مجله بوم شناسی آبزیان

بررسی تنوع ژنتیکی ماهی حلواسیاه *Parastromateus niger* در سواحل ایرانی خلیج فارس با استفاده از نشانگر ملکولی AFLP

مژده شریفی[۱]، ایمان سوری نژاد[۱*]، سید جواد حسینی[۲]، سید احمد قاسمی[۲]، احمد فقیه[۲]

[۱] *گروه شیلات، دانشکده علوم و فنون دریایی و جوی، دانشگاه هرمزگان*

[۲] *بخش زیست فناوری، مرکز مطالعات و پژوهشهای دانشگاه خلیج فارس، بوشهر*

تاریخچه مقاله:

دریافت: ۹۱/۰۶/۰۷

اصلاح: ۹۲/۰۷/۲۸

پذیرش: ۹۲/۰۸/۰۲

کلمات کلیدی:

حلوا سیاه

نشانگر ملکولی AFLP

تنوع ژنتیکی

خلیج فارس

چکیده

ماهی حلوا سیاه *Parastromateus niger* جزء مهمترین ماهیان پلاژیک تجاری سواحل جنوبی ایران است که به دلیل افزایش آلودگی ها و بهره برداری و صید بی رویه و از طرف دیگر فقدان برنامه های مدیریتی شیلاتی مثل شناسایی و تفکیک ذخایر ژنتیکی، ذخایر آن در حال کاهش می باشد. به منظور ارزیابی جمعیت های این گونه و حفظ ذخایر ارزشمند ژنتیکی آن، ساختار ژنتیکی ۳۲ نمونه ماهی حلوا سیاه در خلیج فارس در آبهای ساحلی بندرعباس، بوشهر و آبادان با استفاده از نشانگر ملکولی AFLP بررسی شد. این بررسی حدود ۲۰۵ باند قابل امتیاز دهی که شامل ۳۷ باند پلی مورف بود را نشان داد. درصد لوکوس های پلی مورفیسم در نمونه های ایستگاه بندرعباس (۸۱/۰۸٪)، نسبت به نمونه های بوشهر (۹٤/٥۹٪) و آبادان (۸٦/٤۹٪) کمتر بود. بیشترین میزان تنوع ژنتیکی براساس ضریب Nei و شاخص شانون به ترتیب برای نمونه های بوشهر (۰/٤۰۰) و (۰/۱۸±۰/٥۷٤) و کمترین میزان برای نمونه های بندرعباس (۰/۳۲٥) و (۰/۲٥±۰/٤۷٤) محاسبه شد. نتایج آنالیز AMOVA بیانگر اختلاف بین جمعیتی به میزان ۱٤ درصد و اختلاف درون جمعیتی به میزان ۸٦ درصد بود. با توجه به میزان Fst بین جمعیتی (۰/۰۹-۰/۱۸) و وجود جریان ژنی بین جمعیتی محدود (۱/۰۹ تا ۲/٥٤) می توان جمع بندی نمود که احتمالاً ۳ جمعیت جدا از ماهی حلوا سیاه در خلیج فارس در مناطق بندرعباس، بوشهر و آبادان وجود دارد.

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: **sourinejad@hormozgan.ac.ir**

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1391.2.2.6.8]

مقدمه

از اواسط دهه ۱۹۸۰، تحقیقات در زمینه ژنتیک و زیست فناوری در آبزی پروری و شیلات رشد پیوسته خود را آغاز کرده است و در حال حاضر تحقیقات در این زمینه بسیار فعال است. از جمله مهمترین زمینه‌های فعالیت تحقیقات ژنتیک آبزیان می‌توان به استفاده از اصول ژنتیک و زیست فناوری جهت مدیریت صحیح ذخایر آبزیان، بازسازی جمعیت های بومی و حفاظت از ذخیره ژنی و تنوع ژنتیکی در منابع طبیعی و گونه های در معرض انقراض اشاره نمود (Dunham, 2004). تنوع ژنتیکی، قابلیت بقای یک گونه یا جمعیت را از طریق ایجاد توانایی سازگاری با تغییرات محیطی فراهم می کند و بنابراین وجود تنوع ژنتیکی برای بقای طولانی مدت یک گونه ضروری است. به طور کلی مدیریت تنوع ژنتیکی در موجودات، نیازمند ارزیابی ساختار ژنتیکی و تفکیک ذخایر گونه مورد نظر است. بنابراین آگاهی و بررسی دایمی وضعیت ژنتیکی گونه هایی که در معرض بهره برداری و صید بی رویه قرار دارند، برای حفظ و مدیریت آنها ضروری است. به عبارت دیگر دانستن ساختار ژنتیکی آبزیان و تمایز جمعیتهای متفاوت و آگاهی از تنوع ژنتیکی درون و بین جمعیتی یکی از مولفه های بسیار مهم و اساسی در موفقیت و دستیابی به مدیریت پایدار زیست شناختی و ژنتیکی و به عنوان پیش نیازی برای حفظ جمعیت ها و سازگاری آنها در شرایط محیطی در حال تغییر قلمداد می گردد (Diz and Presa, 2009).

تکنیک AFLP[1] یا بررسی تنوع ژنتیکی با استفاده از قطعات برش خورده و تکثیر شده DNA در سال ۱۹۹۵ توسط Vos و همکاران ابداع شد. این نشانگر مبتنی بر واکنش زنجیره‌ای پلیمراز است و در بین نشانگرهای ژنتیکی، دارای کارایی بالا در ارزیابی تنوع درون جمعیتی و بین جمعیت ها می باشند. در این روش نیاز به اطلاع اولیه از ژنوم موجود نمی باشد و حتی اگر هیچ اطلاعی از توالی ژنوم گونه موجود نباشد محدودیت ایجاد نمی کند (Bensch and Akesson, 2005; Meudt and Clarke, 2007). از دیگر مزیت های این مارکر قابلیت بررسی لوکوس های زیاد در یک آنالیز می باشد که به طور قابل ملاحظه ای هزینه را در یک آنالیز کاهش داده و همچنین پلی مورفیسم زیادی را نشان می دهند و بنابراین کاربرد وسیعی در سیستماتیک مولکولی، آنالیز ساختار جمعیت و بررسی تنوع ژنتیکی در گونه ها و بین جمعیت ها دارند (Liu and Cordes, 2004; Liu, 2007).

[1] Amplified Fragment Length Polymorphism

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1391.2.2.6.8]

گونه ماهی حلوا سیاه[2] (*Parastromateus niger*) از خانواده گیش ماهیان[3] جزء مهمترین ماهیان بنتوپلاژیک تجاری سواحل جنوبی ایران است. این ماهی الگوی مهاجرت عمودی روزانه از بستر های گلی (در عمق ٤٠-١٥ متر) دارد. روزها در نزدیک بستر و شبها به سوی سطح می آید، دارای شنای کند است و معمولاً به صورت schooling شنا می کنند (Carpenter *et al*., 1997). ماهی حلوا سیاه در سراسر فلات قاره هند و غرب اقیانوس آرام، سواحل شرقی آفریقای جنوبی و اندونزی، استرالیا و سواحل جنوبی ژاپن و چین و در دریاهای گرمسیری و نیمه گرمسیری از جمله خلیج فارس و دریای عمان پراکنش دارد (Bannikov, 1987). ماهی حلوا سیاه دارای ارزش بالای گوشت بوده و از نظر اقتصادی بسیار ارزشمند است و در بازارهای داخلی و جهانی از اهمیت زیادی برخوردار است. اطلاعات کمی از ساختارهای ژنومیک این گونه گزارش شده است. مروری بر مطالعات منتشر شده نشان دهنده این مطلب است که تنها مطالعه مولکولی در مورد این گونه در کشور، توسط ابدالی و همکاران (١٣٨٥) گزارش شده است که به روش PCR-RFLP به معرفی نشانگرهای ژنتیکی برای شناسایی و جداسازی ٤ گونه از گیش ماهیان از جمله حلوا سیاه در خلیج فارس پرداخته اند.

به دلیل افزایش آلودگی ها و بهره برداری و صید بی رویه، ذخایر ماهی حلوا سیاه در خلیج فارس در حال کاهش می باشد. طبق آمار سازمان شیلات در سال ١٣٩٠، صید ماهی حلوا سیاه حدود ٥٤٦٨/٨ تن از صید کفزیان را در استانهای جنوبی در سواحل خلیج فارس و دریای عمان تشکیل داده است. بیشترین میزان صید ماهی حلوا سیاه در سواحل شمالی خلیج فارس طی ماههای اسفند و فروردین صورت می گیرد که بیشترین سهم میزان صید در سواحل هرمزگان و به میزان ١٧١٦ تن بوده است. ارزیابی و تفکیک جمعیت های گونه حلوا سیاه به منظور حفظ ذخایر ارزشمند ژنتیکی آن بسیار ضروری به نظر می رسد. با توجه به مطالب گفته شده در خصوص اهمیت تجاری گونه ارزشمند ماهی حلوا سیاه و کاهش ذخایر آن که لزوم توجه جدی به حفظ ذخایر ژنتیکی و فهم ساختار جمعیتی آن را در خلیج فارس آشکار می سازد در این مطالعه با روش AFLP به بررسی ساختار جمعیتی این گونه در خلیج فارس پرداخته می شود.

[2] Black Pomfret
[3] Carangidae

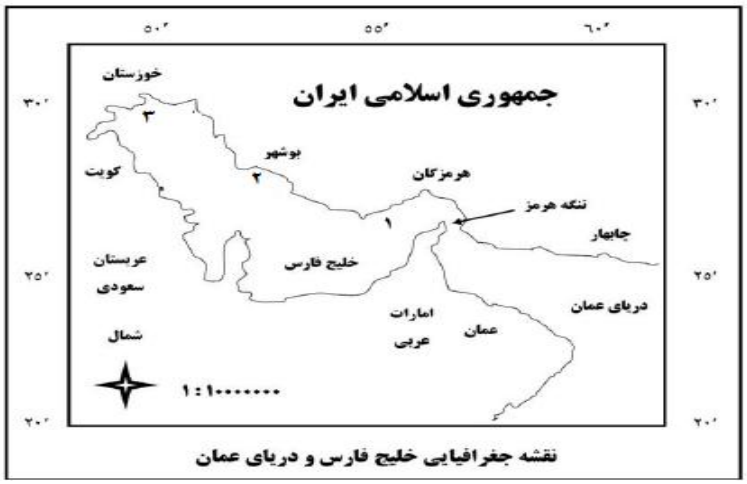
[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1391.2.2.6.8]

مواد و روشها

نمونه برداری

در این بررسی از انتهای باله پشتی ۳۲ عدد ماهی حلوا سیاه که از ۳ منطقه در خلیج فارس (آبادان، بوشهر و بندرعباس) جمع آوری شده بودند نمونه برداری گردید (شکل ۱). نمونه ها در داخل میکروتیوب به همراه الکل اتانول مطلق قرار گرفت و جهت انجام آزمایش به بخش بیوتکنولوژی مرکز مطالعات و پژوهشهای دانشگاه خلیج فارس منتقل گردید.



شکل ۱. موقعیت مناطق نمونه برداری در سواحل شمالی خلیج فارس (۱ بندرعباس، ۲ بوشهر، ۳ آبادان)

آنالیز AFLP

استخراج DNA از بافت به روش فنل کلروفرم انجام شد (Hillis and Moritz, 1990). به منظور ارزیابی کمی و کیفی DNA از ژل آگارز ۱ درصد و اسپکتروفتومتر (CECIL, CE, Italy) استفاده گردید. مراحل AFLP بر اساس روش Vos و همکاران (۱۹۹۵) با کمی تغییر بر اساس روش بهینه شده در مرکز مطالعات و پژوهش های دانشگاه خلیج فارس به شرح ذیل انجام شد. در مرحله Digestion، هضم ۲۵۰ نانوگرم از DNA ژنومی توسط ۵ U از آنزیمهای برشگر *Mse*I و *Eco*RI (Fermentas, France) به مدت ۲ ساعت و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و۲ ساعت در دمای ٦٥ درجه سانتی گراد به انجام رسید. سپس در مرحله Ligation، الحاق آداپتورهای *Mse*I و *Eco*RI با توالی مورد نظر (جدول ۱) و با غلظت ۵۰ mM به همراه آنزیم الحاق دهنده T4 DNA Ligase و بافر الحاق به مدت ۱۲ ساعت در دمای ۲۲ درجه به انتهای قطعات برش

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1391.2.2.6.8]

خورده قطعات ژنومی انجام شد. پس از آن محصول واکنش به میزان ٤ برابر رقیق شده و محصول حاصل بر روی ژل آگارز برده شد تا انجام واکنش تایید گردد. تکثیر قطعات در طی دو مرحله تکثیر پیش انتخابی و انتخابی انجام گرفت. PCR اولیه پیش انتخابی[4] می باشد و در این واکنش از یک پرایمر M+1 و E+1 در شرایط معمول استفاده می گردد. این دو پرایمر E+A و M+C می باشند. در مرحله دوم تکثیر، محصولات حاصل از تکثیر پیش انتخابی به نسبت ۱:۵ رقیق شده و در واکنش تکثیر PCR انتخابی[5] با سه نوکلئوتید انتخابی (E-ACC/M-CCG،E-ACA/M-CCC،E-AAC/M-CAA،E-ACC/M-CCC-، ACA/M-CAA) استفاده گردید. شرایط مواد طبق یک PCR معمولی است اما برنامه حرارتی به صورت touchdown انجام گرفت. محصولات حاصل از تکثیر انتخابی بر روی ژل پلی اکریل آمید ٦ درصد (دستگاه الکتروفورز سکانسر مدل BIO-RAD،SequiGen- 38×30) الکتروفورز و پس از الکتروفورز رنگ آمیزی به روش نیترات نقره انجام شد. از الگوی نواری به دست آمده عکس برداری گردید و امتیاز دهی باندها به صورت صفر و یک به ترتیب برای عدم وجود باند و وجود باند صورت گرفت.

آنالیز داده ها

درصد باند پلی مورفیسم، میزان شباهت و فاصله ژنتیکی بر اساس Nei (1978)، تنوع ژنتیکی و مولفه های PCA بر اساس تست AMOVA در سطح خطای ۰/۰۱ و در نرم افزار GenAlex version 6.5 و PopGene انجام شد. تجزیه و تحلیل خوشه ای که نشان دهنده قرابت افراد است، بر اساس روش UPGMA در نرم افزار TFPGA version 1.1 بین ۳ منطقه محاسبه شد.

نتایج

پلی مورفیسم AFLP و تنوع ژنتیکی در سه منطقه مورد مطالعه

نتایج حاصل از مشاهده و شمارش الگوهای باندی AFLP با استفاده از ۵ جفت ترکیب پرایمر نشان داد که در مجموع، ۲۰۵ باند قابل امتیاز دهی در محدوده ۱۰۰bp الی ٦۰۰bp حاصل گردیده است که از این تعداد، ۳۷ باند (حدود ۱۸/۰٤ درصد کل باندها) پلی مورف بود. تعداد باندهای تولید شده توسط هر جفت از آغازگرهای مورد استفاده از ۳۵ تا ٤۸ متغیر بود. بیشترین تعداد باند مربوط به ترکیب پرایمر (E=ACA,M=CAA) با ٤۸ باند و کمترین باند مربوط به ترکیب پرایمر (E-ACC/M-CCG)

[4] per selective
[5] selective

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1391.2.2.6.8]

با ۳۵ باند بود. در بین این پنج ترکیب پرایمرها، ترکیب پرایمرهای E=ACA,M=CAA و E=ACA,M=CCC به ترتیب بیشترین (۲۵٪) و کمترین (۱٤,۲۸٪) درصد پلی مورفیسم را در جمعیتهای مورد مطالعه نشان دادند. نتایج درصد باند پلی مورفیسم، تعداد آلل های مشاهده شده (Na) و آلل های موثر (Ne)، تنوع ژنتیکی بر اساس ضریب Nei و شاخص شانون به طور خلاصه در جدول ۲ آورده شده است.

جدول ۱. توالی آداپتورها و ترکیب آغازگرها

EcoRI adapter	**EcoRI-F: 5´-CTCGTAGACTGCGTACC-3´** **EcoRI-R:5´AATTGGTACGCAGTCTAC-3´**
MseI adapter	**MseI-F:5´-GACGATGAGTCCTGAG-3´** **MseI-R:5´-TACTCAGGACTCAT-3**
EcoRI+1 primer	**E01= 5´- GACTGCGTACCAATTCA -3´**
MseI+1 primer	**M02= 5´- GATGAGTCCTGAGTAAC - 3´**
EcoRI+3 primers, MseI+3 primer	**E-ACA/M-CAA ،E-ACC/M-CCC،E-AAC/M-CAA،E-ACA/M-CCC،E-ACC/M-CCG**

دامنه مقدار فراوانی آللی (Na) از ۱/۸۱±۰/۳۹ تا ۱/۹٤±۰/۲۲ و تعداد آلل های موثر (Ne) از ۱/۵۸±۰/۳۷ تا ۱/۷۳±۰/۳۱ بود. در مجموع با توجه به میزان باند تولید شده، میزان پلی مورفیسم در نمونه های ماهیان بندرعباس ۸۱/۰۸ درصد، در نمونه های ماهیان آبادان ۸٦/٤۹ درصد و در نمونه های ماهیان بوشهر ۹٤/۵۹ درصد بود. بیشترین میزان هتروزیگوسیتی یا تنوع ژنتیکی براساس ضریب Nei و شاخص شانون به ترتیب برای نمونه های بوشهر (۰/٤۰۰) و (۰/۵۷٤±۰/۱۸) و کمترین میزان برای نمونه های بندرعباس (۰/۳۲۵) و (۰/٤۷٤±۰/۲۵) محاسبه شد.

جدول ۲. پارامترهای تنوع ژنتیکی ماهی حلوا سیاه در مناطق مختلف نمونه برداری در خلیج فارس

منطقه	تعداد نمونه	P	N_a	N_e	H	I
بندرعباس	۱۰	۸۱/۰۸	۱/۸۱±۰/۳۹	۱/۵۸±۰/۳۷	۰/۳۲۵±۰/۱۸	۰/٤۷٤±۰/۲۵
بوشهر	۱۱	۹٤/۵۹	۱/۹٤±۰/۲۲	۱/۷۳±۰/۳۱	۰/٤۰۰±۰/۱٤	۰/۵۷٤±۰/۱۸
آبادان	۱۱	۸٦/٤۹	۱/۸٦±۰/۳٤	۱/٦۳±۰/۳۵	۰/۳۵۳±۰/۱۷	۰/۵۱۲±۰/۲۳
میانگین کل	–	۸۷/۳۹± ۳/۹۳	۲±۰/۰۰	۱/۷۹±۰/۲۳	۰/٤۳۰±۰/۰۹	۰/٦۱۸±۰/۱۰

P: درصد باند های پلی مورفیسم، N_a: تعداد آلل های مشاهده شده، N_e: تعداد آلل های موثر، H: تنوع ژنتیکی بر اساس ضریب Nei، I: تنوع ژنتیکی بر اساس شاخص شانون

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1391.2.2.6.8]

ساختار جمعیت

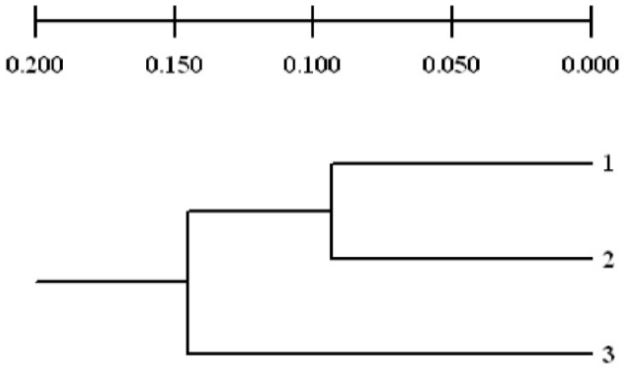
ماتریکس فاصله ژنتیکی بر اساس Nei's (1978)، بیشترین فاصله ژنتیکی را میان نمونه های آبادان و بندرعباس (۰/۲۰۵) و کمترین میزان را بین نمونه های بوشهر و آبادان (۰/۰۹۳) نشان داد. محاسبه شباهت ژنتیکی نیز بر اساس ضریب Nei's (1978)، کمترین شباهت بین نمونه های مورد مطالعه را بین ماهیان بندرعباس و آبادان (۰/۸۱٤) و بیشترین شباهت را بین ماهیان بوشهر و آبادان (۰/۹۱۰) نشان داد (جدول ۳).

جدول ۳. شباهت ژنتیکی (بالا) و فاصله ژنتیکی (پایین) بر اساس ضریب Nei (1978)

منطقه	بندرعباس	بوشهر	آبادان
بندرعباس	*****	۰/۸۵۲	۰/۸۱٤
بوشهر	۰/۱۵۹	*****	۰/۹۱۰
آبادان	۰/۲۰۵	۰/۰۹۳	*****

بر اساس درخت فیلوژنی حاصل از ضریب Nei، ماهیان سه منطقه نمونه برداری به دو کلاستر تقسیم شدند که در یک گروه نمونه های آبادان و بوشهر و در گروه دیگر نمونه های بندر عباس قرار گرفتند (شکل ۲).

بر اساس تجزیه و تحلیل مولفه PCA جهت بررسی روابط بین نمونه ها، ماهیان بندرعباس و آبادان در گروه مجزا از یکدیگر قرار می گیرند و همپوشانی بالایی ندارند و بنابراین جمعیت های جدا از یکدیگر را مشخص می کنند (شکل ۳ الف). آنالیز واریانس ملکولی (AMOVA) در سطح ۹۹ درصد، بیانگر اختلاف بین جمعیتی به میزان ۱٤٪ و اختلاف درون جمعیتی ماهیان بندرعباس، بوشهر و آبادان به میزان اختلاف ۸٦ ٪ می باشد (شکل ۳ ب). میزان جریان ژنی (Nm) و تمایز ژنتیکی (Fst) بین جمعیت ها در جدول ٤ ارائه شده است.



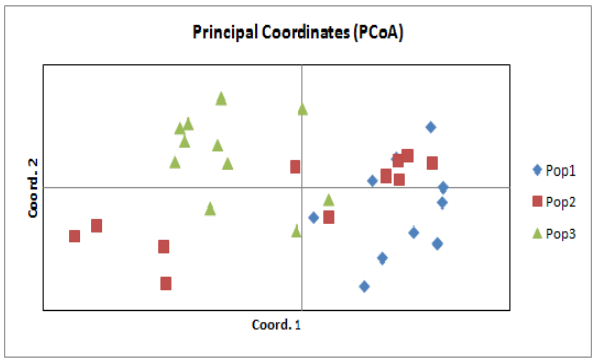
شکل ۲. نمایش خوشه ای فاصله ژنتیکی نمونه های ماهی حلواسیاه در خلیج فارس بر مبنای معیار فاصله ژنتیکی Nei, 1972 بر اساس روش UPGMA (۱. آبادان ۲. بوشهر و ۳. بندرعباس)

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2024-10-12]

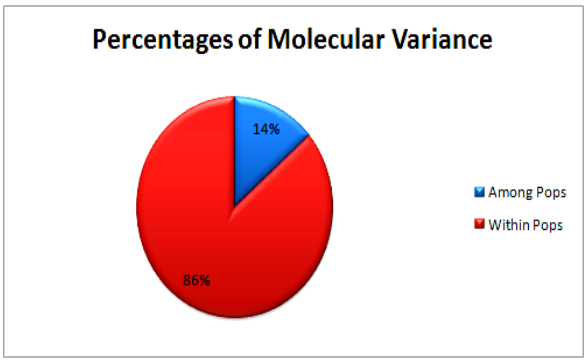
[DOR: 20.1001.1.23222751.1391.2.2.6.8]

بحث و نتیجه گیری

شناسایی تحولات درون گونه ای، تعیین ساختار جمعیت و امکان تفکیک جمعیتها یکی از نیازهای اساسی در اعمال مدیریت صحیح بهره برداری می باشد. اولین قدم در مدیریت صحیح منابع و ذخایر، شناسایی ذخایر ژنتیکی گونه های بومی می باشد. تشخیص و تفکیک گونه ها، جمعیتها و یا نژادها و اندازه گیری تنوع ژنتیکی در جمعیت ماهیان برای حفظ و مدیریت گونه های در معرض بهره برداری و صید بی رویه نیز ضروری است و بنابراین لازم است تنوع ژنتیکی همواره مورد ارزیابی دقیق و پایش مستمر قرار گیرد.



شکل ۳ (الف). نتایج آنالیز PCA نمونه های ماهی حلوا سیاه در مناطق بندرعباس (Pop1)، بوشهر (Pop2) و آبادان (Pop3)



شکل ۳ (ب). آنالیز واریانس ملکولی (AMOVA) بین و درون جمعیتی نمونه های ماهی حلوا سیاه

جدول ٤. میزان جریان ژنی (Nm) (پایین) و تمایز ژنتیکی (Fst) (بالا) بین جمعیت ها در ماهی حلوا سیاه در خلیج فارس

منطقه	بندرعباس	بوشهر	آبادان
بندرعباس	*****	۰/۱۳	۰/۱۸
بوشهر	۱/٥٤	*****	۰/۰۹
آبادان	۱/۰۹	۲/٥٤	*****

در این مطالعه با توجه به باندهای پلی مورفیسم در بین جمعیت ها، بیشترین تنوع در جمعیت ماهی حلوا سیاه منطقه بوشهر (۹٤/٥۹) و کمترین تنوع در بندرعباس (۸۱/۰۸) محاسبه شد. تفاوت در پلی مورفیسم جمعیت های مختلف یک گونه دلایل مختلفی از جمله آلودگی های ایجاد شده توسط استقرار صنایع مختلف و اسکله های متعدد، تردد شناورها، تخلیه و بارگیری مواد معدنی و فلزی در حاشیه ساحل و نیز ورود آب های سطحی و خصوصاً فاضلاب به دریا دارد. تئوری ژنتیک جمعیت

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1391.2.2.6.8]

پیش بینی می کند که جمعیتهای بزرگتر تمایل به نگهداشتن تنوع ژنتیکی در سطح بالاتر را دارند (Wang *et al*., 2010). بنابراین می توان احتمال داد که جمعیت های بزرگتری از حلوا سیاه در خلیج فارس در ناحیه بوشهر و آبادان وجود داشته باشند.

بیشترین مقدار هتروزیگوسیتی در این پژوهش در ایستگاه بوشهر به میزان ۰/۴۰۰±۰/۱۴ محاسبه شد که نشانه مناسب بودن ساختار جمعیت در این ناحیه نسبت به جمعیتهای سایر نواحی نمونه برداری است. از لحاظ جغرافیایی، بوشهر مابین دو منطقه بندرعباس و آبادان قرار گرفته است و با دو جمعیت در ارتباط است. بنابراین در جمعیت بوشهر داشتن فرصت تولید مثلی بیشتر با دو جمعیت دیگر از دلایل احتمالی وجود تنوع ژنتیکی بیشتر می باشد. بنابراین علت تنوع ژنتیکی بالاتر در منطقه بوشهر را می توان به فرصت بیشتر برای تکثیر طبیعی نسبت به جمعیت بندرعباس و آبادان، بهره برداری اصولی تر از منابع شیلاتی، عدم تخریب زیستگاه های طبیعی، بالا بودن میزان جریان ژنی و... نسبت داد. یعیش بچاری و همکاران (۱۳۸۸) در بررسی تنوع ژنتیکی ماهی گل خورک (*Periophthalmus waltoni*)، بیشترین مقدار هتروزیگوسیتی را از ایستگاه هندیجان به دست آورد و احتمال داد که شرایط متنوع محیطی باعث افزایش سازگاری و افزایش پلی مورفیسم شده است. Camargo و Martinez (۲۰۰۶) نشان دادند که ماهی *Prochilodus lineatus* در رودخانه Urban در جنوب برزیل دارای کاهش هتروزیگوسیتی ناشی از آلودگی آن محیط می باشد. مشابه وضعیت فوق در تحقیق حاضر در منطقه بندرعباس نیز وجود دارد که به نظر می رسد یکی دیگر از دلایل کاهش پلی مورفیسم در این منطقه، آلودگی های زیست محیطی ایجاد شده در دریا باشد. با توجه به آمار محیط زیست، حدود ۶۰ درصد فاضلاب استان هرمزگان به دریا تخلیه می شود. Hassanien و همکاران (۲۰۰۴) در بررسی تنوع ژنتیکی تیلاپیا *Oreochromis niloticus* در رودخانه نیل در مصر، بیشترین درصد باندهای پلی مورفیسم را در منطقه Qena گزارش نمودند که ناشی از تفاوت جغرافیایی زیاد این منطقه با بقیه مناطق مورد بررسی می باشد. در پژوهش حاضر، نمونه های بوشهر دارای درصد بالای پلی مورفیسم بوند ولی برخلاف نتایج Hassanien و همکاران به نظر نمی رسد این درصد بالای پلی مورفیسم تابع فاصله جغرافیایی زیاد باشد. در این منطقه ورود آب شیرین از رودخانه های مند و حله و دالکی و اختلاط آن با آب دریا، تغییرات محیطی فراوانی از جمله پایین آمدن شوری و غنای غذایی این منطقه و تنوع زیستی بیشتر ایجاد کرده که می توان احتمال داد این درصد بالای پلی موفیسم تابع این تغییرات نیز باشد. همچنین بر اساس اطلاعات آماری بر گرفته از سازمان شیلات ایران میزان صید این گونه در بوشهر نسبت به سایر نواحی کمتر است (اداره آمار سازمان شیلات ایران، ۱۳۹۰). بنابراین این جمعیت بزرگتر، فرصت بیشتری برای تولید مثل نسبت به جمعیت بندرعباس و

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1391.2.2.6.8]

آبادان دارند که می تواند یکی دیگر از دلایل وجود پلی مورفیسم بالاتر در این منطقه باشد. میزان پلی مورفیسم و تنوع ژنتیکی به دست آمده در تحقیق حاضر در مقایسه با گزارش های منتشر شده در برخی ماهیان دریایی دیگر با استفاده از این نشانگر از جمله *Nibea albiflora* (Han *et al*., 2006)، *Pagrus major* (Wang *et al*., 2001)، *Paralichthys olivaceus* (Zhang *et al*., 2004)، *Larimichthys polyactis* (Han *et al*., 2009)، *Pampus argenteus* (Zhao *et al*., 2011)، *Mugil cephalus* (Liu *et al*., 2009) و ماهی سنگسر معمولی خلیج فارس *Pomadasys kaakan* (سالاری علی آبادی و همکاران، ۱۳۹۰) در سه منطقه مشابه این بررسی و همچنین ماهی کفال خاکستری *Mugil cephalus* در خلیج فارس (فقیه احمدانی و همکاران، ۱۳۹۰) بیشتر بود. جمعیت های بزرگتر دلیلی برای میزان تنوع ژنتیکی بیشتر در بسیاری از ماهیان دریایی است (Avise, 2000). با وجود این، اکثر ماهیان دریایی میزان اختلاف ژنتیکی کمتری میان مناطق جغرافیایی نشان می دهند که ممکن است به دلیل پلاژیک بودن تخم ها و لاروها و یا مهاجرت ماهیان بالغ یا نوجوان بین مناطق مختلف دریا و یا رودخانه ها و مناطق همجوار حاشیه اقلیم قاره ای باشد (Hewitt, 2000; Rhodes *et al*., 2003).

در پژوهش حاضر، میزان Fst در بین جمعیت ها در دامنه ۰/۱۸-۰/۰۹ (میانگین ۰/۱۳) محاسبه شد. با توجه به گزارش Wright در سال ۱۹۷۸، هرگاه مقدار Fst به دست آمده کمتر از ۰/۰۵ باشد نشان دهنده وجود تمایز ژنتیکی کم، مقدار بین ۰/۰۵ تا ۰/۱۵ نشان دهنده تمایز متوسط، مقدار بین ۰/۱۵تا ۰/۲۵ نشان دهنده تمایز بالا و مقدار بیش از ۰/۲۵ نیز نشان دهنده تمایز ژنتیکی خیلی بالا در بین جمعیت ها می باشد. بنابراین در تحقیق فعلی تمایز ژنتیکی متوسطی بین جمعیت های مناطق مورد بررسی وجود دارد. بر همین اساس، Michett و همکاران در سال ۲۰۰۳ در گربه ماهی کانالی (*Ictalurus punctatus*)، میزان Fst برابر با ۰/٤٤٥٦ را تمایز ژنتیکی زیاد بین جمعیت ها و میزان ۰/۱۷٦ را تمایز ژنتیکی متوسطی بین جمعیتها استنباط می کنند. همچنین Zhao و همکاران در سال ۲۰۱۱ در ماهی حلوا سفید اختلاف ژنتیکی متوسطی برابر با ۰/۱۱ بین جمعیت های مورد بررسی تعیین نمودند. آنالیز نتایج حاضر نشان دهنده تمایز ژنتیکی بالا (۰/۱۸) بین جمعیت بندرعباس در شرق خلیج فارس و جمعیت آبادان در غرب خلیج فارس است. این مساله می تواند ناشی از مهاجرت کم جمعیتهای این گونه بین مناطق ذکر شده باشد که با بیولوژی این گونه که سرعت شنای کندی دارد و دارای رفتار schooling است نیز مطابق است. در رفتار schooling تمایل به درون آمیزی در هر جمعیت بیشتر است (Carpenter *et al*., 1997). جمعیت هایی که به صورت گروهی زندگی می کنند و رفتار schooling دارند نتایج یک والد با یکدیگر طلاقی داشته و هموژنی جمعیتی به صورت دراز مدت باعث تمایز بسیار با جمعیت های دیگر می شود. در تحقیق حاضر با توجه به میزان

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1391.2.2.6.8]

تمایز ژنتیکی متوسط جمعیت های ماهی حلوا سیاه و همچنین وجود جریان ژنی پایین (میانگین ۱/۷۲) احتمال می رود جمعیت های جدا از این گونه در خلیج فارس در مناطق بندرعباس، بوشهر و آبادان وجود داشته باشد. میزان جریان ژنی در تحقیق فعلی هر چند در حد زیادی نیست اما همین مقدار هم نشان دهنده این است که مقدار متوسط مهاجرت موثر بین جمعیت ها وجود دارد. ممکن است یکی از علل عمده وجود جریان ژنی بیشتر از یک در این گونه داشتن تخم و لارو پلاژیک باشد (Smith-Vaniz, 1984).

در مورد مقدار شباهت ژنتیکی برای سطوح فیلوژنی مختلف در شاخه مهره داران، جمعیت هایی که به گونه های مشابه تعلق دارند، شباهت ژنتیکی بین ۰/۹۰-۰/۸۰ و گونه های متعلق به جنس های مشابه، بین ۰/۸۵-۰/۳۵ نشان می دهند (Thorpe, 1982). شباهت ژنتیکی به دست آمده در بین جمعیتها در این بررسی در دامنه ۰/۹۱۰-۰/۸۱٤ (میانگین ۰/۸۵۹) محاسبه شد که در محدوده گونه های مشابه قرار دارد. همچنین در بررسی حاضر حداکثر مقدار ماتریکس فاصله ژنتیکی بر اساس ضریب Nei، بین نمونه های بندر عباس با نمونه های آبادان مشاهده شد که با فاصله جغرافیایی زیاد میان آنها مطابقت دارد. نتایج Zhao و همکاران (۲۰۰۷) در بررسی تنوع ژنتیکی صدف *Cyclina sinensis* با استفاده از AFLP نشان داد که با افزایش فاصله جغرافیایی، فاصله ژنتیکی نیز افزایش می یابد که علت آن احتمالاً کاهش جریان ژنی با افزایش فاصله جغرافیایی می باشد. در نتیجه نمونه هایی که از نظر جغرافیایی نزدیکتر هستند، از نظر ژنتیکی نیز شباهت بیشتری دارند و با افزایش فاصله جغرافیایی، فاصله ژنتیکی نیز افزایش می یابد. در الگوی کلی ساختار ژنتیک جمعیت، تمایز ژنتیکی درون جمعیتی، در ماهیان دریایی بیشتر از تمایز ژنتیکی بین جمعیت هاست که خود می تواند ناشی از موانع اقیانوسی یا زمینی باشد که باعث جلوگیری از پراکندگی می شوند. با تشدید توسعه شهر نشینی و نواحی صنعتی، بعضی از زیستگاه های تخمریزی، مکان های نوزادگاهی و تغذیه ای از بین رفته اند که بنابراین ممکن است جمعیت های متفاوتی را در بعضی از زیستگاه های جدا شده درون یک ناحیه با فاصله جغرافیایی کوتاه به وجود آورد (Qian *et al*., 2011). خلیج فارس به دلیل نیمه بسته بودن و ورود مقادیر زیادی آلاینده های صنعتی و شهری به درون این اکوسیستم به نظر می رسد می تواند چنین تاثیری را القا کند و تفاوت درون جمعیتی بیشتری نسبت به تفاوت بین جمعیتی در گونه های آبزیان به وجود آورد. با توجه به نتایج به دست آمده و تجزیه و تحلیل های انجام شده در این تحقیق، اگر چه تنوع ژنتیکی مناسبی در درون هر یک از جمعیت ها مشاهده می شود، اما تنوع ژنتیکی چندانی بین جمعیت های موجود در مناطق نمونه برداری شده وجود ندارد که جریان ژنی محدود بین جمعیت ها نیز این مساله را تایید می نماید. نتایج به دست آمده از این مطالعه ممکن است به سبب تعداد پرایمرها و تعداد نمونه های مورد

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1391.2.2.6.8]

بررسی محدود باشد. بنابراین، داده های ژنتیکی و آنالیزهای بیشتری برای تایید وجود یا عدم وجود تفاوت های ژنتیکی بیشتر بین ذخایری که تفاوتی را نشان نداده اند، نیاز است.

در جمع بندی، نشانگر AFLP به خوبی قادر به تفکیک جمعیت ها و تعیین ساختار ژنتیکی ماهی حلوا سیاه در تحقیق حاضر بود. با توجه به آنالیز داده های حاصل از تحقیق که بیانگر میزان Fst بین جمعیتی ۰/۰۹ تا ۰/۱۸، وجود جریان ژنی محدود ۱/۰۹ تا ۲/٥٤ و اختلاف بین جمعیتی ١٤٪ بود می توان جمع بندی نمود که احتمالاً ۳ جمعیت جدا از ماهی حلوا سیاه در خلیج فارس در مناطق بندرعباس، بوشهر و آبادان وجود دارد. از آنجا که نتایج این بررسی اولین اثبات ملکولی از وجود زیر جمعیتهای ماهی حلوا سیاه در خلیج فارس است بنابراین می توان نتایج حاضر را برای حفاظت از ذخیره ژنتیکی این گونه با ارزش و مدیریت و کنترل میزان صید در خلیج فارس مفید دانست. بنابراین بایستی با نظارت بر برنامه های مدیریتی در خصوص میزان صید و افزایش تحقیقات ژنتیکی و بیولوژیکی ماهی حلوا سیاه در خلیج فارس، به حفاظت بیشتر از ذخایر ژنی این گونه ارزشمند پرداخت.

تشکر و قدردانی

از ریاست محترم وقت مرکز مطالعات و پژوهش های دانشگاه خلیج فارس جناب دکتر مدرسی زاده و ریاست محترم فعلی و کارشناسان آن مرکز به ویژه آقای مهندس کامیاب و خانم مهندس آویژگان قدردانی می گردد.

منابع

ابدالی، س.، وثوقی، غ.ح.، رضوانی، س. ۱۳۸۵. بررسی ویژگیهای مورفولوژیک و مریستیک برخی از جنس‌های خانوادهٔ گیش ماهیان در خلیج فارس. مجله علمی شیلات ایران. سال پانزدهم، شماره ٤، صفحه ۱-۱۰.

اداره آمار سازمان شیلات ایران، ۱۳۹۰. *www.shilat.org*

سالاری علی آبادی، م. ع.، راستگو، ع. ر.، محمدی، م.، ارچنگی، ب.، قاسمی، س. ا. ۱۳۹۰. ساختار جمعیتی ماهی سنگسر معمولی (*Pomadasys kaakan* Cuvier, 1830) با استفاده از نشانگرهای مولکولی AFLP در خلیج فارس. علوم و فنون شیلات، سال اول، شماره ۱، صفحه ۲۷-۳۷.

فقیه احمدانی، ا.، حسینی، س.ج.، قاسمی، س.ا. ۱۳۹۰. مطالعه کروموزومی ماهی مید و بررسی تنوع ژنتیکی آن در خور زیارت (استان بوشهر) و رودخانه زهره (استان خوزستان) با استفاده از نشانگر AFLP. پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز. ۸۳ صفحه.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1391.2.2.6.8]

یعیش بچاری، س. ۱۳۸۸. تعیین تنوع ژنتیکی جمعیت گل خورک ماهی *Periophthalmus waltoni* در مناطق هندیجان، خور زنگی و دلوار با استفاده از روش مولکولی RAPD. پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر. ۸۹ صفحه.

Avise, J.C. 2000. Phylogeography. The History and Formation of Species. Harvard Univ. Press. Cambridge, MA. 447 pp.

Bannikov, A. F. 1987. The phylogenetic relationships of the carangid fishes of the subfamily Caranginae. Paleontological Journal. 1987: 44-53.

Bensch, S., Akesson, M. 2005. Ten years of AFLP in ecology and evolution: why so few animals?. Molecular Ecology. 14: 2899-2914.

Carpenter, K., Krupp, F., Jones, D., Zajonz, U. 1997.The living marine resources of Kuwait, eastern Saudi Arabia, Bahrain, Qatar,and the United Arab Emirates. FAO Species identification field Guide for fishery purposes. P: 293.

Camargo, M.M.P., Martinez, C.B.R. 2006. Biochemical and physiological biomarkers in Prochilodus lineatus submitted to insitu tests in an urban stream in southern Brazil. Environmental Toxicology and Pharmacology. 21: 61-69.

Diz, P.A., Presa, P. 2009. The genetic diversity pattern of *Mytilus alloprovincialis* in Galician Rías (NW Iberian estuaries). Aquaculture. 287: 278-285

Dunham, R.A. 2004. Aquaculture Fisheries Biotechnology: Genetic Approaches. Cambridge: CABI Publishing. 372 p.

Hassanien, H.A., Einady, M., Obeida, A., Itriby, H. 2004. Genetic diversity of Nile tilapia populations revealed by randomly. The American Naturalist. 107: 285-297.

Hillis, D.M., Moritz, C. 1990. Molecular taxonomy. Sinauer Associates Inc Publishers. Sunderland, Massachusetts. U.S.A. 120p.

Han, Z.Q., Gao, T.X., Wang, Z.Y., Zhuang, Z.M., Su, T.F. 2006. Analysis of genetic diversity of Nibea albiflora by AFLP markers. J. Fish. China. 30: 640–646.

Han, Z.Q., Lin, L.S., Shui, B.N., Gao, T.X. 2009. Genetic diversity of small yellow croaker Larimichthys polyactis revealed by AFLP markers. African Journal of Agricultural Research. 4: 605–610.

Hewitt, G.M. 2000. The genetic legacy of the Quaternary ice ages. Nature. 405: 907–913.

Liu, Z. 2007. Aquaculture Genome Technologies: First edition. Blackwell Publishing. Australia: P. 551.

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

Liu, J.Y., Lun, Z.R., Zhang, J.B., Yang, T.B. 2009. Population genetic structure of striped mullet, *Mugil cephalus*, along the coast of China, inferred by AFLP fingerprinting. Biochemical Systematics and Ecology. 37: 266–274.

Meudt, H.M., Clarke, A.C. 2007. Almost forgotten or latest practice? AFLP applications, analyses and advances. Trends in Plant Science. 12: 106–117.

Michett, K., Morton, C., Feng, J., Li, P., Simmons, M., Cao, D., Dunham, R.A., Liu, Z. 2003. Assessing genetic diversity of domestic populations of channel catfish (*Ictalurus punctatis*) in Alabama using AFLP markers. Aquaculture. 228: 91–105.

Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. Genetics. 89: 583-590.

Qian, X., Fei, C., Shin, P. K. S., Cheung, S. G., Yan, C., Caihuan, K. 2011. AFLP analysis of genetic variation among three natural population of horseshoe crab *Tachypleus tridentatus* along Chinese coast. Chinese journal of Oceanology and limnology. 29:284-289.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1391.2.2.6.8]

Rhodes, K.L., Lewis, R.I., Chapman, R.W., Sadow, Y. 2003. Genetic structure of camouflage grouper, Epinephelus polyphekadion (Pisces: Serranidae), in the western central Pacific. Marine Biology. 142: 771–776.

Thorpe, J.P. 1982. The molecular clock hypothesis: biochemical evolution, genetic differentiation and systematic. Annual Review of Ecology and Systematics. 13: 139-168.

Smith-Vaniz, W. F. 1984. Carangidae: relationships. In: Moser, H.G., Richards, W.J., Cohen, D.M., Fahay, M.P., Kendall Jr., A.W., Richardson, S.L. (Eds.), Ontogeny and Systematics of Fishes. Am. Soc. Ichthyol. Herpetol. Spec. Publ. 1: 522-530.

Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., Lee, T.V., Hornes, M., Frijters, A., Pot, J., Peleman, J.,

Kuipe,r M., Zabeau, M. 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. Nucleic Acids Research. 23: 4407-4414.

Wang, j., li, Q., Kong, L. 2010. Genetic variation and differentiation in wide ranging population of Razor Clam (Sinonovaculaconstricta) inferred from AFLP markers. Journal of Ocean University of China (Oceanic and Coastal Sea Research). 9(3): 297-302.

Wang, Z., Wang, Y., Lin, L., Hong, H., Zhang, Y., Khoo, S.K., Okamoto, N. 2001. Genetic variation and divergence of Pagrus major from China seas using AFLP fingerprinting. J. Fish. China. 25: 289–293.

Zhao, Y., Li, Q., Kong, L., Bao, Z., Wang, R. 2007. Genetic diversity and divergence among clam *Cyclina sinensis* populations assessed using amplified fragment length polymorphism. Fisheries Science. 73: 1338-1343

Zhao, F., Dong, Y., Zhuang, P., Zhang, T., Zhang, L., Shi, Z. 2011. Genetic diversity of silver pomfret (*Pampus argenteus*) in the Southern Yellow and East China Seas. Biochemical Systematics and Ecology. 39: 145–150

Zhang, Q.Q., Xu, X.F., Qi, J., Wang, X.L., Bao, Z.M. 2004. The genetic diversity of wild and farmed Japanese Flounder populations. Period. Journal of Ocean University of China . 34: 816–820.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1391.2.2.6.8]