌ها تهیه گردید و با استفاده از نرم افزار Uvitec بررسی شد.

آنالیز آماری شامل فراوانی اللی (Allel frequency)، تعداد اللی (Na) و تعداد الل‌های موثر (Ne) در جایگاه‌های میکروستلایتی، هتروزیگوسیتی مورد انتظار(He) و مشاهده

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-03]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1392.7.3.2.5]

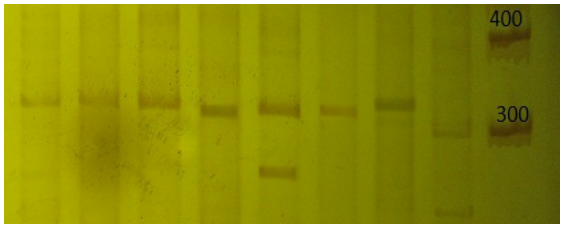
شـده (Ho) ، مقـادیر Fst، Rst و Fis، مـاتریس شـباهت (Genetic identity) و فاصله ژنتیکی (Genetic distance) بر اساس Nei (1972) و تعادل هـاردی وینبـرگ براسـاس مربـع کـای، تمـایز ژنتیکـی بـر اسـاس تسـت AMOVA (Analysis of Molecular Variance) درسـطح احتمـال ۰/۰۱ بـا اسـتفاده از نـرم افـزار GeneAlex (Peakall and Smouse,2006) محاسبه گردید.

جدول ۱: لوکوس، توالی هر یک از پرایمرها

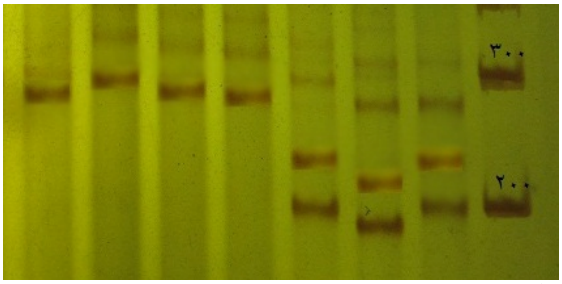
شماره	لوکوس	توالی پرایمرها	رفرنس
۱	MFW6	F-ACCTGATCAATCCCTGGCTC R-GTTTGGGACTTTTAAATCACGTTG	Thai *et al.*, 2007
۲	MFW7	F-TACTTTGCTCAGGACGGATGC R-GTTTATCACCTGCACATCGCCACTC	
۳	MFW9	F-GATCTGCAAGCATATCTGTCG R-GTTTATCTGAACCTGCAGCTCCTC	
۴	SyP4	F-CACACCGGGCTACTGCAGAG R-GTGCAGTGCAGGCAGTTTGC	Crooijmans *et al.,* 1997
۵	Loc5	F-TTACACAGCCAAGACTATGT R-CAAGTGATTTTGCTTACTGC	Turner *et al.,* 2004
۶	Z9/10	F-CGTCTGACAGCCTGCATG R-CTCGGCGCAGTAGGGAAC	
۷	Ca3/4	F-GGACAGTGAGGGACGCAGAC R-TCYAGCCCCAAATTTTACGG	Dimsoski *et al,*. 2000

نتایج

به منظـور بررسـی ژنتیـک جمعیـت نمونـه‌هـای مـاهی کپـور معمـولی در تـالاب انزلـی و مصـب گرگـانرود از ۷ جفـت پرایمـر میکروسـتلایت اسـتفاده گردیـد کـه پـس ازتکثیر و الکترفورز ژل پلی اکریل آمید، ۵ جفـت پرایمـر، تولید باندهای پلـی مورفیـک نمودنـد (MFW6، MFW7، MFW9 ، Ca3/4 و SyP4). در هنگـام شـمارش الگـوی باندی در تمامی جایگاه‌ها یک بانـد و در برخـی مـوارد دو باند دیده شد (شکل‌های ۱ و ۲).



شکل ۱: محصول PCR وآرایش باند DNA ماهی کپور معمولی با استفاده از پرایمر Ca3/4



شکل ۲: محصول PCR وآرایش باند DNA ماهی کپور معمولی با استفاده از پرایمر MFW7

در این بررسی، در کل ۵۶ الل شناسایی شـد. ۴۶ الـل، در نمونه‌های تالاب انزلی شناسایی شـد کـه ۲۶ الـل آن در فراوانی ۰/۰۵ یا کمتر هستند و ۴۹ الل، در نمونه‌های مصب گرگانرود شناسایی شد که ۱۸ الل آن در فراوانی ۰/۰۵ یـا کمتر هستند (جدول ۲). بیشـترین فراوانـی اللـی (۰/۳۰۰) را جایگاه‌های SyP4 و MFW9 به ترتیب در تـالاب انزلـی و مصـب گرگـانرود نشـان دادنـد. بیشـترین تعـداد اللـی را جایگاه MFW6 با ۱۳ الل نشان داد (جدول ۲).

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-03]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1392.7.3.2.5]

جدول ۲: مقادیر تعداد آللی (Na)، آلل های مؤثر (Ne)، اللهای اختصاصی،هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Ho)، هتروزیگوسیتی قابل انتظار (He)، انحراف از تعادل هاردی-وینبرگ (معنی دار نیست، ns ؛ *** P<۰/۰۰۱ ؛ ** P<۰/۰۱ ؛ * P<۰/۰۵) در ۵ جایگاه میکروستلایت

دمای اتصال(درجه سانتی گراد)	مناطق نمونه برداری	
اندازه باند (جفت باز)	مصب گرگانرود	تالاب انزلی	جایگاه
۶۳			MFW6
۱۳۰-۲۱۹	۱۱(۹/۲۳)	۱۰(۵/۵۷)	Na(Ne)
	۱(۰/۸۹۲)***	۱ (۰/۸۲۱)*	Ho(He)
۶۳			MFW7
۱۹۲-۲۶۲	۱۱(۸/۴)	۱۲(۹/۸)	Na(Ne)
	۰/۷۶۷ (۰/۸۸۲)**	۰/۷۰۰ (۰/۸۹۸)***	Ho(He)
۶۱			MFW9
۹۲-۱۴۴	۸(۵/۶)	۷(۵/۲)	Na(Ne)
	۱ (۰/۸۲۲) *	۱ (۰/۸۰۸) ***	Ho(He)
۵۹			SyP4
۴۶۴-۱۲۴	۱۱(۷/۵۹۵)	۸(۵/۲)	Na(Ne)
	۱(۰/۸۶۸) ***	۱ (۰/۸۱۱) ns	Ho(He)
۵۸			Ca3/4
۱۲۴-۴۶۴	۸(۵/۸)	۹(۶/۹۵)	Na(Ne)
کل	۰/۲۶۷ (۰/۸۲۸) **	۰/۳۶۷ (۰/۸۵۶) ***	Ho(He)
۹/۵(۶/۹)	۹/۸(۷/۳)	۹/۲(۶/۵)	میانگین Na(Ne)
۰/۸۱۰(۰/۸۴۹)	۰/۸۰۷(۰/۸۵۸)	۰/۸۱۳(۰/۸۳۹)	میانگین Ho(He)

میانگین تعداد کل الل واقعی و موثر به ترتیب ۹/۵ و ۶/۹ بود و دامنه اللی از ۷ تا ۱۲ الل به‌دست آمد. میانگین تعداد الل واقعی و موثر در تالاب انزلی به ترتیب ۹/۲ و ۶/۵ و مصب گرگانرود به ترتیب ۹/۸ و ۷/۳ به‌دست آمد (جدول ۲). تعداد زیادی الل در فراوانی ۰/۰۵ یا کمتر یافت شد. مجموعاً ۸ الل اختصاصی یافت شد. نمونه‌های تالاب انزلی و مصب گرگانرود به ترتیب دارای ۲ و ۶ الل اختصاصی با فراوانی بیش از ۰/۰۵ بودند که در منطقه دیگر نمونه‌برداری مشاهده نشد. بیشترین الل اختصاصی را جایگاه Ca3/4 با ۳ الل اختصاصی (یک عدد در تالاب انزلی به فراوانی ۰/۱۰۰ و ۲ عدد در مصب گرگانرود به ترتیب به فراوانی ۰/۲۰۰ و ۰/۰۸۳) نشان داد. جایگاه MFW6 با تعداد ۲ الل اختصاصی هر دو در مصب گرگانرود (به فراوانی ۰/۱۰۰ و ۰/۱۵۰) نشان داد. جایگاه MFW9 با تعداد ۲ الل اختصاصی هردو در مصب گرگانرود (به فراوانی ۰/۰۸۳) نشان داد. جایگاه SyP4 با تعداد یک الل اختصاصی در مصب گرگانرود (به فراوانی ۰/۱۱۷) نشان داد. جایگاه MFW7 هیچ الل اختصاصی نشان نداد.

در این بررسی دامنه Ho بین دو فصل نمونه‌برداری در تمامی جایگاه‌ها ۰/۲۶۷ تا ۱ و متوسط ۰/۸۱ بود. میانگین Ho در تالاب انزلی و مصب گرگانرود به ترتیب ۰/۸۱۳ و ۰/۸۰۷ بود. دامنه He نیز بین ۰/۸۰۸ تا

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-03]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1392.7.3.2.5]

۰/۸۹۲ و متوسط آن ۰/۸۴۹ است. میانگین He در تالاب انزلی و مصب گرگانرود به ترتیب ۰/۸۳۹ و ۰/۸۵۴ بود (جدول ۲). در بررسی تعادل هاردی وینبرگ (H-W) همه جایگاه‌ها خارج از تعادل بودند (P<۰/۰۰۱). فقط در جایگاه SyP4 در تالاب انزلی انحراف از تعادل دیده نشد (جدول ۲).

میزان Fst بر اساس فراوانی اللی ۰/۰۲۹ به‌دست آمد که نشان دهنده تمایز ژنتیکی کم می‌باشد. میزان Fst و Rst بر اساس تست AMOVA ، معنی دار بود (P<۰/۰۱) و بر اساس Rst میزان جریان ژنی ۲/۷ محاسبه شد. میانگین ضریب آمیزش خویشاوندی (Fis) در تمامی جایگاه‌های میکروستلایتی ۰/۰۴۳ بود و دامنه آن از ۰/۶۲۴ در جایگاه Ca3/4 تا ۰/۲۲۷- در جایگاه MFW9 محاسبه گردید (جدول ۳). مقادیر مثبت Fis نشان‌دهنده کاهش هتروزیگوسیتی است. جایگاه MFW9 با کم‌ترین میزان Fis بالاترین میزان هتروزیگوسیتی را در تمامی جایگاه‌ها نشان داد (جدول ۳). فاصله ژنتیکی بر اساس Nei، ۰/۳۹۹ و میزان شباهت ژنتیکی ۰/۶۷۱ به‌دست آمد.

جدول ۳: میزان شاخص تمایز (F_{ST}) و ضریب خویشاوندی (F_{IS}) در هر جایگاه

	جایگاه					
	MFW6	MFW7	MFW9	Syp4	Ca3	میانگین (SE)
Fst	۰/۰۳۳	۰/۰۰۴	۰/۰۴۷	۰/۰۱۹	۰/۰۴۱	۰/۰۲۹(۰/۰۰۸)
F_{IS}	-۰/۱۶۸	۰/۱۷۶	-۰/۲۲۷	-۰/۱۹۱	۰/۶۲۴	۰/۰۴۳ (۰/۱۶۲)

بحث

بررسی اکولوژی و ژنتیک جمعیت ماهیان با ارزش اقتصادی، برای حفاظت از ذخایر آن‌ها و تداوم صید پایدار، بسیار ضروری است (Wang *et al*., 2011). تنوع ژنتیکی، قابلیت بقای یک گونه و یا جمعیت را از طریق ایجاد توانایی سازگاری با تغییرات محیطی فراهم می‌کند. بنابراین، تنوع ژنتیکی برای بقای طولانی مدت یک گونه ضروری است (Bataillon *et al*., 1996) و اهمیتی حیاتی برای مدیریت و حفاظت از منابع دریایی دارد و به عنوان اولین پیش‌نیاز برای حفظ سازگاری جمعیت‌ها در شرایط محیطی در حال تغییر قلمداد می‌گردد (Diz and Presa, 2009) . همچنین هر چه دانش ما از جمعیت‌ها و تنوع درون گونه‌ای گونه ها بیشتر باشد تلاش برای حفاظت از آن گونه موفقیت آمیزتر است. هم اکنون، کاهش ذخایر آبزیان در اکثر نقاط دنیا توجه محققان را به اعمال روش‌های دقیق مولکولی جهت مدیریت ذخایر آبزیان جلب نموده است.

همچنین مقایسه ساختار ژنتیکی دو جمعیت کپور معمولی در مناطق قره‌سو و انزلی با استفاده از میکروستلایت توسط قلیچ پور و همکاران (۱۳۸۹) انجام شد. نتایج آن‌ها بیانگر این امر بود که جمعیت‌های مورد بررسی از غنای اللی و تنوع ژنتیکی قابل قبولی برخوردارند. ضمن اینکه بر اساس نتایج آن‌ها، وجود هتروزیگوسیتی بالا در منطقه قره‌سو، گویای جریان ژنی بالا در این منطقه بوده‌است که تأثیرات منفی تکثیر

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-03]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1392.7.3.2.5]

مصنوعی بر تنوع ژنتیکی را خنثی می‌کند. در مقایسه با تحقیقات سایرین در ماهی کپورمعمولی با استفاده از میکروستلایت‌ها، Kohlmann و همکاران (۲۰۰۵) میانگین تعداد اللی به‌دست آمده (۸/۱۷) و دامنه اللی بین ۲/۵ تا ۱۴ الل در جایگاه‌ها به‌دست آورد، Mondo و همکاران (۲۰۰۶)، میانگین تعداد اللی در سویه‌های مختلف کپور معمولی را بین ۶ تا ۷/۴۰ الل به‌دست آورند. Thai و همکاران (۲۰۰۷) دامنه اللی بین ۴/۲۵ تا ۱۱ الل در جایگاه‌ها اعلام کردند، Yousefian and Laloei (۲۰۱۱)، دامنه اللی بین ۶ تا ۱۰ الل به‌دست آورند. Yousefian (۲۰۱۱)، دامنه اللی بین ۵/۵ تا ۱۳ الل به‌دست آورد. قلیچ پور و همکاران (۱۳۸۹) دامنه اللی را بین ۱۱ تا ۱۸ الل اعلام نمودند. در بررسی حاضر میانگین تعداد اللی ۶/۹ و دامنه اللی بین ۷ تا ۱۲ الل به‌دست آمد. در بررسی حاضر، اگرچه دو منطقه اختلاف معنی‌داری را در میزان تنوع ژنتیکی در جایگاه‌ها نشان ندادند، اما تفاوت معنی‌داری در تمایز ژنتیکی نشان دادند. در سال‌های اخیر به دلیل افزایش فعالیت صیادی مجاز و غیرقانونی، کاهش ضریب بازگشت بچه ماهیان رهاسازی شده ناشی از کاهش وزن رهاسازی و کاهش تکثیر طبیعی باعث شده است، میزان صید ماهیان استخوانی روند کاهشی پیدا کند (قربانی و همکاران، ۱۳۸۹). با وجود اینکه تعداد اللی به‌دست آمده در محدوده ماهیان آب شیرین و ماهی کپورمعمولی می‌باشد. اما در این بررسی تعداد زیادی الل با فراوانی پایین به‌دست آمد. وجود الل‌های زیاد با فراوانی پایین نشان دهنده تنگناهای ژنتیکی یا اثرات آمیزش خویشاوندی است (Alarcon *et al*., 2004). کاهش تغییرپذیری ژنتیکی در ذخایر وحشی را به کاهش شدید ذخایر این ماهی در سالیان گذشته می‌توان نسبت داد. متاسفانه، یکی از عواملی که در طی سال‌های اخیر باعث فشار بر ذخایر و بهره‌برداری بی‌رویه از ذخایر گردیده، سهم بسیار زیاد صید ماهیان غیراستاندارد و نابالغ است. کوچک بودن اندازه چشمه در قسمت کیسه پره‌های ساحلی باعث گردیده که سهم ماهیان غیراستاندارد در صید، در حد بسیار زیادی باشد (قربانی و همکاران، ۱۳۸۹). همچنین در تالاب انزلی مشکلاتی از قبیل صید بی‌رویه، آلودگی زیست محیطی، تخریب زیستگاه اصلی (تالاب انزلی) و پایین آمدن سطح آب دریای خزر طی چند دهه گذشته، منجر به کاهش ذخایر ماهیان در تالاب انزلی شده‌است. روند کاهش تنوع ژنتیکی، آمادگی برای بیماری و سایر فاکتورهای انتخابی را افزایش می‌دهد (Shen and Gong, 2004) و در صورت تداوم وضع موجود باید شاهد کاهش شدید در اندازه جمعیت این گونه در آینده نزدیک بود.

هتروزیگوسیتی شاخصی برای ارزیابی تنوع ژنتیکی است و اهمیت زیادی در مطالعه ساختارجمعیت گونه‌ها دارد زیرا تامین کننده طیف وسیعی از ژنوتیپ به عنوان پاسخی به سازش پذیری در شرایط متغیر محیطی است و بسیاری از خصوصیات مهم اقتصادی مثل رشد، باروری و مقاومت در برابر بیماری تحت تاثیر آن است (Beardmore *et al*., 1997). نتایج بررسی حاضر بر روی ماهی کپورمعمولی نشان می‌دهد که میانگین هتروزیگوسیتی (۰/۰۹±) ۰/۸۱ است و بیشتر از مقدار اعلام شده (۰/۲۵±۰/۵۴) برای ماهیان آب شیرین است (DeWoody and Avis, 2000). در این بررسی در هر دو منطقه نمونه برداری میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده نسبت به هتروزیگوسیتی قابل انتظار پایین‌تر بود. در مقایسه با تحقیقات سایرین در ماهی کپورمعمولی،

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-03]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1392.7.3.2.5]

Kohlmann و همکاران (۲۰۰۵) دامنه هتروزیگوسیتی قابل انتظار ۰/۴۲۶ تا ۰/۸۸۷ به‌دست آورند، Mondo و همکاران (۲۰۰۶)، دامنه هتروزیگوسیتی مشاهده شده را ۰/۵۱ تا ۰/۷۶ و هتروزیگوسیتی قابل انتظار ۰/۷۵ تا ۰/۸۲ به‌دست آورند. Thai و همکاران (۲۰۰۷) دامنه هتروزیگوسیتی مشاهده شده را ۰/۴ تا ۰/۸۳ اعلام نمودند. Yousefian and Laloei (۲۰۱۱)، دامنه هتروزیگوسیتی قابل انتظار ۰/۶۴۹ تا ۰/۸۵۶ به‌دست آورند. Yousefian (۲۰۱۱)، دامنه هتروزیگوسیتی مشاهده شده را ۰/۴۱۲ تا یک و هتروزیگوسیتی قابل انتظار ۰/۶۹۶ تا ۰/۸۵۶ به‌دست آورند. قلیچ پور و همکاران (۱۳۸۹) میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده را یک و هتروزیگوسیتی قابل انتظار را ۰/۹ به‌دست آوردند و آنرا دلیلی بر تنوع ژنتیکی بالا در جمعیت‌های کپور معمولی در مناطق مورد بررسی دانستند. در بررسی حاضر، دامنه هتروزیگوسیتی مشاهده شده را ۰/۳۶۷ تا یک و دامنه هتروزیگوسیتی قابل انتظار ۰/۸۰۸ تا ۰/۸۹۸ به‌دست آمد. به نظر McQuown و همکاران (۲۰۰۳) افزایش هتروزیگوسیتی در برخی جایگاه‌ها احتمالاً به خاطر وجود اللهای نول می‌باشد که به اشتباه رتبه دهی شده‌اند. علاوه بر الل‌هایی با فراوانی پایین، ضریب خویشاوندی مثبت دلیلی دیگر بر کاهش تنوع ژنتیکی و افزایش آمیزش خویشاوندی است که تحت تاثیر عواملی همچون صید بی‌رویه، کاهش تکثیر طبیعی و شیوه‌های نادرست تکثیر مصنوعی است.

در بررسی حاضر بر روی ماهی کپورمعمولی، در هر دو منطقه نمونه برداری تقریبا تمامی لوکوس ها خارج از تعادل هاردی- وینبرگ بودند ($P\leq$۰/۰۰۱). Kohlmann و همکاران (۲۰۰۷)، Mondo و همکاران (۲۰۰۶)،Thai و همکاران (۲۰۰۷)، Yousefian and Laloei (۲۰۱۱)، Yousefian (۲۰۱۱)، انحراف از تعادل هاردی_ وینبرگ را در بررسی ساختار ژنتیکی ماهی کپور معمولی به وسیله میکروستلایت‌ها گزارش کردند. Mondo و همکاران (۲۰۰۶)، Thai و همکاران (۲۰۰۷)، انحراف از تعادل هاردی_ وینبرگ را در جایگاه‌ها ناشی از اندازه کوچک جمعیت موثر و تنگنای ژنتیکی (در جمعیت‌های هجری) بیان کردند. به نظر می‌رسد، در بررسی حاضر افزایش هتروزیگوسیتی، اختلاط جمعیت‌ها و یا جفتگیری غیرتصادفی عامل انحراف از تعادل هاردی_ وینبرگ باشد.

Rst و Fst به طور معمول در توصیف تمایز جمعیت در سطوح مختلف ساختار ژنتیکی استفاده می‌شوند (Balloux and Lugan, 2002). برای تفسیر 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). در این بررسی میزان Fst بر اساس فراوانی اللی ۰/۰۲۹ به‌دست آمد که نشان دهنده تمایز ژنتیکی کم می‌باشد (Balloux and Lugan-Moulin, 2002). بر اساس تست AMOVA میزان Fst و Rst بین دو منطقه نمونه‌برداری معنی‌دار بود ($P<$۰/۰۱). بنابراین ساختار ژنتیکی جمعیت‌ها از یکدیگر جداست و حداقل دو جمعیت مختلف ژنتیکی در بندر انزلی و مصب گرگانرود وجود داشته باشد. کم بودن مقدار Fst به علت پلی مورفیسم بالا (ناشی از جهش) در میکروستلایت‌ها و مهاجرت در این ماهی است که به طور موثری میزان Fst را کاهش می‌دهند (Balloux and Lugan-Moulin, 2002).

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-03]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1392.7.3.2.5]

Shaklee و همکـاران (۱۹۸۲)، Thorpe and Sol-Cave(۱۹۹۴) میـزان فاصـله ژنتیکـی (Nei) بـرای جدایی جمعیت‌ها را به طـور میـانگین ۰/۳ (دامنـه آن از ۰/۰۳ تـا ۰/۶۱) ذکـر کـرده‌انـد کـه بـا فاصـله ژنتیکـی مشاهده شـده در ایـن بررسـی مطابقـت دارد (۰/۳۹۹) و نشان دهنده تمایز ژنتیکی بین جمعیت‌های مشاهده شـده است.

نتـایج ایـن مطالعـه، دلایـل اولیـه بـرای وجـود جمعیت‌های متمایز ماهی کپور معمولی در تالاب انزلـی و مصب گرگانرود را نشان مـی‌دهـد. نگرانـی اصـلی در تکثیر مصنوعی این مـاهی در حفاظـت از تنـوع ژنتیکـی آن است. بنابراین، برای حفاظت از ذخایر ژنتیکی آن‌ها ضروری است، محل‌های تخم‌ریـزی طبیعـی ایـن گونـه احیاءگردد، همچنین از تورهای با اندازه چشمه مناسـب برای صید این ماهیان استفاده گردد تا سهم ماهیـان غیـر استاندارد و نابالغ به حداقل برسد.

سپاسگزاری

ایـن پـژوهش در آزمایشـگاه تحقیقـات ژنتیـک مولکـولی دانشـگاه آزاد اسـلامی واحـد تنکـابن انجـام پـذیرفت. از تمـامی همکـاران گرامـی در آزمایشـگاه ژنتیک از جملـه آقایـان مهنـدس اسـکندری، سـمیعی و بهروز تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

۱. عبدلی، الف.، نـادری، م.، ۱۳۷۸. تنـوع زیسـتی ماهیـان حوضه جنوبی دریـای خـزر. انتشـارات علمـی آبزیـان، ۲۴۲ صفحه.

۲. قربـانی، ر.، یلقـی، س.، عقیلـی، م.، ۱۳۸۹. بررسـی و تحلیل وضعیت صـید شـرکت‌هـای تعـاونی صـید پـره ماهیان استخوانی در استان گلستان در سال بهره برداری ۱۳۸۵- ۱۳۸۴. مجله شـیلات، دانشـگاه آزاد اسـلامی، واحد آزادشهر. سال چهارم، شماره سوم. ۴۷-۳۹ ص.

۳. قلیچ‌پور، م.، شعبانی، ع.، شعبانپور، ب.، ۱۳۸۹. مقایسـه ساختار ژنتیکی دو جمعیت کپور معمـولی (*Cyprinus carpio*) در مناطق قره‌سو و انزلـی بـا اسـتفاده از هشـت نشانگر میکروسـتلایت. تاکسـونومی و بیوسیسـتماتیک، شماره پنجم، سال دوم، صفحه های ۴۱-۴۸.

4. Alarcon, J. A., Magoulas, A., Georgakopoulos, T., Zouros, E., Alvarez, M. C., 2004. Genetic comparison of wild and cultivated European populations of the Gilthead Sea Bream (S*parus aurata*) Aquaculture, Vol. 230, pp. 65–80.
5. Balloux, F., Lugon-Moulin, N., 2002. The estimate of population diffraction with microsatellite markers. Molecular Ecology, Vol.11, pp.155-165.
6. Bassam, B.J., Caetano-Anolles, G., Gressoff, G.M., 1991. Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide gels. Annual Biochemistry, Vol.84, pp.680-683.
7. Bataillon, T. M., David J. L., Schoen, D. J., 1996. Neutral genetic markers and conservation: simulated germplasm collections. Genetics, Vol. 144, pp. 409-417.
8. Beardmore, J. A., Mair, G. C. Lewis, R. I., 1997. Biodiversity in aquatic systems in relation to aquaculture. Aquaculture Research, Vol.28, pp. 829– 839.
9. Chen, L., Li, Q., Yang, J., 2008. Microsatellite genetic variation in wild and hatchery populations of the Sea Cucumber (*Apostichopus Japonicus selenka*) from northern China. Aquaculture Research, Vol. 39, pp.1541-1549.
10. Crooijmans, R. P. M., Bierbooms, V., Komeh, J., Vanderpoe, J. J., Groenen, M., 1997. Microsatellite markers in Common Carp (*Cyprinus carpio*). Animal Genetics, Vol. 28, pp. 129-134.
11. DeWoody, J. A., Avise, J. C., 2000. Microsatellite variation in Marine, freshwater and anadromous fishes compared with other animals. Journal of Fish Biology, Vol. 56, pp. 461-473.
12. Dimsoski, P., Toth, G. P., Bagley, M. J., 2000. Microsatellite chaeacterization in (Cyprinidae). Molecular Ecology, Vol.9, pp. 2187-2189.
13. Diz, P. A., Presa, P., 2009. The genetic diversity pattern of *Mytilus alloprovincialis* in

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-03]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1392.7.3.2.5]

Galician Rias (NW Iberian estuaries). Aquaculture, Vol. 287, pp. 278-285.
14. Hanfeling, B., Bolton, P., Harley, M., Carvalho, G., 2005. A molecular approach detects hybridization between Crucian Carp (*Crassius crassius*) and non-indigenous Carp species (*Crassius* spp. and *Cyprinus carpio*). Freshwater Biology, Vol.50, pp. 403-417.
15. Kohlmann, K., Kersten, P., Flajshans, M., 2005. Microsatellite-based genetic variability and differentiation of domesticated, wild and feral Common Carp (*Cyprinus carpio*) populations. Aquaculture, Vol.247, pp. 253-266.
16. Lior, D., Shula, B., Marcus, F., Uri, L., Jossi, H., 2003. Recent duplication of the Common Carp (*Cyprinus carpio*) genome as revealed by analysis of microsatellite loci. Molecular Biology Evolution, Vol.20, pp. 1425-1434.
17. McQuown, E., Krueger, C. C., Kincaid, H. L., Gall, G. A. B and MAY, M., 2003. Genetic comparison of Lake Sturgeon population: Differentiation based on allelic frequencies at seven microsatellite loci. Journal of Great Lakes Research, Vol. 29, pp. 3-13.
18. Mondol, K.R., Islam Sh., Alam, S., 2006. Characterization of different strain of common carp (*Cyprinus carpio* l) (Cyprinidae, Cypriniformes) in Bangladesh using microsatellite DNA markers. Genetics and Molecular Biology, Vol. 29, pp. 626-633.
19. Nei, M., 1972. Genetic distance between populations. American Naturalist, Vol.106, pp. 283-292.
20. 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.
21. Shaklee, J. B., Tamaru, C. S., Waples, R. S., 1982. Speciationand evolution of marine fishes studied by electrophoretic analysis of proteins. Pacific Science, Vol.36, pp.141-157.
22. Shen, X.Y., Gong, Q. L., 2004. Population genetic structure analysis of the imported Turbot Seedlings *Scophthalmus maximus*. Using RAPD and microsatellite technique. Oceanology and Limnology Science, Vol. 35, pp. 332–341.
23. Thai, B.T, Burridge, C. P., Pham, T. A., Austin, C. M., 2007. Genetic diversity of Common Carp (*Cyprinus carpio* L.) in Vietnam using four microsatellite loci. Aquaculture, Vol. 269, pp. 174-186.
24. Thorpe, J.P., Sole-Cava, A. M., 1994. The use of allozyme electrophoresis in invertebrate systematics. Zoologica Scripta, Vol. 23, pp. 3-18.
25. Turner, F., T. E., Dowling, R. E., Broughton, Gold, J.R., 2004. Variable microsatellite marker amplify across divergent lineages of Cyprinidae fish. Conservation Genetic, Vol. 5, pp. 279-281.
26. Wang J., Chenghui W., Long, Q., Yuqing, M., Xinxin, Y., Zsigmond, J., Sifa, L., 2011. Genetic characterization of 18 novel microsatellaite loci in northern pike (*Esox lucius*). Genetic and Molecular Biology, Vol.34, pp.169-172.
27. Wright, S., 1978. Evolution and the Genetics of Population, Variability Within and Among Natural Populations. The University of Chicago Press, Chicago. 590P.
28. Yousefian, M., 2011. Genetic variations of common cap (*Cyprinus carpio*) in South-Eastern of Caspian Sea using five microsatellite loci. World Journal of Zoology. Vol.6, pp. 56-80.
29. Yousefian, M., Laloei, F., 2011. Genetic Variations and Structure of Common Carp, (*Cyprinus carpio*) Populations by Use of Biochemical, Mitochondrial and Microsatellite Markers. Middle-East Journal of Scientific Research, Vol. 7, pp. 339-345.
30. Zhang, Y. P., Wang, X. X., Ryder, O. A., Li, H. P., Zhang, H. M., Yong, Y., Wang P. Y., 2002. Genetic diversity and conservation in endangered animal species. Pure Applied Chemistry, Vol. 74, pp. 575-584.
31. Zhao, N., Ai, W., Shao, Z., Zhu, B., Brosse S., Chang, J., 2005. Microsatellites assessment of Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis* Gray) genetic variability. Journal Applied Ichthyology, Vol. 21, pp. 7-13.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-03]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1392.7.3.2.5]