مقایسه ژنتیکی جمعیت‌های گاو ماهی قفقازی *Knipowitschia caucasica* (berg, 1916) در سواحل جنوب شرقی دریای خزر به روش ریز ماهواره

عافیه انوری نیا[۱]
عیسی جرجانی[۲]
سیده آیناز شیرنگی[۳]*
رحمان پاتیمار[٤]
هادی رئیسی[٥]

۱. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبدکاووس، گنبدکاووس، ایران.
۲و ۳. استادیار گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه و فنی مهندسی، دانشگاه گنبدکاووس، گنبدکاووس، ایران.
۴. دانشیار گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبدکاووس، گنبدکاووس، ایران.
۵. استادیار گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبدکاووس، گنبدکاووس، 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.

چکیده

به‌منظور مطالعه ساختار ژنتیکی جمعیت‌های گاو ماهی قفقازی (*Knipowitischia 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 موردبررسی 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 نیترات نقره رنگ‌آمیزی شد. مقادیر مربوط به فراوانی آللی، تعداد آل‌های واقعی و مؤثر، هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده و مورد انتظار، فاصله ژنتیکی، تعادل هاردی-واینبرگ، مقادیر F_{ST}و جریان ژنی بر اساس آزمونAMOVA با استفاده از نرم‌افزار ژنتیکی Popgene 32 محاسبه گردید. از بین پنج جفت آغازگر مورداستفاده، همه آن‌ها به‌استثنای جایگاه Pmic-02 باند واضحی در محدوده مناسب نشان دادند. هر چهار جایگاه ریز ماهواره در گاو ماهی قفقازی به‌غیراز جایگاه pmar-05 پلی مورف بودند. میانگین تعداد آل‌های 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 موردبررسی تعادل هاردی-واینبرگ، به‌غیراز جایگاه Pmar-05 در نمونه‌های خلیج گرگان و جایگاه Pmar-08 در خلیج گرگان و تالاب گمیشان سایر جایگاه‌های ریز ماهواره موردمطالعه انحراف از تعادل هاردی واینبرگ را نشان ندادند (P>۰/۰۰۱). همچنین مقدار FST بین نمونه‌های سواحل جنوب شرقی ۰/۴۸۱ و مقدار N_m بین دو منطقه ۰/۲۶۹ بود. درنتیجه گاو ماهیان قفقازی خلیج گرگان و تالاب گمیشان به دو جمعیت مجزا تعلق دارند.

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

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* ازجمله گاو ماهیانی است که کم‌تر موردتوجه واقع‌شده 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

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-01-07]

و یا نوزادگاهی و چراگاهی آن‌ها مطرح می‌باشد (بهلکه و همکاران، ۱۳۹۵). پراکنش این‌گونه در حوضه دریای اژه، سیاه و دریای خزر می‌باشد و وارد دریاچه آرال نیز شده است. این‌گونه در دریای خزر از خلیج قزل آغاج 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 گزارش‌شده است (عبدلی و نادری، ۱۳۸۷؛ Derzhavin, 1934؛ Miller, 2004). رنگ بدن آن‌ها به رنگ خاکستری مایل به آبی تا حنایی 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 (افرایی و همکاران، ۱۳۷۹). طول عمر این‌گونه ممکن است یک سال باشد، البته در هرسال بسته به شرایط محیطی طول عمر دارای نوسان می‌باشد (Miller, 2004). دستیابی به خصوصیات ژنتیکی موجودات به‌منظور 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 به‌طورکلی، 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). درگذشته، ارزیابی ذخایر تشخیص گونه‌ها و جمعیت‌ها با استفاده از صفات مورفومتریک و مریستیک 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، RAPD، RFLP، AFLP و آلوزایم جهت شناسایی ساختار ژنتیکی ذخایر توسعه یافت (Adams and Hutchings, 2003) و به دنبال آن‌ها از تکنیک‌های دیگر ازجمله ریز ماهواره یا همان میکروستلایت استفاده‌شده 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 ازجمله 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 هتروزایگوستی 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 گزارش‌شده است که این نشانگرها در آبزی‌پروری و شیلات ازنظر 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 ازجمله 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 قرارگرفته‌اند (مرادی، ۱۳۷۵). از بین آن‌ها، گاو ماهی قفقازی در رژیم غذایی ماهیان تجاری نقش قابل‌توجهی را ایفا می‌نماید اما هیچ اهمیت تجاری مستقیمی ندارد (Coad, 2013). ازآنجاکه 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 یک‌گونه نادر در ایران است (Derzhavin, 1934) و در لیست قرمز IUCN قرار دارد، همچنین، این‌گونه در کشور ترکیه نیز در لیست قرمز IUCN گزارش‌شده است (IUCN, 2013).

باوجود انجام مطالعات متعدد درزمینه 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 انجام‌شده است (قلیچی، ۱۳۷۷؛ افرایی و

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-01-07]

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 ریخت‌شناس علی‌رغم وجود اختلاط جزئی به دو ذخیره مجزا قابل‌تقسیم 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 بین‌گونه‌ای 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 مشخص‌شده 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. Caucasia* در دریاچه ایگیدر ترکیه نیز موردمطالعه قرار گرفت (Gulcu and Erdogan, 2017). به علاوه، در مطالعه ای پویایی جمعیت و الگوی تذیه 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 گاوماهیان می توان به مقایسه شکل بدن پنج جنس از گاو ماهیان شنی شامل *Economidichthys*، *Pomatoschistus*، *Knipowitschia*، *Ninnigobius* و *Orsinigobius* بین نمونه های داخل موزه و نمونه های جدید اشاره نمود (Thacker and Tkenas, 2019).

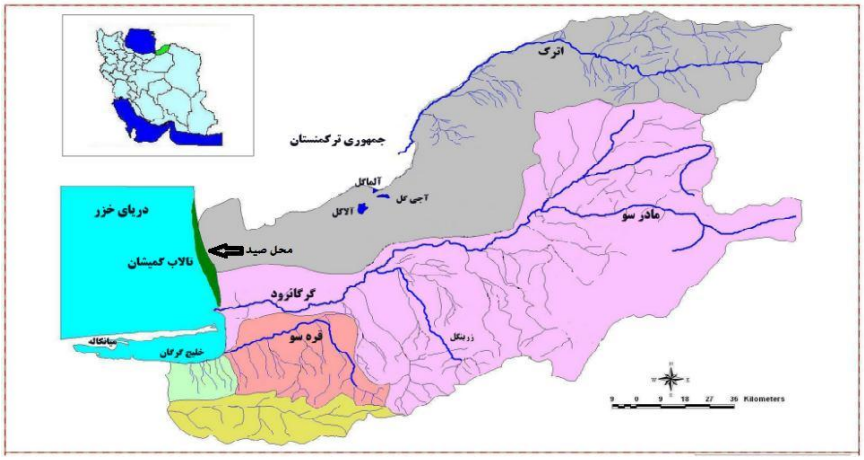
مرور مطالب فوق‌الذکر مؤید اهمیت مطالعات جمعیت‌شناسی در مدیریت تکثیر و پرورش ماهیان و به‌ویژه گونه‌های در حال انقراض می‌باشد همچنین با توجه به این‌که مقایسه ژنتیکی گاو ماهی قفقازی به روش ریز ماهواره تاکنون گزارش نگردیده است اطلاعات حاصل از این پژوهش می‌تواند در خصوص فرآیند بازسازی ذخایر این‌گونه ارزشمند مورداستفاده 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 موردمطالعه ازلحاظ 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 کیلومترمربع 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 واقع‌شده 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

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-01-07]

جذب نوری در طول‌موج 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 ۲۵l µ با شرایط آزمایشگاهی شامل بافر ۱۰X (۱ mM Tris-HCl با pH=9، ۵ mM KCl، ۱۰٪ Triton X-100)، ۱/۷۵ mM MgCl2، ۰/۴ mM از هر dNTP، ۰/۳ U Taq polymerase و میزان ۳/۷۵ µM 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 نیترات نقره ۰/۱ درصد رنگ‌آمیزی شدند (Sambrook *et al.*, 1989).



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

فراوانی آللی (Allele Frequency)، هتروزیگوستی مورد انتظار (Expected Heterozygosity) و مشاهده‌شده (Observed Heterozygosity)، تعداد آلل‌های واقعی و تعداد آلل‌های 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 ونیز 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 موردبررسی یکسان نبود (۲۴ قطعه ماهی از خلیج گرگان و ۱۶ قطعه گاو ماهی قفقازی از تالاب گمیشان)، 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.

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-01-07]

جدول ۱: توالی آغازگرهای مورداستفاده 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: ACAGTCTCCAACGGCCGTTCAG	DQ334752	Berrebi *et al*., 2006
Pmin-06	F: TCANTNCTACTCACTAACCT R: CGCATTAGAATTATTAGGCC	AF516898	Berrebi *et al*., 2006
Pmic-02	F: CGTGGGCAAGGGACAGTTCAGC R: TGTGGTTCGGTAGCAGTGGGTC	DQ334754	Berrebi *et al*., 2006

جدول ۲: برنامه استفاده‌شده برای انجام PCR.

مراحل	شرایط	زمان (ثانیه)	دما (درجه سانتی‌گراد)
مرحله اول ۱ چرخه	دناتوره شدن	۱۸۰	۹۴
مرحله دوم ۳۵ چرخه	دناتوره شدن	۶۰	۷۲
	الحاق	۲۰	۶۰- ۵۴
	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 طول‌موج ۲۶۰ به ۲۸۰ نانومتر به‌وسیله اسپکتروفتومتر به‌عنوان شاخص کمیت بیانگر آن است که DNA های استخراج‌شده 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 ازنظر غلظت مواد و برنامه ترموسایکر، الکتروفورز عمودی محصولات PCR و رنگ‌آمیزی ژل نتایج ذیل برای هرکدام از آغازگرها با نمونه‌های به‌کاررفته به دست آمد: از بین پنج جفت آغازگر مورداستفاده، همه آن‌ها به‌استثنای 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 مشخص‌کننده 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 موردبررسی، بیشترین فراوانی آللی در جمعیت خلیج گرگان دیده‌شده 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 دیده‌شده است (جدول ۴). از بین ۴ آلل مشاهده‌شده 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 مشاهده‌شده 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 مشاهده‌شده (۲۵۲ و ۲۸۰) در جایگاه Pmar-05 در گاو ماهیان قفقازی موجود در هر دو منطقه موردمطالعه، بیشترین و کمترین فراوانی آللی در نمونه‌های

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-01-07]

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 مشاهده‌شده در خلیج گرگان (آلل‌های ۹۸، ۱۰۰ و ۱۰۴) و ۲ آلل مشاهده‌شده 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 موردنیاز است، درنتیجه محاسبات بر مبنای حداقل تعداد، یعنی ۱۶ نمونه در هر جمعیت انجام شد (جدول ۵). بر طبق محاسبات انجام‌شده، همه جایگاه‌ها در هر دو گروه خلیج گرگان و تالاب گمیشان به‌جز 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 مشاهده‌شده	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 ٤: 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	–
	۱۹۸	۵۶/۲۵	
Pmar-05	۲۵۲	۴۳/۷۵	۳۴/۲۱
	۲۸۰	۵۶/۲۵	۶۵/۷۹
Pmar-08	۱۹۸		۳۶/۳۶
	۲۰۰	۱۰۰	
	۲۰۸		۶۳/۶۴

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-01-07]

جایگاه	آلل	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 ٦: درصد جایگاه‌های پلی مورف در ماهیان موردمطالعه در سواحل جنوب شرقی دریای خزر در ۱۳۹٦.

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

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

جدول ۷: اطلاعات ترکیبی هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده و مورد انتظار برای نمونه‌های موردمطالعه در هر منطقه در سواحل جنوب شرقی دریای خزر در ۱۳۹٦.

منطقه	اندازه نمونه	تعداد جایگاه	هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده	هتروزیگوسیتی مورد انتظار	تعداد آلل‌ها
خلیج گرگان	۱۶	۴	۰/۴۳۷۵±۰/۰۶۲	۰/۳۴۳۸±۰/۱۴۲۲	۲/۵±۱/۲۹
تالاب گمیشان	۲۳	۴	۰/۴۵۱۶±۰/۰۵۵۳	۰/۳۸۸۸±۰/۰۶۷۴	۲/۲۵±.۰/۵

جدول ۸: اطلاعات ترکیبی هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده و مورد انتظار برای مجموع نمونه‌های موردمطالعه در سواحل جنوب شرقی دریای خزر در ۱۳۹٦.

جایگاه	هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده (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	۰/۲۳۴	۰/۶۱۷

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-01-07]

جایگاه	هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده (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: همان‌طور که مشخص است از بین چهار جایگاه ریز ماهواره موردمطالعه، تمام جایگاه‌ها به‌غیراز جایگاه Pmar-08 در دو منطقه موردبررسی و جایگاه Pmar-05 در خلیج گرگان فاقد انحراف از تعادل هاردی واینبرگ بودند (جدول ۹).

جدول ۹: آزمون کای ($\chi 2$) 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 $\chi 2$	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
	معنی‌دار بودن	Ns	*	-	Ns
تالاب گمیشان	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 موردمطالعه درخت فیلوژنی رسم شد (شکل ۲). با توجه به نمودار مربوطه نمونه ماهیان موجود در خلیج گرگان و تالاب گمیشان ازنظر 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 موردمطالعه در سواحل جنوب شرقی دریای خزر در ۱۳۹۶.

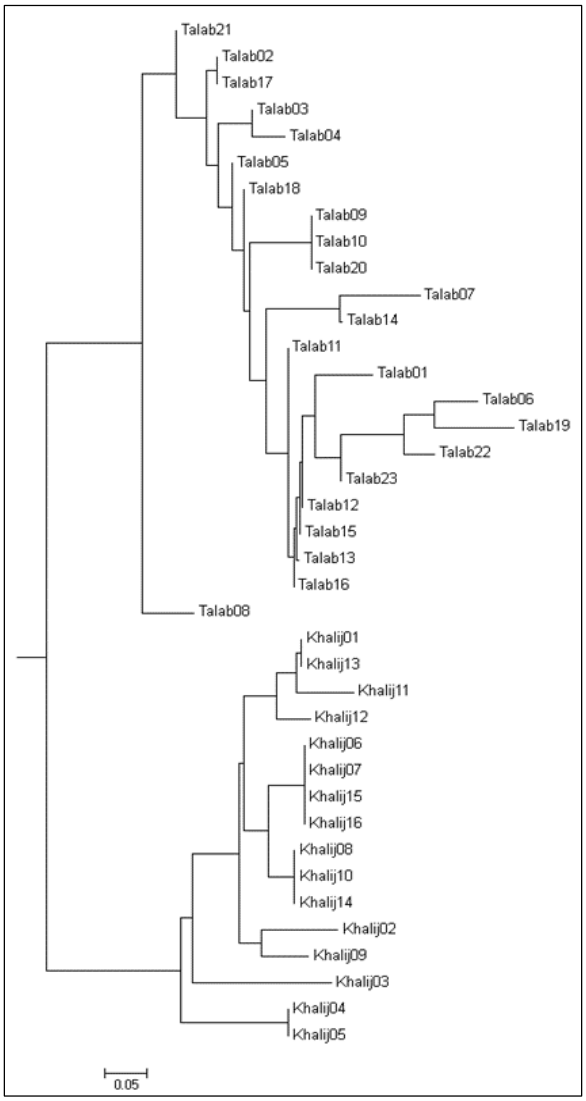
جایگاه	F_{IS}	F_{IT}	F_{ST}	N_m
Pmar-03	−۰/۰۰۷	۰/۵۹۶	۰/۵۹۹	۰/۱۶۷
Pmar-05	−۰/۵	−۰/۴۹۳	۰/۰۰۵	۴۹/۷۵
Pmar-08	−۰/۵۵۳	۰/۵۹۴	۰/۷۳۸	۰/۰۸۸
Pmin-06	۰/۱۹۴	۰/۲۴۹	۰/۰۶۹	۳/۳۷۳
میانگین	−۰/۲۱۹	۰/۳۶۷	۰/۴۸۱	۰/۲۶۹

N_m=۰/۲۵ (۱- F_{ST}) / F_{ST}

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-01-07]

جدول ۱۱: فاصله ژنتیکی در هر جایگاه و هر منطقه موردمطالعه 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	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.

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-01-07]

بحث و نتیجه‌گیری

در این مطالعه، میانگین تعداد آلل‌های مشاهده‌شده در گاو ماهیان قفقازی خلیج گرگان و تالاب گمیشان بسیار مشابه هم و به ترتیب، ۲/۵ و ۲/۲۵ به دست آمد. قابل‌ذکر است که آلل‌های 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 آلل‌های واقعی مختلفی برای یک جایگاه معین به دست آید (Peakall and Smouse, 2005). درنتیجه، از معیار دیگری به نام تعداد آلل‌های مؤثر استفاده می‌شود و بیانگر تعداد آلل‌هایی است که هتروزیگوسیتی یکسان ایجاد می‌کنند. به‌علاوه، تعداد آلل‌های مؤثر در ماهیان موردمطالعه خلیج گرگان و تالاب گمیشان نیز مشابه و به ترتیب، ۱/۷۱ و ۱/۶۵ مشاهده شد. در شرایطی که همه آلل‌ها دارای فراوانی یکسان بوده و با آلل‌های نادر تحت تأثیر قرار نگیرند تعداد آلل‌های مؤثر در یک جمعیت برابر تعداد آلل‌های 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_o) را می‌توان از داده‌های خامی که ژنوتیپ‌های دیپلوئید مشاهده‌شده آن به دست آورد. همچنین ممکن است میزان هتروزیگوسیتی از روی فراوانی آلل‌های مشاهده‌شده (H_e) به دست آید که این روش نسبت به روش استفاده از فراوانی ژنوتیپی کاربرد بیشتری دارد، فراوانی هتروزیگوت‌ها ازاین‌جهت اهمیت دارد که هر هتروزیگوت ناقل آلل‌های متفاوتی است که این نشان‌دهنده وجود تنوع می‌باشد (Berg *et al*., 2005). در مطالعه حاضر، بیشترین فراوانی آللی در نمونه ماهیان خلیج گرگان با میزان ۱۰۰ در آلل شماره ۲۰۰ مشاهده‌شده در جایگاه Pmar-08 به دست آمد؛ همچنین، کمترین فراوانی آللی نیز با میزان ۳/۱۳ در آلل 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 هردو منطقه نمونه‌برداری به ترتیب، ۰/۴۴۵ و ۰/۳۶۴ به دست آمد و در تمام جایگاه‌ها، H_o نسبت به H_e کمتر بود. کاهش H_o 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 درنتیجه باگذشت زمان موجب کاهش آلل و کاهش هتروزیگوسیتی در ذخایر می‌شود (Norris *et al*., 1999; Hansen *et al*., 2000). درحالی‌که در مطالعات پیشین که بر روی گونه گاو ماهی خزری (*Neogobius caspius* Eichwald) و گاو ماهی سر گنده (*N. gorlap*) که هردو بومی دریای خزر هستند انجام‌شده 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. fluviatilis*، *N. melastomus*، *N. gymnotrachelus* و *Proterorhinus. marmoratus*) نشان داد که دو گونه *N. Kessleri* و *N. melamostomus* به دلیل غیربومی بودن در منطقه موردمطالعه 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 این‌گونه 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 موردبررسی تعادل هاردی–واینبرگ، به‌غیراز جایگاه Pmar-05 در نمونه‌های خلیج گرگان و جایگاه Pmar-08 در خلیج گرگان و تالاب گمیشان سایر جایگاه‌های ریز ماهواره موردمطالعه انحراف از تعادل هاردی واینبرگ را نشان ندادند. از دلایل وجود انحراف از تعادل هاردی–واینبرگ در دو جایگاه فوق می‌تواند وجود آلل صفر و یا آغازگر غیراختصاصی باشد (Norris *et al*., 1999). به دلیل اینکه پیش‌ازاین مطالعه

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-01-07]

ژنتیکی گاو ماهیان قفقازی با استفاده از نشانگر ریز ماهواره انجام‌نشده است، لذا در این تحقیق از آغازگرهای مورداستفاده دریکی از گونه‌های مشابه گاو ماهی قفقازی که یکی از انواع گاو ماهیان شنی می‌باشد و به جنس *Pomatoschistus* تعلق دارد، استفاده‌شده است (Berrebi *et al*., 2006; Marques *et al*., 2018)، همچنین، بعضی از محققان وجود انحراف را به خطای نمونه‌برداری، هتروزیگوسیتی پایین و یا اندازه کم نمونه‌ها نسبت داده‌اند (Alam and Islam, 2005 ؛ Dahle *et al*., 2006)؛ اما عدم انحراف از تعادل هاردی–واینبرگ مشاهده‌شده در سایر جایگاه‌های موردمطالعه در تحقیق حاضر را می‌توان به دلیل هتروزیگوسیتی متوسط مشابه در هر دو جمعیت موردبررسی و همچنین عدم آمیزش خویشاوندی در نظر گرفت. در همین راستا، پارامتر F_{IS} به‌عنوان 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، به‌طوری‌که هر چه این پارامتر به ۱+ نزدیک‌تر باشد، نشان‌دهنده این است که هیچ هتروزیگوسیتی یا هتروزیگوسیتی کمتری در جمعیت موردمطالعه مشاهده نشده است و هر چه به ۱– نزدیک‌تر باشد، نشان‌دهنده این است که بیشتر افراد جمعیت موردنظر 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 ازجمله خطرات اصلی در زیر تقسیمات جمعیت‌های ماهیان است که باعث کاهش هتروزیگوسیتی، کاهش میزان بقا و عدم مقاومت به بیماری‌ها می‌شود و درنهایت منجر به انهدام جمعیت‌های بومی می‌گردد (Fergusen, 1995) که خوشبختانه، عدم انحراف از تعادل هاردی واینبرگ در بیشتر جایگاه‌های موردمطالعه و همچنین میزان پارامتر F_{IS}، امکان وجود آمیزش خویشاوندی بین نمونه ماهیان موردمطالعه را رد می‌کند.

درصورتی‌که 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 موردبررسی 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. درنتیجه 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 موردمطالعه در این تحقیق می‌تواند به دلیل جریان ژنی اندک‌بین دو منطقه باشد. فاکتور F_{ST} بیان‌کننده توصیف تمایز جمعیت در سطوح مختلف ساختار ژنتیکی می‌باشد. از طرفی، ثابت‌شده است که اگر میزان F_{ST} بیشتر از ۰/۲۵ باشد، تفاوت ژنتیکی بین مناطق موردمطالعه 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 موردبررسی 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 موردبررسی 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 این‌که به‌احتمال‌زیاد هر دو گروه از میتوکندری اجدادی مشترکی مشتق شده‌اند و سیر تکاملی صفات ریخت‌شناسی و ژنتیکی به‌صورت 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 موردمطالعه قراردادند 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 باوراند که تنوع فنوتیپی در خصوصیات ریخت سنجی نه‌تنها تحت تأثیر ژنتیک است، بلکه ممکن است تحت تأثیر تغییرات محیطی نیز باشد. علی‌رغم فاصله جغرافیای ناچیز بین دو

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-01-07]

منطقه موردمطالعه (خلیج گرگان و تالاب گمیشان)، احتمالاً شرایط تقریباً مشابهی ازنظر فاکتورهای زیستی بر هردو 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 قرارگرفته 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 ازگلی به ماسه‌ای تغییر می‌کند (لاهیجانی و همکاران، ۱۳۸۹). همچنین ازآنجایی‌که بستر تالاب گمیشان دارای سوراخ‌های زیستی است می‌تواند به‌عنوان پناهگاه مورداستفاده برای گاو ماهی قفقازی قرار گیرد. درنتیجه، می‌توان استنباط کرد که گاو ماهیان قفقازی نه‌تنها دارای تفاوت ژنتیکی هستند بلکه، در اثر شرایط محیطی نیز دچار تغییرات ریختی (مورفولوژیکی) نیز شده‌اند.

باوجود فاصله جغرافیایی ناچیز بین خلیج گرگان و تالاب گمیشان، مطالعه ژنتیکی گاو ماهیان قفقازی در دو منطقه موردمطالعه 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 این‌گونه با تغییرات زیست‌محیطی گردد. کاهش هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده نسبت به هتروزیگوسیتی قابل‌انتظار در تمام نمونه‌ها نیز نشان‌دهنده کاهش در تغییرپذیری ژنتیکی نمونه‌ها است که احتمالاً به دلیل تنگناهای ژنتیکی می‌باشند که براثر شرایط زیست‌محیطی و تخریب زیستگاه‌های طبیعی به وجود می‌آید. بدیهی است که برای اثبات این مسئله که آیا نمونه‌های ماهیان موردمطالعه دو منطقه به یک جمعیت تعلق دارند، نیاز به بررسی‌های بیش‌تر با استفاده از تعداد نمونه ماهی بیشتر از دو منطقه موردمطالعه 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

بدین‌وسیله از دانشگاه گنبدکاووس 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 گلزاریان‌پور، ک.، ۱۳۹۵. بررسی برخی ویژگی های 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. ع.، لالوئی، 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 ۴۴-۳۳.

رضوانی گیل کلائی، س.، رزمجو، ا.، قوام مصطفوی، پ. گ.، لالوئی، 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 آبزیان. ۲۴۲ ص.

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-01-07]

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 گنبدکاووس، 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 آوری 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. پایان نامه 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-recepture 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 northen 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.

Fergusen, M., 1995. The role of molecular genetic markers in the management of cultured fish. GR Carvalhoand, TJ Pitcher (Eds.), Molecular Genetics in Fisheries. pp: 81-104.

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-01-07]

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 Exel. 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., Fritschi, 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 Caspain. 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.

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-01-07]

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 *Neagobius 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.

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-01-07]

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-01-07]