



Available Online: <http://jmst.kmsu.ac.ir>

Original Article



## Determining the genetic diversity and inbreeding coefficient of cultured Anzeh (*Luciobarbus esocinus*) population using fluorescently labeled microsatellite markers

Malek Silavi<sup>1,2</sup>, Ebrahim Rajabzadeh Ghatrami<sup>1\*</sup>, Samira Nazemroaya<sup>3</sup>

1. Department of Fisheries, Faculty of Marine Natural Resources, Khorramshahr University of Marine Sciences and Technology, Khorramshahr, Iran.

2. Native Fish Breeding Center of Khuzestan General Directorates for Fisheries, Ahvaz, Iran.

3. South Iran Aquaculture Research Institute, Iranian Fisheries Scientific Research Institute, Agricultural Research, Education, and Extension Organization, Ahvaz, Iran

\* Corresponding Author E-mail: [rajabzadeh48@gmail.com](mailto:rajabzadeh48@gmail.com)

Received: 7 April 2024

Revise Date: 1 January 2024

Accepted: 3 September 2024

### Abstract

In this study, the genetic diversity and inbreeding coefficient of the Anzeh fish population in three distinct geographical regions were investigated and estimated in ten gene loci using fluorescently labeled microsatellite markers. Sampling was conducted with 20 adult Anzeh fish (male and female), 10 one-year-old fish and 10 two-year-old young from Breeding Center of Khuzestan General Directorates fisheries, 20 fish from the Karkeh, and the Dez Dams. Among 33 private alleles in all populations, BC-49 and BC-39 loci exhibited the most five alleles. The highest (11) and lowest (2) number of private alleles were found in Male cultured and wild (Dez and Karkheh) populations. The minimum and maximum Shannon diversity index were 1.169 and 1.650 in Karkheh and one-year-old cultured populations. The mean F index was calculated as 0.018 in all populations. The mean inbreeding coefficient of Fis was 0.0059 in all Loci. Negative numbers were obtained in five loci and the Fis ranged from 0.123 to 0.289 in the rest of the loci, which indicates low inbreeding in populations. The two-year-old cultured population was in Hardy-Weinberg equilibrium at all loci. However, one-year-old breeding, Karkheh, and Dez population in one locus, and Male and Female cultured broodstocks in two and six loci showed a significant deviation from the Hardy-Weinberg equilibrium ( $p < 0.05$ ). The AMOVA based on FST illustrated 13% and 78% of the diversity between and within the population, respectively. The calculated FST (0.126) showed a meaningful moderate genetic distance among the populations ( $p < 0.05$ ). According to the FST matrix, the lowest genetic distance (0.038) was observed between the two-year-old cultured and Dez populations. The highest genetic distance was found at 0.185 between the Female cultured and Karkheh populations. These results showed that the populations of Anzeh have high genetic diversity in Khuzestan, and very little inbreeding was observed in the populations.

**Keywords:** Anzeh, Microsatellite markers, inbreeding, genetic diversity, Hardy-Weinberg Equilibrium

### INTRODUCTION

Knowledge of the amount of genetic diversity among individuals of a species is one of the valuable goals of stock management and breeding, so population genetic studies or molecular ecology of economically valuable fish are very necessary to protect their population and maintain sustainable fishing. One of the

#### Copyrights:

Copyright for this article is retained by the author(s), with publication rights granted Journal of Marine Science and Technology. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.



requirements of broodstock management in hatcheries is to estimate the genetic dependency among them. With genetic monitoring, it is possible to estimate the genetic diversity during many generations of aquatic breeders and provide important information about the efficiency of reproduction management.

#### **MATERIAL AND METHODS**

In this study, the genetic diversity and inbreeding coefficient of the Anzesh fish population in three distinct geographical regions were investigated and estimated in ten gene loci using fluorescently labeled microsatellite markers. Sampling was conducted with 20 adult Anzesh fish (equal ratio of male and female), 10 one-year-old fish and 10 two-year-old young from Native Fish Breeding Center of Khuzestan General Directorates for fisheries, 10 fish from the Karkeh, and 10 fish from the Dez lakes behind Dams.

#### **RESULTS**

Among 33 private alleles in all populations, BC-49 and BC-39 loci exhibited the most five alleles. The highest (11) and lowest (2) number of private alleles were found in Male cultured and wild (Dez and Karkheh) populations. The BC-47 locus had two private alleles exclusively in the one-year-old population. The mean observed ( $H_o$ ) and expected ( $H_e$ ) heterozygosity in all populations were calculated as 0.667 and 0.681, respectively. The minimum and maximum Shannon diversity index were 1.169 and 1.650 in Karkheh and one-year-old cultured populations, respectively. The mean  $F$  index was calculated as 0.018 in all populations. The mean inbreeding coefficient of  $F_{is}$  was 0.0059 in all Loci. Negative numbers were obtained in five loci and the  $F_{is}$  ranged from 0.123 to 0.289 in the rest of the loci, which indicates low inbreeding in populations. The two-year-old cultured population was in Hardy-Weinberg equilibrium at all loci. However, one-year-old breeding, Karkheh, and Dez population in one locus, and Male and Female cultured broodstocks in two and six loci showed a significant deviation from the Hardy-Weinberg equilibrium ( $p < 0.05$ ). The AMOVA based on  $F_{ST}$  illustrated 13% and 78% of the diversity between and within the population, respectively. The calculated  $F_{ST}$  (0.126) showed a meaningful moderate genetic distance among the populations ( $p < 0.05$ ). According to the  $F_{ST}$  matrix, the lowest genetic distance (0.038) was observed between the two-year-old cultured and Dez populations. The highest genetic distance was found at 0.185 between the Female cultured and Karkheh populations.

#### **DISCUSSION AND CONCLUSION**

These results showed that the populations of Anzesh have high genetic diversity in Khuzestan, and very little inbreeding was observed in the populations.

Since there are no main factors influencing natural selection in wild aquatic populations (such as food competition, pressure from fishermen, environmental conditions, etc.) It will be in such a situation, that the phenomenon of "inbreeding" causes an increase in the percentage of malformations in the produced fish and, as a result, reduces production efficiency. In fact, due to the small population of breeding fish and the possibility of their close kinship, strengthening the possibility of "inbreeding" is always in a potential form. Inbreeding or the phenomenon of inbreeding, the genotypic structure of the population is determined not only by the allelic frequencies and the forces affecting the allelic frequency (mutation, migration, deviation, and drift or random mating) but also by the mating system. As a result of inbreeding, the genetic purity is increased, and the amount of impurity is also reduced compared to random mating conditions. The phenomenon of inbreeding occurs in natural and cultivated societies due to inbreeding and positive selective mating, when phenotypic.



مقاله پژوهشی

Available Online: <http://jmst.kmsu.ac.ir>



## تعیین و مقایسه تنوع ژنتیکی و ضریب همخونی جمعیت ماهی عنزه (*Luciobarbus esocinus*) پرورشی و وحشی با استفاده از نشانگر ریزماهوره

مالک سیلاوی<sup>۱</sup>، ابراهیم رجب زاده قطرمی<sup>۱\*</sup>، سمیرا ناظم رعایا<sup>۳</sup>

۱. گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران.
۲. مرکز تکثیر ماهیان بومی خوزستان، اداره کل شیلات خوزستان، اهواز، ایران.
۳. پژوهشکده ارزی پرووری آب‌های جنوب کشور، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، اهواز، ایران.

\* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: [rajabzadeh48@gmail.com](mailto:rajabzadeh48@gmail.com)

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۶/۱۳

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۰۴/۱۱

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۱/۱۹

### چکیده

هدف این مطالعه مقایسه تنوع ژنتیکی و ضریب همخونی جمعیت ماهی عنزه پرورشی و وحشی در سه منطقه جغرافیایی، ده جایگاه ژنی با استفاده از نشانگر ریزماهوره نشاندار فلورسنس بود. نمونه‌ها ۲۰ ماهی مولد عنزه (نر و ماده)، ۲۰ ماهی جوان یک و دو ساله از مرکز تکثیر شیلات خوزستان، ۲۰ ماهی دریاچه پشت سد کرخه و دریاچه سد دز بودند. از تعداد ۳۳ آلل اختصاصی کل جمعیت‌ها، جایگاه‌های BC-39 و BC-49 با پنج آلل بیشترین تعداد آلل اختصاصی بودند. بیشترین و کمترین تعداد آلل اختصاصی با تعداد ۱۱ و ۲ آلل به ترتیب در جمعیت‌های پرورشی مولدین نر پرورشی و وحشی (دز و کرخه) مشخص شد. میانگین فراوانی آلل واقعی و موثر به ترتیب ۵/۲ و ۳/۷۵۹ و شاخص تنوع شانون ۱/۳۸۰ بود. میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده و هتروزیگوسیتی مورد انتظار به ترتیب ۰/۶۷۷ و ۰/۶۸۱ بود. بیشترین فراوانی آلل واقعی در جمعیت نر پرورشی با تعداد ۶/۶ و آلل موثر ۴/۷۹ در جمعیت یکساله پرورشی بود. کمترین تعداد فراوانی آللی واقعی و موثر در جمعیت پشت دریاچه سد کرخه به ترتیب با مقدار ۴/۱ و ۳/۱۰۴ بود. بیشترین و کمترین میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده به ترتیب ۰/۸۲ (۰/۴۲۰) و ۰/۷۷۸ (۰/۶۰۹) در جمعیت یکساله پرورشی و مولدین ماده پرورشی بود. کمترین شاخص شانون (۱/۱۶۹) در جمعیت کرخه بیشترین، در عنزه یکساله (۱/۶۵) بود. مقدار شاخص تثبیت (F) در کل جمعیت‌ها ۰/۰۱۸ بود. میانگین شاخص ضریب همخونی (F<sub>is</sub>) در همه جایگاه‌ها مقدار پایین ۰/۰۵۹ بود. مولدین ماهی نر و ماده پرورشی به ترتیب در دو و شش جایگاه انحراف معنی‌داری از تعادل هاردی-واینبرگ نشان دادند ( $P < 0.05$ ). تجزیه واریانس بر اساس  $F_{ST}$  مقدار ۱۳٪ از تنوع را مربوط به بین جمعیت‌ها و ۸۷٪ از تنوع درون جمعیتی و جمعیت‌های ماهی عنزه موجود در استان خوزستان از تنوع ژنتیکی خوبی برخوردارند، میزان همخونی خیلی کمی در جمعیت‌ها وجود دارد.

**واژگان کلیدی:** عنزه، ریزماهوره، درون آمیزی، تنوع و تمایز ژنتیکی، تعادل هاردی-واینبرگ

#### Copyrights:

Copyright for this article is retained by the author(s), with publication rights granted Journal of Marine Science and Technology. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.



## ۱. مقدمه

راهگشا باشد. ریزماهورها از معروفترین نشانگرها برای روش انتساب والدین و مطالعات ژنتیک جمعیت در ماهیان و مطالعات ژنومی تبدیل شده‌اند (Liu and Cordes, 2014). توسعه و به-کارگیری فناوری‌های نشانگرهای دی‌ای‌ان که از قبل در زمینه‌های دیگری مانند سیستماتیک مولکولی، ژنتیک جمعیت، زیست‌شناسی تکاملی، اکولوژی مولکولی، ژنتیک حفاظتی و نظارت بر ایمنی غذاهای دریایی انجام می‌شده است، بی‌شک صنعت آبی‌پروری را به روش‌های غیرمنتظره‌ای تحت تأثیر قرار می‌دهد (Abdul-Muneer, 2014). نشانگرهای ریزماهورهای کپی‌های متعددی از تکرارهای توالی ساده در اندازه‌های یک تا شش جفت باز هستند (Tautz, 1989). ریزماهورها در مناطق بسیار حفاظت شده ژنوم قرار دارند و منبع بسیار مهمی برای آغازگرهای اختصاصی محسوب می‌شوند. نشانگرهای ریزماهورها تنوع بالایی در همه نشانگرهای ژنتیکی نشان می‌دهند که آنها را برای حفاظت از تنوع زیستی و اندازه جمعیت مؤثر (Reilly et al., 1999)، هم‌خونی (Tessier et al., 1997)، مطالعات خویشاوندی و رفتاری (Bekkevold et al., 2002)، تجزیه و تحلیل جریان ژن (Hallerman et al., 2004) بسیار مفید می‌سازد. از ریزماهورها می‌توان جهت شناسایی جمعیت‌هایی با خویشاوندی نزدیک با جد مشترک استفاده نمود (Chistiakov et al., 2006). در برنامه‌های تکثیر «مرکز تکثیر و توسعه ماهیان بومی شیلات» امکان تلاقی پدرها با دخترها و مادران با پسران بسیار زیاد است که به دنبال آن احتمال ازدیاد ژن‌های کشنده مغلوب افزایش خواهد داشت. در این بین آمیزش-های خویشاوندی نقش مهمی را ایفا می‌کنند. بنابراین، ممکن است نسل نتاج تولید شده در مرکز تکثیر و توسعه ماهیان بومی شیلات، فرزندان والدین مشترک بوده و با هم «خویشاوند تنی» باشند. از آنجایی که گاهی برای نوسازی جمعیت مولدین مرکز تکثیر به صید مولد از طبیعت روی آورده می‌شود، بدین منظور این مطالعه با هدف بررسی و مقایسه تنوع ژنتیکی سه جمعیت از ماهیان عنزه خوزستان شامل جمعیت نگهداری شده در بانک ژن زنده مرکز تکثیر ماهیان بومی شیلات خوزستان، جمعیتی از ماهیان صید شده از دریاچه‌های پشت سد کرخه و دز انجام شد.

## ۲. مواد و روش‌ها

نمونه برداری، این مطالعه در فروردین ماه سال ۱۴۰۰ با نمونه برداری از ۶۰ ماهی از جمعیت‌های پیش فرض که جداگانه نگهداری می‌شوند، شامل ۲۰ نمونه‌ی ماهی عنزه بالغ (نسبت مساوی مولد نر و ماده)، ۱۰ ماهی یک ساله، ۱۰ ماهی دو ساله جوان از مناطق مرکز تکثیر ماهیان بومی شیلات خوزستان، ۱۰ ماهی بالغ از دریاچه‌های سد کرخه و ۱۰ ماهی بالغ از سد دز آغاز شد. از هر ماهی عنزه مقدار دو الی چهار گرم از بافت باله دمی جدا و سپس در الکل اتیلیک ۹۷ درجه قرار داده شدند و جهت انجام آزمایش‌های ژنتیکی به پژوهشکده آبی‌پروری آب‌های جنوب کشور ارسال شد.

آگاهی از میزان تنوع ژنتیکی بین افراد یک گونه، از اهداف ارزشمند مدیریت ذخایر و اصلاح نژاد می‌باشد، به طوری که بررسی-های ژنتیک جمعیت یا اکولوژی مولکولی ماهیان با ارزش اقتصادی به منظور حفاظت از جمعیت آنها و حفظ صید پایدار بسیار ضروری است (Wang et al., 2007). یکی از نیازمندی‌های مدیریت مولدین در هجری‌ها تخمین وابستگی ژنتیکی در میان آنها می‌باشد. با پیش ژنتیکی می‌توان تنوع ژنتیکی در طول نسل‌های متممادی مولدین آبی را تخمین زد و اطلاعات مهمی در مورد کارایی مدیریت تکثیر فراهم آورد. از آنجایی که در شرایط پرورشی عوامل اصلی تأثیرگذار بر به‌گزینی طبیعی در جمعیت‌های آبیان وحشی (مانند رقابت غذایی، فشار صیادان، شرایط زیست محیطی و غیره) وجود ندارد، بنابراین در بعضی از مولدین ماهیان پرورشی ناهنجاری‌های تکاملی مشاهده می‌شود. در چنین شرایطی، بروز پدیده «آمیزش خویشاوندی» سبب افزایش درصد ناهنجاری در بچه ماهیان تولیدی شده و در نتیجه کاهش بازده تولید می‌شود (Alavi, 2008). در واقع، با توجه به جمعیت اندک ماهیان مولدین پرورشی و احتمال خویشاوندی نزدیک آن‌ها، تقویت احتمال بروز «درون آمیزی یا آمیزش خویشاوندی» همیشه به شکل بالقوه وجود دارد (Gjedrem and Baranski, 2009). هم‌خونی یا پدیده‌ی درون آمیزی، ساختار ژنوتیپی جمعیت نه تنها توسط فراوانی‌های آلی و نیروهای موثر بر فراوانی آلی (جهش، مهاجرت، انحراف و رانش یا آمیزش تصادفی) بلکه توسط سیستم آمیزشی نیز تعیین می‌شود. در نتیجه انجام درون آمیزی خلوص ژنتیکی افزایش یافته، و در مقایسه با شرایط آمیزش تصادفی مقدار ناخالصی نیز کاهش می‌یابد. پدیده درون آمیزی در جوامع طبیعی و پرورشی به علت آمیزش خویشاوندان و جفت‌گیری انتخابی مثبت، هنگامی که شباهت فنوتیپی بر صفات قابل توارث استوار است، رخ می‌دهد. در امور مدیریت صید یا آبی‌پروری، ممکن است درون آمیزی در اثر انتخاب جفت در محیط طبیعی یا در انجام تلاقی افراد خویشاوند توسط انسان در مراکز تکثیر صورت گیرد (Hashemzadeh, 2003). sagharlu سطح هم‌خونی جمعیت، تحت تأثیر نسبت نرها به ماده‌ها در تولیدمثل، سیستم‌های تلاقی و اندازه جمعیت می‌باشد (Naghavian et al., 2013). چشم‌گیرترین پیامد هم‌خونی کاهش فنوتیپی صفاتی است که با کارایی فیزیولوژیکی مانند رشد و بقا و ظرفیت تولیدمثل در ارتباط هستند که به این پدیده «پسروی درون زادآوری» گفته می‌شود که می‌تواند پتانسیل انتخاب مداوم در یک جمعیت پرورشی را محدود کند (Charlesworth and Willis, 2009). آگاهی از ساختار ژنتیکی جمعیت‌های مولد برای برقراری و نگهداری از تنوع ژنتیکی مولدین پرورشی در حال پرورش مهم است. در این راستا اطلاع از تنوع ژنتیکی ماهی عنزه که چندین نسل در مرکز تکثیر و توسعه ماهیان بومی شیلات تکثیر و نگهداری شده است، به وسیله یک نشانگر ملکولی قابل اعتماد و کارا می‌تواند

واسرشت اولیه ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، ۳۵ چرخه شامل دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، دمای ۵۶ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۵ ثانیه و دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۰ ثانیه در نظر گرفته شد. در نهایت بسط آنزیمی ۷۲ درجه به مدت ۵ دقیقه انجام گرفت. از آنجایی که دمای اتصال آغازگر به دی‌ان‌ای در جایگاه‌های مختلف متفاوت بود، برای تعیین دمای بهینه، آغازگرهای مورد نظر (۱۰ جفت) در بازه دمایی ۶۰-۵۰ درجه سانتی-گراد واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز انجام شد و دمای بهینه برای هر جایگاه به‌دست آمد جدول (۲). مرحله دوم واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز در حضور پروب‌های رنگی با اجرای برنامه دمایی اتصال کاهنده (touchdown) شامل ۲۰ چرخه دمای ۵۸ درجه سانتی‌گراد و ۱۵ چرخه دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد با حضور نسبت یک به چهار پرایمر رو به جلو به پروب صورت گرفت. در نهایت، مقدار ۵ میکرولیتر از همه جایگاه‌ها با هم مخلوط و برای خوانش اندازه قطعات در حضور نشانگر Liz 500 در دستگاه توالی‌یاب Applied Biosystem مدل (3730xl) تزیق و آنالیز شد. آنالیز داده‌ها، فایل‌های به دست آمده از خوانش قطعات ریزماهورای در نرم افزار Geneious IR9 تحت افزونه Microsatellite مورد بررسی قرار گرفتند (Kearse et al., 2012). ژنوتیپ‌های به‌دست آمده به صورت فایل Excell ذخیره و برای آنالیز آمارها در نرم‌افزارهای مختلف مورد استفاده قرار گرفت. جهت بررسی وجود هرگونه خطای آل نول داده‌ها از نرم‌افزار Microchecker نسخه (2.2.3) استفاده شد (Oosterhout et al., 2004).

برای استخراج دی‌ان‌ای در ابتدا الکل اضافی نمونه‌ها با قرارگیری در معرض هوا زوده شد، سپس هر نمونه به صورت جداگانه همراه با ازت مایع در هاون چینی پودر شدو از کیت تجاری Gene All (کره جنوبی) با توجه به پروتکل موجود در بروشور آن اقدام شد. ارزیابی کیفی دی‌ان‌ای با استفاده از دستگاه نانودراپ و خوانش طول موج‌های ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر انجام شد. همچنین برای بررسی یکپارچگی دی‌ان‌ای از روش الکتروفورز ژل آگاروز ۱ درصد در بافر TBE (1x) با ولتاژ ۱۰۰ ولت به مدت ۳۰ دقیقه استفاده شد. واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرازی (PCR) و خوانش قطعات در این مطالعه با توجه به شباهت گونه‌های جنس *Luciobarbus* از ۱۰ جایگاه ریزماهورای مخصوص ماهی *Luciobarbus capito* از مطالعه Longwu et al. (2012) استفاده شد (جدول ۱). در این مطالعه، از روش نشاندار کردن آغازگرها با پروب رنگی و آنالیز قطعه محصول واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز از دستگاه «Capillary Fragment analyzer» استفاده شد. آنالیز داده‌های حاصل از آن از دقت بسیار بیشتری برخوردار می‌باشد، همچنین سریع بودن و صرف وقت کمتر و عدم تأثیر شرایط آزمایشگاه بر نتایج، قابلیت چندگانه‌سازی، روش دستگاهی قابل کنترل که باعث تکراری پذیری بالا می‌گردد، از دیگر مزایای این روش می‌باشد (Vieira et al., 2016). آغازگرهای نشاندار شده با رنگ‌های فلورسنت این ۱۰ جایگاه ریزماهورای مطابق جدول (۱) در واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز اولیه با شرایط مندرج در جدول (۲) و واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز ثانویه در دستگاه ترموسایکلر (PeQlab Germany) مشارکت داده شدند. در آغاز، شرایط دمایی PCR مرحله اول شامل

جدول ۱- مشخصات آغازگرهای مورد استفاده برای مطالعه تنوع ژنتیکی ماهی عنزه

Table 1- Primers used in the study of Anzeh genetic diversity

Luci	Primer sequence	Fragment size (bp)
BC30-F	CAGTCGGGCGTCATCA GCTCCGAAATCTGCGTTT	105-131
BC30-R	GTTT GGCCACAGACTGAGAGGAAC	
BC26-F	CAGTCGGGCGTCATCA CATCATCACCACAGCAGCA	221-248
BC26-R	GTTT TTCAGTCCGTCGTCTCGTCT	
BC44-F	CAGTCGGGCGTCATCA TCGACGATCCGAAGATGAAT	164-188
BC44-R	GTTT TFAGGGGTCGGGTTACTGTG	
BC59-F	CAGTCGGGCGTCATCA TTCTGGAAGCGCCATCTACT	256-324
BC59-R	GTTT CGATCCCAGGTGTCTCTTTC	
BC42-F	CAGTCGGGCGTCATCA AAAGAGCAGCGGACGAATAA	108-115
BC42-R	GTTT CGTCCAGAGGAACGGTTT	
BC43-F	CAGTCGGGCGTCATCA CAATCATCCCTGCGAGTGTA	162-177
BC43-R	GTTT GAGGGGATGTGGCATTTAGA	
BC47-F	CAGTCGGGCGTCATCA TTTGGGTTTTGAGGGCTATG	190-225
BC47-R	GTTT CCTTTGCTTACCAGATACG	
BC37-F	CAGTCGGGCGTCATCA GAGGCTCCCAATCCCAACAA	238-246
BC37-R	GTTT GGAGGCAGACGAGGAAGGAA	
BC49-F	CAGTCGGGCGTCATCA ACGATCCCGACAGTAAGAGC	134-181
BC49-R	GTTT AAGGCAGCGTCTCTCTGTGT	
BC39-F	CAGTCGGGCGTCATCA GTGAGCAACGCCAGCAAC	241-250
BC39-R	GTTT CTCAGCAGCACATCAGACT	

جدول ۲- حجم مواد مصرفی در واکنش

Table 2- volume of substances consumed in the reaction

Volume ( $\mu$ l)	Ingredient
7.5	PCR Master Mix
0.5	Direct primer
0.5	Reverse primer
1	DNA
5.5	Double distilled sterile water
15	The final volume of the reaction

کمترین آل موثر (۳/۲۲۶) نیز در جایگاه BC-26 به دست آمد. در مجموع تعداد ۳۳ آل اختصاصی در کل جمعیت‌ها به دست آمد که بیشترین تعداد آل اختصاصی با تعداد پنج آل متعلق به دو جایگاه BC-49 و BC-39 بود. در مجموع ۳۳ آل اختصاصی در کل جمعیت‌ها مشخص شد که بیشترین تعداد آن در جمعیت پرورشی مولدین نر با تعداد ۱۱ آل و کمترین با تعداد ۲ آل در جمعیت‌های دز و کرخه از مجموع کل جایگاه‌ها مشخص شد. جایگاه BC-47 تنها در جمعیت یکساله پرورشی دارای دو آل اختصاصی است.

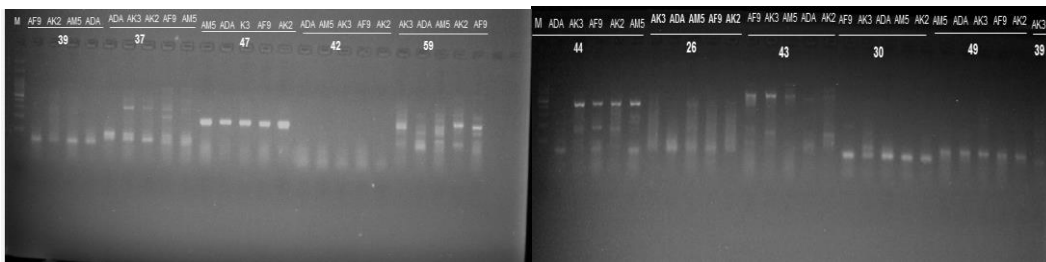
در بررسی و مطالعات ژنتیک جمعیت یک گونه، از معیارهایی نظیر هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Ho) و مورد انتظار (He) برای هر منطقه در هر جایگاه و به ازاء هر جایگاه در تمامی مناطق مورد استفاده قرار می‌گیرد. تعداد آل مشاهده شده (Na) و تعداد آل موثر (Ne) نیز معیاری است که برای تعیین میزان چندشکلی جایگاه‌ها استفاده می‌شود. هرچقدر تعداد آل‌ها بیشتر و در الگوی هتروزیگوسیتی مشارکت داشته باشند، تعداد آل موثر با تعداد آل واقعی برابر می‌شود. در مطالعه حاضر، میانگین کل فراوانی آل مشاهده شده مقدار ۱۲/۳ و میانگین فراوانی آل موثر ۵/۹۹ آل به ازای هر جایگاه می‌باشد. بیشترین میانگین هتروزیگوسیتی در جایگاه BC-30 با مقدار ۰/۸۰۲۵ و کمترین مقدار آن در جایگاه BC-49 با مقدار ۰/۵۷۲۵ و با میانگین کل ۰/۶۸۱۳ در کل جایگاه‌ها به دست آمد. چون حد نهایی برای هتروزیگوسیتی‌ها یک است و از این رو مقادیر هتروزیگوسیتی به افزایش تنوع زیاد حساس نمی‌باشند، مقایسه‌ی این مقادیر به‌عنوان معیار تنوع ژنی برای نشانگرهای بسیار چندشکل همچون ریزماهورها (که در بیشتر موارد هتروزیگوسیتی حدود ۰/۸ یا بالاتر دارند) نمی‌تواند تفاوت‌های میان آنها را دقیق بیان کند، بنابراین شاخص اطلاعات شانون نیز محاسبه می‌گردد. در شاخص شانون، تنوع آل بین صفر برای فاقد تنوع و دو برای بیشترین تنوع گزارش می‌شود. مقدار شاخص شانون بر اساس کل جایگاه‌ها بین ۱/۳۵۵۸ برای جایگاه BC-26 تا ۲/۵۸۱۲ برای جایگاه BC-30 و با میانگین کل ۲/۰۱۱۸ در همه جایگاه‌ها محاسبه شد (جدول ۳).

آنالیز آماری، آماره‌های مختلف فراوانی آل (تعداد آل‌ها در هر جایگاه، فراوانی آنها، غنای آل، تعادل هاردی-واینبرگ و آنالیز واریانس مولکولی) و ژنوتیپ‌ها (ترکیب ژنوتیپی لوکوس‌ها، فراوانی ژنوتیپ‌ها، درصد هموزیگوزیتی و هتروزیگوزیتی) در نرم‌افزار GenAIEx 6.5 (Peakall and Smouse, 2006) به دست آمد. برای محاسبه آماره مقدار تمایز ژنتیکی جمعیت‌ها شامل *Fst* از نرم‌افزار FSTAT 2.9.3 (Goudet, 2001) استفاده شد. ماتریس فواصل ژنتیکی Nei با استفاده از نرم‌افزار PopGen محاسبه گردید و ساختار ژنتیکی جمعیت‌های مورد بررسی در نرم‌افزار Structure V2 (Falush et al., 2003) با تعداد نسل ۱ میلیون و تعداد چرخه Monte Carlo Markov Chain ۵۰۰ هزار و زیرجمعیت پیش فرض K1-K10 انجام گرفت. تعداد K بهینه در نرم‌افزار Structure Harvester به دست آمد (Earl and Von Holdt, 2012).

### ۳. نتایج

در مطالعه تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیت ماهی عنزه تهیه شده از سه منطقه‌ی جغرافیایی مختلف شامل مرکز تکثیر ماهیان بومی شیلات خوزستان و دریاچه‌های سدهای دز و کرخه با استفاده از تعداد ۱۰ جفت آغازگر ریز ماهوره، پس از واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز اولیه و الکتروفورز روی ژل آگارز دو درصد، آغازگرها باندهای پلی‌مورفیک یا چندشکل ایجاد کردند (شکل ۱). نتایج به دست آمده از آنالیز خوانش قطعات ریزماهوره‌ای توسط دستگاه توالی‌یاب در جدول‌های (۳ تا ۸) نشان داده شده است. خلاصه آماری فراوانی‌های ژنتیکی برای همه جایگاه‌ها به کار برده شده در جدول (۳) مشخص شده است. چنانچه در جدول (۳) مشخص است، تمامی جایگاه‌ها چندشکل (پلی‌مورف) هستند. در بررسی آل برای تعیین چندشکلی، جایگاه‌های BC-30 و BC-47 با مقدار ۱۷ دارای بیشترین تعداد آل مشاهده شده هستند.

در این مطالعه، بیشترین تعداد آل موثر در جایگاه BC-30 با مقدار ۱۱/۱۴۹ مشاهده شد. کمترین تعداد آل مشاهده شده (۷) و



شکل ۱- الکتروفورز واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز مرحله اول روی ژل آگارز ۲٪

Fig. 1- The electrophores of the first PCR on 2% agarose gel

جدول ۳. خلاصه آماره‌های تنوع ژنتیکی برای همه جایگاه‌ها

Table 3- Summary of Genic Variation Statistics for All Loci

Luci	P	Na	Ne	I	Mean Het
BC-30	3	17	11.1498	2.5812	0.8025
BC-44	2	14	8.5106	2.3542	0.7250
BC-26	2	7	3.2258	1.3558	0.6017
BC-59	3	12	6.1069	2.0659	0.6567
BC-42	4	13	6.6253	2.1505	0.7225
BC-43	4	9	4.0404	1.6936	0.6317
BC-47	*2	17	5.614	2.3044	0.7792
BC-37	3	10	5.0713	1.8676	0.6767
BC-49	5	13	5.4701	2.0338	0.5725
BC-39	5	11	4.1237	1.7806	0.6442
Mean		12.3	5.9938	2.0188	0.6813
SE		3.2335	2.347	0.3583	0.0749

P: تعداد آلل اختصاصی، Na: تعداد آلل مشاهده شده، Ne: تعداد آلل موثر، I: شاخص شانون، Mean Het: میانگین هتروزوگوسیتی، \* یافت شده فقط در جمعیت یکساله پرورشی

Na: Observed number of Alleles; Ne: Effective Number of Alleles; I: Shannon's information index P: Private Alleles; Mean Het: Mean Heterozygosity, \* Exclusively found in one year-old population

جدول ۴- آماره‌های تنوع ژنتیکی ماهی عنزه در ده جایگاه ریزماهوره در نیش جمعیت

Table 4- Summary statistics for genetic variation of Anzeh at 10 microsatellite loci in six populations

Pop		N	Na	Ne	I	Ho	He	F
C.F	Mean	10.000	4.700	3.233	1.198	0.420	0.609	0.347
	SE	0.000	0.731	0.520	0.166	0.103	0.065	0.162
C.M	Mean	10.000	6.600	3.767	1.496	0.580	0.689	0.167
	SE	0.000	0.686	0.546	0.124	0.079	0.039	0.095
C.1.Y	Mean	10.000	6.000	4.790	1.650	0.820	0.778	-0.061
	SE	0.000	0.298	0.366	0.070	0.063	0.020	0.087
C.2.Y	Mean	10.000	5.500	4.309	1.494	0.760	0.718	-0.078
	SE	0.000	0.601	0.581	0.139	0.072	0.049	0.095
K.P	Mean	10.000	4.100	3.104	1.169	0.680	0.616	-0.072
	SE	0.000	0.504	0.432	0.139	0.090	0.052	0.143
D.P	Mean	10.000	4.300	3.351	1.275	0.800	0.678	-0.197
	SE	0.000	0.448	0.299	0.103	0.084	0.030	0.148
Total	Mean	10.000	5.200	3.759	1.380	0.677	0.681	0.018
	SE	0.000	0.250	0.199	0.055	0.037	0.019	0.054

N: تعداد در هر جمعیت، Na: تعداد آلل واقعی، Ne: تعداد آلل موثر، I: شاخص شانون، Ho: هتروزیگوسیتی مشاهده شده، He: هتروزیگوسیتی مورد انتظار، F: شاخص تثبیت، Pop: جمعیت، C.F: ماده پرورشی، C.M: نر پرورشی، C.I.Y: یکساله پرورشی، C.2.Y: دوساله پرورشی، K.P: جمعیت کرخه، D.P: جمعیت دز

N: Number of individuals in each population; N: Number of Different Alleles; Ne: Number of Effective Alleles; I: Shannon's Information Index; Ho: Observed Heterozygosity, He: Expected Heterozygosity; F: Fixation Index; C.F: Cultured Female, C.M: cultured Male, C.I.Y: Cultured one year-old, C.2.Y: Cultured two year-old, K.P: Karkheh Population, D.P: Dez population

آماره‌های شاخص  $F$  و تخمین جریان ژنی در کل جمعیت‌ها در سطح نشانگرها در جدول (۵) بررسی شده است. نتایج محاسبه ضرایب تمایز ژنتیکی ( $F_{ST}$ ،  $F_{IS}$ ،  $F_{IT}$ )، میزان ارتباطات آللی بین افراد یک جمعیت و افراد جمعیت‌های مختلف را نشان می‌دهد.  $F_{ST}$  تفاوت بین فراوانی آللی مشاهده شده در مقایسه با فراوانی آللی مورد انتظار را نشان می‌دهد که می‌تواند به عنوان شاخص فاصله ژنتیکی نیز مطرح شود.  $F_{IT}$  نیز که میزان ارتباطات آللی در کل جمعیت را نشان می‌دهد از مجموع  $F_{ST}$  محاسبه می‌شود. میانگین شاخص ضریب همخونی ( $F_{IS}$ ) در همه جایگاه‌ها مقدار پایین  $0/059$  می‌باشد که نشان دهنده افزایش هتروزیگوسیتی و نرخ درون‌آمیزی اندک هست. در سطح پنج جایگاه مقادیر این شاخص منفی است و در پنج جایگاه دیگر این شاخص در دامنه  $0/289$  تا  $0/123$  قرار دارد (جدول ۵). منفی بودن ضریب درون‌آمیزی نشان دهنده افزایش هتروزیگوسیتی نسبت به هتروزیگوسیتی مورد انتظار تحت تعادل هاردی-واینبرگ می‌باشد. میزان میانگین کل شاخص تمایز ژنتیکی ( $F_{ST}$ ) بین جمعیت‌های مورد مطالعه بر اساس فراوانی آللی مقدار  $0/164$  با میانگین شاخص جریان ژنی  $1/489$  ( $Nm$ ) ( $p < 0/01$ ) می‌باشد. دامنه‌ی جریان ژنی و شاخص تمایز ژنتیکی در جایگاه‌های پلی‌مورفیک ماهی عوزه در مناطق مورد مطالعه به ترتیب  $2/702$  -  $0/752$  و  $0/250$  -  $0/085$  محاسبه شد و بیشترین مقدار شاخص تمایز ژنتیکی برابر  $0/2496$  و کمترین میزان جریان ژنی  $0/752$  در جایگاه BC-49 و کمترین مقدار شاخص تمایز ژنتیکی برابر  $0/085$  و بیشترین میزان جریان ژنی  $2/702$  در جایگاه BC-47 مشاهده شد (جدول ۵).

برای بررسی تعادل هاردی-واینبرگ (H-W) در کل نمونه‌های مورد مطالعه از تمامی مناطق جغرافیایی نمونه‌برداری و در سطح جایگاه‌ها، از آزمون مربع کای استفاده شد (جدول ۶). با نگاه به این جدول مشخص می‌شود که از میان جمعیت‌های پیش فرض، دو ساله پرورشی در همه جایگاه‌ها در تعادل است. جمعیت‌های یک ساله پرورشی، کرخه و دز فقط در یک جایگاه از تعادل خارج هستند و مولدین نر و ماده پرورشی به ترتیب در دو و شش جایگاه انحراف معنی‌داری را از تعادل هاردی-واینبرگ نشان می‌دهند ( $p < 0/05$ ).

شاخص‌های چندشکلی آللی در جمعیت‌های مختلف ماهی عوزه در جدول شماره (۴) مشخص شده است. چنانچه در جدول (۴) مشخص است، در کل جمعیت‌ها، میانگین فراوانی آلل واقعی و آلل موثر به ترتیب  $5/2$  و  $3/759$  و میانگین کل شاخص شانون برای کل جمعیت‌ها مقدار  $1/380 \pm 0/055$  به دست آمد. میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده در مجموع همه جمعیت‌ها  $0/677$  و برای میانگین هتروزیگوسیتی مورد انتظار مقدار  $0/681$  محاسبه شد و همانطور که مشخص است، میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده در کل جمعیت عددی نسبتاً بالاست و با هتروزیگوسیتی قابل انتظار همخوانی دارد. در این مطالعه، بیشترین فراوانی آلل واقعی در جمعیت نر پرورشی با تعداد  $6/6$  به دست آمد، در حالی که بیشترین فراوانی آلل موثر با مقدار  $4/79$  متعلق به جمعیت یکساله پرورشی بود. کمترین تعداد فراوانی آللی و آلل موثر در جمعیت پشت دریاچه سد کرخه به ترتیب با مقادیر  $4/1$  و  $3/104$  به دست آمد (جدول ۴). میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده بر اساس جایگاه‌ها و برای هر جمعیت نمونه‌برداری از بیشترین مقدار  $0/82$  برای جمعیت پرورشی یکساله تا کمترین مقدار  $0/420$  برای مولدین ماده پرورشی محاسبه شد (جدول ۴). کمترین میانگین شاخص شانون در جایگاه‌های چندشکل ماهی عوزه در دریاچه‌های سد کرخه ترتیب  $1/169$  محاسبه شد و بیشترین مقدار میانگین شاخص شانون بین جمعیت‌ها در جمعیت عوزه یکساله در مرکز تکثیر ماهیان بومی شیلات خوزستان با مقدار  $1/650$  می‌باشد که بیانگر تنوع بالاتر در این جمعیت نسبت به سایر جمعیت‌ها می‌باشد (جدول ۴). کاهش میزان تنوع ژنتیکی (هتروزیگوسیتی)، نشان دهنده افزایش ضریب همخونی است، ولی اگر در تنوع ژنتیکی افزایش حاصل گردد ضریب همخونی کم نشان داده می‌شود. با توجه به تجزیه و تحلیل حاصل شده از ضریب همخونی در جمعیت‌های بررسی شده در سطح جایگاه‌ها، مقدار شاخص تثبیت ( $F$ ) که بیانگر درون‌آمیزی است در کل جمعیت‌ها  $0/18$  است. هرچند، مقدار این شاخص در جمعیت ماده پرورشی بالاست ( $0/347$ ) و بیشتر از نر پرورشی ( $0/162$ ) است، در دیگر جمعیت‌های یکساله و دوساله مرکز تکثیر ماهیان گرمابی و دریاچه‌های پشت سد‌های کرخه و دز این شاخص بسیار پایین و منفی می‌باشد که نشانگر الگوی درون‌آمیزی اندک در این نمونه‌ها و تایید کننده عدم تشابه ژنتیکی بالا بین آنهاست (جدول ۴).



	Na	5	4	2	3	5	5	7	3	2	5
	Ne	4.167	2.381	1.923	1.852	4.545	3.846	5.556	2.174	1.471	3.125
K.P	I	1.505	1.089	0.673	0.802	1.557	1.471	1.834	0.898	0.5	1.359
	Ho	1	0.8	0.8	0.6	0.8	0.6	1	0.6	0	0.6
	He	0.76	0.58	0.48	0.46	0.78	0.74	0.82	0.54	0.32	0.68
	pHW	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	*	ns
		Na	6	3	2	4	6	4	6	5	3
	Ne	3.333	2.381	2	2.941	4.167	3.571	5	4.167	2.381	3.571
D.P	I	1.498	0.943	0.693	1.221	1.609	1.332	1.696	1.505	0.943	1.314
	Ho	1	1	1	0.6	1	0.6	1	0.8	0.2	0.8
	He	0.7	0.58	0.5	0.66	0.76	0.72	0.8	0.76	0.58	0.72
	pHW	ns	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Na: تعداد آلل‌های متفاوت، Ne: تعداد آلل موثر، I: شاخص شانون، Ho: هتروزیگوسیتی مشاهده شده، He: هتروزیگوسیتی مورد انتظار، pHW: تست احتمال تعادل هاردی-واینبرگ، ns: ns، \*، \*\* و \*\*\* به ترتیب عدم معنی‌داری و معنی‌داری در سطح (p<0.05)، (p<0.01) و (p<0.001)؛ C.F: ماده پرورشی، C.M: نر پرورشی، C.1.Y: یکساله پرورشی، C.2.Y: دوساله پرورشی، K.P: جمعیت کرخه، D.P: جمعیت دز

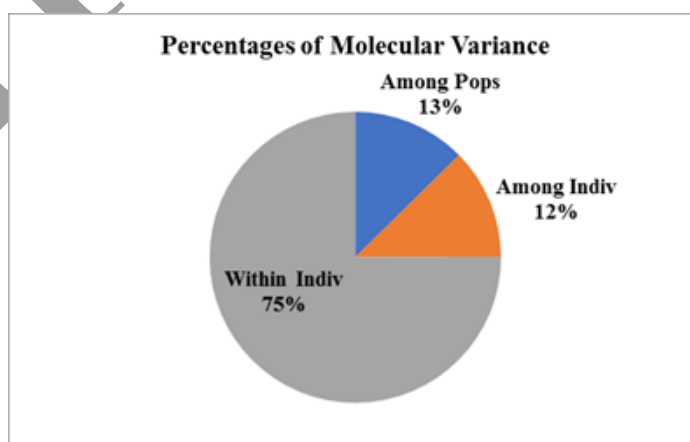
pHW: Hardy-Weinberg probability test, C.F: Cultured Female, C.M: Cultured Male, C.1.Y: Cultured one year-old, C.2.Y: Cultured two year-old, K.P: Karkheh Population, D.P: Dez population; ns: non significant; \*, \*\*, \*\*\* significant at (p<0.05), (p<0.01), and (p<0.001), respectively.

جدول ۷- تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) بر اساس  $F_{ST}$

Table 7-AMOVA based on  $F_{ST}$

prob	value	stat	%	Est.var	MS	SS	df	
			13%	0.532	11.110	55.550	5	Among population
			12%	0.518	4.199	142.750	34	Among Individuals
0.001	0.126	$F_{ST}$	75%	3.163	3.163	126.500	60	Within Individuals
			100%	4.212	18.472	324.800	59	Total

df: درجه آزادی، SS: مجموع مربعات، MS: انحرافات میانگین مربعات، Prob: معنی‌دار بودن انحراف بعد از ۹۹ جایگزینی تصادفی



شکل ۲. توزیع تنوع ژنتیکی به دست آمده بر اساس معیار  $F_{ST}$

Fig. 2. The distribution of genetic diversity on  $F_{ST}$

ماتریس هر دو شاخص Nei و  $F_{ST}$  به ترتیب با مقادیر ۰/۱۹۱ و ۰/۰۳۸ بین دو جمعیت دو ساله پرورشی و دریاچه‌ی سد دز مشاهده شد. اما، بیشترین فاصله ژنتیکی بر اساس شاخص Nei با مقدار ۱/۶۱۲ بین جمعیت‌های مولد نر پرورشی و سد کرخه و براساس  $F_{ST}$  بین با مقدار ۰/۱۸۵ بین جمعیت‌های سد کرخه و مولد ماده پرورشی و در درجه بعد بین سد کرخه و نر پرورشی با مقدار ۰/۱۷۸ دیده شد.

نتایج تجزیه واریانس بر اساس  $F_{ST}$  مقدار ۱۳٪ از تنوع مشاهده شده را مربوط به بین جمعیت‌ها می‌داند و ۸۷٪ از تنوع مشاهده شده درون جمعیتی (بین و درون افراد) است. مقدار ۰/۱۲۶ به دست آمده از طریق تجزیه واریانس مولکولی نیز تمایز متوسط را میان جمعیت‌ها به‌طور معنی‌دار نشان داد ( $p < ۰/۰۵$ ) (جدول ۷ و شکل ۲). نتایج ماتریس فواصل ژنتیکی Nei و  $F_{ST}$  در جدول (۸) نشان داده شده است. بر اساس این جدول، کم‌ترین فاصله ژنتیکی در

جدول ۸. ماتریس فواصل ژنتیکی بر اساس  $F_{ST}$  (بالای قطر) و شاخص Nei (پایین قطر) بین شش جمعیت ماهی عنزه مشخص شده توسط ده نشانگر ریزماهوره

Table 8.  $F_{ST}$  distances (above diagonal) and Nei's Original pairwise differences (below diagonal) between six Anzeh populations detected by 10 microsatellites

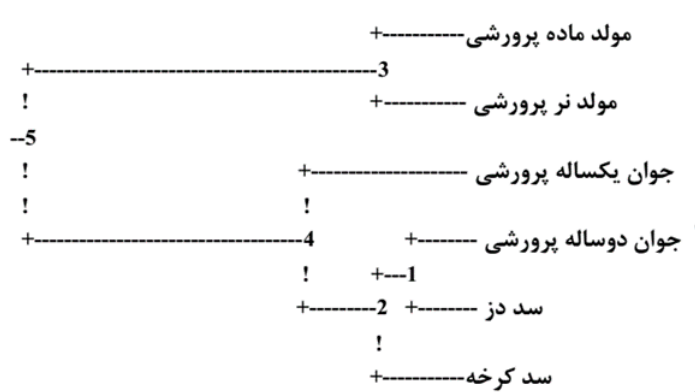
Population	C.F	C.M	C.1.Y	C.2.Y	K.P	D.P
C.F		0.057	0.111	0.163	<b>0.185</b>	0.169
C.M	0.237		0.082	0.131	0.178	0.148
C.1.Y	0.769	0.659		0.054	0.073	0.068
C.2.Y	1.386	1.226	0.410		0.048	<b>0.038</b>
K.P	1.241	<b>1.612</b>	0.419	0.232		0.056
D.P	1.313	1.382	0.495	<b>0.191</b>	0.239	

C.F: ماده پرورشی، C.M: نر پرورشی، C.1.Y: یکساله پرورشی، C.2.Y: دوساله پرورشی، K.P: جمعیت کرخه، D.P: جمعیت دز  
C.F: Cultured Female, C.M: Cultured Male, C.1.Y: Cultured one year-old, C.2.Y: Cultured two year-old, K.P: Karkheh Population, D.P: Dez Population

شماره دو در درخت به دو گروه نمونه‌های سد کرخه و از محل گره شماره یک نیز با فاصله خیلی کمتر شامل جمعیت دوساله پرورشی و سد دز می‌باشد (شکل ۳).

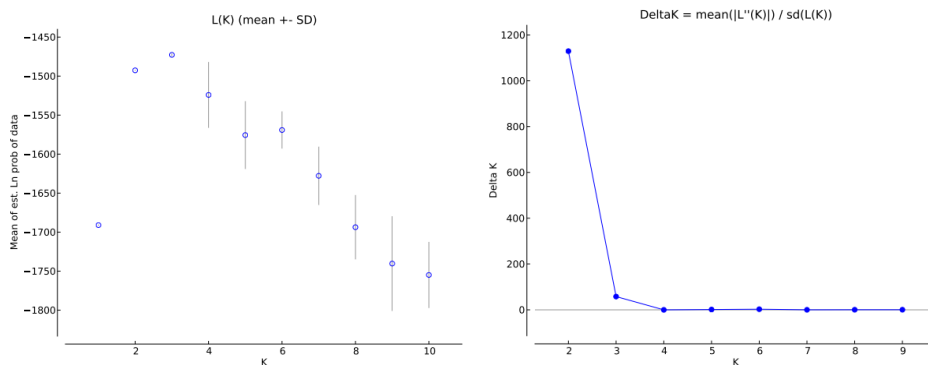
نتایج مربوط به انتخاب K بهینه در آنالیز ساختار ژنتیکی در شکل (۴) با نشان دادن میانگین تخمین،  $\Delta K$  و نتایج K (جدول ۹) نشان داده شده است. نتایج ساختار ژنتیکی به صورت روی هم-گذاری با مقایسه K2 و K3 در شکل (۵) مشخص شده است.

طبق دندروگرام فاصله ژنتیکی حاصل از معیار Nei (1972)، کل نمونه ماهیان عنزه در این مطالعه، به دوتا کلاستر با شماره‌های چهار و سه مشخص شده در شکل (۳) تقسیم شدند. کلاستر اول با گره شماره سه در درخت، وابسته به جمعیت ماهی نمونه‌های نر و ماده پرورشی عنزه موجود در مرکز تکثیر ماهیان بومی شیلات خوزستان می‌باشد. کلاستر دوم خود به دو زیرکلاستر تقسیم می‌شود. یک زیر کلاستر، ماهیان جوان یکساله پرورشی به صورت جداگانه و با فاصله بیشتر نسبت به دیگر زیرکلاسترها در این کلاستر جای دارد. در این میان، زیرکلاستر بعدی در محل گره



شکل ۳- درخت فیلوژنی ترسیم شده با روش UPGMA بر اساس فاصله ژنتیکی Nei برای جمعیت‌های ماهی عنزه

Fig. 3- UPGMA phylogenetic tree constructed with Nei genetic distances for Anzeh



شکل ۴- نتایج آنالیز ساختار جمعیت ماهی عنزه

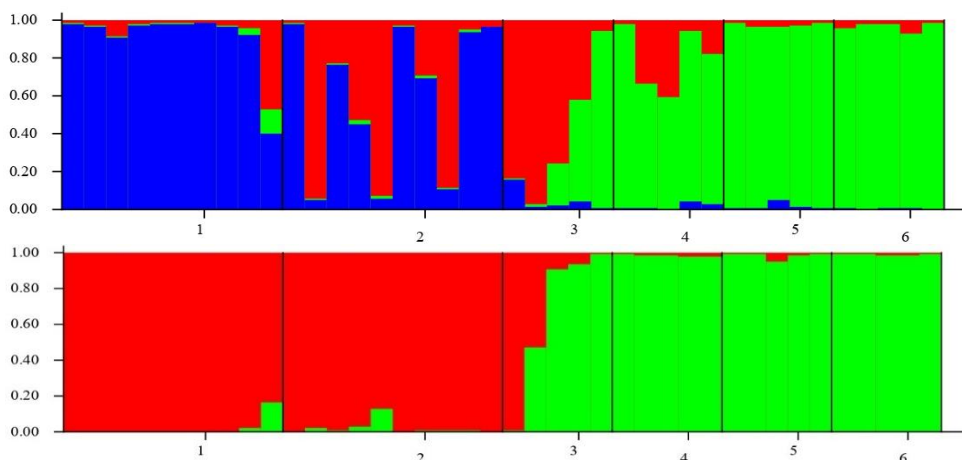
Fig. 4- Results of Structure analyses

$\Delta K$  (سمت راست) و میانگین (سمت چپ) احتمال تخمین زده شده لگاریتم طبیعی (Ln) داده‌ها در رابطه با تعداد شبیه‌سازی شده خوشه‌های K، میله‌های عمودی نشان دهنده انحراف استاندارد در بین پنج تکرار است.

DeltaK (right) and Mean estimated (left) log-normal (Ln) probability of the data in relation to the simulated number of clusters K. Vertical bars indicate the standard deviation among ten replicates.

جدول ۹- تخمین  $\Delta K$   
Table 9-  $\Delta K$  estimation

K	Reps	Mean LnP(K)	Stdev LnP(K)	Ln'(K)	Ln''(K)	Delta K
1	5	-1691	0.158114	—	—	—
2	5	-1492.6	0.158114	198.4	178.58	1129.439089
3	5	-1472.78	1.227599	19.82	71.16	57.966798
4	5	-1524.12	41.685333	-51.34	0.14	0.003358
5	5	-1575.6	42.930584	-51.48	58	1.351018
6	5	-1569.08	23.308303	6.52	65.24	2.799003
7	5	-1627.8	36.834087	-58.72	7.16	0.194385
8	5	-1693.68	40.698919	-65.88	19.26	0.473231
9	5	-1740.3	60.183677	-46.62	32.04	0.53237
10	5	-1754.88	41.856027	-14.58	—	—



شکل ۵- تحلیل خوشه‌ای جمعیت ماهی عنزه K3 (بالا)، K2 (پایین)

Fig. 4 - Cluster analysis of Anzeh fish population K3 (up), K2 (down)

آنها به علت وجود شیوه‌های موجود در هجری‌ها مانند نمونه‌گیری-های غیرتصادفی و ادغام گامت‌ها برای لقاح، از دست دادن مقداری از تنوع و افزایش سطح آمیزش‌های خویشاوندی باشد. در مطالعه ساختار ژنتیکی شانک سرطلا (*Sparus aurata*) مشخص شد که نمونه‌های پرورشی در مقایسه با نمونه‌های وحشی تعداد آلل موثر بالاتری را نشان می‌دهند که علت این امر را به تنگناهای ژنتیکی یا اثرات آمیزش خویشاوندی نسبت داده شد (Alarcon et al., 2004). در نتایج بررسی حاضر بر روی ماهی عنزه، بیشترین‌ترین مقدار آلل‌های واقعی ۱۷ و آلل‌های موثر ۱۱/۱۴ به دست آمد. در این مطالعه، مشخص شد که میانگین فراوانی تعداد آلل مشاهده شده در کل جمعیت‌های ماهی عنزه مقدار ۱۲/۳ می‌باشد که بسیار بیشتر از مقدار اعلام شده (۷/۵) برای برخی از ماهیان آب شیرین است (Dewoody and Avise 2000). میانگین فراوانی آللی حاصل شده در سطح جایگاه‌ها در کل جمعیت‌های مورد مطالعه برای داده‌های هم بارز مانند میانگین آلل‌های واقعی (Na) برابر با ۵/۲ و میانگین آلل‌های موثر (Ne) مقدار ۳/۷۵۹ می‌باشد. بیشترین فراوانی آلل واقعی متعلق به جمعیت مولدین نر پرورشی (۶/۶) و پس از آن جوان یکساله (۶/۰) بود. اما فراوانی آلل واقعی در جمعیت‌های مولدین ماده پرورشی، کرخه و دز کمتر است که علت کم بودن میانگین آللی در ماهی عنزه را می‌توان به عوامل مختلفی نسبت داد که از جمله مهم‌ترین آنها کاهش تعداد ماهیان مولد ماده در اثر تلفات بعد از عملیات تکثیر مصنوعی در مرکز تکثیر ماهیان بومی است که منجر به کاهش تعداد مولدین برای عملیات تکثیر و تولید مثل سال‌های پس از آن می‌شود. در محیط زیست و مناطق طبیعی نیز از یک سو صید ورزشی، صید بی رویه و غیر قانونی با دستگاه شوک الکتریکی در رودخانه‌ها و دریاچه‌ها و از سوی دیگر پایین آمدن سطح آب دریاچه‌های پشت سد‌های دز و کرخه به علت رهاسازی بیشتر آب مخازن برای بهره‌برداری بیش از پیش کشاورزان از رودخانه‌های کرخه و کارون در فصل کشت شلتوک، منجر به آسیب دیدگی مناطق تخم‌ریزی و از بین بردن جمعیت‌های مولد می‌شوند که به تبع آن می‌تواند تنوع ژنتیکی جمعیتی ماهیان این مناطق را کاهش دهد. یکی از روش‌های موثر برای ارزیابی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های مختلف محاسبه میزان هتروزیگوسیتی می‌باشد، زیرا فرد هتروزیگوت ناقل آلل‌های متفاوتی است که نشان دهنده تنوع و سازش‌پذیری نسبت به شرایط متغیر محیطی است و بسیاری از خصوصیات مهم اقتصادی مثل رشد، باروری و مقاومت در برابر بیماری تحت تاثیر آن است (Beardmore et al., 1997; Ciftci and Okumus, 2002). تنوع ژنتیکی، قابلیت بقای یک گونه و یا جمعیت را از طریق ایجاد توانایی سازگاری با تغییرات محیطی فراهم می‌کند. بنابراین، تنوع ژنتیکی برای بقای طولانی مدت یک گونه ضروری است (Bataillon et al., 1996). آگاهی از میزان ذخایر توارثی و تنوع ژنتیکی بین افراد یک گونه، از اهداف ارزشمند مدیریت ذخایر

نتایج بیانگر آن است که هرچند براساس  $\Delta K$ ، ساختار K2 به عنوان تعداد جمعیت بهینه انتخاب می‌گردد، اما در شکل روی هم گذاری پلات‌ها نتایج K3 جمعیت‌ها را منفک‌تر و مشخص‌تر نشان می‌دهد. بدین معنا که به‌طور کل با سه جمعیت جداگانه روبرو هستیم و تمامی نمونه‌ها و جمعیت‌های پیش فرض در این مطالعه، در سه جمعیت رنگ آبی: بالغ پرورشی، سبز: جوان یکساله و قرمز: ترکیبی از نمونه‌های سد دز، کرخه و دوساله پرورشی دسته‌بندی می‌شوند شکل (۵).

#### ۴. بحث و نتیجه‌گیری

در بررسی حاضر از ۱۰ جفت آغازگر اختصاصی ماهی *Luciobarbus capito* برای ماهی عنزه استفاده شد، با وجود اختصاصی بودن، هر ده جایگاه ژنی در ماهی عنزه چند شکلی نشان دادند. لذا آغازگرهای مورد استفاده از کارایی نسبتاً خوبی در تولید باندهای چند شکل در گونه عنزه برخوردار بوده اند. یکی از اقدامات ضروری برای توصیف وضعیت ژنتیکی یک جمعیت که به ژن‌های حامل آن جمعیت اشاره می‌کند تشخیص تنوع آللی و شمارش هر ژنوتیپ است. تعدد آللی و هتروزیگوسیتی از شاخص‌های مهم تنوع ژنتیکی جمعیت‌ها از لحاظ مواجه شدن با تغییرات محیطی هستند (Frankham, 2008) و ویژگی‌هایی همچون رقابت و توانایی یک موجود برای بقاء در زیستگاه‌های طبیعی را تعیین می‌سازد (Hakansson and Jensen, 2005). در مطالعه‌ای که به منظور جداسازی ۱۱ جفت پرایمر ریزماهوره در مطالعات مربوط به ژنتیک جمعیت ماهی *Sander vitreus* انجام شد تعداد آلل‌های مشاهده شده برای هر جایگاه در نمونه‌های رودخانه‌ای و دریاچه‌ای به ترتیب در محدوده ۱۱-۷ و ۹-۳ اعلام شد (Wirth et al., 1999). تعداد آلل در هر جایگاه و همچنین میانگین آن را در ماهی سوف زرد (*Perca fluvescens*) در دریاچه سان‌فرانسیسکو به ترتیب ۱۸-۲ و ۷/۵ گزارش شده است (Leclerc et al., 2000). در مطالعه‌ای دیگر، در تمامی نژادهای پرورشی ماهی آزاد اتلانتیک تعداد کل آلل‌ها به‌طور قابل ملاحظه‌ای پایین تر از جمعیت‌های وحشی به دست آمده است که می‌تواند ناشی از تعداد کم مولدین یا رانش ژنتیکی در افزایش تولید نسل در برنامه‌های تولیدمثلی باشد (Skaala et al., 2004). چنین نتیجه‌ای در جمعیت کپورماهی هندی (*Catla catla*) (Alam and Islamb., 2005)، در جمعیت قزل‌آلای قهوه‌ای (Hansen et al., 2000) و در داخل و بین جمعیت‌های طبیعی و پرورشی چار قطبی *Salvelinus alpinus* (Lundrigan et al., 2005) نیز به دست آمده است که به نظر محققان مطالعات فوق، علت کاهش فراوانی آللی در نژادهای پرورشی به علت تعداد کم افراد شرکت کننده در تولیدمثلی و برنامه‌های مدیریتی تولیدمثلی است. به‌طور کلی محدودیت بالا در اختلاف آللی در نژادهای پرورشی ممکن است به خاطر تعداد کم مولدین شرکت کننده در تکثیر و همچنین احتمال از دست رفتن

ترین دلیل این امر را احتمالاً می‌توان به عدم انجام آمیزش تصادفی در جمعیت‌های مناطق مورد مطالعه نسبت داد که ممکن است به دلایل مختلفی اتفاق بیفتد. در محیط‌های طبیعی، صید ماهیان ماده بزرگ‌تر توسط صیادان، می‌تواند منجر به کاهش ذخایر مولدین شده و در نتیجه آمیزش درون خویشاوندی گسترده‌تر شود. با این حال رقابت در طی جفتگیری، تأخیر در زمان تخم‌ریزی طبیعی، زمان‌های مختلف تولید مثل و همچنین سایر سازوکارهای دخیل در امر تولیدمثل این گونه ماهیان، از دیگر عواملی هستند که بر روی ایجاد ساختارهای زیر جمعیتی تأثیر دارند که خود نقش مهمی در آمیزش تصادفی دارند و باید مورد بررسی دقیق‌تر قرار گیرد. دو پدیده مهم مسئول ایجاد عدم تعادل پیوستگی یا همبستگی غیرتصادفی در آلل‌های بین دو جایگاه موجود بر روی یک کروموزوم می‌شوند که عبارتند از انتخاب طبیعی ایپستاتیک و رانش ژنتیکی تصادفی که اولی فراوانی ترکیبات مطلوب آلل‌ها در یک جمعیت را افزایش می‌دهد و در نتیجه منجر به عدم تعادل پیوستگی می‌گردد و دومی منجر به ایجاد نوسانات تصادفی گامت‌ها در جمعیت شده و از این رو اختلاف ضریب عدم تعادل پیوستگی را افزایش می‌دهد. چنین نوسانات تصادفی با تقسیم شدن جمعیت‌ها به دو زیر جمعیت یا عدم تصادفی بودن آمیزش در جمعیت ممکن است افزایش پیدا کند (Ohta, 1982). علاوه بر این چنانچه جمعیت تحت تأثیر تنگناهای ژنتیکی قرار گیرد و اندازه موثر جمعیت (Ne) آن به تعداد کمی مولد بالغ کاهش پیدا کند عدم تعادل همبستگی برای چندین نسل قابل انتظار خواهد بود (May and Kruger, 1990). در مطالعه حاضر، جمعیت مولدین ماده و نر پرورشی به ترتیب در شش و دو جایگاه خارج از تعادل هاردی-واینبرگ بودند ( $p \leq 0.001$ ). جایگاه‌هایی که انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ را نشان دادند، دارای هتروزیگوسیتی مشاهده شده صفر یا پایین‌تر از هتروزیگوسیتی مورد انتظار بود. در بررسی ترکیب ذخایر ماهی کاد اطلس، *Gadus morhua* انحراف در تعادل هاردی-واینبرگ به دلیل افزایش هموزیگوسیتی، آلل‌های صفر، رانش انتخاب، مخلوط شدن و غیر کافی بودن نمونه‌ها نسبت داده شد (Dahle et al., 2006). علت عمده انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ در جمعیت‌های ماهی کلمه خزری، *Rutilus rutilus caspius*، به وجود آلل‌های صفر و هتروزیگوسیتی پایین مربوط دانسته شد (Kashiri et al., 2012). در این مطالعه، علت مشاهده انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ در جمعیت مولدین ماده پرورشی عنزه را می‌توان به آمیزش خویشاوندی ناشی از تکثیر مصنوعی و خطای انتخاب مولد نر و ماده در هنگام عملیات لقاح مصنوعی در این گونه در سالیان پیش در مرکز تکثیر ماهیان گرمابی نسبت داد. زیرا، این جمعیت از مولدین ماده و نر در مرکز تکثیر ماهیان گرمابی شیلات، نسل جمعیت تکثیر شده در سالیان گذشته بوده‌اند. چنین نتیجه‌ای را Rezaei et al. (2010) در بررسی جمعیت‌های ماهی سفید به دست آورد و علت انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ را عملیات تکثیر مصنوعی و بازسازی ذخایر برشمرد.

و اصلاح نژاد است، به طوری که بررسی‌های ژنتیک جمعیت یا بوم-شناسی مولکولی ماهیان با ارزش اقتصادی به منظور حفاظت از جمعیت آنها و حفظ صید پایدار بسیار ضروری است (Wang et al., 2007). هم‌اکنون، کاهش ذخایر آبزیان در اکثر نقاط دنیا توجه محققان را به اعمال روش‌های دقیق مولکولی جهت مدیریت ذخایر آبزیان جلب نموده است. در بررسی تنوع آلی و شناسایی افراد در ماهی آزاد اتلانتیک اهلی شده و وحشی مشخص شد که تنوع آلی و هتروزیگوسیتی در ماهی آزاد پرورشی کمتر از ماهی آزاد وحشی است که دلایل زیادی برای کاهش اختلاف ژنتیکی در جمعیت‌های پرورشی از جمله رانش ژنتیکی، اثر تنگناهای ژنتیکی، انتخاب طبیعی و مصنوعی و از طرفی کاهش تنوع ژنتیکی و انتقال ذخایر پرورشی ذکر شده بود (Lin et al., 2000). از دیدگاه Alam et al. (2005) کاهش آلل و هتروزیگوسیتی با عبور از تنگناهای ژنتیکی و آمیزش‌های خویشاوندی با گذشت زمان در ذخایر هجری افزایش می‌یابد و کاهش تغییرپذیری ژنتیکی در ذخایر وحشی جمعیت رودخانه را به خاطر استرس وارده به جمعیت ناشی از صید بی‌رویه و زوال تولیدمثل در محیط طبیعی و در نتیجه کاهش تنوع آلی و هتروزیگوسیتی مورد انتظار در کل نمونه‌ها بین ۰/۳۹ تا ۰/۸۵ به دست آورد و بالا بودن دامنه هتروزیگوسیتی در تاسماهی ایرانی و تاسماهی روسی را بیانگر سطح بالای تنوع ژنتیکی این گونه در مناطق مختلف نمونه برداری دانست. در مطالعه ما، دامنه‌ی میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Ho) بین مناطق نمونه-برداری در سطح تمامی جمعیت‌ها و جایگاه‌ها از ۰/۴۲۰ برای مولدین ماده پرورشی تا ۰/۸۲۰ برای ماهیان جوان یکساله با مقدار میانگین کل  $0.677 \pm 0.037$  بود، چنانچه همه ماهیان عنزه از مناطق مختلف را با هم در نظر بگیریم، نشان از سطح بالای میانگین کل هتروزیگوسیتی ماهی عنزه در همه مناطق نمونه‌برداری است. دامنه‌ی مقادیر هتروزیگوسیتی مورد انتظار (He) در سطح جمعیت‌ها نیز با مقدار  $0.778 - 0.609$  و میانگین کل آن  $0.681 \pm 0.019$  محاسبه شد. هر چند مقدار هتروزیگوسیتی مشاهده شده با مورد انتظار در میانگین کل جمعیت‌ها تفاوت چندانی با هم ندارد اما، در جمعیت مولدین ماده و نر پرورشی مقدار هتروزیگوسیتی مشاهده شده بسیار کمتر از مقدار هتروزیگوسیتی مورد انتظار می‌باشد و اختلاف آن فاحش است. از سویی، در سایر جمعیت‌ها مقدار هتروزیگوسیتی مشاهده شده بیشتر از مورد انتظار می‌باشد (جدول ۴). کاهش هتروزیگوسیتی می‌تواند ناشی از پدیده درون آمیزی و یا تنگنای جمعیتی، جمع آوری نمونه از خویشاوندان و اندازه کوچک جمعیت باشد اما، در مطالعه Karaminasab et al. (2014) در ماهی شیربت (*Arabibarbus grypus*)، مقدار هتروزیگوسیتی مشاهده شده در جمعیت وحشی در رودخانه کرخه کمتر از مقدار آن در جمعیت پرورشی مرکز تکثیر ماهیان گرمابی شیلات بود. آنها این تفاوت را به علت وقوع درون آمیزی در جمعیت کرخه نسبت دادند که دلیل آن وجود تنگنای ژنتیکی می‌باشد که این امر در طولانی مدت باعث روند کاهشی در تنوع ژنتیکی جمعیت شده است. عمده

در مطالعه انجام شده توسط Brown et al. (2007) به منظور بررسی اختلاف ژنتیکی بین جمعیت مولدین وحشی و پرورشی ماهی سوف زرد (*Perca fluvescens*) در آب‌های آمریکای شمالی، کم‌ترین و بیشترین مقدار تمایز ژنتیکی ( $F_{ST}$ ) بین جمعیت‌ها ۰/۰۵ و ۰/۴۴ محاسبه گردید. در مطالعه‌ای دیگر، میزان تمایز ژنتیکی جمعیت‌های ماهی سوف سفید *Sander lucioperca* در نواحی شمالی (۰/۱۹) و جنوبی (۰/۱۲۵) منطقه فنوسکندیان (Fennoscandian) معنی‌دار گزارش شد (Bjorklund et al., 2007). در بررسی حاضر، مقدار عددی ۰/۱۲۶ به دست آمده برای  $F_{ST}$  از طریق تجزیه واریانس مولکولی نیز تمایز متوسط را میان جمعیت‌ها به‌طور معنی‌دار نشان داد (۰/۰۵). نتایج تجزیه واریانس بیانگر آن بود که مقدار ۱۳٪ از تنوع مشاهده شده مربوط به بین جمعیت‌ها است و ۸۷٪ از تنوع مشاهده درون جمعیتی است. نتایج ماتریس فواصل ژنتیکی  $F_{ST}$  حاکی از آن بود که کم‌ترین فاصله ژنتیکی با مقدار ۰/۰۳۸ بین دو جمعیت دوساله‌ی پرورشی و دریاچه‌ی سد دز مشاهده شد. اما، بیشترین فاصله ژنتیکی با مقدار ۰/۱۸۵ بین جمعیت‌های سد کرخه و مولد ماده پرورشی دیده شد، چنانچه نتایج دندوگرام درخت فیلوژنی حاصل از شاخص Nei نیز تایید کننده این موضوع است. یافته‌های حاصل از این بررسی بر اساس اندازه‌گیری‌های Nei نشان می‌دهد که کم‌ترین فاصله (۰/۱۹۱) بین جفت جمعیت دو ساله پرورشی و دریاچه‌ی سد دز و بیشترین فاصله (۱/۶۱۲) در جفت نمونه‌های جمعیت نر پرورشی و دریاچه‌ی سد کرخه دیده می‌شود. دندوگرام فاصله ژنتیکی حاصل از معیار Nei نشان داد که سهم و منشا مولدین استفاده شده در تکثیر مصنوعی ماهیان جوان دوساله پرورشی در مرکز تکثیر ماهیان بومی شیلات از نمونه‌های صید شده از دریاچه پشت سد دز بوده و مولدین قدیمی در آن مرکز در تکثیر مشارکت داده نشده بودند.

مقدار شاخص تثبیت (F) که بیانگر درون‌آمیزی و آمیزش خویشاوندی است در کل جمعیت‌ها ۰/۰۱۸ محاسبه شد. هرچند، مقدار این شاخص در جمعیت ماده پرورشی بالاست (۰/۳۴۷)، اما در دیگر جمعیت‌های یکساله و دوساله مرکز تکثیر ماهیان گرمابی و دریاچه‌های پشت سدهای کرخه و دز این شاخص بسیار پایین و منفی می‌باشد که در کل نشان دهنده میزان همخونی پایین در بین جمعیت‌های ماهی عنزه می‌باشد. شاخص  $F_{IS}$  بیانگر میزان هم‌خونی است و به توزیع هاردی-واینبرگ ژنوتیپ نمونه‌های درون زیرجمعیت‌ها مربوط می‌شود، درحالی‌که  $F_{ST}$  به تنوع ژنتیکی زیر جمعیت‌های درون جمعیت کل اشاره دارد (Carvalho and Hauser, 1998). میانگین شاخص ضریب همخونی ( $F_{IS}$ ) در همه جایگاه‌ها مقدار پایین ۰/۰۵۹ می‌باشد. در سطح پنج جایگاه مقادیر این شاخص منفی است و در پنج جایگاه دیگر این شاخص در دامنه ۰/۲۸۹ تا ۰/۱۲۳ قرار دارد. چون مقدار این شاخص تقریباً صفر است، می‌تواند دال بر عدم آمیزش خویشاوندی و اختلاط بین جمعیت‌ها باشد (Wright, 1949).

یکی از بهترین روش‌ها برای بررسی ساختار ژنتیکی جمعیت‌ها آزمون تمایز بین نمونه‌هاست (Viard et al., 1997). دو روش برآورد مرسوم در تمایز ژنتیکی ( $F_{ST}$  و  $R_{ST}$ ) به‌طور معمول در مطالعاتی که از نشانگرهای ریزماهواریه استفاده می‌گردد گزارش می‌شود. در بیشتر مواقع برای نشان دادن تمایز بجای  $F_{ST}$  از  $R_{ST}$  استفاده می‌شود زیرا واریانس نمونه‌برداری کمتر در آن دخالت دارد (Gaggiotti et al., 1999). وجود اختلاف ژنتیکی در درون و همچنین بین جمعیت‌های گونه‌های مختلف تحت تاثیر عوامل مختلفی قرار دارد که عبارتند از تاریخچه مشترک، جریان ژنی حال و گذشته و همین‌طور فرایندهای مختص جمعیت مانند رانش ژنتیکی و انتخاب انطباقی. نقش فاصله ژنتیکی و جریان ژنی وابسته به آن نیز در شکل‌گیری الگوی اختلاف ژنتیکی هم از نظر تئوریک و هم از نظر تجربی به خوبی به اثبات رسیده است (Epperson, 2003; Roussel, 2004). در تفسیر  $F_{ST}$  مقادیر در محدوده ۰/۰۵-۰/۱۵ بیانگر تمایز ژنتیکی پایین، ۰/۱۵-۰/۲۵ بیانگر تمایز ژنتیکی زیاد و مقادیر بالای ۰/۲۵ بیانگر اختلاف ژنتیکی خیلی زیاد است و نشان دهنده جدایی کامل جمعیت‌ها از یکدیگر می‌باشد (Dorak, 2005; Hartl, 1997 and Clark, 1997). اما معمولاً مقدار  $F_{ST}$  زیر ۰/۰۵ زمانی مطرح می‌شود که ساختار جداگانه بین زیر جمعیت‌ها ضعیف تصور شود، درحالی‌که عدد به‌دست آمده نمایانگر همه جمعیت حقیقی نیست. نکته دیگر اینکه میزان  $F_{ST}$  در اکثر موارد به یک نمی‌رسد زیرا اثر پلی‌مورفیسم (ناشی از جهش) به طور موثری میزان  $F_{ST}$  را کاهش می‌دهد (Hedrick, 2011). ماهیان دریایی در مقایسه با ماهیان آب شیرین تنوع ژنتیکی بالاتر و تمایز ژنتیکی پایین‌تری را نشان می‌دهند، علت این تنوع بالا در ماهیان دریایی را به اندازه بزرگ جمعیت موثر و همچنین محدودیت پتانسیل بالای جریان ژنی در آبهای شیرین می‌باشد (Brightie et al., 2005). میزان جریان ژنی ( $Nm$ )، به تعداد مولدین مهاجر از یک منطقه به منطقه دیگر گفته می‌شود، که هرچه این میزان بین دو منطقه بیشتر باشد بدین معناست که مهاجرت بین دو منطقه بیشتر و اختلاف ژنتیکی کمتر و میزان تنوع ژنتیکی در دو منطقه بیشتر می‌شود (Rezvani gilkolaei et al., 2009). هرگاه مقدار عددی  $Nm$  بیشتر از یک باشد، جریان ژنی اصلی‌ترین عامل ایجاد تمایز ژنتیکی است و هرگاه کمتر از یک باشد، رانش ژنی عامل اصلی ایجاد تمایز ژنتیکی است (Li et al., 2007). در این مطالعه، جریان ژنی ۱/۴۸۹ می‌باشد و دلیل مشاهده تنوع ژنتیکی بالا در این گونه را می‌توان وجود جریان ژنی بالا در بین جمعیت‌ها دانست. در این مطالعه، هرچند ارتباط جغرافیایی به شکل طبیعی بین جمعیت‌ها وجود ندارد اما، استفاده از مولدین صید شده از محیط طبیعی مانند ذخایر دز و کرخه جدایی از ذخایر مولدین موجود در مرکز تکثیر ماهیان گرمابی شیلات می‌تواند به افزایش جریان ژنی کمک کرده باشد.

مصنوعی در برنامه‌های تولیدمثلی داشت و در ذخیره‌سازی مولدین به شجره نامه افراد استناد کرد. بنابراین با انتخاب روش‌های صحیح می‌توان موجب کاهش سطوح آمیزش خویشاوندی از یک نسل تا نسل بعدی شد (Lundrigan et al., 2005). در نتیجه‌گیری نهایی، از این مطالعه مشخص شد که میزان ضریب همخونی بین جمعیت‌های مورد مطالعه عنزه بسیار پایین و حتی در برخی جمعیت‌ها منفی است و اکثر جمعیت‌ها از تنوع ژنتیکی و میزان فراوانی آلیلی زیادی برخوردار هستند. براساس نتایج خوشه‌بندی روشن شد که نمونه‌های ماهی عنزه در این مطالعه برخلاف پیش‌فرض اولیه، در سه جمعیت بالغ پرورشی، جوان یکساله و ترکیبی از نمونه‌های سد دز، کرخه و دوساله پرورشی دسته‌بندی می‌شوند. از آنجاییکه تاکنون گام خاصی در اصلاح نژاد روی ماهی عنزه صورت نگرفته است، با وجود امکانات، وسایل و تجهیزات فراوان در کشور می‌توان در این رابطه اقداماتی را انجام داد. پیشنهاد می‌شود که مطالعات شناسایی مربوط به آغازگرهای ریزماهوره‌های خاص این ماهی انجام شود و مجدداً تنوع ژنتیکی این گونه با ارزش با آنها بررسی شود.

### تشکر و قدردانی

از آقای دکتر هوشمند رییس محترم پژوهشکده آبی پروری آب‌های جنوب کشور و همکار ایشان خانم دکتر سمیرا ناظم‌رایا بخاطر موافقت و انجام بخشی از آزمایش‌های این مطالعه در آزمایشگاه بیوتکنولوژی پژوهشکده و از آقای داریوش سازگار صیاد ماهی دریایچه سد دز بخاطر همکاری در تهیه نمونه‌های ماهی عنزه بدون دریافت هزینه کمال تشکر را داریم.

### References

- Abdul-Muneer, P. M. 2014. Application of Microsatellite Markers in Conservation Genetics and Fisheries Management: Recent Advances in Population Structure Analysis and Conservation Strategies", *Genetics Research International*, vol. 2014, Article ID 691759, 11 pages, 2014. DOI: 10.1155/2014/691759
- Alam, S. and Islamb, Sh., 2005. Population genetic structure of *Catla catla* (Hamilton) revealed by microsatellite DNA markers. *Aquaculture*, 246, pp. 151–160. DOI:10.1016/j.aquaculture.2005.02.012
- Alarcon, J.A.; Magoulas, A.; Georgakopoulos, T., Zouros, E. and Alvarez, M.C., 2004. Genetic comparison of wild and cultivated European populations of the gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Aquaculture*, 230, 65–80. DOI:10.1016/S0044-8486(03)00434-4
- Alavi, S. M. H., 2008. Fish spermatology: implications for aquaculture management. *Fish spermatology*, pp.397-460.
- برنامه نرم افزاری Structure بر یک الگوریتم خوشه‌بندی تکرار شونده بیزی (Bayesian) برای گروه‌بندی نمونه‌ها با استفاده از داده‌های ژنوتیپ چندجایگاهی تکیه دارد و یکی از پراستنادترین ابزارها برای تعیین ساختار جمعیت است. برای استنباط تعداد بهینه خوشه‌ها از خروجی Structure، اغلب از روش  $\Delta K$  استفاده می‌شود. با این حال، یک مطالعه اخیر با تکیه بر داده‌های ریزماهوره مدل‌سازی شده نشان می‌دهد که این روش در تخمین  $K$  خود سوگیری رو به پایین دارد و به نمونه‌گیری ناهموار حساس است (Stankiewicz et al., 2020). چنین نتیجه گرفته شده که  $\Delta K$  به‌تنهایی برای تعیین بهینه‌ترین تعداد خوشه‌ها کافی نیست و یکنواختی نمونه لزوماً توافق با برآوردگرهای سنتی را پیش‌بینی نمی‌کند. برای استنباط بهتر ساختار جمعیت، ترکیبی از بررسی بصری نمودارهای ساختار و محاسبه برآوردگرهای جایگزین در آستانه‌های مختلف علاوه بر  $\Delta K$  پیشنهاد می‌شود (Stankiewicz et al., 2020). در این مطالعه، جدول اطلاعات  $\Delta K$  برای جمعیت‌های عنزه مورد مطالعه حاکی از آن بود که  $K2$  بهینه‌ترین حالت تفکیک جمعیت‌ها می‌باشد، اما تحلیل خوشه‌ای پلات‌ها بیانگر وجود سه جمعیت با ساختار ژنتیکی متفاوت است. چنانچه، با سه جمعیت دز، کرخه و مرکز تکثیر ماهیان گرمابی شیلات روبرو هستیم.
- در نهایت باید گفت عدم وجود اطلاعات شجره‌نامه‌ای و فیلوژنیک در صفات مهم تجاری برای ماهیان مانع از پیشرفت‌های آبی پروری در زمینه اصلاح نژاد و افزایش تولید جمعیت می‌شود و باید توجه بیشتری به جمعیت‌های مراکز و کارگاه‌های تکثیر
- Bataillon T. M., David J. L. and Schoen D. J. 1996. Neutral genetic markers and conservation: simulated germplasm collections. *Genetics*, 144, pp.409-417. DOI: 10.1093/genetics/ 144.1. 409
- Beardmore, J.A., Mair, G.C. and Lewis, R.I., 1997. Biodiversity in aquatic systems in relation to aquaculture. *Aquaculture. Reserch*, 28, 829-839, DOI: 10.104 6/j.1365-2109.1997.00 947.x.
- Bekkevold, D., Hansen, M. M. and Loeschcke, V., 2002. Male reproductive competition in spawning aggregations of cod (*Gadus morhua*, L.). *Molecular Ecology*, 11(1), pp.91-102. DOI: 10.1046/ j.0962-1083 .2001 .01424.x.
- Bjorklund, M., Aho, T. and Larsson, L.C., 2007. Genetic differentiation in pikeperch (*Sander lucioperca*): the relative importance of gene flow, drift and common history. *Journal of fish Biology.*, 71, pp. 264–278. DOI: 10.1111 /j.1095- 8649.2007.01609.x

- Brigitte, 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 Linnean Society*, 84, pp.1-11. DOI: 10.1111/j.1095-8312.2005.00416.x
- Brown, B., Wang, H.P., Li, L., Givens, C. and Wallet, G., 2007. Yellow perch strain evaluation I: Genetic variance of six broodstock populations. *Aquaculture*, 271, pp. 142-151. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2007.06.022
- Carvalho, G.R. and Hauser, L., 1998. Advances in the molecular analysis of fish population structure. *Italian Journal of Zoology*, 65(S1), 21-33. DOI: 10.1080/11250009809386791.
- Charlesworth, D. and Willis, J.H., 2009. The genetics of inbreeding depression. *Nature reviews genetics*, 10(11), pp.783-796. DOI: 10.1038/nrg2664
- Chistiakov, D.A., Hellemans, B. and Volckaert, F.A.M., 2006. Microsatellites and their genomic distribution, evolution, function and applications: A review with special reference to fish genetics. *Aquaculture*, 255, pp.1-29. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2005.11.031
- Ciftci, Y. and Okumus, I. 2002. Fish Population Genetics and Applications of molecular Markers to Fisheries and Aquaculture: I- Basic Principles of Fish Population genetics. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 2, pp. 145-155. Corpus ID: 27490529
- Dahle, G., Jørstad, K.E., Rusaas, H.E. and Otterå, H., 2006. Genetic characteristics of broodstock collected from four Norwegian coastal cod (*Gadus morhua*) populations. *ICES Journal of Marine Science*, 63(2), pp.209-215. <https://doi.org/10.1016/j.icesjms.2005.10.015>
- DeWoody, J. A. and Avise, J. C., 2000. Microsatellite variation in marine, freshwater and anadromous fishes compared with other animals. *Journal of fish biology*, 56(3), pp.461-473. DOI: 10.1111/j.1095-8649.2000.tb00748.x
- Dorak, T., 2005. *Basic population genetics*. [www.dorak.info/genetics/popgen.html](http://www.dorak.info/genetics/popgen.html)
- Earl, D.A. and VonHoldt, B.M., 2012. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation genetics resources*, 4, pp.359-361. <http://dx.doi.org/10.1007/s12686-011-9548-7>
- Epperson, B.K., 2003. *Geographical Genetics*. Princeton: Princeton University Press. Princeton and Oxford, Book ISBN: 0-691-08668-0
- Falush, D., Stephens, M. and Pritchard, J.K., 2003. Inference of population structure using multilocus genotype data: linked loci and correlated allele frequencies. *Genetics*, 164(4), pp.1567-1587. <https://doi.org/10.1093/genetics/164.4.1567>
- Frankham, R., 2008. Genetic adaptation to captivity in species conservation programs. *Molecular Ecology* 17, pp.325-333. DOI: 10.1111/j.1365-294X.2007.03399.x.
- Gaggiotti, O.E., Lange, O., Rassman, K. and Gliddon, C., 1999. A comparison of two indirect methods for estimating average levels of gene flow using microsatellite data. *Molecular Ecology*, 8, pp. 1513-1520. DOI: 10.1046/j.1365-294x.1999.00730.x
- Gjedrem, T. and Baranski, M., 2009. The success of selective breeding in aquaculture. In *Selective Breeding in Aquaculture: An Introduction* (pp. 13-23). Springer, Dordrecht. DOI:10.1007/978-90-481-2773-3
- Hakansson, J. and Jensen, P., 2005. Behavioural and morphological variation between captive populations of red junglefowl (*Gallus gallus*) possible implications for conservation. *Biological Conservation* 122, pp.431-439. DOI:10.1016/j.biocon.2004.09.004
- Hallerman, E M. 2004. Population genetics: principles and applications for fisheries scientists. American Fisheries Society, Bethesda, Maryland, 458 p. DOI: 10.1111/j.1467-2979.2004.00145\_3.x
- Hansen, M.M., Nielsen, E.E., Ruzzante, D.E., Bouza, C. and Mensberg, K.L.D., 2000. Genetic monitoring of supportive breeding in brown trout (*Salmo trutta* L.) using microsatellite DNA markers. *Canadian Journal of Fish Aquaculture Scientific*. 57, pp. 2130-2139. DOI:10.1139/cjfas-57-10-2130
- Hartl, D.L. and Clark, A. G., 1997. *Principles of Population Genetics*, 3rd edn. Sinauer Associates, Inc, Sunderland. Translated to Persian by M.A. Hashemzadeh Saqarlou, Naqsh Mehr Publications,

- Hashemzadeh-saghaerlu, I. 2005. *Pupolation genetics: principles and applications for fisheries scientists by translation*. Naqsh Mehr Publications, Tehran, (In Persian).
- Hedrick, P.W., 2011. *Genetics of populations*. Jones & Bartlett Publishers.
- Karaminasab, M., Hosseinnia, Z., Kolangi Miandare, H. and Shabany, A., 2014. Genetic diversity of *Barbus grypus* in the Karkheh River in Khuzestan Province and cultured fish studied using a microsatellite marker. *Genetic Engineering and Biosafety Journal*, 3(2), pp. 114-123. (In Persian)
- Kashiri, H., Shabani, A. and Shabanpour, B., 2012. Genetic diversity of caspian roach (*Rutilus rutilus caspicus*) in gharesou and gomishan regions using microsatellite. *Iranian Journal of Biology*, 25(1), pp.139-147. (In Persian)
- Kearse M., Moir R., Wilson A., Stones S, Cheung M., Sturrock S., Buxton S., Cooper A., Markowitz S., 2012. An integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data" *Bioinformatics*, Volume 28, Issue 12, June 2012, Pages 1647–1649, DOI: 10.1093/bioinformatics /bt199
- Leclerc, D., Wirth T.H. and Bernatchez, L., 2000. Isolation and characterization of microsatellites in yellow perch (*Perca flavescens*), and cross-species amplification within the family Percidae. *Molocoly. Ecologicaly. Notes*, 9, pp. 995-997. DOI: 10.1046/j.1365-294x.2000.00939-3.x
- Li, D., Kang, D., Yin, Q., Sun, X. and Liang, L., 2007. Microsatellite DNA marker analysis of genetic diversity in wild common carp (*Cyprinus carpio* L.) populations. *Journal of genetics and Genomics*, 34(11), pp. 984-993. DOI: 10.1016/S1673-8527(07)60111-8
- Lin, S.J., Defosse, P.A. and Guarente, L., 2000. Requirement of NAD and SIR2 for life-span extension by calorie restriction in *Saccharomyces cerevisiae*. *Science*, 289(5487), pp.2126-2128. DOI: 10.1126/science.289.5487.2126
- Liu, Z. J. and Cordes, J. F. 2004. DNA marker technologies and their applications in aquaculture genetics. *Aquaculture*, 238, pp. 1-37. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2004.05.027
- Longwu, G., Cuiyun, L., Guangxiang, T., Chao, L. and Wei, X., 2012. Development and characterization of twenty microsatellite markers for the endangered fish *Luciobarbus capito*. *Conservation genetics resources*, 4(4), pp. 865-867. DOI:10.1007/s12686-012-9660-3
- Lundrigan, T. A., Reist, J. D., Ferguson, M. M., 2005. Microsatellite genetic ariation within and among Arctic charr (*Salvelinus alpinus*) from aquaculture and natural populations in North America. *Aquaculture*, 244, 63-75. DOI:10.1016/j.aquaculture.2004.11.027
- May, B. and Krueger, e.e. (1990) "Use of allozyme data for population analysis". In Whitmore, D.H., ed. *Electrophoretic and Isoelectric Focusing Techniques in Fisheries Management*. Boston: CRC Press, pp. 71-157.
- Naghavian S, Hasani S, Ahani Azar M, Khanahmad AR, Sagh DA and Mamizade NB, 2013. Genetic diversity in Shirvan Kordi sheep using microsatellite markers and compared to estimation of inbreeding coefficient using pedigree. *Animal Science Researches*, 24, pp. 93-105. (In Persian).
- Nei, M., 1972. Genetic distance between populations. *The American Naturalist*, 106(949), pp.283-292. <https://doi.org/10.1086/282771>
- Ohta, T. 1982. Linkage disequilibrium due to random genetic drift in finite subdivided populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 79, pp.1940-1944. doi: 10.1073/pnas.79.6.1940
- Oosterhout C.V., Hutchinson W.F., Wills D.P.M. and Shipley P. 2004. Micro-checker: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes*, 4, pp.535-538.
- Peakall, R. and Smouse, P.E. 2006. Genalex 6: genetic analysis in excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*, 6, pp.288-295. [doi.org/10.1111/j.1471-8286.2005.01155.x](https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2005.01155.x)
- Reilly, A., Elliott, N.G., Grewe, P.M., Clabby, C., Powell, R. and Ward, R.D., 1999. Genetic differentiation between Tasmanian Cultured Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) and their ancestral Canadian population: comparison of microsatellite DNA and allozyme and mitochondrial DNA variation. *Aquaculture*, 173(1-4), pp. 459-469. DOI: 10.1016/S0044-8486(98)00476-1
- Rezaei, M., Shabani, A., Shabanpour, B. and Kashiri, H., 2010. Study of genetic structure of

- Rutilus frisii kutum in Golestan province coastal waters using microsatellite markers. *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 19(3), pp. 151-156. DOR: 20.1001.1.16807073.2012.14.2.15.7. (In Persian)
- Rezvani Gilkolaei, S., Salari Aliabdi, M. A., Savari, A., Zolgharnein, H. and Nabavi, S. M. B. 2009. Investigation on genetic structure of Cobia (*Rachycentron canadum*) using microsatellite markers. *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 18(3), pp.61-69. (In Persian)
- Rousset, F. 2004. *Genetic structure and selection in subdivided populations* Princeton. Princeton University Press. DOI: 10.1515/9781400847242
- Skaala, Ø., Høyheim, B., Glover, K. A. and Dahle, G. 2004. Microsatellite analysis in domesticated and wild Atlantic salmon (*Salmo salar* L): allelic diversity and identification of individuals. *Aquaculture*, 240, pp. 131-143. DOI: 10.1016/j.2004.07.009
- Stankiewicz, K., Vasquez, K. and Baums, I., 2020. The Delta K method alone is not sufficient to determine best clustering solutions for Bayesian analysis of population genetic structure in empirical data sets. *Authorea Preprints*. DOI: 10.22541/au.158817808.87389369
- Tautz, D., 1989. Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. *Nucleic acids research*, 17(16), pp.6463-6471. DIO: 10.1093/nar/17.16.6463
- Tessier, N., Bernatchez, L. and Wright, J. M., 1997. Population structure and impact of supportive breeding inferred from mitochondrial and microsatellite DNA analyses in land-locked Atlantic salmon *Salmo salar* L. *Molecular Ecology*, 6(8), pp.735-750. DOI: 10.1046/j.1365-294X.1997.00244.x
- Viard, F., Justy, F. and Jarne, P., 1997. Population dynamics inferred from temporal variation at microsatellite loci in the selfing snail *Bulinus truncatus*. *Genetics*, 14, pp. 6973- 6982. DOI: 10.1093/genetics/146.3.973
- Wang, C., Yu, X. and Tong, J. 2007. Microsatellite diversity and population genetic structure of redfin culture (*Culter erythropterus*) in fragmented lakes of the Yangtze river. *Hydrobiologia*, 586, pp. 321-329 DOI: 10.1007/s10750-007-0702-x
- Wright, S., 1949. The genetical structure of populations. *Annals of eugenics*, 15(1), pp.323-354. <https://doi.org/10.1111/j.1469-1809.1949.tb.02451.x>
- Wirth, T.H., Saint-Laurent, V. and Bernatchez, L., 1999. Isolation and characterization of microsatellites in walleye (*Stizostedion vitreum*), and crossspecies amplification within the family Percidae. *Molecular Ecology*, 8, pp. 1960-1962. DOI: 10.1046/j.1365-294x.1999.00778-3.x

**In Press**