بهره‌برداری و پرورش آبزیان
جلد ششم، شماره چهارم، زمستان ۱۳۹۶
http://japu.gau.ac.ir

کاربرد نشانگرهای ریزماهواره و ژنوم میتوکندریایی در بررسی‌های ژنتیک جمعیت ماهیان

***ملیکا قلیچ‌پور[۱] و علی طاهری میرقائد[۲]**

[۱]دانشجوی دکتری، گروه بهداشت آبزیان، دانشگاه تهران، ایران،
[۲]دانشیار، گروه بهداشت آبزیان، دانشگاه تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۳/۱؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۳/۳۱

چکیده

حفاظت از منابع ژنتیکی در جوامع ماهیان، در درجه اول نیازمند آگاهی از میزان ذخایر توارثی و تنوع‌ژنتیکی بین افراد یک گونه و نیز نیازمند حفظ و نگهداری منابع ژنتیکی در مراکز تکثیر و جوامع وحشی یا طبیعی است. در صورت عدم مدیریت صحیح در برنامه‌های تکثیر و رهاسازی ماهیان احتمال بروز خطراتی از جمله از دست رفتن تنوع ژنتیکی درون جمعیتی، بین جمعیتی و در نهایت انقراض وجود دارد. از اهداف کلی تحقیقات ژنتیک جمعیت، تشخیص وسعت تنوع‌ژنتیکی داخل گونه‌ها و محاسبه این تنوع می‌باشد و در ژنتیک جمعیت ترکیب ژنتیکی و تکامل جوامع مختلف مطالعه می‌شود. جهت تخمین تنوع‌ژنتیکی جمعیت‌ها از نشانگرهای گوناگونی استفاده می‌شود. نشانگرهای مولکولی مبتنی بر DNA در سال‌های اخیر جایگزین مناسبی برای نشانگرهای قدیمی مورفولوژیکی و سیتوژنتیکی محسوب می‌شوند. نشانگرهای ژنوم میتوکندریایی mtDNA از گروه نشانگرهای غیرمبتنی بر PCR و نشانگرهای ریزماهواره (میکروستلایت) از گروه نشانگرهای مبتنی بر PCR، به‌دلیل مزایای متعدد هر دو نوع نشانگر که تنوع و هتروزیگوتی را به خوبی نشان می‌دهند، کاربرد فراوانی در مطالعات ژنتیک جمعیت دارند. از میان نشانگرهای مولکولی که در سطح mtDNA استفاده می‌شوند، ژن 16SrRNA به کاربرد فراوانی در بررسی‌های فیلوژنتیک ماهیان دارد. همچنین میکروستلایت‌ها در بررسی تنوع‌ژنتیکی درون و میان جمعیت‌های یک گونه بسیار ارزشمند و کارآمد می‌باشند.

واژه‌های کلیدی: ژنتیک جمعیت، نشانگرهای مولکولی، آبزیان، ریزماهواره، mtDNA

مقدمه

حیوانات و گیاهان بومی به‌عنوان سرمایه‌های ملی و ذخایراستراتژیک هر کشور محسوب می‌شوند و حفظ و تکثیر آن‌ها از ارزش و اهمیت زیادی برخوردار است. این موجودات پس از هزاران سال انتخاب طبیعی و مصنوعی و نیز گذر از موانع بسیار و با غلبه بر تمامی شرایط نامساعد محیطی همچنان به حیات خویش ادامه داده و به ازدیاد نسل پرداخته‌اند و نسبت به بسیاری از محدودیت‌های محیطی سازگاری پیدا کرده‌اند (دهقان‌زاده و همکاران، ۲۰۰٤). حفاظت

*مسئول مکاتبه: m.ghelichpour@ut.ac.ir

از منابع ژنتیکی در جوامع ماهیان، در درجه اول نیازمند آگاهی از میزان ذخایر توارثی و تنوع‌ژنتیکی بین افراد یک گونه و نیز نیازمند حفظ و نگهداری منابع ژنتیکی در مراکز تکثیر و جوامع وحشی یا طبیعی است (کاپوسینسکی، ۱۹۹۱؛ هارد، ۱۹۹۵).

در صورت عدم مدیریت صحیح در برنامه‌های تکثیر و رهاسازی ماهیان احتمال بروز خطراتی از جمله از دست رفتن تنوع ژنتیکی درون جمعیتی، بین جمعیتی و در نهایت انقراض وجود دارد. مهم‌ترین عاملی که سبب از دست رفتن تنوع‌ژنتیکی درون یک جمعیت می‌شود، عدم دقت در تعداد مولدین مورد استفاده و چگونگی آمیزش آن‌ها می‌باشد که این امر باعث کاهش سازگاری و شایستگی آن جمعیت، کاهش اندازه مؤثر جمعیت (جمعیت مولدین در نظر گرفته شده جهت فرآیند تکثیر)، افزایش درون‌آمیزی و در نهایت کاهش تنوع‌ژنتیکی درون آن جمعیت می‌شود (گیلپین و سول، ١٩٨٦).

آمیزش‌هایی که در میان ماهیان متعلق به چندین جمعیت انجام می‌شود موجب از دست رفتن وجه مشخصه و تمایز ژنتیکی هرکدام از جوامع یا هویت آن‌ها می‌گردد. در حالت طبیعی مقادیر طبیعی مهاجرت نه تنها مشکلی را ایجاد نمی‌کند بلکه میزان تنوع‌ژنتیکی بین جوامع را درحد متعادلی نگه می‌دارد. درحالی‌که با اعمال نامتناسب بسیاری از برنامه‌های تکثیر و رهاسازی، اختلاط جوامع متمایز و افزایش فشار برون‌آمیزی رخ می‌دهد که می‌تواند سبب از بین رفتن سازگاری در اثر اختلال در ترکیبات ژنی سازگار با محیط شود (هاشم‌زاده سقرلو، ۲۰۰۵).

ژنتیک جمعیت: از اهداف کلی تحقیقات ژنتیک جمعیت، تشخیص وسعت تنوع‌ژنتیکی داخل گونه‌ها و محاسبه این تنوع می‌باشد. میزان تنوع‌ژنتیکی داخل و بین جمعیت‌ها را می‌توان توسط فراوانی ژن‌ها و آلل‌ها با در نظر گرفتن عواملی مثل مهاجرت، جهش، به‌گزینی و پیشامد ژنتیکی که بر فراوانی آن‌ها اثرگذار است، تعیین کرد. طی دو دهه گذشته، مقدار زیادی از اطلاعات ژنتیکی ژنوتیپ و فراوانی آللی بسیاری از گونه‌ها به‌دست آمده که از آن جمله بسیاری از گونه‌های ماهیان بوده‌اند که به‌طور اولیه از طریق روش‌های ژنتیک مولکولی پروتئینی و DNA حاصل شده‌اند. این مطالعات نشان داده‌اند که اکثر گونه‌ها به واحدهای متمایزتر و یا تمایز یافته کمتری تقسیم می‌شوند که از نظر ژنتیکی با یکدیگر متفاوتند (سیفتسی و اکوموس، ۲۰۰۲). ژنتیک جمعیت در پاره‌ای از مباحث و زمینه‌های مدیریت شیلاتی و صیادی کاربردهایی دارد. از جمله مهمترین این کاربردها می‌توان به حفاظت از جوامع وحشی و نیز مدیریت تکثیر و رهاسازی ماهیان جهت حفظ ذخایر ژنتیکی اشاره کرد.

تنوع ژنتیکی: مطالعه تغییرات در جوامع، مشخص کننده وسعت تنوع ژنتیکی می‌باشد. فعالیت‌های انسانی که بر حرکت و مهاجرت ماهیان تاثیر دارند نظیر اصلاح زیستگاه‌ها، پیوند زدن ذخایر غیر بومی به داخل ذخایر بومی، معرفی نژادهای پرورشی و صید بی‌رویه، باعث تغییراتی در تنوع‌ژنتیکی یک جمعیت می‌گردند. عدم تنوع‌ژنتیکی می‌تواند در اثر به‌گزینی طولانی مدت، از بین رفتن هتروزایگوسیتی به‌دلیل آمیزش خویشاوندی و یا جداسازی جمعیت‌ها که باعث کاهش بقای یک جمعیت می‌شود صورت گیرد. از خطرات اصلی در زیرجمعیت‌های ماهیان، آمیزش خویشاوندی و پیشامد ژنتیکی می‌باشد که منجر به تثبیت ژن‌ها و از بین رفتن قابلیت زیست و باروری و مقاومت به بیماری شده و در نهایت نیز انهدام جمعیت‌های بومی را موجب می‌گردد. لذا بهتر آن است که هر گروه مجزایی از ماهیان به‌عنوان یک

ذخیره در نظر گرفته شود و به‌طور جداگانه کنترل گردد (فرگوسن، ۱۹۹۵).

روش‌های اندازه‌گیری تنوع ژنتیکی: جهت تخمین تنوع‌ژنتیکی جمعیت‌ها که در سطح بالاتر بیانگر تنوع زیستی می‌باشد از نشانگرهای گوناگونی استفاده می‌شود.

نشانگرهای مورفولوژیکی: نشانگرهای مورفولوژیکی به علائمی از قبیل فلس‌ها، اتولیت‌ها و ترکیب عنصری قسمت‌های مختلف بدن گفته می‌شود که به طور مستقیم در فنوتیپ جانور و گیاه قابل تشخیص و توارث‌پذیر هستند. طول کل، طول چنگالی، طول پوزه، ارتفاع سر، قطر چشم، و ... چند نمونه از صفات مرفولوژیک قابل اندازه‌گیری در ماهیان می‌باشند. اگر چه نشانگرهای مورفولوژیکی به‌طور سنتی در علوم زیستی مورد استفاده قرار گرفته‌اند ولی دارای محدودیت‌های اساسی همچون تعداد کم این نشانگرها، دقت کم، تأثیرپذیری شدید از محیط، مرحله رشد و سن و وجود غالبیت در بروز می‌باشند. اساس و تفسیر ژنتیکی بسیاری از این نشانگرها نامشخص بوده و شناسایی افراد ناخالص از خالص ممکن نیست، اما به‌دلیل ساده و کم هزینه بودن و عدم نیاز به امکانات پیچیده و گران قیمت برای اندازه گیری‌ها محققین بسیاری از این نشانگرها استفاده می‌نمایند.

نشانگرهای سیتوژنتیکی: وجود اختلاف در شکل، اندازه و تعداد کروموزم‌ها می‌تواند بیانگر وجود اختلاف ژنتیکی باشد. بنابراین این نشانگرها نمایانگر تنوع در ساختمان کروموزوم‌ها می‌باشند. تلوسانتریک‌ها، ایزوکروموزم‌ها، جابجایی و الگوهای بایندینگ از این گروه هستند. مطالعات سیتوژنتیکی به منظور مقایسه اختلافات موجود بین افراد یک گروه وآشکار شدن مسیر تکاملی تغییرات در کروموزم‌های تشکیل دهنده ژنوم، تفکیک گونه‌ها و بعضا جمعیت‌های مختلف از نظر تعداد و نوع کروموزوم‌ها انجام می‌گیرد (فرگوسن، ۱۹۹۵).

نشانگرهای مولکولی: هرگونه تفاوت در ترتیب نوکلئوتیدی DNA که از والدین به نتاج قابل انتقال باشد به‌عنوان نشانگر مولکولی به‌کار گرفته می‌شود و به دو دسته نشانگرهای مبتنی‌بر پروتئین و نشانگرهای مبتنی بر DNA تقسیم می‌شوند.

نشانگرهای پروتئینی: نشانگرهای پروتئینی به دو گروه آنزیمی و غیرآنزیمی تقسیم می‌شوند. از نشانگرهای غیرآنزیمی می‌توان به هموگلوبین و ترانسفرین اشاره کرد (فرگوسن، ۱۹۹۵). نشانگرهای آنزیمی به سرعت جایگزین نشانگرهای غیرآنزیمی شدند و با نام نشانگرهای آلوزایم شهرت یافتند. آنزیم‌ها ممکن است بیش از یک فرم مولکولی داشته باشند. به اشکال مولکولی متفاوت یک آنزیم در یک فرد ایزوزیم گفته می‌شود. محصولات ایزوزایم دو آلل متفاوت در یک جایگاه ژنی، به عنوان آلوزایم شناخته می‌شوند. به‌عبارت بهتر آلوزایم‌ها به زیر گروهی از ایزوزایم‌ها اطلاق می‌شوند که از آلل‌های مختلف یک جایگاه ژنی معین ایجاد می‌شوند. از عیوب نشانگرهای پروتئینی می‌توان به نیاز به مقدار زیادی نمونه تازه یا تازه فریزشده (کشتن موجود زنده)، پلی‌مورفیسم پایین، محدودیت روش‌های رنگ‌آمیزی و مشکل بودن آنالیز داده‌ها به‌خصوص در پلی‌پلوئیدها اشاره کرد (فرگوسن، ۱۹۹۵).

نشانگرهای DNA: این نشانگرها ژنوتیپ موجودات را توصیف می‌کنند و در نتیجه توالی‌های کدکننده و غیر کدکننده را در بر می‌گیرد. بررسی این‌گونه تفاوت‌ها که فقط از طریق تجزیه و تحلیل مستقیم توالی DNA امکان‌پذیر است را نشانگرهای مولکولی در سطح DNA می‌گویند. انواع مختلفی از مارکرهای

ملکولی DNA هم اینک به‌صورت گسترده در تعیین ژنتیک آبزیان مورد استفاده قرار می‌گیرند. این مارکرها شامل Mitochondrial DNA (mtDNA)، Randomly Amplified Polymorphic DNA یا RAPD، Amplified Fragment Length Polymorphism یا AFLP، Restriction Fragment Length Polymorphism یا RFLP و در آخر مارکرهای ریزماهواره (میکروستلایت) قرار می‌گیرند که این مارکرها تنوع را به‌صورت گسترده‌تری نشان می‌دهند (لیو و کوردز، ٢٠٠٤).

مارکرهای ملکولی به‌صورت عمده در دو گروه قرار می‌گیرند. گروه اول شامل مارکرهایی هستند که نقاط خاصی از ژنوم موجود را با فعالیت مشخص پوشش داده و ردیابی می‌کنند (مارکرهای نوع اول)، ودیگر مارکرها آن‌هایی هستند که نقاطی از ژنوم را با فعالیت نامشخص پوشش می‌دهند و در اصطلاح به آن‌ها مارکرهای رندوم می‌گویند (مارکرهای نوع دوم). بر پایه این طبقه‌بندی، مارکرهای RFLP در گروه اول قرار می‌گیرند زیرا نقاط خاصی از ژنوم موجود را با استفاده از آنزیم‌های محدود الاثر میتوان ردیابی کرد. بنابراین مارکرهای آلوزایمی هم در این گروه قرار می‌گیرند زیرا پروتئین‌هایی را با عملکرد مشخص ردیابی می‌کنند. مارکرهای RAPD، AFLP و میکروستلایت از آنجائیکه نقاط غیر مشخصی از ژنوم موجود را شناسایی و ردیابی می‌کنند در گروه دوم از این طبقه‌بندی قرار می‌گیرند (لیو و کوردز، ٢٠٠٤).

جدول ١- دسته‌بندی نشانگرهای DNA.

مبتنی بر PCR	غیرمبتنی بر PCR
RAPD AFLP Microsatellite	mt DNA RFLP

نشانگرهای mtDNA و RFLP مواد ژنتیکی خارج کروموزومی بوده در حالی‌که نشانگرهای مبتنی بر PCR مواد ژنتیکی کروموزومی می‌باشند. از میان نشانگرهای مولکولی، نشانگرهای میکروستلایت و ژنوم میتوکندریایی به‌دلیل مزایای متعدد کاربرد گسترده‌تری در مطالعات ژنتیک جمعیت و بررسی تنوع‌ژنتیکی درون و بین جمعیتی دارند (بروفرد و همکاران، ٢٠٠٣).

جدول ٢- مقایسه خصوصیات چند نشانگر DNA.

مبنای مقایسه	RFLP	RAPD	AFLP	Microsatellite
چگونگی کاربرد	کند	خیلی سریع	کند	خیلی سریع
سلامتی	مواد رادیواکتیو	مطمئن	ژل پلی اکریل آمید	ژل پلی اکریل آمید
کمیت DNA	بالا	پایین	پایین	پایین
کیفیت DNA	بالا	بالا	بالا	پایین
نیاز به دانستن توالی	خیر	خیر	خیر	بله
تشخیص جهش نقطه‌ای	مشکل	خیر	خیر	خیر
میزان چندشکلی	بالا	بالا	پایین	بالا
فنوتیپ مولکولی	همبارز	غالب	همبارز	همبارز
نیاز به موجودزنده	خیر	خیر	خیر	خیر
تکرارپذیری	تقریبا ٩٥ درصد	متوسط	بالا	صد در صد

نشانگر میتوکندریایی mtDNA: عموما mtDNA ماهیان هوموپلاسمیک است به این مفهوم که تمامی مولکول‌های یک موجود با هم مشابه می‌باشند و از این‌رو می‌توان هر بافتی را به‌عنوان منبع DNA در تهیه بانک ژن به‌کار برد. جداسازی و تخلیص mtDNA نسبتا آسان است زیرا در هر سلول چند نسخه از آن وجود دارد (برون، ۱۹۸۳). تعداد زیاد نسخه به ازای هر سلول (تقریبا ۱۰۰۰ نسخه و بیشتر)، اندازه کوچکتر mtDNA از DNA ژنومی، وراثت‌پذیری مادری، هاپلوئید بودن و عدم وجود نوترکیبی سبب شده تا mtDNA به نشانگر ژنتیکی کارآمدی برای بررسی‌های سیستماتیک مولکولی، ژنتیک جمعیت و بررسی روابط شجره‌ای گونه‌های خویشاوند نزدیک، تبدیل شود. همچنین امتیاز دیگر DNA میتوکندریایی این است که سرعت جایگزینی نوکلئوتیدها در mtDNA مهره‌داران عالی تقریبا ۵ تا ۱۰ برابر بیشتر از ژنوم هسته است. بنابراین mtDNA شامل تنوع بیشتری در توالی بازهای آلی است که در نتیجه تشخیص گونه‌های کاملا وابسته را امکان‌پذیر می‌کند (نادری و همکاران، ۲۰۰۷).

با توجه به این‌که ژنوم میتوکندری از طریق مادری به ارث می‌رسد پدیده کراسینگ اور و نوترکیبی در آن صورت نمی‌گیرد و بدین ترتیب اختلاف ژنتیکی بیشتری در ژنوم میتوکندری نسبت به ژنوم هسته صورت می‌گیرد. از این رو برای تشخیص گروه‌هایی از موجودات که برای سال‌ها از هم جدا بوده‌اند نشانگر خوبی می‌باشد. ژنوم میتوکندریایی یا mtDNA به‌طور گسترده‌ای در بررسی جمعیت‌های گونه‌های مختلف آبزیان مورد استفاده قرار می‌گیرد و کارایی خوبی در بررسی تنوع‌ژنتیکی و جداسازی جمعیت‌ها، مدیریت صید و ارتباط فایلوژنی و تهیه بانک ژن، بررسی تغییرات درون جمعیتی و بین جمعیتی افراد در سطح گونه و جنس و نیز مطالعات تاکسونومی دارد. در برنامه‌های بازسازی ذخایر نیز که بر برنامه‌های رهاسازی استوارند، تنوع mtDNA برای ارزیابی بقا و رشد ماهیان رهاسازی شده استفاده می‌شود و به کمک آن می‌توان ماهیان ساکن و ماهیان رهاسازی شده را تفکیک و شناسایی نمود (بیلینگتن و هبرت، ۱۹۹۱). متداول‌ترین نشانگرهای مولکولی که در سطح mtDNA استفاده می‌شوند شامل 16SrRNA، 12SrRNA، COI، ژن سیتوکروم b و ناحیه کنترلی (D-Loop) هستند. از میان این ژن‌ها، ناحیهٔ 16SrRNA به‌دلیل بالا بودن تعداد کپی این مولکول، پایداری آن در سلول، تکامل تدریجی و آهسته آن و نیز حفاظت شده بودن آن، در بررسی‌های فیلوژنتیک ماهیان کاربرد دارد (پیج و هولمز، ۱۹۹۸). امروزه توالی‌یابی mtDNA در بررسی روابط شجره‌شناسی ماهیان از زمینه‌های مهم تحقیقاتی محسوب می‌شود. البته نوع توالی مورد استفاده به سطح شجره‌شناسی فرضیه مورد آزمون بستگی دارد. به این شکل که توالی‌های با سرعت تکامل متوسط (مانند سیتوکروم b) برای بررسی روابط بین جنس‌ها استفاده می‌شوند در حالی‌که ژن‌های دارای سرعت تکامل کند مانند ژن‌های 12S و 16S RNA ریبوزومی و COI را می‌توان برای مقایسه در سطح خانواده‌ها استفاده نمود (استپین و کوچر، ۱۹۹۷). ژن 16sRNA یکی از نواحی بسیار متغیر در ژنوم میتوکندریایی می‌باشد که می‌توان با استفاده از تکنیک توالی‌یابی این ناحیه، تنوع‌ژنتیکی را بررسی نمود. توالی‌یابی میتوکندریایی با مقایسه نوکلئوتیدها و مشخص شدن اختلاف بین توالی‌های مختلف تعیین می‌گردد. ژنوم میتوکندری هر گونه از بی‌مهرگان که تا به امروز مورد بررسی قرارگرفته، با گونه دیگر متفاوت بوده است. در بسیاری از گونه‌های ماهیان mtDNA

دارای تغییرات قابل ملاحظه‌ای بوده و این تغییرات را می‌توان مبنای تفکیک ذخایر قرار داد (براون، ۲۰۰۸).

کلنگی و همکاران در سال ۲۰۱۵ با استفاده از توالی‌یابی ژن سیتوکروم b ژنوم میتوکندریایی (mtDNA)، تنوع ژنتیکی ماهی سفید را در برخی از رودخانه‌های حوضهٔ جنوبی دریای خزر بررسی کردند. نتایج نشان داد که در بین نمونه‌های مختلف ماهی سفید فاصلهٔ ژنتیکی بسیار کمی وجود دارد و همهٔ نمونه‌ها براساس درخت فیلوژنیک در یک شاخه قرار گرفتند.

نشانگر ریزماهواره (میکروستلایت): واژه ریزماهواره Simple Sequence Repeats (SSR) در سال ۱۹۸۵ توسط جفی مطرح گردید و مفهوم آن توالی کوتاه تکرار شونده است که در ژنوم بیشتر یوکاریوت‌ها پراکنده می‌باشد. علت اصلی کاربرد این نشانگرها قدرت آن در حل مشکلات بیولوژیکی و تجزیه تحلیل‌های جمعیتی و همچنین مطالعات اکولوژیکی است. در واقع ریزماهواره‌ها توالی‌هایی از یک قطعه اصلی (٦-١ جفت باز) می‌باشند که چندین بار در کنار هم تکرار شده‌اند. اگر این تکرارها به اندازه کافی بلند و پشت سرهم باشند، به‌علت پلی‌مورفیسم بالا نشانگرهای ژنتیکی خوبی خواهند بود (لیو و کوردس، ٢٠٠٤). معمولاً در هر کیلو جفت باز از ردیف DNA دست کم یک ردیف ریزماهواره دیده می‌شود. ردیف‌های ریزماهواره‌ای غیرپایدارند و با کاهش یا افزایش واحدهای تکرارشونده دچار تغییرات فراوان در طول می‌شوند. ریزماهواره‌ها نخستین بار در ژنتیک انسانی برای تشخیص برخی از بیماری‌هایی که با تغییر تعداد واحدهای تکرار شونده ریزماهواره‌ها همراه بودند، استفاده شدند. تنوع در تعداد و مکان تکرار ریزماهواره‌ها که به کمک PCR و الکتروفورز قابل آشکارسازی‌اند، موجب شده است که از ریزماهواره‌ها به‌عنوان ابزار مولکولی با پتانسیل بسیار زیاد برای تشخیص‌های مولکولی در آزمایشگاه‌ها استفاده شود. ریزماهواره‌ها با توجه به سیستم چندآللی و چندشکلی بسیار زیادی که دارند از نشانگرهای امیدبخش برای آینده محسوب می‌شوند. گرچه شناسایی و تعیین ردیف بازی ریزماهواره‌ها پیچیده و پرهزینه است، ولی به مرور زمان و با تلاش و همکاری آزمایشگاه‌های مختلف در گوشه و کنار جهان، دیر یا زود تعداد زیادی از ریزماهواره‌ها شناسایی و جایگاه ژنی آن‌ها تعیین خواهد شد. به نظر می‌رسد ریزماهواره‌ها گزینه مناسب برای نشانه‌دار نمودن ژن‌ها و انتخاب به کمک نشانگرها باشند. البته تردیدهایی برای استفاده از این نشانگر در رده‌بندی و مطالعات فیلوژنتیک به‌ویژه در سطوح بالاتر از گونه وجود دارد که احتمال استفاده از آن‌ها را در این قبیل مطالعات ضعیف می‌کند (نقوی و همکاران، ۲۰۰۸).

این نشانگر نیز همانند سایر نشانگرها مزایا و معایبی دارند. از مزایای آن می‌توان به توارث همبارز آن‌ها و تبعیت از توارث ساده مندلی، فراوانی آن‌ها در ژنوم یوکاریوت‌ها، پراکندگی یکنواخت در سطح ژنوم موجودات عالی، تنوع و چندشکلی بالای ریزماهواره‌ها، قابلیت استفاده از نشانگرهای ریزماهواره گونه‌های بسیار نزدیک و نیاز به میزان بسیار کمی DNA جهت تکثیر ریزماهواره‌ها در واکنش زنجیره‌ای پلیمراز نام برد (اوریلی و ویرایت، ۱۹۹۵).

با توجه به این‌که طراحی و ساخت آغازگرها نیاز به تعیین توالی دارد، مکان‌یابی ژن‌ها در برخی از موجودات به‌دلیل تنوع تعداد ریزماهواره‌های شناخته شده محدودیت دارد و همچنین مواردی مانند اشتباهات آلل خوانی، ایجاد آلل‌های صفر و همین‌طور هموپلاسی اندازه یا تشابه ساختمانی در اندازه، استفاده

از ریزماهواره‌ها عاری از عیب و مشکل نمی‌باشد (اوریلی و ویرایت ، ۱۹۹۵).

مطالعات متعددی بر روی ژنتیک جمعیت گونه‌های ماهیان با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره صورت گرفته است. قلیچ‌پور و همکاران در سال (۲۰۱۱) تنوع‌ژنتیکی ماهی کپورمعمولی (*Cyprinus carpio*) را با استفاده از نشانگر ریزماهواره و به‌کارگیری ۸ پرایمر در مناطق قره‌سو و انزلی بررسی کردند. نتایج حاصل از ترسیم دندروگرام بر اساس فاصلهٔ ژنتیکی نشان داد که احتمالا دو جمعیت مورد بررسی مجزا می‌باشند. رضوانی و همکاران (۲۰۱۲) نیز ساختار ژنتیکی ماهی سفید (*Rutilus frisii kutum*) تالاب انزلی را با استفاده از نشانگر میکروستلایت مورد بررسی قرار دادند.

جدول ۳- خلاصه‌ای از قدرت کارایی نشانگر میتوکندریایی mtDNA و نشانگر ژنومی Microsatellite.

تکنیک	Microsatellite	mtDNA
شناسایی فردی	+++	+
خویشاوندی	+++	+
ژنتیک جمعیت	+++	++
ذخایر	+++	+++
بین گونه‌های خویشاوند نزدیک	+	+++
شناسایی گونه‌ها	+	+++
نسبت‌های فیلوژنتیک	-	+++

می‌توان چنین نتیجه گرفت که نشانگرهای ریزماهواره نسبت به نشانگرهای mtDNA، تنوع را در سطح فرد و جمعیت بهتر نشان می‌دهند در حالی‌که نشانگرهای میتوکندریایی جهت بررسی‌های تنوع ژنتیکی در سطح گونه‌ها و نسبت‌های فیلوژنی بهتر عمل می‌کنند.

منابع

1. Billington, N., and Hebert, P.D.N. 1991. Mitochondrial DNA diversity in fishes and its implications for introductions. Canadian Journal of Fish and Aquatic Science, 48: 80-94.
2. Brown, W.M. 1983. Evolution of animal mitochondrial DNA. Pp: 62-88 in M. NEI and R.K. KOEHN, eds. Evolution of genes and proteins. Sinauer, Sunderland, Mass.
3. Bruford, M., Bradley, D., and Luikart, G. 2003. DNA markers reveal the complexity of livestock domestication. Journal of Nature Reviews Genetics, 3: 900-910.
4. Ciftci, Y., and Okumus, I. 2002. Fish Population Genetics and Applications of Molecular Markers to Fisheries and Aquaculture: I-Basic Principles of Fish Population Genetics. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Science, 2: 145-155.
5. Dehghanzadeh, H., Mirhoseini, S.Z., and Shadparvar, A. 2004. The investigation of genetic diversity in Iranian native hens using RAPD markers. Journal of Pajuhesh and sazandegi, 17: 2-9.
6. Fergusen, M. 1995. The role of molecular genetic markers in the management of cultured fish. G.R. Carvalhoand, T.J. Pitcher (Eds.), Molecular Genetics in Fisheries. Chapman and Hall, London: 81-104.

7. Ghelichpour, M., Shabani, A., and Shabanpour, B. 2011. Genetic diversity of the two populations of Common carp (*Cyprinus carpio*) in Gharahsoo and Anzali regions using eight microsatellite markers. Journal of Taxonomy and biosystematics, 5: 41-48.
8. Gilpin, M.E., and Soule, M.E. 1986. Minimum viable populations: processes of species extinctions. M.E. Soule (end). Conservation Biology: The science of scarcity and diversity. Sinauer Assotiates, Sunderland, Massachusetts. 19-34p.
9. Hard, J.J. 1995. Genetic monitoring of life-history characters in salmon supplementation: problems and opportunities. American fisheries society symposium. Vol15. 212-225p.
10. Hashamzadeh Sagharlu, I. 2005. The application of population genetic in fisheries (2nd part). Naghshemehr publication (translated book), 152p.
11. Kapuscinski, A.R. 1991. Genetic analysis of policies and guidelines for salmon and steelhead hatchery production in the Columbia River Basin. Prepared for the Northwest.
12. Kolangi Miandareh, H., Shabani, A., and Hojati, M. 2015. The study of genetic diversity of *Rutilus Kutum* (Kamensky, 1901) in some rivers of southern Caspian sea using sequence of cytochrome b in mitochondrial DNA (mtDNA). 2015. Journal of applied Ichthyological research, 2: 1-12.
13. Liu, Z.J., and Cordes, J.F. 2004. DNA marker technologies and their applications in aquaculture genetics. Aquaculture, 238: 1-37.
14. Naderi, S., Rezaei, H.R., Taberlet, P., Zundel, S., Rafat, S.A., Naghash, H.R., Elbarody, M.A.A., Ertugrul, O., and Pompanon, F. 2007: Large-scale mitochondrial DNA analysis of the domestic goat reveals six haplogroups with high diversity. PLoS ONE, 2: 10, e1012.
15. Naghavi, M.R., Gharehyazi, B., and Hoseini salkadeh, G. 2008. Molecular markers (2nd edition). Tehran university publications. 334p.
16. Oreilly, P.T., and Wiright, J.M. 1995. The Evolving Technology of DNA Fingerprinting and its Application to Fisheries and Aquacultures. Fish Biology, 47: 29-55.
17. Page, R.D.M., and Holmes, E.C. 1998. Molecular Evolution: A Phylogenetic Approach. Blackwell Scientific Publications, Oxford.
18. Rezvani Gilkolaei, S., Kavan, S.L., and Safari, R. 2012. A Study of Genetic Structure of *Rutilus frisii kutum* in Anzali Lagoon, using Microsatellite markers. Journal of Agriculture Science and Techonoly, 14: 327-337.
19. Stepien, C.A., and Kocher, T.D. 1997. Molecules and morphology in studies of fish evolution. In: Molecular Systematics of Fishes (eds Kocher TD, Stepien CA), 1-12. Academic Press, San Diego, CA.