بررسی تنوع ژنتیکی ماهی قزل آلای رنگین کمان با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره در مزارع پرورشی ایران

عین الله گرجی پور [۱]، سجاد نظری [۲]*
* Sajadnazari13@gmail.com
۱ و ۲- مرکز تحقیقات ژنتیک و اصلاح نژاد ماهیان سردآبی شهید مطهری یاسوج، ایران صندوق پستی: ۷۵۹۱۴/۳۵۸

تاریخ دریافت: خرداد ۱۳۹۲ تاریخ پذیرش: آبان ۱۳۹۲

چکیده

تعداد ۶۴ نمونه از ماهی قزل الا (*Onchorhynchus mykiss*) از ۳ مزرعه از استانهای مختلف کشور جمع آوری گردید. از هر نمونه ۲ تا ۳ گرم از باله دمی بریده و پس از تثبیت در الکل اتانول مطلق به آزمایشگاه منتقل گردید. DNA ژنومی نمونه‌ها از بافت نرم باله ماهی به روش فنل- کلروفرم استخراج و سپس کمیت و کیفیت DNA استخراج شده با استفاده از اسپکتروفتومتر و الکتروفورز ژل آگارز ۱ درصد تعیین شد. واکنش PCR با استفاده از ۸ جفت پرایمر ریزماهواره انجام گرفت. محصول PCR با استفاده از ژل پلی آکریل آمید ۶ درصد الکتروفورز و با نیترات نقره رنگ آمیزی شد. مقادیر مربوط به تعداد آللهای واقعی و موثر، هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار، شاخص شانون، تعادل هاردی- واینبرگ، مقادیر F_{ST} بر اساس تست AMOVA با استفاده از نرم افزار ژنتیکی Gene Alex و Popgene محاسبه گردید. نتایج بدست آمده از این بررسی نشان می‌دهد که ۸ جفت پرایمر میکروستلایتی بررسی شده، پلی‌مورف بودند. در مجموع اللهای شناسائی شده در محدوده اندازه بین ۲۸۰-۶۴ جفت باز بوده است. جایگاه OtsG 249 با ۹ آلل دارای بیشترین آلل و جایگاه OtsG 432 و OtsG 474 با ۲ آلل دارای کمترین تعداد آلل بود. همچنین هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Ho) در جایگاههای هشت گانه بین ۰/۸۶۹ تا ۰/۹۱۶ بود. در بررسی تعادل هاردی- واینبرگ در بیشتر جایگاههای مورد بررسی انحراف از تعادل هاردی– واینبرگ را مشاهده شد . نتایج بدست آمده از F_{ST} نشان می‌دهد که حداکثر و حداقل آن به ترتیب ۰/۰۷۹ بین نمونه‌های منطقه تهران - یاسوج و ۰/۰۴۱بین نمونه‌های مزرعه همدان - یاسوج مشاهده می باشد. براساس نتایج حاصل از تست AMOVA بین تمام مزارع با یکدیگر اختلاف معنی دار مشاهده می شود. با توجه به داده های حاصل از بررسی حاضر، تنوع ژنتیکی بدست آمده در مزارع پرورشی ماهی قزل الا در سه استان قابل توجه بوده و می تواند به عنوان مطالعه پایه در ایجاد جمعیت پایه در برنامه های اصلاح نژادی کمک نماید.

لغات کلیدی: قزل آلای رنگین کمان، ریزماهواره، ژنتیک جمعیت، اصلاح نژاد

*نویسنده مسئول

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1392.22.4.9.4]

مقدمه

گونه قزل آلای رنگین کمان متعلق به زیر خانواده آزاد ماهیان (Salmoninae)، خانواده آزاد ماهیان (Salmonidae)، راسته آزاد ماهی شکلان (Salmoniform) و جنس انکورینکوس (Oncorhynchus) می باشد (Nelson, 2006). اکثر آزاد ماهیان گونه هایی با ارزش تجاری بالا هستند . قزل آلای رنگین کمان تمام مراحل زندگی خود را در آب شیرین بسر می برند. اعضای این خانواده به طور کلی بومی اروپا، شمال آسیا و شمال آمریکا هستند ولی توسط انسان به اکثر نقاط دنیا برده شده و به منابع آبی مناطقی چون آمریکای جنوبی، هند، استرالیا، زلاندنو و ایران معرفی شده اند. ماهیان مادهٔ این خانواده فاقد مجرای تخم‌بر می‌باشند و تخم پس از رسیدگی در حفرهٔ شکمی افتاده سپس از مجرای تناسلی به خارج هدایت می‌شود.

امروزه این ماهی دارای پراکندگی وسیعی در تمام نقاط جهان می‌باشد. این ماهی به دلیل آسانی در تکثیر مصنوعی، رشد خوب و مقاومت نسبت به بیماریها توانست جایگاه خوبی در پرورش مصنوعی پیدا کند (نفیسی، ۱۳۸۹). امروزه از ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در اکثر کارگاه‌های تکثیر و پرورش ماهیان سردآبی در کلیه نقاط جهان مورد استفاده قرار می گیرد. از خصوصیاتی که این ماهی را مورد توجه قرارداده سازش خوب آن با شرایط پرورش متراکم، سختگیر نبودن این ماهی در انتخاب غذا و سرعت رشد خوب این ماهی می‌باشد (یاراحمدی و همکاران، ۱۳۸۰).

جنبه‌های ژنتیکی ذخایر مولدین از اهمیت زیادی برخوردار هستند، زیرا پتانسیل یک جمعیت را در حقیقت ژنتیک آن جمعیت معین می‌کند. با وجود اینکه برای پدیدار شدن پتانسیل ذخایر ماهیان، وجود محیطی مناسب در کارگاه الزامی است، باید توجه داشت که پتانسیل بیولوژیکی هر جمعیت، در حقیقت به آلل‌های موجود در آن جمعیت بستگی دارد. آگاهی از روش‌های قابل استفاده جهت اعمال مدیریت، حفظ تنوع ژنتیکی برای مدیران کارگاه‌های پرورش الزامی است. آنان باید بدانند که اعمال مدیریت ژنتیکی، چگونه می‌تواند بر توان تولید مؤثر باشد، زیرا هرگونه اعمال مدیریت، خزانه ژنی یک جمعیت را متأثر می‌سازد. معمولا هرگاه ماهیان دستکاری شوند، برخی از فنوتیپ‌ها و آلل‌ها حذف می‌گردند. یک مدیر کارگاه تکثیر، ابتدا باید تصمیم بگیرد که ماهیان از کدام جمعیت اخذ شوند، راه مشخصی برای این تصمیم‌گیری وجود ندارد. برای رسیدن به پاسخ این سوال فقط باید اهداف، نیازها، تحقیقات قبلی و پیش داوری‌های شخصی را مورد بررسی قرار داد (تاو، ۱۳۷۴).

همخونی و رانش ژنتیکی در جمعیت‌های ماهیان موجود در مراکز تکثیر، به دلیل کوچک بودن و بسته بودن این قبیل جمعیت‌ها، به‌طور ناخواسته روی می‌دهد (Kincaid, 1980). این شرایط، می‌تواند واریانس ژنتیکی یک جمعیت را به سرعت از بین برده و همخونی را افزایش دهد. در این صورت، توان تولید ماهیان کاهش و بهای تمام شده محصول، افزایش خواهد یافت. بنابراین، شاید بتوان از وقوع غیرعمدی همخونی و رانش ژنتیکی، که ناشی از کوچک بودن جمعیت ماهیان موجود در مراکز تکثیر است به عنوان یکی از عوامل اصلی کاهش توان تولید و افزایش هزینه تولید نام برد(Aulstad & Kittlesen, 1971). از نظر ژنتیکی، جمعیت ایده‌آل، جمعیتی است که بی نهایت بزرگ باشد. متاسفانه مدیران مراکز تکثیر نمی‌توانند با جمعیت‌های بزرگ کار نمایند، بلکه باید با جمعیت‌های کوچک و محدود کار کنند(Allendorf & Ryman, 1987).

مطالعه تغییرات ژنتیکی در یک جمعیت و تغییرات آن از طریق بررسی فراوانی الل ها در جمعیتها در مقیاس زمانی و مکانی هدف اصلی ژنتیک جمعیت است. تغییرات ژنتیکی در گونه ها و جمعیتها آنها را قادر می سازد تا بتوانند نسبت به تغییرات محیط زیست سازگار شوند. تغییرات ژنتیکی جدید در جمعیتها ممکن است در اثر جهش های خود به خودی و یا مهاجرت از جمعیتی که دارای افرادی با ذخایر ژنتیکی متفاوت هستند اتفاق بیفتد. تعداد و فراوانی نسبی الل ها در یک جمعیت یکی از مهمترین محاسبات مربوط به تنوع ژنتیکی است (Carvalho & Pitcher, 1994; Ciftci & Okumus, 2002). یکی از مهمترین نیازها در مدیریت شیلاتی شناخت واحدهای تولید کننده یا ذخایر گونه ها می باشد، نداشتن آگاهی کافی از ساختار ذخیره می تواند به برداشت نادرست (بیشتر یا کمتر) از آن منجر گردد (Ryman & Stahl, 1980; Beacham *et al*., 2002). از مشکلات اساسی برای مدیریت شیلاتی عدم تعریف دقیق از جمعیتهای متعلق به یک گونه و ارتباط آن با مفهوم ذخیره است (Carvallo & Hauser, 1995).

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1392.22.4.9.4]

ریزماهواره‌ها توالی‌های کوتاه نوکلئوتیدی (معمولاً ۱ تا ۶ جفت باز) هستند که پشت سر هم تکرار می‌شوند. آلل‌های ریزماهواره به وسیله تفاوت در تعداد تکرارها مشخص می‌شوند. جایگاه‌های ریزماهواره تحت نام‌های مختلفی معرفی می‌شوند. اسامی دیگر نشانگر ریزماهواره عبارتند از توالی‌های تکراری کوتاه پشت سر هم (STR)[1]، توالی مکانهای نشان‌دار (STM_S)[2] و چندشکلی‌طولی-توالی‌ساده (SSL_P)[3] که در مقالات یاد شده‌اند (Robinson *et al.*, 2004) تعداد ریزماهواره‌ها به اندازه ژنوم موجود بستگی دارد بنابراین تعداد ریزماهواره‌ها در مهره‌داران فراوان‌تر از سایر موجودات است (Katti *et al.*, 2001) . پراکندگی ریزماهواره‌ها در ژنوم یکسان نیست و اغلب آنها به تجمع گروهی در یک ناحیه خاص از ژنوم تمایل دارند که به این "مناطق لکه‌های داغ ریزماهواره‌ای[4]" گفته می‌شود. فراوانی ریزماهواره‌ها در نواحی مجاور ژن بیشتر است که نقش اساسی در تنظیم آنها دارند (Jovne & Lagonda, 1996; Katti *et al.*, 2001; Ellegren, 2000).

در خصوص بررسی های انجام گرفته بر روی تنوع ژنتیکی قزل‌آلای پرورشی، چندین مطالعه در کشور انجام شده که به عنوان مثال ساجدی (۱۳۷۸) با استفاده از تکنیک PCR-RFLP و ۱۲ آنزیم برشگر، تنوع نوکلئوتید و هاپلوتیپی در جمعیت‌های مربوط به مولدین قزل‌آلای مناطق کلاردشت و کرج را مورد بررسی قرار داد و نتایج حاصله اختلاف معنی داری را نشان ندادند. همچنین در مطالعه ای دیگر Sajedi و همکاران (۲۰۰۳) با استفاده از همان تکنیک و بررسی نمونه‌های مولدین قزل‌آلای مناطق کلاردشت و جاجرود با ۱۵ آنزیم برشگر، ۹ هاپلوتیپ در DNA میتوکندری نمونه‌های بررسی‌شده مشاهده گردید که اختلاف معنی داری نداشتند. هدف از این تحقیق تعیین تنوع ژنتیکی گله‌های پرورشی قزل‌آلای‌رنگین‌کمان با استفاده از نشانگر مولکولی ریزماهواره‌ها می باشد.

مواد و روش کار

تعداد ۶۴ نمونه بافت بالهٔ دمی مولدین موجود در سه منطقه مختلف کشور به وزن تقریبی ۲ گرم نمونه‌برداری شده و در شیشه‌های محتوی الکل اتانول ۹۶ درصد تثبیت و به آزمایشگاه منتقل گردید (جدول ۱)

جدول ۱: مناطق نمونه برداری ماهی قزل الا در کشور

ردیف	مکان نمونه برداری		تعداد
	استان	شهر	
۱	تهران	فیروزکوه	۱۹
۲	همدان	نهاوند	۲۵
۳	کهگیلویه و بویر احمد	یاسوج	۲۰
	جمع		۶۴

روش های متعددی جهت استخراج DNA در ماهیان وجود دارد که در این تحقیق از روش فنل-کلروفرم (Hills and Moritz, 1993) برای استخراج DNA ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان استفاده گردید.

ارزیابی کیفی و کمی DNA استخراج شده به منظور مشخص‌شدن کیفیت و کمیت DNA استخراج شده از روشهای اسپکتروفتومتری و الکترفورز استفاده گردید.

برای تعیین کمیت DNA استخراج شده، پس از کالیبره‌کردن اسپکتروفتومتر با آب مقطر، ۲۰ میکرولیتر از DNA ژنومی بوسیله آب مقطر به حجم ۳۰۰ میکرولیتر رسانده شد، مقدار جذب نوری نمونه‌های DNA در طول موج ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر و نسبت A260/280 بوسیله دستگاه اندازه‌گیری و ثبت گردید.

هشت جفت پرایمر ریزماهواره بطول ۲۴-۱۸ باز ، بدست آمده از ترادف DNA ژنومی آزاد ماهیان انتخاب و سپس به شرکت MWG-Biotech برای ساخت سفارش داده شد (Condrey & Bentzen, 1998; Palti *et al.*, 2002). پرایمرهای لیوفیلیزه طبق دستور شرکت سازنده بصورت محلول در آورده شد و بر حسب غلظت آن به نسبت ۱ به ۵ رقیق سازی انجام گرفت. مشخصات پرایمرهای مورد استفاده برای ماهی قزل آلا در جدول ۲ آمده است.

[1] Short tandem repeats
[2] Sequence tagged microsatellite
[3] Simple sequence length polymorphism
[4] SSR hot spots

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1392.22.4.9.4]

جدول ۲: خصوصیات و دمای اتصال جایگاههای ریزماهواره بررسی شده در ماهی قزل آلا

جایگاه	توالی پرایمر	دمای اتصال (درجه سانتیگراد)	منبع
OmyF	AGATTTACCCAGCCAGGTAG CATAGTCTGAACAGGGACAG	۵۵	Palti *et al.,* 2002
Otsg83	TAGCCCTGCACTAAAATACAGTTC CATTAATCTAGGCTTGTCAGCAGT	۶۰	Palti *et al.,* 2002
OtsG474	TTAGCTTTGGACATTTTATCACAC CCAGAGCAGGGACCAGAAC	۵۲	Palti *et al.,* 2002
Ots100	TGAACATGAGCTGTGTGAG ACGGACGTGCCAGTGAG	۶۰	Condrey &Bentzen, 1998
OtsG 409	TAGCCCTGCACTAAAATACAGTTC CATTAATCTAGGCTTGTCAGCAGT	۶۰	Condrey & Bentzen, 1998
OtsG 249	TCCTGACCTGTGAGTCCAAG CTCGCTTGGTTATGGAGG	۵۹	Condrey & Bentzen, 1998
OtsG 432	TGAAAAGTAGGGAAACACATACG TAAAGCCCATTGAATTGAATAGAA	۵۶	Condrey & Bentzen, 1998
OtsG 3	GGACAGGAGCGTCTGCTAAATGACTG GGATGGATTGATGAATGGGTGGG	۵۳	Palti *et al.,* 2002

برای انجام PCR و تکثیر ژن هدف، ۱۰۰ نانوگرم DNA استخراجی، ۱ میکرولیتر از پرایمرها (۳۰ پیکومول) بعلاوه ۰/۵ میکرولیتر dNTP (۱۰ میلی مولار)، ۰/۲ میکرولیتر *Taq* polymerase (۵u/µ)، ۲/۵ میکرولیتر بافر PCR (۱۰X)، ۰/۸ میکرولیتر MgCl2 (۵۰ میلی مولار) در یک ویال ۰/۲ میلی لیتری آماده، که در نهایت حجم آن با آب مقطر به ۲۵ میکرولیتر رسانده شد، لوله ها پس از چند ثانیه سانتریفیوژ در ترموسایکلر قرار گرفتند (جدول ۳).

جدول ۳: نوع و مقدار مواد استفاده شده در واکنش زنجیره‌ای پلیمراز

ماده	غلظت مواد	مقدار برای واکنش ۲۵ میکرولیتری
DNA استخراجی	۱۰۰ نانوگرم	۱ میکرولیتر
آنزیم تک DNAپلیمراز	۵u/µ	۰/۲ میکرولیتر
dNTPs	۱۰ میلی مولار	۰/۵ میکرولیتر
$MgCl_2$	۵۰ میلی مولار	۰/۸ میکرولیتر
PCR Buffer	۱۰X	۲/۵ میکرولیتر
پرایمر۱	متغیر/۳۰ پیکومول	۱ میکرولیتر
پرایمر۲	متغیر/۳۰ پیکومول	۱ میکرولیتر
آب مقطر	ـــــ	تا ۲۵ میکرولیتر

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1392.22.4.9.4]

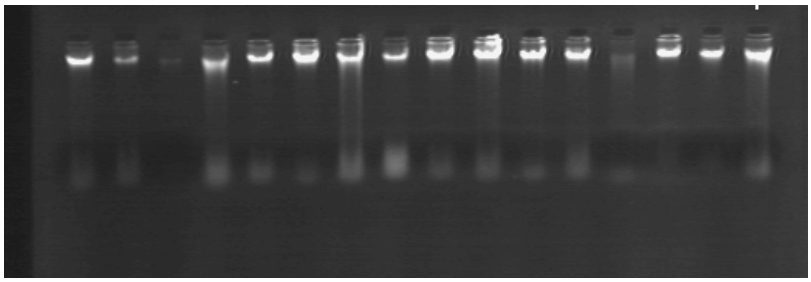
برای بهینه کردن PCR ابتدا PCR استاندارد که شامل مراحل زیر است را انجام داده و سپس با توجه به محصولات PCR اقدام به تغییر شرایط گردید. در مرحله اول با دادن دامنه حرارتی، بهترین دمای اتصال هر کدام از آغازگرها به رشته الگو به دست آمد و در مرحله بعد جهت تظاهر خوب باندها و حذف شکستگی (اسمیر) غلظت MgCl2، DNA ژنومی، آغازگر و dNTPs بهینه سازی گردید. شرایط چرخه دمایی برای هرجایگاه ریز ماهواره شامل ۹۴ درجه سانتیگراد برای ۶۰ ثانیه، درجه حرارت اتصال (۶۰-۵۲ درجه سانتیگراد) به مدت ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتیگراد برای ۴۵ ثانیه، با یک بسط نهایی ۷۲ درجه برای ۵ دقیقه بود. محصول PCR به روش الکتروفورز با ژل پلی‌اکریل‌آمید ۸ درصد مورد ارزیابی قرار گرفت و اندازه قطعات حاصل از PCR با مقایسه با مارکر DNA (pBR322 DNA/AluI Marker, 20, MBI Fermentas) بر روی ژل پلی‌آکریل‌آمید ۸ درصد و با روش رنگ آمیزی نیترات نقره بدست آمد.

هتروزایگوسیتی مورد انتظار و مشاهده شده، تعداد آللهای واقعی و تعداد آللهای موثر در جایگاههای ریز ماهواره ، شاخص شانون، تعادل هاردی- واینبرگ، مقادیر F_{ST}، تنوع ژنتیکی بر اساس تست AMOVA در سطح احتمال ۰/۰۱ با نرم افزار Gene Alex version 6 و PopGene version 1.31 محاسبه گردید (Peakall & Smouse, 2005; Yeh *et al.,* 1999).

نتایج

استخراج اسیدهای نوکلئیک (Total DNA) به روش فنل- کلروفرم درمورد تمامی نمونه‌های ماهی قزل آلا انجام شد. کمیت وکیفیت DNA استخراج شده به دو روش استفاده از ژل آگارز ۱٪ و دستگاه اسپکتروفتومتر مورد ارزیابی قرار گرفت.

بررسی شدت وضوح باندهای DNA بر روی ژل آگارز (یک درصد) و مشاهده تیزی و شدت باندهای تولید شده نشان داد که DNA های استخراج شده از باله ماهی قزل الا به روش فنل- کلروفرم از کیفیت مناسبی برای استفاده در آزمایش‌های PCR برخوردار می‌باشند. باندهای DNA بسیار قوی و شفاف بوده و این بیانگر آن است که DNA استخراجی فاقد آلودگی پروتئینی، فنلی و یا آلودگی به RNA است (شکل ۱). در بررسی کمی نیز، نسبت جذب طول موج ۲۶۰ به ۲۸۰ نانومتر که به عنوان شاخص کمیت می‌باشد برای ارزیابی DNA های استخراج شده مورد بررسی قرار گرفت به طوریکه خلوص آنها در دامنه ۱/۹ – ۱/۸ قرار داشت و به همین ترتیب برای ادامه آزمایشات مولکولی انجام PCR، مورد استفاده قرار گرفتند.



شکل ۱: نمونه‌ای از DNA استخراج شده به روش فنل- کلروفورم بر روی ژل آگارز ۱٪

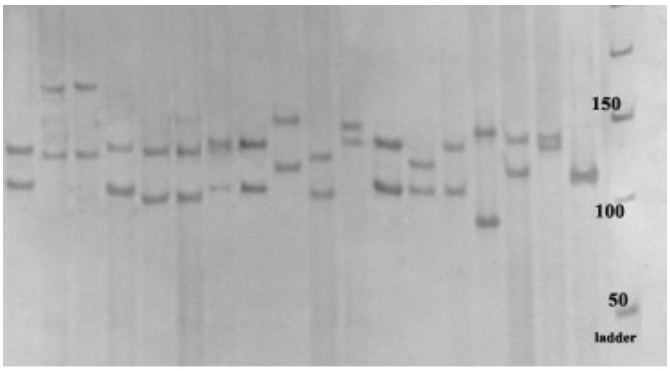
الگوهای باندی بدست آمده از ۸ جایگاه ریزماهواره ای نشان داد که محدوده اندازه باندها بین ۲۸۰-۶۴ جفت باز بوده است. جایگاه OtsG 249 با ۹ آلل دارای بیشترین آلل و جایگاه OtsG 432 و OtsG 474 با ۲ آلل دارای کمترین تعداد آلل بود (جدول۴، شکل ۲).

در بررسی و مطالعات تنوع ژنتیکی درون جمعیتی یک گونه از معیارهای همچون هتروزیگوسیتی مشاهده شده (H_O) و مورد انتظار (H_E) برای هر منطقه و در هر لوکوس استفاده می‌شود. در مطالعه حاضر دامنه هتروزیگوسیتی مشاهده شده (H_O) بین مزارع نمونه برداری در جایگاههای هشت گانه بین ۰/۸۶۹ تا ۰/۹۱۶ با میانگین ۰/۸۸۰ بود (جدول۴). دامنه هتروزیگوسیتی مورد انتظار (H_E) بین مناطق نمونه برداری در جایگاههای هشت گانه بین ۰/۶۶۱-۰/۷۴۵ با میانگین ۰/۶۹۰ بود. بیشترین مقدار هتروزیگوسیتی مورد انتظار در لوکوس OtsG 409 در نمونه‌های جمع آوری شده از مزرعه تهران و کمترین مقدار هتروزیگوسیتی مورد انتظار در جایگاه OtsG 3 مربوط به مزرعه یاسوج می‌باشد.

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1392.22.4.9.4]

محاسبه هتروزیگوسیتی نشان می‌دهد که در مناطق نمونه برداری و در بیشتر جایگاهها مقادیر H_E نسبت به H_O کمتر می باشد. تنوع درون جمعیتی یا تنوع ژنی بصورت هتروزیگوسیتی مشاهده شده (H_O) و هتروزیگوسیتی مورد انتظار (H_E) در هر لوکوس و برای هر جمعیت در جدول ۴ نشان داده شده است.



شکل ۲: نمایش محصول PCR بر روی ژل پلی اکریل آمید (جایگاه OtsG 249)

جدول ۴: تعداد آلل های مشاهده شده و قابل انتظار و مقدار هتروزایگوسیتی مشاهده شده و قابل انتظار و شاخص شانن در مزارع و جایگاه های مختلف

مزرعه	جایگاه	N_A	Ne	I	Ho	HE
	OtsG 83b	۳	۲/۷۴	۱/۰۵	۱.۰۰	۰/٦۳٦
	OtsG 3	۴	۲/۸۰	۱/۱۶	۱	۰/٦٤٤
	Omyf	۴	۳/۲۶	۱/۲۸	۰/۷۸۹	۰/٦۹٤
	OtsG 409	۵	۳/۵۲	۱/۴۰	۱.۰۰	۰/۷۱٦
تهران	Ots 100	۴	۲/۱۴	۰/۹۶	۰/۴۷۴	۰/۵۳۳
	OtsG 432	۲	۲	۰/۶۹	۱.۰۰	۰/۵۰
	OtsG 474	۳	۲/۳۶	۰/۹۵	۰/۸۹۵	۰/۵۷۸
	OtsG 249	۹	۵/۳۴	۱/۹۱	۱.۰۰	۰/۸۱۳
	میانگین	۴/۲۰۰	۲/۷۴۵	۱/۲۱۹	۰/۹۱۶	۰/٦٦۱
	OtsG 83b	۸	۵/۲۲	۱/۸۳	۱.۰۰	۰/۸۰۹
	OtsG 3	۵	۳/۶۳	۱/۴۰	۱.۰۰	۰/۷۲٤
	Omyf	۶	۳/۶۳	۱/۴۷	۰/۹۲۹	۰/۷۲٤
همدان	OtsG 409	۵	۴/۲۱	۱/۵۰	۰/۹۱۸	۰/۷٦۳
	Ots 100	۳	۲/۵۱	۰/۹۹	۱.۰۰	۰/٦۰۲
	OtsG 432	۴	۳/۲۶	۱/۲۷	۰/۸۵۷	۰/٦۹٤
	OtsG 474	۴	۲/۳۰	۰/۹۵	۱.۰۰	۰/۵٦٦

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1392.22.4.9.4]

مزرعه	جایگاه	N_A	Ne	I	Ho	HE
	OtsG 249	۹	۵/۹۳	۱/۹۵	۱.۰۰	۰/۸۳۲
	میانگین	۳/۵۳	۵/۲۰۰	۱/۳۴۶	۰/۸۶۹	۰/٦٦٤
	OtsG 83b	۴	۳/۲۰	۱/۲۵	۱.۰۰	۰/٦٨٨
	OtsG 3	۴	۱/۶۹	۰/۷۸	۰/۳۷۵	۰/٤۰۸
	Omyf	۳	۲/۱۲	۰/۸۱	۱.۰۰	۰/۵۲۹
	OtsG 409	۵	۴/۱۲	۰/۴۶	۱.۰۰	۰/۷۵۸
یاسوج	Ots 100	۹	۴/۷۸	۱/۸۲	۰/۶۲۵	۰/۷۹۱
	OtsG 432	۴	۲/۲۷	۰/۹۷	۰/۸۷۵	۰/۵٦۱
	OtsG 474	۲	۱/۹۹	۰/۶۹	۰/۹۳۸	۰/٤۹۸
	OtsG 249	۹	۴/۹۲	۱/۷۰	۰/۹۰۹	۰/۷۹۷
	میانگین	۳/۴۲۴	۵	۱/۲۶۵	۰/۸۷۹	۰/۷٤۵

به منظور بررسی تعادل هاردی- واینبرگ در تمامی مزارع مورد بررسی و لوکوس‌های مختلف از آزمون مربع کای یا χ^2 استفاده شد. در بررسی تعادل هاردی- واینبرگ مزارع در بیشتر جایگاه‌های مورد بررسی انحراف از تعادل هاردی– واینبرگ را نشان داده و خارج از تعادل بودند. در جدول ۵ نتایج آزمون مربع کای (χ^2) برای تعادل هاردی- واینبرگ در سطح لوکوس‌های میکروستلایتی پلی‌مورفیک برای همه نمونه‌های مناطق و نواحی مختلف آورده شده است (جدول ۵).

جدول ۵: نتایج آزمون کای (χ^2) برای تعادل هاردی –واینبرگ در جایگاههای پلی مورف

مزرعه	جایگاه	درجه آزادی	کای اسکوئر	ضریب اطمینان	ضریب اطمینان
تهران	OtsG 83b	۳	۱۵/۵۸	۰/۰۰۱	**
	OtsG 3	۶	۱۹	۰/۰۰۴	**
	Omyf	۶	۴۳/۳۲	۰/۰۰۰	***
	OtsG 409	۱۰	۵۷	۰/۰۰۰	***
	Ots 100	۶	۱۳/۶۴	۰/۰۳۴	*
	OtsG 432	۱	۱۹	۰/۰۰۰	***
	OtsG 474	۳	۱۲/۴۵	۰/۰۰۶	**
	OtsG 249	۳۶	۳۴/۳۷	۰/۵۴۶	ns
همدان	OtsG 83b	۲۸	۵۶/۳۱	۰/۰۰۱	**
	OtsG 3	۱۰	۱۵/۱۳	۰/۱۲۷	ns
	Omyf	۱۵	۴۶/۶۶	۰/۰۰۰	***
	OtsG 409	۱۰	۳۴/۲۲	۰/۰۰۰	***

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1392.22.4.9.4]

مزرعه	جایگاه	درجه آزادی	کای اسکوئر	ضریب اطمینان	ضریب اطمینان
	Ots 100	۳	۱۴	۰/۰۰۳	**
	OtsG 432	۶	۲۸	۰/۰۰۰	***
	OtsG 474	۶	۴۲	۰/۰۰۰	***
	OtsG 249	۳۶	۵۸/۱۲	۰/۰۱۱	*
یاسوج	OtsG 83b	۶	۴۸	۰/۰۰۰	***
	OtsG 3	۶	۱/۹۶	۰/۹۲۳	ns
	Omyf	۳	۱۶	۰/۰۰۱	**
	OtsG 409	۱۰	۴۸	۰/۰۰۰	***
	Ots 100	۳۶	۵۶/۲۵	۰/۰۰۹	**
	OtsG 432	۶	۹/۶۷	۰/۱۳۹	ns
	OtsG 474	۱	۱۲/۴۵	۰/۰۰۰	***
	OtsG 249	۲۱	۳۲/۶۷	۰/۰۵۰	*

***: $P \leq 0.001$ ، **: $P \leq 0.01$ ، *: $P \leq 0.05$ و ns : بدون اختلاف معنی دار

برای تعیین میزان اختلاف ژنتیکی موجود در یک جمعیت و مقایسه آن نسبت به اختلاف ژنتیکی در بین کل مناطق از فاکتورهای F_{ST} (برآورد مرسوم در تمایز ژنتیکی) استفاده می‌شود. F_{ST} بیشتر شامل اندازه گیری در جمعیت‌ها است و بیشترین کاربرد را در آزمون واگرایی ژنتیکی کل در بین جمعیت‌ها دارد. نتایج بدست آمده از F_{ST} نشان می‌دهد که حداکثر آن ۰/۰۷۹ بین نمونه‌های مزرعه تهران و یاسوج و حداقل آن ۰/۰۴۱ بین نمونه‌های مزرعه یاسوج و همدان بود. میزان F_{ST} بدست آمده بین نمونه های همدان و تهران نیز ۰/۰۵۶ بدست آمد. براساس نتایج حاصل از تست AMOVA بین تمام مزارع با یکدیگر اختلاف معنی دار مشاهده می شود ($F=?, P<0.01$).

بحث

کاهش در ذخایر ژنتیکی جمعیتهای ماهیان یکی از مشکلات مهم آبزی پروری محسوب می شود و مطالعات تنوع ژنتیکی در زمینه های مختلف بخصوص اصلاح نژاد می تواند به کار گرفته شود. امروزه تنوع ژنتیکی بسیاری از جوامع ماهیان دچار تغییر شده و از طرف دیگر فعالیتهای انسانی تا حدی ساختار جمعیتها را تغییر می دهند که حتی از طریق افزایش تکثیر مصنوعی سبب یکسان سازی ژنتیکی می شوند (Ferguson *et al.,* 1995; Zhao *et al.,* 2005). امروزه کاربرد نشانگرهای مولکولی منجر به پیشرفت سریع در مطالعات مربوط به تشخیص تنوع ژنتیکی و آمیزش درون گونه ای، تعیین والدین، تشخیص گونه و نژادها و بازسازی نقشه های دقیق خویشاوندی برای گونه های آبزیان شده است (Hansen *et al.,* 2000; Liu and Cordes, 2004). در سالهای اخیر، استفاده از DNA هسته کاربرد وسیعی برای بیولوژی جمعیت پیدا کرده است. از این رو برای دستیابی به یک نتیجه بهتر و دقیق تر در مطالعات ژنتیک جمعیتها، استفاده از لوکوس های DNA هسته ای از اهمیت بالایی برخوردار است (Bentzen *et al.,* 1991; Rezvani Gilkolaei, 2000; Chistiakov *et al.,* 2006). مایکروستلایت ها به دلیل داشتن سطوح بالای پلی مورفیسم، اندازه نسبتاً کوچک و روشهای تشخیصی سریع به طور گسترده ای برای مطالعه اختلافات ژنتیکی بین جمعیتهای نزدیک به هم (Norris *et al.,* 1999; Gerlach *et al.,* 2001)، تشخیص ذخایر ژنتیکی، انتخاب مولدین، بازسازی نقشه های خویشاوندی متراکم، تعیین نقشه ژنی صفات مهم اقتصادی جهت استفاده از آنها در برنامه های تولید مثلی به کار می روند (Cross & King, 1983; Zane *et al.,* 2002; Chistiakov *et al.,* 2006). در این بررسی هشت پرایمر مایکروستلایت به کار برده شد که همه

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1392.22.4.9.4]

آنها پلی مورفیک از خود نشان دادند و این نشانگر در مطالعه تنوع ژنتیکی قزل آلای پرورشی مناسب بوده است.

باید پی برد که اعمال مدیریت ژنتیکی چگونه می تواند بر توان تولید موثر باشد، زیرا هرگونه اعمال مدیریت، خزانه ژنتیکی یک جمعیت را متاثر می سازد و معمولا هرگاه ماهیان دستکاری شوند برخی از فنوتیپها و اللها حذف می گردند. برای تهیه جمعیت پایه از یک مرکز یا از مراکز دیگر باید هنگام تهیه ماهیان مولد، شجره نامه آنها را معین نمود و همچنین مشخص گردد که برای تولید یک جمعیت پایه، از چه تعداد ماهی مولد استفاده شده است. تهیه ماهیان مولد، مهمترین مرحله مدیریت در یک جمعیت است زیرا مقدار تنوع ژنتیکی موجود در ابتدای کار و نیز توان بیولوژیکی جمعیت در آینده به وسیله جمعیت پایه مشخص می شود. اگر چنین تنوع و توانی موجود نباشد، دیگر اعمال مدیریت و بهره برداری از آن بی معنی خواهد بود. اطلاع از تنوع ژنتیکی جهت حفاظت و تنظیم برنامه های اصلاحی ماهیها لازم است. با توجه به نتایج حاصله می توان عنوان نمود مزارع پرورشی مورد بررسی از تنوع ژنتیکی مناسبی برخوردارند و میزان هتروزیگوسیتی بالا موید این مطلب بوده به طوریکه دامنه هتروزیگوسیتی مشاهده شده (H_O) بین مزرعه نمونه برداری در جایگاههای ده گانه بین ۰/۸۶۹ تا ۰/۹۱۶ با میانگین ۰/۸۸۰ بود. این مسئله در مورد ماهیان پرورشی در موارد بسیاری گفته می شود. برخی محققان تنوع ژنتیکی بالایی از جمعیتهای پرورشی قزل آلا را در مقایسه با جمعیتهای طبیعی گزارش نمودند (Busack *et al.,* 1979; Guyomard, 1981; Ward *et al.,* 2003 Silverstein *et al.,* 2004). Busack و همکاران (۱۹۷۹) عنوان نمود که حفظ سطوح بالای تنوع ژنتیکی در جمعیتهای پرورشی قزل آلا در نتیجه اختلاط بین نژادها یا در نتیجه تعادل انتخاب طبیعی بدنبال تنگنای جمعیتی و انتخاب مصنوعی صورت پذیرفته است. Thompson (۱۹۸۵) همچنین تنوع ژنتیکی بالایی را در مزارع پرورشی مختلف در بریتانیا نشان داد و در ادامه بیان نمود نژادهای مختلفی از جمعیتهای طبیعی بوجود آمده اند که خصوصیات ژنتیکی متفاوتی دارند. Jug و همکاران در سال ۲۰۰۵ مطالعه ای در پراکنش جمعیتهای غیر بومی قزل آلا در اسلونی و سایر ورودی ها با جمعیتهای بومی مشاهده شده قزل آلا (*Salmo marmoratus*) در دریاچه آدریاتیک و (*S. truta*) در دریاچه دانوب با استفاده از آنالیز میکروستلایت انجام دادند. در بررسی آنها به کمک پنج لوکوس میکروستلایت توانستند نژادهای غیر بومی انتشار یافته و ورود آنها به جمعیتهای بومی قزل آلا را تشخیص دهند و اعلام کردند که جمعیتهای بومی در معرض خطر قرار دارند. دامنه آللی ۱/۲ الی ۸/۲، هتروزایگوسیتی قابل انتظار ۰/۰۶ الی ۰/۷۲ و دامنه هتروزایگوسیتی مشاهده شده ۰/۱۲ الی ۰/۶۵ محاسبه گردید که این شاخصها نسبت به مطالعه حاضر کاهش را نشان می دهند. با توجه به نتایج حاصل از بررسی حاضر می توان اذعان داشت که در اغلب جایگاهها انحراف از تعادل هاردی- واینبرگ را نشان می دهند. انحراف از تعادل هاردی- واینبرگ را می توان به آمیزشهای خویشاندی در بین نمونه ها، تعداد کم نمونه ها و خطای نمونه برداری (نمونه برداری از افراد خویشاند) نسبت داد (Silverstein *et al.,* 2004; Zhao *et al.,* 2005; Pujolar *et al.,* 2009) و با توجه به نبود ثبت شجره ماهیان مطالعات بیشتری را بایستی در آینده در دستور کار قرار داد. معمولا در یک جامعه محدود افراد خویشاوند با هم آمیزش داشته و باعث از دست رفتن تنوع و کاهش سازگاری و شایستگی می شود.

اکثر محققین بر این باورند که جمعیتهای پرورشی به دلایل گوناگون نظیر استفاده از نسبت های جنسی نابرابر در تکثیر مصنوعی، بقای متفاوت نتاج حاصل از آمیزش درون خانواده ها و همچنین آمیزش خویشاوندی کاهش تنوع ژنتیکی را بدنبال خواهند داشت (Hansen *et al.,* 2000; Liu & Cordes, 2004). در هر حال باید توجه داشت که جنبه های ژنتیکی مدیریت ذخایر ماهیان مولد، باید به عنوان یک بخش مستقل در مدیریت کارگاه گنجانده شود. زیرا اللهای موجود در یک جمعیت، پتانسیل آن جمعیت را تعیین مینمایند و اگر به پتانسیل یک جمعیت خسارت وارد آید، دستیابی به ظرفیت نهایی تولید دچار اشکال خواهد شد. اما اگر این پتانسیل مورد مدیریت و بهره برداری مناسب قرار گیرد، میزان تولید از ظرفیت تعیین شده نیز فراتر خواهد رفت (Pérez *et al.,* 200; Pujolar *et al.,* 2009).

در منابع مختلفی آورده شده است که تنوع ژنتیکی و محیطی در جمعیتهای طبیعی قزل آلا در فصول تخم ریزی بالاست. در بیشتر موارد، از تنوع بالا تحت تاثیر فعالیتهای کارگاهی کاسته می شود. این فعالیتها بدلیل توجیه اقتصادی و افزایش تولید می باشد و در حال حاضر انگیزه زیادی برای افزایش طول دوره تولید مثلی ماهیان پرورشی صورت پذیرد. بدلیل طول دوره تولید مثلی بالای این گونه آزاد ماهی ممکن است نژاد های مصنوعی جدیدی از جمعیتهای

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1392.22.4.9.4]

طبیعی حاصل شود. به عنوان مثال یک هچری در سال ۱۹۷۵ در کانادا با ۲۵ جفت مولد شروع به کار نمود و در ادامه با استفاده مدام انتخاب فنوتیپی منجر به افزایش طول دوره تولید مثلی از ۲ هفته به ۸ ماه شد (Fishback *et al.*, 2000) . Ward و همکاران (۲۰۰۳) تنوع ژنتیکی بین و درون نژادهای قزل آلای رنگین کمان را در استرالیا) با استفاده از ۱۰ لوکوس میکروستلایت بررسی نمودند. تنوع ژنتیکی بالایی در همه لوکوسها در ۴ جمعیت پرورش قزل آلا نشان داده شد و کاهش تنوع نسبت به اجداد آنها در آمریکای شمالی را بدلیل رانش ژنتیکی عنوان نمود. همچنین Meffe (۱۹۸۷) بیان نمود تنوع ژنتیکی پایین در فعالیتهای آبزی پروری چنانچه نژادها به محیط مزرعه سازگاری پیدا می کنند مخرب نیست. اگر جایگزینی برای مولدین کم باشد ممکن است باعث حذف ژنهایی شود که در ارتباط با سازگاری با محیط و عملکرد ماهی هستند . از دست دادن بخشی از تنوع ژنتیکی در فعالیتهای آبزی پروری ناگزیر خواهد بود ولی می توان این کاهش را با تغییرات مناسب و بکارگیری روشهای مناسب اصلاح نژادی به حداقل رساند.

عواملی نظیر درون آمیزی را می شود با نگهداری تعداد زیادی از مولدین (اندازه بالای N_e) کنترل نمود. منابع مختلف علمی بیان می دارند که تهیه ماهیان مولد از یک جمعیت کم مناسب نمی باشد و بسیاری از کارگاههای تکثیر معمولاً کار خود را با جمعیتی از ماهیان آغاز میکنند که حاصل یک آمیزش می باشد که این امر باعث کاهش واریانس ژنتیکی در چنین جمعیتی می شود و وقوع همخونی و پیشامد ژنتکی در آینده دستیابی به ظرفیت نهایی تولید را دشوار خواهد ساخت (Chakraborty & Nei, 1977; Simon *et al.*, 1986). مراکزی که روی جمعیتهای کوچک ماهیان اعمال مدیریت می کنند، در صورتی که از آمیزش تصادفی استفاده نمایند، نخواهند توانست از وقوع افت تولید ناشی از همخونی، و یا کاهش واریانس ژنتیکی جمعیت در اثر پیشامد ژنتیکی جلوگیری کنند و در صورت کاهش تولید باید ذخیره جدیدی از ماهیان مولد جهت تجدید یا جایگزینی خزانه ژنی وارد نمایند. بنابراین، شاید بتوان از وقوع غیر عمدی همخونی و پیشامد ژنتیکی، که ناشی از کوچک بودن جمعیت ماهیان موجود در کارگاههای تکثیر می باشد به عنوان یکی از عوامل اصلی کاهش توان تولید و افزایش هزینه دستیابی به ظرفیت تولید نام برد. از مهمترین مشکلات مراکز تکثیر ماهیها کاهش تنوع و افزایش همخونی بوده و از آنجایی که همخونی باعث کاهش عملکرد اکثر صفات بویژه صفات تولید مثلی (بعلت وراثت پذیری پایین این صفات) می شود، جلوگیری از افزایش همخونی جهت حفظ تنوع در مراکز تکثیر امری ضروری می باشد (Skaala *et al.*, 2004).

مطالعه تنوع ژنتیکی حاضر نشان داد که مزارع پرورشی موجود در کشور از تنوع بالایی برخوردار بودند. از دلایل این تنوع بالا می توان به این مسئله اشاره نمود که ممکن است این مزارع از مخلوطی از نژادهای مختلف از مراکز پرورشی مختلف استفاده می کنند. خصوصیات ژنتیکی مزارع پرورشی موجود در کشور نشان از این نکته دارد که این نژادها می توانند در یک برنامه اصلاح نژاد وارد شوند و در پایان برنامه بهترین مزارع را براساس داشتن یک صفت یا صفاتی خاص معرفی نمود که در ادامه نژادی مصنوعی ایجاد شده که جمعیت پایه یک برنامه اصلاح نژاد را تشکیل دهد. تصمیم‌گیری در مورد اینکه کدام نژادها باید حفظ شوند، بایستی بر اساس ملاکهای مورد نظر و با در نظر گرفتن کاربرد فعلی و منظور نمودن حفظ حداکثر تنوع ژنتیکی در مخزن ژنی هر گونه صورت گیرد. این امر برای آن است که در توسعه پایدار سیستمهای تولیدی برای نیازهای پیش بینی نشده آتی منظور شوند (Templeton, 2004). با حفظ نمونه‌هایی از تمامی نژادهای یک گونه که دارای بیشترین تفاوت ژنتیکی می‌باشند، می‌توان حداکثر تنوع ژنتیکی را حفظ نمود. این نمونه‌ها نژادهایی را شامل می‌گردند که دارای آللها یا ترکیبات آللی منحصر به فرد می‌باشند. شرح کامل تفاوت ژنتیکی بین هر نژادی امکان پذیر نیست ولی معیارهای فاصلهٔ ژنتیکی بهترین شرح در دسترس برای بیان تفاوت ژنتیکی آنها می‌باشند. معیارهای فاصله ژنتیکی متعددی پیشنهاد شده‌اند ولی همه آنها به داده‌های مربوط به فراوانی آللی نیازمندند (Templeton, 2004). در تصمیم‌گیری نهایی برای انتخاب نژادها باید هر نوع اطلاعات در دسترس راجع به صفات دارای ارزش اقتصادی، ویژگیهای سازگاری خاص، حضور ژنها یا فنوتیپ‌های منحصر به فرد، اهمیت محلی یا منطقه‌ای یک نژاد در سیستم‌های تولیدی و قابلیت دسترسی به منابع و زیر ساختها در منطقه استقرار نژاد در نظر گرفته شود (Templeton, 2004).

به نظر می رسد جمعیت های مورد استفاده در این بررسی تنوع مناسبی داشته است و بنابراین نماینده مناسبی برای معرفی به یک برنامه اصلاح نژادی هستند. این جمعیت ها این قابلیت را دارند که به عنوان ذخیره ژنتیک مناسب استفاده شود و تقریبا از نظر ژنتیکی

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1392.22.4.9.4]

متفاوت هستند. هر چند در بررسی های آینده نیازمند است تا با استفاده از لوکوسهای بیشتر که در سالهای اخیر از قزل آلای رنگین کمان معرفی شده اند، نمونه های مراکز پرورشی مختلف کشور جهت دستیابی به نتایج جامعتر نیز مورد مطالعه قرار گیرند . به عنوان مثال مرکز تحقیقات ژنتیک یاسوج سالانه حدود یازده میلیون تخم چشم زده تولید می نماید و جمعیت بزرگی از مولدین ماده در حدود ۶۳۰۰ را برای تولید تخم نگهداری می کند. این مسئله می تواند به حفظ تنوع ژنتیکی بالا کمک نموده و در نتیجه باعث افزایش اندازه جمعیت موثر شود. چنانچه جایگزینی مولدین به صورت کنترل شده و با مدیریت جفتگیری افراد ناتنی صورت پذیرد می توان اندازه جمعیت موثر را افزایش داد. لازم است عنوان شود که در سالهای اخیر مدیریت ذخایر موجود در مرکز تحقیقات یاسوج در کنار مولد سازی متمرکز بر افزایش راندمان تولید تخم چشم زده برای پاسخ به نیازهای مراکز تولیدی بالغ بر ۲۰ مرکز پرورشی در استانهای مختلف کشور می باشد. در حال حاضر سعی بر این است تا با افزایش طول دوره تولید مثلی ماهیان مولد و تولید تخم چشم زده نیاز مراکز تولیدی را مرتفع نمایند.

تنوع ژنتیکی علی رغم مدیریت مختلف هچری ها و نگهداری ماهیان، در بین نمونه ها وجود داشت. بر اساس مطالعه ژنتیکی تنوع جمعیتهای مورد مطالعه قابل ملاحظه بوده ، هرچند بدلیل عدم ثبت نمونه ها و نبود شناسنامه برای ماهیان پاسخ مشخصی نمی توان به اختلاف موجود داد. از مولدین بدلیل تنوع ژنتیکی بالا می توان در یک برنامه اصلاح نژاد استفاده نمود و با یک برنامه تلاقی مناسب از کاهش همخونی جلوگیری نمود. پیشنهاد میگردد در مطالعات آینده از پرایمرهای اختصاصی گونه قزل آلا استفاده شود و از طریق نمونه برداری از مراکز مختلف و معتبر تکثیر ماهی قزل آلا در کشور و بررسیهای مولکولی بیشتر صورت گیرد.

تشکر و قدردانی

نگارندگان مراتب قدردانی و سپاس خود را از پرسنل محترم مرکز تحقیقات ژنتیک و اصلاح نژاد ماهیان سردآبی به دلیل مساعدت و همکاریهای صمیمانه در این تحقیق، ابراز می دارند.

منابع

تاو، د.، ۱۳۷۴. مبانی ژنتیک و اصلاح نژاد ماهیان ، ترجمه فرهاد امینی ، انتشارات وزارت فرهنگ و ارشاد اسلامی، تهران،۳۳۴ صفحه.

ساجدی، ر.، ۱۳۷۹. بررسی تنوع ژنتیکی در ماهیان مولد قزل آلای رنگین کمان با استفاده از تکنیک PCR-RFLP پایان نامه کارشناسی ارشد بیوشیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه تربیت مدرس، ۶۷ صفحه.

نفیسی بهابادی ، م.، ۱۳۸۹. راهنمای عملی پرورش ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Onchorhynchus mykiss*). دانشگاه هرمزگان،۳۶۶ صفحه.

یاراحمدی، ب.؛ مقدسی، ف. و سیاوشی، ر.، ۱۳۸۴. استفاده از سیست پوسته زدایی شده آرتمیا در تغذیه لارو قزل آلای رنگین کمان، مجله علمی پژوهشی و سازندگی در امور دام و آبزیان، ۵۸ -۴۹، ۷۳.

Allendorf, F., Ryman, F., 1987. Genetic management of hatchery stocks. *In:* En N, Ryman A (Ed) Population genetic and fishery management. Seattle: University of Washington Press, pp. 141-143.

Aulstad, D., Kittlesen A., 1971. Abnormal body curvatures of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) inbred fry. Journal of the Fisheries Research Board of Canada, 28: 1918–1920.

Bentzen, P., Harris, A. S., Wright, J. M., 1991. Cloning of hyper variable minisatellite and simple sequence microsatellite repeats for DNA fingerprints of important aquaculture species of salmonids and tilapia. *In:* Burke T, Dolf G (Eds) DNA fingerprinting approaches and application. Basel, Switzerland, pp. 243-262.

Beacham, T. D., Mcintosh, B. and Macconnachie, C., 2002. Microsatellite identification of individual sockeye salmon in Barkley Sound, British Colombia. Journal of Fish Biology, 61: 1021-1032.

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1392.22.4.9.4]

Chistiakov, D. A., Hellemans, B. and Volckaert, F. A. M., 2006. Microsatellites and their genomic distribution, evolution, function and applications: A review with special reference to fish genetics. Aquaculture, 255: 1-29.

Cross, T. and King, J., 1983. Genetic effects of hatchery rearing in Atlantic salmon. Aquaculture, 33: 33-40.

Ellegren, H., 2000. Microsatellite mutations in the germline: Implications for evolutionary inference. Trends in Genetic.16: 551–558.

Ferguson, A., Taggart, J. B., Prodohl, P. A., McMeel, O., Thompson, C., Stone, C., Mcginnity, P. and Hynes, R. A., 1995. The application of molecular markers to the study and conservation of fish populations, withspecial reference to Salmo**.** Journal of Fish Biology, 47 (Supplement A): 103-126.

Fishback, A., Danzmann, R. and Ferguson, M., 2000. Microsatellite allelic heterogeneity among hatchery rainbow trout maturing in different seasons. Journal of Fish Biology, 57: 1367-1380.

Gerlach, G., Schardt, U., Ekmann, R. and Meyer, A., 2001. Kin- structured subpopulations in Eurasian perch (*Perca fluviatilis*). Heredity, 86: 213-221.

Guyomard, R., 1981. Electrophoretic variation in four French populations of domesticated rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Canadian Journal of Genetic and Cytology, 23: 33-47.

Hansen, M., Nielsen, E., Ruzzante, D., Bouza, C. and Mensberg, K., 2000. Genetic monitoring of supportive breeding in brown trout (*Salmo trutta L.)* using microsatellite DNA markers. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 57: 2130-2139.

Beacham, T. D., Mcintosh, B. and Macconnachie, C., 2004. Microsatellite identification of individual sockeye salmon in Barkley Sound, British Colombia. Journal of Fish Biology, 61: 1021-1032.

Chistiakov, D. A., Hellemans, B. and Volckaert, F. A. M., 2006. Microsatellites and their genomic distribution, evolution, function and applications: A review with special reference to fish genetics. Aquaculture, 255: 1-29.

Carvalho, G. R. and Pitcher, T. J., 1994. Molecular genetic in fisheries. Chapman & Hall, London, 131P.

Carvalho, G. R. and Hauser, L., 1995. Molecular genetics and the stock concept in fisheries. *In:* Carvalho GR, Pitcher TJ (Eds), Molecular genetics in fisheries. London: Chapman & Hall, pp. 55-80.

Ciftci, Y. and Okumus, I., 2002. Fish population genetics and applications of molecular markers to fisheries and aquaculture: I- basic principles of fish population genetics. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Science, 2: 145-155.

Condrey, M. J. and Bentzen, P., 1998. Characterization of coastal cutthroat trout (*Oncorhynchus clarki clarki*) microsatellites and their conservation in other salmonids. Molecular Ecology, 7: 787–789.

Busack, C., Halliburton, R. and Gall, G., 1979. Electrophoretic variation and differentiation in four strains of domesticated trout (*Salmo gairdneri*). Canadian Journal of Genetic and Cytology, 21: 81-94.

Chakraborty, R. and Nei M., 1977. Bottleneck effects on average heterozygosity and genetic distance with stepwise mutation models. Evolution, 31: 347-356.

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1392.22.4.9.4]

software for teaching and research. The Australian National University, Canberra, Australia.

Pérez, L., Winkler, F., Díaz, N., Cárcamo, C. and Silva, N., 2001. Genetic variability in four hatchery strains of coho salmon, *Oncorhynchus kisutch* (Walbaum), in Chile. Aquaculture Research, 32: 41-46.

Pujolar, J. M., Maes, G. E., Vancoillie, C., Volckaert, F. A. M., 2005. Growth rate correlates to individual heterozygosis in the European eel, A*nguilla anguilla* L. Evolution, 59: 189–199.

Rezvani Gilkolaei, S., 2000. Study of mtDNA variation of Russian sturgeon population from southern Caspian Sea using RFLP analysis of PCR amplified ND5/6 gene region. Iranian Journal of Fisheries Science, 2(1): 13-36.

Robinson, A. J., Love, C. G., Battery, J., Barker, G. and Edward, P., 2004. Simple sequence repeat marker loci discovery using SSR primer. Bioinformatics, 20(9): 1475-1476.

Ryman, N. and Stahl, G., 1980. Genetic changes in hatchery stocks of brown trout (*Salmo trutta*). Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 37: 82-87.

Simon, R. C., McIntyre, J. D. and Hemmingsen, R. A., 1986. Family size and effective population size in a hatchery stock of coho salmon (*Onchorhynchus kisutch*). Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 43: 2434-2442.

Sajedi, R. H., Aminzadeh, S., Naderi-Manesh, H., Sadeghizadeh, M., Abdolhay, H. and Naderi-Manesh, M., 2003. Genetic variation within and among Rainbow Trout, *Onchorhynchus mykiss*, hatchery populations from Iran assessed by PCR-RFLP analysis of mitochondrial DNA segments. Journal of Food science, 68(3): 870-873.

Hillis, D. M. and Moritz, C., 1990. Molcular taxonomi. Sinauer associate, Inc. Publishers. Massachusetts.

Jug, T., Berrebi, P. and Snoj, A., 2005. Distribution of non-native trout in Slovenia and their introgression with native trout population as observed through microsatellite DNA analysis. Biological Conservation, 123: 381-388.

Jovne, P., J. and Lagonda, P., 1996. Microsatellite from molecules to population and back", Trends in Ecology, 11: 424-429.

Katti, M. V., Rangeker, R. K. and Gupa, V. S., 2001. Differential distribution of simple sequence repeat in Eukaryotic genome sequence. Molecular Boilogy, 18: 1161-1167.

Kincaid, H., 1980. Fish breeding manual. Kearneysville: U.S. Fish and Wildlife Service National Fisheries Center.

Meffe, G., 1987. Conserving fish genomes: Philosophies and practices. Environmental Biology of Fishes, 18: 3-9.

Nei, M., 1972. Genetic distance between populations. American Naturalist, 106(949): 283-292.

Nelson, J. S., 2006 . Fishes of the world. JOHN Willey & Sons, INC, 601 P.

Norris, A. T., Bradley, D. G. and Cunningham, .P., 1999. Microsatellite genetic variation between and within farmed and wild Atlantic salmon *Salmo salar* populations. Aquaculture, 180: 247–264.

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

Peakall, M. and Smouse A., 2005. Gene Alex 6: Genetic analysis in Excel. Population genetic

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1392.22.4.9.4]

Skaala, Q., Hoyheim, B., Glovera, K. and Dahlea, G., 2004. Microsatellite analysis in domesticated and wild Atlantic salmon (*Salmo salar* L.): Allelic diversity and identification of individuals. Aquaculture, 240: 131-143.

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.

Templeton, A. R., 1986. Coadaption and outbreeding deoression. *In:* Soule ME (Ed) Conservation biology. The science of scarcity and diversity. Sinauer, Sunderland, Massachusetts.

Templeton, N. S., 2004. Gene and cell therapy: Therapeutic mechanisms and strategies. Marcel Dekker, New York.

War, R. D., Jorstad, K. E. and Maguire, G. B., 2003. Microsatellite diversity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) introducedto Western Australia. Aquaculture, 219: 169–179.

Yeh, F. C., Yang, R. C. and Boyle, T., 1999. POPGENE, Version 1.31: Microsoft Window-based free ware for population genetic analysis. http://www.ualberta.ca/~fyeh. 2013/

Zhao, N., Ai, W., Shao, Z., Zhu, B., Brosse, S., Chang, J., 2005. Microsatellite assessment of Chinese sturgeon (*Acipencer sinensis* Gray) genetic variability. Journal of App1ied Ichthyology, 21: 7-13.

Zane, L., Bargelloni, L. and Patarnello, T., 2002. Strategies for microsatellite isolation: A review. Molecular Ecology, 11: 1-16.

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1392.22.4.9.4]

Genetic variation in farmed population of Rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss)* based on microsatellite markers in Iran

Einollah Gorjipoor, E[(1)];Sajad Nazari[(2)*]

Sajadnazari13@gmail.com

1,2-Genetic and Breeding Center for Coldwater Fishes, Shahid Motahari P.O. Box 75914-358 Yasouj, Iran

Received: May 2013 Accepted: October 2013

Key words: Rainbow trout, Population genetic, Microsatellite, Breeding program

Abstract

A total of 64 specimens of rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) from 3 different regions in Iran were collected. About 2-3 g of caudal fin samples were removed from each specimen and preserved in absolute ethyl alcohol and transferred to the genetic laboratory. Genomic DNA was extracted using the phenol-chloroform method and then DNA content and quality was determined using spectrophotometry and agarose gel electrophoresis, respectively. Polymerase Chain Reaction (PCR) of genomic DNA fin samples was carried out using 8 pairs of microsatellite primers. All PCR products were electrophoresed on 6% polyacrylamide gel and stained with silver nitrate. Following the scoring of alleles, all parameters including effective number of alleles, observed and expected heterozygosity, shanon index, Hardy-Weinberg equilibrium test and F_{ST} were calculated using AMOVA analysis in the GenAlex and Popgene programs. The results showed that 8 pairs of microsatellite primers were polymorphic. In total, alleles were determined with the range size of 64-280 bp. The locus OtsG 249 had maximum number of allele (9) and loci OtsG 432 and OtsG 474 had minimum number of allele (2). The observed heterozygosity was between 0.869 and 0.916. Hardy-Weinberg departure was observed for most loci from all farms and were disequilibrium. The Fst results showed that maximum F_{ST} (0.079) were between farms in Tehran and Yasuj and minimum (0.041) were between farms in Hamadan and Yasuj. Based on the results of AMOVA analysis, significant differences were detected between all farms. The results suggest that the unique genetic variation of rainbow trout in hatchery farms of Iran represents a highly valuable genetic resource and provide useful information for creating a based population in the future breeding programs.

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1392.22.4.9.4]