

مقایسه ژنتیکی جمعیت‌های گاو ماهی قفقازی (*Knipowitschia caucasica* (berg, 1916) در

سواحل جنوب شرقی دریای خزر به روش ریز ماهواره

چکیده

به منظور مطالعه ساختار ژنتیکی جمعیت‌های گاو ماهی قفقازی (*Knipowitschia caucasica*) با استفاده از نشانگرهای ریز ماهواره، تعداد ۴۰ نمونه ماهی از سواحل جنوب شرقی دریای خزر در بهار ۱۳۹۶ جمع‌آوری شد. DNA ژنومی نمونه‌ها از بافت نرم باله ماهی به روش فنل-کلروفرم استخراج شد. سپس کمیت و کیفیت DNA استخراج‌شده مورد بررسی قرار گرفت. واکنش PCR با استفاده از پنج جفت پرایمر ریز ماهواره صورت گرفت. محصول PCR با استفاده از ژل پلی آکریل آمید ۶٪ الکتروفورز و با نیترا نقره رنگ‌آمیزی شد. مقادیر مربوط به فراوانی آللی، تعداد آلل‌های واقعی و مؤثر، هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده و مورد انتظار، فاصله ژنتیکی، تعادل هاردی-واینبرگ، مقادیر F_{ST} و جریان ژنی بر اساس آزمون AMOVA با استفاده از نرم‌افزار ژنتیکی Popgene 32 محاسبه گردید. از بین پنج جفت آغازگر مورد استفاده، همه آن‌ها به‌استثنای جایگاه Pmic-02 باند واضحی در محدوده مناسب نشان دادند. هر چهار جایگاه ریز ماهواره در گاو ماهی قفقازی به‌غیر از جایگاه pmar-05 پلی مورف بودند. میانگین تعداد آلل‌های مشاهده‌شده و مؤثر به ترتیب ۲/۳۷۵ و ۱/۶۸ بوده و میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده و مورد انتظار به ترتیب ۰/۴۴۵ و ۰/۳۶۴ محاسبه شد. در مورد بررسی تعادل هاردی-واینبرگ، به‌غیر از جایگاه Pmar-05 در نمونه‌های خلیج گرگان و جایگاه Pmar-08 در خلیج گرگان و تالاب گمیشان سایر جایگاه‌های ریز ماهواره مورد مطالعه انحراف از تعادل هاردی واینبرگ را نشان ندادند ($P > 0.01$). همچنین مقدار F_{ST} بین نمونه‌های سواحل جنوب شرقی ۰/۴۸۱ و مقدار N_m بین دو منطقه ۰/۲۶۹ بود. در نتیجه گاو ماهیان قفقازی خلیج گرگان و تالاب گمیشان به دو جمعیت مجزا تعلق دارند.

واژگان کلیدی: *Knipowitschia caucasica*، تنوع ژنتیکی، ژنتیک جمعیت، ریز ماهواره، دریای خزر.

عافیه انوری نیا^۱

عیسی جرجانی^۲

سیده آیناز شیرنگی^{۳*}

رحمان پاتیمار^۴

هادی رئیسی^۵

۱. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران.

۲ و ۳. استادیار گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه و فنی مهندسی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران.

۴. دانشیار گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران.

۵. استادیار گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران.

*مسئول مکاتبات:

ainazshirangi@gmail.com

کد مقاله: ۱۳۹۹۰۲۰۷۶۹

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۱/۰۲

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۵/۰۶

این مقاله پژوهشی و برگرفته از پایان‌نامه

کارشناسی ارشد است.

مقدمه

خانواده گاو ماهیان (Gobiidae) از رده ماهیان استخوانی با ۲۱۲ جنس و حداقل ۱۹۵۰ گونه شناخته‌شده می‌باشند که پس از کپور ماهیان جزء بزرگ‌ترین خانواده ماهی‌ها می‌باشند (Nelson, 2006). جنس *Knipowitschia* از جمله گاو ماهیانی است که کم‌تر مورد توجه واقع شده است. این جنس دارای سه گونه در دریای خزر است که گونه گاو ماهی قفقازی با نام علمی *Knipowitschia caucasica* فراوان‌ترین گونه در آب‌های خزر جنوبی به‌خصوص مناطق کم‌عمق از قبیل تالاب‌ها می‌باشد. سواحل کم‌عمق تالاب‌های ساحلی به‌عنوان محل‌های تخم‌ریزی ماهیان

و یا نوزادگاهی و چراگاهی آن‌ها مطرح می‌باشد (بهلکه و همکاران، ۱۳۹۵). پراکنش این گونه در حوضه دریای اژه، سیاه و دریای خزر می‌باشد و وارد دریاچه آرال نیز شده است. این گونه در دریای خزر از خلیج قزل آغاچ در نزدیکی مرز شمال غربی ایران، قسمت‌های پایینی سفیدرود و پایین بابل رود، خلیج گرگان، دلتای (مصب) قره‌سو، رودخانه اترک، سد ارس، جنوب شرق، جنوب غرب دریای خزر و جنوب مرکزی دریای خزر گزارش شده است (عبدلی و نادری، ۱۳۸۷؛ Derzhavin, 1934؛ Miller, 2004). رنگ بدن آن‌ها به رنگ خاکستری مایل به آبی تا خنایی با ته رنگ سبز زیتونی می‌باشد. طول کل این ماهی به حدود ۴۸/۶ میلی‌متر می‌رسد، هرچند احتمال این‌که به ۶۹ میلی‌متر هم برسد، وجود دارد (افرای و همکاران، ۱۳۷۹). طول عمر این گونه ممکن است یک سال باشد، البته در هر سال بسته به شرایط محیطی طول عمر دارای نوسان می‌باشد (Miller, 2004). دستیابی به خصوصیات ژنتیکی موجودات به منظور حفاظت از منابع ژنتیکی و جلوگیری از کاهش تنوع ژنتیکی بسیار مهم و ضروری است (Peng et al., 2009). تنوع ژنتیکی که از تفاوت در توالی نوکلئوتیدهای DNA در بین افراد حاصل می‌گردد، به‌عنوان اولین پیش‌نیاز، قابلیت بقای یک‌گونه یا جمعیت را از طریق ایجاد توانایی سازگاری با تغییرات محیطی فراهم می‌کند؛ بنابراین، وجود تنوع ژنتیکی برای بقای طولانی‌مدت یک‌گونه ضروری است و به‌طور کلی، مدیریت تنوع ژنتیکی در موجودات، نیازمند ارزیابی ساختار ژنتیکی و تفکیک ذخایر گونه موردنظر است (Diz and Presa, 2009). هدف اصلی مطالعات ژنتیکی حفاظت و نگهداری تغییرات ژنتیکی ایجادشده در جمعیت‌ها طی گذشت زمان است، زیرا اطلاعات کاملی را درباره تاریخچه سیر تکاملی گونه‌ها در اختیار قرار می‌دهد (Narum et al., 2004). در گذشته، ارزیابی ذخایر تشخیص گونه‌ها و جمعیت‌ها با استفاده از صفات مورفومتریک و ریستیک صورت می‌گرفت اما با توجه به حساسیت بالای این صفات و اثرات منفی دست‌کاری در نشانه‌گذاری بر سلامت ماهیان و همچنین محدود بودن تفسیر داده‌های نشانه‌گذاری به زمان جمع‌آوری آن‌ها علم استفاده از نشانگرهای مولکولی همچون ریز ماهواره، AFLP، RFLP، RAPD و آلوزایم جهت شناسایی ساختار ژنتیکی ذخایر توسعه یافت (Adams and Hutchings, 2003) و به دنبال آن‌ها از تکنیک‌های دیگر از جمله ریز ماهواره یا همان میکروستلایت استفاده شده است که توالی کوتاهی از DNA به طول کمتر از ۶ نوکلئوتید می‌باشند و به‌صورت پشت سر هم بوده و هیچ‌گونه قطع یا انفصالی در اکثر موجودات مشاهده نمی‌گردد. آن‌ها دارای کاربردهای فراوانی در ژنتیک تکاملی و حفاظتی می‌باشند (Angers and Bernatchez, 1998). این نشانگرها به علت مزایای زیاد از جمله فراوانی بالا و پراکندگی یکنواخت در ژنوم، هم بارز بودن، پلی‌مورفیسم بالا و رتبه دهی آسان و دقیق کاربرد گسترده‌ای دارد (Chen et al., 2008). همچنین، ریز ماهواره‌ها به علت بالا بودن تعداد آلل‌هایشان در میان تمام نشانگرها بالاترین میزان هتروزیگوسیتی را نشان می‌دهند (Li et al., 2018). این پلی‌مورفیسم بسیار بالا نشان می‌دهد که نشانگرهای ریز ماهواره برای آنالیز جمعیت و تعیین نژادها بسیار مفید می‌باشد (Dunham, 2004)، همچنین، با توجه به نتایج حاصل از تحقیقات ریز ماهواره گزارش شده است که این نشانگرها در ارزی‌پروری و شیلات از نظر اقتصادی اهمیت زیادی دارند (Was and Wenne, 2002). گاو ماهیان به علت عدم بهره‌برداری و فراوانی گونه‌ای، همچنین جمعیت زیادشان در دریای خزر در تولید این دریا نقش مهمی ایفا می‌کنند و مورد تغذیه بسیاری از آبزیان از جمله فوک دریای خزر، تاس ماهیان، سوف ماهیان و غیره قرار می‌گیرند. همچنین از مصرف‌کنندگان کلان منابع غذایی بوده و رقیب جدی برای سایر گونه‌ها محسوب می‌گردند (Stepanova, 2001)، اما متأسفانه به علت صید غیراقتصادی کمتر مورد مطالعات بیولوژیک قرار گرفته‌اند (مرادی، ۱۳۷۵). از بین آن‌ها، گاو ماهی قفقازی در رژیم غذایی ماهیان تجاری نقش قابل توجهی را ایفا می‌نماید اما هیچ اهمیت تجاری مستقیمی ندارد (Coad, 2013). از آنجاکه حفظ تنوع زیستی یکی از شاخص‌های توسعه‌یافتگی کشورهاست و هرگونه می‌تواند با توجه به جایگاه خود در زنجیره غذایی نقش غیرقابل‌انکاری در اکوسیستم ایفا نماید. از طرف دیگر، بنا بر یک گزارش، گاو ماهی قفقازی یک گونه نادر در ایران است (Derzhavin, 1934) و در لیست قرمز IUCN قرار دارد، همچنین، این گونه در کشور ترکیه نیز در لیست قرمز IUCN گزارش شده است (IUCN, 2013).

باوجود انجام مطالعات متعدد در زمینه ژنتیکی، رشد، رژیم غذایی، رفتار تولیدمثلی و برخی خصوصیات ریخت‌شناس و پویایی گونه‌های مختلف خانواده‌های گاو ماهیان در ایران مطالعات اندکی بر روی گونه گاو ماهی قفقازی در آب‌های دریای خزر انجام شده است (قلیچی، ۱۳۷۷؛ افرای و

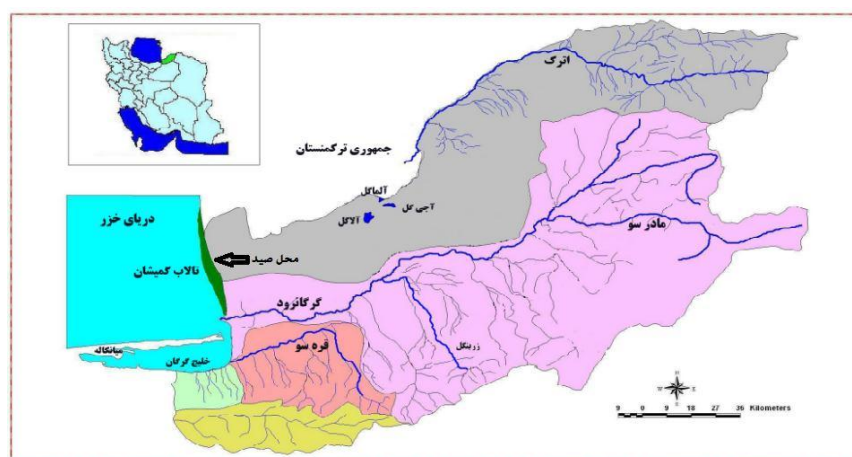
همکاران، ۱۳۷۹). در بین مطالعات انجام‌شده بر روی گونه گاو ماهی قفقازی در سواحل دریای خزر می‌توان به تعیین ویژگی‌های زیستی و تولیدمثلی گونه گاو ماهی قفقازی *K. caucasica* در تالاب گمیشان (بهلکه و همکاران، ۱۳۹۵) و همچنین مطالعه ریخت‌شناسی و مولکولی جمعیت‌های گاو ماهی قفقازی در سواحل جنوب شرقی دریای خزر با استفاده از توالی COI و Cytb (عزیزی، ۱۳۹۶؛ عزیزی و همکاران، ۱۳۹۷) اشاره نمود. مشاهده‌شده است که ذخایر گاو ماهی قفقازی در این دو منطقه بر اساس صفات ریخت‌شناسی علی‌رغم وجود اختلاط جزئی به دو ذخیره مجزا قابل تقسیم بودند، اما در صفات مریستیک و نشانگرهای مولکولی این دو جمعیت از هم متمایز نیستند (عزیزی و همکاران، ۱۳۹۷). ازجمله مطالعات مولکولی انجام‌شده در خارج از کشور می‌توان به بررسی اختلافات ژنتیکی درون و بین گونه‌ای جنس *Knipowitschia* بر اساس توالی نوکلئوتیدی ژن‌های Cytb و COI اشاره نمود (Tamura et al., 2011). در تحقیقی دیگر، با استفاده از توالی یابی Cytb، قرابت ژنتیکی گونه‌های *K. goerneri* و *K. milleri* نیز مشخص شده است (Vukic et al., 2016). به‌علاوه، با استفاده از توالی یابی ژن Cytb و مطالعات ریخت‌شناسی به شناسایی گونه *K. goerneri* و مقایسه آن با سایر جنس‌های *Knipowitschia* در تالاب کوریسون نیز پرداخته شد (Vukic et al., 2016). سن، رشد، نسبت جنسی و رژیم غذایی گاو ماهیان قفقازی، *K. caucasica* در دریاچه ایگیدر ترکیه نیز مورد مطالعه قرار گرفت (Gulcu and Erdogan, 2017). به علاوه، در مطالعه ای پویایی جمعیت و الگوی تذبذب ای گاو ماهی قفقازی مهاجم در ناحیه لیتورال پایین درست رودخانه Stugna در اوکراین مورد بررسی قرار گرفت (Didenko et al., 2020). از دیگر مطالعات اخیر انجام شده بر روی گاو ماهیان می‌توان به مقایسه شکل بدن پنج جنس از گاو ماهیان شنی شامل *Pomatoschistus*، *Economidichthys*، *Orsinigobius* و *Ninnigobius Knipowitschia* بین نمونه‌های داخل موزه و نمونه‌های جدید اشاره نمود (Thacker and Tkenas, 2019).

مرور مطالب فوق‌الذکر مؤید اهمیت مطالعات جمعیت‌شناسی در مدیریت تکثیر و پرورش ماهیان و به‌ویژه گونه‌های در حال انقراض می‌باشد همچنین با توجه به این‌که مقایسه ژنتیکی گاو ماهی قفقازی به روش ریز ماهواره تاکنون گزارش نگردیده است اطلاعات حاصل از این پژوهش می‌تواند در خصوص فرآیند بازسازی ذخایر این گونه ارزشمند مورد استفاده سازمان شیلات کشور قرار گیرد. از طرف دیگر به دلیل فاصله ناچیز جغرافیایی بین خلیج گرگان و تالاب گمیشان ممکن است ساختار جمعیت‌های ماهیان دو منطقه مورد مطالعه از لحاظ ژنتیکی از هم متمایز نباشند، لذا در این پژوهش تلاش گردید تا با استفاده از این نشانگر و مقایسه ساختار ژنتیکی گاو ماهیان مذکور استنتاج گردد که آیا گاو ماهیان سواحل جنوب شرقی دریای خزر (تالاب گمیشان و خلیج گرگان) مجزا هستند و درواقع آیا می‌توان آن‌ها را دو جمعیت مجزا اطلاق نمود.

مواد و روش‌ها

در بهار ۱۳۹۶ تعداد ۴۰ نمونه گاو ماهی قفقازی از سواحل جنوب شرقی دریای خزر تالاب گمیشان و خلیج گرگان با استفاده از تور دستی صید شد (شکل ۱). به دلیل نامساعد بودن شرایط زیست‌محیطی تالاب گمیشان تنها تعداد ۱۶ قطعه گاو ماهی قفقازی از این منطقه جمع‌آوری گردید و ۲۴ قطعه دیگر از خلیج گرگان تهیه گردید. خلیج گرگان با مساحت حدود ۴۶۶ کیلومتر مربع در طول جغرافیایی ۵۳ درجه و دقیقه تا ۵۳ درجه و ۳۵ دقیقه شرقی و عرض جغرافیایی ۳۶ درجه و ۴۸ دقیقه و ۳۶ درجه و ۵۴ دقیقه شمالی قرار دارد. تالاب گمیشان با مساحت در حدود ۱۷۷۰۰ هکتار در طول جغرافیایی تالاب ۵۳ درجه و ۵۲ دقیقه شرقی تا ۵۴ درجه و ۱ دقیقه شرقی و عرض جغرافیایی ۳۷ درجه و ۱۱ دقیقه شمالی تا ۳۷ درجه و ۲۱ دقیقه شمالی واقع شده است. نمونه‌ها سپس در اتانول مطلق تثبیت شدند و جهت انجام کارهای آزمایشگاهی به آزمایشگاه اکولوژی ماهیان دانشگاه گنبدکاووس انتقال یافتند. استخراج DNA به روش فنل کلروفرم (Taggart et al., 1992) انجام شد. بررسی کیفیت DNA استخراج‌شده با روش الکتروفورز افقی (شرکت پایا پژوهش طوس) روی ژل آگارز ۱ درصد انجام شد. کمیت DNA استخراج‌شده با استفاده از

جذب نوری در طول موج ۲۶۰ تا ۲۸۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر (uv-vis 6705 uk) اندازه‌گیری گردید. برای بررسی مطالعات مولکولی گونه گاو ماهی قفقازی در مناطق نمونه‌برداری از پنج جفت آغازگر (شرکت پیشگام، نماینده شرکت ماکروژن کره جنوبی) استفاده شد (جدول ۱). واکنش PCR در یک میکروتیوپ ۲۰۰ میکرونی‌تری با حجم ۲۵۱ μ l با شرایط آزمایشگاهی شامل بافر ۱۰X (۱ mM Tris-HCl) با $\text{pH}=9$ ، ۵ mM KCl، ۱۰٪ Triton X-100، ۱/۷۵ mM MgCl_2 ، ۰/۴ mM از هر dNTP، ۰/۳ U Taq polymerase و میزان ۳/۷۵ μ M از هر آغازگر در دستگاه ترموسایکلر (BIORAD) انجام شد. شرایط دمایی برای چرخه‌های مختلف و دماهای مختلف مراحل انجام واکنش PCR در جدول ۲ آورده شده است. سپس، محصولات PCR به‌دست‌آمده با ژل پلی اکریل آمید ۶ درصد مورد الکتروفورز عمودی قرار گرفتند و با نیترا ت نقره ۰/۱ درصد رنگ‌آمیزی شدند (Sambrook et al., 1989).



شکل ۱: مناطق مورد مطالعه در سواحل جنوب شرقی دریای خزر در ۱۳۹۶.

فراوانی آلی (Allele Frequency)، هتروزیگوستی مورد انتظار (Expected Heterozygosity) و مشاهده‌شده (Observed Heterozygosity)، تعداد آل‌های واقعی و تعداد آل‌های مؤثر در جایگاه‌های ریز ماهواره و تعادل هاردی واینبرگ با استفاده از برنامه Popgene 3.2 (Raymond and Rousset, 1995) محاسبه گردید. تنوع ژنی متوسط جمعیت و نیز F_{st} با استفاده از همین برنامه تعیین شد. تست AMOVA در نرم‌افزار Fstat محاسبه شد. همچنین از آنجائی که تعداد افراد در دو گروه مورد بررسی یکسان نبود (۲۴ قطعه ماهی از خلیج گرگان و ۱۶ قطعه گاو ماهی قفقازی از تالاب کمیشان)، محاسبه Allelic Richness از حداقل تعداد نمونه‌ها در دو گروه و با استفاده از نرم‌افزار Gene Pop ۳۲ انجام شد. درخت فیلوژنی به روش Maximum likelihood با استفاده از نرم‌افزار Mega.6، در مناطق نمونه‌برداری شده از گاو ماهی قفقازی ترسیم گردید.

جدول ۱: توالی آغازگرهای مورد استفاده در تحقیق حاضر.

نام آغازگر	توالی آغازگر	کد دسترسی	منبع
Pmar3	F: AGGTTTCCGCTGTTACTGCGAC R: GAGATAACAAGCGCAAAGTCC	DQ334750	Berrebi et al., 2006
Pmar-05	F: TCTCCGTGGCTCTCCCCAGTGC R: CTGATCAGGGCCACAGCATCT	DQ334751	Berrebi et al., 2006
Pmar-08	F: GTCTGGTCAATACTGAACAGCTC R: ACAGTCTCCAACGGCCGTTTACG	DQ334752	Berrebi et al., 2006
Pmin-06	F: TCANTNCTACTCACTAACCT R: CGCATTAGAATTATTAGGCC	AF516898	Berrebi et al., 2006
Pmic-02	F: CGTGGGCAAGGGACAGTTCAGC R: TGTGGTTTCGGTAGCAGTGGGTC	DQ334754	Berrebi et al., 2006

جدول ۲: برنامه استفاده شده برای انجام PCR.

مراحل	شرایط	زمان (ثانیه)	دما (درجه سانتی‌گراد)
مرحله اول ۱ چرخه	دنا توره شدن	۱۸۰	۹۴
	دنا توره شدن	۶۰	۷۲
مرحله دوم ۳۵ چرخه	الحاق	۲۰	۵۴-۶۰
	بسط	۶۰	۷۲
مرحله سوم ۱ چرخه	بسط	۱۸۰	۷۲

نتایج

بررسی شدت وضوح باندها نشان داد که باندهای بسیار قوی و شفاف DNA بر روی ژل آگارز (۱ درصد) و جذب نوری طول موج ۲۶۰ به ۲۸۰ نانومتر به وسیله اسپکتروفتومتر به عنوان شاخص کمیت بیانگر آن است که DNA های استخراج شده از باله ماهی به روش فنل کلروفرم فاقد آلودگی پروتئینی، فنلی و آلودگی به RNA است و از کیفیت و کمیت قابل قبولی برای استفاده در آزمایش‌های PCR برخوردار می‌باشند. پس از تغییر شرایط PCR و انتخاب بهترین شرایط از نظر غلظت مواد و برنامه ترموسایکر، الکتروفورز عمودی محصولات PCR و رنگ آمیزی ژل نتایج ذیل برای هر کدام از آغازگرها با نمونه‌های به کار رفته به دست آمد: از بین پنج جفت آغازگر مورد استفاده، همه آن‌ها به استثنای جایگاه Pmic-02 باند واضحی در محدوده مناسب و قابل قبولی بر روی ژل پلی اکریل آمید نشان دادند.

در این تحقیق، تعداد آلل‌ها در ماهیان خلیج گرگان ۱ تا ۴ و در ماهیان تالاب گمیشان ۲ تا ۳ به دست آمد و بیشترین تعداد آللی مربوط به ماهیان خلیج گرگان بود (جدول ۳). هیچ آللی که مشخص کننده تمایز بین دو گروه گاو ماهی قفقازی خلیج گرگان و تالاب گمیشان باشد یافت نشد و تنها در برخی آلل‌ها تفاوت فراوانی دیده شد. از بین دو جمعیت مورد بررسی، بیشترین فراوانی آللی در جمعیت خلیج گرگان دیده شده است. در جمعیت خلیج گرگان بیشترین فراوانی آللی برای Pmar-03 و کمترین آن مربوط به آلل Pmar-08 می‌باشد. در جمعیت تالاب گمیشان، بیشترین فراوانی آللی در جایگاه Pmar-03 و کمترین فراوانی آللی در بقیه جایگاه‌های دیده شده است (جدول ۴). از بین ۴ آلل مشاهده شده در جایگاه Pmar-03 در گاو ماهیان قفقازی موجود در خلیج گرگان، کمترین فراوانی آللی مربوط به آلل ۱۲۴ با میزان ۹/۳۸ و بیشترین فراوانی آللی مربوط به آلل ۱۹۸ با میزان ۵۶/۲۵ می‌باشد. از بین ۳ آلل مشاهده شده در جایگاه Pmar-03 در گاو ماهیان قفقازی موجود در تالاب گمیشان، بیشترین فراوانی آللی مربوط به آلل ۱۲۰ با میزان ۹۰ و کمترین فراوانی آللی مربوط به آلل ۱۲۴ با میزان ۲/۵ می‌باشد (جدول ۴). از بین ۲ آلل مشاهده شده (۲۵۲ و ۲۸۰) در جایگاه Pmar-05 در گاو ماهیان قفقازی موجود در هر دو منطقه مورد مطالعه، بیشترین و کمترین فراوانی آللی در نمونه‌های

تالاب گمیشان به ترتیب با میزان ۳۴/۲۱ و ۶۵/۷۹ به دست آمد (جدول ۴). در مورد جایگاه Pmar-08، بیشترین فراوانی آللی با میزان ۱۰۰ برای آلل ۲۰۰ در گاو ماهیان قفقازی موجود در خلیج گرگان و کمترین فراوانی آللی با میزان ۳۶/۳۶ در آلل ۱۹۸ ماهیان تالاب گمیشان به دست آمد (جدول ۴). در مورد جایگاه Pmin-06، از ۳ آلل مشاهده شده در خلیج گرگان (آلل‌های ۹۸، ۱۰۰ و ۱۰۴) و ۲ آلل مشاهده شده در نمونه‌های تالاب گمیشان، بیشترین و کمترین فراوانی آللی در نمونه‌های خلیج گرگان (آلل‌های ۱۰۰ و ۹۸) به ترتیب، ۸۷/۵ و ۳/۱۳ به دست آمد (جدول ۴). با توجه به اینکه تعداد نمونه‌های دو جمعیت برابر نیستند و از طرفی برای محاسبه Allelic Richness دو جمعیت به تعداد مساوی از نمونه‌ها مورد نیاز است، در نتیجه محاسبات بر مبنای حداقل تعداد، یعنی ۱۶ نمونه در هر جمعیت انجام شد (جدول ۵). بر طبق محاسبات انجام شده، همه جایگاه‌ها در هر دو گروه خلیج گرگان و تالاب گمیشان به جز جایگاه Pmar-05 در خلیج گرگان پلی مورف بودند (جدول ۶).

جدول ۳: تعداد آلل‌های مؤثر گاو ماهیان قفقازی خلیج گرگان و تالاب گمیشان در جایگاه‌های مختلف (PopGene32) در ۱۳۹۶.

منطقه	جایگاه	تعداد نمونه	تعداد آلل‌های مشاهده شده	تعداد آلل‌های مؤثر
خلیج گرگان	Pmar-03	۳۲	۴	۲/۵۹۹
	Pmar-05	۳۲	۲	۱/۹۶
	Pmar-08	۳۲	۱	۱
	Pmin-06	۳۲	۳	۱/۲۸۹
	میانگین	۳۲	۲/۵	۱/۷۱۴۵
	انحراف معیار		۱±/۲۵	۰±/۷۱۶۱
تالاب گمیشان	Pmar-03	۴۰	۳	۱/۲۲۵
	Pmar-05	۳۸	۲	۱/۸۱
	Pmar-08	۴۴	۲	۱/۸۶
	Pmin-06	۴۰	۲	۱/۷۲۴
	میانگین	۴۰	۲/۲۵	۱/۶۵۷
	انحراف معیار		۰±/۵	۰±/۲۹۳

جدول ۴: فراوانی آللی گاو ماهیان قفقازی در جایگاه‌های مختلف (PopGene32) در سواحل جنوب شرقی دریای خزر در ۱۳۹۶.

جایگاه	آلل	خلیج گرگان	تالاب گمیشان
Pmar-03	۱۱۶	۱۵/۶۳	۷/۵
	۱۲۰		۹۰
	۱۲۴	۹/۳۸	۲/۵
	۱۹۶	۱۸/۷۵	—
Pmar-05	۱۹۸	۵۶/۲۵	
	۲۵۲	۴۳/۷۵	۳۴/۲۱
	۳۸۰	۵۶/۲۵	۶۵/۷۹
Pmar-08	۱۹۸		۳۶/۳۶
	۲۰۰	۱۰۰	
	۲۰۸		۶۳/۶۴

جایگاه	آل	خلیج گرگان	تالاب گمیشان
Pmin-06	۹۸	۳/۱۳	
	۱۰۰	۸۷/۵	۷۰
	۱۰۴	۹/۳۸	۳۰

جدول ۵: محاسبه Allelic richness در هر جایگاه و جمعیت بر مبنای حداقل تعداد نمونه (۱۶ فرد در هر جمعیت) در سواحل جنوب شرقی دریای خزر در ۱۳۹۶.

جایگاه	خلیج گرگان	تالاب گمیشان	در هر دو گروه
Pmar-03	۴	۲/۷۹۴	۴/۸۸
Pmar-05	۲	۲	۲
Pmar-08	۱	۲	۳
Pmin-06	۳	۲	۲/۴

جدول ۶: درصد جایگاه‌های پلی مورف در ماهیان مورد مطالعه در سواحل جنوب شرقی دریای خزر در ۱۳۹۶.

منطقه مورد مطالعه	درصد احتمال پلی مورفیسم
خلیج گرگان	۷۵
تالاب گمیشان	۱۰۰
میانگین	۸۷/۵

دو شاخص هتروزیگوسیتی مشاهده شده (H_o) و هتروزیگوسیتی مورد انتظار (H_e) به عنوان معیاری برای تنوع ژنتیکی به کار می‌روند. در جدول ۷ و جدول ۸ هتروزیگوسیتی مورد انتظار و مشاهده شده برای هر چهار جایگاه محاسبه شده است. همان‌طور که مشخص است هتروزیگوسیتی مورد انتظار پایین‌تر از مشاهده شده است و میانگین آن برای هر دو جمعیت ۰/۳۶۴ می‌باشد که نشان‌دهنده تنوع ژنتیکی پایین در مناطق مورد مطالعه است.

جدول ۷: اطلاعات ترکیبی هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار برای نمونه‌های مورد مطالعه در هر منطقه در سواحل جنوب شرقی دریای خزر در ۱۳۹۶.

منطقه	اندازه نمونه	تعداد جایگاه	هتروزیگوسیتی مشاهده شده	هتروزیگوسیتی مورد انتظار	تعداد آل‌ها
خلیج گرگان	۱۶	۴	۰/۴۳۷۵±۰/۰۶۲	۰/۳۴۳۸±۰/۱۴۲۲	۲/۵±۱/۳۹
تالاب گمیشان	۲۳	۴	۰/۴۵۱۶±۰/۰۵۵۳	۰/۳۸۸۸±۰/۰۶۷۴	۲/۲۵±۰/۰۵

جدول ۸: اطلاعات ترکیبی هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار برای مجموع نمونه‌های مورد مطالعه در سواحل جنوب شرقی دریای خزر در ۱۳۹۶.

جایگاه	هتروزیگوسیتی مشاهده شده (H_o)	هتروزیگوسیتی مورد انتظار (H_e)	هتروزیگوسیتی کل (H_t)
Pmar-03	۰/۴۱۳	۰/۴۱۱	۰/۶۹۸
Pmar-05	۰/۷۲۷	۰/۴۷۸	۰/۴۷۹
Pmar-08	۰/۳۶۴	۰/۳۳۴	۰/۶۱۷

جایگاه	هتروزیگوسیتی مشاهده شده (H_o)	هتروزیگوسیتی مورد انتظار (H_e)	هتروزیگوسیتی کل (H_t)
Pmin-06	۰/۲۷۵	۰/۳۳۳	۰/۳۴۶
میانگین	۰/۴۴۵	۰/۳۶۴	۰/۵۳۵

مطابقت با تعادل هاردی-واینبرگ: همان طور که مشخص است از بین چهار جایگاه ریز ماهواره مورد مطالعه، تمام جایگاه‌ها به غیر از جایگاه Pmar-08 در دو منطقه مورد بررسی و جایگاه Pmar-05 در خلیج گرگان فاقد انحراف از تعادل هاردی واینبرگ بودند (جدول ۹).

جدول ۹: آزمون کای (χ^2) برای تعادل هاردی-واینبرگ در جایگاه‌های ریز ماهواره‌های پلی مورفیک در مناطق نمونه‌برداری شده از گاو ماهی قفقازی در سواحل جنوب شرقی دریای خزر در ۱۳۹۶.

منطقه	عوامل تعادل χ^2	Pmar-03	Pmar-05	Pmar-08	Pmin-06
خلیج گرگان	آزمون مربع کای	۷/۶۶۵	۸/۹۲۱	-	۰/۲۳۸
	درجه آزادی	۶	۱	-	۳
	احتمال	۰/۲۶۳	۰/۰۰۲۸	-	۰/۹۷۱
تالاب گمیشان	معنی‌دار بودن	Ns	*	-	Ns
	آزمون مربع کای	۰/۱۸	۱/۲۹۳	۶/۶۶۶	۱/۹۸
	درجه آزادی	۳	۱	۱	۱
	احتمال	۰/۹۸۰۶	۰/۲۵۵	۰/۰۰۹۸	۰/۱۵۹
	معنی‌دار بودن	Ns	Ns	*	Ns

* در سطح ۰/۰۱ معنی‌دار است و Ns عدم معنی‌داری می‌باشد.

تفاوت ژنتیکی، جریان ژنی و فاصله ژنتیکی: متوسط شاخص F_{ST} (شاخص جدایی جمعیت‌ها) حاصل از مقایسه دو جمعیت خلیج گرگان و تالاب گمیشان برابر ۰/۴۸۱ می‌باشد که نشان‌دهنده آن است که تفاوت ژنتیکی بین ماهیان مذکور زیاد است. جریان ژنی بین دو جمعیت برابر با ۰/۲۶۹ به دست آمد (جدول ۱۰). همچنین میزان فاصله ژنتیکی در داخل گاو ماهیان قفقازی موجود در خلیج گرگان و تالاب گمیشان با استفاده از تست AMOVA در نرم‌افزار FSTAT به ترتیب، ۰/۳۴ و ۰/۳۸۷ به دست آمد (جدول ۱۱). بر اساس فاصله ژنتیکی بین نمونه‌های دو منطقه مورد مطالعه درخت فیلوژنی رسم شد (شکل ۲). با توجه به نمودار مربوطه نمونه ماهیان موجود در خلیج گرگان و تالاب گمیشان از نظر ژنتیکی کاملاً از هم مجزا بوده و هیچ تداخلی باهم ندارند که نشان می‌دهد که دو جمعیت فوق، کاملاً از هم مجزا می‌باشند.

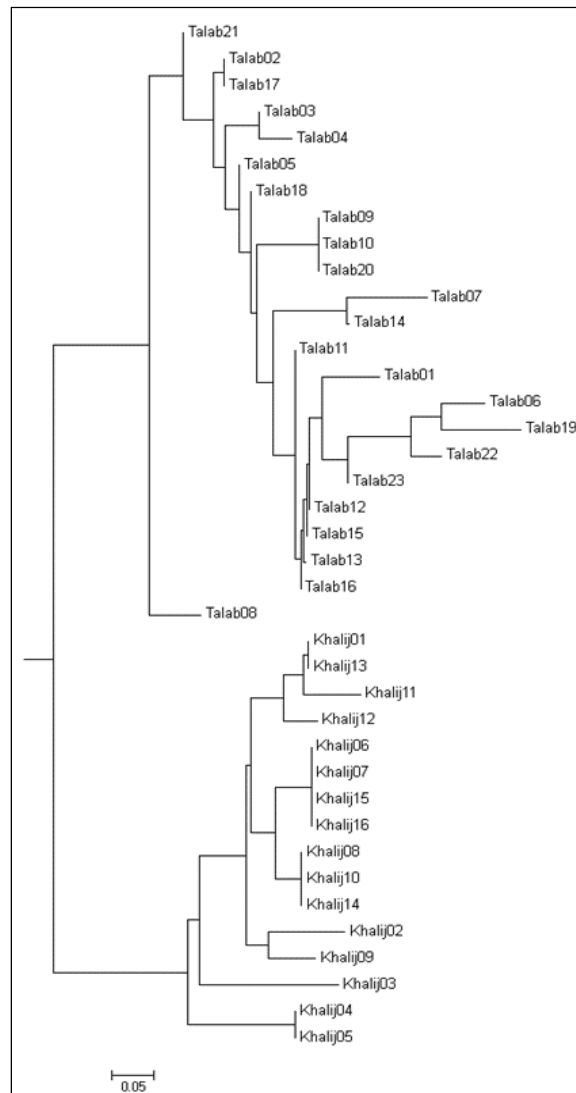
جدول ۱۰: محاسبه آماره‌های f (F statistics) و جریان ژنی (N_m) ماهیان مورد مطالعه در سواحل جنوب شرقی دریای خزر در ۱۳۹۶.

جایگاه	F_{IS}	F_{IT}	F_{ST}	N_m
Pmar-03	-۰/۰۰۷	۰/۵۹۶	۰/۵۹۹	۰/۱۶۷
Pmar-05	-۰/۵	-۰/۴۹۳	۰/۰۰۵	۴۹/۷۵
Pmar-08	-۰/۵۵۳	۰/۵۹۴	۰/۷۳۸	۰/۰۸۸
Pmin-06	۰/۱۹۴	۰/۲۴۹	۰/۰۶۹	۳/۳۷۳
میانگین	-۰/۲۱۹	۰/۳۶۷	۰/۴۸۱	۰/۲۶۹

$$N_m = (1 - F_{ST}) / F_{ST}$$

جدول ۱۱: فاصله ژنتیکی در هر جایگاه و هر منطقه مورد مطالعه در سواحل جنوب شرقی دریای خزر در ۱۳۹۶.

جایگاه	خلیج گرگان	تالاب گمیشان
Pmar-03	۰/۶۳۵	۰/۱۸۸
Pmar-05	۰/۴۹۶	۰/۴۵۹
Pmar-08	.	۰/۴۶۸
Pmin-06	۰/۲۳۱	۰/۴۳۴
میانگین	۰/۳۴	۰/۳۸۷



شکل ۲: درخت فیلوژنی به روش Maximum likelihood در مناطق نمونه‌برداری شده از گاو ماهی قفقازی در سواحل جنوب شرقی دریای خزر در ۱۳۹۶.

بحث و نتیجه‌گیری

در این مطالعه، میانگین تعداد آل‌های مشاهده‌شده در گاو ماهیان قفقازی خلیج گرگان و تالاب گمیشان بسیار مشابه هم و به ترتیب، ۲/۲۵ و ۲/۵ به دست آمد. قابل‌ذکر است که آل‌های مشاهده‌شده در هر جایگاه ژنی به‌شدت تحت تأثیر اندازه نمونه بوده و به همین جهت این امکان وجود دارد که در آزمایش‌های گوناگون با تعداد نمونه‌های متفاوت تعداد آل‌های واقعی مختلفی برای یک جایگاه معین به دست آید (Peakall and Smouse, 2005). در نتیجه، از معیار دیگری به نام تعداد آل‌های مؤثر استفاده می‌شود و بیانگر تعداد آل‌هایی است که هتروزیگوسیتی یکسان ایجاد می‌کنند. به‌علاوه، تعداد آل‌های مؤثر در ماهیان مورد مطالعه خلیج گرگان و تالاب گمیشان نیز مشابه و به ترتیب، ۱/۷۱ و ۱/۶۵ مشاهده شد. در شرایطی که همه آل‌ها دارای فراوانی یکسان بوده و با آل‌های نادر تحت تأثیر قرار نگیرند تعداد آل‌های مؤثر در یک جمعیت برابر تعداد آل‌های واقعی خواهد بود (Peakall and Smouse, 2005).

از دیگر معیارهای مفید تنوع ژنتیکی، هتروزیگوسیتی جمعیت است که به‌عنوان درصد متوسط هتروزیگوسیتی جایگاه‌ها در هر فرد (به‌طور مشابه، در سطح متوسط افراد هتروزیگوس در هر جایگاه) تعریف می‌شود. هتروزیگوسیتی یک جایگاه (H_0) را می‌توان از داده‌های خامی که ژنوتیپ‌های دیپلوئید مشاهده‌شده آن به دست آورد. همچنین ممکن است میزان هتروزیگوسیتی از روی فراوانی آل‌های مشاهده‌شده (H_e) به دست آید که این روش نسبت به روش استفاده از فراوانی ژنوتیپی کاربرد بیشتری دارد، فراوانی هتروزیگوت‌ها از این جهت اهمیت دارد که هر هتروزیگوت ناقل آل‌های متفاوتی است که این نشان‌دهنده وجود تنوع می‌باشد (Berg et al., 2005). در مطالعه حاضر، بیشترین فراوانی آلی در نمونه ماهیان خلیج گرگان با میزان ۱۰۰ در آل شماره ۲۰۰ مشاهده‌شده در جایگاه Pmar-08 به دست آمد؛ همچنین، کمترین فراوانی آلی نیز با میزان ۳/۱۳ در آل شماره ۹۸ واقع در جایگاه Pmin-06 ماهیان خلیج گرگان مشاهده شد. هتروزیگوسیتی بیانگر طیف وسیعی از ژنوتیپ به‌عنوان پاسخ به سازش‌پذیری در شرایط متغیر محیطی است و بسیاری از خصوصیات مهم اقتصادی مثل رشد، باروری و مقاومت در برابر بیماری را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Beardmore et al., 1997). در این بررسی، میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده و مورد انتظار در هر دو منطقه نمونه‌برداری به ترتیب، ۰/۴۴۵ و ۰/۳۶۴ به دست آمد و در تمام جایگاه‌ها، H_0 نسبت به H_e کمتر بود. کاهش H_0 نسبت به H_e نشان‌دهنده کاهش در تغییرپذیری ژنتیکی نمونه‌ها است. علت این کاهش، احتمالاً تنگناهای ژنتیکی می‌باشند که احتمالاً بر اثر شرایط زیست‌محیطی، تخریب زیستگاه‌های طبیعی، آمیزش‌های خویشاوندی به وجود می‌آید و در نتیجه باگذشت زمان موجب کاهش آل و کاهش هتروزیگوسیتی در ذخایر می‌شود (Norris et al., 1999; Hansen et al., 2000). در حالی که در مطالعات پیشین که بر روی گونه گاو ماهی خزری (*Neogobius caspius* Eichwald) و گاو ماهی سر گنده (*N. gorlap*) که هر دو بومی دریای خزر هستند انجام شده است، میزان هتروزیگوسیتی بالایی در هر دو گونه مشاهده شد (رضوانی گیل کلائی و همکاران، ۱۳۹۰؛ پور غلام و همکاران، ۱۳۹۰). بررسی ساختار ژنتیکی گونه *K. kessleri* و چهار گونه نزدیک به آن (*N. Kessleri*, *N. gymnotrachelus*, *N. melastomus*, *N. fluviatilis* و *Proterorhinus marmoratus*) نشان داد که دو گونه *N. Kessleri* و *N. melamostomus* به دلیل غیربومی بودن در منطقه مورد مطالعه تنوع ژنتیکی پایین‌تری نسبت به سایر گونه‌های بومی نشان دادند (Vyskocilova et al., 2007). به نظر می‌رسد جمعیت گاو ماهی قفقازی در جنوب شرق دریای خزر با توجه به غیربومی بودن در وضعیت متوسطی باشد که این امر می‌تواند در آینده نه‌چندان دور سبب کاهش سازگاری این گونه با تغییرات زیست‌محیطی گردد و از طرف دیگر، با توجه به اینکه میزان هتروزیگوسیتی در هر دو جمعیت ماهیان به‌طور زیادی مشابه بود می‌توان گفت تنوع ژنتیکی هر دو جمعیت تقریباً یکسان بوده است.

در مورد بررسی تعادل هاردی-واینبرگ، به‌غیر از جایگاه Pmar-05 در نمونه‌های خلیج گرگان و جایگاه Pmar-08 در خلیج گرگان و تالاب گمیشان سایر جایگاه‌های ریز ماهواره مورد مطالعه انحراف از تعادل هاردی واینبرگ را نشان ندادند. از دلایل وجود انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ در دو جایگاه فوق می‌تواند وجود آل صفر و یا آغازگر غیراختصاصی باشد (Norris et al., 1999). به دلیل اینکه پیش‌از این مطالعه

ژنتیکی گاو ماهیان قفقازی با استفاده از نشانگر ریز ماهواره انجام نشده است، لذا در این تحقیق از آغازگرهای مورد استفاده در یکی از گونه‌های مشابه گاو ماهی قفقازی که یکی از انواع گاو ماهیان شنی می‌باشد و به جنس *Pomatoschistus* تعلق دارد، استفاده شده است (Berrebi et al., 2018; Marques et al., 2006)، همچنین، بعضی از محققان وجود انحراف را به خطای نمونه‌برداری، هتروزیگوسیتی پایین و یا اندازه کم نمونه‌ها نسبت داده‌اند (Dahle et al., 2006; Alam and Islam, 2005)؛ اما عدم انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ مشاهده شده در سایر جایگاه‌های مورد مطالعه در تحقیق حاضر را می‌توان به دلیل هتروزیگوسیتی متوسط مشابه در هر دو جمعیت مورد بررسی و همچنین عدم آمیزش خویشاوندی در نظر گرفت. در همین راستا، پارامتر F_{IS} به عنوان ضریب آمیزش خویشاوندی به کار می‌رود. این پارامتر میزان انحراف از تعادل هاردی واینبرگ را در یک جمعیت نشان می‌دهد که بیشتر به دلیل آمیزش خویشاوندی به وجود آمده است، پارامتر F_{IS} می‌تواند بین -۱ تا +۱ متغیر باشد، به طوری که هر چه این پارامتر به +۱ نزدیک‌تر باشد، نشان‌دهنده این است که هیچ هتروزیگوسیتی یا هتروزیگوسیتی کمتری در جمعیت مورد مطالعه مشاهده نشده است و هر چه به -۱ نزدیک‌تر باشد، نشان‌دهنده این است که بیشتر افراد جمعیت مورد نظر هتروزیگوت هستند (Wright, 1951). با توجه به جدول (۱۰)، میزان پارامتر F_{IS} -۰/۲۱۹ به دست آمد و چون مقدار آن کمتر از صفر است نشان‌دهنده این است که میزان هم‌خونی و اختلاط بین جمعیت‌های ماهیان مناطق نمونه‌برداری شده بسیار اندک است. هم‌خونی از جمله خطرات اصلی در زیر تقسیمات جمعیت‌های ماهیان است که باعث کاهش هتروزیگوسیتی، کاهش میزان بقا و عدم مقاومت به بیماری‌ها می‌شود و در نهایت منجر به انهدام جمعیت‌های بومی می‌گردد (Ferguson, 1995) که خوشبختانه، عدم انحراف از تعادل هاردی واینبرگ در بیشتر جایگاه‌های مورد مطالعه و همچنین میزان پارامتر F_{IS} امکان وجود آمیزش خویشاوندی بین نمونه ماهیان مورد مطالعه را رد می‌کند.

در صورتی که هیچ جریان ژنی و یا جریان ژنی اندکی بین زیر جمعیت‌ها باشد بین آن‌ها تفاوت ژنتیکی به وجود خواهد آمد (Chakraborty et al., 1988)، همچنین زمانی که جریان ژنی ۱۰٪ و یا کمتر باشد می‌توان ذخایر مورد بررسی را مجزا از هم در نظر گرفت (Carvalho and Hauser, 1994). در تحقیق حاضر، میزان جریان ژنی بین ماهیان موجود در دو منطقه نمونه‌برداری حدود ۲۶/۹ درصد به دست آمد که نشان‌دهنده جریان ژنی ناچیز بین افراد این دو منطقه است. در نتیجه میزان مهاجرت بین این دو منطقه کاهش می‌یابد و بدین ترتیب شباهت بین جمعیت‌ها کاهش می‌یابد (Neigel, 1997)؛ بنابراین، می‌توان گفت، وجود اختلاف ژنتیکی مشاهده بین نمونه‌های مناطق مورد مطالعه در این تحقیق می‌تواند به دلیل جریان ژنی اندک بین دو منطقه باشد. فاکتور F_{ST} بیان‌کننده توصیف تمایز جمعیت در سطوح مختلف ساختار ژنتیکی می‌باشد. از طرفی، ثابت شده است که اگر میزان F_{ST} بیشتر از ۰/۲۵ باشد، تفاوت ژنتیکی بین مناطق مورد مطالعه بسیار زیاد است (Smouse and Long, 1988; Wright, 1951). در این تحقیق میزان F_{ST} برابر با ۰/۴۸۱ بوده است و تفاوت ژنتیکی بسیار زیادی بین دو منطقه مورد بررسی وجود دارد. از طرف دیگر، موافق با نتایج تحقیقات حاضر، در تحقیقی دیگر که صفات ریخت‌شناسی و شمارشی گاو ماهیان قفقازی در دو منطقه خلیج گرگان و تالاب گمیشان مورد بررسی قرار گرفت، نمونه ماهیان در دو محل دارای صفات ریخت‌شناسی کاملاً مجزایی از هم بودند و برعکس، طی توالی یابی ژن‌های سیتوکروم اکسیداز ۱ و سیتوکروم b در ماهیان مشابه تفاوت ژنتیکی معنی‌داری مشاهده نشد (عزیزی، ۱۳۹۶؛ عزیزی و همکاران، ۱۳۹۷). وجود اختلافات ریخت‌شناسی و عدم اختلاف ژنتیکی بین نمونه‌های مناطق مختلف نمونه‌برداری می‌تواند مربوط به نقش ساختاری ژنوم میتوکندری باشد و محصولات ژن‌های آن در فنوتیپ موجود نقشی ندارد یا این که به احتمال زیاد هر دو گروه از میتوکندری اجدادی مشترکی مشتق شده‌اند و سیر تکاملی صفات ریخت‌شناسی و ژنتیکی به صورت مستقل از هم صورت پذیرفته‌اند (Shemshad et al., 2007). در مطالعه‌ای دیگر، تنوع ژنتیکی و ریخت‌شناسی گاو ماهی مدیترانه‌ای *Pomatoschistus tortonese* را در سه منطقه مورد مطالعه قرار دادند که بر اساس صفات ریخت‌شناسی و مطالعه مولکولی ژن‌های میتوکندری 16srRNA و CO1 نشان دادند که نمونه‌های غرب و شرق مدیترانه از دو جمعیت جدا از هم هستند (Mejri et al., 2012). بیش‌تر محققان بر این باورند که تنوع فنوتیپی در خصوصیات ریخت‌سنجی نه تنها تحت تأثیر ژنتیک است، بلکه ممکن است تحت تأثیر تغییرات محیطی نیز باشد. علی‌رغم فاصله جغرافیایی ناچیز بین دو

منطقه مورد مطالعه (خلیج گرگان و تالاب گمیشان)، احتمالاً شرایط تقریباً مشابهی از نظر فاکتورهای زیستی بر هر دو منطقه حاکم بوده است اما در چند دهه اخیر اکوسیستم دریای خزر و به‌ویژه تالاب گمیشان به دلیل عدم مدیریت صحیح و پائین رفتن سطح آب دریای خزر تحت تأثیر قرار گرفته است و شرایط کنونی تالاب به‌طوری است که آب تنها در کانال‌های آن جریان دارد. ساحل خلیج گرگان به‌طور عمده گلی و پوشیده از گیاهان باتلاقی است. در داخل خلیج گرگان از غرب به شرق اندازه رسوبات از گلی به ماسه‌ای تغییر می‌کند (لاهیجانی و همکاران، ۱۳۸۹). همچنین از آنجایی که بستر تالاب گمیشان دارای سوراخ‌های زیستی است می‌تواند به‌عنوان پناهگاه مورد استفاده برای گاو ماهی قفقازی قرار گیرد. در نتیجه، می‌توان استنباط کرد که گاو ماهیان قفقازی نه تنها دارای تفاوت ژنتیکی هستند بلکه، در اثر شرایط محیطی نیز دچار تغییرات ریختی (مورفولوژیکی) نیز شده‌اند.

با وجود فاصله جغرافیایی ناچیز بین خلیج گرگان و تالاب گمیشان، مطالعه ژنتیکی گاو ماهیان قفقازی در دو منطقه مورد مطالعه با استفاده از نشانگرهای ریز ماهواره که شامل بررسی تفاوت ژنتیکی، فاصله ژنتیکی و جریان ژنی نشان داد که گاو ماهیان قفقازی در سواحل جنوب شرقی دریای خزر (تالاب گمیشان و خلیج گرگان)، به دو جمعیت مجزا تعلق دارد. همچنین، مطالعه حاضر نشان داد که تنوع ژنتیکی در ماهیان هر دو منطقه در وضعیت متوسطی قرار دارد که این امر می‌تواند در آینده نه‌چندان دور سبب کاهش سازگاری این گونه با تغییرات زیست‌محیطی گردد. کاهش هتروزیگوسیتی مشاهده شده نسبت به هتروزیگوسیتی قابل انتظار در تمام نمونه‌ها نیز نشان‌دهنده کاهش در تغییرپذیری ژنتیکی نمونه‌ها است که احتمالاً به دلیل تنگناهای ژنتیکی می‌باشند که بر اثر شرایط زیست‌محیطی و تخریب زیستگاه‌های طبیعی به وجود می‌آید. بدیهی است که برای اثبات این مسئله که آیا نمونه‌های ماهیان مورد مطالعه دو منطقه به یک جمعیت تعلق دارند، نیاز به بررسی‌های بیش‌تر با استفاده از تعداد نمونه ماهی بیشتر از دو منطقه مورد مطالعه در تحقیق حاضر در کنار سایر نمونه‌های مناطق مختلف جهان و همچنین سنجش سایر نشانگرهای مولکولی می‌باشد تا اطلاعات دقیق و جامعی از وضعیت جمعیتی و زیستی آن‌ها به دست آید.

سپاسگزاری

بدین وسیله از دانشگاه گنبد کاووس به جهت حمایت مالی برای انجام این پژوهش قدردانی می‌شود. همچنین از جناب آقای مهندس ارسلان بهلکه به خاطر جمع‌آوری نمونه‌ها و کمک در آزمایشگاه سپاسگزاری می‌گردد.

منابع

- افرایی، م. ع.، حسن نیا، م. ر. و رستمیان، م. ت.، ۱۳۷۹. برخی از خصوصیات زیستی و پراکنش (در خلیج گرگان) سواحل (*Knipowitschia caucasica* (kaerajsky, in Berg 1916) گاو ماهی جنوب شرقی دریای خزر. مجله پژوهش و سازندگی، شماره ۴۹: صفحات ۹۹-۱۰۱.
- بهلکه، ا.، پاتیمار، ر.، عبدلی، ا. و گلزاریان پور، ک.، ۱۳۹۵. بررسی برخی ویژگی‌های رشد گاو ماهی قفقازی *Knipowitschia caucasica* در تالاب گمیشان-حوضه جنوب شرق دریای خزر. پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی، ۴ (۵): صفحات ۱۵-۲۹.
- پور غلام، ح.، زمینی، ع.، لالونی، ف.، خارا، ح. و تقوی، م. ج.، ۱۳۹۰. بررسی ساختار ژنتیک جمعیت گاو ماهی سرگنده (*Neogobius gorlap*) دریای خزر در سواحل استان‌های گلستان و مازندران با استفاده از نشانگرهای ریز ماهواره‌ای. مجله علوم زیستی واحد لاهیجان، ۵ (۲): صفحات ۳۳-۴۴.
- رضوانی گیل کلائی، س.، رزمجو، ا.، قوام مصطفوی، پ. گ.، لالونی، ف.، تقوی، م. ج. و نوروزی، م.، ۱۳۹۰. مقایسه ژنتیکی جمعیت گاو ماهی خزری در غرب و شرق سواحل جنوبی دریای خزر. با استفاده از روش ریز ماهواره. مجله علمی شیلات ایران، ۲۰ (۱): صفحات ۶۵-۷۴.
- عبدلی، ا. و نادری، م.، ۱۳۸۷. تنوع زیستی ماهیان حوضه جنوبی دریای خزر. انتشارات علمی آذربایجان. ۲۴۲ ص.

- عزیزی، ص.، ۱۳۹۶. تنوع ژنتیکی جمعیت‌های گاو ماهی قفقازی (*Knipowitschia caucasica*) در سواحل جنوبی دریای خزر با استفاده از توالی ژن‌های Co1 و Cytb. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه گتبدکاووس، ۸۰ ص.
- عزیزی، ص.، جرجانی، ع.، شیرنگی، س. آ.، علوی یگانه، م. ص. و پاتیمار، ر.، ۱۳۹۷. تنوع صفات ریخت سنجی گاو ماهی قفقازی (*Knipowitschia caucasica*) در تالاب گمیشان و خلیج گرگان (حوضه جنوب شرق دریای خزر). پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی. ۶ (۴): صفحات ۴۶-۳۱.
- قلیچی، ا.، ۱۳۷۷. بررسی سن و رشد، تغذیه و زاد آواری گاو ماهیان در سواحل شرقی میانکاله. پایان‌نامه کارشناسی ارشد مهندسی شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. ۶۳ ص.
- لاهیجانی، ح.، حایری اردکانی، ا.، شریفی، ا. و نادری بنی، ع. م.، ۱۳۸۹. شاخص‌های رسوب‌شناختی و ژئوشیمیایی رسوبات خلیج گرگان. اقیانوس‌شناسی. ۱ (۱): صفحات ۵۵-۴۵.
- مرادی، م. ع.، ۱۳۷۵. پراکنش و خصوصیات مهم زیستی گاو ماهی سر گنده در سواحل جنوب شرقی دریای خزر. پایان‌نامه کارشناسی ارشد بیولوژی دریا. گروه آموزشی علوم دریایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال. ۱۴۵ ص.
- Alam, S. and Islam, S., 2005.** Population genetic structure of *Catla catla* (Hamilton) revealed by microsatellite DNA markers. *Aquaculture*. 246: 151-160.
- Angers, B. and Bernatchez, L., 1998.** Combined use of SMM and non SMM methods to infer fine structure and evolutionary history of brook charr (*Salvelinus fontinalis*, Salmonidae) populations from microsatellites. *Molecular Biology Evolution*. 15: 143-159.
- Adams, B.K. and Hutchings, A., 2003.** Microgeographic population structure of brook charr: a comparison of microsatellite and mark-recapture data. *Journal of Fish Biology*, 62: 517-533.
- Beardmore, A.L., Mair, C.G. and Lewis, C.G., 1997.** Biodiversity in aquatic systems in relation to aquaculture. *Aquaculture Research*. 28: 829-839.
- Berg, E., Sarvas, T.H., Harbitz, A., Fevolden, S.E. and Salberg, A.B., 2005.** Accuracy and precision in stock separation of north-east Arctic and Norwegian coastal cod by otoliths—comparing readings, image analyses and a genetic method. *Marine and Freshwater Research*. 56: 753–762.
- Berrebi, P., Lasserre, B., Barbisan, F. and Zane, L., 2006.** Isolation of microsatellite loci and cross-species amplifications in three gobiid fish of the genus *Pomatoschistus*. *Molecular Ecology Notes*. 6: 724-727.
- Carvalho, G.R. and Hauser, L., 1994.** Molecular genetics and the stock concept in fisheries. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*. 4: 326-350.
- Chakraborty, R., Meagher, T. R., and Smouse, P. E., 1988.** Parentage analysis with genetic markers in natural populations. I. The expected proportion of offspring with unambiguous paternity. *Genetics* 118: 527–536.
- Chen, L., Li, Q. and Yang, J., 2008.** Microsatellite genetic variation in wild and hatchery populations of the sea cucumber (*Apostichopus Japonicus selenka*) from northern China. *Aquaculture Research*. 39:1541-1549.
- Coad, B.W., 2013.** The freshwater fishes of Iran. Received from personal website, www.Briancoad.com.
- 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.
- Didenko, A., Buzevych, I., Volikov, Y., Kruzhylina, S. and Gurbyk, A., 2020.** Population dynamics and feeding ecology of the invasive Caucasian dwarf goby, *Knipowitschia caucasica*, in a freshwater habitat in Ukraine. *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems*. 421 (26): 1-12.
- Diz, P. A. and Presa, P., 2009.** The genetic diversity pattern of *Mytilus alloprovincialis* in Galician Rías (NW Iberian estuaries). *Aquaculture*, 287: 278-285.
- Derzhavin, A. N., 1934.** Freshwater fishes from the southern coast of the Caspian. *Trudy Azerb. Otd. Zakavk. Fil. AN SSSP, Sektor Zoologii*. 7: 91-126.
- Dunham, R.A., 2004.** *Aquaculture and Fisheries Biotechnology Genetic Approaches*. CABI Publishing, Auburn University. pp 358.
- Ferguson, M., 1995.** The role of molecular genetic markers in the management of cultured fish. GR Carvalho and, TJ Pitcher (Eds.), *Molecular Genetics in Fisheries*. pp: 81-104.

- Hansen, M. M., Ruzzante, D. and Nielsen, E. E., 2000.** Microsatellite and mitochondrial DNA polymorphism reveals life- history dependent interbreeding between hatchery and wild brown trout (*Salmo trutta L.*). *Molecular Ecology*. 9 (5): 583-594.
- IUCN., 2013.** IUCN Red List of Threatened Species. Available online at www.iucnredlist.org. Accessed in 25.11.2013.
- Li, M. M., Li, B. L., Wu, J. X. and Xu, X.L., 2018.** Screening of microsatellite loci and the genetic diversity analysis of *Mythimna separata* (Lepidoptera: Noctuidae) populations in China. *Acta Entomologica Sinica*, 61(6): 712–720.
- Li, M. M., Li, B. L., Wu, J. X., and Xu, X. L., 2018.** Screening of microsatellite loci and the genetic diversity analysis of *Mythimna separata* (Lepidoptera: Noctuidae) populations in China. *Acta Entomologica Sinica*, 61(6): 712–720.
- Marques, J. F., Fonseca, V. F., Shao, Z., Cabral, H. N., Tougard, C. and Berebbi, P., 2018.** Genetic diversity of *Pomatoschistus microps* (Perciformes: Gobiidae) in ecologically differentiated estuarine systems. *Folia Zoologica*. 61(2): 106–117.
- Mejri, R., Brutto, S., Hassinea, N., Arculeo, M. and Ben Hassine, O. K., 2012.** Overlapping patterns of morphometric and genetic differentiation in the Mediterranean goby *Pomatoschistus tortonesei* Miller, 1968 (Perciformes, Gobiidae) in Tunisian lagoons. *Zoology*. 115: 239–244.
- Miller, P. J., 2004.** *Knipowitschia Iljin*, 1927. In: Miller, P.J. (ed.). *The Freshwater Fishes of Europe*, Volume 8, Gobiidae 2. AULA-Verlag, Wiesbaden, Germany. pp. 331–337.
- Neigel, J. E., 1997.** A comparison of alternative strategies for estimating gene flow from genetic markers. *Annual Review of Ecology and Systematic*. 28:105-128.
- Narum, S. R., Contor, C., Talbot, A. and Powell, M. S., 2004.** Genetic divergence of sympatric resident and anadromous forms of *Oncorhynchus mykiss* in the Walla River. *J. Fish Biology*. 65: 471-488.
- Nelson, J., 2006.** *Fishes of the World*, department of biological sciences, University of Alberta, Edmonton. Alberta, T6G2E9, Canada. 601pp.
- Norris, A. T., Bradley, D. G. and Cunningham, E. P., 1999.** Microsatellite genetic variation between and within farmed and wild Atlantic salmon (*Salmo salar*) population. *Aquaculture*. 180(1): 264-247.
- Peng, S. M., Shi, Z. H., Hou, J. L., Wang, W., Zhao, F. and Zhang, H., 2009.** Genetic diversity of silver pomfret (*Pampus argenteus*) population from the China Sea based on mitochondrial DNA control region sequences. *Biochemical Systematic Ecology*. 37: 626-632.
- Peakall, M. and Smouse, A., 2005.** GeneAlex Analysis in Excel. Phillips, R. L., Vasil, I.K., 2001. *DNA-B ased Markers in Plants*. 2nd .Edition Kluwer Academic Publishers.
- Raymond, M. and Rousset, F., 1995.** Genepop (Version 1.2): Population-Genetics Software for Exact Tests and Ecumenicism. *Journal of Heredity*. 86: 248-249.
- Sambrook, J., Fritsch, E.F. and Maniatis, T., 1989.** *Molecular cloning: a laboratory manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.
- Shemshad, K., Oshaghi, M., Yaghoobi-Ershadi, M., Vatandoost, H., Abaie, M., Zarei, Z. and Jedari, M., 2007.** Morphological and molecular characteristics of malaria vector *Anopheles superpictus* populations in Iran. *Tehran University Medical Journal TUMS Publications*. 65: 6–13.
- Smouse, P. E. and Long, J. C., 1988.** A comparative F-statistics analysis of human populations from lowland South America and highland New Guinea, pp. 32-46. In B. S. Weir, G. Eisen, M. M. Goodman, and G. Namkoong (eds.), *Proceedings of the II International Conference of Quantitative Genetics*. Sinauer, Sunderland, MA.
- Stepanova, T.G., 2001.** Some feature of reproduction and growth of gobies in the northern Caspian. In: *Ecology of young fish and problem of Caspian fish reproduction* VNIRO Press. pp: 268-276.
- Taggart, J.B., Hynes, R.A., Prodohl, P.A., and Ferguson, A., 1992.** A simplified protocol for routine total DNA isolation from salmonid fishes. *Journal of Fish Biology*. 40:963-965.
- Tamura, K. D., Peterson, N., Peterson, G., Stecher, M., Nei, M. and Kumar, S., 2011.** MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using Maximum Likelihood, evolutionary distance, and Maximum Parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution*, 28: 2731-2739.

- Vukic, J., Kovacic, M., Zogaris, S. and Šanda, R., 2016.** Rediscovery of *Knipowitschia goerneri* and its molecular relationships with other European northern Mediterranean *Knipowitschia* species (Teleostei: Gobiidae). *Ichthyological Exploration of Freshwaters*. 26 (4): 363-372.
- Vyskocilova, M., Onderackova, M. and Simkova, A., 2007.** Isolation and characterization of microsatellites in *Neogobius kessleri* (Perciformes, Gobiidae) and cross-Species amplification within the family Gobiidae. *Journal Compilation Blackwell Publishing Ltd.*, 6:703-707.
- Was, A. and Wenne, R., 2002.** Genetic differentiation in hatchery and wild sea trout (*Salmo trutta*) in the southern Baltic at microsatellite loci. *Aquaculture*. 204: 493-506.
- Wright, S., 1951.** The genetical structure of populations. *Annual Eugenics*. 15: 323-354.

