

بررسی ساختار ژنتیکی جمعیت‌های ماهی کلمه (*Rutilus caspicus*) در نواحی جنوب شرقی دریای خزر با استفاده از جایگاه‌های ریز ماهواره

چکیده

ماهی کلمه (*Rutilus caspicus*) یکی از گونه‌های بارزش و بومی دریای خزر محسوب می‌گردد که ذخایر آن طی سال‌های اخیر کاهش قابل‌توجهی یافته است. بازسازی ذخایر این ماهی از طریق رهاسازی لاروهای تولیدشده در کارگاه تکثیر به طبیعت انجام می‌گیرد. در تحقیق حاضر به ارزیابی و مقایسه ساختار ژنتیکی جمعیت‌های کارگاهی (دو گروه وحشی و پرورشی) و طبیعی ماهی کلمه (رودخانه قره‌سو، خلیج گرگان و تالاب گمیشان) با استفاده از ده جایگاه ریز ماهواره پرداخته شد. همه جایگاه‌های مورد استفاده در تمامی نمونه‌های مورد بررسی چندشکلی نشان دادند. متوسط تعداد آلل‌های مشاهده برای جمعیت‌های کارگاهی و طبیعی به ترتیب ۱۰ و ۱۰/۷ به دست آمد. همچنین متوسط هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده و مورد انتظار در جمعیت‌های موجود در کارگاه (He: ۰/۸۲۳، Ho: ۰/۶۳) کمی پایین‌تر از جمعیت‌های طبیعی (He: ۰/۸۵۳، Ho: ۰/۷) به دست آمد ($P > ۰/۰۵$). در بررسی جمعیت‌ها از نظر انحراف از تعادل هاردی-وینبرگ، ۳۲ مورد از ۵۰ تست مورد بررسی انحراف معنی‌دار از تعادل نشان دادند که عمده دلیل آن را می‌توان به کاهش هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده نسبت داد. در این خصوص، کسری هتروزیگوسیتی بالا و ضریب درون آمیزی معنی‌داری ($P \leq ۰/۰۰۲$) در برخی از جایگاه‌های مورد بررسی مشاهده شد که وجود آلل‌های نول را می‌توان به‌عنوان یکی از دلایل اصلی مطرح نمود. متوسط Fst و Rst به‌عنوان شاخص‌های تمایز ژنتیکی به ترتیب ۰/۲۲ و ۰/۴۹ به دست آمد، به‌نحوی که بالاترین و پایین‌ترین میزان تمایز به ترتیب بین نمونه‌های پرورشی کارگاه و خلیج گرگان و نمونه‌های قره‌سو و گمیشان مشاهده شد. بالاترین فاصله و پایین‌ترین شباهت ژنتیکی نیز بین نمونه‌های پرورشی سیچوال و خلیج گرگان مشاهده شد. با توجه به نتایج می‌توان اذعان داشت که باوجود مسائلی همچون آلودگی، صید بی‌رویه و همچنین بازسازی ذخایر از طریق رهاسازی لاروهای تولیدشده در کارگاه تکثیر، ماهی کلمه توانسته همچنان تنوع ژنتیکی خود را در سطح مطلوبی حفظ نماید. بااین‌وجود، کاهش اندک مشاهده‌شده در پارامترهای تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های موجود در کارگاه تکثیر را نمی‌توان نادیده گرفت چراکه باگذشت زمان، احتمال بروز مسائلی همچون درون آمیزی و خلوص ژنتیکی وجود دارد.

واژگان کلیدی: جمعیت، دریای خزر، ریز ماهواره، ساختار ژنتیکی، ماهی کلمه.

مقدمه

ماهی کلمه خزر بانام علمی *Rutilus caspicus* متعلق به خانواده کپور ماهیان و بومی دریای خزر می‌باشد. این ماهی یکی از گونه‌های بارزش تجاری است. متأسفانه طی سال‌های اخیر جمعیت این گونه ارزشمند به دلایلی همچون صید بی‌رویه و از بین رفتن مناطق طبیعی تخم‌ریزی به‌طور قابل‌توجهی کاهش یافته است به‌نحوی که جزو گونه‌های در معرض تهدید منطقه محسوب می‌گردد (Kiabi et al., 1999). برای حفظ ذخایر

حدیثه کشیری^{۱*}

علی شعبانی^۲

سعید گرگین^۳

محمدرضایی^۴

احمد رضا جبله^۵

۱. استادیار گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط‌زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی، گرگان، ایران

۲. دانشیار گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط‌زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی، گرگان، ایران

۳. دانشجوی دکتری شیلات، دانشکده شیلات و محیط‌زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی، گرگان، ایران

*مسئول مکاتبات:

hadiskashiri@gmail.com

کد مقاله: ۱۳۹۶۰۱۰۴۹۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۰/۱۸

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۲/۱۸

این مقاله برگرفته از طرح پژوهشی است.

این ماهی، بچه ماهیان از طریق تکثیر مصنوعی تولید و به دریای خزر رهاسازی می‌شوند. علی‌رغم مزایای بالقوه این روش، بازسازی ذخایر با استفاده از تعداد محدودی مولد جهت تولید لارو می‌تواند منجر به بروز مسائلی همچون کاهش تنوع ژنتیکی (Roodt-Wilding, 2007; Grant, 2012)، افزایش واگرایی ژنتیکی بین مناطق از طریق رانش ژنتیکی و افزایش ارتباط بین افراد درون مناطق (Roodt-Wilding, 2012; Lemer and Planes, 2007) می‌گردد.

تنوع ژنتیکی که ناشی از تفاوت در اجزای وراثتی افراد یک‌گونه می‌باشد، برای بقای گونه‌ها ضروری بوده و باعث بالا بردن ظرفیت گونه‌ها در سازش‌پذیری با تغییرات محیطی می‌گردد (Chauhan and Rajiv, 2010) به‌نحوی که تنوع ژنتیکی بالای درون جمعیتی ماهیان، می‌تواند به‌عنوان عاملی حفاظت‌کننده در برابر استرس‌های محیطی (همچون تغییرات آب و هوایی و آلاینده‌ها) و شیوع بیماری‌ها عمل نماید (Hiddink et al., 2008)؛ بنابراین آگاهی از ذخایر توارثی و تنوع ژنتیکی بین افراد یک‌گونه از اهمیت بالایی برخوردار بوده و به‌عنوان بخشی ضروری در امر حفاظت و مدیریت ذخایر ماهیان در نظر گرفته می‌شود (Geist et al., 2009). در این راستا، نشانگرهای مولکولی مختلفی در ارزیابی ساختار ژنتیکی جمعیت‌ها مطرح می‌باشند که در بین آن‌ها نشانگرهای ریز ماهواره به‌عنوان ابزاری مؤثر در مطالعات ژنتیکی جمعیت‌های ماهیان شناخته شده‌اند (Piorski et al., 2008). ریز ماهواره‌ها توالی‌های کوتاه پشت سر هم از یک تا شش نوکلئوتید در ژنوم می‌باشند (Litt and Luty, 1989) که به دلیل پراکندگی بالا، میزان بالای پلی‌مورفیسم، وراثت مندلی (Selkoe and Toonen, 2006) و مکانیسم‌های تکاملی ساده (Piorski et al., 2008) به‌طور گسترده‌ای در ارزیابی تنوع ژنتیکی (رضایی و همکاران، ۱۳۹۱؛ لالویی و همکاران، ۱۳۹۴؛ Matsumoto and Hilsdorf, 2009; Barroca et al., 2012) و ساختار جمعیتی ماهیان کاربرد یافته‌اند (محمدیان و همکاران، ۱۳۸۹؛ کشیری و همکاران، ۱۳۹۰؛ Barroca et al., 2012; Matsumoto and Hilsdorf, 2009; Carvalho-Costa et al., 2008; Sanches et al., 2012).

در تحقیق حاضر با در نظر گرفتن اهمیت بالای ماهی کلمه در منطقه و همچنین با توجه به اهمیت ارزیابی مداوم و آگاهی از وضعیت ژنتیکی گونه‌هایی که تحت برنامه‌های بازسازی ذخایر و تکثیر حمایتی قرار دارند، به بررسی و مقایسه ساختار ژنتیکی جمعیت‌های وحشی و پرورشی ماهی کلمه خزر پرداخته شد. نتایج حاصل از این پژوهش می‌تواند اطلاعات مفیدی را جهت مدیریت بهینه در امر حفاظت و بازسازی ذخایر این گونه ارزشمند فراهم سازد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری از تعداد ۹۳ قطعه ماهی کلمه خزر (*Rutilus caspicus*) از خلیج گرگان، رودخانه‌های قره‌سو و گرگان رود (۳۱ نمونه برای هر منطقه) واقع در استان گلستان صورت پذیرفت. همچنین از تعداد ۶۲ قطعه ماهی کلمه موجود در کارگاه تکثیر و پرورش ماهیان استخوانی سیجوال استان گلستان در غالب دو جمعیت وحشی و پرورشی نمونه‌برداری به عمل آمد. حدود ۱ تا ۲ گرم از باله دمی هر ماهی جداسازی و تا زمان استخراج DNA در تیوب‌های حاوی الکل اتیلیک ۹۶ درصد نگهداری شد.

DNA نمونه‌ها با استفاده از کیت مخصوص (GeneAll Tissue and Tissue plus sv mini) مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده استخراج گردید. بدین منظور، نمونه‌های پودر شده پس از افزودن ۲۰۰ میکرولیتر بافر TL و ۲۰ میکرولیتر پروتئیناز K به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۵۶ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. پس‌از آن، ۴۰۰ میکرو لیتر بافر TL اضافه و سانتریفیوژ در دور ۸۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱ دقیقه انجام گرفت. پس از انتقال محتوای تیوب به تیوب‌های فیلتر دار، ۶۰۰ میکرو لیتر بافر BW اضافه و مجدداً سانتریفیوژ (۹۰۰۰ دور در دقیقه، ۳۰ ثانیه) صورت گرفت. در مراحل بعدی با افزودن بافرهای TW و AE و سانتریفیوژ نهایی در دور ۱۳۰۰ دور در دقیقه به مدت ۶۰ ثانیه، رسوب DNA حاصل

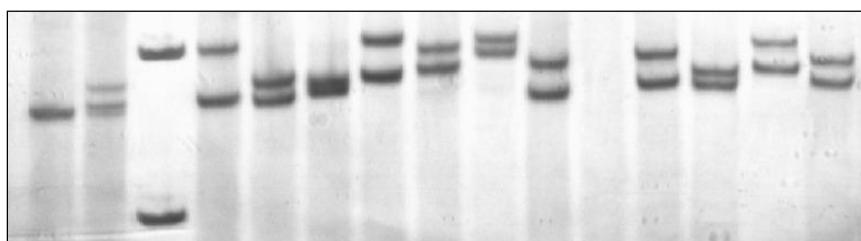
گردید. در نهایت، آب مقطر استریل به رسوب DNA به دست آمده اضافه گردید. پس از آن کیفیت DNA استخراج شده از طریق الکتروفورز افقی با ژل آگارز ۱ درصد مورد ارزیابی قرار گرفت. همچنین کمیت DNA با خوانش میزان جذب نوری نمونه‌ها در طول موج‌های ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر در دستگاه بایوفتومتر (Eppendorf, Germany) تعیین گردید (King *et al.*, 2001). نمونه‌های DNA تا زمان انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمرز در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

به منظور انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمرز، از ده جایگاه ریز ماهواره استفاده شد. اطلاعات مربوط به جایگاه‌های ژنی مورد مطالعه در جدول ۱ آورده شده است. واکنش زنجیره‌ای پلیمرز با استفاده از ترکیبی شامل DNA، مستر میکس (Red Load Taq Master/high yield, Jena) (Bioscience)، آغازگرهای رفت و برگشت و آب مقطر استریل در حجم نهایی ۱۲/۵ میکرو لیتر در دستگاه ترموسایکلر (Bio-RAD MJ Mini Thermal Cycler, USA) طی ۱ چرخه واسرشت اولیه (۳ دقیقه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد)، ۳۵ چرخه (واسرشت: ۳۰ ثانیه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد، اتصال: ۳۰ ثانیه در ۵۵-۶۰ درجه سانتی‌گراد (جدول ۱) و بسط: ۶۰ ثانیه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد) و ۱ چرخه بسط نهایی (۷۲ درجه سانتی‌گراد برای ۳ دقیقه) انجام پذیرفت. محصول به دست آمده بر روی ژل پلی‌اکریل آمید ۸ درصد جداسازی شد. در این خصوص از Ladder (۱۰۰ جفت باز) (Fermentas) به عنوان شاخص جهت تعیین اندازه آلی استفاده شد. پس از اتمام الکتروفورز عمودی، ژل‌های به دست آمده به روش نیترا تفرقه رنگ آمیزی (Benbouza *et al.*, 2006) شدند. پس از ثبت تصاویر مربوط به ژل‌ها (شکل ۱) با استفاده از دستگاه مستندساز ژل (Gel Doc XR, Bio-RAD, USA)، طول قطعات با نرم افزار Gel pro analyzer 3.0 تعیین گردید.

جدول ۱: ویژگی‌های جایگاه‌های ریز ماهواره مورد استفاده برای ماهی کلمه (*Rutilus caspicus*) در نواحی جنوب شرق دریای خزر.

جایگاه ریز ماهواره	توالی	تعداد آل	دمای اتصال (°C)	کد دستیابی در بانک ژن	منبع
Ca1	F: AAG ACG ATG CTG GAT GTT TAC R: CTA TAG CTT ATC CCG GCA GTA	۸	۵۵	AF277573	(Dimsoski <i>et al.</i> , 2000)
Ca3	F: GGA CAG TGA GGG ACG CAG AC R: TCT AGC CCC CAA ATT TTA CGG	۱۹	۵۲	AF277575	(Dimsoski <i>et al.</i> , 2000)
CypG3	F: AGT AGG TTT CCC AGC ATC ATT GT R: GAC TGG ACG CCT CTA CTT TCA TA	۱۸	۵۹	AY439122	(Baerwald and May, 2004)
CypG24	F: CTG CCG CAT CAG AGA TAA ACA CTT R: TGG CGG TAA GGG TAG ACC AC	۱۴	۵۸	AY439142	(Baerwald and May, 2004)
CypG27	F: AAG GTA TTC TCC AGC ATT TAT R: GAG CCA CCT GGA GAC ATT ACT	۱۷	۴۹	AY439145	(Baerwald and May, 2004)
CypG30	F: GAA AAA CCC TGA GAA ATT CAA AAG A R: GGA CAG GTA AAT GGA TGA GGA GAT A	۱۶	۵۲	AY439148	(Baerwald and May, 2004)

جایگاه ریز ماهواره	توالی	تعداد آل	دمای اتصال (°C)	کد دستیابی در بانک ژن	منبع
Lid1	F: TAA AAC ACA TCC AGG CAG ATT R: GGA GAG GTT ACG AGA GGT GAG	۹	۵۱	AB112732	(Barinova et al., 2004)
Rru1	F: TTC CAG CTC AAC TCT AAA GA R: GCA CCA TGC AGT AAC AAT	۷	۴۶	AB112738	(Barinova et al., 2004)
Rru4	F: TAA GCA GTG ACC AGA ATC CA R: CAA AGC CTC AAA AGC ACA A	۷	۵۴	AB112740	(Barinova et al., 2004)
Z21908	F: ATT GAT TAG GTC ATT GCC CG R: AGG AGT CAT CGC TGG TGA GT	۶	۵۹	G40277	(http://zfin.org)



شکل ۱: نمونه‌ای از ژل پلی‌اکریل‌آمید ثبت‌شده برای *Rutilus caspicus* (جایگاه Ca3، نمونه‌های گمیشان).

از نرم‌افزار GeneAlex 6.3 به منظور محاسبه تعداد آل‌های واقعی و مؤثر، هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده و مورد انتظار، شاخص‌های تمایز ژنتیکی شامل Rst و Fst و همچنین جریان ژنی استفاده شد (Peakall and Smouse, 2006). مقایسه تنوع آلی و هتروزیگوسیتی بین نمونه‌های مناطق موردبررسی و همچنین مقایسه داده‌های حاصل از این تحقیق با داده‌های حاصل از نمونه‌های جمع‌آوری‌شده در سال ۸۶ با استفاده از تست ویلکاکسون غیر پارامتریک در نرم‌افزار SPSS ویرایش شانزدهم انجام شد (Zar, 1999). با استفاده از نرم‌افزار Genepop 3.1 (Raymond and Rousset, 1995)، ارزیابی جمعیت‌ها از نظر قرار گرفتن در تعادل هاردی-وینبرگ یا انحراف از آن و همچنین تست عدم تعادل پیوستگی مورد انجام گرفت. شاخص درون آمیزی و معنی‌داری یا عدم معنی‌داری آن با استفاده از نرم‌افزار FSTAT 2.9.3 (Goudet, 2001) تعیین گردید. از نرم‌افزار Microchecker 2.2.1 (Oosterhout et al., 2004) به منظور ارزیابی امکان حضور آل‌های نول، از دست دادن آل‌های بزرگ و خطای دسته‌بندی استفاده شد. از نرم‌افزار PopGene 1.3.1 (Yeh et al., 1999) نیز جهت تعیین شباهت و فاصله ژنتیکی و همچنین ترسیم دندروگرام UPGMA استفاده شد.

نتایج

تمامی ده جایگاه ریز ماهواره مورد استفاده چندشکلی نشان دادند که میزان این چندشکلی بسته به جایگاه متفاوت بود. با توجه به نتایج حاصل از نرم‌افزار Microchecker، علائمی دال بر وجود خطای دسته‌بندی و از دست رفتن آل‌های بزرگ وجود نداشت اما آل‌های نول در جایگاه‌های

Rru4 و Z21908 در تمامی نمونه‌ها، جایگاه‌های CypG30 و Lid1 در نمونه‌های گمیشان، جایگاه‌های CypG27 و CypG30 در نمونه‌های قره‌سو و خلیج گرگان و جایگاه‌های CypG3، CypG27 و Lid1 در نمونه‌های وحشی و پرورشی سیجوال مشاهده شد. تنوع ژنتیکی در هر جمعیت در جدول ۲ آورده شده است. تعداد آلل‌های مشاهده‌شده و مؤثر به ترتیب در محدوده ۱۹-۴ (میانگین: ۱۰/۴۴) و ۱۳/۳۲۴-۱۳/۵۳ (میانگین: ۷/۰۴۳) به‌دست‌آمده آمد. در این میان، بالاترین و پایین‌ترین تعداد آلل به ترتیب در سطح جایگاه Ca3 در منطقه گمیشان و جایگاه Z21908 در منطقه قره‌سو مشاهده شد. همچنین بالاترین میانگین آللی متعلق به نمونه‌های منطقه گمیشان بود (۱۱/۲) هرچند تفاوت مشاهده‌شده بین نمونه‌های موردبررسی معنی‌دار نبود ($p > 0.05$). در بررسی آلل‌های منحصربه‌فرد، میانگین این میزان برای جمعیت‌های وحشی و کارگاهی به ترتیب ۳۲/۳۳ و ۲۸ به‌دست‌آمده آمد. هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده و مورد انتظار به ترتیب در محدوده ۰/۱۶۷-۰/۹۸۶ و ۰/۷۰۶-۰/۹۶۱ به‌دست‌آمده آمد. در این خصوص، بالاترین هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده و مورد انتظار به ترتیب متعلق به جایگاه Ca1 (نمونه‌های وحشی سیجوال) و Ca3 (نمونه‌های گمیشان) بود. از نظر میزان متوسط هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده در سطح نمونه‌های موردبررسی نیز، بالاترین و پایین‌ترین مقادیر به ترتیب در نمونه‌های خلیج گرگان و نمونه‌های پرورشی سیجوال مشاهده شد.

در بررسی جمعیت‌ها از نظر انحراف از تعادل هاردی-وینبرگ، ۳۲ مورد از ۵۰ تست موردبررسی (۱۰ جایگاه $\times$ ۵ جمعیت) انحراف معنی‌دار پس از اعمال ضریب تصحیح بونفرونی نشان دادند و تنها ۱۶ تست در تعادل قرار داشتند. نتایج مربوط به تعادل هاردی-وینبرگ در جدول ۲ آورده شده است. بین جایگاه‌های ژنی مورد مطالعه، عدم تعادل پیوستگی مشاهده نشد. در اغلب جایگاه‌های موردبررسی، کاهش هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده در مقابل هتروزیگوسیتی مورد انتظار وجود داشت (جدول ۲). همچنین در برخی از جایگاه‌ها افزایش هتروزیگوسیتی مشاهده شد که هیچ‌یک معنی‌دار نبود ($p \leq 0.02$).

جدول ۲: پارامترهای تنوع ژنتیکی برای ده جایگاه ریز ماهواره در ماهی کلمه (*Rutilus caspicus*) در نواحی جنوب

شرق دریای خزر.

Z21908	Rru4	Rru2	Lid1	CypG30	CypG27	CypG24	CypG3	Ca3	Ca1	
۵	۸	۸	۹	۱۶	۱۱	۱۳	۱۶	۱۹	۷	A _o
۳/۸۹	۴/۳۳۱	۶/۵۸۳	۶/۴۸۲	۱۱/۶۳۴	۷/۸۰۱	۱۰/۱۲	۹/۴۶۵	۱۲/۶۵۹	۵/۷۲	A _e
۲	۲	۲	۳	۴	۴	۴	۵	۶	۲	U
۰/۳۲۷	۰/۴۹۶	۰/۸۷۶	۰/۵۹۴	۰/۶۴۲	۰/۷۹۷	۰/۸۲۵	۰/۷۶۹	۰/۸۰۶	۰/۹۸۵	H _o
۰/۷۴۹	۰/۷۵۱	۰/۸۶۴	۰/۸۵۹	۰/۹۵۳	۰/۸۶۶	۰/۹۵۲	۰/۹۴۳	۰/۹۶۱	۰/۸۱۱	H _e
۰/۵۷۱	۰/۳۴۲	-۰/۰۱	۰/۳۲۴	۰/۳۴۸	۰/۱۰۸	۰/۱۶۴	۰/۲۱۵	۰/۱۹۱	-۰/۱۹۳	Fis
***	**	ns	***	Ns	Ns	***	***	*	ns	pHw
۴	۶	۷	۷	۱۴	۱۱	۱۳	۱۶	۱۷	۸	A _o
۰/۸۱۲	۴/۰۳۱	۴/۳۲۲	۵/۶۱۶	۹/۸۱۲	۷/۰۱۰	۸/۲۸۹	۱۱/۰۱۸	۱۲/۲۳	۴/۹۲۸	A _e
۱	۱	۲	۳	۵	۳	۳	۴	۵	۴	U
۰/۲۶۳	۰/۴۶۲	۰/۹۴۴	۰/۵۷۳	۰/۶۷۴	۰/۶۵۱	۰/۸۲۶	۰/۵۰۹	۰/۸۷۰	۰/۹۲۳	H _o
۰/۷۵۷	۰/۷۴۱	۰/۷۹۶	۰/۷۹۴	۰/۹۱۵	۰/۹۰۸	۰/۸۶۳	۰/۹۲۵	۰/۹۲۶	۰/۷۸۹	H _e
۰/۶۶۰	۰/۳۸۴	-۰/۱۶۳	۰/۲۹۷	۰/۲۸۵	۰/۳۰۴	۰/۰۷۱	۰/۴۶۶	۰/۰۹۱	-۰/۱۳۸	Fis
***	Ns	*	ns	***	ns	ns	***	*	ns	pHw
۶	۶	۷	۱۰	۱۵	۹	۱۲	۱۷	۱۷	۷	A _o
۴/۳۹۹	۴/۶۴۳	۵/۴۲۱	۸/۲۳۶	۸/۷۰۶	۵/۲۶۹	۸/۴۱۶	۱۱/۷۸۲	۱۳/۵۳	۵/۶۲۱	A _e
۱	۲	۲	۳	۴	۲	۴	۶	۵	۳	U

گمیشان

قره‌سو

خلیج گرگان

Z21908	Rru4	Rru2	Lid1	CypG30	CypG27	CypG24	CypG3	Ca3	Ca1	
۰/۳۸۷	۰/۲۴۸	۰/۸۶۵	۰/۸۶۴	۰/۶۴۱	۰/۵۸۳	۰/۹۲۶	۰/۸۳۹	۰/۹۴۱	۰/۹۱۷	H _o
۰/۷۷۳	۰/۷۷۰	۰/۸۰۳	۰/۸۷۱	۰/۸۸۹	۰/۸۳۶	۰/۸۹۹	۰/۸۸۵	۰/۹۲۱	۰/۸۴۶	H _e
۰/۵۰۸	۰/۶۸۸	۰/۰۶۳	۰/۰۳۱	۰/۲۹۹	۰/۳۲۶	۰/۰۱۰	۰/۰۸۲	۰/۰۰۸	۰/۰۵۱	Fis
**	***	ns	ns	***	***	**	ns	*	ns	pHw
۵	۷	۸	۹	۱۳	۱۰	۱۲	۱۵	۱۴	۸	A _o
۳/۴۸۲	۳/۷۰۶	۵/۹۳۶	۶/۵۲۱	۹/۶۸۱	۶/۹۷۱	۴/۸۳۰	۸/۳۶۴	۱۰/۱۸۳	۶/۱۶۸	A _e
۱	۲	۲	۴	۴	۲	۳	۴	۴	۴	U
۰/۱۷۲	۰/۴۱۸	۰/۸۷۸	۰/۵۴۳	۰/۷۸۲	۰/۲۹۸	۰/۸۷۶	۰/۴۸۲	۰/۹۷۳	۰/۹۸۶	H _o
۰/۷۱۹	۰/۷۳۴	۰/۸۳۴	۰/۸۴۶	۰/۸۷۳	۰/۸۳۳	۰/۸۱۲	۰/۸۸۱	۰/۸۸۴	۰/۸۱۲	H _e
۰/۷۷۳	۰/۴۵۱	۰/۰۲۵	۰/۳۷۴	۰/۱۳۱	۰/۶۵۴	۰/۰۴۷	۰/۴۷۶	۰/۰۷۱	۰/۱۸۲	Fis
***	**	ns	ns	*	**	***	**	ns	*	pHw
۵	۷	۸	۸	۱۴	۱۰	۱۲	۱۵	۱۴	۷	A _o
۳/۳۲۴	۳/۶۲۱	۵/۷۴۳	۵/۹۲۸	۹/۶۱۸	۶/۸۴۷	۴/۶۲۷	۸/۲۲۱	۹/۸۴۵	۶/۱۱۹	A _e
۰	۱	۲	۳	۴	۲	۴	۴	۳	۳	U
۰/۱۶۷	۰/۴۲۳	۰/۸۳۳	۰/۴۸۲	۰/۷۵۳	۰/۳۱۶	۰/۸۶۱	۰/۴۹۶	۰/۹۳۵	۰/۹۶۴	H _o
۰/۷۰۶	۰/۷۳۹	۰/۸۱۴	۰/۸۲۸	۰/۸۶۴	۰/۸۴۰	۰/۷۹۵	۰/۸۵۶	۰/۸۷۳	۰/۸۰۶	H _e
۰/۷۷۴	۰/۴۳۶	۰/۰۰۸	۰/۴۳۷	۰/۱۳۶	۰/۶۱۴	۰/۰۵۱	۰/۴۴۳	۰/۰۴۷	۰/۱۶۲	Fis
***	**	ns	**	***	***	***	***	ns	*	pHw

Ao: تعداد آل‌های واقعی، Ae: تعداد آل‌های مورد انتظار، U: تعداد آل‌های یونیک، Ho: هتروزیگوسیتی مشاهده شده، He: هتروزیگوسیتی مورد انتظار، Fis: ضریب درون آمیزی، pHw: تست احتمال تعادل هاردی-وینبرگ پس از اعمال ضریب تصحیح بونفرونی (ns: عدم معنی داری، $p \leq 0.005$: *، $p \leq 0.001$: ** و $p \leq 0.0001$: ***)

در بررسی تمایز ژنتیکی بین نمونه‌های مورد مطالعه، متوسط شاخص‌های Fst و Rst بر اساس فراوانی آللی، به ترتیب ۰/۰۲۲ و ۰/۰۴۹ به دست آمده آمد. در این خصوص بالاترین و پایین‌ترین میزان تمایز ژنتیکی به ترتیب بین نمونه‌های پرورشی سیجوال و خلیج گرگان و نمونه‌های قره‌سو و گمیشان مشاهده شد (جدول ۳). نتایج حاصل از آنالیز واریانس مولکولی نیز نشان داد که ۹۷ درصد تنوع مشاهده شده مربوط به درون جمعیت‌ها بوده و تنوع بین جمعیتی پایینی بین نمونه‌های مورد بررسی وجود دارد. همچنین میزان جریان ژنی بالایی بین مناطق مورد بررسی مشاهده شد. در این خصوص بالاترین میزان شاخص Nm، بین نمونه‌های مناطق گمیشان و قره‌سو (۱۹/۲۳) بود (جدول ۴).

جدول ۳: تمایز ژنتیکی بین نمونه‌های مورد بررسی ماهی کلمه (*Rutilus caspicus*) بر اساس فراوانی آللی.

مناطق نمونه‌برداری	گمیشان	قره‌سو	خلیج گرگان	کارگاه سیجوال (وحشی)	کارگاه سیجوال (پرورشی)
گمیشان	۰/۰۰	۰/۰۳۳	۰/۰۴۶	۰/۰۴۹	۰/۰۶۲
قره‌سو	۰/۰۱۳	۰/۰۰	۰/۰۴۱	۰/۰۴۵	۰/۰۵۲
خلیج گرگان	۰/۰۱۹	۰/۰۱۶	۰/۰۰	۰/۰۵	۰/۰۶۶
کارگاه سیجوال (وحشی)	۰/۰۲۰	۰/۰۱۸	۰/۰۲۵	۰/۰۰	۰/۰۴۷
کارگاه سیجوال (پرورشی)	۰/۰۳۱	۰/۰۲۹	۰/۰۳۴	۰/۰۱۹	۰/۰۰

اعداد بالا و پایین قطر به ترتیب نشان‌دهنده مقادیر Rst و Fst می‌باشد

جدول ۴: جریان ژنی بین نمونه‌های موردبررسی ماهی کلمه (*Rutilus caspicus*).

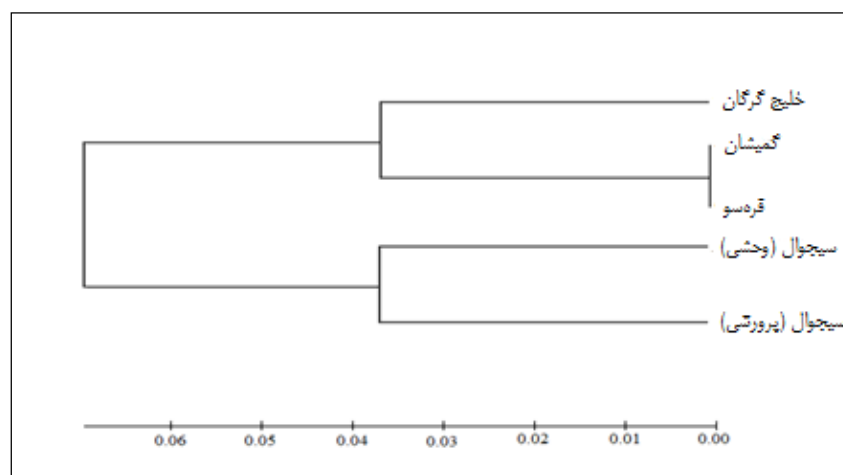
مناطق نمونه‌برداری	گمیشان	قره‌سو	خلیج گرگان	کارگاه سیجوال (وحشی)	کارگاه سیجوال (پرورشی)
گمیشان	۰/۰۰	۱۹/۲۳	۱۳/۲۰	۱۲/۲۵	۷/۸۱
قره‌سو	۰/۰۰	۰/۰۰	۱۵/۴۲	۱۳/۶۳	۸/۳۷
خلیج گرگان	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۹/۷۵	۷/۱۰
کارگاه سیجوال (وحشی)	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۱۲/۹۰
کارگاه سیجوال (پرورشی)	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰

میزان شباهت و فاصله ژنتیکی بین نمونه‌های مورد مطالعه به ترتیب ۰/۷۲۴ و ۰/۳۲۱ به دست آمده آمد به نحوی که بالاترین میزان شباهت و پایین‌ترین فاصله ژنتیکی بین نمونه‌های قره‌سو و گمیشان وجود داشت. همچنین پایین‌ترین شباهت و بالاترین فاصله ژنتیکی بین نمونه‌های پرورشی سیجوال و خلیج گرگان مشاهده شد (جدول ۵). بر طبق دندروگرام UPGMA ترسیم‌شده بر اساس فاصله ژنتیکی، نمونه‌های مورد ارزیابی در ۲ گروه مجزا قرار گرفتند. گروه اول که شامل دو زیرگروه نمونه‌های خلیج گرگان و نمونه‌های گمیشان با قره‌سو بود و گروه دوم شامل دو زیرگروه نمونه‌های وحشی و پرورشی کارگاه سیجوال بود (شکل ۲).

جدول ۵: ماتریس شباهت و فاصله ژنتیکی بین نمونه‌های موردبررسی ماهی کلمه (*Rutilus caspicus*) در نواحی جنوب شرق دریای خزر.

مناطق نمونه‌برداری	گمیشان	قره‌سو	خلیج گرگان	کارگاه سیجوال (وحشی)	کارگاه سیجوال (پرورشی)
گمیشان	۰/۰۰	۰/۸۵۶	۰/۷۷۱	۰/۶۹۸	۰/۶۲۷
قره‌سو	۰/۱۸۸	۰/۰۰	۰/۸۱۵	۰/۷۸۴	۰/۶۷۱
خلیج گرگان	۰/۲۶۲	۰/۲۱۳	۰/۰۰	۰/۶۷۷	۰/۶۰۵
کارگاه سیجوال (وحشی)	۰/۳۱۸	۰/۲۴۲	۰/۳۵۸	۰/۰۰	۰/۷۳۵
کارگاه سیجوال (پرورشی)	۰/۴۶۲	۰/۳۹۶	۰/۴۹۳	۰/۳۷۹	۰/۰۰

اعداد بالا و پایین قطر به ترتیب نشان‌دهنده شباهت و فاصله ژنتیکی می‌باشد.



شکل ۲: دندروگرام UPGMA بر اساس فاصله ژنتیکی بین نمونه‌های موردبررسی ماهی کلمه (*Rutilus caspicus*) در نواحی جنوب شرق دریای خزر.

بحث و نتیجه‌گیری

در تحقیق حاضر از ده جایگاه ریز ماهواره جهت تعیین تفاوت‌های ژنتیکی بین جمعیت‌های وحشی و پرورشی ماهی کلمه خزر استفاده شد که همگی در تمام نمونه‌های مورد مطالعه چندشکلی نشان دادند. تنوع ژنتیکی مولکولی در ماهیان با ویژگی‌های تاریخیچه زندگی آن‌ها مرتبط بوده (Dewoody and Avise, 2000) و پایه و اساس سازگاری گونه‌ها در محیط‌های مختلف می‌باشد (Li et al., 2007). در این خصوص، ارزیابی تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های وحشی و پرورشی می‌تواند اطلاعات سودمندی را برای برنامه‌های تکثیر و ژنتیک حفاظت در بر داشته باشد (Allendorf, 1986; Lacy, 1987). درواقع، شناخت و آگاهی از تنوع ژنتیکی برای گونه‌های تحت برنامه بازسازی ذخایر همچون ماهی کلمه خزر باید به‌عنوان یک اولویت در توسعه و اجرای استراتژی‌های مدیریتی قرار گیرد تا بتوان خطر کاهش تنوع ژنتیکی جمعیت‌های وحشی و درون آمیزی در ذخایر کارگاهی را به حداقل رسانید (Aguiar et al., 2013). تعداد آلل‌ها، هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده و مورد انتظار به‌عنوان پارامترهای تنوع ژنتیکی جمعیت‌ها مطرح می‌باشند. در این بررسی متوسط هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده و مورد انتظار در جمعیت‌های موجود در کارگاه سیجوال کمی پایین‌تر از جمعیت‌های وحشی بود که این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار نبود ($P > 0.05$). این امر در تطابق با نتایج به‌دست‌آمده توسط An و همکاران (۲۰۱۳) بود که میزان هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده در جمعیت‌های پرورشی *Cynoglossus semilaevis* را تنها کمی پایین‌تر از جمعیت‌های وحشی گزارش نمودند. به‌هرحال کاهش هتروزیگوسیتی در جمعیت‌های موجود در کارگاه‌های تکثیر می‌تواند به دلیل تعداد پایین مولدین مورد استفاده و به‌تبع آن درون آمیزی و رانش ژنتیکی باشد (Rana et al., 2004). از آنجایی که ارتباط آلل‌های نادر با هتروزیگوسیتی به دلیل فراوانی پایین، کم می‌باشد لذا حذف شدن این آلل‌ها نمی‌تواند تأثیر چندانی روی هتروزیگوسیتی داشته باشد (Kitada et al., 2009). بنابراین، هتروزیگوسیتی به‌عنوان شاخص دقیق و کاملی برای ارزیابی تنوع ژنتیکی گونه‌های تحت برنامه‌های تکثیر و بازسازی ذخایر در نظر گرفته نمی‌شود (Petit et al., 1998). در این خصوص، تعداد آلل‌های مشاهده‌شده در سطح هر جایگاه از مقیاس‌های رایج در ارزیابی تنوع ژنتیکی می‌باشد به‌نحوی که کاهش تعداد آلل در سطح جمعیت می‌تواند بیان‌گر کاهش تنوع ژنتیکی باشد (Lind et al., 2009). در تحقیق حاضر، متوسط تعداد آلل‌های مشاهده‌شده در جمعیت‌های کارگاهی (۱۰) تنها کمی پایین‌تر از جمعیت‌های وحشی (۱۰/۷) به‌دست‌آمده آمد. همچنین متوسط آلل‌های منحصربه‌فرد در سطح جمعیت‌های وحشی کمی بالاتر (۳۲/۳۳) از متوسط مشاهده‌شده برای جمعیت‌های موجود در کارگاه تکثیر (۲۸) بود. به‌طور کلی پایین‌تر بودن غنای آللی در جمعیت‌های موجود در کارگاه تکثیر در مقایسه با جمعیت‌های وحشی می‌تواند ناشی از به‌گزینی و درون آمیزی باشد (An et al., 2010). کاهش تنوع آللی در جمعیت‌های کارگاهی ماهیان در برخی مطالعات گزارش شده است (Hutchings and Fraser, 2008; An et al., 2014). در این راستا، Tessier و همکاران (۱۹۹۷) نمونه حادثی را گزارش نمودند که در آن زاده‌های ذخیره‌سازی شده منجر به رانش ژنتیکی قابل‌توجه و کاهش ۵۰ درصدی اندازه جمعیت مؤثر در جمعیت سالمون اطلس گردید که محققین علت این امر را استفاده از تعداد محدودی مولد برای ایجاد جمعیت کارگاهی عنوان نمودند. در ارزیابی آلل‌های مؤثر در این بررسی، میزان آلل‌های واقعی در تمامی موارد بالاتر از آلل‌های مؤثر به‌دست‌آمده آمد که می‌تواند نشان‌گر پویایی جمعیت‌های وحشی ماهی کلمه باشد. به‌طور کلی، در شرایطی که آلل‌های مختلف فراوانی یکسانی داشته باشند، میزان آلل‌های مؤثر با آلل‌های واقعی برابر می‌باشد اما به‌طور معمول به دلایلی همچون مهاجرت بین جمعیت‌ها و به‌تبع آن تغییرات فراوانی آللی در سطح جایگاه‌ها (Vahidi et al., 2014)، تعداد بالای آلل‌های حفظ‌شده در فراوانی خیلی پایین و همچنین تعداد بالای آلل‌های خیلی کمیاب که سهم ناچیزی در هموزیگوسیتی دارند، تفاوت بین آلل‌های واقعی و مؤثر امری معمول می‌باشد (Crow and Dove, 2000). درواقع، بسیاری از آلل‌ها تنها یک یا دو بار در جمعیت نمایان می‌شوند درحالی که یک یا تعداد کمی از آلل‌ها فراوانی بالا دارند. این امر باعث می‌شود تا میزان آلل‌های واقعی بیشتر از آلل‌های مؤثر گردد (Le Cam et al., 1972). این‌طور تصور می‌شود که معمولاً ساختار ژنتیکی جمعیت‌های ماهیان طی گذشت زمان پایدار باشد (Wenne et al., 2016). در تحقیق صورت گرفته توسط Tessier و Bernatchez (۱۹۹۹) در خصوص امکان تغییر یا پایداری ساختار جمعیتی و تنوع ژنتیکی ماهی سالمون اطلس در

چهار اکوسیستم آبی واقع در کانادا مشخص شد که تنوع آلی و هتروزیگوسیتی طی سال‌های ۸۱-۱۹۷۰ تا ۱۹۹۴ در برخی نواحی کاهش و یا افزایش بسیار جزئی نشان داده به‌نحوی که تغییرات مشاهده‌شده معنی‌دار نبود. محققین در تحقیق مذکور بیان داشتند که جمعیت‌های این ماهی توانسته علی‌رغم کاهش ذخایر تنوع ژنتیکی خود را طی چندین نسل حفظ نماید و تغییرات جمعیتی نتوانسته اندازه جمعیت مؤثر را کاهش دهد. مقایسه پارامترهای تنوع ژنتیکی نمونه‌های وحشی در این تحقیق (گمیشان: $He: 0.871, Ho: 0.712, Ao: 1.1/2$; قره‌سو: $He: 0.841, Ho: 0.669, Ao: 1.0/3$; خلیج گرگان: $He: 0.849, Ho: 0.69, Ao: 1.1/4$; گمیشان: $He: 0.837, Ho: 0.696, Ao: 1.0/2$; خلیج گرگان: $He: 0.846, Ho: 0.692, Ao: 1.0/4$) (کشیری و همکاران، ۱۳۸۸) نشان داد که علی‌رغم مسائلی همچون کاهش جمعیت و ذخیره‌سازی مجدد با لاروهای تولیدشده در کارگاه تکثیر طی این مدت، تفاوت معنی‌داری از نظر تنوع ژنتیکی درون جمعیتی حاصل نشده است ($P > 0.05$). به‌هرحال با توجه به کاهش ذخایر و تداوم برنامه بازسازی ذخایر ماهی کلمه از طریق آزادسازی لاروهای تولیدشده در کارگاه، ارزیابی ساختار ژنتیکی این ماهی با ارزش طی دوره‌های زمانی مختلف امری ضروری به نظر می‌رسد.

طی نزدیک به ۲۰ سال بازسازی ذخایر ماهی کلمه از طریق رهاسازی لاروهای تولیدشده از مولدین وحشی انجام پذیرفته است. متأسفانه اطلاعاتی در خصوص وضعیت ژنتیکی جمعیت‌های وحشی ماهی کلمه قبل از شروع برنامه بازسازی ذخایر وجود ندارد تا بتوان تصویر دقیقی از اثر برنامه‌های بازسازی ذخایر بر ساختار ژنتیکی ماهی کلمه طی این مدت ارائه داد. با این وجود، نتایج حاصل از این تحقیق مبنی بر عدم وجود تفاوت معنی‌دار از نظر هتروزیگوسیتی و تنوع آلی بین جمعیت‌های وحشی و پرورشی می‌تواند دال بر مناسب بودن مدیریت صورت گرفته در برنامه‌های تکثیر حمایتی ماهی کلمه طی بازسازی ذخایر باشد. در این خصوص، مقایسه مقادیر به‌دست‌آمده در این تحقیق با مقادیر حاصل از تحقیق قبلی نیز حاکی از عدم وجود تفاوت معنی‌دار در پارامترهای تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های وحشی ماهی کلمه بوده که می‌تواند مرتبط با عدم انحراف قابل توجه از تعادل مهاجرت/رانس در جمعیت‌های طبیعی طی این مدت باشد (Tessier and Bernatchez, 1999). علی‌رغم تمامی این موارد، نباید حتی کاهش اندک در پارامترهای تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های پرورشی موجود در کارگاه را هم نادیده گرفت. چراکه تنها سه سال از برپایی جمعیت پرورشی ماهی کلمه در کارگاه تکثیر می‌گذرد و طی این مدت نتایج تولیدشده از طریق تکثیر نیمه‌طبیعی مولدین پرورشی نیز به طبیعت رهاسازی می‌شوند. با توجه به این که زمان زیادی از برپایی جمعیت پرورشی ماهی کلمه نمی‌گذرد و همچنین با در نظر گرفتن این موضوع که ذخایر پرورشی طی این مدت به میزان ۱۰ تا ۲۰ درصد با مولدین وحشی صیدشده در هر سال جایگزین شده‌اند، نزدیکی سطح تنوع مشاهده‌شده در این جمعیت ($Ho: 0.621, Ao: 1.0$) به سطح تنوع مشاهده‌شده در جمعیت‌های وحشی خیلی دور از انتظار نبود. با این حال باید تدابیر جدی جهت حفظ و تقویت تنوع مشاهده‌شده در جمعیت‌های کارگاهی اندیشیده شود چراکه باگذشت زمان احتمال بروز مسائلی همچون درون آمیزی و خلوص ژنتیکی در چنین جمعیت‌هایی (Deepak et al., 2006) وجود دارد.

در بررسی جمعیت‌ها از نظر انحراف از تعادل هاردی-وینبرگ، هم در جمعیت‌های کارگاهی و هم در جمعیت‌های وحشی انحراف از تعادل بالایی مشاهده شد به‌نحوی که از ۵۰ تست موردبررسی، ۳۲ مورد انحراف معنی‌دار از تعادل نشان دادند. انحراف از تعادل هاردی-وینبرگ در بسیاری از جمعیت‌های ماهیان گزارش‌شده (Yue et al., 2004; Lucentini et al., 2006; Bang et al., 2009) که می‌تواند ناشی از عوامل متعددی همچون جریان ژنی بالا، جفت‌گیری غیر تصادفی، وجود آل‌های نول و درون آمیزی نمونه باشد (Bhassu et al., 2004; Borrell et al., 2008). با توجه به نتایج تحقیق حاضر، جریان ژنی نسبتاً بالایی بین نمونه‌های موردبررسی مشاهده شد (جدول ۳)؛ بنابراین مهاجرت و جریان ژنی را می‌توان به‌عنوان یکی از دلایل عمده انحراف از تعادل مشاهده‌شده در نظر گرفت. در این راستا، کسری هتروزیگوسیتی بالا و ضریب درون آمیزی معنی‌داری ($P \leq 0.02$) نیز در برخی از جایگاه‌ها مشاهده شد (جدول ۲). چنین کسری برای بسیاری از گونه‌های ماهیان گزارش‌شده است (Waldman and McKinnon, 1993; Hoarau et al., 2002; An et al., 2010). در این خصوص، نتایج حاصل از نرم‌افزار

Microchecker امکان وجود آلل‌های نول در برخی جایگاه‌ها را تأیید نمود. شایان ذکر است آلل‌های نول به‌طور واقعی باعث انحراف از مدل هاردی-وینبرگ نمی‌شوند بلکه عملکرد آن‌ها از طریق افزایش هموزیگوسیتی و کسری هتروزیگوسیتی باعث بروز چنین پدیده‌ای می‌گردد (Beaumont, 1994). علاوه بر این موارد، به‌گزینی و جفت‌گیری غیر تصادفی نیز می‌تواند در بروز انحراف از تعادل مشاهده‌شده در جمعیت‌های کارگاهی نقش داشته باشد.

در ارزیابی تمایز ژنتیکی بین نمونه‌های موردبررسی، متوسط شاخص‌های F_{st} و R_{st} به ترتیب $0.22/0$ و $0.49/0$ به‌دست آمده آمد. در این تحقیق، در تمامی موارد، مقادیر R_{st} بالاتر از F_{st} به‌دست آمده آمد. میزان R_{st} تحت مدل جهش پله‌ای می‌تواند بالاتر از میزان F_{st} باشد (Slatkin et al., 1995) این در حالی است که در شرایطی همچون کوتاه بودن زمان جدایی جمعیت‌ها که منجر به مستقل شدن تمایز از مدل جهش می‌گردد، ممکن است این دو شاخص مشابه هم باشند (Rousset, 1996). به‌هرحال، در مقایسه بین نمونه‌های موردبررسی بالاترین مقادیر تمایز بین جمعیت پرورشی سیجوال و جمعیت‌های طبیعی مشاهده شد که احتمالاً به دلیل به‌گزینی و کاهش تعداد مولدین مؤثر در کارگاه تکثیر باشد (An et al., 2010). همچنین پایین‌ترین تمایز ژنتیکی بین نمونه‌های قره‌سو و گمیشان وجود داشت. در این خصوص، بالاترین جریان ژنی نیز بین نمونه‌های قره‌سو و گمیشان مشاهده شد. فرآیندهای انحراف ژنتیکی تصادفی و سازگاری با محیط (از طریق به‌گزینی در جایگاه‌های خاص) منجر به افزایش تمایز جمعیتی می‌گردد این در حالی است که مهاجرت به‌عنوان عاملی مهم در کاهش تمایز بین جمعیت‌ها مطرح می‌باشد (Beaumont and Hoare, 2003). درواقع، زمانی که هیچ جریان ژنی و یا جریان ژنی اندکی بین جمعیت‌ها وجود داشته باشد، بین آن‌ها تمایز ژنتیکی قابل‌ملاحظه‌ای به وجود خواهد آمد درحالی‌که با افزایش مهاجرت میزان شباهت ژنتیکی بین جمعیت‌ها افزایش می‌یابد (Chakraborty and Leimar, 1987). درمجموع با توجه به معیار Wright (1978)، میزان تمایز ژنتیکی مشاهده‌شده در این بررسی در سطح پایینی قرار دارد که عامل اصلی آن می‌تواند جریان ژنی مشاهده‌شده بین نمونه‌های موردبررسی باشد. در بررسی شباهت و فاصله ژنتیکی نیز، پایین‌ترین شباهت و بالاترین فاصله ژنتیکی بین نمونه‌های پرورشی سیجوال و خلیج گرگان وجود داشت. نتایج حاصل از ترسیم دندروگرام UPGMA بر اساس فاصله ژنتیکی نیز نشان داد که جمعیت‌های کارگاهی در گروهی مجزا نسبت به جمعیت‌های طبیعی قرار گرفتند.

درمجموع، مقایسه پارامترهای تنوع ژنتیکی بین جمعیت‌های کارگاهی و طبیعی حاکی از کاهش اندک در تنوع آلی و هتروزیگوسیتی در جمعیت‌های کارگاهی بود هرچند تفاوت‌های مشاهده‌شده از نظر آماری معنی‌دار نبود ($P > 0.05$). بر طبق نتایج حاصل از این تحقیق می‌توان اذعان داشت که باوجود مسائلی همچون آلودگی، صید بی‌رویه و همچنین اجرای برنامه‌های بازسازی ذخایر از طریق رهاسازی لاروهای تولیدشده در کارگاه تکثیر، ماهی کلمه توانسته همچنان تنوع ژنتیکی خود را حفظ نماید. به‌هرحال با توجه به این‌که زمان زیادی از برپایی جمعیت پرورشی ماهی کلمه و رهاسازی لاروهای تولیدی از آن به طبیعت نمی‌گذرد و با در نظر گرفتن این موضوع که بالاترین مقادیر تمایز ژنتیکی بین جمعیت پرورشی سیجوال و جمعیت‌های وحشی مشاهده شد، ارزیابی ژنتیکی ذخیره مولدین، فرزندان و جمعیت‌های هدف به‌صورت دوره‌ای جهت برقراری استراتژی کارآمد در بازسازی ذخایر ضروری به نظر می‌رسد.

منابع

- رضایی، م.، شعبانی، ع.، شعبانپور، ب. و کشیری، ح.، ۱۳۹۱. تنوع ریز ماهواره‌ای و ساختار ژنتیک جمعیت ماهی سفید *Rutilus frisii kutum* در سواحل استان مازندران. مجله زیست‌شناسی ایران، ۲۵(۴): ۵۴۸-۵۵۸.
- لالویی، ف.، رضوانی گیل کلایی، س. و تقوی، م. ج.، ۱۳۹۴. بررسی تنوع ژنتیکی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در آب‌های ایرانی دریای خزر با استفاده از نشانگرهای ریز ماهواره‌ای. نشریه شیلات، مجله منابع طبیعی ایران، ۶۸(۱): ۱۲۸-۱۲۹.

کشیری، ح.، شعبانی، ع. و شعبانپور، ب.، ۱۳۸۸. بررسی تنوع ژنتیکی ماهی کلمه (*Rutilus rutilus caspicus*) در سواحل جنوبی دریای خزر. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ۵۷ ص.

کشیری، ح.، شعبانی، ع.، شعبانپور، ب. و رضایی، م.، ۱۳۹۰. بررسی ساختار جمعیتی ماهی کلمه (*Rutilus rutilus caspicus*) در مناطق انزلی و گمیشان با استفاده از نشانگر ریز ماهواره. مجله علوم و فنون دریایی، ۱۰(۴): صفحات ۱۴-۴.

محمدیان، س.، رضوانی گیل کلایی، س.، کاظمیان، م.، کمالی، ا.، تقوی، م. ج.، روح الهی، ش.، لالویی، ف. و نیرانی، م.، ۱۳۸۹. مطالعه تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیتی ماهی سیاه کولی (*Vimba vimba persa* (Pallas, 1814)) در سواحل شرقی و غربی دریای خزر (رودخانه‌های حویق و گرگان رود) با استفاده از نشانگرهای ریز ماهواره. مجله تاکسونومی و بیوسستماتیک، ۲(۵): صفحات ۳۸-۲۹.

Aguiar, J., Schneider, H., Gomes, F., Carneiro, J., Santos, S., Rodrigues, L. R. and Sampaio, I., 2013. Genetic variation in native and farmed populations of Tambaqui (*Colossoma macropomum*) in the Brazilian Amazon: regional discrepancies in farming systems. *Annals of the Brazilian Academy of Sciences*, pp. 1-9.

Allendorf, F. W., 1986. Genetic drift and the loss of alleles versus heterozygosity. *Zoo Biology*, 5: 181-190.

An, H. S., Hong, S. W., Lee, J. U., Park, J. Y. and Kim, K. K., 2010. Genetic diversity of wild and farmed black sea bream populations in Jeju. *Animal Cells and Systems*, 14(1): 37-44.

An, H. S., Kim, E. M., Kang, H. W., Han, H. S., Lee, J. W., Park, J. Y., Myeong, J. I. and An, C. M., 2013. **Comparative Genetic Diversity of Wild and Hatchery-Produced Populations of Tongue Sole (*Cynoglossus Semilaevis*) Using Multiplex PCR Assays With Polymorphic Microsatellite Markers.** *Genetics and Molecular Research*, 12 (4): 6331-6343.

An, H. S., Yang, S. G., Moon, T. S., Park, J. Y., Hong, C. G., Hwang, H. K., Myeong, Y. J. and An, C. M., 2014. Comparison of genetic diversity between wild-caught broodstock and hatchery-produced offspring populations of the vulnerable Korean kelp grouper (*Epinephelus bruneus*) by microsatellites. *Genetics and Molecular Research*, 13 (4): 9675-9686.

Baerwald, M. R. and May, B., 2004. Characterization of microsatellite loci for five members of the minnow family Cyprinidae found in the Sacramento-San Joaquin Delta and its tributaries. *Molecular Ecology Notes*, 4: 385-390.

Bang, I., Kim, W. J. and Lee, I. R., 2009. Characterization of polymorphic microsatellite loci in the endangered Miho spine loach (*Iksookimia choii*) and cross-species amplification within the Cobitidae family. *Molecular Ecology Resources*, 9: 281-284.

Barinova, A., Yadrenkina, E., Nakajima M. and Taniguchi, N., 2004. Identification and characterization of microsatellite DNA markers developed in *Leuciscus idus* and Siberian roach *Rutilus rutilus*. *Molecular Ecology Notes*, 4: 86-88.

Barroca, T. M., Arantes, F. P., Magalhaes, B. F., Siqueira, F. F., Horta, C. C. R., Pena, I. F., Dergam, J. A. and Kalapothakis, E., 2012. Genetic diversity and population structure of *Prochilodus costatus* and *Prochilodus argenteus* preceding dam construction in the Paraopeba River, Sao Francisco River Basin, Minas Gerais, Brazil. *Open Journal of Genetics*, 2: 121-130.

Beaumont, A. R., 1994. *Genetics and Evolution of Aquatic Organisms*. Chapman and Hall, London, 539 p.

Beaumont, A. and Hoare, K., 2003. *Biotechnology and Genetics in Fisheries and Aquaculture*. Wiley-Blackwell, 176 p.

Benbouza, H., Jacquemin, J. M., Baudoin, J. P. and Mergeai, G., 2006. Optimization of the reliable, fast, cheap and sensitive silver staining method to detect SSR markers in polyacrylamide gels. *Biotechnology Agronomy Society and Environment*, 10: 77-81.

Bhassu, S., Yusoff, K., Panandam, J. M., Embong, W. K., Oyyan, S. and Tan, S. G., 2004. The genetic structure of *Oreochromis* spp. (Tilapia) populations in Malaysia as revealed by microsatellite DNA analysis. *Biochemical Genetics*, 42: 217-229.

Borrell, Y. J., Bernardo, D., Blanco, G., Vazquez, E. and Sanchez, J. A., 2008. Spatial and temporal variation of genetic diversity and estimation of effective population sizes in Atlantic salmon (*Salmo salar*, L.) populations from Asturias (Northern Spain) using microsatellites. *Conservation Genetics*, 9: 807-819.

- Carvalho-Costa, L. F., Hatanaka, T. and Galetti, P. M., 2008.** Evidence of lack of population substructuring in the Brazilian freshwater fish *Prochilodus costatus*. *Genetics Molecular Biology*, 31(1): 377-380.
- Chakraborty, R. and Leimar, O., 1987.** Genetic variation within a subdivided population. Ryman, N. and Utter, F. M. (Eds), *Population genetics and fishery management*. Washington: University of Washington, pp. 89-120.
- Chauhan, T. and Rajiv, K., 2010.** Molecular markers and their applications in fisheries and Aquaculture. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 1: 281-291.
- Crow, J. F. and Dove, W. F., 2000. **Perspectives on genetics: anecdotal, historical, and critical commentaries, 1987-1998.** *Medical History*, pp. 46.
- Deepak, P. K., Jahageerdar, S., Sharada, M. K. and Indira, N. K., 2006.** Cumulative inbreeding rate in hatchery reared Indian major carps of Karnataka and Maharashtra states. *Lournal of Indian Fisheries Association*, 33: 141-160.
- Dewoody, J. A. and Avise, J. C., 2000.** Microsatellite variation in Marine, freshwater and anadromous fishes compare with other. *Animal Journal of Fish Biology*, 56: 461-473.
- Dimoski, P., Toth, G. P. and Bagley, M. J., 2000.** Microsatellite characterization in central stoneroller *Camptostoma anomalum* (Pisces: Cyprinidae). *Molecular Ecology*, 9: 2187-2189.
- Geist, J., Kolahsa, M., Gum, B. and Kuehn, R., 2009.** The importance of genetic cluster recognition for the conservation of migratory fish species: the example of the endangered European huchen *Hucho hucho* (L.). *Journal of Fish Biology*, 75: 1063-1078.
- Goudet, J., 2001.** FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3). Available from <http://www.unil.ch/izea/software/fstat.html>.
- Grant, W. S., 2012. **Understanding the adaptive consequences of hatchery-wild interactions in Alaska salmon.** *Environmental Biology of Fishes*, 94(1): 325-342.
- Hiddink, J. G., Mackenzie, B. R., Rijnsdorp, A. D. and Ojaveer, H., 2008. **Importance of fish biodiversity for the management of fisheries and ecosystems.** *Fisheries Research*, 90(1-3):6-8.
- Hoarau, G., Rijnsdorp, A. D., Van der Veer, H. W., Stam, W. T. and Olsen, J. L., 2002.** Population structure of plaice (*Pleuronectes platessa* L.) in northern Europe: microsatellites revealed largescale spatial and temporal homogeneity. *Molecular Ecology*, 11: 1165-1176.
- Hutchings, J. A. and Fraser, D. J., 2008.** The nature of fisheries- and farming induced evolution. *Molecular Ecology*, 17: 294-313.
- Kiabi, B. H., Abdoli, A. and Naderi, M., 1999.** Status of the fish fauna in the South Caspian basin of Iran. *Journal of Zoology in the Middle East*, 18: 57-65.
- King, T. L., Kalinowski, S. T., Schill, W. B., Spidle, A. P. and Lubinski, B. A., 2001.** Population structure of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.); a range-wide perspective from microsatellite DNA variation. *Molecular Ecology*, 10: 807-821.
- Kitada, S., Shishidou, H., Sugaya, T., Kitakado, T., Hamasaki, K. and Kishino, H., 2009.** Genetic effects of long-term stock enhancement program. *Aquaculture*, 290: 69-79.
- Lacy, R. C., 1987.** Loss of genetic diversity from managed populations: interacting effects of drift, mutation, immigration, selection and population subdivision. *Conservation Biology*, 1: 143-158.
- Le Cam, L. M., Neyman, J. and Scott, E. L., 1972.** Sixth Berkeley Symposium on Mathematical Statistics and Probability. University of California Press, 760 p.
- Lemer, S. and Planes, S., 2012.** Translocation of wild populations: Conservation implications for the genetic diversity of the black-lipped pearl oyster *Pinctada margaritifera*. *Molecular Ecology*, 21: 2949-2962.
- Li, J. L., Wang, G. L., Bai, Z. Y. and Yue, G. H., 2007.** Ten polymorphic microsatellites from freshwater pearl mussel, *Hyriopsis cumingii*. *Molecular Ecology Notes*, 7(6): 1357-1359.
- Lind, C. U., Evans, B. S., Knauer, J., Taylor, J. J. U. and Jerry, D. R., 2009.** Decreased genetic diversity and a reduced effective population size in cultured silverlipped pearl oysters (*Pinctada maxima*). *Aquaculture*, 286: 12-19.
- Litt, M. and Luty, J. A. 1989.** A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. *American journal of Human Genetic*, 44: 397-401.

- Lucentini, L., Palomba, A., Lancioni, H., Gigliarelli, L., Natali, M. and Panara, F., 2006.** Microsatellite polymorphism in Italian populations of northern pike (*Esox lucius*). *Fisheries Research*, 80: 251-262.
- Matsumoto, C. K. and Hilsdorf, A. S., 2009.** Microsatellite variation and population genetic structure of a Neotropical endangered Bryconinae species *Brycon insignis* Steindachner, 1877: Implications for its conservation sustainable management. *Neotropical Ichthyology*, 7: 395-402.
- Oosterhout, C.V., Hutchinson, W.F., Wills, D.P.M. and Shipley, P., 2004.** Micro-checker: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes*, 4: 535-538.
- Peakall, R. and Smouse, P. E., 2006.** GENALEX 6: genetic analysis in excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*, 6: 288-295.
- Petit, R. J., Mousadik, A. E. and Pons, A. O., 1998.** Identifying populations for conservation on the basis of genetic markers. *Conservation Biology*, 12: 844-855.
- Piorski, N. M., Sanches, A., Carvalho-Costa, L. F., Hatanaka, T., Carrillo-Avila, M., Freitas, P. D. and Galetti, P. M., 2008.** Contribution of conservation genetics in assessing neotropical freshwater fish biodiversity. *Brazilian Journal of Biology*, 68:1039-1050.
- Rana, R. S., Bhat, K. V., Lakhanpal, S. and Lakra, W. S., 2004.** Comparative genetic diversity in natural and hatchery populations of Indian major Carps (*C. catla* and *L. rohita*). *Asian-Australas Journal of Animal Science*, 17(9): 1197-1203.
- Raymond, M. and Rousset, F., 1995.** GENEPOP (VERSION 1.3): Population genetic software for exact tests and ecumenicisim. *Journal of Heredity*, 86: 248-249.
- Roodt-Wilding, R., 2007.** Abalone ranching: A review on genetic considerations. *Aquaculture Research*, 38: 1229–1241.
- Rousset, F., 1996.** Equilibrium values of measures of population subdivision for stepwise mutation patterns. *Genetics*, 142: 1357-1362.
- Sanches, A., Galetti, P., Galzerani, F., Derazo, J., Cutilak-Bianchi, B. and Hatanaka, T., 2012.** Genetic population structure of two migratory freshwater fish species (*Brycon orthotaenia* and *Prochilodus argenteus*) from the São Francisco River in Brazil and its significance for conservation. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 40: 177-186.
- Selkoe, K. A. and Toonen, R. J., 2006.** Microsatellites for ecologists: a practical guide to using and evaluating microsatellite markers. *Ecology Letters*, 9: 615 – 629.
- Slatkin, M., 1995.** A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetics*, 139: 457-462.
- Tessier, N., Bernatchez, L., Wright, J. M., 1997.** Population structure and impact supportive breeding inferred from mitochondrial and microsatellite DNA analyses in landlocked Atlantic salmon *Salmo salar* L. *Molecular Ecology*, 6: 735-750.
- Tessier, N. and Bernatchez, L., 1999.** Stability of population structure and genetic diversity across generations assessed by microsatellites among sympatric populations of landlocked Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Molecular Ecology*, 8: 169-179.
- Vahidi, S. M. F., Tarang, A. R., Naqvi, A. N., Anbaran, M. F. Boettcher, P., Joost, S., Colli, L., Garcia, J. F. and Ajmone-Marsan, P., 2014.** Investigation of the genetic diversity of domestic *Capra hircus* breeds reared within an early goat domestication area in Iran. *Genetics Selection Evolution*, 46 (27): 1-12.
- Waldman, B. and McKinnon, J. S., 1993.** Inbreeding and outbreeding in fishes, amphibians and reptiles. In: Thornbel NW, editor. *The natural history of inbreeding and outbreeding*. Chicago: University of Chicago Press. pp. 250-282.
- Wenne, R., Bernas, R., Pokwierz-Kotus, A., Drywa, A. and Was, A., 2016.** Recent genetic changes in enhanced populations of sea trout (*Salmo trutta* m. *trutta*) in the southern Baltic rivers revealed with SNP analysis. *Aquatic Living Resource*, 29: 103-116.

Wright, S., 1978. Evolution and the genetics of populations. Volume 4: Variability within and Among Natural Populations. University of Chicago Press, Chicago.

Yeh, F. C., Yang, R. C. and Boyle, T., 1999. POPGENE version 1.3.1. Microsoft Windows-based Freeware for population Genetic Analysis. Available: www.uallberta.ca/fyeh/. University of Alberta and the Centre for International Forestry Research.

Yue, G. H., Li, Y., Lim, L. C. and Orban, L., 2004. Monitoring the genetic diversity of three Asian arowana (*Scleropages formosus*) captive stocks using AFLP and microsatellites. *Journal of Aquaculture*, 237: 89-102.

Zar, J. H., 1999. Biostatistical analysis. 4th edn. Prentice Hall, New Jersey.