مجله دانش گیاه‌پزشکی ایران
دوره ۴۲، شماره ۲، ۱۳۹۰ (۲۷۳-۲۶۷)

تنوع ژنتیکی جمعیت‌های مختلف موریانه *Microcerotermes diversus* (Isoptera: Termitidae) با استفاده از ژن COII

الهام اکبریان فیروزآبادی[1]*، بهزاد حبیب‌پور[2]، حمید گله‌داری[3] و پرویز شیشه‌بر[4]
۱، ۲، ۳، ۴، دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، استادیار، دانشیار و استاد
دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز
(تاریخ دریافت: ۸۹/۹/۲۳ - تاریخ تصویب: ۹۰/۹/۲)

چکیده

موریانه *Microcerotermes diversus* (Isoptera: Termitidae) یک آفت مهم چوب در استان خوزستان بوده که خسارت‌های اقتصادی جدی را به لوازم سلولزی وارد می‌نماید. به منظور بررسی تنوع ژنتیکی این آفت، ۱۳ جمعیت از نقاط مختلف استان خوزستان به علاوه ۲ نمونه از جزیره خارک و بندرعباس جمع‌آوری گردید. بعد از استخراج ژنوم، یک قطعه با طول ۴۸۶ جفت باز از ژن میتوکندریایی سیتوکروم اکسیداز دو (COII) تکثیر و سپس تعیین توالی گردید. آنالیز بیشینه پارسیمونی با استفاده از نرم‌افزار Mega4 انجام شد. مشخصات تبارنمای حاصل به این شرح بود: طول درخت: ۲۳۷، شاخص ثبات: ۰/۷۷۲۱ و شاخص نگهداری: ۰/۸۶۶۶. در این تبارنما، ۱۵جمعیت، به استثناء ۲ گروه خارجی، در ۲ شاخه فیلوژنتیکی قرار گرفتند. اختلاف ژنتیکی میان جمعیت‌ها با استفاده از مدل Kimura-2parameter از صفر تا ۰/۱۱۷ تخمین زده شد که سطح پایینی از تنوع ژنتیکی را بیان می‌کند و نشان می‌دهد که جمعیت‌های مورد بررسی از هم جدا نبوده و ارتباط بالایی بین آنها وجود دارد.

واژه‌های کلیدی: استان خوزستان، بیشینه پارسیمونی، اختلاف ژنتیکی

مقدمه

موریانه‌ها راسته قدیمی از حشرات اجتماعی هستند که خاستگاه آنها به اوایل دوره کرتاسه در حدود بیش از ۱۲۰ میلیون سال قبل بر می‌گردد (Bergamaschi *et al.*, 2007). این حشرات در دستگاه گوارش خود حاوی میکروارگانیسم‌های همزیست شامل پروتوزئرها، باکتری‌ها و قارچ ها بوده و از لحاظ اکولوژیکی، مهمترین تجزیه کنندگان لیگنوسلولز محسوب می‌شوند که قادر به تجزیه چوب‌های پوسیده و تبدیل آنها به مواد آلی و در نتیجه غنی‌سازی خاک می‌باشند (Husen *et al.*, 2006). از طرفی این حشرات می‌توانند به ساختمان‌ها و تأسیسات شهری و روستایی خسارت‌های قابل توجهی وارد کنند (Badawi *et al.*, 2008)، این خسارت‌ها از طریق تغذیه از چوب‌ها و الیاف سلولزی بکار برده شده در ساختمان‌ها، لباس، کتاب و هر گونه لوازم و وسایلی که در آنها مواد سلولزی وجود داشته باشد صورت می‌گیرد. موریانه‌ها با از بین بردن تیرهای چوبی در سیستم انتقال برق و شبکه‌های مخابراتی اختلال ایجاد می‌کنند، به انبارهای تسلیحات نظامی، موزه‌ها، آزمایشگاه‌ها، کتابخانه‌ها و اطاق‌های بازرگانی خسارت‌های جبران ناپذیری وارد می‌آورند، که از این لحاظ زیان‌های اقتصادی به ساختمان‌های چوبی، الوار و

* نویسنده مسئول: الهام اکبریان فیروزآبادی تلفن: ۰۹۳۶-۴۷۷۶۷۲۰ E-mail: elhamakbarian@yahoo.com

Archive of SID
www.SID.ir

درختان یک مشکل جدی در جوامع شهری و روستایی محسوب می‌شود (Ghayourfar, 2005). از این‌رو شناسایی صحیح، آگاهی از وضعیت سیستماتیکی و همچنین بررسی تکاملی و ژنتیکی موریانه‌ها به خصوص در سطح جمعیت‌های یک گونه در بکارگیری تاکتیک ها و سموم مناسب به کنترل صحیح آنها کمک می‌کند (Badawi *et al*., 2008).

روش‌های قدیمی مطالعه موریانه‌ها اغلب از خصوصیات مرفولوژیکی مانند شکل و ساختمان آرواره‌ها، شکل و طول سر، عرض سر، طول پرونوتوم و ساق پا استفاده می‌نماید. در این روش‌ها به دلیل اینکه تفاوت‌ها واضح نشان داده نمی‌شود چالش‌هایی پیش روی محققین مختلف قرار دارد (Badawi *et al*., 2008)، اما در مقابل بررسی ژنتیکی موریانه‌ها می‌تواند در شناسایی مشکلات بالقوه و استراتژی‌های کنترلی مؤثرتر و همچنین به حفاظت منابع طبیعی کمک کند (Sobti *et al*., 2009).

ژنوم میتوکندریایی جانوری یک مولکول کوچک حلقوی در اندازه ۱۵ تا ۱۸ کیلو جفت باز می‌باشد (Stewart, 2005)، ژن‌های میتوکندریایی نسبت به ژن‌های هسته‌ای با دقت بیشتری قادر به بررسی نمودن موریانه‌ها از لحاظ ژنتیکی هستند (Yeap *et al*., 2007)، که در این میان ژن COII دارای بیشترین موفقیت بوده که به طور گسترده در بررسی فیلوژنی مولکولی، اختصاصات گونه‌ای، خصوصیات ارثی جمعیت‌ها، مطالعه تنوع و توزیع جغرافیایی موریانه‌ها استفاده می‌شود (Long *et al*., 2009).

در حال حاضر موریانه‌ها دارای ۲۸۰ جنس و بیش از ۲۶۰۰ گونه هستند که در درون ۷ خانواده و ۱۴ زیر خانواده جای می‌گیرند (Lee *et al*., 2005). خانواده Termitidae از موریانه‌های زیرزمینی یکی از بزرگترین خانواده‌ها با تقریباً ۸۵ درصد از همه جنس‌های شناخته شده و نزدیک به ۷۰ درصد از گونه‌ها می‌باشد (Ohkuma *et al*., 2003).

در استان خوزستان از دیرباز به دلیل عدم رعایت اصول پیشگیری در هنگام ساختمان‌سازی و نیز عدم بکارگیری مواد محافظت‌کننده از چوب و عدم سم‌پاشی در زمان مناسب، هجوم موریانه‌ها به داخل ساختمان‌ها و بروز خسارت‌های جبران ناپذیر به لوازم چوبی مشاهده شده است (Soleiman-Nejadian, 1991). بررسی‌ها نشان می‌دهد که گونه *Microcerotermes diversus* از خانواده Termitidae یک آفت مهم چوب در استان خوزستان بوده که خسارت‌های اقتصادی جدی را به لوازم سلولزی وارد می‌نماید این گونه دارای حوزه جستجوگری غذای وسیع بوده و توانایی ایجاد اجتماعات ثانویه در دیوارها و سقف اماکن و نیز روی درختان را دارد. این موریانه در کشورهای ایران، عراق، کویت، عمان، عربستان و امارات متحده عربی انتشار دارد و در ایران هم از استان‌های خوزستان، بوشهر، سیستان و بلوچستان و یزد گزارش شده است (Habibpour, 1994).

اگرچه پیشرفت‌های اخیر در فن‌آوری و اطلاعات مولکولی در اغلب گروه‌های حشرات برای شناسایی و بررسی‌های فیلوژنتیکی آنها استفاده شده است، اما براساس منابع موجود در مطالعات ژنتیکی انجام شده بر روی گونه‌های مختلف موریانه‌ها در دنیا، متأسفانه تاکنون هیچ گونه بررسی ژنتیکی از موریانه مخرب *M. diversus* نه تنها در ایران بلکه در جهان نیز گزارش نگردیده است، اما در مطالعات ژنتیکی انجام شده بر روی موریانه‌های دیگر Austin *et al*. (2006) با استفاده از ۶۴۰ جفت باز از توالی ژن COII موریانه Shiraki *Coptotermes formosanus* را در ۲ قاره آمریکا و آسیا مورد بررسی قرار دادند که در این مطالعه تنوع ژنتیکی پایینی مشاهده گردید. در مطالعه دیگر، Tripodi *et al*. (2006) برای تعیین وسعت تنوع ژنتیکی گونه (Kollar) *Reticulitermes flavipes* در کالیفرنیا، از محل‌های مختلف نمونه‌برداری انجام دادند، که با استفاده از ژن COII حدود ۱۹ هاپلوتیپ مشاهده گردید. Nobre *et al*. (2006) توالی نوکلئوتیدی ژن COII در موریانه جنس *Reticulitermes* جمع‌آوری شده از مناطق مختلف کشور پرتغال را مورد مطالعه قرار دادند. در این بررسی تنوع ژنتیکی و نحوه توزیع جغرافیایی این جنس مورد ارزیابی قرار گرفت که در حدود ۲۰ هاپلوتیپ مشاهده گردید و تنوع نوکلئوتیدی و هاپلوتیپی حاصل به ترتیب ۰/۰۰۸ و ۰/۹۵۶ درصد به دست آمد.

پر واضح است که شناسایی دقیق زیست شناسی،

Archive of SID

www.SID.ir

اکولوژی، ساختار جمعیتی و ژنتیکی جمعیت‌های مختلف موریانه‌ها اولین گام برای اتخاذ تصمیمات اساسی برای مبارزه با این آفات می‌باشد و لذا این مطالعه با فرض اینکه بین جمعیت‌های مختلف جمع‌آوری شده اختلاف ژنتیکی وجود داشته و با هدف بررسی ژنتیکی گونه مورد نظر انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری: نمونه‌برداری در سال ۱۳۸۸ از برخی مناطق استان‌خوزستان و همچنین از دو شهر بندرعباس و جزیره خارک صورت پذیرفت (جدول۱). در آزمایشگاه نمونه‌ها برای مطالعه ژنتیکی تا زمان استخراج DNA در اتانول مطلق و در فریزر در دمای ۲۰- نگهداری شدند.

جدول ۱- محل جمع‌آوری و کد نمونه‌های موریانه *M. diversus* استفاده شده در مطالعه ژنتیکی

محل نمونه‌برداری	کد نمونه
اهواز (گلستان)	T1
اهواز (میدان شهدا)	T2
اهواز (کیانپارس)	T3
اهواز (۲۴متری)	T4
۱۰ کیلومتری اهواز	T5
ملاثانی	T6
شوشتر	T7
شوش	T8
هفت تپه	T9
امیدیه	T10
رامهرمز	T11
دزفول	T12
بهبهان	T13
بندرعباس (استان هرمزگان)	T14
جزیره خارک (استان بوشهر)	T15

استخراج DNA از نمونه‌ها: استخراج ژنوم از ۱۵ جمعیت موریانه جمع‌آوری شده با استفاده از روش Salting out (رسوب گذاری بوسیله محلول های نمکی) صورت پذیرفت. در این روش عملیات استخراج به طور میانگین بر روی حدود ۳۵ موریانه کارگر از هر جمعیت صورت گرفت که در ابتدا نمونه‌ها با استفاده از ۷۰۰ میکرولیتر بافر (TNESEDTA, Tris, Nacl, SDS, Urea و آب مقطر) و ۲۰ میکرولیتر پروتئیناز k در یک میکروتیوپ هم زده شده و در دمای ۵۵ درجه سلسیوس در بن‌ماری در طول شب قرار داده شدند و بعد از آن با اضافه نمودن ۵۰۰ میکرولیتر محلول فنول-کلروفرم-ایزو آمیل الکل در دو مرحله جداگانه، دو بار سانتریفیوژ گشته و با اضافه نمودن استات سدیم به میزان یک دهم و اتانول مطلق در دو برابر حجم محلول و سپس ۵۰۰ میکرولیتر الکل ۷۰ درصد و سانتریفیوژ کردن آنها و در نهایت اضافه نمودن ۱۰۰ میکرولیتر بافر ,TE EDTA (Tris و آب مقطر)، ژنوم مورد نظر استخراج شد.

بررسی DNA تخلیص شده: بر روی ژل آگارز ۰/۸ درصد کیفیت ژنوم استخراج شده مورد بررسی قرار گرفت.

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز Polymerase Chaine Reaction (PCR): برای تکثیر ژن COII، از آغازگرهای زیر استفاده شد:

ACO2R:5'-ACAAGACAGAGCATCGCCAGTCA-3'
ACO2F:5'-AGTCGGCCAGGTGTTGCGTC-3

واکنش های PCR با ترموسایکلر Corbett و در حجم ۲۵ میکرولیتری (بافر Taq PCR×۲/۵10، آغازگر رفت و برگشت ۲/۵، ۰/۷۵ Mgcl2، ۰/۵ DNTPs، Taq polymerase ۰/۵،ddH2O ۱۴/۲۵ و ژنوم ۱/۵ میکرولیتر) انجام شد. سیکل حرارتی شامل: زمان واسرشته‌سازی مقدماتی ۹۴ درجه در ۵ دقیقه، واسرشته‌سازی ۹۴ درجه در ۳۰ ثانیه، اتصال ۶۲ درجه در۳۰ ثانیه، گسترش ۷۲ درجه در ۳۰ ثانیه و گسترش نهایی ۷۲ درجه در ۵ دقیقه.

انجام الکتروفورز: بر روی ژل آگارز ۲ درصد نتایج آزمون PCRالکتروفورز و بررسی گردید.

تعیین توالی: تعیین توالی از روش Sanger و با دستگاهABI 3730 Sequencer، توسط شرکت ماکرو ژن کره جنوبی صورت گرفت.

تجزیه و تحلیل نتایج: توالی‌های به دست آمده در نرم‌افزار Chromas خوانده شده، سپس با استفاده از نرم‌افزار Viewer 6 CLC Sequence همردیف‌سازی گردیده و در نرم‌افزار Mega4 ذخیره شدند و درخت فیلوژنتیکی مورد نظر رسم گردید. در این مطالعه از دو توالی ژن COII گونه *M. minutus* با شماره دسترسی AB193236 و گونه *M. crassus* با شماره دسترسی AY940137 به عنوان گروه خارجی[1] برای مقایسه

1. Outgroup

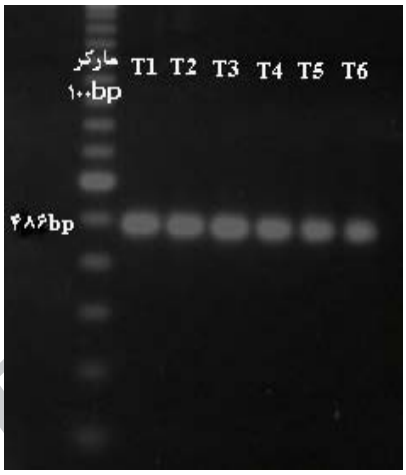
Archive of SID

www.SID.ir

استفاده شد.

نتایج

ناحیه ای با طول ۴۸۶ جفت باز از ژن میتوکندریایی سیتوکروم اکسیداز دو در طی فرایندPCR تکثیر شد (شکل۱).



شکل ۱- نتیجه الکتروفورز برخی از محصولات PCR

که از این تعداد حدود ۱۲۵ جفت باز برای اطمینان از صحت نتایج به دست آمده از دو انتهای قطعه تکثیر شده حذف و حدود ۳۶۱ جفت باز از ژن COII در نهایت در مطالعه مولکولی استفاده گردید. میانگین فراوانی بازها برای A=۰/۳۸، T=۰/۲۵، C=۰/۲۲، G=۰/۱۵، A+T=۰/۶۳ و C+G=۰/۳۷ بود. تبارنمای موجود با استفاده از آنالیز بیشینه پارسیمونی به دست آمد (شکل۲)، که در این تبارنما به جز ۲ گروه خارجی، ۱۵ جمعیت مورد بررسی در ۲ شاخه فیلوژنتیکی (clade) به صورت جداگانه قرار گرفتند، که هر کدام از این شاخه‌ها نیز به ۲ زیر شاخه (subclade) تقسیم گردیدند. در یکی از شاخه‌ها موریانه‌های جمع‌آوری شده از ۶ منطقه مختلف اهواز به همراه شهرهای شوش، شوشتر، هفت تپه، امیدیه، رامهرمز و جزیره خارک و در شاخه دیگر موریانه‌های دزفول، بهبهان و بندرعباس قرار گرفتند.

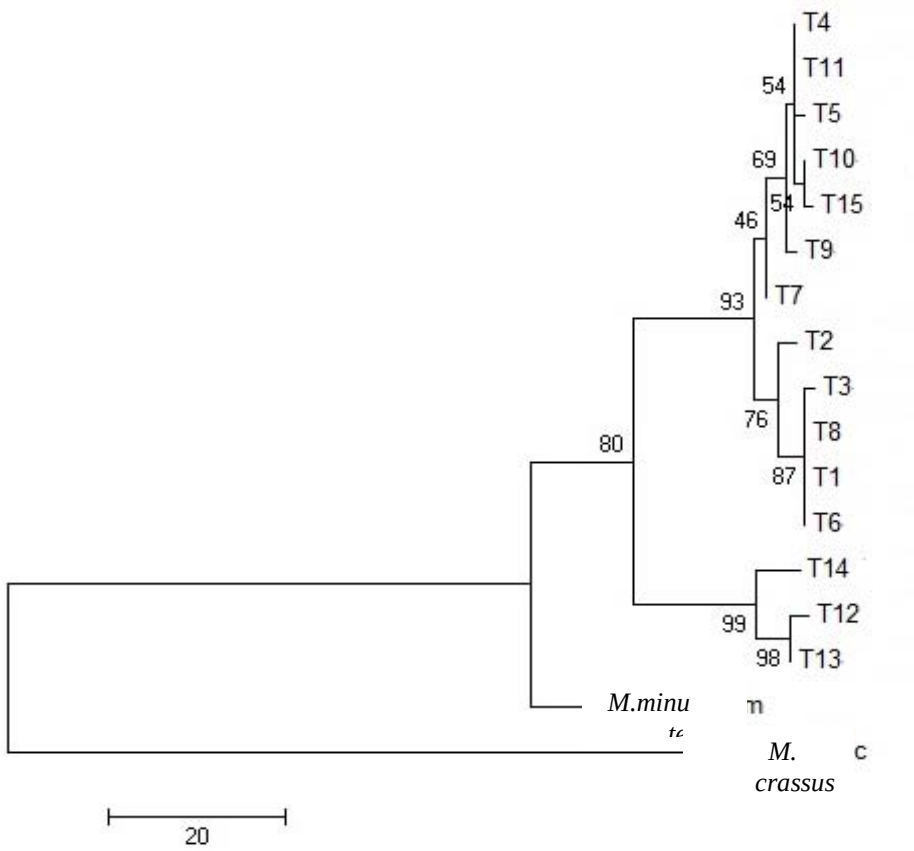
آنالیز پارسیمونی با طول درخت ۲۳۷ مقدار شاخص ثبات را ۰/۷۷۲۱ و مقدار شاخص نگهداری را نیز ۰/۸۶۶۶ نشان داد. مقدار فاصله ژنتیکی میان توالی‌های به دست آمده از ۱۵جمعیت مورد بررسی به همراه ۲ گروه خارجی با استفاده از مدل Kimura-2 parameter به دست آمد (جدول۲). براین اساس دامنه اختلافات ژنتیکی بین ۱۵ جمعیت مورد نظر از صفر تا ۰/۱۱۷ درصد متغیر بود. همچنین درصد اختلاف ژنتیکی ۲ گروه خارجی نسبت به ۱۵ جمعیت مورد مطالعه از ۰/۱۰۶ تا ۰/۱۳۸ درصد برای گونه *M. minutus* و ۰/۹۳۹ تا ۱/۰۳۶ درصد برای گونه *M. crassus* حاصل گردید.

جدول ۲- درصد اختلاف ژنتیکی میان ۱۵ جمعیت گونه *Microcerotermes diversus* به همراه ۲ گونه خارجی با استفاده از مدل Kimura- 2parameter

	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲	۱۱۳	۱۴	۱۵	۱۶	۱۷
T1																	
T2	۰/۰۱۴																
T3	۰/۰۰۳	۰/۰۱۷															
T4	۰/۰۲۸	۰/۰۲۶	۰/۰۳۱														
T5	۰/۰۳۱	۰/۰۲۸	۰/۰۳۴	۰/۰۰۳													
T6	۰/۰۰۰	۰/۰۱۴	۰/۰۰۳	۰/۰۲۸	۰/۰۳۱												
T7	۰/۰۲۰	۰/۰۱۷	۰/۰۲۳	۰/۰۰۸	۰/۰۱۱	۰/۰۲۰											
T8	۰/۰۰۰	۰/۰۱۴	۰/۰۰۳	۰/۰۲۸	۰/۰۳۱	۰/۰۰۰	۰/۰۲۰										
T9	۰/۰۲۸	۰/۰۲۵	۰/۰۳۱	۰/۰۰۶	۰/۰۰۸	۰/۰۲۸	۰/۰۰۸	۰/۰۲۸									
T10	۰/۰۲۶	۰/۰۲۸	۰/۰۲۸	۰/۰۰۳	۰/۰۰۶	۰/۰۲۶	۰/۰۱۱	۰/۰۲۶	۰/۰۰۸								
T11	۰/۰۲۸	۰/۰۲۶	۰/۰۳۱	۰/۰۰۰	۰/۰۰۳	۰/۰۲۸	۰/۰۰۸	۰/۰۲۸	۰/۰۰۶	۰/۰۰۳							
T12	۰/۱۱۰	۰/۱۱۷	۰/۱۱۳	۰/۱۰۷	۰/۱۱۰	۰/۱۱۰	۰/۰۹۶	۰/۱۱۰	۰/۱۰۶	۰/۱۱۰	۰/۱۰۷						
T13	۰/۱۰۳	۰/۱۱۰	۰/۱۰۷	۰/۱۰۰	۰/۱۰۳	۰/۱۰۳	۰/۰۹۰	۰/۱۰۳	۰/۱۰۰	۰/۱۰۳	۰/۱۰۰	۰/۰۰۶					
T14	۰/۱۰۷	۰/۱۱۳	۰/۱۱۰	۰/۱۰۳	۰/۱۰۷	۰/۱۰۷	۰/۰۹۳	۰/۱۰۷	۰/۱۰۳	۰/۱۰۷	۰/۱۰۳	۰/۰۳۱	۰/۰۲۶				
T15	۰/۰۲۸	۰/۰۳۱	۰/۰۳۱	۰/۰۰۶	۰/۰۰۸	۰/۰۲۸	۰/۰۱۴	۰/۰۲۸	۰/۰۱۱	۰/۰۰۳	۰/۰۰۶	۰/۱۰۷	۰/۱۰۰	۰/۱۰۳			
M.m	۰/۱۰۹	۰/۱۱۶	۰/۱۱۳	۰/۱۱۳	۰/۱۱۶	۰/۱۰۹	۰/۱۲۳	۰/۱۰۹	۰/۱۱۹	۰/۱۰۹	۰/۱۱۳	۰/۱۳۸	۰/۱۳۸	۰/۱۳۴	۰/۱۰۶		
M.c	۰/۹۳۹	۰/۹۵۰	۰/۹۵۴	۰/۹۸۵	۱/۰۰۲	۰/۹۳۹	۰/۹۵۴	۰/۹۳۹	۰/۹۸۲	۰/۹۸۵	۰/۹۸۵	۱/۰۱۹	۰/۹۸۵	۱/۰۳۶	۰/۹۸۵	۰/۹۹۷	

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۲- تبارنمای جمعیت‌های مختلف گونه *Microcerotermes diversus* به همراه دو گونه خارجی
براساس روش بیشینه پارسیمونی (اعداد روی انشعابات، مقادیر بوت استرپ هستند)

بحث

حشرات بسیار فراوان و متنوع هستند و حدود نیمی از گونه‌های توصیف شده در جهان را تشکیل می‌دهند. حشرات تاریخچه تکاملی طولانی داشته و زیستگاه‌های متنوع، عادات تغذیه‌ای مختلف و شیوه‌های زندگی گوناگونی دارند (Hoy, 2003). تنوع ژنتیکی ژنوم میتوکندریایی و هسته‌ای به عنوان شاخص‌های ژنتیکی ارزشمند در ارزیابی ژنوم و ساختار جمعیتی و محافظت از ذخایر ژنی گونه‌های مورد مطالعه می‌باشد (Taggart *et al.*, 1992). آنالیز mtDNA روش دقیقی را فراهم آورده است که تفاوت‌های ژنتیکی را که ممکن است بین جمعیت‌های درون یک گونه وجود داشته باشد آشکار کند. به طور معمول گونه‌های دارای سطوح بالاتر تنوع ژنتیکی، دارای گونه‌های غنی‌تری بوده و توانایی بیشتری در سازش با شرایط مختلف دارند (Moritz *et al.*, 1989). استفاده از DNA میتوکندریایی به علت نشان دادن تنوع درون‌گونه‌ای در بررسی ژنتیکی جمعیت‌ها متداول می‌باشد (Sobti *et al.*, 2009)، که در این باره منطقه COII ابزار مفیدی برای بررسی روابط فیلوژنتیکی موریانه‌ها محسوب می‌شود (Austin *et al.*, 2002).

در مطالعه حاضر، ۱۵ جمعیت مختلف در دو شاخه قرار گرفتند، و میزان تفاوت ژنتیکی از صفر تا ۰/۱۱۷ حاصل شد، که در مقادیر کمتر از یک درصد میزان اختلاف ژنتیکی پایین محسوب می‌شود که از عوامل پایین بودن این اختلاف می‌توان به قرار داشتن نمونه‌ها در محدوده جغرافیایی یک استان و یا استان های مجاور به آن اشاره کرد. در بررسی انجام شده نمونه_های استان خوزستان به استثناء دو جمعیت دزفول و بهبهان در یک شاخه اصلی و دو زیر شاخه فرعی قرار گرفتند که نشان‌دهنده شباهت ژنتیکی و جریان ژنی بالای آنها با همدیگر می‌باشد. در نمونه‌های بررسی شده سه جمعیت T1 (گلستان)، T6 (۱۰ کیلومتری اهواز) و T8 (شوش) با همدیگر و همچنین دو جمعیت T4 (۲۴

Archive

www.SID.ir

متری اهواز) و T11 (شوش) نیز با یکدیگر هیچ گونه اختلافی را نشان ندادند. از طرفی ۲ جمعیت خارج از استان خوزستان نیز در این مطالعه مورد بررسی قرار گرفت که نمونه خارک با اینکه در فاصله دورتری نسبت به نمونه‌های داخل استان قرار داشت اما ارتباط ژنتیکی نزدیک‌تری را با آنها به نسبت دو نمونه دزفول و بهبهان که در شاخه دیگری همراه با جمعیت بندرعباس قرار گرفته بودند نشان داد، که از عوامل مهم در ایجاد این شباهت‌های ژنتیکی را می‌توان به دخالت انسان و عوامل طبیعی مانند باد در انتقال چوب و وسایل آلوده به موریانه‌های بالدار به نقاط مورد نظر را بر شمرد، که این جابجایی‌ها باعث می‌شود تا موریانه‌های مولد یک کلنی، در نقاط مختلف پراکنده شده و کلنی‌های متعددی را ایجاد کنند، و به همین دلیل در مناطق متفاوت با فاصله‌های دور از همدیگر میزان شباهت ژنتیکی بالا بین آنها مشاهده می‌شود، از طرفی در بررسی حاضر بیشترین اختلاف ژنتیکی بین جمعیت‌های بهبهان، دزفول و بندرعباس با سایر نمونه‌های دیگر دیده شد که از عوامل ایجاد این تفاوت‌ها را می‌توان به جدا شدن مولدهای جنسی در مدت زمان طولانی‌تری از کلنی اولیه و همچنین ایجاد تفاوت‌های ژنتیکی بر اثر عوامل محیطی، شیمیایی و غیره را بر شمرد. در مطالعه انجام شده با استفاده از مدل kimura-2parameter، ۱۵ جمعیت بررسی شده با مقدار بوت استرپ بالایی (۸۰) از هم جدا شدند و نمونه‌ها با مقدار اطمینان بالایی در دو شاخه قرار گرفتند. در بررسی حاضر دو گونه خارجی از بانک ژن استخراج و برای مقایسه بهتر در تجزیه و تحلیل‌ها استفاده گردید، که با توجه به تبارنمای حاصل، در شاخه مجزایی از ۱۵ نمونه مورد مطالعه قرار گرفتند. از آنجایی که در دنیا هیچ مطالعه‌ای بر روی موریانه *M. diversus* انجام نشده بود امکان مقایسه از طریق مطالعات مشابه برای این گونه وجود نداشت، اما در مطالعاتی که بر روی جنس‌های دیگری انجام گرفته بود، Jenkins *et al.* (2000) با استفاده از نشانگر COII سطح پایینی از تنوع ژنتیکی برای گونه *R. flavipes* جمع‌آوری شده از مناطق مختلف ایالت جورجیای آمریکا به دست آوردند که نشان‌دهنده میزان جریان ژنی بالایی بین آنها بود. در بررسی دیگری Austin *et al.* (2006) میزان تنوع ژنتیکی محدودی را با استفاده از نشانگر COII برای گونه *C. formosanus* در آمریکا گزارش دادند. در بررسی که Ye *et al.* (2004) بر روی موریانه *R. arenincola* در ایالات متحده انجام دادند میزان تنوع ژنتیکی بالای ۱۰ درصد با استفاده از نشانگر COII حاصل شد که نشان‌دهنده میزان تفاوت ژنتیکی بالایی می‌باشد. همچنین در مطالعه‌ای که Pinzon & Houseman (2009) بر روی تنوع ژنتیکی گونه *R. hageni* Banks در منطقه میسوری آمریکا انجام داده بودند میزان تنوع درون‌گونه‌ای پایین حاصل گردید. در صورتی که برای گونه *R. flavipes* این تنوع بالا مشاهده شد. مطالعه حاضر اولین بررسی ژنتیکی از گونه مورد نظر در جهان محسوب می‌شود که می‌تواند شروعی برای مطالعه بیشتر از طریق افزایش دادن تعداد جمعیت‌ها و همچنین تحت پوشش قرار دادن مناطق بیشتر نمونه‌برداری حتی ازسایر کشورهای دیگر و همچنین استفاده از سایر نشانگرهای مولکولی برای مقایسه بهتر باشد که از این طریق می‌توان نتایج جالب توجه تری را به دست آورد و نتیجه‌گیری بهتری را از میزان تنوع ارائه داد.

نتیجه‌گیری کلی

در بررسی حاضر، مقدار اختلاف ژنتیکی پایینی حاصل شد، که نشان‌دهنده جدا نبودن جمعیت‌های مورد مطالعه از هم و همچنین وابستگی و ارتباط بالای بین آنها می‌باشد.

سپاسگزاری

از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز به دلیل تأمین بخشی از هزینه‌های مربوط به تحقیق انجام شده تشکر و قدردانی می‌گردد.

REFERENCES

1. Austin, J. W., Szalanski, A. L., Uva, P., Bagneres, A-G. & Kence, A. (2002). A comparative genetic analysis of the subterranean termite genus Reticulitermes (Isoptera: Rhinotermitidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 95(6), 753-760.
2. Austin, J. W., Szalanski, A. L., Scheffrahn, R. H., Messenger, M. T., Mckern, J. A. & Gold, R. E.

Archive of SID
www.SID.ir

(2006). Genetic evidence for two introductions of the formosan subterranean termite, *Coptotermes formosanus* (Isoptera: Rhinotermitidae), to the United States. *Florida Entomologist*, 89(2), 183-192.
3. Badawi, H. M., Ahmed, B. M., French, J. R. J. & Schwarz, M. P. (2008). The use of molecular techniques in studying Australian subterranean termites genus *Coptotermes*. *International Research Group on Wood Preservation Do No IRG/WP/08-10669*, 1-16.
4. Bergamaschi, S., Dawes-Gromadzki, T. Z., Scali, V., Marini, M. & Mantovani, B. (2007). Karyology, mitochondrial DNA and the phylogeny of Australian termites. *Chromosome Research*, 15, 735-753.
5. Ghayourfar, R. (2005). *Iran Termites, (Morphology, Behaviuor, Classification, Control)*. Publishing for Agricultural Education, Karaj. (In Farsi)
6. Habibpour, B. (1994). *Termite (Isoptera) fauna, economic importance and their biology in Khuzestan province, Iran*. M. SC. Dissertation, College of Agriculture, Shahid Chamran University, Ahwaz, Iran (In Farsi).
7. Hoy, M. A. (2003). *Insect molecular genetics, an introduction to principles and applications*. (2nd ed.). Academic Press, USA. 544pp.
8. Husen, T. J., Kamble, S. T. & Stone, J. M. (2006). A characterization of subterranean termites in Nebraska using micro-morphological and molecular techniques. *Sociobiology*, 48(2), 1-18.
9. Jenkins, T. M., Haverty, M. I., Basten, C. J., Nelson, L. J., Page, M. & Forschler, B. T. (2000). Correlation of mitochondrial haplotypes with cuticular hydrocarbon phenotype of sympatric *Reticulitermes* species from the southeastern United States. *Journal of Chemical Ecology*, 26(6), 1526-1542.
10. Lee, C-Y., Forschler, B. T. & Jenkins, T. M. (2005). Taxonomic questions on Malaysian termites (Isoptera: Termitidae) answered with morphology and DNA biotechnology. In: Proceedings of the *Fifth International Conference on Urban Pests*, Singapore, 205-211.
11. Long, Y., Xiang, H., Xie, L., Yan, X. & Wang, Q. (2009). Intra-and inter-specific analysis of genetic diversity and phylogeny of termites in East China detected by ISSR and COII markers. *Sociobiology*, 53(2), 411-430.
12. Moritz, C., Dowling, T. E. & Brown, W. M. (1989). Evolution of animal mitochondrial DNA: Relevance for population biology and systematic. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 18, 269-292.
13. Nobre, T., Nunes, L., Eggleton, P. & Bignell, D. E. (2006). Distribution and genetic variation of *Reticulitermes* (Isoptera: Rhinotermitidae) in Portugal. *IRG/WP/Doc 06-10581*, 1-16.
14. Ohkuma, M., Yuzawa, H., Amornsak, W., Sornnuwat, Y., Takematsu, Y., Yamada, A., Vongkaluang, C., Sarnthoy, O., Kirtibutr, N., Noparatnaraporn, N., Kudo, T. & Inoue, T. (2003). Molecular phylogeny of Asian termite (Isoptera) of the families Termitidae and Rhinotermitidae based on mitochondrial COII sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 31, 701-710.
15. Pinzon, O. P. & Houseman, M. (2009). Species diversity and intraspecific genetic variation of *Reticulitermes* (Isoptera: Rhinotermitidae) subterranean termites in woodland and urban environments of Missouri. *Annals of the Entomological Society of America*, 102(5), 868-880.
16. Sobti, R. C., Kumari, M., Sharma, V. L., Sodhi, M., Mukesh, M. & Shouche, Y. (2009). Sequence analysis of a few species of termites (Order: Isoptera) on the basis of partial characterization of COII gene. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 331, 145-151.
17. Soleiman-Nejadian, E. (1991). *Termites, identification and control of them*. V. Harris (Ed.), Academic Publishing Center. Tehran. (In Farsi)
18. Stewart, J. B. (2005). *The evolution of mitochondrial genome structure and function in insects*. Ph. D. dissertion. *Simon Fraser University, Canada*, 208pp.
19. Taggart, J. B., Hynes, R. A., Prodoehl, P. A. & Ferguson, A. (1992). A simplified protocol for routine total DNA isolation from Salmonid fishes. *Journal of Fish Biology*, 40, 619-633.
20. Tripodi, A. D., Austin, J. W., Szalanski, A. L., Mckern, J. A., Carroll, M. K., Saran, R. K. & T, M. (2006). Phylogeography of *Reticulitermes* termites (Isoptera: Rhinotermitidae) in California inferred from mitochondrial DNA sequences. *Annals of the Entomological Society of America*, 99(4), 697-706.
21. Ye, W., Lee, C-Y., S, R. H., Aleong, J. M., Su, N-Y., Bennett, G. W. & Scharf, M. E. (2004). Phylogenetic relationships of Nearctic Reticulitermes species (Isoptera: Rhinotermitidae) with particular reference to *Reticulitermes arenincola* Goellner. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 30, 815-822.
22. Yeap, B-K., Othman, A. S., Lee, V. S. & Lee, C-Y. (2007). Genetic relationship between *Coptotermes gestroi* and *Coptotermes vastator* (Isoptera: Rhinotermitidae). *Journal of Economic Entomology*, 100(2), 467-474.

Archive of SID

www.SID.ir