

تنوع ژنتیکی ماهی حلوا سفید (*Pampus argenteus*) دریای عمان و خلیج فارس با استفاده از نشانگرهای مولکولی ریزماهوره و PCR-RFLP

نازلی گلستانی^۱، سهراب رضوانی گیل کلایی^۲، رقیه صفری^{۳*}

۱- گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات، تهران، ایران، صندوق پستی: ۱۴۹-۱۴۹۶۵

۲- موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج جهاد کشاورزی، تهران، ایران، صندوق پستی: ۶۱۱۶-۱۴۱۵۵

۳- گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران، صندوق پستی: ۳۸۶

صندوق پستی: ۴۹۱۷۸-۵۷۴۷۸

تاریخ دریافت: ۶ آذر ۱۳۹۴

تاریخ پذیرش: ۱۹ فروردین ۱۳۹۵

چکیده

ماهی حلوا سفید یکی از گونه‌های با ارزش شیلاتی و کاندید مناسب آبرزی پروری است که جمعیت‌های آن به علت صید بی‌رویه و تغییرات اکولوژیکی کاهش یافته است. در مطالعه حاضر ساختار جمعیتی ماهی حلوا سفید در دریای عمان و خلیج فارس با استفاده از ژن ND₂ و ۷ نشانگر ریزماهوره مورد مطالعه قرار گرفت. بدین منظور ۱۰۰ نمونه ماهی از مناطق کویت، خوزستان، بوشهر و چابهار جمع‌آوری شد. با استفاده از ۱۶ آنزیم محدودالایر استفاده شده تنوع هاپلو تیبی و نوکلئوتیدی داخل جمعیت‌ها به ترتیب (0.0143 ± 0.0875) ، (0.000004 ± 0.01238) تخمین زده شد. هم‌چنین بر اساس تست Monte-carlo اختلاف آماری معنی‌داری از لحاظ پراکنش هاپلو تیب‌ها در مناطق مختلف مورد بررسی مشاهده نشد ($P > 0.05$ و $X^2 = 62/8$) که نشان‌دهنده وجود یک جمعیت از این گونه در دریای عمان و خلیج فارس می‌باشد اما با استفاده از نشانگر ریزماهوره میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار به ترتیب 0.53 و 0.67 محاسبه گردید. بررسی تعادل هاردی- واینبرگ انحراف از تعادل را در اکثر جایگاه‌ها نشان داد ($P < 0.05$). بر اساس تست Fst اختلاف معنی‌داری میان کلیه مناطق نمونه برداری مشاهده شد ($P < 0.01$). به‌طور کلی نتایج به‌دست آمده حاکی از برتری نشانگر ریزماهوره به نشانگر PCR-RFLP در تشخیص تنوع ژنتیکی و تعیین ساختار جمعیتی این گونه می‌باشد.

کلمات کلیدی: تنوع ژنتیکی، ماهی حلوا سفید، PCR-RFLP، ریزماهوره، خلیج فارس و دریای عمان

مقدمه

ماهی حلوا سفید با نام علمی (*Pampus argenteus*) متعلق به خانواده حلوا ماهیان (Stromatidae) یکی از ماهیان با ارزش اقتصادی است که در اعماق ۵ تا ۸۰ متری آب‌های ساحلی اقیانوس هند، شرق دریای چین و بخش‌های شمالی خلیج فارس و دریای عمان زندگی می‌کند. دو پیک تخم‌ریزی در ماه‌های اردیبهشت و مرداد برای این گونه گزارش شده است، که زمان این پیک‌ها در نواحی مختلف جغرافیایی یکسان نیست. حلوا سفید به‌طور عمده از سخت‌پوستان به‌ویژه کوبه‌پودا، مدوزها، ژلفیش‌ها، لارو و تخم ماهیان تغذیه می‌کند (*Dadzie et al.*, 2008). وزن این ماهی در سائز بازاری بالاتر از ۳۰۰ گرم است که برای رسیدن به این وزن ۲/۹ سال زمان نیاز دارد (*Al-Hossani et al.*, 2002). صید این ماهی از طریق تور گوشت‌گیر و ترال انجام می‌شود. تعداد قایق‌ها و لنج‌های مورد استفاده در صید این گونه در آب‌های ایران حدود ۱۴۰۰ و در آب‌های کویت ۷۴۰ گزارش شده است اما تعداد واقعی شناورهای صید این ماهی مشخص نیست و هم‌چنین گزارشاتی از صید این ماهی در صید ترال میگو نیز مشاهده می‌شود. میزان صید این ماهی در کویت از ۱۱۰ تن در سال ۱۹۹۴ به ۱۲۰ تن در سال ۲۰۰۰ و در همین بازه زمانی در ایران از ۱۱۴۲ به ۱۱۴ تن کاهش یافته است. اعتقاد بر این است که ذخایر این ماهی به‌جهت استرس‌های محیطی، صید بی‌رویه و ورود آلاینده‌ها کاهش یافته است (*Al-Hossani et al.*, 2002). بنابراین بسیاری از کشورها تحقیقات در زمینه توسعه تکنولوژی تکثیر و پرورش حلوا سفید آغاز نموده‌اند. در گذشته ارزیابی ساختار ذخایر ماهیان، تشخیص گونه‌ها و جمعیت‌ها با استفاده

از صفات مورفومتریک و مریستیک صورت می‌گرفت، اما با توجه به حساسیت بالای این صفات به تغییرات محیطی و تاثیرات دستکاری در نشانه‌گذاری بر سلامت ماهیان و هم‌چنین محدود بودن تفسیر داده‌های حاصل از آن، علم استفاده از مارکرهای مولکولی هم‌چون DNA میتوکندریایی، آلوزایم‌ها، رپید، ریزماهورها برای شناسایی ساختار و تنوع ژنتیکی ذخایر توسعه یافت (*Tan et al.*, 2015). آگاهی از میزان ذخایر توارثی و تنوع ژنتیکی بین افراد یک گونه، از اهداف ارزشمند مدیریت ذخایر و اصلاح نژاد است به‌طوری‌که بررسی‌های ژنتیک جمعیت ماهیان با ارزش اقتصادی به‌منظور حفاظت از جمعیت آن‌ها و حفظ صید پایدار بسیار ضروری است (*Thai et al.*, 2007; *Skaarud et al.*, 2014). توارث مادری و سرعت بالای جایگزینی نوکلئوتیدها در mt-DNA مهره‌داران عالی نسبت به ژنوم هسته‌ای (*McKeown et al.*, 2015) و اندازه نسبتاً کوچک، توارث هم‌بازر، پلی‌مورفیسم بالا و توارث مندلی نشانگرهای ریزماهور (*Ren, et al.*, 2015) موجب استفاده وسیع این نشانگرها در مطالعات ژنتیک جمعیت و برنامه‌های اصلاح نژاد شده است. مطالعات مختلف برتری نشانگرهای مختلف را در تعیین تنوع ژنتیکی گونه‌های مختلف نشان می‌دهند. Ruzzente (۱۹۹۸) با استفاده از نشانگرهای ریزماهور تنوع ژنتیکی بالاتری نسبت به نشانگر PCR-RFLP (*Carr and Mashal*, 1991) و آلوزایم (*Mork et al.*, 1985) در جمعیت‌های ماهی کاد آتلانتیک (*Gadus morhua*) و طلا و همکاران، ۱۳۹۰ تنوع ژنتیکی پایین‌تری را در روش PCR-RFLP نسبت به نشانگرهای ریزماهور (*سالاری علی‌آبادی*, ۱۳۸۸) در ماهی سوکلا (*Rachycentron canadon*) و سلیمانی و همکاران،

مولکولی پژوهشگرده اکولوژی دریای خزر منتقل گردیدند.

استخراج DNA و تعیین کمیت و کیفیت

DNA

استخراج DNA با استفاده از روش فنل - کلروفورم (Hillis and Mortiz., 1990) انجام گردید و تا زمان انجام مطالعات در فریزر 20°C - نگهداری شد. جهت بررسی کمی و کیفی DNA استخراج شده از روش اسپکتروفتومتری و الکتروفورز ژل آگارز ۱ درصد استفاده شد.

روش PCR-RFLP

از آنجایی که هیچ گونه اطلاعاتی از ژنوم میتوکندری این گونه و یا گونه‌های متعلق به این جنس در دسترس نبود، یک جفت پرایمر بر اساس توالی نوکلئوتیدهای ژن میتوکندریایی ND2 ماهی کپور معمولی (Yagishita *et al.*, 2002) طراحی و سنتز گردید.

Forward primer : 5- AAG TAG ATG GAT GCT CGC T - 3

Reverse primer : 5- AAA GCT TTC GGG CCC ATA CCC CG - 3

واکنش زنجیره‌ای پلیمرز به منظور تکثیر قطعه‌ای از ژن با طول حدود ۱۳۰۰ نوکلئوتید در حجم ۱۰ میکرولیتر با استفاده از ۲/۵ میکرولیتر رشته اول cDNA (۱۵ نانوگرم)، ۰/۵ میکرولیتر از هر آغارگر اختصاصی پیشرو و پسرو با غلظت ۱۰ پیکو مول، ۲/۵ میکرولیتر بافر PCR (۱X)، ۰/۱ میکرولیتر آنزیم Taq DNA Polymerase (۵۰)، ۲/۵ میکرولیتر MgCl_2 با غلظت (۵۰ mM) و ۰/۲ میکرولیتر dNTP با غلظت (۱۰ mM)، تحت شرایط دمایی ۹۴ درجه سانتی گراد مدت ۲ دقیقه،

۱۳۹۳ تنوع ژنتیکی بالاتری را با نشانگرهای ریزماهوره در کپور دریایی (*Cyprinus carpio*) نسبت PCR-RFLP (لالویی و همکاران، ۱۳۸۷) مشاهده نمودند. James و Docker (۲۰۱۲) نشان دادند که نشانگر ریزماهوره توانایی بالاتری در جدایی جمعیت‌های اردک ماهی (*Sander vitreus*) در دریاچه وین پگ نسبت به نشانگر میتوکندریایی دارد. مطالعه ساختار جمعیتی ماهی حلوا سفید با استفاده از روش RAPD یک جمعیت واحد از این گونه را در سواحل ایران و کویت مشخص نمود (Almomin *et al.*, 2008). در حال حاضر اکثر گزارشات مقایسه‌ای نشانگرها در زمینه بررسی تنوع ژنتیکی مربوط به مطالعات مجزایی است که در زمان‌های متفاوت بر روی نمونه‌های مختلف انجام شده است بنابراین مطالعه حاضر با هدف مقایسه هم‌زمان دو روش ریزماهوره و PCR-RFLP در بررسی تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیتی ماهی حلوا سفید در سواحل ایرانی و کویت (دریای عمان و خلیج فارس) انجام شد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری

تعداد ۱۰۰ نمونه ماهی حلوا سفید از آب‌های ایران ناحیه خلیج فارس (مناطق خوزستان، کویت و بوشهر) و دریای عمان (بوشهر)، از هر منطقه ۲۵ ماهی، با استفاده از دام‌های گوشت‌گیر صید و نمونه باله از ماهیان تجاری تهیه گردید و در الکل اتانول نگهداری شدند (نمونه‌های کویت توسط محققین انستیتو تحقیقات علوم کویت جمع‌آوری و با روش مشابه نگهداری و به موسسه تحقیقات شیلات ایران ارسال شد). این نمونه‌ها برای انجام آزمایشات مولکولی به آزمایشگاه ژنتیک

و فاصله ژنتیکی با استفاده از معیار (Nei, 1972) با استفاده از نرم افزار GENEALEX (version 6) صورت گرفت. وجود ال‌های نول با استفاده از نرم افزار (version 2.2.3) Microchecker مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج

از ۱۶ آنزیم محدودالایثر مورد استفاده در این تحقیق، ۴ آنزیم (*Hpa II*، *Hinf I*، *Acc II*، *Alu I*) دارای الگوهای پلی مورفیسم بوده و در ۱۰۰ نمونه مورد بررسی در مجموع ۱۰ نوع ترکیب هاپلو تپی متفاوت را ایجاد کرد. سایر آنزیم‌ها بر روی محصول PCR در کلیه نمونه‌ها الگوی هضم آنزیمی مشابهی را ایجاد نمودند و همگی مونو مورف بودند. جدول ۱ چگونگی توزیع هاپلو تپ‌ها را در ۴ مناطق مورد بررسی را نشان می‌دهد. هاپلو تپ‌های AAAB، AABA، BAAA با فراوانی یک (Rare Haplotype) در منطقه خوزستان و هاپلو تپ‌های نادر ACAA و DAAA در منطقه چابهار و هاپلو تپ نادر CAAA نیز در منطقه کویت فقط دیده شد که در جدول آورده نشده است. در منطقه بوشهر هیچ گونه پلی مورفیسمی دیده نشد.

جدول ۱: چگونگی توزیع هاپلو تپ‌ها را در مناطق مورد بررسی

مناطق	CAAD	ABAA	AAAC	AAAA
کویت	۱	۰	۲	۲۱
چابهار	۱	۲	۰	۲۰
بوشهر	۰	۰	۰	۲۵
خوزستان	۰	۱	۰	۲۱

۳۵ سیکل شامل ۹۴ درجه سانتی گراد مدت ۳۰ ثانیه، درجه حرارت اتصال مدت ۴۵ ثانیه، ۷۲ درجه سانتی گراد مدت ۱۰ دقیقه به منظور دناتوره شدن، اتصال آغازگر و بسط انجام شد. جهت کنترل محصول PCR، محصول PCR بر روی ژل آگارز ۱ درصد الکتروفورز گردید و سپس با رنگ آمیزی اتیدیوم بروماید و با استفاده از اشعه UV باندهای DNA مورد بررسی قرار گرفت. سپس هضم آنزیمی محصول PCR با استفاده از ۱۶ آنزیم محدودالایثر (*Dra I*، *EcoR I*، *Pst I*، *Hind III*، *Bcl I*، *Alu I*، *Tas I*، *Alw26 I*، *Tru I*، *Hpa II*، *Hinf I*، *Hae III*، *Hinc II*، *Acc II*، *BseN I*، *Hin6I*) انجام گرفت. داده‌های به دست آمده از این تحقیق با استفاده از نرم افزار REAP مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت برای تعیین اختلاف بین مناطق از روش تست همانندسازی با ۱۰۰۰ بار تکرار Monte carlo استفاده شده است (Roff and Bentzen, 1989).

روش ریزماهواره

جهت انجام مطالعه ریزماهواره، واکنش زنجیره‌ای پلیمرز با استفاده از ۷ جفت آغازگر اختصاصی ریزماهواره Par 02، Par 03، Par 04، Par 08، Par 12، Par 17، Par 18، Par 20 که توسط Hua Yue و همکاران (۲۰۰۶) چند شکلی نشان داده بودند (جدول ۱) استفاده شد و الکتروفورز عمودی با استفاده از ژل پلی اکریل آمید ۸ درصد و متعاقب آن رنگ آمیزی نیترا نقره انجام شد. پس از اندازه گیری باندها، آنالیز آماری، فراوانی اللی، هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار، انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ، میزان تمایز بین مناطق با استفاده از معیار Fst

جدول ۲: تنوع ژنتیکی جایگاه‌های ریزماهواره مورد استفاده در ۳ جمعیت ایرانی و کویت (A: تعداد الل، H_o: هتروزیگوسیتی مشاهده شده، H_e: هتروزیگوسیتی مورد انتظار و P: تعادل هاردی-واینبرگ) (معنی داری اختلافات $0.05 < P < 0.01$ و $0.001 \leq P < 0.05$)

لوکوس	پارامتر	خوزستان	بوشهر	چابهار	کویت
Par 02	A	۴	۱	۴	۵
	H _o	۰/۴۴	۰/۲	۰/۱۲	۰/۴
	H _e	۰/۶۷	۰/۱۸	۰/۳	۰/۵۶
	P	۰/۰۰۰*	۰/۹۵۸	۰/۰۰۰***	۰/۷۹۷
Par03	A	۴	۲	۴	۵
	H _o	۰/۶	۰/۰۸	۰/۱۲	۰/۵۲
	H _e	۰/۷	۰/۳۲	۰/۳۱۴	۰/۶
	P	۰/۰۷۳	۰/۰۰۰***	۰/۰۰۰***	۰/۹۸
Par08	A	۸	۹	۹	۹
	H _o	1	۰/۶	۰/۸۴	۰/۸۸
	H _e	۰/۷	۰/۸	۰/۸۴	۰/۸۲
	P	۰/۰۰۰***	۰/۰۰۰***	۰/۰۰۰***	۰/۰۰۰***
par 12	A	۴	۸	۶	۶
	H _o	۰/۶	۰/۳۶	۰/۵۶	۰/۶
	H _e	۰/۶۴	۰/۸۳	۰/۷	۰/۶۵
	P	۰/۶۶	۰/۰۰۰***	۰/۰۹۶	۰/۰۰۰***
Par 17	A	۹	۷	۸	۸
	H _o	۰/۸	۰/۴۸	۰/۴۸	۱
	H _e	۰/۸۷	۰/۷۵	۰/۸۶	۰/۸۱
	P	۰/۰۰۰***	۰/۰۰۰***	۰/۰۰۰***	۰/۰۰۰***
Par 18	A	۳	۴	۷	۸
	H _o	۰/۷	۰/۲۸	۰/۴۴	۰/۷۲
	H _e	۰/۶۷	۰/۵۸	۰/۶۷	۰/۸
	P	۰/۰۰۰*	۰/۰۰۰***	۰/۰۰۰***	۰/۰۰۰***
Par 20	A	۵	۱۰	۱۰	۷
	H _o	۰/۸	۰/۶۴	۰/۹۶	۰/۷۶
	H _e	۰/۷۶	۰/۸۵	۰/۸۵	۰/۷۵
	P	۰/۰۰۰***	۰/۰۰۰***	۰/۰۰۰***	۰/۰۰۰***

نتایج آنالیز آماری با استفاده از ۴ هاپلوتیپ و حذف هاپلوتیپ‌های نادر تنوع هاپلوتیپی و نوکلئوتیدی داخل جمعیت‌ها و اختلاف نوکلئوتیدی بین جمعیت‌ها را به ترتیب (۰/۰۰۱۲۳۸±۰/۰۰۰۰۰۰۴) و (۰/۰۸۷۵±۰/۰۰۱۴۳) نشان داد. تست Monte carlo (Roff and Bentzen, 1989) اختلاف آماری معنی داری از لحاظ

نتایج آنالیز آماری با استفاده از ۴ هاپلوتیپ و حذف هاپلوتیپ‌های نادر تنوع هاپلوتیپی و نوکلئوتیدی داخل جمعیت‌ها و اختلاف نوکلئوتیدی بین جمعیت‌ها را به ترتیب

از ۲۸ تست هاردی واینبرگ (۷ جایگاه * ۴ جمعیت)، ۲۱ تست انحراف از تعادل را نشان دادند. اختلاف جمعیتی در بین تمام جمعیت‌ها مشاهده شد، بیش‌ترین اختلاف جمعیتی بین کویت و بوشهر ($P < 0/05$) و کم‌ترین اختلاف جمعیتی بین چابهار و بوشهر ($F_{st} = 0/08$ و $P < 0/05$) دیده شد. بیش‌ترین فاصله ژنتیکی بین نمونه‌های چابهار و خوزستان ($0/269$) و کم‌ترین بین نمونه‌های یوشهر و چابهار ($0/075$) دیده شد (جدول ۳).

پراکنش هاپلو تیپ‌ها در مناطق مختلف مورد بررسی نشان داد ($P > 0/05$ و $\chi^2 = 68/8$).

۷ جایگاه ژنی مورد استفاده در همه جمعیت‌ها پلی مورفیسم نشان دادند (جدول ۲). در بین جمعیت‌ها کم‌ترین تعداد ال (۵/۲۸) در هر جایگاه ژنی در خوزستان در حالی که بیش‌ترین تعداد ال (۶/۸۵) در چابهار و کویت دیده شد. در میان جمعیت‌ها کم‌ترین میزان هتروزیگوسیتی ($0/34$) در بوشهر و بیش‌ترین میزان هتروزیگوسیتی ($0/7$) در خوزستان مشاهده شد.

جدول ۳: ماتریس فاصله ژنتیکی (D) (بالای قطر) و اختلاف ژنتیکی جفتی جمعیت‌های حلوا سفید (F_{st}) (پایین قطر) با استفاده از جایگاه‌های ریزماهواره (معنی داری اختلافات $0/01 \leq *$)

جمعیت	کویت	چابهار	بوشهر	خوزستان
کویت	-	0/205	0/255	0/26
چابهار	0/062*	-	0/075	0/269
بوشهر	0/087*	0/021*	-	0/252
خوزستان	0/066*	0/081*	0/085*	-

بحث

مطالعه ماهیان در اکوسیستم‌های آبی از نظر تکاملی، بوم‌شناسی، رفتارشناسی، حفاظت و مدیریت منابع آبی، بهره‌برداری از ذخایر و پرورش آن‌ها حائز اهمیت است (جهانگیری و همکاران، ۱۳۹۲). اعمال مدیریت صحیح بر ذخایر آبریزان و توسعه آبرزی 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 می‌باشد، که این امر از نظر مدیریت شیلاتی و برنامه ریزی حفاظتی گونه‌ها حائز اهمیت است. پلی مورفیسم ژنوم میتوکندری و هسته به‌عنوان شاخص‌های ژنتیکی ارزشمند در ارزیابی ژنوم و ساختار

جمعیتی و محافظت از ذخایر ژنی گونه‌های مورد مطالعه مطرح می‌باشند (Thai et al., 2007). در مطالعه حاضر میزان تنوع ژنتیکی و هاپلو تیپی مشاهده شده با استفاده از ژنوم میتوکندریایی ($0/0875$) تخمین زده شد که کم‌تر از تنوع ژنتیکی مشاهده شده با استفاده از جایگاه‌های ریزماهواره ($0/53$) می‌باشد. تنوع میتوکندریایی پایین می‌تواند به این نسبت داده شود که تنوع ژنتیکی محاسبه شده در این روش بر اساس جهش بوده و نوترکیبی در آن دخالتی ندارد. پایین بودن تنوع ژنتیکی بر اساس ژنوم میتوکندریایی در گونه‌های مختلف گزارش شده است (طلا و همکاران، ۱۳۹۰ در ماهی سوکلا (*R. canadon*)؛ لالویی و همکاران، ۱۳۸۷ در کپور دریایی (*C. carpio*)؛ Hernandez و

بودن جمعیت‌های این گونه در سواحل ایران و کویت را نشان داد. هم‌چنین مغایر با یافته‌های Almomin و همکاران (۲۰۰۸) در جمعیت‌های این گونه با استفاده از روش RAPD می‌باشد که یک جمعیت واحد از این گونه را در سواحل ایران و کویت مشخص نمود. به‌نظر می‌رسد نرخ بالای جهش در ریزماهورها نشان‌دهنده قدرت بالای این نشانگرها در جدایی جمعیت‌ها می‌باشد. توانایی بالای ریزماهورها نسبت به سایر نشانگرها در جدایی جمعیت‌ها در روغن ماهی آتلانتیک، سوکلا و کپور توسط Ruzzente (۱۹۹۸)، سالاری علی آبادی (۱۳۸۸) و سلیمانی و همکاران (۱۳۹۳) گزارش شده است. در مطالعه حاضر میانگین فاصله ژنتیکی بین نمونه‌های مناطق ایرانی و بین نمونه‌های ایرانی و کویتی به ترتیب ۰/۲۱ و ۰/۲۳ محاسبه گردید که حاکی از تمایز ژنتیکی قابل ملاحظه بین مناطق مختلف می‌باشد. فاصله کم ژنتیکی مشاهده شده علی‌رغم فاصله جغرافیایی زیاد بین نمونه‌های چابهار و بوشهر می‌تواند دلیلی بر وجود جد مشترک برای نمونه‌های این دو منطقه باشد. فاصله ژنتیکی مشاهده شده در نمونه‌های مناطق مختلف این بررسی در محدوده گونه‌های هم‌جنس قرار گرفت که انشقاق ژنتیکی این جمعیت‌ها را پیشنهاد می‌نماید.

نتایج به‌دست آمده از این مطالعه نشان می‌دهد که ریزماهورها توانایی بالاتری در جدایی جمعیت‌ها نسبت به سایر نشانگرهای مولکولی هم‌چون mtDNA RFLP و RAPD دارند. شناسایی جمعیت‌های از نظر ژنتیکی مجزا می‌تواند به سازمان شیلات ایران و کویت در استراتژی‌های برداشت از ذخایر این گونه تحت فشار صیادی کمک نماید، هم‌چنین در صورت دستیابی به

همکاران (۲۰۱۵) در کوسه گالوس (*Galeorhinus galeus*). هم‌چنین تنوع ژنتیکی ریزماهوره ای مشاهده شده در این گونه کم‌تر از میزان تنوع ژنتیکی گزارش شده در گونه‌های دریایی (۰/۷۹) توسط Dewoody و Avis (۲۰۰۰) می‌باشد که این کاهش تنوع می‌تواند به صید بی‌رویه و غیر قانونی و از بین رفتن مکان‌های تخم‌ریزی طبیعی این گونه نسبت داده شود، به‌علاوه تمامی مکان‌های مورد مطالعه، بنادر مهمی می‌باشند که آلودگی‌های زیادی را وارد می‌نمایند. پایین بودن هتروزیگوسیتی در بوشهر می‌تواند ناشی از آلودگی‌های محیطی منتج از نیروگاه‌های برق باشد که موجب تنگنای ژنتیکی شده باشند. مدت زمان زیادی نیاز است که این کمبود تنوع ژنتیکی با استفاده از جهش یا مهاجرت بهبود یابد (Avis, 2004). انحراف از تعادل هاردی واینبرگ مشاهده شده با حضور آلل‌های نول، انتخاب و کاهش جمعیت مؤثر قابل توجه می‌باشد. در ماهیان، گونه‌های دریایی بر خلاف آب شیرین تنوع ژنتیکی بالاتری و تفاوت ژنتیکی پایین‌تری را نشان می‌دهند (Ward et al., 1994). اختلاف جمعیتی (Fst) محاسبه شده در بررسی ریزماهورهای این گونه به‌طور متوسط (۰/۰۶۶) و نزدیک به میانگین Fst تخمین زده شده در ۵۷ گونه ماهی دریایی (۰/۰۶) توسط Ward و همکاران (۱۹۹۴) بود که نشان‌دهنده جدایی جمعیت‌های مورد بررسی از یکدیگر و جریان ژنی محدود میان جمعیت‌ها می‌باشد. فاکتورهای هم‌چون فاصله جغرافیایی، تاثیرات هیدروجغرافیایی، الگوهای رفتاری از علل ایجاد جریانات ژنی محدود میان جمعیت‌ها می‌باشند. نتیجه این بررسی مغایر با نتیجه بررسی هم‌زمان این نمونه‌ها با استفاده از روش RFLP mtDNA می‌باشد که هموژن

- Nothern Gulf; A Case Study. Presented to Norway-FAO Expert Consultation on the Management of Shared Fish Stocks, Bergen, Norway.
- Almomin, S., Al-Enzi, K., Al-Husaini, M., Al-Amad, S., 2008. Optimization of RAPD-PCR for intraspecies polymorphism in *Pampus argenteus* in Kuwait. *Journal of Biotechnology*, 136, 5541-5547.
 - Avise, J.C., 2004. *Molecular Markers, Natural History and Evolution*. Chapman and Hall, New York, NY, USA.
 - Carr, S.M., Marshal, H.D., 1991. Detection of interspecific DNA sequence variation in the mitochondrial cytochrome B gene of Atlantic cod (*Gadus morhua*) by polymearse chain reaction. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 48, 48-52.
 - Dadzie, S., Abou-Seedo, F., Al-Shallal, T., 2008. Reproductive biology of the silver pomfret, *Pampus argenteus* (Euphrasen), in Kuwait waters. *Journal of Applied Ichthyology*, 16, 247-253.
 - DeWoody, J.A., Avise, J.C., 2000. Microsatellite variation in marine, freshwater and anadromous fishes compared with other animals. *Journal of Fish Biology*, 56, 461-473.
 - Hernández, S., Daley, R., Walker, T., Braccini, M., Varela, A., Francis, M.P., Ritchie, P.A., 2015. Demographic history and the South Pacific dispersal barrier for school shark (*Galeorhinus galeus*) inferred by mitochondrial DNA and microsatellite DNA mark. *Fisheries Research*, 167, 132-142.
 - Hillis, D.M., Moritz C., 1990., *Molecular Systematics, An overview of applications of molecular systematic*. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Association.
 - Hua Yue, G. Tong Young, W., Li, J., 2006. Multiplex genotyping of novel microsatellites from silver pomfret (*Pampus argenteus*) and cross-amplification in other pomfret species. *Molecular Ecology Note*, 6, 1073-1075.
 - James, S.M.B., Docker, M.F., 2012. Microsatellite and mitochondrial DNA markers show no evidence of population structure in walleye (*Sander vitreus*) in Lake Winnipeg. *Journal of Great Lakes Research*, 38, 47-57.
 - McKeown, N.J., Robin, J.P., Shaw, P.W., 2015. Species-specific PCR-RFLP for identification of early life history stages of squid and other applications to fisheries research. *Fisheries Research*, 167, 207-209.
 - Mork, J., Ryman, N., Stahl, G., Utter, F., Sundnes, G., 1985. Genetic variation in Atlantic cod (*Gadus morhua*) through its

تکنیک تکثیر این گونه می تواند در بازسازی ذخایر این گونه با ارزش مؤثر باشد.

سپاسگزاری

در اینجا بر خود لازم می دانیم از زحمات کلیه کسانی که مارا در انجام این تحقیق یاری نمودند سپاسگزاری نماییم.

منابع

- جهانگیری، ل.، شعبانی، ع.، رضایی، ح. ر.، ۱۳۹۲. مقایسه ساختار ژنتیکی سه جمعیت ماهی خیاطه استان گلستان با نشانگر ریزماهواره. ژنتیک نوین، ۴، ۴۲۳-۴۳۴.
- سالاری علی آبادی، م. ع.، ۱۳۸۸. مطالعه ساختار جمعیتی ماهی سوکلا در سواحل دریای عمان و خلیج فارس با استفاده از نشانگر ریزماهواره. رساله دکتری. دانشگاه علوم و فنون خرمشهر، ۲۰۰ص.
- سلیمانی، ن.، غلامحسین محمدی، غ. ح.، خدادادی، م.، ۱۳۹۳. بررسی تنوع ژنتیکی ماهی *Cyprinus carpio* پرورشی در استان خوزستان با استفاده از روش ریزماهواره ها. مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی مولکولی، ۴(۱۴)، ۹۳-۹۸.
- طلا، م.، کاظمی دامنه، ب.، لالویی، ف.، سلطانی، م.، آزاد، م.، کوچکی، آ.، ۱۳۹۰. بررسی پلی مورفسم ژنوم میتوکندریایی ماهی سوکلا در آب های شمالی خلیج فارس و دریای عمان، ۵، ۲۴۶-۲۵۱.
- لالویی، ف.، رضوانی گیل کلائی، س.، پور کاظمی، م.، ۱۳۸۲. بررسی مولکولی جمعیت ماهی *Barbus capito* در آب های حوضه جنوبی دریای خزر به روش PCR-RFLP. مجله علمی شیلات ایران، ۱، ۱۱۷-۱۳۰.
- AL-Husaini, M., 2002. Fishery of shared stock of the silver Pomfret, *Pampus argenteus*, in the

23. Skaarud, A., Woolliams, J.A., Gjoen, H.M., 2014. Optimising resources and management of genetic variation in fish-breeding schemes with multiple traits. *Aquaculture*, 421, 133-138.
24. Tan, M.P., Jamsari, A.F.J., Muchlisin, Z.A., Siti Azizah, M.N., 2015. Mitochondrial genetic variation and population structure of the striped snakehead, *Channa striata* in Malaysia and Sumatra, Indonesia. *Biochemical Systematics and Ecology*, 60, 99-105.
25. Thai, B.T., Burrige, Ch.P., Austin, Ch.M., 2007. Genetic diversity of common carp in vietnam using four microsatellite loci. *Aquaculture*, 269, 174-186.
26. Ward, R.D., Woodwark, M., Skinbinski, D.O.F., 1994.. A comparision of genetic diversity levels in marine, fresh water and anadromous fishes. *Journal of Fish Biology*, 44, 213-232.
27. Yagishita, N., Kobayoshi, T., Nakobo, T., 2002. Review of monophyly of the Kyphosidae inferred from the mitochondrial ND2gene. *Ichthyological Research*, 49 (2), 103-108.
- range. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 42, 1580-1587.
18. Nei, M., 1972. Genetic distance between populations. *American Naturalist*, 106, 283-292.
19. Peakall, R., Smouse, P.E., 2006. GENALEX 6: genetic analysis in excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*, 6, 288-295.
20. Ren, G.J., Hu, J.J., Gao, T.X., Han, Z.Q., 2105. Population structure and genetic diversity of *Ammodytes personatus* in the Northwestern Pacific revealed by microsatellites markers. *Biochemical Systematics and Ecology*, 61, 303-311.
21. Roff, D. A., Bentzen, P., 1989. The statistical analysis of mitochondrial DNA polymorphisms: X² problem of small sample size. *Molecular Biology and Evolution*, 2, 539-545.
22. Ruzzente, D.E., 1998. A comparision of several measures of genetic distances and population structure with microsatellite data. Bias and sampling variance. Review in *Fish Biology and Fisheries*, 55, 1-14.