

وزارت جهاد كشاورزي
سازمان تحقيقات، آموزش و ترويج كشاورزي
موسسه تحقيقات علوم شيلاتي كشور - مركز تحقيقات ژنتيك و اصلاح نژاد ماهيان سردآبي
شهيد مطهري ياسوج

عنوان :

**ايجاد جمعيت پايه ژنتيكي قزل آلاي رنگين كمان
بر اساس مطالعه تنوع ژنتيكي مولدين
اين ماهي با استفاده از ريزماهورك ها**

مجرى :

عين الله گرجي پور

شماره ثبت

٤٤٥٧٥

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور - مرکز تحقیقات ژنتیک و اصلاح نژاد ماهیان سردآبی
شهید مطهری یاسوج

عنوان پروژه : ایجاد جمعیت پایه ژنتیکی قزل آلاهی رنگین کمان بر اساس مطالعه تنوع ژنتیکی مولدین این ماهی با استفاده از ریزماهورک ها
شماره مصوب پروژه : ۲-۱۲-۱۲-۸۸۰۴۳
نام و نام خانوادگی نگارنده/ نگارندگان : عین الله گرجی پور
نام و نام خانوادگی مجری مسئول (اختصاص به پروژه ها و طرحهای ملی و مشترک دارد) :
نام و نام خانوادگی مجری / مجربان : عین الله گرجی پور
نام و نام خانوادگی همکار(ان) : مصطفی محقق دولت آبادی ، فرحناز ایمانی خواه ، رسول زارع ، داود
ضرغام ، کیانوس کمایی ، کمیل رزمی ، محمد میثم صلاحی ، حامد کریمی ، علی نکوئی فرد ، جواد مهدوی ،
احمد رضا حسینی ، حبیب اله گندمکار ، حسین مرادیان ، طیبه باشتی ، محسن محمدپور
نام و نام خانوادگی مشاور(ان) : -
نام و نام خانوادگی ناظر(ان) : محمد پور کاظمی
محل اجرا : استان کهگیلویه و بویر احمد
تاریخ شروع : ۸۸/۲/۱
مدت اجرا : ۲ سال
ناشر : موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور
تاریخ انتشار : سال ۱۳۹۴
حق چاپ برای مؤلف محفوظ است . نقل مطالب ، تصاویر ، جداول ، منحنی ها و نمودارها با ذکر مأخذ
بلامانع است .

«سوابق طرح یا پروژه و مجری مسئول / مجری»

پروژه: ایجاد جمعیت پایه ژنتیکی قزل آلای رنگین کمان بر اساس

مطالعه تنوع ژنتیکی مولدین این ماهی با استفاده از ریزماهورک ها

کد مصوب: ۲-۱۲-۱۲-۸۸۰۴۳

شماره ثبت (فروست): ۴۴۵۷۵ تاریخ: ۹۲/۱۲/۱۷

با مسئولیت اجرایی جناب آقای عین الله گرجی پوردارای مدرک تحصیلی
دکتری حرفه ای در رشته دامپزشکی می باشد.

پروژه توسط داوران منتخب بخش اصلاح نژاد و تکثیر و پرورش آبزیان در

تاریخ ۹۲/۱۰/۹ مورد ارزیابی و با رتبه خوب تأیید گردید.

در زمان اجرای پروژه، مجری در:

ستاد پژوهشکده مرکز ایستگاه

با سمت رئیس مرکز در مرکز تحقیقات ژنتیک و اصلاح نژاد ماهیان

سردآبی شهید مطهری یاسوج مشغول بوده است.

صفحه	« فهرست مندرجات »	عنوان
۱	چکیده
۲	۱- مقدمه
۱۶	۲- مواد و روشها
۲۷	۳- نتایج
۴۵	۴- بحث
۵۰	۵- نتیجه گیری
۵۱	پیشنهادها
۵۲	منابع
۵۵	پیوست
۷۲	چکیده انگلیسی

چکیده

به منظور اجرای پروژه، تعداد ۴۴۶ نمونه از ماهی قزل آلا از ۲۴ مزرعه از استانهای مختلف کشور جمع آوری گردید. از هر نمونه ۲ تا ۳ گرم از باله دمی بریده و پس از تثبیت در الکل اتانول مطلق به آزمایشگاه منتقل گردید. DNA ژنومی نمونه‌ها از بافت نرم باله ماهی به روش فنل-کلروفرم استخراج و سپس کمیت و کیفیت DNA استخراج شده با استفاده از اسپکتروفتومتر و الکتروفورز ژل آگارز ۱ درصد تعیین شد. واکنش PCR با استفاده از ۱۰ جفت پرایمر ریزماهواره صورت گرفت. محصول PCR با استفاده از ژل پلی آکریل آمید ۶ درصد الکتروفورز و با نیترات نقره رنگ آمیزی شد. جهت سنجش وزن مولکولی محصول PCR بر حسب جفت باز (bp) و تعیین ژنوتیپ‌ها از نرم افزار UV Duc استفاده گردید. مقادیر مربوط به فراوانی آلی، تعداد آللهای واقعی و موثر، هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار، شاخص شانون، میزان شباهت و فاصله ژنتیکی، تعادل هاردی-واینبرگ، مقادیر F_{ST} و R_{ST} و جریان ژنی بر اساس تست AMOVA با استفاده از نرم افزار ژنتیکی Gene Alex و Popgene محاسبه گردید. نتایج بدست آمده از این بررسی نشان می‌دهد که ۸ جفت پرایمر میکروستلایتی بررسی شده، پلی مورف بودند. در مجموع تعداد ۵۰ آلل شناسائی گردید که محدوده اندازه آنها بین ۲۸۰-۶۴ جفت باز بوده است. جایگاه Omyf با ۲۶ آلل دارای بیشترین آلل و جایگاه OTSG 474 و Strurruta58 با ۵ آلل دارای کمترین تعداد آلل بود. همچنین هتروزیگوسیتی مشاهده شده (H_o) بین مزرعه نمونه برداری در جایگاههای ده گانه بین ۰/۸۲۵ تا ۰/۹۶۴ در بررسی تعادل هاردی-واینبرگ مزارع ۱۸، ۱۵، ۴، ۲۰، ۲۱ در تمامی لوکوسهای مورد بررسی انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ را نشان داده و خارج از تعادل بودند ($P < 0.05$). در این بررسی، مزارع ۱۴، ۷، ۶، ۳ جایگاه در تعادل هاردی واینبرگ بودند و در بقیه جایگاهها خارج از تعادل بودند. سایر مزارع در یک یا دو جایگاه در تعادل بوده و در ۸ یا ۹ جایگاه خارج از تعادل بودند. نتایج بدست آمده از F_{ST} نشان می‌دهد که حداکثر آن (۰/۲۴) بین نمونه‌های مزرعه ۱۱ که دارای کمترین میزان جریان ژنی (۳/۷) است مشاهده می‌شود. حداقل F_{ST} (۰/۰۴) بین نمونه‌های مزرعه ۸ و ۹ که دارای بیشترین میزان جریان ژنی (۳۴۶) است مشاهده می‌شود. براساس نتایج حاصل از تست AMOVA بین تمام مزارع با یکدیگر اختلاف معنی دار مشاهده می‌شود ($P < 0.01$). علاوه بر این بر اساس معیار Nei (1972) بیشترین فاصله ژنتیکی (۰/۸۹) بین نمونه‌های مزرعه ۲ با ۱۱ و کمترین شباهت ژنتیکی (۰/۱۵) میان نمونه‌های مزارع ۳ با ۴ وجود دارد. با توجه به داده‌های حاصله بررسی حاضر تنوع ژنتیکی بدست آمده در مزارع پرورشی ماهی قزل آلا در کشور قابل توجه بوده و می‌تواند به عنوان مطالعه پایه در ایجاد جمعیت پایه در برنامه‌های اصلاح نژادی کمک نماید.

۱- مقدمه

گونه قزل آلاهی رنگین کمان متعلق به زیر خانواده آزاد ماهیان (salmoninae)، خانواده آزاد ماهیان (salmonidae)، راسته آزاد ماهی شکلان (salmoniform) و جنس انکورینکوس (oncorhynchus) می باشد (Nelson, 2006). اکثر آزاد ماهیان گونه هایی با ارزش تجاری بالا هستند. قزل آلاهی رنگین کمان تمام مراحل زندگی خود را در آب شیرین بسر می برند. اعضای این خانواده به طور کلی بومی اروپا، شمال آسیا و شمال آمریکا هستند ولی توسط انسان به اکثر نقاط دنیا برده شده و به منابع آبی مناطقی چون آمریکای جنوبی، هند، استرالیا، زلاندو و ایران معرفی شده اند. ماهیان ماده این خانواده فاقد مجرای تخم بر می باشند و تخم پس از رسیدگی در حفره شکمی افتاده سپس از مجرای تناسلی به خارج هدایت می شود.

در خانواده آزاد ماهیان، ماهیان مهاجر بالارو (Anadromos) نیز وجود دارند که برای تخم ریزی از دریا وارد آب شیرین می شوند. به علاوه ماهیان مهاجر رودرو (Potamodromos) نیز در بین آنها یافت می شوند که در آبهای رودخانه ها و دریاچه ها زندگی می کنند و فقط در همان محل زندگی خود که آب شیرین است مهاجرت هایی به قسمتهای بالاتر انجام می دهند.

ماهی قزل آلاهی رنگین کمان مهمترین گونه آزاد ماهیان پرورشی در آب شیرین است. طول بدن در زمان بلوغ ۲۵-۴۵ سانتی متر است و حداکثر به ۷۰ سانتی متر بالغ می شود. رکورد جهانی این ماهی ۱۹۱۰۸ گرم است (Maitland, 2000) مانند سایر آزاد ماهیان دارای بدنی دوکی شکل (کشیده و دراز) است و باله چربی در حد فاصل باله پشتی و باله دمی وجود دارد. اما سایر مشخصات ظاهری که این گونه را از سایر آزاد ماهیان متمایز می کند عبارتند از وجود دو نوار قوس و قزح (رنگین کمان) در دو طرف بدن که از سرپوش برانشی تا دم کشیده شده است، در نرها این نوار قوس و قزح در فصل تخم ریزی پررنگ تر و زیباتر شده است. همچنین وجود خالهای سیاه رنگ ستاره ای شکل در تمام سطوح بدن از مشخصات این گونه است (نفیسی بهابادی، ۱۳۸۹).

امروزه این ماهی دارای پراکندگی وسیعی در تمام نقاط جهان می باشد. این ماهی به دلیل آسانی در تکثیر مصنوعی، رشد خوب و مقاومت نسبت به بیماریها توانست جایگاه خوبی در پرورش مصنوعی پیدا کند. امروزه ماهی قزل آلاهی رنگین کمان به صورت یک ماهی مطمئن در اکثر کارگاه های تکثیر و پرورش ماهیان سردآبی در کلیه نقاط جهان درآمده است. از خصوصیات که این ماهی را مورد توجه قرارداد سازش خوب آن با شرایط پرورش متراکم، سختگیر نبودن این ماهی در انتخاب غذا و سرعت رشد خوب این ماهی می باشد.

تاریخچه تکثیر و پرورش قزل آلا در ایران به سال ۱۳۳۶ می رسد. برای اولین بار در ماهی سرای کرج با استفاده از آب رودخانه کرج تکثیر و پرورش این ماهی آغاز می گردد. همچنین در سال ۱۳۴۵ شرکت ماهی قزل آلا در کنار جاجرود و با ظرفیت ۱۸۰ تن تأسیس شد. در سال ۱۳۵۶ در یک مزرعه در قادرآباد دشت مرغاب فارس تأسیس شد و در سال ۱۳۵۸ به بهره برداری رسید. هم اکنون فعالیت تکثیر ماهی قزل آلا در دو مزرعه دولتی شهید

باهنر کلاردشت در استان مازندران و مرکز تکثیر شهید مطهری یاسوج (مرکز ژنتیک و اصلاح نژاد ماهیان سردابی) در استان کهگیلویه و بویراحمد و ۶۰ مرکز تکثیر خصوصی در حال انجام است. نژادهای مختلف این ماهی با واردات تخم چشم‌زده از کشورهای دانمارک، انگلیس، ایتالیا، اسکاتلند، فرانسه و نروژ به کشور وارد شده‌اند.

تولید ماهی قزل آلالی رنگین کمان در ایران بخوبی توسعه یافته است و بر اساس برنامه توسعه دولت افزایش تولید از ۱۲۰۰۰ تن در سال ۱۳۷۰ به ۳۰/۰۰۰ تن در سال ۱۳۸۳ و ۴۵۰۰۰ تن در سال ۱۳۸۵ به ۵۰۰۰۰ تن در سال ۱۳۸۶ رسیده است و در سال ۱۳۸۸ به ۷۲۶۴۳ تن افزایش یافت. تاکنون در مراحل مختلف از کشورهای خارجی تخم چشم‌زده قزل آلالی وارد کشور شده است و کاملاً با یکدیگر اختلاط پیدا کرده‌اند. هیچ سیاستی برای جابجایی اصولی مولدین در بین مراکز تکثیر دولتی و خصوصی وجود ندارد و باعث آسیب جدی به منبع ژنی قزل آلالی ایران و هم‌خونی (inbreeding) ماهیان شده است.

ماهیانی برای پرورش مقرون به صرفه‌تر هستند که دارای رشد سریعتر، درصد بالاتر بازده لاشه، تبدیل غذایی پائینتر و مقاومت بیشتر نسبت به بیماریها باشند. به همین علت برای به حداکثر رساندن پتانسیل بیولوژیکی ماهیان، یکی از اهداف مدیریت کارگاه‌های تکثیر باید بکارگیری اصول اساسی ژنتیک و اصلاح نژاد در کارگاه باشد. یک مدیر کارگاه تکثیر ابتدا باید تصمیم بگیرد که ماهیان از کدام جمعیت جمع‌آوری گردند. چنانچه هدف نجات یک جمعیت به مخاطره افتاده و یا در شرف انقراض باشد، بدیهی است که باید مولدین را از جمعیت در معرض خطر بدست آورد و اگر هدف، تولید یک محصول تجاری باشد باید مشخص شود که کدام جمعیت در منطقه مورد نظر رشد بالاتر و مقاومت بیشتری نسبت به بیماریها دارد و این اطلاعات می‌توانند از طریق مأمورین ترویج، متون علمی و یا انجام آزمایشهای تولید محصول در همان محل کسب شوند. (امینی، ۱۳۷۴). اگر مدیریت شیلاتی جمعیت‌های متعدد متعلق به یک گونه را از همدیگر متمایز ننماید و تمام جمعیت‌های موجود در یک اکوسیستم آبی را واحد فرض کند، این امر سبب می‌شود یا از جمعیت‌های ضعیف بیش از حد مجاز برداشت و صید گردد و یا از جمعیت‌های مناسب یا قوی کمتر از حد قابل برداشت صید گردد.

۱-۱- سوالات و فرضیات تحقیق

- مولدین (تقریباً در یک محدوده سنی) مناطق مختلف کشور از نظر شاخصهای ژنتیکی تا چه اندازه با یکدیگر اختلاف دارند؟

- بین تعداد و فراوانی آللی ریزماهواره‌ها و تنوع ژنتیکی رابطه مثبت وجود دارد.

- جمعیت‌های مختلفی از قزل آلالی رنگین کمان در کشور وجود دارد

- نشانگرهای ریزماهواره برای مطالعات جمعیتی قزل آلالی رنگین کمان مناسب می‌باشد

اهداف طرح

هدف اصلی:

انجام فاز اول طرح ملی اصلاح نژاد قزل آلای رنگین کمان از طریق اجرای هماهنگ و همزمان مجموعه ای از پروژه های تحقیقاتی و ایجاد بستر و زمینه لازم برای ادامه فرایند اصلاح نژاد بر اساس دستاوردهای تحقیقاتی حاصله.

۱-۲- سایر اهداف:

- ۱- ایجاد جمعیت پایه ژنتیکی قزل آلا در مرکز تحقیقات یاسوج از طریق جمع آوری نژادها و تپه های منتخب از مناطق مختلف کشور بر اساس معیارهای علمی.
- ۲- بررسی تنوع ژنتیکی مولدین قزل آلای موجود در مرکز و مولدین جمع آوری شده از مناطق منتخب کشور جهت ارزیابی توان و پتانسیل ژنتیکی آنها برای اهداف اصلاح نژادی.
- ۳- شناسنامه دار کردن و ثبت ذخایر مولدین موجود در مرکز و گزینش مولدین برتر بر اساس پارامترهای فنوتیپی و عملکرد تولید مثلی برای استفاده در مراحل بعدی اصلاح نژاد.
- ۴- مونیتورینگ بهداشتی ذخایر موجود و انتقال یافته قزل آلای مرکز با هدف فراهم سازی بستر سالم و بهداشتی و افزایش امنیت بیولوژیک محصولات تولیدی جهت اجرای فعالیتهای اصلاح نژادی.

۱-۳- اهمیت و ضرورت تحقیق

انتخاب جمعیت برای استفاده در مراکز تکثیر اولین تصمیمی است که باید در رابطه با انتخاب و جمع آوری مولدین اتخاذ شود. این مرحله و تصمیم یکی از مراحل و تصمیمات بسیار مهم در رابطه با دستیابی به حفاظت ژنتیکی و پایداری جمعیت است چرا که این مرحله به شدت در دو مورد از خطرات ژنتیکی چهار گانه، تعیین کننده می باشد. اول آنکه اگر جمعیت های مولد یا جمعیت های مورد نظر به شدت تخلیه شده باشند ممکن است خطر انقراض بالا باشد. دوم نوع جمعیتی که مولدین از آن گرفته می شوند تاثیر بسزایی بر خطر از دست رفتن هویت جمعیتی دارد چرا که ممکن است تیره های مجزا با هم مخلوط شوند. استفاده از جوامعی به جز جمعیت تحت مدیریت به عنوان جوامع مولد دهنده نیز دارای خطر از دست رفتن تنوع ژنتیکی بین جمعیتها است. باید از آمیختن یا هم آمیزی جوامع جلوگیری نمود چرا که این امر (اختلاط جوامع) موجب از دست رفتن هویت جمعیت می شود. این امر بویژه در مواردی که تنها جمعیت بسیار کوچکی از یک تیره ژنتیکی بومی باقی مانده است مورد توجه خاص قرار می گیرد. علاوه بر این، نتیجه هم آمیزی هدفمند جوامع مجزا، قبل از انجام آن غیر قابل پیش بینی است و ممکن است جمعیت مخلوط شده به علت فشار برون آمیزی با کاهش شایستگی روبرو شده یا بصورت موقت شایستگی آن به علت برتری افراد دورگه در نسل اول افزایش یافته و در نسلهای بعدی کاهش

یابد و یا هیچکدام رخ ندهند. برنامه هایی که جهت حفاظت از ذخایر ژنتیکی متمایز یک گونه از ماهیان تنظیم می شوند در وهله اول نیازمند شناسایی این ذخایر هستند. این قبیل تمایز ناشی از تاثیرات نمونه برداری مرتبط با منشا جمعیت می باشد. در مواقعی که جوامع منفرد از تعداد اندکی ماهی ماده نشات گرفته باشند ممکن است تاثیرات بنیان گذار جامعه، انحراف ژنتیکی و انقراض تصادفی تیره ها منجر به تثبیت هاپلو تایپ های مختلفی شده و از این رو امکان تفکیک دقیق ذخایر را فراهم آورند. پیش از اتخاذ تصمیم نهایی در مورد اینکه از کدام سویه استفاده شود باید تاریخچه هر جمعیت مشخص باشد. برای این منظور باید از موارد زیر آگاهی داشت: منشا جمعیت از کجاست؟ تعداد جابه جایی مولدین به کارگاههای مختلف چقدر بوده است؟ تاریخچه بیماریهای جمعیت چه بوده است؟ چه محصولاتی از این جمعیت بدست آمده است؟. از نظر ژنتیکی، جمعیت ایده ال، جمعیتی است که بینهایت بزرگ باشد. متأسفانه مدیران کارگاهها نمی توانند با جمعیت بزرگ کار نمایند بلکه باید با جمعیتهای محدود و کوچک کار کنند. هنگامی که یک جمعیت محدود باشد بهترین راه توصیف آن بوسیله ضریب تولید مثل موثر است. این ضریب نیز خود به تعداد مولدین، نسبت جنسی، سیستم آمیزش و واریانس اندازه خانواده وابسته می باشد. هر مدیر کارگاه تکثیر باید مقادیر ضریب تولید مثل موثر (N_e) مورد نیاز برای جمعیت خود را بر اساس اهداف مورد نظر، بودجه و اندازه کارگاه انتخاب کند.

تنوع ژنتیکی

تنوع ژنتیکی، هم تنوع درون نژادی و هم تنوع بین نژادی را شامل می شود. متخصصین اصلاح نژاد از تنوع ژنتیکی برای رسیدن به حیوانات اهلی منطبق بر احتیاجاتشان، بهره گیری می نمایند. فقدان تنوع قدرت انتخاب موجود برای رفع نیازهای غیرقابل پیش بینی آتی را محدود می سازد. تنوع درون نژادی پیوسته با ورود تنوع جدید ناشی از جهش مواجه است ولی تنوع ژنتیکی بین نژادی را نمی توان براحتی بازسازی نمود. هر نژاد یا سویه حاصل فرآیندهای جهش، رانش ژنتیکی، تکامل و سازگاری مجزایی است که طی قرون متمادی حاصل گردیده است. فشار انتخاب در طی این زمان تحت تأثیر آب و هوا، انگلها و بیماریهای بومی، تغذیه و معیارهای وضع شده از سوی انسان تغییر کرده است. بنابراین می توان گفت هر نژاد مجموعه منحصر به فردی از ژنهاست که مخزن ژنی آن نژاد را می سازند (Templeton, 2004).

واحد اولیه منابع ژنتیکی نژاد، سویه یا جمعیتی با موقعیت جغرافیایی خاص می باشد. در کشورهای توسعه یافته معمولاً یک سازمان رسمی برای هر نژاد یا گروه نژادی وجود دارد و نژادها بخوبی تعریف شده اند و به عنوان گروه های دارای ویژگیهای خاص ریخت شناسی و تولیدی و غیره شناخته می شوند. اما در کشورهای در حال توسعه غالباً نژادها به روشنی تعریف نشده اند و می توان گفت که در این کشورها سویه یا جمعیت هایی که از لحاظ جغرافیایی متمایز هستند، وجود دارد.

نشانه‌های ژنتیکی

هر فنوتیپ یا صفت (قابل توارث) موجود زنده که با صفت معادل خود در موجود زنده دیگر تفاوت داشته باشد یک نشانه‌گر محسوب می‌شود. نشانه‌گرهای ژنتیکی جایگاه‌های خاص روی یک کروموزوم دارند که به عنوان نشانه‌های اختصاصی برای تجزیه و تحلیل‌های ژنومی به خدمت گرفته می‌شوند. در واقع تفاوت موجود بین ردیف DNA کروموزوم در افراد یک جامعه و یا نژاد که از افراد به نتاج آنها منتقل می‌گردد می‌تواند به عنوان نشانه یا نشانه‌گر ژنتیکی به کار گرفته شود. برای آنکه صفتی بعنوان نشانه‌گر ژنتیکی استفاده شود بایستی حداقل واجد دو ویژگی متفاوت بودن در بین دو فرد (بروز چند شکلی)، همچنین قابلیت توارث داشته باشد. نشانه‌گرهای ژنتیکی به عنوان ابزاری برای تهیه نقشه‌های پیوستگی مولکولی و ارزیابی جایگاه‌های ژنتیکی چند شکلی در صفات اقتصادی کمی کاربردهای بالقوه‌ای را در برنامه‌های اصلاح نژادی پیدا کرده‌اند. از مهمترین ویژگی‌های یک نشانه‌گر برتر می‌توان به این موارد اشاره نمود:

- تشخیص آسان همه فنوتیپ‌های ممکن (افراد هتروزیگوت و افراد هموزیگوت)
- نداشتن تاثیر بر روی آللهای موجود در سایر جایگاه‌های ژنی نشانه‌گر (نداشتن اپیستازی)
- تظاهر در مراحل اولیه نمو
- حداقل بودن یا عدم اثر متقابل با نشانه‌گرهای دیگری که می‌توانند بطور همزمان در یک جمعیت در حال تفرق مورد استفاده قرار گیرند
- توارث پذیری کامل
- آسان بودن اندازه گیری

نشانه‌های مولکولی

هرگونه تفاوت در ترتیب نوکلئوتیدی DNA که از والدین به نتاج قابل انتقال باشد به عنوان نشانه‌گر مولکولی به کار گرفته می‌شود و به دو دسته نشانه‌گرهای مبتنی بر پروتئین و نشانه‌گرهای مبتنی بر DNA تقسیم می‌شوند (Yue et al., 2007). امروزه استفاده از ابزارهای جدید مولکولی به ما اجازه تعیین این تنوع در سطح ماده ژنتیکی و شناسایی ژنهای درگیر در صفات کمی را می‌دهد. یکی از سریعترین و ارزانهترین روش اندازه گیری تنوع ژنتیکی استفاده از شناساگرهایی نظیر ریزماهورک ها (Microsatellite) می باشد بطوری که این شناساگرها اطلاعات غیرمستقیمی نیز از ژنهای موثر بر صفات کمی را می‌دهند. اگر چنین تنوع و توانی موجود نباشد، دیگر اعمال مدیریت و بهره برداری از آن بی معنی خواهد بود. در این پروژه از ریزماهورک ها (DNA تکراری) برای بررسی تنوع ژنتیکی استفاده می‌شود. امروزه از مارکرهای مولکولی و به ویژه مارکرهای مبتنی بر DNA به طور گسترده ای در بسیاری زمینه ها از قبیل بررسی تنوع ژنتیکی یا روابط ژنتیکی، نقشه یابی و ردیابی ژن ها، تعیین جنسیت، شناسایی ژنهای موثر بر صفات کمی و انتخاب به کمک مارکرها (Marker-Assisted Selection) (

استفاده می شود. از میان مارکرهای ژنتیکی ریزماهوره ها به خاطر سطح بالای چند شکلی، اندازه نسبتاً کوچک و روشهای شناسایی سریع آنها، کاربرد وسیعی در علوم زیستی و پزشکی پیدا کرده است. بررسی تنوع ژنتیکی در گونه های مختلف پرورشی نشان دهنده کاهش تنوع ژنتیکی در همان گونه ها در مقایسه با شرایط وحشی بود (Rassmann et al., 1994).

نشانگرهای ریز ماهوره (Microsatellite)

واژه ریزماهوره در سال ۱۹۸۵ توسط Jeffery مطرح گردید و مفهوم آن توالیهای کوتاه تکرار شونده در ژنوم موجودات می باشد. در دهه گذشته نشانگرهای ریزماهوره بسیار مورد توجه قرار گرفته اند. علت اصلی کاربرد این نشانگر، قدرت آن در حل مشکلات بیولوژیکی و تجزیه و تحلیل های جمعیتی و همچنین مطالعات اکولوژیکی می باشد. تنوع زیاد، قابلیت رتبه دهی آسان، همباز بودن و پراکندگی یکنواخت در سراسر ژنوم از دلایل عمده کاربرد وسیع این نشانگر محسوب می شود.

فراوانی ریزماهوره ها متفاوت و بستگی به اندازه ژنوم دارد. برای مثال برآورد شده که فراوانی ریزماهوره در ژنوم انسان به طور متوسط ۱۰ برابر ژنوم گیاهان است و توزیع ریزماهوره ها نه تنها در گونه های مختلف متفاوت است. بلکه در درون یک ژنوم و در بین کروموزومهای مختلف نیز متفاوت است از لحاظ توزیع و سازماندهی ریزماهوره ها در ژنوم ها با نقشه های ژنتیکی و فیزیکی مشخص شد که ریزماهوره ها در یک ناحیه جمع نشده و به طور یکنواخت در نواحی مختلف کروموزوم توزیع شده اند. اما با روش هیبریداسیون فلورسنت و هیبریداسیون در ژل، مشخص شد که این توالی ها در برخی از قسمت های کروموزوم تجمع دارند به طور کلی توالیهای مونونوکلئوتیدی (poly A/T) فراوانی بیشتری نسبت به (poly C/G) دارند. آنها در نواحی اینترون و درون ژنی فراوانی بیشتری دارند. در ژنوم انسان نیز poly A /poly T بیشتری وجود دارد، اما این نوع ریزماهوره ها به دلیل بی ثباتی در واکنش PCR نشانگر مناسبی نیست. Beckman اعلام کردند که بالاترین نوع تکرار در دی نوکلئوتیدی به صورت CA/GT در ژنوم انسان و پستانداران می باشد. تکرارهای تری نوکلئوتیدی در همه نواحی ژنوم با فراوانی قابل توجهی مشخص شده اند و معمولترین آنها تکرارهای ATT, CAG می باشند این توالیها بیشتر در اکسون حضور دارند و در نواحی دیگر کمتر دیده می شوند و تکرارهای تترانوکلئوتیدی در اکسونها وجود ندارند (بنابازی، ۱۳۸۱). مایکروساتلایتها در ژنوم انسان هر ۳۰ کیلو باز، ژنوم سالمون هر ۱۲ کیلو باز، ژنوم کاد هر ۷ کیلو باز، ژنوم قزل آلای قهوه ای هر ۲۳ کیلو باز، ژنوم زنبور هر ۴۷ کیلو باز وجود دارند و طول توالی مایکروساتلایتها در ژنوم موجودات خونسرد بیشتر از ژنوم سایر موجودات است (Rico et al., 1997).

چندشکلی در ریزماهوره‌ها

تنوع تعداد واحدهای تکرار شونده در ریز ماهوره، چند شکلی بسیار بالای آنها را سبب می‌گردد. که این تنوع خود ناشی از نرخ بالای جهش در این نشانگرهاست که یکی از خصوصیات مهم ریزماهوره‌ها می‌باشد میزان جهش در این جایگاهها ۹-۱۰ تا ۱۰-۱۰ جهش در هر نسل است و با بلند شدن رشته ریزماهوره‌ای میزان جهش به مراتب افزایش می‌یابد. وجود چنین ناپایداری‌های قابل توارث در جایگاههای ریزماهوره آنها را تبدیل به ابزاری سودمند برای مطالعات ژنتیکی و تکاملی کرده است بررسی‌های شجره‌ای در انسان نرخ حدود ۳-۱۰ جهش در هر لوکوس در هر نسل را نشان داده است ولی این نرخ در مگس سرکه نسبتاً پایین و حدود ۶-۱۰× می‌باشد. عواملی همچون تعداد و نوع تکرار ردیف کناری و نوترکیبی بر میزان جهش ریز ماهوره‌ای مؤثر می‌باشد با توجه به میزان جهش بالا دو نوع مکانیسم برای این جهش‌ها پیشنهاد شده است (Ellegren, 2000).

مزایای ریزماهوره‌ها

این نشانگرها دارای مزایای متعددی بشرح ذیل می‌باشد:

- ۱- دارای توارث همباز می‌باشند و از توارث ساده مندلی تبعیت می‌کنند. یعنی می‌توان افراد هتروزیگوت را از هموزیگوت به راحتی تفکیک نمود.
- ۲- در ژنوم موجودات به فراوانی یافت شده و پراکندگی آنها نیز در سطح ژنوم یکنواخت می‌باشد.
- ۳- چند شکل بالائی دارند، علاوه بر این توانائی آنها در تشخیص میان افراد، در صورت استفاده از ترکیبی از جایگاهها، این تکنیک را در مطالعه جریان ژنی و تعیین هویت بسیار توانمند ساخته است.
- ۴- مقدار بسیار کمی DNA نیاز دارند و به وسیله PCR قابل تکثیر هستند.
- ۵- امتیاز دهی آنها آسان و دقیق است.
- ۶- معمولاً قابلیت استفاده از نشانگرهای ریزماهوره یک گونه در گونه‌های بسیار نزدیک دیگر وجود دارد (O'Reilly and Wright, 1995).

معایب و مشکلات ریزماهوره‌ها

از محدودیت‌ها و مشکلات کار با ریزماهوره‌ها می‌توان به موارد زیر اشاره کرد:

- تعیین توالی

یکی از مشکلات ریزماهوره‌ها که در واقع مشکل عملی و ابتدائی آنهاست تعیین توالی برای ساخت و طراحی نشانگر مورد نیاز است و در ابتدا باید این عمل انجام شود که انجام آن مستلزم صرف وقت و هزینه زیادی است.

- اشتباهات آلل خوانی

این اشتباهات در اثر لغزش DNA پلیمراز رخ می‌دهد، که منجر به تولید باندهای پهن و متعددی می‌گردد که همچون سایه در اطراف باند اصلی قرار گرفته و این باندها را باندهای نارسا می‌نامند و گفته می‌شود که در اثر Slippage در طول PCR بوجود می‌آید.

- ایجاد آللهای صفر

آللهای صفر آللهایی هستند که ضعیف تکثیر شوند و یا پس از تکثیر و تفکیک قابل رویت نباشند. وجود جهش در توالیهای مجاور ریز ماهواره‌ها از اتصال آغازگر جلوگیری کرده و در نتیجه هیچ فرآورده‌ای در PCR تولید نمی‌شود. این آلله‌ها بطور معنی داری می‌توانند در الگوهای تنوع مشاهده شده در جایگاههای ریز ماهواره‌ای شرکت نمایند.

- هموپلاسی اندازه یا تشابه ساختمانی در اندازه

چند شکلی و تغییرات مشاهده شده در ریز ماهواره‌ها، ناشی از تغییرات طول قطعات تکثیر شده است. دو آلل در صورتی از همه لحاظ یکسان هستند که بدون جهش از آلل اجدادی یکسان ایجاد شده باشند. دو آلل ممکن است اندازه یکسان و یا حتی توالی یکسان داشته ولی از یک جد مشترک نباشند که هموپلاسی اندازه نامیده می‌شوند.

- انتخاب مدل جهش مناسب

انتخاب مدل‌های جهشی مناسب برای توجیه تنوع در جایگاههای ریز ماهواره‌ای آسان نیست. در حال حاضر با توجه به عدم قطعیتی که در مورد نقش نسبی مدل‌های جهش وجود دارد، توصیه می‌شود محققینی که از تغییرپذیری ریز ماهواره‌ای (بدون آزمون و بویژه در گونه‌هایی که تعداد زیادی آلل بروز می‌دهند) استفاده می‌نمایند، روشی محافظه کارانه در پیش گیرند و از آماره‌های F مرسوم بهره گیرند (Hansen, 2004).

کاربرد ریز ماهواره‌ها

- تعیین هویت و آنالیز خویشاوندی
- نقشه یابی ژنومی
- انتخاب به کمک نشانگر (MAS)
- مطالعات مربوط به حفاظت از گونه‌ها و ژنتیک جمعیت

سوابق تحقیق در داخل و خارج از کشور:

با توجه به اینکه برای تشکیل یک جمعیت پایه بعد از گزینشهای فنوتیپی باید تشکیل این جمعیت بر اساس اصول ژنتیکی صورت گیرد لذا فنوتیپهای کمی خصوصیات هستند که هر محقق می‌تواند در مرحله گزینش مولد آنها را مد نظر قرار دهد و در این پروژه به آنها اشاره شده است بنابراین به برخی از تحقیقات صورت گرفته در خصوص شناسایی مولدین بر اساس ساختار ژنتیکی برای تشکیل یک جمعیت پایه اشاره می‌گردد:

کینکاید (۱۹۹۵) در یکی از بررسیهای اعمال تکثیر و رهاسازی قزل آلا در سطح ایالتی و فدرال پی برد که اندازه های جمعیت مولدین از سه قطعه تا ۲۰۰۰ قطعه مولد در هر سال متغیر بوده و در بسیاری از موارد تعداد مولدین کمتر از ۱۰۰ قطعه می باشد.

ماده خام مورد نیاز متخصصان اصلاح نژاد تنوع فنوتیپی موجود در جمعیت می باشد که خود از دو بخش تنوع ژنتیکی و محیطی تشکیل شده است. تنوع ژنتیکی در جمعیت بر اساس هتروزیگوسیتی (نسبت افراد هتروزیگوت در جمعیت)، تنوع آلی (تعداد آللهها در یک لوکوس در جمعیت) و نسبت لوکوسهای چند شکلی اندازه گیری می شود (Pujolar et al., 2005).

کینکاید در سال ۱۹۸۳ و آلدروف و ریمان در سال ۱۹۸۷ عنوان نمودند که برای اینکه بیشترین آللههای موجود در طبیعت در تکثیر مصنوعی منظور گردد باید اندازه جمعیت جمع آوری شده بزرگتر باشد و جمع آوری حداقل ۱۰۰ قطعه مولد (تعداد برابری از ماهیان نر و ماده) و ۲۰۰ قطعه مولد را توصیه نموده اند.

فراوانی آلی بسته به آمیزش مولدین نیز تغییر خواهد کرد و آلدروف و ریمان در سال ۱۹۸۷ از دست رفتن آللههای نادر را در جوامع کوچک به عنوان عامل محدود کننده معرفی نمودند.

مطالعات همخونی در ماهیها نشان دهنده اثرات مضر همخونی بوده و منجر به کاهش رشد، قدرت حیات و بقا شده است. در قزل آلی رنگین کمان، افزایش همخونی با شیوع ناهنجاریهای لاروی همراه بود (Aulstad et al., 1971).

پانته و همکاران (۲۰۰۱) گزارش کردند که در ماهیهای قزل رنگین کمان، با افزایش هر ۱ درصد همخونی، افت همخونی در وزن بدن ۰.۲- درصد بود.

در مطالعه ای دیگر، میزان افت همخونی برای وزن بدن به ازای هر ۱۰ درصد افزایش همخونی، ۲.۲۶- درصد در ۳۶۴ روزگی بود. در این تحقیق با افزایش ۱۰ درصد همخونی، باروری کاهش یافته (۱۱.۶ درصد)، سن تخمیزی ماده ها با تاخیر همراه بود (۰.۵۳ درصد) و تعداد تخمها نیز کاهش (۶.۱ درصد) یافته بودند (Su et al., 1996).

سیمون و همکاران در سال ۱۹۸۶ اظهار نمودند که برای تشکیل یک جمعیت پایه اندازه کوچک جمعیت موثر (N_e) در یکی از برنامه های تقویت ذخایر آزاد ماهیان تا حدی بواسطه جفت گیری تنها تعداد کمی (< ۴٪) از مولدین بازگشتی ایجاد شده است.

امکان تشخیص فردی ماهیان داخل یک جمعیت از طریق بررسی های mtDNA فراهم است بطوری که در سال ۱۹۹۸ بلینگتون با استفاده توام آنزیمهای محدود کننده دارای توالیهای هدف بازی توانست ۳۲ ماهی چشم درشت را در منطقه مرکزی دریاچه کبیر تشخیص دهد.

براون و چاپمن در سال ۱۹۹۱ با انجام بررسیهای RFLP کل mtDNA پی بردند که هیچ گونه شواهدی مبنی بر وجود ساختار جغرافیایی جمعیت در ماهی مامیچاگ وجود نداشته و بیشترین تغییرات در بین مناطق نمونه

برداری وجود دارد نه در درون آنها. لذا جریان ژنی به دلیل انحراف ژنتیکی در پیشگیری از تمایز و شکل گیری جمعیت جدید در این گونه به نحو کارآمدی عمل نموده است.

اکانل و همکاران در سال ۱۹۹۵ پی بردند که بررسی های آلوزایمی و RFLP mtDNA نقش برابری را در شناسایی و تشخیص جوامع آزاد ماهی اقیانوس اطلس دارد آنها در توجیه این امر اظهار داشتند که حساسیت زیاد mtDNA نسبت به نوسانات اندازه جمعیت می تواند مقادیر تغییرات را تا حدی کاهش دهد که احتمالاً کارایی mtDNA آزاد ماهیان بیش از کارایی آلوزایم ها نباشد.

Adams و همکاران در سال ۲۰۰۳ با استفاده از تکنیکهای صید، نشاندار کردن، رها سازی و صید مجدد و Microsatellite به بررسی ساختار جمعیتی قزل آلی رودخانه ای (*Salvalinus fontinalis*) دریاچه های حوضه آبریز خلیج هند پرداختند و اظهار داشتند که علی رغم عدم وجود موانع فیزیکی برای مهاجرت بین دریاچه ها، هر دریاچه جمعیت تولید مثل مجزائی دارد. حتی داده های نشانه گذاری هم دلالت بر مهاجرت جزئی و عدم مهاجرت بین دریاچه ها و همچنین مشاهده کردند که سطح هتروزایگوسیتی جمعیت های این گونه در این منطقه نسبت به سایر مناطق بالاتر است.

Anger و همکاران در سال ۱۹۹۵ با استفاده از ۴ لوکوس میکروستلایتی به بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت ماهی آزاد جویباری (*Salvelinus fontinalis*) در پنج دریاچه که به فاصله ۳ تا ۲۳ کیلومتر از یکدیگر در پارک ملی Manricie کانادا قرار دارند پرداختند و تنوع ژنتیکی بالائی را بین جمعیت ها مشاهده کردند.

Banks و همکاران در سال ۲۰۰۰ با استفاده از نشانگر ریز ماهواره، وجود ۵ زیر جمعیت مجزا را در ماهیان آزاد چینوک (*Chinook Salmo Tshawytscha*) با استفاده از آنالیز داده های میکروستلایت در ناحیه مرکزی کالیفرنیا نشان دادند.

Beacham و همکاران در سال ۱۹۹۸ به بررسی ساختار جمعیتی ماهی آزاد آتلانتیک (*Salmo salar*) در رودخانه Conne نیوفنلاند در طی ۴ سال نمونه برداری و مصبهای Twillick Brook و Bernald Brook در طی دو سال نمونه برداری، با استفاده از ۴ لوکوس میکروستلایتی پرداختند. مطالعه فوق قادر نبود جمعیت های احتمالی را از هم جدا کند ولی جمعیت رودخانه Conne را کاملاً از جمعیت های مصبها متفاوت تشخیص داد.

Beacham و همکاران در سال ۲۰۰۴ ساختار جمعیت دو نوع دریاچه ای و رودخانه ای سوکی سالمون^۲ (*Oncorhynchus nerka*) را در ۴۷ جمعیت رودخانه های شمال بریتیش کلمبیا با استفاده از ۱۴ لوکوس میکروستلایت بررسی کردند. نتایج به طور واضح اختلاف ژنتیکی بین جمعیت های نوع رودخانه ای با نوع دریاچه ای را نشان داد و ماهی آزاد رودخانه تنوع ژنتیکی بیشتری از نوع دریاچه ای داشت. به طوریکه میانگین آللهای مشاهده شده در هر لوکوس و هتروزایگوسیتی قابل انتظار به ترتیب در رودخانه ۱۲/۷ و ۰/۷۲ و در دریاچه ۱۰/۵ و ۰/۶۵ بود. به نظر آنها هتروزایگوسیتی بالاتر در رودخانه نسبت به دریاچه به خاطر اختلاف ژنتیکی در کلونی ماهیانی است که به رودخانه بازگشت کرده و با محیط جدید سازگار می شوند. افزایش میزان تمایز دیده شده

در لوکوس های میکروستلایت نسبت به آلوزایم به خاطر تغییر در میزان جهش بین این دو مارکر است. در بررسی تعادل هاردی-واینبرگ فقط در یک لوکوس عدم تعادل دیده شد. بیشترین شباهت ژنتیکی مشاهده شده بین جمعیت های دریاچه ای در مقایسه با دیگر جمعیت های رودخانه است و به روشنی تمایز ژنتیکی بین جمعیت های ماهی آزاد رودخانه ای تفاوت زیادی با جمعیت دریاچه داشت و اختلافات مشاهده شده با لوکوس های میکروستلایت بیشتر از آلوزایم بود.

Jug و همکاران در سال ۲۰۰۵ مطالعه ای در پراکنش جمعیت های غیر بومی قزل آلا در اسلونی و سایر ورودی ها با جمعیت های بومی مشاهده شده قزل آلا (*Salmo marmoratus*) در دریاچه آدریاتیک و (*S. trutta*) در دریاچه دانوب با استفاده از آنالیز میکروستلایت انجام دادند. آنها به کمک پنج لوکوس میکروستلایت توانستند نژادهای غیر بومی انتشار یافته و ورود آنها به جمعیت های بومی قزل آلا را تشخیص دهند و اعلام کردند که جمعیت های بومی در معرض خطر قرار دارند. دامنه آللی ۱/۲ الی ۸/۲، هتروزیگوسیتی قابل انتظار ۰/۰۶ الی ۰/۷۲ و دامنه هتروزیگوسیتی مشاهده شده ۰/۱۲ الی ۰/۶۵ محاسبه گردید.

Skaala و همکاران در سال ۲۰۰۴ در بررسی تنوع آللی و شناسایی افراد در ماهی آزاد اتلانتیک (*Salmo salar*) پرورشی و وحشی با استفاده از آنالیز میکروستلایت در نروژ با استفاده از دوازده مارکر میکروستلایت و با دقت بالایی توانستند نمونه های وحشی را از نمونه های پرورشی تشخیص دهند. در تمامی نژادهای پرورشی اختلاف آللی کل به طور قابل ملاحظه ای پایین تر از جمعیت های وحشی بود که می تواند ناشی از رانش ژنتیکی در افزایش تولید نسل در برنامه های تولید مثلی باشد. مقدار F_{st} تمایز ژنتیکی معنی داری را در تمام لوکوسها نشان داد اما فاصله ژنتیکی و تمایز جنسی با یکدیگر در تمامی موارد هماهنگ نبودند. به طور کلی F_{st} در نژادهای پرورشی ۲ تا ۸ بار بالاتر از نژادهای وحشی بود.

Adams و همکاران (۲۰۰۰) با استفاده از تکنیکهای Mark-recapture و Microsatellite به بررسی ساختار جمعیتی قزل آلا رودخانه ای (*Salvelinus fontinalis*) دریاچه های حوضه آبریز خلیج هند پرداختند و اظهار داشتند که علی رغم عدم وجود موانع فیزیکی برای مهاجرت بین دریاچه ها، هر دریاچه جمعیت تولید مثلی مجزایی دارد. حتی داده های نشانه گذاری هم دلالت بر مهاجرت جزئی و عدم مهاجرت بین دریاچه ها و همچنین مشاهده کردند که سطح هتروزیگوسیتی جمعیت های این گونه در این منطقه نسبت به سایر مناطق بالاتر است.

Anger و همکاران (۱۹۹۵) با استفاده از ۴ لوکوس مایکروساتلایتی به بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت ماهی آزاد جویباری *Salvelinus fontinalis* در پنج دریاچه که به فاصله ۳ تا ۲۳ کیلومتر از یکدیگر در پارک ملی Manricie کانادا قرار دارند پرداختند و تنوع ژنتیکی بالایی را بین جمعیت ها مشاهده کردند. Beacham و همکاران (۱۹۹۸) به بررسی ساختار جمعیتی ماهی آزاد اتلانتیک (*Salmo salar*) در رودخانه Conne نیوفنلاند در طی ۴ سال نمونه برداری و مصبهای Twillick Brook و Bernald Brook در طی دو سال

نمونه برداری با استفاده از ۴ لوکوس میکروساتلایتی پرداختند. مطالعه فوق قادر نبود جمعیت های احتمالی را از هم جدا کند ولی جمعیت رودخانه Conne را کاملاً از جمعیت های مصبها متفاوت تشخیص داد.

Rico و همکاران (۱۹۹۵) به بررسی ساختار ژنتیک ماهی Whiting (*Merlangius merlagu*) در ۵ منطقه در شمال شرقی آمریکا با استفاده از ۶ لوکوس میکروساتلایتی پرداختند ایشان انحراف از تناسب ژنوتیپی هاردی و اینبرگ را در سه لوکوس و سطح بالای هموزیگوسینی را در هر ۵ منطقه مشاهده کردند و تمایز ژنتیکی پایین در این بررسی را ناشی از مهاجرت بین مناطق دانستند بر اساس پراکنش فراوانی تمام الل های میکروساتلایتی که به صورت دو به دو مورد مقایسه قرار گرفتند نتایج بررسی نشان داد که جمعیت های ماهی Whiting در منطقه شمال شرقی آتلانتیک تفاوت و تنوع جغرافیایی از خود نشان می دهد.

O'Reilly و همکاران (۱۹۹۵) به بررسی ساختار جمعیتی ماهی دندان دار (*eleginode Dessostichus*) در سواحل شرقی و غربی آمریکای جنوبی با استفاده از ۱۱ لوکوس میکروساتلایتی پرداختند و به ناهمگونی نمونه های در دو منطقه پی بردند.

Shaw و همکاران (۱۹۹۹) از دو تکنیک RFLP و Microsatellite در ارزیابی جمعیت های شگک ماهی (*Clupea harengus*) استفاده نمودند. نتایج آنها نشان داد که مارکر میکروساتلایت برای تعیین جمعیت بهتر از RFLP است اما اطلاعات کمتری در سطح اختلاف جمعیت ها ارائه می دهد وی عدم اختلاف بین گروه ها را ناشی از مهاجرت برای غذا دانست.

Susnik و همکاران (۲۰۰۰) که به ساختار جمعیت grayling (*Thymailus thymalus*) در رودخانه Soca در اسلوانی با استفاده از ۵ لوکوس میکروساتلایتی پرداختند و نتوانستند با این روش جمعیت های Adliatic و Denubian را در این رودخانه مشخص کنند.

Smith و همکاران (۲۰۰۰) با استفاده از آلوزایم ها و ۸ لوکوس میکروساتلایتی به بررسی ساختار جمعیتی ماهی دندان دار (*Dissostichus eleginoides*) در بخش جنوبی اقیانوس اطلس، آرام و هند پرداختند داده های آلوزایمی تمایز ژنتیکی کمی را در بین ماهیان دندانه دار اقیانوس جنوبی نشان داد و فرضیه واحد بودن ذخیره ژنتیکی را تأیید کرد لکن داده های میکروساتلایتی تنوع ژنتیکی مشخصی را نشان داده و فرضیه واحد بودن ذخیره ژنتیکی را رد کرد.

Ruzzante و همکاران (۲۰۰۰) با استفاده از ۵ لوکوس میکروساتلایتی به بررسی ساختار جمعیتی روغن ماهی آتلانتیک (*Gadus morhua*) در لابرادر نیوفلاند پرداختند و به این نتیجه رسیدند که کاداهای ساکن خلیج گیلبرت لابرادر از نظر ژنتیک از کاداهای دور از ساحل شمال شرقی نیوفلاند و ندزکی ساحل خلیج Trinity قابل تشخیص می باشد.

Appleyard و همکاران (۲۰۰۲) به بررسی ساختار ژنتیکی ذخایر ماهی تن *Thunnus obesus* در سواحل شرقی و غربی اقیانوس هند با استفاده از روش میکروساتلایتی و mtDNA پرداختند با توجه به نتایج به دست

آمده، جدایی جمعیتی شرق و غرب اقیانوس هند را ضعیف اعلام کردند. Herwerden و همکاران (۲۰۰۳) با استفاده از ۸ لوکوس مایکروساتلایتی به بررسی تنوع و ساختار جمعیتی Red throat emperor (*Lethrinus miniatus*) در ۶ منطقه از ۳ ناحیه جغرافیایی (Great barrier reef) پرداختند. داده‌ها فقط یک جمعیت را مشخص کرد. آنها اظهار داشتند که بعید به نظر می‌رسد ذخایر ژنتیکی مشخص در GBR موجود باشد.

Birgitte و همکاران (۲۰۰۵) با استفاده از ۶ لوکوس مایکروساتلایتی به آنالیز ۱۰ جمعیت اردک ماهی شمال (*Esox Lucius*) از اروپا و شمال آمریکا پرداختند و تنوع ژنتیکی بسیار پایین اردک ماهی شمال در داخل جمعیت‌های اروپایی به جهت کاهش جمعیت مؤثر در مقیاس زمانی چند هزار ساله که در رابطه با حوادث عصر یخبندان و بعد آن می‌باشد نسبت دادند.

Pourkazemi (۱۹۹۶) اولین مطالعه مولکولی ساختار ژنتیکی تاس ماهیان سواحل جنوبی دریای خزر را انجام داد. الکتروفورز آلوزایم‌ها، RFLP و DNA میتوکندریایی برای مطالعه جمعیت ماهی ازون برون (*Acipenser stellatus*) استفاده گردید. مطالعه آلوزایم‌ها تنوع بالایی را در بین و درون جمعیتها نشان داد. میانگین هتروزیگوسیتی 0.108 ± 0.02 محاسبه شد و درصد لوکوسهای پلی معروف 63.3% بودجه به طور کلی تفاوت معنی‌داری در فراوانی ال‌ها بین ۴ منطقه جغرافیایی مورد مقایسه وجود نداشته است. مطالعه RFLP بر روی ژن ND5/6 انجام گرفت که ۹ ترکیب مختلف هاپلوטיפی در ۱۲۰ نمونه مشخص شده است. میانگین تنوع نوکلئوتیدی و هاپلوטיפی به ترتیب 0.009 ± 0.001 و 0.002 ± 0.0004322 محاسبه شد و تست ناهمگونی جغرافیایی اختلاف معنی‌داری را در پراکنش هاپلوטיפها نشان نداد و عدم تشخیص جمعیت را جریان بالای ژنی بین جمعیت‌ها، حساسیت پایین روش به کار رفته، تعداد کم نمونه و مناسب نبودن ژن مورد مطالعه عنوان کردند. ساختار جمعیتی تاس ماهی روس (*Acipenser gueldenstaedtti*) با استفاده از تکثیر ناحیه D-loop ارزیابی گردید و ۷ ترکیب هاپلوטיפی مختلف را در این گونه گزارش نمود و میانگین تنوع نوکلئوتیدی و هاپلوטיפی به ترتیب 0.005 ± 0.000 و 0.0075 ± 0.000 به دست آوردند. منطقه D-loop در پنج تاس ماهی جنوب دریای خزر تعیین توالی گردید و مشخص شد که این ناحیه در تاس ماهیان جنوب دریای خزر هتروپلاسمی را نشان می‌دهد. در پنج گونه، هتروپلاسمی به وسیله یک توالی ۸۲ bp که در این منطقه تکرار می‌گردد ایجاد می‌شود اختلافات کم در توالی این ناحیه شاید به دلیل این است که مولکول mtDNA بسیار حفاظت شده است و برای مطالعه فیلوژنتیکی مناسب نمی‌باشد. مطالعه تعیین توالی قسمتی از ژن ND 5/6 میزان بالایی از تنوع توالی را در بین ۵ گونه تاس ماهی نشان می‌دهد و اظهار داشت که ممکن است این قسمت برای مطالعات جمعیتی و فیلوژنتیکی مناسب باشد.

Zhao و همکاران (۱۹۹۹) به مطالعه تغییرپذیری ذخایر مولدین تاس ماهی چینی (*Acipenser sinensis*) در طی ۳ سال نمونه‌برداری در رودخانه یانگگ تسه در ۴ لوکوس مایکروساتلایتی پرداختند. تمایز ژنتیکی مشخصی

را بین نمونه‌هایی که در طی سالهای متفاوت جمع‌آوری شده بود گزارش نشد و نتیجه‌گیری گردید که فقدان تنوع در بین گروه‌های سالهای متفاوت می‌تواند حاکی از ثابت ماندن تنوع و پایداری ژنتیکی در حیوانات با طول عمر طولانی باشد.

Smith و همکاران (۲۰۰۲) با استفاده از ۴ لوکوس مایکروساتلایتی و روش PCR-RFLP به مطالعه ساختار ژنتیکی تاس ماهی سفید در شاخه اصلی رودخانه Fraser و یکی از انشعابات فرعی آن، رودخانه Nechko پرداختند. اطلاعات به دست آمده حاکی از وجود چهار طبقه جغرافیایی زیستی در رودخانه Fraser می‌باشد (ناحیه پایینی و پایین Hell's Gate ناحیه میانی بین Hell's Gate و کیلومتر ۵۵۳ رودخانه Fraser می‌باشد بالاتر از تلاقی Nechko و ناحیه رودخانه Nechko که این مناطق به علت وجود موانع مهاجرتی تاس ماهی سفید می‌باشند. مطالعه میتوکندری ۹ ترکیب هاپلو تیبی را نشان می‌دهد و تنها اختلاف نوکلئوتیدی بین Nechko و منطقه بالایی Fraser وجود دارد. دو روش به کار رفته نتایج یکسانی را نشان می‌دهند با این تفاوت که مارکر مایکروساتلایتی تنوع بالاتری را نشان می‌دهد.

Wright و همکاران (۲۰۰۲) به بررسی جمعیت‌های زیرگونه تاس ماهی اطلس با استفاده از روشهای مایکروساتلایتی و تعیین توالی mtDNA پرداختند. هر دو روش سطح بالایی از تنوع ژنتیکی را در ماهیان سواحل اطلس نشان داد و در نمونه‌های کانادایی تنوع ژنتیکی وجود نداشت. آنها اظهار داشتند موتاسیون و تغییرات تکاملی در جایگاه‌های Microsatellite بیشتر از mtDNA می‌باشد. هر دو روش به طور واضح جمعیتها را تفکیک می‌کند. اما آنالیز Microsatellite تفاوت جغرافیایی بین جمعیت‌های سواحل جنوبی آمریکا را به خوبی نشان می‌دهد.

Zhu و همکاران (۲۰۰۲) در مطالعه تنوع ژنتیکی تاس ماهی چینی (*Acipenser sinensis*) ۲۵ پرایمر مایکروساتلایت تاس ماهی دریاچه‌ای را استفاده کردند که ده پرایمر به خوبی تنوع را نشان داد. میزان تنوع ژنتیکی بالایی در نمونه‌های بالغ و جوان به دست آوردند. این روش تنوع بالایی را نسبت به آلوزایم‌ها و RAPD در جمعیت رودخانه یانگ تسه نشان داد.

۲- مواد و روش ها

تعداد ۴۴۶ بافت بالهٔ دمی مولدین موجود در ۲۴ منطقه مختلف در های کشور به وزن تقریبی ۲ گرم نمونه برداری شده و در شیشه های محتوی الکل اتانول ۹۶ درصد تثبیت و به آزمایشگاه منتقل و مورد آزمایش قرار گرفتند (جدول ۱)

جدول ۱: مناطق نمونه برداری ماهی قزل الا در کشور

تعداد	مکان نمونه برداری		ردیف
	شهر	استان	
۱۹	فیروزکوه	تهران	۱.
۱۴	الموت-اوان	قزوین	۲.
۱۶	الموت-سهم کلايه	قزوین	۳.
۲۱	بانه	کردستان	۴.
۲۵	نهادند	همدان	۵.
۱۵	ارومیه-سرو	آذربایجان غربی	۶.
۲۰	ارومیه-زیوه	آذربایجان غربی	۷.
۱۰	هریس	آذربایجان شرقی	۸.
۲۰	ایونه	آذربایجان شرقی	۹.
۲۰	سفیدان	آذربایجان شرقی	۱۰.
۱۶	مشکین شهر	اردبیل	۱۱.
۲۰	خلخال	اردبیل	۱۲.
۲۰	اردکان ۱	فارس	۱۳.
۲۰	اردکان ۲	فارس	۱۴.
۲۵	الیگودرز	لرستان	۱۵.
۲۵	هراز	مازندران	۱۶.
۲۳	لاریجان	مازندران	۱۷.
۱۴	لاریجان ۲	مازندران	۱۸.
۱۹	سی سخت	کهگیلویه و بویراحمد	۱۹.
۲۱ و ۲۵	مرکز-ایرانی و نروژی	کهگیلویه و بویراحمد	۲۰.
۱۹	ارومیه-رشکند	آذربایجان غربی	۲۱.
۱۵	اردل	چهارمحال ختیارى	۲۲.
۱۷	لردگان	چهارمحال ختیارى	۲۳.
۲۰	کوهرننگ	چهارمحال ختیارى	۲۴.
۴۴۶	جمع		

۱-۲- مواد مورد استفاده:

- ۱- STE شامل NaCl (۱۰۰mM)، Tris (۱۰mM)، EDTA (۱mM) با pH=۸
- ۲- SDS (Sodium Dodecyl Sulfate) ۲ درصد
- ۳- پروتئیناز k با غلظت ۱۰mg/ml
- ۴- فنل با pH=۷/۵-۸
- ۵- 8- hydroxy quinoline با نسبت ۰/۱g درصد (۰/۱g در ۱۰۰ میلی لیتر فنل)
- ۶- استات سدیم با pH=۵/۲ و غلظت ۳ مولار
- ۷- الکل اتانل مطلق و ۷۰ درصد
- ۸- آنزیم RNase
- ۹- آگارز
- ۱۰- TBE (۱۰x) شامل: Tris (۸۹۰mM)، اسیدبوریک (۸۹۰mM) و EDTA (۲۵mM) با pH=۸
- ۱۱- بافر سنگین کننده Loading buffer شامل: گلیسرول (۵۰w/v)، EDTA (۱۰mM)، و بروموفنل بلو (۱ درصد)
- ۱۲- اتیدیوم بروماید با غلظت ۱۰mg/ml
- ۱۳- DNA هدف
- ۱۴- مخلوط dNTP با غلظت ۲mM
- ۱۵- MgCl₂ با غلظت ۵۰ mM
- ۱۶- بافر (۱۰x) PCR
- ۱۷- آنزیم Taq DNA Polymerase
- ۱۸- نمونه های شانه دار
- ۱۹- پرایمر
- ۲۰- مارکر ۱۰۰bp و ۵۰bp

۲-۲- دستگاههای مورد استفاده:

- دستگاههای مورد استفاده در این بررسی عبارتند از:
- دستگاه Thermal cycler مدل Corbet reserch
 - ژل داکيومنتیشن مدل HOEFER - UVIF 20
 - الکتروفورز عمودی مدل HOEFER - FE 6152
 - الکتروفورز افقی مدل پویا پژوهش

- میکرو سانتریفوژ مدل سیگما

بیوفتومتر مدل Eppendorf

- بن ماری

- انکوباتور

- همزن

مواد محلول و بافرهای مورد استفاده:

تهیه ۲۰ درصد (سدیم دودسیل سولفات)

مواد مورد استفاده : SDS ، HCL و آب مقطر

طرز تهیه : مقدار ۱۰۰ گرم کریستال SDS در ۴۵۰ میلی لیتر آب مقطر در دمای ۶۸ درجه سانتیگراد حل گردید .
با اضافه کردن HCl ، pH را به ۷/۲ رسانده و سپس حجم این محلول به ۵۰۰ میلی لیتر رسانده شد . این محصول
در دمای آزمایشگاه نگهداری گردید .

بافر TAE (Tris, Acetic Acid, EDTA)

مواد مورد استفاده : Tris , Na₂EDAT و اسید استیک گلاسیال

طرز تهیه : مقدار ۴۸/۴ گرم تریس در ۵۰۰ میلی لیتر آب مقطر حل گردید ، سپس ۲۰ میلی لیتر Na₂ EDTA نیم
مولار و ۱۱/۴۲ میلی لیتر اسید استیک گلاسیال به بافر اضافه شد . حجم محلول با استفاده از آب مقطر به یک
لیتر رسانده و در دمای اتاق نگهداری گردید .

بافر سنگین کننده (Loading Buffer)

مواد مورد استفاده : برموفنل ۱٪ ، زایلن سیالین ۱٪ ، گلیسرول ۵۰٪.

طرز تهیه : مقدار ۲۵۰ گرم برموفنل بلو با ۲۵۰ گرم زایلن سیالین را در ۳۳ میلی لیتر تریس ۱۵۰ میلی مولار (۷/۶
pH =) حل نموده و پس از آن مقدار ۶۰ میلی لیتر از ماده گلیسرول و مقدار ۷ میلی لیتر آب مقطر اضافه کرده و
محلول فوق در دمای آزمایشگاه نگهداری گردید .

آمونیم پر سولفات (A . P . S) (Amonium per sulfate)

مواد مورد استفاده : پودر آمونیوم پر سولفات ، آب مقطر

طرز تهیه : ۱۰ گرم پودر آمونیوم پر سولفات را در ۷۰ میلی لیتر آب مقطر حل کرده و در نهایت حجم محلول را
با آب مقطر به ۱۰۰ میلی لیتر رسانده و در دمای ۴ درجه نگهداری می شود.

TEMED

این ماده به صورت محلول بوده و فوق العاده سمی است. TEMED دارای خاصیت کاتالیزوری جهت تسریع پلیمریزه شدن ژل اکریل است.

تهیه اکریل آمید ۳۰ درصد

مواد مورد استفاده: اکریل آمید، متیلن بیس اکریل آمید، آب مقطر

طرز تهیه: ۲۴۹ گرم اکریل آمید به همراه یک گرم متیلن اکریل آمید (N, N methylen bis acrylomid) در ۷۰ میلی لیتر آب مقطر به ۱۰۰ سی سی رسانده و در دمای ۴ درجه نگهداری می شود.

تهیه TBE (X) ۱۰ (Tris, Boric Acid, EDTA)

مواد مورد استفاده: تریس، اسید بوریک، EDTA نیم مولار و آب مقطر

طرز تهیه: برای تهیه یک لیتر TBE (x) ۱۰، ۱۰۸ گرم تریس باز به همراه ۵۵ گرم اسید بوریک ۴۰ میلی لیتر EDTA نیم مولار (pH=۸) مخلوط نموده و حجم نهایی به وسیله آب مقطر دو بار تقطیر به یک لیتر رسانده می شود.

تهیه بافر STE (Sodium Chloride, Tris, EDTA)

مواد مورد استفاده: تریس ۰/۰۵ مولار، EDTA ۰/۰۱ مولار، NaCl ۰/۱ مولار

طرز تهیه: برای تهیه یک لیتر STE، تریس ۰/۰۵ مولار، EDTA ۰/۰۱ مولار و NaCl ۰/۱ مولار را در ۷۰۰ میلی لیتر آب مقطر دوبار تقطیر حل نموده و pH را به ۸ رسانده و حجم نهایی به یک لیتر افزایش داده می شود.
فنل کالیبره

مواد مورد استفاده: فنل کریستالی، ۸- هیدروکسی کوئینولین، تریس، آب مقطر

روش آماده سازی:

۱- مقدار ۵۰۰ گرم فنل کریستالی را در حمام آبی با دمای ۶۵ درجه سانتی گراد قرار داده تا ذوب شود.

۲- میزان ۰/۱ درصد حجم فنل آنتی اکسیدان ۸- هیدروکسی کوئینولین به آن اضافه می شود (۰/۱ گرم به ازای هر ۱۰۰ میلی لیتر) این ماده رنگ زرد به فنل می دهد.

۳- ۵۰۰ میلی لیتر Tris - HCL ۰/۵ M (pH = ۸) به محلول اضافه می شود.

۴- با استفاده از دستگاه همزن به مدت ۱۰ دقیقه در سرعت پایین هم زده می شود.

۵- محلول را در دمای اتاق ساده قرار داده تا دو فاز آبی و آلی آن از هم جدا شود به آرامی فاز بالایی را جدا کرده و در ظرف پیمانه فنل ریخته شود.

۶- ۵۰۰ میلی لیتر Tris - HCL ۰/۵ M (pH = ۸) به فاز پایینی (آلی) اضافه می گردد. سپس مراحل چهارم و پنجم تکرار می گردد تا اینکه pH محلول به حدود ۸ برسد.

۷- در نهایت ۲۵۰ میلی لیتر Tris - HCL ۰/۵ M (pH = ۸) با بافر TE (pH = ۸) به فنل اضافه می شود و در بطریهای شیشه ای تیره در یخچال در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری می شود. برای جلوگیری از سوختگی و آسیبهای فنول، تمام مراحل کار زیر هود شیمیایی انجام می شود و در حین کار از دستکش، عینک محافظ و ماسک استفاده می شود ضمناً تمام مواد پسمان فنل و وسایل یک بار مصرف آلوده به فنل باید طبق مقررات آزمایشگاهی به طور جداگانه دفع شود.

استخراج DNA:

روشهای متعددی جهت استخراج DNA در ماهیان وجود دارد که در این تحقیق از روش فنل-کلروفوم (Moritz and Hills, 1993) برای استخراج DNA ماهی قزل آلالی رنگین کمان استفاده می گردد.

مراحل استخراج DNA:

۱. ۱۰۰-۵۰ میلی گرم بافت باله در یک ویال ۱/۵ میلی لیتری استریل ریخته شد.
۲. مقدار ۶۰۰ میکرولیتر STE، ۲۰-۳۰ میکرولیتر SDS، ۲۰ درصد، ۱۵ میکرولیتر پروتئیناز K (۲۰ mg/ml) به نمونه بافت اضافه گردید و با استفاده از قیچی بافت بصورت قطعات کوچک خرد گردید.
۳. جهت فعال کردن کامل آنزیم پروتئیناز K، ویالها حاوی نمونه را در ترمومیکسر در دمای ۵۵°C و شیکر ۱۰ دور قرار داده که پس از گذشت ۵-۸ ساعت نمونه به شکل محلول غلیظ درآمد.
۴. به اندازه حجم اولیه (۶۰۰ μl) فنل به نمونهها اضافه کرده و آنها را به مدت ۱۰ دقیقه با استفاده از شیکر هم زده و سپس در ۱۳۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ گردید.
۵. فاز بالایی (آبی) را جدا کرده و در ویال ۱/۵ میلی لیتری استریل جدید ریخته و به آن محلول فنل - کلروفوم به نسبت ۲۵:۲۴ به میزان ۵۰۰ μl اضافه گردید. دوباره مراحل شیکر، سانتریفوژ و جداسازی فاز بالایی طبق مراحل قبل انجام شد.
۶. در این مرحله به میزان ۵۰۰ μl محلول فنل - کلروفوم - ایزامیل الکل با نسبت ۱(v/v): ۲۵:۲۴ اضافه گردید و مراحل شیکر، سانتریفوژ، جداسازی فاز آبی تکرار گردید.
۷. جهت رسوب دادن DNA به میزان دو برابر حجم موجود، اتانول مطلق سرد (۲۰-) اضافه نموده و چند بار و به آرامی ویالها سروته شده تا کلاف DNA ظاهر گردد. جهت رسوب دادن DNA و جداسازی آن از الکل از سانتریفوژ با دور ۱۲۰۰۰ rpm به مدت ۵ دقیقه استفاده گردید و سپس فاز بالایی را خالی کرده و مجدداً رسوب با استفاده از اتانول ۷۰ درصد شستشو داده شد و به مدت ۳ دقیقه در ۷۰۰۰ rpm سانتریفوژ گردید و فاز بالایی تخلیه شد. جهت خشک کردن DNA، ویالها بصورت وارونه بر روی کاغذ صافی در دمای اتاق در زیر هود به مدت ۱ ساعت قرار داده شد.

۸. به میزان ۱۰۰ میکرولیتر آب مقطر دوبار تقطیر استریل به رسوب DNA اضافه کرده، جهت حل شدن، DNA به مدت ۱ ساعت در دمای ۳۷°C قرار داده شد و سپس به مدت ۲۴ ساعت به دمای ۴°C یخچال منتقل گردید تا بطور کامل حل شود. پس از آن جهت نگهداری درازمدت، نمونه‌ها به فریزر ۲۰°C- منتقل شدند.

ارزیابی کیفیت و کمیت DNA استخراج شده

به منظور مشخص شدن کیفیت و کمیت DNA استخراج شد از روشهای اسپکتروفتومتری و الکتروفورز استفاده گردید.

- روش اسپکتروفتومتری

برای تعیین کمیت نمونه‌ها پس از کالیبره کردن دستگاه اسپکتروفتومتر با آب مقطر، ۲۰ میکرولیتر از DNA ژنومی بوسیله آب مقطر به حجم ۳۰۰۰ میکرولیتر رسانده شد، مقدار جذب نوری نمونه‌های DNA در طول موج ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر و نسبت A260/280 بوسیله دستگاه اندازه‌گیری و ثبت گردید. غلظت DNA ژنومی با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد.

$$260 \times A \times d = 50 \times \text{غلظت DNA بر حسب ng/}\mu\text{l}$$

$$\frac{3000}{20}$$

که d ضریب رقت می‌باشد: (= 20 60)

A میزان جذب نوری در طول موج ۲۶۰ نانومتر می‌باشد.

اگر نسبت $\frac{A_{1/260}}{A_{260}} = 1/8$ باشد کیفیت DNA مناسب است.

اگر نسبت $\frac{A_{1/260}}{A_{260}} > 1/8$ باشد DNA دارای ناخالصی RND است.

اگر نسبت $\frac{A_{1/260}}{A_{260}} < 1/8$ باشد نشان‌دهنده ناخالصی با فنل و پروتئین است.

- روش الکتروفورزی:

در این روش DNA را بر روی ژل آگاروز یک درصد الکتروفورز کرده و پس از رنگ‌آمیزی با اتیدیوم بروماید یک درصد از روی شکل ظاهری، شدت وضوح، داشتن یا نداشتن زمینه، باندهای DNA، کیفیت و تا حدودی کمیت DNA مشخص گردیده است.

بررسی الکتروفورزی کیفیت DNA:

۱. تانک الکتروفورز و سینی ژل را تمیز و خشک نموده و تانک الکتروفورز در سطح افقی قرار داده شد.
۲. سینی مخصوص ژل را در محل تراز قرار داده و شانه روی سینی ژل طوری قرار داده شد که ۲-۱ میلی‌متر با کف سینی ژل فاصله داشته باشد. دو طرف سینی با استفاده از چسب نواری بسته می‌شود.

۳. برای تهیه ژل آگارز یک درصد ۴۰ میلی لیتر بافر TAE $\times 1$ را در ارلن ریخته و ۰/۴ گرم آگاروز به آن اضافه گردید.
۴. سوسپانسیون حاصل را روی شعله حرارت داده تا آگارز در آن حل و شفاف گردد. سپس ارلن در دمای محیط آزمایشگاه قرار می گیرد تا سرد شود.
۵. زمانیکه دمای محلول به حدود ۳۵ تا ۴۵ درجه سانتیگراد رسید مقدار یک میکرولیتر اتیديوم بروماید (۰/۰۱ درصد) به آن اضافه و محلول کاملاً بهم زده شد.
۶. آگارز مذاب را در سینی ژل ریخته و اجازه داده شد تا منعقد گردد.
۷. پس از بستن ژل حایل‌های دو طرف سینی باز و ژل به آرامی در داخل تانک الکتروفورز قرار داده شد. پس از مدتی شانه ژل به آرامی از ژل خارج گردید.
۸. ۵ میکرولیتر از DNA ژنومی همراه با ۲ میکرولیتر از بافر سنگین کننده و ۸ میکرولیتر آب مقطر کاملاً مخلوط و با دقت به هر یک از گوده‌های ژل ریخته شد.
۹. الکتروفورز به منبع جریان برق متصل و دستگاه مولد برق بر روی ۷۵ ولت و ۴۵ میلی آمپر تنظیم گردید.
۱۰. پس از رسیدن بافر سنگین کننده به انتهای ژل، ژل موردنظر بر روی دستگاه UV ترانس ایلومیناتور منتقل گردید و کیفیت DNA از لحاظ خلوص (آلودگی فنلی، پروتئینی)، شکستگی DNA مورد ارزیابی قرار گرفت و تا حدی از کمیت DNA مورد ارزیابی بررسی قرار گرفت.

واکنش PCR

- آماده سازی پرایمر (آغازگر)

طراحی پرایمرهای میکروستلایتی براساس ترادف DNA ژنومی ماهی قزل الا انجام شده است بعد از مطالعه توالی ژنومی DNA این گونه توسط جستجوی اینترنتی در بانک ژنی (NCBI) ده جفت پرایمر بطول ۲۴-۱۸ باز برای دو سر ژن انتخاب شد و سپس به شرکت MWG-Biotech برای سنتز سفارش داده شد. پرایمرهای لیوفیلیزه طبق دستور شرکت سازنده بصورت محلول در آورده شد و بر حسب غلظت آن به نسبت ۱ به ۵ رقیق سازی انجام گرفت و در میکروتیوب‌های ۰/۵ میلی لیتری بصورت جداگانه هر کدام ۱۰۰-۲۰ میکرولیتر ریخته و در ۲۰- درجه سانتی گراد قرار داده شد. از آنجایی که داشتن توالی DNA مربوط به یک منطقه خاص از ژنوم یک گونه این اجازه را می دهد تا همین منطقه خاص از ژنوم مربوط به گونه‌های بسیار نزدیک یا جمعیت‌های مشابه از یک گونه را با همان یک جفت پرایمر تکثیر گردد لذا برای تمامی مناطق همین ده جفت پرایمر مورد استفاده قرار گرفت. مشخصات پرایمرهای مورد استفاده در ماهی قزل آلا در جدول ۲ آمده است.

جدول ۲- خصوصیات و نتایج بدست آمده از جایگاههای میکروستالاتی بررسی شده در ماهی قزل آلا

جایگاه	توالی پرایمر	دمای اتصال
Strutta58	AACAATGACTTTCTCTGAC AAGGACTTGAAGGACGAC	۶۰
OmyF	AGATTTACCCAGCCAGGTAG CATAGTCTGAACAGGGACAG	۵۵
Otsg83	TAGCCCTGCACTAAAATACAGTTC CATTAACTAGGCTTGTCAGCAGT	۶۰
OtsG474	TTAGCTTTGGACATTTTATCACAC CCAGAGCAGGGACCAGAAC	۵۲
Strutta12	AAATCTCAAATCGATCAGAAG AGCTATTTTCAGACATCACC	۵۶
Ots100	TGAACATGAGCTGTGTGAG ACGGACGTGCCAGTGAG	۶۰
OtsG 409	TAGCCCTGCACTAAAATACAGTTC CATTAACTAGGCTTGTCAGCAGT	۶۰
OtsG 249	TCCTGACCTGTGAGTCCAAG CTCGCTTGTTATGGAGG	۵۹
OtsG 432	TGAAAAGTAGGGAAACACATACG TAAAGCCCATTGAATTGAATAGAA	۵۶
OtsG 3	GGACAGGAGCGTCTGCTAAATGACTG GGATGGATTGATGAATGGGTGGG	۵۳

– تکثیر قطعه ژن هدف و انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR)

برای انجام PCR و تکثیر ژن هدف، ۱۰۰ نانوگرم DNA استخراجی، ۱ میکرولیتر از پرایمرها (۳۰ پیکومول) بعلاوه ۰/۵ میکرولیتر dNTP (۱۰ میلی مولار)، ۰/۲ میکرولیتر Taq (۵u/μ)، ۲/۵ میکرولیتر بافر PCR (۱۰X)، ۰/۸ میکرولیتر MgCl₂ (۵۰ میلی مولار) استفاده شد که در نهایت حجم آن با آب مقطر به ۲۵ میکرولیتر رسانده، چند ثانیه سانتریفیوژ و تیوپ‌ها در ترموسایکلر قرار گرفتند و یا برای هر نمونه یک ویال ۰/۲ میلی لیتری استریل انتخاب و شماره نمونه روی آن ثبت گردید، سپس روی یخ ترکیبات جدول ۳ با مقادیر مشخص شده افزوده گردید و محتویات ویالها توسط سمپلر خوب به هم زده شد و سپس ویالها را به مدت ۱۰ ثانیه سانتریفیوژ کرده تا محتویات لوله‌ها ته نشین گردد (لازم به ذکر است هرگاه در شرایط استاندارد PCR نتیجه‌ای مشاهده نشود مقدار MgCl₂ و تعداد سیکل‌ها تغییر می‌یابد).

جدول ۳: نوع و مقدار مواد استفاده شده در واکنش زنجیره‌ای پلیمرز

ماده	غلظت مواد	مقدار برای واکنش ۲۵ میکرولیتری
DNA استخراجی	۱۰۰ نانوگرم	۱ میکرولیتر
آنزیم تک DNA پلیمرز	۵۰/μ	۰/۲ میکرولیتر
dNTPs	۱۰ میلی مولار	۰/۵ میکرولیتر
MgCl ₂	۵۰ میلی مولار	۰/۸ میکرولیتر
PCR Buffer	۱۰X	۲/۵ میکرولیتر
پرایمر ۱	۳۰/Variable پیکومول	۱ میکرولیتر
پرایمر ۲	۳۰/Variable پیکومول	۱ میکرولیتر
آب مقطر	—————	تا ۲۵ میکرولیتر

– بهینه کردن PCR و پروفیل‌های حرارتی آن

برای بهینه کردن PCR ابتدا PCR استاندارد که شامل مراحل زیر است را انجام داده و سپس با توجه به محصولات PCR اقدام به تغییر شرایط گردید. در مرحله اول با دادن دامنه حرارتی، بهترین دمای اتصال هر کدام از آغازگرها به رشته الگو به دست آمد و در مرحله بعد جهت تظاهر خوب باندها و حذف شکستگی (اسمیر) غلظت MgCl₂، DNA ژنومی، آغازگر و dNTPs بهینه سازی گردید.

در پایان، محصولات PCR را به یخچال ۴ تا ۸ درجه سانتی گراد انتقال می دهیم تا برای آزمایش های بعد که شامل انتقال بر روی ژل آگارز ۲٪ برای سنجش وجود و کیفیت محصول PCR و پلی اکریل آمید به منظور ایجاد باندهای مورد نظر می باشد در دسترس باشد. پس از آزمایش های فوق، محصولات PCR به فریزر ۲۰ درجه سانتی گراد انتقال داده شد.

– الکتروفورز محصول PCR، با استفاده از ژل پلی اکریل آمید ۸ درصد

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 (MBI Fermentas pBR322 DNA/AluI Marker, 20,) بر روی ژل پلی اکریل آمید ۸ درصد و با روش رنگ آمیزی نترات نقره بدست آمد. شکل ۲ نحوه تفکیک باندهای نشانگر pBR322 DNA/AluI Marker, 20 را بر روی ژل آگارز ۱/۷ و ۵/۹ درصد نشان می دهد. از آنجایی که حساسیت ژل پلی اکریل آمید ۲۰۰ تا ۳۰۰ برابر ژل آگارز می باشد. در تحقیق حاضر از این ژل برای بررسی نتایج PCR استفاده گردید. مواد مورد استفاده: آب مقطر دوبار تقطیر، اکریل آمید ۳۰ درصد، TBE (10X)، آمونیوم پرسولفات ۱۰ درصد، TEMED، بافر سنگین کننده و مارکر pBR322 DNA/AluI Marker, 20 ساخت شرکت MBI Fermentase

تجهیزات مورد استفاده: الکتروفورز عمودی و منبع تامین کننده جریان الکتریسته مدل VEU-7305 شرکت پایا پژوهش

روش کار جهت تهیه ژل پلی اکریل آمید ۸ درصد: جهت تهیه ژل پلی اکریل آمید ۸ درصد ابتدا ۳۱ میلی لیتر آب مقطر را با ۱۳/۵ میلی لیتر پلی اکریل آمید ۳۰ درصد و ۴/۵ میلی لیتر بافر TBE (10X) در داخل بالن دارای بازوی جانبی مخلوط ریخته و به مدت ۴ دقیقه توسط دستگاه کمپرسور هواگیری شد و سپس ۳۸۵ میکرولیتر از محلول آمونیوم پرسولفات ۱۰ درصد و ۵۰ میکرولیتر از محلول TEMED به مخلوط قبلی اضافه شده این ترکیب در فضای بین دو شیشه که از طرفین و قسمت زیری مسدود و از قسمت بالایی نیز شانه‌ای را در فضای بین خود جا داده ریخته شد، جلوگیری از ایجاد حباب هوا در این مرحله کاملاً الزامی است. مدت زمان لازم برای پلیمریزه شدن این ژل حدود ۳۰ دقیقه بوده و بعد از این مدت شانه به آرامی از قسمت بالایی خارج و بعد از شستشوی چاهک‌های ایجاد شده توسط محلول TBE (1X) (بافر الکترو)، نمونه‌های PCR را به ترتیب در محل چاهک‌ها ریخته، و ژل در ستون عمودی بافر TBE (1X) قرار گرفت بطوری که ژل در بین دو مخزن بافر قرار گرفته و تنها ارتباط بین این دو بافر از طریق ژل میسر باشد. زمانی که دستگاه به مولد برق با ولتاژ ۱۵۰ ولت وصل می‌گردد به مخزن بالا قطب مثبت و به مخزن پایین قطب منفی وصل می‌شود که باعث برقراری جریان از سمت مخزن بالا به سمت مخزن پایین و حرکت نمونه‌های لود شده در چاهک در این مسیر می‌شود و قطعات DNA تکثیر شده براساس وزن مولکولی خود در طول ژل از هم جدا شوند، الکتروفورز نمونه‌ها در مدت ۳ ساعت انجام شد. جهت نمایان شدن باندهای DNA از روش رنگ آمیزی نترات نقره استفاده شد و برای اطمینان از تکرارپذیری نوارها آزمایش سه الی چهار بار در شرایط یکسان تکرار گردید.

رنگ آمیزی ژل پلی اکریل آمید با نترات نقره

جهت رنگ آمیزی ژل پلی اکریل آمید سه نوع محلول بصورت زیر تهیه شدند:

۱. محلول A، بافر اسید استیک ۰/۵ درصد و اتانول ۱۰ درصد

اتانول ۴۰ میلی لیتر

اسید استیک ۲ میلی لیتر

آب مقطر ۳۶۰ میلی لیتر

۲. محلول B، بافر نترات نقره ۰/۱ درصد

نترات نقره ۰/۲ گرم

آب مقطر ۲۰۰ میلی گرم

۳. محلول C، بافر فرمالدئید ۰/۱۵ درصد، NaBH₄ ۰/۱ درصد و NaOH ۴/۵ درصد

NaOH ۴/۵ گرم

NaBH₄ ۰/۰۳ گرم

آب مقطر ۳۰۰ میلی لیتر

فرمالین ۱/۲ میلی لیتر

شایان ذکر است که جهت تهیه محلول شماره ۳ (محلول C) ابتدا هیدروکسید سدیم را در آب مقطر حل و سپس مواد دیگر بر روی آنها ریخته می شود.

پس از اتمام زمان الکتروفورز ژل از صفحات شیشه‌ای با یک کاردک جدا و جهت رنگ آمیزی ابتدا دو بار و در هر بار به مدت ۳ دقیقه ژل در داخل محلول A بر روی شیکر قرار گرفت، سپس به مدت ۱۰ دقیقه به محلول B منتقل در پایان این مدت دو بار و هر بار بمدت ۱ دقیقه با آب مقطر شستشو شد. در نهایت بمدت ۱۰ دقیقه یا تا زمانی که باندها بصورت نوارهای تیره رنگی دیده شوند در محلول C قرار داده شد. ژلهای رنگ آمیزی شده به درون پوشش پلاستیکی منتقل و جهت نگهداری پرس شدند.

با توجه به وجود یا عدم وجود جهش در محل‌های ویژه جایگاههای میکروستلایتی، قطعات DNA با وزن مولکولی متفاوت از محصول PCR تولید می گردد که تفاوت بین باندهای DNA و اختلاف در وزن مولکولی که منجر به تولید ژنوتیپ‌های مختلف می گردد را با قرار دادن یک شناساگر (در این تحقیق مارکر pBR322, DNA/AluI Marker, 20) در کنار نمونه‌ها قابل تخمین است برای شناسایی ژنوتیپ‌ها استفاده می شوند. این شناساگرها چیزی نیستند جز ژنوم باکتری‌های خاص که توسط آنزیم‌های مختلف به قطعات متعدد با وزن مولکولی مشخص برش داده شده‌اند (Pourkazemi, 1996).

ثبت تصاویر

تصاویر ژل پلی‌اکریل‌آمید پس از رنگ آمیزی ابتدا توسط دستگاه مستند سازی ژل ترانس ایلومیناتور مدل DOC008.XD ساخت کمپانی UVI همراه با برنامه نرم‌افزاری UVI DOC Version V.99.04 ثبت و ذخیره گردید.

- آنالیز آماری

فراوانی آللی هتروزایگوسیتی مورد انتظار و مشاهده شده، تعداد آللهای واقعی و تعداد آللهای موثر در جایگاههای میکروساتلایتی، شاخص شانون، ماتریس شباهت و فاصله ژنتیکی بر اساس Nei (1972, 1978)، تعادل هاردی-واینبرگ بر اساس χ^2 ، مقادیر F_{ST} و R_{ST} ، جریان ژنی، تنوع ژنتیکی بر اساس تست AMOVA در سطح احتمال ۰/۰۱ در نرم افزار Gene Alex version 6 و PopGene version 1.31 محاسبه گردید (Peakall and Smouse, 2005; Yeh et al., 1999).

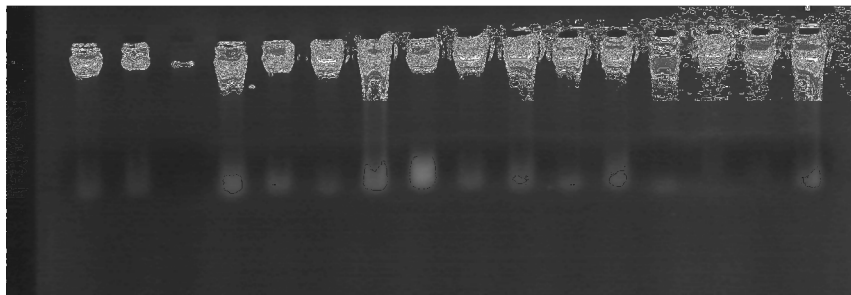
دندروگرام فاصله ژنتیکی با استفاده از روش جفت گروهی غیر وزنی از طریق میانگین حسابی (UPGMA) با کمک نرم افزار Popgene با ۱۰۰۰ بار تکرار ترسیم گردید.

۳- نتایج

۳-۱- نتایج بررسی کمیت و کیفیت DNA استخراج شده

استخراج اسیدهای نوکلئیک (Total DNA) به روش فنل- کلروفورم درمورد تمامی نمونه‌های ماهی قزل آلا انجام شد. کمیت و کیفیت DNA استخراج شده به دو روش استفاده از ژل آگارز ۱٪ و مشاهده با اشعه UV و دستگاه اسپکتروفتومتر مورد ارزیابی قرار گرفت که نتایج آن به شرح ذیل می‌باشد.

ارزیابی کیفیت DNA استخراج شده با استفاده از روش الکتروفورز ژل آگارز بررسی شدت وضوح باندهای DNA بر روی ژل آگارز (یک درصد) و مشاهده تیزی و شدت باندهای تولید شده نشان داد که DNAهای استخراج شده از باله ماهی قزل آلا به روش فنل- کلروفورم از کیفیت و کمیت مناسبی برای استفاده در آزمایش‌های PCR برخوردار می‌باشند. باندهای DNA بسیار قوی و شفاف بوده و این بیانگر آن است که DNA استخراجی فاقد آلودگی پروتئینی، فنلی و یا آلودگی به RNA است (شکل ۱).



شکل ۱: نمونه‌ای از DNA استخراج شده به روش فنل - کلروفورم بر روی ژل آگارز ۱٪

الگوهای باندهای بدست آمده از ۱۰ جایگاه ریزماهواره ای نشان داد که در مجموع تعداد ۵۰ آلل شناسائی گردید که محدوده اندازه آنها بین ۲۸۰-۶۴ جفت باز بوده است. جایگاه Omyf با ۲۶ آلل دارای بیشترین آلل و جایگاه OTSG 474 و Strurruta58 با ۵ آلل دارای کمترین تعداد آلل بود (جدول ۴). ملاحظه می‌گردد که تعدادی از آللها مختص یک جایگاه بوده و در جایگاههای دیگر وجود ندارد.

بر اساس داده‌های فراوانی آللی جایگاههای مختلف میکروستلایتی پلی مورفیک مجموعاً ۲۳ آلل اختصاصی (جدول ۵) مشاهده می‌شود که حداکثر آن در نمونه‌های مزرعه ۱۶ با ۵ آلل و حداقل آن در نمونه‌های مزارع ۱۴، ۱۰، ۹ و ۱۵ با ۱ آلل دیده می‌شود.

پرایمرهایی که بیشترین آلل اختصاصی را نشان دادند به ترتیب Omyf با ۷ آلل، OTSG83b و OTSG422 با ۳ آلل و OTSG474 و Strruta12 با ۲ آلل در می‌باشند.

جدول ۴: اندازه آلهای شناسائی شده در ۱۰ جایگاه ریز ماهواره ای در ماهی قزل آلا

آل	OTSG83b	OTSG 3	Omyf	OTSG409 409	OTSG100 100	OTSG432 432	OTSG474 474	OTSG249 249	Sturrua12 12	Sturrua 58
80	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
84	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
88	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0
92	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
96	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
100	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
104	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
110	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
112	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0
114	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
116	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0
119	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
120	1	0	1	0	0	0	0	1	1	0
124	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0
128	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0
132	1	1	0	0	0	1	0	1	1	0
136	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0
140	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0
144	1	1	1	0	0	0	0	1	1	1
148	1	0	1	0	0	0	0	1	1	0
152	1	0	1	0	0	1	1	1	1	1
156	1	0	1	0	0	0	0	1	1	0
160	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0
162	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
164	1	0	1	0	1	0	0	1	1	1
168	0	0	1	0	1	0	0	1	1	0
172	1	1	1	0	1	0	1	1	1	0
176	0	0	1	0	1	0	0	0	1	1
180	0	0	1	0	1	0	0	1	1	0
182	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
184	1	1	1	0	1	0	0	1	1	0
188	1	1	1	0	1	0	0	1	0	0
192	0	0	1	0	1	1	0	0	1	0
196	0	1	1	0	1	0	0	1	1	0
200	0	1	1	0	1	1	0	0	1	0
204	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0
208	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
212	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0
216	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0
220	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0
224	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
232	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0
236	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
240	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0
244	0	0	0	0	1	1	1	0	0	1
252	0	0	0	0	1	1	1	0	0	1
252	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
256	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
272	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
280	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
جمع	20	10	26	8	16	11	5	19	20	5

جدول ۵: تعداد و اندازه آللهای اختصاصی هر جایگاه در نمونه های مورد بررسی

مزرعه	جایگاه	اندازه ال	فراوانی
1	Sturruta 12	110	0.289
1	Sturruta 12	120	0.289
2	omyf	182	0.036
2	OTSG 474	172	0.036
2	OTSG 474	244	0.036
2	Sturruta 58	244	0.036
3	OTSG 432	232	0.031
4	OTSG 432	244	0.071
5	OTSG 409	۸۸	0.100
7	OTSG 83b	۸۸	0.075
9	OTSG 83b	184	0.025
10	omyf	196	0.125
14	OTSG 432	124	0.100
15	OTSG 409	119	0.020
16	OTSG 83b	114	0.028
16	omyf	120	0.056
16	omyf	220	0.056
16	omyf	256	0.028
16	OTS 100	۸۰	0.028
24	OTSG 3	220	0.075
24	omyf	208	0.025
24	omyf	216	0.250
24	OTS 100	204	0.450

- آللهای واقعی (Na) و موثر (Ne)

معیار دیگری که برای تعیین میزان چند شکلی جایگاهها استفاده می شود تعداد آلل واقعی و موثر است. در مقایسه مزارع مورد مطالعه بیشترین میانگین تعداد آلل مشاهده شده مربوط به نمونه های مزرعه ۱۵ با ۶/۱۰۰ آلل و کمترین تعداد آلل مشاهده شده مربوط به نمونه های مزرعه ۱۸ با ۳/۴۰۰ آلل می باشد (جدول ۶). در مقایسه مناطق مورد مطالعه بیشترین میانگین تعداد آلل موثر مربوط به نمونه های مزرعه ۱۵ با ۴/۰۶۱ آلل و کمترین تعداد آلل موثر مربوط به نمونه های مزرعه ۱۸ با ۲/۴۴۵ آلل می باشد. در میان مناطق نمونه برداری و در تمامی جایگاههای ده گانه مورد مطالعه میانگین تعداد آللی مشاهده شده ۵/۱۱۲ و میانگین تعداد آللی موثر ۴/۱۹۷ می باشد.

- تنوع ژنتیکی

در بررسی و مطالعات تنوع ژنتیکی درون جمعیتی یک گونه از معیارهای همچون هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Ho) و مورد انتظار (He) برای هر منطقه در هر لوکوس و بازای هر لوکوس در تمامی مناطق مورد استفاده قرار می‌گیرد.

در مطالعه حاضر دامنه هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Ho) بین مزرعه نمونه برداری در جایگاههای ده گانه بین ۰.۸۲۵ تا ۰.۹۶۴ با میانگین ۰/۹۳۸ بود (جدول ۶).

دامنه هتروزیگوسیتی مورد انتظار (He) بین مناطق نمونه برداری در جایگاههای ده گانه بین ۰/۷۱۸-۰/۵۷۶ با میانگین ۰/۶۷۶ بود. بیشترین مقدار هتروزیگوسیتی مورد انتظار در لوکوس در نمونه‌های جمع آوری شده از مزرعه ۱۵ و کمترین مقدار هتروزیگوسیتی مورد انتظار در جایگاه مربوط به مزرعه ۱۸ می‌باشد.

مقادیر Ho و He و میانگین آن در سطح لوکوس نیز برای کل نمونه‌ها محاسبه گردید که سطح تغییر پذیری هر لوکوس را در کل مناطق مورد بررسی نشان می‌دهد. بیشترین مقدار هتروزیگوسیتی مشاهده شده در کل مزارع مورد بررسی ۰/۹۶۴ مربوط به مزرعه E۲۰ می‌باشد. بیشترین مقدار هتروزیگوسیتی مورد انتظار در کل مزارع مورد بررسی ۰/۷۱۸ مربوط به مزرعه ۱۵ و کمترین مقدار آن ۰/۵۷۶ مربوط به مزرعه ۱۸ است.

محاسبه ضرایب افت هتروزیگوسیتی نشان می‌دهد که در تمام مناطق نمونه برداری و در تمامی جایگاهها کاهش هتروزیگوسیتی یا به عبارت دیگر کم بودن مقادیر He نسبت به Ho وجود دارد.

تنوع درون جمعیتی یا تنوع ژنی بصورت هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Ho) و هتروزیگوسیتی مورد انتظار (He) در هر لوکوس و برای هر جمعیت به همراه میانگین‌ها در جدول ۳ نشان داده شده است.

شاخص اطلاعات شانون (I) برای هر مزرعه در تمامی جایگاهها محاسبه گردید که نتایج حاصله در جدول شماره ۶ خلاصه گردیده است. بیشترین مقدار شاخص شانون در مزرعه ۹ (۱/۱۶۴) و کمترین آن متعلق مزرعه ۲۲ (۰/۶۹۳) می‌باشد. علاوه بر این خلاصه نتایج حاصل از هتروزیگوسیتی در تمام جایگاهها در جداول ۷ تا ۳۰ نشان داده شده است.

جدول ۶: تعداد آللهای مشاهده شده و قابل انتظار و مقدار هتروزایگوسیتس مشاهده شده و قابل انتظار و شاخص شانن در مزارع و جایگاههای مختلف

مزرعه	جایگاه	Na	Ne	I	Ho	He
۱	OTSG 83b	3.000	2.745	1.054	1.000	0.636
	OTSG 3	4.000	2.809	1.164	1.000	0.644
	omyf	4.000	3.267	1.284	0.789	0.694
	OTSG 409	5.000	3.522	1.405	1.000	0.716
	OTS 100	4.000	2.142	0.964	0.474	0.533
	OTSG 432	2.000	2.000	0.693	1.000	0.500
	OTSG 474	3.000	2.367	0.959	0.895	0.578
	OTSG 249	9.000	5.348	1.910	1.000	0.813
	Sturruta 12	4.000	3.903	1.374	1.000	0.744
	Sturruta 58	4.000	3.989	1.385	1.000	0.749
	میانگین	۴.۲۰۰	۲.۷۴۵	1.219	۰.۹۱۶	۰.۶۶۱
۲	OTSG 83b	8.000	5.227	1.834	1.000	0.809
	OTSG 3	5.000	3.630	1.402	1.000	0.724
	omyf	6.000	3.630	1.478	0.929	0.724
	OTSG 409	5.000	4.215	1.508	0.929	0.763
	OTS 100	3.000	2.513	0.992	1.000	0.602
	OTSG 432	4.000	3.267	1.277	0.857	0.694
	OTSG 474	4.000	2.306	0.950	1.000	0.566
	OTSG 249	9.000	5.939	1.957	1.000	0.832
	Sturruta 12	3.000	2.405	0.953	1.000	0.584
	Sturruta 58	5.000	2.215	1.109	0.429	0.548
	میانگین	۳.۵۳۵	۵.۲۰۰	1.346	۰.۸۶۹	۰.۶۶۴
۳	OTSG 83b	4.000	3.200	1.255	1.000	0.688
	OTSG 3	4.000	1.690	0.787	0.375	0.408
	omyf	3.000	2.124	0.810	1.000	0.529
	OTSG 409	5.000	4.129	1.468	1.000	0.758
	OTS 100	9.000	4.785	1.829	0.625	0.791
	OTSG 432	4.000	2.276	0.972	0.875	0.561
	OTSG 474	2.000	1.992	0.691	0.938	0.498
	OTSG 249	7.000	4.923	1.707	0.938	0.797
	Sturruta 12	8.000	5.818	1.876	1.000	0.828
	Sturruta 58	4.000	3.303	1.254	0.813	0.697
	میانگین	۳.۴۲۴	۵.۰۰۰	1.265	۰.۸۶۹	۰.۶۶۴
۴	OTSG 83b	5.000	3.991	1.465	1.000	0.749
	OTSG 3	3.000	2.066	0.822	0.619	0.516
	omyf	4.000	2.649	1.103	1.000	0.622
	OTSG 409	5.000	4.455	1.537	1.000	0.776
	OTS 100	5.000	3.920	1.453	0.762	0.745
	OTSG 432	4.000	2.649	1.103	1.000	0.622
	OTSG 474	3.000	2.189	0.850	1.000	0.543
	OTSG 249	6.000	5.011	1.697	1.000	0.800
	Sturruta 12	5.000	4.065	1.451	1.000	0.754
	Sturruta 58	4.000	3.379	1.272	0.810	0.704

	میانگین	۳.۴۳۷	۴.۴۰۰	1.275	۰.۹۱۹	۰.۶۸۳
5	OTSG 83b	7.000	3.531	1.458	0.960	0.717
	OTSG 3	5.000	2.418	1.049	0.760	0.586
	omyf	5.000	3.157	1.266	0.920	0.683
	OTSG 409	3.000	1.920	0.826	0.440	0.479
	OTS 100	5.000	3.230	1.302	0.880	0.690
	OTSG 432	5.000	2.860	1.218	1.000	0.650
	OTSG 474	2.000	2.000	0.693	1.000	0.500
	OTSG 249	6.000	3.968	1.505	1.000	0.748
	Sturruta 12	8.000	4.209	1.666	0.920	0.762
	Sturruta 58	3.000	2.490	0.977	0.880	0.598
	میانگین	۲.۹۷۸	۴.۹۰۰	1.303	۰.۸۷۶	۰.۶۴۲
6	OTSG 83b	6.000	4.245	1.549	0.867	0.764
	OTSG 3	3.000	1.923	0.803	0.467	0.480
	omyf	5.000	4.206	1.507	1.000	0.762
	OTSG 409	3.000	2.133	0.910	0.667	0.531
	OTS 100	6.000	4.737	1.652	1.000	0.789
	OTSG 432	3.000	2.663	1.039	1.000	0.624
	OTSG 474	3.000	2.261	0.889	1.000	0.558
	OTSG 249	6.000	4.455	1.575	1.000	0.776
	Sturruta 12	7.000	5.357	1.774	1.000	0.813
	Sturruta 58	4.000	3.600	1.330	1.000	0.722
	میانگین	۳.۵۵۸	۴.۶۰۰	1.345	۰.۹۰۰	۰.۶۸۲
7	OTSG 83b	8.000	4.124	1.672	0.850	0.757
	OTSG 3	5.000	2.073	0.932	0.600	0.517
	omyf	8.000	5.970	1.884	0.900	0.832
	OTSG 409	2.000	1.724	0.611	0.600	0.420
	OTS 100	7.000	4.938	1.720	0.700	0.798
	OTSG 432	4.000	3.239	1.234	1.000	0.691
	OTSG 474	3.000	2.089	0.790	0.950	0.521
	OTSG 249	8.000	5.031	1.764	0.900	0.801
	Sturruta 12	5.000	4.348	1.543	1.000	0.770
	Sturruta 58	4.000	3.448	1.304	1.000	0.710
	میانگین	۳.۷۲۶	۵.۵۵۶	1.345	۰.۸۵۰	۰.۶۸۲
8	OTSG 83b	4.000	2.439	1.018	1.000	0.590
	OTSG 3	3.000	1.942	0.791	0.500	0.485
	omyf	7.000	4.082	1.612	0.900	0.755
	OTSG 409	2.000	1.923	0.673	0.400	0.480
	OTS 100	4.000	3.448	1.304	1.000	0.710
	OTSG 432	4.000	2.985	1.192	1.000	0.665
	OTSG 474	2.000	2.000	0.693	1.000	0.500
	OTSG 249	7.000	5.263	1.782	1.000	0.810
	Sturruta 12	5.000	3.226	1.327	1.000	0.690
	Sturruta 58	4.000	2.439	1.018	1.000	0.590
	میانگین	۳.۹۷۵	۴.۲۰۰	1.141	۰.۸۸۰	۰.۶۲۸
9	OTSG 83b	8.000	5.000	1.747	0.950	0.800
	OTSG 3	4.000	2.540	1.064	0.950	0.606

	omyf	6.000	3.320	1.403	1.000	0.699
	OTSG 409	2.000	1.724	0.611	0.600	0.420
	OTS 100	7.000	4.124	1.622	0.650	0.757
	OTSG 432	4.000	2.424	1.004	0.950	0.587
	OTSG 474	3.000	2.089	0.790	0.950	0.521
	OTSG 249	5.000	3.065	1.268	1.000	0.674
	Sturruta 12	6.000	3.347	1.438	1.000	0.701
	Sturruta 58	2.000	2.000	0.693	1.000	0.500
	میانگین	۲.۹۶۳	۴.۷۰۰	1.164	۰.۹۰۵	۰.۶۲۷
10	OTSG 83b	8.000	3.187	1.492	0.800	0.686
	OTSG 3	3.000	2.156	0.914	0.750	0.536
	omyf	6.000	5.195	1.702	0.850	0.808
	OTSG 409	3.000	2.532	0.999	1.000	0.605
	OTS 100	3.000	2.556	1.015	0.450	0.609
	OTSG 432	4.000	2.694	1.105	1.000	0.629
	OTSG 474	2.000	1.980	0.688	0.900	0.495
	OTSG 249	12.000	6.349	2.117	1.000	0.843
	Sturruta 12	4.000	4.000	1.386	1.000	0.750
	Sturruta 58	4.000	3.653	1.337	0.950	0.726
	میانگین	۳.۴۳۰	۴.۹۰۰	1.275	۰.۸۷۰	۰.۶۶۹
11	OTSG 83b	4.000	3.631	1.337	0.563	0.725
	OTSG 3	5.000	2.893	1.305	0.813	0.654
	omyf	4.000	3.683	1.347	0.875	0.729
	OTSG 409	2.000	1.519	0.525	0.438	0.342
	OTS 100	5.000	3.220	1.314	0.625	0.689
	OTSG 432	2.000	2.000	0.693	1.000	0.500
	OTSG 474	2.000	2.000	0.693	1.000	0.500
	OTSG 249	8.000	5.885	1.865	0.938	0.830
	Sturruta 12	3.000	2.612	1.024	1.000	0.617
	Sturruta 58	2.000	2.000	0.693	1.000	0.500
	میانگین	۲.۹۴۲	۳.۷۰۰	1.080	۰.۸۲۵	۰.۶۰۹
12	OTSG 83b	6.000	4.678	1.629	0.900	0.786
	OTSG 3	4.000	2.388	1.090	0.800	0.581
	omyf	7.000	4.651	1.698	0.950	0.785
	OTSG 409	2.000	1.980	0.688	0.900	0.495
	OTS 100	6.000	4.908	1.673	1.000	0.796
	OTSG 432	5.000	2.817	1.238	1.000	0.645
	OTSG 474	2.000	2.000	0.693	1.000	0.500
	OTSG 249	10.000	7.339	2.145	1.000	0.864
	Sturruta 12	7.000	5.063	1.719	1.000	0.803
	Sturruta 58	4.000	3.670	1.341	1.000	0.728
	میانگین	۳.۹۵۰	۵.۳۰۰	1.293	۰.۹۵۵	۰.۶۹۸
13	OTSG 83b	5.000	4.124	1.460	0.950	0.757
	OTSG 3	4.000	1.706	0.820	0.500	0.414
	omyf	6.000	2.162	1.114	0.650	0.538
	OTSG 409	3.000	2.100	0.792	1.000	0.524
	OTS 100	6.000	5.229	1.719	1.000	0.809
	OTSG 432	4.000	2.996	1.241	1.000	0.666

	OTSG 474	2.000	1.995	0.692	0.950	0.499
	OTSG 249	11.000	8.889	2.276	1.000	0.887
	Sturruta 12	6.000	3.620	1.475	1.000	0.724
	Sturruta 58	4.000	3.670	1.341	1.000	0.728
	میانگین	۳.۶۴۹	۵.۱۰۰	1.293	۰.۹۰۵	۰.۶۵۷
14	OTSG 83b	5.000	4.145	1.504	0.900	0.759
	OTSG 3	5.000	3.113	1.292	0.700	0.679
	omyf	5.000	2.930	1.264	0.850	0.659
	OTSG 409	4.000	1.956	0.900	0.650	0.489
	OTS 100	8.000	5.195	1.786	0.750	0.808
	OTSG 432	5.000	3.162	1.340	0.850	0.684
	OTSG 474	2.000	2.000	0.693	1.000	0.500
	OTSG 249	12.000	10.811	2.422	1.000	0.908
	Sturruta 12	6.000	3.419	1.415	1.000	0.707
	Sturruta 58	2.000	2.000	0.693	1.000	0.500
	میانگین	۳.۸۷۳	۵.۴۰۰	1.331	۰.۸۷۰	۰.۶۶۹
15	OTSG 83b	8.000	4.735	1.764	0.880	0.789
	OTSG 3	6.000	3.501	1.475	0.720	0.714
	omyf	8.000	6.098	1.903	1.000	0.836
	OTSG 409	4.000	2.341	0.961	0.920	0.573
	OTS 100	6.000	4.699	1.629	0.960	0.787
	OTSG 432	4.000	2.593	1.067	1.000	0.614
	OTSG 474	3.000	2.080	0.777	1.000	0.519
	OTSG 249	11.000	6.068	2.016	1.000	0.835
	Sturruta 12	7.000	5.040	1.707	1.000	0.802
	Sturruta 58	4.000	3.453	1.309	0.880	0.710
	میانگین	۴.۰۶۱	۶.۱۰۰	1.461	۰.۹۳۶	۰.۷۱۸
16	OTSG 83b	5.000	3.192	1.267	0.833	0.687
	OTSG 3	3.000	2.757	1.057	0.778	0.637
	omyf	11.000	7.714	2.200	0.944	0.870
	OTSG 409	3.000	2.656	1.026	0.889	0.623
	OTS 100	7.000	4.378	1.646	1.000	0.772
	OTSG 432	3.000	2.323	0.918	1.000	0.569
	OTSG 474	2.000	1.994	0.692	0.944	0.498
	OTSG 249	3.000	2.571	1.011	1.000	0.611
	Sturruta 12	4.000	3.640	1.335	1.000	0.725
	Sturruta 58	4.000	2.769	1.144	1.000	0.639
میانگین	۳.۴۰۰	۴.۵۰۰	1.230	۰.۹۳۹	۰.۶۶۳	
17	OTSG 83b	7.000	5.136	1.747	0.870	0.805
	OTSG 3	3.000	2.438	0.972	0.696	0.590
	omyf	6.000	3.049	1.284	1.000	0.672
	OTSG 409	3.000	2.095	0.883	0.739	0.523
	OTS 100	5.000	3.085	1.294	0.913	0.676
	OTSG 432	5.000	2.748	1.181	1.000	0.636
	OTSG 474	2.000	1.996	0.692	0.957	0.499
	OTSG 249	3.000	2.587	1.016	1.000	0.613
	Sturruta 12	7.000	4.427	1.596	1.000	0.774
	Sturruta 58	4.000	3.933	1.378	1.000	0.746

	میانگین	۳.۱۴۹	۴.۵۰۰	1.204	۰.۹۱۷	۰.۶۵۳
18	OTSG 83b	3.000	2.000	0.830	0.714	0.500
	OTSG 3	3.000	2.279	0.898	0.857	0.561
	omyf	5.000	3.733	1.414	1.000	0.732
	OTSG 409	3.000	2.142	0.822	0.929	0.533
	OTS 100	4.000	2.435	1.021	1.000	0.589
	OTSG 432	4.000	2.306	0.950	1.000	0.566
	OTSG 474	2.000	2.000	0.693	1.000	0.500
	OTSG 249	5.000	3.039	1.278	1.000	0.671
	Sturruta 12	3.000	2.513	0.992	1.000	0.602
	Sturruta 58	2.000	2.000	0.693	1.000	0.500
	میانگین	۲.۴۴۵	۳.۴۰۰	0.959	۰.۹۵۰	۰.۵۷۶
19	OTSG 83b	8.000	6.446	1.966	0.789	0.845
	OTSG 3	3.000	1.594	0.630	0.474	0.373
	omyf	5.000	2.996	1.274	1.000	0.666
	OTSG 409	4.000	2.516	1.047	0.632	0.602
	OTS 100	7.000	4.198	1.612	1.000	0.762
	OTSG 432	5.000	2.664	1.178	1.000	0.625
	OTSG 474	3.000	2.105	0.796	1.000	0.525
	OTSG 249	7.000	3.989	1.583	1.000	0.749
	Sturruta 12	3.000	2.551	1.005	1.000	0.608
	Sturruta 58	4.000	3.267	1.269	1.000	0.694
	میانگین	۳.۳۳۳	۴.۹۰۰	1.236	۰.۸۸۹	۰.۶۴۵
20N	OTSG 83b	8.000	3.117	1.420	0.810	0.679
	OTSG 3	4.000	1.926	0.897	0.619	0.481
	omyf	3.000	2.365	0.937	1.000	0.577
	OTSG 409	3.000	1.661	0.655	0.476	0.398
	OTS 100	4.000	2.697	1.119	0.952	0.629
	OTSG 432	5.000	2.731	1.179	1.000	0.634
	OTSG 474	2.000	2.000	0.693	1.000	0.500
	OTSG 249	7.000	4.667	1.674	1.000	0.786
	Sturruta 12	4.000	3.920	1.376	1.000	0.745
	Sturruta 58	2.000	1.960	0.683	0.857	0.490
	میانگین	۲.۷۰۴	۴.۲۰۰	1.063	۰.۸۷۱	۰.۵۹۲
20E	OTSG 83b	5.000	3.281	1.315	1.000	0.695
	OTSG 3	5.000	2.654	1.163	0.720	0.623
	omyf	6.000	4.386	1.616	1.000	0.772
	OTSG 409	2.000	2.000	0.693	1.000	0.500
	OTS 100	5.000	3.071	1.269	0.960	0.674
	OTSG 432	3.000	2.080	0.777	1.000	0.519
	OTSG 474	3.000	2.073	0.775	0.960	0.518
	OTSG 249	5.000	3.511	1.363	1.000	0.715
	Sturruta 12	6.000	4.699	1.629	1.000	0.787
	Sturruta 58	2.000	2.000	0.693	1.000	0.500
	میانگین	۲.۹۷۶	۴.۲۰۰	1.129	۰.۹۶۴	۰.۶۳۰
21	OTSG 83b	4.000	3.976	1.383	1.000	0.749
	OTSG 3	4.000	3.073	1.231	0.154	0.675

	omyf	5.000	3.674	1.445	0.769	0.728
	OTSG 409	2.000	2.000	0.693	1.000	0.500
	OTS 100	7.000	5.828	1.838	1.000	0.828
	OTSG 432	2.000	2.000	0.693	1.000	0.500
	OTSG 474	2.000	2.000	0.693	1.000	0.500
	OTSG 249	5.000	4.173	1.512	0.846	0.760
	Sturruta 12	7.000	4.971	1.738	1.000	0.799
	Sturruta 58	2.000	2.000	0.693	1.000	0.500
	میانگین	۳.۳۶۹	۴.۰۰۰	1.192	۰.۸۷۷	۰.۶۵۴.
22	OTSG 83b	5.000	4.091	1.465	0.867	0.756
	OTSG 3	3.000	2.866	1.076	0.600	0.651
	omyf	6.000	2.679	1.296	0.867	0.627
	OTSG 409	2.000	2.000	0.693	1.000	0.500
	OTS 100	4.000	3.689	1.346	0.800	0.729
	OTSG 432	2.000	2.000	0.693	1.000	0.500
	OTSG 474	2.000	2.000	0.693	1.000	0.500
	OTSG 249	5.000	3.020	1.257	1.000	0.669
	Sturruta 12	5.000	3.169	1.308	1.000	0.684
	Sturruta 58	2.000	2.000	0.693	1.000	0.500
	میانگین	۲.۷۵۱	۳.۶۰۰	0.693	۰.۹۱۳	۰.۶۱۲
23	OTSG 83b	7.000	5.453	1.793	0.941	0.817
	OTSG 3	2.000	1.637	0.578	0.529	0.389
	omyf	6.000	5.667	1.759	0.941	0.824
	OTSG 409	2.000	1.973	0.686	0.882	0.493
	OTS 100	5.000	3.420	1.338	1.000	0.708
	OTSG 432	2.000	2.000	0.693	1.000	0.500
	OTSG 474	2.000	2.000	0.693	1.000	0.500
	OTSG 249	6.000	5.303	1.716	1.000	0.811
	Sturruta 12	6.000	5.303	1.722	1.000	0.811
	Sturruta 58	4.000	3.959	1.381	0.941	0.747
	میانگین	۳.۶۷۱	۴.۲۰۰	1.236	۰.۹۲۴	۰.۶۶۰
24	OTSG 83b	8.000	5.096	1.798	1.000	0.804
	OTSG 3	4.000	1.865	0.858	0.600	0.464
	omyf	6.000	3.774	1.452	0.800	0.735
	OTSG 409	3.000	2.532	0.999	1.000	0.605
	OTS 100	4.000	2.930	1.153	0.900	0.659
	OTSG 432	2.000	2.000	0.693	1.000	0.500
	OTSG 474	2.000	2.000	0.693	1.000	0.500
	OTSG 249	6.000	4.233	1.622	1.000	0.764
	Sturruta 12	7.000	4.145	1.621	1.000	0.759
	Sturruta 58	2.000	1.835	0.647	0.700	0.455
	میانگین	۳.۰۴۱	۴.۴۰۰	1.154	۰.۹۰۰	۰.۶۲۴

تبادل هاردی-واینبرگ

به منظور بررسی تبادل هاردی-واینبرگ در تمامی مزارع مورد بررسی و لوکوس‌های مختلف از آزمون مربع کای یا χ^2 استفاده شد. در بررسی تبادل هاردی-واینبرگ مزارع E۴،۱۵،۱۸،۲۰ و ۲۱ در تمامی لوکوس‌های مورد بررسی انحراف از تبادل هاردی-واینبرگ را نشان داده و خارج از تبادل بودند ($P < 0.05$). در این بررسی، مزارع E۶،۷،۸،۱۴،۲۰ در ۳ جایگاه در تبادل هاردی واینبرگ بودند و در بقیه جایگاهها خارج از تبادل بودند. سایر مزارع در یک یا دو جایگاه در تبادل بوده و در ۸ یا ۹ جایگاه خارج از تبادل بودند. در جدول ۳۱ (ضمائم) به ترتیب نتایج آزمون مربع کای (χ^2) برای تبادل هاردی-واینبرگ در سطح لوکوس‌های میکروستلایتی پلی مورفیک برای همه نمونه‌های مناطق و نواحی مختلف آورده شده است.

جدول ۲-۳: نتایج آزمون کای (χ^2) برای تبادل هاردی-واینبرگ در جایگاههای پلی مورف

مزرعه	جایگاه	درجه آزادی	کای اسکوئر	احتمالات	ضریب اطمینان
۱	OTSG 83b	3	15.588	0.001	**
	OTSG 3	6	19.000	0.004	**
	omyf	6	43.325	0.000	***
	OTSG 409	10	57.000	0.000	***
	OTS 100	6	13.649	0.034	*
	OTSG 432	1	19.000	0.000	***
	OTSG 474	3	12.451	0.006	**
	OTSG 249	36	34.371	0.546	ns
	Sturruta 12	6	57.000	0.000	***
	Sturruta 58	6	57.000	0.000	***
۲	OTSG 83b	28	56.311	0.001	**
	OTSG 3	10	15.131	0.127	ns
	omyf	15	46.667	0.000	***
	OTSG 409	10	34.222	0.000	***
	OTS 100	3	14.000	0.003	**
	OTSG 432	6	28.000	0.000	***
	OTSG 474	6	42.000	0.000	***
	OTSG 249	36	58.127	0.011	*
	Sturruta 12	3	14.000	0.003	**
	Sturruta 58	10	28.173	0.002	**
۳	OTSG 83b	6	48.000	0.000	***
	OTSG 3	6	1.960	0.923	ns
	omyf	3	16.000	0.001	**
	OTSG 409	10	48.000	0.000	***
	OTS 100	36	59.251	0.009	**
	OTSG 432	6	9.679	0.139	ns
	OTSG 474	1	12.457	0.000	***
	OTSG 249	21	32.677	0.050	*
	Sturruta 12	28	50.000	0.006	**
	Sturruta 58	6	33.000	0.000	***
۴	OTSG 83b	10	36.905	0.000	***
	OTSG 3	3	24.140	0.000	***

	omyf	6	22.167	0.001	**
	OTSG 409	10	63.000	0.000	***
	OTS 100	10	31.333	0.001	***
	OTSG 432	6	63.000	0.000	***
	OTSG 474	3	21.000	0.000	***
	OTSG 249	15	57.346	0.000	***
	Sturruta 12	10	34.076	0.000	***
	Sturruta 58	6	43.562	0.000	***
5	OTSG 83b	21	18.840	0.595	ns
	OTSG 3	10	57.960	0.000	***
	omyf	10	43.327	0.000	***
	OTSG 409	3	19.495	0.000	***
	OTS 100	10	37.191	0.000	***
	OTSG 432	10	25.000	0.005	**
	OTSG 474	1	25.000	0.000	***
	OTSG 249	15	96.875	0.000	***
	Sturruta 12	28	78.602	0.000	***
	Sturruta 58	3	50.000	0.000	***
6	OTSG 83b	15	26.727	0.031	*
	OTSG 3	3	0.600	0.896	ns
	omyf	10	29.571	0.001	**
	OTSG 409	3	1.787	0.618	ns
	OTS 100	15	32.321	0.006	**
	OTSG 432	3	15.000	0.002	**
	OTSG 474	3	15.000	0.002	**
	OTSG 249	15	75.000	0.000	***
	Sturruta 12	21	75.000	0.000	***
	Sturruta 58	6	45.000	0.000	***
7	OTSG 83b	28	51.667	0.004	**
	OTSG 3	10	4.161	0.940	ns
	omyf	28	36.179	0.138	ns
	OTSG 409	1	3.673	0.055	ns
	OTS 100	21	60.897	0.000	***
	OTSG 432	6	12.525	0.051	ns
	OTSG 474	3	16.372	0.001	***
	OTSG 249	28	77.143	0.000	***
	Sturruta 12	10	60.000	0.000	***
	Sturruta 58	6	60.000	0.000	***
8	OTSG 83b	6	30.000	0.000	***
	OTSG 3	3	0.539	0.910	ns
	omyf	21	43.832	0.002	**
	OTSG 409	1	0.278	0.598	ns
	OTS 100	6	30.000	0.000	***
	OTSG 432	6	7.315	0.293	ns
	OTSG 474	1	10.000	0.002	**
	OTSG 249	21	20.000	0.521	ns
	Sturruta 12	10	30.000	0.001	***
	Sturruta 58	6	30.000	0.000	***
9	OTSG 83b	28	120.000	0.000	***
	OTSG 3	6	17.327	0.008	**

	omyf	15	60.000	0.000	***
	OTSG 409	1	3.673	0.055	ns
	OTS 100	21	97.551	0.000	***
	OTSG 432	6	16.562	0.011	*
	OTSG 474	3	16.372	0.001	***
	OTSG 249	10	28.254	0.002	**
	Sturruta 12	15	60.000	0.000	***
	Sturruta 58	1	20.000	0.000	***
10	OTSG 83b	28	73.783	0.000	***
	OTSG 3	3	7.200	0.066	ns
	omyf	15	71.265	0.000	***
	OTSG 409	3	20.000	0.000	***
	OTS 100	3	5.620	0.132	ns
	OTSG 432	6	20.000	0.003	**
	OTSG 474	1	13.388	0.000	***
	OTSG 249	66	173.400	0.000	***
	Sturruta 12	6	60.000	0.000	***
	Sturruta 58	6	51.250	0.000	***
11	OTSG 83b	6	18.627	0.005	**
	OTSG 3	10	20.817	0.022	*
	omyf	6	20.063	0.003	**
	OTSG 409	1	1.254	0.263	ns
	OTS 100	10	26.703	0.003	**
	OTSG 432	1	16.000	0.000	***
	OTSG 474	1	16.000	0.000	***
	OTSG 249	28	51.230	0.005	**
	Sturruta 12	3	16.000	0.001	**
	Sturruta 58	1	16.000	0.000	***
12	OTSG 83b	15	55.200	0.000	***
	OTSG 3	6	8.889	0.180	ns
	omyf	21	37.800	0.014	*
	OTSG 409	1	13.388	0.000	***
	OTS 100	15	32.321	0.006	**
	OTSG 432	10	20.000	0.029	*
	OTSG 474	1	20.000	0.000	***
	OTSG 249	45	83.800	0.000	***
	Sturruta 12	21	100.000	0.000	***
	Sturruta 58	6	60.000	0.000	***
13	OTSG 83b	10	41.276	0.000	***
	OTSG 3	6	2.222	0.898	ns
	omyf	15	23.491	0.074	ns
	OTSG 409	3	20.000	0.000	***
	OTS 100	15	45.600	0.000	***
	OTSG 432	6	20.000	0.003	**
	OTSG 474	1	16.372	0.000	***
	OTSG 249	55	96.571	0.000	***
	Sturruta 12	15	60.000	0.000	***
	Sturruta 58	6	60.000	0.000	***
14	OTSG 83b	10	26.990	0.003	**
	OTSG 3	10	8.395	0.590	ns

	omyf	10	10.889	0.366	ns
	OTSG 409	6	4.636	0.591	ns
	OTS 100	28	54.830	0.002	**
	OTSG 432	10	36.011	0.000	***
	OTSG 474	1	20.000	0.000	***
	OTSG 249	66	133.500	0.000	***
	Sturruta 12	15	56.364	0.000	***
	Sturruta 58	1	20.000	0.000	***
15	OTSG 83b	28	57.558	0.001	***
	OTSG 3	15	40.940	0.000	***
	omyf	28	95.370	0.000	***
	OTSG 409	6	18.573	0.005	**
	OTS 100	15	37.243	0.001	**
	OTSG 432	6	25.000	0.000	***
	OTSG 474	3	25.000	0.000	***
	OTSG 249	55	147.222	0.000	***
	Sturruta 12	21	125.000	0.000	***
	Sturruta 58	6	62.250	0.000	***
16	OTSG 83b	10	11.181	0.344	ns
	OTSG 3	3	7.870	0.049	*
	omyf	55	86.250	0.005	**
	OTSG 409	3	13.041	0.005	**
	OTS 100	21	20.350	0.499	ns
	OTSG 432	3	18.000	0.000	***
	OTSG 474	1	14.410	0.000	***
	OTSG 249	3	18.000	0.000	***
	Sturruta 12	6	31.846	0.000	***
	Sturruta 58	6	54.000	0.000	***
17	OTSG 83b	21	47.594	0.001	***
	OTSG 3	3	6.269	0.099	ns
	omyf	15	26.370	0.034	*
	OTSG 409	3	7.904	0.048	*
	OTS 100	10	35.795	0.000	***
	OTSG 432	10	23.915	0.008	**
	OTSG 474	1	19.326	0.000	***
	OTSG 249	3	23.000	0.000	***
	Sturruta 12	21	115.000	0.000	***
	Sturruta 58	6	69.000	0.000	***
18	OTSG 83b	3	4.321	0.229	ns
	OTSG 3	3	8.476	0.037	*
	omyf	10	28.933	0.001	**
	OTSG 409	3	10.593	0.014	*
	OTS 100	6	14.000	0.030	*
	OTSG 432	6	14.166	0.028	*
	OTSG 474	1	14.000	0.000	***
	OTSG 249	10	12.444	0.256	ns
	Sturruta 12	3	14.000	0.003	**
	Sturruta 58	1	14.000	0.000	***
19	OTSG 83b	28	96.558	0.000	***
	OTSG 3	3	1.830	0.608	ns

	omyf	10	57.000	0.000	***
	OTSG 409	6	9.538	0.145	ns
	OTS 100	21	73.625	0.000	***
	OTSG 432	10	19.000	0.040	*
	OTSG 474	3	19.000	0.000	***
	OTSG 249	21	41.897	0.004	**
	Sturruta 12	3	19.000	0.000	***
	Sturruta 58	6	57.000	0.000	***
20N	OTSG 83b	28	25.459	0.603	ns
	OTSG 3	6	4.220	0.647	ns
	omyf	3	21.000	0.000	***
	OTSG 409	3	4.751	0.191	ns
	OTS 100	6	31.290	0.000	***
	OTSG 432	10	21.840	0.016	*
	OTSG 474	1	21.000	0.000	***
	OTSG 249	21	54.040	0.000	***
	Sturruta 12	6	63.000	0.000	***
	Sturruta 58	1	11.812	0.001	***
20E	OTSG 83b	10	68.285	0.000	***
	OTSG 3	10	18.402	0.049	*
	omyf	15	75.000	0.000	***
	OTSG 409	1	25.000	0.000	***
	OTS 100	10	24.408	0.007	**
	OTSG 432	3	25.000	0.000	***
	OTSG 474	3	21.302	0.000	***
	OTSG 249	10	75.000	0.000	***
	Sturruta 12	15	75.000	0.000	***
	Sturruta 58	1	25.000	0.000	***
21	OTSG 83b	6	39.000	0.000	***
	OTSG 3	6	27.444	0.000	***
	omyf	10	28.686	0.001	**
	OTSG 409	1	13.000	0.000	***
	OTS 100	21	54.889	0.000	***
	OTSG 432	1	13.000	0.000	***
	OTSG 474	1	13.000	0.000	***
	OTSG 249	10	52.000	0.000	***
	Sturruta 12	21	34.667	0.031	*
	Sturruta 58	1	13.000	0.000	***
22	OTSG 83b	10	32.512	0.000	***
	OTSG 3	3	22.189	0.000	***
	omyf	15	8.772	0.889	ns
	OTSG 409	1	15.000	0.000	***
	OTS 100	6	28.727	0.000	***
	OTSG 432	1	15.000	0.000	***
	OTSG 474	1	15.000	0.000	***
	OTSG 249	10	45.000	0.000	***
	Sturruta 12	10	45.000	0.000	***
	Sturruta 58	1	15.000	0.000	***
23	OTSG 83b	21	77.563	0.000	***
	OTSG 3	1	2.203	0.138	ns

	omyf	15	65.100	0.000	***
	OTSG 409	1	10.596	0.001	**
	OTS 100	10	19.060	0.040	*
	OTSG 432	1	17.000	0.000	***
	OTSG 474	1	17.000	0.000	***
	OTSG 249	15	63.750	0.000	***
	Sturruta 12	15	85.000	0.000	***
	Sturruta 58	6	44.284	0.000	***
24	OTSG 83b	28	86.667	0.000	***
	OTSG 3	6	3.673	0.721	ns
	omyf	15	52.834	0.000	***
	OTSG 409	3	20.000	0.000	***
	OTS 100	6	6.927	0.328	ns
	OTSG 432	1	20.000	0.000	***
	OTSG 474	1	20.000	0.000	***
	OTSG 249	15	60.000	0.000	***
	Sturruta 12	21	46.378	0.001	**
	Sturruta 58	1	5.799	0.016	*

*** اختلاف با احتمال خطای کمتر از ۰/۱ درصد ($P < 0.001$) بسیار معنی دار است. ** اختلاف با احتمال خطای کمتر از ۱ درصد ($P < 0.01$) معنی دار است. * اختلاف با احتمال خطای کمتر از ۵ درصد ($P < 0.05$) معنی دار است. Ns اختلاف با احتمال خطای کمتر از ۵ درصد ($P < 0.05$) غیر معنی دار است.

- فاکتور F_{st} و جریان ژنی

برای تعیین میزان اختلاف ژنتیکی کل موجود در یک زیر جمعیت و مقایسه آن نسبت به اختلاف ژنتیکی کل در بین مناطق هر ناحیه از فاکتورهای F_{st} (برآورد مرسوم در تمایز ژنتیکی) استفاده می‌شود. F_{st} بیشتر شامل اندازه گیری در زیر جمعیت‌ها است و بیشترین کاربرد را در آزمون واگرایی ژنتیکی کل در بین زیر جمعیت‌ها دارد. فاکتور F_{st} با میزان جریان ژنی (Nm) یا تعداد مهاجرت موثر میان جمعیت‌ها بطور مستقیم یا غیر مستقیم ارتباط دارند. میزان جریان ژنی (Nm) به تعداد مولدین مهاجر از یک منطقه به منطقه دیگر در طی یک نسل اطلاق می‌شود. هر چه میزان جریان ژنی (Nm) بین دو منطقه بیشتر باشد بیانگر آن است که مهاجرت بین مناطق بیشتر بوده و اختلاف ژنتیکی کمتر است.

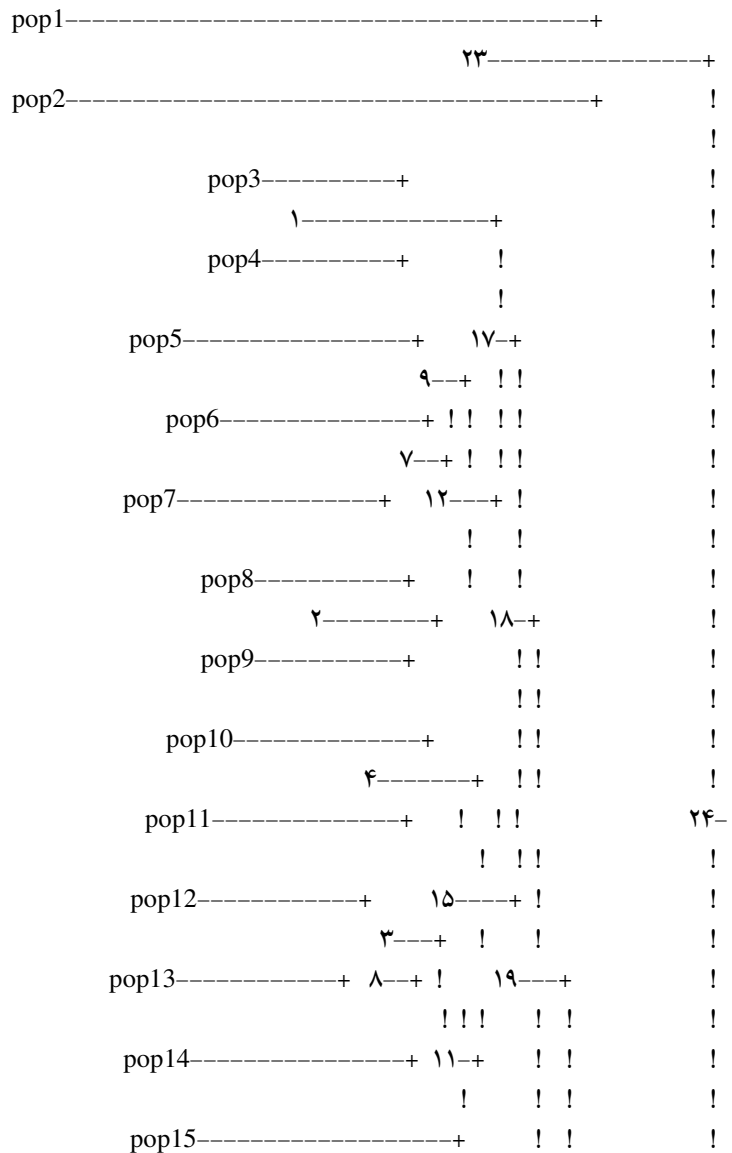
جدول ۳۲ و ۳۳ (ضمائم) میزان F_{st} محاسبه شده برای مزارع مختلف نمونه برداری شده به همراه میزان جریان ژنی (Nm) یا تعداد مهاجرت موثر میان جمعیت‌ها را بر اساس تست AMOVA نشان می‌دهند. نتایج بدست آمده از F_{st} نشان می‌دهد که حداکثر آن (۰/۲۴) بین نمونه‌های مزرعه ۱۱ و ۱ که دارای کمترین میزان جریان ژنی (۳/۷) است مشاهده می‌شود. حداقل F_{st} (۰/۰۴) بین نمونه‌های مزرعه ۸ و ۹ که دارای بیشترین میزان جریان ژنی (۳۴۶) است مشاهده می‌شود. براساس نتایج حاصل از تست AMOVA بین تمام مزارع با یکدیگر اختلاف معنی دار مشاهده می‌شود ($P < 0.01$).

شبهات و فواصل ژنتیکی

ماتریس فواصل و شبهات ژنتیکی با استفاده از معیار فاصله ژنتیکی (Nei (1972) بوسیله نرم افزار GeneAlex و (Nei (1978) بوسیله نرم افزار PopGen محاسبه شده و در جداول ۷ و ۸ آمده است. همانطوریکه در جدول ۳۲ ملاحظه می شود بر اساس معیار (Nei (1972) بیشترین فاصله ژنتیکی (۰/۸۹) بین نمونه های مزرعه ۲ با ۱۱ و کمترین شبهات ژنتیکی (۰/۱۵) میان نمونه های مزارع ۳ با ۴ وجود دارد.

دندروگرام فاصله ژنتیکی (درخت فیلوژنی)

شکل ۲ فاصله ژنتیکی حاصل از معیارهای (Nei (1972, 1978), Rogers (1972), Wright (1978) و Reynolds *et al.*, (1983) که با استفاده از روش جفت گروهی غیر وزنی از طریق میانگین حسابی (UPGMA) با کمک نرم افزار Popgene, با ۱۰۰۰ بار تکرار ترسیم گردیده است را نشان می دهد.



		!	!	!
pop16-----+		!	!	!
	۶-----+	!	!	!
pop17-----+		!	!	!
	۱۶---+ ۲۱---+			!
pop20E-----+		!	!	!
	۵-----+	!	!	!
pop21-----+		!	!	!
		!	!	!
pop18-----+		!	!	!
	۱۰---+	!	!	!
pop19-----+	۱۴-----+	!	۲۲-----+	!
		!	!!!	!
pop20N-----+		۲۰---+	!	!
		!	!	!
pop23-----+		!	!	!
	۱۳-----+			!
pop24-----+				!
				!
pop22-----+				!

۴- بحث و نتیجه گیری

کاهش در ذخایر ژنتیکی جمعیت‌های ماهیان یکی از مشکلات مهم مدیریت شیلاتی محسوب می شود. امروزه تنوع ژنتیکی بسیاری از جوامع ماهیان تغییر پیدا کرده است (Ferguson, 1995). فعالیتهای انسانی تا حدی ساختار جمعیتها را تغییر می دهند که حتی از طریق افزایش تکثیر مصنوعی سبب یکسان سازی ژنتیکی می شوند (Zhao et al., 2005). نگرانی در مورد کاهش ذخایر ژنتیکی ماهیان بخشی از نگرانی جهانی بزرگتر در رابطه با کاهش ذخایر ژنتیکی زیست کره است. از این رو مطالعات مربوط به ژنتیک مولکولی ماهیان به منظور مدیریت پایدار ذخایر شیلاتی امری اجتناب ناپذیر است (Park and Moran, 1995). امروزه کاربرد نشانگرهای مولکولی منجر به پیشرفت سریع در مطالعات مربوط به تشخیص تنوع ژنتیکی و آمیزش درون گونه ای، تعیین والدین، تشخیص گونه و نژادها و بازسازی نقشه های دقیق خویشاوندی برای گونه های آبریان شده است (Liu and Cordes, 2004). در سالهای اخیر، استفاده از DNA هسته کاربرد وسیعی برای بیولوژی جمعیت پیدا کرده است. اولین بار Jeffreys و همکاران (۱۹۸۵) با مطالعات خود اثبات نمودند که توالی هایی از رشته DNA وجود دارند که به صورت تکرار بر روی توالی DNA مشاهده می شوند و از تنوع بسیار بالایی در بین افراد مختلف برخوردار می باشند. از این رو برای دستیابی به یک نتیجه بهتر و دقیق تر در مطالعات ژنتیک جمعیتها، استفاده از لوکوس های DNA هسته ای از اهمیت بالایی برخوردار است (Rezvani Gilkolaei, 1997). بعدها با تکامل و توسعه روش فوق و ابداع روشهای Minisatellite و Microsatellite مشخص گردید که روشهای فوق اطلاعات بسیار مفیدی در خصوص تنوع ژنتیکی آبریان فراهم می نمایند (Bentzen et al., 1991). میکروستلایت ها از جمله مهمترین نشانگرهای مولکولی هستند که به طور گسترده ای در ژنوم موجودات زنده پراکنده شده اند (Chistiakov et al., 2006). میکروستلایت ها به دلیل داشتن سطوح بالای پلی مورفیسم، اندازه نسبتاً کوچک و روشهای تشخیصی سریع به طور گسترده ای برای مطالعه اختلافات ژنتیکی بین جمعیت‌های نزدیک به هم (Gerlach et al., 2001)، تشخیص ذخایر ژنتیکی، انتخاب مولدین، بازسازی نقشه های خویشاوندی متراکم، تعیین نقشه ژنی صفات مهم اقتصادی جهت استفاده از آنها در برنامه های تولید مثلی به کار می روند (Chistiakov et al., 2006). با توجه به دلایل فوق، طی چند سال اخیر روش مطالعه Microsatellite یکی از مناسب ترین روشهای مطالعه مارکرهای مولکولی با دامنه کاربرد بسیار وسیع در انواع موجودات شناخته شده است. برخورداری از درصد پلی مورفیسم بالا و ساده بودن روش شمارش باندهای DNA دو دلیل اصلی شناخته شده برتری روش میکروستلایت نسبت به سایر روش های مولکولی اعلام گردیده است به طوری که طی سالهای ۲۰۰۱-۲۰۰۰ بیش از ۳۰۲ گزارش فقط برای روش جداسازی میکروستلایت در موجودات مختلف مشاهده گردید (Zane et al., 2002). این امر بیانگر آن است که روش میکروستلایت دامنه کاربرد وسیعی در مطالعات ژنتیک مولکولی داشته و دقت و سرعت آن به مراتب بیشتر از سایر روشهای مولکولی متداول بوده است (Carvalho and Pitcher, 1994). در این بررسی ده پرایمر میکروستلایت به کار برده شد که هشت تا از آنها پلی مورفیک از خود نشان دادند و این نشانگر در مطالعه تنوع

ژنتیکی قزل آلائی پرورشی مناسب بوده است. هر چند با استفاده از لوکوسهای بیشتر که در سالهای اخیر از قزل آلائی رنگین کمان معرفی شده است نیز می توان در بررسی های آینده استفاده نمود.

با وجود اینکه برای پدیدار شدن پتانسیل ذخایر ماهیان، وجود محیطی مناسب در کارگاه الزامی است اما باید توجه داشت که پتانسیل بیولوژیکی هر جمعیت، در حقیقت به اللهای موجود در آن جمعیت بستگی دارد. آگاهی از روشهای قابل استفاده جهت اعمال مدیریت، محافظت، یا بهره برداری از اللهای برای مدیران کارگاه تکثیر الزامی است. باید پی برد که اعمال مدیریت ژنتیکی چگونه می تواند بر توان تولید موثر باشد، زیرا هرگونه اعمال مدیریت، خزانه ژنتیکی یک جمعیت را متاثر می سازد و معمولاً هرگاه ماهیان دستکاری شوند برخی از فنوتیپها و اللهای حذف می گردند. برای تهیه جمعیت پایه از یک مرکز یا از مراکز دیگر باید هنگام تهیه ماهیان مولد، شجره نامه آنها را معین نمود و همچنین مشخص گردد که برای تولید یک جمعیت پایه، از چه تعداد ماهی مولد استفاده شده است. تهیه ماهیان مولد، مهمترین مرحله مدیریت در یک جمعیت است زیرا مقدار تنوع ژنتیکی موجود در ابتدای کار و نیز توان بیولوژیکی جمعیت در آینده به وسیله جمعیت پایه مشخص می شود. اگر چنین تنوع و توانی موجود نباشد، دیگر اعمال مدیریت و بهره برداری از آن بی معنی خواهد بود. اطلاع از تنوع ژنتیکی جهت حفاظت و تنظیم برنامه های اصلاحی ماهیها لازم است. با توجه به نتایج حاصله می توان به صراحت عنوان نمود تمام مزارع پرورشی از تنوع ژنتیکی بالایی برخوردارند و میزان هتروزیگوسیتی بالا مویده این مطلب است به طوریکه دامنه هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Ho) بین مزرعه نمونه برداری در جایگاههای ده گانه بین ۰.۸۲۵ تا ۰.۹۶۴ با میانگین ۰/۹۳۸ بود. از طرفی محاسبه ضرایب افت هتروزیگوسیتی نشان می دهد که در تمام مناطق نمونه برداری و در تمامی جایگاهها کاهش هتروزیگوسیتی یا به عبارت دیگر کم بودن مقادیر He نسبت به Ho وجود دارد. این مسئله در مورد ماهیان پرورشی در موارد بسیاری گفته می شود. برخی محققان تنوع ژنتیکی بالایی از جمعیتهای پرورشی قزل آلا را در مقایسه با جمعیتهای طبیعی گزارش نمودند (Busack et al., 1979; Guyomard, 1981). Busack و همکاران (۱۹۷۹) عنوان نمود که حفظ سطوح بالای تنوع ژنتیکی در جمعیتهای پرورشی قزل آلا در نتیجه اختلاط بین نژادها یا در نتیجه تعادل انتخاب طبیعی بدنال تنگنای جمعیتی و انتخاب مصنوعی صورت پذیرفته است. Guyomard (۱۹۸۱) دلیل اختلاط جمعیتهای طبیعی و ایجاد یک نژاد جدید و یا به احتمالاً ماهیان پرورشی از اجداد نژادهای طبیعی با تنوع بالا بوده باشند، را پیشنهاد داد. Thompson (۱۹۸۵) همچنین تنوع ژنتیکی بالایی را در مزارع پرورشی مختلف در بریتانیا نشان داد و در ادامه بیان نمود نژادهای مختلفی از جمعیتهای طبیعی بوجود آمده اند که خصوصیات ژنتیکی متفاوتی دارند. Jug و همکاران در سال ۲۰۰۵ مطالعه ای در پراکنش جمعیتهای غیر بومی قزل آلا در اسلونی و سایر ورودی ها با جمعیتهای بومی مشاهده شده قزل آلا (*Salmo marmoratus*) در دریاچه آدریاتیک و (*S. trutta*) در دریاچه دانوب با استفاده از آنالیز میکروستلایت انجام دادند. در بررسی آنها به کمک پنج لوکوس میکروستلایت توانستند نژادهای غیر بومی انتشار یافته و ورود آنها به جمعیتهای بومی قزل آلا را تشخیص دهند و اعلام کردند که جمعیتهای بومی در

معرض خطر قرار دارند. دامنه آلی ۱/۲ الی ۸/۲، هتروزایگوسیتی قابل انتظار ۰/۰۶ الی ۰/۷۲ و دامنه هتروزایگوسیتی مشاهده شده ۰/۱۲ الی ۰/۶۵ محاسبه گردید که این شاخصها نسبت به مطالعه حاضر کاهش را نشان می دهند. از دست رفتن تنوع ژنتیکی درون جمعیتی دارای چندین علت است که مهمترین علت آنها انحراف ژنتیکی در حین نمونه گیری از سلولای جنسی در جمعیتهای محدود می باشد. از دست رفتن تنوع ژنتیکی در اثر انحراف ژنتیکی با سرعتی رخ می دهد که این سرعت با اندازه موثر جمعیت رابطه عکس دارد. معمولا در یک جامعه محدود افراد خویشاوند با هم آمیزش داشته و باعث از دست رفتن تنوع و کاهش سازگاری و شایستگی می شود.

به طور کلی مدیریت تنوع ژنتیکی در موجودات، نیازمند ارزیابی ساختار ژنتیکی و تفکیک ذخایر گونه مورد نظر است (Pujolar et al., 2009). در هر حال باید توجه داشت که جنبه های ژنتیکی مدیریت ذخایر ماهیان مولد، باید به عنوان یک بخش مستقل در مدیریت کارگاه گنجانده شود. زیرا اللهای موجود در یک جمعیت، پتانسیل آن جمعیت را تعیین مینمایند و اگر به پتانسیل یک جمعیت خسارت وارد آید، دستیابی به ظرفیت نهایی تولید دچار اشکال خواهد شد. اما اگر این پتانسیل مورد مدیریت و بهره برداری مناسب قرار گیرد، میزان تولید از ظرفیت تعیین شده نیز فراتر خواهد رفت.

در منابع مختلفی آورده شده است که تنوع ژنتیکی و محیطی در جمعیتهای طبیعی قزل آلا در فصول تخم ریزی بالاست. در بیشتر موارد، از تنوع بالا تحت تاثیر فعالیتهای کارگاهی کاسته می شود. این فعالیتهای بدلیل توجیه اقتصادی و افزایش تولید می باشد و در حال حاضر انگیزه زیادی برای افزایش طول دوره تولید مثلی ماهیان پرورشی صورت پذیرد. بدلیل طول دوره تولید مثلی بالای این گونه آزاد ماهی ممکن است نژاد های مصنوعی جدیدی از جمعیتهای طبیعی حاصل شود. به عنوان مثال یک هجری در سال ۱۹۷۵ در کانادا با ۲۵ جفت مولد شروع به کار نمود و در ادامه با استفاده مدام انتخاب فنوتیپی منجر به افزایش طول دوره تولید مثلی از ۲ هفته به ۸ ماه شد (Fishback et al., 2000). Ward و همکاران (۲۰۰۳) تنوع ژنتیکی بین و درون نژادهای قزل آلی رنگین کمان را در استرالیا (با استفاده از ۱۰ لوکوس میکروستلایت بررسی نمودند. تنوع ژنتیکی بالایی در همه لوکوسها در ۴ جمعیت پرورش قزل آلا نشان داده شد و کاهش تنوع نسبت به اجداد آنها در آمریکای شمالی را بدلیل رانش ژنتیکی عنوان نمود. همچنین Meffe (۱۹۸۷) بیان نمود تنوع ژنتیکی پایین در فعالیتهای آبری پروری چنانچه نژادها به محیط مزرعه سازگاری پیدا می کنند مخرب نیست. اگر جایگزینی برای مولدین کم باشد ممکن است باعث حذف ژنهایی شود که در ارتباط با سازگاری با محیط و عملکرد ماهی هستند. از دست دادن بخشی از تنوع ژنتیکی در فعالیتهای آبری پروری ناگزیر خواهد بود ولی می توان این کاهش را با تغییرات مناسب و بکارگیری روشهای مناسب اصلاح نژادی به حداقل رساند. در بررسی دیگری Beacham و همکاران در سال ۲۰۰۴ ساختار جمعیت دو نوع دریاچه ای و رودخانه ای سوکی سالمون (*Oncorhynchus nerka*) را در ۴۷ جمعیت رودخانه های شمال بریتیش کلمبیا با استفاده از ۱۴ لوکوس میکروستلایت بررسی کردند. نتایج

به طور واضح اختلاف ژنتیکی بین جمعیت‌های نوع رودخانه ای با نوع دریاچه ای را نشان داد و ماهی آزاد رودخانه تنوع ژنتیکی بیشتری از نوع دریاچه ای داشت. به طوریکه میانگین آللهای مشاهده شده در هر لوکوس و هتروزایگوسیتی قابل انتظار به ترتیب در رودخانه ۱۲/۷ و ۰/۷۲ و در دریاچه ۱۰/۵ و ۰/۶۵ بود. به مطالعات Blanchet و همکاران (۲۰۰۸) بر روی ماهی آزاد اقیانوس اطلس (*Salmo salar*) نشان داد که با وجود فواید بالقوه در تکثیر مصنوعی، تغییرات مورفولوژیکی و ژنتیکی بارزی در میان نمونه های تکثیر مصنوعی و وحشی دیده می شود و این روش در طولانی مدت ممکن است به کاهش تنوع ژنتیکی درون جمعیتی ذخایر ژنی بومی منجر شود (Machado- Schiaffino et al., 2007).

عواملی نظیر درون آمیزی را می شود با نگهداری تعداد زیادی از مولدین (اندازه بالای N_e) کنترل نمود. منابع مختلف علمی بیان می دارند که تهیه ماهیان مولد از یک جمعیت کم مناسب نمی باشد و بسیاری از کارگاههای تکثیر معمولاً کار خود را با جمعیتی از ماهیان آغاز میکنند که حاصل یک آمیزش می باشد که این امر باعث کاهش واریانس ژنتیکی در چنین جمعیتی می شود و وقوع همخونی و پیشامد ژنتیکی در آینده دستیابی به ظرفیت نهایی تولید را دشوار خواهد ساخت. مراکزی که روی جمعیت‌های کوچک ماهیان اعمال مدیریت می کنند، در صورتی که از آمیزش تصادفی استفاده نمایند، نخواهند توانست از وقوع افت تولید ناشی از همخونی، و یا کاهش واریانس ژنتیکی جمعیت در اثر پیشامد ژنتیکی جلوگیری کنند و در صورت کاهش تولید باید ذخیره جدیدی از ماهیان مولد جهت تجدید یا جایگزینی خزانه ژنی وارد نمایند. بنابراین، شاید بتوان از وقوع غیر عمدی همخونی و پیشامد ژنتیکی، که ناشی از کوچک بودن جمعیت ماهیان موجود در کارگاههای تکثیر می باشد به عنوان یکی از عوامل اصلی کاهش توان تولید و افزایش هزینه دستیابی به ظرفیت تولید نام برد. از مهمترین مشکلات مراکز تکثیر ماهیها کاهش تنوع و افزایش همخونی بوده و از آنجایی که همخونی باعث کاهش عملکرد اکثر صفات بویژه صفات تولید مثلی (بعلت وراثت پذیری پایین این صفات) می شود، جلوگیری از افزایش همخونی جهت حفظ تنوع در مراکز تکثیر امری ضروری می باشد.

یکی از روشهای مناسب برای حفظ تنوع ژنتیکی جمع آوری اسپرم از نرها در طول فصل تولید مثلی یک نژاد است و بایستی پارامترهای مختلف کیفی بررسی و در نیتروژن مایع ذخیره سازی گردد. تلاقی ها در فصل بعدی با استفاده از ماده هایی صورت پذیرد که از تحت تاثیر رژیم نوری قرار گرفته اند. مرکز تحقیقات ژنتیک و اصلاح نژاد یاسوج در حال حاضر طرحهایی را برای اجرایی نمودن رژیم های مختلف نوری در دست اقدام دارد. این روش با بکارگیری مزایای تولید مثلی، باعث افزایش تنوع ژنتیکی می شود (Guillespie, 1998).

مطالعه تنوع ژنتیکی حاضر نشان داد که مزارع پرورشی موجود در کشور از تنوع بالایی برخوردار بودند. از دلایل این تنوع بالا می توان به این مسئله اشاره نمود که ممکن است این مزارع از مخلوطی از نژادهای مختلف از مراکز پرورشی مختلف استفاده می کنند. خصوصیات ژنتیکی مزارع پرورشی موجود در کشور نشان از این نکته دارد که این نژادها می توانند در یک برنامه اصلاح نژاد وارد شوند و در پایان برنامه بهترین مزارع را

بر اساس داشتن یک صفت یا صفاتی خاص معرفی نمود که در ادامه نژادی مصنوعی ایجاد شده که جمعیت پایه یک برنامه اصلاح نژاد را تشکیل دهد.

به نظر می رسد جمعیت های مورد استفاده در این بررسی تنوع مناسبی داشته است و بنابراین نماینده مناسبی برای معرفی به یک برنامه اصلاح نژادی هستند. این جمعیت ها این قابلیت را دارند که به عنوان ذخیره ژنتیک مناسب استفاده شود و تقریباً از نظر ژنتیکی متفاوت هستند. به عنوان مثال مرکز تحقیقات ژنتیک یاسوج سالانه حدود یازده میلیون تخم چشم زده تولید می نماید و جمعیت بزرگی از مولدین ماده در حدود ۶۳۰۰ را برای تولید تخم نگهداری می کند. این مسئله می تواند به حفظ تنوع ژنتیکی بالا کمک نموده و در نتیجه باعث افزایش اندازه جمعیت موثر شود. چنانچه جایگزینی مولدین به صورت کنترل شده و با مدیریت جفتگیری افراد ناتی صورت پذیرد می توان اندازه جمعیت موثر را افزایش داد. لازم است عنوان شود که در سالهای اخیر مدیریت ذخایر موجود در مرکز تحقیقات یاسوج در کنار مولد سازی متمرکز بر افزایش راندمان تولید تخم چشم زده برای پاسخ به نیازهای مراکز تولیدی بالغ بر ۲۰ مرکز پرورشی در استانهای مختلف کشور می باشد. در حال حاضر سعی بر این است تا با افزایش طول دوره تولید مثلی ماهیان مولد و تولید تخم چشم زده نیاز مراکز تولیدی را مرتفع نمایند.

۵- نتیجه گیری

۸ مورد از لوکوس های مورد استفاده در این بررسی پلی مورفیک بودند
تنوع ژنتیکی علی رغم مدیریت مختلف هجری ها و نگهداری ماهیان، در بین نمونه ها وجود داشت.
بر اساس مطالعه ژنتیکی تنوع دو جمعیت مورد مطالعه قابل ملاحظه بوده ، هرچند بدلیل عدم ثبت نمونه ها و نبود
شناسنامه برای ماهیان پاسخ مشخصی نمی توان به اختلاف موجود داد.
از مولدین بدلیل تنوع ژنتیکی بالا می توان در یک برنامه اصلاح نژاد استفاده نمود و با یک برنامه تلاقی مناسب
از کاهش همخوانی جلوگیری نمود.

تصمیم گیری در مورد اینکه کدام نژادها باید حفظ شوند، بایستی بر اساس ملاکهای مورد نظر و با در نظر گرفتن
کاربرد فعلی و منظور نمودن حفظ حداکثر تنوع ژنتیکی در مخزن ژنی هر گونه صورت گیرد. این امر برای آن
است که در توسعه پایدار سیستمهای تولیدی برای نیازهای پیش بینی نشده آتی منظور شوند (Templeton, 2004).
با حفظ نمونههایی از تمامی نژادهای یک گونه که دارای بیشترین تفاوت ژنتیکی می باشند، می توان حداکثر
تنوع ژنتیکی را حفظ نمود. این نمونهها نژادهایی را شامل می گردند که دارای آللهای یا ترکیبات آللی منحصر به
فرد می باشند. شرح کامل تفاوت ژنتیکی بین هر نژادی امکان پذیر نیست ولی معیارهای فاصله ژنتیکی بهترین
شرح در دسترس برای بیان تفاوت ژنتیکی آنها می باشند. معیارهای فاصله ژنتیکی متعددی پیشنهاد شده اند ولی
همه آنها به دادههای مربوط به فراوانی آللی نیازمندند (Templeton, 2004). در تصمیم گیری نهایی برای انتخاب
نژادها باید هر نوع اطلاعات در دسترس راجع به صفات دارای ارزش اقتصادی، ویژگیهای سازگاری خاص،
حضور ژنها یا فنوتیپهای منحصر به فرد، اهمیت محلی یا منطقه ای یک نژاد در سیستمهای تولیدی و قابلیت
دسترسی به منابع و زیر ساختها در منطقه استقرار نژاد در نظر گرفته شود (Templeton, 2004).

پیشنهادها

• ثبت اطلاعات شجره ای مزارع قزل آرای پرورشی در کشور

هنگام تشکیل جمعیت پایه، باید اطمینان حاصل شود که در زمان نمونه برداری از ماهیان، مقدار ضریب تولید مثل موثر کاهش نمی یابد. زیرا در غیر اینصورت مقداری از واریانس ژنتیکی حذف خواهد شد. اگر جمعیت پایه از یک کارگاه دیگر تهیه می گردد باید اطمینان حاصل شود که نسلی که این ماهیان را تولید نموده است مقدار ضریب تولید مثل موثر بزرگی داشته است. به همین خاطر باید برای تشکیل یک جمعیت پایه ماهیان را از یک محدوده جغرافیایی وسیع جمع آوری نمود و اگر ماهیان فقط از یک محل جمع آوری شوند امکان دارد که تعداد زیادی از آنها با هم خویشاوند باشند و این باعث می شود که مقدار ضریب تولید مثل موثر از مقدار متصور کمتر گردد. مراکزی که روی جمعیت های کوچک ماهیان اعمال مدیریت می کنند، در صورتی که از آمیزش تصادفی استفاده نمایند، نخواهند توانست از وقوع افت تولید ناشی از همخونی، و یا کاهش واریانس ژنتیکی جمعیت در اثر پیشامد ژنتیکی جلوگیری کنند و در صورت کاهش تولید باید ذخیره جدیدی از ماهیان مولد جهت تجدید یا جایگزینی خزانه ژنی وارد نمایند. بنابراین، شاید بتوان از وقوع غیر عمدی همخونی و پیشامد ژنتیکی، که ناشی از کوچک بودن جمعیت ماهیان موجود در کارگاه های تکثیر می باشد به عنوان یکی از عوامل اصلی کاهش توان تولید و افزایش هزینه دستیابی به ظرفیت تولید نام برد. از بین رفتن سهوی واریانس ژنتیکی می تواند برای یک جمعیت ویرانگر باشد زیرا فقدان آن جبران پذیر نیست و از بین رفتن واریانس ژنتیکی می تواند توان تولید را کاهش و ناهنجاری های تکاملی را افزایش دهد وقوع این حالت می تواند پیشرفت آینده جمعیت بوسیله بهگزینی را نیز دچار اشکال نماید. از مهمترین مشکلات مراکز تکثیر ماهیها کاهش تنوع و افزایش همخونی می باشد. از آنجایی که همخونی باعث کاهش عملکرد اکثر صفات بویژه صفات تولید مثلی (بعثت وراثت پذیری پایین این صفات) می شود بنابراین جلوگیری از افزایش همخونی جهت حفظ تنوع در مراکز تکثیر امری ضروری می باشد

مقایسه سطوح تنوع در سالهای مختلف و ارزیابی حفظ تنوع ژنتیکی جمعیت های مختلف، با توجه به اینکه تکثیر مصنوعی هتروزیگوسیتی را می تواند کاهش دهد.

بکارگیری دیگر روش های مطالعات تنوع ژنتیکی نظیر توالی یابی و SNP و مقایسه با مطالعه حاضر

منابع

- تاو، د. ۱۳۷۴. مبانی ژنتیک و اصلاح نژاد ماهیان، ترجمه فرهاد امینی، انتشارات وزارت فرهنگ و ارشاد اسلامی، تهران، ۳۳۴ ص.
- سعادت، ل.، ۱۳۸۰، بررسی میزان رشد و درصد بازماندگی بچه ماهیان نوس قره برون *Acipenser persicus* تغذیه شده با آرتمیا، دافنی و کرم سفید. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، دانشکده علوم و فنون دریایی.
- نفیسی بهابادی، م. ۱۳۸۹. راهنمای عملی پرورش ماهی قزل آلاهی رنگین کمان (*Rainbow trout*). دانشگاه هرمزگان، ۳۶۶ ص.
- یاراحمدی، ب. مقدسی، ف. و سیاوشی، ر. ۱۳۸۴، استفاده از سیستم پوسته زدایی شده آرتمیا در تغذیه لارو قزل آلاهی رنگین کمان، مجله علمی پژوهشی و سازندگی در امور دام و آبزیان، شماره ۷۳، ۴۹ تا ۵۸.

- Adams, B. K., Hutchings, A. 2003. Microgeographic population structure of brook charr: a comparison of microsatellite and mark-recapture data. *Journal of Fish Biology*. 62:517-533.
- Angers, B., Bernatchez, L., Angers, A., Desgroseilles, L. 1995. Specific microsatellite loci for brook charr reveal strong population subdivision on a microgeographic scale. *Journal of Fish Biology*. 47. (Supplement A). 177-185.
- Allendorf, F. and Ryman, F. (1987). Genetic Management of Hatchery stocks. En N. a. Ryman, Population genetic and fishery management (pages. 141-143). Seattle: University of Washington Press.
- Aulstad, D. and Kittlesen, A. 1971. Abnormal body curvatures of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) inbred fry. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*. 28:1918-1920.
- Banks, M. A., Rashbrook, V. K., Calavetta, M. J., Dean, C. A. and Hedgecock, D. 2000. Analysis of microsatellite DNA resolves genetic structure and diversity of Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) in Californian's central valet. 915-927.
- Beacham, T. D., Dempson, J. B. 1998. Population structure of Atlantic salmon from the conne River, Newfoundland as determined from microsatellite DNA. *Journal of Fish Biology*. 52. 665-676
- Beacham, T. D., Mcintosh, B., Macconnachie, C. 2002. Microsatellite identification of individual sockeye salmon in Barkley Sound, British Colombia. *Journal of Fish Biology*. 61.1021-1032.
- Beacham, T. D., Mcintosh, B., Macconnachie, C. 2004. Microsatellite identification of individual sockeye salmon in Barkley Sound, British Colombia. *Journal of Fish Biology*. 61. 1021-1032
- Bilington, N., & P.D. N. Hebert. 1991. mitochondrial DNA diversity in fishes and its implications for introductions. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 48 (supplement 1): 80-94.
- Bilington, N. 1998. Genetic variation in percids determined by mitochondrial DNA analysis. *Italian Journal of zoology* 65(supplement): 35-40.
- Briky, C. W., P. Fuerst, and T. Maruyama. 1989. Organelle gene diversity under migration, and drift: equilibrium expectations approach to equilibrium, effects of hetroplasmic cells, and comparison to nuclear genes. *Genetics* 121: 613-627.
- Briky, C. W. 1991. Evolution and Population genetics of organelle genes: mechanisms and models. Pages 112-134 in R. K. Selander, A. G. Clark, and T. S. Whittam, editors. *Evolutipon at the molecular level*. Sinauer, Sunderland, Massachusetts.
- Brown, B. L., and R. W Chapman. 1991. Gene flow and mitochondrial DNA variation in the killifish, *Fundulus hetroclitus*. *Evolution* 45: 1147- 1161.
- Ellegren, H., 2000. Microsatellite mutation in the germ line. *Trends Genet*. 16, 551-558.
- Busack, C. Halliburton, R. and Gall, G. (1979). Electrophoretic variation and differentiation in four strains of domesticated trout (*Salmo gairdneri*). *Can. J. Genet. Cytol.*, 21, 81-94.
- Chakraborty, R. and Nei, M. 1977 Bottleneck effects on average heterozygosity and genetic distance with stepwise mutation models. *Evolution* 31: 347-356
- Cross, T. and King, J. (1983). Genetic effects of hatchery rearing in Atlantic salmon. *Aquaculture*, 33, 33-40.
- Falconer, D. and Mackay T. (1996). *Introduction to Quantitative Genetics*. Essex, UK: Prentice-Hall.

- 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.
- Guyomard, R. (1981). Electrophoretic variation in four French populations of domesticated rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Can. J. Genet. Cytol.* , 23, 33-47.
- Hansen, M. Nielsen, E. Ruzzante, D. Bouza, C. and Mensberg, K. (2000). Genetic monitoring of supportive breeding in brown trout (*Salmo trutta L.*) using microsatellite DNA markers. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* , 57, 2130-2139.
- Hansen, M., 2004. Application of Molecular Markers in Population and Conservation Genetics, With Special Emphasis on Fishes. MSc thesis, 100pp. Submitted to the Faculty of Natural Sciences, University of Aarhus
- Hillis, D. M., Moritz, C., 1990. *Molecular taxonomy*. Sinauer associate, Inc. Publishers. Massachusetts.
- Horreo, J. L. G. Machado-Schiaffino., 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, 89-93
- Kincaid, H. (1980). *Fish Breeding Manual*. Kearneysville: U.S. Fish and Wildlife Service National Fisheries Center.
- Koljonen, M. L. (1989). Electrophoretically detectable genetic variation in natural and hatchery stocks of Atlantic salmon in Finland. *Hereditas* , 110, 23-35.
- Kincaid, H.L. 1983. Inbreeding in fish populations used in aquaculture. *Aquaculture* 33: 215-227.
- Kincaid, H.L. 1995. An evaluation of Inbreeding and effective population size in salmonid broodstocks in federal and state hatcheries. Pages 193-204 in Schramm and Piper (1995).
- Jeffery, W.R., 1985. Identification of proteins and mRNAs in isolated yellow crescents of ascidian eggs. *Journal of embryology and experimental morphology* 89, 275-287.
- Jones, M. Danzmann, R. and Clay, D. (1997). Genetic relationships among populations of wild resident, and wild and hatchery anadromous brook charr. *Journal of Fish Biology* , 51, 29-40.
- Jug, T.; Berrebi, P. and Snoj, A., 2005. Distribution of non-native trout in Slovenia and their introgression with native trout population as observed through microsatellite DNA analysis. *Biological Conservation*. 123, 381-388.
- Martin, A. P., R. Humphreys, and S. R. Palumbi. 1992a. Population genetic structure of the armorhead, *Pseudopentaceros wheeleri*, in the North Pacific Ocean: application of the polymerase chain reaction to fisheries problems. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 49 : 2386-2391.
- Meffe, G. (1987). Conserving fish genomes: philosophies and practices. *Environ. Biol. Fishes.* , 18, 3-9.
- Nei, M. 1972. Genetic distance between populations. *American Naturalist* 106(949): 283-292.
- Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89: 583-590.
- Norris, A.T. Bradley, D.G. and Cunningham, P. (1999). Microsatellite genetic variation between and within farmed and wild Atlantic salmon *Salmo salar* Populations. *Aquaculture* 180, 247-264
- O'Reilly, P., Wright, J. M. 1995. The evolving technology of DNA fingerprinting and its application to fisheries and aquaculture. *Journal of Fish Biology*. 47 (Supplement A) 29-55
- O'Connell, M., D. O. F. Skibinski, and J. A. Beardmore. 1995. Mitochondrial DNA and allozyme variation in Atlantic salmon (*Salmo salar*) population in Wales. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 52: 171-178
- Peakall, M., Smouse, A., 2005. *Gene Alex 6: Genetic Analysis in Excel*. Population genetic software for teaching and research. The Australian national university, Canberra, Australia.
- Pérez, L. Winkler, F. Díaz, N. Cárcamo, C. Silva, N. (2001). Genetic variability in four hatchery strains of coho salmon, *Oncorhynchus kisutch* (Walbaum), in Chile. *Aquaculture Research* , 32, 41-46.
- Pujolar, J.M., Maes, G.E., Vancoillie, C. and Volckaert, F.A.M. 2005. Growth rate correlates to individual heterozygosity in the European eel, *Anguilla anguilla* L. *Evolution*. 59, 189-199.
- Rassmann, K., Arnold, W. and Tautz, D. 1994. Low genetic variability in a natural alpine marmot population (*Marmota marmota*, Sciuridae) revealed by DNA fingerprinting. *Mol. Ecol.* 3:347-353.
- Rico, C., Ibrahim, K. M., Rico, I., Hewitt, G. M. 1997. Stock composition in North Atlantic population of whiting using microsatellite markers. *Journal of Fish Biology*. 51. 462-475
- 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.
- Ryman, N. and Stahl, G. (1980). Genetic changes in hatchery stocks of brown trout (*Salmo trutta*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* , 37, 82-87.

- Simon, R. C., J. D. McIntyre, and R.A Hemmingsen. 1986. Family size and effective population size in a hatchery stock of coho salmon (*Onchorhynchus kisutch*). Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 43: 2434- 2442.
- Skaala, Q.; Hoyheim, B.; Glover, K. and Dahlea, G. 2004. Microsatellite analysis in domesticated and Wild Atlantic salmon (*Salmo salar* L.): allelic diversity and identification of individuals. Aquaculture. 240, 131-143.
- Su G-S, Liljedahl L-E, and Gall GAE, 1996. Genetic and environmental variation in body weight in rainbow trout. *Aquaculture*. 142, (3-4)71-80.
- Shaw, P. W., Turan, C., Wright, J. M., O'Connell, M., Carvalho, G. R. 1999. Microsatellite, DNA analysis of population structure in Atlantic herring (*Clupea harengus*), with direct comparison to allozyme and mtDNA RFLP analysis. *Heredity* 83:490-499.
- Silverstein, J.T., Rexroad, C. E., & T. L. King. 2004. Genetic variation measured by microsatellites among three strains of domesticated rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum). *Aquaculture Research*, 2004, 35,40-48
- Stahl, G. (1983). Differences in the amount and distribution of genetic variation between natural populations and hatchery stocks of Atlantic salmon. *Aquaculture* , 33, 23-32.
- Thompson, D. (1985). Genetic identification of trout strains. . *Aquaculture* , 46, 341-351.
- Takahata, N., and S. R. Palumbi. 1985. Extranuclear differentiation and gene flow in the finite island model. *Genetics* 109: 441- 457
- Templeton, A. R. 1986. Coadaptation and outbreeding depression. Pages 105-116 in M.E. Soule, editor. *Conservation biology. The Science of scarcity and diversity*. Sinauer, Sunderland, Massachusetts.
- Templeton, N.S., 2004. *Gene and cell therapy: therapeutic mechanisms and strategies*. Marcel Dekker, New York.
- Verspoor, E. (1988). Reduced genetic variability in first generation populations of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science* , 45, 1686-1690.
- Ward R.D., Woodward M. & Skibinski D.O.F. (1994) A comparison of genetic diversity levels in marine, freshwater and anadromous fishes. *Journal of Fish Biology* 44,213-232.
- Ward, R.D., Jorstad, K. E., Maguire, G. B. 2003. Microsatellite diversity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) introduced to Western Australia. *Aquaculture* 219 , 169-179
- Yeh, F.C., Yang, R.C., Boyle, T., 1999. POPGENE, Version 1.31: Microsoft Window-Based Free Ware for Population Genetic Analysis. <http://www.ualberta.ca/~fyeh>.
- Yue, G.H., David, L., Orban, L., 2007. Mutation rate and pattern of microsatellites in common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Genetica* 129, 329-331.

پیوست

جدول ۷: خلاصه نتایج آماری هتروزیگوسیتی ماهی قزا آلا در مزرعه ۱

Locus	Sample Size	Obs_Hom	Obs_Het	Exp_Hom*	Exp_Het*	Nei**	Ave_Het
OTSG_83b_	38	0.0000	1.0000	0.3471	0.6529	0.6357	0.7339
OTSG_3	38	0.0000	1.0000	0.3385	0.6615	0.6440	0.5596
omyf	38	0.2105	0.7895	0.2873	0.7127	0.6939	0.7143
OTSG_409	38	0.0000	1.0000	0.2646	0.7354	0.7161	0.5459
OTS_100	38	0.5263	0.4737	0.4523	0.5477	0.5332	0.7176
OTSG_432	38	0.0000	1.0000	0.4865	0.5135	0.5000	0.5953
OTSG_474	38	0.1053	0.8947	0.4068	0.5932	0.5776	0.5135
OTSG_249	38	0.0000	1.0000	0.1650	0.8350	0.8130	0.7747
Sturruta_	38	0.0000	1.0000	0.2361	0.7639	0.7438	0.7338
Sturruta_	38	0.0000	1.0000	0.2304	0.7696	0.7493	0.6193
Mean	38	0.0842	0.9158	0.3215	0.6785	0.6607	0.6508
St. Dev		0.1705	0.1705	0.1038	0.1038	0.1011	0.0942

(Expected homozygosity and heterozygosity were computed using Levene (1949) *

Nei's (1973) expected heterozygosity **

جدول ۸: خلاصه نتایج آماری هتروزیگوسیتی ماهی قزا آلا در مزرعه ۲

Locus	Sample Size	Obs_Hom	Obs_Het	Exp_Hom*	Exp_Het*	Nei**	Ave_Het
OTSG_83b_	28	0.0000	1.0000	0.1614	0.8386	0.8087	0.7339
OTSG_3	28	0.0000	1.0000	0.2487	0.7513	0.7245	0.5596
omyf	28	0.0714	0.9286	0.2487	0.7513	0.7245	0.7143
OTSG_409	28	0.0714	0.9286	0.2090	0.7910	0.7628	0.5459
OTS_100	28	0.0000	1.0000	0.3757	0.6243	0.6020	0.7176
OTSG_432	28	0.1429	0.8571	0.2804	0.7196	0.6939	0.5953
OTSG_474	28	0.0000	1.0000	0.4127	0.5873	0.5663	0.5135
OTSG_249	28	0.0000	1.0000	0.1376	0.8624	0.8316	0.7747
Sturruta_	28	0.0000	1.0000	0.3942	0.6058	0.5842	0.7338
Sturruta_	28	0.5714	0.4286	0.4312	0.5688	0.5485	0.6193
Mean	28	0.0857	0.9143	0.2899	0.7101	0.6847	0.6508
St. Dev		0.1775	0.1775	0.1070	0.1070	0.1032	0.0942

جدول ۹: خلاصه نتایج آماری هتروزایگوسیتی ماهی قزا آلا در مزرعه ۳

Locus	Sample Size	Obs_Hom	Obs_Het	Exp_Hom*	Exp_Het*	Nei**	Ave_Het
OTSG_83b_	32	0.0000	1.0000	0.2903	0.7097	0.6875	0.7339
OTSG_3_omyf	32	0.6250	0.3750	0.5786	0.4214	0.4082	0.5596
OTSG_409	32	0.0000	1.0000	0.2177	0.7823	0.7578	0.5459
OTS_100	32	0.3750	0.6250	0.1835	0.8165	0.7910	0.7176
OTSG_432	32	0.1250	0.8750	0.4214	0.5786	0.5605	0.5953
OTSG_474	32	0.0625	0.9375	0.4859	0.5141	0.4980	0.5135
OTSG_249	32	0.0625	0.9375	0.1774	0.8226	0.7969	0.7747
Sturruta_	32	0.0000	1.0000	0.1452	0.8548	0.8281	0.7338
Sturruta_	32	0.1875	0.8125	0.2802	0.7198	0.6973	0.6193
Mean	32	0.1437	0.8562	0.3234	0.6766	0.6555	0.6508
St. Dev		0.2063	0.2063	0.1509	0.1509	0.1462	0.0942

جدول ۱۰: خلاصه نتایج آماری هتروزایگوسیتی ماهی قزا آلا در مزرعه ۴

Locus	Sample Size	Obs_Hom	Obs_Het	Exp_Hom*	Exp_Het*	Nei**	Ave_Het
OTSG_83b_	42	0.0000	1.0000	0.2323	0.7677	0.7494	0.7339
OTSG_3_omyf	42	0.3810	0.6190	0.4715	0.5285	0.5159	0.5596
OTSG_409	42	0.0000	1.0000	0.2056	0.7944	0.7755	0.5459
OTS_100	42	0.2381	0.7619	0.2369	0.7631	0.7449	0.7176
OTSG_432	42	0.0000	1.0000	0.3624	0.6376	0.6224	0.5953
OTSG_474	42	0.0000	1.0000	0.4437	0.5563	0.5431	0.5135
OTSG_249	42	0.0000	1.0000	0.1800	0.8200	0.8005	0.7747
Sturruta_	42	0.0000	1.0000	0.2276	0.7724	0.7540	0.7338
Sturruta_	42	0.1905	0.8095	0.2787	0.7213	0.7041	0.6193
Mean	42	0.0810	0.9190	0.3001	0.6999	0.6832	0.6508
St. Dev		0.1385	0.1385	0.1030	0.1030	0.1005	0.0942

جدول ۱۱: خلاصه نتایج آماری هتروزایگوسیتی ماهی قزآلا در مزرعه ۵

Locus	Sample Size	Obs_Hom	Obs_Het	Exp_Hom*	Exp_Het*	Nei**	Ave_Het
OTSG_83b_	50	0.0400	0.9600	0.2686	0.7314	0.7168	0.7339
OTSG_3	50	0.2400	0.7600	0.4016	0.5984	0.5864	0.5596
omyf	50	0.0800	0.9200	0.3029	0.6971	0.6832	0.7143
OTSG_409	50	0.5600	0.4400	0.5110	0.4890	0.4792	0.5459
OTS_100	50	0.1200	0.8800	0.2955	0.7045	0.6904	0.7176
OTSG_432	50	0.0000	1.0000	0.3363	0.6637	0.6504	0.5953
OTSG_474	50	0.0000	1.0000	0.4898	0.5102	0.5000	0.5135
OTSG_249	50	0.0000	1.0000	0.2367	0.7633	0.7480	0.7747
Sturruta_	50	0.0800	0.9200	0.2220	0.7780	0.7624	0.7338
Sturruta_	50	0.1200	0.8800	0.3894	0.6106	0.5984	0.6193
Mean	50	0.1240	0.8760	0.3454	0.6546	0.6415	0.6508
St. Dev		0.1702	0.1702	0.1004	0.1004	0.0984	0.0942

جدول ۱۲: خلاصه نتایج آماری هتروزایگوسیتی ماهی قزآلا در مزرعه ۶

Locus	Sample Size	Obs_Hom	Obs_Het	Exp_Hom*	Exp_Het*	Nei**	Ave_Het
OTSG_83b_	30	0.1333	0.8667	0.2092	0.7908	0.7644	0.7339
OTSG_3	30	0.5333	0.4667	0.5034	0.4966	0.4800	0.5596
omyf	30	0.0000	1.0000	0.2115	0.7885	0.7622	0.7143
OTSG_409	30	0.3333	0.6667	0.4506	0.5494	0.5311	0.5459
OTS_100	30	0.0000	1.0000	0.1839	0.8161	0.7889	0.7176
OTSG_432	30	0.0000	1.0000	0.3540	0.6460	0.6244	0.5953
OTSG_474	30	0.0000	1.0000	0.4230	0.5770	0.5578	0.5135
OTSG_249	30	0.0000	1.0000	0.1977	0.8023	0.7756	0.7747
Sturruta_	30	0.0000	1.0000	0.1586	0.8414	0.8133	0.7338
Sturruta_	30	0.0000	1.0000	0.2529	0.7471	0.7222	0.6193
Mean	30	0.1000	0.9000	0.2945	0.7055	0.6820	0.6508
St. Dev		0.1866	0.1866	0.1265	0.1265	0.1223	0.0942

جدول ۱۳: خلاصه نتایج آماری هتروزیگوسیتی ماهی قزآلا در مزرعه ۷

Locus	Sample Size	Obs_Hom	Obs_Het	Exp_Hom*	Exp_Het*	Nei**	Ave_Het
OTSG_83b_	40	0.1500	0.8500	0.2231	0.7769	0.7575	0.7339
OTSG_3	40	0.4000	0.6000	0.4692	0.5308	0.5175	0.5596
omyf	40	0.1000	0.9000	0.1462	0.8538	0.8325	0.7143
OTSG_409	40	0.4000	0.6000	0.5692	0.4308	0.4200	0.5459
OTS_100	40	0.3000	0.7000	0.1821	0.8179	0.7975	0.7176
OTSG_432	40	0.0000	1.0000	0.2910	0.7090	0.6912	0.5953
OTSG_474	40	0.0500	0.9500	0.4654	0.5346	0.5212	0.5135
OTSG_249	40	0.1000	0.9000	0.1782	0.8218	0.8013	0.7747
Sturruta_	40	0.0000	1.0000	0.2103	0.7897	0.7700	0.7338
Sturruta_	40	0.0000	1.0000	0.2718	0.7282	0.7100	0.6193
Mean	40	0.1500	0.8500	0.3006	0.6994	0.6819	0.6508
St. Dev		0.1599	0.1599	0.1475	0.1475	0.1438	0.0942

جدول ۱۴: خلاصه نتایج آماری هتروزیگوسیتی ماهی قزآلا در مزرعه ۸

Locus	Sample Size	Obs_Hom	Obs_Het	Exp_Hom*	Exp_Het*	Nei**	Ave_Het
OTSG_83b_	20	0.0000	1.0000	0.3789	0.6211	0.5900	0.7339
OTSG_3	20	0.5000	0.5000	0.4895	0.5105	0.4850	0.5596
omyf	20	0.1000	0.9000	0.2053	0.7947	0.7550	0.7143
OTSG_409	20	0.6000	0.4000	0.4947	0.5053	0.4800	0.5459
OTS_100	20	0.0000	1.0000	0.2526	0.7474	0.7100	0.7176
OTSG_432	20	0.0000	1.0000	0.3000	0.7000	0.6650	0.5953
OTSG_474	20	0.0000	1.0000	0.4737	0.5263	0.5000	0.5135
OTSG_249	20	0.0000	1.0000	0.1474	0.8526	0.8100	0.7747
Sturruta_	20	0.0000	1.0000	0.2737	0.7263	0.6900	0.7338
Sturruta_	20	0.0000	1.0000	0.3789	0.6211	0.5900	0.6193
Mean	20	0.1200	0.8800	0.3395	0.6605	0.6275	0.6508
St. Dev		0.2300	0.2300	0.1230	0.1230	0.1168	0.0942

جدول ۱۵: خلاصه نتایج آماری هتروزیگوسیتی ماهی قزا آلا در مزرعه ۹

Locus	Sample Size	Obs_Hom	Obs_Het	Exp_Hom*	Exp_Het*	Nei**	Ave_Het
OTSG_83b_	40	0.0500	0.9500	0.1795	0.8205	0.8000	0.7339
OTSG_3	40	0.0500	0.9500	0.3782	0.6218	0.6062	0.5596
omyf	40	0.0000	1.0000	0.2833	0.7167	0.6987	0.7143
OTSG_409	40	0.4000	0.6000	0.5692	0.4308	0.4200	0.5459
OTS_100	40	0.3500	0.6500	0.2231	0.7769	0.7575	0.7176
OTSG_432	40	0.0500	0.9500	0.3974	0.6026	0.5875	0.5953
OTSG_474	40	0.0500	0.9500	0.4654	0.5346	0.5212	0.5135
OTSG_249	40	0.0000	1.0000	0.3090	0.6910	0.6738	0.7747
Sturruta_	40	0.0000	1.0000	0.2808	0.7192	0.7012	0.7338
Sturruta_	40	0.0000	1.0000	0.4872	0.5128	0.5000	0.6193
Mean	40	0.0950	0.9050	0.3573	0.6427	0.6266	0.6508
St. Dev			0.1499	0.1499	0.1242	0.1211	0.0942

جدول ۱۶: خلاصه نتایج آماری هتروزیگوسیتی ماهی قزا آلا در مزرعه ۱۰

Locus	Sample Size	Obs_Hom	Obs_Het	Exp_Hom*	Exp_Het*	Nei**	Ave_Het
OTSG_83b_	40	0.2000	0.8000	0.2962	0.7038	0.6863	0.7339
OTSG_3	40	0.2500	0.7500	0.4500	0.5500	0.5362	0.5596
omyf	40	0.1500	0.8500	0.1718	0.8282	0.8075	0.7143
OTSG_409	40	0.0000	1.0000	0.3795	0.6205	0.6050	0.5459
OTS_100	40	0.5500	0.4500	0.3756	0.6244	0.6088	0.7176
OTSG_432	40	0.0000	1.0000	0.3551	0.6449	0.6288	0.5953
OTSG_474	40	0.1000	0.9000	0.4923	0.5077	0.4950	0.5135
OTSG_249	40	0.0000	1.0000	0.1359	0.8641	0.8425	0.7747
Sturruta_	40	0.0000	1.0000	0.2308	0.7692	0.7500	0.7338
Sturruta_	40	0.0500	0.9500	0.2551	0.7449	0.7263	0.6193
Mean	40	0.1300	0.8700	0.3142	0.6858	0.6686	0.6508
St. Dev			0.1735	0.1735	0.1168	0.1139	0.0942

جدول ۱۷: خلاصه نتایج آماری هتروزایگوسیتی ماهی قزا آلا در مزرعه ۱۱

Locus	Sample Size	Obs_Hom	Obs_Het	Exp_Hom*	Exp_Het*	Nei**	Ave_Het
OTSG_83b_	32	0.4375	0.5625	0.2520	0.7480	0.7246	0.7339
OTSG_3	32	0.1875	0.8125	0.3246	0.6754	0.6543	0.5596
omyf	32	0.1250	0.8750	0.2480	0.7520	0.7285	0.7143
OTSG_409	32	0.5625	0.4375	0.6472	0.3528	0.3418	0.5459
OTS_100	32	0.3750	0.6250	0.2883	0.7117	0.6895	0.7176
OTSG_432	32	0.0000	1.0000	0.4839	0.5161	0.5000	0.5953
OTSG_474	32	0.0000	1.0000	0.4839	0.5161	0.5000	0.5135
OTSG_249	32	0.0625	0.9375	0.1431	0.8569	0.8301	0.7747
Sturruta_	32	0.0000	1.0000	0.3629	0.6371	0.6172	0.7338
Sturruta_	32	0.0000	1.0000	0.4839	0.5161	0.5000	0.6193
Mean	32	0.1750	0.8250	0.3718	0.6282	0.6086	0.6508
St. Dev		0.2100	0.2100	0.1508	0.1508	0.1461	0.0942

جدول ۱۸: خلاصه نتایج آماری هتروزایگوسیتی ماهی قزا آلا در مزرعه ۱۲

Locus	Sample Size	Obs_Hom	Obs_Het	Exp_Hom*	Exp_Het*	Nei**	Ave_Het
OTSG_83b_	40	0.1000	0.9000	0.1936	0.8064	0.7863	0.7339
OTSG_3	40	0.2000	0.8000	0.4038	0.5962	0.5813	0.5596
omyf	40	0.0500	0.9500	0.1949	0.8051	0.7850	0.7143
OTSG_409	40	0.1000	0.9000	0.4923	0.5077	0.4950	0.5459
OTS_100	40	0.0000	1.0000	0.1833	0.8167	0.7963	0.7176
OTSG_432	40	0.0000	1.0000	0.3385	0.6615	0.6450	0.5953
OTSG_474	40	0.0000	1.0000	0.4872	0.5128	0.5000	0.5135
OTSG_249	40	0.0000	1.0000	0.1141	0.8859	0.8638	0.7747
Sturruta_	40	0.0000	1.0000	0.1769	0.8231	0.8025	0.7338
Sturruta_	40	0.0000	1.0000	0.2538	0.7462	0.7275	0.6193
Mean	40	0.0450	0.9550	0.2838	0.7162	0.6983	0.6508
St. Dev		0.0685	0.0685	0.1372	0.1372	0.1338	0.0942

جدول ۱۹: خلاصه نتایج آماری هتروزیگوسیتی ماهی قزآلا در مزرعه ۱۳

Locus	Sample Size	Obs_Hom	Obs_Het	Exp_Hom*	Exp_Het*	Nei**	Ave_Het
OTSG_83b_	40	0.0500	0.9500	0.2231	0.7769	0.7575	0.7339
OTSG_3	40	0.5000	0.5000	0.5756	0.4244	0.4138	0.5596
omyf	40	0.3500	0.6500	0.4487	0.5513	0.5375	0.7143
OTSG_409	40	0.0000	1.0000	0.4628	0.5372	0.5238	0.5459
OTS_100	40	0.0000	1.0000	0.1705	0.8295	0.8087	0.7176
OTSG_432	40	0.0000	1.0000	0.3167	0.6833	0.6663	0.5953
OTSG_474	40	0.0500	0.9500	0.4885	0.5115	0.4988	0.5135
OTSG_249	40	0.0000	1.0000	0.0897	0.9103	0.8875	0.7747
Sturruta_	40	0.0000	1.0000	0.2577	0.7423	0.7237	0.7338
Sturruta_	40	0.0000	1.0000	0.2538	0.7462	0.7275	0.6193
Mean	40	0.0950	0.9050	0.3287	0.6713	0.6545	0.6508
St. Dev			0.1787	0.1787	0.1574	0.1535	0.0942

جدول ۲۰: خلاصه نتایج آماری هتروزیگوسیتی ماهی قزآلا در مزرعه ۱۴

Locus	Sample Size	Obs_Hom	Obs_Het	Exp_Hom*	Exp_Het*	Nei**	Ave_Het
OTSG_83b_	40	0.1000	0.9000	0.2218	0.7782	0.7588	0.7339
OTSG_3	40	0.3000	0.7000	0.3038	0.6962	0.6787	0.5596
omyf	40	0.1500	0.8500	0.3244	0.6756	0.6587	0.7143
OTSG_409	40	0.3500	0.6500	0.4987	0.5013	0.4888	0.5459
OTS_100	40	0.2500	0.7500	0.1718	0.8282	0.8075	0.7176
OTSG_432	40	0.1500	0.8500	0.2987	0.7013	0.6838	0.5953
OTSG_474	40	0.0000	1.0000	0.4872	0.5128	0.5000	0.5135
OTSG_249	40	0.0000	1.0000	0.0692	0.9308	0.9075	0.7747
Sturruta_	40	0.0000	1.0000	0.2744	0.7256	0.7075	0.7338
Sturruta_	40	0.0000	1.0000	0.4872	0.5128	0.5000	0.6193
Mean	40	0.1300	0.8700	0.3137	0.6863	0.6691	0.6508
St. Dev			0.1337	0.1337	0.1433	0.1397	0.0942

جدول ۲۱: خلاصه نتایج آماری هتروزیگوسیتی ماهی قزلا در مزرعه ۱۵

Locus	Sample Size	Obs_Hom	Obs_Het	Exp_Hom*	Exp_Het*	Nei**	Ave_Het
OTSG_83b_	50	0.1200	0.8800	0.1951	0.8049	0.7888	0.7339
OTSG_3	50	0.2800	0.7200	0.2710	0.7290	0.7144	0.5596
omyf	50	0.0000	1.0000	0.1469	0.8531	0.8360	0.7143
OTSG_409	50	0.0800	0.9200	0.4155	0.5845	0.5728	0.5459
OTS_100	50	0.0400	0.9600	0.1967	0.8033	0.7872	0.7176
OTSG_432	50	0.0000	1.0000	0.3731	0.6269	0.6144	0.5953
OTSG_474	50	0.0000	1.0000	0.4702	0.5298	0.5192	0.5135
OTSG_249	50	0.0000	1.0000	0.1478	0.8522	0.8352	0.7747
Sturruta_	50	0.0000	1.0000	0.1820	0.8180	0.8016	0.7338
Sturruta_	50	0.1200	0.8800	0.2751	0.7249	0.7104	0.6193
Mean	50	0.0640	0.9360	0.2673	0.7327	0.7180	0.6508
St. Dev		0.0908	0.0908	0.1158	0.1158	0.1135	0.0942

جدول ۲۲: خلاصه نتایج آماری هتروزیگوسیتی ماهی قزلا در مزرعه ۱۶

Locus	Sample Size	Obs_Hom	Obs_Het	Exp_Hom*	Exp_Het*	Nei**	Ave_Het
OTSG_83b_	36	0.1667	0.8333	0.2937	0.7063	0.6867	0.7339
OTSG_3	36	0.2222	0.7778	0.3444	0.6556	0.6373	0.5596
omyf	36	0.0556	0.9444	0.1048	0.8952	0.8704	0.7143
OTSG_409	36	0.1111	0.8889	0.3587	0.6413	0.6235	0.5459
OTS_100	36	0.0000	1.0000	0.2063	0.7937	0.7716	0.7176
OTSG_432	36	0.0000	1.0000	0.4143	0.5857	0.5694	0.5953
OTSG_474	36	0.0556	0.9444	0.4873	0.5127	0.4985	0.5135
OTSG_249	36	0.0000	1.0000	0.3714	0.6286	0.6111	0.7747
Sturruta_	36	0.0000	1.0000	0.2540	0.7460	0.7253	0.7338
Sturruta_	36	0.0000	1.0000	0.3429	0.6571	0.6389	0.6193
Mean	36	0.0611	0.9389	0.3178	0.6822	0.6633	0.6508
St. Dev		0.0805	0.0805	0.1087	0.1087	0.1057	0.0942

جدول ۲۳: خلاصه نتایج آماری هتروزیگوسیتی ماهی قزآلا در مزرعه ۱۷

Locus	Sample Size	Obs_Hom	Obs_Het	Exp_Hom*	Exp_Het*	Nei**	Ave_Het
OTSG_83b_	46	0.1304	0.8696	0.1768	0.8232	0.8053	0.7339
OTSG_3	46	0.3043	0.6957	0.3971	0.6029	0.5898	0.5596
omyf	46	0.0000	1.0000	0.3130	0.6870	0.6720	0.7143
OTSG_409	46	0.2609	0.7391	0.4657	0.5343	0.5227	0.5459
OTS_100	46	0.0870	0.9130	0.3092	0.6908	0.6758	0.7176
OTSG_432	46	0.0000	1.0000	0.3498	0.6502	0.6361	0.5953
OTSG_474	46	0.0435	0.9565	0.4899	0.5101	0.4991	0.5135
OTSG_249	46	0.0000	1.0000	0.3729	0.6271	0.6134	0.7747
Sturruta_	46	0.0000	1.0000	0.2087	0.7913	0.7741	0.7338
Sturruta_	46	0.0000	1.0000	0.2377	0.7623	0.7457	0.6193
Mean	46	0.0826	0.9174	0.3321	0.6679	0.6534	0.6508
St. Dev		0.1149	0.1149	0.1044	0.1044	0.1021	0.0942

جدول ۲۴: خلاصه نتایج آماری هتروزیگوسیتی ماهی قزآلا در مزرعه ۱۸

Locus	Sample Size	Obs_Hom	Obs_Het	Exp_Hom*	Exp_Het*	Nei**	Ave_Het
OTSG_83b_	28	0.2857	0.7143	0.4815	0.5185	0.5000	0.7339
OTSG_3	28	0.1429	0.8571	0.4180	0.5820	0.5612	0.5596
omyf	28	0.0000	1.0000	0.2407	0.7593	0.7321	0.7143
OTSG_409	28	0.0714	0.9286	0.4471	0.5529	0.5332	0.5459
OTS_100	28	0.0000	1.0000	0.3889	0.6111	0.5893	0.7176
OTSG_432	28	0.0000	1.0000	0.4127	0.5873	0.5663	0.5953
OTSG_474	28	0.0000	1.0000	0.4815	0.5185	0.5000	0.5135
OTSG_249	28	0.0000	1.0000	0.3042	0.6958	0.6709	0.7747
Sturruta_	28	0.0000	1.0000	0.3757	0.6243	0.6020	0.7338
Sturruta_	28	0.0000	1.0000	0.4815	0.5185	0.5000	0.6193
Mean	28	0.0500	0.9500	0.4032	0.5968	0.5755	0.6508
St. Dev		0.0955	0.0955	0.0801	0.0801	0.0773	0.0942

جدول ۲۵: خلاصه نتایج آماری هتروزایگوسیتی ماهی قزلا در مزرعه ۱۹

Locus	Sample Size	Obs_Hom	Obs_Het	Exp_Hom*	Exp_Het*	Nei**	Ave_Het
OTSG_83b_	38	0.2105	0.7895	0.1323	0.8677	0.8449	0.7339
OTSG_3	38	0.5263	0.4737	0.6174	0.3826	0.3726	0.5596
omyf	38	0.0000	1.0000	0.3158	0.6842	0.6662	0.7143
OTSG_409	38	0.3684	0.6316	0.3812	0.6188	0.6025	0.5459
OTS_100	38	0.0000	1.0000	0.2176	0.7824	0.7618	0.7176
OTSG_432	38	0.0000	1.0000	0.3585	0.6415	0.6247	0.5953
OTSG_474	38	0.0000	1.0000	0.4609	0.5391	0.5249	0.5135
OTSG_249	38	0.0000	1.0000	0.2304	0.7696	0.7493	0.7747
Sturruta_	38	0.0000	1.0000	0.3755	0.6245	0.6080	0.7338
Sturruta_	38	0.0000	1.0000	0.2873	0.7127	0.6939	0.6193
Mean	38	0.1105	0.8895	0.3377	0.6623	0.6449	0.6508
St. Dev		0.1929	0.1929	0.1367	0.1367	0.1331	0.0942

جدول ۲۶: خلاصه نتایج آماری هتروزایگوسیتی ماهی قزلا در مزرعه E۲۰

Locus	Sample Size	Obs_Hom	Obs_Het	Exp_Hom*	Exp_Het*	Nei**	Ave_Het
OTSG_83b_	42	0.1905	0.8095	0.3043	0.6957	0.6791	0.7339
OTSG_3	42	0.3810	0.6190	0.5075	0.4925	0.4807	0.5596
omyf	42	0.0000	1.0000	0.4088	0.5912	0.5771	0.7143
OTSG_409	42	0.5238	0.4762	0.5923	0.4077	0.3980	0.5459
OTS_100	42	0.0476	0.9524	0.3554	0.6446	0.6293	0.7176
OTSG_432	42	0.0000	1.0000	0.3508	0.6492	0.6338	0.5953
OTSG_474	42	0.0000	1.0000	0.4878	0.5122	0.5000	0.5135
OTSG_249	42	0.0000	1.0000	0.1951	0.8049	0.7857	0.7747
Sturruta_	42	0.0000	1.0000	0.2369	0.7631	0.7449	0.7338
Sturruta_	42	0.1429	0.8571	0.4983	0.5017	0.4898	0.6193
Mean	42	0.1286	0.8714	0.3937	0.6063	0.5918	0.6508
St. Dev		0.1865	0.1865	0.1281	0.1281	0.1251	0.0942

جدول ۲۷: خلاصه نتایج آماری هتروزایگوسیتی ماهی قزا آلا در مزرعه 20N

Locus	Sample Size	Obs_Hom	Obs_Het	Exp_Hom*	Exp_Het*	Nei**	Ave_Het
OTSG_83b_	50	0.0000	1.0000	0.2906	0.7094	0.6952	0.7339
OTSG_3	50	0.2800	0.7200	0.3641	0.6359	0.6232	0.5596
omyf	50	0.0000	1.0000	0.2122	0.7878	0.7720	0.7143
OTSG_409	50	0.0000	1.0000	0.4898	0.5102	0.5000	0.5459
OTS_100	50	0.0400	0.9600	0.3118	0.6882	0.6744	0.7176
OTSG_432	50	0.0000	1.0000	0.4702	0.5298	0.5192	0.5953
OTSG_474	50	0.0400	0.9600	0.4718	0.5282	0.5176	0.5135
OTSG_249	50	0.0000	1.0000	0.2702	0.7298	0.7152	0.7747
Sturruta_	50	0.0000	1.0000	0.1967	0.8033	0.7872	0.7338
Sturruta_	50	0.0000	1.0000	0.4898	0.5102	0.5000	0.6193
Mean	50	0.0360	0.9640	0.3567	0.6433	0.6304	0.6508
St. Dev		0.0873	0.0873	0.1164	0.1164	0.1141	0.0942

جدول ۲۸: خلاصه نتایج آماری هتروزایگوسیتی ماهی قزا آلا در مزرعه 21

Locus	Sample Size	Obs_Hom	Obs_Het	Exp_Hom*	Exp_Het*	Nei**	Ave_Het
OTSG_83b_	26	0.0000	1.0000	0.2215	0.7785	0.7485	0.7339
OTSG_3	26	0.8462	0.1538	0.2985	0.7015	0.6746	0.5596
omyf	26	0.2308	0.7692	0.2431	0.7569	0.7278	0.7143
OTSG_409	26	0.0000	1.0000	0.4800	0.5200	0.5000	0.5459
OTS_100	26	0.0000	1.0000	0.1385	0.8615	0.8284	0.7176
OTSG_432	26	0.0000	1.0000	0.4800	0.5200	0.5000	0.5953
OTSG_474	26	0.0000	1.0000	0.4800	0.5200	0.5000	0.5135
OTSG_249	26	0.1538	0.8462	0.2092	0.7908	0.7604	0.7747
Sturruta_	26	0.0000	1.0000	0.1692	0.8308	0.7988	0.7338
Sturruta_	26	0.0000	1.0000	0.4800	0.5200	0.5000	0.6193
Mean	26	0.1231	0.8769	0.3200	0.6800	0.6538	0.6508
St. Dev		0.2670	0.2670	0.1439	0.1439	0.1384	0.0942

جدول ۲۹: خلاصه نتایج آماری هتروزیگوسیتی ماهی قزا آلا در مزرعه 22

Locus	Sample Size	Obs_Hom	Obs_Het	Exp_Hom*	Exp_Het*	Nei**	Ave_Het
OTSG_83b_	30	0.1333	0.8667	0.2184	0.7816	0.7556	0.7339
OTSG_3	30	0.4000	0.6000	0.3264	0.6736	0.6511	0.5596
omyf	30	0.1333	0.8667	0.3517	0.6483	0.6267	0.7143
OTSG_409	30	0.0000	1.0000	0.4828	0.5172	0.5000	0.5459
OTS_100	30	0.2000	0.8000	0.2460	0.7540	0.7289	0.7176
OTSG_432	30	0.0000	1.0000	0.4828	0.5172	0.5000	0.5953
OTSG_474	30	0.0000	1.0000	0.4828	0.5172	0.5000	0.5135
OTSG_249	30	0.0000	1.0000	0.3080	0.6920	0.6689	0.7747
Sturruta_	30	0.0000	1.0000	0.2920	0.7080	0.6844	0.7338
Sturruta_	30	0.0000	1.0000	0.4828	0.5172	0.5000	0.6193
Mean	30	0.0867	0.9133	0.3674	0.6326	0.6116	0.6508
St. Dev		0.1335	0.1335	0.1061	0.1061	0.1026	0.0942

جدول ۳۰: خلاصه نتایج آماری هتروزیگوسیتی ماهی قزا آلا در مزرعه 23

Locus	Sample Size	Obs_Hom	Obs_Het	Exp_Hom*	Exp_Het*	Nei**	Ave_Het
OTSG_83b_	34	0.0588	0.9412	0.1586	0.8414	0.8166	0.7339
OTSG_3	34	0.4706	0.5294	0.5989	0.4011	0.3893	0.5596
omyf	34	0.0588	0.9412	0.1515	0.8485	0.8235	0.7143
OTSG_409	34	0.1176	0.8824	0.4920	0.5080	0.4931	0.5459
OTS_100	34	0.0000	1.0000	0.2709	0.7291	0.7076	0.7176
OTSG_432	34	0.0000	1.0000	0.4848	0.5152	0.5000	0.5953
OTSG_474	34	0.0000	1.0000	0.4848	0.5152	0.5000	0.5135
OTSG_249	34	0.0000	1.0000	0.1640	0.8360	0.8114	0.7747
Sturruta_	34	0.0000	1.0000	0.1640	0.8360	0.8114	0.7338
Sturruta_	34	0.0588	0.9412	0.2299	0.7701	0.7474	0.6193
Mean	34	0.0765	0.9235	0.3200	0.6800	0.6600	0.6508
St. Dev		0.1442	0.1442	0.1749	0.1749	0.1698	0.0942

جدول ۳۱: خلاصه نتایج آماری هتروزیگوسیتی ماهی قزا آلا در مزرعه ۲۴

Locus	Sample Size	Obs_Hom	Obs_Het	Exp_Hom*	Exp_Het*	Nei**	Ave_Het
OTSG_83b_	40	0.0000	1.0000	0.1756	0.8244	0.8037	0.7339
OTSG_3	40	0.4000	0.6000	0.5244	0.4756	0.4638	0.5596
omyf	40	0.2000	0.8000	0.2462	0.7538	0.7350	0.7143
OTSG_409	40	0.0000	1.0000	0.3795	0.6205	0.6050	0.5459
OTS_100	40	0.1000	0.9000	0.3244	0.6756	0.6587	0.7176
OTSG_432	40	0.0000	1.0000	0.4872	0.5128	0.5000	0.5953
OTSG_474	40	0.0000	1.0000	0.4872	0.5128	0.5000	0.5135
OTSG_249	40	0.0000	1.0000	0.2167	0.7833	0.7637	0.7747
Sturruta_	40	0.0000	1.0000	0.2218	0.7782	0.7588	0.7338
Sturruta_	40	0.3000	0.7000	0.5333	0.4667	0.4550	0.6193
Mean	40	0.1000	0.9000	0.3596	0.6404	0.6244	0.6508
St. Dev		0.1491	0.1491	0.1405	0.1405	0.1370	0.0942

جدول ۳۲: مقدار F_{ST} محاسبه شده برای مناق مختلف نمونه برداری ماهی قزل آلا (اعداد پائین مقدار F_{ST} بر اساس آزمون AMOVA اعداد بالا

		ضریب اطمینان (
		۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲	۱۳	۱۴	۱۵	۱۶	۱۷	۱۸	۱۹	۲۰	۲۱	۲۲	۲۳	۲۴
۱	0.00	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
۲	0.14	0.00	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
۳	0.14	0.13	0.00	0.02	0.01	0.01	0.01	0.03	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
۴	0.16	0.15	0.03	0.00	0.01	0.01	0.01	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
۵	0.18	0.19	0.10	0.11	0.00	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
۶	0.15	0.16	0.07	0.09	0.07	0.00	0.01	0.07	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
۷	0.18	0.16	0.07	0.10	0.08	0.05	0.00	0.08	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
۸	0.19	0.20	0.07	0.09	0.08	0.06	0.04	0.00	0.08	0.01	0.01	0.04	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
۹	0.21	0.22	0.14	0.15	0.12	0.10	0.10	0.04	0.00	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
۱۰	0.19	0.18	0.13	0.11	0.13	0.08	0.10	0.12	0.16	0.00	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
۱۱	0.24	0.23	0.15	0.15	0.13	0.10	0.09	0.11	0.17	0.06	0.00	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
۱۲	0.18	0.16	0.10	0.10	0.10	0.05	0.05	0.05	0.09	0.04	0.05	0.00	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
۱۳	0.20	0.19	0.13	0.13	0.14	0.09	0.11	0.10	0.13	0.09	0.12	0.04	0.00	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
۱۴	0.19	0.19	0.13	0.13	0.12	0.09	0.10	0.09	0.13	0.10	0.09	0.07	0.05	0.00	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
۱۵	0.16	0.12	0.10	0.10	0.10	0.08	0.08	0.08	0.14	0.09	0.12	0.04	0.08	0.09	0.00	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
۱۶	0.20	0.19	0.12	0.11	0.13	0.12	0.09	0.10	0.13	0.10	0.10	0.08	0.14	0.11	0.07	0.00	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
۱۷	0.20	0.20	0.16	0.15	0.14	0.14	0.12	0.14	0.17	0.13	0.14	0.11	0.16	0.14	0.09	0.06	0.00	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
۱۸	0.23	0.21	0.16	0.16	0.19	0.14	0.13	0.13	0.20	0.17	0.23	0.13	0.18	0.21	0.11	0.15	0.18	0.00	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
۱۹	0.21	0.18	0.11	0.12	0.12	0.09	0.07	0.07	0.13	0.10	0.13	0.07	0.11	0.11	0.09	0.09	0.13	0.09	0.00	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
۲۰	0.25	0.21	0.18	0.17	0.19	0.14	0.13	0.16	0.23	0.16	0.20	0.12	0.14	0.19	0.12	0.17	0.18	0.10	0.13	0.00	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
۲۱	0.18	0.21	0.13	0.14	0.13	0.13	0.09	0.11	0.13	0.13	0.14	0.10	0.15	0.11	0.11	0.07	0.13	0.19	0.09	0.19	0.00	0.03	0.01	0.01	0.01
۲۲	0.16	0.17	0.14	0.14	0.14	0.11	0.11	0.10	0.13	0.12	0.13	0.09	0.12	0.06	0.10	0.09	0.13	0.20	0.11	0.17	0.06	0.00	0.01	0.01	0.01
۲۳	0.21	0.19	0.17	0.16	0.17	0.14	0.15	0.15	0.18	0.14	0.17	0.12	0.16	0.12	0.13	0.16	0.20	0.22	0.17	0.21	0.16	0.09	0.00	0.01	0.01
۲۴	0.20	0.17	0.10	0.09	0.14	0.11	0.10	0.08	0.14	0.10	0.13	0.07	0.11	0.13	0.08	0.13	0.17	0.15	0.11	0.15	0.13	0.12	0.12	0.00	0.01
۲۵	0.21	0.18	0.15	0.16	0.20	0.16	0.15	0.17	0.21	0.17	0.22	0.13	0.15	0.20	0.10	0.17	0.18	0.16	0.15	0.15	0.18	0.19	0.22	0.09	0.00

جدول ۳۳: مقدار Nim محاسبه شده برای مناطق مختلف نمونه برداری ماهی قزل آلا

	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲	۱۳	۱۴	۱۵	۱۶	۱۷	۱۸	۱۹	۲۰	۲۱	۲۲	۲۳	۲۴	
۱																									
۲	2.70																								
۳	2.59	2.81																							
۴	2.48	2.51	8.38																						
۵	2.08	1.90	3.76	3.77																					
۶	2.41	2.17	4.60	4.07	5.24																				
۷	1.99	2.25	4.83	3.92	5.46	6.23																			
۸	1.79	1.69	4.69	3.75	4.50	4.99	6.77																		
۹	1.79	1.58	2.74	2.60	3.29	3.53	3.70	6.07																	
۱۰	1.76	2.03	2.99	3.69	4.82	4.12	3.16	2.44																	
۱۱	1.93	1.50	2.53	2.66	3.20	3.53	4.07	3.19	2.12	5.05															
۱۲	1.53	2.32	3.92	3.97	4.11	5.84	6.80	6.15	4.12	7.31	5.41														
۱۳	2.13	1.93	2.96	2.90	2.80	3.94	3.39	3.49	2.87	4.36	2.87	7.26													
۱۴	1.86	1.89	2.81	3.03	3.43	4.11	3.86	3.95	3.04	3.89	4.21	5.15	6.11												
۱۵	2.02	3.04	3.72	4.10	4.02	4.36	5.02	4.08	2.91	4.52	2.97	8.03	5.01	4.29											
۱۶	2.47	1.94	3.27	3.43	3.05	3.10	4.25	3.70	2.95	3.81	3.59	4.86	2.76	3.49	5.29										
۱۷	1.93	1.88	2.42	2.59	2.92	2.81	3.26	2.71	2.27	2.96	2.84	3.54	2.45	2.97	4.24	5.86									
۱۸	1.97	1.71	2.32	2.42	2.03	2.55	2.92	2.79	1.86	2.22	1.57	2.94	2.15	1.72	3.57	2.46	2.13								
۱۹	1.53	1.97	3.68	3.30	3.52	4.03	5.21	4.93	2.93	3.96	2.95	5.22	3.51	3.41	4.44	4.24	3.02	3.02							
۲۰	1.74	1.77	2.17	2.23	2.14	2.87	3.27	2.42	1.61	2.44	1.99	1.99	2.89	2.15	3.38	2.25	2.22	3.74	3.19						
۲۱	1.46	1.72	3.16	3.03	3.06	3.06	4.64	3.73	3.19	3.24	2.90	4.12	2.69	3.82	3.73	5.45	3.09	2.06	4.45	2.07					
۲۲	2.14	2.11	2.57	2.69	2.86	3.08	3.32	3.35	2.99	3.16	2.33	3.96	2.96	5.64	3.62	4.26	2.99	1.88	3.42	2.20	5.83				
۲۳	2.37	1.93	2.22	2.43	2.58	2.58	2.56	2.52	2.16	2.71	2.74	3.18	3.59	3.42	3.06	2.59	1.99	1.71	2.28	1.88	2.78	4.33			
۲۴	1.86	2.11	3.77	3.99	2.82	3.37	3.74	3.93	2.69	3.77	1.71	5.24	2.66	2.95	2.96	2.27	2.65	3.70	2.68	3.25	3.10	3.19			
۲۵	1.80	2.09	2.70	2.52	1.99	2.37	2.71	2.22	1.83	2.44	۲.۶	3.05	۲.۴	1.87	2.30	2.30	2.16	2.61	2.70	2.76	2.26	1.98	1.71	۴.۲۱	

□

جدول ۳۴: ماتریس فواصل ژنتیکی و شباهت ژنتیکی (Nei, 1972) در 10 جایگاه میکروستاتیت پلی مورفیک در مزارع نمونه برداری از ماهی قزل آلی

	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲	۱۳	۱۴	۱۵	۱۶	۱۷	۱۸	۱۹	NT۰	EY۰	۲۱	۲۲	۲۳	۲۴	
۱	0.00																									
۲	0.51	0.00																								
۳	0.49	0.47	0.00																							
۴	0.58	0.60	0.14	0.00																						
۵	0.63	0.77	0.30	0.33	0.00																					
۶	0.57	0.73	0.27	0.32	0.22	0.00																				
۷	0.75	0.68	0.25	0.35	0.23	0.20	0.00																			
۸	0.75	0.8	0.24	0.32	0.25	0.23	0.17	0.00																		
۹	0.76	0.8	0.42	0.49	0.33	0.31	0.30	0.15	0.00																	
۱۰	0.78	0.78	0.46	0.36	0.42	0.27	0.33	0.39	0.52	0.00																
۱۱	0.94	0.9	0.47	0.46	0.35	0.32	0.26	0.32	0.50	0.19	0.00															
۱۲	0.74	0.70	0.35	0.36	0.32	0.22	0.20	0.19	0.28	0.17	0.17	0.00														
۱۳	0.76	0.79	0.43	0.44	0.42	0.32	0.38	0.32	0.40	0.27	0.36	0.17	0.00													
۱۴	0.73	0.85	0.46	0.44	0.38	0.32	0.35	0.30	0.38	0.33	0.27	0.25	0.18	0.00												
۱۵	0.64	0.53	0.39	0.37	0.33	0.33	0.28	0.31	0.46	0.32	0.40	0.18	0.27	0.32	0.00											
۱۶	0.80	0.83	0.39	0.40	0.42	0.43	0.29	0.32	0.41	0.33	0.29	0.27	0.46	0.37	0.26	0.00										
۱۷	0.74	0.85	0.54	0.53	0.43	0.49	0.41	0.44	0.52	0.44	0.39	0.39	0.54	0.46	0.32	0.20	0.00									
۱۸	0.84	0.74	0.47	0.48	0.55	0.42	0.37	0.35	0.58	0.51	0.70	0.39	0.53	0.73	0.33	0.45	0.52	0.00								
۱۹	0.85	0.73	0.34	0.40	0.34	0.31	0.24	0.23	0.39	0.32	0.37	0.25	0.34	0.36	0.30	0.27	0.39	0.23	0.00							
NT۰	0.93	0.74	0.55	0.55	0.55	0.40	0.35	0.45	0.70	0.48	0.55	0.36	0.38	0.57	0.36	0.50	0.52	0.24	0.33	0.00						
EY۰	0.61	0.87	0.38	0.44	0.35	0.41	0.25	0.31	0.36	0.39	0.37	0.32	0.46	0.32	0.36	0.21	0.38	0.55	0.25	0.54	0.00					
۲۱	0.59	0.70	0.50	0.51	0.44	0.42	0.39	0.35	0.40	0.41	0.38	0.34	0.41	0.21	0.39	0.30	0.43	0.64	0.35	0.51	0.20	0.00				
۲۲	0.74	0.70	0.55	0.52	0.51	0.47	0.49	0.46	0.54	0.45	0.47	0.40	0.50	0.35	0.43	0.49	0.66	0.66	0.53	0.59	0.44	0.28	0.00			
۲۳	0.81	0.71	0.33	0.31	0.43	0.38	0.34	0.28	0.44	0.34	0.40	0.25	0.35	0.44	0.30	0.44	0.60	0.41	0.33	0.41	0.38	0.42	0.36	0.00		
۲۴	0.76	0.66	0.46	0.53	0.64	0.55	0.47	0.55	0.68	0.54	0.72	0.44	0.47	0.73	0.33	0.55	0.57	0.42	0.46	0.40	0.55	0.67	0.74	0.27	0.00	

Abstract:

In order to perform the project, 446 samples of rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) from 24 different regions in Iran were collected. About 2-3 g of caudal fin samples was collected from each specimen and preserved in absolute ethyl alcohol and then transferred to the genetic laboratory. Genomic DNA was extracted using the phenol-chloroform method and then DNA content and quality was determined using spectrophotometry and agarose gel electrophoresis, respectively. Polymerase Chain Reaction (PCR) of genomic DNA fin samples was carried out using 10 pairs of microsatellite primers. All PCR products were electrophoresed on 6% polyacrylamide gel and stained with silver nitrate. Following the scoring of alleles, all parameters including allelic frequency, effective number of allele, observed and expected heterozygosity, shanon index, measurement of similarity and genetic distance and Hardy-Weinberg equilibrium, F_{st} , R_{st} and gene flow were calculated using AMOVA analysis in the GenAlex and Popgene programs. The results showed that 8 pairs of microsatellite primers were polymorphic. In total, 50 alleles were determined with the range size of 64-280 bp. The locus omyf had maximum number of allele (26) and loci OTSG 474 and Strurruta58 had minimum number of allele (5). The observed heterozygosity was between 0.86 and 0.964. Hardy-Weinberg departure was observed for all loci from farms 18, 15, 4, E20 and 21 and were disequilibrium ($P < 0.05$). The farms 14, 8, 7 and 6 were equilibrium at 3 loci, but showed disequilibrium in other loci. The other farms were equilibrium at 1 or 2 loci and disequilibrium at 8 or 9 loci. The F_{ST} results showed that maximum F_{ST} (0.24) were between farms 1 and 11 in which had minimum of gene flow (3.7). Minimum F_{ST} (0.04) were between farms 8 and 9 in which had maximum of gene flow (346). Based on the results of AMOVA analysis, significant differences were detected between all farms ($P < 0.01$). Furthermore, based on Nei 's standard (1972) maximum genetic distance (0.89) were observed between farms 2 and 11 and maximum genetic similarity (0.15) were detected between farms 3 and 4. This result suggests that the unique genetic variation of rainbow trout in hatchery farms of Iran represents a highly valuable genetic resource and provide useful information for creating a based population in the future breeding programs.

**Ministry of Jihad – e – Agriculture
AGRICULTURAL RESEARCH, EDUCATION & EXTENSION ORGANIZATION
IRANIAN FISHERIES RESEARCH ORGANIZATION – Cold water Fishes Genetic
Research Center**

Project Title : The Creation of genetic basic population of Rainbow trout(*Onchorhynchus mykiss*) based on Study of genetic variation in brood stocks using microsatellite

Approved Number: 2-12-12-88043

Author: Einollah Gorjipoor

Project Researcher : Einollah Gorjipoor

Collaborator(s) : : Moradyan, H., Mohammadpour M., Mahdavi Jahanabad J., Hosseini A R., Gandomkar H A., Salahi M M., Mohaghegh dolatabadi.M,Bashti.T,Emanikhah.F,Zare.R,Zargham.D,Kamaei.K,Razmi.K,Karimi.H, Nekoeifard.A

Advisor(s): –

Supervisor: M.porkazemi

Location of execution : Kohgiluyeh va Boyer-Ahmad province

Date of Beginning : 2010

Period of execution : 2 Years

Publisher : *Iranian Fisheries Research Organization*

Date of publishing : 2015

All Right Reserved . No Part of this Publication May be Reproduced or Transmitted without indicating the Original Reference

**MINISTRY OF JIHAD - E - AGRICULTURE
AGRICULTURAL RESEARCH, EDUCATION & EXTENSION ORGANIZATION
IRANIAN FISHERIES RESEARCH ORGANIZATION - Cold water Fishes Genetic
Research Center**

Project Title :

The Creation of genetic basic population of Rainbow trout(*Onchorhynchus mykiss*) based on Study of genetic variation in brood stocks using microsatellite

Project Researcher :

Einollah Gorjipoor

Register NO.

44575