مجله علمی ـ پژوهشی زیست‌شناسی جانوری تجربی
سال پنجم، شماره چهارم، پیاپی بیستم، بهار ۱۳۹۶ (۴۷-۳۹)

بررسی تنوع ژنتیکی ماهی سنگ لیس *Garra persica* (Berg, 1914) در استان کهگیلویه و بویراحمد با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره

قاسم عسکری[۱*]، علی شعبانی[۲]، حمیدرضا رضایی[۳]
۱. دانشجوی کارشناسی ارشد اکولوژی آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
۲. دانشیار گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
۳. استادیار گروه محیط زیست، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۷/۲۰- تاریخ تصویب: ۱۳۹۶/۲/۱۶)

چکیده
پژوهش حاضر با هدف بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های ماهی سنگ لیس در دو رودخانه بشار و کبگیان استان کهگیلویه و بویراحمد با استفاده از شش جایگاه ریزماهواره انجام گرفت. در این پژوهش از ۵۶ قطعه ماهی سنگ لیس استفاده گردید. بر اساس نتایج حاصله، متوسط شاخص F_{st}، ۰/۰۲۴ به‌دست آمد که نشان از تمایز ژنتیکی پایین بین جمعیت‌های مورد بررسی می‌باشد. تعداد الل مشاهده شده در محدوده ۲۵- ۷ و هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار به‌ترتیب در محدوده ۱/۰۰۰- ۰/۰۰۰ (میانگین ۰/۵۹۵) و ۰/۹۴۶- ۰/۷۶۷ (میانگین ۰/۸۵۵) به‌دست آمد که بیانگر این مطلب می‌باشد که جمعیت‌های مورد بررسی از غنای اللی و تنوع ژنتیکی درون جمعیتی قابل ملاحظه‌ای برخوردار می‌باشند، درحالی‌که آنالیز واریانس مولکولی تنوع ژنتیکی پایینی را بین جمعیت‌ها نشان می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: سنگ لیس، تنوع ژنتیکی، ریزماهواره، استان کهگیلویه و بویر احمد.

Genetic diversity of *Garra persica* (Berg, 1914) in the Kohgiluyeh and Boyer-Ahmad province by using microsatellite marker

Ghasem Askari[1*], Ali Shabani[2], Hamid Reza Rezaei[3]
1. M.Sc. Student Aquatic Ecology, Department of Fishery, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
2. Associate Professor of Fishery, Department of Fishery, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
3. Assistant Professor of Environment Science Department of Environmental, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
(Received: Oct. 11, 2012 - Accepted: May 6, 2017)

Abstract
The aim of present study was to investigate the genetic diversity of *Garra persica* populations in the Beshar and Kabgiyan rivers in Kohgiluyeh and Boyer-Ahmad province by using six microsatellite loci. In this study fulfilled on 56 Garra individuals. According to the results, the F_{st} value was 0.024 which indicates the low genetic differentiation between the populations. The number of alleles, observed and expected heterozygosity were, 7-25, 0.000-1.000 (the average: 0.595) and 0.767-0.946 (the average: 0.855), respectively. This indicates the allelic diversity and genetic variation of investigated populations is at favorable level. Also, analysis of molecular variance showed there is low genetic variation among populations and most of the observed variation is within the populations. According to these analyses, it seems that, *Garra persica* has desirable genetic diversity in investigated regions.

Keywords: *Garra persica*, Genetic diversity, Microsatellite, Kohgiluyeh and Boyer-Ahmad province.

* نویسنده مسئول: E-mail: Askarighasem82@gmail.com

مقدمه

زیستگاه‌های آب شیرین نسبت به فعالیت‌های انسانی و تغییرات زیست‌محیطی آسیب‌پذیر می‌باشند (Dudgeon *et al*., 2006). ماهی سنگ لیس یکی از کوچکترین اعضا خانواده کپور ماهیان و یکی ۷۳ عضو جنس Garra می‌باشد (Coad, 2010; Esmaeili *et al*., 2009). زیستگاه اصلی آن رودخانه‌های غرب و جنوب غرب می‌باشد (Coad, 2012). جزا ماهیان بنتوپلاژیک آب‌های شیرین بوده و در ایران این ماهی را با نام‌های گل چراغ، گل خورک، دکتر ماهی نیز می‌شناسند گونه‌های این گروه از ماهیان مکنده بوده و از سطح سنگ‌ها و بستر رودخانه‌ها تغذیه می‌نماید .Sayili *et al* (2007) از این گونه به‌عنوان گونه‌ای مناسب جهت درمان بیماری‌های با منشا قارچی استفاده نمودند.

امرزه تکنیک‌های ژنتیک مولکولی به‌عنوان ابزاری مدرن نسبت به پارامترهای ریخت شناسی یا خصوصیات رفتاری، جهت شناسایی و تعیین ویژگی‌های جمعیتی استفاده می‌شوند (Magoulas, 2005). نشانگرهای ژنتیکی به صورت موفقیت‌آمیزی جهت تعیین ساختار ذخایر ماهیان و ایجاد ارتباط میان جمعیت‌های ماهیان استفاده شده‌اند (Van Herwerden *et al*., 2006). در میان نشانگرهای مختلف ژنتیکی رایج در بررسی تنوع ژنتیکی، نشانگرهای ریزماهواره حاوی اطلاعات بهتر و کامل‌تری نسبت به سایر نشانگرها می‌باشند. ریزماهواره‌ها توالی‌های ساده تکرار شونده و واحدهای کوچک تکرار شونده می‌باشند. به علت سطوح بالای چند شکلی، میزان بالای جهش، هم بارزی، تعداد زیاد و پراکنش بالای ژنومی، ریزماهواره ها، نشانگرهای مناسبی جهت مطالعات اکولوژیک و تکاملی هستند (Li *et al*., 2009).

نشانگرهای ریز ماهواره در طی چند سال گذشته در ایران جهت مطالعات ساختاری جمعیت‌های ماهیان مورد استفاده قرار گرفته است. .Ghodsi *et al* (2011) با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره به بررسی ساختار ژنتیکی کفال طلایی در سواحل استان گلستان پرداخته و وجود علائمی از تنگنای ژنتیکی را در جمعیت‌های مورد بررسی گزارش نمودند. .Mohammadian *et al* (2010) به بررسی ساختار جمعیت و تنوع ژنتیکی ماهی سیاه کولی در سواحل شرقی و غربی دریای خزر پرداخته و میزان بالای تنوع ژنتیکی در این گونه نشان داده شد است. بررسی تنوع ژنتیکی ماهی سفید دریای خزر در دو روخانه گرگانرود و چشمه کیله (تنکابن) با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره تنگنای ژنتیکی را برای این گونه نشان می‌دهد (Rezaei *et al*., 2010).

با توجه به اینکه ماهی سنگ لیس دارای ارزش اکولوژیک بالایی و از گونه‌های بومی ایران می‌باشد و تاکنون هیچ گونه مطالعه‌ای در ارتباط با ساختار و تنوع ژنتیکی این گونه در آب‌های ایران و جهان صورت نگرفته است، لذا این تحقیق با هدف بررسی ساختار ژنتیکی و بررسی تنوع ژنتیکی آن در رودخانه‌های استان کهگیلویه و بویراحمد صورت گرفت.

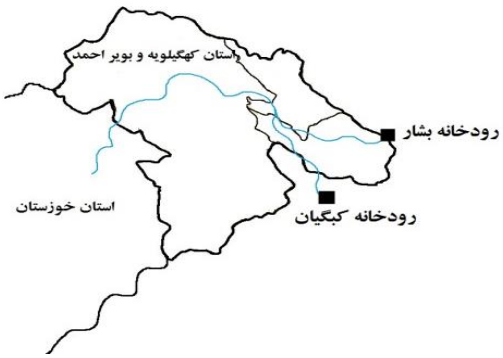
مواد و روش‌ها

تعداد ۵۶ نمونه ماهی از دو رودخانه بشار و کبگیان (۲۸ عدد برای هر رودخانه) استان کهگیلویه و بویراحمد در پاییز ۱۳۹۰ صید گردید (شکل ۱). در حدود ۲-۳ گرم باله هر ماهی در اتانول ۹۶ درصد فیکس و به آزمایشگاه بیوتکنولوژی انتقال داده شد. استخراج DNA به روش فنول- کلروفرم انجام گردید (Hillis *et al*., 1996). DNA استخراجی تا زمان استفاده در فریزر ۲۰- نگهداری شد. کیفیت و کمیت DNA استخراجی با استفاده از ژل آگارز و روش اسپکتوفتومتری تعیین گردید (Sambrok *et al*., 1989).

به منظور بررسی تنوع ژنتیکی ماهی سنگ لیس از شش جایگاه ریزماهواره MFW17، GGM023b، GGM007، GGM-045، GGM002، GGM034 استفاده گردید (Crooijmans *et al*.,

1997; Matura *et al*., Molecular Ecology Resources) (جدول۱). واکنش زنجیره پلی‌مراز برای تمامی جایگاه ها انجام شد و دمای الحاق برای آنها تعیین گردید. واکنش زنجیره پلی مراز در حجم ۲۵ میکرولیتر شامل ۱۵ نانوگرم DNA، ۰/۵ میکرومولار از هر پرایمر، ۴۰۰میکرومولار نوکلئوتیدها، یک واحد بین‌المللی تگ DNA پلی‌مراز، بافر PCR (1X)، ۱/۵ میلی‌مولار کلرید منیزیم و آب مقطر استریل تا رسیدن به حجم بود.

محصولات واکنش زنجیره پلی‌مراز بر روی ژل اکریل آمید ۱۰ درصد جداسازی و بوسیله نیترات نقره رنگ‌آمیزی گردید (Sambrok *et al*., 1989). ژل رنگ‌آمیزی شده با استفاده از دستگاه مستند ساز ژل مورد عکسبرداری قرار گرفت و به‌وسیله نرم‌افزار Gel pro analyzer طول قطعات باندها محاسبه گردید.



شکل ۱. موقعیت جغرافیایی مناطق نمونه‌برداری

جدول ۱. خصوصیات جایگاه ژنی مورد استفاده در این تحقیق

جایگاه ژنی	وزن (جفت باز)	تعداد الل	پرایمر	دمای اتصال
MFW17	۱۶۰ – ۲۰۰	۹	F: CTCAACTACAGAGAAATTTCATC R: GAAATGGTACATGACCTCAAG	۴۶
GGM023b	۱۰۰ – ۱۳۲	۹	F:TCACCATCCACTGAAGACCA R:GAAATATGTAACGTCATTAATTGTGTG	۵۳
GGM 002	۲۰۴– ۳۴۴	۲۴	F:CACTTTGTCCTTGCCATTGA R:CTCAACACCGTGGACTCTCA	۵۵
GGM007	۲۳۶ – ۳۰۰	۱۱	F:GCTGTGCTGACTGGCACTT R:CAAACCAACATTTCATCAAAAA	۵۲
GGM-045	۱۵۶ – ۱۹۶	۱۰	F:TCTCATGGGTCTCTGGGTTC R:TGTGCAGAAAGGCTGTTGAG	۵۳
GGM 034	۱۲۸ – ۱۷۶	۱۲	F:CGCGCAAGTTTCTTTCAGTT R:GCTGTGAGACAAGCCTAAACC	۵۶

ارزیابی تعداد الل در هر لوکوس، هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Ho)، هتروزیگوسیتی مورد انتظار (He)، تعداد الل‌های واقعی (Na)، تعداد الل مؤثر (Ne)، تعادل هاردی– واینبرگ، مقادیر Fst، تست معنی‌دار بودن احتمال کسری هتروزیگوسیتی یا زیاد بودن هتروزیگوسیتی نیز از نرم‌افزار و جریان ژنی با استفاده از نرم‌افزار Genealex ver.6.5 (Peakall & Smouse, 2012) محاسبه گردید. برای تعیین تفاوت بین دو منطقه در مقادیر هتروزایگوسیتی مشاهده شده (Ho)، مورد انتظار (He) و تنوع آللی از آزمون ویلکاکسون غیرپارامتریک در نرم‌افزار SPSS ver.16 (Zar,1999) استفاده شد. تعیین فاصله و شباهت ژنتیکی و رابطه فیلوژنیک بین جمعیت‌ها از ترسیم درخت UPGMA با استفاده از نرم‌افزار PopGene مشخص گردید (Yeh *et al*., 1999). تعیین تنوع درون و بین جمعیتی و همچنین میزان تمایز بین جمعیتی بر اساس مدل اللی بی نهایت (Fst) و مدل جهش پله ای (Rst) با استفاده از آنالیز واریانس مولکولی از طریق نرم‌افزار Genealex ver.6.5 محاسبه گردید.

نتایج

به منظور بررسی تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیتی ماهی

سنگ لیس در این مطالعه از ۹ جفت پرایمر اختصاصی کپور معمولی و ۱۲ جفت پرایمر اختصاصی *Garra gotyla* استفاده گردید. طی این مطالعه تنها شش جفت پرایمر تولید باند پلی‌مورف نمودند (جدول۱). تعداد الل مربوط به تمامی جایگاه‌ها در جدول ۱ نشان داده شده است. متوسط میزان الل مشاهده شده (N_a) در دو رودخانه بشار و کبگیان به‌ترتیب ۱۲/۵ و ۱۲ به‌دست آمد. بیشترین و کمترین میزان الل مشاهده شده به‌ترتیب مربوط به جایگاه GGM 002 (۲۵ الل) و جایگاه MFW17 (۷ الل) در رودخانه بشار می‌باشد. متوسط الل مؤثر (N_e) برای دو جمعیت بشار و کبگیان به‌ترتیب ۸/۷۹۹ و ۸/۱۷۱ به‌دست آمد، که کمترین و بیشترین میزان الل مؤثر به‌ترتیب مربوط به دو جایگاه GGM023b (۴/۲۸۴) و GGM 002 (۱۸/۶۶۷) رودخانه بشار بود. میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده (H_o) و مورد انتظار (H_e) به‌ترتیب ۰/۵۹۵ و ۰/۸۵۵ به‌دست آمد. کمترین و بیشترین میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده به‌ترتیب مربوط به جایگاه های MFW17 (۰/۰۰۰) رودخانه بشار و GGM 002 (۱/۰۰۰) هر دو رودخانه بشار و کبگیان می‌باشد. این کاهش شدید میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده برای جایگاه MFW17 جمعیت رودخانه بشار احتمالا به دلیل وجود الل نول در ژنوم جمعیت مذکور می‌باشد (جدول۲). وجود الل نول در ماهیان پدیده‌ای طبیعی می‌باشد و وجود این الل‌ها در توارث ریزماهواره‌ها در ماهیان به اثبات رسیده است (Rodzen and May, 2002). نتایج مربوط به بررسی تعادل هاردی- واینبرگ در جدول ۲ آورده شده است. از ۱۲ تست مورد بررسی (۶ جایگاه × ۲ منطقه) ۱۱ تست به‌طور معنی داری انحراف از تعادل را نشان دادند ($P \leq ۰/۰۵$).

جدول ۲. تنوع ژنتیکی جایگاه‌های ژنی مورد استفاده در جمعیت‌های مورد بررسی

		MFW17	GGM023b	GGM 002	GGM007	GGM-045	GGM 034
رودخانه کبگیان	N_a	۱۰	۸	۲۳	۱۲	۹	۱۰
	N_e	۵/۹۳۹	۶/۶۴۴	۱۷/۲۳۱	۹/۰۱۱	۵/۴۰۷	۴/۷۹۵
	H_o	۰/۳۹۳	۰/۷۵۰	۱/۰۰۰	۰/۳۵۷	۰/۷۱۴	۰/۶۴۳
	H_e	۰/۸۳۲	۰/۸۴۹	۰/۹۴۲	۰/۸۸۹	۰/۸۱۵	۰/۷۹۱
	F_{IS}	۰/۵۲۸	۰/۱۱۷	−۰/۰۶۲	۰/۴۹۸	۰/۱۲۴	۰/۱۸۸
	pHw	***	***	ns	***	**	***
رودخانه بشار	N_a	۷	۹	۲۵	۱۰	۱۱	۱۳
	N_e	۴/۷۸۰	۴/۲۸۴	۱۸/۶۶۷	۶/۷۰۱	۸/۸۵۹	۹/۵۰۳
	H_o	۰/۰۰۰	۰/۷۱۴	۱/۰۰۰	۰/۱۴۳	۰/۷۸۶	۰/۶۴۳
	H_e	۰/۷۹۱	۰/۷۶۷	۰/۹۴۶	۰/۸۵۱	۰/۸۸۷	۰/۸۹۵
	F_{IS}	۱/۰۰۰	۰/۰۶۸	۰/۸۳۲	۰/۱۱۴	−۰/۰۵۷	۰/۲۸۲
	pHw	***	***	**	***	***	***

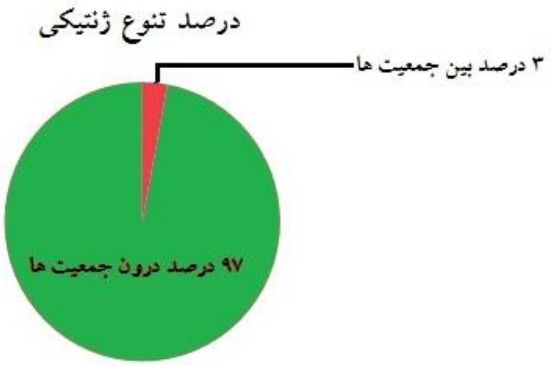
N_a: تعداد الل، N_e: تعداد الل مؤثر، H_O: هتروزیگوسیتی مشاهده شده، H_e: هتروزیگوسیتی مورد انتظار، F_{IS}: ضریب درون آمیزی، pHw: تست احتمال هاردی- واینبرگ (ns: عدم معنی داری، $P \leq ۰/۰۵$ *، $P \leq ۰/۰۱$ **، $P \leq ۰/۰۰۱$ ***).

متوسط شاخص درون‌آمیزی (F_{IS}) و جریان ژنی (N_m) به‌ترتیب ۰/۳۱۱ و ۱۵/۷۵۷ به‌دست آمد. متوسط میزان F_{st} و R_{st} بین نمونه‌های مناطق مورد بررسی بر اساس فراوانی اللی به‌ترتیب ۰/۰۲۴ و ۰/۰۱۸ می‌باشد (جدول ۳). بررسی نتایج حاصل از پارامتر F_{st} ناشی از آنالیز واریانس مولکولی در سطح ۹۹ درصد نشان داد که تنوع ژنتیکی بالایی (۹۷ درصد) در درون جمعیت‌ها و تنوع پایینی (۳ درصد) بین جمعیت‌ها وجود دارد (شکل ۲). همچنین بر اساس نتایج حاصل از پارامتر R_{st} تنوع ژنتیکی بالایی (۹۸ درصد) درون

جمعیت‌ها و تنوع پایینی (۲ درصد) در بین جمعیت‌ها به‌دست آمد. شباهت و فاصله ژنتیکی بین دو منطقه مورد بررسی به‌ترتیب ۰/۷۱۲ و ۰/۳۴۰ می‌باشند. دندوگرام UPGMA بر اساس مقدار فاصله ژنتیکی نشان داد که این دو جمعیت در شاخه‌های مجزا قرار می‌گیرند.

جدول ۳. میزان جریان ژنی (Nm) و تمایز (F_{st}) در سطح شش جایگاه ژنی مورد استفاده

جایگاه ژنی	MFW17	GGM023b	GGM 002	GGM007	GGM-045	GGM 034	میانگین
Nm	۲۱/۲۰۰	۶/۸۸۶	۲۴/۶۷۵	۲۹/۶۵۲	۶/۰۳۸	۶/۰۹۲	۱۵/۷۵۷
F_{st}	۰/۰۱۲	۰/۰۳۵	۰/۰۱۰	۰/۰۰۸	۰/۰۴۰	۰/۰۳۹	۰/۰۲۴



شکل ۲. توزیع تنوع ژنتیکی بر اساس معیار F_{st}

بحث و نتیجه‌گیری

ماهی سنگ لیس از خانواده کپور ماهیان و جنس Garra می‌باشد. امروزه از این ماهی به‌عنوان یک گونه خوراکی، آکواریومی و درمانی استفاده می‌شود. با توجه به آلودگی‌های روز افزون منابع آب‌های داخلی و در معرض تهدید قرار گرفتن گونه‌های آبزی یک ضرورت جهت حفظ زیستگاه و بقای این گونه‌ها احساس می‌گردد. یکی از راه‌های بررسی میزان سازگاری یک موجود با شرایط محیطی موجود، بررسی ساختار ژنتیکی این گونه‌ها در منابع آبی می‌باشد. امروزه آلودگی‌های ناشی از فعالیت‌های انسانی عامل اصلی آلودگی منابع آبی و تخریب زیستگاه موجودات آبزی می‌باشد. با توجه به اینکه تاکنون هیچگونه مطالعات ژنتیکی در مورد تنوع ژنتکی و ساختار جمعیتی این گونه صورت نگرفته، ما در این مطالعه به بررسی تنوع ژنتیکی ماهی سنگ لیس در دو رودخانه بشار و کبگیان استان کهگیلویه و بویر احمد پرداختیم.

تنوع ژنتیکی از تفاوت در توالی نوکلئوتیدهای DNA در بین افراد حاصل می‌گردد، و می‌توان آن را توسط نشانگرهای ژنتیکی اندازه‌گیری نمود (Utter, 1991). اطلاع از میزان تنوع ژنتیکی آبزیان در راستای حفاظت از ذخایر آنها دارای اهمیت اساسی می‌باشد و سطوح بالای تنوع ژنتیکی توانایی جمعیت‌ها را در پاسخ به انتخاب طبیعی و سلامت افراد آن جمعیت افزایش می دهد، ساده ترین ابزار برای بررسی تنوع ژنتیکی در یک جایگاه، محاسبه فراوانی الل‌ها می‌باشد (Kalinowski, 2005). به‌طور متوسط تعداد الل در هر لوکوس در ماهیان آب شیرین ۷/۵ الل می‌باشد (Dewoody & Avise, 2000). در این مطالعه متوسط تعداد الل مشاهده شده در هر لوکوس ۱۲ الل بود که از تعداد گزارش‌شده برای ماهیان آب شیرین بالاتر می‌باشد. متوسط هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار به‌ترتیب ۰/۵۹۵ و ۰/۸۵۵ به‌دست آمد که از میانگین هتروزیگوسیتی گزارش شده برای ماهیان آب شیرین

(H_o=۰/۴۶) بالاتر می‌باشد (Dewoody & Avise, 2000) (جدول ۲). الل مؤثر (N_e) بیانگر تعداد الل‌هایی است که هتروزیگوسیتی یکسان ایجاد می‌نمایند (Lind *et al*., 2009). تعداد الل‌های واقعی در هر لوکوس می‌تواند تحت تأثیر تعداد نمونه‌ها قرار گیرد، به‌طوری که با تعداد نمونه متفاوت تعداد الل واقعی متفاوتی در هر جایگاه ریزماهواره به‌دست می‌آید و کاهش تعداد الل مشاهده شده در جمعیت می‌تواند نشان‌دهنده کاهش تنوع ژنتیکی در سطح جمعیت باشد (Lind *et al*., 2009). در واقع ارزیابی غنای اللی نسبت به هتروزیگوسیتی در بررسی‌های تنوع ژنتیکی دارای ارزش بالاتری بوده به‌طوری که هتروزیگوسیتی بیشتر بر پایه تغییرات تصادفی در فراوانی ژنی می‌باشد (Diz & Presa, 2009). بالا بودن تعداد الل مشاهده شده ممکن است به دلیل مناسب بودن شرایط محیطی و وقوع جهش های ژنتیکی زیاد در طی مدت زمان زیاد و انتقال آنها از نسلی به نسل دیگر باشد (Wright, 1969).

در جمعیت‌های طبیعی و وحشی ماهیان، انحراف از تعادل هاردی- واینبرگ زیاد دیده می‌شود (Lucentini *et al*., 2006; Yue et al., 2004). با توجه به اینکه تعادل هاردی- واینبرگ بر اساس جفت گیری تصادفی در یک جمعیت است، بنابراین انتظار انحراف از تعادل هاردی- واینبرگ در جمعیت‌های وحشی وجود دارد (Dixon *et al*., 2008). در این بررسی ۱۱ نمونه از ۱۲ تست مورد بررسی انحراف از تعادل هاردی واینبرگ را نشان دادند (جدول ۲). انحراف از تعادل هاردی- واینبرگ را می‌توان به علت آمیزش خویشاوندی بین گونه‌ها، پهلوگیری تعداد محدودی از الل‌ها، ناکافی بودن تعداد نمونه‌ها و خطای نمونه برداری دانست (Callen *et al*.,1993; Skalla *et al*., 2004; McQuown *et al*., 2003; Zhao *et al*., 2005; Dahle *et al*., 2006; Li *et al*., 2007). آمیزش خویشاوندی از جمله خطرات اصلی در جمعیت ماهیان به‌شمار می‌رود، که می‌تواند باعث کاهش هتروزیگوسیتی، کاهش میزان بقاء و عدم مقاومت در برابر بیماری‌ها گردد (Fergusen, 1995). با افزایش میزان مهاجرت، میزان شباهت ژنتیکی بین جمعیت‌ها افزایش می‌یابد (Neigel, 1997). زمانی که جریان ژنی ۱۰ درصد و یا کمتر باشد، می‌توان ذخایر را جدا از هم در نظر گرفت (Carvalho & Hauser, 1995). در این بررسی متوسط شاخص درون‌آمیزی (F_{IS}) و جریان ژنی (N_m) به‌ترتیب ۰/۳۱۱ و ۱۵/۷۵۷ به‌دست آمد، میانگین بالای این شاخص‌ها می‌تواند به دلیل آمیزش خویشاوندی و اختلاط بین جمعیت‌ها باشد (Wright, 1951). در صورتی که جریان ژنی بین جمعیت‌ها وجود نداشته باشد و یا اینکه جریان کمی وجود داشته باشد، بین آنها تفاوت ژنتیکی قابل ملاحظه‌ای به‌وجود خواهد آمد (Chakraborty & Leimar, 1987). بر اساس آنالیز واریانس مولکولی و شاخص F_{st} تنوع ژنتیکی را بین دو جمعیت در حدود ۳ درصد محاسبه و میانگین شاخص F_{st} در حدود ۰/۰۲۴ به‌دست آمد. میزان فاصله ژنتیکی و شباهت ژنتیکی بین دو جمعیت به‌ترتیب ۰/۳۴۰ و ۰/۷۱۲ به‌دست آمد. مقادیر فاصله ژنتیکی (Nei, 1972) برای جمعیت‌هایی با گونه‌های مشابه و گونه‌های هم جنس به‌ترتیب در محدوده ۰/۰۰۲- ۰/۰۷ و ۰/۶۱- ۰/۰۳ می‌باشد (Thorpe & Sol-cava, 1994). میزان فاصله ژنتیکی به‌دست آمده برای این بررسی در محدوده گونه‌های هم جنس قرار می‌گیرد. با توجه به ارزیابی مقادیر به‌دست آمده از فراوانی اللی، هتروزیگوسیتی، تعادل هاردی- واینبرگ، F_{st} و ترسیم دندروگرام UPGMA دو جمعیت، می‌توان نتیجه گیری کرد که دو جمعیت مجزا در این دو رودخانه وجود دارد که دارای جریان ژنی نسبتاً بالایی با یکدیگرند. این تبادلات ژنی به نظر می‌رسد به دلیل ارتباط آبی این دو رودخانه در محل پیوستن به یکدیگر و در نهایت ریختن به رودخانه خرسان باشد. نتایج حاصل از این پژوهش نشان می‌دهد شرایط زیستگاهی در این مناطق همچنان مطلوب بوده و این ماهیان توانسته اند تنوع بالای ژنتیکی را در درون جمعیت‌های خود حفظ نمایند.

REFERENCES

Callen, D. F.; Thompson, A. D.; Shen, Y.; Philips, H. A.; Richards, R. I.; Mulley, J. C.; Sutherland, G. R.; (1993). Incisence and origin of 'null' alleles in the (AC)n microsatellite markers. American Journal of Human Genetics; 52: 922-927.

Carvalho, G. R.; Hauser, L.; (1995). Molecular genetics and the stock concept in fisheries. G. R. Carvalho and T. J. Pitcher, (Eds.), Molecular Genetics in Fisheries. London, Chapman and Hall; 55-80.

Chakraborty, R.; Leimar, O.; (1987). Genetic variation within a subdivided population. N. Ryman and F. M. Utter (Eds), Population Genetics and Fishery management. Washington: University of Washington; 89-120.

Coad, B.W.; (2010). [Website] http://www.briancoad.com (accessed 3 March, 2010).

Dahle, G.; Jorstad, K. E.; Rusaas, H. E.; Ottera, H.; (2006). Genetic characteristics of brood stock collected from four Norwegian coastal cod (*Gadus morpha*) populations. Marine Science; 63: 209- 215.

Dewoody, J. A.; Avise, J. C.; (2000). Microsatellite variation in marine, freshwater and anadramous fishes compared with other animals. J. Fish Biol.; 56: 461-473.

Dixon, T. J.; Coman, G. J.; Arnold, S. J.; Sellars, M. J.; Lyons, R. E.; Dierens, D.; Preston, N. P.; Li, Y.; (2008). Shifts in genetic diversity during domestication of Black Tiger shrimp, *Penaeus monodon*, monitored using two multiplexed microsatellite systems. Aquaculture; 283: 1-6.

Diz, P.A.; Presa, P.; (2009). The genetic diversity pattern of *Mytilus alloprovincialis* in Galician Rías (NW Iberian estuaries). Aquaculture; 287: 278-285.

Dudgeon, D.; Arthington, A. H.; Gessner, M. O.; Kawabata, Z. -I.; Knowler, D.J.; Lévêque, C.; Naiman, R.J.; Prieur-Richard, A.-H.; Soto, D.; Stiassny, M.L.J.; Sullivan, C. A.; (2006). Freshwater biodiversity: importance, threats, status and conservation challenges. Biol. Rev.; 81: 163-182.

Esmaeili, H. R.; Ebrahimi, M.; Ansari, T. H.; Teimory, A.; Gholamhosseini, G.; (2009). Karyotype analysis of Persian stone lapper, *Garra persica* Berg, 1913 (Actinopterygii: Cyprinidae) from Iran. Curr. Sci.; 96: 959-962.

Fergusen, M.; (1995). The role of molecular genetic markers in the management of cultured fish. G. R. Carvalhoand, T. J. Pitcher (Eds.), Molecular Genetics in Fisheries. London: Chapman and Hall. 81-104.

Ghodsi, Z.; Shabani, A.; Shabanpour, B.; (2011). Genetic diversity of *Liza aurata* (Risso, 1810) in the coastal regions of Golstan province, using microsatellite marker. Taxonomy and Biosystematics; 6: 35-47.

Hillis, D.M.; Mortiz, C.; Mable, B.K.; (1996). Molecular systematic. Signature associated.

Kalinowski, S. T.; (2005). Do polymorphic loci require large sample sizes to estimate genetic distances. J. Hered.; 94: 33-36.

Li, J.; Wang, G.; Bai, Z.; (2009). Genetic variability in four wild and two farmed stocks of the Chinese freshwater pearl mussel (*Hyriopsis cuminggii*) estimated by microsatellite DNA. Aquaculture; 287: 286-291.

Li, D.; Kang, D.; Yin, Q.; Sun, Z.; Liang, L.; (2007). Microsatellite DNA marker analysis of genetic diversity in wild common carp (*Cyprinus carpio* L.) Populations. Genetics and Genomics; 34: 984- 993.

Lind, C. U.; Evans, B. S.; Knauer, J.; Taylor, J. J. U.; Jerry, D. R.; (2009). Decreased genetic diversity and a reduced effective population size in cultured silver-lipped pearl oysters

(*Pinctada maxima*). Aquaculture; 286: 12-19.

Lucentini, L.; Palomba, A.; Lancioni, H.; Gigliarelli, L.; Natali, M.; Panara, F.; (2006). Microsatellite polymorphism in Italian populations of northern pike (*Esox lucius*). Fisheries Research; 80: 251-262.

Magoulas, A.; (2005). Mitochondrial DNA. In Stock Identification Methods Applications in Fishery Science; 311-330.

McQuown, E.; Krueger, C. C.; Kincaid, H. L.; Gall, G. A. E.; May, B.; (2003). Genetic comparison of Lake Sturgeon population: differentiation based on allelic frequencies at seven microsatellite Loci. Great Lakes Research; 29: 3-13.

Mohamadian, S.; Rezvani Gilkolaei, S.; Kazemian, M.; Kamali, A.; Taghavi, M.; Rouholahi, Sh.; Laloei, F.; Nayerani, M.; (2010). The study of genetic diversity and population structure of *Vimba vimba persa* (Pallas, 1814) populations in the Eastern and Western coastline of the Caspian sea (Havigh River and GorganRoud River) using microsatellite markers. Taxonomy and Biosystematics; 5: 29- 39.

Neigel, J. E.; (1997). A comparison of alternative strategies for estimating gene flow from genetic markers. Annual Review of Ecology and Systematics; 28: 105-128.

Peakall, R.; Smouse, P. E.; (2012). GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. *Bioinformatics* In press.

Rezaei, 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.

Rodzen, J. A.; May, B.; (2002). Inheritance of microsatellite loci in the polyploidy white sturgeon (*Acipenser transmontanus*). Genome; 54: 1064-1076.

Sambrok, J.; Fritsch, E. F.; Maniatis, T.; (1989). Electrophoresis of RNA through gels containing formaldehyde: Molecular Cloning, 2nd edn. Cold Spring Harbor, NY: CSH Laboratory Press. 743-745.

Sayili, M.; Akca, H.; Duman, T.; Esengun, K.; (2007). Psoriasis treatment via doctor fishes as part of health tourism: A case study of Kangal Fish Spring, Turkey. Journal Tourism Management; (28): 625-629.

Skalla, A.; Hbyheim, B.; Glover, K.; Dahle, D.; (2004). Microsatteletie analysis in domesticated and wild Atlantic salmon. Aquaculture; 240: 131-143.

Thorpe, J. P.; Sol-cava, A. M.; (1994). The use of allozyme electrophoresis in vertebrate systematics. Zoologica Scripta; 23: 3-18.

Utter, F. M.; (1991). Biochemical genetics and fishery management: an historical perspective. Journal of Fish Biology; 39: 1-20.

Van Herwerden, L. V.; Mcllwain, J.; Al-Ouf, H.; Al-Amry, W.; Reyes, A.; (2006). Development and application of microsatellite markers for Scomberomorus commerson (Perciformes; Teleostei) to a population genetic study of Arabian Peninsula stocks. Fish. Res.; 79: 258-266.

Wright, B. S.; (1951). The genetical structure of populations. Annual Eugenics; 15: 323-354.

Wright, S.; (1969). Evolution and the Genetics of Population, Vol. 2: The theory of Gene frequencies. University of Chicago Press.

Yeh, F. C.; Yang, R. C.; 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.

Yue, G.H.; Li, Y.; Lim, L.C.; Orban, L.;

(2004). Monitoring the genetic diversity of three Asian arowana (*Scleropages formosus*) captive stocks using AFLP and microsatellites. Aquaculture; 237: 89-102.

Zar, J. H.; (1999). Biostatistical analysis, 4th Ed, Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey.

Zhao, N.; Shao, Z.; Ai, W.; Zhu, B.; Brosse, S.; Chang, J.; (2005). Microsatellite assessment of Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis Gray*) genetic variability. Ichthyology; 21: 7-13.