

## بررسی توارث مندلی در هیبرید حاصله از ماهی شاه کولی ماده و سیاه کولی خزری نر با استفاده از نشانگرهای ریز ماهواره

شقایق روح الهی<sup>۱</sup>، حسین ذوالقرنین\*<sup>۱</sup>، سهراب رضوانی گیل کلانی<sup>۲</sup>، محمد علی سالاری<sup>۱</sup>، سمیرا محمدیان<sup>۳</sup>، محمدجواد تقوی<sup>۴</sup>، فرامرز لالوئی<sup>۴</sup>، حجت شجاعی<sup>۵</sup>

۱. گروه زیست شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر
۲. موسسه تحقیقات شیلات ایران
۳. گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران
۴. پژوهشکده اکولوژی دریای خزر
۵. مرکز تکثیر و پرورش شهید انصاری

تاریخ پذیرش: ۸۹/۷/۱۰

تاریخ دریافت: ۸۹/۳/۲۶

### چکیده:

توارث مندلی در هیبرید حاصله از ماهی شاه کولی ماده و سیاه کولی خزری نر با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره مورد بررسی قرار گرفت. در این بررسی DNA حاصل از بافت باله مولدین و کل بدن لاروهای حاصله به روش فنل-کلروفورم استخراج گردید و واکنش PCR با استفاده از ۱۰ جفت نشانگرهای ریزماهواره انجام شد که از این بین ۷ جفت پلی مورفیسم و ۳ جفت دیگر منومورفیسم را نشان دادند. جایگاه ریزماهواره ای پلی مورف با نام های، LCO3, LCO1, Lid11, Rru2, Z1-2, Z7-8, Z9-10 برای بررسی نحوه توزیع شان در هیبرید نسل یک (F1) حاصله از ماهی شاه کولی ماده و سیاه کولی نر استفاده شدند. نتایج نشان دادند مولدین و لاروهای نسل اول در ۷ جایگاه مورد نظر از لحاظ توزیع آلل ها تقریباً از قانون توارث مندلی تبعیت می نمایند. هم چنین مشخص شد نشانگرهای ریزماهواره ای برای بررسی توارث، نشانگرهای کارآمدی می باشند.

**واژگان کلیدی:** توارث مندلی، نشانگرهای ریزماهواره، هیبرید، سیاه کولی خزری، شاه کولی

\*نویسنده مسوول، پست الکترونیک: [zolgharnein@yahoo.com](mailto:zolgharnein@yahoo.com)

## ۱. مقدمه

دریای خزر دارای ذخایر آبیان ارزشمندی است که سالانه حدود ۲۰ هزار تن ماهیان استخوانی از آن صید می گردد که از جمله ماهیان استخوانی صید شده می توان به سیاه کولی (*Vimba vimba persa*) و شاه کولی (*Chalcalburnus chalcoides*) اشاره کرد. میزان صید این ماهیان در طی سال ۸۷-۸۸ به ترتیب ۲۶۹/۴ تن و ۳۶/۸ می باشد. ماهی سیاه کولی خزری یک ماهی ریز جثه ولی بسیار لذیذ و مورد پسند ساحل نشینان می باشد. بر اساس گزارشات موجود در سالهای اخیر، بازار مصرف آن در فصل بهار افزایش چشمگیری می یابد (Ghaninezhad *et al.*, 2000).

شاه کولی و سیاه کولی جزء ماهیان کوچک اندامی هستند که قسمت عمده صید آنها به صورت قاچاق و توسط دام گوشگیر انجام می گیرد. این ماهی ها در رودخانه های داغستان، جمهوری آذربایجان و در سواحل ایران موجود بوده، به رودخانه های ترک، کورا و سایر رودخانه های مناطق مذکور وارد شده و به ندرت در ولگا و اورال دیده می شوند که از مهمترین دلایل رو به زوال و کاهش جمعیت آنها، از بین رفتن زیستگاه و صید بیش از حد این گونه ها می باشد (Jolodar and Abdoli, 2004).

برای افزایش توان تولید در آبی پروری دورگه گیری یکی از شیوه های کاربردی است که می تواند خصوصیات متفاوتی از والدین و یا ترکیبی از ویژگی های خاص آن ها را به همراه داشته باشد. امروزه یکی از راههایی جلوگیری از انقراض گونه های در معرض خطر جدی تولید هیبرید آن گونه ها یا گونه های نزدیک می باشد. همچنین در توسعه آبی پروری نشان داده شده که هیبریدها در نسل اول دارای راندمان تولید

بیشتری در مقایسه با گونه های مولدین خود می باشند (Peng *et al.*, 2005).

در این راستا اطلاعات ژنتیکی این گونه ها جهت تولید یک نقشه ژنتیکی به منظور استفاده موثر در هر برنامه پرورش و تکثیر، می تواند بسیار ارزشمند باشد. با این حال دانستن نرخ های مندلی قبل از ساختن هر نقشه پیوندی باید در دسترس باشد (Takagi *et al.*, 2003).

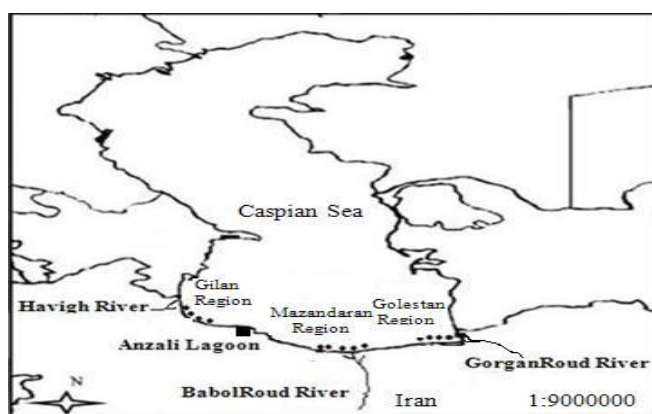
با توسعه ی روش های مولکولی و به کارگیری نشانگرهای ریزماهوره به عنوان نشانگر DNA (Liu and Cordes, 2004)، اطلاعات مفیدی در زمینه توارث، تنوع ژنتیکی و پارامترهای دیگری که در ایجاد جمعیت ها نقش تعیین کننده دارند به دست می آید (Meng *et al.*, 2009; Pan and Yang, 2010; Yang *et al.*, 2011). از بارزترین ویژگی های نشانگرهای ریزماهوره اندازه نسبتا کوچک آن، توارث همبازر، تولید پلی مورفیسم بالا و توارث پذیری آن می باشند (Crooijmans *et al.*, 1997; Wei *et al.*, 2001; Yue *et al.*, 2009; Prerana *et al.*, 2011). که اخیرا در بسیاری از مطالعات مورد استفاده قرار گرفته است.

علاوه بر آن ریزماهوره ها توارث مندلی را نشان می دهند. توارث مندلی با انتقال وراثتی ژن ها یا نشانگرهای ژنتیکی از یک نسل به نسل بعدی سر و کار دارد. Arias و همکاران در سال ۲۰۱۱ با استفاده از نشانگرهای ریزماهوره به بررسی توارث در *Mimachlamys varia* پرداختند. همچنین Li و همکاران در سال ۲۰۰۹ توارث را در *Pacific oyster* توسط ۱۵ جایگاه ریزماهوره مورد مطالعه قرار دادند. این مطالعه با هدف بررسی نحوه توارث ریزماهوره ها در نسل اول و کارآمد بودن نشانگرهای ریزماهوره ای در مطالعات توارث انجام پذیرفت.

## ۲. مواد و روش ها

در فصل مهاجرت (نیمه دوم اردیبهشت ماه) شاه کولی و سیاه کولی به رودخانه های حویق با مختصات جغرافیایی ۳۶ درجه و ۴۲ دقیقه طول جغرافیایی و ۵۲ درجه و ۳۹ دقیقه عرض جغرافیایی در جنوب غربی دریای خزر واقع در استان گیلان، نمونه ها توسط تور سالیک صید شدند (شکل ۱). شاه کولی ماده از لحاظ رسیدگی جنسی (مرحله ۴ رسیدگی تخمدان) در شرایط مناسبی قرار داشت و تزریق هورمون Ovaprim به میزان ۰/۱-۵/۰ میلی گرم به کیلوگرم وزن ماهی ماده در یک مرحله صورت گرفت. پس از تزریق حدود ۱۵ ساعت بعد مولد ماده آماده تخم کشی شد و در سیاه کولی نر با وارد آوردن فشار جزئی به ناحیه شکم، اسپرم غلیظ خارج شد. تخم های به دست آمده از مولد ماده با اسپرم مولد نر به روش خشک، با پر مرغ به آرامی هم زده شدند. یک هفته پس از لقاح و نگهداری در انکوباتور با دمای ۱۸ درجه سانتی گراید، لاروها از تخم ها خارج شدند. در طول مدت یک هفته انکوباسیون، تخم ها نمونه جنینی خود را در داخل پوسته طی نموده و با پاره کردن پوسته تخم به صورت لارو از

آن خارج گشتند. پس از سپری شدن ۱۰-۷ روز کیسه زرده لاروها جذب شده و در شروع تغذیه فعال با دافنی و آرمیا و در هر سه ساعت یکبار غذادهی شدند تا طول بدنشان به ۸-۷ میلی متر رسید. از ۳۰ عدد لارو به طور تصادفی نمونه برداری به عمل آمد. از باله های والدین نیز نمونه برداری انجام گرفت و نمونه ها در اتانل ۹۵ درصد نگهداری و به آزمایشگاه ژنتیک مولکولی پژوهشکده اکولوژی دریای خزر منتقل گردید. استخراج DNA با استفاده از روش فنل-کلروفرم صورت گرفت (Hillis and Moritz, 1990). بررسی کمی و کیفی DNA استخراج شده توسط دستگاه بیوفتومتر (مدل اپندورف) و الکتروفورز ژل آگارز ۱ درصد صورت پذیرفت. از ۱۰ جفت آغازگر ریزماهواره ای (جدول ۱) برای انجام واکنش PCR استفاده گردید. واکنش PCR با استفاده از ۵ μl بافر PCR (۱۰X)، dNTP با غلظت ۲۰۰ μM، ۱ واحد آنزیم Taq DNA polymerase، MgCl<sub>2</sub> با غلظت ۲/۵ mM، ۲۰ نانوگرم DNA هدف و آب مقطر به اندازه‌ای که حجم نهایی محلول واکنش به ۲۵ μl برسد، انجام شد.



شکل ۱. نقشه محل نمونه برداری

جدول ۱. مشخصات آغازگرهای ریزماهوره ای مورد استفاده در این بررسی (شاه کولی: SH، سیاه کولی خزری: S، هیبرید دورگه: H)

جایگاه	توالی آغازگر	دمای اتصال	دسترسی به بانک ژنی
LCO3	F- GCA GGA GCG AAA CCA TAA AT R-AAA CAG GCA GGA CAC AAA GG	SH,H:53 S:62	AY318779
LCO1	F:CACGGGACAATTTGGATGTTTAT R:AGGGGGCAGCATACAAGAGAC AC	SH:45 H:53 S:45	AY318777
SYP5	F:ATTTTTAGGAGTGATGTTTCAGCAT R:CAAGTGTGTCATTGAGGAAGTGAG TATA	SH,S:61 H:58	AY318778
LCO5	F:TTA CAC AGC CAA GAC TAT GT R:CAA GTG ATT TTG CTT ACT GC	SH:63 S,H:60	AY318781
Lid1	F: TAAAACACATCCAGGCAGATT R: GGAGAGGTTACGAGAGGTGAG	SH,S:58 H:55	AB112732
Lid11	F: CTCCTGATTCTTTGTCTGACT R: TTATTATTTCTGTGGTGATTG	SH,S:53 H:52	AB112736
Rru2	F: TTCCAGCTCAACTCTAAAGA R: GCACCATGCAGTAACAAT	SH,H:60 S:50	AB112738
Z1-2	F- ATTGATTAGGTCATTGCCCG R- AGGAGTCATCGCTGGTGAGT	SH:54 S:53 H:60	(Shimoda <i>et al.</i> , 1999)
Z7-8	F- GTGGACCTCATGGAAGCATT R- AGCTACTGAAACCCTTTGGC	SH:53 S:54 H:60	(Shimoda <i>et al.</i> , 1999)
Z9-10	F- CGTCTGACAGCCTGCATG R- CTCGGCGCAGTAGGGAAC	SH:62 S,H:64	(Shimoda <i>et al.</i> , 1999)

آمیزی نیترات نقره به دست آمد. جهت سنجش وزن مولکولی محصول PCR به دست آمده بر حسب جفت باز (bp) و تعیین ژنوتیب ها از نرم افزار UVI DOC Version V.99.04 استفاده شد و همچنین حضور اللهای نول با استفاده از نرم افزار Microcheker (version 2.2.3) محاسبه گردید (Van Oosterhout *et al.*, 2004). بررسی نحوه توارث نشانگرهای ریزماهوره ای و میزان تبعیت آنها از توزیع مندلی با آزمون Chi-square توسط نرم افزار SPSS 16 در سطح  $P \leq 0.05$  مورد ارزیابی قرار گرفت.

واکنش زنجیره ای پلی مرز (PCR) برای تکثیر جایگاهها در دستگاه ترموسایکلر (مدل Auto-Q شرکت Quanta biotech) با شرایط ۹۵ درجه سانتی گراید برای ۳۰ ثانیه واسرشت شدن، ۵۸-۵۰ درجه سانتی گراید برای ۴۵ ثانیه برای اتصال و ۷۰ درجه سانتی گراد به مدت ۱ دقیقه برای ۳۰ چرخه جهت بسط آغازگرها انجام گرفت. محصول PCR به روش الکتروفورز با ژل آگارز ۲ درصد مورد ارزیابی قرار گرفت و اندازه قطعات حاصل از PCR با مقایسه با مارکر DNA (pBR322) (MBI Fermentas، DNA/AluI Marker، 20، روی ژل پلی آکریل آمید ۶ درصد و با روش رنگ

### ۳. نتایج

از ۱۰ جفت آغازگر استفاده شده تنها ۷ جفت از آنها پلی مورف بودند و اختلافات را بین والدین نشان دادند. از بین آنها ۵ جفت از آغازگرها (Z1-2, Z9-10, Z7-8, Lid11 و Rru2) هم در والد ماده و هم در والد نر هتروزیگوت بودند که حضور آلل‌ها به نسبت ۱:۱:۱ در فرزندان انتظار می‌رفت و در جایگاه Lid11 و Rru2 تمام آلل‌های مولدین در نسل اول مشاهده شدند. با استفاده از روش Chi-square مشخص گردید که در سطح  $P \leq 0.05$  از توارث مندلی کاملاً تبعیت نمودند و این در حالی است که یکی از آلل‌های مورد انتظار نسل اول در جایگاه‌های Z1-2, Z7-8 و Z9-10 مشاهده نشدند و انحراف معنی دار از توارث مندلی داشتند (جدول ۲). جایگاه Z1-2 نسبت توزیعی 35:30:35 را در فرزندان نسل F<sub>1</sub> نشان داد، جایگاه Z7-8 نسبت توزیعی ۳۰:۴۰:۳۰ و جایگاه Z9-10 نسبت ۳۰:۳۴:۳۶ مشاهده گردید. در ۲ آغازگر LCO3 و LCO1 یکی از والدین هموزیگوت و دیگری هتروزیگوتی را نشان دادند و نسبت توزیع مندلی ۱:۱ مورد انتظار مشخص گردید.

### ۴. بحث و نتیجه گیری

طبیعت هم بارز نشانگرهای ریزماهوره‌ای، شناسایی هموزیگوت و هتروزیگوت بودن را در یک جایگاه مقدور می‌سازد. ژنوتیپ‌ها و فنوتیپ‌های والدین و فرزندان را با استفاده از این نشانگرها می‌توان به طور مستقیم مشخص و به عنوان نشانگر مناسبی معرفی کرد. این در حالی است که در مطالعات AFLP و RAPD انجام شده، توارث را در یک مدل مندلی غالب نشان داده و

تخمین مستقیم هتروزیگوسیتی فقط توسط Backcross امکان پذیر است (Takagi *et al.*, 2003).

در بررسی حاضر جایگاه‌های LCO1، LCO3، Lid11 و Rru2 نرخ توزیعی سازگار با نرخ توزیعی توارث مندلی را در سطح  $P=0.05$  معنی داری نشان دادند. Takagi و همکاران در سال ۲۰۰۳ توارث مندلی و تنوع ۴ نشانگر DNA ریزماهوره‌ای در ماهی تن باله زرد *Thunnus albacares* را بررسی کردند که در طی آن تفاوت معنی داری را در نرخ تفکیکی ۷ جایگاه نسبت به نرخ تفکیک در توارث مندلی مشاهده نکردند. همچنین در مطالعه Sugaya و همکاران در سال ۲۰۰۲ هر ۵ نشانگر DNA ریزماهوره‌ای به کار گرفته شده در میگوی *Penaeus japonicus* با در نظر گرفتن آلل‌های صفر از توارث مندلی پیروی می‌کردند. Li و همکاران (2009) از ۱۵ جایگاه ریزماهوره‌ای مورد مطالعه در *Pacific oyster*، ۱۱ جایگاه را سازگار با نرخ توارث مندلی یافتند. در بررسی توسعه و توارث نشانگرهای مولکولی در *Kelp bass* توسط Vogel و همکاران در سال ۲۰۰۹ از ۷ جایگاه ریزماهوره‌ای به کار گرفته شده، تفاوتی با میزان مورد انتظار و مشاهده شده را با تعداد ژنوتیپ‌ها مشاهده نکردند همچنین نتایج حاصل از مطالعه ی Arias و همکاران در سال ۲۰۱۱ با استفاده از نشانگرهای ریزماهوره در بررسی توارث در *Mimachlamys varia* نشان داد که تبعیت از توارث مندلی در ۱۲ جایگاه ریزماهوره‌ای قابل مشاهده بوده است.

جدول ۲. ژنوتیپ های مورد انتظار و مشاهده شده در نرخ توارث مندلی بین والد ها و نسل F1 (انحراف معنی دار در سطح ۰/۵ (P<

لوکوس	ژنوتیپ والد نر	ژنوتیپ والد ماده	در فرزندان F1 مشاهده شده	ژنوتیپ مشاهده شده	درصد فراوانی	فرزندان F1 انتظار در	ژنوتیپ مورد انتظار	F1 فرزندان انتظار در	ژنوتیپ مورد انتظار	درصد فراوانی	X <sup>۲</sup>	P
LCO3	۲۵۰/۲۴۰	۲۵۰/۲۵۰	۲۵۰/۲۵۰	۲۵۰/۲۴۰	٪۵۳	۲۵۰/۲۵۰	٪۵۰	۲۵۰/۲۴۰	٪۵۰	۰/۷	۰/۱۳	
	۳۴۸/۳۴۸	۳۶۵/۳۴۸	۳۶۵/۳۴۸	۳۴۸/۳۴۸	٪۴۶	۳۴۸/۳۴۸	٪۵۰	۳۶۵/۳۴۸	٪۵۰	۰/۴۶	۰/۵۳	
Lid11	۱۷۸/۱۵۰	۱۷۰/۱۵۸	۱۷۰/۱۵۰	۱۷۸/۱۵۸	٪۲۶	۱۷۰/۱۵۰	٪۲۵	۱۷۸/۱۵۸	٪۲۵	۰/۹	۰/۱۳	
	۱۷۸/۱۵۸	۱۷۸/۱۵۸	۱۷۸/۱۵۸	۱۷۸/۱۵۸	٪۲۶	۱۷۸/۱۵۸	٪۲۵	۱۷۸/۱۵۸	٪۲۵			
	۱۷۸/۱۵۸	۱۷۸/۱۵۸	۱۷۸/۱۵۸	۱۷۸/۱۵۸	٪۲۶	۱۷۸/۱۵۸	٪۲۵	۱۷۸/۱۵۸	٪۲۵			
	۱۷۸/۱۵۸	۱۷۸/۱۵۸	۱۷۸/۱۵۸	۱۷۸/۱۵۸	٪۲۶	۱۷۸/۱۵۸	٪۲۵	۱۷۸/۱۵۸	٪۲۵			
Rru2	۲۳۰/۲۲۰	۲۵۱/۲۴۳	۲۵۱/۲۲۰	۲۴۳/۲۳۰	٪۲۷	۲۵۱/۲۲۰	٪۲۵	۲۴۳/۲۳۰	٪۲۵	۰/۹	۰/۴	
	۲۳۰/۲۲۰	۲۵۱/۲۴۳	۲۵۱/۲۲۰	۲۴۳/۲۳۰	٪۲۷	۲۵۱/۲۲۰	٪۲۵	۲۴۳/۲۳۰	٪۲۵			
	۲۳۰/۲۲۰	۲۵۱/۲۴۳	۲۵۱/۲۲۰	۲۴۳/۲۳۰	٪۲۷	۲۵۱/۲۲۰	٪۲۵	۲۴۳/۲۳۰	٪۲۵			
	۲۳۰/۲۲۰	۲۵۱/۲۴۳	۲۵۱/۲۲۰	۲۴۳/۲۳۰	٪۲۷	۲۵۱/۲۲۰	٪۲۵	۲۴۳/۲۳۰	٪۲۵			
Z1-2	۱۶۱/۱۵۰	۱۵۵/۱۴۰	۱۶۱/۱۵۵	۱۵۵/۱۵۰	٪۳۵	۱۶۱/۱۵۵	٪۲۵	۱۵۵/۱۵۰	٪۲۵	***	۳/۲۹	
	۱۶۱/۱۵۰	۱۵۵/۱۴۰	۱۶۱/۱۵۵	۱۵۵/۱۵۰	٪۳۵	۱۶۱/۱۵۵	٪۲۵	۱۵۵/۱۵۰	٪۲۵			
	۱۶۱/۱۵۰	۱۵۵/۱۴۰	۱۶۱/۱۵۵	۱۵۵/۱۵۰	٪۳۵	۱۶۱/۱۵۵	٪۲۵	۱۵۵/۱۵۰	٪۲۵			
	۱۶۱/۱۵۰	۱۵۵/۱۴۰	۱۶۱/۱۵۵	۱۵۵/۱۵۰	٪۳۵	۱۶۱/۱۵۵	٪۲۵	۱۵۵/۱۵۰	٪۲۵			
Z7-8	۱۱۵/۱۰۲	۱۲۰/۱۱۳	۱۲۰/۱۱۵	۱۱۳/۱۰۲	٪۳۰	۱۲۰/۱۱۵	٪۲۵	۱۱۳/۱۰۲	٪۲۵	***	۳/۳	
	۱۱۵/۱۰۲	۱۲۰/۱۱۳	۱۲۰/۱۱۵	۱۱۳/۱۰۲	٪۳۰	۱۲۰/۱۱۵	٪۲۵	۱۱۳/۱۰۲	٪۲۵			
	۱۱۵/۱۰۲	۱۲۰/۱۱۳	۱۲۰/۱۱۵	۱۱۳/۱۰۲	٪۳۰	۱۲۰/۱۱۵	٪۲۵	۱۱۳/۱۰۲	٪۲۵			
	۱۱۵/۱۰۲	۱۲۰/۱۱۳	۱۲۰/۱۱۵	۱۱۳/۱۰۲	٪۳۰	۱۲۰/۱۱۵	٪۲۵	۱۱۳/۱۰۲	٪۲۵			
Z9-10	۱۴۶/۱۳۳	۱۳۷/۱۲۵	۱۳۳/۱۲۵	۱۳۷/۱۳۳	٪۳۶	۱۳۳/۱۲۵	٪۲۵	۱۳۷/۱۳۳	٪۲۵	***	۲/۷	
	۱۴۶/۱۳۳	۱۳۷/۱۲۵	۱۳۳/۱۲۵	۱۳۷/۱۳۳	٪۳۶	۱۳۳/۱۲۵	٪۲۵	۱۳۷/۱۳۳	٪۲۵			
	۱۴۶/۱۳۳	۱۳۷/۱۲۵	۱۳۳/۱۲۵	۱۳۷/۱۳۳	٪۳۶	۱۳۳/۱۲۵	٪۲۵	۱۳۷/۱۳۳	٪۲۵			
	۱۴۶/۱۳۳	۱۳۷/۱۲۵	۱۳۳/۱۲۵	۱۳۷/۱۳۳	٪۳۶	۱۳۳/۱۲۵	٪۲۵	۱۳۷/۱۳۳	٪۲۵			

همکاران در سال ۲۰۰۷ بر الگوی توارث EST-SSR ها در لارو bay scallop (Argopecten irradians) و Sugaya و همکاران در سال ۲۰۰۲ نیز تبعیت از نرخ توزیع مندلی را مشاهده نکردند که یکی از دلایل وجود چنین ناسازگاری را اختلال در نمونه برداری دانستند. هم چنین در

در جایگاه های Z1-2، Z7-8 و Z9-10 نرخ توزیع آلی مطابق با نرخ توزیع آلی در توارث مندلی به دست نیامد. چنین ناسازگاری در توزیع مندلی می تواند به علت اشتباهات در نمونه برداری و تعداد نمونه ها و یا ارتباط با آلل غالب مخرب و تبدیل ژنی باشد. در مطالعات Zhan و

حاضر می تواند به سبب از دست دادن آلل ها بین فرزندان باشد. تکثیر نیافتن آنها می تواند ناشی از نوسانات در PCR priming site باشد. این پدیده به خوبی در سایر مطالعات ریزماهواره ای آمده است (Banks *et al.*, 1999). در این تحقیق از یک جفت مولدینی که به طور تصادفی استفاده شدند، بررسی های ریزماهواره ای نشان دادند که دارای هتروزیگوسیتی بالایی می باشند. مولدین این گونه در شکل غیر هیبرید خود در طبیعت از تنوع بالایی برخوردار است و پیش بینی می شود که جمع آوری مولدین زیاد از مناطق مختلف حوزه جنوبی خزر، انجام تکثیر مصنوعی و رها سازی از یک سو، کنترل صید و توقف آن برای چندین سال از سوی دیگر می تواند موجب احیای ذخایر این گونه شود. در مجموع از ۱۰ جفت نشانگر ریزماهواره ای مورد مطالعه، ۷ جفت پلی مورف بودند و بنابراین آغازگرهای این جایگاه ها برای بررسی هتروزیگوسیتی و پلی مورفیسم در ژنوم سیاه کولی، شاه کولی و هیبرید آنها پیشنهاد می گردد.

دورگه حاصله از سیاه کولی خزری و شاه کولی دارای هتروزیگوسیتی بالا و تبعیت از نرخ توارث مندلی در بیشتر جایگاه های ریزماهواره ای را دارا می باشند. حضور دورگه ها، با توجه به دریافت کردن ترکیبی از خصوصیات مختلف ژنتیکی از دو مولدشان، می تواند صفات پرورشی و تجاری چشمگیری را در صنعت آبی پروری در بر داشته باشد. از آن جایی که دو گونه والد دورگه حاصله در معرض تهدید هستند، دورگه آنها در آینده ممکن است به عنوان گونه پرورشی معرفی شود و این اطلاعات به تولیدکنندگان و کسانی که این گونه ها را اصلاح نژاد می کنند، در بازسازی یک دورنمایی از ساختار ژنتیکی دورگه های مربوط به آن ها کمک خواهد کرد. از نظر آبی

مطالعه Corte-Real و همکاران در سال ۱۹۹۴ در رابطه با توارث DNA چند شکلی هسته ای در لارو دو کفه ای ۱/۴ تا ۱۲/۸٪ از ژنوتیپ ها یافت شدند که با توارث مندلی از ژنوتیپ والدین ناسازگار بودند. توضیح بیولوژیکی در مطالعه Corte-Real و همکاران این گونه است که اگر از دست دادن کروموزومی در لارو اتفاق بیفتد، باعث ثبت شدن هموزیگوتی به جای هتروزیگوتی می شود. Peng و همکاران در سال ۲۰۰۵ دلایلی نظیر رانش میوزی را بیان داشتند که در آن ۲ آلل، تفکیک مندلی را مطابق ژنوتیپ هتروزیگوتی نشان نداده اند و این می تواند به خاطر مکانیسم های بیولوژیکی باشد که سعی در نگهداری تعداد زیاد آلل ها در جمعیت های طبیعی دارند و همچنین تداخل جایگاه های دیگر و یا نرخ های جفت گیری متفاوت در بین فرزندان را از عوامل موثر ایجاد انحراف در نرخ تفکیک مندلی شماره اند. پیروی مطالعات Banks و همکاران در سال ۱۹۹۹ در رابطه با جداسازی و توارث ریزماهواره های Novel در گونه *Oncorhynchus tshawytscha*، انتقال نامتناسب آلل ها توسط چه نر و چه ماده را ناسازگار با قانون مندلی یافتند و دلایلی همچون اتفاقات قبل از تشکیل تخم مانند تغییر ژن<sup>۱</sup> یا رانش میوزی و اتفاقات بعد از تشکیل تخم مانند اتصال به جایگاه های مرگ آور غالب را نیز محتمل شماردند. علاوه بر آن Zhan و همکاران تصادفی نبودن تفکیک کروموزوم در طی تقسیم میوز، تفاوت زیستی<sup>۲</sup> یا عملکرد متفاوت گامت<sup>۳</sup>، رقابت گامت ها برای لقاح ترجیحی را از دلایل محتمل دانسته اند. همچنین مشاهده نکردن برخی ژنوتیپ ها در جایگاه ها در بررسی

1. gene conversion
2. Differential viability
3. Differential functionality of gamete

assayed in single bivalve larvae. Mar. Biol. 120: 415-420.

Crooijmans R. P. M. A., Poel J. J., Groenen M. A. M., Bierbooms V. A. F. 1997. Microsatellite markers in common carp (*Cyprinus carpio* L.). Gen. 28: 129-134.

Ghaninezhad, D., Abdolmaleki, S., Fazli, H. 2000. Stock assessments of Teleost fishes in Caspian Sea. Iranian Fisheries Research and Training Organization, Tehran, 90 P.

Hillis, D. M., Moritz, C. 1990. Molecular taxonomy, Sinauer, Sunderland, Massachusetts, U.S.A, 120 P.

Jolodar, M. N., Abdoli, A. 2004. Fish species atlas of South Caspian Basin (Iranian waters), Iranian Fisheries Research Organization, p90.

Li, L., Ximing, G., Guofan, Z. 2009. Inheritance of 15 microsatellites in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*: segregation and null allele identification for linkage analysis. Chin. J. Ocean Limnol. 27: 74-79.

Liu, Z. J., Cordes, J. F. 2004. DNA marker technologies and their applications in aquaculture genetics. Aquaculture 238: 1-37.

Meng, X. H., Wang, Q. Y., Jang, I. K., Liu, P., Kong, J. 2009. Genetic differentiation in seven geographic populations of the fleshy shrimp *Penaeus (Fennero penaeus) chinensis* based on microsatellite DNA. Aquaculture. 287: 46-51.

Shimoda, N., Knapik, E. W., Ziniti, J., Sim, C., Yamada, E., Kapan, S., Jackson, D., Sauvage, F., Jacob, H., Fishman, M. C. 1999. Zebrafish genetic map with 2000 microsatellite markers. Gen. 58: 219-232.

Sugaya, T., Ikeda, M., Mori, H., Taniguchi, N. 2002. Inheritance mode of microsatellite DNA markers and their use for kinship estimation in kumura prawn *Penaeus japonicus*. Fish Sci. 68:299-305.

Pan, G., Yang, J. 2010. Analysis of Microsatellite DNA Markers Reveals no Genetic Differentiation between Wild and Hatchery Populations of Pacific Threadfin in Hawaii. International J. Biol. Sci. 6: 827-833.

Peng, H. B., Siraj, S. S., Guan, T. S., Yusof, K. 2005. Mendelian inheritance of

پروری در صورتی که شیلات ایران گونه اصلی و یا دورگه آن را در دستور کار قرار دهد، با توجه به قیمت بالای شاه کولی و سیاه کولی خزری در بازار و پیش بینی راندمان بالای دورگه، این بررسی ها نشان می دهد برنامه اصلاح نژاد این گونه مبتنی بر استفاده از مولدین وحشی یا طبیعی بوده و امکان مواجه با مشکلات اصلاح نژاد احتمالاً کاهش می یابد. این گونه با وجود تنوع ژنتیکی بالای خود می تواند امتیازاتی را برای اصلاح نژاد و پرورش داشته باشد.

### تشکر و قدردانی

موسسه تحقیقات شیلات ایران جهت تامین منابع مالی، تجهیزات و امکانات آزمایشگاهی، پژوهشگرده اکولوژی دریای خزر و دکتر رضا پورغلام رئیس پژوهشگرده اکولوژی دریای خزر به خاطر در اختیار قرار دادن آزمایشگاه و فراهم نمودن امکانات اقامتی، مهندس محجوبه نیرانی بخاطر همکاری در آزمایشگاه بیوتکنولوژی و همچنین از همکاری کارگاه تکثیر و پرورش شهید انصاری در جمع آوری نمونه ها تشکر و قدردانی می گردد.

### منابع

Arias, A., Freire, R., Pablo De La Roche, J., Román, G., Méndez, J., Insua, A. 2011. Identification, Inheritance, and Variation of Microsatellite Markers in the Black Scallop *Mimachlamys varia*. Biochem. Gen. 49:139-152.

Banks, M. A., Blouin, M. S., Baldwin, B. A., Rashbrook, V. K., Fitzgerald, H. A., Blankenship, S. M., Hedgecock, D. 1999. Isolation and inheritance of novel microsatellites in Chinook Salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). Am. Gen. Assoc. 90: 281-288.

Corte-Real, H. S. M., Holland, P. W. H., Dixon, D. R. 1994. Inheritance of a nuclear nuclear DNA polymorphism



bass *Paralabrax clathratus*. *Fish Sci.* 75: 525-527.

Yang, J. Q., Zhou, X. D., Liu, D., Liu, Z. Z., Tang, W. Q. 2011. Isolation and characterization of microsatellite loci in the fish *Coilia mystus* using PCR-based isolation of microsatellite arrays. *Gen. Mol. Res.* 10:1514-1517.

Yue, G. H., Zhu, Z. Y., Lo, L. C., Wang, C. M., Lin, G., Feng, F., Pang, H. Y., Li, J., Gong, P., Liu, H. M., Tan, J., Chou, R., Lim, H., Orban, L. 2009. Genetic variation and population structure of Asian seabass (*Lates calcarifer*) in the Asia-Pacific region. *Aquaculture*. 293: 22–28.

Wei, D. W., Lou, Y. D., Sun, X. W., Shen, J. B. 2001. Isolation of microsatellite markers in the common carp (*Cyprinus carpio*). *Zool. Res.* 22: 238–241

Zhan, A. B., Bao, Z. M., Hui, M., Wang, M. L., Zhao, H. B., Lu, W., Hu, X. L., Hu, J. J. 2007. Inheritance pattern of EST-SSRs in self fertilized larvae of bay scallop *Argopecten irradians*. Finnish zoological and botanical publishing board. *Ann. Zool. Fennici.* 44:259-268.

microsatellite markers in Southeast Asian River Catfish, *Mystus nemurus*. *Pertanika J. Trop. Agr. Sci.* 28: 67-71.

Prerana, J., Chitra, S., Pankaj, P., Mehar Chand, S. H., Kale, Shashank Sharad, K., Deepak, G., Chosdol, Kunzang, C. H., Vaishali, S. 2011. Detection of Allelic Status of 1p and 19q by Microsatellite-based PCR Versus FISH: Limitations and Advantages in Application to Patient Management. *Diag. Mol. Pathol.* 20:40-47.

Takagi, M., Chow, S., Okamura, T., Scholey, V. P., Nakazawa, A., Margules, D., Wexler, J. B., Taniguchi, N. 2003. Mendelian inheritance and variation of four microsatellite DNA markers in yellowfin tuna *Thunnus albacares*. *Fish Sci.* 69: 1306-1308.

Van Oosterhout, C., Hutchinson, W. F., Wills, D. P. M., Shipley, P. 2004. MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Mol. Ecol.* 4: 535-538.

Vogel, A., Selkoe, K. A., Anderson, D., Edmands, S. 2009. Development and inheritance of molecular markers in kelp