

مطالعه تنوع زیستی خاویار تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) و

تاس ماهی روسی (*A. gueldenstaedtii*) حوضه جنوبی دریای خزر با استفاده از روش ریزماهوره

مجیدرضا خوش خلق ۱ - محمدپور کاظمی ۲

majidrezagu@yahoo.com

۱ استادیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دانشگاه گیلان، صومعه سرا، ایران

۲ دانشیار انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان، رشت، ایران

چکیده

مطالعه تنوع زیستی جمعیت‌های ماهیان خاویاری و مدیریت بهینه ذخایر آن، به دلیل ارزش اقتصادی خاویار آنان در دریای خزر امری اجتناب ناپذیر می‌باشد. بنابراین با استفاده از روش مولکولی میکروستلایت اقدام به بررسی تنوع زیستی خاویار تاس ماهی ایرانی و تاس ماهی روسی دریای خزر گردید. در این راستا تعداد ۱۰ نمونه خاویار از مولدین مختلف تاس ماهی ایرانی و تاس ماهی روسی آبهای خزر جنوبی تهیه گردید. نمونه‌ها در الکل اتیلیک ۹۶ درصد قرار داده و به آزمایشگاه ژنتیک مولکولی انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان (رشت) منتقل و مراحل مربوط به استخراج DNA و بررسی کمیت و کیفیت آن و واکنش زنجیره پلیمرز (PCR) با استفاده از ۹ جفت پرایمر و الکتروفورز محصول آن بر روی ژل پلی اکریل آمید ۶ درصد و رنگ آمیزی با نیترات نقره انجام شد. پس از شمارش و اندازه‌گیری الیها، کلیه پارامترهای ژنتیک جمعیت با استفاده از برنامه GenAlex محاسبه گردید.

در این بررسی در مورد تاس ماهی ایرانی و تاس ماهی روسی به ترتیب حداقل ۳ و ۳، و حداکثر ۸ و ۷ الل در هر لوکوس مشاهده شد. میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده به ترتیب بین ۰/۲-۱/۰ و ۰/۴-۰/۸ و مورد انتظار بین ۰/۵۸-۰/۸۴ و ۰/۵۶-۰/۸۶ و F_{st} محاسبه شده ۰/۰۸۵ بود. همچنین به دلیل بالا بودن میزان تنوع ژنتیکی در تاس ماهی ایرانی و روسی، عملاً روش میکروستلایت قادر به تعیین مارکر ژنتیکی برای تمایز خاویارهای این دو گونه ماهی نبود.

واژگان کلیدی: تاس ماهی ایرانی، تاس ماهی روسی، خاویار، دریای خزر، تنوع زیستی، میکروستلایت



مقدمه

ماهیان خاویاری از ماهیان ارزشمند و اقتصادی دریای خزر هستند که امروزه به دلیل صید بی رویه، ایجاد اختلال در مهاجرت به دلیل سازه های صنعتی، تخریب زیستگاه و مناطق تخم‌ریزی، افزایش آلودگی ها در محیطهای آبی، بهم خوردن نظم طبیعی هیدرولوژی رودخانه ها و بستر آنها و... در معرض خطر نابودی قرار گرفته و ذخایر آنها در دریای خزر به پایین ترین حد صید رسیده، بطوریکه صید قانونی این ماهیان در پنج کشور حاشیه ی خزر از ۲۶/۶ هزار تن در سال ۱۹۸۰ به حدود ۰/۵ هزار تن در سال ۲۰۰۶، و میزان صید این ماهیان در ایران طی ۱۴ سال (۲۰۰۵ - ۱۹۹۲) به میزان ۹۱/۸ درصد کاهش یافته است. بدین لحاظ تمام گونه های این ماهیان از جمله ماهیان خاویاری دریای خزر در لیست گونه های در معرض خطر انقراض (IUCN) و از سال ۱۹۹۸ به بعد در فهرست CITES قرار گرفته اند. لذا جهت حفاظت و نگهداری از ذخایر این ماهیان، شناخت کامل ژنتیک جمعیت آنان امری اجتناب ناپذیر می باشد. امروزه استفاده از نشانگرهای ملکولی DNA از جمله مایکروساتلایتها که متاثر از فاکتورهای محیطی نمیباشند در تخمین تنوع ژنتیکی رواج یافته است. این تحقیق در نظر دارد با استفاده از روش میکروستلایت، به شناسایی ساختار ژنتیک جمعیت تاس ماهی روسی و ایرانی بر اساس خاویار استحصالی از مولدین آنان بپردازد. امید است انجام این مطالعات در دریای خزر و نتایج حاصل از آن بتواند کمک مؤثری به مدیریت ذخایر و مراکز تکثیر مصنوعی این ماهیان باشد.

مواد و روش کار

نمونه برداری به میزان ۱۰ گرم از نمونه خاویار تاسماهی روسی و تاسماهی ایرانی صید شده انجام گرفت و DNA ژنومی کل با استفاده از روش فنل و کلروفورم (Pourkazemi, 1996) استخراج گردید و در بافر استاندارد STE به همراه پروتیناز K به مدت ۲۴ ساعت هضم گردید. خالص سازی با استفاده از فنل و کلروفورم انجام گرفت و پس از رسوب DNA با الکل، در بافر TE حل گردید. کمی و کیفیت DNA با استفاده از روش های اسپکتروفتومتری و الکتروفورز ژل آگارز تعیین گردید. برای تعیین تنوع ژنتیکی در تاسماهی روسی از هشت پرایمر میکروستلایت استفاده شد. واکنش PCR در یک حجم ۲۵ میکرولیتری انجام گرفت که هر واکنش شامل مواد زیر بود:

برای هر پرایمر 0.2 μM dNTPs, 1.5 mM MgCl₂, 0.2 mM Taq, و یک واحد آنزیم Taq، ۵۰ نانوگرم DNA، 2.5 mM PCR Buffer (10x)، تکثیر جایگاهها در دستگاه ترموسایکلر (Eppendorf gradient) با شرایط ۹۴ درجه برای ۴ دقیقه و اسرشته شدن اولیه، ۹۴ درجه ۳۰ ثانیه، ۶۴-۶۰ درجه ۳۰ ثانیه، ۷۲ درجه ۳۰ ثانیه با تعداد ۳۵ سیکل و یک بسط نهائی ۷۲ درجه برای ۵ دقیقه انجام گرفت. قطعات تکثیر شده (محصول PCR) بر روی ژل پلی اکریل آمید ۶ درصد جدا سازی شده و پس از رنگ آمیزی با نیترات نقره با استفاده از نرم افزار Biocap طول قطعات محاسبه گردید.

آنالیز تنوع جمعیتها در جایگاههای میکروستلایتی شامل تعداد الیها در هر لوکوس، دامنه اندازه الیها، تعداد ژنوتیپها و میزان تنوع در هر جمعیت و لوکوس، فراوانی الی، هتروزیگوسیتی مورد انتظار و مشاهده شده، شباهت و فاصله ژنتیکی (Nei, 1978) با استفاده از نرم افزار GenAlex انجام گرفت.



دانشگاه علوم کشاورزی
و منابع طبیعی گرگان

نخستین همایش ملی منابع شیلاتی دریای خزر



نخستین همایش ملی
منابع شیلاتی دریای خزر

نتایج

به منظور بررسی امکان تفکیک خاویار گونه تاسماهی ایرانی از گونه تاسماهی روسی تعداد ۵ نمونه خاویار عمل آوری شده از ۵ مولد مختلف تاسماهی ایرانی تهیه شد. از بین ۹ پرایمر استفاده شده در این بررسی ۱ پرایمر از آنها در ۲ محل تولید بانده نمود.

جدول ۱ اندازه آللها (جفت باز) در جایگاه های مورد بررسی خاویار تاسماهی ایرانی

شماره نمونه	Ls-19	Ls-39	Ls-34	Ls-68/1	Ls-68/2
۱	۱۴۴-۱۵۳	۱۵۳-۱۶۵	۱۵۰-۱۷۷	۱۳۶-۱۵۲	۲۲۰-۲۱۶
۲	۱۴۱-۱۵۳	۱۵۳-۱۵۳	۱۴۷-۱۵۶	۱۴۴-۱۵۲	۲۲۰-۲۲۰
۳	۱۴۷-۱۶۲	۱۳۵-۱۴۷	۱۴۴-۱۶۸	۱۴۸-۱۴۸	۲۰۸-۲۲۰
۴	۱۴۷-۱۶۸	۸۴-۱۵۶	۱۴۱-۱۴۱	۱۳۶-۱۵۲	۲۱۶-۲۱۶
۵	۱۴۱-۱۹۲	۴۴-۱۵۳	۱۴۱-۱۷۱	۱۴۴-۱۴۴	۲۱۶-۲۳۲

شماره نمونه	Spl-105	Spl-168	Spl-170	Spl-173	Spl-163
۱	۱۴۴-۱۴۴	۲۳۴-۲۹۰	۲۱۰-۲۱۰	۲۶۸-۲۶۸	۲۱۲-۲۲۴
۲	۱۴۴-۱۶۰	۲۸۴-۲۸۴	۲۱۰-۲۱۰	۲۷۰-۲۷۰	۱۷۸-۱۹۰
۳	۱۳۰-۱۵۶	۲۶۰-۲۸۴	۲۰۰-۲۱۴	۲۵۴-۲۵۴	۱۹۰-۲۰۶
۴	۱۴۴-۱۴۴	۲۶۰-۲۸۴	۲۰۰-۲۱۰	۲۵۴-۲۵۴	۱۹۰-۲۱۲
۵	۱۴۰-۱۴۰	۲۸۴-۲۸۴	۲۰۰-۲۱۴	۲۴۰-۲۵۴	۲۰۰-۲۱۲



جدول ۲ جایگاه ها، اندازه و تعداد آلل، برنامه PCR و غلظت مواد مورد استفاده خاویار تاسماهی ایرانی

جایگاه ژن	کد دسترسی در بانک ژن	اندازه آلل	تعداد آلل	برنامه PCR	غلظت مواد	دمای اتصال سانتیگراد
Ls-19	U72730	۱۹۲-۱۴۱	7	94/3min[94/30sec, 60/25sec and 72/30sec] ³⁰ , 72/5min	1.3mM MgCl ₂ , 150 MdNTPs, 10pmol each primer and 1.2UTaq DNAPolymeraz	60
Ls-34	U72733	177-141	7	94/3min[94/30sec, 51/25sec and 72/30sec] ³⁰ , 72/5min	1mM MgCl ₂ , 200 μMdNTPs, 20pmol each primer and 1UTaq DNAPolymeraz	51
Ls-39	U72734	165-44	8	94/3min[94/30sec, 57/25sec and 72/30sec] ³⁰ , 72/5min	1.5mM MgCl ₂ , 150μMdNTPs, 15pmol each primer and 0.75 UTaq DNAPolymeraz	57
Ls-68	U72739	۱۵۲-۱۳۶ ۲۳۲-۲۰۸	۴ ۴	94/3min[94/30sec, 62/25sec and 72/30sec] ³⁰ , 72/5min	1mM MgCl ₂ , 200 μMdNTPs, 20pmol each primer and 1UTaq DNAPolymeraz	62
Spl-105	AF276174	۱۶۰-۱۳۰	5	94/3min[94/30sec, 58/30sec and 72/30sec] ³⁰ , 72/5min	1.5mM MgCl ₂ , 200 μMdNTPs, 20pmol each primer and 1.5UTaq DNAPolymeraz	۵۸
Spl-168	AF276210	290-234	4	94/3min[94/30sec, 58/30sec and 72/30sec] ³⁰ , 72/5min	1.5mM MgCl ₂ , 200 μMdNTPs, 20pmol each primer and 1.5UTaq DNAPolymeraz	۵۸
Spl-170	AF276213	214-200	3	94/3min[94/30sec, 58/30sec and 72/30sec] ³⁰ , 72/5min	1.5mM MgCl ₂ , 200 μMdNTPs, 20pmol each primer and 1.5UTaq DNAPolymeraz	۵۸
Spl-173	AF276216	270-240	4	94/3min[94/30sec, 58/30sec and 72/30sec] ³⁰ , 72/5min	1.5mM MgCl ₂ , 200 μMdNTPs, 20pmol each primer and 1.5UTaq DNAPolymeraz	۵۸
Spl-163	AF276205	224-178	6	94/3min[94/30sec, 58/30sec and 72/30sec] ³⁰ , 72/5min	1.5mM MgCl ₂ , 200 μMdNTPs, 20pmol each primer and 1.5UTaq DNAPolymeraz	۵۸



دانشگاه علوم کشاورزی
و منابع طبیعی گرگان

نخستین همایش ملی منابع شیلاتی دریای خزر



نخستین همایش ملی
منابع شیلاتی دریای خزر

جدول ۳ اندازه آلهها (جفت باز) در جایگاه های مورد بررسی خاویار تاسماهی روسی

شماره نمونه	Ls-19	Ls-39	Ls-34	Ls-68/1	Ls-68/2
۱	۱۴۱-۱۵۳	۱۲۹-۱۲۹	۱۵۰-۱۵۰	۱۳۶-۱۴۰	۲۴۴-۲۴۴
۲	۱۴۴-۱۴۴	۱۲۹-۱۵۶	۱۴۴-۱۵۰	۱۴۴-۱۴۴	۲۱۲-۲۳۲
۳	۱۴۱-۱۵۳	۱۲۹-۱۵۶	۱۴۷-۱۵۳	۱۴۴-۱۵۲	۲۱۶-۲۱۶
۴	۱۴۴-۱۴۴	۱۲۹-۱۵۰	۱۵۳-۱۵۹	۱۵۶-۱۵۶	۲۳۲-۲۳۲
۵	۱۴۱-۱۵۳	۱۲۹-۱۵۰	۱۵۳-۱۵۹	۱۵۶-۱۵۶	۲۰۸-۲۱۲

شماره نمونه	Spl-105	Spl-168	Spl-170	Spl-173	Spl-163
۱	۱۴۰-۱۴۰	۲۸۴-۲۸۴	۲۰۰-۲۱۴	۲۵۴-۲۶۴	۲۰۰-۲۰۰
۲	۱۳۰-۱۳۶	۲۶۰-۲۸۴	۲۰۰-۲۳۴	۲۳۴-۲۵۰	۱۷۸-۲۰۰
۳	۱۳۰-۱۴۰	۲۵۰-۲۷۶	۲۰۴-۲۳۰	۲۴۰-۲۵۴	۱۷۸-۲۰۰
۴	۱۳۰-۱۴۴	۲۷۶-۲۷۶	۲۰۴-۲۲۰	۲۵۴-۲۵۴	۱۷۸-۲۰۰
۵	۱۴۴-۱۴۴	۲۸۴-۲۸۴	۲۱۰-۲۱۰	۲۵۴-۲۵۴	۱۷۸-۲۰۶



دانشگاه علوم کشاورزی
و منابع طبیعی گرگان

نخستین همایش ملی منابع شیلاتی دریای خزر



نخستین همایش ملی
منابع شیلاتی دریای خزر

جدول ۴ جایگاه ها، اندازه و تعداد آل، برنامه PCR و غلظت مواد مورد استفاده خاویار تاسماهی روسی

جایگاه ژن	کد دستیابی در بانک ژن	اندازه آل	تعداد آل	برنامه PCR	غلظت مواد	دمای اتصال
Ls-19	U72730	۱۴۱-۱۵۳	۳	94/3min[94/30sec, 60/25sec and 72/30sec] ³⁰ ,72/5min	1.3mM MgCl ₂ , 150 MdNTPs, 10pmol each primer and 1.2UTaq DNAPolymeraz	60
Ls-34	U72733	144-159	3	94/3min[94/30sec, 51/25sec and 72/30sec] ³⁰ ,72/5min	1mM MgCl ₂ , 200 μMdNTPs, 20pmol each primer and 1UTaq DNAPolymeraz	51
Ls-39	U72734	129-156	5	94/3min[94/30sec, 57/25sec and 72/30sec] ³⁰ ,72/5min	1.5mM MgCl ₂ , 150μMdNTPs, 15pmol each primer and 0.75 Utaq DNAPolymeraz	57
Ls-68	U72739	۱۳۶-۱۵۶ 208-244	5 5	94/3min[94/30sec, 62/25sec and 72/30sec] ³⁰ ,72/5min	1mM MgCl ₂ , 200 μMdNTPs, 20pmol each primer and 1UTaq DNAPolymeraz	62
Spl-105	AF276174	۱۳۰-۱۴۴	4	94/3min[94/30sec, 58/30sec and 72/30sec] ³⁰ ,72/5min	1.5mM MgCl ₂ , 200 μMdNTPs, 20pmol each primer and 1.5UTaq DNAPolymeraz	۵۸
Spl-168	AF276210	۲۵۰-۲۸۴	4	94/3min[94/30sec, 58/30sec and 72/30sec] ³⁰ ,72/5min	1.5mM MgCl ₂ , 200 μMdNTPs, 20pmol each primer and 1.5UTaq DNAPolymeraz	۵۸
Spl-170	AF276213	۲۰۰-۲۳۴	7	94/3min[94/30sec, 58/30sec and 72/30sec] ³⁰ ,72/5min	1.5mM MgCl ₂ , 200 μMdNTPs, 20pmol each primer and 1.5UTaq DNAPolymeraz	۵۸
Spl-173	AF276216	۲۳۴-۲۶۴	5	94/3min[94/30sec, 58/30sec and 72/30sec] ³⁰ ,72/5min	1.5mM MgCl ₂ , 200 μMdNTPs, 20pmol each primer and 1.5UTaq DNAPolymeraz	۵۸
Spl-163	AF276205	۱۷۸-۲۰۶	3	94/3min[94/30sec, 58/30sec and 72/30sec] ³⁰ ,72/5min	1.5mM MgCl ₂ , 200 μMdNTPs, 20pmol each primer and 1.5UTaq DNAPolymeraz	۵۸

نتایج حاصل از بررسی ۵ نمونه خاویار تاسماهی ایرانی و ۵ نمونه خاویار تاسماهی روسی و الگوی باندی جایگاههای مورد بررسی در خاویار تاسماهی ایرانی و روسی به شرح ذیل می باشد:

جدول ۵ نتایج بررسی ۵ نمونه خاویار تاس ماهی ایرانی

جایگاه ژنی	تعداد نمونه	تعداد آلال واقعی	تعداد آلال مؤثر	شاخص شانون	هتروزیگوسیتی مشاهده شده	هتروزیگوسیتی مورد انتظار
Ls-19	5	7	6/250	1/887	1/0	0/84
Ls-39	5	7	4/545	1/748	0/8	0/78
Ls-34	5	8	6/250	1/973	0/8	0/84
Ls-68/1	5	4	3/846	1/366	0/6	0/74
Ls-68/2	5	4	2/941	1/194	0/6	0/66
Spl-105	5	5	3/125	1/359	0/4	0/68
Spl-168	5	4	2/381	1/089	0/6	0/58
Spl-170	5	3	2/632	1/030	0/6	0/62
Spl-173	5	4	2/941	1/221	0/2	0/66
Spl-163	5	6	4/545	1/643	1	0/78

جدول ۶ نتایج بررسی ۵ نمونه خاویار تاس ماهی روسی

جایگاه ژنی	تعداد نمونه	تعداد آلال واقعی	تعداد آلال مؤثر	شاخص شانون	هتروزیگوسیتی مشاهده شده	هتروزیگوسیتی مورد انتظار
Ls-19	5	3	2/941	1/089	0/6	0/66
Ls-39	5	3	2/273	0/950	0/8	0/56
Ls-34	5	5	4/167	1/505	0/8	0/76
Ls-68/1	5	5	3/571	1/418	0/4	0/72
Ls-68/2	5	5	4/545	1/557	0/4	0/78
Spl-105	5	4	3/571	1/314	0/6	0/72
Spl-168	5	4	2/778	1/168	0/4	0/64
Spl-170	5	7	6/250	1/887	0/8	0/84
Spl-173	5	5	2/500	1/228	0/6	0/60
Spl-163	5	3	2/381	0/943	0/8	0/58

Fst محاسبه شده = ۰/۰۸۵ شباهت ژنتیکی = ۰/۵۵۱ فاصله ژنتیکی = ۰/۵۹۶

در این بررسی در مورد تاس ماهی ایرانی و تاس ماهی روسی به ترتیب حداقل ۳ و ۳، و حداکثر ۸ و ۷ ال در هر لوکوس مشاهده شد و میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده به ترتیب بین ۰/۲-۱/۰ و ۰/۴-۰/۸ و مورد انتظار بین ۰/۵۸-۰/۸۴ و ۰/۵۶-۰/۸۶ و F_{st} محاسبه شده ۰/۸۵ بود. همچنین به دلیل بالا بودن میزان تنوع ژنتیکی در تاس ماهی ایرانی و روسی، عملاً روش میکروستلایت قادر به تعیین مارکر ژنتیکی برای تمایز خاویارهای این دو گونه ماهی نبود.

بر اساس مقایسه ژنتیکی خاویار تاس ماهی ایرانی و تاس ماهی روسی مشخص گردید که میزان تنوع ژنتیکی در تاس ماهی ایرانی بیشتر از تاس ماهی روسی بوده است. بنحوی که هم در تعداد ال واقعی، ال موثر، شاخص شانون و هتروزیگوسیتی مشاهده شده مقادیر بدست آمده بیشتر از گونه تاس ماهی روسی است. با توجه به بالا بودن میزان تنوع ژنتیکی عملاً روش میکروستلایت قادر نبود مارکر ژنتیکی برای تمایز خاویارهای دو گونه را نشان دهد و در تمامی لوسای بررسی شده، شباهت ژنتیکی و الی مشاهده شد.

بحث

روشهای مطالعه ساختار ژنتیک جمعیت گونه های گیاهی و جانوری از دو دهه گذشته روند تکاملی خود را طی می کند بطوریکه از پارامترهای مورفومتریکی و مریستیک بتدریج بسوی مطالعات بیوشیمیایی و سپس مولکولی مبتنی بر DNA و mtDNA رشد نمود. امروزه استفاده از نشانگرهای مولکولی DNA از جمله میکروستلایت ها بدون تأثیر از فاکتورهای محیطی، در تخمین تنوع ژنتیکی رواج یافته و ریزماهوره ها در زمره یکی از روشهای نوین برای مطالعه جمعیت ها از جمله آبیان قرار گرفته است. در بررسی که توسط Robles و همکاران (۲۰۰۴) انجام شد خصوصیات ساتلایت DNA در خانواده تاسماهیان مورد ارزیابی قرار گرفت و نتایج بررسی فوق نشان داد که در ۱۳ گونه متعلق به جنس تاسماهی و فیل ماهی و پاروپوزه که همگی متعلق به خانواده تاسماهیان می باشند این توالی DNA به صورت حفاظت شده و بدون تغییر مانده یعنی موتاسیونی در آنها صورت نگرفته است و نتیجه گیری شده که این یکی از ماهوارک های DNA است که تا کنون شناسایی شده و احتمالاً به ۱۰۰ میلیون سال قبل تخمین زده می شود. از طرف دیگر بیشتر ماهوارک های DNA به صورت اختصاصی و بر حسب گونه می باشند و این بررسی نشان داد که ماهوارک های DNA از لحاظ طول، توالی و ترکیب نوکلوتیدها بسیار متفاوت هستند. در این بررسی میزان بسیار بالای مناطق حفاظت شده از DNA (بدون موتاسیون) میزان پایین تغییر در توالی و درجه اندک تکامل در ماهوارک های DNA تاسماهیان مشاهده شده است و این نتایج با چگونگی تکامل تاسماهیان مورد ارزیابی قرار گرفته است.

مطالعات مختلفی در خصوص ساختار ژنتیکی ماهیان خاویاری دریای خزر بر روی گونه های ازون برون و تاسماهی روسی (جمع آوری شده از آبهای ایران) با استفاده از روشهای مختلف (Mitochondrial) mtDNA و DNA هسته RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) انجام شد (Pourkazemi, Rezvani Gilkolaei, 1997) (Pourkazemi, 1996) و همکاران (۱۹۹۹).

اولین مطالعه مولکولی ساختار ژنتیکی تاس ماهیان جنوب دریای خزر توسط Pourkazemi در سال ۱۹۹۶ انجام گرفت. ساختار ژنتیک جمعیت تاسماهی روسی در سواحل ایرانی جنوب دریای خزر با استفاده از ژن D-Loop میتوکندری و روش PCR-RFLP توسط Pourkazemi و همکاران (۱۹۹۹) مورد مطالعه قرار گرفت و دو ژنوتیب A و B از تاسماهی روسی در آبهای ایران شناسایی نمود که نشان دهنده دو جمعیت مختلف در مناطق شرق و غرب ناحیه جنوبی دریای خزر است. مطالعات گونه‌های خاویاری دریای خزر توسط Rezvani Gilkolaei در سال ۱۹۹۷ انجام شد. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که تفاوت معنی‌داری در جایگاههای ژنی RAPD گروههای فیل ماهی متعلق به مناطق غرب و شرق دریای خزر وجود دارد. همچنین تاس ماهی ایرانی و فیل ماهی در یک کلاستر، و ماهی شیب و ازون برون در کلاستر جداگانه دیگر قرار گرفته و بین تاس ماهی روسی با فیل ماهی ایرانی خویشاوندی نزدیکی مشاهده شد. قرائی (۱۳۸۰) با استفاده از روش RAPD توانست دو گونه تاسماهی ایرانی و روسی را از هم تفکیک کند. در مطالعه دیگری ساختار ژنتیکی تاسماهی ایرانی در رودخانه سفیدرود با استفاده از روش RFLP مورد مطالعه قرار گرفت ولی اختلاف معنی‌داری با نمونه‌های جمع‌آوری شده در منطقه جنوب شرقی و جنوب غربی دریای خزر مشاهده نگردید و مارکری برای شناسایی جمعیت تاسماهی ایرانی رودخانه سفیدرود ارائه و معرفی نشد (عطائی ۱۳۸۱). همچنین مقایسه تنوع ژنتیکی ماهی شیب در سواحل جنوبی دریای خزر و رودخانه اورال با استفاده از روش RFLP انجام شده است (قاسمی ۱۳۸۲). نتایج این بررسی نشان می‌دهد ماهی شیب جنوب دریای خزر از لحاظ تنوع ژنتیکی با ماهی شیب رودخانه اورال متفاوت می‌باشد و مارکر مولکولی برای شناسایی این دو جمعیت معرفی شده است.

شعبانی (۱۳۸۴) با انجام بررسی دو ناحیه D-Loop و ND 5/6 در روی میتوکندری توانست ازون برون ولگا و حوزه جنوبی خزر را از هم جدا کند. صفری (۱۳۸۵) در بررسی ساختار جمعیتی ماهی شیب سواحل جنوبی خزر و رودخانه اورال سطح بالایی از تنوع (۰/۷۵) با متوسط تعداد الهای مشاهده شده ۱۰/۸ و موثر ۷/۶ و انحراف از تعادل هاردی واینبرگ ۶ ترکیب از ۱۸ ترکیبات مختلف جایگاه - جمعیت $P < ۰/۰۰۱$ را در ماهی شیب مشاهده کرد. علت چنین امری را می‌توان تکامل غیر هم‌جهتی دانست که در جمعیت‌های مختلف برای یک جایگاه خاص در طول زمان در اثر تفاوت‌های جغرافیایی و نیز مناطق پراکنش آنها روی داده است و همچنین می‌توان این عدم تعادل را به عدم تصادفی بودن نمونه‌گیری به جهت کوچک بودن اندازه جمعیت، مهاجرت و جهش نسبت داد. در بررسی فوق نیز سطح بالایی از تنوع ژنتیکی ($H_o=۰/۸۵$) مشاهده گردید که تاییدی بر قابلیت بالای میکروساتلایتها میباشد. همچنین در بررسی فوق ساختار جمعیتی ماهی شیب سواحل جنوبی خزر و رودخانه اورال، جمعیت رودخانه اورال را از حوضه جنوبی جدا کرده و اعلام کرد که احتمالاً درحوضه جنوبی خزر نیز بیش از یک جمعیت وجود دارد و پدیده homing fidelity را در این امر دخیل دانست. بر طبق نتیجه حاصله از این بررسی نیز احتمالاً جمعیت‌های اورال و ولگا و حوضه جنوبی خزر از یکدیگر جدا میباشند و احتمالاً فاصله جغرافیایی در این میان نقش دارند.

در این بررسی باتوجه به نتایج بدست آمده در مورد نمونه‌های خاویار تاس ماهی ایرانی و تاس ماهی روسی می‌توان اذعان نمود که به دلیل بالا بودن میزان تنوع ژنتیکی در تاس ماهی ایرانی و روسی، عملاً روش میکروستلایت قادر به تعیین مارکر ژنتیکی برای تمایز خاویارهای این دو گونه ماهی نبود.

منابع

۱. شعبانی، ع. ۱۳۸۴. مقایسه جمعیت های مولدین ماهی اوزون برون (*Acipenser stellatus*) در بخش شمالی (رودخانه ولگا) و جنوبی دریای خزر با روش های مولکولی (PCR-RFLP) موفولوژیکی و برخی از نرماتیوهای تکثیر آن. پایان نامه دکتری شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. ۱۲۰ صفحه.
۲. صفری، ر.، ۱۳۸۵. بررسی ساختار جمعیت ماهی شیپ در سواحل جنوبی دریای خزر و رودخانه اورال با استفاده از روش میکروستلایت. پایان نامه کارشناسی ارشد شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. ۱۲۰ صفحه.
۳. عرفانی مقدم، وحید. ۱۳۸۲. حفاظت شدگی و توانایی ایجاد پلی مورفوسیم میکروساتلایت های EST در تعدادی از گونه های مرتعی خانواده Leguminosae ایران. پایان نامه کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشگاه کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، ۱۳۴ صفحه.
۴. عطایی، ف. ۱۳۸۱. بررسی تنوع ژنتیکی تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) در رودخانه سفیدرود با استفاده از روش مولکولی PCR-RFLP روی mtDNA و اطلاعات مورفولوژیکی. پایان نامه کارشناسی ارشد علوم جانوری، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهید بهشتی، ۱۵۷ صفحه.
۵. قاسمی، ا. ۱۳۸۲. مقایسه تنوع ژنتیکی ماهی شیپ (*Acipenser undiventris*) در سواحل جنوبی دریای خزر و رودخانه اورال با استفاده از روش PCR-RFLP پایان نامه کارشناسی ارشد بیولوژی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، ۷۴ صفحه.
۶. خوش خلق، م. ر. مقایسه ساختار ژنتیک جمعیت تاس ماهی ایرانی در سواحل جنوبی، و تاس ماهی روسی در سواحل جنوبی و شمالی دریای خزر با استفاده از روش میکروستلایت. پایان نامه دکتری رشته شیلات. گرگان. دانشکده شیلات و محیط زیست. دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. سال ۱۳۸۵. صفحه ۲.

7. Billard R, Lecointre G. Biology and conservation of sturgeon and paddlefish Review in fish. Biology and fisheries. **2001**.(10) : 355-392.

8. Birstein VJ. Sturgeon and paddlefishes: threatened fishes in need of Conservation Cons. Biol. **1993**.(7) :773-78.

9. Pourkazemi M. Caspian sea sturgeon conservation and fisheries past, present and future. J. of Appl. Ichthyol. **2006**.vol. 22(suppl.1). 1-4.

10. IUCN Red list categories. IUCN. **1996**. Gland. 21 P.

11. Ivanov VP, Vlasenko AD. The relict fish of the Caspian sea: The sturgeon. Fish Farming and fishing. **2001**. (1): 20-21.



دانشگاه علوم کشاورزی
و منابع طبیعی کرمان

نخستین همایش ملی منابع شیلاتی دریای خزر



نخستین همایش ملی
منابع شیلاتی دریای خزر

12. O'Reilly P, and Wright JM. The evolving technology of DNA fingerprinting and its application to fisheries and aquaculture. **1995.** j. Fish Bio. 47 (suppl.A) : 29-55.

ABSTRACT

Genetic structure of *Acipenser persicus*, and *Acipenser gueldenstaedtii* caviar in the Caspian Sea was studied using the microsatellite method. A total of five caviar samples of *A. persicus* and *A. gueldenstaedtii* breeders were collected from the sampling stations located in the Caspian sea. About 10g of samples was collected from each sturgeon specimen and preserved in 96% ethyl alcohol and then transferred to the genetic laboratory of the International sturgeon research Institute. Genomic DNA was extracted using the phenol-chloroform method. DNA quality and content was determined using spectrophotometry and agarose gel electrophoresis. Polymerase Chain Reaction (PCR) of genomic DNA fin samples was carried out using 9 pairs of microsatellite primers of which 8 pairs of primers produced bands and one of these pairs of primers produced bands in two regions. All PCR products were electrophoresed on 6% polyacrylamide gel and stained with silver nitrate. Following the scoring of alleles, all parameters related to population genetics were calculated using the GenAlex program. Number of alleles in *A. persicus* varied from a minimum of 3 to a maximum of 8 alleles per locus and that in *A. gueldenstaedtii* varied from a minimum of 3 to a maximum of 7 alleles per locus. The observed and expected heterozygosity was between 0.2-1.0 and 0.58-0.84, respectively in *A. persicus* and between 0.4-0.8 and 0.56-0.86, respectively in *A. gueldenstaedtii*.

Key words: *A. persicus*, *A. gueldenstaedtii*, caviar, Caspian Sea, biodiversity, Microsatellite,