



## مقاله علمی - پژوهشی:

# مطالعه نوع ژنتیک پیش‌مولدین ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) پرورشی مزارع منتخب استان آذربایجان غربی با استفاده از روش ریزماهواره

سلطنت نجار لشگری<sup>\*</sup>، محمد پورکاظمی<sup>۲</sup>، سجاد نظری<sup>۳</sup>، ابوالفضل سپهداری<sup>۲</sup>، رقیه محمودی<sup>۳</sup>

<sup>\*</sup>se\_lashgari@yahoo.com

۱- مرکز تحقیقات ماهیان سردآبی، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تکابن، 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 پیش‌مولدین ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) پرورشی مزارع منتخب استان آذربایجان غربی (۱، ۲ و ۳) با استفاده از هفت چفت 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 آلل ها و تعیین اندازه آنها از الکتروفورز عمودی ژل پلی اکریل آمید ۶٪ و رنگ-آمیزی نیترات نقره استفاده شد. محاسبات مربوطه با استفاده از نرمافزارهای Excel و Pop Gene INTAS GEL DOC صورت پذیرفت، بر اساس نتایج، بیشترین تعداد آلل واقعی (۷/۷۱) و مقدار هتروزایگوستی مشاهده شده (۱۲/۰۰±۰/۴۶) در ماهیان مزرعه (۳) و کمترین تعداد آلل واقعی (۵/۰۱±۰/۰۱) و مقدار هتروزایگوستی مشاهده شده (۰/۰۸±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 (۰/۰۷) 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 ی وجود اختلاف تنوع ژنتیک معنی دار 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 به گزینی 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 اصلاح نژادی این گونه مهم تجاری مورد استفاده قرار گیرد.

**لغات کلیدی:** تنوع ژنتیک، قزل‌آلای رنگین‌کمان، مزارع منتخب، استان آذربایجان غربی، ریزماهواره

\*نویسنده مسئول

**مقدمه**

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 آنزیم برشگر، تنوع نوکلئوتیدی و هاپلوتیپی جمعیت‌های مربوط به مولدین قزل‌آلای مناطق کلاردشت و کرج را مورد بررسی قرار داد و نتایج حاصل اختلاف معنی داری 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 ریزماهواره‌ها پرداختند و تمایز ژنتیک معنی داری را بین ذخیره ایرانی و جمعیت وارداتی از فرانسه گزارش نمودند. با توجه به ارزش اقتصادی بالای قزل‌آلای رنگین‌کمان در صنعت آبزی-پروری ایران و وجود جمعیت‌های مختلف پرورشی، ضرورت آگاهی از میزان تنوع ژنتیک هر جمعیت به منظور بهره‌برداری از آنها در برنامه‌های تکثیر، پرورش، به‌گزینی و اصلاح نژاد محسوس می‌باشد. لذا این مطالعه به منظور بررسی تنوع ژنتیک پیش‌مولدین ماهی قزل‌آلای رنگین-کمان پرورشی مزارع منتخب استان آذربایجان غربی با استفاده از روش ریزماهواره 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 به منظور 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

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

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 (پیکو دراپ) در طول موج‌های ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر انجام شد و از ۷ جفت آغازگر ریز-ماهواره که دارای فراوانی آللی بیشتری در مطالعات پیشین Palti (et al., 2002) بودند و تنوع جمعیت‌ها را به خوبی نشان داده بودند (McQuown et al., 2000) 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	کد دستیابی در GenBank
۱	OMM1304	ATAGATGTTAAAGACAGAGCAGAC GCAGAGAGGAAATCGGTGA	۵۴	G73544
۲	OMM1305	AATTGGCACCCCTCTCGTCTG AAACAGGGAGTGTGGCACAAA	۵۸	G73545
۳	OMM1308	GCTCTGGTTCAAGTTGGTTG CATTGGTCATAGCCTACA	۵۴	G73548
۴	OMM1311	CCCAGTGCCACTCAAGTTCA GTGCAGAGAAAGCCACGATT	۵۴	G73551
۵	OMM1316	TTCGGAGGGAGACAGTTGTCA CACCCCAGAGGAAATTAGAC	۵۸	G73555
۶	OMM1318	TGATCCACTCATCCAACCACC GAACGCAGCTCCACAAATA	۵۸	G73557
۷	OMM1322	GCGCTCCTTTCATCTGTACAG GGTGAATACTTTCGCAAGCC	۵۸	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 آتبیه-طب ایرانیان) و ژل پلی‌اکریل‌آمید ۶ درصد، ارزیابی و جهت نمایان شدن باندهای DNA با استفاده از روش نیترات نقره رنگ‌آمیزی شدند (Bassam et al., 1991). در نهایت برای مشاهده باندها از دستگاه مستندساز ژل (مدل Gel Stick touch 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 ۳۱

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 الكل اتانول ۹۶° تثبیت (Barber et al., 2000) و برای انجام آزمایش‌های مولکولی به آزمایشگاه ژنتیک مرکز تحقیقات ماهیان سردادایی کشور-تنکابن منتقل گردید. استخراج DNA ژنومی با استفاده از روش استات آمونیوم (McQuown et al., 2000).

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

جهت انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمراز، مقدار ۰/۷۵ میکرولیتر  $MgCl_2$  (۱/۵ mM)، ۰/۴ میکرولیتر DNA ژنومی (۱۰۰ ng)، یک میکرولیتر از هر آغازگر (۱/۲ nM)، ۰/۲۵ میکرولیتر آنزیم تک DNA پلیمراز (u ۱)، بافر (۰/۱ mM) dNTPs (۱۰X) و ۰/۲۵ میکرولیتر PCR (۰/۱ mM) با اضافه نمودن آب مقطر دو بار تقطیر<sup>۱</sup> به حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر رسانده شدند. چرخه دمایی برای هر جایگاه ژنی شامل واسرشته‌سازی<sup>۲</sup> اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد (یک چرخه)، واسرشته‌سازی در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد (۳۰ چرخه)، الحق در دامنه دمایی ۴۸-۵۸ درجه

1- DDW

2 - Denaturation

باندی (۲۱۰-۲۳۰) مشاهده شد. همچنین بهترین درجه حرارت برای پهلوگیری آغازگرها بین ۴۸-۵۷ درجه سانتی‌گراد بود. در بررسی تعادل هاردی- واینبرگ (H-W) 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 هتروزایگوستی مشاهده شده ( $H_O$ ) و مورد انتظار ( $H_E$ ) در جایگاه‌ها و مزارع مورد مطالعه نشان داد که از نظر جایگاه، بیشترین مقدار هتروزایگوستی مشاهده شده (۰/۷۸) در جایگاه OMM1304 و کمترین مقدار آن (۰/۲۷) در جایگاه OMM1308 و از نظر مزرعه، بیشترین مقدار هتروزایگوستی مشاهده شده (۰/۱۲) در مزرعه (۳) و کمترین مقدار آن در مزرعه شماره (۲) مزرعه ( $0/0 \pm 34/08$ ) مشاهده شد. همچنین محاسبه ضریب افت هتروزایگوستی نشان داد که در مزرعه (۲) مقدار هتروزایگوستی مشاهده شده نسبت به هتروزایگوستی مورد انتظار کمتر بود (جدول ۳).

پذیرفت و در هر ژنوتیپ وجود یک باند به منزله هموزایگوستی و مشاهده دو باند به منزله هتروزایگوستی منظور گردید. برای ورود داده‌ها و ردیف کردن باندها از نرم افزار Excel، جهت امتیازدهی باندهای DNA محاسبه تعادل باندها، تعداد جایگاه‌های چندشکلی و درصد آنها، تعداد آلل واقعی ( $N_A$ ) و مؤثر ( $N_E$ ) برای هر جایگاه، هتروزایگوستی مشاهده شده ( $H_O$ ) 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; 1978) و تعادل هاردی- واینبرگ در تمامی گله‌ها و جایگاه‌های مورد مطالعه از آزمون مرربع کای ( $\chi^2$ ) نرم‌افزار Peakall and Smouse (2005) GeneAlex استفاده گردید.

## نتایج

هفت جفت آغازگر استفاده شده پس از انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمراز 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

نام جایگاه	ردیف	نموده باندی (bp)	(°C) دمای اتصال	تعداد آلل مشاهده شده
OMM1304	۱	۲۱۰-۲۳۰	۵۵	۶
OMM1305	۲	۱۸۹-۲۷۹	۵۶	۸
OMM1308	۳	۲۲۷-۳۱۷	۵۰	۱۳
OMM1311	۴	۲۱۹-۲۳۹	۵۵	۸
OMM1316	۵	۲۳۲-۳۷۶	۵۲	۱۱
OMM1318	۶	۱۵۸-۱۸۲	۵۷	۷
OMM1322	۷	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
$N_A$		۳	۶	۱	۷	۱۰	۶	۱۲	$۶/۴۲ \pm ۰/۰۱$
$N_E$	۱	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	$۰/۳۴ \pm ۰/۱۱$
$N_A$		۲	۴	۱	۶	۹	۵	۱۰	$۵/۲۹ \pm ۰/۰۱$
$N_E$	۲	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	$۰/۳۵ \pm ۰/۰۹$
$N_A$		۸	۹	۲	۷	۱۱	۷	۷	$۷/۷۱ \pm ۰/۰۰$
$N_E$	۳	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	$۰/۴۳ \pm ۰/۱۱$

(۲) و (۱) محاسبه شد (جدول ۵) و از نظر تمایز ژنتیک بین جمعیت‌ها اختلاف معنی‌دار وجود داشت ( $p < 0.001$ ).

جدول ۵: میزان تمایز ژنتیک ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان مزارع مورد مطالعه

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

مزرعه	۳	۲	۱
۱	.	.	.
۲	.	.	.
۳	.	.	.

از ضریب تصحیح بونفرونی در سطح آلفا ( $0.05$ ) استفاده شد.

Bonferroni correction coefficient was used at alpha level ( $0.05$ ).

بر اساس نتایج حاصل از آنالیز واریانس مولکولی میزان تنوع ژنتیک داخل افراد جمعیت‌ها،  $۸/۲/۱$ ، 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 ( $p < 0.001$ ).

بیشترین میزان فاصله ژنتیک ( $۰/۰۷$ ) و کمترین میزان شباهت ژنتیک ( $۰/۰۹۳$ ) بین ماهیان مزارع (۱ و ۳) و کمترین میزان فاصله ژنتیک ( $۰/۰۲$ ) و بیشترین میزان شباهت ژنتیک ( $۰/۰۹۸$ ) بین ماهیان مزارع (۲ و ۱) محاسبه شد (جدول ۴).

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

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

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

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 (۳ و ۱) و کمترین مقدار آن ( $۰/۰۳۴$ ) بین ماهیان مزارع (۲ و ۰).

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

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

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

هتروزایگوسیتی 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 هتروزایگوسیتی، در ماهیان مزرعه شماره ۳ مشاهده شد. محاسبه ضریب افت هتروزایگوسیتی نشان می‌دهد که در ماهیان مزرعه شماره ۲، مقدار هتروزایگوسیتی مشاهده شده نسبت به هتروزایگوسیتی مورد انتظار کمتر بود. کاهش هتروزایگوسیتی مشاهده شده نسبت به هتروزایگوسیتی مورد انتظار نشان‌دهنده‌ی کاهش در تغییر پذیری ژنتیک نمونه‌ها است و علت این کاهش، تنگناهای ژنتیک می‌باشدند که احتمالاً بر اثر شرایط زیست‌محیطی و آمیزش‌های خویشاوندی به وجود آمده و در نتیجه با گذشت زمان موجب کاهش آلل و کاهش هتروزایگوسیتی 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 هتروزایگوسیتی مشاهده شده و تعداد متوسط کل آلل‌های مشاهده شده به ترتیب ۰/۶۱۲ و ۱۱/۲۵ به دست آمد و اعلام گردید اگر چه تنوع ژنتیکی قابل توجهی درون دو جمعیت بسیار شبیه به یکدیگر بودند و دارد، اما این دو جمعیت اسپانیایی و آمریکایی وجود تمايز ژنتیک اندکی را نشان دادند (علیبور 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

## بحث

در این مطالعه جهت بررسی تنوع ژنتیک جمعیت‌های پیش‌مولدین قزل‌آلای رنگین‌کمان پرورشی از نشانگرهای ریزماهواره استفاده شد که به طور گسترده در مطالعات ژنتیک جمعیت گونه‌های ماهیان پرورشی استفاده شده است (Liu *et al.*, 2009). در بررسی‌های تنوع ژنتیک، غنای آلی از اهمیت بالایی برخوردار است؛ زیرا بالا بودن غنای آلی نشان‌دهنده‌ی 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 می‌باشدند (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

کمتر 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 راش ژنتیک و انتخاب انطباقی قرار دارد (Li *et al.*, 2007; Dorak, 2014). در این مطالعه تأثیر عوامل برهمزنده تعادل مانند اثر والاند، 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 م معدل ۰/۰۱۲ (علیپور و همکاران، ۱۳۹۱) و ۰/۰۱۷ (علیپور و همکاران، ۱۳۹۲)، تمایز ژنتیک متوسط ۰/۰۵۸ (محمودی و همکاران، ۱۳۹۲) و ۰/۰۸۹ (Silverstein *et al.*, 2004) محاسبه گردید. میزان تمایز ژنتیک در اکثر موارد کمتر از یک مشاهده شد زیرا چند شکلی ناشی از جهش به طور مؤثری میزان  $F_{ST}$  را کاهش می‌دهد. پایین بودن شاخص  $F_{ST}$  در بین مزارع ۱ و ۲ نشان‌دهندهٔ وجود جریان ژنی قابل توجه است. وجود تمایز ژنتیک متوسط بین ماهیان مزارع ۱ و ۳ را می‌توان به وجود تعادل 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 متتمادی، 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 می‌توانند از دلایل عمده این اختلاف ژنتیک باشند. جمعیت‌های مورد مطالعه در تمام جایگاه‌های مورد بررسی انحراف معنی‌داری (در سطوح معنی‌داری ۰/۰۱ و ۰/۰۰۱) از تعادل هارדי-واینبرگ را نشان دادند. به طور کلی یک عامل بهنهایی نمی‌تواند علت انحراف از تعادل را توضیح

هتروزاگوسیتی مشاهده شده و تعداد متوسط آلل در جمعیت قزل‌آلای لرستان به ترتیب ۰/۵۹۱ و ۰/۷۵ و در جمعیت قزل‌آلای فرانسوی به ترتیب ۰/۵۶۶ و ۱۰ گزارش شد (علیپور و همکاران، ۱۳۹۲). میانگین هتروزاگوسیتی مورد انتظار و مشاهده شده در دو جمعیت قزل‌آلای رنگین‌کمان پرورشی بومی شده در ایران و فرانسوی به ترتیب ۰/۶۸ و ۰/۵۳ و نیز ۰/۷۱ و ۰/۶۱ بود و تمایز ژنتیک معنی‌داری بین ذخیره ایرانی و جمعیت وارداتی از فرانسه مشاهده گردید (محمودی و همکاران، ۱۳۹۲). مقدار هتروزاگوسیتی مشاهده شده قزل‌آلای رنگین‌کمان در سه مزرعه پرورشی کشور با استفاده از هشت جایگاه ریز‌ماهواره بین ۰/۸۶۹ تا ۰/۹۱۶ گزارش شد (گرجی‌بور و نظری، ۱۳۹۲). مقایسه میزان هتروزاگوسیتی ماهیان قزل‌آلای پرورشی موجود در مزارع منتخب این مطالعه با سایر تحقیقات مشابه، نشان‌دهنده کاهش هتروزاگوسیتی در برخی موارد و یا افزایش هموزاگوسیتی به خصوص در مزارع ۱ و ۲ است. کاهش هتروزاگوسیتی می‌تواند ناشی از پدیده درون‌آمیزی، تنگنای جمعیتی، جمع‌آوری نمونه از خویشاوندان و اندازه کوچک جمعیت باشد (محمودی و همکاران، ۱۳۹۲). آمیزش غیر اصولی و بی‌برنامه مولدین در سالهای قبل نیز می‌تواند دلیل دیگری برای کاهش هتروزاگوسیتی و تعادل‌ها در مزارع منتخب باشد. میزان تمایز ژنتیک بین نمونه‌های مزارع مورد مطالعه با بررسی شاخص‌های  $F_{ST}$  ارزیابی گردید. 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. مقدار  $F_{ST}$  همیشه مثبت و بین عدد صفر (هیچ زیرجمعیتی وجود ندارد) و یک (وجود زیرجمعیت و جدایی کامل جمعیت‌ها) متغیر است. مقدار  $F_{ST}$  ۰/۰۵، ۰/۰۱۵، ۰/۰۰۵، ۰/۰۲۵، ۰/۰۱۵ به ترتیب نشان‌دهندهٔ سطح پایین، متوسط و بالای تمایز ژنتیک است. (Colihueque *et al.*, 2019). فاکتور  $F_{ST}$  به طور مستقیم یا غیر مستقیم با میزان جریان ژنی یا تعادل مهاجرت مؤثر ( $N_M$ ) 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)، (۲)۶۶: ۲۰۹-۱۹۹. Doi: 10.22059/jfisheries.2013.35697
- گرجی‌پور، 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: ۱۰۷-۹۳. Doi: 20.1001.1.10261354.1392.22.4.9.4
- لالویی، ف، رضوانی گیل‌کلایی، س، فاطمی، م، و تقیوی، م. ۱۳۸۷. بررسی ژنتیک جمعیت ماهی کپور معمولی حوضه جنوبی دریای خزر با استفاده از (mtDNA) RFLP-PCR. مجله علمی شیلات ایران، (۱۷)۲: ۱۰۲-۸۹. Doi: 10.22092/isfj.2008.115323
- مصطفی‌محمدی، ر. گندمکار، ح. عبدالحی، ح. متین فر، 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: ۸۵-۷۵. Doi: 10.22092/ISFJ.2017.110164

دهد و مجموعه‌ای از عوامل فوق که بیشتر ناشی از تکثیر مصنوعی هستند را می‌توان به عنوان 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 معزّی 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 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 به خصوص مزارع ۱ و ۲، به‌گزینی و تکثیر غیر تصادفی منجر به گسترش تعداد محدودی از آل‌های 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 <sup>۳</sup> توصیه می‌گردد به منظور حفظ و ارتقاء تنوع ژنتیک از ماهیان نر و ماده این مزرعه (شماره<sup>۳</sup>) برای لقاح با ماهیان نر و ماده مزارع ۱ و ۲ استفاده و به منظور 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 به عنوان مهمترین گونه پرورشی سرآبی کشور در حال تکثیر است، لازم است سیاست‌های مدیریتی به منظور انتخاب تعداد مولدین مناسب و طراحی آمیزش به منظور 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. Retrieved 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 (*Cirrohina molterolla*). 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* (Pisces: Galaxidae). *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
- Prodohl, 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.<sup>1\*</sup>; Pourkazemi M.<sup>2</sup>; Nazari S.<sup>3</sup>; Sepahdari A.<sup>2</sup>; Mahmoudi R.<sup>3</sup>

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 ( $0.46 \pm 0.12$ ) was observed in farm fish of No. 3 and the lowest number of real alleles ( $5.29 \pm 0.01$ ) and the amount observed heterozygosity ( $0.34 \pm 0.08$ ) 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 FST 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