تاکسونومی و بیوسیستماتیک، سال ششم، شماره نوزدهم، تابستان ۱۳۹۳، صفحه ۱-۱۴
دریافت مقاله: ۱۳۹۲/۰۷/۳۰ پذیرش نهایی: ۱۳۹۲/۱۲/۲۰

ساختار ژنتیکی ماهی خیاطه (*Alburnoides echiwaldii*) در رودخانه‌های کرگان‌رود و چالوس

الهام حقیقی [۱]، مسعود ستاری [۱]، سالار درافشان [۲]* و یزدان کیوانی [۲]
[۱] گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه‌سرا، ایران
[۲] گروه شیلات، دانشکده مهندسی منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران

چکیده

تنوع ژنتیکی ماهی خیاطه با نام علمی *Alburnoides eichwaldii* در دو رودخانه کرگان‌رود و چالوس با استفاده از شش جفت نشانگر مولکولی ریزماهواره BL1-2b، Ca3، CnaB-030، CtoF-172، LleA-071 و Z21908 بر ۳۰ قطعه ماهی صید شده از هر یک از رودخانه ها ارزیابی شد. میانگین تعداد آلل مشاهده شده در هر جایگاه ژنی ۶/۵ عدد بود. دامنه باندی در جایگاه‌های CtoF-172، BL1-2b، CnaB-030، LleA-071، Ca3 و Z21908 به ترتیب برابر با: ۱۰۷-۱۴۷، ۱۴۷-۱۸۴، ۱۲۴-۱۵۷، ۳۳۲-۳۸۷، ۳۰۰-۳۴۷ و ۱۴۷-۱۸۳ جفت باز بود. در بین شش جایگاه چندشکل، نشانگر Z21908 پایین‌ترین و نشانگر Ca3 بالاترین چندشکلی را نشان دادند. جمعیت‌ها در تمامی جایگاه‌ها انحراف از تعادل هاردی-وینبرگ را نشان دادند. میانگین تعداد آلل مؤثر، هتروزیگوسیتی مورد انتظار، هتروزیگوسیتی مشاهده شده و محتوای اطلاعات چندشکلی به ترتیب برابر با ۴/۸۶، ۰/۸۱، ۰/۹۶، ۰/۹۴ بود که همگی می‌تواند بیانگر تنوع ژنتیکی مطلوب دو جمعیت باشد. میانگین ضریب درون آمیزی FIS برای تمامی جایگاه‌ها و برای دو جمعیت منفی و در دامنه ۰/۲۳-۰/۳ قرار داشت که نشان دهنده عدم وقوع درون‌آمیزی در جمعیت‌ها بود. میزان فاصله ژنتیکی بین دو جمعیت برابر با ۰/۳۶۳ محاسبه شد. آنالیز واریانس مولکولی نشان داد که بخش اعظم تنوع درون جمعیت‌ها (۹۳/۶۹ درصد) و بخش اندکی از آن مربوط به بین دو جمعیت (۶/۳۱ درصد) و میزان FST برابر با ۰/۰۶۳ و معنی‌داربود. فاصله ژنتیکی قابل توجه بین دو جمعیت شاید بیانگر تطابق محلی به علت شرایط متفاوت اکولوژیک دو رودخانه باشد.

واژه‌های کلیدی: ژنتیک جمعیت، ماهی خیاطه، *Alburnoides eichwaldii*، ریزماهواره، حوضه جنوب غربی دریای خزر

مقدمه

تنوع زیستی به تنوع موجود در دنیای زنده اطلاق می‌شود، در حالی که تنوع ژنتیکی سطحی از تنوع زیستی است که نمایانگر مجموعه ویژگی‌های ژنتیکی

* sdorafshan@cc.iut.ac.ir

موجود در ساختار یک گونه یا جنس است. از سوی دیگر، قابلیت تنوع ژنتیکی، تنوع موجود در سطح آللی را نشان می‌دهد (Freeland, 2007). نتایج مطالعه بنیاد ملی علوم در سال ۲۰۰۷ نشان داد که تنوع ژنتیکی و تنوع زیستی به یکدیگر وابسته بوده، تنوع درون گونه‌ای برای دوام تنوع بین گونه‌ای لازم و ضروری است. به طوری که حذف هر یک از این دو موجب اختلال در اکوسیستم و تسلط یک گونه خاص در آن می گردد (Richard *et al.*, 2008). امروزه اکوسیستم‌ها که مهم‌ترین عامل بقای تنوع زیستی هستند به دلیل مدیریت ضعیف و ناقص در معرض مخاطره قرار گرفته‌اند، مطالعه ماهیان در اکوسیستم‌های آبی از اهمیت و جایگاه ویژه‌ای برخوردار است (Abdoli, 2000). در آب‌های داخلی ایران، حدود ۱۶۰ گونه ماهی وجود دارد که عمدتاً متعلق به سه خانواده *Cobitidae*، *Balitoridae* و *Cyprinidae* هستند. بیشتر این ماهی‌ها دارای ارزش صید اقتصادی، صید ورزشی، زیبایی‌شناسی و مبارزه زیستی هستند (Keivany *et al.*, in press). پیش از این، مجموعه‌ای از گونه‌ها و زیرگونه‌های ماهی خیاطه در شمال اروپا، حوضه دریای خزر و دریای آرال تحت عنوان کلی گونه *Alburnoides bipunctatus* طبقه‌بندی می‌شد (Berg, 1949). اما پژوهش‌های اخیر گونه‌های متعددی را برای این ماهی متصور است به طوری که شش گونه مجزا با عناوین *A. petrubanarescui* از حوضه دریاچه ارومیه، *A. namaki* از حوضه دریاچه نمک، *A. idignensis* و *A. nicolausi* از حوضه رودخانه کرخه، *A. qanati* از قناتی در دره رودخانه پلوار (انشعابی از رودخانه کر) و *A. eichwaldii* از حوضه دریای خزر گزارش شده است (Coad and Bogutskaya, 2009). به طور کلی، گونه‌های مختلف جنس *Alburnoides* تاکنون از ۷۵ درصد پیکره آب‌های شیرین ایران گزارش شده است (Keast, 1996). گونه *A. eichwaldii* عمدتاً در آب‌های شیرین، قسمت‌های میانی و فوقانی رودخانه‌ها که غنی از اکسیژن است و بستر قلوه‌سنگی و سنگلاخی دارد، زیست می کند. این ماهی اندازه نسبتاً کوچکی دارد، از این رو معمولاً فاقد ارزش صید ورزشی و اقتصادی است. با این وجود، به دلیل فراوانی جمعیت در حوضه پراکنش خود، یک طعمه مهم برای گونه‌های اقتصادی و شکارچی محسوب می‌شود. از سوی دیگر، با توجه به تنوع رنگی (رنگ باله شکمی و مخرجی متمایل به قرمز و یک نوار تیره در دو طرف خط جانبی) دارای ارزش زیبایی‌شناختی است (Keivany *et al.*, in press). به طور کلی، تنوع ژنتیکی، کلید پایداری دراز مدت جمعیت‌ها است (Beaumont and Hoare, 2003).

اِعمال مدیریت صحیح بر ذخایر آبزیان زمانی با موفقیت همراه خواهد بود که ذخایر ژنی گونه های بومی مطالعه شده باشند. از آن جا که فراوانی یک جمعیت به علت تغییراتی که در احتمال بقا و موفقیت تولیدمثلی رخ می‌دهد، تغییر می کند، یک حوضه آبریز ممکن است دارای چندین جمعیت از یک گونه باشد، بنابراین نخستین گام در این زمینه، تشخیص صحیح گونه‌ها، جمعیت‌ها یا نژادها است که این امر هم از نظر مدیریت شیلاتی و هم حفاظت از گونه ها حایز اهمیت است. برای شناسایی جمعیت های مختلف از یک گونه روش‌های متفاوتی وجود دارد که یکی از آنها استفاده از نشانگرهای مولکولی است. نشانگرهای مولکولی در مطالعه ژنتیک جمعیت، برای ارزیابی اثر عوامل مختلف

بر تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیت مفید است (Okumus and Ciftci, 2003). چندین نوع نشانگر در مطالعات مرتبط به آبزیان رایج است که در این بین ریزماهواره‌ها (microsatellite) از کاربرد و اهمیت خاصی برخوردار هستند. این نشانگرهای مولکولی، شکلی از توالی‌های تکراری DNA هستند که از نظر سرعت، دقت، سهولت کار، ماهیت وراثت هم‌بارزی، سطح بالای چندشکلی، فراوانی آللی بالا و فراوانی زیاد در ژنوم موجودات به منظور شناسایی ارقام و ژنوتیپ‌ها، مطالعات ژنتیک جمعیت و مطالعات فیلوژنی بی‌نظیر هستند (Reddy *et al.*, 2002). در زمینه ساختار ژنتیکی ماهی خیاطه در حوضه جنوبی دریای خزر با استفاده از روش‌های مولکولی تنها یک مطالعه از طریق توالی‌یابی ژن سیتوکروم b میتوکندری انجام شده است (Seif Ali *et al.*, 2012). بر اساس نتایج آنها انواعی از ماهی خیاطه که در حوضه جنوب غربی دریای خزر پراکندگی دارند، به عنوان گونه *A. eichwaldii* شناسایی شدند. در صورتی که انواع صید شده از مرکز و شرق حوضه آبریز دریای خزر، اگرچه به عنوان جنس *Alburnoides* معرفی شدند، اما صحت گونه آنها به عنوان *A. eichwaldii* تأیید نشد (Seif Ali *et al.*, 2012). Eagderi و همکاران (۲۰۱۳) نیز به بررسی تغییرات ریختی ماهی خیاطه در حوضه جنوب غربی دریای خزر پرداختند و وجود جمعیت های متفاوتی از این گونه را تأیید نمودند. با این وجود پژوهش‌های متعددی دیگری در خصوص ارزیابی تنوع ژنتیکی سایر جنس‌های مشابه با استفاده از نشانگر ریزماهواره انجام شده است. از جمله این پژوهش‌ها می‌توان به گزارش‌های Barinova و همکاران (۲۰۰۴) در مورد تعیین تنوع ژنتیکی *Leuciscus idus* و *Rutilus rutilus* با استفاده از ۹ جایگاه ریزماهواره، Larno و همکاران (۲۰۰۵) در مورد تعیین ساختار ژنتیک جمعیت *Leuciscus cephalus* با ۱۲ جایگاه ریزماهواره، Muenzel و همکاران (۲۰۰۷) درباره تعیین ساختار جمعیتی *Leuciscus souffia* با ۱۱ جفت آغازگر ریزماهواره و Dubut و همکاران (۲۰۰۹b)، در زمینه تنوع ژنتیکی *Leuciscus leuciscus* با ۲۶ جفت آغازگر ریزماهواره اشاره کرد. علیرغم پراکنش شایان توجه این جنس در ایران و فراوانی نسبی آن در رودخانه‌های متعدد، ساختار جمعیتی و تنوع ژنتیکی گونه های مختلف آن به خوبی مطالعه نشده و موارد مبهم متعددی در این خصوص وجود دارد (Seif Ali *et al.*, 2012). بنابراین، مطالعه حاضر به منظور ارزیابی و مقایسه تنوع ژنتیکی ماهی خیاطه با نام علمی *A. eichwaldii* در دو رودخانه کرگان‌رود و چالوس به عنوان دو زیستگاه اصلی این گونه در حوضه جنوبی دریای خزر با استفاده از نشانگر مولکولی ریزماهواره طراحی و اجرا شد.

مواد و روش‌ها

در مجموع، از رودخانه‌های کرگان‌رود واقع در غرب استان گیلان با مختصات جغرافیایی E:۴۸°۵۰′۶۸۴″ و N:۳۷°۴۷′۶۳۶″ و ارتفاع ۱۲۷ متر از سطح دریا و رودخانه چالوس در غرب استان مازندران با مختصات جغرافیایی E:۳۶°۳۹′۰″ و N:۵۱°۲۵′۱۲″ و ارتفاع حدود ۲۵ متر از سطح دریا از حوزه آبریز خزر، ۶۰ قطعه ماهی خیاطه (هر کدام ۳۰ قطعه) در مرداد ماه سال ۱۳۸۹ صید شد (شکل ۱، جدول ۱).

بخشی از عضله پشتی ماهی جداسازی و به طور مجزا در الکل مطلق تثبیت و به آزمایشگاه ژنتیک و بیوتکنولوژی دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان منتقل شد. استخراج DNA با استفاده از کیت استخراج DNA (شرکت Biobasic، ساخت کره جنوبی) صورت گرفت. کیفیت DNA بر اساس روش الکتروفورز ژل آگاروز ۱ درصد بررسی شد. برای انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمراز به علت فقدان آغازگر اختصاصی برای ماهی خیاطه (*A. eichwaldii*)، از شش جفت آغازگر ریزماهواره چندشکل در گونه *A. bipunctatus* که در سایر گونه‌های مشابه نیز چندشکل بودند استفاده شد (Dubut *et al*., 2009a,b) (جدول ۲).

جدول ۱- ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی آب رودخانه‌های کرگان‌رود و چالوس در زمان نمونه‌برداری

منطقه	میانگین دما (درجه سانتیگراد)	کل مواد جامد محلول (mg/L)	pH	O_2 (mg/L)
کرگان‌رود	۲۵/۵	۱۶۵	۸/۶۲	۱۰/۴
چالوس	۲۴/۶	۲۷۹	۸	۷/۸

جدول ۲- مشخصات آغازگرهای استفاده شده در مطالعه حاضر (Dubut *et al*., 2009a,b; 2010)

جایگاه ژنی	کد دسترسی در بانک جهانی ژن	موتیف	توالی آغازگر (3'→5')
BL1-2b	FJ468347	$(TG)_{12}$	F: TTTGCACTAGTAACGAGCATCA R: CAGCACAGTTTCTCCATCCA
Z21908	G40277	(CA)6	F: ATTGATTAGGTCATTGCCCG R: AGGAGTCATCGCTGGTGAGT
CnaB-030	GU254028	(AC)6	F: ACGAATGAGAAGCTCGTG R: TCGTCATGCAGTTCATCCT
CtoF-172	GU254034	(GT)13N14(TG)3	F: ACCAAGGTGAAAGCCTGTAA R: GGACACGATGACAACGG
Ca3	AF277575	(TAGA)14	F: GGACAGTGAGGGACGCAGAC R: TCTAGCCCCCAAATTTTACGG
LleA-071	FJ601719	(CA)6T(AC)10	F: GTCTTAGATTGTGTAGCGGG R: ACTTCAGTTACTAAGAGATTAGTGA

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر و شرایطی شامل ۱ میکرولیتر DNA (۱۰ng/µL)، ۱ میکرولیتر از هر آغازگر (۱۰ pmol)، ۰/۵میکرولیتر dNTPs (۱۰mM)، یک واحد Taq polymerase (U) ساخت شرکت سیناژن (۵u/µL)، ۲/۵ میکرولیتر بافر X ۱۰PCR، ۰/۷ میکرولیتر $MgCl_2$ (۵۰ میلی‌مولار) و آب مقطر تا رسیدن نهایی انجام گرفت. شرایط بهینه شده PCR شامل یک سیکل در دمای ۹۵ درجه سانتیگراد به مدت ۱۰ دقیقه، ۳۶ چرخه در دمای ۹۴ درجه سانتیگراد به مدت ۱/۵دقیقه، در دمای ۵۸-۵۶ درجه به مدت ۱/۵ دقیقه، سپس در دمای ۷۲ درجه به مدت ۱/۵ دقیقه و در نهایت یک چرخه در دمای ۷۲ درجه به مدت ۱۰دقیقه بود. محصول واکنش در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری و برای

آشکارسازی از ژل پلی‌آکریلامید ۱۲ درصد همراه با رنگ‌آمیزی نیترات نقره و نشانگر ۵۰ جفت باز (شرکت Fermentas، ساخت آلمان) استفاده شد.

تحلیل آماری: در ارزیابی حاصل از به کارگیری آغازگرها، الگوهای نواری بر اساس اندازه با حروف A، B و C امتیازدهی شدند. شاخص‌های تنوع ژنتیکی نظیر: تعداد آلل مؤثر، هتروزیگوسیتی مورد انتظار، هتروزیگوسیتی مشاهده شده، محتوای اطلاعات چندشکل و شاخص شانون توسط نرم‌افزار PowerMarker نسخه ۳/۰ (Liu and Muse, 2004) و PopGene نسخه ۳/۲ محاسبه شد (Raymond and Rousset, 1995). انحراف از تعادل هاردی-وینبرگ و آزمون معنی‌دار بودن با محاسبه مقادیر P با روش مربع کای و با نرم‌افزار PopGene نسخه ۳/۲ انجام شد (Raymond and Rousset, 1995). همچنین، تعداد افراد مهاجر (Nm) و شاخص تثبیت رایت FIS برای همه جمعیت‌ها در هر جایگاه ژنی توسط نرم‌افزار PopGene نسخه ۳/۲ محاسبه شد (Raymond and Rousset, 1995). تحلیل واریانس مولکولی بر دو جمعیت کرگان‌رود و چالوس با نرم‌افزار ARLEQUIN نسخه ۳/۱۱ انجام شد(Schneider *et al.*, 2000). تخمین مقادیر دو به دو FST و آزمون معنی‌دار بودن با محاسبه مقادیر P برای انجام تفکیک ژنتیکی بین جمعیت‌ها با نرم‌افزار ARLEQUIN نسخه ۳/۱۱ انجام شد (Schneider *et al.*, 2000). ضریب خویشاوندی FIS با نرم‌افزار GenAlex نسخه ۶ ارزیابی شد (Peakall and Smouse, 2005). روابط ژنتیکی بین دو جمعیت با فاصله ژنتیکی Nei (۱۹۷۲) با نرم‌افزار PowerMarker نسخه ۳/۰ آزموده شد (Liu and Muse, 2004).

نتایج

الگوی باندی حاصل از تکثیر شش جفت آغازگر ریزماهواره: BL1-2b، Ca3، CnaB-030، CtoF-172، LleA-071 و Z21908 در رودخانه‌های کرگان‌رود و چالوس نشان داد که شش جفت آغازگر انتخابی در جمعیت‌های ماهی خیاطه، ۵/۵ آلل (Z21908 و CnaB-030) تا ۸ آلل (LleA-071) و در مجموع ۳۹ آلل، با میانگین ۶/۵ به ازای هر جایگاه ژنی تکثیر کردند. محدوده آللی برای نشانگر CnaB-030 بین ۱۱۴-۱۴۷ جفت باز، برای نشانگر BL1-2b بین ۱۳۸-۱۸۴ جفت باز، برای نشانگر Ca3 بین ۳۰۰-۳۶۲ جفت باز، برای نشانگر LleA-071 بین ۳۱۷-۳۸۷، برای نشانگر Z21908 بین ۱۴۶-۱۸۳ و برای CtoF-172 بین ۱۰۰-۱۴۷ جفت باز ارزیابی شد.

جدول ۳- تنوع و روابط ژنتیکی شش جایگاه چندشکل ریزماهواره در دو جمعیت ماهی خیاطه (*A. eichwaldii*)

جایگاه ژنی		کرگان‌رود	چالوس	میانگین
	تعداد آلل مشاهده شده	۶	۷	۶/۵
	تعداد آلل مؤثر	۵/۲۳	۴/۶۲	۴/۹۲
Ctof-172	هتروزیگوسیتی مشاهده شده	۱	۱	۱
	هتروزیگوسیتی مورد انتظار (تنوع ژنی)	۰/۸۲	۰/۷۸	۰/۸
	ضریب درون‌آمیزی	-۰/۲۳	-۰/۲۷	-۰/۲۵

جایگاه ژنی		کرگان‌رود	چالوس	میانگین
BL1-2b	تعداد آلل مشاهده شده	۶	۷	۶/۵
	تعداد آلل مؤثر	۴/۶۶	۵/۷۶	۵/۲۱
	هتروزیگوسیتی مشاهده شده	۱	۱	۱
	هتروزیگوسیتی مورد انتظار (تنوع ژنی)	۰/۷۹	۰/۷۸	۰/۷۸
	ضریب درون‌آمیزی	−۰/۲۷	−۰/۲۱	−۰/۲۴
CnaB-030	تعداد آلل مشاهده شده	۶	۵	۵/۵
	تعداد آلل مؤثر	۴/۱۲	۳/۲۴	۳/۶۸
	هتروزیگوسیتی مشاهده شده	۰/۸۶	۱	۰/۹۳
	هتروزیگوسیتی مورد انتظار (تنوع ژنی)	۰/۷۷	۰/۶۹	۰/۷۳
	ضریب درون‌آمیزی	−۰/۱۴	−۰/۴۴	−۰/۲۹
LleA-071	تعداد آلل مشاهده شده	۸	۸	۸
	تعداد آلل مؤثر	۵	۵/۷	۵/۳۵
	هتروزیگوسیتی مشاهده شده	۰/۸۱	۰/۸۲	۰/۸۱
	هتروزیگوسیتی مورد انتظار (تنوع ژنی)	۱	۱	۱
	ضریب درون‌آمیزی	−۰/۲۵	−۰/۲۱	−۰/۲۳
Ca3	تعداد آلل مشاهده شده	۸	۶	۷
	تعداد مؤثر آلل	۸/۸۶	۲/۶۹	۵/۷۷
	هتروزیگوسیتی مشاهده شده	۱	۱	۱
	هتروزیگوسیتی مورد انتظار (تنوع ژنی)	۰/۸۶	۰/۷۴	۰/۸۰
	ضریب درون‌آمیزی	−۰/۱۸	−۰/۳۴	−۰/۲۶
Z21908	تعداد آلل مشاهده شده	۶	۵	۵/۵
	تعداد آلل مؤثر	۴/۴۸	۴/۰۷	۴/۲۷
	هتروزیگوسیتی مشاهده شده	۱	۱	۱
	هتروزیگوسیتی مورد انتظار (تنوع ژنی)	۰/۷۹	۰/۷۵	۰/۷۷
	ضریب درون‌آمیزی	−۰/۲۸	−۰/۳۲	−۰/۳۰

ضریب خویشاوندی در رودخانه‌های کرگان‌رود و چالوس به ترتیب ۰/۲۲± ۰/۰۳۷− و ۰/۲۴± ۰/۰۳۷− محاسبه گردید. داده‌های مربوط به تنوع و روابط ژنتیکی شش جایگاه چندشکل ریزماهواره در دو جمعیت ماهی خیاطه در جدول ۳ آورده شده است.

حداقل و حداکثر هتروزیگوسیتی مورد انتظار به ترتیب معادل ۰/۷۳ و ۱ در جایگاه‌های CnaB-030 و LleA-071، مشاهده شد. کمترین هتروزیگوسیتی مشاهده شده در جایگاه LleA-071 مشاهده شد. کمترین تعداد آلل مشاهده شده در جایگاه‌های ژنی

CnaB-030 و Z21908 معادل ۵/۵ عدد بود در حالی که میانگین تعداد آلل‌ها معادل ۶/۵ عدد محاسبه شد. کمترین و بیشترین تعداد آلل مؤثر در شش جایگاه ژنی BL1-2b، Ca3، CnaB-030، CtoF-172، LleA-071 و Z21908 به ترتیب متعلق به جایگاه CnaB-030 معادل ۳/۶۸ آلل و Ca3 معادل ۵/۷۷ آلل بود. میانگین محتوای اطلاعات چندشکلی در این جایگاه‌ها برابر با ۰/۹۴ به ازای هر ایستگاه (رودخانه) محاسبه شد. در میان شش جایگاه چندشکل، نشانگر Z21908 در پایین‌ترین چندشکلی با ۵/۵ آلل مشاهده شده به ازای نمونه‌های هر رودخانه، هتروزیگوسیتی مورد انتظار ۰/۷۷ به ازای نمونه‌های هر رودخانه، محتوای اطلاعات چندشکلی برابر با ۰/۹۱ به ازای نمونه‌های هر رودخانه و تعداد آلل مؤثر برابر با ۴/۲۷ به ازای نمونه‌های هر رودخانه مشاهده شد و نشانگر Ca3 با ۷ آلل مشاهده شده به ازای نمونه‌های هر رودخانه، هتروزیگوسیتی مورد انتظار برابر با ۰/۸۰ محتوای اطلاعات چندشکلی معادل ۰/۹۵ و تعداد مؤثر آلل برابر با ۵/۷۷ به ازای نمونه‌های هر رودخانه بالاترین چندشکلی را نشان داد.

اگرچه همپوشانی قابل ملاحظه‌ای در آلل‌های موجود در هر جایگاه ژنی بین دو رودخانه وجود داشت اما در تمامی شش جایگاه بررسی شده، آلل‌های منحصر به فردی حداقل در یک رودخانه مشاهده شد (جدول ۴). آلل‌های ۱۴۶، ۱۵۰، ۳۱۷، ۳۴۲، ۳۴۸، ۳۵۲، ۳۵۸ و ۳۶۴ فقط در رودخانه کرگان‌رود و آلل‌های ۱۲۰، ۱۱۴، ۱۸۰، ۱۸۶، ۱۸۳ و ۳۸۸ فقط در رودخانه چالوس مشاهده شدند. در بررسی آماری، فراوانی آلل‌های منحصر به فرد مشخص شد که تمامی آلل‌ها به غیر از آلل ۱۸۶ در رودخانه چالوس دارای فراوانی کمتر از ۰/۲۵ هستند. نادرترین آلل‌ها در ماهیان رودخانه کرگان‌رود به ترتیب عبارتند از: آلل‌های ۱۴۶ و ۱۵۰ با فراوانی ۰/۰۱، آلل‌های ۳۴۲ و ۳۴۸ با فراوانی ۰/۰۱۷، آلل‌های ۳۵۲ و ۳۵۸ با فراوانی ۰/۰۶۶، آلل ۳۶۴ با فراوانی ۰/۰۷۲ و آلل ۳۱۷ با فراوانی ۰/۱۷۸ در جمعیت چالوس، وضعیت آلل‌های منحصر به فرد مناسب‌تر بود؛ به این معنی که به غیر از آلل ۳۸۸ که فراوانی بسیار اندکی معادل ۰/۰۱۸ را نشان داد، فراوانی سایر آلل‌های منحصر به فرد بیش از ۰/۱ بود. آلل‌های ۱۱۴، ۱۸۰، ۱۸۳ و ۱۲۰ به ترتیب با فراوانی ۰/۱۴۲، ۰/۱۴۷، ۰/۱۴۷ و ۰/۱۵۴ در جمعیت مربوط به رودخانه چالوس مشاهده شدند. بیشترین فراوانی آلل منحصر به فرد در این جمعیت مربوط به آلل ۱۸۶ جایگاه BL1-2b با فراوانی ۰/۲۵۵ بود (جدول ۴).

آزمون تعادل هاردی-وینبرگ برای تمام جایگاه‌های ژنی در رودخانه‌ها نشان داد که شش نشانگر BL1-2b، Ca3، CnaB-030، CtoF-172، LleA-071 و Z21908 به طور معنی‌داری از تعادل منحرف بودند (P<۰/۰۰۱).

میزان FST بین دو جمعیت معادل ۰/۰۶۳ و در سطح احتمال یک هزارم (P<۰/۰۰۱) معنی‌دار بود که می‌تواند بیانگر تمایز جمعیت‌های ماهی خیاطه در رودخانه‌های کرگان‌رود و چالوس باشد. تجزیه واریانس مولکولی با نرم‌افزار ARLEQUIN نسخه ۳/۱ نشان داد که بخش اعظم تنوع کل (۹۳/۶۹ درصد) مرتبط با تنوع داخل جمعیت‌ها و تنها بخش اندکی از آن (۶/۳۱ درصد) مربوط به تنوع بین جمعیت‌ها بود. با این وجود، مقادیر P بیانگر آن بود که اختلاف بین جمعیت‌ها در سطح احتمال پنج صدم (P<۰/۰۵) و داخل افراد در سطح یک هزارم معنی‌دار بود (P<۰/۰۰۱). تشابه و فاصله ژنتیکی Nei (۱۹۷۲) بین دو رودخانه کرگان‌رود و چالوس به ترتیب معادل ۰/۶۹۵ و ۰/۳۶۳ برآورد شد.

جدول ۴- جایگاه‌های بررسی شده و آلل‌های موجود در شش جایگاه چندشکل ریزماهواره در دو جمعیت ماهی خیاطه *A. eichwaldii* آلل‌ها بر اساس اندازه هستند. a آلل‌های رودخانه کرگان‌رود، c آلل‌های رودخانه چالوس را نشان می‌دهند. آلل‌های ۱۴۶، ۱۵۰، ۳۱۷، ۳۴۲، ۳۴۸، ۳۵۲، ۳۵۸ و ۳۶۴ تنها در رودخانه کرگان‌رود، آلل‌های ۱۲۰، ۱۱۴، ۱۸۰، ۱۸۶، ۱۸۳ و ۳۸۸ تنها در رودخانه چالوس مشاهده شدند. سایر آلل‌ها نظیر ۳۱۸، ۳۲۴ و ۳۳۰ در ماهیان هر دو رودخانه یافت شدند.

جایگاه ژنی	Ctof-172	BL1-2b	CnaB-030	LleA-071	Ca3	Z21908
	۱۰۰^{ac}	۱۳۸^{ac}	۱۱۴^{c}	۳۱۷^{a}	۳۰۰^{ac}	۱۴۶^{a}
	۱۰۶^{ac}	۱۴۴^{ac}	۱۲۰^{c}	۳۲۳^{ac}	۳۰۶^{ac}	۱۵۲^{ac}
	۱۱۲^{ac}	۱۵۰^{ac}	۱۲۶^{ac}	۳۲۹^{ac}	۳۱۲^{ac}	۱۵۸^{ac}
	۱۱۸^{ac}	۱۵۶^{ac}	۱۳۲^{ac}	۳۳۵^{ac}	۳۱۸^{ac}	۱۶۴^{ac}
	۱۲۴^{ac}	۱۶۲^{ac}	۱۳۸^{ac}	۳۴۱^{ac}	۳۲۴^{ac}	۱۷۰^{ac}
	۱۳۰^{ac}	۱۶۸^{ac}	۱۴۴^{ac}	۳۴۶^{ac}	۳۳۰^{ac}	۱۷۶^{ac}
	۱۳۶^{ac}	۱۷۴^{ac}	۱۵۰^{a}	۳۵۲^{ac}	۳۳۶^{ac}	۱۸۳^{c}
	۱۴۲^{ac}	۱۸۰^{c}		۳۵۸^{ac}	۳۴۲^{a}	
		۱۸۶^{c}		۳۶۴^{ac}	۳۴۸^{a}	
				۳۷۰^{ac}	۳۵۲^{a}	
				۳۷۶^{ac}	۳۵۸^{a}	
				۳۸۲^{ac}	۳۶۴^{a}	
				۳۸۸^{c}		
جمع	۸	۹	۷	۱۳	۱۲	۷

بحث و نتیجه‌گیری

تمامی آغازگرهای استفاده شده در پژوهش حاضر چندشکل بودند، اگرچه استفاده از آغازگرهای غیراختصاصی احتمال ایجاد چندشکلی را کاهش می‌دهد (Liu, 2007) اما به نظر می رسد که انتخاب آغازگرها بر اساس تعداد آلل مشاهده شده و محتوای اطلاعات چندشکلی در سایر مطالعات روی گونه‌های مشابه می‌تواند احتمال تولید محصول چندشکل را افزایش دهد. گونه *A. eichwaldii* مشابهت بسیار زیادی *A. bipunctatus* دارد به طوری که پیش از این ماهیان خیاطه حوضه جنوبی دریای خزر همگی تحت عنوان *A. bipunctatus* طبقه‌بندی می‌شدند (Abdoli, 2000). شش جفت آغازگر استفاده شده در پژوهش حاضر بر اساس چندشکلی مطلوب در *A. bipunctatus* انتخاب شدند (Dubut *et al*., 2009a,b; 2010). چندشکلی این نشانگرها پیش از این در مطالعه Dubut و همکاران (۲۰۱۰) برای ۱۵ گونه ماهی از خانواده کپورماهیان از جمله: *Alburnoides bipunctatus*، *Alburnus alburnus*، *Chondrostoma genei*، *Chondrostoma nasu*، *Chondrostoma soetta*، *Leuciscus idus*، *Leuciscus leuciscus* و *Squalius cephalus* مورد تأکید قرار گرفته است.

هتروزیگوسیتی (مورد انتظار و مشاهده شده) و تنوع آللی هر دو شاخص‌های مناسبی برای ارزیابی تنوع

ژنتیکی هستند (Silverstein *et al*., 2004). در مطالعه تنوع ژنتیکی، غنای آللی معمولاً نسبت به هتروزیگوسیتی دارای ارزش بالاتری است. به عبارتی، غنای آللی مناسب می‌تواند نشان‌دهنده بالا بودن اندازه مؤثر جمعیت باشد بنابراین استفاده از غنای آللی برای ارزیابی تنوع ژنتیکی در برنامه‌های به‌گزینی یا حفاظت، مفیدتر است. میزان تنوع ژنتیکی در هر گونه نسبت به گونه دیگر و در جمعیت‌های مختلف یک گونه که حتی در یک منطقه هستند، متفاوت است (Liu and Cordes, 2004؛ Shafee *et al*., 2013؛ Ghasabshiran *et al*., 2013).

DeWoody و Avise (۲۰۰۰) با مطالعه حدود ۴۰۰۰۰ فرد از ۷۸ گونه ماهیان آب شیرین، با استفاده از ۵۲۴ نشانگر ریزماهواره، هتروزیگوسیتی مورد انتظار را برابر با ۰/۴۶ گزارش کردند. Du و همکاران (۲۰۰۰) هتروزیگوسیتی مورد انتظار و تعداد آلل مؤثر در جمعیت‌های کپور معمولی وحشی را به ترتیب برابر با ۰/۶۵ و ۴/۹۱ گزارش کردند. همچنین، در بررسی تنوع ژنتیکی شش جمعیت کپور معمولی وحشی با ۳۰ نشانگر ریزماهواره توسط Dayu و همکاران (۲۰۰۷) تعداد آلل مؤثر، هتروزیگوسیتی مورد انتظار، هتروزیگوسیتی مشاهده شده و محتوای اطلاعات چندشکلی به ترتیب برابر با ۲/۷۱، ۰/۵۸، ۰/۵۷ و ۰/۴۸ بود. در مطالعه حاضر، سطح هتروزیگوسیتی مورد انتظار در تمامی جایگاه‌های بررسی شده در هر دو رودخانه مطلوب بود. همچنین، تعداد آلل مشاهده شده و مورد انتظار در هر جایگاه نسبتاً قابل توجه و به ترتیب حدود ۶ و ۴ آلل محاسبه شد که نشان‌دهنده تنوع ژنتیکی مناسب در هر دو جمعیت است. تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های وحشی معمولاً بیشتر از جمعیت‌های پرورشی یا جمعیت های در حال بهره‌برداری است (Beaumont and Hoare, 2003). به نظر می‌رسد عدم بهره برداری از جمعیت های طبیعی ماهی خیاطه در دو ایستگاه نمونه‌برداری عامل اصلی در بروز تنوع ژنتیکی مطلوب آنها باشد.

آزمون تعادل هاردی-وینبرگ برای تمام جایگاه‌های ژنی در هر دو رودخانه نشان داد که تمامی نشانگرهای مطالعه شده به طور معنی‌داری از تعادل انحراف داشتند. برای حصول تعادل، شرایطی از جمله: تولید مثل کاملاً تصادفی، عدم انتخاب، محدود بودن اثر مهاجرت یا جهش بر فراوانی آلل ها، بزرگی اندازه مؤثر جمعیت و تبعیت از قانون مندل در تفرق آلل ها ضرورت دارد، بنابراین تنها ممکن است در برخی از جمعیت‌های بسیار بزرگ که برون‌آمیزی دارند و تأثیر جهش و گزینش در آنها اندک است، تعادل هاردی-واینبرگ برقرار باشد (Freeland, 2007). علاوه بر موارد اشاره شده، Appleyard و همکاران (۲۰۰۲) خطای نمونه‌گیری، Safari (۲۰۰۷) جفت‌گیری غیرتصادفی و تکامل غیر هم‌جهتی، Maeda و همکاران (۲۰۰۹) آلل‌های نول و Rezaei و همکاران (۲۰۱۰) کوچک بودن اندازه جمعیت را از دلایل اصلی انحراف از تعادل هاردی-وینبرگ بیان کرده‌اند. Liao و همکاران (۲۰۰۶) در مطالعه خود آلل نول را دلیلی برای کاهش هتروزیگوسیتی و در نتیجه انحراف از تعادل هاردی-وینبرگ در بیشتر انحراف‌ها بیان کردند. Yang و همکاران (۲۰۰۸) در بررسی تنوع ژنتیکی جوامع وحشی و پرورشی کپور لجنی (*Cirrhina molitorella*) حضور آلل نول و ناکافی بودن تعداد نمونه را علت انحراف از تعادل هاردی-وینبرگ بیان

کردند. به نظر می‌رسد حضور آلل نول احتمالاً به دلیل غیراختصاصی بودن آغازگرهای مورد استفاده و نیز تعداد اندک نمونه یا جایگاه مورد بررسی از دلایل بروز انحراف در جمعیت‌های مطالعه شده در تحقیق حاضر باشد. مقادیر آماره FIS در دو رودخانه کرگان رود و چالوس، به ترتیب ۰/۲۲- و ۰/۰۳- محاسبه شد. منفی بودن ضریب خویشاوندی، عدم بروز درون آمیزی در میان افراد مورد مطالعه را مورد اشاره قرار می‌دهد (Yang *et al*., 2008 ؛Ward and Grewe, 1994).

در مطالعه حاضر میزان FST برابر با ۰/۰۶۳ و معنی‌دار بود، میزان این شاخص در سه جمعیت کپور معمولی وحشی (*Cyprinus carpio*) در رودخانه یانگتز چین با استفاده از نشانگر ریزماهواره معادل ۰/۰۳۰۳ بود (Liao *et al*., 2006). در حالی که در دو جمعیت سیچلید ایرانی (*Iranocichla hormuzensis*) میزان این شاخص برابر با ۰/۰۲۵ برآورد شد (Ghasabshiran *et al*., 2013). بالاتر بودن میزان این شاخص برای ماهی خیاطه در مقایسه با برخی مطالعات دیگر احتمالاً مربوط به حضور آلل های منحصر به جایگاه در هر یک از جمعیت ها است. وجود آلل های منحصر و نادر در هر جمعیت بخشی از تنوع ژنتیکی کل را به خود اختصاص می‌دهد که در نهایت می‌تواند به تفاوت ژنتیکی جمعیت‌ها از یکدیگر منجر شود (Freeland, 2007). میزان شباهت ژنتیکی بین ماهیان دو ایستگاه حدود ۰/۷۷ بود. مطابق دسته‌بندی ارایه شده توسط Thorpe (۱۹۸۲) این میزان شباهت ژنتیکی بسیار نزدیک به محدوده بیان شده برای شباهت ژنتیکی جمعیت های متعلق به یک گونه (۰/۸۰-۰/۹۰) است. با وجود این، به دلیل همپوشانی در گستره ارایه شده Thorpe (۱۹۸۲) که میزان شباهت ژنتیکی در گونه های متعلق به یک جنس را نیز در محدوده ۰/۳۵-۰/۸۵ بیان می‌کند، احتمال متفاوت بودن دو جمعیت در سطح گونه نیز وجود دارد. با وجود این، اظهار نظر قطعی در این خصوص نیازمند مطالعات تکمیلی با روش‌های توالی‌یابی است. از دیگر عوامل تأثیرگذار بر جدایی ژنتیکی این دو جمعیت، وجود شرایط اکولوژیک متفاوت و عدم وجود جریان ژنی بین دو رودخانه به دلیل بُعد مسافت و عدم امکان مهاجرت ماهی خیاطه از طریق دریای خزر خواهد بود.

مطالعه حاضر مدارک و شواهد اولیه برای وجود جمعیت‌های متمایز ماهی خیاطه در مناطق بررسی شده را نشان داد. همچنین، نتایج تحقیق حاضر نشان داد که احتمالاً جمعیت های ماهیان خیاطه در رودخانه های کرگان‌رود و چالوس از نظر زیستگاهی، شرایط اکولوژیکی متفاوتی را تجربه نموده و تفاوت‌های محیطی سبب به‌گزینی ژنتیکی و تفاوت قابل ملاحظه در سطح جمعیتی شده است. با توجه به اهمیت حفظ ذخایر ژنتیکی گونه های بومی و با توجه به یافته‌های علمی این بررسی به ویژه حضور آلل‌های نادر و منحصر در هر دو ناحیه، بررسی‌های بیشتر در خصوص درک دقیق از وضعیت تنوع ماهی خیاطه پیشنهاد می‌شود.

سپاسگزاری

نگارندگان از معاونت پژوهشی دانشگاه گیلان و دانشگاه صنعتی اصفهان به خاطر تأمین بخشی از هزینه‌های پژوهش حاضر سپاسگزاری می‌نمایند.

منابع

Abdoli, A. (2000) The inland water fishes of Iran. Nature and Wildlife Museum of Iran, Tehran (in Persian).

Appleyard, S. A., Ward, R. D. and Grewe, P. M. (2002) Genetic stock structure of bigeye tuna in the Indian Ocean using mitochondrial DNA and microsatellite. Journal of Fish Biology 60: 767-770.

Barinova, A., Yadrenkina, E., Nakajima, M. and Taniguchi, N. (2004) Identification and characterization of microsatellite DNA markers developed in ide *Leuciscus idus* and Siberian roach, *Rutilus rutilus*. Molecular Ecology Notes 4(1): 86-88.

Beaumont, R. A. and Hoare, K. (2003) Biotechnology and Genetics in Fisheries and Aquaculture. Blackwell Publishing, Oxford.

Berg, L. S. (1949) Freshwater fishes of USSR and adjacent countries. Tardy Institute Academy Nauk, USSR (translated to English, 1962).

Coad, B. and Bogutskaya, N. (2009) *Alburnoides qanati*, a new species of Cyprinid fish from southern Iran (Actinopterygii: Cyprinidae). ZooKeys 13: 67-77.

Dayu, L., Dahai, K., Qianqian, Y., Xiaowen, S. and Liqun, L. (2007) Microsatellite DNA marker analysis of genetic diversity in wild Common carp, *Cyprinus carpio* populations. Journal of Genetics and Genomics 34: 984-993.

DeWoody, J. and Avise, J. (2000) Microsatellite variation in marine, freshwater and anadromous fishes compared with other animals. Journal of Fish Biology 56: 461-473.

Du, C., Sun, X., Lou, Y. and Shen, J. (2000) The genetic heterozygosity analysis to wild carp and two cultivated strains of common carp using microsatellite technique. Journal of Shanghai Ocean University 9: 285-289.

Dubut, V., Martin, J. F., Costedoat, C., Chappaz, R. and Gilles, A. (2009a) Isolation and characterization of polymorphic microsatellite loci in the freshwater fishes *Telestes souffia* and *Telestes muticellus* (Teleostei: Cyprinidae). Molecular Ecology Recourses 9: 1001-1005.

Dubut, V., Martin, J. F., Gilles, A., Van Houdt, J., Chappaz, R. and Costedoat, C. (2009b) Isolation and characterization of polymorphic microsatellite loci for the dace complex: *Leuciscus leuciscus* (Teleostei: Cyprinidae). Molecular Ecology Recourses 9: 1179-1183.

Dubut, V., Sinama, M., Martin, J., Meglécz, E., Fernandez. J., Chappaz, R., Gilles, A. and Costedoat, C. (2010) Cross-species amplification of 41 microsatellites in European cyprinids: A tool for evolutionary, population genetics and hybridization studies. Bio Med Central Research Notes 3(135): 1-9.

Eagderi, S., Esmaeilzadegan, E. and Maddah, A. (2013) Body shape variation in riffle minnows (*Alburnoides eichwaldii* De Filippii, 1863) populations of Caspian Sea basin. Taxonomy and Biosystematics (5)14: 1-8 (in Persian).

Freeland, J. R., (2007) Molecular ecology. John Wiley & Sons Ltd., Chichester.

Ghasabshiran, Z., Dorafshan, S. and Keivany, Y. (2013) Population genetic structure of Iranian cichlid, *Iranocichla hormuzensis* as an only cichlidae family in Iran using microsatellite markers. Taxonomy and Biosystematics (5)14: 9-16 (in Persian).

Keast, A. D. (1996) Mouth and body from relative t feeding ecology in the fish fauna of a small lake, lake opinion, Ontario. Journal of Fish Research 23: 845-874.

Keivany, Y., Nasri, M., Abbasi, K. and Abdoli, A. (in press) Atlas of inland water fishes of Iran. Iran Department of Environment Press, Tehran (in Persian and English).

Larno, V., Launet, S., Devaux, A. and Laroche, J. (2005) Isolation and characterization of microsatellite loci from chub, *Leuciscus cephalus* (Pisces: Cyprinidae). Molecular Ecology Notes 5: 752-754.

Liao, X., Yu, X. and Tong, J. (2006) Genetic diversity of common carp from two largest Chinese lakes and the Yangtze River revealed by microsatellite markers. Hydrobiologia 568: 445-453.

Liu, K. and Muse, V. (2004) PowerMarker: Integrated analysis environment for genetic marker data. Bioinformatics 21: 2128-2129.

Liu, Z. (2007) Aquaculture genome technologies. Blackwell Publishing. Iowa.

Liu, Z. J. and Cordes, F. J. (2004) DNA marker technologies and their applications in aquaculture genetics. Aquaculture 238: 1-37.

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.

Muenzel, F.M., Sanetra, M., Salzburger, W. and Meyer, A. (2007) Microsatellites from the vairone Cyprinidae: *Leuciscus souffia*, and their application to closely related species. Molecular Ecology Notes 7: 1048-1050.

Nei, M. (1972) Genetic distance between populations. American Naturalist 106: 283-292.

Okumus, I. and Ciftci, Y. (2003) Fish population genetics and molecular markers: II- molecular markers and their applications in fisheries and aquaculture. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Science 3: 51-79.

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.

Raymond, M. and Rousset, F. (1995) GENEPOP, version 1.2: population genetics software for exact tests and ecumenicist. Journal of Heredity 86: 248-249.

Reddy, M. P., Sarla, N. and Siddiq, E. A. (2002) Inter-simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. Euphytica 128: 9-17.

Rezaei, M., Shabani, A., Shabanpour, B. and 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 2(2): 1-14 (in Persian).

Richard, G. F., Kerrest, A and Dujan, B. (2008) Comparative genomics and molecular dynamics of DNA repeats in eukaryotes. Microbiology and Molecular Biology Reviews 72: 686-727.

Safari, R. (2007) Population genetic structure of ship sturgeon, *Acipenser nudiventris* from the south Caspian Sea and Oral River using microsatellite marker. MSc thesis, Gorgan University of Agriculture and Natural Resources, Gorgan, Iran (in Persian).

Schneider, S., Roessli, D. and Excoffier, L. (2000) Arlequin: a software for population genetics data analysis, version 2.000. Genetics and Biometry Laboratory, Department of Anthropology, University of Geneva, Switzerland.

Seif Ali, M., Arshad, A., Yazdani Moghaddam, F., Esmaeili, H. R., Kiabi, B., Khalijah Daud, S. and Aliabadian, M. (2012) Mitochondrial genetic differentiation of Spirlin, Actinopterigii: Cyprinidae, in the south Caspian Sea basin of Iran. Evolutionary Bioinformatics 8: 219-227.

Shafee, Z., Dorafshan, S., Keivany, Y. and Qasemi, S. A. (2013) Genetic structure of Mosul bleak (*Alburnus mossulensis* Heckel, 1843) using microsatellite marker in Tigris basin. Taxonomy and Biosystematics 17: 9-22 (in Persian).

Silverstein, J. T., Rexroad, C. E. and King, T. L. (2004) Genetic variation measured by microsatellites among three strains of domesticated rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, Walbaum. Aquaculture Research 35: 40-48.

Thorpe, J. P. (1982) The molecular clock hypothesis: Biochemical evolution, genetic differentiation, and systematic. Annual Reviews in Ecological Systematic 13: 139-168.

Ward, R. D. and Grewe, P. M. (1994) Appraisal of molecular genetics techniques in fisheries. Reviews in Fish Biology and Fisheries 4: 300-325.

Yang, C., Zhu, X. and Sun, X. (2008) Development of microsatellite markers and their utilization in genetic diversity analysis of cultivated and wild populations of the mud carp, *Cirrhina molitorella*. Journal of Genetics and Genomics 35: 201-206.

Genetic structure of spirlin (*Alburnoides echiwaldii*) in Karganroud and Chalous rivers

Elham Haghighi [1], Masoud Sattari [1], Salar Dorafshan [2]* and Yazdan Keivany [2]

[1] Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Guilan, Rasht, Iran
[2] Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran

Abstract

Genetic structure of two populations of Spirlin, Alburnoides eichwaldii from Karganroud and Chalous Rivers was investigated using six microsatellite molecular markers (CtoF-172, BL1-2b, CnaB-030, LleA-071, Ca3 and Z21908) on 30 fishes from each river. The mean of observed alleles at each locus was 6.5. Allele sizes at CtoF-172, BL1-2b, CnaB-030, LleA-071, Ca3 and Z21908 loci were ranged from 107-147, 147-184, 124-157, 332-387 300-347 and 147-183 bps respectively. Z21908 and Ca3 showed the lowest and the highest polymorphism respectively. All loci in both rivers showed deviations from Hardy-Weinberg equilibrium. The number of effective alleles, expected heterozygosity, observed heterozygosity and polymorphism information content (PIC) were 4.86, 0.81, 0.96 and 0.94 respectively cindicative of high level of genetic diversity in both populations. The mean FIS value for all loci in both station ranged from -0.23 to -0.30 indicating low possibility for inbreeding occurrence. The analysis of molecular variance (AMOVA) indicated that the percent of variance among and within populations were 6.31 and 93.69 %, respectively. The genetic distance was 0.363. Significant FST value (0.063) was observed between the two populations. The high level of genetic differentiation may reflect local segregation of two populations because of differences in ecological conditions of two rivers .

Key words: Population genetics, Sprilin, *Alburnoides echiwaldii*, Microsatellite, South-west Caspian Sea basin

* sdorafshan@cc.iut.ac.ir