

تنوع ژنتیکی اردک ماهی (*Esox lucius* (Linnaeus, 1758) تالاب‌های انزلی و امیر کلايه استان گیلان با استفاده از نشانگر ریزماهواره

موناتبرک^۱، محمدرضا کلباسی^{۱*}، محمد صادق علوی یگانه^۲

۱. گروه شیلات، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، تهران، ایران
۲. گروه زیست دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، تهران، ایران

چکیده

اردک ماهی یکی از گونه‌های اقتصادی با ارزش حوزه جنوبی دریای خزر است. شناخت تنوع ژنتیکی آبریان اهمیت حیاتی در مدیریت و حفاظت از آن‌ها دارد. از هفت جفت آغازگر ریزماهواره برای بررسی ۶۰ نمونه اردک ماهی از دو تالاب انزلی و امیرکلايه واقع در استان گیلان استفاده شد. میانگین تعداد ال مشاهده شده در نمونه‌های تالاب انزلی ۵/۲۸۶ و امیرکلايه ۳/۴۲۹ بود. میانگین هتروزایگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار به ترتیب ۰/۶۶۲ و ۰/۶۶۲ بدست آمد. آنالیز واریانس مولکولی تنوع ژنتیکی ۷۳٪ بین جمعیت‌ها و ۲۷٪ درون جمعیت‌ها نشان داد. نتایج، انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ نشان داد تمام نمونه‌ها خارج از تعادل قرار داشتند. علائمی از تنگنای ژنتیکی در جمعیت‌ها این گونه قابل مشاهده است که ضروری است تا با اتخاذ تصمیمات مناسب مدیریت ژنتیکی در این خصوص اقدام گردد. از آنجا که دندروگرام ترسیمی و آزمون واریانس مولکولی بیانگر تمایز بارز و وجود دو جمعیت کاملاً مجزا در این دو تالاب بود که می‌بایست در مدیریت ذخایر این گونه مدنظر برنامه ریزی‌های شیلاتی کشور قرار گیرد.

واژگان کلیدی: اردک ماهی، ریزماهواره، هتروزایگوسیتی، تعادل هاردی-واینبرگ.

* نویسنده مسؤل، پست الکترونیک: kalbassi_m@modares.ac.ir

۱. مقدمه

فعالیت‌های انسانی موثر بر جمعیت‌های ماهیان نظیر اصلاح زیستگاه‌ها، پیوند زدن ذخایر غیر بومی به داخل ذخایر بومی، معرفی نژادهای پرورشی و صید بی‌رویه، باعث تغییراتی در تنوع ژنتیکی یک جمعیت می‌گردند (Nguyen و همکاران ۲۰۰۹). آگاهی از میزان ذخایر و تنوع ژنتیکی بین افراد یک گونه از اهداف مدیریت ذخایر می‌باشد، به طوری که بررسی ژنتیک جمعیت ماهیان با ارزش اقتصادی به منظور حفاظت از جمعیت آن‌ها و حفظ صید پایدار بسیار ضروری می‌باشد (Wright و همکاران ۱۹۸۷). تنوع ژنتیکی ظرفیت گونه‌ها را در عادت پذیری تغییرات محیطی بالا می‌برد و همچنین برای بقا گونه‌ها لازم و موثر است (Okumus و همکاران ۲۰۰۲). حفاظت و نگهداری پایدار یک جمعیت یکی از اهداف اساسی علم زیست‌شناسی بوده و در مدیریت شیلاتی نیز دارای اهمیت زیادی می‌باشد (هاشم زاده و همکاران ۱۳۸۴) و از اهداف کلی تحقیقات ژنتیک جمعیت، تشخیص وسعت تنوع ژنتیکی داخل گونه‌ها و محاسبه این تنوع می‌باشد (Avisé و همکاران ۲۰۰۰). در حال حاضر کاهش ذخایر آبزیان در اکثر نقاط دنیا توجه محققان را به اعمال روش‌های دقیق مولکولی جهت مدیریت ذخایر آبزیان جلب نموده است (Lucentini و همکاران ۲۰۰۶). اردک ماهی متعلق به راسته اردک ماهی شکلان (Esociforms) و تنها خانواده این راسته یعنی اردک ماهیان (Esocidea) می‌باشد. ارزش بالای اردک ماهی از نظر کیفیت بالای گوشت، داشتن استخوان‌های کم، پایین بودن مقدار چربی (۰/۵ تا ۱/۲ درصد) و پروتئین بالا (۱۸/۷ تا ۱۹ درصد) باعث شده تا این گونه جایگاه ویژه‌ای از نظر تغذیه‌ای در بین مردم دنیا به خود اختصاص دهد. گوشت خوش طعم، لذیذ و مغذی این ماهی موجب شده که متقاضیان زیادی پیدا نموده، نقش اقتصادی مهمی را در بازار منطقه‌ای و ملی ماهی بازی نماید.

هم اکنون عمده صید اردک ماهی از تالاب انزلی صورت می‌گیرد و زندگی و معیشت بسیاری از صیادان منطقه به آن وابسته است. شرایط نامساعد زیستگاه‌های اصلی این ماهی بخصوص تالاب انزلی و تغییرات کیفیت آب رودخانه‌ها در قسمت پایین دست در اثر ساخت سدهای متعدد و برداشت بیش از حد آب برای کشاورزی، شرب و صنعت، باعث شده تا این گونه در طبقه نیازمند حفاظت قرار گیرد (عبدلی ۱۳۷۸). ریزماهوره‌ها، توالی‌های تکرار شونده از توالی DNA هستند که به عنوان یک نشانگر جمعیتی به سرعت در حال جایگزینی با دیگر نشانگرها بوده و دارای کاربردهای فراوانی در زمینه ژنتیک تکامل و حفاظت هستند (Ward و همکاران ۲۰۰۲). نشانگر ریزماهوره‌ها دارای چندریختی بالایی بوده به طوری که می‌تواند برای آنالیزهای ژنتیک جمعیت، بویژه در مورد جمعیت‌هایی که در دیگر نشانگرها تنوع کمی نشان می‌دهند، بسیار مفید باشد (Evans و همکاران ۲۰۰۴). متأسفانه علی‌رغم اهمیت موضوع، هیچ اطلاعاتی در خصوص جمعیت‌های مختلف اردک ماهی در ایران اطلاعات ژنتیکی دقیقی وجود ندارد (Coad, ۲۰۱۲). لذا این مطالعه با هدف بررسی ساختار ژنتیکی اردک ماهی در سواحل غربی دریای خزر در استان گیلان به بررسی دو زیستگاه اصلی این گونه در استان گیلان یعنی منطقه تالاب انزلی و تالاب امیرکلايه با روش ملکولی و استفاده از ۷ جایگاه ریزماهوره پرداخته است.

۲. مواد و روش‌ها

در تابستان سال ۱۳۹۱ تعداد ۶۰ عدد اردک ماهی از مناطق تالاب انزلی (عرض جغرافیایی $35^{\circ} 27' 36''$ طول جغرافیایی $39^{\circ} 37' 49''$) و تالاب امیرکلايه (عرض جغرافیایی $39^{\circ} 23' 10''$ طول جغرافیایی $54^{\circ} 10' 50''$) با استفاده از روش قلاب و تور ماهیگیری به صورت تصادفی نمونه برداری شد. (شکل ۱)



شکل ۱. مناطق نمونه برداری اردک ماهی

DNA استخراجی نیز با استفاده از ژل آگارز ۱ درصد و دستگاه نانودراپ تعیین گردید. هفت جفت نشانگر ریزماهوره Elu19، Elu51، Elu78، Elu87، Launey) Elu276، EluB38INRA و همکاران (Miller و همکاران ۱۹۹۶) مورد استفاده قرار گرفتند (جدول ۱).

به منظور مطالعه ملکولی حدود ۳-۲ گرم از بافت باله پشتی هر ماهی جدا و در ظروف نمونه‌گیری حاوی الکل ۹۶٪ قرار داده شد. استخراج DNA به روش فنل-کلروفرم (Sambrook و همکاران ۱۹۸۹) انجام پذیرفت. DNA استخراجی پس از افزودن ۱۰۰ میکرولیتر آب مقطر دو بار تقطیر تا زمان انجام مطالعات در فریزر ۲۰- نگهداری شد. کیفیت و کمیت

جدول ۱. خصوصیات جایگاه‌های به کار برده شده

کد آغازگر	توالی آغازگر	وزن جفت باز
Elu19	CATCATGAACATTCAGACGC GAGATGCTAATTCATCCACTG	۱۴۷،۱۴۹،۱۵۵
Elu51	GTGGGCATTCAGCCGATATAGC CTGTCTCATTACTGCCTGGCTC	۱۳۸،۱۵۰
Elu76	ACCACATTCCACATCTGATGG AATCCCTTATTCTGACCCTGC	۱۶۵،۱۶۷
Elu78	CTAGAGGGGGAAAACAAACC CACTGTCCATCATCACCCCTCTC	۱۳۲،۱۳۶
Elu87	AGCACTGCCACACATGACGTG CCAGCTGCCTCAGATTGCTCCCC	۱۵۳،۱۵۷،۱۶۱
Elu276	CTCTCACAGTTCAAAGATGGC TCTTTAAACTGGGGGGGAGGAAAG	۱۴۹،۱۶۵
EluB38INR A	TGTCAGTGTGACTTGCTCC GTATTGTCAGCATTCAGCTC	۱۸۸،۱۷۰

نوکلئوتیدها، یک واحد بین‌المللی تگ DNA پلیمرز، ۱/۵ میلی مولار بافر PCR ۱X، ۱/۵ میلی مولار کلرید منیزیم و آب مقطر تا رسیدن به حجم

تکثیر جایگاه‌ها با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمرز در حجم ۲۵ میکرولیتر شامل ۱۵ نانوگرم DNA، ۰/۵ میکرومولار از هر پرایمر، ۴۰۰ میکرومولار از

های حسابی (UPGMA)، با استفاده از نرم‌افزار Yang) PopGene و همکاران (۱۹۹۹) صورت گرفت.

۳. نتایج

هر هفت جایگاه ژنی مورد استفاده در این بررسی واجد چند شکلی بودند. نتایج تعداد آلل مشاهده شده و موثر در ۷ جایگاه مورد نظر محاسبه گردید (جدول ۲). تعداد آلل مشاهده شده در سطح جایگاه در دامنه ۹ - ۲ به دست آمد. میانگین آلل‌های مشاهده شده و موثر در تالاب انزلی به ترتیب ۵/۲۸۶ و ۴/۱۴۹ و در تالاب امیرکلايه ۳/۴۲۹ و ۲/۸۹۸ به دست آمد.

مقادیر هتروزیگوسیتی مشاهده شده (H_0) و مورد انتظار (H_e) به ترتیب در دامنه ۱/۰۰-۰/۰۰ (متوسط : ۰/۶۲۶) و ۰/۸۷۱-۰/۳۵۸ (متوسط : ۰/۶۶۲) قرار داشت. متوسط هتروزیگوسیتی مشاهده شده در تالاب امیرکلايه و تالاب انزلی به ترتیب ۰/۵۳۴، ۰/۷۱۰ به دست آمد (جدول ۲). بین مناطق مورد بررسی تفاوت معنی داری از نظر میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار مشاهده نشد ($P > ۰/۰۵$). در بررسی تعادل هاردی - واینبرگ، تمام جایگاه‌ها به طور معنی داری ($P > ۰/۰۵$) \leq انحراف از تعادل را نشان دادند (جدول ۲). در بررسی ضریب درون آمیزی (Fis) (جدول ۲)، همه جایگاه‌ها به جز جایگاه Elu19 در هر دو منطقه و جایگاه Elu51 در منطقه تالاب امیر کلايه و Elu76، Elu78، Elu87 تالاب انزلی کسری هتروزیگوسیتی را نشان دادند. از نظر تمایز بین مناطق میزان شاخص Fst بر اساس آنالیز واریانس مولکولی (AMOVA)، ۰/۱۶۱ و میانگین جریان ژنی ۳/۵۹۴ به دست آمد (جدول ۳).

انجام گرفت. سیکل دمایی برای هر جایگاه عبارت بود از یک سیکل ۳ دقیقه‌ای در ۹۴ درجه، ۳۵ سیکل شامل ۹۴ درجه برای ۳۰ ثانیه، درجه‌حرارت ۷۲ درجه برای ۱ دقیقه جهت اتصال آغازگر برای تکثیر رشته DNA به مدت ۳۰ ثانیه یک بسط نهایی در ۷۲ درجه برای ۳ دقیقه و در انتها ۲۰ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد قرار می‌گیرد. محصول واکنش زنجیره‌ای پلیمرز بر روی ژل پلی‌آکریل‌آمید ۶ درصد (غیر یونیزه) جداسازی شد. سپس ژل‌ها به روش نیترا نقره (Sambrook و همکاران ۱۹۸۹) رنگ آمیزی و پس از تهیه تصویر آنها توسط دستگاه مستندساز ژل، از نرم افزار Gel pro analyzer برای محاسبه طول قطعات استفاده گردید.

پردازش داده‌ها

تعداد آلل مشاهده شده و موثر، هتروزیگوسیتی مشاهده شده (H_0) و مورد انتظار (H_e) با استفاده از نرم افزار Genealex (Smouse و همکاران ۲۰۰۶) محاسبه شد. برای آزمون انحراف از تعادل هاردی- واینبرگ از مقایسه بین هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار و همچنین معنی‌دار بودن احتمال کسری هتروزیگوسیتی یا زیاد بودن هتروزیگوسیتی نیز از نرم افزار Genepop (Raymond و همکاران ۱۹۹۵) استفاده شد. به منظور تعیین تنوع ژنتیکی درون و بین جمعیتی و همچنین میزان تمایز بین جمعیتی بر اساس مدل آللی بی‌نهایت (IAM) آنالیز واریانس مولکولی (AMOVA) در بسته نرم‌افزاری Genealex مورد استفاده قرار گرفت. تعیین فاصله و شباهت ژنتیکی نئی (Nei و همکاران ۱۹۷۲) و جدایی جمعیت‌ها با استفاده از ترسیم نمودار خوشه‌ای به روش جفت گروه‌های موازنه نشده میانگین

جدول ۲. تنوع ژنتیکی ۷ جایگاه مورد مطالعه در دو جمعیت اردک ماهی

EluB38INRA	Elu276	Elu87	Elu78	Elu76	Elu51	Elu19	
۶	۴	۶	۵	۹	۲	۵	N_a
۴/۲۵۴	۳/۹۷۴	۴/۵۹۲	۳/۱۴۷	۷/۷۵۹	۱/۹۶۵	۳/۳۹۰	N_e
۰/۵۰۰	۰/۵۳۳	۱/۰۰	۰/۷۳۳	۱/۰۰	۰/۲۰۰	۱/۰۰	H_o
۰/۷۶۴	۰/۷۴۷	۰/۷۸۲	۰/۶۸۲	۰/۸۷۱	۰/۴۹۱	۰/۷۰۵	H_e
۰/۳۴۶	۰/۲۸۶	-۰/۲۷۸	-۰/۰۷۵	-۰/۱۴۷	۰/۵۹۳	-۰/۴۱۸	F_{IS}
***	***	***	***	***	**	*	pHw
۶	۵	۳	۲	۲	۳	۳	N_a
۵/۰۰۰	۳/۸۴۶	۲/۵۴۲	۱/۵۵۷	۱/۸۰۰	۲/۷۷۸	۲/۷۶۱	N_e
۰/۸۰۰	۰/۶۶۷	۰/۴۶۷	۰/۲۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۸۶۷	H_o
۰/۸۰۰	۰/۷۴۰	۰/۶۰۷	۰/۳۵۸	۰/۴۴۴	۰/۶۴۰	۰/۶۳۸	H_e
۰/۰۰۰	۰/۰۹۹	۰/۲۳۱	۰/۴۴۱	۱/۰۰۰	-۰/۲۵۰	-۰/۳۵۹	F_{IS}
***	***	**	*	***	***	***	pHw

N_a : تعداد آلل، N_e : تعداد آلل موثر

H_o : هتروزیگوسیتی مشاهده شده، H_e : هتروزیگوسیتی مورد انتظار، F_{IS} : ضریب درون آمیزی

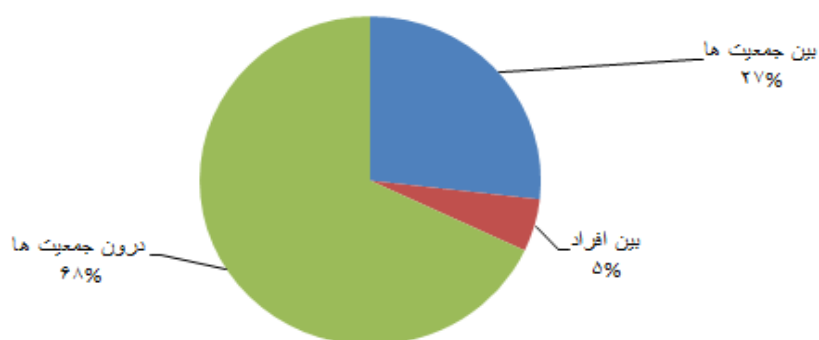
pHw: تست احتمال انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ (ns: عدم معنی داری، $P \leq 0.05$ ، *، $P \leq 0.01$ ، **، $P \leq 0.001$)

جدول ۳. شاخص Fit، شاخص Fis، میزان جریان ژنی (Nm) و شاخص Fst در میان جایگاه‌های مورد استفاده

	Elu19	Elu51	Elu76	Elu78	Elu87	Elu276	B38	میانگین
Fis	-۰/۳۹۰	۰/۱۱۶	۰/۲۴۰	۰/۱۰۳	-۰/۰۵۶	۰/۱۹۳	۰/۱۶۹	۰/۰۵۳
Fit	-۰/۳۶۸	۰/۳۶۱	۰/۳۹۷	۰/۳۸۶	۰/۰۰۲	۰/۳۱۲	۰/۲۶۲	۰/۱۹۳
Fst	۰/۰۱۶	۰/۲۷۸	۰/۲۰۶	۰/۳۱۶	۰/۰۵۵	۰/۱۴۷	۰/۱۱۲	۰/۱۶۱
Nm	۱۵/۲۹۷	۰/۶۵۱	۰/۹۶۱	۰/۵۴۲	۴/۲۸۱	۱/۴۴۸	۱/۹۷۸	۳/۵۹۴

داد که ۷۳ درصد از تنوع مشاهده شده مربوط به درون جمعیت‌ها و ۲۷ درصد از تنوع مربوط به بین جمعیت‌ها می‌باشد (شکل ۲).

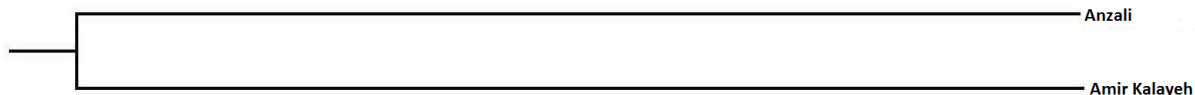
کمترین تمایز مشاهده شده ۰/۰۱۶ در جایگاه Elu19 و بیشترین میزان آن ۰/۳۱۶ در جایگاه Elu78 به دست آمد. همچنین نتایج حاصل از AMOVA نشان

شکل ۲. چگونگی توزیع تنوع ژنتیکی مشاهده شده تحت معیار F_{ST}

بر اساس دندروگرام UPGMA ترسیم شده نشان داد که مناطق مورد بررسی در دو کلاستر کاملاً جدا قرار

دارند (شکل ۳).

شکل ۳. دندوگرام UPGMA برای نشان دادن روابط فیلوژنتیک بین نمونه‌های مناطق مختلف تالاب انزلی و تالاب امیرکلاهی



۴. بحث و نتیجه گیری

نخستین گام برای تدوین استراتژی برنامه‌های مدیریت ذخایر آبزیان در منابع آبی، تعیین ساختار ژنتیکی جمعیت‌های در حال بهره‌برداری است. این استراتژی در صورتی که بر پایه روش‌های دقیق و قوی مانند داده‌های مولکولی باشد، می‌تواند کمک به حفظ تنوع زیستی از طریق اتخاذ سیاست‌های بهره‌برداری معقول از منابع موثر باشد (Austin و همکاران ۲۰۰۶). در این تحقیق با توجه به اهمیت تجاری-اقتصادی اردک ماهی، ساختار جمعیتی و تنوع ژنتیکی این ماهی ارزشمند در ۲ تالاب اصلی استان گیلان مورد بررسی قرار گرفت. ۷ نشانگر ریزماهواره اختصاصی گونه اردک ماهی مورد آزمون قرار گرفت که ۷ جایگاه چندشکلی را در فرایند تکثیر نشان دادند. تغییر در تنوع ژنتیکی ممکن است به صورت تغییر در فراوانی آلل‌ها، از دست رفتن آلل‌های نادر و کاهش هتروزیگوسیتی از طریق از دست رفتن آلل‌های معمولی اندازه‌گیری شود (Evans و همکاران ۲۰۰۴)، بنابراین از جمله پارامترهای مهم در بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت‌ها با استفاده نشانگرهای ریزماهواره‌ها، تعداد آلل و میزان هتروزیگوسیتی می‌باشد (Yamamoto و همکاران ۲۰۰۶). روند افزایش هتروزیگوسیتی و تنوع ژنتیکی از ماهیان آب شیرین به سمت ماهیان آنادروموس و سپس دریایی محسوس می‌باشد که این امر را می‌توان به بزرگتر بودن محیط‌های دریایی و به دنبال آن بزرگتر بودن اندازه جمعیت موثر ماهیان دریایی و پتانسیل بالای جریان ژنی محیط‌های دریایی نسبت داد. در این بررسی متوسط تعداد آلل‌ها، هتروزیگوسیتی مشاهده

شده و مورد انتظار به ترتیب ۴/۳۵۷، ۰/۶۲۶ و ۰/۶۶۲ به دست آمد. تحقیقات نشان می‌دهند که غنای آللی برای ارزیابی تنوع نمونه‌ها نسبت به هتروزیگوسیتی مناسبتر است. همچنین بالا بودن غنای آللی نشان‌دهنده بالا بودن اندازه جمعیت موثر است (Diz و همکاران ۲۰۰۹) و به طور کلی تعداد کم آلل نشانه‌ای از تنگنای ژنتیکی است که در شرایط جمعیت وحشی، ممکن است به دلیل جدا شدن جمعیت و یا کاهش شدید اندازه موثر باشد (Nguyen و همکاران ۲۰۰۹). مقایسه داده‌های حاصل نشان می‌دهد که هتروزیگوسیتی به دست آمده در این بررسی نسبتاً مناسب ولی تعداد آلل پایین تر از تعداد گزارش شده برای ماهیان آب شیرین (۷/۵) بیان شده است (Avisé و همکاران ۲۰۰۰). این مطلب بیانگر آن است که مسائلی همچون فشار بالای صیادی، جمعیت‌های محدود در محیط و تعداد پایین مولدین اولیه، تنوع ژنتیکی این ماهی ارزشمند تحت تأثیر قرار داده است. تعادل هاردی-واینبرگ تنها در جوامعی صادق است که شرایطی چون تعداد افراد جمعیت بالا، جمعیت‌های محدود، جفت‌گیری تصادفی، و احتمال جهش بسیار کم در آنها وجود داشته باشد (Ciftci و همکاران ۲۰۰۲). در جمعیت‌های ماهیان، انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ زیاد مشاهده می‌شود (Lucentini و همکاران ۲۰۰۶). در این بررسی هر دو جمعیت در اکثر جایگاه‌ها به طور معناداری انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ را نشان دادند ($P \leq 0/05$). معمولاً هنگامی که شاخص Fis نزدیک به صفر است، جمعیت به تعادل وارد می‌شود (Pinera و همکاران

حال حاضر در تالاب‌های امیرکلایه و انزلی گیلان زیست می‌کنند که تنوع ژنتیکی قابل قبولی در تالاب انزلی نسبت به تالاب امیرکلایه مشاهده می‌شود که این امر به علت وسعت زیاد و ارتباط بیشتر این تالاب با سایر حوزه‌های آبریز می‌باشد، اما با توجه به صید بالا وجود منابع آلاینده انسانی، در سال‌های آینده ممکن است این گونه با تنگنای ژنتیکی و خطر انقراض مواجه شود. از آنجا که در سال‌های اخیر افرادی از بخش خصوصی نسبت به تکثیر مصنوعی و عرضه اردک ماهی به پرورش دهندگان اقدام نموده‌اند لازم است تا با ارائه اطلاعات کافی در خصوص وضعیت ژنتیکی این گونه در ایران تدابیری اتخاذ شود تا مولدین موجود در این کارگاه‌ها واجد حداکثر تنوع ژنتیکی بوده تا نسل F1 مناسبی از آن‌ها تولید و عرضه شود.

منابع

عبدلی، ا. ۱۳۷۸. ماهیان آبهای داخلی ایران، انتشارات تهران موزه طبیعت و حیات وحش ایران. ۱۵۷ ص.

هاشم‌زاده سقرلو، ا. ۱۳۸۴. کاربرد ژنتیک جمعیت در شیلات (جلد دوم)، اریک هال‌من. (مؤلف). انتشارات نقش مهر. ۱۵۲ ص.

Appleyard, S., Ward, R., and Grewe, P. 2002. Genetic stock structure of bigeye tuna in the Indian Ocean using mitochondrial DNA and microsatellites. *Journal of fish Biology*. 60: 767-770.

Bassam, B. J., Caetano-Anolles, G. and Gresshoff, G. M. 1991. Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide gels. *Annual Biochemistry*. 84: 680-683.

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: 145-155.

Dewoody, J.A., and Avise, J.C. 2000. Microsatellite variation in Marine, freshwater and anadromous fishes compare with other animal. *Journal of fish biology*. 56: 461-473.

۲۰۰۷). در اکثر جایگاه‌ها در هر دو منطقه کسری هتروزیگوسیتی نشان داده شد. با توجه به نتایج شاخص‌های فوق، اغلب جایگاه‌ها انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ را نشان می‌دهند که علت این انحراف به دلیل کاهش هتروزیگوسیتی است. انحراف از تعادل در این جمعیت‌ها می‌تواند در اثر اختلاط جمعیت‌ها و یا جفت‌گیری غیرتصادفی نیز باشد. البته دلایل زیست‌شناختی این پدیده به طور واضح شناخته نشده است و عوامل متعددی در آن دخالت دارند از جمله می‌توان به اثر وهلاند، درون‌آمیزی، وجود آلل‌های نول و بهگزینی برای توضیح آن اشاره کرد. جدا از دلایل زیست‌شناسی معمول در ایجاد کسری هتروزیگوسیتی، ریزماهورها به طور خاص مستعد این پدیده هستند (Diz و همکاران ۲۰۰۹). همچنین انحراف ژنتیکی تصادفی ممکن است بوسیله نسبت‌های جنسی نابرابر یا مشارکت متفاوت مولدین در زمان تکثیر ایجاد شود (Wang و همکاران ۲۰۰۹). میزان F_{st} به عنوان شاخص تمایز بر اساس آنالیز واریانس مولکولی معادل ۰/۱۶۱ به دست آمد که بر اساس معیار Wright (Wright و همکاران ۱۹۸۷) مقادیر ۰/۱۵-۰/۲۵ نشان دهنده تمایز بالا میان نمونه‌ها می‌باشد و میانگین جریان ژنی مابین جمعیت‌ها ۳/۵۹۴ به دست آمد، بالا بودن شاخص‌های تمایز و تنوع بین جمعیت‌ها نشان دهنده وجود جریان ژنی پایین در بین جمعیت‌ها می‌باشد (Pinera و همکاران ۲۰۰۷). آنالیز AMOVA نیز نشان داد که ۷۳٪ تنوع در درون جمعیت‌ها و ۲۷٪ بین جمعیت‌ها وجود دارد. میزان بیشترین شباهت و فاصله ژنتیکی بین مناطق نیز به ترتیب ۰/۲۷۳ و ۱/۴۴۲ به دست آمد. دندروگرام ترسیمی بر اساس فاصله ژنتیکی نیز جدایی جمعیتی بین مناطق را نشان داد. با توجه به محصور بودن و ارتباط محدود تالاب امیرکلایه با دریای خزر (تصویر ۱) و همچنین عمق نسبتاً زیاد سواحل غربی دریای خزر به نظر می‌رسد ارتباط محدودی بین جمعیت‌های این دو تالاب وجود داشته و دو جمعیت کاملاً متفاوت از اردک ماهی در

- populations' oV Spanish Coasts: a preliminary study. *Marine Biology*. 151: 2153–2158.
- Raymond, M. and Rousset, F., 1995. GENEPOP (VERSION 1.3): Population genetic software for exact tests and ecumenicisim. *Heredity*. 86: 248-249.
- Sambrook J., Fritsch E. F, Maniatis T., 1989: Electrophoresis of RNA through Gels Containing Formaldehyde: Molecular Cloning, 2nd edn. Cold Spring Harbor, NY: CSH Laboratory Press, p: 743-745
- 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.
- Wright, S. 1987. Evolution and the genetics of populations, vol. 4: variability within and among natural populations. University of Chicago Press, Chicago.
- Miller, L.M., Kapuscinski, A.R., 1996. Microsatellite DNA markers reveal new levels of genetic variation in northern pike. *Trans. Am. Fish. Soc.* 125: 971–977.
- Nei, M. 1972. Genetic distance between populations. *American Naturalist*. 106: 283-92.
- Yamamoto, S., Maekawa, K., Tamate, T., Koizumi, I., Hasegawa, K., and Kubota, H. 2006. Genetic evaluation of translocation in artificially isolated populations of white-spotted charr (*Salvelinus leucomaenis*). *Fisheries Research*. 78: 352-358.
- Yeh, F.C., Yang, R.C. and Boyle, T. 1999. POPGENE version 1.3.1. Microsoft Window-bases Freeware for population Genetic Analysis. Available: www.uallberta.ca/fyeh/. University of Alberta and the Centre for International Forestry Research.
- Evans, B., Bartlett, J., Sweijid, N., Cook, P., Elliott, N.G. 2004. Loss of genetic variation at microsatellite loci in hatchery produced abalone in Australia (*Haliotis rubra*) and south Africa (*Haliotis midae*). *Aquaculture*. 233: 109-127
- Ha, H. P., Nguyen, T. T., Poompuang, S., Na-Nakorn, U. 2009. Microsatellites revealed no genetic differentiation between hatchery and contemporary wild populations of striped catfish, *Pangasianodon hypophthalmus* (Sauvage 1878) in Vietnam. *Aquaculture*. 291: 154–160.
- Launey, S., Krieg, F., Morin, J., Laroche, J., 2003. Five new microsatellite markers for Northern pike (*Esox lucius*). *Mol. Ecol. Notes* 3: 366–368.
- Li, J., Wang, G., and Bai, Z. 2009. Genetic variability in four wild and two farmed stocks of the Chinese freshwater pearl mussel (*Hyriopsis cumingii*) estimated by microsatellite DNA markers. *Aquaculture*. 287: 286–291.
- Lucentini, L., Palomba, A., Lancioni, H., Gigliarelli, L., Natali, M., Panara, F. 2006. Microsatellite polymorphism in Italian populations of northern pike (*Esox lucius* L.). *Fisheries Research*. 80: 251–262.
- Nei, M. 1972. Genetic distance between populations. *American Naturalist*. 106: 283-92.
- Peakall, R. and Smouse, P.E.s 2006. GENALEX 6: genetic analysis in excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*. 6: 288-295.
- Pinera, J.A., Blanco, G., Vázquez, E., and Sánchez, J.A. 2007. Genetic diversity of blackspot seabream (*Pagellus bogaraveo*)

The genetic structure of Pike *Esox lucius* Linnaeus1758 in the Anzali lagoon and Amirkolaye lagoon of Gilan , using microsatellite markers

Mona Tabarrok¹, Mohammad reza Kalbassi^{1*}, Mohammad sadegh Alavi²

1. Department of fisheries, Faculty of Marine Science, Tarbiat Modares University, Noor, Tehran

2. Department of marine biology, Faculty of Marine Science, Tarbiat Modares University, Noor, Tehran

ABSTRACT

Esox lucius Linnaeus1758 is one of the economically valuable species of Caspian Sea. Genetic diversity of marine resources is of vital important in their management and protection. ; seven microsatellite loci were used to investigate the genetic variation of 60 samples of *Esox* in Amir and Anzali wetlands of Gilan. Results showed conspicuous genetic variation in regions using Fst, AMOVA and a relatively high level of gene flow was found among populations. The average observed and expected heterozygosity was 0.626 and 0.662 respectively. Assessment of Hardy-Weinberg equilibrium showed that all samples of studied showed significant deviations from Hardy-Weinberg equilibrium ($p \leq 0.05$). There were evidences for genetic bottleneck in the populations. Cluster and molecular variance analysis showed two completely distinct population in these wetlands, and this subject must be considered by fishery organization to resource management of this species.

Keywords: *Esox lucius*, Microsatellite, Heterozygosity, Hardy-Weinberg equilibrium.