مجله شیلات
سال دوم، شماره اول، بهار ۸۷

# مقایسه ژنتیکی جمعیت‌های ماهی سوکلای (*Rachycentron canadum*) خلیج فارس و دریای عمان با استفاده از روش میکروستلایت

**محمدعلی سالاری علی‌آبادی[۱]، سهراب رضوانی گیل‌کلائی[۲]، احمد سواری[۱]، حسین ذوالقرنین[۱] و سیدمحمد باقر نبوی[۱]**

[۱]گروه بیولوژی دریا، دانشکده علوم دریایی دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، [۲]موسسه تحقیقات شیلات ایران، تهران
*Email: Salari1346@yahoo.com*

## چکیده

در این مطالعه تنوع ژنتیکی جمعیت‌های ماهی سوکلا با استفاده از روش میکروستلایت در سواحل شمالی خلیج فارس و دریای عمان شامل مناطق بوشهر، بندر دیر، بندر لنگه، بندر عباس، پزم و بریس چابهار مورد بررسی قرار گرفت. محصولات تکثیر شده با استفاده از ۱۰ جفت پرایمر میکروستلایت، بر روی ژل پلی‌آکریل آمید ۸ درصد الکتروفورز و با نیترات نقره رنگ آمیزی شدند. نمایش خوشه ای فاصله ژنتیکی به روش جفت گروهی غیر وزنی از طریق میانگین حسابی با استفاده از نرم افزار TFPGA version 1.3 ترسیم گردید. نتایج نشان داد که میانگین تعداد آللی مشاهده شده و موثر به‌ترتیب ۱۲/۳۵۷ و ۸/۳۱۹، همچنین میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار به‌ترتیب ۰/٦٥٥ و ۰/۸۷٤ تعیین شد. بر اساس تست AMOVA حداکثر $F_{st}$ (۰/۰٦۳) بین نمونه‌های بندر دیر با نمونه‌های پزم که دارای کمترین میزان جریان ژنی (۳/۷) است مشاهده شد. بیشترین فاصله ژنتیکی (۰/۸۱٥) در نمونه‌های متعلق به مناطق دیر و بریس مشاهده شد. بر اساس نتایج موجود مشخص شد که ماهی سوکلا در مناطق مختلف نمونه‌برداری در خلیج فارس و دریای عمان حداقل دارای ۳ جمعیت مجزاست (۱- جمعیت ناحیه بوشهر ۲- جمعیت ناحیه هرمزگان ۳- جمعیت ناحیه چابهار) و مارکرهای اختصاصی جمعیت بوشهر با استفاده از پرایمرهای *Rca* 1B-E08A، *Rca* 1B-F07، *Rca* 1B-H09 و *Rca* 1-A04 شناسایی شد بطوری‌که با حضور آلل‌های اختصاصی با وزن مولکولی مشخص شناسایی جمعیت ماهی سوکلای منطقه بوشهر از سایر مناطق امکان‌پذیر است.

***واژه‌های کلیدی:*** ماهی سوکلا، ژنتیک جمعیت، خلیج فارس، دریای عمان، میکروستلایت

## مقدمه

سوکلا ماهی است سطح زی و سریع‌الرشد و یکی از معدود ماهیانی است که در دنیا در مناطق گرمسیری یافت می‌شود. خانواده Rachycentridae یکی از قدیمی‌ترین و ابتدایی‌ترین ماهیان استخوانی می‌باشد که تنها دارای یک گونه منحصر به فرد بنام سوکلا (*Rachycentron canadum*) بوده که ماهی بزرگ جثه و مهاجری است و از ماهیان اقتصادی مهم ساحلی است که در سرتاسر منطقه حاره اقیانوسی پراکنش وسیعی داشته و بیشترین فراوانی را در طول سواحل اطلس جنوبی ایالات متحده و شمال خلیج مکزیکو دارد (۱۰).

امروزه جمعیت ماهی سوکلا در اکثر اکوسیستم‌های جهان و از جمله خلیج فارس و دریای عمان بعلت صید غیر مجاز و غیر قانونی به شدت کاهش یافته و اندک ذخایر باقیمانده ماهیان هم به جهت تخریب بسترهای تخم‌ریزی، فشار صید بی‌رویه، صید غیر قانونی و آلودگی با مشکلاتی مواجه‌اند. بنابراین انجام تحقیق حاضر بر اساس تکنیک مولکولی آنالیز میکروستلایت با استفاده از

Archive of SID
www.SID.ir

ژن‌های مستقر بر روی ژنوم ماهی سوکلا در سواحل شمالی خلیج فارس و دریای عمان و با اهداف کلی زیر امری ضروری و اجتناب ناپذیر بود.

۱- شناسایی جمعیت‌های مختلف ماهی سوکلا در سواحل شمالی خلیج فارس و دریای عمان، ۲- تعیین میزان تنوع ژنتیکی و فاصله ژنتیکی در درون و بین جمعیت‌های مختلف. Pruett و همکاران در سال ۲۰۰۵ در مطالعه تنوع ژنتیکی ماهی سوکلا (*Rachycentron canadum*) ۲۰ پرایمر میکروستلایت را در ماهی سوکلای خلیج مکزیکو واقع در سواحل جنوبی ایالات متحده مورد استفاده قرار دادند، نتایج حاکی از تغییر تنوع ژنتیکی بین ۰/۹۱۰-۰/۰۴۳ و تعداد ۱۵-۲ آلل در جایگاه‌های مختلف میکروستلایتی می‌باشد. Rezvani Gilkolaiee در سال ۲۰۰۰ در مطالعه تنوع میتوکندری جمعیت‌های تاس ماهی روسی در جنوب دریای خزر از روش RFLP و ژن ND5/6 استفاده کرد و از بافت باله و روش فنل- کلروفورم DNA را استخراج و استفاده نمود. خوش خلق (۱۳۸۵) در مورد تاسماهی ایرانی دامنه هتروزیگوسیتی مشاهده شده در کل نمونه‌ها را بین ۰/۸۶- ۰/٤ و هتروزیگوسیتی مورد انتظار را ۰/۹۳-۰/۸۳ و در مورد تاسماهی روسی دامنه هتروزیگوسیتی مشاهده شده در کل نمونه‌ها را ۰/۹-۰/۷۹ و هتروزیگوسیتی مورد انتظار را ۰/۸۵-۰/۳۹ بدست آورد. به نظر وی بالا بودن دامنه هتروزیگوسیتی در تاسماهی ایرانی و تاسماهی روسی، بیانگر سطح بالای تنوع ژنتیکی این گونه‌ها در مناطق مختلف نمونه‌برداری می‌باشد. نوروزی (۱۳۸٦) با استفاده از روش میکروستلایت در مطالعه جمعیت‌های ازون برون دامنه $F_{st}$ را ۰/۰۲۸ تا ۰/۰٦۳ و دامنه $R_{st}$ با احتمال ۹۹ درصد ۰/۰٤۱ تا ۰/٤۳۹ بر اساس تست AMOVA اعلام کرد.

## مواد و روشها

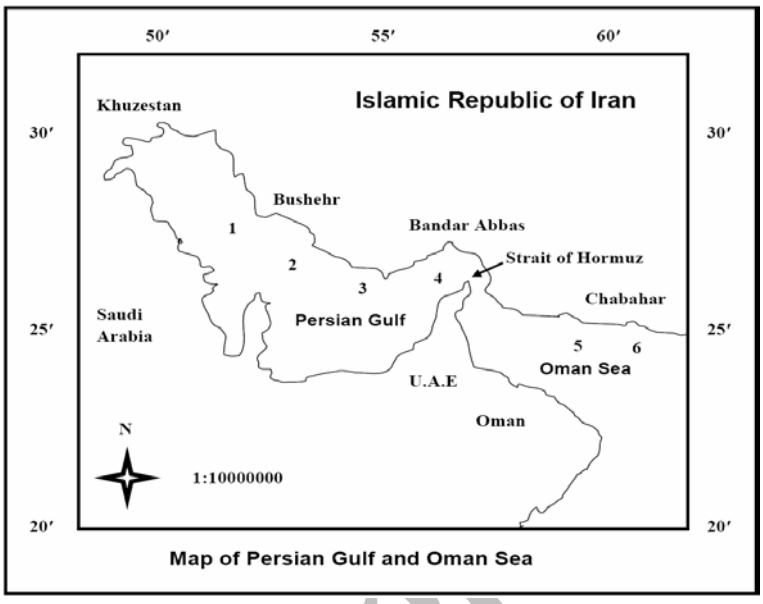
در این بررسی پس از مطالعه اولیه و تعیین ایستگاه‌ها، ۵-۳ گرم از بافت نرم باله از انتهای باله سینه‌ای و باله پشتی ۱۸٤ عدد از ماهیهای سوکلا صید شده در عملیات صیادی کشتی‌های تحقیقاتی مرکز تحقیقات شیلات ایران و صیدگاه‌های شیلات استان بوشهر، هرمزگان و سیستان و بلوچستان در زمستان ۸۵ و بهار ۸٦ جدا و در اتانول خالص (۹٦ درصد) فیکس گردید و برای انجام آزمایش و مطالعات ژنتیکی به آزمایشگاه بیوتکنولوژی پژوهشکده اکولوژی دریای خزر واقع در خزر آباد شهرستان ساری منتقل گردید. شکل ۱ موقعیت ایستگاه‌های نمونه برداری در سواحل شمالی خلیج فارس و دریای عمان را نشان می‌دهد.

تمامی اسید دزوکسی ریبونوکلئیک (DNA) موجود در سلول، مشتمل بر DNA هسته و میتوکندری به روش استاندارد فنل- کلروفرم (۳) و بوسیله شکستن سلول‌ها، جدا نمودن پروتئین‌ها و هیدراتهای کربن از اسیدهای نوکلئیک و در نهایت رسوب دادن DNA با اتانول مطلق از بافت‌ها استخراج شد. جهت تعیین کمیت و کیفیت DNA استخراج شده و تعیین غلظت و خلوص DNA استخراجی از روش‌های اسپکتروفتومتری و الکتروفورز استفاده گردید. در این مطالعه طراحی پرایمرهای میکروستلایتی بر اساس ترادف DNA ژنومی ماهی سوکلا توسط Pruett در سال ۲۰۰۵ صورت گرفت. برای انجام PCR و تکثیر ژن هدف، ۱۰۰ نانوگرم DNA استخراجی، ۱ میکرولیتر از پرایمرها بعلاوه ۰/۵ میکرولیتر dNTP، ۰/۲ میکرولیتر Taq، ۲/۵ میکرولیتر بافر PCR، ۰/۸ میکرولیتر $MgCl_2$ استفاده شد که در نهایت حجم آن با آب مقطر به ۲۵ میکرولیتر رسانده شد، چند ثانیه سانتریفوژ و تیوپ‌ها در ترموسایکلر قرار گرفتند. محصول PCR به روش الکتروفورز با ژل آگارز ۲ درصد مورد ارزیابی قرار گرفت و اندازه قطعات حاصل از PCR با مقایسه با مارکر DNA (pBR322DNA/AluI Marker, 20, MBI Fermentas) بر روی ژل پلی‌آکریل‌آمید ۸ درصد و با روش رنگ آمیزی نیترات نقره بررسی شد.

Archive of SID

www.SID.ir

جهت سنجش وزن مولکولی محصول PCR و امتیازدهی باندهای تصاویر ژل پلی‌اکریل‌آمید از نرم افزار Lab Image و به منظور آنالیزهای آماری بر اساس تست AMOVA از نرم افزار Gene Alex version 6 استفاده شد (۷). آنالیز خوشه‌ای فاصله ژنتیکی به‌روش جفت گروهی غیر وزنی از طریق میانگین حسابی با استفاده از نرم افزار TFPGA version 1.3 ترسیم گردید (٤).



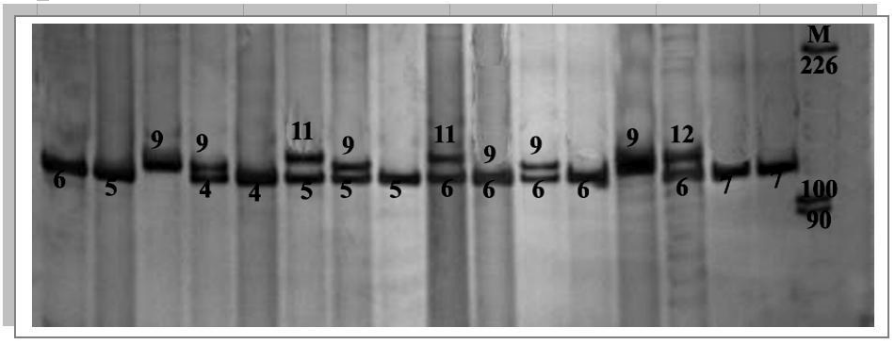

**شکل ۱- موقعیت ایستگاه‌های نمونه‌برداری در سواحل شمالی خلیج فارس و دریای عمان**

**(۱- ایستگاه بوشهر، ۲- ایستگاه بندر دیر، ۳- ایستگاه بندر لنگه، ٤- ایستگاه بندر عباس، ٥- ایستگاه پزم چابهار، ٦- ایستگاه بریس چابهار)**

## نتایج

بررسی شدت وضوح باندهای DNA بر روی ژل آگارز یک درصد نشان داد که DNAهای استخراج شده از باله ماهی سوکلا به روش فنل- کلروفورم از کیفیت و کمیت مناسبی برای استفاده در آزمایش‌های PCR برخوردار می‌باشند. باندهای DNA بسیار قوی و شفاف بوده و این بیانگر آن است که DNA استخراجی برای PCR مناسب است.

پس از بهینه‌سازی واکنش‌های PCR مناسبترین دما برای اتصال پرایمر *Rca* 1B- F07، ٥٥ درجه سانتی‌گراد و ۳۰ چرخه بدست آمد. تعداد آلل مشاهده شده برای این لوکوس در ۱۸٤ نمونه مورد مطالعه ۱٦ آلل و دامنه اندازه آللی بین ۱٥٤-۱۱٤ جفت باز بود در شکل ۲ اندازه آللی ۱۳٦-۱۲۰ جفت باز متعلق به نمونه‌های منطقه بوشهر نشان داده شده است.




**شکل ۲- محصول PCR و آرایش باندهای DNA ماهی سوکلا با استفاده از پرایمر *Rca* 1B- F07 متعلق به ۱٦ نمونه از منطقه بوشهر بر روی ژل پلی‌اکریل‌آمید ۸٪ و با وزن مولکولی ۱۳٦-۱۲۰ جفت باز که با نرم افزار Lab Image محاسبه گردیده است، اعداد مربوط به شماره آللی است که وزن مولکولی باندها را نشان می‌دهد. M: نشانگر مولکولی pBR322 DNA/AluI Marker, 20,**

Archive of SID

www.SID.ir

همانطور که در جدول ۱ نشان داده شده است در مجموع از ۱۰ جفت پرایمر بررسی شده در نمونه‌های ماهی سوکلا، ۷ جفت آنها پلی‌مورف و ۳ جفت آنها مونومورف بوده است که جزئیات محاسباتی آن آورده شده است. همچنین یک جفت پرایمر در دو لوکوس باند تولید کرد که در نهایت ۱۱ لوکوس ژنی تولید الگوی باندی نمودند که از بین آنها ۸ لوکوس پلی‌مورفیسم و ۳ لوکوس مونومورف بودند. بر اساس داده‌های فراوانی آللی جایگاه‌های مختلف میکروستلایتی پلی‌مورفیک مشاهده می‌شود که حداکثر تعداد آللی در تمام مناطق نمونه‌برداری در لوکوس *Rca* 1B-H09 با ۱۸ آلل و حداقل آن در لوکوس پلی‌مورفیک *Rca* 1B-A10 و *Rca* 1B-E08A با ١٤ آلل دیده می‌شود.

دامنه هتروزیگوسیتی مشاهده شده ($H_O$) بین مناطق نمونه برداری در لوکوس‌های هفت گانه پلی مورف بین ۰/۱۵-۱ با میانگین ۰/٦٥٥ بود. بیشترین مقدار هتروزیگوسیتی مشاهده شده در لوکوس *Rca* 1B-F07 و کمترین مقدار در لوکوس *Rca* 1B-E08A در نمونه‌های جمع آوری شده از منطقه بریس می‌باشد. دامنه هتروزیگوسیتی مورد انتظار ($H_E$) بین مناطق نمونه‌برداری در لوکوس‌های هفت گانه پلی‌مورف بین ۰/۹۲۳-۰/۷٦۷ با میانگین ۰/۸۷٤ بود. بیشترین مقدار هتروزیگوسیتی مورد انتظار در لوکوس *Rca* 1B-F07 در نمونه‌های جمع‌آوری شده از منطقه بندرعباس و کمترین مقدار هتروزیگوسیتی مورد انتظار در جایگاه *Rca* 1B-F06 مربوط به منطقه بندرلنگه می‌باشد.

در بررسی تعادل هاردی- واینبرگ در مناطق مختلف مورد بررسی مناطق بوشهر، بندر دیر، بندر لنگه و بندر عباس در تمامی لوکوس‌های مورد بررسی خارج از تعادل هاردی- واینبرگ بودند و تنها نمونه‌های مناطق پزم چابهار در لوکوس *Rca* 1B-F06 و *Rca* 1B-H09 و بریس چابهار در لوکوس *Rca* 1-A04 در تعادل بودند. در بررسی تعادل هاردی- واینبرگ در سطح لوکوس‌های مختلف، لوکوس‌های *Rca* 1B-A10، *Rca* 1B-E02، *Rca* 1B-E08A، *Rca* 1B-F07 و *Rca* 1B-H09 در تمامی مناطق مورد بررسی انحراف از تعادل هاردی- واینبرگ را نشان داده و خارج از تعادل بودند ($P<0.05$). در جدول ۲ نتایج آزمون مربع کای ($\chi^2$) برای تعادل هاردی- واینبرگ در سطح لوکوس‌های میکروستلایتی پلی‌مورفیک برای همه نمونه‌های مناطق مختلف آورده شده است.

جدول ۳ میزان $F_{st}$ محاسبه شده برای مناطق مختلف نمونه برداری به همراه میزان جریان ژنی ($N_m$) یا تعداد مهاجرت موثر میان جمعیت‌ها را بر اساس تست AMOVA نشان می‌دهند. نتایج بدست آمده از $F_{st}$ نشان می‌دهد که حداکثر آن (۰/۰٦۳) بر اساس تست AMOVA بین نمونه‌های بندر دیر با نمونه‌های پزم که دارای کمترین میزان جریان ژنی (۳/۷) است مشاهده می‌شود. حداقل $F_{st}$ (۰/۰۰) بر اساس تست AMOVA بین نمونه‌های بندر عباس با نمونه‌های بندر لنگه که دارای بیشترین میزان جریان ژنی (۳٤٦) است مشاهده می‌شود. محاسبه $F_{st}$ برحسب فراوانی نشان می‌دهد که حداکثر آن (۰/۰٤٤) بر اساس تست AMOVA بین نمونه‌های بندر دیر با نمونه‌های بریس که دارای کمترین میزان جریان ژنی (۵/٤۵) است مشاهده می‌شود. حداقل $F_{st}$ (۰/۰۱) برحسب فراوانی بین نمونه‌های بریس با نمونه‌های پزم که دارای بیشترین میزان جریان ژنی (۲۲/۳) است مشاهده می‌شود. نتایج بدست آمده از $R_{st}$ نشان می‌دهد که حداکثر آن (۰/۲٤٦) بر اساس تست AMOVA با احتمال ۹۹ درصد بین نمونه‌های بندر دیر با نمونه‌های بریس که دارای کمترین میزان جریان ژنی (۰/۷۷) است مشاهده می‌شود. حداقل $R_{st}$ (۰/۰۰) بر اساس تست AMOVA بین نمونه‌های بریس با نمونه‌های پزم که دارای بیشترین میزان جریان ژنی (٤٦/۹۷) است مشاهده می‌شود.

بر اساس درخت فیلوژنی حاصل از معیار Nei (۱۹۷۸) نمونه‌های ماهی سوکلا به دو کلاستر تقسیم شدند که کلاستر دوم به دو گروه دیگر تقسیم شده است.

Archive of SID

www.SID.ir

طبق شکل ۳ نمونه‌های بوشهر و دیر در یک کلاستر و با فاصله ژنتیکی ۰/۰۱٤٤ از یکدیگر قرار دارند و نمونه‌های بندرعباس، بندر لنگه، پزم چابهار و بریس چابهار در یک کلاستر دیگر قرار گرفته اند. با این توضیح که در کلاستر دوم نمونه‌های بندرعباس و بندر لنگه دارای حداقل فاصله ژنتیکی (۰) از یکدیگر بوده و تشکیل گروه خواهری را داده‌اند و نمونه‌های پزم چابهار و بریس چابهار با فاصله ژنتیکی (۰/۰۰٦۷) در گروه مقابل قرار داشتند. فاصله ژنتیکی میان مناطق بندرعباس و بندر لنگه با مناطق پزم و بریس چابهار ۰/۱۵۲٦ و فاصله ژنتیکی میان مناطق بوشهر و دیر با مناطق بندرعباس، بندرلنگه، پزم و بریس ۰/۳۸۹۲ می‌باشد.

**جدول ۲- بررسی تعادل هاردی- واینبرگ در ۷ لوکوس میکروستلایتی پلی‌مورفیک برحسب مناطق مختلف نمونه‌برداری در ماهی سوکلا**

| منطقه | عوامل تعادل $\chi^2$ | A10 | E02 | E08A | F06 | F07 | H09 | A04 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| بوشهر | درجه آزادی | ۷۸ | ۷۸ | ۷۸ | ۳٦ | ۷۸ | ۱۵۳ | ۹۱ |
| | آزمون مربع کای | ۲۰۸ | ۱۵۳ | ۲۷۲ | ۱۵۸ | ۱۸۱ | ۲۲٦ | ۱۸۲ |
| | احتمال | ۰/۰۰۰ | ۰/۰۰۰ | ۰/۰۰۰ | ۰/۰۰۰ | ۰/۰۰۰ | ۰/۰۰۰ | ۰/۰۰۰ |
| | معنی‌دار بودن | *** | *** | *** | *** | *** | *** | *** |
| بندر دیر | درجه آزادی | ۲۸ | ۵۵ | ۳٦ | ۹۱ | ٦٦ | ۷۸ | ٦٦ |
| | آزمون مربع کای | ۱۰۵ | ۱۲۰ | ۱۰۳ | ۱۵۲ | ۱۳۲ | ۱۷۲ | ۱۱٦ |
| | احتمال | ۰/۰۰۰ | ۰/۰۰۰ | ۰/۰۰۰ | ۰/۰۰۰ | ۰/۰۰۰ | ۰/۰۰۰ | ۰/۰۰۰ |
| | معنی‌دار بودن | *** | *** | *** | *** | *** | *** | *** |
| بندر لنگه | درجه آزادی | ۹۱ | ٦٦ | ۷۸ | ۲۸ | ۱۲۰ | ۱۲۰ | ۱۰۵ |
| | آزمون مربع کای | ۲۱۰ | ۱۲۰ | ۲٤۸ | ۹۹ | ۱۸٤ | ۱۵۷ | ۲۵٦ |
| | احتمال | ۰/۰۰۰ | ۰/۰۰۰ | ۰/۰۰۰ | ۰/۰۰۰ | ۰/۰۰۰ | ۰/۰۱٤ | ۰/۰۰۰ |
| | معنی‌دار بودن | *** | *** | *** | *** | *** | * | *** |
| بندر عباس | درجه آزادی | ۹۱ | ٦٦ | ۷۸ | ۱۰۵ | ۱۲۰ | ۱۰۵ | ۱۰۵ |
| | آزمون مربع کای | ۲۷۵ | ۱۵٤ | ۲۸۷ | ۲٤۸ | ۲٤۲ | ۱۳٦ | ۳٤۹ |
| | احتمال | ۰/۰۰۰ | ۰/۰۰۰ | ۰/۰۰۰ | ۰/۰۰۰ | ۰/۰۰۰ | ۰/۰۲٤ | ۰/۰۰۰ |
| | معنی‌دار بودن | *** | *** | *** | *** | *** | * | *** |
| پزم | درجه آزادی | ۵۵ | ۷۸ | ۵۵ | ۲۸ | ۵۵ | ۷۸ | ٦٦ |
| | آزمون مربع کای | ۱۰۰ | ۱۰۹ | ۱٦۸ | ۳٦ | ۱۰۲ | ۸۲ | ۹۱ |
| | احتمال | ۰/۰۰۰ | ۰/۰۱۲ | ۰/۰۰۰ | ۰/۱۳۷ | ۰/۰۰۰ | ۰/۳٤۸ | ۰/۰۲۲ |
| | معنی‌دار بودن | *** | * | *** | ns | *** | ns | * |
| بریس | درجه آزادی | ۵۵ | ۵۵ | ٤۵ | ۳٦ | ۲۸ | ۷۸ | ٦٦ |
| | آزمون مربع کای | ۱۰۹ | ۹٤ | ۱٤۹ | ٦۷ | ۵۱ | ۱۱٦ | ۷۷ |
| | احتمال | ۰/۰۰۰ | ۰/۰۰۱ | ۰/۰۰۰ | ۰/۰۰۱ | ۰/۰۰٦ | ۰/۰۰٤ | ۰/۱۷۵ |
| | معنی‌دار بودن | *** | *** | *** | ** | ** | ** | ns |

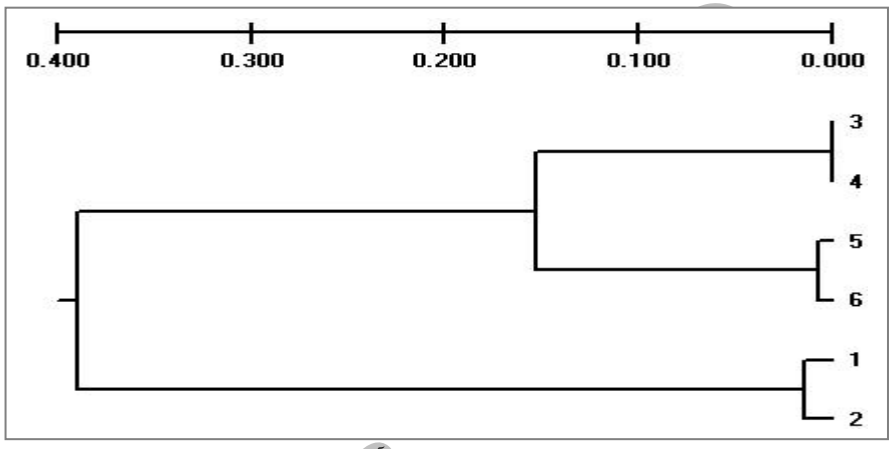
***اختلاف با احتمال خطای کمتر از ۰/۱ درصد ($P<0.001$) بسیار معنی‌دار است. **اختلاف با احتمال خطای کمتر از ۱ درصد ($P<0.01$) معنی‌دار است. *اختلاف با احتمال خطای کمتر از ۵ درصد ($P<0.05$) معنی‌دار است. Ns اختلاف با احتمال خطای کمتر از ۵ درصد ($P<0.05$) غیر معنی‌دار است.

Archive of SID

www.SID.ir

**جدول ۳- میزان $F_{st}$ محاسبه شده برای مناطق مختلف نمونه‌برداری به همراه میزان جریان ژنی (اعداد بالای ماتریکس میزان $F_{st}$ براساس فراوانی، اعداد زیر ماتریکس میزان $F_{st}$ بر اساس تست AMOVA و اعداد داخل پرانتز میزان جریان ژنی را نشان می‌دهند)**

| منطقه | بوشهر | بندر دیر | بندر لنگه | بندرعباس | پزم | بریس |
|---|---|---|---|---|---|---|
| بوشهر | ۰/۰۰۰ | ۰/۰۱۰ (۲٤/۳) | ۰/۰۱٦ (۱۵/۵) | ۰/۰۱۷ (۱٤/۸) | ۰/۰۳۰ (۸/۲٦) | ۰/۰۳٤ (۷/۲۱) |
| بندر دیر | ۰/۰۰۲ (۱۰۸) | ۰/۰۰۰ | ۰/۰۲٦ (۹/۳۳) | ۰/۰۲۳ (۱۰/٤) | ۰/۰٤۳ (۵/٦۵) | ۰/۰٤٤ (۵/٤۵) |
| بندر لنگه | ۰/۰۱۷ (۱٤/۲) | ۰/۰۳۲ (۷/۵) | ۰/۰۰۰ | ۰/۰۰۵ (٦٤/٤) | ۰/۰۱۵ (۱٦/۲) | ۰/۰۲٤ (۱۰/۳) |
| بندرعباس | ۰/۰۲۱ (۱۱/۹) | ۰/۰۲۹ (۸/۵) | ۰/۰۰۰ (۳٤٦) | ۰/۰۰۰ | ۰/۰۱۵ (۱٦/۳) | ۰/۰۱۷ (۱٤/۵) |
| پزم | ۰/۰٤٤ (۵/۵) | ۰/۰٦۳ (۳/۷) | ۰/۰۱٤ (۱۷) | ۰/۰۱۵ (۱٦/۱) | ۰/۰۰۰ | ۰/۰۱ (۲۲/۳) |
| بریس | ۰/۰٤۷ (۵) | ۰/۰٦۲ (۳/۸) | ۰/۰۲٦ (۹/۳) | ۰/۰۱۵ (۱٦/٤) | ۰/۰۰۱ (۲۰٤) | ۰/۰۰۰ |




**شکل ۳- نمایش خوشه‌ای فاصله ژنتیکی نمونه‌های جمع‌آوری شده ماهی سوکلا از مناطق مختلف بر اساس UPGMA (Nei, 1978) (۱- بوشهر، ۲- بندردیر، ۳- بندرلنگه، ٤- بندرعباس، ۵- پزم، ٦- بریس چابهار)**

## بحث

طبق نظر O'Connell در سال ۱۹۹۷ تعداد ۵۰ نمونه و شناسایی بین ۵ تا ۱۰ آلل در خصوص ساختار جمعیت کافی است و نتایج بدست آمده قابل اطمینان است اگر چه اندازه کم نمونه تعداد آلل‌های شناسایی شده در هر لوکوس را کاهش می‌دهد اما بر آلل‌های معمول و فراوانی آنها موثر نیست. Zhao (۲۰۰۵) در بررسی میکروستلایتی تنوع ژنتیکی تاسماهی چینی (*Acipenser sinensis*) در رودخانه یانگ تسه ٦۰ نمونه ماهی را جمع‌آوری کردند. Pourkazemi (۱۹۹٦) در بررسی ساختار جمعیتی تاسماهی روسی (*Acipenser gueldenstaedtii*) با استفاده از روش PCR-RFLP در ناحیه D-L00P تعداد ۱٤۵ نمونه ماهی بالغ را مورد ارزیابی قرار دادند. پیروت و همکاران (۲۰۰۵) در مطالعه تنوع ژنتیکی ماهی سوکلا (*Rachycentron canadum*) با استفاده از روش میکروستلایت در خلیج مکزیکو واقع در سواحل جنوبی ایالات متحده تعداد ٤۲ نمونه را جمع‌آوری و مورد ارزیابی قرار دادند. در بررسی حاضر با توجه به میزان کم صید ماهی، بزرگی جثه و دشواری دسترسی به نمونه‌های بیشتر در کل تعداد ۱۸٤ نمونه ماهی سوکلا (۷۳-۵۰ عدد در هر ناحیه و ٤۱-۲۰ عدد در هر منطقه) از سواحل شمالی خلیج فارس و دریای عمان جمع آوری و مورد بررسی قرار گرفت که با توجه به نتایج آماری و معنی‌دار بودن آن و مقایسه با کارهای دیگران که ذکر گردید قابل قبول بوده و به نظر می‌رسد که نمونه جمع‌آوری شده متناسب با تعداد پیشنهادی برای بررسی‌های ژنتیکی می‌باشد.

در این بررسی جهت استخراج DNA از روش Hillis and Moritz (۱۹۹۰) با استفاده از فنل- کلروفرم استفاده گردید، DNA استخراج شده از باله‌ها با استفاده

Archive

www.SID.ir

از روش فنل- کلروفرم از کیفیت و کمیت مطلوبی جهت استفاده در مورد PCR و تولید باند برخوردار بوده و استفاده از این روش جهت استخراج DNA در ماهی سوکلا مناسب است.

در مقایسه مناطق مورد مطالعه بیشترین تعداد آلل مشاهده شده مربوط به نمونه‌های منطقه بندرعباس با ۱٤/۲۸٦ آلل و کمترین تعداد آلل مشاهده شده مربوط به نمونه‌های منطقه بریس با ۱۰/۵۷۱ آلل می‌باشد. همچنین بیشترین تعداد آلل موثر مربوط به نمونه‌های منطقه بندرعباس با ۹/۷٤۰ آلل و کمترین تعداد آلل موثر مربوط به نمونه‌های منطقه دیر با ۷/۰۵۹ آلل بود. علت این پدیده احتمالاً به خاطر جریان ژنی بالا و زیادتر بودن نمونه‌های منطقه بندرعباس نسبت به بریس چابهار می‌باشد. میزان جریان ژنی ($N_m$) به تعداد مولدین مهاجر از یک منطقه به منطقه دیگر در طی یک نسل اطلاق می‌شود. هر چه میزان جریان ژنی ($N_m$) بین دو منطقه بیشتر باشد بیانگر آن است که مهاجرت بین مناطق بیشتر بوده و در نتیجه سبب افزایش تنوع ژنتیکی و کاهش اختلاف ژنتیکی در نمونه‌های مناطق مزبور می‌گردد.

بیشترین مقدار هتروزیگوسیتی مشاهده شده در نمونه‌های ناحیه هرمزگان (مناطق بندرعباس و بندرلنگه) دیده شد که نشانه مناسب بودن ساختار جمعیت در این ناحیه نسبت به جمعیت‌های سایر نواحی نمونه‌برداری است. می‌توان علت آنرا به فرصت بیشتر برای تکثیر طبیعی، بهره برداری بهینه از منابع شیلاتی، عدم تخریب زیستگاه‌های طبیعی، بالا بودن میزان جریان ژنی ($N_m$) و... تفسیر نمود. کمترین مقدار هتروزیگوسیتی مشاهده شده در نمونه‌های مناطق بریس چابهار و بندر دیر دیده شد که علت آن در بریس چابهار عدم بهره‌برداری بهینه از منابع شیلاتی و احتمالاً پایین بودن میزان جریان ژنی ($N_m$) و در بندر دیر تخریب زیستگاه‌های طبیعی ناشی از توسعه پارس جنوبی و تأسیسات عسلویه است. در خلیج فارس و دریای عمان به دلیل عدم راه اندازی کارگاههای تکثیر مصنوعی ماهی سوکلا و پایین بودن احتمال آمیزش خویشاوندی ناشی از تکثیر مصنوعی می‌توان اظهار داشت که تمام نمونه‌های مورد مطالعه متعلق به جمعیت‌های وحشی هستند. در نتیجه نمونه‌هایی که از نظر جغرافیایی نزدیکتر هستند، از نظر ژنتیکی نیز شباهت بیشتری دارند و با افزایش فاصله جغرافیایی، فاصله ژنتیکی نیز افزایش می‌یابد.

Shaw و همکاران در سال ۲۰۰۲ در بررسی هرینگ اقیانوس اطلس (*Clupea harengus*) دامنه $F_{st}$ را ۰/۰۰۱ تا ۰/۰٤۳ و میزان $R_{st}$ را بین ۰/۰۲۹ تا ۰/۲۷۳ به‌دست آورد که در تمامی موارد معنی‌دار بوده و مقدار $R_{st}$ بیشتر از $F_{st}$ بود. در مطالعه حاضر میزان $R_{st}$ براساس تست AMOVA بین مناطق واقع در یک ناحیه نمونه‌برداری غیر معنی‌دار ولی بین مناطق واقع در نواحی مختلف معنی‌دار بود ($P<0.01$). به‌عبارتی میزان $R_{st}$ با احتمال ۹۹ درصد ($P<0.01$) اختلاف معنی‌داری بین جمعیت ماهی سوکلای منطقه بوشهر با کلیه مناطق به غیر از منطقه دیر نشان می‌دهد و جمعیت ماهی سوکلای منطقه بندر عباس نیز با احتمال ۹۹ درصد ($P<0.01$) اختلاف معنی‌داری را با کلیه مناطق به غیر از منطقه بندر لنگه نشان می‌دهد. همچنین جمعیت ماهی سوکلای منطقه بریس چابهار با احتمال ۹۹ درصد ($P<0.01$) اختلاف معنی‌داری را با کلیه مناطق به غیر از منطقه پزم چابهار نشان می‌دهد.

با توجه به ارزیابی مقادیر به‌دست آمده از فراوانی آللی، هتروزایگوسیتی، تعادل هاردی- واینبرگ، $F_{st}$ و $R_{st}$ و ترسیم درخت فیلوژنی ماهی سوکلا در مناطق مختلف نمونه برداری می‌توان جمع‌بندی نمود که ماهی سوکلا در خلیج فارس و دریای عمان حداقل دارای ۳ جمعیت مجزاست که عبارتند از:

۱- جمعیت بوشهر ۲- جمعیت هرمزگان ۳- جمعیت چابهار

این مطالعه مدارک و شواهد اولیه را برای وجود جمعیت‌های متمایز نشان می‌دهد و با توجه به برنامه در دست اقدام شیلات ایران در زمینه تکثیر مصنوعی ماهی سوکلا در سواحل جنوبی ایران بهتر است برای مدیریت

Archive of SID

www.SID.ir

این ذخایر، ساختار جمعیت آن به هنگام تکثیر مصنوعی در نظر گرفته شود. اگر برنامه‌های مدیریتی ذخیره‌سازی تمامیت ژنتیکی افراد را در بر داشته باشند در این صورت جمعیت حفظ می‌شود، اما استفاده از افراد سایر جمعیت‌ها ممکن است تمایز ژنتیکی بین جمعیت‌ها را به خطر بیاندازند. افراد باقی مانده از یک جمعیت باید به شدت محافظت شوند و برای حفاظت در هنگام گرفتن ژن باید از تعداد زیاد مولدین استفاده کرد. هنگامی می‌توان از جمعیت‌های این گونه محافظت کرد که در مدیریت به ساختار جمعیت محلی شامل برنامه‌های دقیق ذخیره‌سازی و مشکلاتی همانند کاهش زیستگاه‌ها و صید بی‌رویه توجه شود.

## سپاسگزاری

از آقای مهندس فرامرز لالوئی و آقای مهندس محمد جواد تقوی کارشناسان بخش بیوتکنولوژی پژوهشکده اکولوژی دریای خزر که من را در تمام لحظات اجرای این پروژه یاری نمودند سپاسگذاری می‌نمائیم.

از جناب آقای دکتر پرویز باورصاد ریاست دانشگاه، جناب آقای دکتر وحید یاوری، خانم دکتر پریتا کوچنین، آقای دکتر مسعود صدری نسب، آقای دکتر علیرضا صفاهیه، آقای دکتر محمد تقی رونق، آقای دکتر مجید دورقی، آقای دکتر علی دادالهی سهراب، آقای علی موحدی نیا، آقای بهروز حیدری، آقای آرش شکوری، آقای رضا کرمی، خانم نسرین سخایی، آقای سید احمد قاسمی، خانم هدی خالدی، خانم مریم جعفرپور، آقای کیوان شکوه و کلیه عزیزانی که در این پروژه بطور غیر مستقیم از رهنمودهایشان برخوردار بودیم کمال تشکر را داریم.

## منابع

۱-خوش‌خلق، م. ۱۳۸۵. بررسی تنوع ژنتیکی تاس ماهی ایرانی و روسی با استفاده از مارکرهای مایکروساتلایتی. پایان‌نامه دکتری شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. ۱۵۰ صفحه.

۲-نوروزی، م. ۱۳۸٦. بررسی ساختارجمعیت‌های ماهی اوزون برون دریای خزر با استفاده از روش مولکولی میکروستلایت. پایان‌نامه دکتری بیولوژی دریا، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران. ۱٦۹ صفحه.

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

4.Miller, M. 2000. Tools for Population Genetic Analysis. A window program for the analysis of allozyme and molecular population genetic data.

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

6.O'Connell, M., Skibinski, D.O.F., and Beardmore, J.A. 1997. Absence of restriction site variation in the mtDNA and ND6 gene of Atlantic salmon amplified by the polymerase chain reaction. Journal of Fish Biology. 47:910-913.

7.Peakall, M., and Smouse, A. 2005. Gene Alex 6: Genetic Analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. The Australian national university, Canberra, Australia.

Pourkazemi, M. 1996. Molecular and Biochemical Genetic Analysis of sturgeon stocks from the south Caspian Sea. Ph.D. Thesis. 260 pp. School of Biological sciences, university of Wales, Swansea.

8.Pruett, C.L., Saillant, E., Renshaw, M.A., Patton, J.C., Rexroad, C.E., and Gold, J.R. 2005. Microsatellite DNA markers for population-genetic studies and parentage assignment in cobia, *Rachycentron canadum*. Molecular Ecology Notes 5, 84–86.

9.Rezvani Gilkolaei, S. 2000. Study of mtDNA Variation of Russian sturgeon population from south Caspian Sea using RFLP the analysis of PCR amplified ND5/6 gene regions. Iranian Journal of Fisheries sciences. 2 (1): 13-36.

10.Shaffer, R.V., and Nakamura, E.L. 1989. Synopsis of biological data on the Cobia, *Rachycentron canadum* (Pisces: Rachycentridae). NOAA Technical report NMFS 82, FAO fisheries synopsis 153. 21 p.

11.Shaw, P.W., Turan, C., Wright, J.M., O'Connell, M., and Carvalho, G.R. 2002. Microsatellite DNA analysis of population structure in Atlantic herring (*Clupea harengus*), with direct comparison to allozyme and mtDNA RFLP analysis. Heredity 83: 490-499

12.Zhao, N., Shao, Z., Ai, W., Zhu, B., Brosse, S., and Chang, J. 2005. Microsatellite assessment of Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis Gray*) genetic variability. J. Appl. Ichthyo. 21: 7-13.

Archive of SID

www.SID.ir

# Genetic comparison of Persian Gulf and Oman Sea populations of the Cobia, *Rachycentron canadum* by means of microsatellite technique

**M.A. Salari Aliabadi[1], S. Rezvani Gilkolaei[2], A. Savari[1], H. Zolgharnian[1] and S.M.B.Nabavi[1]**

[1]College of Marine Science, Dept. of Marine Biology, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr, Khuzestan, Iran, [2]Iranian Fisheries Research Institute, Tehran, Iran

*Email: Salari1346@yahoo.com*

**Abstract**

In this study genetic diversity of Cobia, *Rachycentron canadum* populations were assessed using microsatellite technique in the northern coasts of Persian Gulf (Booshehr, Dayer Port, Lengeh Port & Bandarabass) and Oman Sea (Pozm & Beris of Chabahar). Polymerase chain reactions (PCR) were conducted on the target DNA using 10 paired microsatellite primers. PCR products were electrophoresed on polyacrylamid gels (8%) that were stained using silver nitrate. Diagram of genetic distance was calculated using the UPGMA method in TFPGA version 1.3 for any level of the hierarchy. The results showed that the mean of observed and effective allele number was 12.357 and 8.319 respectively. Mean observed and expected heterozygosity was 0.655 and 0.874 respectively. Based on Analysis of Molecular Variance (AMOVA) the highest $F_{st}$ (0.063) was observed when comparing specimens from Dayer Port zone and Pozm of Chabahar zone ($N_m$=3.7). The highest genetic distance (0.815) was observed between specimens from Dayer Port zone and Beris of Chabahar zone. The result obtained from the present study shows that at least 3 different population of *R. canadum* are found in the northern coasts of Persian Gulf and Oman Sea, which are including: Booshehr region population, Bandarabass region population, and Chabahar region population. Specific markers were also identified for of the Booshehr zone population identified. The Booshehr population zone can be identified using primers *Rca* 1B-E08A, *Rca* 1B-F07, *Rca* 1B-H09 and *Rca* 1-A04.

***Keywords***: *Rachycentron canadum*; Cobia; populations genetic; Persian Gulf; Oman Sea; Microsatellite

Archive of SID

www.SID.ir