

اثر سد شهید رجایی بر تنوع و تمایز ژنتیکی سیاه ماهی (*Capoeta capoeta gracilis*) در رودخانه تجن ساری با استفاده از انگشت نگاری RAPD

حسین انوری فر^۱، حمید فرحمند^{۲*}، محمدعلی نعمت‌اللهی^۲، حسین رحمانی^۳، محمود کرمی^۴ و بیتا خلیلی^۵

^۱ کارشناس ارشد شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، ایران

^۲ استادیار دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، ایران

^۳ استادیار دانشکده علوم دام و شیلات، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران

^۴ استاد دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، ایران

^۵ کارشناس آزمایشگاه بیوتکنولوژی دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، ایران

(تاریخ دریافت: ۸۸/۸/۱۷، تاریخ تصویب: ۸۹/۱۰/۱۸)

چکیده

این مطالعه به منظور بررسی تنوع و تمایز سیاه ماهی در رودخانه تجن ساری که سد شهید رجایی در آن احداث گردیده، طراحی شده است. در مجموع ۶۶ قطعه ماهی که ۳۵ قطعه آن مربوط به ایستگاه بالا دست و ۳۱ قطعه آن مربوط به ایستگاه پایین دست سد شهید رجایی بود، توسط دستگاه الکتروشوکر، صید و پروفیل DNA این ماهی توسط مارکر RAPD ثبت گردید. از بین ۱۰ پرایمر ۱۰ نوکلئوتیدی، تعداد ۶ پرایمر با الگوی نواری تکرار پذیر انتخاب شد. در مجموع ۸۹ نوار پلی مورف (نشانگر) به دست آمد که دامنه قطعات تکثیری بین ۵۰-۱۰۰۰ bp متغیر بود. نتایج مطالعات ژنتیکی توسط مارکر RAPD نشان داد که میانگین فاصله ژنتیکی این دو جمعیت که بر اساس ماتریکس تشابه و ضریب جاکارت محاسبه شد، ۰/۴۸۷ می‌باشد و از آنجا که مرز تعیین گونه و زیر گونه فاصله ژنتیکی ۰/۵ می‌باشد، استنتاج شد که این دو جمعیت تا حد بسیار بالایی از یکدیگر انشقاق یافته‌اند. نتایج حاصل از آنالیز مولفه‌های اصلی مختصات (PCOA) نیز توانست این دو جمعیت را از یکدیگر متمایز نماید. رسم دندروگرام UPGMA بر اساس ضریب جاکارت نشان داد که این دو جمعیت از یکدیگر متمایز است. با توجه به نتایج این بررسی بیان می‌شود که انگشت نگاری RAPD روشی مناسب برای تعیین تمایز ژنتیکی سیاه ماهی می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: سیاه ماهی، *Capoeta capoeta gracilis*، انگشت نگاری RAPD، تمایز ژنتیکی، رودخانه تجن، سد شهید رجایی

مقدمه

رود تجن یکی از مهمترین رودخانه‌های استان مازندران و حوزه جنوبی دریای خزر است که با سرچشمه گرفتن از ارتفاعات شمال البرز شرقی و مرکزی با عبور از مناطق کوهستانی پوشیده از جنگل، پس از گذر از شهر ساری به دریای خزر می‌ریزد (Saeidi *et al.*, 2007). این رود دارای آب دائمی است و حدود ۳۰ کیلومتر درازا دارد و میانگین آب ورودی از طریق آن به دریای خزر در حدود ۱۹/۴ متر مکعب در ثانیه گزارش شده است (Mazandaran Regional Water Company, 2001). سد شهید رجایی بر روی این رودخانه احداث شده که طبق طبقه‌بندی McAllister و همکاران (2001) جزو سدهای بسیار بزرگ محسوب می‌شود. این سد بر روی رودخانه دودانگه در محلی به نام تنگه سلیمان واقع در ۴۱ کیلومتری جنوب شهر ساری در ارتفاعات البرز شمالی قرار دارد (Nazariha and Alinezhad, 1999). در رود تجن ساری حدود ۱۰ گونه ماهی زیست می‌کند و سیاه ماهی (*Capoeta capoeta gracilis*) یکی از آنها محسوب می‌شود (AnvariFar, 2010) و به دلیل پراکنش بسیار گسترده‌ای که دارد برای این مطالعه انتخاب شد. این ماهی از خانواده Cyprinidae و بومی ایران است که در تمام رودهای آب شیرین حوزه جنوبی دریای خزر و دریاچه ارومیه پراکنش دارد (Mostafavi and Abdoli, 2005) بر همین اساس ماهی چیره در حوزه جنوبی دریای خزر به شمار می‌رود (Samaee *et al.*, 2009). جنس سیاه ماهی (*Capoeta spp.*) از مرکز تا غرب آسیا پراکندگی دارد که این پراکنش شامل کشور های ترکیه، آذربایجان، افغانستان، ارمنستان، گرجستان، عراق، ایران، فلسطین اشغالی و ازبکستان می‌شود (Turan, 2008). این ماهی در دریاچه‌ها تا عمق ۳۵ متری و در رود خانه‌ها در بسترهای قلوه سنگی، شنی و بر روی گیاهان آبی زیست و تخم ریزی می‌کند (Valipor, 2003) و در تمام طول رودهایی با جریان آب سریع و کند یافت می‌شود (Turan, 2008) و یک ماهی پوتامودروموس است (Samaee *et al.*, 2009). رژیم غذایی سیاه ماهی گیاهخواری است بطوریکه از گیاهان پست، پریفیتون ها و مواد پوسیده گیاهی (پوده) تغذیه می‌کند.

تاثیر انسان بر اکوسیستم رودخانه‌ها بسیار قابل توجه است برای مثال ۷۷ درصد رودخانه‌ها در شمال امریکا، شمال مکزیک، اروپا و اتحادیه جماهیر شوروی سابق به وسیله سدها متاثر شده‌اند (Dynesius & Nilsson, 1994). تغییرات شرایط محیطی با اثر بر روی صفات ریختی ماهی سبب تغییرات ژنتیکی می‌شود (Tudela, 1999). سدها از جمله مهمترین سازه‌هایی است که سبب تغییرات شرایط محیطی رودخانه‌ها می‌شود. اثر سدها با تاثیرات بنیادی در تنوع و گوناگونی جانوران اکوسیستم‌ها همراه است (Craig, 2001) که این اثرات خود باعث ایجاد تفاوت‌هایی در ماهیان بالا و پائین سد می‌شود (McAllister *et al.*, 2001). سدها و دریاچه پشت آنها بر روی تنوع زیستی ماهیان آب شیرین از طریق مسدود کردن مسیر مهاجرت گونه‌ها به سمت بالا و پایین رود (که این عامل خود موجب نابودی یا محدود شدن ذخایر ژنتیکی گونه‌ها می‌شود)، تغییر در میزان کدورت و نیز سطح رسوب (ماهیان و یا اکوسیستم‌ها به سطوح خاصی از کدورت و رسوب که در طبیعت وجود دارد سازگار شده‌اند و سیلت موجود در آب ورودی به دریاچه سدها در پشت سد انباشته می‌شود و در نتیجه مواد مغذی و مواد موجود در این آب به دلتاها و مصب‌هایی که در پایین دست وجود دارد نمی‌رسد در نتیجه در حاصلخیزی اکوسیستم‌ها تاثیر می‌گذارد)، فیلتر کردن خار و خاشاک چوبی موجود در آب (این خار و خاشاک خود علاوه بر شرکت در زنجیره غذایی، زیستگاه مناسبی برای گونه‌ها است)، تغییر در شرایط سیلابی رودخانه به وسیله دریاچه پشت سد (آب ورودی در دریاچه پشت سد می‌ماند تا اینکه سیلت آن ته نشین شده و طبقه‌بندی دمایی و اکسیژنی در آن ایجاد شود که اگر آب این دریاچه‌ها باز شود شرایط نامناسبی را برای گونه‌های رود ایجاد می‌کند)، پرورش گونه‌های غیر بومی ماهی در دریاچه‌های پشت سد (احتمالا گونه‌های غیر بومی به-تدریج جایگزین گونه‌های بومی می‌شود)، اصلاح کیفیت آب خروجی و الگوی جاری شدن آنها و ... اثر می‌گذارد (McAllister *et al.*, 2001).

هتروزیگوت و هموزیگوت غالب و تکرار پذیری ضعیف باندها اشاره نمود (Welsh & McClelland, 1990). اثرات سدها شامل تغییرات پایه‌ای در جامعه جانوری و تنوع زیستی اکوسیستم رودخانه است. در پایین دست سدهای بزرگ، اغلب تاثیرات منفی است زیرا مسیر مهاجرت ماهی‌ها به بالای رودخانه به وسیله سد قطع می‌شود. در بالادست سد تاثیرات به این گستردگی نیست و مثال هایی وجود دارد که نشان می‌دهد تعداد گونه‌ها در بالای دست سد افزایش می‌یابد (Gertsev & Gertseva, 1995; Poddubny & Galat, 1999). بر اساس تحقیقات انجام شده بر روی رودخانه‌ها و سدهای مربوط به آنها در شش منطقه جغرافیای از جهان که Craig (2001) انجام داد مشخص شد که در ۲۷ درصد موارد اثر مثبت است و در ۷۳ درصد موارد سدها تاثیر منفی بر روی تنوع زیستی ماهیان دارند. شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد سیاه ماهی در رودخانه‌های مختلف از یکدیگر به دلیل جدایی جغرافیایی جدا شده‌اند (Samaee et al., 2009; Samaee, 1982; Bianco & Banarescu, 2006; et al.). با وجود اینکه ثابت شده جدایی جغرافیایی سبب تمایز جمعیت‌های *Capoeta capoeta gracilis* می‌شود ولی تا به حال روی جدایی جغرافیایی که به دلیل ساخت سد در یک رودخانه رخ می‌دهد، هیچ مطالعه ژنتیکی در ایران صورت نگرفته است.

مواد و روش‌ها

این مطالعه بر روی رودخانه تجن ساری که سد مخزنی شهید رجایی در آن واقع شده، صورت گرفته است. در این مطالعه دو ایستگاه یکی در بالا دست سد (ایستگاه شماره ۱) و دیگری در پایین دست سد (ایستگاه شماره ۲) انتخاب شد که هر دو ایستگاه در مسیر اصلی رود تجن قرار دارد. ایستگاه بالا دست سد دارای موقعیت جغرافیایی ۳۶ درجه و ۱۱ دقیقه و ۲۴/۹۱ ثانیه عرض شمالی و ۵۳ درجه و ۱۹ دقیقه و ۲۳/۱۳ ثانیه طول شرقی و ایستگاه پایین دست سد ۳۶ درجه و ۱۶ دقیقه و ۱۵/۳۶ ثانیه عرض شمالی و ۵۳ درجه و ۱۲ دقیقه و ۵۱/۴۴ ثانیه طول شرقی است (شکل

همچنین به لحاظ دارا بودن جیره غذایی ویژه فاقد رقابت غذایی با دیگر گونه‌های ماهیان در بسیاری از رودها و دریاچه است (Mostafavi and Abdoli, 2005). این گونه از لحاظ ماهیگیری در آب های داخلی، آبی پروری، صید ورزشی و مطالعات جغرافیای جانوری نیز حائز اهمیت است (Sammaee et al., 2006).

این مطالعه با هدف ارزیابی اثر سد شهید رجایی بر تنوع و تمایز ژنتیکی سیاه ماهیان بالادست و پایین دست رود تجن صورت پذیرفت. یکی از روش های مولکولی مورد استفاده در تعیین تنوع و تمایز، تشخیص گونه‌ها، زیر گونه‌ها، جمعیت‌ها و جنس‌ها تکنیک تکثیر تصادفی قطعات چند شکلی DNA (RAPD) است (Gharaei et al., 2005). این روش نخستین بار در سال ۱۹۹۰ میلادی توسط دو گروه به صورت همزمان کشف شد (Welsh and McClelland, 1990; Williams et al., 1990). تکنیک RAPD در مقایسه با روش های دیگر مبتنی بر DNA بسیار ساده تر است و نیازی به اطلاعات اولیه در مورد DNA برای طراحی پرایمر ندارد. روش RAPD شامل تکثیر قطعاتی از DNA با استفاده از پرایمر توسط PCR است که منجر به تولید مجموعه قطعات DNA یا همان انگشت نگاری^۱ می‌شود. در واقع انگشت نگاری RAPD بررسی این قطعات تولید شده توسط PCR است (Rehnuma et al., 2003; Anvarifar, 2009; Farahmand, 2009). RAPD توان بالقوه‌ای برای شناسایی پلی مورفیسم‌ها دارد که به نسبت بالا است همچنین این مارکر دارای مزایای نشانگر های مبتنی بر PCR است و وراثت مندلی به شکل غالب^۲ دارد که به صورت حضور/عدم حضور امتیاز دهی می‌شود (Liu and Cordes, 2004). از مزایای دیگر این روش می‌توان به سرعت بالای آن، عدم به کار گیری مواد رادیو اکتیو، نیاز به مقدار ناچیزی DNA و به کار بردن آغازگرهای یکسان برای گونه‌های مختلف و از معایب آن می‌توان مشکل بودن در توضیح وراثت مندلی لوکاس‌ها و ناتوانی در تشخیص بین

۱- Fingerprinting

۲- dominant

پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت الکل آنها تعویض شد. در مجموع تعداد ۶۶ قطعه ماهی نمونه برداری شد که از این تعداد ۳۵ نمونه ماهی مربوط به ایستگاه بالا دست و ۳۱ نمونه ماهی مربوط به ایستگاه دوم بود.

۱). در این بررسی نمونه برداری از ماهیان با استفاده از دستگاه الکتروشوکر با قدرت ۱ وات و با جریان مستقیم و ولتاژ ۲۰۰-۳۰۰ ولت انجام گرفت. برای انجام مطالعات مولکولی باله‌های سینه‌ای و شکمی یک سمت ماهی (سمت راست) پس از صید جدا شده و در الکل ۹۶ درصد تثبیت و



شکل ۱- موقعیت مکان‌های نمونه‌گیری در بالا دست (۱) و پایین دست (۲) سد شهید رجایی در رود تجن (برگرفته شده از Samaee et al., 2009)

سانتیگراد قرار داده شد و پس از آن، میکروتیوب‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در آب با دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد، بر روی حرارت قرار گرفت. هر بار قبل از استفاده نیز میکروتیوب‌ها پس از یک ورتکس ساده، به مدت ۱۰-۱۵ ثانیه با دور ۶ rpm هزار سانتیفریوژ شد. برای تعیین کمیت و خلوص DNA از دستگاه اسپکتروفتومتر با نور UV و مشاهده نوارهای DNA بر روی ژل آگارز ۰/۸ درصد (۰/۳۲ گرم آگارز جامد در ۴۰ سی سی بافر TAE 1X) و مقایسه آن با فاز لامبدا استفاده شد.

استخراج DNA

استخراج DNA با استفاده از روش کیلاکس^۱ (Walsh et al., 1991; Estoup et al., 1996; Kumar et al., 2007) صورت پذیرفت. در این روش نمونه‌ای با اندازه ۲×۲ میلیمتر مربع از بافت باله را در یک میکروتیوب ۱/۵ میلی لیتری استریل انداخته و مقدار ۵۰۰ میکرولیتر محلول کیلاکس ۱۰ درصد به علاوه ۱۵ میکرولیتر آنزیم پروتئیناز K (100 U/ml) به آن اضافه شد. سپس برای فعال نمودن کامل آنزیم پروتئیناز K، میکروتیوب‌های حاوی نمونه به مدت یک ساعت در بن ماری شیکردار در دمای ۵۶ درجه

۱-Chelex protocol

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز^۱

آنالیز داده‌های ژنتیکی

برای آنالیز داده‌های ژنتیکی ابتدا پروفیل DNA یا اثر انگشت هر ماهی ثبت و سپس به باندها در صورت حضور/عدم حضور قطعات تکثیر شده امتیاز دهی شد. به این نحو که در صورت تکثیر و وجود باند کد ۱ و در صورت عدم وجود باند کد صفر در نرم افزار Excel (Office 2003) وارد شد. داده‌ها توسط نرم افزارهای POPGEN و NTsys مورد آنالیز قرار گرفت.

DNA - (PCR) استخراج شده با استفاده از ۱۰ پرایمر RAPD جهت تعیین چند شکلی مورد ارزیابی قرار گرفت (جدول ۱). این پرایمرها به سفارش شرکت سینا ژن تهیه شد. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل ۲/۵ میکرولیتر بافر 10X PCR (500 mM KCL and 200 mM Tris-HCL, pH 8.4)، ۲/۵ میلی مولار کلرید منیزیم، ۲/۵ واحد آنزیم Taq DNA Polymerase، ۱۰ میلی مول از هر پرایمر، ۱۵۰ میکرو مول مخلوط نوکلئوتیدی (dNTP)، ۲۰ نانوگرم DNA ژنومی و آب به مقدار متغییر انجام شد. چرخه‌های حرارتی شامل یک چرخه ۷ دقیقه‌ای در ۹۵ درجه سانتیگراد (واسرشته سازی اولیه)، ۴۰ چرخه شامل ۱ دقیقه در ۹۵ درجه سانتیگراد (واسرشته سازی)، ۱ دقیقه در ۳۸ درجه سانتیگراد (الحاق)، یک دقیقه در ۷۲ درجه سانتیگراد (بسط) و مرحله پایانی با ۷ دقیقه در ۷۲ درجه سانتیگراد (بسط نهایی) انجام شد.

نتایج

از مجموع ۱۰ پرایمر مورد استفاده، تعداد ۶ پرایمر که باندهای پلی مورف بیشتری تولید می کرد انتخاب شد (پرایمرهای ۱-۶). از مجموع ۶ پرایمر، ۸۹ باند چند شکل (پلی مورف) یا نشانگر به دست آمد. جدول ۱ توالی پرایمرهای مورد استفاده به همراه تعداد نشانگرهای پلی مورف بدست آمده از هر پرایمر را نشان می‌دهد. شکل ۲ نمونه‌ای از الگوی باندینگ ۶ پرایمر را در دو نمونه ماهی نشان می‌دهد که یکی مربوط به ایستگاه بالا دست و دیگری ایستگاه پایین دست است.

نتایج بررسی تنوع ژنتیکی برای همه باندهای چند شکل لوکاس‌ها که عبارتند از درصد پلی مورفیسم، تعداد الل‌های مشاهده^۲ (na)، تعداد الل‌های موثر^۴ (Ne)، تنوع ژنی (Nei(1973)^۵ (H) و شاخص اطلاعاتی شانن^۶ (I) در جمعیت‌های سیاه ماهی *Capoeta capoeta gracilis* در ایستگاه‌های بالا دست و پایین دست سد در رود تجن در جدول ۲ آورده شده است. نتایج تنوع ژنتیکی بر اساس آنالیزهای Nei (1987) که شامل تنوع ژنتیکی کل نمونه‌ها (Ht)، تنوع ژنتیکی درون جمعیت‌ها (Hs)، تنوع ژنتیکی بین جمعیت‌ها (Gst) و میزان جریان ژنی (Nm)^۷ می‌شود،

الکتروفورز

پس از اتمام کار PCR، محصولات حاصل بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد (۰/۶ گرم آگارز در ۴۰ سی سی بافر TAE IX) الکتروفورز شد. ژل مورد نظر حاوی اتیدیوم براماید به میزان ۴۰ μl (۰/۰۰۱ حجم بافر) است. این ماده دیده شدن باندها را بر روی ژل امکانپذیر می سازد همچنین برای مشاهده حرکت DNA بر روی ژل، Dye (Loading buffer) با غلظت ۶X به میزان ۱ μl به همراه هر محصول PCR به درون چاهک‌های سینی الکتروفورز تزریق شد. در نهایت محصولات ایجاد شده با استفاده از دستگاه UVITEC مشاهده و با دستگاه مستند سازی ژل^۲ تصویر برداری شد.

۳- Observed number of alleles

۴- Effective number of alleles [Kimura and Crow (1964)]

۵- Nei's (1973) gene diversity

۶- Shannon's Information index [Lewontin (1972)]

۷- estimate of gene flow from Gst or Gcs. E.g., Nm = 0.5(1 - Gst)/Gst

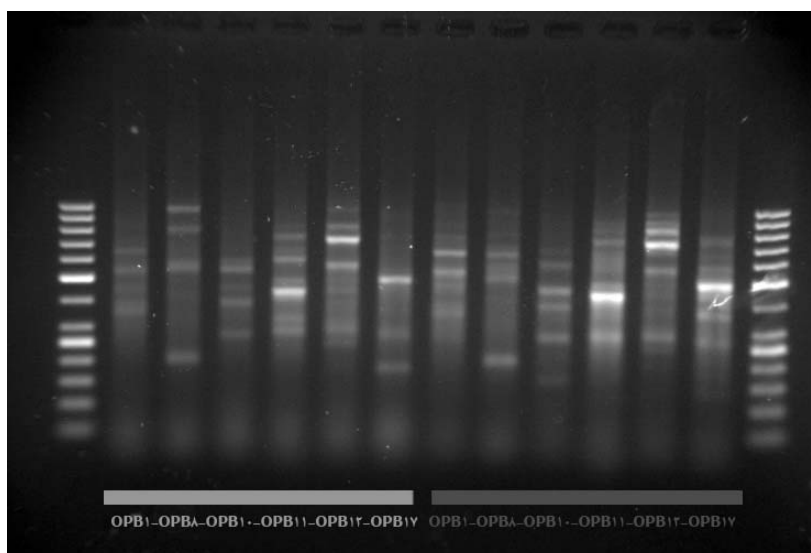
۱- Polymerase Chain Reaction

۲- Gel Documentation

در مجموع در هر دو ایستگاه بالا دست و پایین دست سد ۰/۳۸، ۰/۳۶، ۰/۰۶۷ و ۶/۸۶ به دست آمد.

جدول ۱- توالی و نوع پرایمرهای مورد استفاده برای تکثیر DNA ژنومی در PCR

ردیف	نام پرایمر	توالی نوکلئوتیدهای پرایمرهای مورد استفاده	درصد GC	تعداد نشانگرهای پلی مورف
۱	OPB1	5'-GTTTCGCTCC-3'	۶۰	۱۶
۲	OPB8	5'-GTCCACACGG-3'	۷۰	۱۵
۳	OPB10	5'-CTGCTGGGAC-3'	۷۰	۱۴
۴	OPB11	5'-GTAGACCCGT-3'	۶۰	۱۵
۵	OPB12	5'-CCTTGACGCA-3'	۶۰	۱۴
۶	OPB17	5'-AGGGAACGAG-3'	۶۰	۱۵
۷	OPA9	5'-GGGTAACGCC-3'	۷۰	-
۸	OPB5	5'-TGCGCCCTTC-3'	۷۰	-
۹	OPB6	5'-TGCTCTGCC-3'	۷۰	-
۱۰	OPB7	5'-GGTGACGCAG-3'	۷۰	-



شکل ۲- نمونه از الگوی باندینگ ۶ پرایمر در جمعیت‌های سیاه ماهی *Capoeta capoeta gracilis* در ایستگاه‌های بالا دست (سمت راست) و پایین دست سد (سمت چپ) شهید رجایی

جدول ۲- نتایج بررسی تنوع ژنتیکی برای همه باندهای چند شکل (loci) در جمعیت‌های سیاه ماهی *Capoeta capoeta gracilis* در ایستگاه‌های بالادست و پایین دست سد شهید رجایی

فاکتور	بالا دست سد (ایستگاه اول)	پایین دست سد (ایستگاه دوم)
تعداد الل‌های مشاهده (na)	۱/۹۴	۱/۹۵
تعداد الل‌های موثر (Ne)	۱/۵۹	۱/۶۹
تنوع ژنی (H) Nei(1973)	۰/۳۴	۰/۳۸
شاخص اطلاعاتی شانن (I)	۰/۵۱	۰/۵۵
درصد پلی مورفیسم	۹۴/۳۸	۹۵/۵۱

اعمال مدیریت صحیح بر ذخایر آبزیان و توسعه آبروی پروری زمانی با موفقیت همراه خواهد بود که ذخایر ژنی گونه‌های بومی، مورد مطالعه قرار گرفته و اولین گام در این زمینه، تشخیص صحیح گونه‌ها، جمعیت‌ها و یا نژادها است، که این امر از نظر مدیریت شیلاتی و برنامه ریزی های حفاظتی گونه‌ها حائز اهمیت است (Coad, 1980).

احتمالا از دلایل اصلی جدایی جمعیت‌های سیاه ماهی در رودخانه تجن ساری به علت جدایی جغرافیایی این گونه (در اثر ساخت سد) است به طوریکه Turan و همکاران (2004) چنین نظریه‌ای را در جداسازی ماهیان کفال (*Liza abu* (Heckel, 1834) در دریای سیاه، اژه و مدیترانه و نیز Khara (2008) برای جداسازی جمعیت‌های سیم (*Abramis brama orientalis*) تالاب انزلی، دریای خزر، جمهوری آذربایجان و دریاچه سد ارس عنوان نمودند. حال که این دو جمعیت بالا دست و پایین دست از نظر مولکولی از یکدیگر جدا شده است، فاصله زمانی ۱۰-۱۵ سال برای این امر کفایت می‌کند؟ به طور کل ماهیان در مقایسه با سایر مهره داران حساسیت بیشتری نسبت به تغییرات ناشی از محیط دارند و بیشتر دچار تغییرات درون و بین گونه‌ای می‌شوند (Smith, 1966؛ Lindsey, 1998؛ Turan, 2000؛ Turan, et al., 2004, 2006). از طرف دیگر شرایط محیطی متفاوت (دما، کدورت، دسترسی به غذا، عمق آب و جریان آب) سبب جدایی جمعیت‌های ماهیان از یکدیگر می‌شود (Samaee et al., 2006؛ Yamamoto et al., 2007). شواهدی نیز وجود دارد که نشان می‌دهد جمعیت‌های سیاه ماهی *Capoeta capoeta gracilis* در رودخانه‌های مختلف به دلیل جدایی جغرافیایی و نداشتن ارتباط از یکدیگر متمایز شده‌است (Bianco & Banarescu, 1982؛ Samaee et al., 2006؛ Samaee et al., 2009).

Yamamoto و همکاران در سال ۲۰۰۶ با استفاده از مارکر ریز ماهواره اثبات نمودند ساخت سد (کوچک) با قدمت ۲۰ سال توانست جمعیت‌های ماهی آزاد (*Salvelinus leucomaenis*) را از یکدیگر متمایز نماید. همچنین Dakin و همکاران در سال ۲۰۰۷ با استفاده از

رسم دندروگرام UPGMA^{۱۱} بر اساس ضریب جاکارت (j) نشان داد که دو جمعیت سیاه ماهی رودخانه تجن در دو ایستگاه بالا دست و پایین دست سد شهید رجایی از یکدیگر متمایز شده‌اند (شکل ۳). ضریب همبستگی برای آنالیزهای صورت گرفته برابر ۰/۷ و میزان P برابر ۱ بود که نشان دهنده آن است که اختلاف‌های مشاهده شده ۱۰۰ درصد معنی‌دار است (Prob. random Z < obs. Z: p = 1.0000). (نمونه‌های ۱-۳۵ مربوط به ایستگاه بالا دست و نمونه‌های ۳۶-۶۶ مربوط به ایستگاه پایین دست است). حداکثر فاصله ژنتیکی برای دو جمعیت سیاه ماهی رودخانه تجن ۷۳/۸۲ درصد و کمترین آن ۱۴/۵۵ درصد و در مجموع به طور میانگین ۴۸/۷۷ درصد محاسبه شد. این فواصل از روی ماتریکس تشابه بر اساس ضریب جاکارت محاسبه شد و از آنجاکه حد بالا و پایین، اختلاف ۵۰ درصدی معیاری برای تشخیص گونه و زیر گونه است (Gharaei et al., 2005)، با توجه به نتیجه میانگین فاصله ژنتیکی تمام افراد جمعیت، می‌توان بیان نمود که این دو جمعیت تا حد بسیار بالایی از یکدیگر متمایز شده‌اند. نتایج بدست آمده از آنالیز مولفه‌های اصلی مختصات (PCOA) نیز نشان داد که دو جمعیت سیاه ماهی در دو ایستگاه بالا دست و پایین دست سد شهید رجایی از یکدیگر متمایز است (شکل ۴).

بحث و نتیجه‌گیری

مطالعه ماهیان در اکوسیستم‌های آبی از نظر تکاملی، بوم‌شناسی، رفتار شناسی، حفاظت و مدیریت منابع آبی، بهره‌برداری از ذخایر و پرورش آنها حائز اهمیت است (Mostafavi, 2005). به منظور مدیریت منطقی و کارآمد شیلاتی، شناسایی ساختار ذخیره‌ای گونه‌ای از ماهی که مورد بهره‌برداری قرار می‌گیرد، اهمیت بسزایی دارد چرا که هر ذخیره باید به طور جداگانه مدیریت شود تا بهره‌برداری از آن گونه در حد بهینه قرار گیرد (Tzeng, 2004؛ Erguden & Turan, 2005؛ Akbarzadeh et al., 2007).

۱- Unweighted Pair-Group using Arithmetic Average

است که دندروگرام تمام افراد جمعیت رسم شود (Rehnuma et al., 2003). در این مطالعه دندروگرام UPGMA بر اساس ضریب جاکارت رسم شد (El-Zaeem et al., 2006). مطابق دندروگرام UPGMA، تمام افراد ایستگاه پایین دست در یک کلاستر و تمام افراد ایستگاه بالا دست به جز دو نمونه در کلاستر دیگر حضور دارد بنابراین با توجه به نتایج آنالیز PCOA و آنالیز کلاستر می‌توان ادعا نمود که مارکر RAPD می‌تواند این دو جمعیت را با درصد شباهت بالا از یکدیگر جدا نماید.

میزان جریان ژنی (Nm) به دست آمده در این مطالعه عدد به نوبه بالایی است. این مقدار جریان ژنی نشان دهنده تبادل ژنتیکی این دو جمعیت است. با این وجود این دو جمعیت به دلیل حضور سد، هیچ گونه آمیزشی با یکدیگر ندارند. بنابراین متمایز دو جمعیت و مقدار بالای تبادل ژنی، مربوط به طول عمر سد (۱۰-۱۵ سال) است. به عبارت دیگر جریان ژنی شناسایی شده مربوط به زمانی است که این دو جمعیت یکی بودند (یعنی زمان قبل از احداث سد). به بیان ساده تر این دو جمعیت با وجود تبادل ژنی بالا، با توجه به نتایج آنالیز PCOA، مقدار فاصله ژنتیکی و رسم دندروگرام UPGMA از یکدیگر متمایز شده‌اند و این مقدار تبادل ژنی مشاهده شده مربوط به زمان قبل از احداث سد است و سد شهید رجایی توانسته این دو جمعیت را از یکدیگر ایزوله نماید. با مقایسه مقدار تنوع ژنی (Nei (1973) (N) و شاخص اطلاعاتی شانن (I) در جمعیت‌های سیاه ماهی *Capoeta capoeta gracilis* در ایستگاه‌های بالا دست و پایین دست سد شهید رجایی در رود تجن این نتیجه حاصل می‌شود که در جمعیت دوم مقدار تنوع بالا تر است زیرا این دو شاخص در جمعیت دوم مقدار بالا تری را به خود اختصاص داده و این به دلیل شرایط متغیری است که به سبب ساخت سد، ایستگاه دوم نسبت به ایستگاه اول دارد.

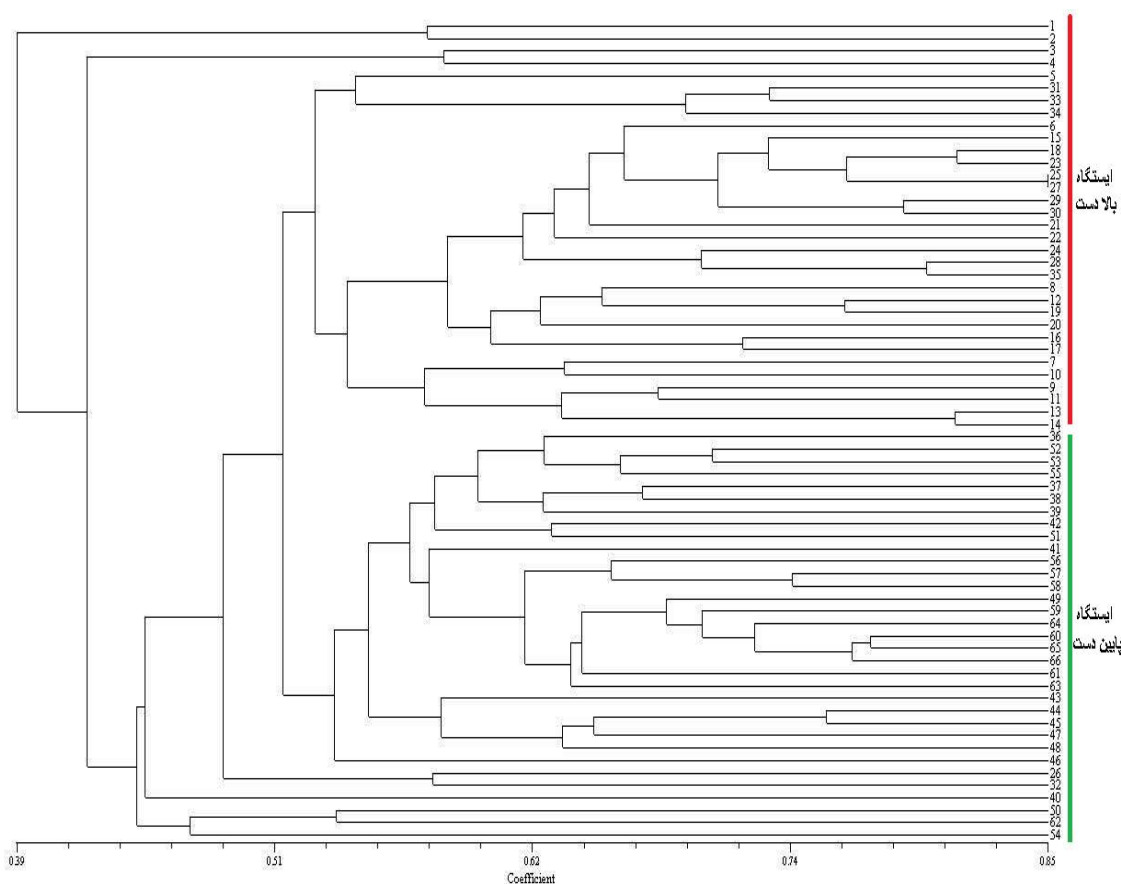
مطالعات صورت گرفته بر روی ماهیان دریای خزر نشان دهنده این واقعیت است که بسیاری از ماهیان روند گونه زایی را طی نموده و میکروپروسه ایجاد جمعیت‌ها، همچنان ادامه دارد به طوری که گونه‌های خزری و دریای سیاه-

مارکر ریز ماهواره اثبات نمودند ساخت سد جمعیت‌های ماهی باس (*Micropterus cataractae*) را از یکدیگر متمایز نمود. Jager و همکاران نیز در سال ۲۰۰۱ بیان نمودند که ساخت سد سبب جدایی جمعیتی استروژن سفید (*Acipenser transmontanus*) شده است. در این مطالعه برای بررسی تنوع و تمایز سیاه ماهیان از مارکر RAPD استفاده شد. این سوال نیز مطرح است، که آیا مارکر RAPD می‌تواند جمعیت‌ها را از یکدیگر متمایز نماید؟ در این بررسی به علت عدم وجود اطلاعات کافی از توالی اولیه DNA سیاه ماهی، از مارکر RAPD استفاده شد. مولفان زیادی عنوان کردند که تکنیک RAPD بیش از تکنیک‌های دیگر می‌تواند جمعیت‌های ماهی را به زیر گونه، نژاد و حتی جمعیت‌های مشابه ماهی متمایز کند (Bardakci, Mamuris, 1998, 1999; Gomes, 1998). Skibinski (1994) بیان کردند که تکنیک RAPD بسیار حساس تر از آنالیزهای دیگر مرتبط با mtDNA در مطالعات درون جمعیتی است. Gharaei و همکاران (2005) نیز با استفاده از این مارکر بیان نمودند که تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) و روسی (*Acipenser gueldenstaedtii*) دو گونه مجزا از یکدیگر می‌باشند.

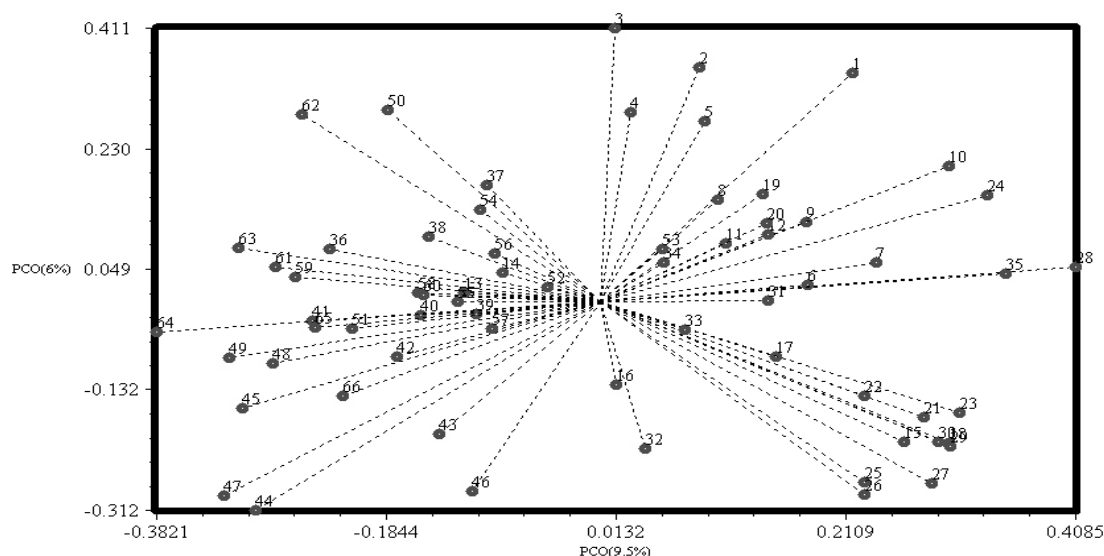
در این مطالعه فاصله ژنتیکی از روی ماتریکس تشابه بر اساس ضریب جاکارت به طور میانگین ۴۸/۷۷ درصد به دست آمد که عدد بسیار بالایی است و از آنجا که حد بالا و پایین، اختلاف ۵۰ درصدی، معیار تشخیص گونه و زیر گونه است (Gharaei et al., 2005) می‌توان بیان نمود که این دو جمعیت تا حد بسیار بالایی از یکدیگر متمایز شده‌اند. در رسم پراکنش افراد جمعیت‌های مورد مطالعه بر اساس آنالیز PCOA، دو جمعیت سیاه ماهی از یکدیگر متمایز است. با توجه به مرور منابع صورت گرفته، معمولاً رسم دندروگرام UPGMA در مطالعات ژنتیکی جواب نهایی به اثبات وجود و یا عدم وجود تمایز در جمعیت‌ها است (Alam & Khan, 2001; Rehnuma et al., 2003; Brahmane et al., 2006; Lakra et al., 2007; Brahmane et al., 2008; Rahman et al., 2009). با توجه به این که در این بررسی دو جمعیت وجود دارد، بهتر

با توجه به اینکه در این بررسی جدایی جمعیتی این گونه از لحاظ ژنتیکی توسط مارکر RAPD به اثبات رسید، پیشنهاد می‌شود که مطالعات ژنتیکی دیگری با استفاده از مارکرهای دیگر مانند Microsatellite و RFLP صورت گیرد تا بتوان با قطعیت بیشتر، جدایی جمعیتی این ماهی را بیان نمود. همچنین با توجه به نتایج این مطالعه بر سیاه ماهی به عنوان یک مدل اکولوژیک، یک سری راهکارهای مدیریتی مانند ایجاد گذرگاه ماهی یا ساخت آسانسور پیشنهاد می‌شود تا بتوان جریان ژنی را در بالا دست و پایین دست سدها برقرار نمود.

خرزی، زیر گونه‌ها و جمعیت‌هایی را در مناطق مختلف دریای خزر تشکیل داده‌اند (Gholiev, 1997; Kazanchev, 1981). تحقیق حاضر برای نخستین بار است که اثر سد را با استفاده از روش ژنتیکی در ایران مورد بررسی قرار می‌دهد. در مجموع نتایج بدست آمده از این بررسی نشان می‌دهد که جمعیت‌های سیاه ماهی *Capoeta capoeta gracilis* در ایستگاه‌های بالا دست و پایین دست سد شهید رجایی در رود تجن از یکدیگر متمایز می‌باشند و انگشت نگاری RAPD روشی مناسب برای تعیین تمایز ژنتیکی سیاه ماهی است.



شکل ۳- دندروگرام UPGMA حاصل از آنالیز RAPD برای جمعیت‌های سیاه ماهی *Capoeta capoeta gracilis* در هر دو ایستگاه بالا دست و پایین دست سد شهید رجایی در رودخانه تجن ساری



شکل ۵- نمودار پراکنش سیاه ماهی *Capoeta capoeta gracilis* رودخانه تجن ساری در دو ایستگاه بالا دست (نمونه‌های ۱-۳۵) و پایین دست (نمونه‌های ۳۶-۶۶) سد شهید رجایی بر اساس نتایج بدست آمده از آنالیز مولفه‌های اصلی مختصات (PCOA)

منابع

- Akbarzadeh, A., Karami, M., Nezami, S.A., Igdari, S., Bakhtiyari M. and Khara, H., 2007. Analysis of Population Structure of Pikeperch (*Sander lucioperca*), in Iranian Waters of Caspian Sea and Anzali wetland using Truss System. Journal of the Iranian Natural Res. 60, 127-139. [in Farsi].
- Alam, M.D.S. and Khan, M.R., 2001. Intraspecific genetic Variation in the Japanese Loach (*Misgurnus anguillicaudatus*) Revealed by Random Amplified polymorphic DNA (RAPD) Analysis. Pakistan J. of Biological sciences 4, 877-880.
- Anvarifar, H. and Farahmand, H., 2009. Use of RAPD Fingerprinting for Identification Discriminating Between Both Population and Species of Fishes. The First Students Congress of Fishery, Agriculture University of Sari, 20 May 2009. [in Farsi].
- AnvariFar, H., 2010. The Influence of Shahid-Rajaei Dam Construction on the Genetic and Morphometric Structure of *Capoeta capoeta gracilis* (Keyserling, 1861) in Tajan River, Iran. M.Sc. thesis, Supervisors: Farahmand, H. and Nematollahi, M.A., Advisor: Rahmani, H. and Karami, M., Fisheries and Environmental Sciences group, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran. [in Farsi].
- Bardakci, F. and Skibinski, D.O.F., 1994. Application of the RAPD technique in tilapia fish: species and subspecies identification. Heredity 73, 117-123.
- Bianco, P.G., Banarescu, P., 1982. A contribution to the knowledge of the Cyprinidae of Iran (Pisces, Cypriniformes). Cybium 6, 75-96.
- Brahmane, M.P., Das, M.K., Sinha, M.R., Sugunan, V.V., Mukherjee, A., Singh, S.N., Prakash, S., Maurye, P. and Hajra, A., 2006. Use of RAPD fingerprinting for delineating populations of hilsa shad *Tenualosa ilisha* (Hamilton 1822). Genet Mol Res 31, 643-652.
- Brahmane, M.P., Mitra, K. and Mishra, S.S., 2008. RAPD fingerprinting of the ornamental fish *Badis badis* (Hamilton 1822) and *Dario dario* (Kullander and Britz 2002) (Perciformes, Badidae) from West Bengal, India. Genetics and Molecular Biology 31, 789-792.
- Coad, B.W., 1980. Environmental change and its impact on the freshwater fishes of Iran. Biological conservation 10, 51-80.
- Craig, J.F., 2001. Large Dams and Freshwater Fish Biodiversity. World Commission on Dams, 59 pp.
- Dakin, E.E., Porter, B.A., Freeman, B.J. and Long, J.M., 2007. Genetic integrity of an isolated population of shoal bass (*Micropterus cataractae*) in the upper Chattahoochee River basin. Natural Resource Technical

Report NPS/NRWRD/NRTR-2007/366. National Park Service, Water Resources Division, Fort Collins, Colorado.

- Dynesius, M. and Nilsson, C., 1994. Fragmentation and flow regulation of river systems in the northern third of the world. *Science* (Washington D.C.) 266, 753-762.

- El-Zaeem, S.Y., Bahy, A.A., and Mohamed, M.M.A., 2006. Random Amplified Polymorphic DNA Finger Print and Genetic Similarity among Four Genera and Between Two Phenotypes of Cultured Carps in Egypt. *Int. J. Agri. Biol.* 8, 111-115.

- Erguden, D. and Turan, C., 2005. Examination of genetic and morphological structure of Sea-Bass (*Dicentrarchus labrax* L., 1785) populations in Turkish Coastal waters. *Turkish Journal of Vertebrate Animal Sciences*, 29, 727-733.

- Estoup, A., Largiader, C.R., Perrot, E. and Chourrout, D., 1996. Rapid one-tube DNA extraction for reliable PCR detection of fish polymorphic markers and transgenes. *Molecular Marine Biology and Biotechnology* 5, 295-298.

- Gertsev, V.I. and Gertseva, V.V. 1999. A model of sturgeon distribution under a dam of a hydro-electric power plant. *Ecological Modelling* 119, 21-28.

- Gharaei, A., Pourkazemi, M., Rezvani, S. and Mojazi-Amiri, B., 2005. Genetic difference and resemblance between *Acipenser persicus* and *Acipenser gueldenstadtii* by means of RAPD technique. *Iranian science fisheries journal* 14, 91-102. [in Farsi].

- Gholiev, F., 1997. Cypriniformes and Perciformes in Caspian Sea. (Translated by Adeli, Y.) *Iranian Fisheries Research and Training Organization*. 61 pp. [in Farsi].

- Gomes, C., Dales, R.B.G. and Oxenford, H.A., 1998. The application of RAPD markers in stock discrimination of the four-wing flying fish, *Hirundichthys affinis* in the central western Atlantic. *Mol. Ecol.*, 7, 1029-1039.

- Jager H.I., Chandler J.A., Lepla K.B. & Winkle W.V. 2001. A theoretical study of river fragmentation by dams and its effect on white sturgeon populations. *Environ. Biol. Fish* 60, 347-361.

- Kazanchev, E.N. 1981. The fishes of Caspian Sea. Moscow, 166 pp. (Translated by Abolghasem Shariaty, Iranian Fisheries, Tehran). [in Farsi].

- Khara, H., Keivan, A., Porkazemi, M., Rezvani, S., Nezami, S.A., Ramin, M., Sarpanah, A. and Ghenatparast, A., 2008. Comparative study morphometric and Morphology of *Abramis brama orientalis* in Caspian Sea and Anzali wetland. *The Journal of Applied Research in animals and fisheries*, 73, 178-187. [in Farsi].

- Kumar, R., Singh, P.J., Nagpure, N.S., Kushwasha, B., Srivastava, S.K and Lakra, W.S., 2007. A non-invasive technique for rapid extraction of DNA from fish scales. *Indian journal of Experimental Biology* 45, 992-997.

- Lakra, W.S., Goswami, M., Mohindra, V., Lal, K.K. and Punia, P., 2007. Molecular identification of five Indian sciaenids (pisces: perciformes, sciaenidae) using RAPD markers. *Hydrobiologia* 583, 359-363.

- Lindsey, C.C., 1988. Factors controlling meristic variation. In: Hoar, W.S., Randall, D.J. (Eds.), *Fish Physiology*, vol. 11-B. Academic Press, San Diego, CA, pp. 197-274.

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

- Mamuris, Z., Apostolidis, A.P., Theodorou, A.J. and Triantaphyllidis, C., 1998. Application of random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers to evaluate intraspecific genetic variation in red mullet (*Mullet barbatus*). *Mar. Biol.* 132, 171-178.

- Mamuris, Z., Apostolidis, A.P., Panagiotaki, P., Theodorou, A.J., and Triantaphyllidis, C., 1999. Morphological variation between red mullet populations in Greece. *Journal of Fish Biology* 52, 107-117.

- Mazandaran Regional Water Company, 2001. Studies of environmental management plans ecosystems of Tajan river basin. The first part, Volume I and II. [in Farsi].

- McAllister, D.E., Craig, J.F., Davidson, N., Delany S. and Seddon, M., 2001. Biodiversity Impacts of Large Dams. Background Paper Nr. 1, Prepared for IUCN / UNEP / WCD, 47 pp.

- Mostafavi, H., 2005. Biodiversity in Talar river fishes. *Environmental biology* 40, 127-135. [in Farsi].

- Mostafavi, H. and Abdoli, A., 2005. A Preliminary Survey on Diet of *Capoeta capoeta gracilis* in Talar and Yasalegh Rivers from the Southern Basin of Caspian Sea. *Environmental science* 7, 53-62. [in Farsi].

- Nazariha, M. and Alinezhad, S., 1999. Planning for improvement and decrease negative impacts of Shahid-Rajaei dam. *Environmental biology* 30, 9–18. [in Farsi].
- Nei, M., 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proc Natl Acad Sci USA* 70,3321–3323.
- Nei, M., 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distances from small number of individuals. *Genetics* 89,583–590.
- Poddubny, AG. and Galat, D.L., 1995. Habitat associations of upper Volga River fishes: effects of reservoirs. *Regulated Rivers: Research and Management* 11, 67–84.
- Rahman, Z.S.M., Khan, M.R., Islam, M.D.S. and Alam, M.D.S., 2009. Genetic variation of wild and hatchery populations of the catla Indian major carp (*Catla catla* Hamilton 1822: Cypriniformes, Cyprinidae) revealed by RAPD markers. *Genetics and Molecular Biology*. 32,197–201.
- Rehnuma, S., Anwara, B. and Hassena, K., 2003. Use of RAPD fingerprinting for discriminating two population of Hilsa shad (*Tenualosa ilisha* Ham.) from inland Rivers of Bangladesh. *Journal of Biochem. Mol. Bio.* 36, 462–467.
- Saeidi, M., Karbasi, A.R., Nabi Bid-hendi, G.R. and Mehrdadi, N., 2007. Impacts of human activities on accumulation of heavy metals in Tajan river water on Mazandaran province. *Environmental biology* 40, 41–50. [in Farsi].
- Samaee, S.M.R., B. Mojazi-Amiri and S. M., Hosseini-Mazinani, 2006. Comparison of *Capoeta capoeta gracilis* (Cyprinidae, Teleostei) populations in the south Caspian Sea River basin, using morphometric ratios and genetic markers. *Folia Zool.* 55, 323–335.
- Samaee, M., Patzner, R.A. and Mansour, N., 2009. Morphological differentiation within the population of Siah Mahi, *Capoeta capoeta gracilis*, (Cyprinidae, Teleostei) in a river of the south Caspian Sea basin: a pilot study. *J. Appl. Ichthyol.* 25, 583–590.
- Smith, G.R., 1966. Distribution and evolution of the North American catostomid fishes of the subgenus *Pantosteus*, genus *Castostomus*, *Miscellaneous publications*. Museum of Zoology, University of Michigan, p. 129.
- Tudela, S., 1999. Morphological variability in a Mediterranean, genetically homogeneous population of the European anchovy, *Engraulis encrasicolus*. *Fisheries Research* 42, 229–243.
- Turan, C., 2000. Otolith shape and meristic analysis of Herring (*Clupea harengus*) in the northeast Atlantic. *Arch. Fish. Mar. Res.* 48, 283–295.
- Turan, C. and Ergüden, D., 2004. Genetic and morphometric structure of *Liza abu* (Heckel, 1834) population from the Rivers Orontes, Euphrates and Tigris. *Turk J. Vet. Anim. Sci.* 28, 729–734.
- Turan, C., Oral, ztu`rk, B.O. and Du`zgu`nes, E., 2006. Morphometric and meristic variation between stocks of Bluefish (*Pomatomus saltatrix*) in the Black, Marmara, Aegean and northeastern Mediterranean Seas. *Fisheries Research* 79,139–147.
- Turan, C., 2008. Molecular systematics of the *Capoeta* (Cypriniformes: Cyprinidae) species complex inferred from mitochondrial 16s rDNA sequence data. *Acta zoological*, 51, 1–14.
- Tzeng, T.D., 2004. Morphological variation between populations of spotted mackerel *Scomber australasicus* off Taiwan. *Fisheries Research*. Vol. 68: 45- 55.
- Valipor, A.R., 2003. Feeding investigation of *Capoeta capoeta* in reservoirs of Maco dam. *Iranian science fisheries journal* 2, 163–176. [in Farsi].
- Walsh, P.S., Metzger, D.A., and Higuchi, R., 1991. Chelex-100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. *Biotechnology* 10,506–513.
- Welsh, J. and McClenlland, M., 1990. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acids Research* 18, 7213–7218.
- Williams, J.G.K., Kuvelik, A.R., Livak, K.j., Rafalski, J.A. and Tingey, S.V., 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research*, 18, 6531–6535.
- Yamamotoa, S., Maekawa, K., Tamate, T., Koizumi, I., Hasegawa, K., Kubota, H., 2006. Genetic evaluation of translocation in artificially isolated populations of white-spotted charr (*Salvelinus leucomaenis*). *Fisheries Research* 78, 352–358.

Impacts of Shahid Rajaii Dam on Genetic Variation and Differentiation Siah Mahi, *Capoeta capoeta gracilis*, in Tajan River using RAPD Fingerprinting

H. Anvarifar¹, H. Farahmand^{2*}, M.A. Nematollahi², H. Rahmani³, M. Karami⁴ and B. Khalili⁵

¹ M.S.C graduated, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, I.R. Iran

² Assistant Prof., Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, I.R. Iran

³ Assistant Prof., Faculty animal science and fisheries, University of Agriculture and Natural Resources Sari, Sari, I.R. Iran

⁴ Professor, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, I.R. Iran

⁵ Expert of biotechnology laboratory, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, I.R. Iran

(Received: 08 November 2009, Accepted: 08 January 2011)

Abstract

Siah Mahi, *Capoeta capoeta gracilis*, is a predominant fish in the river systems of the south Caspian Sea basin. Although there is evidence of the geographical divergence of this taxon, but no information is available on genetic differences within the subspecies populations. This study was designed to evaluate variation and differentiation in the Tajan River and investigation Shahid Rajaii dam effects upon Siah Mahi. A total 65 specimens were collected by electeroshocker set that 31 individual related to up stream station and 35 individual related to down stream station. Ten random 10-mer primers were primarily scored in 5 individuals from each of two stations and finally 6 primers, which shown polymorphic pattern repeatable, were selected and use in the final analysis of two locations. Totally 89 polymorphic band (marker) gained. Lengths of PCR products were between 50-1000 bp. Analyzing the PCR product data shown that the mean difference between the two stations was 0.478. In view of the fact that in .15 mean genetic distance between two species, separated those from each other, as a result related two stations in a large quantity separated from each other. Results of Principle Coordinate Analysis or PCOA showed that two stations are separated from each other. The unweighted pair group method with averages (UPGMA) dendrogram based on Jaccard's index also showed these stations are separated. There are perfect similarities between results of morphometric factor and morphometric spacialities. Based on the results, we conclude that RAPD fingerprinting was a useful technique in genetic discriminating the population of Siah Mahi.

KeyWord: Siah Mahi, *Capoeta capoeta gracilis*, Tajan river, Shahid Rajaii dam, RAPD fingerprinting, Genetic Variation and Differentiation.