ساختار ژنتیکی قزل‌آلای‌رنگین‌کمان *Oncorhynchus mykiss* پرورشی اسپانیایی و آمریکایی

ابوالفتح علیپور[۱]؛ سالار درافشان[۲]*و احمد قاسمی[۳]

sdorafshan@cc.iut.ac.ir

۱و۲-گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان، صندوق پستی: ۸۳۱۱۱-۸٤۱٥٦

۳-مرکز پژوهش‌های خلیج فارس، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر

تاریخ دریافت: فروردین ۱۳۹۱ تاریخ پذیرش:شهریور ۱۳۹۱

چکیده

ماهی قزل‌آلای‌رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)، مهمترین ماهی پرورشی سردآبی در ایران است. جمعیت‌های پرورشی متفاوتی از کشورهای مختلف وارد ایران شده و در سراسر کشور مزارعی به تکثیر و پرورش آنها مبادرت می کنند. در این مطالعه ساختار ژنتیکی قزل‌آلای‌رنگین‌کمان اسپانیایی و آمریکایی با استفاده از چهار جفت نشانگر ریزماهواره و ۳۰ قطعه ماهی از هر جمعیت مورد مطالعه قرار گرفت. به‌طور کلی دامنه باندی در جایگاه‌های MY325، MM1329، OMY77 و OMM1332 به ترتیب ۱۷۸-۱۰۲، ۱۵۰-۱۰۰، ۱۹۸-۱۲۲ و۲۰٤-۱۷۲ جفت باز بود. میانگین تعداد آلل مشاهده شده در جمعیت اسپانیایی ۱۱/۵۰ و آمریکایی ۱۱ بود. میانگین تعداد آلل موثر در جمعیت اسپانیایی ۸/٦٥ و آمریکایی ۸/۰۳ محاسبه شد. میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده در جمعیت اسپانیایی ۰/٦۳ و آمریکایی ۰/۵۹ بدست آمد. میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده برای جمعیت آمریکایی و اسپانیایی به ترتیب معادل ۰/۵۹ و ۰/٦۳ بود میانگین هتروزایگوسیتی مورد انتظار در هر دو جمعیت بسیار نزدیک و حدود ۰/۸٦ بود. انحراف معنی دار از تعادل هاردی- وینبرگ در ۷ تست (جایگاه×جمعیت) از ۸ تست ممکن مشاهده شد. آنالیز مولکولی AMOVA نشان داد که تنها بخش اندکی (۷ درصد) از تنوع ژنتیکی بین جمعیت‌ها و بخش اعظم آن (۹۳ درصد) درون جمعیت‌ها وجود دارد. میزان شباهت و فاصله ژنتیکی بین جمعیت‌ها بترتیب ۰/۸۳ و ۰/۱۸ محاسبه شد. شاخص تمایز F_{ST} بر مبنای فراوانی آللی بین نمونه‌های جمعیت اسپانیایی و آمریکایی معادل ۰/۰۱۲ بدست آمد. نتایج آنالیز مولکولی نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین دو جمعیت از نظر این شاخص وجود ندارد. نتایج این تحقیق نشان داد که اگرچه تنوع ژنتیکی قابل توجهی درون دو جمعیت پرورشی قزل‌آلای رنگین‌کمان اسپانیایی و آمریکایی وجود دارد، اما این دو جمعیت از منظر چهار جایگاه ریزماهواره مورد بررسی بسیار شبیه به یکدیگر بوده و تمایز ژنتیکی اندکی را نشان می‌دهند.

کلمات کلیدی: ماهیان سرد آبی، تنوع جمعیت، نشانگرهای مولکولی

*نویسنده مسئول

[Downloaded from isfj.ir on 2024-04-19]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1392.22.1.16.5]

[DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110103]

مقدمه

مهمترین کشورهای صادر کننده تخم چشم زده قزل آلای رنگین‌کمان به ایران، فرانسه، نروژ، اسپانیا، آمریکا و دانمارک هستند. تاکنون مطالعات جامعی در خصوص میزان بازده جمعیت های مختلف وارداتی به کشور در شرایط پرورشی ایران صورت نگرفته است و اطلاعات مدونی در این زمینه وجود ندارد. یکی از راه کارهای ارزیابی توان تولید جمعیت‌های مختلف پرورشی، استفاده از نشانگرهای مولکولی در ارزیابی تنوع ژنتیکی و میزان تمایز بین جمعیت های مختلف است. تکثیر غیراصولی و غیرعلمی در مزارع پرورشی و مراکز تکثیر می تواند سبب ایجاد اختلالات ژنتیکی و همخونی در نسل مولدین و بروز صفات نامرغوب ناشی از آن شود.

به طور کلی مدیریت تنوع ژنتیکی در موجودات، نیازمند ارزیابی ساختار ژنتیکی و تفکیک ذخایر گونه مورد نظر است. بنابراین، آگاهی و بررسی دایمی وضعیت ژنتیکی گونه‌هایی که در معرض تکثیر مصنوعی قرار دارند، برای حفاظت و مدیریت آنها ضروری است (Pujolar *et al.*, 2009). در میان نشانگرهای مولکولی که در مطالعات ژنتیک جمعیت استفاده می شوند، ریزماهواره‌ها به دلیل فراوانی و گستردگی بالا در ژنوم، هم‌بارز بودن، توارث مندلی، کوچک بودن اندازه جایگاه ژنی و در نتیجه سهولت تعیین ژنوتیپ از طریق واکنش زنجیره‌ای پلیمراز وهمچنین چندشکلی بالا از جمله مناسب ترین نشانگرها هستند (Dewoody & Avise, 2000; Chen *et al.*, 2008).

مطالعات مولکولی متعددی در زمینه ساختار ژنتیکی قزل‌آلای رنگین‌کمان پرورشی و وحشی با استفاده از ریزماهواره‌ها در خارج از کشور صورت گرفته است. مطالعات Silverstein و همکاران (۲۰۰۴)؛Gross و همکاران (۲۰۰۷)؛ Glover (۲۰۰۸)؛ Pavlov و همکاران (۲۰۱۱) اشاره نمود. از معدود مطالعات انجام شده در ایران می‌توان به مطالعه در خصوص ارزیابی تنوع ژنتیکی به افضلی و همکاران (۱۳۸۸) اشاره کرد.

با توجه به ارزش اقتصادی بالای قزل‌آلای‌رنگین‌کمان در صنعت آبزی‌پروری ایران و وجود جمعیت های مختلف پرورشی، لزوم ارزیابی تمایز و تنوع ژنتیکی بین و درون جمعیت‌های مختلف پرورشی نظیر اسپانیایی و آمریکایی محسوس است. همچنین با توجه به لزوم آگاهی از میزان تنوع ژنتیکی به منظور بهره برداری از آن در زمینه اصلاح نژاد خصوصا بر مبنای روش به‌گزینی، اهمیت آن دوچندان می‌شود. لذا مطالعه حاضر با هدف بررسی ساختار ژنتیکی برخی از مهمترین جمعیت های پرورشی این گونه در ایران طراحی و اجرا شد.

مواد و روش کار

با توجه به پرورش وسیع این گونه در ایران و با توجه به محدودیت های موجود، نمونه برداری از کارگاههای تکثیر و پرورش استان لرستان و از دو جمعیت اسپانیایی و آمریکایی (هر کدام ۳۰ عدد) در مهر ماه ۸۹ صورت گرفت. نمونه‌ها در الکل ۹۶ درصد تثبیت و تا زمان استخراج DNA در یخچال نگهداری شدند. جهت استخراج DNA، از روش استات آمونیوم استفاده شد (Appleyard *et al.*, 2002) و در نهایت DNA استخراج شده در ۲۵ میکرولیتر آب مقطر تزریقی حل گردید. کیفیت DNA با روش الکتروفورز ژل آگارز ۱٪ بررسی شد.

جهت بررسی تنوع ژنتیکی بین دو جمعیت، از چهار جفت آغازگر اختصاصی (OMY77، OMY325، OMM1332 و OMM1329) ریزماهواره استفاده شد. مبنای انتخاب این آغازگرها برای قزل‌آلای رنگین‌کمان، فراوانی آللی بیشتر آنها در مقایسه با سایر آغازگرها در مطالعات مشابه بود (جدول ۱)، (O'Connell *et*; Palti *et al.*, 2002; Morris *et al.*, 1996 ; *al.*, 1997).

[Downloaded from isfj.ir on 2024-04-19]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1392.22.1.16.5]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110103]

جدول ۱: نام جایگاه، اندازه باند، دمای اتصال و میانگین تعداد آلل مشاهده شده در قزل‌آلای‌رنگین‌کمان بر مبنای مطالعات پیشین **(Morris *et al.*, 1996; O'Connell *et al.*, 1997; Palti *et al.*, 2002)**.

ردیف	نام جایگاه	کد دسترسی در Genbank	تعداد آلل مشاهده شده Na*	محدوده مورد انتظار باند (جفت باز)*	ماخذ
۱	OMY325	-	۱۲	۱۰۰-۱۵۰	Morris *et al.*, 1996
۲	OMM1329	G73564	۱۲/۵	۱۲۰-۲۰۰	Palti *et al.*, 2002
۳	OMM1332	G73566	۸/۵	۱۷۰-۲۰۰	
٤	OMY77	-	۱۰/۲۵	۱۰۰-۱۸۰	O'Connell *et al.*, 1997

*- **میانگین تعداد آلل مشاهده شده و اندازه باندی براساس** مطالعات پیشین برآورد شده است.

تکثیر جایگاه‌های ژنی با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در حجم ۱۰ میکرولیتری و در شرایطی شامل: یک میکرولیتر DNA، ۰/۴ میکرولیتر از هر آغازگر (۱۰ پیکومولار)، ۰/۲ میکرولیتر از نوکلئوتیدها (۱۰ میلی مولار)، ۰/۱۶ میکرولیتر *Taq* پلی‌مراز شرکت سیناژن (۵ واحد در میکرولیتر)، یک میکرولیتر بافر ۱۰xPCR، ۰/۲ میکرولیتر کلریدمنیزیم (۵۰ میلی مولار) و آب مقطر (تا رسیدن به حجم ۱۰ میکرولیتر) انجام گرفت. شرایط چرخه دمایی برای هر جایگاه ژنی شامل ۳ دقیقه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد در ادامه ۳۵ چرخه شامل ۹۴ درجه سانتیگراد برای ۶۰ ثانیه، درجه حرارت اتصال (۶۱-۵۸ درجه سانتیگراد)، ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد برای ۴۵ ثانیه، با یک بسط نهایی ۷۲ درجه برای ۵ دقیقه بود. نتایج بر روی ژل پلی اکریل امید ۱۲درصد با رنگ‌آمیزی نیترات نقره به‌همراه مارکر 50bp از شرکت Fermentas بررسی و شاخص‌هایی نظیر تعداد آلل مشاهده شده Na، تعداد آلل موثر Ne، هتروزیگوسیتی مشاهده شده Ho، هتروزیگوسیتی مورد انتظار He، شاخص شانون I، ضریب خویشاوندی F_{IS}، شاخص تمایز F_{ST}، فاصله ژنتیکی D، شباهت ژنتیکی و انحراف از تعادل هاردی- وینبرگ بین و درون جمعیت ها با استفاده از نرم افزارهای (۲۰۰۷) Excel و GenAlex 6.4 محاسبه شد. شاخص‌های تنوع ژنتیکی مثل تعداد آلل موثر Ne، هتروزیگوسیتی مورد انتظار He، هتروزیگوسیتی مشاهده شده Ho و شاخص شانون I با کمک نرم افزار PowerMarker ver 3.0 و PopGene ver 3.2 محاسبه شد. انحراف از تعادل هاردی- وینبرگ و آزمون معنی دار بودن با محاسبه مقادیر P با روش کای اسکور و با نرم افزار PopGene ver 3.2 انجام شد و کاهش هتروزیگوسیتی در جمعیت‌های خارج از تعادل با مقایسه هتروزیگوسیتی مورد انتظار و مشاهده شده تعیین گردید. شاخص تثبیت رایت F_{IS} به وسیله نرم افزار PopGene ver 3.2 و GeneAlex, 6.1 محاسبه شد. آنالیز تجزیه واریانس مولکولی AMOVA با استفاده از نرم افزار ARLEQUIN ver 3.11 انجام شد. تخمین مقادیر F_{ST} و آزمون معنی‌دار بودن با محاسبه مقادیر P برای انجام تفکیک ژنتیکی بین جمعیت‌ها و حوضه‌ها با نرم افزار ARLEQUIN ver 3.11 انجام شد.

نتایج

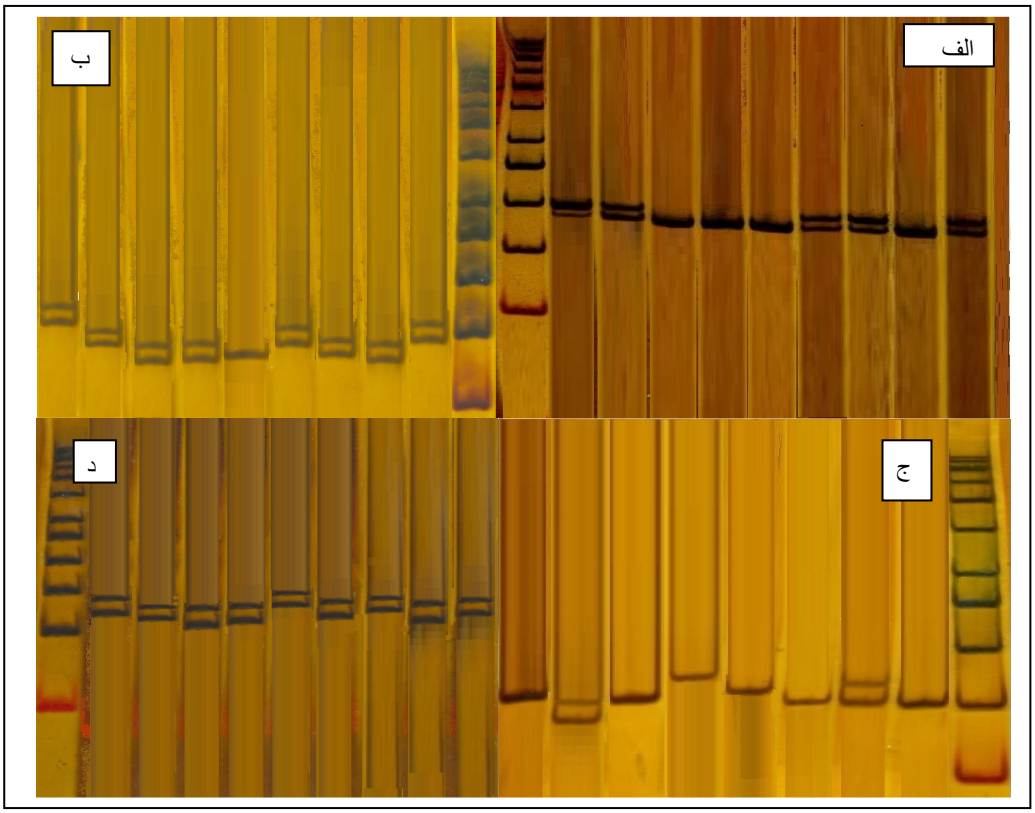
تمام چهار جایگاه ژنی ریزماهواره‌ای مورد استفاده، چند شکل بودند. قطعات تکثیر شده در چهار جایگاه ریزماهواره در PCR دامنه‌های متفاوتی را نشان دادند. کوچکترین قطعه مربوط به جایگاه OMY325 با طول ۱۵۰-۱۰۰ جفت باز بود. بزرگترین قطعه نیز در جایگاه OMM1332 با طول ۲۰۴-۱۷۲ جفت باز مشاهده شد (شکل ۱).

بیشترین (۱۶) تعداد آلل مشاهده شده (Na) در جایگاه OMM1329 و کمترین آن (۸) در جایگاه OMY77 در جمعیت آمریکایی مشاهده شد. میانگین کل هتروزیگوسیتی مورد انتظار (H_e) و کل هتروزیگوسیتی مشاهده شده (H_o) به ترتیب ۰/۸۷ و ۰/۶۱ بود. میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده به

[Downloaded from isfj.ir on 2024-04-19]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1392.22.1.16.5]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110103]

ترتیب در جمعیت اسپانیایی و آمریکایی معادل ۰/۶۳ و ۰/۵۹ و میزان هتروزیگوسیتی مورد انتظار در این دو جمعیت به ترتیب ۰/۸۷ و ۰/۸۶ محاسبه شد (جدول ۲). بیشترین (۲/۵۶) و کمترین (۱/۹۲) میزان شاخص شانون به ترتیب در جایگاه OMM1329 و OMY77 هر دو در جمعیت آمریکایی بودند.

جمعیت و تنها بخش اندکی از آن (معادل ۷ درصد) بین دو جمعیت است. بیشترین میزان (۰/۷۳۳) ضریب خویشاوندی (F_{IS}) مربوط به جایگاه OMM1332 و کمترین آن (۰/۱۳۵-) در جایگاه OMY325 در جمعیت آمریکایی مشاهده شد (جدول ۴). بطور کلی، میانگین ضریب خویشاوندی در چهار جایگاه مورد مطالعه در جمعیت آمریکایی ۰/۳۳۴ و در جمعیت اسپانیایی ۰/۲۹۵ بود (جدول ۴). میزان شباهت و فاصله ژنتیکی بین جمعیت‌ها بترتیب ۰/۸۳۱ و ۰/۱۸۶ محاسبه شد.



شکل ۱: نمایش محصول PCR برخی نمونه‌های قزل‌آلای‌رنگین‌کمان روی ژل اکریلامید ۱۲ درصد با استفاده از آغازگر OMM1332 (الف)، OMY77 (ب)، OMM1329 (ج) و OMY325 (د). مارکر ۵۰ bp.

(جدول ۲). شاخص تمایز F_{ST} بر مبنای فراوانی آللی بین نمونه‌های جمعیت اسپانیایی و آمریکایی معادل ۰/۰۱۲ محاسبه شد. نتایج بررسی آماری نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین دو جمعیت از نظر این شاخص وجود نداشت ($P>0.05$).

براساس آزمون مربع کای، به جز جایگاه OMY325 در نمونه‌های جمعیت اسپانیایی انحراف از تعادل هاردی - وینبرگ در همه جایگاه‌ها به طور معنی داری مشاهده شده ($P<0.05$، جدول ۳). با توجه به نتایج آنالیز واریانس مولکولی می‌توان بیان داشت که بخش اعظم (حدود ۹۳ درصد) تنوع ژنتیکی درون دو

[Downloaded from isfj.ir on 2024-04-19]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1392.22.1.16.5]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110103]

جدول ۲: تعداد آلل مشاهده شده و موثر، تنوع ژنتیکی و شاخص شانون چهار جایگاه مورد مطالعه در جمعیت های اسپانیایی و آمریکایی قزل‌آلای‌رنگین‌کمان.

جمعیت	جایگاه	OMY325	OMM1329	OMY77	OMM1332	میانگین
اسپانیایی	Na	۱۳	۱۲	۱۲	۹	۱۱/۵
	Ne	۱۰/۷۱	۸/٤٥	۹/٤۲	٦/۰٤	۸/٦٥
	Ho	۰/۹٦	۰/٦۰	۰/۷۳	۰/۲۳	۰/٦۳۳
	He	۰/۹۰	۰/۸۸	۰/۸۹	۰/۸۳	۰/۸۷۹
	I	۲/٤٤	۲/۲۹	۲/۳٦	۱/۹٤	۲/۲٦
آمریکایی	Na	۱۱	۱٦	۸	۹	۱۱
	Ne	۷/٥۹	۱۱/٥۳	٦/۳۸	٦/٦٤	۸/۰۳
	Ho	۱	۰/٤٦	۰/٦٦	۰/۲۳	۰/٥۹
	He	۰/۸٦	۰/۹۱	۰/۸٤	۰/۸٤	۰/۸٦
	I	۲/۱٦	۲/٥٦	۱/۹۲	۲/۰۱	۲/۱٦

Na: **تعداد آلل مشاهده شده، N_e: تعدادآلل موثر H_o : هتروزیگوسیتی مشاهده شده H_e: هتروزیگوسیتی مورد انتظار. I شاخص شانون.**

جدول ۳: بررسی تعادل هاردی- وینبرگ در جایگاه‌های مورد مطالعه در دو جمعیت اسپانیایی و آمریکایی قزل‌آلای‌رنگین‌کمان.

جمعیت / جایگاه	درجه آزادی – سطح معنی‌داری	OMY325	OMM1329	OMY77	OMM1332
اسپانیایی	df	۷۸	٦٦	٦٦	۳٦
	X^2	۸٦/۳۲	۱٥۷/۹۷	۱۱۲/۷۱	۱٥٦/۷٦
	Prob	۰/۲٤۳	۰	۰	۰
	Sig	ns	***	***	***
آمریکایی	df	٥٥	۱۲۰	۲۸	۳٦
	X^2	۱۱۰/۹٤	۱۸۲۹/۱۹	٥۱/٦۳	۱٥٤/۱۰
	Prob	۰	۰	/۰۰٤	۰
	Sig	**	***	***	***

***:($P \leq 0/001$) **:($P \leq 0/01$) *: ($P \leq 0/05$) **ns**: بدون اختلاف معنی‌دار.

جدول ٤: میزان ضریب خویشاوندی (F_{IS}) در سطح چهار جایگاه مورد بررسی در جمعیت‌های اسپانیایی و آمریکایی.

جمعیت / جایگاه	اسپانیایی	آمریکایی
OMY77	۰/۱۹٦	۰/۲۲٦
OMM1332	۰/۷۲۸	۰/۷۳۳
OMY325	-۰/۰٤۹	-۰/۱۳٥
OMM1329	۰/۳۳٥	۰/٥۰۲
میانگین	۰/۲۹٥	۰/۳۳٤

[Downloaded from isfj.ir on 2024-04-19]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1392.22.1.16.5]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110103]

بحث

بررسی تنوع و تمایز ژنتیکی جمعیت‌های مختلف قزل‌آلایرنگین‌کمان بعنوان مهمترین گونه پرورشی در ایران ضروری است. این اطلاعات می تواند به عنوان یکی از داده‌های مورد استفاده در زمینه مباحثی همچون اصلاح نژاد از طریق بهگزینی یا انتخاب مورد استفاده قرار گیرد. از مهمترین مواردی که باید در آغاز اجرای یک برنامه اصلاحی مورد توجه قرار گیرد، میزان تنوع ژنتیکی موجود در جمعیت پایه است. هرچه میزان تنوع بالاتر باشد، امکان بهره برداری از آن به شکل بهتری مهیا است (امینی، ۱۳۸۹). اگرچه ریزماهواره‌ها عمدتا در نواحی غیرکدکننده حضور داشته و ارزیابی تنوع آنها نمی تواند به طور مستقیم بیانگر تنوع در ژن های موثر بر صفات کمی و حائز اهمیتی هم‌چون رشد باشد، اما می توان از این یافته ها به عنوان یک راهنمای کلی برای وجود تنوع و تمایز بین جمعیت‌ها استفاده کرد

در این بررسی میانگین کل هتروزیگوسیتی مشاهده شده در سطح جمعیت‌های مورد بررسی ۰/۶۱۲ به دست آمد و تعداد متوسط کل آلل‌های مشاهده شده در سطح جمعیت‌ها برابر با ۱۱/۲۵ بود. Narum و همکاران (۲۰۰۴) با استفاده از شش جایگاه ریزماهواره، تنوع ژنتیکی در قزل‌آلای‌رنگین‌کمان آنادروموس و مقیم رودخانه والا در جنوب واشنگتن را بررسی کردند و میانگین ۱۴/۱ آلل برای هر جایگاه و میانگین هتروزیگوسیتی ۰/۶۷ برای هر دو جمعیت گزارش نمودند. Silverstein و همکاران (۲۰۰۴) نیز در بررسی تنوع ژنتیکی میان سه سویه اهلی قزل‌آلای‌رنگین‌کمان در آمریکا به وسیله نه جایگاه ریزماهواره، میانگین ۱۴ آلل در هر جایگاه و هتروزیگوسیتی ۰/۷۲ را گزارش کردند. نتایج این تحقیق نشان می دهدکه تنوع ژنتیکی قابل توجهی در جمعیت‌های پرورشی مورد مطالعه وجود دارد. اگرچه، اکثر محققین بر این اعتقاد هستند که جمعیت‌های پرورشی بنا به دلایل مختلف نظیر استفاده از نسبت‌های جنسی نابرابر در تکثیر مصنوعی، بقای متفاوت نتاج حاصل از آمیزش بین مولدین و آمیزش افراد خویشاوند بسیار مستعد وقوع تنگنای ژنتیکی و کاهش قابل توجه تنوع ژنتیکی هستند (Allendorf, 1986; Allendorf *et al.*, 1987; Machado-Schiaffino *et al.*, 2007). با این وجود به منظور نتیجه گیری قطعی در این خصوص لازم است تا تعداد نمونه بیشتر با استفاده از جایگاههای مختلفی مورد بررسی قرار گیرد. چراکه در بسیار از موارد، تعداد اندک نمونه یا جایگاه مورد مطالعه می تواند منجر به بروز خطا در ارزیابی میزان تنوع ژنتیکی شود (کیوان شکوه و درافشان، ۱۳۸۹).

شاخص شانون به‌عنوان یکی از معیارهای تنوع ژنی برای جمعیت‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد. با توجه به این که شاخص شانون در نمونه‌های مربوط به جمعیت اسپانیایی بیشتر از جمعیت آمریکایی است (جدول ۲) می‌توان نتیجه گرفت که این جمعیت چند شکلی بالاتری را نسبت به جمعیت آمریکایی نشان می دهد. بیشتر بودن میانگین تعداد آلل مشاهده شده و هتروزیگوسیتی مشاهده شده در جمعیت اسپانیایی نسبت به جمعیت آمریکایی موید همین مطلب است.

نتایج بدست آمده در جدول ۲ نشان داد که مقدار هتروزیگوسیتی مشاهده شده در جایگاه‌های OMM1332 OMM1329 و OMY77 در تمامی جمعیت‌ها از مقدار هتروزیگوسیتی مورد انتظار کمتر است. آلل‌های تکثیر نشده یا نول از مهمترین عوامل ایجاد کننده کسری هتروزیگوسیتی در جایگاه‌های ریزماهواره هستند (Xu *et al.*, 2001). اگرچه فراوانی آللهای نول در این تحقیق ارزیابی نشد، اما وجود آنها را نمی‌توان از نظر دور داشت. به جز فرضیه آلل‌های نول، کسری هتروزیگوسیتی در اثر فاکتورهایی مانند تنگنای ژنتیکی، جفتگیری غیرتصادفی و به‌گزینی نیز ایجاد می‌شود (Li *et al.*, 2007). جدا از دلایل بیولوژیک معمول در ایجاد کسری هتروزیگوسیتی، ریزماهواره‌ها به‌طور خاص مستعد این پدیده هستند (Diz & Presa, 2009).

با توجه به نتایج حاصل در این تحقیق می‌توان بیان کرد که اغلب جایگاه‌ها انحراف از تعادل هاردی-وینبرگ را نشان می-دهند. انحراف از تعادل هاردی- وینبرگ را می‌توان به آمیزش-های خویشاوندی در بین افراد، ناکافی بودن تعداد نمونه‌ها و خطای نمونه‌بردای (نمونه برداری از افراد خویشاوند) نسبت داد (Skalla *et al.*, 2004; Zhao *et al.*, 2005; Dahle *et al.*, 2006; Chauhan *et al.*, 2007; Li *et al.*, 2007). همچنین پایین بودن تعداد مولدین و نسبت نامساوی جنسی مولدین در تکثیر مصنوعی می تواند از دلایل احتمالی بروز این پدیده باشد (Gross *et al.*, 2007). با توجه به اینکه اطلاعات ثبت شده‌ایی از وضعیت تکثیر و پرورش جمعیت های مورد استفاده در این تحقیق در خارج از کشور وجود ندارد علت دقیق این پدیده را نمی توان با قطعیت بیان داشت.

[Downloaded from isfj.ir on 2024-04-19]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1392.22.1.16.5]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110103]

ضریب خویشاوندی (F_{IS}) در جمعیت آمریکایی حدود ۱۱ درصد بیش از جمعیت اسپانیایی بود لذا به نظر می رسد احتمال وجود افراد خویشاوند درون جمعیت آمریکایی بیش از اسپانیایی باشد. بروز هم‌خونی یکی از پدیده های رایج در ماهیان پرورشی است، بهگزینی تثبیتی یا جهت دار، آمیزش افراد خویشاوند و نیز نسبت نابرابر جنسی در طی تکثیر مصنوعی از دلایل احتمالی بروز هم‌خونی است (کیوان شکوه و درافشان، ۱۳۸۹). در خصوص مقدار قابل قبول هم‌خونی در گونه های مختلف و یا حتی برای صفات مختلف در یک گونه ارقام متفاوتی ارایه شده و به طور کلی نمی توان مقدار خاصی را برای حد بهینه آن بیان کرد. به طوری که در برخی منابع، سطح قابل قبول هم‌خونی برای قزل آلای رنگین کمان ۱۸ درصد بیان شده است (امینی، ۱۳۸۹). بروز هم‌خونی ناشی از برنامه اصلاح نژادی آمیزش خویشاوندی یکی از روش های معتبر اصلاح نژادی در گیاهان و جانوران مرسوم در فعالیت های کشاورزی محسوب می شود. اما در خصوص ماهیان، با توجه به تنوع فراوان و جوان بودن نسبی فعالیت، میزان بهینه و قابل قبول همخونی برای بسیاری از گونه ها و یا صفات مشخص نشده است. با این وجود به نظر می رسد با توجه به مقادیر نسبتا بالای ضریب همخونی در هر دو جمعیت پرورشی، احتمال بروز مشکلات ناشی از آن در طی نسل‌های آتی در صورتی که استاندارد تکثیر مصنوعی از نظر تعداد و نسبت جنسی مولدین لحاظ نشود، وجود خواهد داشت.

مقدار F_{ST} بر مبنای فراوانی آللی برابر با ۰/۰۱۲، تمایز پایینی و غیرمعنی‌داری را بین جمعیت‌ها نشان داد ($P>0.05$). به طور معمول مقدار F_{ST} در اکثر موارد کمتر از یک است چراکه چندشکلی ناشی از جهش به طور موثری میزان F_{ST} را کاهش می‌دهد (Charlesworth, 1998; Headrick, 1999). این شاخص نشان می دهد که دو جمعیت مورد بررسی از نظر نوع و فراوانی آللی بسیار به یکدیگر شبیه هستند. قزل‌آلای‌رنگین‌کمان، یک گونه بومی آمریکای شمالی است، اما به دلیل عادت‌پذیری بالا و توسعه آبزی‌پروری به تمامی مناطق جهان منتقل شده است. متاسفانه در اغلب موارد تاریخچه و شجره‌نامه دقیقی از چگونگی انتقال جمعیت‌های مولد، عمدتا به صورت تخم‌چشم‌زده در بین کشورها یا حتی مناطق مختلف یک کشور وجود ندارد و لذا احتمال اختلاط جمعیت‌ها با یکدیگر به صورت خواسته یا ناخواسته بسیار زیاد است. با توجه به موارد بیان شده و این حقیقت که ماهی قزل‌آلای‌رنگین کمان بومی آمریکا بوده و از طرف دیگر سابقه مرکز تولیدکننده تخم در آمریکا، منشائ نمونه‌های مورد مطالعه در این تحقیق بسیار بیش از مرکز تولیدکننده در اسپانیا است، احتمال اینکه جمعیت اسپانیایی خود به طریقی از جمعیت آمریکایی انشقاق یافته باشد، بسیار زیاد است. تمایز اندک بین جمعیت های پرورشی با ارزیابی مقادیر اندک فاصله ژنتیکی و میزان شباهت بالای ژنتیکی بین جمعیت‌ها که بترتیب معادل ۰/۱۸۶ و ۰/۸۳۱ بود، نیز تایید می‌شود، اگرچه با توجه به تعداد اندک نمونه و نیز تعداد محدود جایگاههای مورد بررسی، نتیجه‌گیری قطعی در این خصوص نیازمند ارزیابی های بیشتر است.

در نهایت با توجه به نتایج آنالیز مولکولی می‌توان بیان داشت که تنوع ژنتیکی نسبتا مطلوبی درون جمعیت های آمریکایی و اسپانیایی قزل‌آلای‌رنگین‌کمان پرورشی در ایران وجود دارد. با این وجود احتمال بروز مشکلات ناشی از هم‌خونی در طی نسل-های آتی همواره وجود خواهد داشت، لذا لازم است تا سیاست-های مدیریتی به شکلی تنظیم شوند که تنوع ژنتیکی میان نتاج حاصل از تکثیر مصنوعی به‌طور مداوم مورد پایش قرار گیرد و با انتخاب تعداد مناسبی از مولدین از کاهش تنوع ژنتیکی موجود به دلیل پدیده آمیزش خویشاوندی و رانش ژنتیکی جلوگیری شود.

منابع

امینی، ف.، ۱۳۸۹. مبانی ژنتیک، اصلاح نژاد و بیوتکنولوژی ماهیان. چاپ دوم. انتشارات جهاد دانشگاهی، واحد تهران، صفحات ۱۵۲-۱۶۵.

افضلی، م.، ۱۳۸۸. بررسی تنوع ژنتیکی در داخل جمعیت ماهی قزل آلای رنگین کمان ایرانی با استفاده از نشانگرهای رپید. دومین همایش بیوتکنولوژی کشاورزی، صفحه ۸۶.

کیوان شکوه، س. و درافشان، س.، ۱۳۸۹. زیست فناوری و ژنتیک در شیلات و آبزی پروری. چاپ اول. انتشارات مرکز نشر دانشگاه صنعتی اصفهان. صفحات ۱۰۹-۱۳۶.

Allendorf F.W., 1986. Genetic drift and the loss of alleles versus heterozygosity. Zoo Biology, 5:181-190.

Allendorf F.W., Ryman N., and Utter F.M., 1987. Genetics and fishery management: Past, present, and future. *In*: Ryman N, Utter FM

[Downloaded from isfj.ir on 2024-04-19]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1392.22.1.16.5]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110103]

(eds.) Population genetics and fishery management. University of Washington Press, Seattle, USA. pp:1-19.

Appleyard S.A., Ward R.D., Grewe P.M., 2002. Genetic stock structure of bigeyetuna in the Indian ocean using mitoghondrial DNA and microsatellite. Journal of Fish Biology, 60:767-770.

Charlesworth B., 1998. Measures of divergence between population and the effect of forces that reduce variability. Molecular Biology and Evolution, 15:538-543.

Chauhan T., Lal K.K., Mohindra V., Singh R., Punia O., Gopalakrishnan A., Sharma P.C., Lakra W.S., 2007. Evaluating genetic differentiation in wild populations of the Indian major carp. Aquaculture, 269: 135-149.

Chen L., Li Q., Yang J., 2008. Microsatellite genetic variation in wild and hatchery populations of the sea cucumber (*Apostichopus japonicus selenka*) from northern China. Aquaculture Research, 39:1541-1549.

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 anadromous fishes compared with other animals. Journal of Fish Biology, 56:461-473.

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

Glover K.A., 2008. Genetic characterization of farmed rainbow trout in Norway: intra- and inter-strain variation reveals potential for identification of escapees. BMC Genetics, 9:1-10.

Gross R., Lulla P., Paaver T., 2007. Genetic variability and differentiation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) strains in northern and Eastern Europe. Aquaculture Research, 272:39-146.

Headrick P.W., 1999. Highly variable loci and their interpretation in evolution and conservation. Evolution, 53: 313-318.

Li Q., Xu K., and Yu R., 2007. Genetic variation in Chinese's hatchery populations of the Japanese scallop (*Patinopecten yessoensis*) inferred from microsatellite data. Aquaculture, 296:211-219.

Machado-Schiaffino G., Depico E., and Garcia-Vazquez E., 2007. Genetic variation losses in Atlantic salmon stocks created for supportive breeding. Aquaculture, 264:59-65.

Morris D.B., Richard K.R., and Wright J.M., 1996. Microsatellites from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and their use for genetic study of salmonids. Canadian Journal of Fish Aquaculture, 53:120-126.

Narum S.R., Contor C., Talbot A., and Powell M.S., 2004. Genetic divergence of sympatric resident and andaromus forms of *Oncorhynchus mykiss* in the Walla Walla River, USA. Journal of Fish Biology, 65: 417-488.

Maitland P.S., 2000. Guide to freshwater fish of britain and europe. Publishing group limited octopus, Essex. 256 P.

O'Connell M., Danzmann R.G., Cornuet J.M., Wright J.M., and Ferguson M., 1997. Differentiation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) populations in Lake Ontario and the evaluation of the stepwise mutation and infinite allele mutation models using microsatellite

[Downloaded from isfj.ir on 2024-04-19]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1392.22.1.16.5]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110103]

variability. Canadian Journal Fish Aquaculture, 54:1391-1399.

Palti Y., Fincham M.R., Rexroad C.E., 2002. Characterization of 38 polymorphic microsatellite markers for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Molecular Ecology Note, 2:449-452.

Pavlov S.D., Semenova A.V., Rubtsova G.A., and Afanasiev K.I., 2011. Analysis of microsatellite variation in the rainbow trout parasalmo (*Oncorhynchus mykiss*) from Kamchatka (Report). Russian Journal of Genetics, 46:1346-1356.

Pujolar J.M., Deleo G.A., Ciccotti E., and Zane L., 2009. Genetic composition of Atlantic and Mediterranean recruits of European eel *Anguilla anguilla* based on EST-linked microsatellite loci. Journal of Fish Biology, 74:2034-2046.

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 Reseach, 35:40-48.

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

Xu Z., Primavera J.H., De la Pena L.D., Pettit P., Belak J., and Warren A.A., 2001. Genetic diversity of wild and cultured black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) in the Philippines using microsatellites. Aquaculture, 199:13- 40.

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

[Downloaded from isfj.ir on 2024-04-19]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1392.22.1.16.5]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110103]

Genetic structure of Spanish and American stocks of cultivated rainbow trout, (*Oncorhynchus mykiss*)

Alipoor A.[(1)]; Dorafshan S.*[(2)] and Ghasemi A.[(3)]

sdorafshan@cc.iut.ac.ir

1,2- Department of Natural Resources, Isfahan University of Technology, P.O.Box: 84156-83111

3-Scientific board member of the Persian Gulf research center, Persian Gulf University, Boshehr,

Keywords: Coldwater fishes, Population diversity, macular markers

[Downloaded from isfj.ir on 2024-04-19]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1392.22.1.16.5]

[DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110103]

Abstract

Rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* is the most important cold water farmed fish in Iran. Several cultivated stocks have been imported to Iran and some fish farms have focuesd on the culture and breeding of these stocks all around the country. In this study, the genetic structure of Spanish and American stocks of rainbow trout was investigated using 4 pairs of microsatellite markers and 30 specimens of fish from each stock. Allele sizes at OMY77, OMY325, OMM1329 and OMM1332 loci were in the range of 102-178, 100-150, 122-198, 172-204 bps respectively. Average number of observed alleles in American and Spanish stocks was 11 and 11.5, respectively. Average number of effective alleles in Spanish and American stock was 8.65 and 8.03, respectively. The mean of observed heterozygosity for American and Spanish stocks were calculated as 0.59 and 0.63, respectively. The mean of expected heterozygosity for both stocks was very similar (around 0.86). The results showed a significant deviation from Hardy-Weinberg equilibrium at seven out of eight loci × stock. AMOVA test showed low (7%) genetic diversity between stocks, while the most (93%) genetic diversity was observed within stocks. Genetic identity and genetic distance between stocks were 0.831 and 0.186, respectively. Fixation index F_{ST} was calculated based on allelic frequency between two stocks was 0.012 with no significant difference between 2 stocks. The results of this study showed that while there was considerable genetic diversity within Spanish and American stocks, two stocks were very similar and showed very insignificant genetic differentiation based on 4 microsatellite studied loci.

*Corresponding author