

ارزیابی ساختار ژنتیک جمعیت سیچلید ایرانی (*Iranocichla hormuzensis*) به عنوان تنها گونه بومی از خانواده سیچلیده در ایران، با نشانگر ریزماهواره

زهرا قصاب شیران، سالار درافشان* و یزدان کیوانی
گروه شیلات، دانشکده مهندسی منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران

چکیده

سیچلید ایرانی (*Iranocichla hormuzensis*)، تنها عضو خانواده سیچلیده در ایران، پراکنش نسبتاً وسیعی در حوضه هرمز از جمله رودخانه‌های مهران و چشمه خورگو دارد. مقایسه تنوع ژنتیکی ذخایر سیچلید ایرانی در چشمه خورگو و رودخانه مهران در استان هرمزگان با استفاده از چهار جفت آغازگر ریزماهواره (OS25، OS7، OS64 و OS7R) انجام شد. تمامی جایگاه‌های بررسی شده چندشکل بودند. میانگین تعداد آلل مشاهده شده در جمعیت چشمه خورگو ۵ و در جمعیت مهران ۵/۷۵ بود. میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار در جمعیت چشمه خورگو ۰/۷۸ و ۰/۷۱ و در جمعیت مهران ۰/۶۰ و ۰/۶۸ بود. نتایج، انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ در تمامی جایگاه‌ها به جز جایگاه OS7 در ناحیه چشمه خورگو و جایگاه‌های OS25 و OS7 در ناحیه مهران را نشان داد. تمایز ژنتیکی پایین بین جمعیت‌ها (۳ درصد) و تنوع ژنتیکی بالای درون جمعیت‌ها (۹۷ درصد) به همراه وجود جریان ژنی قابل توجه بین دو ناحیه (۱۰/۷۶ فرد در هر نسل) از دیگر نتایج این پژوهش بود. نتایج این تحقیق برای نخستین بار اطلاعاتی را در خصوص ساختار ژنتیک جمعیت سیچلید ایرانی ارائه نمود که می‌تواند به منظور حفاظت و بهره‌برداری از ذخایر این گونه مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: تنوع ژنتیکی، سیچلید ایرانی، *Iranocichla hormuzensis* ریزماهواره، هرمزگان

مقدمه

($> 80 \text{ ppt}$) و گرم (۴۵ درجه سانتیگراد) است، دارد (عبدلی، ۱۳۷۸).

این گونه، از نظر ذخیره ژنتیکی، قابلیت رنگ پذیری بالا، مقاومت به شوری و نیز به لحاظ زینتی حایز اهمیت است و می‌تواند به عنوان منبع و ذخیره با ارزش جهت

تنها گونه بومی از خانواده سیچلیده (*Cichlidae*)، سیچلید ایرانی با نام علمی *Iranocichla hormuzensis*، Coad, 1982 است (شکل ۱). سیچلید ایرانی پراکنش نسبتاً وسیعی در حوضه هرمز، رودخانه‌های مهران، کل، میناب و چشمه خورگو که دارای آب‌های شور سطحی

جمعیت‌های وحشی اغلب ارزش حفاظتی قابل ملاحظه‌ای را به سبب سهم منحصر به فردشان در تنوع ژنتیکی درون گونه‌ای دارا هستند (Hilborn *et al.*, 2003). با توجه به اهمیت ذخایر ژنتیکی بومی جهت استفاده از حداکثر تنوع در زمینه اصلاح ژنتیک، افزایش تلاش برای شناخت آنها ضروری است. علی‌رغم اهمیت سیچلید ایرانی به عنوان یک ذخیره بومی، تاکنون مطالعه‌ای در زمینه ارزیابی تنوع ژنتیکی این گونه انجام نشده است. امروزه استفاده از ابزارهای ژنتیکی به عنوان یک روش مفید در شناخت ذخایر جمعیت‌ها و نژادهای مختلف آبریان به طور گسترده‌ای مورد توجه قرار گرفته است. لذا، در این بررسی از روش ریزماهوره جهت بررسی تنوع ژنتیکی و شناخت جمعیت‌های موجود سیچلید ایرانی در مناطق نمونه‌برداری (رودخانه مهران و چشمه خورگو) برای نخستین بار در ایران استفاده شد.



شکل ۱- سیچلید ایرانی نر رودخانه مهران (عکس از نگارندگان)

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری از دو ایستگاه رودخانه مهران (۵۳"، ۰۳'، ۲۷" N: ۱۰"، ۴۷'، ۵۵" E) و چشمه خورگو (۵۶"، ۲۹'، ۲۷" N: ۲۷"، ۴۴'، ۵۶" E) که از مهم‌ترین مناطق پراکنش این گونه در استان هرمزگان هستند، صورت گرفت (شکل ۲). از هر یک از ایستگاه‌ها تعداد ۳۰

تولید در آب‌های شور داخلی مطرح باشد. از لحاظ ویژگی‌های تولیدمثلی، سیچلید ایرانی مانند سایر سیچلیدها یک ماهی مراقبت‌کننده محسوب می‌شود. تولیدمثل سیچلید ایرانی از اسفند تا مرداد ماه (حداکثر در اردیبهشت ماه) با نسبت جنسی ۱F:۱/۴۴M صورت می‌گیرد. میانگین طول استاندارد در این گونه ۶۳ میلی‌متر گزارش شده است (Esmaeili *et al.*, 2009).

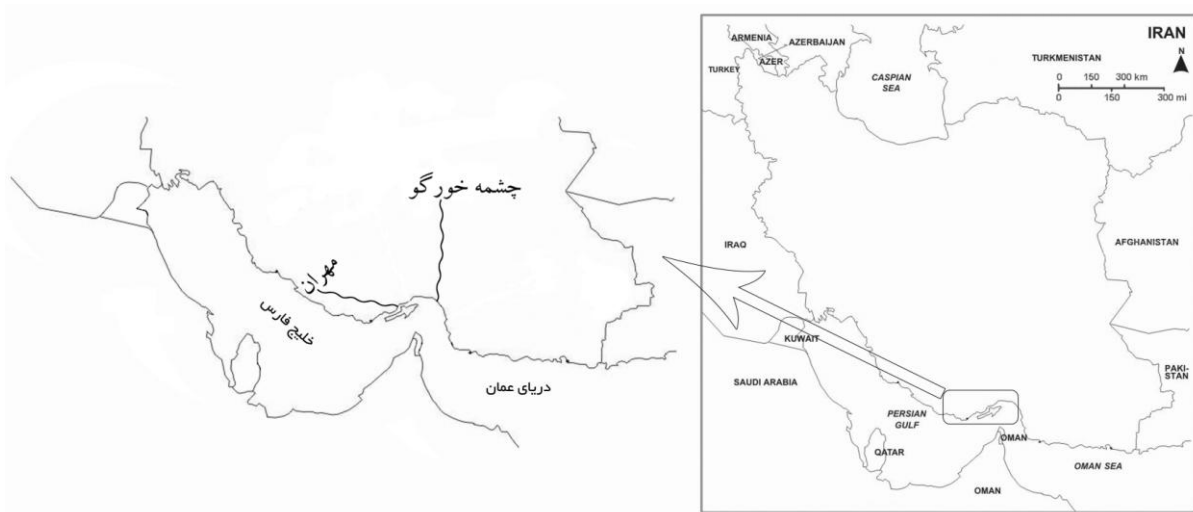
سیچلید ایرانی از لحاظ فیلوژنی شباهت نزدیکی به گونه جنس‌های *Dnakilia*، *Trisramella* و *Sarotherodon* دارد (Nelson, 2006). همچنین، در بررسی سیتوژنتیک جمعیت سیچلید ایرانی در رودخانه مهران، تعداد کروموزوم‌های دیپلوئید این گونه مشابه گونه‌های *Trisramella simonies* و *Sarotherodon galliaeus* (۲n=۴۴) گزارش شد که می‌تواند بیانگر شباهت فیلوژنی آنها باشد (Esmaeili *et al.*, 2006).

با وجود اهمیت زیستی و اقتصادی این گونه در ایران، تاکنون مطالعات اندکی در خصوص ویژگی‌های زیستی، تولیدمثلی و ساختار ژنتیک جمعیت این گونه اجرا شده است (گنجعلی، ۱۳۸۴؛ Esmaeili *et al.*, 2006).

مطالعات جمعیت‌شناسی گام بزرگی در راه شناخت جمعیت‌های آبریان به شمار می‌رود و با به کارگیری شیوه‌های مختلف در شناخت جمعیت‌ها، می‌توان کمک شایانی در بهره‌برداری مناسب از ذخایر آبریان و حفظ و بهبود ذخایر آنها نمود (Cadrin, 2000). مطالعات ژنتیک جمعیت به درک ما از چگونگی جدایی ژنتیکی گونه‌ها به جمعیت‌های مجزای تولیدمثلی، در گستره زیستگاهی آنها کمک می‌کند. چنین دانشی از نظر زیستی مهم است، چرا که

آمونیم استفاده شد (Fevolden and Pogson 1997). DNAهای استخراج شده، پس از افزودن ۵۰ میکرولیتر آب مقطر استریل تا زمان انجام آزمایش در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شدند. کیفیت DNA استخراجی با استفاده از روش الکتروفورز با ژل آگاروز ۱ درصد تعیین گردید.

قطعه سیچلید ایرانی به منظور مطالعات مولکولی به روش تور احاطه‌ای صید شد. نمونه‌گیری از بافت نرم باله دمی و عضله ماهی انجام گرفت. برای این منظور، مقدار ۲-۳ گرم از بافت نرم باله دمی یا عضله ماهی داخل تیوپ‌های ۱/۵ میلی‌لیتری حاوی الکل ۹۶ درصد قرار داده شد. برای استخراج DNA، از روش استات



شکل ۲- موقعیت تقریبی رودخانه‌های مطالعه شده در این پژوهش

تگ DNA پلیمرز ساخت شرکت سیناژن ($5\mu/\mu\text{L}$)، $2/5$ میکرولیتر بافر 10X PCR، $0/7$ میکرولیتر MgCl_2 و آب مقطر تا رسیدن به حجم ۲۵ میکرولیتر انجام گرفت. شرایط واکنش زنجیره‌ای پلیمرز شامل یک سیکل در دمای ۹۴ به مدت ۳ دقیقه، ۳۵ سیکل در دمای ۹۴ به مدت یک دقیقه، در دمای ۵۳-۵۸ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ ثانیه (بسته به نوع آغازگر)، سپس در دمای ۷۲ به مدت ۴۵ ثانیه و در پایان یک سیکل در دمای ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۵ دقیقه انجام شد. محصول واکنش در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری و برای آشکارسازی از ژل پلی آکرلامید ۱۲ درصد همراه با رنگ آمیزی نترات نقره و نشانگر ۵۰bp ساخت شرکت Fermentas استفاده شد.

به علت عدم وجود آغازگر اختصاصی برای سیچلید ایرانی، جهت بررسی تنوع ژنتیکی بین دو جمعیت این ماهی، از چهار جفت آغازگر ریزماهواره چندشکل در *Oreochromis shiranus* که در سایر جنس‌های سیچلیده نظیر *Sarotherodon sp.* نیز چندشکل است، استفاده شد (جدول ۱) (Ambali et al., 2000؛ Appleyard et al., 2002).

واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) برای هر یک از آغازگرها انجام شد و بهترین دمای الحاق برای هر یک از آنها به دست آمد (جدول ۱). تکثیر جایگاه‌ها با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمرز در حجم ۲۵ میکرولیتری و شرایطی شامل ۱ میکرولیتر DNA ($10\text{ ng}/\mu\text{L}$)، ۱ میکرولیتر از هر آغازگر (10 pM)، $0/5$ میکرولیتر dNTPs (10 mM)، $0/2$ میکرولیتر

مربوط به جایگاه OS7R و OS25 در هر دو ناحیه و حداکثر ۹ مربوط به جایگاه OS7 در ناحیه مهران) قرار داشت. متوسط تعداد آلل‌های مشاهده شده در مناطق چشمه خورگو و مهران به ترتیب ۵ و ۵/۷۵ به دست آمد (جدول ۳).

جدول ۲- نام جایگاه، محدوده بانندی، دمای بهینه اتصال و تعداد آلل مشاهده شده ماهی سیچلید ایرانی (*Iranocichla hormuzensis*)

| ردیف | نام جایگاه | محدوده بانندی (جفت باز) | دمای بهینه اتصال (درجه سانتیگراد) |
|------|------------|-------------------------|-----------------------------------|
| ۱ | OS7R | ۷۸-۹۴ | ۵۴ |
| ۲ | OS25 | ۷۶-۹۶ | ۵۳ |
| ۳ | OS7 | ۱۰۴-۱۵۰ | ۵۹/۹ |
| ۴ | OS64 | ۳۸-۶۸ | ۵۳/۹ |

جدول ۳- تعداد آلل واقعی و مؤثر، تنوع ژنتیکی و شاخص شانون چهار جایگاه مورد مطالعه در ماهی سیچلید ایرانی (*Iranocichla hormuzensis*)

| میانگین | OS64 | OS7 | OS25 | OS7R | جایگاه | شاخص |
|---------|------|------|------|------|--------|-------|
| ۵ | ۶ | ۶ | ۴ | ۴ | N_a | منطقه |
| ۳/۹۶ | ۵/۸۴ | ۴/۶۷ | ۲/۵۷ | ۲/۷۸ | N_e | چشمه |
| ۰/۷۸ | ۱ | ۱ | ۰/۹ | ۰/۲۳ | H_o | خورگو |
| ۰/۷۱ | ۰/۸۲ | ۰/۷۸ | ۰/۶۱ | ۰/۶۴ | H_e | |
| ۵/۷۵ | ۶ | ۹ | ۴ | ۴ | N_a | مهران |
| ۳/۶۳ | ۴/۱۹ | ۵/۳۱ | ۳/۱۴ | ۱/۹۰ | N_e | |
| ۰/۶۰ | ۰/۶۶ | ۱ | ۰/۶۰ | ۰/۱۶ | H_o | |
| ۰/۶۸ | ۰/۷۶ | ۰/۸۱ | ۰/۶۸ | ۰/۴۸ | H_e | |

آلل‌های مؤثر نیز در محدوده ۱/۹۰-۵/۸۴ آلل (حداقل ۱/۹۰ مربوط به جایگاه OS7R در ناحیه مهران و حداکثر ۵/۸۴ مربوط به جایگاه OS64 در ناحیه چشمه خورگو) قرار داشت. متوسط تعداد آلل‌های مؤثر در مناطق چشمه خورگو و مهران به ترتیب ۳/۹۶ و ۳/۶۳ بود (جدول ۳). دامنه H_o در بین نواحی

جدول ۱- آغازگرهای ریزماهوره از *Oreochromis shiranus* استفاده شده در این تحقیق (Ambali et al., 1999; 2000)

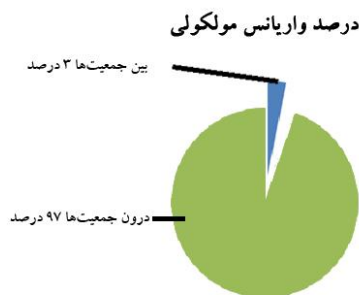
| نام آغازگر | توالی (5'→3') | دمای اتصال |
|------------|---|------------|
| 7R-OS | F: AGAGGAAATGAGCAGCCTC R: GATGCGCAACAGTTATGTC | ۵۸ |
| 25-OS | F: TTGTGAAATTGCATTGCACTC R: AACTCCCTTTGATCCTCTGC | ۵۴ |
| OS-7 | F: TGTCTGCTGCCTCGGCCTG R: ACTGTGCCGCATCGCCAG | ۵۳ |
| OS-64 | F: CAGTGTCTTCAGTTCCTTGC R: CAGAAGCATCTTATTGATGAC | ۵۴ |

ارزیابی تعداد آلل مشاهده شده و مؤثر (N_e و N_a) در هر جایگاه، هتروزیگوسیتی مشاهده شده (H_o) و مورد انتظار (H_e) در بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت‌ها، آزمون انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ، میزان شاخص درون آمیزی (F_{IS}) و سطح معنی‌داری آن، مقادیر فاصله (D) و شباهت ژنتیکی (I) (Nei, 1978) بین جمعیت‌ها با استفاده از نرم‌افزار GenAlex6.3 و Arlequin صورت گرفت. نحوه توزیع تنوع مشاهده شده و همچنین، میزان تمایز بین مناطق با استفاده از معیار F_{ST} و تحت آنالیز واریانس مولکولی (AMOVA) نرم‌افزار GenAlex6.3 و Arlequin محاسبه شد (Peakall and Smouse, 2005; Excoffier and Lischer, 2010).

نتایج

در مجموع، ۴ جایگاه در این تحقیق استفاده شد که همگی جایگاه‌ها چندشکل بودند (جدول ۲). دمای اتصال و محدوده بانندی مطابق جدول ۲ برای جایگاه‌های OS7R، OS25، OS7 و OS64 بهینه شد. آلل‌های مشاهده شده در محدوده ۴-۹ آلل (حداقل ۴

واینبرگ، ۶ نمونه از ۸ آزمون بررسی شده (جایگاه \times منطقه) پس از اعمال ضریب تصحیح بونفرونی انحراف معنی داری از تعادل نشان دادند ($P < 0.001$). متوسط شاخص درون آمیزی (F_{IS}) و تمایز (F_{ST}) به ترتیب ۰/۲۴ و ۰/۰۱ به دست آمد (جدول ۴). کمترین میزان تمایز مشاهده شده ۰/۰۱۰ در جایگاه OS25 و بیشترین میزان آن ۰/۰۲۲ در جایگاه OS7R به دست آمد (جدول ۴). همچنین، جریان ژنی بالایی (۱۰/۷۶) در سطح جایگاه‌ها مشاهده گردید (جدول ۴). نتایج حاصل از آنالیز نشان داد که تنوع ژنتیکی بالایی (۹۷ درصد) درون هر جمعیت برقرار بوده، اختلاف ژنتیکی پایینی (۳ درصد) بین جمعیت‌ها وجود دارد (شکل ۳). میزان شباهت و فاصله ژنتیکی بین مناطق نیز به ترتیب ۰/۸۲ و ۰/۱۹ به دست آمد.



شکل ۳- توزیع تنوع واریانس تحت معیار F_{ST} بر اساس آنالیز AMOVA

این ماهی با استفاده از روش ریزماهواره انجام گرفت. این ماهی فاقد آغازگر اختصاصی است و چهار آغازگر استفاده شده در این تحقیق، بر اساس چندشکلی بالایی که در *Oreochromis shiranus* از دیگر جنس‌های سیچلیده مشابه با جنس *Iranocichla* دارند، انتخاب شدند. با وجود غیراختصاصی بودن، تمامی آغازگرهای استفاده شده در ماهی سیچلید ایرانی، چندشکل بودند. چندشکلی تمامی آغازگرهای

نمونه‌برداری در چهار جایگاه مورد مطالعه بین ۰/۱۶-۱ (حداقل ۰/۱۶ مربوط به جایگاه OS7R در ناحیه مهران و حداکثر ۱ مربوط به جایگاه OS7 ناحیه چشمه خورگو و مهران و OS64 در ناحیه چشمه خورگو) و متوسط ۰/۷۸ برای نمونه‌های چشمه خورگو و ۰/۶۰ برای نمونه‌های مهران بود (جدول ۳). دامنه H_e نیز در بین نواحی نمونه‌برداری در چهار جایگاه مورد مطالعه بین ۰/۴۸-۰/۸۲- (حداقل ۰/۴۸ مربوط به جایگاه OS7R در ناحیه مهران و حداکثر ۰/۸۲ مربوط به جایگاه OS64 در ناحیه چشمه خورگو) و متوسط ۰/۷۱ برای نمونه‌های چشمه خورگو و ۰/۶۸ برای نمونه‌های مهران بود (جدول ۳). به منظور بررسی تعادل هاردی-واینبرگ در تمامی نواحی و جایگاه‌های مورد بررسی از آزمون X^2 استفاده شد. در بررسی تعادل هاردی-

جدول ۴- میزان جریان ژنی (N_m)، شاخص درون آمیزی (F_{IS}) و شاخص تمایز (F_{ST}) در سطح چهار جایگاه مطالعه شده

| جایگاه | OS64 | OS7 | OS25 | OS7R | میانگین |
|----------|-------|-------|-------|-------|---------|
| N_m | ۱۹/۳۸ | ۱۳/۱۹ | ۲۵/۶۶ | ۱۰/۹۴ | ۱۷/۲۹ |
| F_{IS} | ۰/۰۵ | -۰/۱۰ | -۰/۱۲ | ۰/۷۱ | ۰/۲۴ |
| F_{ST} | ۰/۰۱۳ | ۰/۰۱۹ | ۰/۰۱۰ | ۰/۰۲ | ۰/۰۱ |

بحث

مطالعه در مورد تنوع آبزیان و حفاظت از منابع ژنتیکی طی چند دهه گذشته به طور فزاینده‌ای افزایش یافته است. یکی از اهداف اصلی آزمایش‌های ژنتیک مولکولی در آبزیان، آنالیز ساختار جمعیتی، تنوع ژنتیکی، ارتباطات گونه‌ای، رده‌بندی و طبقه‌بندی آبزیان است. در این مطالعه، ارزیابی تنوع ژنتیکی بین جمعیت‌های سیچلید ایرانی در دو منطقه عمده پراکنش

مارمنور (Mar Menor) اسپانیا با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره، کوچک بودن اندازه جمعیت دلیل کاهش هتروزیگوسیتی مشاهده شده نسبت به هتروزیگوسیتی مورد انتظار اعلام شد (Chen et al., 2009).

در بررسی تعادل هاردی-واینبرگ، ۵ آزمون از ۸ آزمون بررسی شده (جایگاه × منطقه) پس از اعمال ضریب تصحیح بونفرونی انحراف معنی داری از تعادل نشان دادند ($P < 0.001$). با توجه به نتایج حاصل در این تحقیق، می توان اذعان نمود که اغلب جایگاه‌ها انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ را نشان می دهند. انحراف از تعادل در این جمعیت‌ها می تواند در اثر غیر اختصاصی بودن آغازگرهای مورد استفاده و کوچک بودن اندازه جمعیت‌ها نیز باشد. در مطالعه ساختار جمعیت دو گونه *H. laparogramma* و *Haplochromis pyrrhocephalus* از سیچلیدهای پلاژیک دریایچه ویکتوریا آفریقا (بین سه کشور تانزانیا، اوگاندا و کنیا) با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره، آلل‌های نول دلایل اصلی انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ گزارش شد (Maeda et al., 2009).

میزان شاخص درون آمیزی بین دو جمعیت ۰/۰۴۵ به دست آمد. لذا، احتمال وجود افراد خویشاوند در نمونه‌های مورد استفاده می تواند یکی از دلایل احتمالی پایین بودن هتروزیگوسیتی و انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ باشد. در بررسی دیگر، ارتباط خویشاوندی در ۸۲ قطعه تیلایای چانه‌سیاه (*Sarotherodon melanotheron*) با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره، حضور افراد خویشاوند در جمعیت‌های پرورشی دلیل اصلی کاهش هتروزیگوسیتی در مقایسه با مقدار آن جمعیت‌های تالابی گزارش شد (Pouyaud et al., 1999).

نتایج آنالیز واریانس مولکولی نشان داد که ۹۷ درصد

استفاده شده در ماهی سیچلید ایرانی، طی تحقیقاتی درباره تعیین زیرگونه‌های *O. shiranus* و بررسی تنوع ژنتیکی گله پرورشی *O. shiranus* در مقایسه با گله‌های وحشی با استفاده از آغازگرهای مشابه اثبات شد (Ambali et al., 1999; 2000). اما در این بررسی، میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده و تعداد متوسط آلل در سطح جمعیت‌ها بالاتر از مقادیر گزارش شده قبلی بود (Ambali et al., 1999; 2000). به نظر می‌رسد بهره‌برداری کمتر از ذخایر سیچلید ایرانی از عوامل اصلی بالا بودن تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های سیچلید ایرانی است. نتایج به دست آمده نشان داد که مقدار هتروزیگوسیتی مشاهده شده در جایگاه OS7R در دو جمعیت مهران و چشمه خورگو و جایگاه OS64 و OS25 در جمعیت مهران، از مقدار هتروزیگوسیتی مورد انتظار کمتر است. غیر اختصاصی بودن آغازگرهای استفاده شده، از مهم‌ترین عوامل ایجادکننده کسری در جایگاه‌های ژنی ریزماهواره‌ای هستند. لذا، با توجه به نتایج به دست آمده، دلیل اصلی کاهش هتروزیگوسیتی مشاهده شده نسبت به هتروزیگوسیتی مورد انتظار در این جایگاه‌ها را می‌توان ناشی از وجود آلل‌های نول و یا حضور افراد خویشاوند دانست. کاهش هتروزیگوسیتی در اثر عدم پیروی از تعادل هاردی-واینبرگ و عواملی نظیر کوچک بودن اندازه جمعیت، تنگنای ژنتیکی، جفت‌گیری غیر تصادفی نیز ایجاد می‌شود. پیش از این نیز آلل‌های نول به عنوان دلیل کاهش هتروزیگوسیتی مشاهده شده نسبت به هتروزیگوسیتی مورد انتظار گزارش شده‌اند (Ambali et al., 2009). با این وجود، در سال ۲۰۰۹، در بررسی تفاوت ژنتیکی و جریان ژنی در گونه *Pomatoschistus marmoratus* در دو نقطه تالاب

ژنتیکی اندک بین دو جمعیت را علی‌رغم مدت زمان طولانی جدایی آنها توجیه کند.

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج این تحقیق می‌توان بیان داشت که به‌طور کلی تنوع ژنتیکی چشمگیری در هر دو جمعیت سیچلید ایرانی در دو ناحیه چشمه خورگو و نیز مهران وجود دارد که بیانگر وضعیت مناسب ذخایر این گونه در دو زیستگاه اصلی در استان هرمزگان است. با این وجود، مقدار تنوع ژنتیکی در جمعیت چشمه خورگو نسبت به جمعیت مهران تا حدودی بیشتر بود که شاید به دلیل تخریب کمتر این زیستگاه نسبت به رودخانه مهران باشد. احتمال جابه‌جایی ماهیان بین دو منطقه مورد مطالعه از طریق آب دریا وجود دارد. پایین بودن فاصله ژنتیکی، جریان ژنی قابل توجه بین دو منطقه و عدم وجود ارتباط بین دو ناحیه از طریق رودخانه در خشکی، همگی می‌تواند احتمال جابه‌جایی از طریق آب دریا را قوت بخشد. این پدیده با توجه به قابلیت بالای این گونه برای تحمل مقادیر بالای شوری آب و فاصله نسبتاً نزدیک دهانه دو رودخانه در دریا می‌تواند به ویژه در موارد سیلابی شدن رودخانه‌ها محتمل باشد، با این وجود، تأیید یا رد قطعی این نظریه نیازمند ارزیابی دقیق بوم‌شناسی و مولکولی سیچلید ایرانی دارد. لذا، پیشنهاد می‌گردد که چنین مطالعاتی در مورد سایر جمعیت‌های این گونه با روش‌های متفاوت مولکولی انجام شود تا درک دقیق‌تری از وضعیت تنوع آنها فراهم شود. افزایش تعداد نمونه‌ها از هر ایستگاه و بررسی تعداد جایگاه‌های بیشتر می‌تواند در ارزیابی دقیق‌تر یاری‌کننده باشد.

تنوع در درون جمعیت‌ها، و تنها ۳ درصد بین جمعیت‌ها وجود دارد، مقدار به دست آمده F_{ST} (۰/۰۲۵) معنی‌دار نبوده، تمایز پایینی را بین جمعیت‌ها نشان داد. بر اساس معیار رایت (Wright, 1951) میزان F_{ST} بین ۰ تا ۰/۰۵ نشان‌دهنده تمایز پایین است. پایین بودن تمایز بین دو جمعیت را می‌توان به‌طور کلی، کم بودن تمایز بین دو جمعیت مطالعه شده، می‌تواند بیانگر منشأ احتمالی یکسان آنها و یا جابه‌جایی قابل توجه افراد بین دو جمعیت مورد بررسی باشد. اگرچه اطلاعات دقیقی در خصوص هیچ یک از این دو پدیده وجود ندارد، اما هر دو حالت محتمل است و برای پاسخ قطعی در این خصوص، لازم است تا مطالعات تکمیلی به همراه بررسی بوم‌شناختی این گونه صورت گیرد. علاوه بر این دلایل زیستی، مواردی همچون تعداد اندک آغازگر مورد استفاده و غیراختصاصی بودن آنها نیز می‌تواند در بروز این پدیده مؤثر باشد، به بیان دیگر، احتمال دارد با افزایش تعداد آغازگرها و نیز تعداد نمونه مورد بررسی، نتایج متفاوتی در نه تنها در خصوص جریان ژنی و تعداد افراد مهاجر بلکه در خصوص سایر شاخص‌های مورد سنجش نیز حاصل شود. با این وجود، در بررسی تفاوت ژنتیکی، اندازه مؤثر جمعیت و جریان ژنی در چند گونه از ماهیان دریایی با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره، دلیل اصلی پایین بودن تفاوت ژنتیکی بین جمعیت‌ها، جریان ژنی تشخیص داده شد (Cano et al., 2008). میزان جریان ژنی قابل توجه بین دو ایستگاه عدد ۱۰/۷۶ به دست آمد که شاید بیانگر جابه‌جایی بین دو جمعیت رودخانه‌ایی از طریق دریا باشد که منجر به تفکیک جزئی؟ دو جمعیت از نظر ژنتیکی می‌شود. همان گونه که بیان شد، بروز این پدیده محتمل است لذا، شاید این پدیده بتواند تمایز

منابع

- عبدلی، ا. (۱۳۷۸) ماهیان آب‌های داخلی ایران. موزه طبیعت و حیات وحش ایران، تهران.
- گنجعلی، ز. (۱۳۸۴) مطالعات ریخت‌شناسی و زیست‌شناسی تولیدمثل ماهی کرو (*Iranocichla hormuzensis*). پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران.
- Ambali, A. J. D., Doyle, R. W. and Cook, D. I. (1999) Genetic changes in *Oreochromis shiranus* (Trewavas) associated with the early stages of national aquaculture development in Malawi. *Aquaculture Research* 30: 579-588.
- Ambali, A. J. D., Doyle, R. W. and Cook, D. I. (2000) Development of polymorphic microsatellite DNA loci for characterizing *Oreochromis shiranus* subspecies in Malawi. *Journal of Applied Ichthyology* 16: 121-125.
- Appleyard, S. A., Ward, R. D. and Grewe, P. M. (2002) Genetic stock structure of big eye tuna in the Indian Ocean using mitochondrial DNA and microsatellite. *Journal of Fish Biology* 60: 767-770.
- Cadrin, S. X. (2000) Advances in morphometric identification of fishery stocks. *Fish Biology and Fisheries* 10: 91-112.
- Cano, J. M., Shikano, T., Kuparinen, A. and Merila J. (2008) Genetic differentiation, effective population size and gene flow in marine fishes: implications for stock management. *Molecular Ecology* 5: 1-10.
- Chen, C. V., Wanguemert, M. G., Marcos, C. and Ruzafa A. P. (2009) High gene flow promotes the genetic homogeneity of the fish goby *Pomatoschistus marmoratus* (Risso, 1810) from Mar Menor coastal lagoon and adjacent marine waters (Spain). *Marine Ecology* 31: 270-275.
- Esmaili, H. R., Piravar, Z. and Ebrahimi, M. (2006) Karyological analysis of Iranian cichlid fish, *Iranocichla hormuzensis* Coad, 1982, from southern Iran. *Journal of Applied Animal Research* 30:77-79.
- Esmaili, H. R., Ganjali, Z. and Monsefi, M. (2009) Reproductive biology of the endemic Iranian cichlid, *Iranocichla hormuzensis* Coad, 1982 from Mehran River, southern Iran. *Environmental Biology of Fishes* 84:141-145.
- Fevolden, S. E. and Pogson, G. H. (1997) Genetic divergence at the synaptophysin locus among Norwegian Coastal and North-east Arctic population of Atlantic Cod. *Journal of Fish Biology* 51: 895-908.
- Hilborn, R., Quinn, T. P., Schindler, D. E. and Rogers, D. E. (2003) Biocomplexity and fisheries sustainability. *National Academic Science* 100: 6564-6568.
- Maeda, K., Takeda, M., Kamiya, K., Terai, Y., Okada, N. and Tachida, H. (2009) Population structure of two closely related pelagic cichlids in Lake Victoria, *Haplochromis pyrrhocephalus* and *H. laparogramma*. *Genetics* 441: 67-73.
- Nei, M. (1978) Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89: 583-590.
- Nelson, J. S. (2006) *Fishes of the world*. John Wiley and Sons, New York.
- Peakall, M. and Smouse, A. (2005) *Gene Alex 6: Genetic analysis in Excel*. Population genetic software for teaching and research. The Australian national university, Canberra, Australia.
- Pouyaud, L., Desmarais, E., Chenuil, A., Agnese, J. F. and Bonhomme, F. (1999) Kin cohesiveness and possible inbreeding in the mouth breeding tilapia *Sarotherodon melanotheron* (Pisces Cichlidae). *Molecular Ecology* 8:803-812.
- Wright, S. (1951) The genetical structure of populations. *Annals of Eugenics* 15: 323-354.
- Excoffier, L. and Lischer, H. E. L. (2010) Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources* 10: 564-567.

Population genetic structure of Iranian cichlid, *Iranocichla hormuzensis* as an only cichlidae family in Iran using microsatellite markers

Zahra Ghasabshiran, Salar Dorafshan * and Yazdan Keivany

Department of Fishery, Faculty of Natural Resources, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran

Abstract

The Iranian cichlid, *Iranocichla hormuzensis*, the only member of cichlidae family in Iran is widely distributed in Hormuz basin such as Mehran and Khorgo spring. The genetic diversity of Iranian cichlid was investigated using microsatellite techniques. In this study, 30 specimens of Iranian cichlid were collected from each location, Mehran River and Khorgo spring. DNA was extracted using ammonium acetate method and PCR amplification was performed using four pairs of microsatellite primers (OS7R, OS25, OS7 and OS64). PCR products were electrophoresed on 12% acrylamide gel and stained with silver nitrate. The results showed that all loci were polymorphic. Average number of the observed alleles in Khorgo spring and Mehran river were 5 and 5.75, respectively. The mean of the observed heterozygosity (H_o) in Khorgo spring and Mehran river were 0.78 and 0.60, respectively. The mean of expected heterozygosity (H_e) in Khorgo spring and Mehran river were 0.71 and 0.68, respectively. The results showed deviation from Hardy-Weinberg equilibrium at five (OS7R, OS25 and OS64 loci in Khorgo spring and OS7R and OS64 loci in Mehran river) out of four studied loci. Low genetic segregation (3%) between population, high genetic diversity (97%) within population and high (10.76) noticeable gene flow between two populations could be concluded. The results of the present study provided valuable information and more insight from genetic structure of Iranian cichlid which may use in conservation as well as operation of this species.

Key words: Genetic diversity, Iranian cichlid, *Iranocichla hormuzensis*, Microsatellite, Hormozgan

* sdorafshan@cc.iut.ac.ir