



مقاله علمی - پژوهشی:

مطالعه تنوع ژنتیک پیش مولدین ماهی قزل آلی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) پرورشی مزارع منتخب استان آذربایجان غربی با استفاده از روش ریزماهواره

سلطنت نجار لشگری^{*}، محمد پورکاظمی^۲، سجاد نظری^۳، ابوالفضل سپهداری^۱، رقیه محمودی^۳

*se_lashgari@yahoo.com

۱- مرکز تحقیقات ماهیان سردآبی، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تنکابن، ایران.

۲- مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران.

۳- مرکز تحقیقات ژنتیک و اصلاح نژاد ماهیان سردآبی شهید مطهری، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، یاسوج، ایران.

تاریخ پذیرش: شهریور ۱۴۰۰

تاریخ دریافت: شهریور ۱۳۹۹

چکیده

با توجه به اهمیت ارزیابی تنوع و ساختار ژنتیک جمعیت در مدیریت و انتخاب کارا ترین مولدین برای تکثیر، تنوع ژنتیک پیش مولدین ماهی قزل آلی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) پرورشی مزارع منتخب استان آذربایجان غربی (۱، ۲ و ۳) با استفاده از هفت جفت آغازگر ریزماهواره مورد مطالعه قرار گرفت. بدین منظور از ۵۰ عدد پیش مولد هر مزرعه نمونه برداری و DNA ژنومی با استفاده از روش استات آمونیوم استخراج گردید. برای مشاهده آلل‌ها و تعیین اندازه آنها از الکتروفورز عمودی ژل پلی‌اکریل‌آمید ۶٪ و رنگ-آمیزی نترات نقره استفاده شد. محاسبات مربوطه با استفاده از نرم‌افزارهای Excel، INTAS GEL DOC و Pop Gene صورت پذیرفت. بر اساس نتایج، بیشترین تعداد آلل واقعی (۷/۷۱) و مقدار هتروزیگوسیتی مشاهده شده (۰/۴۶±۰/۱۲) در ماهیان مزرعه (۳) و کمترین تعداد آلل واقعی (۵/۲۹±۰/۰۱) و مقدار هتروزیگوسیتی مشاهده شده (۰/۳۴±۰/۰۸) در ماهیان مزرعه (۲) مشاهده شد. بیشترین میزان فاصله ژنتیک (۰/۰۷) و کمترین میزان شباهت ژنتیک (۰/۹۳) بین ماهیان مزارع (۳ و ۲) و کمترین میزان فاصله ژنتیک (۰/۰۲) و بیشترین میزان شباهت ژنتیک (۰/۹۸) بین ماهیان مزارع (۲ و ۱) محاسبه شد. بیشترین مقدار تمایز ژنتیک (۰/۰۷۷) بین ماهیان مزارع (۳ و ۱) و کمترین مقدار آن (۰/۰۳۴) بین ماهیان مزارع (۲ و ۱) به دست آمد. نتایج آنالیز واریانس مولکولی نشان‌دهنده وجود اختلاف تنوع ژنتیک معنی‌دار بین ماهیان مزارع مورد مطالعه بود ($p < 0.001$). نتایج حاصل از آزمون FST نشان داد که تمایز ژنتیک بین جمعیت‌های پرورشی موجود در این مطالعه در سطح متوسطی قرار داشت که بیانگر جابجایی مولدین بین جمعیت‌های مختلف در گذشته نزدیک یا استفاده از یک جمعیت مرجع و مولدین با ذخیره ژنی مشابه در یک دوره تکثیر مشخص در بین مزارع مورد مطالعه می‌باشد. یافته‌های این مطالعه بیان می‌کند که احتمالاً اختلاط بالای جمعیت‌ها با یکدیگر و عواملی چون به‌گزینی و سیاست‌های جاری هر مزرعه منجر به کاهش تنوع ژنتیک و تمایز بین جمعیت‌ها شده است. نتایج این مطالعه می‌تواند در راستای مدیریت ذخایر پرورشی و برنامه‌های اصلاح‌نژادی این گونه مهم تجاری مورد استفاده قرار گیرد.

لغات کلیدی: تنوع ژنتیک، قزل آلی رنگین کمان، مزارع منتخب، استان آذربایجان غربی، ریزماهواره

*نویسنده مسئول

مقدمه

گونه اصلی پرورشی ماهیان سردآبی ایران قزل‌آلای رنگین‌کمان است که تولید آن سالیانه رو به افزایش است. تولید و پرورش جهانی آن در آبهای داخلی و شیرین در سال ۲۰۱۸، ۶۶۴/۸۵۴ تن بوده که سهم ایران از آن ۲۶ درصد است. در واقع ایران بزرگترین تولیدکننده قزل‌آلای پرورشی آبهای داخلی، در بین ۷۷ کشور دیگر تولید کننده در جهان است (FAO, 2018). این محصول به دلیل سهولت پرورش و دو دیدگاه امنیت غذایی جامعه و اقتصادی، دارای اهمیت م باشد. پایداری صنعت پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در بلند مدت در گرو بهبود شرایط محیطی پرورش از یک سو و تأمین ذخایر اصلاح نژاد شده این گونه از سوی دیگر خواهد بود. کاهش تنوع ژنتیک برای جمعیت‌ها زیان بار است و بر میزان برداشت آنها تأثیرگذار می‌باشد (لالویی و همکاران، ۱۳۸۷). همچنین تنوع ژنتیک، قابلیت بقاء یک گونه یا جمعیت را از طریق ایجاد توانایی سازگاری با تغییرات محیطی فراهم کرده و برای بقاء طولانی‌مدت آن گونه ضروری است (Bataillon *et al.*, 1996). مدیریت تنوع ژنتیک در موجودات نیازمند ارزیابی ساختار ژنتیک و تفکیک ذخایر گونه مورد نظر است (Pujolar *et al.*, 2009).

امروزه فن‌آوری‌های متکی بر PCR جهت بررسی و شناسایی ژنوتیپ گونه‌ها و جمعیت‌های مختلف به کار می‌روند (Ovenden and White, 1990; Rexroad *et al.*, 2005). ریزماهورها از جمله مهمترین نشانگرهای مولکولی هستند که به‌طور گسترده‌ای در ژنوم موجودات زنده پراکنده شده‌اند (Chistiakov *et al.*, 2006). این نشانگرها یک گروه از جایگاه‌های DNA هسته‌ای و شامل توالی‌های تکراری پشت سر هم هستند و از ۶-۲ جفت باز تشکیل شده‌اند. ریزماهورها به دلیل داشتن سطوح بالای چندشکلی، اندازه نسبتاً کوچک و روش‌های تشخیصی سریع به‌طور گسترده‌ای برای مطالعه ژنتیک جمعیت‌های نزدیک به هم (Gerlach *et al.*, 2001)، تشخیص ذخایر ژنتیک، انتخاب مولدین، بازسازی نقشه‌های خویشاوندی متراکم در برنامه‌های تولیدمثلی و اصلاح نژادی به کار می‌روند (Chistiakov *et al.*, 2006).

مطالعات مولکولی متعددی در زمینه تنوع ژنتیک ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در کشور انجام شده است. حسن-ساجدی (۱۳۷۸) با استفاده از تکنیک PCR-RFLP و ۱۲ آنزیم برشگر، تنوع نوکلئوتیدی و هاپلوتیپی جمعیت‌های مربوط به مولدین قزل‌آلای مناطق کلاردشت و کرج را مورد بررسی قرار داد و نتایج حاصل اختلاف معنی‌داری را نشان ندادند. علیپور و همکاران (۱۳۹۱) و (۱۳۹۲) در دو مطالعه جداگانه به ارزیابی ساختار ژنتیک قزل‌آلای رنگین‌کمان پرورشی اسپانیایی و آمریکایی و مقایسه تنوع ژنتیک جمعیت قزل‌آلای رنگین‌کمان پرورشی استان لرستان و وارداتی از فرانسه پرداختند و تنوع ژنتیک نسبتاً مناسبی در جمعیت‌ها گزارش نمودند. محمودی و همکاران (۱۳۹۲) در مطالعه‌ای مشابه به بررسی تفاوت ژنتیک قزل‌آلای پرورش یافته در ایران و وارداتی از فرانسه با استفاده از ریزماهورها پرداختند و تمایز ژنتیک معنی‌داری را بین ذخیره ایرانی و جمعیت وارداتی از فرانسه گزارش نمودند. با توجه به ارزش اقتصادی بالای قزل‌آلای رنگین‌کمان در صنعت آبی-پروری ایران و وجود جمعیت‌های مختلف پرورشی، ضرورت آگاهی از میزان تنوع ژنتیک هر جمعیت به‌منظور بهره‌برداری از آنها در برنامه‌های تکثیر، پرورش، به‌گزینی و اصلاح نژاد محسوس می‌باشد. لذا این مطالعه به منظور بررسی تنوع ژنتیک پیش‌مولدین ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان پرورشی مزارع منتخب استان آذربایجان غربی با استفاده از روش ریزماهورها انجام شد.

مواد و روش کار

با توجه به وسعت پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در کشور و نیز محدودیت‌های موجود، ۳ مزرعه در استان آذربایجان غربی که به‌منظور حفظ حقوق صاحبان آنها در این مطالعه، مزرعه ۱، ۲ و ۳ نامیده می‌شوند پس از تأیید سازمان دامپزشکی کشور و سازمان شیلات ایران از بین سایر مزارع این استان به منظور مطالعه تنوع ژنتیک پیش‌مولدین قزل‌آلای رنگین‌کمان انتخاب شدند. از آنجا که هر یک از این مزارع طی سالهای مختلف تخم چشم-زده را از سایر کشورها وارد نمودند. ذخایر ماهیان هر کدام

ارزیابی کیفیت DNAهای استخراج شده با استفاده از الکتروفورز افقی ژل آگارز ۱٪ و تعیین کمیت دقیق DNAهای استخراج شده با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر UV/VIS (پیکودراپ) در طول موجهای ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر انجام شد و از ۷ جفت آغازگر ریز-ماهواره که دارای فراوانی آلی بیشتری در مطالعات پیشین بودند و تنوع جمعیت‌ها را به خوبی نشان داده بودند (Palti *et al.*, 2002) برای بررسی تنوع ژنتیک جمعیت‌های مورد مطالعه استفاده شد (جدول ۱).

جدول ۱: جایگاه‌ها، توالی‌ها، دمای اتصال و کد دستیابی آغازگرها

Table 1: Locations, sequences, annealing temperature and access code of primers

ردیف	جایگاه	توالی	دمای اتصال	GenBank کد دستیابی در
۱	OMM1304	ATAGATGTAAAGACAGAGCGAGAC GCAGAGAGGAAATCGGTGA	54	G73544
۲	OMM1305	AATTGGCACCTCTCGTCTG AAACAGGGAGTGTGGCACAAA	58	G73545
۳	OMM1308	GCTCTGGTTCAAGTTGGTTTG CATTCGGTCATAGCCTACA	54	G73548
۴	OMM1311	CCCAGTGCCACTCAAGTTCA GTGCAGAGAAAGCCACGATTA	54	G73551
۵	OMM1316	TTCGGAGGGAGACAGTTGTCA CACCCAGAGGAAATTAGAC	58	G73555
۶	OMM1318	TGATCCACTCATCCAACCACC GAACGCAGCTCGCACAAATA	58	G73557
۷	OMM1322	GCGCTCCTTTCATCTCTGATACAG GGTGAATACTTTCGCAAGCC	58	G73560

سانتی‌گراد (۳۰ چرخه) و بسط در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه (۱ چرخه) بود. محصولات PCR به وسیله الکتروفورز عمودی (ساخت شرکت آتیه-طب ایرانیان) و ژل پلی‌اکریل‌آمید ۶ درصد، ارزیابی و جهت نمایان شدن باندهای DNA با استفاده از روش نیرتات نقره رنگ‌آمیزی شدند (Bassam *et al.*, 1991). در نهایت برای مشاهده باندها از دستگاه مستندساز ژل (مدل Gel Stick touch ساخت شرکت Intas آمریکا) استفاده گردید. پس از ثبت و ذخیره شدن تصاویر ژل پلی‌اکریل‌آمید توسط دستگاه مستندساز ژل، وزن مولکولی باندهای محصول PCR، محاسبه تعداد و اندازه آلل‌ها و تعیین انواع آنها و نیز تعیین ژنوتیپ‌ها با استفاده از نرم-افزار INTAS GEL DOC Ver. 0.2.14.0 انجام

از آنها به دلیل عدم ثبت دقیق اطلاعات مرتبط با اختلاط آنها یک گله تلقی می‌شوند. میزان ۳-۵ گرم از بافت نرم انتهای باله دمی ۵۰ عدد از پیش مولدین علامتگذاری شده هر مزرعه پرورشی جداسازی و در میکروتیوب‌های ۵ میلی‌لیتری حاوی الکل اتانول ۹۶° تثبیت (Barber *et al.*, 2000) و برای انجام آزمایش‌های مولکولی به آزمایشگاه ژنتیک مرکز تحقیقات ماهیان سردآبی کشور-تنکابن منتقل گردید. استخراج DNA ژنومی با استفاده از روش استات آمونیوم (McQuown *et al.*, 2000)،

جهت انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمرز، مقدار ۰/۷۵ میکرولیتر MgCl₂ (۱/۵ mM)، ۰/۴ میکرولیتر DNA ژنومی (۱۰۰ ng)، یک میکرولیتر از هر آغازگر (۱/۲ nM)، ۰/۲۵ میکرولیتر آنزیم تک DNA پلیمرز (۱ u)، بافر PCR (10X) و ۰/۲۵ میکرولیتر dNTPs (۰/۱ mM) با اضافه نمودن آب مقطر دو بار تقطیر^۱ به حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر رسانده شدند. چرخه دمایی برای هر جایگاه ژنی شامل واسرشته‌سازی^۲ اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد (یک چرخه)، واسرشته‌سازی در دمای ۹۴ درجه سانتی-گراد (۳۰ چرخه)، الحاق در دامنه دمایی ۴۸-۵۸ درجه

1- DDW

2- Denaturation

باندی (۲۳۰-۲۱۰) مشاهده شد. همچنین بهترین درجه حرارت برای پهلویی‌گیری آغازگرها بین ۴۸-۵۷ درجه سانتی‌گراد بود. در بررسی تعادل هاردی-واینبرگ (H_0) همه جایگاه‌ها خارج از تعادل بودند ($p < 0.001$). از نظر جایگاه، بیشترین تعداد آلل واقعی (۱۲) در جایگاه OMM1322 و کمترین تعداد آن (۱) در جایگاه OMM1308 و از نظر مزرعه، بیشترین تعداد آلل واقعی ($7/0 \pm 71/00$) در مزرعه (۳) و کمترین تعداد آن ($5/0 \pm 29/01$) در مزرعه (۲) مشاهده شد. میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده (H_0) و مورد انتظار (H_E) در جایگاه‌ها و مزارع مورد مطالعه نشان داد که از نظر جایگاه، بیشترین مقدار هتروزیگوسیتی مشاهده شده ($0/78$) در جایگاه OMM1304 و کمترین مقدار آن ($0/27$) در جایگاه OMM1308 و از نظر مزرعه، بیشترین مقدار هتروزیگوسیتی مشاهده شده ($0/46 \pm 0/12$) در مزرعه (۳) و کمترین مقدار آن در مزرعه شماره (۲) ($0/0 \pm 34/08$) مشاهده شد. همچنین محاسبه ضریب افت هتروزیگوسیتی نشان داد که در مزرعه (۲) مقدار هتروزیگوسیتی مشاهده شده نسبت به هتروزیگوسیتی مورد انتظار کمتر بود (جدول ۳).

پذیرفت و در هر ژنوتیپ وجود یک باند به منزله هموزایگوسیتی و مشاهده دو باند به منزله هتروزیگوسیتی منظور گردید. برای ورود داده‌ها و ردیف کردن باندها از نرم افزار Excel، جهت امتیازدهی باندهای DNA، محاسبه تعداد باندها، تعداد جایگاه‌های چندشکلی و درصد آنها، تعداد آلل واقعی (N_A) و مؤثر (N_E) برای هر جایگاه، هتروزیگوسیتی مشاهده شده (H_0) و مورد انتظار (H_E) از نرم‌افزار Pop Gene (Yeh *et al.*, 1999) و برای محاسبه مقادیر F_{ST} بر اساس آنالیز واریانس مولکولی، ماتریس شباهت و فاصله ژنتیک بر اساس (Nei, 1972; Nei, 1978) و تعادل هاردی-واینبرگ در تمامی گله‌ها و جایگاه‌های مورد مطالعه از آزمون مربع کای (χ^2) -نرم- افزار GeneAlex (Peakall and Smouse, 2005) استفاده گردید.

نتایج

هفت جفت آغازگر استفاده شده پس از انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمرز باندهای چند شکلی تولید نمودند (جدول ۲). بیشترین تعداد آلل مشاهده شده (۱۳) در جایگاه OMM1308 با محدوده باندی ۲۲۷-۳۱۷ و کمترین تعداد آن (۶) در جایگاه OMM1304 با محدوده

جدول ۲: محدوده باندی، دمای اتصال و تعداد آلل‌های مشاهده شده در جایگاه‌های چندشکلی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان

Table 2: Band range, annealing temperature and number of alleles observed in rainbow trout polymorphic sites

ردیف	نام جایگاه	(bp محدوده باندی)	($^{\circ}C$ دمای اتصال)	تعداد آلل مشاهده شده
۱	OMM1304	۲۱۰-۲۳۰	۵۵	۶
۲	OMM1305	۱۸۹-۲۷۹	۵۶	۸
۳	OMM1308	۲۲۷-۳۱۷	۵۰	۱۳
۴	OMM1311	۲۱۹-۲۳۹	۵۵	۸
۵	OMM1316	۲۳۲-۳۷۶	۵۲	۱۱
۶	OMM1318	۱۵۸-۱۸۲	۵۷	۷
۷	OMM1322	۱۶۲-۲۳۰	۴۸	۱۲

جدول ۳: میانگین \pm انحراف معیار تعداد آلل واقعی و مؤثر و مقدار هتروزایگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار در جایگاه‌های چندشکلی و مزارع مورد مطالعه

Table 3: Mean standard deviation of the number of real and effective alleles and the amount of observed and expected heterozygosity in polymorphic sites and studied farms

مزرعه	متغیر	OMM1304	OMM1305	OMM1308	OMM1311	OMM1316	OMM1318	OMM1322	کل
۱	N_A	۳	۶	۱	۷	۱۰	۶	۱۲	$۶/۴۳ \pm ۰/۰۱$
	N_E	۱/۶۳	۴/۲۹	۰/۷۱	۶/۱۲	۵/۸۴	۵/۶۰	۱۱/۰۹	$۵/۰۴ \pm ۰/۰۰$
	H_O	۰/۴۶	۰/۳۹	۰/۲۷	۰/۴۲	۰/۲۸	۰/۴۱	۰/۲۹	$۰/۳۶ \pm ۰/۱۰$
	H_E	۰/۴۵	۰/۳۷	۰/۲۶	۰/۴۰	۰/۲۶	۰/۳۸	۰/۲۷	$۰/۳۴ \pm ۰/۱۱$
۲	N_A	۲	۴	۱	۶	۹	۵	۱۰	$۵/۲۹ \pm ۰/۰۱$
	N_E	۱/۷۶	۱/۷۸	۰/۶۸	۳/۲۷	۸/۱۹	۴/۴۹	۶/۱۴	$۳/۷۶ \pm ۰/۰۱$
	H_O	۰/۴۴	۰/۳۸	۰/۲۷	۰/۳۹	۰/۲۵	۰/۴۰	۰/۲۹	$۰/۳۴ \pm ۰/۰۸$
	H_E	۰/۴۸	۰/۳۹	۰/۲۷	۰/۴۰	۰/۲۷	۰/۳۸	۰/۳۰	$۰/۳۵ \pm ۰/۰۹$
۳	N_A	۸	۹	۲	۷	۱۱	۷	۱۲	$۷/۷۱ \pm ۰/۰۰$
	N_E	۷/۳۴	۸/۵۹	۱/۰۳	۵/۴۶	۹/۵۱	۶/۱۱	۱۱/۶۷	$۷/۱۰ \pm ۰/۰۰$
	H_O	۰/۷۸	۰/۴۴	۰/۳۸	۰/۴۶	۰/۳۶	۰/۴۱	۰/۴۳	$۰/۴۶ \pm ۰/۱۲$
	H_E	۰/۶۱	۰/۴۳	۰/۳۷	۰/۴۵	۰/۳۵	۰/۴۱	۰/۴۲	$۰/۴۳ \pm ۰/۱۱$

بیشترین میزان فاصله ژنتیک (۰/۰۷) و کمترین میزان شباهت ژنتیک (۰/۹۳) بین ماهیان مزارع (۱ و ۳) و کمترین میزان فاصله ژنتیک (۰/۰۲) و بیشترین میزان شباهت ژنتیک (۰/۹۸) بین ماهیان مزارع (۱ و ۲) محاسبه شد (جدول ۴).

بیشترین میزان تمایز ژنتیک (جدول ۵) و از نظر تمایز ژنتیک بین جمعیت‌ها اختلاف معنی‌دار وجود داشت ($p < ۰/۰۰۱$).

Table 5: The degree of Genetic differentiation of rainbow trout in the studied farms

مزرعه	۱	۲	۳
۱	۰		
۲	۰/۰۳۴	۰	
۳	۰/۰۷۷*	۰/۰۴۱	۰

از ضریب تصحیح بونفرونی در سطح آلفا (۰/۰۵) استفاده شد. Bonferroni correction coefficient was used at alpha level (0.05).

جدول ۴: میزان فاصله و شباهت ژنتیک ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان مزارع مورد مطالعه

جدول ۴: میزان فاصله و شباهت ژنتیک ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان مزارع مورد مطالعه

ببر اساس نتایج حاصل از آنالیز واریانس مولکولی میزان تنوع ژنتیک داخل افراد جمعیت‌ها ۸۲/۱، بین افراد داخل جمعیت‌ها ۱۲/۶ و بین جمعیت‌ها ۵/۳ درصد به دست آمد (جدول ۶) و اختلاف تنوع ژنتیک بین جمعیت‌ها معنی‌دار بود ($p < ۰/۰۰۱$).

Table 4: The distance and genetic similarity of rainbow trout in the studied farms

مزرعه	۱	۲	۳
۱	۰	۰/۹۸	۰/۹۳
۲	۰/۰۲	۰	۰/۹۶
۳	۰/۰۷	۰/۰۴	۰

اعداد پایین قطر نشان‌دهنده فاصله ژنتیک و اعداد بالای قطر نشان‌دهنده شباهت ژنتیک می‌باشند. Low diameter numbers indicate genetic distance and high diameter numbers indicate genetic similarity

بیشترین مقدار تمایز ژنتیک (۰/۰۷۷) بین ماهیان مزارع (۱ و ۳) و کمترین مقدار آن (۰/۰۳۴) بین ماهیان مزارع

جدول ۶: میزان تنوع ژنتیک بین جمعیت‌ها، بین افراد داخل جمعیت‌ها و داخل افراد

Table 6: The extent of genetic diversity between populations, between individuals within populations, and within individuals

منبع تغییرات	جمع مجدورات	اجزای واریانس	درصد
بین جمعیت‌ها	۹۶/۹۹۹	۰/۱۴۵	۵/۳
بین افراد داخل جمعیت‌ها	۱۲۷۹/۳۰۸	۰/۷۴۳	۱۲/۶
داخل افراد	۱۰۲۸/۵۰۰	۵/۰۴۲	۸۲/۱
	۲۴۰۴/۸۰۶	۵/۹۲۹	۱۰۰

بحث

در این مطالعه جهت بررسی تنوع ژنتیک جمعیت‌های پیش‌مولدین قزل‌آلای رنگین‌کمان پرورشی از نشانگرهای ریزماهواره استفاده شد که به‌طور گسترده در مطالعات ژنتیک جمعیت گونه‌های ماهیان پرورشی استفاده شده است (Liu et al., 2009). در بررسی‌های تنوع ژنتیک، غنای آللی از اهمیت بالایی برخوردار است؛ زیرا بالا بودن غنای آللی نشان‌دهنده ی بالا بودن اندازه مؤثر جمعیت است و استفاده از آن برای ارزیابی تنوع ژنتیک جمعیت‌هایی که برای برنامه‌های به‌گزینی یا حفاظت انتخاب شده‌اند، مناسب‌تر است (Duong and Scribner, 2018). تعداد آلل واقعی (N_A) و مؤثر (N_E) معیاری جهت تعیین مقدار چندشکلی جایگاه‌ها می‌باشند (Thai et al., 2006). در این مطالعه نیز هر ۷ جفت آغازگر ریزماهواره مورد استفاده در ارزیابی تنوع ژنتیک پیش‌مولدین قزل‌آلای رنگین‌کمان مزارع منتخب استان آذربایجان غربی باندهای چند شکلی تولید نمودند و بیشترین تعداد آلل واقعی در ماهیان مزرعه شماره ۳ مشاهده شد. بالا بودن ارتباطات ژنتیک (Horreo et al., 2008) و تبادلات ژنتیک (Jug et al., 2005) سبب کاهش تعداد آلل‌های اختصاصی می‌شود. در مقابل بالاتر بودن آلل اختصاصی و تراز بالای چندشکلی می‌تواند ناشی از پویایی ژنتیک باشد (Hassanien et al., 2004). بنابراین تعداد بیشتر آلل‌های اختصاصی در پیش‌مولدین قزل‌آلای رنگین‌کمان مزرعه شماره ۳ بیانگر پویایی ژنتیک و بالا بودن اندازه مؤثر جمعیت آنها نسبت به جمعیت‌های دیگر است. همچنین پایین بودن تعداد آلل مشاهده شده در برخی از جایگاه‌ها، می‌تواند متأثر از محدودیت مهاجرت‌ها (جریان

ژنی) و آمیزش‌های خویشاوندی باشد (Knudsen et al., 2002; Prodohl et al., 2019).

هتروزیگوسیتی اختلافات ژنتیک بسیاری از جایگاه‌ها را در یک جمعیت نشان می‌دهد و معمول‌ترین معیار تنوع ژنی در یک جمعیت می‌باشد (Fei et al., 2007). در این مطالعه بیشترین مقدار هتروزیگوسیتی، در ماهیان مزرعه شماره ۳ مشاهده شد. محاسبه ضریب افت هتروزیگوسیتی نشان می‌دهد که در ماهیان مزرعه شماره ۲، مقدار هتروزیگوسیتی مشاهده شده نسبت به هتروزیگوسیتی مورد انتظار کمتر بود. کاهش هتروزیگوسیتی مشاهده شده نسبت به هتروزیگوسیتی مورد انتظار نشان‌دهنده ی کاهش در تغییر پذیری ژنتیک نمونه‌ها است و علت این کاهش، تنگناهای ژنتیک می‌باشند که احتمالاً بر اثر شرایط زیست‌محیطی و آمیزش‌های خویشاوندی به‌وجود آمده و در نتیجه با گذشت زمان موجب کاهش آلل و کاهش هتروزیگوسیتی در ذخایر می‌شوند (Narum et al., 2004).

در بررسی ساختار ژنتیک قزل‌آلای رنگین‌کمان پرورشی اسپانیایی و آمریکایی با استفاده از ۴ جایگاه ریزماهواره میزان متوسط کل هتروزیگوسیتی مشاهده شده و تعداد متوسط کل آلل‌های مشاهده شده به‌ترتیب ۰/۶۱۲ و ۱۱/۲۵ به‌دست آمد و اعلام گردید اگر چه تنوع ژنتیکی قابل توجهی درون دو جمعیت اسپانیایی و آمریکایی وجود دارد، اما این دو جمعیت بسیار شبیه به یکدیگر بودند و تمایز ژنتیک اندکی را نشان دادند (علیپور و همکاران، ۱۳۹۱). در ارزیابی مقایسه‌ای تنوع ژنتیک مولدین دو جمعیت قزل‌آلای رنگین‌کمان پرورشی استان لرستان و وارداتی از فرانسه با استفاده از ۴ جایگاه ریزماهواره، میزان

کتر است (Rousset, 2004). وجود اختلاف ژنتیک درون و بین جمعیت‌های گونه‌های مختلف، تحت تأثیر عوامل مختلفی چون تاریخچه مشترک، جدایی جغرافیایی، جریان ژنی حال و گذشته و همینطور فرآیندهای مختص جمعیت مانند رانش ژنتیک و انتخاب انطباقی قرار دارد (Li et al., 2007; Dorak, 2014). در این مطالعه تأثیر عوامل برهم‌زننده تعادل مانند اثر والانده، جفت‌گیری غیرتصادفی و تکامل غیر هم جهتی آنها، نسبت نابرابر جنسی در تکثیر مصنوعی و عدم وجود شانس یکسان برای حضور همه نتاج در تکثیر و پرورش این جمعیت‌ها در کاهش تمایز مؤثر بوده است. در سایر گزارش‌ها و تحقیقات مشابه نیز نرخ بالای جهش، افزایش تنوع درون جمعیتی و وجود جریان ژنی بالا بین جمعیت‌ها از جمله دلایل مهم تمایز اندک بین جمعیت‌ها مطرح شده است. در مطالعات پیشین بر روی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان پرورشی تمایز ژنتیک پایین و غیر معنی‌دار معادل $0/012$ (علیپور و همکاران، $0/017$ و 1391) و $0/058$ (محمودی و همکاران، 1392) و $0/089$ (Silverstein et al., 2004) و 1392) محاسبه گردید. میزان تمایز ژنتیک در اکثر موارد کمتر از یک مشاهده شد زیرا چند شکلی ناشی از جهش به‌طور مؤثری میزان F_{ST} را کاهش می‌دهد. پایین بودن شاخص F_{ST} در بین مزارع ۱ و ۲ نشان‌دهنده ی وجود جریان ژنی قابل توجه است. وجود تمایز ژنتیک متوسط بین ماهیان مزارع ۱ و ۳ را می‌توان به وجود تعداد آلل‌های بیشتر در جمعیت‌های این مزارع نسبت داد. تفاوت در منشأ اولیه این جمعیت‌ها، ورود تخم‌های چشم‌زده از سایر مراکز تکثیر و مولدگیری از آنها طی سال‌های متمادی، فروش بخشی از تخم چشم‌زده در هر فصل تکثیر به سایر مزارع، کاهش تنوع در جمعیت نتاج و بالا بودن میزان درون-آمیزی در جمعیت مزرعه ۱ نسبت به جمعیت مزرعه ۳ می‌تواند از دلایل عمده این اختلاف ژنتیک باشند. جمعیت‌های مورد مطالعه در تمام جایگاه‌های مورد بررسی انحراف معنی‌داری (در سطوح معنی‌داری $0/01$ و $0/001$) از تعادل هاردی-واینبرگ را نشان دادند. به‌طور کلی یک عامل به‌تنهایی نمی‌تواند علت انحراف از تعادل را توضیح

هتروزیگوسیتی مشاهده شده و تعداد متوسط آلل در جمعیت قزل‌آلای لرستان به ترتیب $0/591$ و $10/75$ و در جمعیت قزل‌آلای فرانسوی به ترتیب $0/566$ و 10 گزارش شد (علیپور و همکاران، 1392). میانگین هتروزیگوسیتی مورد انتظار و مشاهده شده در دو جمعیت قزل‌آلای رنگین‌کمان پرورشی بومی شده در ایران و فرانسوی به ترتیب $0/68$ و $0/53$ و نیز $0/71$ و $0/61$ بود و تمایز ژنتیک معنی‌داری بین ذخیره ایرانی و جمعیت وارداتی از فرانسه مشاهده گردید (محمودی و همکاران، 1392). مقدار هتروزیگوسیتی مشاهده شده قزل‌آلای رنگین‌کمان در سه مزرعه پرورشی کشور با استفاده از هشت جایگاه ریزماهواره بین $0/869$ تا $0/916$ گزارش شد (گرچی‌پور و نظری، 1392). مقایسه میزان هتروزیگوسیتی ماهیان قزل‌آلای پرورشی موجود در مزارع منتخب این مطالعه با سایر تحقیقات مشابه، نشان‌دهنده کاهش هتروزیگوسیتی در برخی موارد و یا افزایش هموزیگوسیتی به خصوص در مزارع ۱ و ۲ است. کاهش هتروزیگوسیتی می‌تواند ناشی از پدیده درون‌آمیزی، تنگنای جمعیتی، جمع‌آوری نمونه از خویشاوندان و اندازه کوچک جمعیت باشد (محمودی و همکاران، 1392). آمیزش غیر اصولی و بی‌برنامه مولدین در سالهای قبل نیز می‌تواند دلیل دیگری برای کاهش هتروزیگوسیتی و تعداد آلل‌ها در مزارع منتخب باشد. میزان تمایز ژنتیک بین نمونه‌های مزارع مورد مطالعه با بررسی شاخص‌های F_{ST} ارزیابی گردید. بیشترین مقدار تمایز ژنتیک ($0/077$) بین ماهیان مزارع (۳ و ۱) و کمترین مقدار آن ($0/034$) بین ماهیان مزارع (۲ و ۱) به‌دست آمد. مقدار F_{ST} همیشه مثبت و بین عدد صفر (هیچ زیرجمعیتی وجود ندارد) و یک (وجود زیرجمعیت و جدایی کامل جمعیت‌ها) متغیر است. مقادیر F_{ST} ، $0/05$ - 0 ، $0/15$ - $0/05$ ، $0/25$ - $0/15$ به ترتیب نشان‌دهنده ی سطح پایین، متوسط و بالای تمایز ژنتیک است. (Colihueque et al., 2019). فاکتور F_{ST} به‌طور مستقیم یا غیر مستقیم با میزان جریان ژنی یا تعداد مهاجرت مؤثر (NM) میان جمعیت‌ها ارتباط دارند. هر چه میزان جریان ژنی بین دو منطقه بیشتر باشد بیانگر آن است که مهاجرت بین مناطق بیشتر و اختلاف ژنتیک

منابع

حسن‌ساجدی، ر.، ۱۳۷۸. بررسی تنوع ژنتیکی در ماهی‌های مولد قزل‌آلای رنگین‌کمان با استفاده از تکنیک PCR-RFLP روی ژنوم میتوکندری. پایان‌نامه کارشناسی ارشد بیوشیمی، دانشگاه تربیت مدرس، ۸۹ ص.

علیپور، ا. درافشان، س. و قاسمی، ا.، ۱۳۹۱. ساختار ژنتیکی قزل‌آلای رنگین‌کمان پرورشی (*Oncorhynchus mykiss*) اسپانیایی و آمریکایی. مجله علمی شیلات ایران، ۲۲(۱): ۶۱-۷۰. Doi: 10.22092/ISFJ.2017.110103

علیپور، ا. درافشان، س. و قاسمی، ا.، ۱۳۹۲. ارزیابی مقایسه‌ای تنوع ژنتیکی جمعیت قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) پرورشی استان لرستان و جمعیت وارداتی از فرانسه. نشریه شیلات (منابع طبیعی ایران)، ۶۶(۲): ۱۹۹-۲۰۹. Doi: 10.22059/jfisheries.2013.35697

گرچی‌پور، ع. و نظری، س.، ۱۳۹۲. بررسی تنوع ژنتیکی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره در مزارع پرورشی ایران. مجله علمی شیلات ایران، ۲۲(۴): ۹۳-۱۰۷. Dor: 20.1001.1.10261354.1392.22.4.9.4

لالویی، ف. رضوانی گیل‌کلایی، س. فاطمی م. و تقوی م.، ۱۳۸۷. بررسی ژنتیک جمعیت ماهی کپور معمولی حوضه جنوبی دریای خزر با استفاده از RFLP-PCR (mtDNA). مجله علمی شیلات ایران، ۱۷(۲): ۸۹-۱۰۲. Doi: 10.22092/isfj.2008.115323

محمودی، ر. گندمکار، ح. عبدالحی، ح.ع. متین‌فر، ع. رضوانی گیل‌کلایی، س. و نظری، س.، ۱۳۹۲. تفاوت‌های ژنتیکی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) موجود در ایران و قزل‌آلای وارداتی از فرانسه. مجله علمی شیلات ایران، ۲۳(۱): ۷۵-۸۵. DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110164

دهد و مجموعه‌ای از عوامل فوق که بیشتر ناشی از تکثیر مصنوعی هستند را می‌توان به‌عنوان دلایل انحراف از تعادل در جمعیت‌های مورد مطالعه مطرح کرد. به دلیل اعمال برنامه‌های تکثیر مصنوعی در گله‌های مورد مطالعه، به‌گزینی می‌تواند عامل اصلی انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ در این جمعیت‌ها معرفی شود.

نتایج حاصل از آنالیز واریانس مولکولی در مطالعه حاضر نشان داد که بیشترین میزان تنوع ژنتیک داخل افراد جمعیتها وجود دارد و این احتمال که تمایز بین گروه‌های مختلف پرورشی در اثر جابجایی و یا بدون اعمال کنترل و مدیریت بر ذخایر مولدین پرورشی و همچنین سیاست‌های جاری هر مزرعه تکثیر و پرورش کاهش یا از بین رفته باشد، شدت می‌یابد.

نتایج این مطالعه نشان داد اگر چه تنوع در سطح درون جمعیتی هر جمعیت بالاست، اما احتمالاً جابجایی مولدین، پیش‌مولدین و بچه‌ماهیان بین مزارع به‌خصوص مزارع ۱ و ۲، به‌گزینی و تکثیر غیر تصادفی منجر به گسترش تعداد محدودی از آلل‌های مشخص در بین جمعیت‌ها شده است و از آنجا که سازگاری و بقای گونه‌ها هنگامی حفظ می‌شود که تغییرپذیری ژنتیک موجود در آنها از دست نرود و با توجه به متوسط و پایین بودن میزان تمایز ژنتیک بین ماهیان مزارع مورد مطالعه، پیشنهاد می‌گردد که اقدام لازم جهت افزایش اختلاف ژنتیک بین جمعیت‌ها در تولید نسل بعدی در مزارع مورد مطالعه انجام پذیرد و با توجه به بالا بودن میزان تمایز ژنتیک ماهیان مزرعه ۳ توصیه می‌گردد به‌منظور حفظ و ارتقاء تنوع ژنتیک از ماهیان نر و ماده این مزرعه (شماره ۳) برای لقاح با ماهیان نر و ماده مزارع ۱ و ۲ استفاده و به‌منظور پرهیز از خویشاوندی بالا از لقاح ماهیان نر و ماده هر مزرعه با هم جلوگیری شود. در نهایت با توجه به اینکه در حال حاضر ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به‌عنوان مهمترین گونه پرورشی سردآبی کشور در حال تکثیر است، لازم است سیاست‌های مدیریتی به‌منظور انتخاب تعداد مولدین مناسب و طراحی آمیزش به‌منظور افزایش تنوع ژنتیک موجود در مزارع ناشی از آمیزش خویشاوندی و رانش ژنتیک اجرا گردد.

- Barber, P.H. and Erdman, M.V., 2000.** Molecular systematic of the Gonodactylidae (stomopoda) using mitochondrial cytochrome oxidase C (submit) DNA sequencing data. *Journal of Crustacean Biology* 20(2):20-36. Doi: 10.2307/1549480
- Bassam, B.J., Caetano- Anolles, G. and Gresshoff, G.M., 1991.** Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide gels. *Annual Biochemistry* 196(1):80-83. Doi: 10.1016/0003-2697(91)90120-I
- Bataillon, T.M., David, J.L. and Schoen, D.J., 1996.** Neutral genetic markers and conservation: simulated germ plasm collections. *Genetics* 144(1):409-417. Doi: 10.1093/genetics/144.1.409
- 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(1-4):1-29. Doi: 10.1016/j.aquaculture.2005.11.031
- Colihueque, N., Estay, F.J., Crespo, J.E., Arriagada, A., Baessolo, L., Canales-Aguirre, C.B., Marín, J. and Carrasco, R., 2019.** Genetic Differentiation and Origin of Naturalized Rainbow Trout Populations from Southern Chile, Revealed by the mtDNA Control Region Marker. *Front. Genet* 10:1212. Doi: 10.3389/fgene.2019.01212
- Dorak, M.T., 2014.** Basic population genetics. <http://www.dorak.info/genetics/popgen.html>.
- Duong, T.Y. and Scribner, K.T., 2018.** Regional variation in genetic diversity between wild and cultured populations of bighead catfish (*Clarias macrocephalus*) in the Mekong Delta. *Fish Research* 207:118-125. Doi: 10.1016/j.fishres.2018.06.012
- Food and Agriculture Organization., 2018.** Fishery statistical collections: Consumption of fish and fishery products. Retrived from: <http://www.fao.org/fishery/statistics/global-consumption/e>.
- Fei, C., Wei, Y. and Fu-Ling, Y., 2007.** Isolation of DNA microsatellites and preliminary genomic analysis of Mud crab (*Cirrhina molitorolla*). *Zoological Research* 28 (2):119-125.
- Gerlach, G., Schardt, U., Ekmann, R. and Meyer, A., 2001.** Kin- structured subpopulations in Eurasian perch (*Perca fluviatilis*). *Heredity* 86:213-221. Doi: 10.1046/j.1365-2540.2001.00825.x
- Hassanien, H.A., Einady, M., Obeida, A. and Itriby, H., 2004.** Genetic diversity of Nile tilapia populations revealed by randomly amplified polymorphic DNA (RAPD). *Aquaculture Research* 35(6):597-593. Doi: 10.1111/j.1365-2109.2004.01057.x
- Horreo, J.L., Machado-Schiaffino, G., Griffiths, A., Bright, D., Stevens, J.**

- and Garcia-Vazquez, E., 2008.** Identification of differential broodstock contribution affecting genetic variability in hatchery stocks of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 280(1-4):89-93. Doi: 10.1016/j.aquaculture.2008.05.004
- Jug, T., Berrebi, P., and Snoj, A., 2005.** Distribution of non-native trout in Slovenia and their introgression with native trout populations as observed through microsatellite DNA analysis. *Biological Conservation* 123:381-388. Doi: 10.1016/j.biocon.2004.11.022
- Knudsen, K.L., Muhlfeld, C.C., Sage, G.K. and Leary, R.F., 2002.** Genetic structure of Columbia river drainage, Montana, revealed by microsatellite and allozyme loci. *Transactions of the American Fisheries Society* 131(6):1093-1105. Doi: 10.1577/1548-8659 (2002)131
- Li, D., Kang, D., Yin, Q., Sun, Z. and Liang, L., 2007.** Microsatellite DNA marker analysis of genetic diversity in wild common carp (*Cyprinus carpio* L.) populations. *Genetics and Genomics* 34(11):984-993. Doi: 10.1016/S1673-8527(07)60111-8
- Liu, F., Xia, J.H., Bai, Z.H., Fu, J.J., Li, J.L. and Yue, G.H., 2009.** High genetic diversity and substantial population differentiation in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) revealed by microsatellite analysis. *Aquaculture* 297(1-4):51-56. Doi: 10.1016/j.aquaculture.2009.09.008
- McQuown, E.C., Sloss, B.L., Sheehan, R.J., Rodzen, J., Tranah, G. and May, B., 2000.** Microsatellite and analysis of genetic variation in sturgeon: new sturgeon primer sequences for *scaphirhynchus* and *Acipenser*. *Transactions of the American Fisheries society* 129(6):1380-1388. Doi: 10.1577/1548-8659 (2000)129<1380: MAOGVI>2.0.CO; 2
- Narum, S.R., Contor, C., Talbot, A. and Powell, M.S., 2004.** Genetic divergence of sympatric resident and anadromous forms of *Oncorhynchus mykiss* in the Walla Walla River, USA. *Journal of Fish Biology* 65:471-488. Doi: 10.1111/j.0022-1112.2004.00461.x
- Nei, M., 1972.** Genetic distance between populations. *The American Naturalist*, Vol 106(949): pp 283-292. Published By: The University of Chicago Press
- Nei, M., 1978.** Estimation of average heterozygosity and Genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89(3):583-590. Doi: 10.1093/genetics/89.3.583
- Ovenden, J.K. and White, R.W.G., 1990.** Mitochondrial and Allozyme genetics of incipient in a landlocked population of *Galaxias truttaceus* (Plces: Gglaxidae). *Genetics* 124(3):701-716. Doi: 10.1093/genetics/124.3.701

- Palti, Y., Fincman, R. and Rexroad, I.C.E., 2002.** Characterization of 38 polymorphic microsatellite markers for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Molecular Ecology Notes* 2(4):449–452. Doi: 10.1046/j.1471-8286.2002.00274.x
- Peakall, M. and Smouse, A., 2005.** GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research, Vol 6(1):288-295. Doi: 10.1111/j.1471-8286.2005.01155.x
- Proehl, P.A., Ferguson, A., Bradley, C.R., Ade, R., Roberts, C., Keay, E.J. and Hynes, R., 2019.** Impacts of acidification on brown trout *Salmo trutta* populations and the contribution of stocking to population recovery and genetic diversity. *Journal of Fish Biology* 95(3):719-742. Doi: 10.1111/jfb.14054
- 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(9):2034-2046. Doi: 10.1111/j.1095-8649.2009.02267.x
- Rexroad, C.E., Rodriguez, M.F., Coulbaly, I., Gharbi, K., Danzmann, R.G., Dekoning, J., Phillips, R. and Palti, Y., 2005.** Comparative mapping of expressed sequence tags containing microsatellites in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *BMC Genomics* 6:54. Doi: 10.1186/1471-2164-6-54
- Rousset, F., 2004.** Genetic structure and selection in subdivided populations Princeton. Princeton University Press. 288P.
- Silverstein, J.T, King, T. and Rexroad, C.E., 2004.** Genetic Variation Measured by Microsatellites among Three Strains of Domesticated Rainbow Trout. *Aquaculture Research* 35(1):40-48. Doi: 10.1111/j.1365-2109.2004.00979.x
- Thai, B.T., Pham, T.A. and Austin, G.M., 2006.** Genetic diversity of common carp in Vietnam using direct sequencing and SSCP analysis of the mitochondrial DNA control region. *Aquaculture* 258:228-240. Doi: 10.1016/j.aquaculture.2006.03.025
- Yeh, F.C., Boyle, T. and Yang, R.C., 1999.** POPGENE Version 1.32: Microsoft Window-Based Freeware for Population Genetics Analysis. University of Alberta, Edmonton.

Study of genetic diversity of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) pre-breeder on farms of West Azerbaijan Province using microsatellite method

Najjar Lashgari S.^{1*}; Pourkazemi M.²; Nazari S.³; Sepahdari A.²; Mahmoudi R.³

1-Cold-water Fishes Research Center, Iranian Fisheries Sciences Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tonekabon, Iran.

2-Iranian Fisheries Sciences Research Institute (IFSRI), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran.

3- Shahid Motahary Cold-water Fishes Genetic and Breeding Research Center, Iranian Fisheries Sciences Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Yasouj, Iran.

Abstract

Considering the importance of evaluating genetic diversity and population structure in managing and selecting the most efficient breeders for reproduction, genetic diversity of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) pre-breeders in selected farms of West Azerbaijan province (farms 1, 2 and 3) was studied using seven pairs of microsatellite primers. For this purpose, 50 pre-breeders of each field were sampled and genomic DNA was extracted using ammonium acetate method. To observe the alleles and determine their size were used vertical electrophoresis of 6% polyacrylamide gel and silver nitrate staining. Relevant calculations were performed using Excel, INTAS GEL DOC and PopGene software. Based on the results, the highest number of real alleles (7.71) and the amount of observed heterozygosity (0.46 ± 0.12) was observed in farm fish of No. 3 and the lowest number of real alleles (5.29 ± 0.01) and the amount observed heterozygosity (0.34 ± 0.08) was observed in farm fish No. 2. The highest genetic distance (0.07) and the lowest genetic similarity (0.93) were calculated between farm fish No. 3 & 1 and the lowest genetic distance (0.02) and the highest genetic similarity (0.98) were calculated between farm fish No. 2 & 1 were calculated. The highest amount of genetic differentiation (0.077) was obtained between farm fish No. 3 & 1 and the lowest amount (0.034) was obtained between farm fish No. 2 & 1. The results of molecular analysis of variance indicate the existence of significant genetic diversity differences between the fish of the studied farms ($p < 0.001$). The results of F_{ST} test showed that the genetic differentiation between the breeding populations in this study is moderate and was evident the shift of breeders between different populations in the recent past or the use of a reference population and breeders with similar gene storage in propagation season among the studied farms. The findings of this study suggest that high mixing of populations with each other and factors such as selection and current policies of each farm may have led to a reduction in genetic diversity and differentiation between populations. The results of this study can be used to manage breeding stocks and breeding programs of this important commercial species.

Keywords: Genetic diversity, Rainbow trout, Selected farms, West Azerbaijan Province, Microsatellite

*Corresponding author