نشریه شیلات، مجله منابع طبیعی ایران
دوره ۶۷، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۲
ص ۲۷۵-۲۸۵

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۱۲/۹
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۷/۷

ساختار ژنتیکی جمعیت سگ‌ماهی جویباری (*Turcinoemacheilus kossiwigi* Banarescu and Nalbant, 1964) در رودخانهٔ بریم (کهگیلویه و بویراحمد) و خیرآباد (خوزستان) با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره

❖ **قاسم عسگری*:** دانشجوی دکترا، گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی منابع طبیعی گرگان،ایران
❖ **حامد کلنگی میاندره:** استادیار، گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان،ایران
❖ **علی شعبانی:** دانشیار، گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان،ایران

چکیده

از شش جایگاه ریزماهوارهٔ IC228، IC434، IC720، Bbar3، Bbar7 و Bbar8 به منظور بررسی تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیتی ماهی *Turcinoemacheilus kossiwigi*، در دو رودخانهٔ بریم و خیرآباد، استفاده شد. در مجموع، تعداد ۶۰ نمونه (۳۰ نمونه برای هر رودخانه) استفاده و تعداد ۱۲۵ الل با متوسط ۱۰/۴ الل برای هر لوکوس محاسبه شد. به ترتیب بیشترین و کمترین تعداد الل مشاهده‌شده ۱۷ و ۶ عدد برای جمعیت رودخانهٔ بریم بود. میانگین هتروزایگوسیتی مشاهده‌شده (Ho) و مورد انتظار (He) به ترتیب ۰/۴۶۷ و ۰/۸۴۳ بود. ۱۰ جایگاه ژنی انحراف معنی‌داری را از تعادل هاردی – واینبرگ نشان داد. نتایج Fst (۰/۰۳۶) و Rst (۰/۳۴۱) تمایز ژنتیکی پایینی را در بین مناطق نشان می‌دهد. آنالیز واریانس مولکولی فقط ۳ درصد تنوع را در بین جمعیت‌ها نشان داد. بر اساس نتایج، محافظت و بازسازی زیستگاه‌ها می‌تواند به افزایش اندازهٔ جمعیت و کاهش خطر آسیب‌پذیری این گونه در آینده کمک کند.

واژگان کلیدی: بریم، تنوع ژنتیکی، خیرآباد، ریزماهواره، *Turcinoemacheilus kossiwigi*.

* نویسندهٔ مسئول تلفن: ۰۹۳۶۳۱۴۸۰۴۵
Email: askarighasem82@gmail.com

۱. مقدمه

لوچ‌ماهیان دومین گروه بزرگ‌ماهیان آب شیرین بعد از کپورماهیان در ایران و شامل ماهیانی با جثه‌های بسیار کوچک در ۱۹ حوضهٔ آبریز ایران هستند. این ماهیان در ایران دو خانوادهٔ بالیتوریده[1] و کوبیتیده[2] را شامل می‌شوند. بیش از ۴۰ درصد از لوچ ماهیان ایران بومی‌اند (Abdoli and Golzarianpoor, 2010). Coad در سال‌های ۱۹۹۵، ۱۹۹۶ و ۱۹۹۸ جغرافیای جانوری و تنوع زیستی ماهیان آب شیرین ایران را تشریح کرد. گونهٔ *Turcinoemacheilus kosswigi* از خانوادهٔ سگ‌ماهیان جویباری و پراکنش آن مربوط به جنوب غرب (حوضهٔ دجله) است. دارای بدنی کشیده و باریک است که به آن امکان زیست در بسترهای شنی و قلوه‌سنگی با شدت جریان زیاد را می‌دهد؛ بدنی با زمینهٔ قهوه‌ای دارد که در بین آن لکه‌های زرد پراکنده‌ای دیده می‌شود. منافذ خط جانبی در این گونه نسبت به سایر سگ‌ماهیان جویباری موجود در ایران بزرگ‌تر و به راحتی مشاهده‌شدنی است. در آب‌های تمیز با گل‌آلودگی کم زندگی می‌کند. این گونه در بسیاری از سرشاخه‌های رودخانه‌های کارون و دز گزارش شده است و بیشینهٔ طول آن را ۵/۹ سانتی‌متر گزارش کرده‌اند (Golzarianpour *et al.*, 2011).

مطالعات ژنتیکی برای تعیین پراکندگی و مرزهای اکولوژیکی موجودات، حتی برای موجودات با مهاجرت زیاد، بسیار کارامد است (Palumbi, 2003). دستیابی به خصوصیات ژنتیکی موجودات به منظور حفاظت از منابع ژنتیکی و جلوگیری از کاهش تنوع ژنتیکی بسیار مهم و ضروری است (Li *et al.*, 2007; Peng *et al.*, 2009). هدف اصلی مطالعات ژنتیک حفاظت و نگهداری تغییرات ژنتیکی ایجادشده در جمعیت‌ها طی گذشت زمان است، زیرا اطلاعات کاملی را دربارهٔ تاریخچهٔ سیر تکاملی گونه‌ها در اختیار قرار می‌دهد (Narum *et al.*, 2004). تنوع ژنتیکی عاملی مهم در حفاظت از گونه‌های در معرض خطر است (Na-Nakorn *et al.*, 2006). امروزه به منظور بررسی تنوع ژنتیکی از نشانگرهای مولکولی متنوعی استفاده می‌شود، اما یکی از کارامدترین این نشانگرها ریزماهواره‌ها هستند. امروزه، این نشانگرها به علت پلی‌مورفیسم بالا، نشان‌دادن میزان بالای جهش، هم‌بارزی، تعداد زیاد باندها و ارزیابی پراکنش ژنومی در مطالعات ژنتیک جمعیت به طور گسترده استفاده می‌شوند (Was and Wenne, 2002).

تاکنون مطالعات زیادی در بررسی تنوع ژنتیکی ماهیان دارای ارزش اقتصادی در ایران انجام شده است (قدسی و همکاران، ۱۳۹۰؛ قلیچ‌پور و همکاران، ۱۳۸۹؛ کشیری و همکاران، ۱۳۸۹؛ رضایی و همکاران، ۱۳۸۹)، اما تاکنون در زمینهٔ ماهیان اکولوژیک مطالعات بسیار اندکی انجام شده است. سگ‌ماهیان جویباری و رفتگرماهیان (لوچ‌ماهیان) از جمله ذخایر مهم ژنتیکی در آب‌های داخلی ایران محسوب می‌شوند و، با توجه به بومی‌بودن بسیاری از این گونه‌ها، تحقیق روی آنها لازم و ضروری به نظر می‌رسد. رحمانی و همکاران، در سال ۱۳۸۸، به بررسی شاه‌کولی در رودخانه‌های هراز، شیررود و گزافرود با استفاده از نشانگر RLFP پرداختند. با

1 Balitoridae
2 Cobitidae

توجه به روند رو به رشد آلودگی رودخانه‌ها و در معرض‌بودن آبزیان در برابر این آلاینده‌ها، نیاز به حفاظت از گونه‌های بومی و اندمیک آب‌های داخلی امروزه بیش از گذشته احساس می‌شود. از سوی دیگر، به علت توپوگرافی متنوع در ایران و وجود موانع طبیعی بسیار در مسیر مهاجرت ماهیان آب‌های داخلی، این تحقیق به منظور بررسی اثر آلودگی و موانع طبیعی در تنوع ژنتیکی دو جمعیت سگ‌ماهی جویباری (*Turcinoemacheilus kosswigi*) با استفاده از شش جایگاه ریزماهواره‌ای انجام شد.

۲. مواد و روش‌ها

تعداد ۶۰ نمونه ماهی در آذر ۱۳۹۱ از دو رودخانهٔ بریم (گچساران/ کهگیلویه و بویراحمد) با طول جغرافیایی ″۳۲ ′۱۵ °۵۱ شرقی و عرض جغرافیایی ″۸۸ ′۱۹ °۳۰ شمالی، و خیرآباد (بهبهان/ خوزستان) با طول جغرافیایی ″۰۹ ′۲۴ °۵۰ شرقی و عرض جغرافیایی ″۳۹ ′۳۱ °۳۰ شمالی صید شدند. در مسیر رودخانهٔ بریم چندین کارخانهٔ شن و ماسه وجود داشت و محل نمونه‌برداری ما در پایین‌دست این کارخانه‌ها واقع شده بود؛ در حالی که، محل نمونه‌برداری در رودخانهٔ خیرآباد در منطقه‌ای تقریباً بکر واقع بود. به منظور استخراج DNA بالهٔ ماهیان جدا و در اتانول ۹۶ درصد تثبیت شد. برای شناسایی قطعی این گونه بر اساس خصوصیات مورفومتریک و مریستیک این گونه از سایت‌های briancoad و Fishbase استفاده شد. استخراج DNA به روش فنول – کلروفورم انجام شد (Sambrook *et al.*, 1989). در این روش بالهٔ ماهی در بافر STE (سدیم دو دسیل سولفات) به همراه پروتئیناز K به مدت ۲۴ ساعت هضم سپس، خالص‌سازی به کمک فنول و کلروفورم انجام شد. پس از رسوب و شست‌وشو، DNA در آب مقطر حل شد. کمیت و کیفیت DNA با دستگاه اسپکتوفتومتر و ژل آگارز تعیین شد (ibid).

شکل ۱. موقعیت جغرافیایی مناطق نمونه‌برداری

در این مطالعه از ۱۵ جفت نشانگر ریزماهواره استفاده شد که فقط ۶ جفت نشانگر IC228، IC434، IC720، Bbar3، Bbar7 و Bbar8 تولید باند پلی‌مورف کردند (جدول ۱). این نشانگرها برای اولین بار برای مطالعات دو گونه از لوچ‌ماهیان استفاده شدند (Bang *et al.*, 2009; Taylor *et al.*, 2001). واکنش زنجیرهٔ پلی‌مراز (PCR) با استفاده از ۵ میکرولیتر بافر PCR (10X)، dNTP با غلظت µM ۲۰۰، ۱ واحد بین‌المللی آنزیم DNA پلی‌مراز (Amersham Pharmacia Biotech، شرکت سیناکلون)، ۲۰ نانوگرم DNA هدف و آب مقطر تا رسیدن به حجم ۲۵ میکرولیتر انجام شد. سیکل دمایی برای هر جایگاه عبارت بود از ۳ دقیقه در ۹۴ درجهٔ سانتی‌گراد، در ادامه، ۳۵ چرخه شامل ۹۴ درجه برای ۳۰ ثانیه، درجهٔ حرارت اتصال ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه برای ۱ دقیقه، با یک بسط نهایی ۷۲ درجه برای

۳ دقیقه. محصول زنجیرهٔ پلی‌مراز روی ژل پلی‌اکریل آمید ۸ درصد (غیریونیزه‌شده) جداسازی و به وسیلهٔ روش نیترات نقره رنگ‌آمیزی شد (Bassam *et al.*, 1991).

فراوانی اللی، هتروزایگوسیتی مشاهده‌شده (Ho) و مورد انتظار (He)، تعادل هاردی – واینبرگ (HWE)، مقادیر Fst و Rst و جریان ژنی با استفاده از نرم‌افزار Genealex ver.6.5 (Peakall and Smouse, 2012) محاسبه شد. فاصله و شباهت ژنتیکی (Nei, 1978) و رابطهٔ فیلوژنیک جمعیت‌ها با نرم‌افزار PopGene ver 1.31 محاسبه شد (Yeh *et al.*, 1999).

جدول ۱. خصوصیات جایگاه ژنی مورد استفاده

جایگاه ژنی	وزن (جفت باز)	تعداد الل	پرایمر	شمارهٔ بانک ژن	دمای اتصال
Bbar3	۹۲ – ۱۲۸	۱۵	F: TACCCTCCTAGGCTTGCTGA R: CTGGGGCTTTTCATTTTGAG	AF310878	۵۳
Bbar7	۳۴۴ – ۳۸۴	۸	F: GAGCAACAGCTGCTGTAGGA R: GTCGGACCAACCTGAAAACT	AF310881	۵۰
Bbar 8	۱۸۰ – ۲۱۶	۱۱	F: CTCCCTGGATTACTCCCTGA R: AGCGCGTCTGTGAAGTTTCT	AF310882	۴۹
IC228	۱۸۴ – ۲۵۲	۸	F: NED-AATACGAAACTACTTGGTAATGGC R: GTGAAAAGGTCCAGTTAAAAGC	EU252085	۴۹
IC434	۲۱۶ – ۲۶۴	۱۱	F: 6FAM-TCCACCATGACCATTTTTACATA R: GGTGTCTGGATCTCATCTTGAA	EU252092	۵۳
IC720	۲۴۰ – ۲۸۸	۱۱	F: NED-CGCAATGCATTCTCCAATCTCAA R: GACCCCACTCATCACTGCCTCTC	EU252097	۵۹

۳. نتایج

به منظور بررسی ساختار و تنوع ژنتیکی سگ‌ماهی جویباری (*Turcinoemacheilus kosswigi*) از ۱۵ جفت نشانگر غیراختصاصی مربوط به سایر گونه‌های لوچ‌ماهیان استفاده شد. از بین نشانگرهای مورد استفاده ۶ جفت باند پلی‌مورف تولید کردند. در مجموع، تعداد ۱۲۵ الل در هر دو جمعیت مشاهده شد. بر اساس نتایج حداکثر تعداد الل در بین دو منطقهٔ نمونه‌برداری در جایگاه Bbar3 (۱۷الل) و کمترین میزان آن در جایگاه Bbar7 (۶ الل) در جمعیت رودخانهٔ بریم مشاهده شد. بیشترین میزان الل مشاهده‌شده و مورد انتظار در جمعیت رودخانهٔ بریم به ترتیب ۱۷، ۱۴/۲۹۷ و کمترین میزان آن به ترتیب ۶ و ۳/۶۸۶ بود. در جمعیت رودخانهٔ خیرآباد بیشترین میزان الل مشاهده‌شده و مورد انتظار به ترتیب ۱۳، ۸/۶۰۲ و کمترین میزان آن به ترتیب ۸، ۵/۴۸۲ بود (جدول ۲).

میانگین هتروزایگوسیتی مشاهده‌شده و مورد انتظار به ترتیب ۰/۴۶۷ و ۰/۸۴۳ و متوسط هتروزایگوسیتی مشاهده‌شده برای رودخانهٔ بریم و

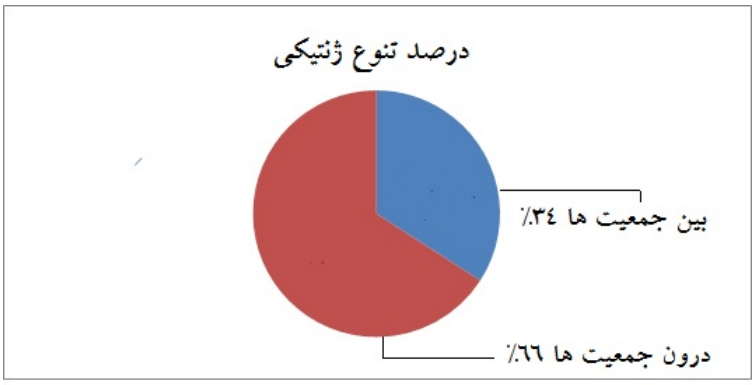
خیرآباد به ترتیب ۰/۴۴۹ و ۰/۴۸۶ محاسبه شد. کمترین میزان هتروزایگوسیتی مشاهده‌شده (۰/۲۱۷) برای جایگاه Bbar7 رودخانهٔ بریم و بیشترین میزان آن برای جایگاه IC434 رودخانهٔ خیرآباد محاسبه شد. کمترین و بیشترین میزان هتروزایگوسیتی مورد انتظار به ترتیب مربوط به جایگاهBbar7 (۰/۷۲۹) و Bbar3 (۰/۹۳۰) رودخانهٔ بریم بود. محاسبهٔ مقادیر هتروزایگوسیتی نشان می‌دهد که در هر دو منطقهٔ نمونه‌برداری برای تمامی جایگاه‌ها میزان هتروزایگوسیتی مورد انتظار بیش از هتروزایگوسیتی مشاهده‌شده است. از ۱۲ تست هاردی – واینبرگ موجود ۱۰ تست انحراف از تعادل هاردی - واینبرگ را نشان داد (جدول ۲). متوسط شاخص درون‌آمیزی (F_{IS}) برای جمعیت بریم و خیرآباد به ترتیب ۰/۴۵۸ و ۰/۴۳۴ به دست آمد.

میزان Fst، Rst و جریان ژنی (Nm) بین دو جمعیت به ترتیب ۰/۶۴، ۰/۳۴۱ و ۹/۲۱۷ محاسبه شد (جدول ۳). بر اساس شاخص Rst، ۳۴ درصد تمایز در بین و ۶۶ درصد درون جمعیت‌ها مشاهده شد (شکل ۲). میزان شباهت و فاصلهٔ ژنتیکی بین مناطق نیز به ترتیب ۰/۶۲۱ و ۰/۴۷۶ به دست آمد (جدول ۳). دندروگرام UPGMA بر اساس مقدار فاصلهٔ ژنتیکی نشان داد که این دو منطقه در دو شاخهٔ مجزا قرار دارند.

جدول۲. تنوع ژنتیکی جایگاه‌های ژنی مورد استفاده در جمعیت‌های مورد بررسی

منطقه		Bbar3	Bbar7	Bbar8	IC228	IC434	IC720
بریم (گچساران)	N_a	۱۷	۶	۸	۸	۱۱	۹
	N_e	۱۴/۲۹۷	۳/۶۸۶	۵/۰۲۳	۶/۰۱۱	۵/۹۷۷	۶/۱۵۱
	H_o	۰/۳۰۴	۰/۲۱۷	۰/۴۳۵	۰/۶۹۶	۰/۳۴۸	۰/۶۹۶
	H_e	۰/۹۳۰	۰/۷۲۹	۰/۸۰۲	۰/۸۳۴	۰/۸۳۳	۰/۸۳۷
	F_{IS}	۰/۶۷۳	۰/۷۰۲	۰/۴۵۸	۰/۱۶۶	۰/۵۸۲	۰/۱۶۹
	pHw	***	***	ns	***	***	***
خیرآباد (بهبهان)	N_a	۱۲	۱۰	۱۳	۸	۱۰	۱۳
	N_e	۷/۷۲۳	۶/۵۷۱	۸/۶۰۲	۵/۴۸۲	۶/۶۵۴	۸/۶۰۲
	H_o	۰/۳۹۱	۰/۴۳۵	۰/۳۰۴	۰/۳۹۱	۰/۷۸۳	۰/۶۰۹
	H_e	۰/۸۷۱	۰/۸۴۸	۰/۸۸۴	۰/۸۱۸	۰/۸۵۰	۰/۸۸۴
	F_{IS}	۰/۵۵۰	۰/۴۸۷	۰/۶۵۶	۰/۵۲۱	۰/۰۷۹	۰/۳۱۱
	pHw	***	***	***	***	ns	***

N_a: تعداد الل، N_e: تعداد الل مؤثر، H_O: هتروزایگوسیتی مشاهده‌شده، H_e: هتروزایگوسیتی مورد انتظار، F_{IS}: ضریب درون‌آمیزی، pHw: تست احتمال هاردی- واینبرگ (ns: عدم معنی‌داری، ۰/۰۵ ≤ P*، ۰/۰۱ ≤ P**، ۰/۰۰۱ ≤ P***).



شکل ۲. توزیع تنوع ژنتیکی بر اساس معیار Rst

جدول ۳. میزان جریان ژنی (Nm) و تمایز (Fst) در سطح شش جایگاه ژنی مورد استفاده

جایگاه ژنی	Bbar3	Bbar7	Bbar8	IC228	IC434	IC720	میانگین
Nm	۱۷/۰۰۹	۶/۰۸۸	۴/۰۷۱	۴/۶۲۲	۱۴/۱۲۷	۹/۳۸۷	۹/۲۱۷
Fst	۰/۰۱۴	۰/۰۳۹	۰/۰۵۸	۰/۰۵۱	۰/۰۱۷	۰/۰۲۶	۰/۰۳۴

۴. بحث و نتیجه‌گیری

پلی‌مورفیسم در ژنوم هستهٔ موجودات، به‌منزلهٔ شاخص ژنتیکی ارزشمندی، برای ارزیابی تنوع و ساختار ژنتیکی با هدف حفاظت از ذخایر ژنی گونه‌ها مطرح است (Alarcon *et al.*, 2004). مدیریت ذخایر، در صورتی که بر پایهٔ اطلاعات دقیق مولکولی باشد، می‌تواند علاوه بر حفظ تنوع زیستی میزان بهره‌برداری را به حد بهینه برساند (Thai *et al.*, 2006). تنوع ژنتیکی آبزیان یکی از شاخص‌های مهم تعیین شرایط اکولوژیک منابع آبی است (Zhou *et al.*, 2003). بر اساس کنوانسیون ۱۹۹۲ ریو (کنفرانس ملل متحد در زمینهٔ مطالعات زیست و توسعه) تنوع زیستی عبارت است از تفاوت بین موجودات زنده در یک مجموعهٔ اکولوژیک و شامل تنوع درون‌گونه‌ای یک اکوسیستم است (Gray and John, 1997). اتحادیهٔ بین‌المللی حفاظت از گونه و منابع طبیعی (IUCN) تنوع ژنتیکی را به‌منزلهٔ یکی از سه عامل حفاظت از گونه‌ها بیان کرده است (Mcneely and Miller, 1990). امروزه، هدف اصلی از مطالعات ژنتیک مولکولی در آبزیان آنالیز ساختار جمعیتی، تنوع ژنتیکی، ارتباطات گونه‌ای، سیستماتیک و طبقه‌بندی آنهاست (Rezvani Gilkolaei, 1997).

در این مطالعه، تنوع ژنتیکی سگ‌ماهی جویباری (*Turcinoemacheilus kosswigi*) با استفاده از ۶ جفت نشانگر ریزماهواره در رودخانه‌های بریم و خیرآباد بررسی شد. بر اساس نتایج، میانگین تعداد الل مشاهده‌شده در رودخانه‌های بریم و خیرآباد به ترتیب ۱۰ و ۱۱ بود. همچنین، میانگین تعداد الل مؤثر در این دو رودخانه به ترتیب ۶/۸۶۰ و ۷/۲۷۲ بود. شایان ذکر است که الل مشاهده‌شده در هر

جایگاه ژنی به‌شدت تحت تأثیر تعداد نمونه است و به همین علت، امکان دارد که در آزمایش‌های با تعداد نمونهٔ متفاوت تعداد الل‌های مختلفی برای جایگاه ژنی معین به دست آید (Peakall and Smouse, 2012). بر اساس نتایج، میانگین هتروزایگوسیتی مشاهده‌شده در دو منطقهٔ نمونه‌برداری ۰/۴۶۷ و هتروزایگوسیتی مورد انتظار ۰/۸۴۳ بود. به طور کلی، میانگین هتروزایگوسیتی مشاهده‌شده برای ماهیان آب شیرین ۰/۴۶ بود (DeWoody and Avise, 2000). نتایج نشان می‌دهد که هتروزایگوسیتی مشاهده‌شده در حدود مورد انتظار برای ماهیان آب شیرین است. فراوانی هتروزایگوت‌ها از این نظر مهم است که هر هتروزایگوت ناقل الل‌های متفاوتی است و باعث تنوع می‌شود. به همین علت، معمول‌ترین معیار تنوع ژنتیکی در یک جمعیت میزان هتروزایگوسیتی است (Brighitte *et al.,* 2005). هتروزایگوسیتی بیانگر طیف وسیعی از ژنوتیپ به‌منزلهٔ پاسخ به سازش‌پذیری در شرایط متغیر محیطی است و بسیاری از خصوصیات مهم از قبیل رشد، باروری و مقاومت در برابر بیماری‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Beardmore *et al.,* 1997). در این مطالعه میزان هتروزایگوسیتی مشاهده‌شده برای تمامی جایگاه‌ها کمتر از میزان هتروزایگوسیتی مورد انتظار بود. کاهش هتروزایگوسیتی مشاهده‌شده نسبت به هتروزایگوسیتی مورد انتظار بیان‌کنندهٔ کاهش در تغییرپذیری ژنتیکی جمعیت‌هاست. علت این کاهش ممکن است تنگنای ژنتیکی باشد که در اثر شرایط زیست‌محیطی، تخریب زیستگاه و آمیزش خویشاوندی به وجود می‌آید (Norris *et al.,* 1999). این پدیده به مرور زمان به کاهش هتروزایگوسیتی و الل مشاهده‌شده در جمعیت‌ها منجر می‌شود. در جمعیت‌های مورد مطالعه محتمل‌ترین اثر در کاهش هتروزایگوسیتی می‌تواند تخریب زیستگاه و آمیزش‌های خویشاوندی باشد.

بر اساس نتایج، تمامی جایگاه‌های ژنی به جز جایگاه Bbar8 (در رودخانهٔ بریم) و IC434 (رودخانهٔ خیرآباد) انحراف از تعادل هاردی – واینبرگ را نشان دادند. یکی از علل انحراف از تعادل هاردی – واینبرگ وجود الل نول و استفاده از نشانگرهای غیراختصاصی است. در واقع، وجود الل نول در خصوص ریزماهواره‌های ماهیان پدیده‌ای معمول است (ibid). شاخص Fst بیانگر میزان تمایز ژنتیکی جمعیت‌ها در سطوح مختلف است. هر چه میزان جریان ژنی بین مناطق بیشتر باشد، تمایز ژنتیکی کمتر است (Beacham and Macconachi, 2004). میزان Fst محاسبه‌شده در بین دو جمعیت مورد بررسی ۰/۰۳۶ بود که بیانگر تمایز پایین در بین دو جمعیت مورد بررسی است (Smith and Mcveagh, 2005; Avise, 2004).

با توجه به اینکه پدیدهٔ گونه‌زایی منوط به افزایش اختلاف ژنتیکی در جمعیت‌های جدا یا نسبتاً جدا از همدیگر است، بنابراین، به طور قطع می‌توان در بین پارامترهایی نظیر جریان ژنی، فواصل جغرافیایی و گونه‌زایی ارتباط برقرار کرد (Beacham and Macconachi, 2004). میزان جریان ژنی در بین دو منطقهٔ نمونه‌برداری بیانگر نبود اختلاف زیاد ژنتیکی در بین جمعیت‌هاست. هدف اصلی از حفاظت آبزیان، نگهداری دامنهٔ وسیعی از تنوع ژنتیکی است (Skaala *et al.,* 2004). بر اساس ارزیابی اطلاعات به‌دست‌آمده از فراوانی اللی، هتروزایگوسیتی، تعادل

هاردی – واینبرگ، شاخص Fst و ترسیم دندروگرام مناطق نمونه‌برداری می‌توان نتیجه گرفت که دو جمعیت مجزا در این مناطق وجود دارد که دارای جریان ژنی بالایی در بین خود و بر همین اساس، دارای تنوع ژنتیکی بالایی درون جمعیت بوده‌اند. یکی از دلایل وجود جریان ژنی بالا در بین این دو جمعیت، در حالی که حوضهٔ آبی جدایی داشته‌اند، می‌تواند اثر Wahlund باشد. اثر Wahlund به این نکته اشاره دارد زمانی که در یک جمعیت دو یا تعداد بیشتری زیرجمعیت با فراوانی اللی متفاوت وجود دارند، در نهایت، باعث کاهش هتروزایگوسیتی مشاهده‌شدهٔ کلی در جمعیت می‌شوند، حتی اگر زیرجمعیت‌ها در تعادل هاردی – واینبرگ نیز قرار گیرند. از دلایل ایجاد این زیرجمعیت‌ها می‌توان به موانع جغرافیایی و رانش ژنتیکی اشاره کرد. با استناد به نتایج، می‌توان گفت که آلودگی به کاهش تنوع ژنتیکی در بین جمعیت‌ها منجر خواهد شد. همان گونه که دیده می‌شود، جمعیت متعلق به رودخانهٔ بریم، به علت وجود کارخانه‌های شن و ماسه در بالادست محل نمونه‌برداری، نسبت به جمعیت رودخانهٔ خیرآباد، که از منطقه‌ای نسبتاً بکر به دست آمده بود، تنوع ژنتیکی پایین‌تری را نشان داد. همچنین، موانع طبیعی، که مانع از ارتباط این دو جمعیت شده است، باعث ایجاد تنوع ژنتیکی ۳۴ درصدی بر اساس شاخص Rst در بین دو جمعیت طی گذشت زمان شده است. با توجه به اینکه این گونه فاقد نشانگر ریزماهوارهٔ اختصاصی بود، طی این مطالعه شش جفت نشانگر ریزماهواره برای این گونه شناسایی شد.

References

[1]. Abdoli, A., Golzarianpoor, A., 2010. Status of the endemic loaches of Iran. International loach conference, Prague, Czech Republic. (O-1): pp.18.

[2]. Alarcon, J.A., Magoulas, A., Alvarez, M.C., 2004. Genetic comparision of wild and cultative European population of the gill head sea bream. Aquaculture 230, 65-80.

[3]. Bang, I., Kim, W.J., Rolee, I., 2009. Characterization of polymorphic microsatellite loci in the endangered Miho spine loach (*Iksookimia choii*) and cross-species amplification within the Cobitidae family. Molecular Ecology Resources 9, 281-284.

[4]. 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.

[5]. Beacham, T.D., Macconachi, C., 2004. Microsatellite identification of individual sockeye salmon in Barkley Sound, British Colombia. Journal of Fish biology 61, 1021-1032.

[6]. Beardmore, J.A.; Mair, G.C. and Lewis, R.I., 1997. Biodiversity in aquatic systems in relation to aquaculture. Aquaculture 28, 829-839.

[7]. Brighitte, J.; Hansen, M. and Loeschcker, V., 2005. Microsatellite DNA analysis of northern pike (*Esox lucius*) populations: insights into the genetic structure and demographic history of a genetically depauperatee specious. Biology Journal of Linnaean Society 84, 1-11.

[8]. Coad, B. W. 1995. Freshwater Fishes of Iran. Acta Scientiarum Naturalium Academiae Scientiarum Bohemicae, Brno 29(1):1-64.

[9]. Coad, B. W., 1996. Freshwater fishes of Iranian and Pakistani Baluchistan. Second Symposium on Fish and Fisheries of Pakistan, Lahore, pp. 25-26.

[10]. Coad, B. W. 1998. Systematic biodiversity in the freshwater fishes of Iran. Italian Journal of Zoology 65,101-108.

[11]. Coad, B. W. 2012. http://www.briancoad.com/Species%20Accounts/ Cobitidae%20to%20 Cyprinodontidae.

[12]. Dewoody, J. A., Avise, J. C., 2000. Microsatellite variation in marine, freshwater and anadromous fishes compared with other animals. Fish biology 56, 461-473.

[13]. Fishbase.org/summary/Turcinemacheilus-kosswigi.html

[14]. Ghodsi, Z., Shabani, A., Shabanpour, B., 2011. Genetic diversity of *Liza aurata* (Risso, 1810) inthe coastal regions of Golstan province, using microsatellite marker. Taxonomy and Biosystematics 6: 35 – 47. (In Farsi).

[15]. Ghelichpour, M., Shabani, A., Shabanpour, B., 2010. Genetic diversity of the two populations of Common carp (*Cyprinus carpio*) in Gharahsu and Anzali regions using eight microsatellite markers. Taxonomy and Biosystematics. 5: 39-49. (In Farsi).

[16]. Gray, John, S., 1997. Marine Biodiversity: patterns, threats and Conservation needs, GESAMP.

[17]. Golzarianpour, K., Abdoli, A., Kiabi, BH., 2011. Length-weight relationships for nine nemacheilian loaches (Teleostei: Nemacheilidae) from Iran. Journal of Applied Ichthyology 27, 1411-1412.

[18]. Kashiri, H., Shabani, A., Shabanpour, B., Rezaii, M., 2010. Microsatellite polymorphism in

natural populations of threatened Caspian roach in Golestan coasts. Taxonomy and Biosystematics 2: 55 – 67. (In Farsi).

[19]. Li, D.Y., Kang, D.H., Yin, Q.Q., Sun, X.W., Liang, L.Q., 2007. Microsatellite DNA marker analysis of genetic diversity in wild common carp (*Cyprinus carpio* L.) populations. J. Genetic and Genomic. 34, 984–993.

[20]. Mcneely, J.A., Miller, K.R., 1990. Conserving the world's biological diversity. Washington, DC. Iuc. N, world Resources Institute, Conservation International, WWF- US and the World Bank.

[21]. Na-Nakorn, U., Sukmanomon, S., Nakajima, M., Taniguchi, N., Kamonrat, W., Poompuang, S. & Nguyen, T.T., 2006. MtDNA diversity of the critically endangered Mekong giant catfish (*Pangasianodon gigas* Chevey, 1913) and closely related species: implications for conservation. Animal Conservation 9, 483-494.

[22]. Narum, S.R., Contor, C., Talbot, A., Powell, M.S., 2004. Genetic divergence of sympatric resident and anadromous forms of *Oncorhynchus mykiss* in the Walla Walla River. J. Fish Biology 65, 471-488.

[23]. Nei, M., 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from small number of individuals. Genetics 89, 583-590.

[24]. Norris, A. T., Bradley. D. G., Cunning ham, E. D., 1999. Microsatellite genetic variation between and within farmed and wild Atlantic salmon populations. Department of Genetics, Trinity College Dublin, Ireland. 247-264.

[25]. Peakall, R. and Smouse P.E., 2012. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. Bioinformatics In press.

[26]. Peng, S.M., Shi, Z.H., Hou, J.L., Wang, W., Zhao, F., Zhang, H., 2009. Genetic diversity of silver pomfret (*Pampus argenteus*) populations from the China sea based on mitochondrial DNA control region sequences. Biochemical Systematic Ecology 37, 626–632.

[27]. Rahmani, H., Kazemi, B., Pourkazemi, M., Bandehpour, M, Naderi Jolodar, M., Seyed, N., Ataei, F., 2009. Genetics Diversity of Shemaya (*Chalcalburnus chalcoides*) Population in Haraz, Shirud and Gazafrud Rivers Using 18S rRNA Gene and PCR-RFLP Method. Environmental Sciences 6, 43-52.

[28]. Rezaii, M., Shabani, A., Shabanpour, B., Kashiri, H., 2010. Genetic comparison of Caspian Sea *Rutilus frisii kutum* (Kamenskii, 1901) in Gorganroud and Cheshmekile (Tonekabon) rivers using microsatellite markers. Taxonomy and Biosystematics 1: 1–15. (In Farsi).

[29]. Rezvani Gilkolaei, S., 1997. Molecular population genetic studies of sturgeon species in the south Caspian sea. Ph.D. Thesis School of biological Sciences, university of Wales, Swansea. U.K.

[30]. Sambrook, J., Fritsch, E.F., Maniatis, T., 1989. Electrophoresis of RNA through gels containing formaldehyde. In: Molecular cloning: A laboratory manual. (eds. Ford, N., Nolan, C. and Fregusen.

[31]. M.) 743-745. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.

[32]. Skaala, Q.; Hoyheim, B.; Glovera, K. and Dahlea, G., 2004. Microsatellite analysis in domesticated and Wild Atlantic salmon (*Salmo salar* L.): allelic diversity and identification of individuals. Aquaculture 240, 131-143.

[33]. Smith, P. and Mcveagh, M., 2005. Allozyme and microsatellite DNA markers of tothfish population structure in the Southern Ocean. Journal of Fish Biology 57, 72-83.

[34]. Taylor, M., Blust, R. and Verheyen, E., 2001. Characterization of microsatellite loci in the stone loach, *Barbatula barbatula* L. Molecular Ecology Notes 1, 96-97.

[35]. 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.

[36]. Was, A., Wenne, R., 2002. Genetic differentiation in hatchery and wild sea trout (*Salmo trutta*) in the southern Baltic at microsatellite loci. Aquaculture 204, 493–506.

[37]. Wahlund, S., 1928. Zusammensetzung von Population und Korrelationserscheinung vom Standpunkt der Vererbungslehre aus betrachtet. Hereditas 11:65–106.

[38]. Yeh, F. C., Yang, R. C. and Boyle, T., 1999. POPGENE version 1.3.1. Microsoft Window-bases Freeware for population Genetic Analysis. Retrieved from http://www.uallberta.ca/fyeh. On: 11 September 2008.

[39]. Zhou, J.F.; Wu, Q.J.; Ye, Y.Z. and Tong, J.G., 2003. Genetic divergence between *Cyprinus carpio carpio* and *Cyprinus carpio haematopterus* as assessed by mitochondrial DNA analysis, with emphasis on origin of European domestic carp. Genetica 119, 93-97.