

بررسی ساختار ژنتیک جمعیت گاو ماهی سرگنده (*Neogobius gorlap*) دریای خزر در سواحل استان‌های گلستان و مازندران با استفاده از نشانگرهای ریزماهورهای

حمزه پورغلام^{۱*}، عباسعلی زمینی^۲، فرامرز لالوئی^۳، حسین خارا^۴، محمد جواد تقوی^۵

^{۱*}، ۴ و ۲- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد لاهیجان، دانشکده منابع طبیعی، گروه شیلات، لاهیجان، ایران، صندوق پستی: ۱۶۱۶

^۳ و ۵- پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، ساری، صندوق پستی: ۹۶۱

hamze.p12@gmail.com

تاریخ پذیرش: ۹۰/۱/۲۹

تاریخ دریافت: ۸۹/۷/۲۶

چکیده

به منظور مطالعه ساختار ژنتیک جمعیت‌های گاو ماهی سرگنده (*Neogobius gorlap*) با استفاده از نشانگرهای ریزماهورهای، تعداد ۱۰۰ نمونه ماهی از سواحل استان‌های گلستان و مازندران جمع‌آوری شد. DNA ژنومی نمونه‌ها از بافت نرم باله ماهی به روش فنل-کلروفرم استخراج و سپس کمیت و کیفیت DNA استخراج شده با استفاده از بیوفومتر و الکتروفورز ژل آگارز ۱ درصد تعیین شد. واکنش PCR با استفاده از ۶ جفت پرایمر میکروستلایت صورت گرفت. محصول PCR با استفاده از ژل پلی آکریل آمید ۸٪ الکتروفورز و با نترات نقره رنگ‌آمیزی شد. مقادیر مربوط به فراوانی آللی، تعداد آلل‌های واقعی و موثر، هتروزایگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار، میزان شباهت و فاصله ژنتیکی، تعادل هاردی-واینبرگ، مقادیر F_{ST} ، R_{ST} و جریان ژنی بر اساس آزمون AMOVA با استفاده از نرم افزار ژنتیکی Gene Alex محاسبه گردید. نتایج بدست آمده نشان داد که هر ۶ جایگاه ریزماهورهای بررسی شده در گاو ماهی سرگنده پلی مورف بودند. میانگین تعداد آلل‌های مشاهده شده و موثر به ترتیب ۱۲/۴۱ و ۸/۰۲ بوده و میانگین هتروزایگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار به ترتیب ۰/۶۹۵ و ۰/۸۴۵ محاسبه شد. بر اساس نتایج بدست آمده در هر دو منطقه مازندران و گلستان و در جایگاه‌های مختلف بجز جایگاه‌های NG71، NG111 و NG215 در سواحل گلستان انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ مشاهده شده است ($P < 0.01$). همچنین مقدار F_{ST} بین نمونه‌های سواحل گلستان و مازندران ۰/۰۳۴ و مقدار Nm بین دو منطقه ۸/۷۲۶ بود. فاصله ژنتیکی و شباهت ژنتیکی بین نمونه‌های دو منطقه ۰/۳۵۴ و ۰/۷۰۲ بود. با توجه به مقدار F_{ST} حاصل از آزمون AMOVA، تنوع ژنتیکی بین نمونه‌های سواحل مازندران و گلستان معنی‌دار بوده است ($P < 0.01$). بر این اساس می‌توان عنوان نمود که ۲ گروه ژنتیکی متفاوت از این گونه در حوضه جنوبی دریای خزر (سواحل مازندران و گلستان) وجود دارد.

کلمات کلیدی: دریای خزر، *Neogobius gorlap*، تنوع ژنتیکی، ریزماهور.

مقدمه

گاو ماهیان خانواده بزرگی از ماهیان استخوانی می‌باشند که بیشتر در آب‌های مناطق معتدل و گرمسیری اقیانوس‌ها و اساساً نزدیک سواحل دریاها و بسیاری از مصب‌ها و آب‌های شیرین زندگی می‌کنند. مناطق مهم پراکنش آن‌ها دریای خزر، سیاه، مدیترانه، دریاچه اورال و رودخانه‌های حوضه آبریز آن‌ها می‌باشد. دریای خزر حدود ۳۵ گونه و زیر گونه از خانواده گاو ماهیان را در خود جای داده است (۷). گاو ماهیان علی‌رغم تراکم و گسترش وسیعی که در دریای خزر دارند، متأسفانه به علت صید غیر اقتصادی کمتر مورد مطالعات بیولوژیک قرار گرفته است. در هر صورت پراکنش گونه‌های مختلف گاو ماهیان در ماه‌های مختلف سال از شمال تا جنوب دریای خزر متفاوت است که در این بین دو عامل مهم نوع بستر و کمیت و کیفیت غذا در پراکنش و میزان زیتوده آن‌ها دخیل می‌باشد (۲). با توجه به مطالعات انجام شده گاو ماهی سرگنده (*Neogobius gorlap*) به عنوان گونه غالب در کرانه جنوبی دریای خزر شناخته شده است (۲). گاو ماهی سرگنده مهاجرت‌هایی را در فصول مختلف سال مخصوصاً در زمان تولید مثل انجام می‌دهد و از قسمت‌های عمیق‌تر به سمت ساحل مهاجرت نموده و در اواخر اسفند اقدام به تخم‌ریزی در سواحل جنوبی دریای خزر می‌نماید. زمان تخم‌ریزی آن‌ها پس از آمادگی و تکامل گنادها تحت اثر عوامل مختلف محیطی (غذا، درجه حرارت، استرس و...) قرار دارد و در صورت فراهم شدن کلیه عوامل درونی و محیطی مناسب رفتار تخم‌ریزی در حضور جنس نر از اواخر زمستان آغاز می‌شود. بدین ترتیب گاو ماهیان بیشتر در بهار برای تخم‌ریزی و تغذیه به سواحل دریا

مهاجرت می‌نمایند که زمان مهاجرت آن‌ها تحت تاثیر درجه حرارت آب می‌باشد. گاو ماهیان مناطق جنوبی دریای خزر نسبت به مناطق مرکزی آن زودتر مهاجرت خود را آغاز می‌کنند (۳).

بهره برداری از ذخایر گونه‌های مختلف آبریزان نیاز به شناخت کافی از وضعیت گونه‌ها و نژادها و جمعیت‌های متعدد آن دارد تا بتوان مدیریت اصولی را برای بهره برداری پایدار اعمال نمود. یکی از روش‌های ارزیابی ساختار ذخایر، تشخیص گونه‌ها، جمعیت‌ها و نژادها، استفاده از صفات مرفومتریک و مریستیک بوده است، اما با توجه به حساسیت بالای این صفات به تغییرات محیطی و اثرات منفی دستکاری هنگام نشانه‌گذاری بر سلامت و بقای ماهیان، و همچنین محدود بودن تفسیر داده‌های نشانه گذاری به زمان جمع آوری آن‌ها، استفاده از نشانگرهای مولکولی مثل ریزماهورها که متأثر از فاکتورهای محیطی نمی‌باشند از اهمیت خاصی برخوردار شده است (۴ و ۲۱).

رضوانی و همکاران (۱) ساختار ژنتیکی گاو ماهی خزری در سواحل شرقی و مرکزی حوضه جنوبی دریای خزر را با استفاده از جایگاه‌های ریز ماهورهای بررسی نمودند. Vyskocilova و همکاران (۲۵) تنوع ژنتیکی *Neogobios kessleri* را در مناطق بالا و میانی رودخانه دانوب با استفاده از ۱۲ نشانگر ریزماهور مطالعه نمودند. همچنین Dougherty و همکاران (۱۳) با استفاده از آنالیز mtDNA جمعیت *N. melanostomus* را در دریاچه Lauretian مورد بررسی قرار دادند.

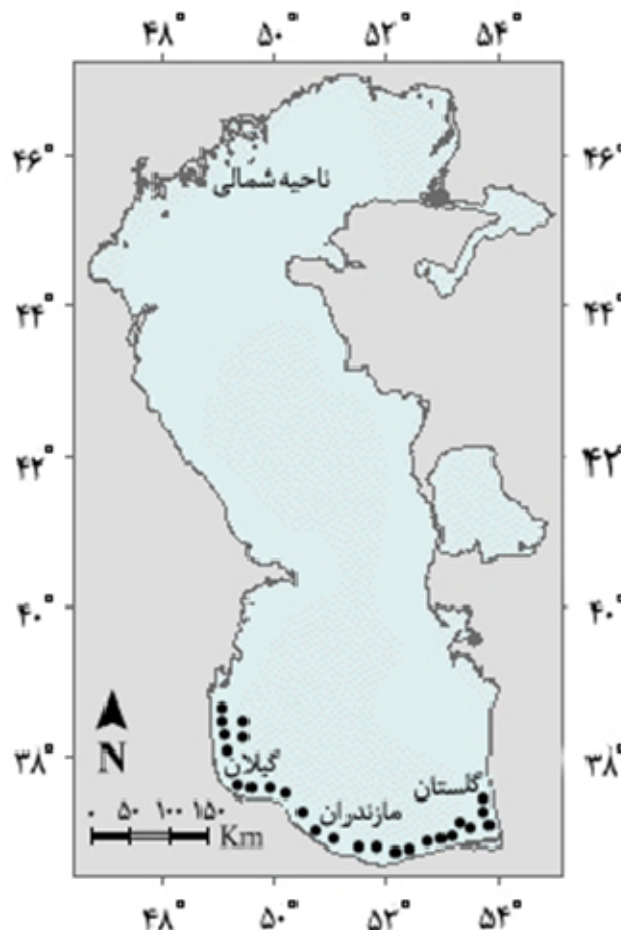
با توجه به اینکه تاکنون مطالعاتی در مورد تنوع ژنتیکی و بررسی مولکولی جمعیت‌های احتمالی گاو ماهی سرگنده دریای خزر صورت نگرفته است،

گمیشان) ۴۷ نمونه از دریا با استفاده از تور ترال و پره در فصل پائیز انجام شد (شکل ۱). از هر نمونه مقدار ۱ تا ۳ گرم بافت باله دمی جمع‌آوری و در اتانل ۹۵ درصد نگهداری و به آزمایشگاه ژنتیک مولکولی پژوهشکده اکولوژی دریای خزر واقع در فرح آباد ساری منتقل گردید.

این بررسی با هدف شناسایی جمعیت‌های این گونه با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره در سواحل استان گلستان و مازندران انجام شده است.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری از ۱۰۰ نمونه گاو ماهی سرگنده از سواحل استان مازندران ۵۳ نمونه (منطقه امیرآباد تا بابلسر) و سواحل استان گلستان (منطقه بندر گز تا



شکل ۱: مناطق نمونه‌برداری گاو ماهی سرگنده از سواحل استان‌های گلستان و مازندران

(مدل اپندورف) و الکتروفورز ژل آگارز ۱ درصد صورت پذیرفت.
برای انجام واکنش PCR از ۶ جفت آغازگر *Neogobius gorlap* ریزماهواره مربوط به گونه

استخراج DNA از باله ماهی با بهینه کردن روش فنل - کلروفرم با استفاده انجام شد (۱۳). بررسی کمی و کیفی DNA استخراج شده توسط دستگاه بیوفتومتر

DNA با غلظت ۲/۵ mM، ۲۰ نانوگرم هدف و آب مقطر به اندازه‌ای که حجم نهایی محلول واکنش به ۲۵ μl برسد، انجام شد.

(۲۵) استفاده گردید (جدول ۱). واکنش PCR استفاده از ۵ μl بافر PCR (۱۰X)، dNTP با غلظت ۱،۲۰۰ μM واحد آنزیم Taq DNA polymerase،

جدول ۱: توالی و مشخصات آغاز گره‌های ریزماهوره مورد استفاده برای گاوماهی سرگنده (۲۵)

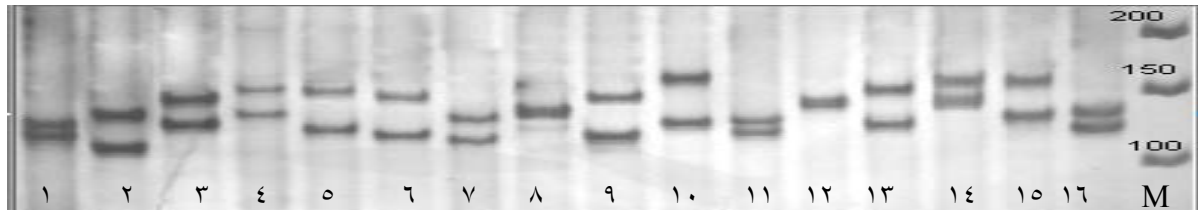
جایگاه	توالی آغازگر	محل تکرار	دمای اتصال	محدوده الی (bp)
NG111	F: GTGTGGATCGGTGCCTAACT R: ACTCGGCTTCTCTGCTCTG	(GA) ₈ GG(GA) ₃ GG (GA) ₂ GG(GA) ₅	۵۱	۱۶۸-۱۹۶
NG115	F: CACTTCCTGTGGTGTGATG R: CCTTGTCTGTCTCCAAGTGC	(AG) ₄ TCTGC(GT) ₅ N ₅ (GT) ₉	۵۸	۱۸۸-۲۲۰
NG70	F: CGATTCTGTCACGGTGTAT R: CACAACAAGCCATGTCCAAA	(TG) ₁₂	۵۷	۱۴۰-۱۹۲
NG71	F: GAAGCCATTCTGCCTTCTG R: GTGTCGCATGAGTTGAATGG	(GC) ₄ TCTGC (CT) ₂₄ GC(CT) ₄	۵۵	۲۷۶-۲۰۴
NG92	F: AAGCAACTCACGCCAAAGTC R: AGTGCTGCCATGTCAATCTG	(CA) ₈ (CGCA) ₆ (CG) ₂ (CGCA) ₅	۵۰	۲۶۴-۲۰۴
NG215	F: GCACAATGCCACACTTTAGG R: CGGTAACACACTCTGGCTCA	(TC) ₁₄ (GT) ₂₁	۵۷	۱۵۶-۲۴۴

(۱۷)، تعادل هاردی-واینبرگ، مقادیر F_{ST} و R_{ST} جریان ژنی و تنوع ژنتیکی با استفاده از نرم‌افزار GenAIEx Ver. 6 (۱۹) محاسبه گردید.

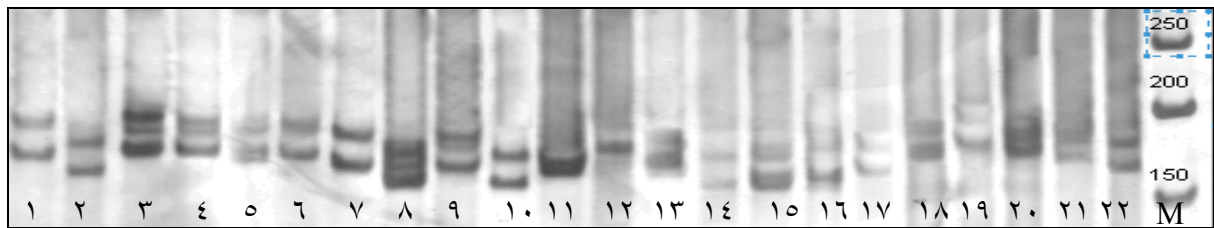
نتایج

در این بررسی، غلظت DNA در تمامی نمونه‌ها جهت انجام واکنش PCR مناسب بود (۵۰ تا ۱۰۰ نانوگرم) و با توجه به نتایج الکتروفورز ژل آگارز از کیفیت مناسبی برخوردار بودند. نتایج حاصل از الکتروفورز ژل پلی‌اکریل آمید، در هر ۶ جایگاه در نمونه‌های مورد بررسی حالت پلی مورف نشان دادند (شکل‌های ۱ و ۲).

برنامه دستگاه ترمال سایکلر (مدل Auto-Q شرکت Quanta biotech) بترتیب: مرحله اول واسرشته شدن ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، مرحله دوم اتصال آغازگرها به هدف، ۵۸-۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه و مرحله سوم بسط آغازگر، ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه برای ۳۰ چرخه تنظیم گردید. الکتروفورز محصول PCR (۷-۸ μl) با استفاده از ژل پلی‌اکریل آمید ۸ درصد و رنگ‌آمیزی نترات نقره همراه با نشانگر 50 bp DNA، انجام شد. فراوانی آللی، هتروزیگوسیتی مورد انتظار و مشاهده شده، تعداد آلل‌های واقعی و آلل‌های موثر برای هر جایگاه، ماتریس شباهت و فاصله ژنتیکی



شکل ۱: جایگاه های ریز ماهواره ای در گاو ماهی سرگنده با استفاده از پرایمر NG71، ستون ۸-۱ استان گلستان، ستون ۹-۱۶ استان مازندران، ستون M مارکر



شکل ۲: جایگاه های ریز ماهواره ای در گاو ماهی سرگنده با استفاده از پرایمر NG215، ستون ۱۰-۱ استان گلستان، ستون ۱۰-۲۲ استان مازندران، ستون M مارکر

۰/۰۱ بوده است. همچنین حداکثر فراوانی آللی در جایگاه های NG71 و NG92 در منطقه سواحل گلستان ۰/۳۷۵ و حداقل آن ۰/۰۱۸ بود.

بر اساس نتایج بدست آمده حداکثر تعداد آلل ها در دو منطقه نمونه برداری در جایگاه NG215 با ۱۹ آلل و حداقل آن در جایگاه NG71 با ۷ آلل دیده شد. با توجه به جدول ۲ حداکثر فراوانی آللی در منطقه مازندران ۰/۵۱۰ مربوط به جایگاه NG71 و حداقل آن

جدول ۲: فراوانی آلل ها در جایگاه های مورد بررسی و در مناطق مختلف نمونه برداری

حداقل		حداکثر		جایگاه
گلستان	مازندران	گلستان	مازندران	
۰/۰۱۸	۰/۰۱۰	۰/۱۷۹	۰/۲۰۲	NG70
۰/۰۳۶	۰/۰۲۹	۰/۳۷۵	۰/۵۱۰	NG71
۰/۰۱۸	۰/۰۱۰	۰/۳۷۵	۰/۳۸۵	NG92
۰/۰۱۸	۰/۰۱۰	۰/۱۷۹	۰/۱۵۴	NG111
۰/۰۱۸	۰/۰۱۹	۰/۲۳۲	۰/۱۸۳	NG115
۰/۰۱۸	۰/۰۱۰	۰/۱۴۲	۰/۱۳۵	NG215

جدول ۳: مقادیر هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Ho) و مورد انتظار (He)، آلل‌های واقعی (Na) و موثر (Ne) در ۶ جایگاه ریزماهواره پلی مورفیک در مناطق مختلف نمونه برداری (SE: Standard deviation)

مازندران				گلستان				استان
Ho	He	Na	Ne	Ho	He	Na	Ne	جایگاه
۰/۷۸۸	۰/۸۸۶	۱۴	۸/۷۳۷	۰/۸۲۱	۰/۸۸۳	۱۱	۸/۵۲۲	NG70
۰/۴۰۴	۰/۶۷۹	۷	۳/۱۱۳	۰/۳۹۳	۰/۷۸۶	۷	۴/۶۸۱	NG71
۰/۵۵۸	۰/۸۰۳	۱۲	۵/۰۶۴	۰/۹۲۹	۰/۶۹۵	۵	۳/۲۷۳	NG92
۰/۴۲۳	۰/۹۰۵	۱۷	۱۰/۵۴۲	۰/۹۶۴	۰/۸۹۳	۱۵	۹/۳۳۳	NG111
۰/۶۵۴	۰/۸۹۸	۱۴	۹/۷۹۷	۰/۸۵۷	۰/۸۸۳	۱۳	۸/۵۶۸	NG115
۰/۷۶۹	۰/۹۳۲	۱۹	۱۴/۷۳۶	۰/۷۸۸	۰/۸۹۹	۱۵	۹/۹۲۴	NG215
۰/۵۹۹	۰/۸۵۰	۱۳/۸۳	۸/۶۶۵	۰/۷۹۲	۰/۸۴۰	۱۱	۷/۳۸۴	میانگین
±۰/۰۸۹	±۰/۰۳۹	±۰/۷۰۱	±۱/۶۸۸	±۰/۰۴۵	±۰/۰۳۴	±۱/۷۱۳	±۱/۱۱۳	S.E.

هتروزیگوسیتی مورد انتظار مربوط به جایگاه NG215 در کمترین مقدار آن مربوط به جایگاه NG71 در نمونه‌های منطقه مازندران مشاهده شده است. محاسبه مقادیر هتروزیگوسیتی نشان می‌دهد که در مناطق نمونه‌برداری و در تمام جایگاه‌ها به استثنای جایگاه‌های NG70 و NG111 در سواحل استان گلستان، هتروزیگوسیتی مورد انتظار بیشتر از هتروزیگوسیتی مشاهده شده می‌باشد.

بر اساس نتایج آزمون کای (جدول ۴) در هر دو منطقه مازندران و گلستان و در جایگاه‌های مختلف ریزماهواره‌ای بجز جایگاه‌های NG71، NG111 و NG215 در سواحل گلستان انحراف از تعادل هاردی - واینبرگ مشاهده شده است.

جدول ۳ نشان می‌دهد که بیشترین تعداد آلل‌های مشاهده شده و آلل‌های موثر در منطقه مازندران بترتیب ۱۹ و ۱۴/۷۳۶ و کمترین آن ۷ و ۳/۱۱۳ بود. در سواحل گلستان نیز بیشترین تعداد آلل‌های مشاهده شده و آلل‌های موثر بترتیب ۱۵ و ۹/۹۲۴ و کمترین آن ۵ و ۳/۲۷۳ بود. همانگونه که جدول نشان می‌دهد در تمامی مناطق نمونه‌برداری و برای تمام جایگاه‌ها مقدار آلل‌های موثر از آلل‌های واقعی کمتر می‌باشد.

دامنه هتروزیگوسیتی مشاهده شده بین مناطق نمونه‌برداری در جایگاه‌های شش‌گانه بین ۰/۳۹۳ تا ۰/۹۶۴ بود. بیشترین مقدار هتروزیگوسیتی مشاهده شده در جایگاه NG111 و کمترین مقدار در جایگاه NG71 در نمونه‌های منطقه گلستان می‌باشد.

دامنه هتروزیگوسیتی مورد انتظار در مناطق نمونه‌برداری بین ۰/۶۷۹ تا ۰/۹۳۲ بود. بیشترین مقدار

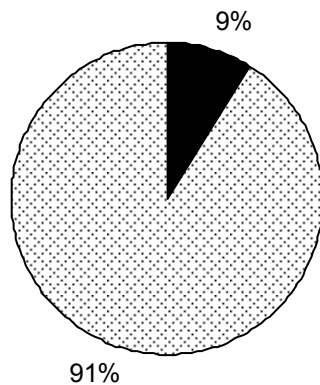
جدول ۴: نتایج آزمون کای (χ^2) برای تعادل هاردی-واینبرگ در جایگاه‌های ریزماهوره‌ای پلی مورفیک در مناطق نمونه برداری شده از گاو ماهی سرگنده

منطقه	عوامل تعادل χ^2	NG70	NG71	NG92	NG111	NG115	NG215
مازندران	درجه آزادی	۹۱	۲۱	۶۶	۱۳۶	۹۱	۱۷۱
	آزمون مربع کای	۲۸۴/۸۲۸	۷۵/۱۲۶	۲۰۱/۵۰۵	۳۸۹/۶۹۳	۱۸۴/۸۴۴	۳۱۸/۶۴۱
	احتمال	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰
	معنی دار بودن	***	***	***	***	***	۱۳۸/۲۹
گلستان	درجه آزادی	۵۵	۲۱	۱۰	۱۰۵	۷۸	۱۰۵
	آزمون مربع کای	۱۴۳/۸۸۰	۲۸/۹۸۰	۶۶/۲۰۴	۱۱۴/۹۹۷	۱۳۲/۴۱۷	۱۲۴/۹۶۹
	احتمال	۰/۰۰۰	۰/۱۱۴	۰/۰۰۰	۰/۲۳۷	۰/۰۰۰	۰/۰۸۹
	معنی دار بودن	***	ns	***	ns	***	ns

***: اختلاف با احتمال خطای کمتر از ۰/۱ درصد ($P < 0/001$). ns: معنی دار نیست

ماتریس فواصل و شباهت ژنتیکی با استفاده از معیار فاصله ژنتیکی (۱۵) انجام شد. محاسبات انجام شده نشان داد که فاصله ژنتیکی و شباهت ژنتیکی بین نمونه‌های منطقه مازندران و گلستان بترتیب ۰/۳۵۴ و ۰/۷۰۲ می‌باشد. شکل ۳ تنوع ژنتیکی در درون و بین مناطق نمونه برداری از گاو ماهی سرگنده را نشان می‌دهد.

میزان R_{ST} ، F_{ST} و جریان ژنی (Nm) بین دو منطقه مازندران و گلستان به ترتیب ۰/۰۳۴، ۰/۱۲۹ و ۸/۷۲۶ بوده است. با توجه به مقدار F_{ST} حاصل از آزمون AMOVA، تنوع ژنتیکی بین نمونه های سواحل مازندران و گلستان معنی دار بوده است ($P < 0/01$). بر این اساس می‌توان عنوان نمود که ۲ گروه ژنتیکی متفاوت از این گونه در حوضه جنوبی دریای خزر (سواحل مازندران و گلستان) وجود دارد.



■ اختلاف بین مناطق مختلف □ اختلاف افراد در داخل هر منطقه

شکل ۳: تنوع ژنتیکی بین نواحی و افراد هر منطقه در ۶ جایگاه پلی مورفیک ریزماهوره ای در گاو ماهی سرگنده

بحث

حالت پلی مورفیسم در ژنوم هسته موجودات به عنوان شاخص ژنتیکی ارزشمند برای ارزیابی تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیتی به منظور محافظت از ذخایر ژنی گونه‌ها محسوب می‌شود (۵). مدیریت ذخایر در صورتی که بر پایه اطلاعات دقیق مانند مطالعات مولکولی باشد، می‌تواند علاوه بر حفظ تنوع زیستی، میزان برداشت و بهره‌برداری را به حد پایدار و بهینه برساند (۲۴). تنوع ژنتیکی آبریان یکی از شاخص‌های مهم تعیین شرایط اکولوژیک منابع آبی می‌باشد (۲۶). کاهش تنوع ژنتیکی برای جمعیت‌ها زیان بار بوده و بر میزان برداشت آن‌ها تاثیر گذار می‌باشد.

در این بررسی تنوع ژنتیکی گاو ماهی سرگنده در ۶ جایگاه ریزماهوره‌ای در سواحل استان‌های مازندران و گلستان مورد مطالعه قرار گرفت. بر اساس نتایج بدست آمده، میانگین تعداد آلل‌های مشاهده شده در نمونه‌های سواحل مازندران و گلستان به ترتیب ۱۳/۸۳ و ۱۱ بود. همچنین میانگین تعداد آلل‌های موثر در نمونه‌های مازندران گلستان به ترتیب ۸/۶۶ و ۷/۳۸۴ بوده است.

قابل ذکر است که آلل‌های مشاهده شده در هر جایگاه ژنی به شدت تحت تاثیر اندازه نمونه بوده و به همین جهت این امکان وجود دارد که در آزمایشات گوناگون با تعداد نمونه‌های متفاوت تعداد آلل‌های واقعی مختلفی برای یک جایگاه معین به دست آید (۱۹).

نتایج بدست آمده نشان داد که میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده در دو منطقه نمونه‌برداری ۰/۶۹۵ و هتروزیگوسیتی قابل انتظار ۰/۸۴۵ بود که

بیانگر سطح بالای تنوع ژنتیکی در گاو ماهی سرگنده دریای خزر می‌باشد.

رضوانی و همکاران (۱) ساختار ژنتیکی گاو ماهی خزری را در مرکز و شرق سواحل جنوبی دریای خزر با استفاده از ۱۲ جایگاه ریزماهوره‌ای مورد بررسی قرار دادند که ۵ جایگاه پلی مورف بود. در این بررسی تعداد آلل‌های مشاهده شده ۵ (جایگاه NG71) تا ۲۲ (جایگاه NG115) بوده و میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار به ترتیب ۰/۷۹۸ و ۰/۸۴۳ بود. همچنین با توجه به مقادیر R_{ST} و F_{ST} بدست آمده، اختلاف بین دو منطقه مورد بررسی معنی‌دار بوده است ($P < 0.05$). در مطالعه حاضر میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده در نمونه‌های سواحل گلستان ۰/۷۹۲ و در سواحل مازندران ۰/۵۹۹ بود.

Vyskocilova و همکاران (۲۵) تنوع ژنتیکی گاو ماهی *Neogobios kessleri* را در مناطق بالا و میانی رودخانه دانوب با استفاده از ۱۲ نشانگر ریزماهوره مطالعه نمودند. تعداد آلل‌ها در ۳۲ نمونه ماهی ۲ تا ۴ و هتروزیگوسیتی بین ۰/۱۳ تا ۰/۷۵ بود. همچنین در مطالعات دیگر مقدار هتروزیگوسیتی مشاهده شده و قابل انتظار در ماهی *N. melanostomus* به ترتیب ۰/۱۳ تا ۰/۵۲ و ۰/۱۵ تا ۰/۵۰ بود (۱۰). فراوانی هتروزیگوت‌ها از این جهت اهمیت دارد که هر هتروزیگوت ناقل آلل‌های متفاوتی است که این نشان دهنده وجود تنوع می‌باشد. به همین دلیل معمول‌ترین معیار تنوع ژنی در یک جمعیت میزان هتروزیگوسیتی می‌باشد (۱۰). هتروزیگوسیتی بیانگر طیف وسیعی از ژنوتیپ به عنوان پاسخ به سازش پذیری در شرایط متغیر محیطی است و بسیاری از خصوصیات

در تمام نمونه‌ها (گاو ماهی خزری) مشاهده شده است ($P < 0.001$). یکی از دلایل وجود انحراف از تعادل هادی - واینبرگ احتمالاً وجود الل‌های صفر و استفاده از پرایمرهای غیر اختصاصی می‌توان عنوان نمود. در واقع وجود الل‌های صفر در ماهیان پدیده‌ای معمولی می‌باشد (۱۸).

Dahle و همکاران (۱۲) ضمن بررسی ترکیب ذخایر *Gadus morhua* انحراف در تعادل هاردی - واینبرگ را به علت افزایش هموزیگوسیتی، آلل‌های صفر، رانش ژنتیکی، انتخاب، مخلوط شدن و غیر کافی بودن نمونه‌ها می‌داند. همچنین Kitanishii و همکاران (۱۵) انحراف از تعادل مشاهده شده در مطالعه ساختار جمعیتی *Oncorhynchus masou* را به خطای نمونه‌برداری نسبت دادند. با توجه به مطالعات انجام شده، عدم صدق فرضیات مربوط به مدل هاردی - واینبرگ ممکن است ناشی از مکانیزم‌های بوم‌شناختی باشد.

فاکتور F_{ST} بیان‌کننده توصیف تمایز جمعیت در سطوح مختلف ساختار ژنتیکی می‌باشد و بیانگر آن است که هرچه میزان جریان ژنی بین مناطق بیشتر باشد اختلاف ژنتیکی کمتر است (۸). در این بررسی مقدار F_{ST} بین دو منطقه گلستان و مازندران ۰/۰۳۴ بود که بر اساس معیارهای در نظر گرفته شده، میزان تمایز بین جمعیت‌های بررسی شده در محدوده تمایز ژنتیکی پایین قرار دارد (۶ و ۲۳).

نظر به اینکه پدید آمدن گونه‌های جدید منوط به افزایش اختلافات ژنتیکی میان جمعیت‌های جدا یا نسبتاً جدا از یکدیگر می‌باشد، بنابراین به طور قطع می‌توان میان پارامترهایی نظیر جریان ژنی، فواصل جغرافیایی و گونه‌زایی ارتباط برقرار نمود (۸). میزان جریان ژنی در

مهم اقتصادی مثل رشد، باروری و مقاومت در برابر بیماری را تحت تاثیر قرار می‌دهد (۹).

در این بررسی هردو منطقه نمونه‌برداری شده و در تمام جایگاه‌ها به غیر از جایگاه NG92 و NG111 در سواحل گلستان، هتروزیگوسیتی مشاهده شده نسبت به هتروزیگوسیتی قابل انتظار کمتر بود. کاهش هتروزیگوسیتی مشاهده شده نسبت به هتروزیگوسیتی قابل انتظار نشان دهنده کاهش در تغییرپذیری ژنتیکی نمونه‌ها است. علت این کاهش، احتمالاً تنگناهای ژنتیکی می‌باشند که احتمالاً بر اثر شرایط زیست محیطی، تخریب زیستگاه‌های طبیعی، آمیزش‌های خویشاوندی بوجود می‌آید و در نتیجه با گذشت زمان موجب کاهش آلل و کاهش هتروزیگوسیتی در ذخائر می‌شود (۱۸). با توجه به میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده در نمونه‌های دو استان، به نظر می‌رسد جمعیت گاو ماهی سرگنده در استان گلستان وضعیت بهتری نسبت به جمعیت استان دیگر داشته باشد زیرا دارای تنوع ژنتیکی بالاتری بوده که این امر می‌تواند سبب افزایش سازگاری این گونه با تغییرات زیست محیطی گردد.

نتایج مطالعه حاضر نیز انحراف از تعادل هاردی - واینبرگ در دو منطقه گلستان و مازندران را در تمامی جایگاه‌های مورد بررسی بجز جایگاه NG71، NG111 و NG215 در منطقه گلستان، نشان می‌دهد ($P < 0.001$). همچنین مشاهده می‌گردد که جمعیت گاو ماهی سرگنده در سواحل مازندران خارج از تعادل هاردی - واینبرگ بوده و انحراف از تعادل نسبت به نمونه‌های گلستان بیشتر می‌باشد. در بررسی که توسط رضوانی و همکاران (۱) انجام گرفت انحراف معنی‌دار از تعادل هاردی واینبرگ (W.H) در تمام جایگاه‌ها و

سپاسگزاری

بدینوسیله از آقایان دکتر نادری، طالشیان، باقرزاده و سرکار خانم نیرانی و سایر پرسنال پژوهشکده اکولوژی دریای خزر به جهت همکاری در اجراء این تحقیق سمیمانه تشکر و قدردانی بعمل می آید.

منابع

۱. رضوانی، س.؛ رزمجو، ا.؛ قوام مصطفوی، پ.گ.؛ لالوئی، ف.؛ تقوی، م.ج. و نیرانی، م.، ۱۳۸۹. بررسی ساختار ژنتیکی جمعیت گاو ماهی خزری در غرب و مرکز سواحل جنوبی دریای خزر. موسسه تحقیقات شیلات ایران. ۲۶ صفحه.
۲. مرادی، م.ع.، ۱۳۷۵. پراکنش و خصوصیات مهم زیستی گاو ماهی سرگنده (*Neogobius kessleri Gorlap*) در سواحل جنوب شرقی دریای خزر. پایان نامه کارشناسی ارشد بیولوژی دریا، گروه آموزشی علوم دریایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال. ۱۴۵ صفحه.
۳. نادری، م. و عبدلی، ا.، ۱۳۷۸. تنوع زیستی ماهیان حوضه جنوبی دریای خزر. ۲۲۳ صفحه.
4. Adams, B.K. and Hutchings, A. 2003. Micro geographic population structure of brook char: a comparison of microsatellite and mark-recapture data. *Journal of Fish Biology*. 62. 517-533.
5. Alarcon, J.A.; Magoulas, A. and Alvarez, M.C., 2004. Genetic comparison of wild and cultative European population of the gill head sea bream. *Aquaculture*. Vol. 230, pp.65-80.
6. Avise, J., 2004. *Molecular Markers, Natural History and Evolution*. Chapman and Hall. New York, 511 pp.
7. Azizova, N.A., 1965. Obzervations on the food of gobies in the Caspian sea. *Zh Biol*. NO. 6120

بین دو منطقه نمونه برداری بیانگر عدم وقوع اختلافات زیاد بین جمعیت ها می باشد.

F_{ST} و R_{ST} به طور معمول در توصیف تمایز جمعیت در سطوح مختلف ساختار ژنتیکی استفاده می شوند و هر یک مستقیماً و یا از میان ارتباط با تعداد مهاجرت موثر برآورد کننده تمایز هستند. هدف اصلی در محافظت از ماهیان، نگهداری دامنه وسیعی از تنوع ژنتیکی است. سازگاری و بقای گونه ها هنگامی حفظ می شود که تغییر پذیری ژنتیکی موجود از دست نرود (۲۲).

در این بررسی با توجه به فراوانی آللی، هتروزیگوسیتی، تعادل هاردی- واینبرگ، F_{ST} و R_{ST} حاصل از آزمون AMOVA مربوط به گاو ماهی سرگنده، می توان عنوان نمود که تنوع ژنتیکی متفاوتی از این گونه در دریای خزر (سواحل مازندران و گلستان) وجود دارد ($P < 0/01$). این تفاوت بین ۲ گروه می تواند بخاطر اختلاف در نوع بستر، شیب بستر، وسعت عمق کم در نواحی مختلف، شوری و برخی پارامترهایی مانند pH باشد. همچنین نوع تغذیه (بدلیل تفاوت در تنوع ماکروبتنوزها در غرب و شرق حوضه جنوبی) و نیز تقابل بین گونه ای در این تنوع موثر است. علاوه بر این گاو ماهیان غذای اصلی ماهیان خاویاری بوده و موضوع صید و شکار و سایر کنش های بین گونه تفاوت در سازگاری زیستگاه ها را می تواند بوجود آورد. در شرق و غرب حوضه جنوبی دریای خزر، خلیج گرگان و تالاب انزلی به عنوان دو زیستگاه بزرگ با مواد غنی بالا وجود دارد که این ویژگی در مناطق مرکزی کمتر دیده می شود. این شرایط زیست محیطی می تواند باعث تغییراتی در ساختار گاو ماهیان گردد.

8. Beacham, T.D. and Macconachi, C., 2004. Microsatellite identification of individual sockeye salmon in Barkley Sound, British Columbia. *Journal of Fish biology*. Vol. 61, pp.1021-1032.
9. Beardmore, J.A.; Mair, G.C. and Lewis, R.I., 1997. Biodiversity in aquatic systems in relation to aquaculture. *Aquaculture*, Vol.28, pp.829-839.
10. Brighitte, J.; Hansen, M. and Loeschker, V., 2005. Microsatellite DNA analysis of northern pike (*Esox lucius*) populations: insights into the genetic structure and demographic history of a genetically depauperate species. *Biology Journal of Linnaean Society*. Vol.84, pp. 1-11.
11. Dillon, A.K. and Stepien, C.A., 2001. Genetic and Biogeographic Relationships of the Invasive Round (*Neogobius melanostomus*) and Tubenose (*Proterorhinus marmoratus*) Gobies in the Great Lakes Versus Eurasian Populations. *Journal of Great Lakes research*. Vol. 27(3), pp.267-280
12. 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.
13. Dougherty, J. D.; Moore, W.S. and Ram, J. L., 1996. Mitochondrial DNA analysis of round goby (*Neogobius melanostomus*) and tubenose goby (*Proterorhinus marmoratus*) in the Great Lakes basin. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 53: 474-480.
14. Fevolden, S.E. and Pogson, G.H., 1997. Genetic divergence at the synaptophysin locus among Norwegian Coastal and North – east Arctic population of Atlantic Cod. *Journal of fish Biology*. Vol.51, pp.895-908.
15. Kitanishi, S.; Yamamoto, T. and Higashi, S., 2008. Microsatellite variation reveals fine-scale genetic structure of masu salmon, *Oncorhynchus masou*, within the Atsuta River. *Ecology of Freshwater Fish*. pp.1-7.
16. Nei, M., 1972. Genetic distance between populations. *American Naturalist*. Vol.106, pp.283-292.
17. Nei, M., 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*. Vol. 89, pp.583-590.
18. Norris, A. T.; Bradley, D. G. and Cunningham, E. D.; 1999. Microsatellite genetic variation between and within farmed and wild Atlantic salmon populations. Department of Genetics, Trinity College Dublin, Ireland. 247-264.
19. Peakall, M. and Smouse, A., 2005. Gene Alex 6: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. The Australian national university, Canberra, Australia. <http://www.anu.edu.au/BoZo/GenALEx/>.
20. Rodzen, J.A. and May, B., 2002. Inheritance of microsatellite loci in the polyploidy white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) using a dominant marker approach for duplicated microsatellite loci. *Aquaculture*. 232, 165-182.
21. Ryman, N., 1991. Conservation genetics considerations in fishery management. *Journal of Fish Biology*. 39 (Supplement A) 211-224.
22. Skaala, Q.; Hoyheim, B.; Glover, K. and Dahle, G., 2004. Microsatellite analysis in domesticated and Wild Atlantic salmon (*Salmo salar* L.): allelic diversity and identification of individuals. *Aquaculture*. Vol.240, pp.131-143.
23. Smith, P. and Mcveagh, M., 2005. Allozyme and microsatellite DNA markers of tothfish population structure in the Southern Ocean. *Journal of Fish Biology*. Vol. pp.57. 72-83.
24. Thai, B.T.; Pham, T.A. and Austin, G.M., 2006. Genetic diversity of common carp in vietnam using direct sequencing and SSCP analysis of the mitochondrial DNA control region. *Aquaculture* 258: 228-240.
25. Vyskoilov, M.; Ondrackova, M. and Sinkova, A., 2007. Isolation and characterization of microsatellites in *Neogobius kessleri* (Perciformes, Gobiidae) and cross-species amplification within the

- family Gobiidae. *Molecular Ecology Notes*. Vol.7, pp.701-704.
26. Zhou, J.F.; Wu, Q.J.; Ye, Y.Z. and Tong, J.G., 2003. Genetic divergence between *Cyprinus carpio carpio* and *Cyprinus carpio haematopterus* as assessed by mitochondrial DNA analysis, with emphasis on origin of European domestic carp. *Genetica*, Vol. 119, pp.93-97.