Downloaded from jmb.iauahvaz.ac.ir at 16:24 +0430 on Saturday May 20th 2017

بررسی تنوع ژنتیکی ماهی شوریده (*Otolithes ruber*) در خلیج فارس و دریای عمان با استفاده از توالی‌یابی ژن 16s rRNA میتوکندریایی

مهرداد نصری تجن[۱]
سید احمد قاسمی[۲]
مهتاب قریب خانی[۳*]

۱. گروه شیلات، واحد بندرانزلی، دانشگاه آزاد اسلامی، بندرانزلی، ایران
۲. گروه بیوتکنولوژی دریا، مرکز مطالعات و پژوهش های خلیج‌فارس، دانشگاه خلیج‌فارس بوشهر، ایران
۳. گروه شیلات، واحد آستارا، دانشگاه آزاد اسلامی، آستارا، ایران

* **مسئول مکاتبات:**
mahtab_gharibkhany@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۷/۲۳
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۲/۲۷
این مقاله برگرفته از طرح پژوهشی است.

چکیده

یکی از ذخایر باارزش شیلاتی موجود در خلیج‌فارس، ماهی شوریده بانام علمی *Otolithes ruber* متعلق به خانواده شوریده ماهیان (Sciaenidae) می‌باشد. ازاین‌رو شناخت جمعیت‌های این ماهی در راستای حفظ ذخایر ژنتیکی این‌گونه بسیار ضروری می‌باشد. منطقه موردبررسی در این پژوهش آب‌های ساحلی ایران در خلیج‌فارس و دریای عمان شامل آبادان، بوشهر، دیر، بندرعباس و جاسک بود. تعداد ۵ نمونه ماهی شوریده از هر منطقه جمع‌آوری شد. DNA ژنومی هر یک از نمونه‌ها از باله دمی استخراج و واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) برای DNA نمونه‌های موردنظر با استفاده از یک جفت آغازگر ژن 16s rRNA انجام گرفت. توالی یابی از محصولات PCR انجام گردید. نتایج این بررسی، نشان‌دهنده تمایز ژنتیکی نسبتاً پایینی بین جمعیت‌های مناطق مختلف بود، به‌طوری‌که بیشترین تمایز ژنتیکی معنی‌دار ($P<۰/۰۵$) بین مناطق جاسک و آبادان (۴/۸۸) و کمترین تمایز ژنتیکی معنی‌دار ($P<۰/۰۵$) بین مناطق بوشهر و آبادان (۰/۱۸) مشاهده گردید. اختلافات ژنتیکی در میان گروه‌های سه‌گانه تعریف‌شده (گروه نخست: آبادان و بوشهر، گروه دوم دیر و بندرعباس و گروه سوم جاسک) ۲۰/۱۳ درصد از مجموع واریانس را به خود اختصاص داد. واریانس برآورد شده در مقایسه میان مناطق پنج‌گانه تنها ۲/۷۰ درصد از ورایانس را در برداشت. بیشتر اختلافات ژنتیکی برآورد شده در درون جمعیت‌ها برآورد گردید (۷۷/۱۷ درصد از کل واریانس) که نشان‌دهنده این است که مجموعه پرارزشی از تنوع ژنتیکی در بین افراد در مناطق مختلف پراکنده‌شده است که لزوم نگهداری از این ذخایر را ضروری می‌سازد. در بررسی کنونی بر مبنای ژن 16s rRNA تمایز ژنتیکی نسبتاً پایینی مشاهده شد. به‌طورکلی پایین بودن تمایز ژنتیکی این‌گونه ماهی را می‌توان به نبود موانع عمده در دریا که موجب جدایی جغرافیایی شوند نسبت داد.

واژگان کلیدی: ماهی شوریده، تنوع ژنتیکی، خلیج‌فارس، دریای عمان، 16s rRNA.

مقدمه

امروزه شناسایی گونه‌ها و جمعیت‌های آبزیان از اهمیت زیادی برخوردار است، چراکه علاوه بر مدیریت صحیح و بهره‌برداری مناسب، موجب اجرای برنامه‌های اصولی جهت حفاظت از گونه‌ها یا جمعیت‌های پر ارزش، بازسازی ذخایر و همچنین ایجاد تنوع در تکثیر و پرورش این موجودات خواهد شد. فهم ساختار ذخایر و همچنین تخمین تمایز و درجه تبادل ژن طبیعی در میان جمعیت‌ها برای حفاظت ذخایر ژنتیکی می‌تواند راهبردهایی برای بهینه ساختن افزایش جمعیت فراهم نماید (Ryman, 1991).

پیشرفت‌های جدید در زمینه فناوری و دانش ژنتیک مولکولی فرصت و امکان مناسبی را در جهت پاسخگویی به بسیاری از پرسش ها در زمینه رده‌بندی گونه‌ها، بررسی روابط فیلوژنیک و تکاملی گونه‌ها و مطالعه تنوع ژنتیک جمعیت‌ها فراهم کرده است، اینگونه اطلاعات می‌تواند در زمینه تعیین گونه‌ها و اولویت‌بندی آنها و همچنین تعیین نقاط حفاظتی بسیار مفید باشد (Crozier, 1997). شناسایی ساختار ژنتیکی جمعیت‌های

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from jmb.iauahvaz.ac.ir at 16:24 +0430 on Saturday May 20th 2017

طبیعی در نگهداری از تنوع ژنتیکی به ویژه در گونه‌های مورد بهره‌برداری، سودمند و یاری رسان است (Hinten *et al*., 2003). تنوع ژنتیکی یکی از سه سطح تنوع زیستی پیشنهاد شده توسط سازمان حفاظت جهانی برای برنامه‌های حفاظت ذخایر است (Lucentini, 2009). در زیست‌شناسی حفاظت، نخستین نگرانی، نگهداری گوناگونی ژنتیکی در جمعیت‌های طبیعی است، زیرا باور بر این است که بالا بودن گوناگونی ژنتیکی سبب افزایش شایستگی و سازگاری افراد می‌گردد و بنابراین ماندگاری و بقای آن‌ها با شانس بیشتری همراه خواهد بود (Zoller *et al*, 1999). تنوع ژنتیکی، عامل بسیار مهمی در فرگشت جمعیت‌های طبیعی است. تنوع ژنتیکی برآمده از جهش‌هاست و متاثر از فرایندهای کوچ، رانش ژنتیکی و انتخاب طبیعی است (Gunderina, 2003). نخستین گام در ترسیم راهبرد مدیریتی ذخایر آبزیان در منابع آبی، تعیین ساختار ژنتیکی جمعیت‌های در حال بهره‌برداری است. این راهبردها در صورتی که بر پایه روش‌های دقیق و قوی مانند داده‌های ملکولی باشد، می‌تواند افزون بر نگاهداری از تنوع زیستی، میزان برداشت و بهره‌برداری را به اندازه بیشینه و معقول برساند (Thai *et al*., 2006).

تنوع زیستی مناطق دریایی و ساحلی شامل تنوع وسیعی از گونه‌های دریایی و ساحلی و تنوع ژنتیکی آنها می‌باشد. از مهمترین دلایل برای حفاظت از تنوع زیستی، می‌توان به ارزش اقتصادی، استفاده‌های انسان و مهمتر از همه حق حیات موجودات زنده اشاره کرد (Norse and Crowder., 2005). یکی از راه‌های بررسی ساختار ژنتیک آبزیان استفاده از ژنتیک جمعیت‌ها بوده و شناسایی تحولات درون گونه‌ای و ساختار جمعیت یکی از نیازهای اساسی در مدیریت و بهره‌برداری مناسب می باشد (Frankham, 2005).

وضعیت فعلی خلیج فارس نشان دهنده آسیب جدی است که بر اکوسیستم آبزیان و همچنین ذخایر آن وارد آمده است (Mughal, 2013). یکی از ذخایر با ارزش شیلاتی موجود در این محیط آبی، ماهی شوریده با نام علمی *Otolithes ruber* متعلق به خانواده شوریده‌ماهیان (sciaenidae) می‌باشد. در منطقه ۵۱ که غرب اقیانوس هند را در بر می‌گیرد و آب‌های جنوبی ایران نیز از آب‌های این منطقه است، تا کنون ۱۶ جنس و ۳۹ گونه از این خانواده گزارش شده است (IUCN, 2007). خانواده شوریده‌ماهیان گروه مهمی از آبزیان تجاری خلیج فارس را تشکیل می‌دهند و گونه (*O. ruber*) خصوصا در بازار داخلی از اهمیت زیادی برخوردار است. از اینرو شناخت جمعیت‌های این ماهی در راستای حفظ ذخایر ژنتیکی این گونه بسیار ضروری می‌باشد.

درحال حاضر نشانگرهای مولکولی هسته‌ای و میتوکندریایی به صورت گسترده به عنوان شاخص و ابزار مهمی جهت جمعیت‌شناسی آبزیان از یک طرف و مطالعه روابط تکاملی و تفاوت‌های ژنتیکی آنها از طرف دیگر مورد استفاده قرار می‌گیرند. امروزه استفاده از نشانگرهای مولکولی از جمله ژن COI و 16s rRNA به عنوان روشی کارآمد برای شناسایی گونه‌های جانوری استفاده می‌شود. به خصوص در مواقعی که خصوصیات ریخت شناسی به تنهایی کارآمد نیستند (Tong *et al*., 2000; Lavery *et al*., 2004; Chan *et al*., 2008; Liu and Cordes., 2004).

بررسی ساختار 16s rDNA از ماهیان تا مهره‌داران خشکی، از جمله انسان، توسط پژوهشگران زیادی مستند شده است (Alves-Gomes *et al*., 1995; Orti *et al*., 1996; Stepien, 1999). نرخ جایگزینی در این منطقه از ژنوم میتوکندریایی در همه جایش برابر نیست و نرخ‌های متفاوت جایگزینی در حلقه‌ها (بالا) و ساقه‌های (پایین) ساختار ثانویه‌اش وجود دارد (Pardo *et al*., 2005).

توالی‌یابی ژنوم 16S rRNA به کرات در آبزیان برای روشن کردن ابهامات رده‌بندی و روابط فیلوژنتیکی و شناسایی جمعیت‌های مختلف در دوکفه‌ایها (Bendezu *et al*., 2005; Pardo *et al*., 2005; An *et al*., 2005)، سخت‌پوستان (Chan *et al*., 2008) و ماهیان (Li & Orti, 2007; Doiuchi and Nakabo, 2006; Hrbek *et al*., 2002; Orrell & Carpenter, 2004; Li *et al*., 2008, Nguyen *et al*., 2008; Lavoue *et al*., 2008) بکار رفته است.

همچنین در تحقیق مشابهی که توسط Lakra و همکاران (۲۰۰۹) با استفاده از توالی‌یابی ژن 16s rRNA انجام گردید، ساختار ژنتیک جمعیت و فیلوژنی هفت گونه مهم از خانواده Sciaenidae که شامل گونه *Otolithes ruber* نیز بود مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که این هفت گونه در سه گروه مجزا قرار گرفته اند.

Archive of SID

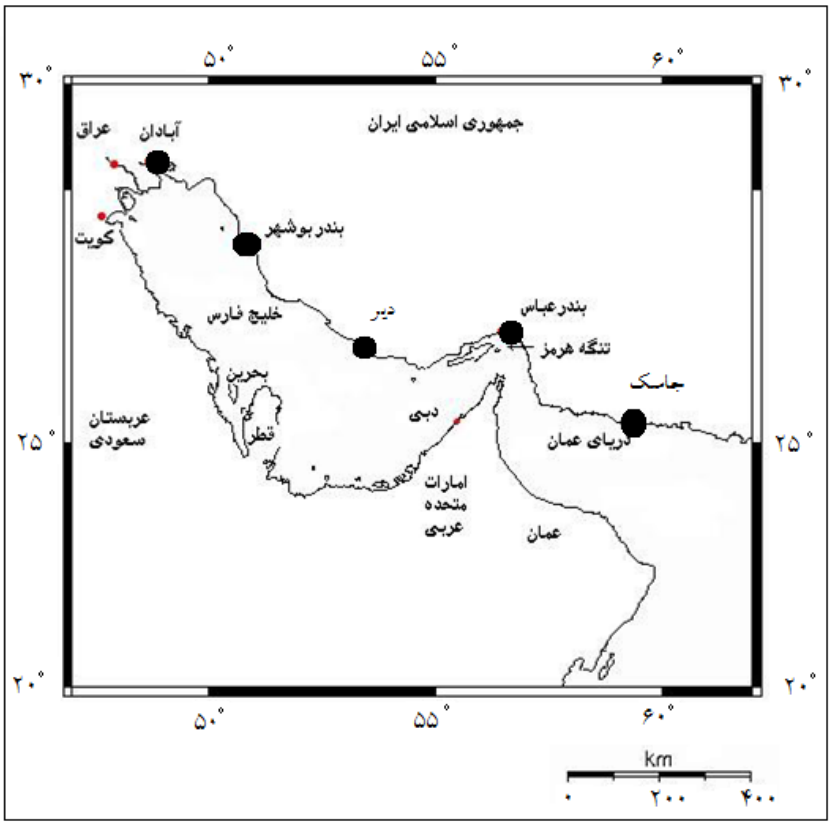
www.SID.ir

هدف از این مطالعه بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های مختلف ماهی شوریده در آبهای خلیج فارس و دریای عمان با استفاده از توالی‌یابی ژن 16s rRNA است.

Downloaded from jmb.iauahvaz.ac.ir at 16:24 +0430 on Saturday May 20th 2017

مواد و روش‌ها

منطقه مورد بررسی در این پژوهش آب‌های ساحلی ایران در خلیج فارس و دریای عمان شامل آبادان، بوشهر، دیر، بندر عباس و جاسک (شکل ۱) بود. تعداد ۵ نمونه از هر منطقه جمع‌آوری شد و قطعه‌ای ۲ تا ۳ گرمی از باله دمی هر نمونه جداسازی گردید و با ذکر محل نمونه برداری، بلافاصله در الکل ۹۶ درصد تثبیت و به آزمایشگاه منتقل گردید. استخراج DNA با استفاده از روش اصلاح شده CTAB انجام شد (Ausubel *et al.*, 1994). جدول ۱ توالی آغازگرهای 16s rRNA (16Sar و 16Sbr) مورد استفاده در این پژوهش را نشان می‌دهد.



شکل ۱: موقعیت جغرافیایی مناطق نمونه برداری

www.SID.ir

Downloaded from jmb.iauahvaz.ac.ir at 16:24 +0430 on Saturday May 20th 2017

جدول ۱: مشخصات آغازگر مورد استفاده

نام آغازگر	توالی آغازگر	منبع
16Sar	5´-CGCCTGTTTATCAAAAACAT-3´	Lakra *et al*., 2009
16Sbr	5´-CCGGTCTGAACTCAGATCACGT-3´	Lakra *et al*., 2009

واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR) در میکروتیوپ‌های مخصوص PCR، در حجم ۲۵ میکرولیتر با شرایط ۱۰۰ نانو گرم DNA، ۵ واحد Taq DNA Polymerase، ۱۰ میلی‌مولار dNTps، ۵۰ میلی‌مولار کلرید منیزیم، PCR بافر ۱۰x، ۱۰۰ میکرومولار از هر آغازگر (F و R) و آب مقطر استریل تا رسیدن به حجم انجام گردید. برنامه ترموسایکلر، شامل یک چرخه واسرشت‌سازی اولیه در دمای۹۴ درجه سانتیگراد به مدت ۳ دقیقه، سپس تعداد ۳۰ چرخه شامل واسرشت‌سازی ثانویه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال آغازگرها به DNA در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، بسط در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه و در نهایت یک چرخه بسط نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه بود.

جهت سنجش کیفیت محصولات PCR از الکتروفورز روی ژل آگارز ۲ درصد استفاده گردید. تعداد ۵ نمونه از محصولات PCR ماهیان متعلق به هر یک از ۵ منطقه نمونه‌برداری جهت تعیین توالی به شرکت فزاپژوه فرستاده شد. جهت اطمینان از صحت تکثیر ژن مورد نظر، توالی‌های تصحیح شده در پایگاه NCBI با استفاده از برنامه BLAST مقایسه و ارزیابی گردید. پس از اطمینان از اینکه ژن مورد نظر به درستی تکثیر یافته، توالی‌های دریافتی در نرم افزار Bio Edit همتراز گردید و ماتریس فواصل ژنتیکی محاسبه شد. از نرم افزار Dnasp برای بررسی ویژگی‌های توالی‌های نوکلئوتیدی (هاپلوتایپ ها و جایگاه‌های پلی‌مورفیسم، تعداد و تنوع هاپلوتایپی و نوکلئوتیدی، شارش ژنی، نوترکیبی و آزمون Tajima D-test) استفاده شد. تست AMOVA نیز در سطح ۹۹ درصد با استفاده از نرم افزار Arliquine 3.5m انجام گرفت.

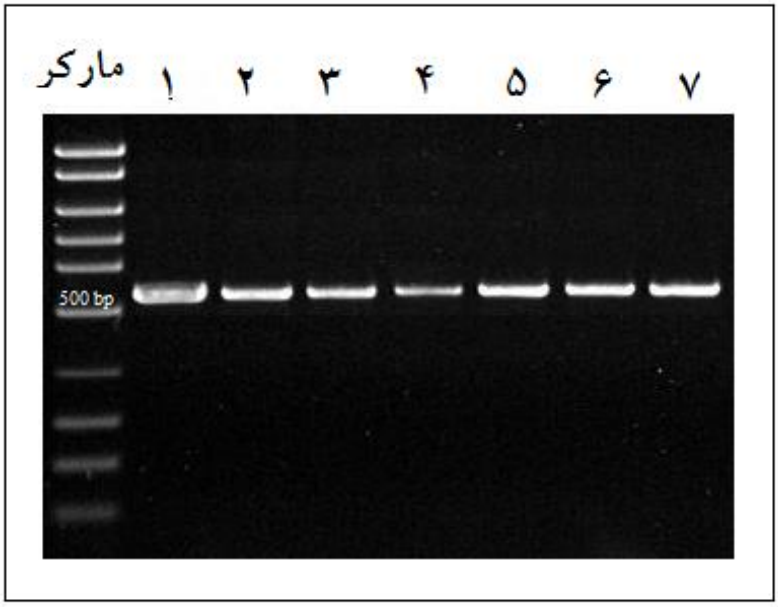
نتایج

DNA استخراجی به روش بهبود یافته CTAB، با استفاده از ژل گذاری با ژل آگاروز ۱ درصد و دستگاه اسپکتروفوتومتری ارزیابی شد. شدت وضوح نوارهای استخراج شده روی ژل آگاروز نشان‌دهنده کمیت بالا، نبود آلودگی‌های پروتئینی و شکستگی‌های DNA، در نتیجه کیفیت مناسب برای بکارگیری در آزمایش‌های PCR بودند. پس از انجام عمل PCR، ارزیابی کیفیت چند نمونه تصادفی از محصولات PCR بدست آمده با استفاده ار ژل آگارز ۲ درصد نشان داد که ژن مورد نظر بخوبی تکثیر پیدا نموده است و از خلوص بالایی برخوردار است (شکل ۲).

Archive of SID

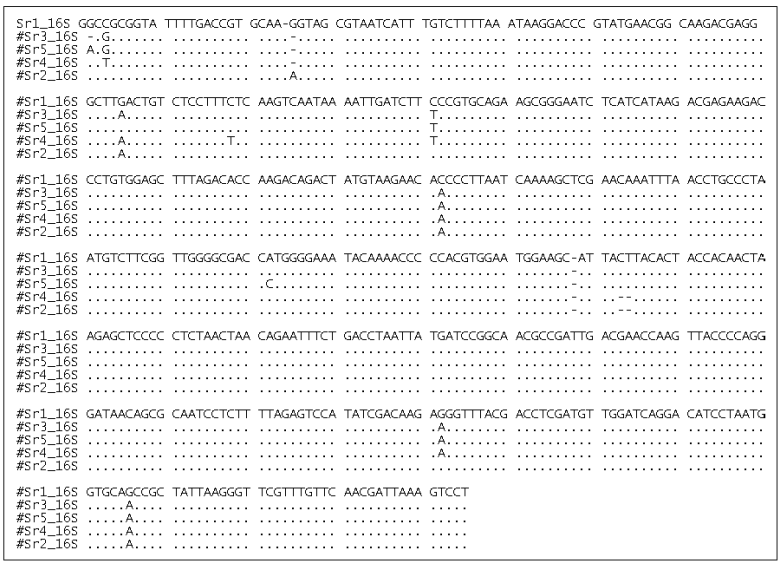
www.SID.ir

Downloaded from jmb.iauahvaz.ac.ir at 16:24 +0430 on Saturday May 20th 2017



شکل ۲: تصویر محصول PCR چند نمونه ماهی (اعداد ۱ تا ۷) و مارکر (M) ۱۰۰ bp بر روی ژل آگارز ۲ درصد

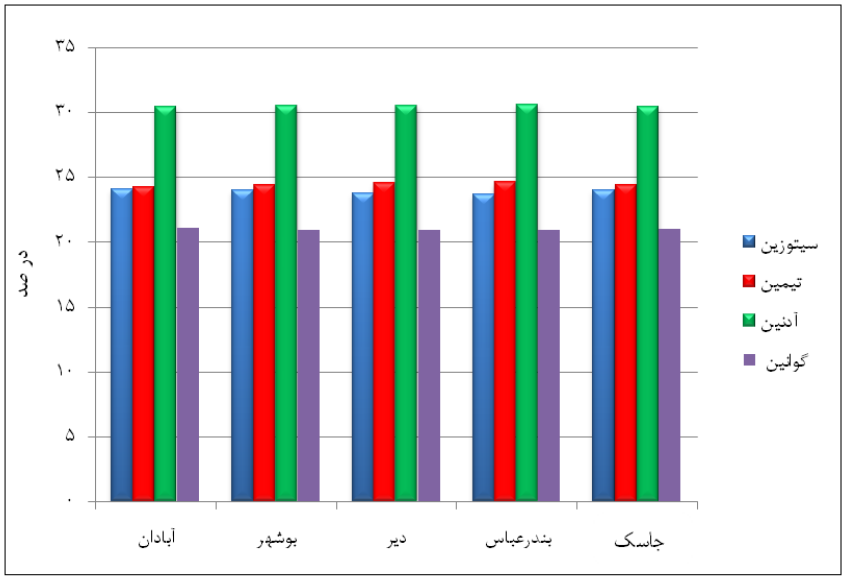
پس از محاسبه کیفیت توالی‌یابی، نوکلئوتیدهایی که دارای کیفیت پایینی بودند از دو انتهای توالی‌ها حذف شدند و نواحی مشترک بین توالی‌ها جداسازی شد. نتیجه این کار منجر به تولید قطعات با طول ۵۲۵ نوکلئوتید گردید (شکل ۳). ترکیب نوکلئوتیدی توالی‌ها نیز ارزیابی و مقایسه شد (شکل۴). محتوای GC، ۴۴/۹۷ درصد برآورد گردید.



شکل ۳: هاپلوتایپ‌های مشاهده شده در ژن 16S rRNA ماهی شوریده در منطقه خلیج فارس و دریای عمان (آبادان -Sr1، بوشهر-Sr2 ، دیر-Sr3 ، بندرعباس-Sr4 و جاسک-Sr5).

www.SID.ir

Downloaded from jmb.iauahvaz.ac.ir at 16:24 +0430 on Saturday May 20th 2017



شکل ٤: نسبت نوکلئوتیدهای مختلف در توالی‌های بدست آمده از نمونه‌های بررسی شده.

تنوع نوکلئوتیدی در درون جمعیت‌های بررسی شده از ۲/۸۹ در بندرعباس تا ۴/۸۲ در بوشهر تخمین زده شد. در مجموع ۷ تا ۸ جایگاه جانشینی در مناطق مختلف دیده شد و تعداد حذف و اضافه در توالی‌های بررسی شده بین ۳ تا ۴ نوکلئوتید بود (جدول ۲).

جدول ۲: آماره‌های تنوع ملکولی قطعه ۵۲۵ جفت بازی از ژن 16S rRNA در جمعیت‌های بررسی شده.

	آبادان	بوشهر	دیر	بندرعباس	جاسک
تعداد جانشینی انتقالی	۶	۶	۶	۶	۶
تعداد جانشینی متقاطع	۱	۲	۲	۲	۲
تعداد جانشینی	۷	۸	۸	۸	۸
تعداد حذف و اضافه	۳	۴	۴	۳	۳
تعداد جایگاه انتقالی	۶	۶	۶	۵	۵
تعداد جایگاه متقاطع	۱	۲	۲	۲	۲
تعداد جایگاه جانشینی	۷	۷	۷	۷	۷
تعداد جایگاه جانشینی اختصاصی	۰	۰	۰	۰	۰
تعداد جایگاه حذف و اضافه	۳	۴	۴	۳	۳
تنوع نوکلدوتیدی Pi	۳/۶۹۷	۴/۸۲۱	۴/۱۰۷	۲/۸۹۳	۳/۶۰۷

فاصله ژنتیکی بر مبنای F_{st} در بین مناطق ۵ گانه محاسبه شد (جدول ۳) . مقدار این متغیر از ۰/۰۷۵ بین نمونه‌های بوشهر و دیر تا ۰/۴۸ بین نمونه‌های آبادان و جاسک بود، که تمایز ژنتیکی بین نمونه‌های آبادان با نمونه‌های بوشهر، بندرعباس و جاسک در سطح ۰/۰۵ تمایز معنی داری

www.SID.ir

داشتند. نمونه‌های بوشهر نیز با نمونه‌های بندرعباس و جاسک اختلاف داشتند. نمونه‌های دیر نیز با نمونه‌های جاسک اختلاف معنی‌داری داشتند. همچنین بین نمونه‌های بندرعباس و جاسک نیز اختلاف معنی‌داری وجود داشت (P<۰/۰۵).

جدول ۳: مقادیر FST میان جمعیت‌های بررسی شده ماهی O. Rubber بر پایه توالی‌های ژن 16S rRNA و میزان معنی‌دار بودن اختلافات (+ معنی‌دار بودن اختلاف در سطح ۰/۰۵، _ اختلاف در این سطح معنی‌دار نیست).

	آبادان	بوشهر	دیر	بندرعباس	جاسک
آبادان	*	+	_	+	+
بوشهر	۰/۱۸۰۷	*	_	+	+
دیر	۰/۲۳۳۴	۰/۰۷۵۴	*	_	+
بندرعباس	۰/۳۸۳۳	۰/۲۲۱۳	۰/۰۸۷۴	*	+
جاسک	۰/۴۸۸۷	۰/۲۱۱۴	۰/۳۵۲۱	۰/۴۱۷۴	*

در بین همه توالی‌های بررسی شده در بررسی کنونی در مجموع ۵ هاپلوتایپ شناسایی شدند. در نمونه‌های آبادان، بندرعباس و جاسک هر کدام ۳ هاپلوتایپ، در نمونه‌های بوشهر و دیر نیز هر یک ۴ هاپلوتایپ شناخته شدند. تنوع نوکلئوتیدی بین هاپلوتایپ‌های مختلف در هر منطقه نیز بین ۰/۰۰۶ تا ۰/۰۰۹ بود (جدول ۴).

جدول ٤: تعداد هاپلوتایپ (H) ، تنوع هاپلوتایپی (Hd) و تنوع نوکلئوتیدی (Pi) در مناطق مختلف.

	H	Hd	Pi
آبادان	۳	۱	۰/۰۰۹
بوشهر	۴	۱	۰/۰۰۸
دیر	۴	۱	۰/۰۰۸
بندرعباس	۳	۰/۸۱۶	۰/۰۰۶
جاسک	۳	۱	۰/۰۰۹
مجموع	۵	۰/۸۱۶	۰/۰۰۶

نرخ جریان ژنی (Nm) در بین مناطق آبادان و جاسک دارای کمترین مقدار (۲/۸۸۸) و ما بین مناطق بوشهر و دیر و همچنین بندرعباس و دیر دارای بیشترین مقدار (۳/۶۶) بود (جدول ۵).

جدول ٥: نرخ جریان ژنی (Nm) در بین مناطق بررسی شده.

	بوشهر	دیر	بندرعباس	جاسک
آبادان	۳/۲۵۰	۳/۲۵۰	۳/۳۳۳	۲/۸۸۸
بوشهر		۳/۶۶۶	۳/۳۳۳	۳/۲۵۰
دیر			۳/۶۶۶	۳/۳۳۳
بندرعباس				۲/۹۷۲

Downloaded from jmb.iauahvaz.ac.ir at 16:24 +0430 on Saturday May 20th 2017

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from jmb.iauahvaz.ac.ir at 16:24 +0430 on Saturday May 20th 2017

نتایج آنالیز واریانس ملکولی جمعیت‌ها در جدول ۶ ارائه شده است. نتایج نشان دادند اختلافات ژنتیکی در میان گروه‌های سه گانه تعریف شده (گروه نخست : آبادان و بوشهر، گروه دوم دیر و بندر عباس و گروه سوم جاسک) ۲۰/۱۳ درصد از مجموع واریانس را به خود اختصاص دادند. واریانس برآورد شده در مقایسه میان مناطق پنجگانه تنها ۲/۷۰ درصد از ورایانس را در بردارد. بیشتر اختلافات ژنتیکی برآورد شده در درون جمعیت‌ها برآورد شده است (۷۷/۱۷ درصد از کل واریانس).

جدول ٦: نتایج آنالیز سلسله مراتبی واریانس ملکولی (AMOVA) جمعیت‌های ماهی شوریده *O. rubber* بر پایه توالی‌های ژن 16s rRNA(گروه اول: آبادان و بوشهر، گروه دوم: دیر و بندرعباس، گروه سوم جاسک).

منشاء واریانس	درجه آزادی	از مجموع واریانس	P-value
میان گروه‌ها	۲	۲۰/۱۳	۰/۰۰۳±۰/۰۰۱
میان جمعیت‌های درون گروه‌ها	۲	۲/۷۰	۰/۲۸۷±۰/۰۱۳
درون جمعیت‌ها	۳۵	۷۷/۱۷	۰/۰۵۲±۰/۰۰۸

بحث و نتیجه گیری

نتایج به دست آمده از جستجوی بر هم نهی‌های موضعی (BLAST) موید تعلق این نمونه‌ها به گونه *O. rubber* بود. همچنین نتایج واگرایی تکاملی نمونه‌های خلیج فارس و دریای عمان با هم و با دیگر نمونه‌های موجود در پایگاه داده‌ای ژنی نیز نشان دهنده واگرایی ناچیز در توالی‌های ژن 16s rRNA می‌باشد.

یکی از ویژگی‌هایی که در روش توالی‌یابی ژنوم میتوکندریایی بررسی و مقایسه می‌شود، درصد نوکلئوتیدهای مختلف است. Pardo و همکاران (۲۰۰۵) در بررسی خود بر روی ژن 16s rRNA، میانگین درصد نوکلئوتیدها را برای ۳۰ گونه از کفشک ماهیان (A: ۲۹/۰۷ درصد، C: ۲۵/۸۳ درصد، G: ۲۲/۳۶ درصد و T: ۲۲/۷۴ درصد) بدست آوردند و بیان نمودند که این نسبت در همه آرایه‌های بررسی شده تقریباً یکسان بود (نسبت CG: ۴۸/۲درصد). Farias و همکاران در سال ۱۹۹۹ با مطالعه ماهیان سیکلیده با بررسی ۵۶۴ جفت باز بررسی شده از 16s rRNA نسبت‌های نوکلئوتیدی A: ۲۹درصد، T: ۲۲درصد، C: ۲۶درصد و G را ۲۳ درصد بدست آوردند (نسبت GC: ۴۹درصد). Orti و همکاران در سال ۱۹۹۶ نیز نتایج تقریباً مشابهی بدست آوردند. شادی (۱۳۹۲) در بررسی خود بر روی ژن 16s rRNA شورت ماهیان خلیج فارس نسبت GC بالاتری (۵۱ درصد) مشاهده نمود. در بررسی کنونی ترکیب نوکلئوتیدی A: ۳۰/۵۴ درصد، C: ۲۳/۹۵ درصد، G: ۲۱/۰۲ درصد و T: ۲۴/۴۷ درصد با نسبت GC برابر ۴۴/۹۷ درصد بدست آمد که نشان دهنده شباهت با نتایج بدست آمده از ماهیان دیگر خانواده ها می‌باشد (Alves-Gomes *et al*., 1995; Farias *et al*., 1999; Tringali *et al*., 1999). دلایل تفاوت در نسبت GC در ماهیان هنوز شناخته نشده‌اند (Ward *et al*., 2005).

تراز تنوع هاپلوتایپی بین صفر (همه افراد دارای هاپلوتایپ یکسان) تا یک (هر فرد دارای هاپلوتایپ متفاوت) متغیر است (Aboim *et al*., 2005). خالدی (۱۳۹۰) تنوع هاپلوتایپی را در جمعیت‌های راشگوماهیان خلیج فارس و دریای عمان ۰/۵۲ بدست آورد (Pourkazemi, 1996) تنوع هاپلوتایپی تاس‌ماهی روسی (*Acipenser gueldenstadii*) را با توالی‌یابی ناحیه D-loop تنوع هاپلوتایپی ۰/۷۵ و تنوع نوکلئوتیدی ۰/۰۵ به‌دست آورد. Johansson (۲۰۰۴) در بررسی روی *Chromis punctipinnis* تنوع هاپلوتایپی ۱ را بدست آورد. در بررسی کنونی، تراز هاپلوتایپی ۰/۸۱ و تنوع نوکلوتیدی ۰/۰۰۶ بدست آمد که نشان دهنده تنوع نسبتاً بالا در جمعیت‌های بررسی شده است.

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from jmb.iauahvaz.ac.ir at 16:24 +0430 on Saturday May 20th 2017

Meyer (۱۹۹۴) در بازنگری بررسی‌های انجام شده بر روی ژنوم میتوکندریایی در ماهیان مختلف به این نتیجه رسید که در همه بررسی‌های انجام شده همواره نرخ جهش‌های ترانزیشن (انتقالی یا همگشتی) بر ترانسورژن (متقاطع یا تراگشتی) برتری دارد. نسبت همگشتی به تراگشتی (R) در بررسی Farias و همکاران (۱۹۹۹) با بکارگیری ژن 16s rRNA، ۲/۴۸ بدست آمد. این نسبت در بررسی Pardo و همکاران (۲۰۰۵) در توالی‌های 16s rRNAکفشک ماهیان، ۱/۲۵ بدست آمد. شادی (۱۳۹۲) نیز در بررسی ژنوم 16s rRNA شورت‌ماهیان خلیج فارس این نسبت را ۲/۵۷ بدست آورد. در بررسی کنونی نرخ R معادل۲/۱۰ بدست آمد که با نتایج مطالعات دیگر همخوانی دارد.

طبق دستاوردهای Thrope and Sol-Cave (۱۹۹۴) فاصله ژنتیکی برای جمعیت‌های هم گونه بین (۰/۰۷-۰/۰۰۲) با میانگین ۰/۰۵ و برای گونه‌های هم‌جنس (۰/۶۱-۰/۰۳) با میانگین ۰/۳ می‌باشد. بنابراین فاصله ژنتیکی به دست آمده در این بررسی در محدوده جمعیت‌های هم‌گونه جای دارد.

در بررسی کنونی بر مبنای ژن 16s rRNA تمایز ژنتیکی نسبتاً پایینی مشاهده شد. به طور کلی و عمومی پذیرفته شده است که در ماهیان دریایی تمایز ژنتیکی در بین جمعیت‌های مختلف معمولاً در حد پایینی است. پایین بودن تمایز ژنتیکی را معمولاً به نبود موانع عمده در دریا، که موجب جدایی جغرافیایی شوند نسبت می‌دهند؛ به همین دلیل ماهیان می‌توانند در گستره‌های وسیعی پراکنده شوند و به همین دلیل، شارش ژنی بالایی در مناطق پراکندگی لاروها و یا بالغین دیده می‌شود.

هر چند که عواملی مانند توانایی جابجایی و سازگاری با شرایط مختلف محلی می‌تواند در برابر جریان ژنی عمل نماید (Hedgecock, 2007; Ward, 2000; Pinera *et al*., 2007). این عوامل می‌توانند از تبادل ژن میان جمعیت‌ها جلوگیری نمایند. بنابراین در جمعیت‌های دریایی به طور کلی عوامل زیستی مهمتر از عوامل جغرافیایی هستند مگر در گستره‌های جغرافیایی بسیار بزرگ (Feral, 2002).

یکی از مهمترین عوامل تمایز ژنتیکی اندک بین مناطق مختلف می‌تواند مهاجرت بالا و شارش ژنی بالا بین مناطق مختلف باشد. از آنجا که مشخص شده این ماهی دارای مهاجرتهای تولید مثلی است (کمالی و همکاران، ۱۳۹۱)، مهاجرت می‌تواند نقش مهمی را به عنوان یک عامل زیستی در جریان ژنی در مناطق گسترش این گونه داشته باشد.

با این که مهاجرت را می‌توان از عوامل اصلی واگرایی ژنتیکی کم در بین نمونه‌های خلیج فارس و دریای عمان دانست ولی به تنهایی نمی‌تواند عامل اصلی این پدیده باشد. پدیده رویت شده می‌تواند در اثر کاهش در اندازه جمعیت موثر در سالهای اخیر باشد. Grant و Bowen (۱۹۹۸) جمعیت‌های با تنوع هاپلوتایپی بالا (h>۰/۵) و تنوع نوکلئوتیدی پایین (۰/۵ درصد> pi) را به این صورت تفسیر می‌نمایند که این جمعیت‌ها اخیراً در شرایط تنگنا قرار گرفته‌اند و سپس یک رشد جمعیتی سریع را پشت سر نهاده اند. شوریده‌ماهیان بررسی شده دارای تنوع هاپلوتایپی ۰/۸۶ و تنوع نوکلئوتیدی ۰/۰۰۶ بودند که می‌تواند نشانگر اثر موسس و به دنبال آن گسترش سریع در منطقه باشد.

گونه مورد بررسی در سالهای اخیر تحت بهره برداری شدید قرار گرفته است و تقاضای فراوان برای گوشتش سبب تلاش صیادی زیادی برای بهره برداری از ذخایر موجود شده است (اسکندری و همکاران، ۱۳۹۲). افزایش بهره برداری و نبود فناوری تکثیر و پرورش لارو مصنوعی برای این گونه سبب کاهش فراوانی جمعیت این گونه شده است. این مسئله می‌تواند تاثیر مستقیمی روی تنوع ژنتیکی داشته باشد. جمعیت‌های با اندازه جمعیت موثر کوچکتر، بیشتر تحت تاثیر رانش ژنی تصادفی قرار می‌گیرد و جریان ژنی اش کاهش می‌یابد.

همچنین بر مبنای تمایزهای ژنتیکی اندک بین نمونه‌های مختلف بررسی شده وجود زیر گونه یا گونه‌های پنهان در میان شوریده ماهیان خلیج فارس و دریای عمان با بکارگیر این ژن، نمایان نمی‌شود و همه نمونه‌ها طبق بررسی‌های ریخت شناختی قبلی به گونه *O. ruber* وابسته می‌نمایند.

ارزیابی گوناگونی و ساختار ژنتیکی ذخایر ماهیان اهمیت فراوانی از دیدگاه دانش بوم شناسی و همچنین در مدیریت برداشت و بهره برداری شایسته از ذخایر، نگاهبانی و بازسازی گونه‌های در خطر و بهبود ذخایر پرورشی دارد. در بررسی کنونی بیشترین تنوع مشاهده شده در میان افراد درون

Archive of SID

www.SID.ir

جمعیت‌هاست که نشان دهنده این است که مجموعه پر ارزشی از تنوع ژنتیکی در بین افراد در مناطق مختلف پراکنده شده است که لزوم نگهداری از این ذخایر را ضروری می‌سازد.

منابع

اسکندری، غ.، سواری، الف.، کوچنین، پ. و تقوی مطلق، س. الف.، ۱۳۹۲. روند ساختار طولی صید، ضرایب مرگ و میر و بهره برداری ماهی شوریده (*Otolithes ruber*) در ۱۰ سال گذشته (۱۳۸۸-۱۳۷۹) در شمال غربی خلیج فارس. مجله علمی شیلات ایران، شماره ۳۲، صفحات ۱۰-۸.

خالدی، ه.، ۱۳۹۰. مطالعه ساختار ژنتیکی جمعیت های ماهی راشگو معمولی *Eleutheronematetra dactylum* در خلیج فارس و دریای عمان با استفاده از تعیین توالی ژن 28S rRNA و PCR–RAPD. رساله دکتری دانشگاه علوم فنون دریایی خرمشهر، ۱۴۱ ص.

شادی، الف.، ۱۳۹۲. تمایز ریخت شناختی و ژنتیکی ماهی شورت *Sillago sihama* در سواحل شمالی خلیج فارس. رساله دکتری دانشگاه علوم فنون دریایی خرمشهر، ۱۴۵ ص.

کمالی، ع.، فروغی فرد، ح. و دهقانی، ر.، ۱۳۹۱. تعیین طول بلوغ، هم آوری، نسبت جنسی و فصل تخمریزی ماهی شوریده *Otolithes ruber* . مجله آبزیان و شیلات ۱۱، صفحات ۱۸-۹.

Aboim, M. A., Menezes, G. M., Schlitt, T. and Rogers, A. D., 2005. Genetic structure and history of populations of the deepsea fish *Helicolenus dactylopterus* (Delaroche, 1809) inferred from mtDNA sequence analysis. Molecular Ecology, 14:1343–1354.

Alves-Gomes, J., Orti, G., Haygood, M., Heiligenberg, W. and Meyer, A., 1995. Phylogenetic analysis of South American electric fishes (order: Gymnotiformes) and the evolution of their electrogenic system: a synthesis based on morphology, electrophysiology, and mitochondrial sequence data. Molecular Biology and Evolution, 12: 298–318.

An, H. S., Jee, Y. S., Min, K. S., Kim, B. L. and Han, S. J., 2005. Phylogenetic analysis of six pacific abalone (Haiotidae) based on DNA sequences of 16S rRNA and cytochrome c oxidase subunit I mitochondrial genes. Marine Biotechnology, 7: 373-380.

Ausubel, F. M., Brent, R., Kingston, R. E., Moore, D. D., Seidman, J. G., Smith, J. A. and Struhl, K. 1994. Current protocols in molecular biology. New York: Greene Publishing Association; Wiley-Interscience.

Bendezu, I. F., Slater, J. W. and Carney, B. F., 2005. Identification of *Mytilus spp*. and Pecten maximus in Irish waters by standard PCR of the 18S rDNA gene and multiplex PCR of the 16S rDNA gene. Journal of Marine Biotechnology, 7: 687–696.

Chan, T., Tong, J., Tam, K. T., and Chu, K. H., 2008. Phylogenetic relationship among the genera of the Penaeidae (crustacean:decapoda) revealed by mitochondrial 16s rRNA gen sequence. Zootaxa, 1694: 38-50.

Crozier, R. H., 1997. Preserving the information content of species: genetic diversity, phylogeny, and conservation worth Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics, 28: 243-268.

Doiuchi, R. and Nakabo, T., 2006. Molecular phylogeny of the stromateoid fishes (Teleostei: Perciformes) inferred from mitochondrial DNA sequences and compared with morphology-based hypotheses. Molecular Phylogenetics and Evolution, 39(1):111-23.

Frankham, R., 2005. Genetics and Extinction. Biological Conservation.126 (2): 131–140.

Feral, J. P., 2002. How useful are the genetic markers in attempts to understand and manage marine biodiversity? Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 268: 121-145.

Farias, I. P., Orti, G. Sampaio, I., Schneider, H. and Meyer, G., 1999. Mitochondrial DNA Phylogeny of the Family Cichlidae: Monophyly and Fast Molecular Evolution of the Neotropical Assemblage. Journal of Molecular Evolution, 48:703–711.

Grant, W. S. and Bowen, W. B., 1998. Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: insights from sardines and anchovies and lessons for conservation. Journal of Heredity, 89:415-426.

Downloaded from jmb.iauahvaz.ac.ir at 16:24 +0430 on Saturday May 20th 2017

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from jmb.iauahvaz.ac.ir at 16:24 +0430 on Saturday May 20th 2017

Gunderina, L. I., 2003. DNA polymorphism of Drosophila genes and factors determining it. Russian Journal of Genetics, 39 (7): 737-747.

Hedgecock, D., Launey, S., Pudovkin, A. I., Naciri, Y., Lapègue, S. and Bonhomme, F., 2007. Small effective number of parents (Nb) inferred for a naturally spawned cohort of juvenile European flat oysters *Ostrea edulis*. Marine Biology 150 (1): 173–182.

Hinten, G., Harriss, F., Rossetto, M. and Braverstock, P. R., 2003. Genetic variation and island biogeography: Microsatellite and mitochondrial DNA variation in island populations of the Australian bush rat, *Rattus fuscipes greyii*. Conservation Genetics, 4: 759-778.

Hrbek, T., Frickey, T., Wildekamp, H. and Meyera, A., 2002. Molecular phylogeny and historical biogeography of the *Aphanius* (Pisces, Cyprinodontiformes) species complex of central Anatolia, Turkey. Molecular Phylogenetics and Evolution, 25: 125–137.

IUCN (International Union for Conservation of Nature), 2007. The IUCN red list of threatened species,. Available:http: //www. iucnredlist.org.

Johansson, M. L., 2004. Comparative population genetics of two California marine fish species. Thesis (M.A.) San Francisco State University.

Lakra, W. S., Goswami, M. and Gopalakrishnan, A., 2009. Molecular identification and phylogenetic relationships of seven Indian Sciaenids (Pisces: Perciformes, Sciaenidae) based on 16s rRNA and cytochrome c oxidase subunit I mitochondrial genes. Molecular Biology Reports, 36: 831–839.

Lavery, S., Chan, T. Y., Tam, Y. K., and Chu, K. H. 2004. Phylogenetic relationship and evolutionary of the shrimp genus *Penaeus* drived from mitochondrial DNA. Molecular Phylogenetics and Evolution, 31: 39-49.

Lavoue, S., Miya, M., Poulsen, J. Y., Moller, R., and Nishida, M., 2008. Monophyly, phylogenetic position and inter-familial relationships of the Alepocephaliformes (Teleostei) based on whole mitogenome sequences, Molecular Phylogenetics and Evolution, 47: 1111-1121.

Li, C. and Ortí, G., 2007. Molecular phylogeny of Clupeiformes (Actinopterygii) inferred from nuclear and mitochondrial DNA sequences. Molecular Phylogenetics and Evolution, 44(1):386-98.

Li, J., Wang, X., Kong, X., Zhao, K., He, S. and Mayden, R. L., 2008. Variation patterns of the mitochondrial 16S rRNA gene with secondary structure constraints and their application to phylogeny of cyprinine fishes (Teleostei: Cypriniformes). Molecular Phylogenetics and Evolution, 47: 472–487.

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

Lucentini, L., Palomba, A., Gigliarelli, L., Sgaravizzi, G., Lancioni, H., Lanfaloni, L., Natali, M. and Panara, F., 2009. Temporal changes and effective population size of an Italian isolated and supportive-breeding managed northern pike (*Esox lucius*) population. Fisheries Research. 96 (2-3): 13.

Meyer, A., 1994. DNA technology and phylogeny of fish. in A. R. Beaumont, ed. Genetics and evolution of aquatic organisms. Chapman and Hall, London. Pp. 219-249.

Mughal, M., 2013. Persian Gulf Desert and Semi-desert. Biomes & Ecosystems, Vol. 3, Robert Warren Howarth (ed.). Ipswich, MA: Salem Press, pp. 1000-1002.

Nguyen, T. T. T., Na-Nakon, U., Sukmanomon, S. and Ziming, C., 2008. A study on phylogeny and biogeography of mahseer species (Pisces: Cyprinidae) using sequences of three mitochondrial DNA gene regions. Molecular Phylogenetics and Evolution, 48: 1223–1231.

Norse, E. A. and Crowder, L. B., 2005. Marine Conservation Biology: The Science of Maintaining the Sea's Biodiversity, Island Press, 470 pp.

Orrell, T. M. and Carpenter, K. E., 2004. A phylogeny of the fish family Sparidae (porgies) inferred from mitochondrial sequence data. Molecular Phylogenetics and Evolution, 32:425–434.

Orti, G., Petry, P., Porto, J. A., Jegu, M. and Meyer, A., 1996. Patterns of nucleotide change in mitochondrial ribosomal RNA genes and the phylogeny of piranhas. Journal of Molecular Evolution, 42: 169–182.

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from jmb.iauahvaz.ac.ir at 16:24 +0430 on Saturday May 20th 2017

Pardo, B., Machordom, A., Foresti, F., Porto-Foresti, F., Azevedo, F. C. Banon, R. Sanches, L., and Martinez, P., 2005. Phylogenetic analysis of flatfish (Order Pleuronectiformes) based on mitochondrial 16s rDNA sequences. Scintica Marina, 69(4):531-543.

Pinera, J. A., Blanco, G., Vázquez, E. and Sánchez, J. A., 2007. Genetic diversity of black spot seabream (*Pagellus bogaraveo*) populations off Spanish Coasts: a preliminary study. Marine Biology, 151(6): 2153-2158

Pourkazemi, M., 1996. Molecular and biochemical genetic analysis of sturgeon stocks from the South Caspian Sea. Ph.D. thesis.University of Wales, Swansea.

Ryman, N., 1991. Conservation genetics considerations in fishery management. Journal of Fish Biology, 39: 211–224.

Stepien, C. A., 1999. Phylogeographical structure of Dover sole *Microstomus pacificus*: the larval retention hypothesis and genetic divergence along the deep continental slope of the northeastern Pacific Ocean. Molecular Ecology, 8: 923-939.

Thrope J. P. and Sole-Cava A. M., 1994. The use of allozyme electrophoresis in invertebrate systematics . Zoologica Scripta, 23: 3-18.

Tringali, M. D., Bert, T., Seyoum, M. and Bermingham, S., 1999. Molecular phylogenetics and ecological diversification of the transisthmian fish genus *Centropomus* (Perciformes: Centropomidae). Molecular Phylogenetics and Evolution, 13: 193-207.

Thai, B. T., Burridge, C. P. and Austin, C. M., 2006. Genetic diversity of common carp (*Cyprinus carpio L.*) in Vietnam using four microsatellite loci, Aquaculture: International Journal Devoted to Fundamental Aquatic Food Resources, 269: 1-4.

Tong, J. G., Chan, T. Y., and Chu, K. H., 2000. A Perliminary phylogenetic analysis of metapenaeopsis (Decapoda/;Penaeidae) based on mitochondrial DNA sequences of selected species from the indo-west pacific . Crustacean Biology, 20: 541-549.

Ward, R. D., 2000. Genetics in fisheries management. Hydrobiologia, 420:191–201.

Ward, R. D., Zemlak, T. S., Innes, B. H., Last, P. R. and Hebert, P. D. N., 2005. DNA Barcoding Australia's fish species. Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences, 360:1847–1857.

Zoller, S., Scheidegger, C. and Sperisen, C., 1999. PCR primers for the amplification of mitochondrial small subunit ribosomal DNA of lichen-forming Ascomycets, Lichenologist, 31(5): 511–516.

Archive of SID

www.SID.ir