تفاوت‌های ژنتیکی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) موجود در ایران و قزل‌آلای وارداتی از فرانسه

رقیه محمودی[۱]*، حبیب الله گندمکار[۱]، حسین علی عبدالحی[۲]، عباس متین فر[۳]، سهراب رضوانی گیل کلائی[۳]، سجاد نظری[۱]

* roghaye.mahmodi@gmail.com

۱-مرکز تحقیقات ژنتیک و اصلاح نژاد ماهیان سردابی شهید مطهری یاسوج، صندوق پستی: ۳۵۸-۷۵۹۱۴

۲-سازمان شیلات ایران

۳-موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، تهران، ۶۱۱۶-۱۴۱۵۵

تاریخ دریافت: تیر ۱۳۹۲ **تاریخ پذیرش: دی ۱۳۹۲**

چکیده

مهمترین گونه پرورشی آزاد ماهیان، قزل‌آلای رنگین‌کمان بومی ایران نیست و تخم چشم‌زدهٔ آن از کشور های مختلف وارد کشور شده و پرورش یافته است. در این مطالعه تنوع ژنتیکی دو گروه از مولدین قزل آلای پرورشی در ایران و وارداتی از فرانسه با کمک ۶ جفت آغازگر ریزماهواره OMM1019 ، OMM1036، OMM1307، OmyFGT5TUF، Omy77DU وOmy207UoG مورد بررسی قرار گرفت. میانگین تعداد آلل در جمعیت ایرانی ۶/۶۸ و در فرانسوی ۶/۸۳ محاسبه شد. میانگین تعداد آلل موثر در جمعیت های ایرانی و فرانسوی به ترتیب ۳/۱۳ و ۳/۴۵ بدست آمد. میانگین هتروزایگوسیتی مورد انتظار و مشاهده شده در دو جمعیت ایرانی و فرانسوی به ترتیب ۰/۶۸ و ۰/۵۳ و نیز ۰/۷۱ و ۰/۶۱تعیین شد. با بررسی تعادل هاردی واینبرگ برای هر جایگاه مشخص شد بیشتر لوکوسها در دو گروه از نظر آماری معنی دار بوده و انحراف از تعادل را نشان می دهند. شاخص F_{ST} بر مبنای فراوانی آللی معادل ۰/۰۵۸ بدست آمد که وجود اختلاف معنی دار در لوکوس های مورد نظر و تلاقی غیر تصادفی درون نژادی را نشان داد. نتایج این تحقیق وجود تمایز ژنتیکی معنی داری بین ذخیره ایرانی و جمعیت وارداتی از فرانسه را نشان داد.

لغات کلیدی: قزل آلای رنگین کمان ، *Oncorhynchus mykiss* ، تنوع ژنتیکی، ریزماهواره.

*نویسنده مسئول

مقدمه

مهمترین گونه پرورشی آزادماهیان در ایران، قزل‌آلای رنگین‌کمان است. این گونه بومی ایران نیست و نژاد اکثر قزل آلاهای رنگین کمان تفریخگاهها از رودخانه مک کلوود کالیفرنیا منشا می گیرد (Carlander, 1969)، که در سراسر جهان پراکنده شده و ۷۵ نژاد متمایز تولید کرده است(Kincaid *et al.,* 1977). متعاقب آن با جابجایی های اولیه در مورد قزل آلای بومی کالیفرنیا به نواحی دیگر، نژادهای زیادی با همدیگر و با منابع متفاوت آمیزش پیدا کرده اند و تنوع بزرگتری از نژادهای قزل آلای پرورش یافته در تفریخگاه ها ایجاد شده است. در ایران در دوره های مختلف تخم چشم‌زده از چندین کشور مانند دانمارک، فرانسه، نروژ، ایتالیا و انگلیس وارد کشور شده و به صورت غیر اصولی با یکدیگر اختلاط پیدا کرده و پرورش یافته اند که خود سبب ایجاد آسیب های جدی به ذخیره ژنی قزل آلاهای پرورشی در ایران و هم خونی ماهیان شده است و نیز بعلت تلاقی بیش از حد خانوادگی نژادهای مولدین موجود، کاهش رشد و تلفات زیاد در بچه‌ماهیان قزل‌آلا بوجود آمده است و بسیاری از بچه‌ماهیان موجود نیز ناهنجاریهای شکلی را نشان می دهند(عبدالحی ،۱۳۸۳). به طور کلی برای به حداکثر رساندن پتانسیل بیولوژیکی ماهیان، یکی از اهداف مدیریت کارگاه‌های تکثیر باید بکارگیری اصول اساسی ژنتیک و اصلاح نژاد در کارگاه باشد. بنابراین تنوع ژنتیکی برای بقای طولانی مدت یک گونه ضروری است(Bataillon *et al.*, 1996). مدیریت تنوع ژنتیکی در موجودات، نیازمند ارزیابی ساختار ژنتیکی و تفکیک ذخایر گونه مورد نظر است (Pujolar *et al.*, 2009). ریزماهواره ها از جمله مهمترین نشانگرهای مولکولی هستند که به طور گسترده ای در ژنوم موجودات زنده پراکنده شده اند (Chistiakov *et al.*, 2006). آنها به دلیل فراوانی و گستردگی بالا در ژنوم، هم بارز بودن، توارث مندلی، کوچک بودن اندازه جایگاه ژنی و در نتیجه سهولت تعیین ژنوتیپ از طریق واکنش زنجیره ای پلیمراز و همچنین چند شکلی بالا از جمله مناسب ترین نشانگرها هستند (Avise ,2000 ; Chen *et al.,* 2008 &Dewoody).

مطالعات مولکولی متعددی در زمینه ساختار ژنتیکی ماهی قزل آلای رنگین کمان پرورشی و وحشی با استفاده از ریزماهواره ها انجام شده است. Heath و همکاران (۲۰۰۱) با استفاده از ریزماهواره به بررسی ساختار ژنتیکی و روابط بین جمعیت های قزل آلای های رنگین کمان در کلمبیا پرداختند. Was و Wenne (۲۰۰۲) با استفاده از ریزماهواره به بررسی تفاوت ژنتیکی قزل آلای وحشی و پرورشی در نواحی غربی بالتیک پرداخته و بیان نمودند تعداد آلل ها در جمعیت تفریخگاه های مورد مطالعه در مقایسه با جمعیت های وحشی پایین تر بوده است. همچنین سطوح تنوع ژنتیکی سه سویه پرورشی قزل‌آلای رنگین‌کمان با استفاده از نه جایگاه ریزماهواره (Silverstein *et al.,* 2004)، تنوع ژنتیکی سویه‌های مختلف در شمال و شرق اروپا (فنلاند، دانمارک، سوئد، نروژ، استونی و لهستان) با استفاده از ده جایگاه ریزماهواره (Gross *et al.,* 2007)، تنوع ژنتیکی هفت گله پرورشی در نروژ با استفاده از ۱۲ جایگاه ریزماهواره (Glover, 2008) و تمایز ژنتیکی قزل‌آلای رنگین‌کمان کامچاتکا روسیه با استفاده از ۱۰ جایگاه ریزماهواره (Pavlov *et al*., 2011) بررسی شده است. در ایران نیز علیپور و همکاران(۱۳۹۲ الف و ب) در دو مطالعه جداگانه به بررسی ساختار ژنتیکی قزل آلاهای پرورشی اسپانیایی و آمریکایی و نیز قزل آلاهای پرورشی در لرستان و وارداتی از فرانسه پرداختند و تنوع ژنتیکی نسبتا مطلوبی را در دو جمعیت گزارش دادند. افضلی (۱۳۸۸) در خصوص ارزیابی تنوع ژنتیکی گله‌های پرورشی قزل-آلای رنگین‌کمان ایرانی با استفاده از نشانگر RAPD مطالعاتی را انجام داده اند.

بنابراین با توجه به ارزش اقتصادی بالای این گونه در صنعت آبزی پروری ایران و جمعیت های مختلف پرورشی و نبود مطالعات جمعیتی کافی و نیز با توجه به ملی بودن مرکز تحقیقات ژنتیک و اصلاح نژاد ماهیان سردابی شهید مطهری یاسوج، تولید، پخش تخم چشم زده و بچه ماهی از این مرکز به نقاط مختلف کشور و با علم به اینکه تأمین بچه‌ماهی با کیفیت مرغوب و افزایش تولید مشروط به شناسائی ژنتیکی نژاد مولدین است، این تحقیق به بررسی تنوع ژنتیکی مولدین موجود در مرکز یاسوج با استفاده از ریز ماهواره پرداخت.

مواد و روش کار

با توجه به اینکه مرکز تحقیقات ژنتیک و اصلاح نژاد ماهیان سردابی شهید مطهری یاسوج، از بدو تاسیس در سال ۱۳۶۴ از اولین و مهمترین مراکز تولید و ارسال تخم چشم زده ماهی قزل آلای رنگین کمان به سایر نقاط کشور بوده این مرکز به عنوان مکان تحقیق در پاییز ۱۳۹۲ انتخاب گردید. مولدین سه ساله این مرکز که در اولین سال رسیدگی جنسی قرار داشتند دارای دو ذخیره مجزا، یکی حاصل از تخم وارداتی از فرانسه (شرکت گسترش تجارت سبلان، نماینده انحصاری Aqualand) و دیگری که تخم چشم زده آنها طی چندین نسل پیش، از کشورهای مختلف وارد شده و به دلیل عدم ثبت دقیق اطلاعات مرتبط در خصوص اختلاط آن ها، یک گله تلقی شده و به عنوان مولدین بومی شده مرکز معرفی شدند. تعداد ۵۰ نمونه باله دمی از مولدین بومی شده و ۲۴ نمونه از مولدین فرانسوی تهیه شد. نمونه ها در ویال های حاوی الکل اتانول ۹۶٪ تثبیت شدند.

سپس ویال ها جهت بررسی های ژنتیکی و استخراج DNA به آزمایشگاه مولکولی مرکز تحقیقات ژنتیک و اصلاح نژاد ماهیان سردابی شهید مطهری یاسوج منتقل، در یخچال در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری و در ادامه DNA آنها طبق روش استاندارد فنل-کلروفرم (Hillis *et al.*,1996) استخراج شد. کیفیت و کمیت DNA استخراج شده از روشهای اسپکتروفتومتر(Beckman مدل DU،۵۲۰) و الکترفورز ژل آگاروز ۱٪ بررسی شد.

برای بررسی تنوع ژنتیکی بین دو جمعیت قزل آلا، ۶ جفت آغازگر ریزماهواره(Fishback *et al.*, 2000; Gross *et al.*, 2007) که مبنای انتخاب، فراوانی آللی بیشتر آن‌ها در مقایسه با سایر آغازگرها در مطالعات مشابه بود با مشخصات ذیل استفاده شد (جدول۱).

جدول ۱: جایگاه ژن، توالی تکراری، دمای اتصال (سانتیگراد)، منبع و توالی پرایمرهای مورد استفاده

ردیف	جایگاه ژن	منبع	توالی تکراری	توالی پرایمر	دمای اتصال (سانتیگراد)
۱	OMM1019	Gross et al., 2007	$(GATA)_{13}$	F- CCAGCAGTAAACCTTAGGTTG R- TCAAAGGAGACGTAGAGCTT	61
۲	OMM1036	Gross et al., 2007	$(GAA)_{29}$	F- TGTAGCAGGTGAGAATACCCA R- CACCATCTCCATCCTAGGC	62
۳	OMM1307	Gross et al., 2007	$(TTG)_{9}$	F- GCACAACTACGAAACCCAA R- TGCCAGCTCTGCTATGACATT	60
۴	OmyFGT5 TUF	Fishback et al, 1999	$(GTT)_{10}$	F- TCC AGC CAG ACA CAC ACG R- TCC TTT TCT TCC CTT TCT TTC C	58
۵	Omy77DU	Fishback et al, 1999	$(GACA)_{7}$ $(GATA)_{6}$	F- CGT TCT CTA CTG AGT CAT R- GTC TTT AAG GCT TCA CTG CA	57
۶	Omy207UoG	Fishback et al, 1999	$(GTT)_{10}$	F- ACC CTA GTC ATT CAG TCA GG R- GAT CAC TGT GAT AGA CAT CG	55

برای انجام PCR و تکثیر جایگاه‌های ژنی یک میکرولیتر DNA، ۰/۱۵ میکرولیتر آنزیم تک پلیمراز شرکت سینا ژن (۵ واحد در میکرولیتر)، ۰/۴ میکرولیتر از دزوکسید نوکلئوتید تری فسفات ها(۱۰ میلی مولار)، ۰/۷ میکرولیتر کلرید منیزیم(۵۰ میلی مولار)، ۲ میکرولیتر بافرPCR(10 X) ، یک میکرولیتر از هر پرایمر(۱۰ پیکومول) استفاده شد که در نهایت حجم آن با آب مقطر به۲۰ میکرولیتر رسید. شرایط چرخه دمایی برای هر جایگاه ژنی ۵ دقیقه در ۹۴ درجه سانتیگراد، در ادامه ۳۵ چرخه شامل ۹۴ درجه سانتی گراد برای ۳۰ ثانیه، درجه حرارت اتصال ۵۵-۶۲ درجه سانتیگراد ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتیگراد برای ۳۰ ثانیه با یک بسط نهایی ۷۲ درجه برای ۱۰-۳ دقیقه بود. محصول PCR به روش الکتروفورز با ژل پلی آکریل آمید ۶٪ با رنگ آمیزی نیترات نقره مورد ارزیابی قرار گرفت و اندازه قطعات حاصل از PCR با مارکر 100 bp از شرکت Fermentas بررسی و فراوانی اللی، هتروزیگوسیتی مورد انتظار و مشاهده شده، تعداد اللهای واقعی و تعداد الل‌های موثر در جایگاههای میکروساتلایتی، تعادل هاردی- واینبرگ از تست مربع لاتین X^2 ، شاخص F_{ST} و FIS بر اساس روش Weir و Cockerhman (1984) در نرم افزارهای Excel و GENEPOP (Raymond & Rousset, 1995) بدست آمدند. در تست تعادل هاردی- واینبرگ ضریب تصحیح Bonferroni نیز (α = ٪۵)در نظر گرفته شد (Rice, 1989) و سطح احتمال P با استفاده از این ضریب تعدیل شد.آنالیز دودویی F_{ST} برای تفکیک دو جمعیت از نرم افزار ARLEQUIN version 2.0 (Schneider et al., 2000) محاسبه گردید.

نتایج

از بین ۶ آغازگر استفاده شده همه آغازگرها تولید باندهای چندشکلی نمودند و در بررسی تنوع ژنتیکی دو گروه مورد استفاده قرار گرفتند. دو لوکوس OMM1307 و Omy77DU بیشترین تعداد پهلوگیری را در نمونه ها داشتند. کمترین پهلوگیری برای لوکوس Omy207UoG بدست آمد. بیشترین تعداد الل در هر دو نژاد فرانسوی و ایرانی مربوط به لوکوس OMM1036 بوده و مجموعاً ۲۰ الل را نشان داد که ۱۵ الل در گله ایرانی و ۱۳ الل در گله فرانسوی بودند و از این بین ۸ الل مشترک بین دو گروه بود. کمترین الل مربوط به لوکوس OmyFGT5TUF بود که ۵ الل را نشان داد. علاوه بر این، لوکوس OMM1036 بیشترین دامنه اللی را در دو گروه نشان داد در صورتی که لوکوس OmyFGT5TUF کمترین دامنه اللی را داشت. میانگین الل ها برای همه لوکوس ها ۹/۵ بود. دو لوکوس OMM1307 و Omy77DU بیشترین تعداد پهلوگیری را در نمونه ها داشتند. کمترین پهلوگیری برای لوکوس Omy207UoG بدست آمد. میانگین هتروزایگوسیتی مورد انتظار(H_e) در ذخیره ایرانی (۰/۶۸) و فرانسوی (۰/۷۱) و میانگین هتروزایگوسیتی مشاهده شده (Ho) در گله ایرانی (۰/۵۳) و فرانسوی (۰/۶۱) بدست آمد(جدول۲). میانگین تعداد آلل (Mna) در گله ایرانی (۶/۶۶) و در گله فرانسوی(۶/۸۳) و میانگین تعداد الل موثر (mAe) در گله ایرانی (۱۳ /۳) و در نژاد فرانسوی(۳/۴۵) محاسبه شد. بررسی تعادل هاردی - واینبرگ برای هر جایگاه در جدول۳ ارائه شده است. در بین جایگاههایی که ضریب اطمینان معنی داری را نشان دادند، بعد از انجام تست ضریب تصحیح Bonferroni نیز دارای اختلاف معنی دار بودند. با توجه به جدول مشخص می گردد بیشتر جایگاهها در دو گروه از نظر آماری معنی دار بوده و انحراف از تعادل را نشان می‌دهند.

شاخص تمایز F_{ST} بر مبنای فراوانی آللی بین نمونه های گله ایرانی و گله فرانسوی معادل ۰/۰۵۸ محاسبه شد.

جدول۲: تعداد الل واقعی، موثر، فراوانی بیشترین و کمترین الل، هتروزایگوسیتی در ۶ جایگاه مورد مطالعه در قزل آلای رنگین کمان

جمعیت	جایگاه	OMM1019	OmyFGT5TUF	OMM1036	Omy77DU	OMM1307	Omy207UoG
	Na	۸	۳	۱۵	۴	۶	۴
	ae	۴/۶۶	۱/۹۳	۶/۹۴	۱/۸۳	۳/۶۸	۱/۶۶
	F_{max}	۰/۳۴۶	۰/۷۴۸	۰/۳۲۹	۰/۴۰۶	۰/۴۶۹	۰/۳۵۶
	F_{min}	۰/۰۱۲	۰/۰۱۴	۰/۰۱۴	۰/۰۹۴	۰/۰۱۹	۰/۰۱۲
ایرانی	H_e	۰/۷۸۴	۰/۳۸۵	۰/۸۴۵	۰/۵۴۲	۰/۷۷۲	۰/۷۹۵
	H_o	۰/۵۰۵	۰/۴۳۷	۰/۷۳۲	۰/۳۹۵	۰/۶۳۵	۰/۵۳۴
	Na	۹	۴	۱۳	۴	۶	۵
	ae	۴/۶۹	۱/۱۵	۵/۴۶	۱/۶۵	۳/۴۵	۲/۴۳
فرانسوی	F_{max}	۰/۲۵۶	۰/۴۶۵	۰/۲۵۶	۰/۵۲۰	۰/۳۸۵	۰/۵۲۴
	F_{min}	۰/۰۱۲	۰/۰۲۱	۰/۰۱۰	۰/۰۰۸	۰/۰۱۰	۰/۰۱۳
	H_e	۰/۷۹۴	۰/۵۹۴	۰/۸۳۱	۰/۶۶۹	۰/۶۹۰	۰/۶۸۴
	H_o	۰/۵۴۳	۰/۶۲۵	۰/۷۴۲	۰/۴۴۱	۰/۷۰۲	۰/۶۵۰

Na: تعداد اللها در هر لوکوس- ae: تعداد الل موثر- F max: فراوانی بیشترین الل در هر لوکوس- F min: فراوانی کمترین الل در هر لوکوس- He : هتروزیگوسیتی مورد انتظار و Ho: هتروزیگوسیتی مشاهده شده

جدول ۳: بررسی تعادل هاردی- واینبرگ در جایگاههای مورد مطالعه در دو گله ایرانی و فرانسوی

لوکوس	گله ایرانی		گله فرانسوی	
	P	X^2	P	X^2
OMM1019	< ۰/۰۰۵*	۹۵/۴۶	< ۰/۰۰۵*	۱۱۲/۳۷
OMM1036	< ۰/۰۰۵*	۸۹/۲۳	< ۰/۰۰۵*	۱۲۳/۴۹
OMM1307	< ۰/۰۰۵*	۶۹/۶۶	۰/۲۱۷ (۰/۰۰۳)	۲۶/۷۴
OmyFGT5TUF	۰/۲۱۷ (۰/۰۰۳)	۳۱/۵۲	۰/۴۱۴ (۰/۰۰۴)	۳۸/۶۵
Omy77DU	< ۰/۰۰۵*	۷۸/۳۱	< ۰/۰۰۵*	۸۳/۴۴
Omy207UoG	< ۰/۰۰۵*	۶۴/۹۸	۰/۱۶۰ (۰/۰۰۵)	۴۱/۶۷

اشتباه از معیار در پرانتز آورده شده است- اعداد (*۰/۰۰۵ >) برای لوکوس ها معنی دار هستند.

بحث

الگوی تنوع ژنتیکی در نمونه های ماهیان پرورشی بر فعالیتهای آبزی پروری بسیار موثر بوده و پرورش دهندگان می توانند مدیریت بهتری نسبت به مولدین و بچه ماهیان داشته باشند.

کاهش تنوع ممکن است در چند نسل اتفاق بیفتد. کاهش تنوع ژنتیکی باعث کاهش جمعیتها و یا گونه ها خواهد شد و یا ممکن است بر توانایی یک جمعیت در قرار گرفتن در یک محیط جدید اثر گذاشته و یا باعث ایجاد بیماری شود (Kincaid, 1980; Reed *et al.*, 2003). در حال حاضر اثر کاهش تنوع ژنتیکی در جمعیتهای پرورشی عموما منجر به از دست دادن توانایی سازگاری با محیط اطراف می شود (Alledorf & Ryman, 1987; Perez *et al*., 2001). بررسی تنوع و تمایز ژنتیکی جمعیت های متفاوت قزل آلای رنگین کمان به عنوان مهمترین گونه پرورشی در ایران ضروری است. استفاده از ریزماهواره ها جهت مطالعه ساختار ژنتیکی جمعیت ها، در گونه هایی که با هم خویشاوندی بسیار نزدیک و یا کمی نزدیک دارند متداول است و معمولا موفقیت آمیز است. در این تحقیق نشانگرهای ریز ماهواره جهت بررسی تنوع و ساختار ژنتیکی دو گروه مولدین قزل آلای رنگین کمان تکثیر و پرورش یافته در ایران و وارداتی از فرانسه مورد استفاده واقع گردید. مطالعه حاضر نشان داد میانگین هتروزایگوستی قابل مشاهده در کل دو گله مورد بررسی ۰/۵۷ که در ذخیره گله ۰/۵۳ و در گله فرانسوی ۰/۶۱ بدست آمد. مقایسه میانگین تعداد الل در هر لوکوس (Mna) در گله فرانسوی (۶/۸۳) بیشتر از گله ایرانی (۶/۶۶) را نشان داد. کاهش آللی با فرکانس پایین و کاهش ناچیز در تغییر پذیری ژنتیکی ممکن است نشان دهنده تنگنای ژنتیکی یا اثرات آمیزش خویشاوندی باشد. تعداد اللهای در هر لوکوس در بررسی نمونه های دو گله ایرانی و گله فرانسوی در دامنه تعداد اللهای نژاد کانادایی مورد بررسی Fishback و همکاران (۲۰۰۰) بود. هرچند Fishback و همکاران (۲۰۰۰) و نیز Gross و همکاران (۲۰۰۷) تعداد نمونه های بیشتری را بررسی کردند. علیپور و همکاران(۱۳۹۲، ب) با استفاده از ۴ جایگاه ریزماهواره ای میزان هتروزایگوسیتی مشاهده شده در جمعیت قزل آلای رنگین کمان پرورشی لرستان را ۰/۵۹۲ و جمعیت قزل آلای فرانسوی ۰/۵۶۷ بدست آورد و نیز تعداد متوسط آلل در جمعیت پرورشی لرستان ۱۰/۷۵ و فرانسوی ۱۰ گزارش کرد. علیپور و همکاران (۱۳۹۲، الف) در تحقیق دیگری نیز با استفاده از ۴ جایگاه ریزماهواره میزان متوسط ۰/۶۱۲ و ۱۱/۲۵ را به ترتیب برای هتروزیگوستی مشاهده شده کل و تعداد متوسط کل آلل های مشاهده شده بین دو جمعیت قزل آلای رنگین کمان پرورشی اسپانیایی و آمریکایی گزارش داد. Narum و همکاران (۲۰۰۴) با استفاده از شش جایگاه مایکروستلایتی به بررسی تنوع ژنتیکی قزل آلای رنگین کمان آنادرموس و مقیم رودخانه والا در جنوب واشنگتن پرداختند و میانگین هتروزایگوسیتی کل ۰/۶۷ در هر دو جمعیت و متوسط آلل ۱۴/۱ برای هر جایگاه گزارش کردند. مقایسه هتروزایگوسیتی این تحقیق با سایر کارهای مشابه نشان دهنده کاهش هتروزایگوسیتی و یا افزایش هموزایگوسیتی در مطالعه حاضر به خصوص در گله ایرانی است. کاهش هتروزایگوسیتی می تواند ناشی از پدیده درون آمیزی و یا تنگنای جمعیتی، جمع آوری نمونه از خویشاوندان و اندازه کوچک جمعیت باشد. کاهش هتروزایگوسیتی در گله ایرانی به عنوان یک گونه پرورشی مهم را می توان با استفاده از تعداد کم مولدین در تکثیر و در نتیجه تولید نتاج زیادی از آنها که همگی پایه نسل بعدی هستند، توضیح داد. آمیزش غیر اصولی و بی برنامه گله ایرانی در طی سالهای گذشته و درون آمیزی خانوادگی در گله ایرانی می تواند دلیلی برای کاهش هتروزایگوزیستی و تعداد آلل باشد.

انحراف معنی دار از تعادل هاردی-واینبرگ در ذخیره ایرانی نسبت به جمعیت فرانسوی در تعداد بیشتری از لوکوس ها مشاهده شد. علاوه بر وجود الل های پوچ، کاهش هتروزیگوسیتی می تواند ناشی از آمیزش افراد خویشاوند و نیز وقوع بهگزینی در جمعیت ایرانی باشد. ناکافی بودن نمونه ها ، خطای نمونه برداری و پهلوگیری تعداد محدودی از الل ها از جمله دیگر عوامل گزارش شده برای انحراف از تعادل هاردی واینبرگ ذکر شده است (Zhao *et al*., 2005; Skalla *et al*., 2004; Dahle *et al*., 2006; Li *et al*., 2007; Chauhan *et al*., 2007). علیپور و همکاران(۱۳۹۲- ب) با استفاده از ریزماهواره انحراف از تعادل را به جفت گیری غیر تصادفی در قزل آلاهای ایرانی و در جمعیت فرانسوی به بهگزنی و حذف نوزادان ضعیف نسبت داد. علیپور و همکاران (۱۳۹۲- الف) در مقایسه ساختار ژنتیکی قزل آلاهای پرورشی جمعیت اسپانیایی و

آمریکایی با استفاده از ریزماهواره در اغلب جایگاهها انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ را گزارش داد.

شاخص F_{ST} برای اندازه گیری اختلاف بین نژادها بر اساس فراوانی آللی و هتروزیگوسیتی بدست آمد(Hartl & Clarke 1997). میانگین F_{ST} (۰/۰۵۸) نشان داد که دو گروه در لوکوسهای مورد بررسی با یکدیگر از نظر ژنتیکی اختلاف معنی داری دارند. میزان F_{ST} به صورت تئوری بین صفر و یک برآورد شده است که مقدار یک نشان دهنده عدم تنوع، صفر تا ۰/۰۵ تمایز ژنتیکی پایین، ۰/۰۵ تا ۰/۱۵ تمایز ژنتیکی متوسط و ۰/۱۵ تا ۰/۲۵ تمایز ژنتیکی بالا است. شاخص F_{ST} (۰/۰۱۷) در مطالعه علیپور و همکاران (۱۳۹۲ ب) با استفاده از ۴ لوکوس ماکروواستلایت بین جمعیت های قزل آلای پرورشی لرستان و فرانسوی تمایز پایینی را نشان داد. همچنین علیپور و همکاران (۱۳۹۲) در بررسی جمعیت های قزل آلای پرورشی اسپانیایی و آمریکایی با استفاده از ۴ جایگاه ماکروستلایتی مقدار F_{ST} را برابر با ۰/۰۱۲ و تمایز پایین و غیر معنی داری بین جمعیت ها گزارش داد. میزان تمایز بالا (۰/۰۸۹) در مطالعه Silverstein و همکاران (۲۰۰۴) در بررسی ۳ سویه اهلی قزل آلای رنگین کمان در آمریکا با استفاده از ۹ لوکوس ماکروستلایت گزارش شد. میزان F_{ST} بدست آمده در مطالعه حاضر تقریباً مشابه میزان ارائه شده توسط Gross و همکاران(۲۰۰۷) در بررسی تنوع و تفاوت ژنتیکی سویه های قزل آلای رنگین کمان در شمال و شرق اروپا با استفاده از ۱۰ لوکوس ماکروستلایت بود. وجود تمایز ژنتیکی معنی دار بین ذخیره ایرانی و جمعیت وارداتی از فرانسه در مطالعه حاضر را می توان با وجود تعداد الل بیشتر در جمعیت فرانسوی توجیه کرد چرا که در مطالعه با ریزماهواره ها تمایز ژنتیکی بر اساس شاخص F_{ST} با توجه به تفاوت فراوانی اللی محاسبه می شود. با توجه به منبع مشترک تمام قزل آلاهای رنگین کمان تفریخگاه ها از رودخانه مک کلود کالیفرنیا و نیز با توجه به اینکه مرکز تحقیقات ژنتیک و اصلاح نژاد ماهیان سردابی شهید مطهری یاسوج در دوره های گذشته تخم چشم زده از خارج کشور و ماهی مولد از نواحی مختلف داخلی وارد کرده و در مدت بیش از پانزده سال اقدام به پرورش و تکثیر آنها نموده است بنابراین احتمال اینکه ذخیره ایرانی در ادوار گذشته از فرانسه و از همین جمعیت وارد شده و با سایر جمعیت ها اختلاط یافته باشد وجود دارد. همچنین ممکن است این دو نژاد مخلوطی از نژادهای مختلف از مراکز پرورشی مختلف باشند. خصوصیات ژنتیکی گله فرانسوی و ایرانی نشان از این نکته دارد که تنوع ژنتیکی نسبتاً مطلوبی درون دو گله پرورشی در مرکز مورد بررسی وجود دارد با این وجود احتمال ناشی از بروز مشکلات ناشی از هم خونی در نسل های بعدی وجود دارد لذا لازم است جهت کاهش تنوع ژنتیکی به دلیل وقوع آمیزش خویشاوندی، نتاج حاصله مورد بررسی ژنتیکی قرار گیرند و این کار نیازمند مدیریت صحیح می باشد.

منابع

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

عبدالحی، ح.، سید قمی، م.، پورکاظمی، م.، رضوانی، س. و نادری منش، ح.، ۱۳۸۳. مطالعه جامع ژنتیک ملکولی و اصلاح نژاد ماهیان سردآبی ایران، موسسه تحقیقات شیلات ایران،۴۴ صفحه.

علیپور، ا.، درافشان، س. و قاسمی، ا.، ۱۳۹۲ (الف). ساختار ژنتیکی قزل آلای رنگین کمان پرورشی اسپانیایی و آمریکایی، مجله علمی شیلات ایران. ۶۱-۷۰ ,(۱)۲۲.

علیپور، ا.، درافشان، س. و قاسمی، ا.، ۱۳۹۲(ب). ارزیابی مقایسه ای تنوع ژنتیکی جمعیت قزل آلای رنگین کمان پرورشی استان لرستان و جمعیت وارداتی از فرانسه. نشریه شیلات مجله مناب طبیعی ایران. ۲۰۹-۱۹۹ ،(۲)۶۶.

Allendorf F. and Ryman F., 1987. Genetic Management of Hatchery stocks. Ryman, Population genetic and fishery management. University of Washington. pp. 141-143.

Bataillon T. M., David J. L. and Schoen D.J., 1996. Neutral genetic markers and conservation: Simulated germplasm collections. Genetics. 144, 409-417.

Carlander K.D., 1969. Handbook of freshwater fishery biology. Iowa State University. Press; Ames, IA. 752P.

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

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

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.

Dahle, G., Jorstad, K.E., R

usaas, H.E. and Ottera, H., 2006. Genetic characteristics of brood stock collected from four Norwegian coastal cod (*Gadus morpha*) populations. Marine Science. 63, 209-215.

Dewoody, J.A. and Avise, J.C., 2000. Microsatellite variation in marine, freshwater and anadromous fishes compared with other animals. Journal of Fish Biology. 56, 461-473.

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.

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

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

Hartl, D.L. and Clark, A.G., 1997. Population Substructure. In: Principles of Population Genetics (ed. by Sinauer Associates). pp. 111–162.

Heath, D. D., Pollard S. and Herbinger C., 2001. Genetic structure and relationships among steelhead trout *(Oncorhynchus mykiss)* populations in British Columbia. Heredity. 86, 618-627.

Hillis, D.M., Moritz, C. and Mable, B., 1996. Molecular systematics. 2nd edition. Sinauer Association Inc. Sunderland, MA. 655P.

Kincaid, H.L., Bridges, W.R. and Vonlimbach, B., 1977. Three generations of selection for growth rate

in fall spawning rainbow trout. Transactions of the American Fisheries Society. 106, 421-428.

Kincaid, H., 1980. Fish breeding manual. Kearneysville: U.S. Fish and Wildlife Service National Fisheries Center. 288P.

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

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, 417-488.

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

Perez, L., Winkler, F., Diaz, N., Carcamo, C. and Silva, N., 2001. Genetic variability in four hatchery strains of coho salmon, *Oncorhynchus kisutch* in Chile. Aquaculture Research. 32, 41-46.

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

Raymond, M. and Rousset, F., 1995. GENEPOP (v. 1.2): Population genetics software for exact tests and ecumenicism. Journal of Heredity. 86, 248–249.

Reed, D., Lowe, E., Briscoe, D. and Frankham, R., 2003. Fitness and adaptation in a novel environment: Effect of inbreeding, prior environment, and lineage. Evolution. 57,1822-1828.

Rice, W.R., 1989. Analyzing tables of statistical tests. Evolution, 43, 223-225.

Schneider, S., Roessli, D. and Excoffier, L., 2000. A software for population genetics data analysis. Genetics and Biometry Laboratory, University of Geneva.

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.

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

Was, A. and Wenne, R., 2002. Genetic differantation in hatchery and wild sea trout *(Salmo trutta)* in the

Southern Baltic at microsatellite loci. Aquaculture, 204, 493-506.

Weir, B.S. and Cockerham, C.C., 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. Evolution, 38, 1358–1370.

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

Genetic variations of Iranian and French stocks of Rainbow trout *(Oncorhynchus mykiss)*

Mahmodi R. [(1)*]; Gandomkar H. [(1)]; Abdolhai H.A. [(2)]; Matinfar A. [(3)]; Rezvani Gilkolai S. [(3)]; Sajad Nazari S. [(1)]

1-Genetic and Breeding Center for Cildwater Fishes,Shahid Motahari p.o.Box 75914-358 Yasouj, Iran.
2-Iranian Fisheries Organization
3-Iranian Fisheries Research Organization. P.O.Box 13185-116. Tehran, Iran.

*Roghaye.mahmodi@gmail.com

Key words: Rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss***,** genetic diversity, microsatellite

Abstracts

Rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* is the most important cold water farmed fish as a non-indigenous species in Iran. Eyed eggs have been imported from different countries to Iran. In this study, genetic diversity of 50 fish (male and female) from Iranian generation and 24 fish from French generation were evaluated. Six microsatellite markers including OMM1019 ،OMM1036 ،OMM1307 ، OmyFGT5TU ،Omy77DU and Omy207UoG were applied. Average number of observed alleles in the Iranian and the French stocks were 6.68 and 6.83, respectively. Average number of effective alleles in the Iranian and French stocks were 3.13 and 3.45, respectively. Mean expected and observed heterozygosis was 0.68, 0.53 and 0.71, 0.61 in Iranian and French stocks, respectively. The results showed significant deviation from Hardy-Weinberg equilibrium at the most of loci × stock. Fixation index F_{st} calculated based on allelic frequency between two stocks was 0.058 with significant difference between 2 stocks. The results of this study showed insignificant genetic differentiation based on six microsatellite loci.

*Corresponding author