

تعیین ساختار ژنتیکی جمعیت گاوماهی سرگنده (*Neogobius kessleri gorlap*) دریای خزر با استفاده از نشانگرهای ریزماهورهای در سواحل ایرانی دریای خزر (گلستان و گیلان)

* حمزه پور غلام^۱، عباسعلی زمینی^۲، فرامرز لالوئی^۱، حسین خارا^۱ و محمدجواد تقوی^۱

^۱ پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، ساری، ^۲ دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد لاهیجان

چکیده

به منظور مطالعه ساختار ژنتیکی جمعیت‌های گاوماهی سرگنده (*Neogobius kessleri gorlap*) با استفاده از نشانگرهای ریزماهورهای، تعداد ۱۰۰ نمونه ماهی از سواحل گلستان و گیلان جمع‌آوری شد. DNA ژنومی نمونه‌ها از بافت نرم باله به روش فنل - کلروفورم استخراج گردید که غلظت آن در کلیه نمونه‌ها ۵۰ تا ۱۰۰ نانوگرم بود. واکنش PCR با استفاده از ۶ جفت پرایمر میکروستلایت انجام و محصول PCR با استفاده از ژل پلی‌آکریل‌آمید ۸ درصد الکتروفورز و با نیترات نقره رنگ‌آمیزی شدند. نتایج به‌دست آمده از این بررسی نشان داد که هر ۶ جفت پرایمر میکروستلایتی بررسی شده در گاوماهی سرگنده الگوی باندهای پلی‌مورف داشتند. میانگین تعداد آل‌های مشاهده شده و مؤثر در سواحل گلستان به ترتیب ۱۱/۳۳۳ و ۷/۶۶۰ و در استان گیلان ۱۰/۲۰۰ و ۵/۷۳۷ بود. همچنین میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار به ترتیب ۰/۵۷۱ و ۰/۸۱۲ محاسبه شد. براساس نتایج به‌دست آمده در هر دو منطقه گیلان و گلستان و در جایگاه‌های مختلف میکروستلایت به جز جایگاه‌های NG71، NG111 و NG215 در سواحل گلستان انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ به‌دست آمد. همچنین مقدار F_{ST} بین نمونه‌های سواحل گلستان و گیلان ۰/۰۵۲ و مقدار Nm بین دو منطقه ۴/۵۲۱ بود. فاصله ژنتیکی و شباهت ژنتیکی بین نمونه‌های دو منطقه ۰/۶۳۴ و ۰/۳۶۶ بود. نتایج به‌دست آمده از تست AMOVA و مقدار F_{ST} نشان داد که بین نمونه‌های دو منطقه اختلاف معنی‌دار وجود دارد. بر این اساس می‌توان عنوان نمود که ۲ گروه ژنتیکی متفاوت از این گونه در سواحل ایرانی دریای خزر (گیلان و گلستان) وجود دارد.

واژه‌های کلیدی: تنوع ژنتیکی، میکروستلایت، دریای خزر، *Neogobius kessleri gorlap*

مقدمه

گاوماهیان در آب‌های شیرین، لب شور و دریایی نواحی گرمسیری و نیمه‌گرمسیری زیست نموده و با ۵ زیر خانواده بیش از ۲۱۲ جنس و حداقل ۱۸۷۵ گونه، بزرگترین تیره ماهیان دریایی محسوب می‌شوند (Sapota, ۲۰۰۴).

دریای خزر حدود ۳۵ گونه و زیر گونه از خانواده گاوماهیان را در خود جای داده است (نادری و

عبدلی، ۱۳۸۷). با توجه به مطالعات انجام شده، گاوماهی سرگنده با نام علمی *Neogobius kessleri gorlap* به‌عنوان گونه غالب در کرانه جنوبی دریای خزر شناخته شده است. ترکیب غذایی این گونه به‌طور عمده از گاوماهیان شنی دریای خزر و تا حدی گاوماهی *Bentophilus stellatus* و سایر منابع شامل صدف کاردیوم، میگو، کیلکا، خرچنگ پهن و همچنین بچه‌ماهی کفال به‌عنوان غذای ثانویه می‌باشد (مرادی، ۱۳۷۵).

* مسئول مکاتبه: hamze.p12@gmail.com

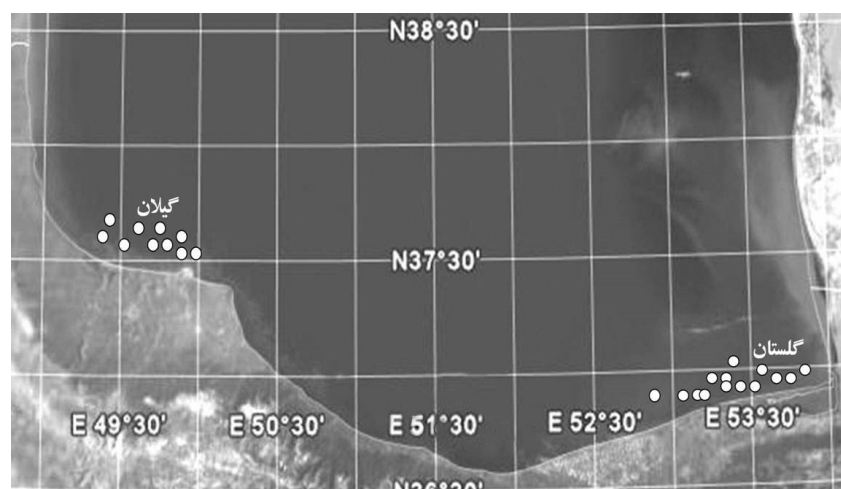
رودخانه دانوب را با استفاده از ۱۲ نشانگر میکروستلایت مطالعه نمودند. همچنین Dougherty و همکاران (۱۹۹۶) با استفاده از آنالیز mtDNA جمعیت *N. melanostomus* را در دریاچه Lauretian مورد بررسی قرار دادند. از آنجا که تاکنون تحقیقی در مورد تنوع ژنتیکی و بررسی جمعیت‌های احتمالی گاوماهی سرگنده در سواحل ایرانی دریای خزر صورت نگرفته است، در این مطالعه سعی شده است تا جمعیت‌های این گونه توسط نشانگرهای میکروستلایت در سواحل استان گلستان و گیلان انجام شود.

روش کار

نمونه‌برداری از گاوماهی سرگنده از دریا با استفاده از تور ترال و پره از سواحل استان گیلان (منطقه ساحل غازیان تا گرگانرود) به تعداد ۵۳ قطعه و سواحل استان گلستان (منطقه خلیج گرگان تا گمیشان) به تعداد ۴۷ قطعه انجام شد (شکل ۱). از هر نمونه ماهی به میزان ۱ تا ۳ گرم بافت باله دمی جدا شد و در الکل اتیلیک ۹۶ درصد نگهداری و به آزمایشگاه ژنتیک مولکولی پژوهشکده اکولوژی دریای خزر منتقل گردید.

زمان مهاجرت و تخم‌ریزی اغلب گاوماهیان در دریای خزر در ۲ و یا ۳ سالگی بوده و تخم‌ریزی آن‌ها از ماه اسفند تا شهریور و به صورت متفاوت و بر روی بسترهای سنگی و در داخل لانه یا پوسته صدف صورت می‌گیرد. گاوماهیان مناطق جنوبی دریای خزر نسبت به مناطق مرکزی زودتر مهاجرت خود را آغاز می‌کنند، به طوری که گونه‌های *N. syman* و *N. kessleri* نسبت به سایر گونه‌ها زودتر مهاجرت نموده و بعد از تخم‌ریزی به مناطق عمیق مهاجرت می‌نمایند (عباسی و همکاران، ۱۳۸۸). گاوماهیان دریای خزر به جهت تغذیه از بی‌مهرگان کفزی و سایر ماهیان کوچک از رقبای غذایی سایر ماهیان دریای خزر محسوب می‌شوند. اما با این وجود خود آن‌ها نیز مورد تغذیه سایر ماهیان با ارزش شیلاتی از جمله تاس‌ماهیان، شگ‌ماهیان، ماش‌ماهی، ماهی اسبله، سوف و تنها پستاندار دریای خزر، فک دریای خزر قرار می‌گیرند. اعتقاد بر این است که نزدیک به ۴۰ درصد از غذای فک دریای خزر و بیشتر از ۵۰ درصد جیره غذایی فیل‌ماهی در نواحی جنوب‌شرقی دریای خزر را گاوماهیان تشکیل می‌دهند (فیلاتووا، ۱۳۷۳).

Vyskocilova و همکاران (۲۰۰۷) تنوع ژنتیکی *Neogobios kessleri* در مناطق بالا و میانی



شکل ۱- مناطق نمونه‌برداری گاوماهی سرگنده در سواحل استان گلستان و گیلان

استفاده گردید که توالی و مشخصات آن در جدول ۱ آمده است (Vyskocilova, ۲۰۰۷). واکنش PCR با حجم ۲۵ میکرولیتر با استفاده از ۵ میکرولیتر بافر PCR (۱۰X)، dNTP با غلظت ۲۰۰ میکرومول، ۱- Taq DNA polymerase، ۰/۵ میکرولیتر آنزیم MgCl₂ با غلظت ۲/۵ میلی مول، ۲۰ نانوگرم DNA هدف و آب مقطر انجام شد.

استخراج DNA با بهینه کردن روش فنل - کلروفرم از باله دمی ماهی انجام شد (Fevolden و Pogson, ۱۹۹۷) و بررسی کمی و کیفی DNA استخراج شده توسط دستگاه بیوفتومتر (مدل اپندورف) و الکتروفورز ژل آگارز ۱ درصد صورت پذیرفت. برای انجام واکنش PCR از ۶ جفت پرایمر میکروستلایت مربوط به ماهی *N. kessleri kessleri*

جدول ۱- توالی و مشخصات پرایمرهای میکروستلایت مورد استفاده برای گاوماهی سرگنده

جایگاه	کد بانک ژن	توالی پرایمر	محل تکرار	دمای اتصال	محدوده الی (bp)*
NG111	EF029924	F: GTGTGGATCGGTGCCTAACT R: ACTCGGCTTTCTCTGCTCTG	(GA)8GG(GA)3GG (GA)2GG(GA)5	۵۱	۲۰۴-۲۷۴
NG115	EF029925	F: CACTTCCCTGTGGTGTGATG R: CCTTGCTGTCTCCAAGTGC	(AG)4TCTGC(GT)5 N58(GT)9	۵۸	۲۰۴-۲۶۴
NG70	EF029937	F: CGATTCTGTACGGTGTAT R: CACAACAAGCCATGTCCAAA	(TG)12	۵۷	۱۶۸-۲۹۶
NG71	EF029938	F: GAAGCCATTCTGCCTTTCTG R: GTGTCGCATGAGTTGAATGG	(GC)4TCTGC (CT)24GC(CT)4	۵۵	۱۸۸-۲۲۰
NG92	EF029939	F: AAGCACTCACGCCAAAGTC R: AGTGCTGCCATGTCAATCTG	(CA)8(CGCA)6 (CG)2(CGCA)5	۵۰	۱۴۰-۱۹۲
NG215	EF029933	F: GCACAATGCCACACTTTAGG R: CGGTAACACACTCTGGCTCA	(TC)14(GT)21	۵۷	۱۵۶-۲۴۴

*محدوده الی ذکر شده مربوط به مطالعه حاضر می باشد.

واینبرگ، مقادیر R_{ST} و F_{ST} ، جریان ژنی و تنوع ژنتیکی با استفاده از نرم افزار GenAlex Ver. 6 (Peakall) و Smouse, ۲۰۰۵) محاسبه گردید.

نتایج

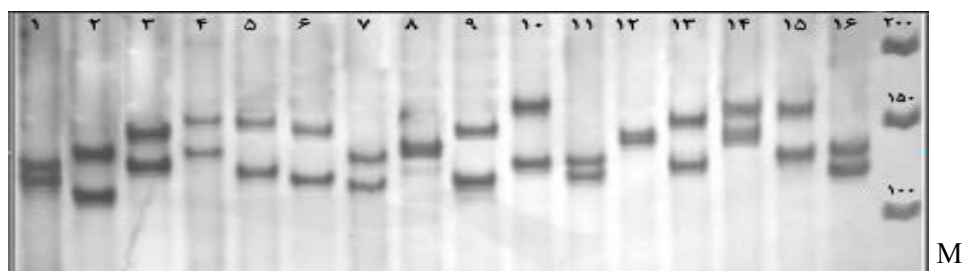
در این بررسی از ۱۰۰ نمونه بافت باله دمی گاوماهی سرگنده، استخراج DNA انجام شد. غلظت DNA در کلیه نمونه ها جهت انجام واکنش PCR مناسب بود (۵۰ تا ۱۰۰ نانوگرم) و با توجه به نتایج الکتروفورز ژل آگارز، از کیفیت مناسبی برخوردار بود. نتایج حاصل از الکتروفورز ژل پلی اکریل آمید در هر ۶ جایگاه در نمونه های مورد بررسی حالت پلی مورف نشان دادند (شکل های ۲ و ۳).

برنامه دستگاه ترمال سایکلر (مدل Auto-Q شرکت Quanta biotech) به ترتیب: مرحله اول واسرشته شدن ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه، مرحله دوم اتصال پرایمرها به هدف ۵۸-۵۰ درجه سانتی گراد به مدت ۴۵ ثانیه و مرحله سوم بسط پرایمر ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۱ دقیقه برای ۳۰ چرخه تنظیم گردید.

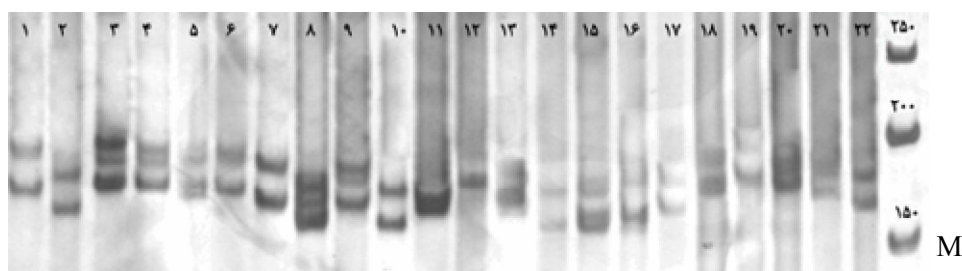
الگوی بانندی محصول PCR (۷-۸ میکرولیتر) با استفاده از الکتروفورز ژل پلی اکریل آمید ۸ درصد و رنگ آمیزی نیترات نقره همراه با نشانگر bp Ladder NA ۵۰، مشاهده گردید. فراوانی الی، هتروزیگوسیتی مورد انتظار و مشاهده شده، تعداد آلل های واقعی و آلل های مؤثر برای هر جایگاه، ماتریس شباهت و فاصله ژنتیکی (Nei, ۱۹۷۲; Nei, ۱۹۷۸)، تعادل هاردی-

منطقه گیلان ۰/۵۷۵ مربوط به جایگاه NG71 و حداقل آن ۰/۰۰۹ بوده است. همچنین حداکثر فراوانی آللی در منطقه سواحل گلستان ۰/۴۰۰ در جایگاه‌های NG92 و حداقل آن ۰/۰۲۰ بود.

براساس نتایج به دست آمده حداکثر تعداد آلل‌ها در دو منطقه نمونه‌برداری در جایگاه NG215 با ۲۰ آلل و حداقل آن در جایگاه NG71 با ۸ آلل دیده شد. با توجه به جدول ۲ حداکثر فراوانی آللی در



شکل ۲- جایگاه‌های ریزماهورهای در گاوماهی سرگنده با استفاده از پرایمر NG71، ستون ۱-۸ سواحل گلستان، ستون ۹-۱۶ سواحل گیلان، ستون M مارکر



شکل ۳- جایگاه‌های ریزماهورهای در گاوماهی سرگنده با استفاده از پرایمر NG215، ستون ۱-۱۰ سواحل گلستان، ستون ۱۱-۲۲ سواحل گیلان، ستون M مارکر

جدول ۲- فراوانی آلل‌ها در جایگاه‌های مورد بررسی و در مناطق مختلف نمونه‌برداری

جایگاه	حداکثر		حداقل	
	گیلان	گلستان	گیلان	گلستان
NG70	۰/۲۶۴	۰/۱۸۰	۰/۰۰۹	۰/۰۲۰
NG71	۰/۵۷۵	۰/۳۶	۰/۰۲۸	۰/۰۴۰
NG92	۰/۴۱۵	۰/۴۰۰	۰/۰۲۸	۰/۰۲۰
NG111	۰/۲۳۶	۰/۱۴۰	۰/۰۳۸	۰/۰۲۰
NG115	۰/۲۴۵	۰/۲۰۰	۰/۰۱۹	۰/۰۲۰
NG215	۰/۱۷۹	۰/۱۶۰	۰/۰۰۹	۰/۰۲۰

جدول ۳- مقادیر هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Ho) و مورد انتظار (He)، آل‌های واقعی (Na) و مؤثر (Ne) در ۶ جایگاه میکروستلایت پلی‌مورفیک در مناطق مختلف نمونه‌برداری

منطقه نمونه‌برداری								جایگاه
گیلان				گلستان				
Ho	He	Na	Ne	Ho	He	Na	Ne	
۰/۵۸۵	۰/۸۵۲	۱۲	۶/۷۳۶	۰/۸۸۰	۰/۸۹۱	۱۳	۹/۱۹۱	NG70
۰/۲۴۵	۰/۶۰۱	۷	۲/۵۰۵	۰/۸۴۰	۰/۷۶۷	۷	۴/۲۹۶	NG71
۰/۱۳۲	۰/۷۱۲	۷	۳/۴۷۰	۰/۴۴۰	۰/۷۲۷	۵	۳/۶۶۶	NG92
۰/۶۶۰	۰/۸۳۴	۹	۶/۰۱۵	۰/۹۲۰	۰/۹۰۰	۱۵	۱۰/۰۰۰	NG111
۰/۷۹۲	۰/۸۲۸	۱۰	۵/۸۲۸	۰/۹۶۰	۰/۸۸۱	۱۳	۸/۳۸۹	NG115
۰/۹۰۶	۰/۹۰۸	۱۸	۱۰/۸۶۷	۰/۸۸۰	۰/۹۰۴	۱۵	۱۰/۴۱۷	NG215
۰/۵۴۷	۰/۷۷۷	۱۰/۲۰۰	۵/۷۳۷	۰/۵۸۵	۰/۸۵۲	۱۱/۳۳۳	۷/۶۶۰	میانگین

استثنای منطقه گلستان در جایگاه‌های NG71 و NG111، افزایش هتروزیگوسیتی یا به عبارت دیگر بیشتر بودن مقادیر He نسبت به Ho وجود دارد. براساس نتایج آزمون مربع کای (جدول ۴) در هر دو منطقه گیلان و گلستان و در جایگاه‌های مختلف میکروستلایتی به جز جایگاه‌های NG71، NG111 و NG215 در سواحل گلستان انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ مشاهده شده است.

ماتریس فواصل و شباهت ژنتیکی با استفاده از معیار فاصله ژنتیکی Nei (۱۹۷۲) انجام شد. محاسبات انجام شده نشان داد که فاصله ژنتیکی و شباهت ژنتیکی بین نمونه‌های منطقه گیلان و گلستان به ترتیب $0/634$ و $0/366$ می‌باشد. میزان R_{ST} ، F_{ST} و جریان ژنی (Nm) بین دو منطقه گیلان و گلستان به ترتیب $0/052$ ، $0/255$ و $4/521$ ، محاسبه شده است. براساس نتایج حاصل از تست و مقدار F_{ST} بین نمونه‌های سواحل گلستان و گیلان اختلاف معنی‌دار مشاهده شده است ($P < 0/01$). شکل ۲ تنوع ژنتیکی درون و بین مناطق نمونه‌برداری گاوماهی سرگنده را نشان می‌دهد.

جدول ۳ نشان می‌دهد که بیشترین تعداد آل‌های مشاهده شده و آل‌های مؤثر در منطقه گیلان به ترتیب ۱۸ و $10/867$ و کمترین آن ۷ و $2/505$ بود. در سواحل گلستان نیز بیشترین تعداد آل‌های مشاهده شده و آل‌های مؤثر به ترتیب ۱۵ و $10/417$ و کمترین آن ۵ و $3/666$ بود. همان‌گونه که جدول نشان می‌دهد در تمامی مناطق نمونه‌برداری و برای تمام جایگاه‌ها مقدار Ne از Na کمتر می‌باشد.

دامنه هتروزیگوسیتی مشاهده شده بین مناطق نمونه‌برداری در جایگاه‌های شش‌گانه بین $0/132$ تا $0/960$ بود. بیشترین مقدار هتروزیگوسیتی مشاهده شده مربوط به جایگاه NG115 در نمونه‌های منطقه گلستان و کمترین مقدار در جایگاه NG92 در منطقه گیلان می‌باشد.

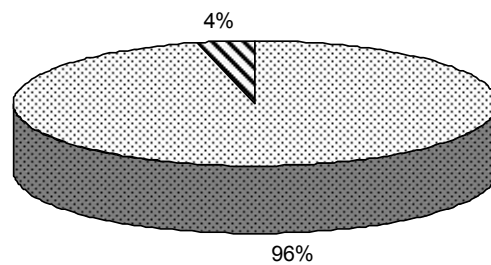
دامنه هتروزیگوسیتی مورد انتظار در مناطق نمونه‌برداری بین $0/601$ تا $0/908$ بود. بیشترین مقدار هتروزیگوسیتی مورد انتظار مربوط به جایگاه NG215 و کمترین مقدار آن مربوط به جایگاه NG71 در نمونه‌های منطقه گیلان مشاهده شده است.

محاسبه ضرایب افت هتروزیگوسیتی نشان می‌دهد که در مناطق نمونه‌برداری و در تمام جایگاه‌ها به

جدول ۴- نتایج آزمون مربع کای (χ^2) برای تعادل هاردی- واینبرگ برای جایگاه‌های میکروستلایتی پلی‌مورفیک در مناطق نمونه‌برداری شده از گاوماهی سرگنده

منطقه	عوامل تعادل χ^2	NG70	NG71	NG92	NG111	NG115	NG215
گیلان	درجه آزادی	۶۶	۲۱	۲۱	۳۶	۴۵	۱۵۳
	آزمون مربع کای	۲۴۵/۸۶۱	۱۵۸/۲۱۴	۲۳۷/۳۹۴	۱۲۲/۹۹۸	۱۴۲/۵۶۲	۲۶۹/۳۰۱
	احتمال	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰
	معنی‌دار بودن	***	***	***	***	***	***
گلستان	درجه آزادی	۷۸	۲۱	۱۰	۱۰۵	۷۸	۱۰۵
	آزمون مربع کای	۱۸۴/۶۸۰	۲۳/۵۸۷	۵۹/۱۱۱	۱۱۴/۱۵۹	۱۲۹/۳۳۳	۱۲۵/۴۳۸
	احتمال	۰/۰۰۰	۰/۳۱۴	۰/۰۰۰	۰/۲۵۵	۰/۰۰۰	۰/۰۸۵
	معنی‌دار بودن	***	ns	***	ns	***	ns

*** ($P < 0.01$)، ns غیر معنی‌دار.



اختلاف بین مناطق هر منطقه □ اختلاف بین افراد در داخل هر منطقه □

شکل ۲- تنوع ژنتیکی بین نواحی و افراد هر منطقه در ۶ جایگاه میکروستلایت پلی‌مورفیک در گاوماهی سرگنده

بحث و نتیجه‌گیری

در این بررسی تنوع ژنتیکی گاوماهی سرگنده در ۶ جایگاه میکروستلایتی در سواحل استان‌های گیلان و گلستان مورد مطالعه قرار گرفت. براساس نتایج به‌دست آمده، میانگین تعداد آلل‌های مشاهده شده در نمونه‌های سواحل گیلان و گلستان به ترتیب ۱۰/۲۰ و ۵/۷۳ بود. همچنین میانگین تعداد آلل‌های مؤثر در نمونه‌های گیلان و گلستان به ترتیب ۱۱/۳۳ و ۷/۶۶ بوده است. قابل ذکر است که آلل‌های مشاهده شده در هر جایگاه زنی به شدت تحت تأثیر اندازه نمونه بوده و به همین جهت این امکان وجود دارد که در آزمایشات

گوناگون با تعداد نمونه‌های متفاوت تعداد آلل‌های واقعی مختلفی برای یک جایگاه معین به‌دست آید (Peakal و Smous, ۲۰۰۵).

میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده در دو منطقه نمونه‌برداری ۰/۵۶۶ و هتروزیگوسیتی قابل انتظار ۰/۸۱۴ به‌دست آمده همان‌گونه که نتایج نشان می‌دهد، میانگین هتروزیگوسیتی قابل انتظار در سواحل گلستان از نمونه‌های سواحل گیلان بیشتر بوده و علاوه بر این اختلاف هتروزیگوسیتی قابل انتظار و مشاهده شده در سواحل گلستان بیشتر از گیلان می‌باشد. بیشتر بودن این اختلاف در سواحل

NG111 در سواحل گلستان، هتروزیگوسیتی مشاهده شده نسبت به هتروزیگوسیتی قابل انتظار کمتر بود. کاهش هتروزیگوسیتی مشاهده شده نسبت به هتروزیگوسیتی قابل انتظار نشان‌دهنده کاهش در تغییرپذیری ژنتیکی نمونه‌ها است. علت این کاهش تنگناهای ژنتیکی می‌باشد که احتمالاً بر اثر شرایط زیست‌محیطی، تخریب زیستگاه‌های طبیعی، آمیزش‌های خویشاوندی به وجود می‌آید و در نتیجه با گذشت زمان موجب کاهش آلل و کاهش هتروزیگوسیتی در ذخائر می‌شود (Norris و همکاران، ۱۹۹۹).

نتایج مطالعه حاضر نیز نشان می‌دهد که به استثنای جایگاه‌های NG71، NG111 و NG215 در سواحل گلستان در سایر جایگاه‌ها، انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ مشاهده می‌گردد ($P < 0.001$). در صورتی که جمعیت گاوماهی سرگنده در سواحل گیلان در تمام جایگاه‌های مورد بررسی خارج از تعادل هاردی-واینبرگ بوده و انحراف از تعادل نسبت به نمونه‌های گلستان بیشتر می‌باشد. وجود آلل‌های صفر، تلاقی خویشاوندی و استفاده از پرایمرهای غیراختصاصی از دلایل انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ می‌باشد.

Zhou و همکاران (۲۰۰۵) در مطالعه ارزیابی تنوع ژنتیکی ماهی *Acipenser sinensis* نیز انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ را به وجود آلل‌های صفر و تلاقی خویشاوندی نسبت دادند.

Dahle و همکاران (۲۰۰۶) ضمن بررسی ترکیب ذخایر *Gadus morhua*، انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ را به علت افزایش هوموزایگوسیتی، آلل‌های نول، رانش ژنتیکی، انتخاب، مخلوط شدن و غیرکافی بودن نمونه‌ها نسبت داده‌اند. با توجه به مطالعات انجام

گلستان بیانگر این است که گاوماهی سرگنده در این منطقه باید از تنوع ژنتیکی بیشتری نسبت به وضعیت فعلی برخوردار باشد. احتمالاً یکی از دلایل را می‌توان به وجود ذخایر تاس‌ماهیان و به خصوص فیل‌ماهی در سواحل گلستان نسبت داد که از گاوماهیان تغذیه نموده و این امر موجب می‌شود که تا حدودی ذخایر گاوماهی کاهش یافته و از تنوع ژنتیکی قابل انتظاری برخوردار نباشد.

Vyskocilova و همکاران (۲۰۰۷) تنوع ژنتیکی *Neogobios kessleri* در مناطق بالا و میانی رودخانه دانوب را با استفاده از ۱۲ نشانگر میکروستلایت مطالعه نمودند. تعداد آلل‌ها در ۳۳۲ نمونه ماهی ۲ تا ۴ و هتروزیگوسیتی بین ۰/۱۳ تا ۰/۷۵ بود. همچنین در مطالعات دیگر مقدار هتروزیگوسیتی مشاهده شده در ماهی *N. melanostomus* به ترتیب ۰/۱۳ تا ۰/۵۲ و ۰/۱۵ تا ۰/۵۰ بود (Vyskocilova و همکاران، ۲۰۰۷). مقادیر هتروزیگوسیتی مشاهده شده در این مطالعات تقریباً متناسب با مطالعه حاضر می‌باشد.

فراوانی هتروزیگوت‌ها از این جهت اهمیت دارد که هر هتروزیگوت ناقل آلل‌های متفاوتی است که این نشان‌دهنده وجود تنوع می‌باشد. به همین دلیل معمول‌ترین معیار تنوع ژنی در یک جمعیت میزان هتروزیگوسیتی می‌باشد (Adams و Hutchings، ۲۰۰۳). هتروزیگوسیتی بیانگر طیف وسیعی از ژنوتیپ به عنوان پاسخ به سازش‌پذیری در شرایط متغیر محیطی است و بسیاری از خصوصیات مهم اقتصادی مثل رشد، باروری و مقاومت در برابر بیماری را تحت‌تأثیر قرار می‌دهد (Brightte و همکاران، ۲۰۰۵).

در این بررسی در هر دو منطقه نمونه‌برداری شده و در تمام جایگاه‌ها به غیر از جایگاه NG71 و

شده، عدم صدق فرضیات مربوط به مدل هاردی-واینبرگ ممکن است ناشی از مکانیزم‌های بوم‌شناختی باشد (Kitanishii و همکاران، ۲۰۰۸).

فاکتور F_{ST} بیان‌کننده توصیف تمایز جمعیت در سطوح مختلف ساختار ژنتیکی می‌باشد و بیانگر آن است که هرچه میزان جریان ژنی بین مناطق بیشتر باشد، اختلاف ژنتیکی کمتر است (Beacham و Macconachi، ۲۰۰۴؛ Avise، ۲۰۰۴). در این بررسی مقدار F_{ST} بین دو منطقه گلستان و مازندران ۰/۰۲۸ بود که براساس معیارهای در نظر گرفته شده (F_{ST} کمتر از ۰/۰۵ نشان‌دهنده تمایز ژنتیکی پایین است)، میزان تمایز بین جمعیت‌های بررسی شده در محدوده تمایز ژنتیکی پایین قرار دارد (Clark و Hartle، ۱۹۸۹).

مقادیر R_{ST} و F_{ST} برای توصیف تمایز جمعیت‌ها در سطوح مختلف ساختار ژنتیکی به‌کار می‌رود. هدف اصلی از بازسازی و حفاظت از ماهیان حفظ دامنه وسیعی از تنوع ژنتیکی (ذخایر ژنی) می‌باشد. سازگاری و بقای گونه‌ها هنگامی حفظ می‌شود که تغییرپذیری ژنتیکی موجود از دست نرود (Skaala و همکاران، ۲۰۰۵؛ Smith و Meveagh، ۲۰۰۵).

در این بررسی با توجه به نتایج حاصل از آزمون AMOVA و مقدار F_{ST} در سواحل گلستان و گیلان

می‌توان عنوان نمود که دو گروه ژنتیکی متفاوت از این گونه در دریای خزر (سواحل گیلان و گلستان) وجود دارد. عوامل مختلفی بر روی ساختار جمعیتی ماهیان در یک منطقه خاص تأثیر می‌گذارند که می‌توان از شرایط زیستی (تغییرات کمیت و کیفیت غذایی، بیولوژی تولیدمثل نظیر بسترهای تخم‌ریزی، رفتارهای تولیدمثلی، حضور ماهیان هم‌سفره، رقابت و مهاجرت) و شرایط غیرزیستی متنوع (نوع بستر، تغییر جریان‌ات آبی، دمای آب، اکسیژن محلول و...) نام برد (Ford و همکاران، ۲۰۰۴؛ Belanger و همکاران، ۲۰۰۴). بنابراین تفاوت بین ۲ گروه می‌تواند به خاطر اختلاف در نوع بستر، شیب بستر، وسعت، عمق کم در نواحی مختلف، شوری و برخی پارامترهایی مانند pH در سواحل گلستان و گیلان باشد. همچنین نوع تغذیه (تنوع ماکروبتوتوزها در غرب و شرق حوضه جنوبی با هم متفاوت می‌باشد) و تقابل بین گونه‌ای در این تنوع مؤثر است. علاوه بر این همان‌گونه که ذکر گردید گاوماهیان غذای اصلی ماهیان خاویاری بوده و موضوع صید و شکار و سایر کنش‌های بین گونه‌ای می‌تواند تفاوت در سازگاری زیستگاه‌ها را به‌وجود آورد. این شرایط زیست‌محیطی احتمالاً می‌تواند باعث تغییراتی در ساختار ژنتیکی گاوماهیان گردد.

منابع

- عباسی، ک.، سرپناه، ع.، عبدالملکی، ش.، سبک‌آرا، ج.، مکارمی، م.، بابائی، ه.، باقری، س.، ماهی‌صفت، ف.، و سکری، م.، ۱۳۸۸. بررسی پراکنش و زیست‌شناختی گاو ماهی خزری *Neogobius caspius* در سواحل استان گیلان. مؤسسه تحقیقات شیلات ایران، ۱۳۵ صفحه.
- فیلاتووا، م.، ۱۳۷۳. جانوران و تولیدات زیستی دریای خزر. ترجمه شریعتی. شرکت سهامی شیلات ایران، ۱۷۱ صفحه.
- مرادی، م.ع.، ۱۳۷۵. پراکنش و خصوصیات مهم زیستی گاوماهی سرگنده (*Neogobius kessleri Gorlap*) در سواحل جنوب‌شرقی دریای خزر. دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، ۱۴۵ صفحه.

نادری، م.، و عبدلی، ا.، ۱۳۸۷. تنوع زیستی ماهیان حوضه جنوبی دریای خزر، ۲۲۳ صفحه.

- Adams, B.K. and Hutchings, A., 2003. Micro geographic population structure of brook char: a comparison of micro satellite and mark-recapture data. *Journal of Fish Biology*, 62, 517-533.
- Avise, J., 2004. *Molecular Markers, Natural History and Evolution*. Chapman and Hall, New York. 511p.
- Beacham, T.D., and Macconachi, C., 2004. Micro satellite identification of individual sockeye salmon in Barkley Sound, British Columbia. *Journal of Fish biology* 61, 1021-1032.
- Belanger, A.J., Arbuckle, W.J., Corkum, L.D., Gammon, D.B., Li, W., Scott, A.P., and Zielinski, B.S., 2004. Behavioural and electrophysiological responses by reproductive female *Neogobius melanostomus* to odors released by nonspecific males. *Journal of Fish Biology* 65, 933-946.
- Brightie, J., Hansen, M. and Loeschker, V., 2005. Micro satellite DNA analysis of northern pike (*Esox lucius*) populations: insights into the genetic structure and demographic history of a genetically depauperate species. *Biology Journal of Linnaean Society* 84, 1-11.
- Dahle, G., Jorstad, K.E., Rusaas, H.E., and Ottera, H., 2006. Genetic characteristics of brood stock collected from four Norwegian coastal cod (*Gadus morpha*) populations. *ICES Journal of Marine Science* 63, 209-215.
- Dougherty, J.D., Moore, W.S., and Ram, J.L., 1996. Mitochondrial DNA analysis of round goby (*Neogobius melanostomus*) and tubenose goby (*Proterorhinus marmoratus*) in the Great Lakes basin. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 53, 474-480.
- Fevolden, S.E., and Pogson, G.H., 1997. Genetic divergence at the synaptophysin locus among Norwegian Coastal and North-east Arctic population of Atlantic Cod. *Journal of fish Biology* 51, 895-908.
- Ford, J., Tibbetts, I., and Carseldine, L., 2004. Ventilation rate and behavioral responses of two species of inter tidal goby (Pisces: Gobiidae) at extreme environmental temperature. *Hydrobiologia* 528, 63-73.
- Hartle, D.L., and Clark, A.G., 1989. *Principles of population genetics*. Sinauer Associates Inc publishers, Massachusetts. U.S.A. 107p.
- Kitanishii, S., Yamamoto, T., and Higashi, S., 2008. Microsatellite variation reveals fine-scale genetic structure of masu salmon, *Oncorhynchus masou*, within the Atsuta River. *Ecology of Freshwater Fish*. pp. 1-7.
- Nei, M., 1972. Genetic distance between populations. *American Naturalist*. 106, 283-292.
- Nei, M., 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89, 583-590.
- Norris, A.T., Bradley, D.G., and Cunningham, E.D., 1999. Microsatellite genetic variation between and within farmed and wild Atlantic salmon populations. Department of Genetics, Trinity College Dublin, Ireland. pp. 247-264.
- Peakall, M., and Smouse, A., 2005. *Gene Alex 6: Genetic analysis in Excel*. Population genetic software for teaching and research. The Australian National University, Canberra, Australia.
- Sapota, M.R., 2004. The round goby (*Neogobius melanostomus*) in the gulf of Gdansk-A species introduction into the Baltic Sea. *Hydrobiologia* 514, 219-224. Netherlands.
- Skaala, Q., Hoyheim, B., Glover, K., and Dahlea, G., 2005. Microsatellite analysis in domesticated and Wild Atlantic salmon (*Salmo salar* L.): allelic diversity and identification of individuals. *Aquaculture* 240, 131-143.
- Smith, P., and Mcveagh, M., 2005. Allozyme and microsatellite DNA markers of tothfish population structure in the Southern Ocean. *Journal of Fish Biology* 57, 72-83.
- Vyskocilova, M., Ondrackova, M., and Sinkova, A., 2007. Isolation and characterization of microsatellites in *Neogobius kessleri* (Perciformes, Gobiidae) and cross-species amplification within the family Gobiidae. *Molecular Ecology Notes* 7, 701-704.

Zhou, J.F., Wu, Q.J., Ye, Y.Z., and Tong, J.G., 2005. Genetic divergence between *Cyprinus carpio carpio* and *Cyprinus carpio haematopterus* as assessed by mitochondrial DNA analysis, with emphasis on origin of European domestic carp. *Genetica* 119, 93-97.

Determination of *Neogobius kessleri gorlap* population genetic structure in Iranian coasts of the Caspian Sea (Guilan and Golestan) by microsatellite markers

*** H. Pour Gholam¹, A.A. Zamini², F. Lalouei¹, H. Khara² and M.J. Taghavi¹**

¹Caspian Sea Ecology Center, Sari,

²Faculty of Natural Resources, Islamic Azad University, Lahijan Branch

Abstract

Genetic diversity of *Neogobius kessleri gorlap* population was examined by 100 samples from Iranian coasts of the Caspian Sea (Guilan and Golestan). Genomic DNA was extracted from fin tissue by phenol-chloroform method and its concentration was 50 to 100 nanogram. PCR was performed using 6 microsatellite primers. PCR products were resolved through vertical non-denaturing 8% polyacrylamide gels electrophoresis. The amplified microsatellite loci were visualized through silver staining. The results showed that each of 6 primers were polymorphism in *Neogobius kessleri gorlap*. The mean of observed and effective allele number was 11.333 and 7.066 respectively in Golestan coast and 10.200 and 5.737 in Guilan coast. Also the mean of observed and expected heterozygosity was 0.571 and 0.812 respectively. It was also seen that specimens from two regions (exception locus NG71, NG111 and NG215 in Golestan coast) were not in Hardy-Weinberg Equilibrium in all of the loci. Based on Analysis of Molecular Variance (AMOVA) F_{ST} was 0.052 between Golestan and Guilan coasts. Also Nm value was 4.521 between two regions. Genetic distance was 0.634 between specimens from Guilan and Golestan coasts. As result, there is a significant genetic divergence between some of samples. Therefore, two genetic group of *Neogobius kessleri gorlap* were identified in Iranian coasts of the Caspian Sea (Guilan and Golestan coasts).

Keywords: Genetic variation; Microsatellite; Caspian Sea; *Neogobius kessleri gorlap*

* Corresponding Author; Email: hamze.p12@gmail.com