بررسی مولکولی جمعیت ماهی سیاه کولی خزری *Vimba vimba persa* (pallas، 1814) با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره در استان گیلان واقع در جنوب دریای خزر

سمیرا محمدیان*[۱]، سهراب رضوانی‌گیل‌کلائی[۲]، محمد کاظمیان[۱]، ابوالقاسم کمالی[۱]، شقایق روح‌الهی[۳]، محمدجواد تقوی[۴] و فرامرز لالوئی[۴]

[۱] دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، ایران

[۲] موسسه تحقیقات شیلات ایران، تهران، ایران

[۳] دانشکده علوم دریایی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، ایران

[۴] پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، ساری، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۴/۳۰، تاریخ تصویب: ۱۳۸۹/۱۲/۲۰)

چکیده

جمعیت ماهی سیاه کولی دریای خزر (*Vimba vimba persa*) در دو منطقه از سواحل جنوبی دریای خزر (تالاب انزلی و رودخانه حویق واقع در استان گیلان) با استفاده از ده نشانگر ریزماهواره پلی مورف مورد مطالعه قرار گرفت. در مجموع ۱۵۳ الل مورد شناسایی گردید. بیشترین تعداد الل‌های مشاهده شده ۱۷ الل در جایگاه CA3 و کمترین آن ۳ الل در جایگاه Z8145 بوده که میانگین اللی در هر جایگاه ۷/۶ بدست آمد. میانگین هتروزایگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار به ترتیب ۰/۷۹ و ۰/۷۶ بود. بیشتر مناطق انحراف از تعادل هاردی - واینبرگ را نشان دادند. مقادیر محاسبه شده Fst در سطح معنی داری ($p\leq0.01$)، دو جمعیت از ماهی سیاه کولی خزری در سواحل جنوبی دریای خزر را نشان داد. بنابراین مدیریت برای حفاظت این گونه، برداشت پایا و بازسازی ذخایر با در نظر گرفتن حفظ تنوع ژنتیکی توصیه می‌شود.

وا ژه‌های کلیدی: سیاه کولی خزری *Vimba vimba persa*، ژنتیک جمعیت، ریزماهواره، دریای خزر

*نویسنده مسئول: تلفن: ۶۱۱۱۷۰۹۳-۰۲۱ فاکس: ۶۱۱۱۷۰۹۳-۰۲۱ E-mail: Samohamadian@yahoo.com

مقدمه

جهت بهره برداری پایدار از ذخایر ارزشمند زیستی، نیاز به شناخت کافی از وضعیت ذخایر گونه‌ها، نژادها و جمعیت‌های متعدد آنها می‌باشد تا اعمال مدیریت بهره برداری در جهت کمک به حفظ ذخایر، رهاسازی اصولی بچه ماهی‌ها و کاهش فشار صیادی بر اساس اصول علمی بنا گردد (رضوانی گیل کلائی و همکاران، ۱۳۸۸). بنابراین جهت تحقق اهداف مدیریتی، مطالعات مولکولی جمعیت روی ماهی‌ها انجام می گیرد (Park and Moran, 1995; Allenford *et al*., 1987). بررسی مولکولی جمعیت‌ها وابسته است به وجود نشانگرهای پلی مورفی که تاثیر پذیری از محیط نداشته باشند. از جمله این نشانگرها، نشانگرهای DNA ریزماهواره هستند که سطوح بالایی از پلی مورفیسم را نشان می دهند (Zhao *et al*., 2005)، این نشانگرها قادرند اطلاعات لازم در مورد تنوع ژنتیکی، تنوع اللی و پارامترهای دیگری که در ایجاد جمعیت‌ها نقش تعیین کننده دارند را در اختیار قرار دهند (Neigel, 1997; Beacham *et al*., 2000; Ward *et al*., 2001; Salini., *et al*, 2004). با توجه به کاهش چشمگیر ذخایر سیاه کولی دریای خزر (*Vimba vimba persa*)، این گونه طبق طبقه‌بندی IUCN[1] یکی از ذخایر در معرض تهدید دریای خزر اعلام شده است (Kiabi *et al*., 1999). تحقیق حاضر از اولین تحقیقاتی است که در ایران با استفاده از تکنیک‌های پیشرفته ژنتیکی (ریزماهواره) در خصوص ماهی سیاه کولی خزری (*Vimba vimba persa*) انجام شده است و هدف از این تحقیق مطالعه‌ی مولکولی ژنتیکی جمعیتهای احتمالی مربوط به گونه‌ی سیاه کولی در دریای خزر و همچنین معرفی نشانگرهای ژنتیکی مربوطه می‌باشد.

مواد و روش‌ها

تعداد ۶۱ نمونه از ماهی سیاه کولی خزری، شامل ۴۳ نمونه از تالاب انزلی و ۱۸ نمونه از مصب رودخانه حویق واقع در استان گیلان با استفاده از صید پره جمع‌آوری شد. ۲ تا ۳ گرم از بافت باله پشتی نمونه‌های جمع‌آوری شده و در تیوب های اپندرف ۱/۵ ml حاوی اتانل ۷۶٪ نگهداری و جهت انجام مطالعات به آزمایشگاه بیوتکنولوژی پژوهشکده دریای خزر واقع در شهر ساری منتقل شد. در آزمایشگاه، DNA ژنومی نمونه‌ها از بافت باله پشتی با استفاده از روش فنل - کلروفرم (Hillis and Moritz, 1990) استخراج گردید. کمیت و کیفیت DNA استخراج شده با استفاده از بیوفتومتر و الکتروفورز ژل آگارز ۱ درصد تعیین و سپس در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد تا زمان استفاده نگهداری شد. با توجه به اینکه آغازگرهای اختصاصی ریزماهواره این گونه در بانک ژنی (GenBank) وجود ندارد از ۱۷ جفت آغازگر ریزماهواره ای اختصاصی گونه‌های متعلق به خانواده کپورماهیان استفاده شد. مشخصات آغازگرهای ریزماهواره ای پلی مورف مورد استفاده شامل توالی پرایمر، شماره بانک‌ژنی و دمای اتصال آغازگرهای در جدول ۱ آورده شده است.

1- International Union for Conservation of Natural Resources

جدول ۱- جایگاه و شماره دسترسی به بانک ژنی آغازگرهای پلی مورف

جایگاه	توالی آغازگر	دمای اتصال	شماره بانک ژنی
CA3	GGACAGTGAGGGACGCAGAC TCTAGCCCCCAAATTTTACGG	۵۲	AF277575
CA7	ACACGGGCTCAGAGCTAGTC CAAATGTCAGGAGTTCTCCGA	۵۸	AF277579
Lco1	CACGGGACAATTTGGATGTTTAT AGGGGGCAGCATACAAGAGACACTA	۵۶	AY318777
Lco3	GCAGGAGCGAAATCATAAAT AAACAGGCAGGACACAAA	۶۲	AY318779
Lid-11	CTCCTGATTCTTTGTCTGACT TTATTATTTCCTGTGGTGATTG	۵۳	AB112736
Rru-2	TTCCAGCTCAACTCTAAAGA GCACCATGCAGTAACAAT	۵۴	AB112738
Z21908	CTCCTGATTCTTTGTCTGACT TTATTATTTCCTGTGGTGATTG	۵۴	G40277
Z8145	TTCCAGCTCAACTCTAAAGA GCACCATGCAGTAACAAT	۵۵	G40625
Z7,8	CTCCTGATTCTTTGTCTGACT TTATTATTTCCTGTGGTGATTG	۵۶	Shimoda *et al*., 1999
Z9,10	TTCCAGCTCAACTCTAAAGA GCACCATGCAGTAACAAT	۶۴	Shimoda *et al*., 1999

جهت انجام PCR و تکثیر ژن هدف، ۱۰۰ نانوگرم DNA استخراجی، ۱ میکرولیتر از پرایمرها (30 پیکومول) بعلاوه ۰/۵ میکرولیتر dNTP (۱۰ میلی مولار)، ۰/۲ میکرولیتر آنزیم DNA Taq Polymerase(۵u/µ)، ۲/۵ میکرولیتر بافر PCR (۱۰X)، ۰/۸ میکرولیتر MgCl2 (۵۰ میلی مولار) استفاده شد که در نهایت حجم آن با آب مقطر به ۲۵ میکرولیتر رسانده، چند ثانیه سانتریفوژ و تیوپ‌ها در ترموسایکلر (PCR) قرار گرفتند. محصول PCR با استفاده از ژل پلی آکریل آمید ۸ درصد به مدت ۳ ساعت با ولتاژ 150 W به همراه مارکر DNA (pBR322 DNA/AluI Marker, 20, MBI Fermentas) الکتروفورز شده و قطعات حاصل از PCR روی ژل با استفاده از نیترات نقره رنگ شد، سپس جهت سنجش وزن مولکولی محصول PCR بر حسب جفت باز (bp) و تعیین ژنوتیپ‌ها از نرم افزار UVDuc استفاده گردید. جهت بررسی تنوع اللی، هتروزایگوسیتی مورد انتظار (He) و مشاهده شده (Ho)، تعادل هاردی - واینبرگ (HWE) فاصله و شباهت ژنتیکی (Nei, 1978)، مقدار Fst که در توصیف تمایز جمعیت استفاده می‌شود و جریان ژنی (Nm) با استفاده از نرم افزار ژنتیک Gene Alex 6.2 محاسبه گردید (Peakall and Smous, 2005).

نتایج

در این بررسی با توجه به نتایج الکتروفورز محصول ناشی از ۱۷ جفت آغازگر، ده جفت آغازگر باندهای پلی مورف و سه جفت آغازگر (Lco5, Lid1, MFW2) باندهای مونومورف تولید کردند. بر اساس نتایج بدست آمده حداکثر تعداد الل‌ها در دو منطقه نمونه‌برداری در جایگاه CA3 با 16 الل و حداقل آن در جایگاه Z8145 با ۳ الل دیده شد. با توجه به جدول ۲ حداکثر فراوانی اللی در نمونه‌های منطقه تالاب انزلی ۰/۶۱۶مربوط به جایگاه Z8145 و حداقل آن ۰/۰۱۲ در جایگاه‌های CA3, CA7 و Z7,8 بوده است، همچنین حداکثر فراوانی اللی در نمونه‌های رودخانه حویق

۰/۶۵در جایگاه Lco3 و حداقل آن ۰/۰۱۷ در جایگاه‌های CA3, Rru-2 و Z21908 بدست آمد.

جدول ۲- فراوانی الل‌ها در جایگاههای مورد بررسی و مناطق نمونه‌برداری

جایگاه	حداکثر		حداقل	
	تالاب انزلی	رودخانه حویق	تالاب انزلی	رودخانه حویق
Ca3	۰/۱۶۳	۰/۱۵۰	۰/۰۱۲	۰/۰۱۷
Ca7	۰/۳۶۰	۰/۲۰۰	۰/۰۱۲	۰/۱۰۰
Lco1	۰/۲۲۱	۰/۳۵۰	۰/۰۲۳	۰/۰۵۰
Lco3	۰/۴۷۷	۰/۶۵۰	۰/۰۹۳	۰/۰۵۰
Lid11	۰/۲۳۳	۰/۰۱۲	۰/۰۳۵	۰/۰۳۳
Rru2	۰/۱۹۱	۰/۴۳۳	۰/۰۲۳	۰/۰۱۷
Z21908	۰/۳۰۲	۰/۴۶۷	۰/۰۲۳	۰/۰۱۷
Z8145	۰/۶۱۶	۰/۶۰۰	۰/۰۵۸	۰/۱۳۳
Z78	۰/۳۱۴	۰/۳۰۰	۰/۰۱۲	۰/۱۰۰
Z910	۰/۲۶۷	۰/۳۰۰	۰/۲۳	۰/۱۰۰

جدول ۳- مقادیر هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Ho) و مورد انتظار (He)، الل‌های واقعی (Na) و موثر (Ne) در ده جایگاه ریزماهواره پلی مورفیسم در مناطق نمونه‌برداری

جایگاه	منطقه نمونه‌برداری							
	تالاب انزلی				رودخانه حویق			
	Ne	Na	He	Ho	Ne	Na	He	Ho
CA3	××۱۱/۲۴	۱۶	۰/۹	۰/۷	۱۰	×××۱۲	۰/۹	۰/۸
CA7	×××۴/۲۷	۸	۰/۷	۰/۴	۶.۴۹۸	×۷	۰/۸	۰/۶
Lco1	×××۶/۴۰۹	۹	۰/۸	۰/۶	۴.۰۸۲	××۶	۰/۷	۰/۸
Lco3	ns۲/۹۹۴	۴	۰/۶	۰/۷	۲.۰۴۱	۴	۰/۵	۰/۶
Lid-11	×۶/۷۹۸	۱۱	۰/۸	۰/۹	۳.۹۰۵	×××۶	۰/۷	۱
Rru-2	×××۵/۷۲۴	۹	۰/۸	۰/۹	۳.۵۵۷	×۷	۰/۷	۰/۸
Z21908	×××۲/۰۴۴	۳	۰/۵	۰/۱	۲.۲۲۸	×۳	۰/۵	۰/۲
Z8145	×××۵/۱۳۶	۸	۰/۸	۱	۵.۱۱۴	×××۶	۰/۸	۱
Z7,8	×××۶/۱۱۲	۱۰	۰/۸	۱	۴.۷۲۴	×××۷	۰/۷	۱
Z9,10	××۸/۴۴۳	۱۱	۰/۸	۱	۳.۳۹۶	ns۶	۰/۷	۱
میانگین	۵/۹	۸/۹	۰/۷	۰/۷	۴/۵	۶/۴	۰/۷	۰/۸

*** اختلاف با احتمال خطای کمتر از ۰/۱ درصد (P<0.001) بسیار معنی دار است. ** اختلاف با احتمال خطای کمتر از ۱ درصد (P<0.01) معنی دار است. * اختلاف با احتمال خطای کمتر از ۵ درصد (P<0.05) معنی دار است. ns معنی دارنیست.

جدول ۳ نشان می‌دهد که بیشترین تعداد الل‌های موثر و الل‌های مشاهده شده در نمونه‌های منطقه تالاب انزلی به ترتیب ۱۱/۲۴ و ۱۶ و کمترین آن ۲/۰۴۴ و ۳ بود. در نمونه‌های رودخانه حویق نیز بیشترین تعداد الل‌های موثر و الل‌های مشاهده شده به ترتیب 10 و ۱۲ و کمترین آن ۲/۰۴۱ و 3 بود. همانگونه که جدول نشان می‌دهد در تمامی مناطق نمونه‌برداری و برای تمام جایگاهها مقدار Ne از Na کمتر می‌باشد. دامنه هتروزایگوسیتی مشاهده شده بین مناطق نمونه‌برداری در ده جایگاه بین ۰/۱۰تا ۱/۰۰۰ بود. دامنه هتروزیگوسیتی مورد انتظار در مناطق نمونه‌برداری بین ۰/۵۱۰ تا ۰/۹۱۱ بود. بیشترین مقدار هتروزایگوسیتی مورد انتظار در نمونه‌های رودخانه حویق مشاهده شده است.

بجز جایگاه Lco3 در نمونه‌های تالاب انزلی و رودخانه حویق و Z9,10 در رودخانه حویق خروج از تعادل هاردی - واینبرگ در همه ی جایگاه‌ها ($p\leq0.01$) دیده شد (جدول 3). مقدار Fst بین نمونه‌های تالاب انزلی و رودخانه حویق به ترتیب ۰/۰۵۲ و ۰/۰۳۳ با جریان ژنی (Nm=4/52) محاسبه گردید. محاسبه ی ماتریس فواصل وشباهت ژنتیکی با استفاده از معیار فاصله ژنتیکی Nei (1978) نشان داد که فاصله ژنتیکی و شباهت ژنتیکی بین نمونه‌های منطقه تالاب انزلی و رودخانه حویق بترتیب ۰/۲۴۷و ۰/۷۸۱ می‌باشد.

بحث و نتیجه‌گیری

در این بررسی تنوع ژنتیکی سیاه کولی خزری *Vimba vimba persa* در ده جایگاه ریزماهواره در منطقه تالاب انزلی و رودخانه حویق واقع در استان گیلان مورد مطالعه قرار گرفت. براساس نتایج بدست آمده، میانگین تعداد الل‌های مشاهده شده در ۶۳ نمونه جمع‌آوری شده از مناطق مورد مطالعه ۷/۶ بوده که این مقدار به شدت تحت تاثیر تعداد نمونه‌ها می‌باشد. قابل ذکر است به همین جهت این امکان وجود دارد که در آزمایشات گوناگون با تعداد نمونه‌های متفاوت تعداد الل‌های واقعی مختلفی برای یک جایگاه معین به دست می آید وجود حداقل تعداد۳۰ نمونه می تواند تعداد الل‌های واقعی را در بررسی های ریزماهواره نشان دهد (Goldstein and Scholotter, 1999; Silva and Russo, 2000; Peakall and Smous., 2005). میانگین هتروزایگوسیتی مشاهده شده در نمونه‌های رودخانه حویق بیشتر از نمونه‌های تالاب انزلی می‌باشد که می تواند تا حدودی بیانگر بالا بودن تنوع در این ناحیه نسبت به جمعیت تالاب انزلی باشد، که احتمالا می توان بروز چنین اختلافی را به علت کاهش فشار صید در رودخانه حویق و مهیا شدن فرصت بیشتر جهت تکثیر طبیعی دانست. فاکتور Fst بیان کننده توصیف تمایز جمعیت در سطوح مختلف ساختار ژنتیکی می‌باشد. با توجه به گزارش Wright در سال ۱۹۷۸ هرگاه میزان Fst بدست آمده کمتر از ۰/۰۵ باشد نشان دهنده وجود تمایز کم، مقدار بین ۰/۰۵ تا ۰/۱۵ نشان‌دهنده‌ی تمایز متوسط، مقدار بین ۰/۱۵ تا ۰/۲۵نشان‌دهنده‌ی تمایز بالا و مقدار بالای ۰/۲۵ نیز نشان دهندهی تمایز ژنتیکی خیلی بالا را در بین جمعیت‌ها می‌باشد، نمونه‌هایی که از نظر جغرافیایی نزدیکتر هستند، از نظر ژنتیکی نیز شباهت بیشتری دارند تمایز ژنتیکی بررسی شده با توجه به مکان جغرافیایی نزدیک معنی دار بود از این رو نتایج نشان می‌دهد که دو مکان جغرافیایی نشان‌دهنده‌ی دو جمعیت مجزا از هم هستند. از آنجاییکه پدید آمدن گونه‌های جدید منوط به افزایش اختلافات ژنتیکی میان جمعیت‌های جدا یا نسبتا جدا از یکدیگر می‌باشد، بنابراین به طور قطع می توان میان پارامترهایی نظیر جریان ژنی، فواصل جغرافیایی و گونه زایی ارتباط برقرار نمود (Beacham *et al.*, 2004). میزان جریان ژنی (Nm) به تعداد مولدین مهاجر از یک منطقه به منطقه دیگر اطلاق می‌شود که هرچه این میزان بین دو منطقه بیشتر باشد به این معنی است که مهاجرت در بین دو منطقه

بیشتر است و اختلاف ژنتیکی کمتر و میزان تنوع ژنتیکی در دو منطقه بیشتر می‌شود (Rezvani Gilkolaei, 2009; Beacham *et al*., 2004). بر اساس گزارش Li در سال ۲۰۰۷ هرگاه Nm>1 باشد جریان ژنی اصلی ترین عامل در ایجاد تمایز ژنتیکی است و هرگاه Nm<1 باشد رانش ژنی عامل اصلی ایجاد تمایز ژنتیکی می‌شود از این رو نتایج حاضر نشان دهنده اینست که عامل ایجاد تمایز ژنتیکی بین جمعیت‌ها جریان ژنی به میزان 4/52 بوده و علت وجود تنوع ژنتیکی بالا در بین این گونه را می توان وجود جریان ژنی در بین جمعیت‌ها دانست. در بررسی تعادل هاردی-واینبرگ، هر دو منطقه در بیشتر جایگاه‌ها انحراف از تعادل را نشان دادند (P<0.001). Israel *et al.* (2004) عدم تعادل معنی دار را به دلیل وجود ذخایر متعدد دانستند که این اطلاعات نشان دهنده وجود یک یا چند جمعیت تخم ریز است، Zhao *et al.* (2005) این انحراف را ناشی از وجود الل‌های صفر که پهلوگیری در آنها صورت نمی پذیرد، Shao *et al.* (2002) مهاجرت ماهیان مولد و وجود آمیزش های خویشاوندی در بین گونه و Dahle *et al.* (2006) انحراف از تعادل را ناکافی بودن تعداد نمونه‌ها و خطای نمونه‌برداری اعلام داشتند. در این مطالعه خروج از تعادل را میتوان به دلیل استفاده از آغازگرهای غیر اختصاصی، وجود الل‌های صفر، تعداد کم نمونه‌ها و خطای نمونه‌برداری دانست.

هدف اصلی در حفاظت یک گونه نگهداری تنوع ژنتیکی در آن است، سازگاری و بقا یک گونه زمانی حفظ می‌شود که تنوع ژنتیکی موجود از بین نرود (Meffe and Carool, 1997)، اگر برنامه‌های مدیریتی جهت رها سازی یک گونه تمامیت ژنتیکی افراد را مورد توجه قرار دهد در این صورت یک جمعیت حفظ می‌شود. اما استفاده از سایر جمعیت‌ها می تواند تمایر ژنتیکی را تهدید نماید. این بررسی نشان‌دهنده‌ی وجود جمعیت‌های مجزا می‌باشد، از اینرو اگر قرار است در آینده برنامه‌های مدیریتی جهت حفاظت از این گونه صورت پذیرد، باید به ساختار جمعیت‌های محلی توجه شود.

به عنوان نتیجه‌گیری نهایی می توان بیان نمود که گونه‌ی *Vimba vimba persa* واقع در تالاب انزلی و رودخانه حویق دو جمعیت متمایز از هم را تشکیل می دهند و به عنوان گونه وحشی همچنان تنوع ژنتیکی خود را در حد بالا حفظ نموده اند. فعالیت های بازسازی ذخایر در این گونه ضروری است و با توجه به مستقل بودن ذخایر هر یک از جمعیت‌های تالاب انزلی و رودخانه حویق پیشنهاد می‌شود در آینده جهت انجام برنامه‌های رهاسازی، بچه ماهی‌های هر رودخانه از مولدین مهاجر به همان رودخانه تولید گردند و رهاسازی شوند، که این بررسی اطلاعات مفیدی را در این زمینه فراهم نموده است. همچنین این مطالعه نشان داد که می توان از نشانگرهای ریز ماهواره در گونه‌هایی با خویشاوندی نزدیک استفاده نمود.

سپاسگزاری

از موسسه تحقیقات شیلات ایران جهت تامین منابع مالی، تجهیزات و امکانات آزمایشگاهی، پژوهشکده اکولوژی دریای خزر و دکتر پورغلام رئیس پژوهشکده اکولوژی دریای خزر به خاطر در اختیار قرار دادن آزمایشگاه و فراهم نمودن امکانات اقامتی و از همکاری خانم محجوبه نیرانی در آزمایشگاه و آقایان کر و طالشیان در جمع‌آوری نمونه‌ها تشکر و قدردانی می‌گردد.

References

- Allendorf, F., Ryman, N. and Utter, F. 1987. Genetics and fishery management. University of Washington. Wasgington.
- Beacham, T.D., Pollard, S., Le, K.D. 2000. Microsatellite DNA population structure and stock identification of steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*) in the Nass and Skeena rivers in Northern British Columbia. Marine Biotechnology. 2: 587–602.
- Beacham, T.d., Mcintosh, M. and MacConnachie., C. 2004. Population structure of lake-type and river-type sockeye salmon in Transboundary rivers of northern British Columbia. Journal of Fish. Biology, 65: 389-402.
- Dahle, G., Jorstad, K. E., Rusaas, H. E. and Ottera, H. 2006. Genetic characteristics of brood stock collected from four Norwegian coastal cod (*Gadus morhua*) populations. ICES Journal of Marine Science. 63, 209-215.
- Goldstein, D.B. and Schlotterer, C. 1999. Microsatellites: Evolution and Applications. Oxford University Press, New York, 368 p.
- Hillis, D. M. and Moritz, C. 1990. Molecular taxonomy, Sinauer associate, publishers. Masschusetts. 588 pp
- Israel, J., Cordes, J. F., Blumberg, M. A and May, B. 2004. Geographic pattern of genetic differentiation among collections of green sturgeon, North America Journal of Fisheries Management. 24: 922-931.
- Kiabi, B.H., Abdoli, A., and Naderi, M. 1999. Status of the fish fauna in the south Caspian basin of Iran. Journal of Zoology in the Middle East, 18: 57-65.
- Li, D., Kang, D., Yin, Q., Sun, Z. and Liang, L. 2007. Microsatellite DNA Marker Analysis of Genetic Diversity in Wild Common Carp (*Cyprinus carpio* L.) Populations. Genetics and Genomics, 34: 984-993.
- Meffe, G. K., and Carroll, C. R. 1997. Genetic conservation of diversity within species in principles of conservation biology, eds. G. K. Meffe C. R. Carrol, pp. 161-21. Sunderland, Ma: Sinauer Associates, Inc: Publisher.
- Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. Genetics, 89: 583-590.
- Neigel, J.E. 1997. A compairson of alternative strategies for estimating gene flow from genetic markers. Annual Review of Ecology and Systematic, 28: 105-128.
- Park, L.K. and Moran, P. 1995. Developments in molecular genetic techniques in fisheries. Molecular Genetics in Fisheries. London.
-Peakall, R., Smouse, P. E., 2006. Gene Alex 6: Genetic Analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. Molecular Ecology and Systemic. 28: 105-128.
- Rezvani Gilkolaei. K., Salari Aliabadi, M. A., Zolgharnain, H., Nabavi, S.M.B. 2009. Population genetic structure of Cobia, *Rachycentron canadum* revealed by microsatellite markers. Iranian journal of Fisheries science, 3:61-69.
- Salini, J.P., Milton, D.A., Rahaman, M.J., Hussein, M.G. 2004. Allozyme and morphological variation throughout the geographic range of the tropical shad, *hilsa Tenualosa ilisha*. Fish Research. 66: 53–69
- Shao, ZJ., Zhao, N., Zhu, B., Zhou, FL., Chang, JG. 2002. Application of microsatellite primers developed from shovelnose sturgeon in Chinese sturgeon. Acta Hydrobiologyca Siniea, 26: 577-584.
- Shimoda, N., Knapik, E.W., Ziniti, J., Sim, C., Yamada, E., Kaplan, S., Jackson, D., Sauvage, F.D., Jacob, H and Fishman, M. C. 1999. Zebrafish genetic map with 2000 Microsatellite markers. GENOMIC Journal: 58, 218-232
- Silva, E.P., Russo, C.A.M. 2000. Techniques and statistical data analysis in molecular population genetics. Hydrobiologia, 420: 119–135.
- Ward, R.D., Appleyard, S.A., Daley, R.K., Reilly, A. 2001. Population structure of pink ling (*Genypterus blacodes*) from south-eastern Australian waters, inferred from allozyme and microsatellite analyses. Mar. Freshwater Research. 52: 965–973.
- Wright, S. 1978. Evolution and the genetics of populations variability within and among natural populations. University of Chicago Press. 2nd Ed., University of Chicago Press, Chicago.
- Zhao, N., Ai, W., Shao, Z., Zhu, B., Brosse, S and Chang, j. 2005. Microsattelite assessment of Chinese sturgeon (*Asipenser sinenis gray*) genetic variability. Ichthyology. 21:7-13

A Study on Population Genetics of *Vimba vimba Persa* (Pallas, 1814) Using Microsatellite Markers in Gilan Province, the Southern Caspian Sea

S. Mohamadian*[1], S. Rezavani Gilkolaei[2], M. Kazemian[1], A. Kamali[1], Sh. Rouhollahi[3], M. Javad Taghavi[4] and F. Laloei[4]

[1] Islamic Azad University, Science and Research Branch, Department of Fisheries, Tehran, I.R. Iran
[2] Iranian Fisheries Research Organization, Tehran, I.R. Iran
[3] Khoramshahr Marine Science and Technology University, Khoramshahr, I.R. Iran
[4] Ecology Research Center of the Caspian Sea, Sari, I.R. Iran
(Received: 21 July 2010, Accepted: 10 March 2011)

Abstract

Population of *Vimba vimba persa* was investigated using microsatellite markers originated from two regions along the Iranian coastline of Southern Caspian Sea (Anzali Lagoon and Havigh River in Gilan province). Totally 153 alleles were identified. The highest number of alleles per CA3 loci was 17 and the lowest 3 in Z8145 loci with means of 7.6. Observed and expected heterozygosity averages were 0.79 and 0.76, respectively. Most cases deviated significantly from Hardy-Weinberg equilibrium ($p \leq 0.01$). The estimation of *F*st ($p \leq 0.01$) identified significantly two populations of *Vimba vimba persa* in the Caspian Sea. Studies of this kind assist conservation of this species, sustainable harvest and restocking of the populations.

Keywords: *Vimba vimba persa,* Population genetic, Microsatellite, Caspian Sea

*Corresponding author: Tel: +98 21 61117093 , Fax: +98 21 61117093 , E-mail: Samohamadian@yahoo.com