

Research Article

Investigating the Genetic Diversity of Common Pochard (*Aythya ferina*) Using 6 Microsatellite Markers in Iran

Shabnam Chavoshi¹, Jalil Iamani Harsini^{1*}, Hamidreza Rezaei², Pargol Ghavam Mostafavi¹

1- Department of Natural Resources and Environment, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

2- Department of Environment, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

*Corresponding author: Jalil.imani@ut.ac.ir

Received: 12 June 2024

Accepted: 15 August 2024

DOI: 10.60833/ascij.2024.1122536

Abstract

The study of the genetic structure and diversity of the common pochard (*Aythya ferina*) in Iran was carried out using microsatellites. 30 pochards were sampled from the Caspian Sea and the Hor-al-Azim Wetland during 2019-2021. DNA extraction and amplification of microsatellite target genes were performed with the relevant primers and statistical analyses were performed with Gene Alex, GelAnalyzer, Arlequin, and MEGA software. The highest number of true alleles, 7 alleles, were observed at the Alp36 locus in the southern population, and the lowest number of true alleles, 2 alleles, were observed at the Alp36 locus in the northern population. The highest number of effective alleles with a frequency of 5.000 in the northern population was Smo11 and the lowest number of effective alleles in the northern and southern populations was 2.000 at the Alp2 and Alp36 loci. The range of heterozygosity observed in all loci of the populations was between 0.133 and 1.000, and the highest heterozygosity observed in Alp36 in the northern region and Sfiq4 in the southern region with a frequency of 1.000, and the lowest value in the northern region was observed in Mmo3 with a frequency of 0.133. The range of expected heterozygosity (He) between the sampling regions at the loci was between 0.491 and 0.800. The highest amount of expected heterozygosity in all regions was observed in the Smo11 locus in the north and the least amount of expected heterozygosity was observed in the Mmo3 locus in the south. Fst was calculated to be 0.25. According to the allele results, since Fst is less than 0.33 and all the studied loci showed significant deviation from the Hardy-Weinberg equilibrium (except for two loci sfiq4 and smo11 in the southern population which were not significant), it indicates low genetic differences between populations and high gene flow within Iranian populations. Also, the drawn phylogenetic tree shows high gene flow within populations.

Keywords: *Aythya ferina*, Genetic diversity, Microsatellite.



بررسی تنوع ژنتیکی اردک سرحنائی (*Aythya ferina*) با استفاده از شش نشانگر ریزماهوره در ایران

شبنم چاوشی^۱، جلیل ایمانی هرسینی^{۱*}، حمیدرضا رضائی^۲، پرگل قوام مصطفوی^۱

۱- گروه محیط زیست و منابع طبیعی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- گروه محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی، گرگان، ایران

*مسئول مکاتبات: Jalil.imani@ut.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۵/۲۵

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۳/۲۳

DOI: 10.60833/ascij.2024.1122536

چکیده

مطالعه ساختار و تنوع ژنتیکی اردک سرحنائی (*Aythya ferina*) زمستان‌گذران ایران با استفاده از ریزماهوره است. نمونه‌برداری ۳۰ قطعه اردک سرحنائی طی سال‌های ۱۳۹۸ تا ۱۴۰۰ از دریای خزر و تالاب هورالعظیم انجام شد. استخراج DNA و تکثیر ژن-های هدف مایکروستلایت با پرایمرهای مربوطه و تجزیه و تحلیل‌های آماری با نرم‌افزارهای Gene Alex، GelAnalyzer، Arlequin و MEGA صورت گرفت. بیشترین تعداد آل واقعی، ۷ آل در جایگاه ژنی Alp36 در جمعیت جنوب و کمترین آل واقعی، ۲ آل در جایگاه ژنی Alp36 در جمعیت شمال مشاهده گردید. بیشترین تعداد آل موثر با فراوانی ۵/۰۰۰ در جمعیت شمال Smo11 و کمترین تعداد آل موثر در جمعیت شمال و جنوب ۲/۰۰۰ در جایگاه ژنی Alp2 و Alp36 مشاهده گردید. دامنه هتروزیگوسیتی مشاهده شده در تمامی جایگاه‌های ژنی جمعیت‌ها بین ۰/۱۳۳ تا ۱/۰۰۰ بود و بیشترین هتروزیگوسیتی مشاهده شده در Alp36 در منطقه‌ی شمال و Sfiq4 در منطقه جنوب با فراوانی ۱/۰۰۰ و کمترین مقدار در منطقه شمال در Mmo3 با فراوانی ۰/۱۳۳ مشاهده گردید. دامنه‌ی هتروزیگوسیتی مورد انتظار (He) بین مناطق نمونه‌برداری در جایگاه‌های ژنی بین ۰/۴۹۱ تا ۰/۸۰۰ بود بیشترین هتروزیگوسیتی مورد انتظار در کل مناطق در جایگاه ژنی Smo11 در شمال و کمترین هتروزیگوسیتی مورد انتظار در جایگاه ژنی Mmo3 در جنوب مشاهده گردید. با توجه به نتایج آل‌ها، از آنجائی که Fst کمتر از ۰/۳۳ بوده و تمامی لوکوس‌های مورد مطالعه انحراف معنی‌داری از تعادل هاردی-واینبرگ نشان دادند (بجز دو لوکوس sfiq4 و smo11 در جمعیت جنوب که فاقد معنی بودند)، حاکی از تفاوت ژنتیکی کم بین جمعیت‌ها و جریان ژنی بالا درون جمعیت‌های ایران است. همچنین درخت فیلوژنی ترسیم شده جریان ژنی بالای درون‌جمعیتی را نشان می‌دهد.

کلمات کلیدی: اردک سرحنائی، تنوع ژنتیکی، ریزماهوره، نشانگر، پرندگان مهاجر.

مقدمه

شهریور تا اواخر زمستان در تالاب‌های ایران دیده - می‌شود. طی سرشماری‌هایی که هر ساله توسط سازمان حفاظت محیط زیست انجام می‌شود، با وجود کاهش

اردک سرحنائی (*Aythya ferina* Linnaeus, 1758) در زیرخانواده‌ی Anatineae از خانواده‌ی Anatidae قرار دارد. این گونه‌ی مهاجر هر ساله از اواسط

زیست‌شناسی پیشرفت‌های زیادی داشته است (۱۰). ریزماهورها واحدهای پشت سرهم تکرارشونده از DNA می‌باشند، که با طول یک یا ۲-۶ جفت باز به-طور گسترده در ژنوم یوکاریوت‌ها توزیع می‌شوند (۴). پلی مورفیسم بالای ریزماهورها، آنها را برای مطالعاتی مثل ژنتیک جمعیت، حفاظت، ساختار ژنتیکی و ... مناسب کرده‌است (۳، ۷). پرنده نر، سر و گردن بلوطی‌رنگ، سینه‌سیاه، زیرتنه و روتنه خاکستری کمرنگ و منقارش آبی‌کمرنگ است که قاعده و نوک آن سیاه بوده و با طولی بین ۴۲ تا ۴۹ سانتی‌متر و پیشانی بلند، فقدان تاج سر، آن را از سایر اردک‌ها متمایز می‌نماید. پرنده‌ی ماده سر و سینه‌ی قهوه‌ای - کمرنگ، چانه و نوآرچشمی کمرنگ‌تر و منقارش به رنگ تیره‌است که انتهای آن سیاه بوده و تا حد زیادی- شبیه ماده اردک سیاه کاکل است (۶).

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری و استخراج DNA: تهیه بافت اردک سرحنائی از استان‌های شمالی و استان خوزستان طی سال ۱۳۹۸ تا ۱۴۰۰ انجام شد. از ۳۰ نمونه اردک- سرحنائی ۱۵ نمونه از استان‌های شمالی و ۱۵ نمونه از خوزستان (که از شکارچیان ضبط شده بود) جمع-آوری شد، نمونه بافت ماهیچه به کمک اسکالپل استریل‌شده، جدا و داخل الکل اتیلیک ۹۶ درجه قرار گرفته و به آزمایشگاه منتقل شد. سپس قسمتی از بافت داخلی ماهیچه هر نمونه با دقت جدا و در هاون چینی قرار داده شد، بر روی هر نمونه با دقت مقداری نیتروژن مایع اضافه و بافت با دقت نرم شد تا حداکثر توده سلولی را داشته باشد. نمونه‌ها با استفاده از کیت استخراج DNA بافت حیوانی شرکت ایرانی ویراژن - اکام (Isolation of Nucleic Acids from Mammalian Tissue) و بر اساس پروتکل استاندارد، استخراج شد.

کلی تعداد پرندهگان مهاجر در کشور، در چند سال گذشته گونه اردک سرحنائی زمستان‌گذران بیشترین جمعیت را در میان پرندهگان مهاجر آبی و کنار آبی ایران دارد (۶، ۱۵). اردک سرحنائی در حدود ۲/۳ از استان‌های مختلف گزارش شده که در استان‌های گلستان، خوزستان، مازندران و گیلان به ترتیب بیشترین جمعیت اردک سرحنائی زمستان‌گذران ثبت گردیده‌است. اردک غواص یک گونه پالئارکتیک بوده که در اروپا و آسیا گسترده است و با این وجود مانند سایر پرندهگان آبی، به علت کاهش جمعیت و از بین رفتن زیستگاه‌های طبیعی آن، نیازمند مدیریت و حفاظت می‌باشد (۱). اردک سرحنائی هم اکنون در لیست پرندهگان آسیب‌پذیر IUCN قرار گرفته است - (۹). از این رو بررسی جمعیت سرحنائی در مناطق مختلف جهان برای جلوگیری از کاهش جمعیت آن حائز اهمیت است. معتبرترین روش برای تعیین میزان پیوستگی جمعیت‌های یک گونه بررسی تفاوت‌های ژنتیکی در میان آنها است. پیشرفت‌هایی که طی یکی دو دهه گذشته در زمینه زیست‌شناسی مولکولی صورت گرفته، بسیاری از محققان محیط زیست را ترغیب کرده تا با اتکای به آنها تغییرات ژنتیکی داخل و بین جمعیت‌های مختلف را بررسی نمایند (۲، ۱۶). پیشرفت برنامه‌های اصلاح نژادی و ژنتیکی و حفاظتی بستگی به سطح تغییرات ژنتیکی در جمعیت‌ها داشته، بنابراین مطالعه تنوع در نژادهای بومی و وحشی و حفاظت از آنها وظیفه‌ی اولیه متخصصان ژنتیک و اصلاحگران است (۵). به این منظور ارزیابی تنوع ژنتیکی موجود در یک جمعیت از مهمترین اهداف در مطالعه ژنتیک جمعیت‌ها بوده و در زیست‌شناسی حفاظت کاربرد دارد چرا که یک گونه بدون تنوع ژنتیکی کافی قادر به سازگاری با تغییرات محیطی و مبارزه با انگل‌ها و رقیب‌ها نخواهد بود (۱۸). تکنولوژی‌ها در زمینه نشانگرهای ژنتیکی در مطالعات

الکتروفورز عمودی حرکت داده شد. ابتدا با استفاده از مقدار مناسب آکریل‌آمید ۳۰ درصد، TBE5X، APS و آب مقطر ژل آماده‌شده و به آرامی بین دو شیشه الکتروفورز عمودی اضافه شد و در نهایت با احتیاط شانه داخل ژل قرار داده شد. سپس از هر نمونه PCR حدود ۴ میکرولیتر به داخل هر چاهک اضافه شد و دای (Dye) و رنگ و ... نیاز ندارد چون مسترمیکس ویراژن رنگ دارد لذا دای برای لدر استفاده شد. دستگاه الکتروفورز عمودی بر روی ولتاژ ۱۸۰ آمپر تنظیم شد و حدود ۱-۳ ساعت طول کشید تا محصول به انتهای ژل برسد. در انتها ژل از شیشه‌ها جدا شده و داخل ظرف قرار داده‌شد و با محلول A، محلول B یا نیترات‌نقره و در آخر محلول C (هیدروکسیدسدیم ۱/۵ درصد به همراه ۱/۵-۲ میلی-لیتر فرمالدئید) ژل شستشو داده‌شد تا باندها ظاهر-شوند. بعد از ظاهرشدن باندها دوباره ژل با آب شستشو داده شد و داخل کیسه قرارگرفت و وکیوم شد و از آن عکس تهیه شد تا برای مرحله‌ی اندازه‌گیری طول باندها آماده باشد (۸، ۱۷). ژل‌های آکریل‌آمید ریزماهوره‌ها به منظور تعیین جایگاه‌های ژنی به دقت بررسی‌شد و باندهای هر کدام از آغازگرها به دقت و با استفاده از تکنیک بصری شمارش شد. برای بالا بردن دقت کار از دستگاه ژل - آنالایزر نیز استفاده شد که نتایج بصری تایید شد. برای تعیین میزان تنوع ژنتیکی، تعداد آلل‌های واقعی، موثر، شاخص شانون، هتروزیگوسیتی مشاهده شده، هتروزیگوسیتی مورد انتظار و رسم درخت تبارشناسی در هر دو جمعیت به ازای هر جایگاه ژنی از نرم‌افزار Gene Alex و Arlequin استفاده شد.

تکثیر ریزماهوره: پس از بررسی کمیت و کیفیت DNA استخراجی با استفاده از دستگاه ترموسایکلر مدل ۲۷۲۰ Biosystems Applied، ساخت آمریکا واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز در ۳۵ سیکل و با استفاده از آغازگرهای مناسب تکثیر شد. شش آغازگر (Mm03, Sfiq4, Smo11, Apl36, Apl12, Mm05) از بین آغازگرهای مطالعات Yang و همکارانش انتخاب شد تا امکان مقایسه دو مطالعه با یکدیگر بیشتر باشد (۱۳)، (۱۴). برای یافتن بهترین دما در تکثیر توالی مورد نظر، یک برنامه تدریجی دما (سه دمای مختلف در محدوده‌ای از ۵۶ تا ۶۲ درجه سانتی‌گراد) استفاده شد. حجم واکنش برابر ۲۵ میکرولیتر و محتوای آن شامل ۱۳ میکرولیتر از مسترمیکس شرکت ویراژن (Taq DNA Polymerase 2x Master Mix RED)، ۹ میکرولیتر آب مقطر، ۱ میکرولیتر DNA و ۱ میکرولیتر از هر آغازگر می‌باشد (جدول ۱). برنامه حرارتی در دستگاه ترموسایکلر بصورت: واسرشت-سازی اولیه در دمای ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه، واسرشت‌سازی در دمای ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال آغاز در دمای ۵۶ درجه‌ی سانتی‌گراد و به مدت ۹۰ ثانیه و مرحله بسط در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶۰ ثانیه، (سیکل ۳۵ بار) مرحله بسط نهایی در دمای ۷۲ درجه-ی سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه انجام‌گرفت. به منظور تایید تکثیر ناحیه‌ی مورد نظر، طی واکنش PCR مقدار ۵ میکرولیتر از نمونه‌ی تکثیرشده را با ۱ میکرولیتر از DNAGreen روی ژل آگارز ۲ درصد قرارگرفت و نتایج حاصل نشان داد که محصولات PCR از کیفیت مناسبی برخوردار هستند جهت بررسی باندهای ریزماهوره‌ها محصول PCR بر روی ژل آکریل‌آمید در

جدول ۱- خصوصیات ۶ آغازگر ریزماهورهای

Table 1. Characterization of six microsatellite loci from *Aythya ferina*

Locus	Primer sequence (5'-3')	Gene Bank	Ref
Alp2	F: GATTCAACCTTAGCTATCAGTCTCC R: CGCTCTTGGCAAATGTCC	AY 498540	(13)
Apl36	F: ATGCCTTTGCTGTTGGAGAGC R: CCACTGGGTGCAAACAAG	AY 498546	(13)
Sfiμ4	F: CTGAGGGGGAAGAGAATAAGAGA R: AGGGCAGTATTTTCAGGACATT	U63685	(14)
Smo11	F: AAATCAACCAAAGAGGCATAGCC R: CAGTTGTTTTGGAGGACAGACA	AJ 427852	(15)
MM03	F: AAGTACATGTAAGCTGAAGTTGC R: TTGCCTGATAAAAAGGAATGC	AY679120	(16)
MM05	F: CCAAATCTGACCACCAGGAG R: GCCGTCAGGCAAATAGGAAC	AY679122	(16)

نتایج

در این پژوهش ۶ جفت آغازگر عمل تکثیر موفقیت-آمیز بود که محدوده‌ی باندی و تعداد آل بدست‌آمده در جدول ۲ آورده شده است و در ادامه پارامترهای آماری بدست آمده برای هر جایگاه ژنی و در هر جمعیت به تفسیر آمده است. نتایج پرایمر Mm05 آل‌های مونولوگ را نشان داد که در بررسی نتایج لحاظ نگردیده است. جدول ۳ نتایج نرم‌افزار Gene Alex را نشان می‌دهد. تعداد آل‌های واقعی در شمال ۲-۶ آل و در جنوب ۳-۷ آل و میانگین کل ۴/۳۰۰ اندازه‌گیری شد. آل موثر در شمال از ۲-۵ آل و در جنوب از ۲-۹/۹۶۵ آل و میانگین کل ۲/۸۲۵ اندازه‌گیری شد. شاخص شانون بین ۱/۶۷۹-۰/۶۹۳ در شمال و ۱/۲۷۲-۰/۸۴۰ در جنوب و میانگین کل ۱/۱۲۷ اندازه‌گیری شد. هتروزیگوسیتی مشاهده شده در دامنه ۱/۰۰۰-۰/۴۶۷ در شمال و در جنوب

۰/۲۶۷-۱/۰۰۰ و میانگین کل ۰/۵۷۳ اندازه‌گیری شد. هتروزیگوسیتی مورد انتظار در شمال در دامنه ۰/۵۰۰-۰/۸۰۰ و در جنوب ۰/۴۹۱-۰/۶۵۶ و میانگین کل ۰/۶۱۲ اندازه‌گیری شد. جدول ۴ محاسبه‌ی *Fst*، *Fis* و *Fit* بر اساس آزمون AMOVA را نشان می‌دهد. درخت فیلوژنی بر اساس فاصله ژنتیکی نمونه‌های شمال و جنوب به روش پیوند همجواری (NJ) و به روش پیوند جفت‌گروه وزنی از طریق میانگین حسابی (UPGA) که بیانگر وابستگی ژنتیکی و خویشاوندی تمامی نمونه‌ها را نشان می‌دهند با استفاده از نرم‌افزار MEGA رسم گردید (شکل ۱). بر اساس محاسبات انجام شده، تمامی لوکوس‌ها در جایگاه‌های مورد مطالعه انحراف معنی‌داری از تعادل هاردی-واینبرگ را نشان دادند بجز دو لوکوس *sfiq4* و *smo11* در جمعیت جنوب که فاقد معنی بودند.

جدول ۲- تکرار نوکلئوتیدهای مناسب جایگاه‌های ۵ ریزماهوره

Table 2. Appropriate nucleotide repeats for 5 microsatellite loci

Locus	Repeat motif based on sequence clone	Ta (°C)	No. of allele	Size range (bp)	Cycle
Alp2	(CA) ₁₅ GA(CA) ₃₂ AAA(CAA) ₄	56	8	96-206	35
ALP36	(CA) ₁₃ GA(CA) ₃ (GA) ₂ (CA) ₂ GA(CA) ₁₀ GA(CA) ₇ GA(CA) ₂ TA(CA) ₅	56	9	134-208	35
SFIQ4	(GA) ₁₃	56	7	153-240	35
SMO11	(TG) ₁₂ GA(G) ₁₃ (AG) ₅	56	8	121-250	35
Mm03	(CA) ₁₆	56	3	194-230	35

جدول ۳- نتایج نرم‌افزار Gene Alex

Table 3. Gene Alex software Results

Population	Locus	n	Na	Ne	He	Ho	Shannon's Index
North	Alp2	15	6	4.327	0.769	0.467	1.617
	Alp36	15	2	2.000	0.500	1.000	0.693
	Sfiq4	15	5	2.557	0.609	0.933	1.122
	Smo11	15	6	5.000	0.800	0.667	1.679
	Mm03	15	3	2.261	0.558	0.133	0.889
South	Alp2	15	3	2.000	0.500	0.333	0.868
	Alp36	15	7	2.571	0.611	0.400	1.372
	Sfiq4	15	5	2.903	0.656	1.000	1.246
	Smo11	15	3	2.663	0.624	0.533	1.039
	Mm03	15	3	2.965	0.491	0.267	0.840
Average		15	4.300	2.825	0.612	0.573	1.137

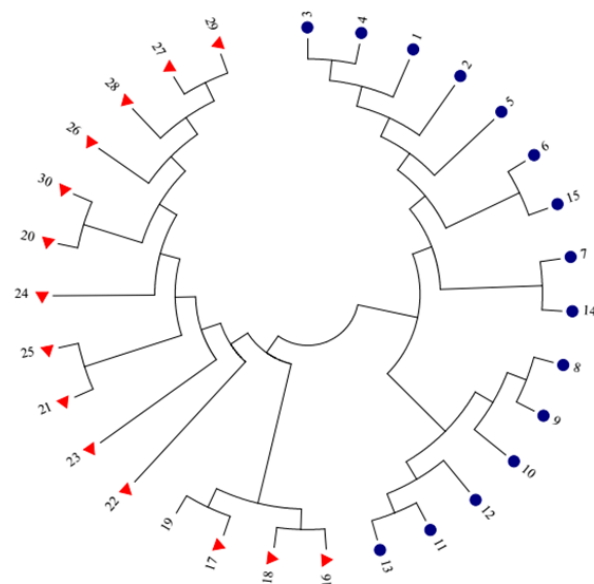
تعداد آل‌های واقعی (Na)، آل موثر (Ne)، شاخص شانون، هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Ho)، هتروزیگوسیتی مورد انتظار (He) در هر دو جمعیت به ازای هر جایگاه ژنی، n=۱۵ نمونه متعلق به شمال و n=۱۵ نمونه متعلق به جنوب ایران

Number of actual alleles (Na), effective allele (Ne), Shannon index, observed heterozygosity (Ho), expected heterozygosity (He) in both populations for each locus, samples (n=15), south samples (n=15 from the south of Iran)

جدول ۴- محاسبه Fst، Fis، Fit بر اساس آزمون AMOVA

Table 4. Calculation of Fst، Fis، Fit based on AMOVA test

F-Statistics	Value	P (rand >= data)
Fst	0.250	0.01
Fis	0.097	0.06
Fit	0.327	0.01



شکل ۱- رسم درخت فیلوژنی برای اردک سرخانی. درخت فیلوژنی (n=۳۰) بر اساس فاصله ژنتیکی به روش پیوند همجاری (NJ) با استفاده از نرم‌افزار MEGA (در نمودارها: شمال ● و جنوب ▲ می‌باشد)

Fig 1. Drawing a phylogeny tree for *Aythya ferina*. Phylogeny tree (n=30) based on genetic distance by Neighbor-Joining (NJ) method using MEGA software (North ●, South ▲)

بحث

و همکاران جریان ژنی بالای به‌دست‌آمده را تایید می‌کند (۱۲، ۱۳). براساس نتایج به‌دست‌آمده بیشترین تعداد آلل واقعی با ۷ آلل در جایگاه ژنی Alp36 در جمعیت جنوب و کمترین آلل واقعی در جایگاه ژنی Alp36 در جمعیت شمال با ۲ آلل مشاهده گردید. همچنین بیشترین تعداد آلل موثر با فراوانی ۵/۰۰۰ در جمعیت شمال در جایگاه ژنی Smo11 و کمترین تعداد آلل موثر در جمعیت شمال و جنوب ۲/۰۰۰ در جایگاه ژنی Alp2 و Alp36 مشاهده گردید (جدول ۲). در بررسی حاضر دامنه هتروزیگوسیتی مشاهده شده در تمامی جایگاه‌های ژنی جمعیت‌ها بین ۰/۱۳۳ تا ۱/۰۰۰ بود و بیشترین هتروزیگوسیتی مشاهده شده در جایگاه ژنی Alp36 در منطقه شمال و Sfiq4 در منطقه جنوب با فراوانی ۱/۰۰۰ و کمترین مقدار در منطقه شمال در جایگاه‌های ژنی Mmo3 با فراوانی ۰/۱۳۳ مشاهده گردید. به منظور بررسی تنوع ژنتیکی درون جمعیتی معیارهای هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Ho) و مورد انتظار (He) برای هر منطقه و در هر جایگاه ژنی بدست آمد. دامنه هتروزیگوسیتی مورد انتظار (He) بین مناطق نمونه‌برداری در جایگاه‌های ژنی بین ۰/۴۹۱ تا ۰/۸۰۰ بود بیشترین مقدار هتروزیگوسیتی مورد انتظار در کل مناطق در جایگاه ژنی Smo11 در شمال و کمترین مقدار هتروزیگوسیتی مورد انتظار در جایگاه ژنی Mmo3 در جنوب مشاهده گردید (جدول ۳). براساس نتایج به دست آمده فاصله ژنتیکی و شباهت ژنتیکی بر اساس شاخص ۱۹۷۲ Nei بین جمعیت‌های مورد بررسی با استفاده از نرم‌افزار GeneAlex ۰/۹۶ و ۰/۳۸۳ به ترتیب بدست آمد. نتایج به دست‌آمده آزمون AMOVA با ۹۹۹ بار جای‌گذاری نشان می‌دهد و میزان جریان ژنی (Nm) و تمایز ژنتیکی (Fst) به ترتیب ۰/۷۳ و ۰/۲۵ بدست آمد (جدول ۴). تنوع ژنتیکی براساس سلسله مراتب

بیشترین مطالعات اردک سرحنائی از لحاظ جمعیتی صورت گرفته‌است و یانگ و همکارانش در سال ۲۰۱۱ به صورت خواص با استفاده از ریزماهورها بر روی جمعیت اردک سرحنائی مطالعه نمودند (۱۴)، لذا در این مطالعه به منظور مقایسه دقیق‌تر با استفاده از ۶ نشانگر ریزماهورهای مورد مطالعه توسط یانگ و همکاران ساختار ژنتیکی اردک سرحنائی زمستان‌گذران در ایران مورد مطالعه قرارگرفت. مطالعات نشان داد نشانگر Mmo5 آلل‌های همولوگ هستند، بنابراین در محاسبات استفاده نگردید. میانگین آلل‌های واقعی و موثر در جمعیت شمال معنی‌دار نبوده ولی در جمعیت جنوب تفاوت معنی‌داری نشان می‌دهند (جدول ۲). میانگین شاخص‌شانون ۱/۱۲۷ بوده که تفاوت معنی‌داری را نشان می‌دهد. تفاوت هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده و قابل انتظار در شمال معنی‌دار نبوده ولی در جنوب تفاوت معنی‌داری نشان می‌دهد که تمامی نتایج نشان از تنوع درون‌گونه‌ای بیشتری در جمعیت جنوب دارد. همچنین براساس نتایج به‌دست‌آمده بیشترین تعداد آلل واقعی با ۷ آلل در جایگاه ژنی Alp36 در جمعیت جنوب و کمترین آلل واقعی در جایگاه ژنی Alp36 در جمعیت شمال با ۲ آلل مشاهده گردید (جدول ۳). نتایج به‌دست‌آمده با نتایج Yang و همکاران در سال ۲۰۱۱ که نمونه‌های دریای خزر را مورد مطالعه داده‌اند، هم‌خوانی دارد (۱۴). نتایج به‌دست‌آمده، مقادیر Ho و He در سطح جایگاه ژنی نیز برای کل نمونه‌ها محاسبه گردید که سطح تغییرپذیری هر جایگاه ژنی را در کل مناطق مورد بررسی نشان می‌دهد. تفاوت میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده و قابل‌انتظار در شمال و جنوب معنی‌دار نیست. میزان جریان ژنی ۰/۷۳ بوده، که نشان از جریان ژنی بالا در درون جمعیت‌ها می‌باشد. Fst ۰/۲۵ کمتر از ۰/۳۳ است که بر اساس نتایج HE

Fereydunkenar International wetland (Iran). *Environmental Monitoring and Assessment*, 188(12):648- 666.

3. Askari N.A., Mahmodi R. 2011. ISSR markers for assessing DNA polymorphism and genetic characterization of cattle, goat and sheep populations. *Iranian Journal of Biotechnology*, 9:222-229.

4. Bataillon T.M., David J.L., Schoen D.J. 1996. Neutral genetic markers and conservation genetics: simulated germplasm collections. *Genetics*, 144(1):409-417.

5. Corbin K.W., Cooke F., Buckley P. 1987. Avian genetics: A population and ecological approach. Academic Press Inc. (London), 321-53.

6. Daian A. 1988. Birds of the Middle orient and the near orient. IRAN: *Tehran University Press*, 55-56.

7. Denk A., Gautschi B., Carter K., Kempnaers B. 2004. Seven polymorphic microsatellite loci for paternity assessment in the mallard (*Anas platyrhynchos*). *Molecular Ecology Notes*, 4(3):506-508.

8. Fields R., Scribner K.T. 1997. Isolation and characterization of novel waterfowl microsatellite loci: cross-species comparisons and research applications. *Molecular Ecology*, 6(2):199-202.

9. Folliot B.G., Champagnon M., Caizergues J.A. 2018. Patterns of spatial distribution and migration phenology of common pochards *Aythya ferina* in the Western Palearctic: A ring-recoveries analysis. *Wildlife Biology*, 1:1-11.

10. Gunter K. 2009. The dictionary of gene technology genomies, transcription proteomics, wiley-vch Verlag GmbH and Co. KgaA. *Weinheim*, 18-26.

11. Gautschi B., Koller B. 2005. Polymorphic microsatellite markers for the goosander (*Mergus merganser*). *Molecular Ecology Notes*, 5(1):133-134.

جمعیتی دو منطقه مورد مطالعه بر اساس آزمون ANOVA در سطح احتمال یک درصد بر اساس Fst محاسبه گردید. بیشترین درصد اختلاف در درون و بین افراد مربوط می‌شود و اختلاف بین جمعیت‌ها ۲۶ درصد بود. درخت فیلوژنی ترسیم شده نیز نشان از جریان ژنی بالا و تفاوت درون‌جمعیتی نمونه‌های شمال و جنوب دارد.

نتیجه‌گیری

هرچند که نتایج بدست‌آمده تنوع ژنتیکی پایین داشته و تفاوت هتروزیگوسیتی معنی‌داری را نشان نمی‌دهد، اما برای نتیجه‌گیری مطمئن‌تر نیاز به بررسی‌های بیشتری از افراد این گونه در جهان و به ویژه در مناطق جنوب ایران است. لذا با در نظر گرفتن نتایج پژوهش و مقایسه آن با نمونه‌های ژن بانک حضور پرندگان از مناطق اروپا و آسیا در ایران تایید می‌شود، لذا اقدامات حفاظتی و مدیریتی لازم برای حفظ تالاب‌های ایران و جلوگیری از خشک شدن آن‌ها به ویژه در جنوب، به عنوان مناطق مهم و کلیدی جهت حضور پرندگان مهاجر به منظور مکانی برای حفظ اختلاط ژنتیکی آنها باید صورت پذیرد.

تشکر و قدردانی

نگارندگان بدینوسیله بر خود لازم می‌دانند، از جناب آقای دکتر طالب خالوئی مدیر کل اداره محیط‌زیست کرمان که ما را در جمع‌آوری نمونه‌ها یاری کرده‌اند تشکر و قدردانی نمایند.

منابع

1. Adams N.B., Battey R.R., Clark C., Epperly M.W. 2023. Widespread gene flow following range expansion in Anna's Hummingbird. *Molecular Ecology*, 32: 3089-3101.
2. Ahmadpour M., Lan-Hai L. 2016. Mercury concentration in the feathers of birds from various trophic levels in

for the eider duck *Somateria mollissima* and their cross-species applicability among waterfowl species (Anatidae). *Molecular Ecology Notes*, 3(2):250-268.

17. Schägger H., Von Jagow G. 1987. Tricine-sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis for the separation of proteins in the range from 1 to 100 kDa. *Analytical Biochemistry*, 166(2): 368-379.

18. Thorp J.P. 1982. The molecular clock hypothesis: Biochemical evolution, genetic differentiation and systematic. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 13:139-168.

12. He H.Y., Wei C., Yuan F. 2006. Genetic variation of the Mmitochondrial ND1 region among geographical populations of *Sitodiplosis mosellana* (Gehin) (Diptera: Cecidomyiidae) in China. *Journal of Kansas Entomology Society*, 79(2):11-22.

13. Liu W., Hou Z.C., Qu L.J., Huang Y.H., Yao T.F., Li N., Yang N. 2008. Population structure and Biodiversity of Chinese Indigenous Duck Breeds Revealed by 15 Microsatellite Markers. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 21(3):133-134.

14. Liu Y., Gerald I., Heckel K. 2011. Range-wide genetic population structure of common pochard (*Aythya ferina*): a potentially important vector of highly pathogenic avian influenza viruses. *Ecology and Evolution*, 1:529-545.

15. Mansory J. 2008. Ornithology. IRAN: *Farzaneh*, 112-113.

16. Paulus K., Tiedemann R. 2003. Ten polymorphic autosomal microsatellite loci

