بررسی جدایی جمعیتی مارماهی دهان‌گرد خزری مهاجر پاییزه و بهاره (*Caspiomyzon wagneri*) در جنوب دریای خزر (رودخانه شیرود) به‌واسطه تفاوت زمانی مهاجرت با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره

احمد بهمنی‌نژاد، حمید فرحمند*، سهیل ایگدری، امیررضا عابد علم دوست

گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران.

*نویسنده مسئول: hfarahmand@ut.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۷/۹/۲۱ تاریخ پذیرش: ۹۷/۱۲/۱۱

چکیده

مارماهی دهان‌گرد خزری (*Caspiomyzon wagneri*) گونه‌ی بومی دریای خزر، به دلیل تخریب زیستگاه‌ها در معرض تهدید قرار گرفته است. مطالعه حاضر به‌منظور بررسی امکان تفکیک جمعیتی دو گروه مهاجران مارماهی دهان‌گرد خزری پاییزه و بهاره به رودخانه شیرود به واسطه فاصله‌ی زمانی با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره به اجرا درآمد. برای این منظور از مارماهی دهان‌گرد خزری در حال مهاجرت تولیدمثلی در دو فصل پاییز و بهار در محل پایه‌ی پل رودخانه‌ی شیرود انجام شد. پس از استخراج DNA از ۴۶ قطعه ماهی، از ۴ جفت آغازگر در واکنش زنجیره‌ای پلیمراز برای تکثیر انتخابی استفاده شد. در این مطالعه در مجموع ۳ آلل اختصاصی شناسایی شد که یک عدد مربوط به جمعیت پاییزه در لوکوس Lun3 و دو عدد متعلق به جمعیت بهاره در لوکوس Lun5 بود. نتایج نشان داد که اختلاف ژنتیکی معنی‌داری بین دو جمعیت مهاجران بهاره و پاییزه وجود ندارد و شاخص‌های فاصله ژنتیکی Fst (۰/۰۷۶) و نای (۰/۲۰۶) نشان می‌دهد که این دو گروه مهاجر زمانی به یک جمعیت واحد تعلق دارند. از این‌رو می‌توان نتیجه گرفت که نرخ وفاداری به زیستگاه در دهان‌گرد خزری بسیار پایین است و این موضوع مانع از تشکیل شدن جمعیت‌ها می‌شود.

واژگان کلیدی: دهان‌گرد خزری، تولیدمثل، نشانگرهای ریزماهواره، مهاجرت.

مقدمه

مارماهی دهان‌گرد خزری (*Caspiomyzon wagneri*) بومی دریای خزر است که به‌علت ساخت سدها و تخریب زیستگاه، جمعیت آن به‌شدت کاهش یافته و از این‌رو جزو گونه‌های در معرض تهدید (Near Threatened) قرار گرفته است (Holcik, 1986). مهاجرت تولیدمثلی پیش مولدین مارماهی دهان‌گرد خزری به رودخانه‌ها در بهار و پاییز صورت می‌گیرد ولی اکثر جمعیت مولدین در بهار به‌منظور تولیدمثل به رودخانه ها وارد می‌شوند، ولی بخشی نیز در پاییز وارد رودخانه‌ها می‌شوند (Pravdin, 1913; Berg, 1931). Holcik (۱۹۸۶) بیان داشت که مهاجران پاییزه، زمستان را در بستر رودخانه‌ها و میان سنگ‌ها سپری می‌کنند و از اواخر اسفند تا ابتدای تیر تخم‌ریزی خود را انجام می‌دهند. احمدی و همکاران (۱۳۸۸) برخی از خصوصیات تولیدمثلی جمعیت‌های مهاجر بهاره و پاییزه مارماهی دهان گرد خزری را در رودخانه شیرود مورد بررسی قرار دادند و براساس بافت‌شناسی گنادها و هورمون‌های جنسی بیان داشتند که هر دو گروه مهاجران در زمان مهاجرت در مرحله نهایی رسیدگی جنسی قرار داشته و احتمالاً در همان زمان اقدام به تخمریزی می‌نمایند. این نتایج احتمال دو جمعیتی بودن مهاجرین پاییزه و بهاره مارماهی دهان‌گرد خزری را می‌تواند سبب شده باشد (احمدی، ۱۳۸۸).

در اکثر مطالعات جمعیتی مار ماهیان دهان‌گرد با استفاده از روش‌های ژنتیکی بیان شده است که شکل‌گیری جمعیت از لحاظ مکانی بسیار بعید است (Almada *et al*., 2008; Bryan *et al*., 2005) و نرخ جریان ژنی بین زیستگاه‌هایی که فاصله‌ی زیادی

هم از یکدیگر دارند، بسیار بالا است (Goodman *et al*., 2008). علت این امر استراتژی انتخاب رودخانه براساس شرایط مناسب محیطی جهت تخمریزی، غلظت مناسب فرمون‌های جنسی آموست‌ها در رودخانه (Sorenson *et al*., 2005) و مشخص نبودن وجود رفتار وفاداری به زادگاه بیان شده است (Bergstelt and Seelye, 1995).

در مورد بخشی از زندگی مارماهیان دهان‌گرد خزری که در دریا می‌گذرد، اطلاعات بسیار محدودی در دست است و مشخص نیست که آن‌ها چه مسافتی را طی می‌کند و این‌که آیا به زادگاه خود وفادار هستند یا خیر؟ (Holcik, 1986). در ماهی دهان-گرد گونه *Petromyzon marinus*، شواهدی در ارتباط با رفتار بازگشت به زادگاه یافت نشده است (Bergstedt and Seeyle, 1995). ولی در مورد دهان‌گرد اقیانوس آرام (*Entosphenus tridentatus*) اختلاف معنی‌دار ریخت‌شناسی (Beamish, 1980) و افتراق ژنتیکی (Beamish and Withler, 1986) بین جمعیت‌های این گونه گزارش شده است که احتمالاً به واسطه وفاداری به زادگاه باشد. اگرچه مطالعات DNA میتوکندریایی در این گونه نشان داد که ساختارهای جمعیت هنوز شکل نگرفته و نرخ وفاداری به زادگاه بسیار پایین است (Goodman *et al*., 2008).

در مورد بعضی از مارماهیان دهان‌گردان ساختارهای ژنتیک جمعیت با استفاده از آلوزیم-ها، RAPD (Mejia *et al*., 2004)، توالی‌یابی DNA میتوکندریای (Rodriguez *et al*., 2004) و نشانگرهای ریزماهواره (Bryan *et al*., 2005) مطالعه شده است، اما در مورد مارماهی دهان‌گرد خزری هیچ گونه اطلاعاتی وجود ندارد و نشانگرهای ریزماهواره‌ای نیز برای این گونه ایجاد نشده است. تنوع زیاد، هم بارز بودن و افزایش تعداد لوکوس‌های شناسایی شده، روش ریزماهواره را به یکی از نشانگرهای معمول ژنتیک جمعیت تبدیل کرده است. براساس نتایج روش ریزماهواره‌ها، محققان موفق به حل بسیاری از جنبه‌های تکاملی ماهیان به‌ویژه سیچلیدها که در بازه‌ی زمانی کوتاه‌تری اتفاق افتاده است، شده‌اند که با استفاده از روش‌های آلوزایم و mtDNA امکانپذیر نبودند.

هر چند در مطالعات متعددی پراکنش مکانی مارماهیان دهان‌گرد بررسی و مشخص شده که حتی در گونه‌هایی که از لحاظ مکانی بسیار از هم دور هستند، جمعیت‌های مختلف مکانی به یک جمعیت واحد تعلق داشته و نرخ جریان ژنی در بین زیستگاه-های مختلف بالا است (Almada *et al*., 2008; Bryan *et al*., 2005)، ولی تاکنون پراکنش زمانی مارماهیان دهان‌گردان (زمان مهاجرت و زمان تولیدمثل) و امکان شکل‌گیری جمعیت‌های زمانی مورد مطالعه قرار نگرفته است. این فاصله‌ی زمانی که دو گروه از مهاجران را در یک رودخانه به‌وجود می-آورند، ممکن است باعث جدایی تولیدمثلی و در نتیجه شکل‌گیری جمعیت‌های مجزا گردد. از این‌رو مطالعه حاضر به‌منظور بررسی امکان تفکیک جمعیتی دو گروه مارماهیان دهان‌گرد خزری مهاجر پاییزه و بهاره به رودخانه شیرود به‌واسطه فاصله‌ی زمانی با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره به اجرا درآمد.

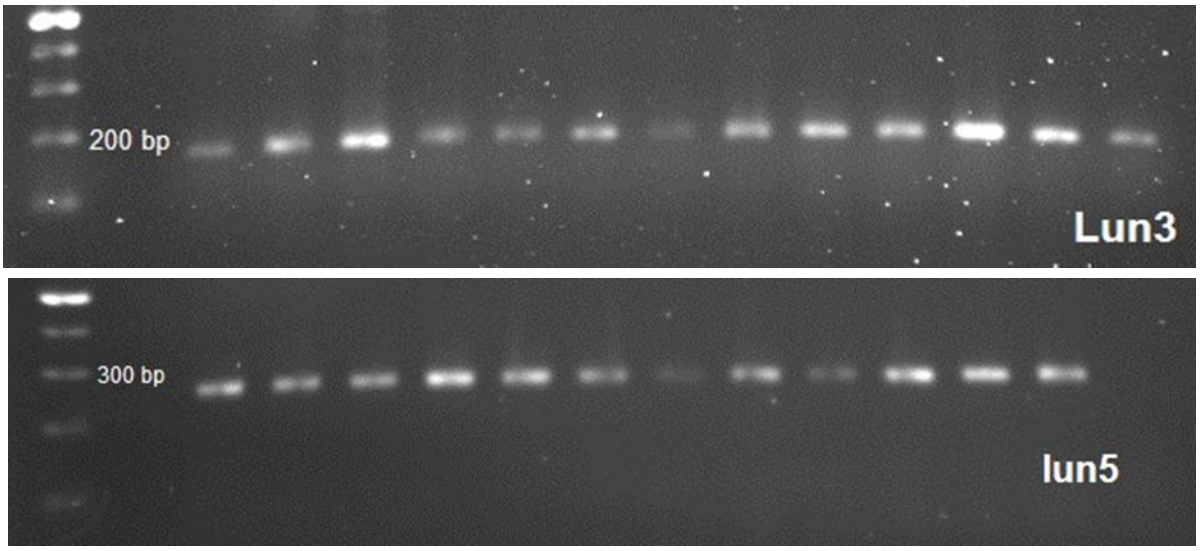
مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری: نمونه‌برداری از مارماهیان دهان‌گرد خزری در دو فصل پاییز و بهار در محل پایه‌ی پل رودخانه‌ی شیرود انجام شد. تاریخ نمونه‌برداری‌ها ۵ مهرماه و ۳ فروردین ماه به‌ترتیب همزمان با مهاجرت پاییزه و بهاره برای تولیدمثل بود. در مجموع در هر فصل ۵۰ نمونه صید شد. برای به‌دست آوردن DNA نمونه‌ها، قطعه‌ای از باله پشتی دوم بریده و در اتانول ۹۶ درجه تثبیت شدند و ماهی نیز در فرمالین بافری ۱۰ درصد بافری تثبیت و جهت انجام مطالعات به آزمایشگاه شیلات دانشگاه تهران منتقل گردیدند.

استخراج DNA: استخراج DNA از ۴۶ قطعه ماهی (۲۳ قطعه بهاره و ۲۳ قطعه پاییزه) با استفاده از کیت استخراج Cinnapure طبق پروتوکل شرکت سازنده

جدول ۱- مشخصات آغازگرهای استفاده شده در این مطالعه.

منطقه	توالی آغازگر	توالی تکراری	دمای Annealing	منبع	گونه
Lun3	F: CTTCCCACACCAGTCAG R: GGCAGAATCCTTGTATTGATG	[GTT]11	52.0°C	McFarlane and Docker, 2009	*Ichthyomyzon* sp.
Lun5	F: TTGCGATTTGGTTCTCAGTC R: CGATGTTGTTGACGAGTGTG	[CAA]8	53.0°C	McFarlane and Docker, 2009	*Ichthyomyzon* sp.
Lun9	F: TGACCGACTCAACGGAGAC R: GCCTCGGGTGTTCGATTAT	([CAA]4C)4	54.0°C	McFarlane and Docker, 2009	*Ichthyomyzon* sp.
Lspn 088	F: GGATAATCGTCAGCAGTGTT R: TCCATCTCTCTCGTTACCAT	(CA)4CG(CA)6	55.0°C	Takeshima *et al*., 2005	*Lethenteron* sp.



شکل ۱ - باندهای ایجاد شده توسط آغازگر Lun3 و Lun5 در محدوده مورد نظر..

انجام شد. تعیین کمیت و کیفیت DNA استخراجی با استفاده از دو روش اسپکتروفتومتری و الکتروفورز افقی ژل آگارز یک درصد انجام شد. غلظت DNA نمونه‌ها با استفاده از نانودراپ بین ۱۸۰ تا ۴۰۰ نانوگرم در میکرولیتر سنجش گردید. غلظت تمام نمونه‌ها با اضافه کردن مقدار متناسب آب مقطر به ۵۰ نانوگرم در لیتر رسانده شد.

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR): واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در حجم ۲۵ میکرولیتر (۹/۵ میکرلیتر آب مقطر، ۱۲/۵میکرولیتر کیت واکنش زنجیره‌ای پلیمراز Vivantis 2X و یک جفت پرایمر ریزماهواره که هر کدام طبق دستور العمل شرکت سازنده رقیق شده بودند (از هر کدام به‌میزان ۱ میکرو لیتر) در ۳۵ سیکل انجام شد. سپس نمونه‌ها در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. با توجه به این‌که برای گونه‌ی دهان‌گرد خزری آغازگر ریزماهواره شناسایی نشده است، در این مطالعه از آغازگرهای سایر ماهیان دهان‌گرد استفاده گردید. در مجموع ۴ جفت آغازگر استفاده شد (جدول ۱).

پس از انجام واکنش زنجیره ای پلیمراز، برای اطمینان از صحت واکنش، از روش الکتروفورز افقی ژل ۱/۵ آگارز استفاده شد. دو آغازگر Lun3 و Lun5 در محدوده مورد نظر باند ایجاد کردند (شکل ۱)، در حالی که آغازگر Lun9 هیچ گونه باندی ایجاد نکرد و آغازگر Lspn 088 نیز باندهای غیر تخصصی ایجاد نمودند (شکل ۲). فرآورده‌های حاصل از تکثیر انتخابی با استفاده از ژل پلی‌آکریلامید (PAGE) واسرشته ۶ درصد و دستگاه الکتروفورز عمودی Bio-Rad الکتروفورز شدند. پس از الکتروفورز به‌منظور رویت نوارها از رنگ‌آمیزی نقره استفاده شد. سپس در معرض تابش نور U.V از باندهای حاصل از تکثیر توسط چرخه PCR تصویربرداری گردید.

جدول ۲ - شاخص تنوع شانن در دو جمعیت مهاجر بهاره و پاییزه مارماهی دهان‌گرد خزری رودخانه شیرود.

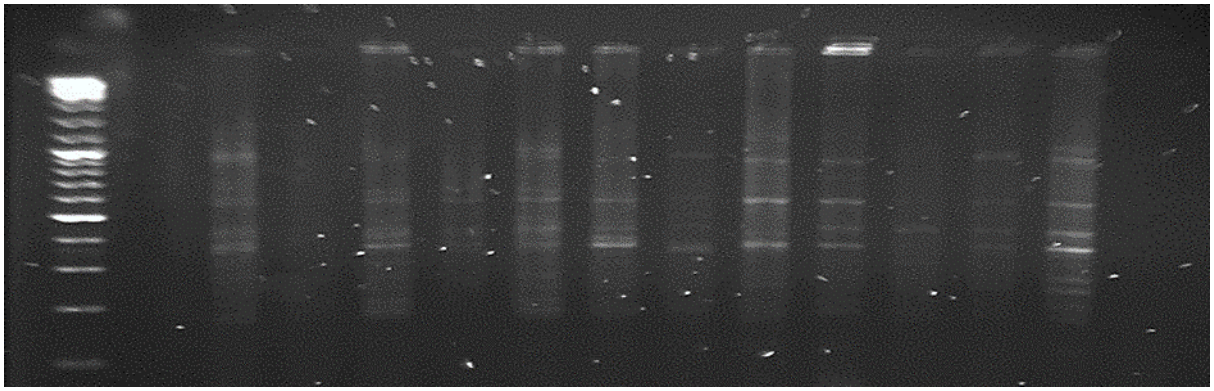
	Lun3	Lun5	تنوع جمعیت بر اساس دو لوکوس
جمعیت بهاره	۱/۴۸	۱/۲۷	۱/۳۷
جمعیت پاییزه	۱/۶۱	۰/۹۸	۱/۲۹
تنوع لوکوس در دو جمعیت	۱/۵۶	۱/۳۸	

جدول ۳ - تعادل هاردی-واینبرگ در دو جمعیت مهاجر بهاره و پاییزه مارماهی دهان‌گرد خزری رودخانه شیرود.

جمعیت	لوکوس	He	Ho	Chi-Sq	Probability	Signif
بهاره	**Lun3**	۰/۶۲۵	۰/۹۱۳	۱۳/۳۷۲	۰/۰۰۴	**
	Lun5	۰/۴۵۱	۰/۵۵۶	۱/۳۳۱	۰/۹۷۰	ns
پاییزه	**Lun3**	۰/۶۴۶	۰/۵۷۰	۱۱/۲۵۷	۰/۰۸۱	ns
	Lun5	۰/۴۸۶	۰/۵۰۰	۰/۰۰۵	۰/۹۴۴	ns

جدول ۴ – آلل‌های اختصاصی و فراوانی آن‌ها در دو جمعیت مهاجر بهاره و پاییزه مارماهی دهان‌گرد خزری رودخانه شیرود.

جمعیت	جایگاه الل	شماره الل	درصد فراوانی
بهاره	lun5	۳	۰/۱۱۱
بهاره	lun5	۴	۰/۰۵۶
پاییزه	lun3	۴	۰/۰۲۲



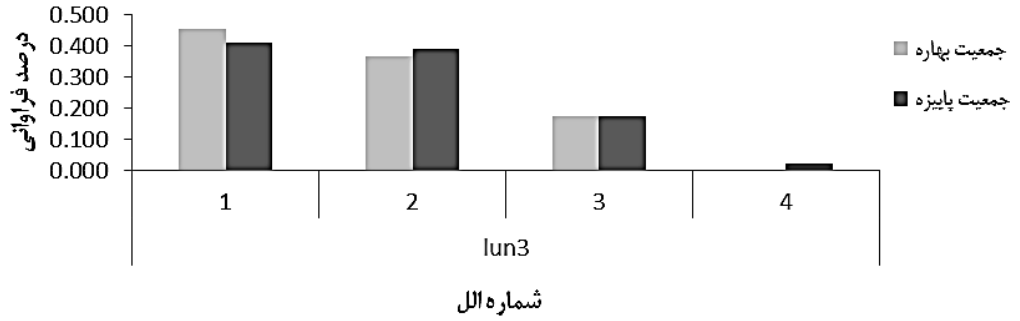
شکل ۲ - باندهای غیر تخصصی ایجاد شده توسط آغازگر Lspn 088 در مارماهی دهان‌گرد خزری رودخانه شیرود..

آنالیز آماری: تحلیل‌های آماری داده‌های ژنتیکی شامل فراوانی آللی، ژنوتیپ مشاهده شده، ژنوتیپ‌های مورد انتظار، شاخص تنوع شانن، تعادل هاردی-واینبرگ، آلل‌های اختصاصی و فاصله ژنتیکی توسط نرم‌افزار GenAlEx 6.41 انجام گرفت.

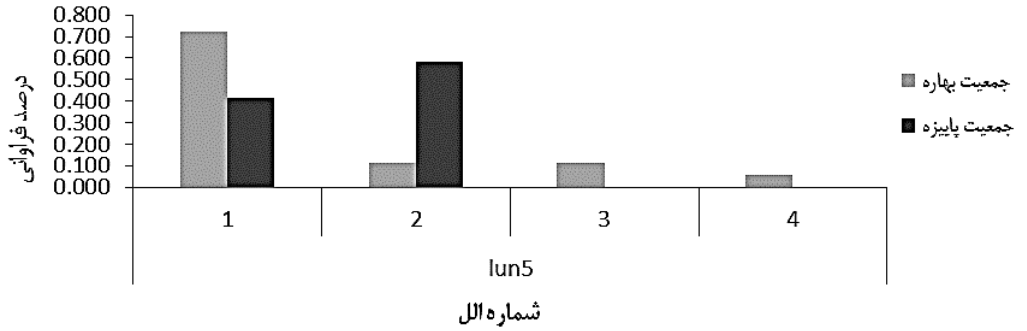
نتایج

در مجموع برای نشانگر ریزماهواره Lun3 تعداد ۴ آلل شناسایی شد که یکی از آن‌ها مختص جمعیت پاییزه بود. فراوانی آلل‌های این نشانگر در شکل ۳ نشان داده شده است. برای نشانگر Lun5 نیز در مجموع ۴ آلل شناسایی گردید که ۲ آلل اختصاصی جمعیت بهاره بود. در این نشانگر، در جمعیت بهاره آلل ۱ بیشترین فراوانی را داشت ولی آلل ۲ در جمعیت پاییزه بیشترین فراوانی را داشت (شکل ۴). فراوانی ژنوتیپ‌های مشاهده شده و فراوانی مورد انتظار براساس فراوانی آللی در شکل ۵ آورده شده است.

نتایج شاخص تنوع شانن به صورت لوکوس در جمعیت و لوکوس در همه جمعیت‌ها و تنوع جمعیت بر اساس تمام لوکوس‌ها در جدول ۲ آورده شده است. در هر دو جمعیت و برای هر دو نشانگر هتروزیگوتی مشاهد شده از هتروزیگوتی مورد انتظار بیشتر بود و براساس آزمون کای-اسکور در جمعیت



شکل ۳ - فراوانی اللی نشانگر Lun۳ در جمعیت‌های بهاره و پاییزه ماراهی دهان‌گرد خزری رودخانه شیرود.



شکل ۴ - فراوانی اللی نشانگر Lun۵ در جمعیت‌های بهاره و پاییزه ماراهی دهان‌گرد خزری رودخانه شیرود.

جدول ۳ - مقدار فاصله ژنتیکی براساس Fst در دو جمعیت مهاجر بهاره و پاییزه ماراهی دهان‌گرد خزری رودخانه شیرود.

لوکوس	مقدار Fst
Lun3	۰/۰۰۱
Lun5	۰/۱۵۰
متوسط	۰/۰۷۶

جدول ۴ - فاصله ی ژنتیکی نای در دو جمعیت مهاجر بهاره و پاییزه ماراهی دهان‌گرد خزری رودخانه شیرود.

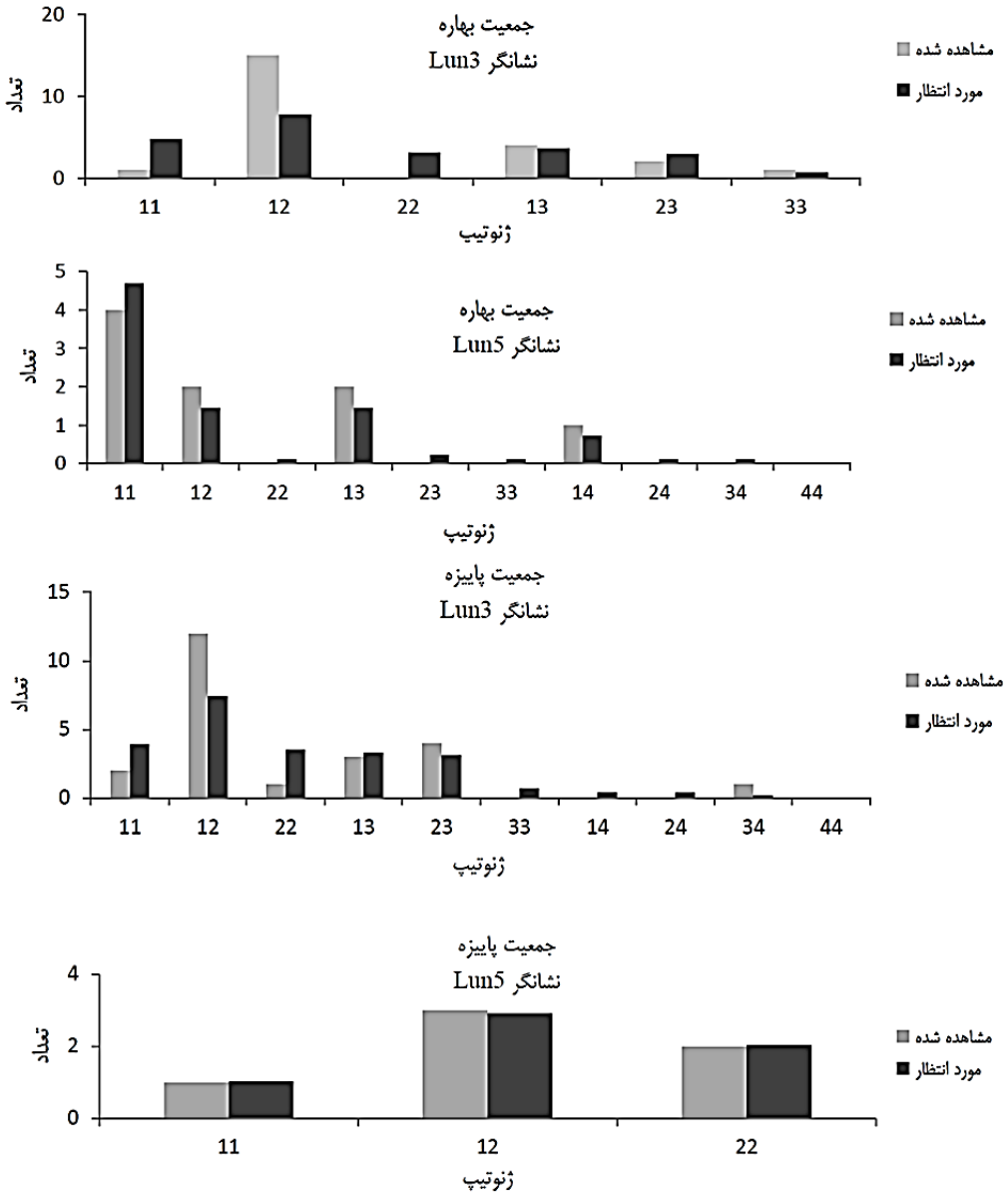
جمعیت	بهاره	پاییزه
بهاره	۰/۰۰	
پاییزه	۰/۲۰۶	۰/۰۰

بهاره معنی‌دار بود و در جمعیت بهاره لوکوس Lun3 از تعادل هاردی-واینبرگ خارج است (جدول ۳).

در این مطالعه در مجموع ۳ آلل اختصاصی شناسایی شد که یک عدد مربوط به جمعیت پاییزه در لوکوس Lun3 و دو عدد متعلق به جمعیت بهاره در لوکوس Lun5 بود (جدول ۴). برای محاسبه فاصله ژنتیکی بین دو جمعیت از دو شاخص فاصله ژنتیکی شاخص Fst و فاصله ژنتیکی نای (Nei GD) استفاده شد. شاخص Fst بیان‌گر فاصله ژنتیکی بین جمعیت‌ها است که برای هر لوکوس به‌صورت جداگانه محاسبه می‌گردد (جدول‌های ۵ و۶).

بحث

تشکیل جمعیت در گونه‌ها در اثر عواملی از جمله اختلاف رفتار، جدایی زیستگاه و جدایی تولیدمثل ایجاد می‌گردد. البته شرط جدایی جمعیت‌ها جدایی تولیدمثلی است که هم به‌صورت همجا و ناهمجا به وقوع می‌پیوندد. در مورد ماراهی دهان‌گرد خزری جدایی زمانی تولیدمثل، این سوال را به‌وجود آورده است که آیا این جدایی تولیدمثلی می‌تواند منجر به جدایی خزانه ژنتیکی آن‌ها شده باشد. در آزادماهیان رودکوچ، وفاداری به زادگاه و نرخ پایین جریان ژنی بین جمعیت‌ها با گذشت زمان باعث ایجاد یک تطبیق محلی و ایجاد اختلاف ژنتیکی می‌گردد، ولی در ماراهیان استخوانی (Anguilids) که برای تولیدمثل از رودخانه‌ها به دریا مهاجرت می‌کنند و



شکل ۵ - ژنوتیپ مشاهده شده و مورد انتظار به تفکیک نشانگر و جمعیت مارماهی در دهان‌گرد خزری رودخانه شیرود.

یک جمعیت تولیدمثلی را تشکیل می‌دهند، انتخاب جفت کاملاً تصادفی بوده و نرخ جریان ژنی بین جمعیت‌ها بسیار بالا است؛ در نتیجه این پدیده باعث می‌شود که خزانه ژنی جمعیت‌ها بسیار به هم شبیه شده و آلل‌ها به‌صورت تقریباً یک دست در جمعیت-های مختلف پخش شوند (Williams and Koehn, 1984; Avise *et al*., 1986).

نتایج نشان داد که اختلاف ژنتیکی معنی‌داری بین دو جمعیت مهاجران بهاره و پاییزه وجود ندارد و شاخص‌های فاصله ژنتیکی Fst (۰/۰۷۶) و نای (۰/۲۰۶) نشان می‌دهد که این دو گروه مهاجر زمانی به یک جمعیت واحد تعلق دارند. براساس Wright (۱۹۷۸) میزان جدایی جمعیت بین مهاجران پاییزه و زمستانه بسیار جزیی ارزیابی می‌گردد. که دلیل آن می‌تواند عدم وفاداری به زیستگاه و همچنین مهاجرت به رودخانه براساس میزان آمادگی تولیدمثلی در دو دوره فتوپریودی یکسان در بهار و پاییز باشد. همچنین این امکان وجود دارد که ماهیان مهاجر پاییزه احتمالاً به‌دلیل شدت جریان آب نتوانسته‌اند برای تخمریزی وارد رودخانه شوند و در نتیجه

مهاجرت خود را به فصل پاییز، زمانی که شرایط هیدرولوژیکی مناسب‌تر است موکول کرده و پس از زمستان‌گذرانی تخمریزی خود را در بهار انجام دهند (Almada *et al*., 2007; Goodman *et al*., 2008)، اگرچه احمدی (۱۳۸۸) وجود دو جمعیت تولیدمثلی پاییزه و بهاره را در مارماهی دهان‌گرد خزری در رودخانه شیرود گزارش کرده است.

مطالعات متعددی در ارتباط با ژنتیک جمعیت گونه‌های دهان‌گرد انجام شده است که تا کنون جدایی جمعیت‌ها را به واسطه جدایی مکانی گزارش نکرده‌اند (Bryan *et al*., 2005; Waldman *et al*., 2006; Almada *et al*., 2007; Goodman *et al*., 2008). از این‌رو می‌توان نتیجه گرفت که نرخ وفاداری به زیستگاه در دهان‌گرد خزری نیز بسیار پایین است و این موضوع مانع از تشکیل شدن جمعیت‌ها می‌شود و در واقع با هر بار تولیدمثل، آلل-های تمام جمعیت‌های مکانی به‌صورت کاملاً تصادفی در تمام زیستگاه ها پراکنده می‌شوند.

منابع

احمدی م. ۱۳۸۸. بررسی مقایسه‌ای شاخص‌های فیزیولوژیکی و زیستی-تولیدمثلی مارماهی دهان گرد خزری (*Caspiomyzon wagneri*) مهاجر به رودخانه شیرود در طی دو فصل بهار و پاییز. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه تهران، گروه شیلات.

Almada V.C., Pereira J.I., Fonseca J.P., Levy A., Maia C.,Valente A. 2007.Mitochondrial DNA fails to reveal genetic structure in sea-lampreys along European shores. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 46, 391-396.

Avise J.C., Helfman G.S. Saunders N.C., Hales L.S. 1986. Mitochondrial DNA differentiation in North Atlantic eels: population genetic consequences of an unusual life history pattern. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 83, 4350-4354.

Beamish R.J., Withler R.E. 1986. A polymorphic population of lampreys that may produce parasitic and nonparasitic varieties. In: T. Uyeno, R. Arai, T. Taniguchi, K. Matsuura. (Eds.),
Indo-Pacific Fish Biology: Proceedings of the Second International Conference on Indo-Pacific Fishes, Ichthyological Society of Japan, Tokyo. pp: 31-49.

Beamish R.J. 1980. Adult biology of the river lamprey (*Lampetra ayresi*) and the Pacific lamprey (*Lampetra tridentata*) from the Pacific coast of Canada. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 37, 1906-1923.

Bergstedt R.A., Seelye J.G. 1995. Evidence for lack of homing by sea lamprey. *Transactions of the American Fisheries Society* 124, 235-239.

Bryan M.B., Zalinski D., Filcek B., Libants S., Li W., Scribner K.T. 2005. Patterns of invasion and colonization of the sea lamprey (*Petromyzon marinus*) inNorth America as revealed by microsatellite genotypes. *Molecular Ecology* 14, 3757-3773.

Goodman D.H., Reid S.B., Docker M.F., Haas G.R., Kinziger A.P. 2008. Mitochondrial DNA evidence for high levels of gene flow among populations of a widely distributed anadromous lamprey *Entosphenus tridentatus* (Petromyzontidae). *Journal of Fish Biology* 72, 400-417.

Holcik J. 1986. The Freshwater Fishes of Europe: 1/I: Petromyzontiformes. pp: 117-140.

Mejia O., Polaco O.J., Zuniga G. 2004. Genetic diversity of Mexican brook lamprey *Lampetra* (*Tetrapleurodon*) *geminis* (Alvarez del Villar, 1966). *Genetica* 122, 325-333.

Pravdin I.F. 1913. Nablyudeniya and kaspiiskol minogol (*Caspiomyzon wagneri*) vesnol 1912 goda. Trudy Ikhtiol. Lab. Uprav. Kasp.-volzh. Ryb. Ityul. Promyshl.

Rodriguez-Munoz R., Waldman J.R., Grunwald C., Roy N.K., Wirgin I. 2004. Absence of shared mitochondrial DNA haplotypes between sea lamprey from North American and Spanish rivers. *Journal of Fish Biology* 64, 783-787.

Sorensen P.W., Fine J.M., Dvornikovs V., Jeffrey C.S., Shao F., Wang J., Vrieze L.A., Anderson K.R., Hoye T.R. 2005. Mixture of new sulfated steroidsfunctions as a migratory pheromone in the sea lamprey. *Nature Chemical Biology* 1, 324-328.

Waldman J.R., Grunwald C., Wirgin I. 2006. Evaluation of the nativestatus of sea lampreys in lake Champlain based on mitochondrial DNA sequencing analysis.

Transactions of the American Fisheries Society 135, 1076-1085.

Williams G.C., Koehn R.K. 1984. Population genetics in North Atlantic catadromous eels. In: B. J. Turner (Ed.). Evolutionary Genetics of Fishes, Plenum Press, New York, NY. pp: 529-560

Wright S. 1978. Evolution and the Genetics of Populations. Vol. 4. Variability within and among Natural Populations. University of Chicago Press, Chicago.

Study of separation between fall and spring run populations of Caspian lamprey, *Caspiomyzon wagneri*, in the southern Caspian Sea (Shirud River) due to different migration time using microsatellite markers

Ahmad Bahmaninejad, Hamid Farahmand*, Soheil Eagderi, Amirabad Elmdoust

Fisheries Department, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran.
*Corresponding author: hfarahmand@ut.ac.ir

Received: 2018/12/12 Accepted: 2019/3/2

Abstract

Caspian lamprey (*Caspiomyzon wagneri*), a native species of the Caspian Sea, is under threatened by destruction of its habitats. The present study was carried out to investigate the possibility of separation between fall and spring run populations of Caspian lamprey in Shirud River due to different migration time using microsatellite markers. For this purpose, Caspian lampreys were sampled in fall and spring during their reproductive migrations at the Shirud River Bridge. After extraction of DNA from 46 fish, 4 primer pairs were used for polymerase chain reaction for selective proliferation. In this study, a total of 3 specific alleles were identified, one for fall autumn population in Locus Lun3 and two others for spring population in Lun5. The results showed no significant difference between the fall and spring immigrant populations, and the genetic distances of Fst (0.76) and Nei (0.206) indicated they belong to one population Units. Therefore, it can be concluded that the rate of homing behavior in the Caspian lamprey is very low preventing the formation of a separate populations.

Keywords: Caspian lamprey, Reproduction, Microsatellite markers, Migration.