



## بررسی ژنتیکی مولدین میگوی سفید غربی *Penaeus vanamei* در مراکز تکثیر جنوب کشور (هرمزگان و بوشهر)

منصور آزاد<sup>۱</sup>، مازیار یحیوی<sup>۱\*</sup>، امیر هوشنگ بحری<sup>۱</sup>، سعید تمدنی جهرمی<sup>۲</sup>، مریم طلا<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> دانشکده منابع طبیعی، گروه شیلات، واحد بندرعباس، دانشگاه آزاد اسلامی، بندرعباس

<sup>۲</sup> پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، ترویج و آموزش

کشاورزی، بندرعباس

<sup>۳</sup> گروه شیلات، واحد قشم، دانشگاه آزاد اسلامی، قشم

### چکیده

نوع مقاله:

پژوهشی

تاریخچه مقاله:

دریافت: ۹۵/۰۹/۲۴

اصلاح: ۹۵/۱۱/۱۲

پذیرش: ۹۵/۱۱/۲۸

کلمات کلیدی:

خلیج فارس

سیتوکروم اکسیداز I

میگوی سفید غربی

*Penaeus vanamei*

میگوی وانامی *Penaeus vanamei* از مهم‌ترین گونه‌های خانواده پنائیده در خلیج فارس است. لذا این پژوهش جهت شناسایی وضعیت ژنتیکی مولدین پرورشی این گونه با استفاده از توالی یابی ژن سیتوکروم اکسیداز I (COI) انجام گردید. نمونه برداری از یک هجری در استان بوشهر (منطقه دلوار) و دو هجری در استان هرمزگان (مناطق کلاهی و تیاب) انجام شد. در بررسی روابط فیلوژنی، جمعاً ۷ هاپلوتایپ شناسایی گردید و تمام نمونه‌های گونه وانامی از سه ایستگاه مورد مطالعه، در یک کلاید اصلی با دو کلاستر مشاهده شدند و میزان هموزایگوسیتی نمونه‌های هجری بوشهر و دو هجری هرمزگان در بالاترین حد خود قرار داشت. از سوی دیگر سه هاپلوتایپ BU. A3, A4, A6 مختص منطقه بوشهر، خود را از سایر هاپلوتایپ‌های مناطق بوشهر و هرمزگان جدا کردند که می‌توان نتیجه گرفت میزان هتروزایگوسیتی در مولدین منطقه بوشهر بسیار بالاتر از هرمزگان می‌باشد. وضعیت هاپلوتایپی ژن COI نشان‌دهنده میزان بالای هموزایگوسیتی بین مولدین وارداتی دو جمعیت مورد مطالعه در هرمزگان است که می‌تواند افزایش میزان همخونی بین مولدین و در نتیجه کاهش رشد و بازماندگی پست لاروها را در آینده نزدیک به دنبال داشته باشد.

### مقدمه

میگوهای جنس پنائوس *Penaeus* در تنوع زیاد و با ارزش اقتصادی بالا در آبهای استوایی و نیمه استوایی سراسر جهان یافت می‌شوند (Baldwin, 1998) و یکی از مهمترین ذخایر آبزیان اقتصادی در دریای عمان و خلیج فارس می‌باشند که نقش مهمی در صنعت صید و صیادی و همچنین در صنایع تکثیر و پرورش دارند (Niamaimandi, 2006).

\* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: [maziar\\_yahyavi@yahoo.com](mailto:maziar_yahyavi@yahoo.com)

تاریخچه آبی پروری در جهان نشان می‌دهد که استفاده از گونه‌های غیربومی پرزاده در جهت افزایش تولید، دارای سابقه است و جهان شمول شدن پرورش گونه‌های وانامی در کشورهای پیشرو در پرورش میگو نیز از آن جمله می‌باشد (Briggs *et al.*, 2004). میگوی سفید غربی به دلیل مزیت‌هایی که در مقایسه با سایر گونه‌های پرورشی دارد، از جمله؛ سرعت رشد قابل توجه، تحمل دامنه وسیعی از تغییرات دما و شوری، ضریب بازماندگی و بازده تولید بالا در مراحل لاروی و دوره پرورش، نیاز به رژیم غذایی با درصد پروتئین کمتر، امکان تولید مولدهای مقاوم به بیماری‌های خاص (SPR = Specific Patogene Resistance) و حتی عاری از بیماری (SPF = Specific Patogene Free) که مجموعاً کاهش هزینه تولید و توسعه بازار مصرف شناخته شده این گونه را موجب می‌شوند، ارجحیت خود را به عنوان جایگزین میگوهای پرورشی کم بازده و مستعد به بیماری به خوبی نشان داده است (Samocha *et al.*, 2004).

ثابت شده است که افزایش حساسیت نسبت به بیماری و کاهش رشد ممکن است ناشی از تنوع ژنتیکی پایین در بین گونه‌های مختلف میگو باشد (Wolfus *et al.*, 1997). در شرایط استان هرمزگان، میگوی سفید هندی *Penaeus indicus* با حداکثر وزن ۱۲ تا ۱۴ گرم در مدت ۱۲۰ تا ۱۵۰ روز (در شرایط بهینه؛ وزن ۲۱ الی ۲۲ گرم در مدت ۱۳۰ الی ۱۴۰ روز) و بازده تولید کمتر از ۲ تن در هکتار، نتوانست با میگوی وانامی با میانگین وزنی ۲۰ گرم در یک دوره پرورش ۱۲۰ روزه و بازده تولید نزدیک به ۳ تن در هکتار رقابت کند و لذا میگوی وانامی توانست در سال‌های جاری بیش از ۲۷ درصد سطح زیر کشت را از آن خود نماید. بدون شک، نتایج مطلوب پرورش این گونه، نسبت به پرورش میگوی سفید هندی در ایران که مبدأ پیدایش و گسترش آن استان هرمزگان بود، برای همیشه خاتمه داد (Salehi and Meigolinejad, 2001) و نام این استان به عنوان اولین و آخرین پرورش دهنده میگوی سفید هندی در تاریخ پرورش میگوی ایران ثبت گردید.

تاکنون مطالعات کمی در رابطه با بررسی اختلاف ژنتیکی مولدین وارداتی میگوی وانامی موجود در مناطق پراکنش این گونه در کشور انجام شده است و این در حالی است که به دلیل استفاده مکرر از مولدین در تکثیر مصنوعی این گونه، افزایش میزان همخونی و در نتیجه کاهش بازماندگی و رشد و زیان‌های ناشی از آن اجتناب ناپذیر می‌باشد. لذا بررسی ژنتیکی مولدین میگوی سفید غربی به منظور اعمال مدیریت علمی بر ذخایر موجود و همچنین مدیریت بهره‌برداری و تکثیر این گونه، نیاز به مطالعات بیشتری دارد. از اهداف مطالعه حاضر، تعیین توالی و بررسی روابط فیلوژنی در میگوی وانامی با استفاده از ژنوم میتوکندریایی در ناحیه ژنی COI به منظور شناسایی میزان تفاوت ژنتیکی مولدین، با هدف حفظ تنوع زیستی و معرفی ژنوتیپ‌های احتمالی موجود در مناطق عمده تکثیر جهت اعمال مدیریت صحیح بر ذخایر این گونه در استان هرمزگان می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

نمونه برداری از دو هجری موجود در استان هرمزگان واقع در دو منطقه کلاهی (Ho A1-A6) و تیاب (Ho B1-B6) و یک هجری در منطقه دلوار استان بوشهر (BU A1-A6) به عنوان سه مرکز مهم تکثیر میگوی سفید غربی در کشور انجام گردید و از هریک از سه ایستگاه مذکور، ۱۰ نمونه جمع‌آوری شد. از هر میگوی نمونه، ۵۰ میلی‌گرم از بافت عضله و ۵۰ میلی‌گرم نیز از پای شنا جدا شد و در ظروف نمونه برداری (تیوب‌های ۲ ml) شماره گذاری شده و حاوی الکل اتیلیک خالص (۹۶ درصد) به آزمایشگاه منتقل گردید. در این بررسی، استخراج DNA با روش فنل - کلروفورم انجام گرفت (Taggart *et al.*, 1992) و غلظت نمونه‌های DNA استخراج شده با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد تا مقادیری که در مرحله PCR بایستی استفاده شود معین گردد. این عمل با استفاده از رابطه میزان جذب نوری (OD) نمونه‌ها در طول موج ۲۶۰ نانومتر انجام گردید. خلوص DNA استخراجی نیز توسط دستگاه اسپکتروفتومتر و با استفاده از نسبت جذبی OD 260/OD 280 تعیین شد (Sambrook, 1989).

آغازگرهای مورد استفاده در این تحقیق توسط شرکت Metabition International AG آلمان سنتز گردید. آغازگرها طبق دستور شرکت سازنده با غلظت 100 pm/μl در آب مقطر حل شد. جهت انجام PCR ابتدا بافرها و محلول‌های dNTP پس از خروج از فریزر در شرایط دمایی آزمایشگاه و در زیر هود لامینار، از حالت انجماد خارج شدند و سپس جهت یکسان‌سازی، مواد

به مدت نیم دقیقه ورتکس شدند (Folmer *et al.*, 1994). جهت اخذ بهترین و قوی ترین باندهای محصول PCR و اجتناب از تولید باندهای ناخواسته، MgCl<sub>2</sub>، DNA استخراج شده و dNTP در مقادیر و غلظت های مختلف آزمایش گردیدند، تا مقدار بهینه هر کدام برای انجام واکنش PCR معین گردد. سپس برای هر نمونه، یک تیوب ۰/۲ میلی لیتری استریل، شماره گذاری گردید و در حالی که تیوب ها بر روی یخ قرار داشتند، ترکیبات مورد نیاز برای انجام واکنش PCR، در مقادیر و غلظت های مناسب، به هر تیوب افزوده شد. این مقادیر و غلظت ها عبارت بودند از: مقدار ۰/۷۵ میکرولیتر DNA استخراج شده با غلظت ۱۰۰ نانوگرم در میکرولیتر، ۰/۷ میکرولیتر از پرایمرهای پیشرو Forward و معکوس Reverse، ۱ میکرولیتر MgCl<sub>2</sub> با غلظت ۲ میلی مولار، ۱/۲۵ میکرولیتر dNTP با غلظت ۲ میلی مولار، ۲/۵ میکرولیتر بافر 5X PCR و ۰/۵ میکرولیتر Taq DNA polymerase با غلظت ۵ میکرولیتر در میلی لیتر. سپس حجم نهایی در هر تیوب، با افزودن آب مقطر دو بار تقطیر به ۲۵ میکرولیتر رسانده شد. آنگاه محتویات تیوب ها ابتدا توسط سمپلر به خوبی مخلوط گردیده و سپس تیوب ها جهت ته نشین شدن محتویاتشان (جدا شدن محتویات از جدار تیوب ها)، به مدت ۱۰ ثانیه سانتریفیوژ شدند.

به منظور بهینه کردن واکنش PCR و دستیابی به محصول PCR با کیفیت مطلوب، با دادن دامنه حرارتی به دستگاه ترموسایکلر، بهترین دمای اتصال Annealing Temperature برای هر یک از آغازگرها به DNA الگو به دست آمد. چرخه های حرارتی مورد استفاده عبارت بود از: چرخه یا سیکل واسرشته سازی اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۳ دقیقه. ۴۰ سیکل برای مرحله واسرشته سازی Denaturation در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه. ۴۰ سیکل برای مرحله اتصال Annealing در دمای ۵۴ درجه سانتی گراد به مدت ۴۵ ثانیه. ۴۰ سیکل برای مرحله بسط و تکثیر Extension در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۱ دقیقه. و در آخر، تکثیر نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه. نهایتاً، محصول PCR به دست آمده، با استفاده از ژل آگاروز ۲ درصد و رنگ آمیزی اتیدیوم بروماید و اشعه UV (در دستگاه مستندساز ژل)، مورد ارزیابی کمی و کیفی قرار گرفت.

جدول ۱. آغازگر مورد استفاده در PCR ژن COI میگوی سفید غربی *Penaeus vanamei*

مرجع	توالی نوکلئوتیدی آغازگر	نام آغازگر
Folmer <i>et al.</i> , 1994	5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3'	LCO1490
	5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3'	HCO2198

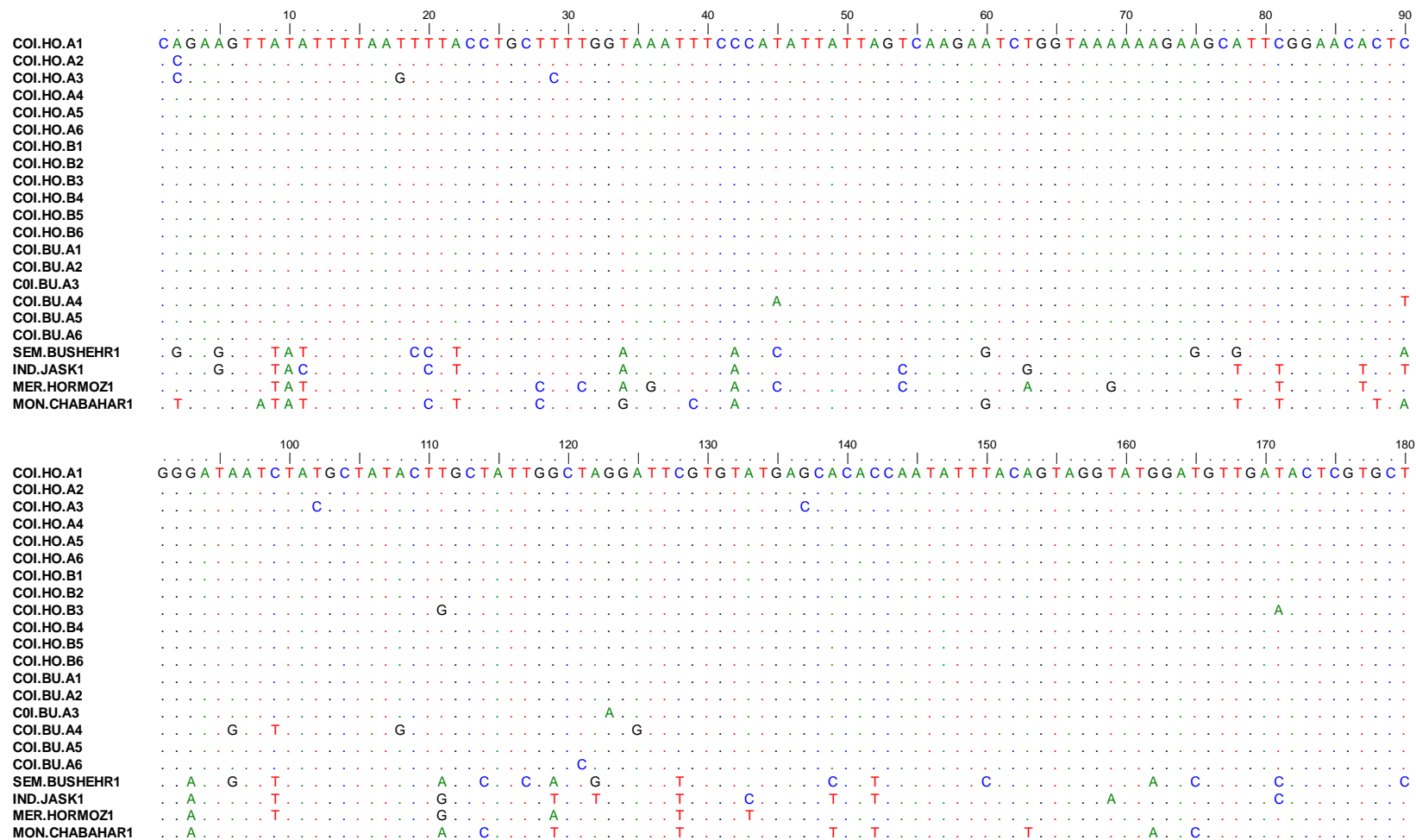
## نتایج

### تکثیر ژن COI (تولید محصول PCR از ژن COI)

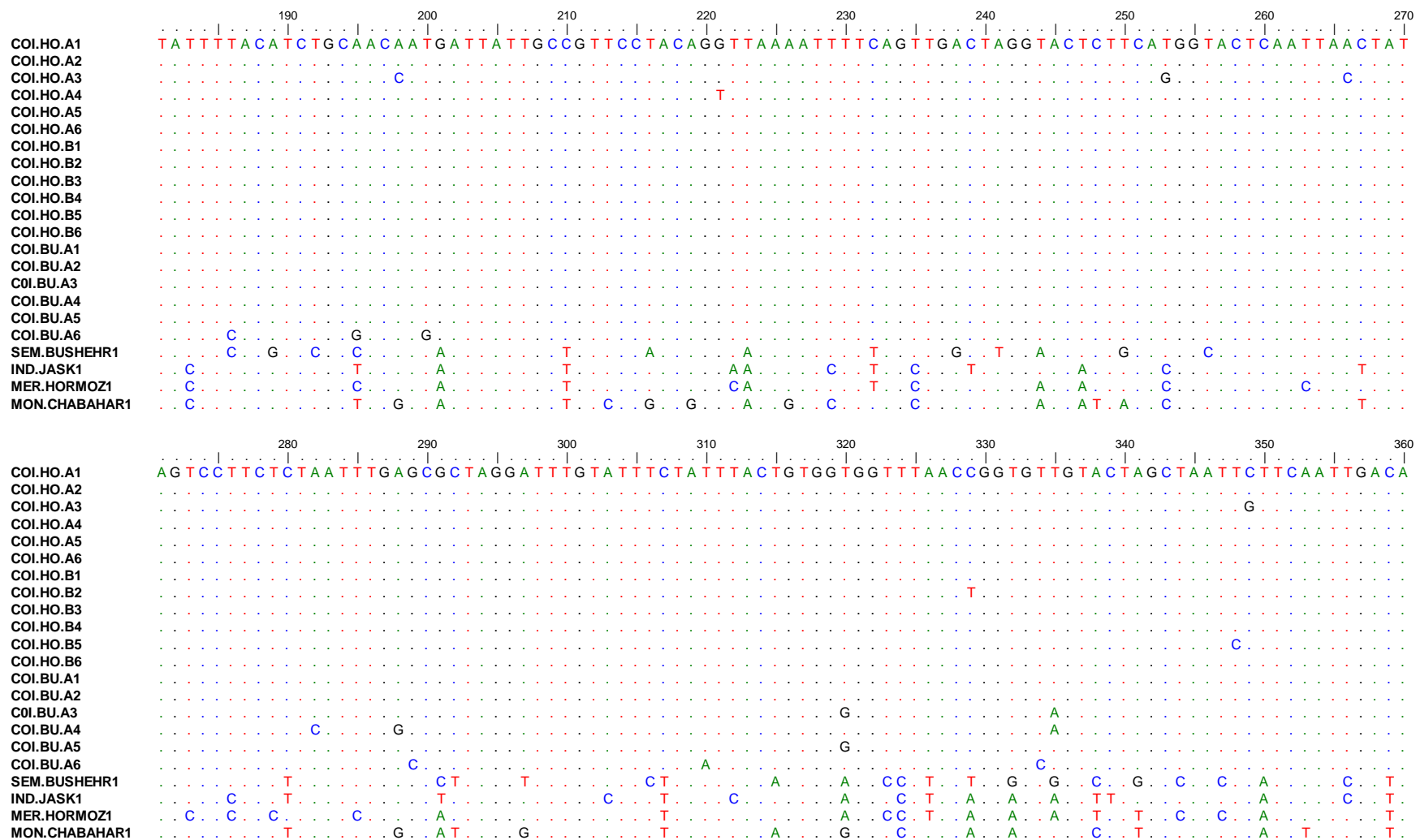
بهینه سازی واکنش PCR جهت تکثیر ژن COI با استفاده از گرادیانت دمایی ۶۰-۴۸ درجه سانتی گراد، مناسب ترین دما برای اتصال آغازگر را ۵۶ درجه سانتی گراد نشان داد. آغازگرهای LCO1490 و HCO2198 امکان تکثیر بخشی از ژن COI به طول تقریبی ۵۸۰ جفت باز را فراهم نمودند.

### تعیین توالی ژن COI

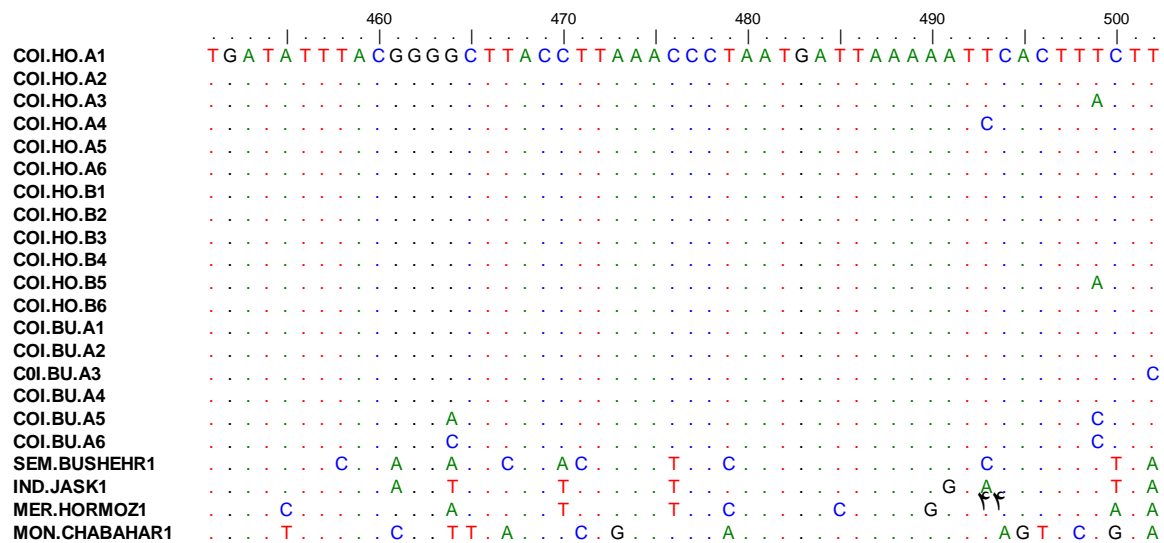
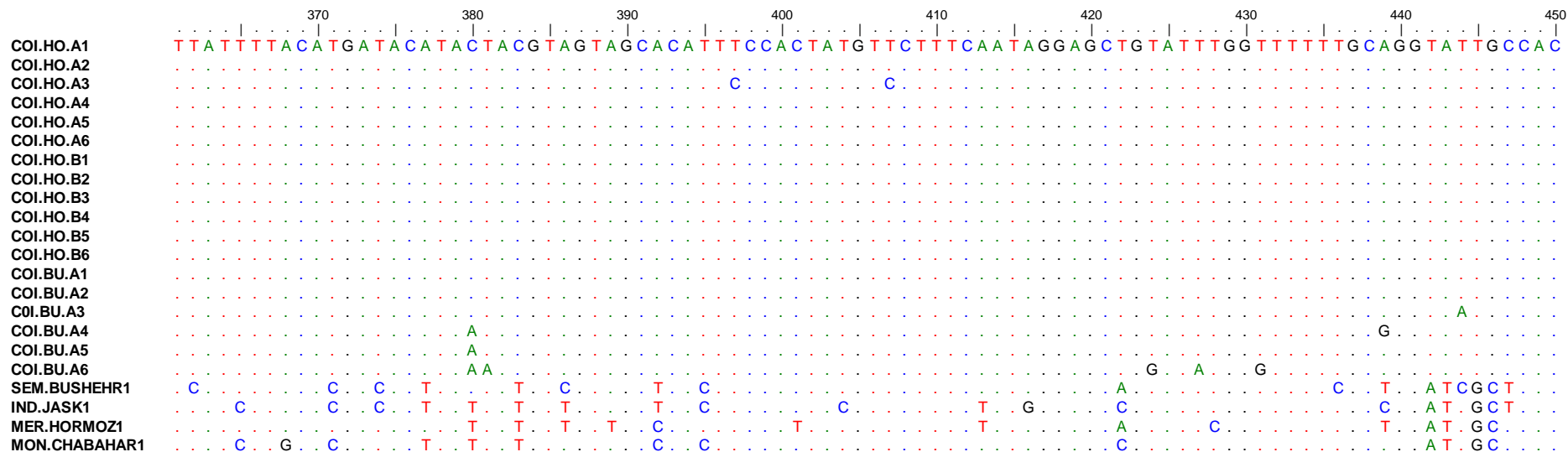
نتایج حاصل از تعیین توالی ژن COI با استفاده از پرایمر Forward، به صورت اختصاصی از شرکت Metabion دریافت گردید. هم ردیفی تمام توالی های ژن COI گونه های مورد مطالعه، با استفاده از ابزار Clustal W موجود در نرم افزار Mega 4 انجام شد (Tamura, 2007). از توالی های به دست آمده، ۵۲۰ باز که جهت آنالیز قابل اطمینان بودند، هم ردیف شدند (شکل ۱).



شکل ۱. همردیفی توالی‌های ژن COI در میگوی وانامی نمونه برداری شده از سه مرکز تکثیر مورد مطالعه در مقایسه با دیگر گونه های مهم و اقتصادی خلیج فارس (میگوی موزی *Fenneropenaeus merguensis*، ببری سبز *Penaeus monodon*، سفید هندی *Penaeus indicus* و میگوی ببری سیاه *Penaeus semisulcatus*)



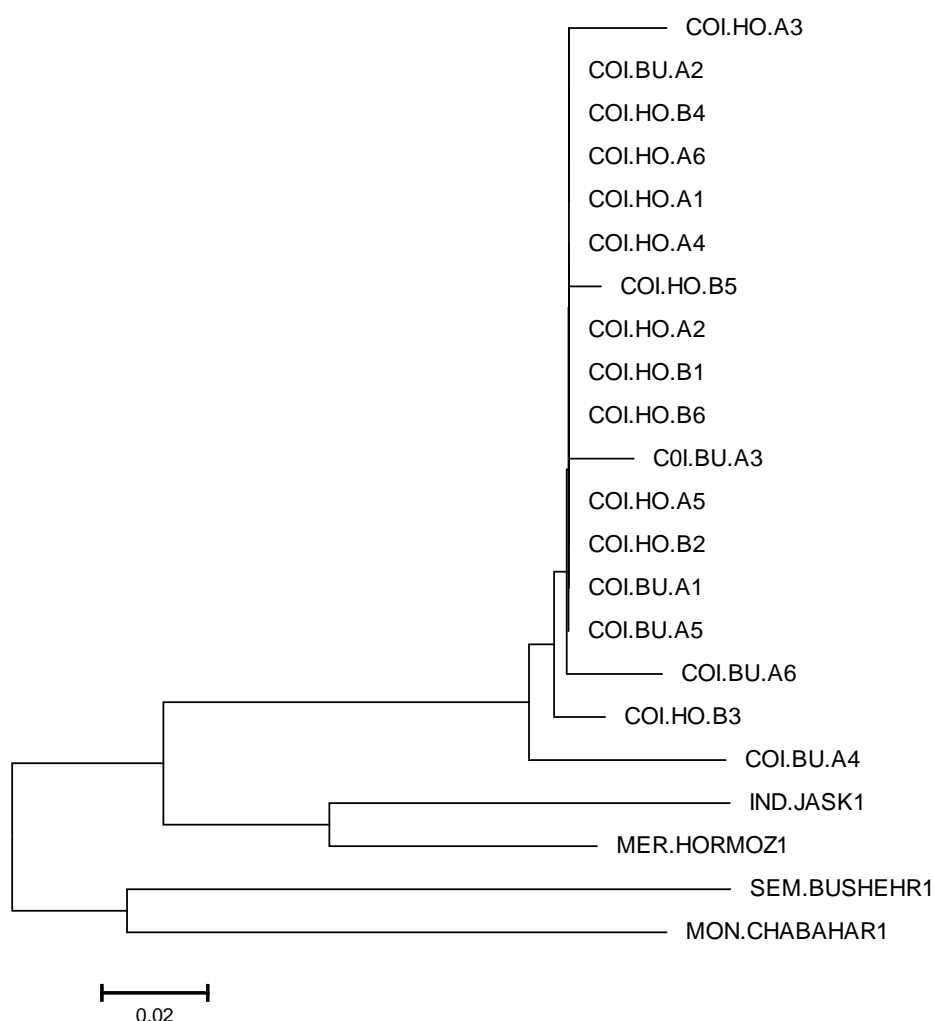
ادامه شکل ۱.



ادامه شکل ۱.

## ترسیم درخت فیلوژنی

وضعیت جغرافیایی Topology حاصل از ترسیم درخت فیلوژنی Neighbor-Joining به روش فاصله Kimura 2-parameter نیز برای ژن COI انجام گردید که در نهایت تمام نمونه های گونه وانامی از سه ایستگاه مورد مطالعه در یک کلاید اصلی با دو کلاستر مشاهده شدند و همان طور که انتظار می رفت، بیشتر نمونه ها دارای یک هاپلوتاایپ بوده و در یک کلاستر قرار داشتند (شکل ۲).



شکل ۲. درخت فیلوژنی ژن COI در میگوی وانامی نمونه برداری شده از سه مرکز تکثیر مورد مطالعه به روش Neighbor-Joining و مقایسه با دیگر گونه های مهم و اقتصادی خلیج فارس (میگوی موزی *Fenneropenaeus merguensis*، ببری سبز *Penaeus semisulcatus*، سفید هندی *Penaeus indicus* و میگوی ببری سیاه *Penaeus monodon*)

جدول ۲. مقادیر Fst محاسبه شده با توجه به توالی های ثبت شده از ژن COI در میگوهای وانامی نمونه برداری شده از سه مرکز تکثیر مورد مطالعه

Bushehr	Hormozgan B	Hormozgan A	
0.0544	0.00323	0.000	Hormozgan A
0.0592	0.000	0.00323	Hormozgan B
0.000	0.0592	0.0544	Bushehr

## بحث

در این مطالعه، جهت ردیف کردن توالی‌های ژن میتوکندریایی COI در میگوی وانامی، از ابزار Clustal W در نرم افزار Mega 4 و تحت شبکه بانک جهانی ژن NCBI استفاده گردید که بعد از بازنگری و اصلاح توالی‌ها و اطمینان از وجود بازهای صحیح، ۵۰۲ جفت باز برای ژن COI هم‌ردیف گردید. در بررسی توالی ۵۰۲ نوکلئوتیدی ردیف شده از ژن COI در تعداد ۱۸ نمونه میگوی وانامی نمونه برداری شده از سه جمعیت مورد مطالعه و بر طبق آزمونهای Phenetic از جمله Nioghor Joining و Maximum Likelihood، تمامی نمونه‌های گونه وانامی از سه ایستگاه مورد مطالعه در یک کلاید اصلی با دو کلاستر مشاهده شدند. در این بررسی، مجموعاً تعداد ۷ هاپلوتیپ شناسایی گردید و میزان تنوع هاپلوتیپی بین سه جمعیت متوسط بود. در پژوهش حاضر، همان‌طور که انتظار می‌رفت در کلاستر اول اغلب نمونه‌های بوشهر به همراه نمونه‌هایی از هر دو هجری هرمزگان که مولدین خود را از ایستگاه بوشهر تهیه کرده بودند، همه دارای یک هاپلوتایپ مشاهده شدند که نشان‌دهنده میزان بالای هموزایگوسیتی نمونه‌های منطقه هرمزگان می‌باشد. از سوی دیگر سه هاپلوتیپ BU. A3, A4, A6 مختص جمعیت بوشهر، خود را از سایر هاپلوتایپهای ایستگاه‌های بوشهر و هرمزگان جدا کردند که می‌توان نتیجه گرفت میزان هتروزیگوسیتی در مولدین منطقه بوشهر بسیار بالاتر از هرمزگان است، اگر چه دو هاپلوتایپ از ایستگاه B هرمزگان (HO. B3, B5) از هاپلوتایپهایی بودند که خود را از دیگر هاپلوتایپها جدا کردند. توپولوژی اندیس کلادستیک مانند Maximum Parsimony نیز مؤید و تأیید کننده توپولوژی اندیسه‌های M.L و N.J می‌باشد. وضعیت هاپلوتایپی ژن COI نیز مؤید میزان بالای هموزایگوسیتی بین مولدین وارداتی در این منطقه می‌باشد (شکل ۲).

لی و همکاران (Li et al., 2009) به منظور بررسی روابط تکاملی میگوی چینی *Fenneropenaeus chinensis*، از توالی به دست آمده از ژن COI، به طول ۸۵۰ جفت باز استفاده نمودند. همچنین در رابطه با تعیین روابط فیلوژنی با استفاده از توالی‌های ژن COI می‌توان به مطالعه Khamnamtong و همکاران (2009)، در بررسی تنوع ژنتیکی میگوی ببری سیاه با استفاده ۶۱۴ جفت باز اشاره کرد.

بر طبق مطالعات انجام شده، یکی از مهمترین شاخص‌های تفکیک جمعیت‌ها، میزان Fst می‌باشد که نشان‌دهنده تمایز یا جدایی بین جمعیت‌هایی است که ساکن مناطق مختلف جغرافیایی می‌باشند. این شاخص، در تعیین فاصله ژنتیکی بین مولدین نیز کاربرد دارد (Lester and Pante, 1992). فاکتور Fst توصیف کننده تمایز جمعیت‌ها در سطوح مختلف ساختار ژنتیکی می‌باشد و بیانگر آن است که هرچه میزان جریان ژنی بین مناطق بیشتر باشد اختلاف ژنتیکی کمتر خواهد بود. مقدار Fst به طور تئوری بین صفر و یک قرار دارد. مقدار Fst به سمت یک، نشان‌دهنده میزان تمایز بالای جمعیت‌ها از یکدیگر و مقدار کم آن، نشان‌دهنده پایین بودن پلی مورفیسم در جمعیت می‌باشد. در حقیقت، مقدار صفر نشان‌دهنده آن است که دو جمعیت دارای رابطه آمیزشی آزاد می‌باشند. مقدار یک نیز به معنای آن است که دو جمعیت کاملاً از هم جدا بوده و هیچ‌گونه جریان ژنی در بین جمعیت‌ها وجود ندارد.

در بررسی حاضر، میزان Fst بین سه ایستگاه مورد بررسی برای هر دو ژن محاسبه گردید. بر پایه این شاخص، بیشترین فاصله جمعیتی (فاصله ژنتیکی) بین نمونه‌های بوشهر و تیاب هرمزگان (0.0592) و کمترین فاصله ژنتیکی بین نمونه‌های هر دو هجری A و B در هرمزگان (0.00323) بود که دور از انتظار نبوده و مؤید میزان بالای هموزایگوسیتی بین نمونه‌های هجری‌های استان هرمزگان می‌باشد (جدول ۲). اصولاً اختلاف ژنتیکی بین جمعیت‌ها در نتیجه مجتمع شدن افراد در یک منطقه خاص به وجود می‌آید و جمعیت‌های یک گونه به واسطه آمیزش درونی با یکدیگر، یک مخزن ژنی منحصر به همان جمعیت را ایجاد می‌کنند (Pinera et al., 2007).

در این بررسی حداکثر میزان Fst بین نمونه‌های میگوی وانامی در هجریهای بوشهر و هرمزگان که دارای کمترین جریان ژنی بودند و حداقل آن، بین نمونه‌های هر دو هجری A و B در هرمزگان که دارای بیشترین جریان ژنی بودند دیده شد.



بر طبق مدل Wright در سال ۱۹۷۸ اگر  $F_{st}$  بین صفر تا ۰/۵ باشد نشان دهنده تمایز پایین، مقدار ۰/۵ تا ۰/۱۵ تمایز متوسط، مقدار ۰/۱۵ تا ۰/۲۵ تمایز بالا و مقدار بالای ۰/۲۵ نشان دهنده تمایز خیلی بالا است (Slatkin, 1985). بنابراین در بررسی حاضر بر طبق نظریه رایت تمایز جمعیتی بین دو هجری هرمزگان و هجری بوشهر بسیار بالاست. بنابراین می توان استنباط نمود که نمونه های میگوی وانامی جمعیت بوشهر احتمالاً متمایزتر از دو جمعیت دیگر مورد بررسی (دو هجری A و B هرمزگان) می باشد. به طور کلی میزان تنوع هاپلوتایپی متوسط تا بالا برای گونه های دریایی و به خصوص راسته ده پایان غیر معمول نمی باشد (Stamatis *et al.*, 2004). این تنوع بالا، اغلب به بزرگ بودن اندازه جمعیت و پراکندگی گسترده در فواصل زیاد در گونه های دریایی نسبت داده می شود که منجر به نگهداری بسیاری از هاپلوتیپهای منحصر به فرد در طول رشد و پراکنش جمعیت می گردد (Bucklin and Wiebe, 1998).

Luan و همکاران نیز در سال ۲۰۰۶ مقدار مشابهی از مقدار  $F_{st}$  (FST=0.023) را در مقایسه ای بین گونه وحشی و گونه مورد تکثیر از میگوی ژاپنی *Marsopeneaus japonicus* گزارش کردند. در حالی که بعضی محققان مقدار بالاتری (FST= 0.086) را در گونه وحشی و گونه مورد تکثیر از میگوی وانامی گزارش نمودند.

آزمون تفاوت جمعیت ها  $p$  Values non-differentiation exact نیز در داخل هر جمعیت و در سطح احتمال ۰/۵ معنی دار بود. فاکتور  $F_{st}$  و آزمون تفاوت بین جمعیت ها که هر دو معنی دار بودند ( $p \leq 0/05$ )، تأییدی دوباره بر وجود تفاوت و تمایز بین جمعیت ها محسوب می شوند.

تنوع ژنتیکی کم مشاهده شده در این تحقیق، دلالت بر این دارد که احتمالاً هجریها با مولدین دارای ساختار ژنتیکی یکسان اقدام به تولید پست لارو نموده اند که این امر با نظریه سوزا دلیمو و همکاران در سال ۲۰۱۰ که بر روی گونه وانامی تحقیقات مشابهی را انجام داده اند همخوانی دارد (Souza de lima *et al.*, 2010). به علاوه، دلایل مختلفی از جمله تعداد مخازن و تعداد مولدین در هر مخزن، تنوع جنسیتی و استراتژی انتخاب مولد نیز در این امر بی تأثیر نمی باشد (Souza de Lima *et al.*, 2010).

بنابراین، با توجه به نتایج تحقیق حاضر به نظر می رسد بین جمعیت های هر دو هجری مورد مطالعه در استان هرمزگان جابجایی و افزایش جریان ژنی وجود دارد. بر اساس یافته های موجود و ثابت شده، احتمالاً بین جمعیت منطقه هرمزگان در مقایسه با جمعیت منطقه بوشهر رفتار مهاجرت و جریان ژنی کمتری برقرار می باشد که شاخص های  $F_{st}$ ، گسترش جمعیتی و درخت فایلوژنی ترسیم شده نیز به وضوح تفکیک جغرافیایی بین این مناطق را نشان دادند (Soto-Hernandez and Grijalva-Chon, 2004). به علاوه، در تحقیق حاضر نتیجه ترسیم درخت فایلوژنی دارای یک نکته قابل توجه بود و آن این که در بین نمونه های بوشهر و هرمزگان که در دو گروه خواهری در یک کلاید قرار گرفته اند، نمونه هایی از جمعیت بوشهر در یک گروه خواهری متفاوت در کنار نمونه های جمعیت های هرمزگان مشاهده گردید. بر این اساس، می توان چنین استنباط کرد که وجود همخوانی بین مولدین هرمزگان، تحت تاثیر مهاجرت احتمالی این گونه و استفاده غیرمتعارف از نمونه های جمعیت بوشهر انجام گردیده است. نتایج حاصل از بررسی درخت های فایلوژنی نشان داد که میگوی وانامی جمعیت بوشهر می تواند در قالب یک ذخیره ژنتیکی متفاوت، مورد بررسی قرار گیرد و از این رو، می بایست در بهره برداری و مولد سازی از این گونه وارداتی در استان بوشهر، مدیریتی خاص اعمال گردد.

در مجموع، نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر که اولین بررسی در مورد تنوع و ساختار ژنتیکی جمعیت میگوی وانامی در آبهای ساحلی هرمزگان و بوشهر با استفاده از توالی یابی ژن میتوکندریایی COI می باشد، نشان داد که نشانگرهای ملکولی به خصوص نشانگرهای میتوکندریایی می توانند به صورت ابزاری مناسب در جهت تفکیک جمعیت های آبزیان از جمله میگوی وانامی به کار روند. تجزیه و تحلیل DNA میتوکندری، با وضوح مطلوب واگرایی ژنتیکی میان نمونه های مورد مطالعه را نشان داد. این نوع تحلیل را می توان به عنوان یک ابزار مهم در انتخاب مولدین در برنامه های اصلاحی در نظر گرفت.

در این راستا و به منظور اعمال مدیریت صحیح در برنامه مولدسازی میگوی وانامی و تلاش در جهت کاهش همخونی، توجه به سیاست واردات میگوی SPF در ایران ضروری به نظر می‌رسد.

### تشکر و قدردانی

این تحقیق با حمایت مالی دانشگاه آزاد اسلامی واحد بندرعباس انجام گردید که بدین وسیله از کلیه همکاران محترم در این واحد دانشگاهی که در ارتباط با بررسی، ابلاغ و حمایت‌های مختلف در جهت اجرای هر چه بهتر این تحقیق فعالیت داشته‌اند قدردانی می‌گردد.

### منابع

- Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R., Vrijemnhoeck, R. 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*. 3(5): 294-299.
- Baldwin, J.D., Bass, A.L., Bowen, B.W., Clark, W.C. 1998. Molecular phylogeny and biogeography of the marine shrimp *Penaeus*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 10: 399-407.
- Bucklin, A., Wiebe, P.H. 1998. Low mitochondrial diversity and small effective population sizes on the copepods *Calanus finmarchicus* and *Nannocalanus minor*: possible impact of climate variation during recent glaciation. *Journal of Heredity*. 89: 383-392.
- Briggs, M., Funge-Smith, S., Subasinghe, R., Phillips, M. 2004. Introductions and movement of *Penaeus vannamei* and *Penaeus stylirostris* in Asia and the Pacific. FAO Regional Office for Asia and the Pacific. RAP Publication 2004/10: 1-12.
- Khamnamtong, B., Klinbunga, S., Menasveta, P. 2009. Genetic diversity and geographic differentiation of the giant tiger shrimp (*Penaeus monodon*) in Thailand analyzed by mitochondrial COI sequencs. *Biochemistry Genetic*. 47: 42-55.
- Li, Y.L., Kong, X.Y., Yu, Z.N., Kong, J., Ma, S., Chen, L.M. 2009. Genetic diversity and historical demography of Chinese shrimp *Penaeus chinensis* in Yello Sea and Bohai Sea based on mitochondrial DNA analysis. *African Journal Biotechnology*. 8(7): 1193-1202.
- Luan, S., Kong, J., Wang, Q.Y. 2006. Genetic variation of wild and cultured populations of the Kuruma prawn *Marsupenaeus japonicas* (Bate, 1888) using microsatellites. *Aquaculture Research*. v.37. pp.785-792.
- Lester, L.J., Pante, M.J.R. 1992. Genetics of *Penaeus* species. In: *Marine Shrimp Culture: Principles and Practices*. Fast, A.W., Lester, L.J. (eds.). Amsterdam, Netherlands: Elsevier SciencePublishers. pp. 29-52.
- Niamaimandi, N. 2006. Bio-Dynamics and life cycle of shrimp (*Penaeus semisulcatus*), in Bushehr Coastal Waters of the Persian Gulf. PhD thesis. Universiti Putra Malaysia.
- Pinera, J.A., Blanco, G., Vázquez, E., Sánchez, J.A. 2007. Genetic diversity of black spot seabream (*Pagellus bogaraveo*) populations Spanish Coasts: a preliminary study. *Marine Biology*. 151: 2153-2158.
- Salehi, H., Maigolinejad, E. 2001. *Aquaculture Economics*. Deputy Chief of Fisheries. (in Persion).
- Sambrook, J., Fritsch, E.F., Maniatis, T. 1989. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. 2<sup>nd</sup> edition. Cold Spring Harbor, N.Y. Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Samocha, T.M., Lawrence, A.L., Collins, C.A., Castille, F.L., Bray, W.A., Davies, C.J., Lee, P.G., Wood, G.F. 2004. Production of the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, in

- high-density greenhouse enclosed raceways using low-salinity groundwater. *Journal of Applied Aquaculture*. 15: 1-19.
- Slatkin, M. 1985. Rare alleles as indicators of gene flow. *Evolution*. 39: 53-65.
- Souza de Lima., A.P., Cabral da Silva, S.M.B., Cavalcanti Oliveira, K.K., Maggioni, R., Moura Coimbra, M.R. 2010. Genetics of two marine shrimp hatcheries of the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) in Pernambuco, Brazil. *Ciência Rural, santa Maria*. V. 40. N.2. pp. 325-331.
- Soto-Hernandez, J., Grijalva-Chon, J.M. 2004. Genetic differentiation in hatchery strains and wild white shrimp *Penaeus (Litopenaeus) vannamei* (Boone, 1931) from northwest Mexico. *Aquaculture International*. v.12. pp. 593-601.
- Stamatis, C., Triantafyllidis, A., Moutou, K.A., Mamuris, Z. 2004. Mitochondrial DNA variation in Northeast Atlantic and Mediterranean populations of Norway lobster, *Nephrops norvegicus*. *Molecular Ecology*. 13: 1377-1390.
- Taggart, J.B., Hynes, R.A., Prodohal, P.A., Ferguson, A. 1992. A simplified protocol for routine total DNA isolation from salmonid fishes. *Journal of Fish Biology*. 40: 963-965.
- Tamura, K., Dudley, J., Nei, M., Kumar, S. 2007. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *Molecular Biology and Evolution*. 24: 1596-1599.
- Wolfus, G.M., Denise K.G., Acacia, A.W. 1997. Application of the microsatellite technique for analyzing genetic diversity in shrimp breeding programs. *Aquaculture*. v.152. pp. 35-47.
- Wright, S. 1978. *Evolution and the genetics of populations. Variability within and among natural populations*. Chicago: University of Chicago.