ژنتیک نوین
دوره هشتم، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۲
صفحه ۲۲۰-۲۱۳

بررسی تنوع منطقه کنترلی ژنوم میتوکندریایی (D-loop) در دو تیپ مصبی و تالابی کپور معمولی وحشی *Cyprinus carpio* جنوب غربی دریای خزر با روش PCR-RFLP

An investigation on the PCR-RFLP variation of the mtDNA control region (D-Loop) in estuarine and wetland types of wild Common carp, *Cyprinus carpio,* in the South-West Caspian sea

فریبا فلاح باقری[۱]، سالار درافشان*[۲]، محمد پور کاظمی[۳]، یزدان کیوانی[۴]، فریدون چکمه دوز قاسمی[۵]

۱،۲و۴- دانش‌آموخته کارشناس‌ارشد و استادیاران دانشگاه صنعتی اصفهان
۳و۵- دانشیار و کارشناس‌ارشد مرکز تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان، رشت

Fallahbagheri F[1], Dorafshan S[*2], Pourkazemi M[3], Keivany Y[4], Chakmedouz Qasemi F[5]

1,2,4. Instructor and Assistant Professors, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran.
3,5. Associate Professor and Instructor, Sturgeon International Research Institute, Rasht, Iran.

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: Sdorafshan@gmail.com

(تاریخ دریافت: ۹۰/۱۱/۶- تاریخ پذیرش: ۹۱/۱۰/۲۴)

چکیده

دو تیپ تالابی و مصبی کپور معمولی وحشی، *Cyprinus carpio*، تنها در دریای خزر و حوضه آبریز آن که یکی از زیستگاه‌های طبیعی این گونه است، یافت می شود. با توجه به اهمیت مطالعه تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیت در مدیریت و حفاظت از گونه‌ها، تنوع ژنتیکی دو تیپ مصبی و تالابی کپور معمولی وحشی با استفاده از روش PCR-RFLP مورد مطالعه قرار گرفت، در این بررسی ۸۰ قطعه ماهی کپور معمولی وحشی بالغ از دو ناحیه (هر ناحیه ۴۰ قطعه)، شامل پناهگاه حیات‌وحش سرخانکل و مصب دریای خزر به تالاب انزلی صید شدند. در این بررسی ۴۰ آنزیم برشی مورد استفاده قرار گرفت، که از این میان تنها ۴ آنزیم برشی (*Tas*I, *Sma*I, *Ssp*I, *Apo*I) الگوی باندی چند شکلی نشان دادند. نتایج این بررسی سه ترکیب هاپلوتیپی مختلف را بین مناطق نمونه-برداری نشان داد. هاپلوتیپ‌های BBBA و AAAB تنها در ایستگاه سرخانکل تشخیص داده شد و در تمامی نمونه های صید شده از مصب دریای خزر فقط هاپلوتیپ AAAA مشاهده شد. نتایج این بررسی موید این مطلب است که می توان از روش PCR-RFLP در ناحیه D-loop ژنوم میتوکندریایی به عنوان یک نشانگر مناسب به منظور مطالعات شجره مادری جمعیت های کپور معمولی وحشی استفاده نمود. همچنین انواع مصبی و تالابی کپور معمولی وحشی در بخش جنوب غربی دریای خزر از منظر این ناحیه از ژنوم دارای اختلاف ژنتیکی، هرچند جزئی هستند. نتایج این تحقیق می‌تواند در زمینه حفاظت و بازسازی ذخایر کپور معمولی در مناطق مورد مطالعه مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی

تیپ تالابی و مصبی، کپور معمولی، *Cyprinus carpio*، D-loop، PCR-RFLP

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-26]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1392.8.2.11.5]

مقدمه

کپور معمولی وحشی، *Cyprinus carpio*، یکی از گونه های با اهمیت اقتصادی در میان ماهیان آب شیرین در جهان است. دریای خزر و حوضه آبریز منتهی به آن یکی از زیستگاه های طبیعی کپور معمولی وحشی است (Kirpitchnikov 1999). تالاب انزلی در عرض "۲۸ ´۳۷ شمالی و در طول "۲۵ ´۴۹ شرقی قرار دارد (Mansoorie 1997). این تالاب به دلیل موقعیت جغرافیایی و تعداد رودخانه‌های ورودی به آن، از دیرباز یکی از مهم‌ترین مراکز تولید، صید و بهره‌برداری انواع ماهیان با ارزش دریای خزر بوده است. کپور معمولی دارای سه تیپ تالابی، مصبی و پرورشی در ایران است، به طوری که دو جمعیت وحشی تالابی و مصبی تنها در حوضه دریای خزر یافت می شود، ولی جمعیت پرورشی آن امروزه در اغلب استان‌های کشور و در دریاچه پشت سدها وجود دارد. تیپ مصبی نیمه مهاجر (دریازی) بوده و تیپ تالابی بومی رودخانه ها و تالاب‌ها است. تخم‌ریزی هر دو تیپ در بهار تا اواسط تابستان و در آب های شیرین صورت می گیرد (Abdoli 1378; Shariati 1382; Burridge et al. 2004).

روش RFLP سابقه‌دارترین روش مولکولی مورد استفاده به منظور بررسی تنوع ژنتیکی است (Cespedes et al. 2000; Cocolin et al. 2000; Aranishi 2005; Fayazi et al. 2006). مطالعات متعددی با استفاده از این روش به منظور مطالعات جمعیتی و تکاملی در کپور معمولی انجام شده است که از این میان می توان به مطالعه جمعیت های کپور معمولی متعلق به زیر گونه های اروپایی و آسیایی (Gross et al. 2002)، بررسی تنوع ژنتیکی بین زیر گونه های مختلف کپور معمولی (Zhou et al. 2003)، تعیین تنوع ژنتیکی دو نژاد مختلف کپور وحشی با منشاء رودخانه تیزای و دانوب (Lehoczky et al. 2005)، تنوع کپور معمولی وحشی در ترکیه (Memis and Kohlmann 2006) و تنها مطالعه ژنتیکی صورت گرفته در مورد کپور معمولی وحشی در ایران در مورد کپور معمولی سواحل جنوبی دریای خزر، تالاب انزلی، رودخانه تجن، گرگانرود و خلیج گرگان با روش PCR-RFLP در سه منطقه D-loop و ND-5\6 و ND-3\4 اشاره کرد (Laloie 1388). در میان بخش های مختلف ژنوم میتوکندریایی، ناحیه کنترلی معمولا بیشترین میزان تغییرپذیری را در اغلب ماهیان نشان می دهد و سرعت جایگزینی در این بخش حداقل پنج برابر بیشتر از سایر مناطق ژنوم میتوکندریایی تخمین زده شده است (Aquadro and Greenberg 1983; Nesbo et al. 1998; Hoelzel et al. 1998; Aurelle and Berrebi 2001). کاهش صید کپور معمولی در حوضه جنوبی دریای خزر در دهه‌های گذشته، سبب شد تا سازمان شیلات ایران از سال ۱۳۷۷ برنامه رهاسازی این گونه را به دریا در دستور کارخود قرار دهد، آمار نشان می‌دهد که تاکنون حدود ۲۴ میلیون قطعه از این گونه برای بازسازی ذخایر وحشی و رونق صید و صیادی در آب‌ها رهاسازی شده است (Laloie 1388). به دنبال تکثیر مصنوعی ماهی کپور با استفاده از مولدین صید شده از زیستگاه طبیعی همواره این سوال مطرح بوده که آیا نیازی به صید و تکثیر مجزای دو تیپ مصبی و تالابی کپور معمولی وحشی وجود دارد؟ یا به بیان بهتر، آیا اختلاف ژنتیکی حائز اهمیتی بین دو تیپ تالابی و مصبی کپور معمولی وحشی قابل ردیابی است؟ در صورتی که پاسخ به این سوال مثبت باشد باید تدابیری در خصوص تکثیر و رهاسازی مجزای جمعیت‌های موجود در تالاب انزلی و دریای خزر اتخاذ شود تا بازسازی ذخایر با شرایط متعادل برای دو شکل زیستی کپور معمولی وحشی صورت گیرد.

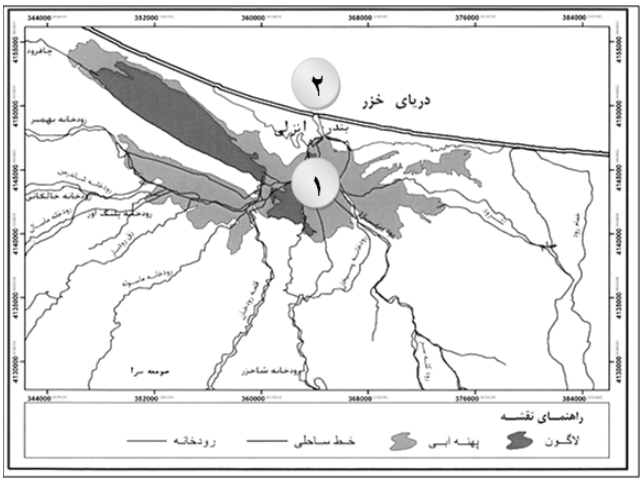
مواد و روش‌ها

در این بررسی ۸۰ نمونه از ماهیان کپور معمولی وحشی بالغ در دو ایستگاه مصب دریای خزر به تالاب انزلی (پره میان‌پشته و شهید بهشتی به ترتیب در جهت شرقی و غربی مصب) و تالاب انزلی (پناهگاه حیات‌وحش سرخانکل) نمونه‌برداری شد. از هریک از مناطق، تعداد ۴۰ قطعه کپور معمولی وحشی در پاییز ۱۳۸۷ صید شده و مقدار۳ – ۲ گرم از بافت نرم باله دمی در الکل ۹۶ درصد تثبیت شد (شکل ۱، Pourkazemi 1996).

جهت استخراج DNA از نمونه‌های جمع‌آوری شده، از روش استات آمونیوم استفاده شد (Pourkazemi 1996). به‌منظور تعیین کمیت و کیفیت DNA استخراج شده از روش اسپکتروفتومتری در طول موج‌های۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر و دستگاه اسپکتروفتومتر نانودراپ مدل (ND1000, USA) و الکتروفورز بر روی ژل آگارز یک درصد استفاده شد. در این مطالعه به منظور دستیابی به

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-26]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1392.8.2.11.5]



شکل ۱- ایستگاه‌های نمونه‌برداری، ۱ ایستگاه تالاب انزلی (پناهگاه حیات وحش سرخانکل) و ۲ ایستگاه دریا (اداره کل حفاظت محیط‌زیست استان گیلان).

بیشترین تنوع نوکلئوتیدی در ژنوم میتوکندریایی طراحی آغازگر با توجه به مطالعه Haynes et al. (2009) از یک منطقه بسیار متنوع در انتهای ′5 از منطقه کنترلی D-loop انجام شد. واکنش PCR جهت تکثیر این ناحیه با استفاده از یک جفت آغازگر Bioron انگلستان (سفارش شرکت فزاپژوه) انجام گرفت که توالی نوکلئوتیدی آن‌ها به شرح زیر است.

Forward (R_8): 5'AAATAG GAACCAGATGCCAGTAA3'
Reverse (LD): 5' TCA CCC CTG GCT CCC AAA GC 3'

واکنش PCR در حجم نهایی ۵۰ میکرولیتر شامل یک میکرولیتر DNA (۱۰۰ نانوگرم)، ۵ میکرولیتر بافر PCR (10x)، دو میکرولیتر $MgCl_2$ (50mM)، دو میکرولیتر از هریک از آغازگرها (10 pM)، یک میکرولیتر dNTP (10 mM)، ۰/۴ میکرولیتر آنزیم *Taq* DNA polymerase 5/u µl ساخت شرکت سیناژن و آب مقطر استریل تا حجم ۵۰ میکرولیتر بود. واکنش PCR با واسرشت سازی اولیه به مدت ۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد و در ادامه ۳۵ چرخه شامل: واسرشت سازی به مدت ۳۰ ثانیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد، اتصال به آغازگر به مدت ۳۰ ثانیه در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد و بسط به مدت ۴۵ ثانیه و در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد و در پایان بسط نهایی به مدت ۵ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد انجام شد.

به منظور یافتن آنزیم‌های برشی مناسب جهت برش قطعه مورد نظر از نرم افزارهای CLC Sequence Viewer 6.1، Gene Runner 3.05 و2Web Cutter استفاده شد. از میان آنزیم‌های معرفی شده مواردی که جایگاه برشی اختصاصی‌تر و تعداد جایگاه برشی بیشتری داشتند، انتخاب شدند. در این مطالعه از ۴۰ آنزیم برشی استفاده شد. محلول واکنش آنزیمی حاوی ۴ میکرولیتر محصول PCR، مقدار معینی آنزیم و بافر آنزیم برشی به میزان توصیه شده در دستورالعمل استفاده از آنزیم برشی و آب مقطر استریل تا حجم ۲۰ میکرولیتر بود. ویال ها به مدت ۴ تا ۲۴ ساعت با توجه به شرایط درج شده در دستورالعمل آنزیم‌های مورد استفاده در حمام بن ماری در دمای بهینه هر آنزیم قرار داده شدند. جهت مشاهده نحوه فعالیت آنزیم و قطعات ایجاد شده، نمونه‌ها توسط ژل پلی اکریل‌آمید ۶ درصد الکتروفورز شد. طول قطعات حاصل از هضم آنزیمی با استفاده از نرم‌افزار Biogene نسخه V 99/04 محاسبه شد.

پس از تهیه هاپلوتیپ‌های مختلف، اطلاعات به دست آمده برای هر منطقه با استفاده از نرم‌افزار REAP مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت (Roff and Bentzen 1989). بر این اساس به منظور محاسبه فاصله تکاملی بین هاپلوتیپ‌های مختلف و انحراف استاندارد هاپلوتیپ‌ها از اطلاعات مربوط به تعداد قطعات ایجاد شده توسط آنزیم‌های برشی و جایگاه برشی آن‌ها به صورت داده‌های صفر و یک و همچنین اطلاعات مربوط به تنوع هاپلوتیپی به دست آمده استفاده شد و طبق فرمول ارائه شده (Nei and Li 1979; Nei 1987) پارامتر فاصله ژنتیکی محاسبه شد. میزان ناهمگنی جغرافیایی هاپلوتیپ ها با آزمون مربع کای (χ^2) وشبیه‌سازی Monte-Carlo با هزار بار تکرار محاسبه شد.

نتایج و بحث

محصول PCR تمامی نمونه‌ها بعد از الکتروفورز بر روی ژل آگارز یک درصد، تولید باندهایی را در محدوده ۴۲۰ جفت باز (bp) ایجاد کرد (شکل ۲).

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-26]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1392.8.2.11.5]



شکل ۲- الکتروفورز محصول PCR ژن D-loop ماهی کپور معمولی وحشی بر روی ژل آگارز یک درصد. M) نشانگر 100 bp (نمونه‌های۱ تا ۵ تالابی (سرخانکل) و ۶ تا ۱۰ مصب دریای خزر).

از میان آنزیم‌های مورد استفاده جهت انجام آنالیز RFLP، ۳۰ آنزیم *Alu*I، *Nde*I، *Bcl*I، *Eco*RV، *Pst*I، *Hpa*II، *Sau*3AI، *Taq*I، *Mbo*II، *Hph*I، *Hin*CII، *Ava*II، *Tas*I، *Hha*I، *Bgl*I، *Bgl*II، *Dra*I، *Sma*I، *Nco*I، *Eco*881، *Psp*1406I، *Faq*I، *Xba*I، *Cfr*131، *Pvu*II، *Xho*I، *Mae*III، *Apo*I، *Ssp*I، *Bsu*RI، *Tai*I، *Kpn*I، *Hind*III، *Sal*I) فاقد جایگاه برشی در قطعه مورد نظر بودند. شش آنزیم (*Vsp*I، *Hinf*I، *Rsa*I، *Mse*I، *Sal*I، *Alw26*I و *Eco*RI) دارای الگوی باندی تک شکل[1] و چهار آنزیم (*Tas*I، *Apo*I، *Sma*I و *Ssp*I) الگوی باندی چندشکل[2] را نشان دادند (جدول۱، شکل ۳).

جدول ۱- الگو و اندازه قطعات تولید شده از هضم آنزیمی با ۴ آنزیم برشی دارای الگوی چند شکل.

*Tas*I		*Sma*I		*Ssp*I		*Apo*I	
A	B	A	B	A	B	A	B
۱۹۴	۱۹۷	۴۲۰	۲۲۴	۴۲۰	۲۷۱	۱۹۸	۴۰۰
۱۷۱	۱۳۲		۱۹۶		۹۰	۱۷۰	۲۰
۵۵	۴۷				۵۹	۵۲	
	۴۴						

با استفاده از آنالیز RFLP محصول تکثیر شده ناحیه D-loop میتوکندریایی و برش آنزیمی با چهار آنزیم برشی، در مجموع سه هاپلوتیپ مختلف در بین ۸۰ نمونه ماهی کپور معمولی وحشی از مناطق مختلف نمونه‌برداری به دست آمد. از این میان بیشترین فراوانی متعلق به هاپلوتیپ AAAA با فراوانی ۸۷/۵ درصد بود (جدول ۲). از بین هاپلوتیپ‌های به دست آمده هاپلوتیپ‌های BBBA و AAAB تنها در ایستگاه سرخانکل تشخیص داده شد و در تمامی نمونه های صید شده از مصب دریای خزر به تالاب انزلی فقط هاپلوتیپ AAAA مشاهده شد (جدول ۳).

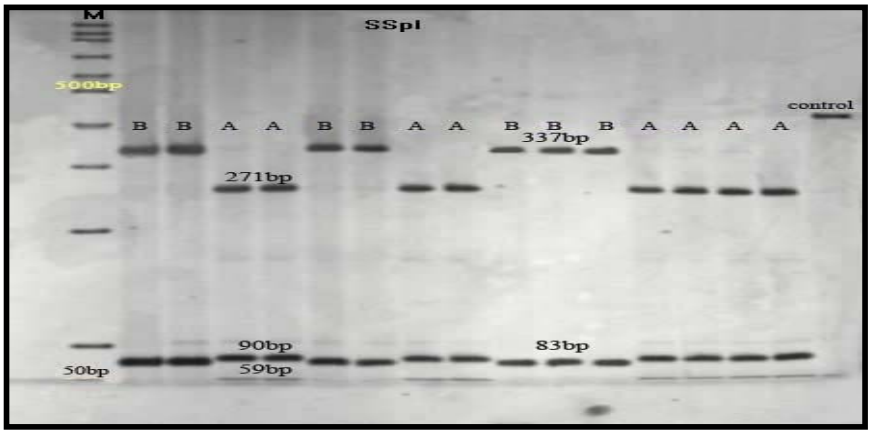
جدول ۲- هاپلوتیپ های مشاهده شده از هضم آنزیمی با چهار آنزیم برشی با الگوی چند شکل

آنزیم برشی (جایگاه برش)	هاپلوتیپ		
	AAAA	AAAB	BBBA
*Tas*I (AATT)	A	A	B
*Sma*I (CCCGGG)	A	A	B
*Ssp*I (AATATT)	A	A	B
*Apo*I (PuAATTPy)	A	B	A

بر اساس داده‌های به دست آمده بیشترین فاصله تکاملی در ژن D-loop بین هاپلوتیپ BBBA با AAAB به میزان ۰/۳۵ و کمترین فاصله تکاملی بین هاپلوتیپ AAAB با AAAA به میزان ۰/۱۲۳۱۰۳ محاسبه شد. تمایز و تنوع نوکلئوتیدی در میان

[1] Monomorph
[2] Polymorphism

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-26]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1392.8.2.11.5]



شکل ۳- الگوی برشی ژن D-loop میتوکندریائی ماهی کپور معمولی وحشی با آنزیم *Ssp*I در ایستگاه تالابی (سرخانکل) بر روی ژل پلی‌اکریل آمید ۶ درصد (A، B) ژنوتیپ‌ها؛ M) نشانگر مولکولی 100 bp؛ C) نمونه شاهد

جدول ۳- فراوانی هاپلوتیپ های به دست آمده در دو منطقه مورد مطالعه مصب و تالاب، سرخانکل.

ایستگاه نمونه برداری	اندازه نمونه	فراوانی هاپلوتیپی		
		AAAA	AAAB	BBBA
تالاب، سرخانکل	۴۰	۳۵ (۷۵ درصد)	۵ (۱۲/۵درصد)	۵ (۱۲/۵درصد)
مصب دریای خزر	۴۰	۴۰ (۱۰۰درصد)	۰	۰

جمعیت‌ها به ترتیب ۰/۲۹۳۰۱ و ۰/۱۱۵۳ به دست آمد. تنوع هاپلوتیپی و نوکلئوتیدی برای هر ایستگاه نمونه برداری در جدول ۴ نشان داده شده است.

نتایج آزمون شبیه‌سازی Monte-Carlo با هزار بار تکرار به منظور آنالیز میزان ناهمگنی جغرافیایی[1] مناطق نمونه‌برداری شده (Roff and Bentzen 1989) نشان داد که اختلاف هاپلوتیپ‌ها بین مناطق مختلف نمونه‌برداری معنی‌دار است ($P\leq$ ۰/۰۵).

تاکنون مطالعات متعددی با استفاده از روش PCR-RFLP منطقه D-loop به منظور تفکیک زیر گونه ها و تیپ های اکولوژیکی متفاوت از یک گونه انجام گرفته است، که از این میان می توان به مطالعه تنوع ژنتیکی دو تیپ از ماهی گوبی آب شیرین، *Rhinogobius* sp. در سیستم آبی دریاچه بیوا (Takahashi and Ohara 2004)، بررسی الگوی جریان ژنی در گونه سیم سیاه، *Acanthopagrus batcheri*، در میان مصب‌های جنوب شرقی استرالیا (Burridge et al. 2004)، بررسی تنوع ژنتیکی بین زیرگونه‌های *Cyprinus carpio carpio* و *C.c. haematopterus* کپور معمولی وحشی (Zhou et al. 2003) و مطالعه در مورد تنوع ژنتیکی در کپور معمولی سواحل جنوبی دریای خزر، تالاب انزلی، رودخانه تجن، گرگانرود و خلیج گرگان اشاره کرد (Laloie 1388). لازم به ذکر است که با توجه به مطالعه جامعی که در مورد ناحیه کنترلی ژنوم میتوکندریایی کپور معمولی صورت گرفته است، بخش عمده جایگاه‌های چندشکل در این بخش واقع شده است، در نتیجه احتمالا این قطعه معرف مناسبی به منظور تعیین تنوع ژنتیکی در تیپ‌های متفاوت کپور معمولی است.

داده‌های به دست آمده از این بررسی سطوح پایینی از اختلاف نوکلئوتیدی، تنوع نوکلئوتیدی و تنوع هاپلوتیپی را در میان جمعیت ها نشان می دهد. با توجه به این‌که تنها دو ژنوتیپ A و B در نمونه‌ها مشاهده شد، بنابراین میزان تنوع ژنتیکی به دست

[1] Geographic Heterogenity

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-26]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1392.8.2.11.5]

آمده و فاصله ژنتیکی به دست آمده کم خواهد بود. Thai et al. (2006) ضمن انجام مطالعه جامعی در مورد جمعیت‌های متعدد کپور معمولی اعم از وحشی و پرورشی با استفاده از روش توالی یابی مستقیم ناحیه کنترلی، سطوح پایینی از تنوع هاپلوتیپی و اختلاف نوکلئوتیدی را در نمونه ها مشاهده کردند. این امکان وجود دارد که سطوح پایین اختلاف نوکلئوتیدی نتیجه نرخ کندتر تکامل در ژنوم میتوکندریایی کپور معمولی بوده و یا بیانگر تاریخ تکاملی کوتاه کپور معمولی باشد. تاریخچه کوتاه تکاملی کپورمعمولی برخلاف پراکنش وسیع آن در مطالعات سایر محققین نیز مورد اشاره قرار گرفته است (Thai et al. 2006; Laloie 1388).

همچنین، عدم نوترکیبی در ژنوم میتوکندریایی و توارث تک والدی و هاپلوئید بودن ژنوم که منجر به کاهش قابل توجه اندازه ژنوم میتوکندری در مقایسه با ژنوم هسته‌ای می‌شود، تاثیرپذیری آن را از مشکلات رایج نظیر رانش ژنتیکی و بروز تنگنا در جمعیت در مقایسه با ژنوم هسته‌ای افزایش می‌دهد. نمونه برداری در مقیاس جغرافیایی کوچک و تعداد اندک نمونه نیز می‌تواند از دلایل احتمالی وجود تنوع اندک در هاپلوتیپ‌های مشاهده شده باشد (Beaumont and Hoare 2003).

نتایج این بررسی نشان داد که میزان فراوانی و تنوع هاپلوتیپی در مناطق مختلف نمونه‌برداری یکسان نبوده و تعدادی از هاپلوتیپ‌ها تنها مختص به یک منطقه نمونه‌برداری هستند با توجه به اینکه مناطق مورد بررسی از نظر شرایط زیستگاهی مانند شوری، عمق، درجه حرارت، پوشش گیاهی و بار آلودگی متفاوت هستند، لذا چنین فرایندهایی می تواند به عنوان یک عامل انتخاب تاثیرگذار باشد. اثر انتخاب طبیعی، فشار عوامل محیطی نظیر آلودگی و شوری پیش از این بر تنوع ژنتیکی آبزیان مورد اشاره قرار گرفته است (Beaumont and Hoare 2003)، لذا به نظر می‌رسد شاید دلیل تنوع ژنتیکی کمتر در ماهیان مصبی شرایط خاص زیستگاه این ماهیان باشد که به عنوان یک عامل محدودکننده، منجر به زیست گذرانی ماهیان کمتری در این زیستگاه شده و در نتیجه هاپلوتیپ‌های نادر به علت اندازه کوچک‌تر جمعیت در زیستگاه یادشده حذف شده و یا از نظر دور مانده‌اند. از دیگر دلایل حضور تنوع هاپلوتیپی بیشتر در کپور تالابی در مقایسه با کپور مصبی، شاید وجود جریان ژنی بین جمعیت‌های مختلف در مناطق متعدد تالاب انزلی است که می‌تواند منجر به افزایش تنوع هاپلوتیپی در این شکل زیستی در مقایسه با انواع مصبی شود. با این وجود به منظور نتیجه‌گیری قطعی در این خصوص آگاهی بیشتر از اطلاعات اکولوژیک گونه مورد بررسی، از منظر مهاجرت‌های تغذیه ای و تولیدمثلی باید مد نظر قرار گیرد. متاسفانه چنین اطلاعاتی در خصوص بسیاری از گونه های مهم اقتصادی در دریای خزر از جمله کپور معمولی وجود ندارد.

با این وجود، با توجه به فراوانی اندک هاپلوتیپ‌ها در مناطق نمونه‌برداری (جدول ۳) نمی‌توان با قطعیت کامل در مورد جدایی جمعیت‌های فوق قضاوت کرد اما این نتایج می‌تواند مؤید وجود اختلاف ژنتیکی هرچند اندک، در جمعیت‌های مورد بررسی باشد. ضمن این‌که، با توجه به بررسی‌های انجام شده، چنین استنباط می‌گردد که در اکوسیستم‌هایی که امکان مهاجرت و جابه‌جایی ماهیان از منطقه‌ای به منطقه دیگر وجود دارد اختلافات ژنتیکی در بین افراد در مناطق مختلف مشاهده نمی‌شود. در مجموع مقایسه الگوی ژنوتیپی و هاپلوتیپی در مناطق نمونه برداری بیان‌گر آن است که توزیع نمونه‌ها در نواحی مختلف تحت تاثیر عوامل مختلف فیزیکی و اکولوژیک قرار گرفته است (Liu and Cordes 2004 ; Kohlmann et al. 2003).

در این مطالعه سه ترکیب هاپلوتیپی به دست آمد که از این میان تنها یک ترکیب هاپلوتیپی در نمونه های صید شده از دریا مشاهد شد. همانطور که پیش از این اشاره شد، هر دو تیپ مصبی و تالابی کپور معمولی وحشی در تالاب تخم‌ریزی می کنند، بنابراین شاید جریان ژنی مداومی بین این دو منطقه وجود داشته باشد. وجود جریان ژنی، می‌تواند سبب کاهش تمایز در جمعیت‌ها شود. اگرچه نتایج این تحقیق به تنهایی نمی تواند تاییدکننده وقوع جریان ژنی، تبادل افراد مولد و تولیدمثل دو گروه افراد با یکدیگر شود. Takashi and Ohara (2003) ضمن بررسی تیپ-های متفاوتی از ماهی گوبی ساکن دریا و رودخانه، علی رغم تنوع مورفولوژیکی بارز، اختلاف ژنتیکی بسیار پایینی را در جمعیت‌های مورد بررسی مشاهد کردند. آنها علت این پدیده را علاوه بر بروز پدیده انعطاف‌پذیری فنوتیپی[1] (تظاهر فنوتیپی

[1] Phenotypic plasticity

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-26]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1392.8.2.11.5]

متفاوت علی رغم وجود ژنوتیپ مشابه در شرایط محیطی مختلف)، وجود جریان ژنی مداوم بین جمعیت‌ها بیان نمودند (Thai et al. 2006). اگرچه نتایج حاصل از بررسی Monte-Carlo اختلاف معنی‌داری را بین نمونه های صید شده از تالاب و دریا نشان داد، اما در این بررسی هاپلوتیپ اختصاصی که تنها متعلق به دریا باشد مشاهده نشد. با توجه به اینکه مطالعات پیشین با بررسی ژن *ND-5\6* و *ND-3\4* در کپور معمولی وحشی با روش PCR-RFLP نیز موفق به نشان دادن اختلاف معنی‌دار بین جمعیت تالاب انزلی و سواحل گیلانی دریای خزر شد (Laloie 1388)، می‌توان نتیجه گرفت که احتمالا تیپ‌های مصبی و تالابی کپور معمولی وحشی در بخش جنوب غربی دریای خزر دارای اختلاف ژنتیکی هستند و روش PCR-RFLP در ناحیه D-loop ژنوم میتوکندریایی نشانگر مناسبی به منظور مطالعات شجره مادری جمعیت‌های کپور معمولی وحشی است.

در نهایت پیشنهاد می‌شود تا این نوع مطالعات با استفاده از سایر نشانگرهای مولکولی نظیر ریزماهواره بر روی جمعیت‌های مختلف کپور معمولی وحشی در دریای خزر و حوضه آبریز آن همراه با مطالعات اکولوژیک صورت گیرد تا امکان نتیجه‌گیری قطعی در خصوص حضور جمعیت‌های مختلف فراهم آید. به این طریق، می‌توان نسبت به برنامه‌ریزی بهتر به منظور صید و نیز بازسازی ذخایر این گونه اقدام نمود.

سپاسگزاری

این تحقیق در آزمایشگاه ژنتیک مولکولی انستیتوی تحقیقات بین المللی دکتر دادمان انجام گرفت. از تمامی افرادی که در اجرا و تکمیل این تحقیق ما را یاری نمودند تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

Abdoli A (1378) freshwater fish of Iran. Wild life museum press, Tehran, Iran, 160. (In Farsi).

Aquadro CF, Greenberg BD (1983) Human mitochondrial DNA variation and evolution: analysis of nucleotide sequences for seven individuals. Journal of Genetics 103: 287-312.

Aranishi F (2005) Rapid PCR-RFLP method for discrimination of imported and domestic mackerel. Journal of Marine Biotechnology 7: 571-575.

Aurelle D, Berrebi P (2001) Genetic structure of brown trout (*Salmo trutta* L.) populations from south-western France: data from mitochondrial control region variability. Journal of Molecular Ecology 10: 1551-1561.

Beaumont AR, Hoare K (2003) Biotechnology and genetics in fisheries and aquaculture. Blackwell Science Ltd.

Burridge CP, Hurt AC, Farrington LW, Coutin PC, Austin CM (2004) Stepping stone gene flow in an estuarine-dwelling sparid from south-east Australia. Journal of Fish Biology 64: 805-819.

Cespedes A, Garcıa T, Carrera E, Gonzalez I, Fernandez A, Asensio L, Hernandez PE, Martın R (2000) Genetic differentiation between sole (*Solea solea*) and Greenland halibut (*Reinhardtius hippoglossoides*) by PCR-RFLP analysis of a 12S rRNA gene fragment. Journal of Science Food Agriculture 80: 29-32.

Coad BW (1995) the freshwater fishes of Iran. The Academy of Science of Czech Republic Brno, 64p.

Cocolin LD, Agaro E, Manzano M, Lanari D, Comi G (2000) Rapid PCR-RFLP method for the identification of marine fish fillets (seabass, seabream, umbrine, and dentex). Journal of Food Science 65: 1315-1317.

Fayazi J, Moradi M, Rahimi G, Ashtyani R, Galledari H (2006) Genetic differentiation and phylogenic relationships among *Barbus xanthoptreus* (Cyprinidae) populations in south west of Iran using mitochondrial DNA markers. Journal of Biological Sciences 9: 2249-2254.

Gross R, Kohlmann K, Kersten P (2002) PCR-RFLP analysis of the mitochondrial ND3\4 and ND5\6 gene polymorphisms in the European and East Asian subspecies of common carp (*Cyprinus carpio* L.). Aquaculture 204: 507-513.

Haynes GD, Gongora J, Nicholas FW, Zenger KR (2009) Rapid identification of maternal lineages in common carp (*Cyprinus carpio* L.) using real-time PCR and high resolution melt-curve analysis. Aquaculture 287: 59-66.

Hoelzel AR, Dahlheim M, Stern L (1998) Low genetic variation among killer whales (*Orcinus orca*) in the eastern north Pacific and genetic differentiation between foraging specialists. Heredity 89: 121-128.

Kirpitchnikov VS (1999) Genetics and breeding of common carp. INRA, Paris. (Revised by Billard R, Repérant J., Rio J.P. and Ward R.), 97 pp.

Kohlmann K, Gross R, Murakaeva A, Kersten P (2003) Genetic variation and structure of common carp populations throughout the distribution range inferred from allozyme, microsatellite and mtDNA marker. Journal of Aquatic Living Resources 16: 421-431.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-26]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1392.8.2.11.5]

Laloie F (1388) investigation of common carp population *Cyprinus carpio* in southern of Caspian Sea using PCR-RFLP. Research final Report. Research, Iranian fisheries Research Organization, Iran. (In Farsi).
Lehoczky I, Jeney Z, Magyary I, Hancz C and Kohlmann K (2005) Preliminary data on genetic variability and purity of common carp (*Cyprinus carpio* L.) strains kept at the live gene bank at Research Institute for Fisheries, Aquaculture and Irrigation (HAKI) Szarvas, Hungary. Aquaculture 247: 45-49.
Liu ZJ, Cordes JF (2004) DNA marker technologies and their application in aquaculture genetics. Aquaculture 238: 1-37.
Mansoori J (1997) Ramsar information sheet. IUCN.
Memis D, Kohlmann K (2006) Genetic characterization of wild common carp (*Cyprinus carpio* L.) from Turkey. Aquaculture 258: 257-262.
Nei M (1987) Molecular Evolution Genetics. Columbia University Press, New York. USA.
Nei M, Li WH (1979) Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonuclease. Journal of National Academy of Sciences of the USA 76: 5269-5273.
Nesbo CL, Arab MO, Jakobsen KS (1998) Heteroplasmy, length and sequence variation in the mtDNA control regions of three percid fish species (*Perca fluviatilis*, *Acerina cernua*, *Stizostedion lucioperca*). Genetics 148: 1907-1919.
Pourkazemi M (1996) Molcular and biochemical genetic analysis of sturgeon stocks from the south Caspian Sea. Dissertation, University of Wales, SwanSea.
Roff DA, Bentzen P (1989) The statistical analysis of mtDNA polymorphism: $\chi 2$ problem of small sample size. Journal of Molecular Biology and Evolution 2: 539-545.
Shariati A (1382) Caspian Sea and its basin fish. Naghsh – e- Mehr press, Tehran, Iran. (In Farsi).
Takahashi D, Ohara K (2004) Genetic variations estimated from PCR-RFLP analysis of two morphs of the freshwater goby *Rhinogobius* in the Lake Biwa water system. Journal of Ichthyological Research 51: 99-105.
Thai BT, Pham TA, Thai UD, Austin CM (2006) Progress toward a global genealogy of Common carp (*Cyprinus carpio L.*) strains using mitochondrial nucleotide sequences data. Journal of NAGA, World fish Center Quarterly 29: 55-60.
Zhou JF, Wu QJ, Ye YZ, Tong JG (2003) Genetic divergence between *Cyprinus carpio carpio* and *Cyprinus carpio haematopterus* assessed by mitochondrial DNA analysis, with emphasis on origin of European domestic carp. Genetics 119: 93-97.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-26]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1392.8.2.11.5]