تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو ک
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقایسه شباهت و فاصله ژنتیکی تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) و تاسماهی روسی (*Acipenser gueldenstaedtii*) با استفاده از روش RAPD

احمد قرایی[۱]؛ محمد پورکاظمی[۲]؛ سهراب رضوانی[۳] و باقر مجازی امیری[۴]

agharaei551@yahoo.co.uk

۱ - گروه شیلات دانشکده منابع طبیعی دانشگاه زابل، زابل صندوق پستی : ۵۳۸- ۹۸۶۱۵
۲ - انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان، رشت
صندوق پستی: ۳۴۶۴-۴۱۶۳۵
۳ - موسسه تحقیقات شیلات ایران، تهران صندوق پستی: ۶۱۱۶-۱۴۱۵۵
۴ - دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج صندوق پستی: ۴۳۴۱-۳۱۵۸۵

تاریخ ورود: آبان ۱۳۸۱ تاریخ پذیرش: آذر ۱۳۸۳

چکیده

در این تحقیق تعیین میزان اختلاف و شباهت ژنتیکی بین دو گونه تاسماهی ایرانی (*A. persicus*) و تاسماهی روسی (*A. gueldenstaedtii*) با استفاده از روش Random Amplified RAPDs (Polymorphic DNA) مورد بررسی قرار گرفته است. برای انجام آزمایشها، بافت باله دمی سه عدد تاسماهی ایرانی و سه عدد تاسماهی روسی نمونه‌برداری و از روش فنل- کلروفرم DNA سلولی آنها استخراج گردید و پس از الکتروفورز با ژل آگارز و یکسان سازی غلظت آنها با ۵۳ آغازگر ده نوکلئوتیدی و در شرایط خاص، PCR نمونه‌ها صورت گرفت. محصول PCR بر روی ژل پلی آکریلامید الکتروفورز شدند و با رنگ‌آمیزی نیترات نقره، نوارهای DNA ظاهر شده، مورد ارزیابی قرار گرفتند. از بین ۵۳ آغازگر فقط ۳۶ عدد از آنها الگوهای نواری را بین دو گونه نشان دادند و بقیه (۱۷ عدد) هیچگونه محل پلوگیری بر روی ژنوم نمونه‌ها نداشتند. پس از امتیازدهی نوارها و بررسی داده‌ها با استفاده از نرم افزار ژنتیکی RAPDPLOT، بیشترین میزان فاصله ژنتیکی بین این دو گونه ۷۳ درصد و کمترین میزان آن ۶۵ درصد و در مجموع بطور میانگین تقریبا ۷۰ درصد تعیین شد. بیشترین میزان شباهت ژنتیکی بین این دو گونه ۳۵ درصد و کمترین آن ۲۷ درصد و در مجموع بطور میانگین ۳۰ درصد محاسبه گردید. از آنجایی که حد بالا و پایین اختلاف ۵۰ درصد معیاری برای تشخیص گونه و زیر گونه می‌باشد و با توجه به نتایج بدست آمده در این تحقیق می‌توان اعلام نمود که تاسماهی ایرانی بعنوان یک گونه مستقل از تاسماهی روسی بوده و با روش مولکولی قابل تفکیک است.

لغات کلیدی : RAPD، PCR، تاسماهی ایران، *Acipenser persicus*، تاسماهی روس، *Acipenser gueldenstaedtii*

تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو ک
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقدمه

یکی از روشهای مولکولی مورد استفاده در تشخیص گونه ها، زیر گونه‌ها، جمعیتها و جنسها تکنیک تکثیر تصادفی قطعات چند شکلی DNA (RAPD) می‌باشد. این روش برای اولین بار توسط دو گروه بطور همزمان کشف شد (Williams *et al*., 1990 ; Welsh & McClelland, 1990).

در این روش با استفاده از آغازگرهای تصادفی ۹ تا ۱۰ تا نوکلئوتیدی با حداقل ۵۰ تا ۶۰ درصد باز G و C ژنوم فرد مورد بررسی قرار گرفته و محصولات تکثیر شده متفاوتی تولید می شود. تفاوتهای قطعات DNA (چند شکلی) نتیجه تغییرات بازی در مکانهای اتصال آغازگر (موتاسیونهای نقطه‌ای) یا تغییرات کروموزومی در نواحی تکثیر شده (الحاقات، کمبودها و واژگونی‌ها) می‌باشد که اندازه قطعات تکثیری را تغییر می‌دهد و از تکثیر موفقیت‌آمیز توالی هدف ممانعت می‌کند (Welsh & McClelland, 1990).

معمولاً چند شکلی‌ها بوسیله حضور یا عدم حضور یک محصول تکثیر شده در مکان خاص بر روی ژل ظاهر می‌شود و به همین دلیل هیبریداسیونهای ساترن (Southern) دیگر لزومی ندارند، همچنین پلی مورفیسمها (چند شکلی‌ها) در قطعات شامل توالی‌های تکرار شونده که با آنالیزهای RFLP[1] قابل شناسایی نیستند، ردیابی و شناسایی می‌شوند، به همین خاطر میزان پلی مورفیسمهای شناسایی شده با استفاده از روشRAPD بیشتر از میزان پلی مورفیسم مشاهده شده در سایر روشهاست (Williams *et al*., 1990 ; Foolad *et al*., 1993).

از مزیتهای این روش می‌توان به سرعت بالای آن، عدم نیاز به اطلاعات اولیه در مورد ردیف DNA جهت طراحی آغازگر، عدم بکارگیری مواد رادیواکتیو، نیاز به مقدار ناچیزی DNA و بکار بردن آغازگرهای یکسان برای گونه‌های مختلف و از معایب آن نیز می‌توان به تکرارپذیری ضعیف باندها، دشواری امتیازدهی به باندهای ایجاد شده، حساسیت فوق‌العاده به آلودگی و غالب بودن آن اشاره نمود (Welsh & McClelland, 1990).

با استفاده از این روش محققین موفق شدند تغییرات نمونه‌های گونهٔ *Tenualosa ilisha* را در بنگلادش مورد بررسی قرار دهند و جمعیتهای مولد مختلف را در سه منطقه شناسایی کنند (Rehnuma *et al*., 2003).

همچنین پس از بررسی دو گونه ماهی تزئینی شامل *Pangio filinaris* و *P. piperata* مشابه از لحاظ مرفولوژیک، از دو رودخانه واقع در غرب مالزی با استفاده از روش RAPD توانستند جدایی این دو گونه از یکدیگر را به اثبات برسانند (Ruzainah *et al*., 2003).

بررسی تفکیک‌پذیری تاسماهی ایرانی و روسی از جمله مباحث مهم در علوم سیستماتیک جانوری و شیلاتی است. در این ارتباط تا کنون پژوهشهایی انجام گرفته و از روشهای متفاوتی استفاده شده

1-Restriction Fragment Length Polymorphism DNA

تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو ک
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

است. با توجه به کشف روشهای کارآمدی همچون نشانگرهای ژنتیکی مختلف، هنوز تعیین میزان اختلاف ژنتیکی بین این دو گونه جهت اثبات جدایی آنها یک نیاز اجتناب‌ناپذیر می‌باشد. هدف از این تحقیق، بررسی امکان تفکیک دو گونه تاسماهی ایرانی و روسی از یکدیگر می‌باشد.

مواد و روش کار

DNA نمونه‌های باله دمی دو گونه تاسماهی ایرانی و روسی که در ازت مایع تثبیت شده بودند، در آزمایشگاه با استفاده از روش فنل-کلروفرم (Hillis & Morit, 1990) استخراج گردید. بطوریکه ۲۰۰ میلی‌گرم از نمونه بافت را در تیوب ۱/۵ میلی‌لیتری بصورت قطعات کوچک خرد کرده و مقدار ۶۰۰ میکرولیتر STE، ۳۰تا ۴۰ میکرولیتر (۱۰ درصد) SDS و ۳۰ میکرولیتر پروتئیناز K به نمونه بافت اضافه گردید. سپس این مخلوط در دمای بین ۵۰ تا ۶۰ درجه سانتیگراد به مدت ۳ تا ۴ ساعت قرار گرفت و بصورت امولسیونی غلیظ درآمد و بعد از آن با افزودن فنل به میزان حجم اولیه و شیکر نمودن نمونه و سانتریفوژ آن در ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه و تکرار این مراحل با فنل- کلروفرم و در نهایت شستشو با الکل ۷۰ درصد و رسوب دادن DNA مراحل استخراج آن بطور کامل انجام شد.

برای تعیین کمیت و خلوص DNA از دستگاه اسپکتروفتومتر با نور UV و مشاهده نوارهای DNA بر روی ژل آگارز استفاده شد. میزان جذب قرائت شده برای نمونه‌ها در دستگاه با طول موج ۲۶۰ نانومتر قرائت شده و سپس کیفیت DNA نیز بر روی ژل آگارز ۱ درصد مشاهده شد.

پس از آن تنظیم غلظت نمونه‌های DNA به میزان ۵۰ نانوگرم در میکرولیتر با استفاده از محلول TE انجام شد. در مرحله آزمایشات PCR از ۵۳ پرایمر تصادفی ده نوکلئوتیدی استفاده شد که مشخصات و توالی آنها در جدول ۱ آمده است. برای انجام آزمایشهای PCR از مواد با غلظتهای مختلف طبق جدول ۲ استفاده شد و سپس چرخه حرارتی در دستگاه PCR طبق جدول ۳ اعمال شد.

پس از اتمام کار PCR، محصولات حاصل بر روی ژل پلی آکریلامید ۶ درصد به مدت ۴/۵ ساعت با جریان برق ۱۰۰ ولت الکتروفورز شدند. سپس با استفاده از روش رنگ‌آمیزی نیترات نقره، الگوهای باندی بر روی ژل ظاهر و امتیازدهی شدند، بطوریکه در صورت تکثیر و وجود نوار امتیاز (۱) و در صورت عدم وجود نوار امتیاز (۰) در نظر گرفته شد. جهت اطمینان از حضور باندها و تکرارپذیری آنها آزمایشات PCR دو الی سه بار تکرار شدند و نمونه‌های DNA نیز از یک لاین سه مرتبه استخراج و مورد آزمایش PCR قرار گرفتند و امتیازدهی نوارها در صورتی که دارای تکرارپذیری بودند، انجام شد.

مقایسه داده‌ها با استفاده از برنامه کامپیوتری RAPDPLOT و براساس فرمول Nei (1972) :

$$M=N_{AB}/N_A + N_B$$

که M : نسبت باندی مقایسه شده در هر یک از نمونه های مورد مقایسه

N_{AB} : تعداد باندهای مورد مقایسه (آنهایی که در دو گونه موجود می‌باشند و یا در هر دو وجود ندارند).

در فرد A وB می‌باشند.

$N_A + N_B$: تعداد قطعات امتیاز داده شده در هر دو فرد می‌باشد.

جدول ۱: توالی آغازگرهای مورد استفاده در PCR

شماره	توالی آغازگر(۳- ۵)	دایمر	شماره	توالی آغازگر(۳- ۵)	دایمر
۱	CCCGGGTACC	-	۲۸	TAGGCAGGTT	-
۲	TCGATCGATC	+	۲۹	CTCTGGAGAC	-
۳	CCAAGCTACT	-	۳۰	GCCTTAATGC	-
٤	CTGACTGCTA	-	۳۱	GTCAATCGAA	+
۵	CGTTCGTTAA	+	۳۲	ATGAACCATG	+
٦	AGGTCAGGTC	-	۳۳	CGCGCGATAT	+
۷	GGACTCGATC	+	۳٤	TGGTGAAGCT	+
۸	AGAGAGCAGC	-	۳۵	AAGTGCATAA	-
۹	CGAAGCAGCT	+	۳٦	AGCCGAAAGG	-
۱۰	GGCTGCAGAA	-	۳۷	AAAGGGTCCC	+
۱۱	GTACGCATGT	-	۳۸	TTTAAAGGCC	+
۱۲	CTAGGTCGGA	-	۳۹	CAAAGTTTCA	-
۱۳	GCCCCTATGC	-	٤۰	GTTTCATCTC	-
۱٤	AACTGGACTG	-	٤۱	TGCAACGTGG	-
۱۵	CAATGCCGGA	-	٤۲	CGCGCGCGCG	+
۱٦	GGGATATCGG	-	٤۳	ACTAAGTTTT	-
۱۷	GGAGTACTGG	-	٤٤	ATTAAGGAAT	-
۱۸	TGCGGCTGAG	-	٤۵	TTATGCCCGC	-
۱۹	ACCTGAACGG	-	٤٦	GTCTATGTCT	-
۲۰	TCTTGTGAGG	-	٤۷	ACGACCGACA	-
۲۱	AGCCGAAAGG	-	٤۸	GATTTAAACT	-
۲۲	GGTCTACACC	-	٤۹	TACCATTCGG	-
۲۳	ACGCACAACC	-	۵۰	TACGATGATA	-
۲٤	TTATCGCCCC	-	۵۱	TGTATAAACC	+
۲۵	ACGACACGAC	-	۵۲	AGTTTTTCGC	-
۲٦	GAGGGGGACT	-	۵۳	GTACCTACCT	-
۲۷	ATGTGTACCC	-			

جدول ۲: غلظت مواد مصرفی برای هر واکنش PCR

نوع ماده	غلظت مواد	مقدار (میکرولیتر)
آغازگر	۱۵ پیکومول	۱
آنزیم تک پلیمراز I	۵ واحد	۰/۵
dNTP	۳۰۰ میکرومول	۵
PCR Buffer	۱۰ X	۵
DNA	۵۰ نانوگرم	۱
آب مقطر	دو بار تقطیر	۳۶
حجم نهایی هر واکنش		۵۰

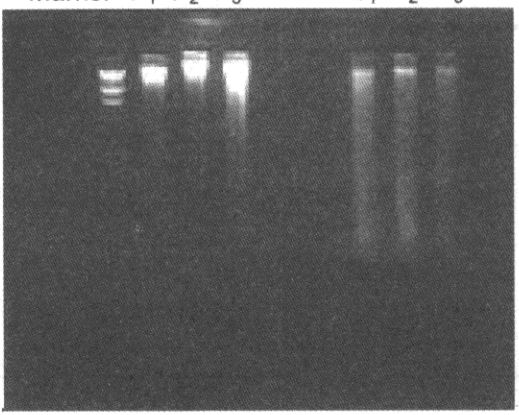
جدول ۳: چرخه های حرارتی استفاده شده جهت PCR

مراحل	حرارت (درجه سانتیگراد)	زمان (دقیقه)	تعداد چرخه‌های حرارتی
واسرشته سازی[1]	۹٤	۳	۱
الحاق[2]	۹٤	۱	۳۵
	۳۸	۵۰ ثانیه	
	۷۲	۱/۵	
توسعه[3]	۷۲	۱۰	۱

نتایج

کیفیت و کمیت DNA استخراج شده از دو گونه تاسماهی ایرانی و روسی برای انجام آزمایشهای RAPD مناسب بود، بطوریکه هم زمان DNA و همچنین کیفیت DNA مطابق با استانداردهای آزمایش بود (شکل ۱).

1- Denaturation
2 - Annealing
3 - Extension



شکل ۱ : DNA استخراج شده از تاسماهی ایرانی (p) و تاسماهی روسی (G) بر روی ژل آ گارز

از بین ۵۳ آغازگر مورد استفاده در این مطالعه، ۱۷ عدد از آنها (آغازگرهای ۳۳ الی ۵۳) بر روی ژنوم این دو گونه سایتی نداشتند و هیچگونه باند DNA بر روی ژل ظاهر نشد. از ۳۶ آغازگر دیگر در ۳۳ آغازگر الگوهای باندی متفاوت بین این دو گونه مشاهده گردید.

در سه آغازگر ۳، ۱۹و ۲۴ الگوهای باندی در هر دو گونه یکسان بودند و در مجموع از کل آغازگرها ۳۴۱ نوار باندی حاصل شد که ۱۲۳ عدد از آنها را نوارهای پلی مورفیک تشکیل دادند که حدود ۳۶/۰۷ درصد از کل نوارها را شامل می‌شود.

بیشترین نوارهای پلی مورفیک را آغازگرهای شماره ۲۱ و ۲۵ و کمترین آنها نیز مربوط به آغازگر شماره ۴ بود. پس از امتیازدهی و آنالیز داده‌ها تفاوت و شباهت ژنتیکی این دو گونه به شرح جداول ۴ و ۵ حاصل شد.

جدول ٤: تخمین فاصله ژنتیکی بین نمونه‌های تاسماهی ایرانی و تاسماهی روسی

	تاسماهی ایرانی(۱)	تاسماهی ایرانی(۲)	تاسماهی ایرانی(۳)	تاسماهی روسی(۱)	تاسماهی روسی(۲)	تاسماهی روسی(۳)
تاسماهی ایرانی(۱)	۰/۰۰۰۰					
تاسماهی ایرانی(۲)	۰/۱۰۵۳	۰/۰۰۰۰				
تاسماهی ایرانی(۳)	۰/۱۳۱٦	۰/٦۹۲۳	۰/۰۰۰۰			
تاسماهی روسی(۱)	۰/۷۱۰۵	۰/۷۳٦۸	۰/۷۳٦۸	۰/۰۰۰۰		
تاسماهی روسی(۲)	۰/٦۹۲۳	۰/٦۹۲۳	۰/٦۹۲۳	۰/۰۲۵٦	۰/۰۰۰۰	
تاسماهی روسی(۳)	۰/٦۸۰۰	۰/٦۸۰۰	۰/٦۵۳۳	۰/۲٤۷۳	۰/۱۹٦۷	۰/۰۰۰۰

جدول ۵: تخمین شباهت ژنتیکی بین نمونه‌های تاسماهی ایرانی و تاسماهی روسی

	تاسماهی ایرانی(۱)	تاسماهی ایرانی(۲)	تاسماهی ایرانی(۳)	تاسماهی روسی(۱)	تاسماهی روسی(۲)	تاسماهی روسی(۳)
تاسماهی ایرانی(۱)	۰/۰۰۰۰					
تاسماهی ایرانی(۲)	۰/۸۹٤۷	۰/۰۰۰۰				
تاسماهی ایرانی(۳)	۰/۸٦۸٤	۰/۹۲۱۱	۰/۰۰۰۰			
تاسماهی روسی(۱)	۰/۲۸۹۵	۰/۲٦۳۲	۰/۲٦۳۲	۰/۰۰۰۰		
تاسماهی روسی(۲)	۰/۳۰۷۷	۰/۳۰۷۷	۰/۳۰۷۷	۰/۹۷٤٤	۰/۰۰۰۰	
تاسماهی روسی(۳)	۰/۳۲۰۰	۰/۳۲۰۰	۰/۳٤٦۷	۰/۷۵۲۷	۰/۸۰۳۲	۰/۰۰۰۰

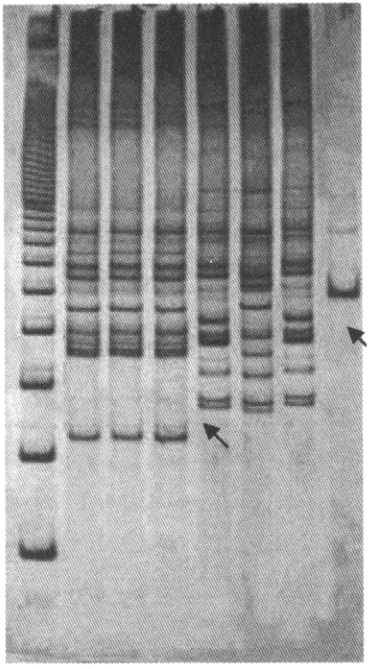
از مقایسه بین نمونه‌های تاسماهی روسی و تاسماهی ایرانی مشاهده می‌شود که حداقل فاصله ژنتیکی بین تاسماهی ایرانی شماره ۱ و ۲ با تاسماهی روسی شماره ۳ به میزان ۶۵ درصد و بیشترین فاصله ژنتیکی بین تاسماهی ایرانی ۲ و ۳ با تاسماهی روسی ۱ به میزان ۷۳ درصد حاصل شده و بطور میانگین تفاوت بین این دو گونه تقریبا ۷۰ درصد بدست آمد (جدول ۴).

براساس جدول ۵ مشخص شد که حداکثر میزان شباهت بین تاسماهی‌های ایرانی ۹۲ درصد بین شماره‌های ۲ و ۳ و حداقل شباهت بین آنها ۸۶ درصد (بین شماره‌های ۱و ۳) می‌باشد و در مجموع می‌توان اظهار داشت که سه عدد ماهی بررسی شده نمونه‌های تاسماهی ایرانی بوده و بطور میانگین درصد شباهت آنها ۸۹ درصد بدست آمد. این مورد درباره نمونه‌های تاسماهی روس نیز صدق می‌کند و حداکثر میزان شباهت بین تاسماهی روسی شماره (۱و۲) به میزان ۹۷ درصد و حداقل شباهت نیز بین

نمونه‌های شماره (۱و۳) به میزان ۷۵ درصد حاصل شد و بطور میانگین شباهت بین آنها حدود ۸۶ درصد می‌باشد.

از آنجا که تفاوت کمتر از ۵۰ درصد در روش Nei (1972) نشانه زیر گونه یا زیر جمعیت است و با توجه به نتایج حاصل شده در این مطالعه می‌توان نتیجه‌گیری کرد که تاسماهی ایرانی بعنوان یک گونه مستقل و با متوسط ۷۰ درصد تفاوت از تاسماهی روسی قابل تفکیک است.

در این تحقیق همچنین مارکر مولکولی اختصاصی برای هر یک از گونه‌های تاسماهی ایرانی و تاسماهی روسی مشاهده شده که در بعضی از آغازگرها بخوبی قابل مشاهده بودند و می‌توان از این مارکر برای تشخیص گونه و یا تفکیک خاویار بازارهای داخلی و صادرات (جهانی) استفاده نمود (شکل ۲).



شکل۲: الگوی باندی پرایمر شماره ۲۷ را در نمونه‌های تاسماهی ایرانی (ستون ۱تا ۳) و روسی (ستون ٤ تا ٦) و مارکر ۵۰ جفت بازی (ستون M) و ستون کنترل (ND) را نشان می دهد.

بحث

نتایج این تحقیق با نتایج مطالعه تشخیص خاویار و فیلوژنی گونه‌های خاویاری با استفاده از توالی‌یابی مستقیم سه ناحیه ژنی mtDNA, Cytchrom b (650 bp), rDNA 12S(150 bp), 16S(350 bp) تناقض دارد. بطوریکه در تحقیق فوق گونه‌های *Acipenser naccarii, A. baerii, A. persicus* دارای توالی یکسان در ژن Cyt. b بودند و همچنین تشخیص و شناسایی خاویار این سه گونه از یکدیگر صورت نگرفت و مارکری جهت تشخیص این گونه‌ها بدست نیامد و *A. persicus* را در خوشه‌های مشابه با *A. gueldenstaedtii* قرار دادند (Bristien *et al*., 1999).

از طرفی یافته‌های این تحقیق با نتایج حاصل از آنالیز الکتروفوکوسینگ پروتئین‌های دانه‌های خاویار چهار گونه ماهیان خاویاری از جمله تاسماهی ایرانی و روسی و اعلام باندهای اختصاصی در نزد این دو گونه همسویی دارد و بنظر می‌رسد تفاوت DNA بین این دو گونه در توالی بازی از DNA باشد که مسئول کد کردن پروتئین‌های خاصی می‌باشد (Kayvanfar *et al*., 1987).

نظریه استقلال دو گونه تاسماهی ایرانی و روسی براساس مطالعه ۲۶ فاکتور مورفومتریک و معنی‌دار بودن ۲۲ فاکتور از آنها با اطمینان (۹۹ درصد) نتایج این تحقیق را تایید می‌نماید (نصری چاری،۱۳۷۲).

مطالعه بر روی ناحیه D-loop و ND-5/6 مولکول DNA نشان داد که در ناحیه D-loop گونه تاسماهی روسی در مقایسه با تاسماهی ایرانی و دیگر گونه‌های ماهیان خاویاری دریای خزر در پنج باز آلی با همدیگر اختلاف دارند (Pourkazemi, 1996).

نتایج این بررسی که برای اولین بار با ۵۳ آغازگر انجام شد، می‌تواند بعنوان منبعی برای اثبات جدایی این دو گونه از یکدیگر برای کنوانسیونها و مجامع بین المللی بکار گرفته شود.

از آنجایی که در این مطالعه در بین خود نمونه‌های تاسماهی روسی و تاسماهی ایرانی نیز تفاوتهایی از لحاظ الگوی نواری در بعضی از آغازگرها مشاهده شد، احتمال داده می‌شود که در هر یک از این گونه‌ها تنوع درون جمعیتی و یا بین جمعیتی وجود داشته باشد. لذا پیشنهاد می‌گردد که مطالعات جمعیتی برای هر یک از گونه‌ها در آبهای ایرانی دریای خزر و یا در سطح کل آن با استفاده از روش RAPDs صورت پذیرد.

تشکر و قدردانی

این تحقیق در قالب طرحی پژوهشی با تامین مالی از طرف مؤسسه تحقیقات شیلات ایران انجام گرفته است که مراتب قدردانی نگارندگان مقاله از مسئولین مؤسسه تحقیقات، انستیتو بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان و کلیه کسانی که به نوعی محققین را یاری داده‌اند، ابراز می‌گردد.

منابع

نصری چاری، ع. ، ۱۳۷۲. بررسی مقایسه‌ای پارامترهای مورفوبیولوژیک تاسماهی روسی و تاسماهی ایرانی سواحل جنوب دریای خزر در جهت استقلال تاسماهی ایرانی بعنوان گونه تاسماهی ایران *Acipenser persicus*. پایان‌نامه کارشناسی، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران. ۱۲۳ صفحه.

Biristein, V.J. ; Doukakis, P. and DeSalle, R. , 1999. Molecular phylogeny of Acipenserinae and black caviar species identification. Journal of Appl. Ichyol. No. 15, pp.12-16.

Foolad, M.R. ; Chard, R. and Raymond, Z.R. , 1993. RAPD marker for constructing interspecific tomato genetic maps. Plant Cell Report. No. 3, pp.40-44.

Hillis, D.M. and Morit, S. , 1990. Molecular taxanomy. Sinauer associates, Inc. Publishers, Massachusetts, USA, pp.121-134.

Keyvanfar, A. ; Rochu, D. and Fine, M. , 1987. Comparative study of sturgeon oocyte soluble proteins by Isoelectric Focusing. COMP. BIOCHEM. PHYSIO., No. 90 (2), pp.293-296.

Nei, M. , 1972. Genetic distance between population. Am. Naturalist, No. 106, pp.283-299.

Pourkazemi, M. , 1996. Molecular and biochemical genetic analysis of sturgeon stocks from the south Caspian sea. Ph.D. thesis, University of Wales, Swansea, chapter 5, pp.188-211.

Rehnuma, S. ; Anwara B. and Hassena, K. , 2003. Use of RAPD fingerprinting for

discriminating two population of Hilsa shad (*Tenualosa ilisha* Ham.) from Inland Rivers of Bangladesh. Journal of BIOCHEM. MOL. BIO. Vol. 36, No. 5, pp.462-467.

Ruzainah, A. ; Siti, A.M.N. and Patimah, A.A. , 2003. RAPD fingerprinting of the ell-loches (*Pangio filinaris* and *P. piperata*) preliminary evalution. Journal of aquaculture reseach. Vol. 34, No. 11, pp.959-965.

Welsh, J. and McClelland, M. , 1990. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. Nucleic Acids Research. Vol. 18, pp.7213-7218.

Williams, J.G.K. ; Kuvelik, A.R. ; Livak, K.J. ; Rafalski, J.A. and Tingey, S.V. , 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acid Research, No. 18, pp.6531-6535.

Genetic difference and resemblance between *Acipenser persicus* and *Acipenser gueldenstaedtii* by means of RAPD Technique

Gharaei A.[1] ; Pourkazemi M.[2] ; Rezvani S.[3] and Mojazi Amiri B.[4]

agharaei551@yahoo.com

1- Fisheries Dept., Faculty of Natural Resources, University of Zabool, P.O.Box: 98615-538 Zabool, Iran
2- International Sturgeon Research Institue, P.O.Box: 41635-3464 Rasht, Iran
3- Iranian Fisheries Research Organization, P.O.Box: 14155-6116 Tehran, Iran
4- Fisheries & Environmental Sciences Dept., Faculty of Natural Resources, University of Tehran, P.O.Box: 31585-4314 Karaj, Iran

Keywords: RAPD technique, *Acipenser persicus, Acipenser gueldenstaedtii*, Caspian Sea, Iran

Abstract

We studied genetic difference and resemblance between *Acipenser persicus* and *Acipenser guldenstaedtii* using Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) technique. The DNA of tail fin tissue of three *A. persicus* and *A. gueldenstaedtii* were extracted using phenol-chloroform method. After electrophoresis of the samples by agarose gel, their concentrations were regulated and Polymerase Chain Reaction (PCR) was conducted by 53 primers. PCR products were electrophoresed on polyacrylamide gel and silver staining was done to reveal the DNA bands of the samples.

Among 53 primers, 17 had no site on genomic DNA of *A. persicus* and *A. gueldenstaedtii* and did not produce any bands while the remaining 36 primers showed band pattern. Analyzing the PCR products data using RAPD PLOT program showed that the maximum and minimum genetic distance between species were 73% and 65% respectively. Also, the mean difference between the species was 70% and the maximum and minimum genetic resemblance between the two species were 35% and 27% respectively. Based on the results, we conclude that *A. persicus* is an independent species from *A. gueldenstaedtii*.