

ساختار ژنتیکی شاه کولی جنوبی (*Alburnus mossulensis* Heckel, 1843) با استفاده از نشانگر ریزماهوره، در حوضه دجله

زهرا شفیعی^۱، سالار درافشان^{۱*}، یزدان کیوانی^۱ و سید احمد قاسمی^۲
^۱ گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران
^۲ مرکز پژوهش‌های خلیج فارس، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر، ایران

چکیده

ساختار ژنتیکی پنج جمعیت از شاه کولی جنوبی (*Alburnus mossulensis* Heckel, 1843) با استفاده از چهار جایگاه ریزماهوره (BL1-98، BL1-2b، CypG24 و Rser10) در حوضه دجله شامل جمعیت‌های رودخانه کنجان‌چم، کشگان، دورود و دوپلان و داوودعرب (هر کدام ۳۰ قطعه، به جز رودخانه داوودعرب ۲۵ قطعه) مطالعه شد. در مجموع، آغازگرها به ازای هر مکان ژنی ۴۳ آلل، با میانگین ۱۰/۷۵ تکثیر کردند. محدوده آللی برای CypG24، BL1-2b، BL1-98 و Rser10 به ترتیب: ۱۳۸-۲۱۵، ۱۴۱-۱۸۰، ۲۷۲-۳۰۰ و ۱۷۶-۲۴۰ جفت باز بود. هتروزیگوسیتی مورد انتظار از ۰/۷۹ (داوودعرب) تا ۰/۸۴ (کنجان‌چم و کشگان) با میانگین ۰/۸۲۵ و هتروزیگوسیتی مشاهده شده از ۰/۶۹ در جمعیت کنجان‌چم تا ۰/۸۱ در جمعیت کشگان با میانگین ۰/۷۵ متغیر بود. انحراف از تعادل هاردی-وینبرگ در جایگاه‌های BL1-98، BL1-2b و CypG24 در تمامی جمعیت‌ها و جایگاه Rser10 در جمعیت داوودعرب معنی‌دار بود ($P < 0.001$). میانگین F_{ST} در بین جمعیت‌های مطالعه شده برابر با ۰/۰۲ و بین سه حوضه برابر با ۰/۰۷۱ بود. نتایج تجزیه واریانس مولکولی بیانگر وجود حدود ۱۷/۶ درصد از تنوع ژنتیکی در بین جمعیت‌ها و ۸۲/۴ درصد درون جمعیت‌ها بود. میزان شباهت و فاصله ژنتیکی بین جمعیت‌ها به ترتیب: در دامنه: ۰/۶۹۶-۰/۸۹۴ و ۰/۱۱۱-۰/۳۴ قرار داشت. تمایز ژنتیکی اندک اما معنی‌داری بین جمعیت‌ها مشاهده شد ($P < 0.05$). برای درک بهتر ساختار جمعیتی شاه کولی جنوبی مطالعه ساختار ژنتیکی آن با استفاده از تعداد بیشتری نشانگر ریزماهوره توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: شاه کولی جنوبی، *Alburnus mossulensis*، ریزماهوره، تنوع ژنتیکی، تفاوت ژنتیکی

مقدمه

کپورماهیان (Cyprinidae)، سگ‌ماهیان جویباری (Balitoridae) و رفتگرماهیان (Cobitidae) هستند که اغلب ارزش صید اقتصادی، صید ورزشی، زیبایی‌شناسی، مبارزه زیستی و حفاظتی دارند (Abdoli

ماهی‌های آب‌های شیرین ایران، بسیار متنوع و جالب توجه هستند. حدود ۱۴۰ گونه ماهی در آب‌های داخلی ایران وجود دارد که اغلب آنها از سه خانواده

جمعیت، برای ارزیابی اثر عوامل مختلف روی تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیت مفید است (Okumus and Ciftci, 2003). چندین نوع نشانگر در مطالعات مرتبط به آبریزان رایج است که در این بین ریزماهوره‌ها (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).

چندین علت برای حفظ پایداری جمعیت‌ها وجود دارد. جوامع ماهیان وحشی از ارزش ذاتی برخوردارند و دارای نقش‌های بوم‌شناسی مهم در ساختار و عملکرد جوامع آبرزی به لحاظ ارزش اقتصادی و زیبایی‌شناختی داشته، فراتر از آن، حفظ پایداری جوامع آنها لازم است. تاکنون، مطالعات اندکی در مورد شاه کولی جنوبی منتشر شده است که در هیچ یک از آنها به بررسی ساختار ژنتیکی آن پرداخته نشده است (Ergene, 1993; Mousavi, 2011). مطالعه حاضر با توجه به اهمیت شاه کولی جنوبی به عنوان گونه‌ای بومی در ایران که دارای گستره پراکنش وسیع و شایان توجهی در اکوسیستم‌های آبی است، و به منظور درک ساختار تنوع ژنتیکی آن در حوضه دجله طراحی و اجرا شد.

مواد و روش‌ها

نمونه برداری از سه حوضه آبریز دجله یعنی کارون، کرخه و سرشاخه‌های دیاله در رودخانه‌های کنجان‌چم، کشگان، دورود و دوپلان و داوودعرب

(2000. شاه کولی جنوبی *Alburnus mossulensis* Heckel, 1843) متعلق به راسته کپورماهی‌شکلان (Cypriniformes)، خانواده کپورماهی‌سانان (Cyprinidae)، زیرخانواده عروس‌ماهی‌سانان (Leuciscinae) و جنس *Alburnus* است. این جنس در جهان دارای ۳۹ گونه ثبت شده است که ۷ گونه از آن در آب‌های ایران زیست می‌کند. پراکنش این ماهی در حوضه دجله و فرات و نیز آب‌های داخلی ایران در حوضه‌های اصفهان، بوشهر، دجله و فارس گزارش شده است (Abdoli, 2000). هر فرد به عنوان یک خزانه ژنی محسوب می‌شود و جمعیت‌ها مجموعه متنوعی از ژن‌ها هستند که عواملی نظیر: آلودگی، صید بی‌رویه، شرایط نامناسب آب و هوایی و از بین رفتن زیستگاه‌ها به کاهش اندازه مؤثر جمعیت‌ها و در نتیجه کاهش تنوع ژنتیکی ذخایر منجر می‌شود. شاه کولی جنوبی به لحاظ ذخیره ژنتیکی در ایران بسیار حایز اهمیت است. تنوع ژنتیکی، کلید پایداری طولانی مدت جمعیت‌ها است (Beaumont and Hoare, 2003). اعمال مدیریتی صحیح بر ذخایر آبریزان زمانی با موفقیت همراه خواهد بود که ذخایر ژنی گونه‌های بومی مطالعه شده باشند. از آن جا که فراوانی یک جمعیت به دلیل تغییراتی که در احتمال بقا و موفقیت تولید مثلی رخ می‌دهد، تغییر می‌کند، یک حوضه آبریز ممکن است دارای چندین جمعیت از یک گونه باشد، بنابراین نخستین گام در این زمینه، تشخیص صحیح گونه‌ها، جمعیت‌ها و نژادها است که این امر هم از نظر مدیریت شیلات و هم حفاظت از گونه‌ها دارای اهمیت است. برای شناسایی جمعیت‌های مختلف از یک گونه روش‌های متفاوتی وجود دارد که یکی از آنها استفاده از نشانگرهای مولکولی است. نشانگرهای مولکولی در مطالعه ژنتیک

انجام شد (جدول ۱، شکل ۱). از هر ایستگاه (به جز رودخانه داوودعرب ۲۵ قطعه)، تعداد ۳۰ قطعه ماهی شاه کولی جنوبی در تابستان ۱۳۸۸ صید و پس از نمونه گیری از بافت نرم باله دمی در الکل اتانول ۹۶ درصد تثبیت شدند. برای استخراج DNA، از کیت استخراج DNA ساخت شرکت TAKARA ژاپن مطابق دستورالعمل شرکت سازنده استفاده شد. کیفیت

DNA استخراجی با روش الکتروفورز با ژل آگاروز ۱ درصد تعیین شد. به علت عدم وجود آغازگر اختصاصی برای شاه کولی جنوبی، در این پژوهش از چهار جفت آغازگر ریزماهوره چندشکل طراحی شده برای دو گونه *Alburnus alburnus* و *Alburnoides bipunctatus* (متعلق به زیرخانواده *Leuciscinae*) استفاده شد (جدول ۲).



شکل ۱- موقعیت محل نمونه برداری. شماره ۱ کشگان، شماره ۲ دورود، شماره ۳ دوپلان، شماره ۴ کنجان چم و شماره ۵ داوودعرب را نشان می دهند.

جدول ۱- محل و موقعیت جغرافیایی جمع آوری ماهی شاه کولی جنوبی

تعداد نمونه	مختصات جغرافیایی	رودخانه	حوضه آبریز	استان
۳۰	۴۶°۱۵'۱۳" E ۳۳°۱۷'۳۵" N	کنجان چم	دیاله	ایلام
۳۰	۵۰°۳۶'۱۱" E ۳۱°۵۴'۵۹" N	دوپلان	کارون	چهارمحال و بختیاری
۲۵	۴۵°۴۸'۱۸" E ۳۴°۱۶'۱۳" N	داوودعرب	دیاله	کرمانشاه
۳۰	۴۸°۴۶'۱۷" E ۳۳°۳۱'۱۱" N	دورود	کارون	لرستان
۳۰	۴۷°۵۷'۴۹" E ۳۳°۲۲'۳۱" N	کشگان	کرخه	لرستان

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

اندازه باندها	توالی آغازگر (3'→5')	موتیف	کد دسترسی در بانک جهانی ژن	جایگاه ژنی
143-179	F:TTTGCCTAGTAACGAGCATCA R:CAGCACAGTTTCTCCATCCA	(TG) ₁₂	FJ468347	BL1-2b
271-296	F:ATTGTTTTTCATTTTGTTCAG R:CCGAGTGTTCAGAGTTATT	(CA) ₉ CTAA(CA) ₃ N ₅₀ (CA) ₄	FJ468349	BL1-98
193-222	F:TGCGTAATCGTGAAGCGGTG R:GCCACTAAAGCGCAGAAGCC	(GT) ₁₂	AJ312850	Rser10
140-272	F:CTGCCGCATCAGAGATAAACACTT R:TGGCGGTAAGGGTAGACCAC	(CAGA) ₁₉	AY439142	CypG24

(Rousset, 1995) محاسبه شد. انحراف از تعادل هاردی-وینبرگ و آزمون معنی دار بودن با محاسبه مقادیر P با روش مربع کای و با نرم افزار PopGene نسخه ۳/۲ انجام شد (Raymond and Rousset, 1995). همچنین، تعداد افراد مهاجر (Nm) و ضریب درون آمیزی (F_{IS}) برای همه جمعیت ها در هر جایگاه ژنی با نرم افزار PopGene نسخه ۳/۲ محاسبه شد (Raymond and Rousset, 1995). آنالیز واریانس مولکولی روی پنج جمعیت و سه حوضه دجله، کارون و کرخه با نرم افزار ARLEQUIN نسخه ۳/۱ انجام شد (Schneider et al., 2000). تخمین مقادیر دو به دو F_{ST} و آزمون معنی دار بودن با محاسبه مقادیر P برای انجام تفکیک ژنتیکی بین جمعیت ها و حوضه ها با نرم افزار ARLEQUIN نسخه ۳/۱ انجام شد (Schneider et al., 2000). ضریب خویشاوندی F_{IS} برای پنج جمعیت با نرم افزار GenAlex نسخه ۶ ارزیابی شد (Peakall and Smouse, 2005). روابط ژنتیکی بین پنج جمعیت با فاصله ژنتیکی Nei (۱۹۷۲) با نرم افزار PowerMarker نسخه ۳/۰ آزموده شد (Liu and Muse, 2004) and دندروگرام با روش Neighbor Joining (اتصال همجواری) بر اساس Nei (۱۹۷۲)

تکثیر جایگاه ها با استفاده از واکنش زنجیره ای پلیمراز در حجم ۲۵ میکرولیتری و شرایطی شامل ۱ میکرولیتر DNA (۱۰ ng/μL)، ۱ میکرولیتر از هر آغازگر (۱۰ pM)، ۰/۵ میکرولیتر dNTPs (۱۰ mM)، ۰/۲ میکرولیتر Taq polymerase ساخت شرکت سیناژن (۵۰ μL)، ۲/۵ میکرولیتر بافر PCR X، ۱۰/۷ میکرولیتر MgCl₂ (۵۰ میلی مولار) و آب مقطر تا رسیدن به حجم ۲۵ میکرولیتر انجام گرفت. شرایط PCR شامل یک سیکل در دمای ۹۴°C به مدت سه دقیقه، ۳۵ سیکل در دمای ۹۴°C به مدت یک دقیقه، در دمای ۵۶°C به مدت ۳۰ ثانیه، سپس، در دمای ۷۲°C به مدت ۴۵ ثانیه و در پایان، یک چرخه در دمای ۷۲°C به مدت پنج دقیقه اجرا شد. محصول واکنش در دمای ۴°C نگهداری و برای آشکارسازی از ژل پلی اکریلامید ۱۲ درصد همراه با رنگ آمیزی نترات نقره و نشانگر ۵۰ bp ساخت شرکت Fermentas استفاده شد.

شاخص های تنوع ژنتیکی مانند تعداد آلل مؤثر، هتروزیگوسیتی مورد انتظار، هتروزیگوسیتی مشاهده شده، محتوای اطلاعات چندشکل و شاخص شانون با نرم افزار PowerMarker نسخه ۳/۰ (Liu and Muse, 2004) و PopGene نسخه ۳/۲ (Raymond and

آلل مشاهده شده و مؤثر در چهار جایگاه ژنی CypG24، BL1-2b، BL1-98 و Rser10 به ترتیب: ۱۱، ۸/۴، ۵/۸ و ۱۰/۲ با میانگین ۸/۸۵ و ۸/۱۲، ۵/۶۹ و ۴/۹۲ و ۷/۰۹ با میانگین ۶/۴۶ بود. میزان محتوای اطلاعات چندشکلی در چهار جایگاه ژنی CypG24 مطالعه شده به ترتیب: ۰/۸۹، ۰/۸۲۵، ۰/۷۵، ۰/۸۸ با میانگین ۰/۸۳۵ به ازای هر جمعیت محاسبه شد (جدول ۴).

جدول ۳- جایگاه‌های بررسی شده و آلل‌های یافت شده در پنج جمعیت شاه کولی جنوبی. آلل‌ها بر اساس اندازه هستند. آلل‌ها بر اساس اندازه هستند. برای هر ایستگاه حروف اختصاری تعریف شده است. P: ایستگاه دوپلان، K: ایستگاه کشگان، D: ایستگاه داوودعرب، O: ایستگاه دورود و N: ایستگاه کنجان‌چم.

جایگاه ژنی

CypG24	BL1-2b	BL1-98	Rser10
۱۳۸ ^P	۱۴۱ ^{PDON}	۲۷۲ ^{ON}	۱۷۶ ^K
۱۴۷ ^{DN}	۱۴۵ ^{PKDON}	۲۷۷ ^{PKDON}	۱۸۴ ^{KON}
۱۵۳ ^{PKDON}	۱۵۰ ^{PKDON}	۲۷۹ ^{PKDON}	۱۸۸ ^{KDON}
۱۵۸ ^{PKDON}	۱۵۶ ^{PKDON}	۲۸۴ ^{PKDON}	۱۹۲ ^{PKDON}
۱۶۲ ^{PKDON}	۱۶۰ ^{PKDON}	۲۸۶ ^{PKN}	۱۹۶ ^{PKDON}
۱۶۸ ^{PKDN}	۱۶۷ ^{PKDON}	۲۹۰ ^{PKON}	۲۰۰ ^{PKDON}
۱۷۱ ^{PKDON}	۱۷۱ ^{PKDON}	۲۹۵ ^{PKON}	۲۰۶ ^{PKDON}
۱۷۶ ^{PKDON}	۱۷۵ ^{PKDON}	۳۰۰ ^N	۲۱۲ ^{PKDON}
۱۸۳ ^{PKDON}	۱۸۰ ^{KDO}		۲۲۵ ^{PKDON}
۱۸۷ ^{PKDON}			۲۳۱ ^{PKDON}
۱۹۳ ^{PKDON}			۲۳۶ ^{PKDON}
۲۰۰ ^{PKDON}			۲۴۰ ^{PON}
۲۰۴ ^N			
۲۱۰ ^K			

در میان پنج جمعیت، میانگین تعداد آلل مشاهده شده از ۸/۲۵ آلل در جمعیت داوودعرب تا ۹/۷۵ آلل در جمعیت کنجان‌چم با میانگین ۸/۸۵ آلل به ازای هر جایگاه ژنی و تعداد آلل مؤثر از ۵/۳۳ در جمعیت دوپلان تا ۶/۸۴ آلل در جمعیت کشگان با میانگین ۶/۴۶ آلل به ازای هر جایگاه ژنی متغیر بود.

ترسیم شد و آزمون بوت استرپ به منظور به دست آوردن نمودار خوشه‌ای مورد توافق انجام شد. در پایان، دندروگرام با نرم‌افزار MEGA نسخه ۴ رسم شد (Rohlf, 2000).

نتایج

تنوع ژنتیکی درون جمعیت‌ها

نتایج به دست آمده از الگوی بانندی حاصل از تکثیر چهار جفت آغازگر ریزماهوره BL1-98، BL1-2b، CypG24 و Rser10 در پنج جمعیت مورد مطالعه در جدول ۳ ارائه شده است. تعداد آلل مشاهده شده بسیار متفاوت و از ۸ آلل (BL1-98) تا ۱۴ آلل (CypG24) متغیر بود. در مجموع، ۴۳ آلل، با میانگین ۱۰/۷۵ به ازای هر مکان ژنی تکثیر شد. محدوده آللی برای نشانگر CypG24 بین ۱۳۸-۲۱۵ جفت باز، برای نشانگر BL1-2b بین ۱۴۱-۱۸۰ جفت باز، برای نشانگر BL1-98 بین ۱۷۶-۲۷۲ جفت باز و برای نشانگر Rser10 بین ۱۷۶-۲۴۰ جفت باز بود. نرم‌افزار ARLEQUIN نسخه ۳/۱ این چهار نشانگر را ۱۰۰ درصد چندشکل معرفی کرد.

همپوشانی قابل ملاحظه‌ای در آلل‌های موجود بین جمعیت‌ها در هر جایگاه ژنی مشاهده شد. سه جایگاه CypG24، BL1-98 و Rser10 آلل‌های منحصر به فردی را در حداقل یک جمعیت نشان دادند. حضور آلل‌های منحصر به فرد در این سه جایگاه ژنی نشان از تفاوت بین جمعیت‌ها است که هر کدام بخشی از تنوع ژنتیکی کل را نشان می‌دهند (جدول ۳).

هتروزیگوسیتی مورد انتظار در چهار جایگاه ژنی CypG24، BL1-2b، BL1-98 و Rser10 به ترتیب: ۰/۸۹۸، ۰/۸۴۲، ۰/۷۷۹ و ۰/۸۸۸ با میانگین ۰/۸۵۲ و ۰/۹۴، ۰/۹۹۹ و ۰/۹۵ با میانگین ۰/۷۵ برآورد شد. تعداد

بیان دیگر، جمعیت‌ها از نظر تنوع ژنتیکی شبیه یکدیگر هستند. آزمون تعادل هاردی-وینبرگ برای تمام جایگاه‌های ژنی در تمام جمعیت‌ها نشان داد که نشانگرهای BL1-98، BL1-2b و CypG24 در تمام جمعیت‌ها و نشانگر Rser10 در جمعیت داوودعرب به طور معنی‌داری از تعادل انحراف داشتند ($P < 0/001$)، جدول ۵). در پنج جمعیت کشگان، دورود، کنجان‌چم، دوپلان و داوودعرب مقادیر آماره F_{IS} به ترتیب: ۰/۱۹۲، ۰/۴۹۱، ۰/۷۶۱، ۰/۳۹۴ و ۰/۵۸۱ محاسبه شد (جدول ۴).

هتروزیگوسیتی مورد انتظار از ۰/۷۹ (داوودعرب) تا ۰/۸۴ (کنجان‌چم، کشگان) با میانگین ۰/۸۲۵ و هتروزیگوسیتی مشاهده شده از ۰/۶۹ در جمعیت کنجان‌چم تا ۰/۸۱ در جمعیت کشگان با میانگین ۰/۷۵ متغیر بود (جدول ۴). میانگین جریان ژنی بین جمعیت‌های شاه‌کولی جنوبی برابر با ۷/۱۱ بود (جدول ۴). در مطالعه چهار جایگاه ژنی، مقادیر هتروزیگوسیتی مورد انتظار یا تنوع ژنتیکی در پنج جمعیت شایان توجه است، اما مقایسه آنها نشان داد که این جایگاه‌ها تفاوت معنی‌داری بین جمعیت‌ها ایجاد نکردند ($P > 0/001$). به

جدول ۴- تنوع و روابط ژنتیکی چهار جایگاه چندشکل ریزماهواره در پنج جمعیت شاه‌کولی جنوبی

جایگاه ژنی	شاخص‌های اندازه‌گیری شده	CypG24	BL1-2b	BL1-98	Rser10	میانگین	ضریب خویشاوندی
کشگان	تعداد آلل مشاهده شده	۱۱	۸	۶	۱۱	۹	
	تعداد آلل مؤثر	۹/۶۱	۵/۲۸	۴/۴۰	۸/۰۷	۶/۸۴	
	هتروزیگوسیتی مشاهده شده	۰/۹۳	۱/۰۰	۰/۳۰	۱/۰۰	۰/۸۱	
	هتروزیگوسیتی مورد انتظار (تنوع ژنی)	۰/۸۹	۰/۸۱	۰/۷۷	۰/۸۸	۰/۸۴	$-0/033 \pm 0/248$
	ضریب درون‌آمیزی	-۰/۰۴۴	-۰/۲۳۴	۰/۶۱۱	-۰/۱۴۱	۰/۱۹۲	
دورود	شاخص شانون	۲/۳۳	۱/۸۲	۱/۶۳	۲/۱۸	۱/۹۹	
	تعداد آلل مشاهده شده	۹	۹	۶	۱۱	۸/۷۵	
	تعداد آلل مؤثر	۷/۴۵	۵/۸۸	۴/۳۴	۸/۰۴	۶/۴۳	
	هتروزیگوسیتی مشاهده شده	۰/۹۷	۱/۰۰	۰/۳۲	۱/۰۰	۰/۷۵	
	هتروزیگوسیتی مورد انتظار (تنوع ژنی)	۰/۸۶	۰/۸۳	۰/۷۶	۰/۸۷	۰/۸۳	$-0/033 \pm 0/276$
کنجان‌چم	ضریب درون‌آمیزی	-۰/۱۱۸	-۰/۲۰۵	۰/۹۵۶	-۰/۱۴۲	۰/۴۹۱	
	شاخص شانون	۲/۰۹	۱/۹۲	۱/۶۱	۲/۲۰	۱/۹۵	
	تعداد آلل مشاهده شده	۱۲	۸	۸	۱۱	۹/۷۵	
	تعداد آلل مؤثر	۷/۵۹	۵/۷۹	۴/۹۹	۷/۶۷	۶/۵۱	
	هتروزیگوسیتی مشاهده شده	۰/۹۷	۱/۰۰	۰/۰۳	۰/۷۶	۰/۶۹	
دوپلان	هتروزیگوسیتی مورد انتظار (تنوع ژنی)	۰/۸۷	۰/۸۳	۰/۸	۰/۸۷	۰/۸۴	$-0/036 \pm 0/261$
	ضریب درون‌آمیزی	-۰/۱۱۳	-۰/۲۰۹	۰/۹۵۷	۰/۱۲۶	۰/۷۶۱	
	شاخص شانون	۲/۲۲	۱/۸۷	۱/۷۸	۲/۱۶	۲/۰۱	
	تعداد آلل مشاهده شده	۱۱	۸	۶	۹	۸/۵	
	تعداد آلل مؤثر	۷/۱۱	۵/۷۰	۳/۲۷	۵/۲۴	۵/۳۳	
دوپلان	هتروزیگوسیتی مشاهده شده	۰/۸۷	۱/۰۰	۰/۱	۱/۰۰	۰/۷۴	$-0/037 \pm 0/315$
	هتروزیگوسیتی مورد انتظار (تنوع ژنی)	۰/۸۶	۰/۸۲	۰/۶۹	۰/۸۱	۰/۸۰	
	ضریب درون‌آمیزی	-۰/۰۰۸	-۰/۲۱۳	۰/۸۵۱	-۰/۲۳۶	۰/۳۹۴	
	شاخص شانون	۲/۰۹	۱/۹۰	۱/۳۹	۱/۸۲	۱/۸۰	

ادامه جدول ۴- ...

ضریب خویشاوندی	میانگین	Rser10	BL1-98	BL1-2b	CypG24	شاخص های اندازه گیری شده	جایگاه ژنی
	۸/۲۵	۹	۳	۹	۱۲	تعداد آلل مشاهده شده	
	۵/۹۵	۶/۴۵	۲/۶۹	۵/۷۹	۸/۸۶	تعداد مؤثر آلل	
-۰/۰۳۷±۰/۳۳	۰/۷۳	۰/۹۵	۰/۰۰	۱/۰۰	۰/۹۶	هتروزیگوسیتی مشاهده شده	داوودعرب
	۰/۷۹	۰/۸۴	۰/۶۳	۰/۸۳	۰/۸۹	هتروزیگوسیتی مورد انتظار (تنوع ژنی)	
	۰/۵۸۱	-۰/۱۳۰	۱/۰۰	-۰/۲۰۹	-۰/۰۸۰	ضریب درون آمیزی	
	۱/۸۲	۲/۰۰	۱/۰۴	۱/۹۲	۰/۳۱	شاخص شانون	
	۰/۸۳۵	۰/۸۸	۰/۷۵	۰/۸۲۵	۰/۸۹	میانگین محتوای اطلاعات چندشکل	
	۸/۸۵	۱۰/۲	۵/۸	۸/۴	۱۱	میانگین تعداد آلل برای هر جایگاه ژنی	
	۶/۴۶	۷/۰۹	۴/۹۲	۵/۶۹	۸/۱۲۴	میانگین تعداد آلل مؤثر برای هر جایگاه ژنی	
	۰/۸۵۲±۰/۰۵	۰/۸۸۸	۰/۷۷۹	۰/۸۴۴	۰/۸۹۸	میانگین هتروزیگوسیتی مورد انتظار	
	۰/۷۵±۰/۴۳	۰/۹۵	۰/۰۹۹	۱/۰۰	۰/۹۴	میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده	
	۰/۰۹۶	-۰/۱۰۳	۰/۸۷۲	-۰/۲۱۴	-۰/۰۷۳	میانگین ضریب درون آمیزی (Fis)	
	۷/۱۱	۶/۷۶	۴/۴۴	۱۰/۳۲	۹/۶۳	میانگین جریان ژنی	
	۲/۱±۰/۳۱	۲/۲۹	۱/۷۰	۱/۹۹	۲/۴	میانگین شاخص شانون	

جدول ۵- انحراف از تعادل هاردی-وینبرگ برای چهار جایگاه ریزماهوره در پنج جمعیت شاه کولی جنوبی. n.s.: جایگاه هایی که در تعادل هاردی-وینبرگ قرار دارند ($P > 0.01$) و بقیه انحراف از تعادل را نشان می دهند ($P < 0.01$). a: در جایگاه های منحرف نشان از افزایش هتروزیگوسیتی و b: نشان از کاهش هتروزیگوسیتی دارد.

Rser10	BL1-98	BL1-2b	CypG24	جمعیت / جایگاه ژنی
n.s.	b	a	a	کشگان
n.s.	b	a	a	دورود
n.s.	b	a	a	کنجان چم
n.s.	b	a	a	دوپلان
a	b	a	a	داوودعرب

روابط و تفاوت ژنتیکی بین جمعیت ها

ارزیابی تفاوت ژنتیکی بین جمعیت ها با کمک مقادیر F_{ST} بین دو به دو جمعیت ها نشان داد که تفاوت معنی داری بین هفت جفت از جمعیت ها (دو جفت در سطح احتمال ۰/۰۰۱، چهار جفت در سطح احتمال ۰/۰۵ و یک جفت در سطح احتمال ۰/۰۱) وجود دارد (جدول ۶). مقادیر عددی این شاخص بین دو به دو جمعیت ها از ۰/۰۱۵ (بین کشگان و داوودعرب) تا ۰/۰۴۵ (بین دورود و دوپلان) متغیر بود. با وجود این

که تفاوت معنی داری در تنوع ژنتیکی بین پنج جمعیت مشاهده نشد، اما تفاوت ژنتیکی بین جمعیت ها با میزان ۰/۰۲ معنی دار بود ($P < 0.05$).

تجزیه واریانس مولکولی نشان داد که ۱۷/۶ درصد تنوع مربوط به بین جمعیت ها و ۸۲/۴ درصد مربوط به درون جمعیت ها است. به بیان دیگر، بیشتر تنوع به تفاوت در درون افراد تعلق دارد و فقط سهم کوچکی از تنوع به تفاوت بین جمعیت ها اختصاص دارد. مقادیر P بیانگر آن است که اختلاف بین جمعیت ها در سطح

فاصله ژنتیکی برابر با ۰/۱۱۱ بود و کمترین میزان بین دو جمعیت دوپلان و دورود با ضریب تشابه ۰/۷۱۱ و فاصله ژنتیکی ۰/۳۴۰ مشاهده شد (جدول ۹).

دندروگرام Neighbor Joining بر اساس Nei (۱۹۷۲)، جمعیت‌ها را در دو گروه مجزا دسته‌بندی کرد (شکل ۲). در این دسته‌بندی، گروه اول شامل جمعیت‌های کشگان، دوپلان و داوودعرب بود که دو جمعیت داوودعرب و دوپلان با میزان بوت‌استرپ ۶۷ درصد در زیر شاخه‌ای جدا از کشگان قرار گرفتند. جمعیت کنجان‌چم و دورود با بوت‌استرپ ۵۵ درصد در گروه دوم جای گرفتند. در این دندوگرام جمعیت دوپلان از حوضه کارون در کنار جمعیت داوودعرب از حوضه دیاله و جمعیت کنجان‌چم از حوضه دیاله در کنار جمعیت دورود از حوضه کارون قرار گرفته‌اند (شکل ۲). علاوه بر این، دندروگرام Neighbor Joining سه حوضه کارون، کرخه و دیاله بر اساس Nei (۱۹۷۲) نشان داد که دو حوضه کارون و کرخه مشابهت بیشتری با یکدیگر نشان می‌دهند (شکل ۳).

$P < 0/05$ و درون جمعیت‌ها در سطح $P < 0/001$ کاملاً معنی‌دار بود. همچنین، تجزیه واریانس مولکولی در بین سه حوضه دیاله، کرخه و کارون نشان داد که ۰/۷۱ درصد از کل تنوع به تفاوت بین حوضه‌ها، ۱۶/۷۷ درصد به تفاوت بین افراد درون جمعیت‌ها و ۸۲/۵۱ درصد به تفاوت درون افراد تعلق دارد (جدول ۷). مقادیر P نشان داد که بین حوضه‌ها تفاوت معنی‌داری وجود ندارد ($P > 0/05$) در حالی که بین کل افراد درون جمعیت‌ها و درون افراد از نظر آماری در سطح $P < 0/001$ اختلاف معنی‌داری مشاهده شد.

میانگین F_{ST} در بین سه حوضه معنی‌دار نبود ($F_{ST} = 0/0071$). مقادیر F_{ST} بین دو به دو حوضه‌ها گویای تفاوت معنی‌دار ($P < 0/05$) بین دو حوضه کرخه و دیاله بود. با وجود این، با در نظر گرفتن میزان عددی شاخص F_{ST} که کمتر از ۰/۰۵ است، جدایی بین دو حوضه بسیار اندک خواهد بود (جدول‌های ۷ و ۸). بیشترین میزان تشابه ژنتیکی بین دو جمعیت کنجان‌چم و دورود با ضریب تشابه برابر با ۰/۸۹۴ و

جدول ۶- ارزیابی تفاوت بین دو به دو جمعیت‌ها با استفاده از مقادیر F_{ST} . *** معنی‌داری در سطح $P < 0/001$ ، ** معنی‌داری در سطح $P < 0/01$ و * معنی‌داری در سطح $P < 0/05$.

کشگان	دورود	دوپلان	کنجان‌چم	داوودعرب
کشگان	-----	-----	-----	-----
دورود	0/019*	-----	-----	-----
دوپلان	0/021*	0/045***	-----	-----
کنجان‌چم	0/033**	0/003	0/035***	-----
داوودعرب	0/015*	0/015	0/018	0/016*

جدول ۷- تجزیه واریانس مولکولی داده‌های حاصل از نشانگر ریزماهواره بر اساس سه حوضه دیاله، کارون و کرخه در شاه‌کولی جنوبی

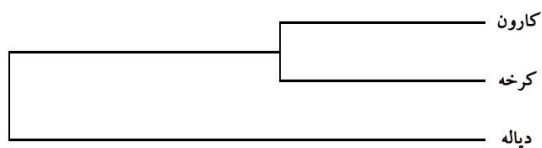
منع تغییرات	درجه آزادی	جمع مجذورات	اجزای واریانس	درصد تنوع
بین حوضه‌ها	۲	۴/۴۷۶	۰/۰۰۸۷	۰/۷۱
بین افراد درون جمعیت‌ها	۱۴۴	۲۰۳/۹۲	۰/۲۰۵	۱۶/۷۷
درون افراد	۱۴۷	۱۴۸	۰/۰۰۶۸	۸۲/۵۱

جدول ۸- ارزیابی سطح معنی دار بودن اختلاف بین دو به دو حوضه‌ها با مقادیر F_{ST} . * معنی داری در سطح $P < 0.05$

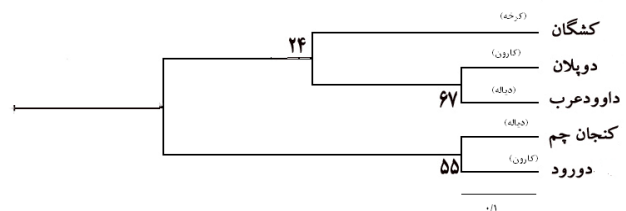
حوضه‌ها	کرخه	کارون	دیاله
کرخه	-----		
کارون	۰/۰۰۸۸	-----	
دیاله	۰/۰۲۱*	۰/۰۰۲۵	-----

جدول ۹- فاصله و تشابه ژنتیکی بر اساس Nei (۱۹۷۲) بین دو به دو جمعیت‌های مطالعه شده. مقادیر تشابه ژنتیکی در بالای قطر و مقادیر فاصله ژنتیکی در زیر قطر قرار دارند.

جمعیت‌ها	کشگان	دورود	کنجان‌چم	دوپلان	داوودعرب
کشگان	-----	۰/۸۳۵	۰/۷۶۳	۰/۷۶۱	۰/۸۰۶
دورود	۰/۱۷۹	-----	۰/۸۹۴	۰/۷۱۱	۰/۸۰۴
کنجان‌چم	۰/۲۶۹	۰/۱۱۱	-----	۰/۷۶۵	۰/۸۳۷
دوپلان	۰/۲۷۲	۰/۳۴۰	۰/۲۶۶	-----	۰/۸۳۱
داوودعرب	۰/۲۱۴	۰/۲۱۷	۰/۱۷۷	۰/۱۷۴	-----



شکل ۳- گروه‌بندی سه حوضه کارون، کرخه و دیاله بر اساس داده‌های ریزماهوره با استفاده از الگوریتم Neighbor Joining بر اساس Nei (۱۹۷۲) در پنج جمعیت شاه کولی جنوبی



شکل ۲- گروه‌بندی جمعیت‌های مطالعه شده بر اساس داده‌های ریزماهوره با استفاده از الگوریتم Neighbor Joining بر اساس Nei (۱۹۷۲).

گزارش شده است از آن جمله می‌توان به ارزیابی تنوع ژنتیکی ماهی *Rutilus rutilus* (Hamilton and Tyler, 2008) و *Telestes souffia* (Dubut et al., 2009a) و *Alburnus alburnus* (Dubut et al., 2010) اشاره کرد. به نظر می‌رسد با توجه به قرابت سیستماتیک گونه‌های اشاره شده، امکان استفاده از آنها برای شاه کولی جنوبی نیز میسر باشد.

هتروزیگوسیتی مورد انتظار، هتروزیگوسیتی مشاهده شده و تنوع آللی، هر دو برای اندازه‌گیری تنوع

بحث

ارزیابی تنوع ژنتیکی گونه‌های بومی به ویژه انواعی که پراکنش وسیعی در کشور دارند همواره از اهمیت فراوانی برخوردار بوده است. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که علیرغم استفاده از نشانگرهای غیراختصاصی، تنوع قابل توجهی درون جمعیت‌های مختلف شاه کولی جنوبی وجود دارد. در خصوص استفاده از نشانگرهای استفاده شده در این تحقیق تاکنون پژوهش‌های مختلفی در مورد سایر گونه‌های کپورماهیان در خارج از کشور

برخی موارد حضور آلل های منحصر به فرد نیز مشهود بود (جدول ۳)، اما با توجه به اینکه تفاوت معنی داری بین هتروزیگوسیتی مورد انتظار پنج جمعیت مشاهده نشد، می توان گفت این تعداد آلل منحصر به فرد برای ایجاد تنوع ژنتیکی متفاوت بین جمعیت ها کافی نیست. از دیگر دلایل عدم وجود تفاوت معنی دار بین هتروزیگوسیتی مورد انتظار پنج جمعیت، می توان به اختصاصی نبودن چهار جفت آغازگر مورد استفاده در این مطالعه نیز اشاره کرد.

در تعدادی از جایگاه ها، انحراف از تعادل هاردی-وینبرگ مشاهده شد، عوامل متعددی نظیر اثر والاند (Wahlund effect) یا تلفیق داده های ژنتیکی از چند جمعیت با فراوانی های آللی متفاوت با یکدیگر، درون آمیزی، نمونه برداری غیر تصادفی و حضور آلل نول می تواند منجر به انحراف از تعادل شود (Castric *et al.*, 2002). از بین ۱۶ انحراف معنی دار از تعادل هاردی-وینبرگ، ۵ انحراف، کاهش هتروزیگوسیتی (فقط در جایگاه ژنی BL1-98) را نشان دادند (جدول ۵). نشانگر BL1-98 دارای آلل نول با فراوانی مورد انتظار برابر با ۰/۳۷۹۸ بود. این محاسبه فرض می کند که آلل نول در نشانگر BL1-98 پاسخی برای کاهش هتروزیگوسیتی و انحراف از تعادل هاردی-وینبرگ در این جایگاه ژنی است. انحراف از تعادل هاردی-وینبرگ در سایر جایگاه ها احتمالاً ناشی از نا کافی بودن تعداد نمونه است. تعداد کافی نمونه به نوع نشانگر بستگی دارد، هر چه نشانگری متغیرتر باشد، تعداد نمونه های بیشتری برای بررسی آن مورد نیاز است. برای مثال، ارزیابی نشانگرهای آلوزایمی که به یک تا شش آلل در هر جایگاه محدود می شوند، تنها با نمونه برداری از ۳۰-۵۰ فرد، به خوبی امکان پذیر است. در مقابل،

ژنتیکی به کار می روند (Silverstein *et al.*, 2004). هتروزیگوسیتی و تعداد آلل ها از شاخص های مهم تنوع ژنتیکی جمعیت ها از لحاظ روبرو شدن با تغییرات محیطی هستند و ویژگی هایی همچون قابلیت رقابت و توانایی یک موجود برای بقا در زیستگاه های طبیعی را تعیین می کنند. در بررسی های تنوع ژنتیکی، غنای آللی نسبت به هتروزیگوسیتی دارای ارزش بیشتری است. در واقع، بالا بودن غنای آللی نشان دهنده بالا بودن اندازه مؤثر جمعیت است و استفاده از غنای آللی برای ارزیابی تنوع ژنتیکی در جمعیت هایی که برای برنامه های به گزینی یا حفاظت انتخاب شده اند، مناسب تر خواهد بود (Freeland, 2005).

در پژوهش حاضر، تنوع ژنتیکی پنج جمعیت شاه کولی جنوبی شایان توجه بود (تعداد آلل مشاهده شده = ۸/۸۵، تعداد آلل مؤثر = ۶/۴۶، هتروزیگوسیتی مورد انتظار = ۰/۸۲۵، هتروزیگوسیتی مشاهده شده = ۰/۷۵). در گزارش DeWoody و Avise (۲۰۰۰) بررسی حدود ۴۰۰۰ فرد از ۷۸ گونه از ماهیان آب شیرین با استفاده از ۵۲۴ نشانگر ریزماهوره، هتروزیگوسیتی مورد انتظار برابر با ۰/۴۶ و تعداد آلل مؤثر برابر با ۷/۵ برآورد گردید که در مقایسه با مطالعه حاضر، هر دو شاخص بررسی شده مقادیر پایین تری را نشان دادند. تنوع ژنتیکی بالای شاه کولی جنوبی می تواند ناشی از عدم صید تجاری، زیستگاه های نسبتاً مطلوب و امکان تکثیر و تولید مثل طبیعی جمعیت ها باشد. بررسی های مختلف همگی بیانگر تأثیر مخرب صید و تکثیر مصنوعی و نابودی زیستگاه بر تنوع ژنتیکی ذخایر وحشی ماهیان هستند (Beaumont and Hoare, 2003).

همپوشانی قابل ملاحظه ای در آلل های موجود در هر جایگاه ژنی بین جمعیت ها مشاهده شد. اگر چه در

برابر با $7/11$ برآورد شد. به طور کلی، در صورتی که $N_m > 1$ باشد، تفاوت ایجاد شده به وسیله رانش ژنتیکی (genetic drift) متوقف می شود. به طور تئوری چنانچه میزان N_m کوچکتر از ۱ باشد، آنگاه رانش ژنتیکی عامل اصلی تفاوت ژنتیکی است و تفاوت های زیادی در فراوانی آللی جمعیت ها مشاهده می شود و در نتیجه مقدار F_{ST} بزرگ خواهد بود. در مقابل، اگر میزان N_m بزرگتر از ۱ باشد، جریان ژنی (gene flow) تمایل به غلبه بر رانش ژنتیکی دارد بنابراین، تفاوت ژنتیکی کم و F_{ST} نزدیک به صفر خواهد بود (Li et al., 2007). در مورد جریان ژنی بالا و کم بودن تفاوت ژنتیکی بین پنج جمعیت شاه کولی جنوبی دو احتمال وجود دارد: احتمال نخست این است که در اثر سیلابی شدن رودخانه های کارون، کرخه و دیاله، شاه کولی جنوبی به سمت پایین دست رودخانه ها کشیده شده، سپس از طریق دجله مجدداً به درون رودخانه های مختلف مهاجرت می کند. سه رودخانه کارون، کرخه و دیاله در عراق به رودخانه بزرگ دجله می ریزند (ارتباط رودخانه کرخه با رودخانه دجله موقتی است و در زمان سیلابی شدن با رودخانه دجله ارتباط پیدا می کند). اما این پدیده با توجه به ویژگی های زیستی شاه کولی جنوبی چندان محتمل نیست، چراکه این گونه ماهی با جثه کوچک، نسبتاً کم تحرک است و احتمال جابه جایی وسیع برای آن ضعیف است. احتمال دوم که بر اساس زمان جدایی و چند تکه شدن زیستگاه این ماهی بحث می کند، می تواند به واقعیت نزدیک تر باشد. به بیان دیگر، زمان جدایی زیستگاه ها از یکدیگر هنوز برای ایجاد تفاوت بین افراد در ایستگاه های مختلف کافی نیست. به طور کلی، می توان بیان داشت که تنوع ژنتیکی جمعیت های مختلف شاه کولی جنوبی، از نظر

جایگاه های ریزماهوره اغلب دارای ۱۰ تا ۵۰ آلل هستند، در چنین حالتی با نمونه برداری از تنها ۳۰ فرد، احتمال خطا در محاسبه فراوانی آللی وجود خواهد داشت (Beaumont and Hoare, 2003). علاوه بر این، عوامل دیگری نظیر مهاجرت می تواند به انحراف از تعادل منجر شود. در این مطالعه، تعداد افراد مهاجر بین حوضه ها به طور میانگین حدود ۷ فرد در هر نسل برآورد شد که عدد نسبتاً بزرگی است و می تواند توجیه کننده انحراف از تعادل باشد.

در پنج جمعیت مطالعه شده، مقادیر آماره F_{IS} بیش از ۰/۰۵ بود. بر اساس مطالعه منتشر شده در سال ۱۹۹۴ اگر میانگین F_{IS} بزرگتر از ۰/۰۵ باشد، جفت گیری از نوع غیر تصادفی است (Ward et al., 1994). در سه جایگاه ژنی $CypG24$ ، $BL1-2b$ و $Rser10$ مقادیر F_{IS} منفی بود که نشان دهنده افزایش هتروزیگوسیتی مشاهده شده نسبت به هتروزیگوسیتی مورد انتظار است. هنگامی که مقدار F_{IS} برابر با صفر باشد، درون آمیزی وجود ندارد اما هنگامی که F_{IS} به ۱ نزدیک شود، تعداد افراد درون آمیز در جمعیت افزایش می یابد، هر چند کاهش هتروزیگوسیتی همیشه دلیل بر درون آمیزی نیست و عوامل دیگری مثل اثر والاند، حضور آلل نول و انتخاب طبیعی نیز ممکن است در این زمینه مؤثر باشد (Freeland, 2005).

جدایی جغرافیایی، محیط زیست، پدیده گردن بطری (bottle neck)، جریان ژنی و انتخاب تأثیرات شگرفی بر ساختار جوامع دارند (Li et al., 2007). ارزیابی تفاوت ژنتیکی بین جمعیت ها با کمک مقادیر F_{ST} بیانگر اختلاف اندک اما معنی دار در مقایسه دو به دو ۷ جفت از جمعیت ها بود. در این پژوهش، میانگین جریان ژنی بین جمعیت های شاه کولی جنوبی

معنی داری مشاهده شد ($P < 0/05$). به طور کلی، دو حوضه کارون و کرخه شباهت بیشتری به هم داشتند و حوضه دیاله از دو حوضه دیگر متفاوت بود. جدایی جغرافیایی و مرزهای فیزیکی از طریق محدود کردن مهاجرت می‌توانند باعث افزایش تفاوت ژنتیکی بین جمعیت‌ها شوند که به تدریج به تغییراتی در ساختار ژنتیکی جمعیت‌ها منجر می‌شود. به طور کلی، نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تنوع ژنتیکی نسبتاً مطلوبی در جمعیت‌های مختلف شاه‌کولی جنوبی در مناطق بررسی شده وجود دارد. علاوه بر این، تمایز ژنتیکی اندک اما معنی‌داری بین حوضه‌های مختلف دیده شد که مدیریت ذخایر مجزا را ایجاب می‌کند. در پایان، پیشنهاد می‌شود به منظور بررسی کامل‌تر جمعیت‌های شاه‌کولی جنوبی در مناطق پراکنش آن، نمونه‌برداری با تعداد بیشتر و به صورت چند ایستگاه در یک رودخانه صورت گیرد و از تعداد جایگاه‌های بیشتری به منظور ارزیابی دقیق‌تر تنوع استفاده شود.

چهار شاخص: هتروزیگوسیتی مورد انتظار، هتروزیگوسیتی مشاهده شده، تعداد آلل مشاهده شده و تعداد آلل مؤثر بسیار قابل توجه است. اگرچه جمعیت‌ها از نظر این چهار شاخص بسیار به یکدیگر شبیه بودند. شباهت ویژگی‌های زیستگاه‌های پنج جمعیت کشگان، دورود، کنجان‌چم، دوپلان و داوودعرب می‌تواند تأییدکننده این شباهت ژنتیکی باشد. علاوه بر این، اگرچه تفاوت معنی‌داری در تنوع ژنتیکی بین پنج جمعیت مشاهده نشد اما جمعیت‌ها تفاوت ژنتیکی اندک اما معنی‌داری را نشان می‌دهند. علت پایین بودن تفاوت ژنتیکی بین پنج جمعیت، می‌تواند ناشی از جریان ژنی بالا بین آنها و اندازه جمعیت مؤثر قابل توجه در این گونه باشد. نتایج تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) نیز با توزیع ۸۲/۴ درصدی تنوع درون افراد بیانگر همین موضوع است. اگرچه میانگین تفاوت ژنتیکی در بین سه حوضه معنی‌دار نبود، ولی بین دو حوضه کرخه و دیاله تفاوت

منابع

- Abdoli, A. (2000) The inland water fishes of Iran. Nature and wildlife museum of Iran, Tehran (in Persian).
- Beaumont, A. R. and Hoare, K. (2003) Biotechnology and genetics in fisheries and aquaculture. Blackwell Publishing Company, Oxford.
- Castric, V., Bernatchez, L., Belkhir, K. and Bonhomme, F. (2002) Heterozygote deficiencies in small lacustrine populations of brook charr *Salvelinus fontinalis* Mitchill (Pisces, Salmonidae): a test of alternative hypotheses. *Heredity* 89: 27-35.
- DeWoody, J. A. and Avise, J. C. (2000) Microsatellite variation in marine, freshwater and anadromous fishes compared with other animals. *Journal of Fish Biology* 56: 461-473.
- 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.
- Ergene, S. (1993) The growth rates of *Chalcalburnus mossulensis* Heckel, 1843, (Pisces, Cyprinidae) in Karasu. *Turkish Journal of Zoology* 17: 367-377.
- Freeland, J. R. (2005) *Molecular ecology*. John Wiley & Sons Ltd., Chichester.
- Hamilton, P. B. and Tyler, C. R. (2008) Identification of microsatellite loci for parentage analysis in roach *Rutilus rutilus* and eight other cyprinid fish by cross-species amplification, and a novel test for detecting hybrids between roach and other cyprinids. *Molecular Ecology Notes* 8: 462-465.
- Li, D., Kang, D., Yin, Q., Sun, X. 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.
- Liu, K. and Muse, V. (2004) PowerMarker: integrated analysis environment for genetic marker data. *Bioinformatics* 21: 2128-2129.
- Mousavi, M. A. (2011) Morphological diversity of *Alburnus mossulensis* Heckel, 1843 in Iran. MSc thesis, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran (in Persian).
- 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 application in fisheries and aquaculture. *Turkish Journal of fisheries and Aquaculture Sciences* 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.
- 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.
- Rohlf, F. J. (2000) NTSYS-pc numerical taxonomy and multivariate system (v. 2.1). user guide. Exeter Software, Setauket, New York.
- Schneider, S., Roessli, D. and Excoffier, L. (2000) Arlequin: a software for population genetics data analysis, version 2.000. University of Geneva, Geneva.
- 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.
- Ward, R. D., Woodwark, M. and Skibinski, D. O. F. (1994) A comparison of genetic diversity levels in marine, freshwater and anadromous fishes. *Journal of Fish Biology* 44: 213-232.

**Genetic structure of Mosul bleak
(*Alburnus mossulensis* Heckel, 1843) using microsatellite marker
in Tigris basin**

Zahra Shafee¹, Salar Dorafshan^{1*}, Yazdan Keivany¹ and Seyed Ahmad Qasemi²

¹ Department of Fishery, Faculty of Natural Resources, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran

² Persian Gulf Research Center, Persian Gulf University, Bushehr, Iran

Abstract

Genetic structure of Mosul bleak (*Alburnus mossulensis* Heckel, 1843) of Tigris basin was investigated using 4 microsatellite loci (BL1-2b, BL1-98, CypG24 and Rser10) on fish collected from different populations of rivers including Konjanham, Kashgan, Doroud, Dopolan and Davoud Arab. Thirty specimens from each river with the exception of 25 specimens from Davoud Arab were collected. PCR amplification showed 43 alleles in total, averaging 10.75 alleles per locus. Allele sizes at CypG24, BL1-2b, BL1-98 and Rser10 loci were in the range of 138-215, 141-180, 272-300, 176-240 bps, respectively. The expected heterozygosity ranged from 0.79 in Davoud Arab river to 0.84 in Konjanham and Kashgan rivers with an average of 0.825. Observed heterozygosity ranged from 0.69 in Konjanham river to 0.81 in Kashgan river with an average of 0.75. Significant deviations from Hardy-Weinberg equilibrium were found to be at BL1-98, BL1-2b and CypG24 loci in all populations and Rser10 in Davoud Arab population ($P < 0.0001$). The overall F_{ST} mean values between populations and basins were 0.02 and 0.0071, respectively. The analysis of molecular variance (AMOVA) indicated that the percent of variance among and within populations were 17.6 and 82.4, respectively. The genetic similarity and distance indices were in the range of 0.696-0.894 and 0.111-0.34, respectively. Little but meaningfully significant genetic differentiation was observed among different stations ($P < 0.005$). For deeper understanding of population structure of Mosul bleak, studying of more microsatellite markers is recommended.

Key words: Mosul bleak, *Alburnus mossulensis*, Microsatellite, Genetic diversity, Genetic differentiation

* sdorafshan@cc.iut.ac.ir