پژوهنده (مجله پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی)
سال شانزدهم، شماره ۵، پی در پی ۸۳، صفحات ۲۴۶ تا ۲۵۱
آذر و دی ۱۳۹۰

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۰/۵/۲۵
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۰/۹/۲۴

بررسی پلی‌مورفیسم ژنوم میتوکندریایی ماهی سوکلا *Rachycentron canadum* در آبهای شمالی خلیج فارس و دریای عمان

دکتر مریم طلا[1]، دکتر بهرام کاظمی دمنه[2]، فرامرز لالویی[3]، دکتر مهدی سلطانی[4]، منصور آزاد[5]، آمنه کوچکی[6]*

۱. دانش آموخته دکترا، گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران
۲. استاد، مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
۳. کارشناس ارشد، گروه بیوتکنولوژی، پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، ساری
۴. استاد، گروه بهداشت و بیماریهای آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران
۵. مربی، گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قشم
۶. دانشجو، مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

چکیده

سابقه و هدف: به دلیل ارزش غذایی ماهی سوکلا و اهمیت آن از نظر رشد سریع در شرایط پرورشی و ارزش تجاری قابل توجه و نیز فقدان پیشینه مطالعاتی کافی، در این پژوهش پلی‌مورفیسم ژنومی این گونه در آبهای جنوبی کشور در سال ۱۳۸۹ بررسی گردید تا تنوع ژنتیکی و میزان آن در درون و مابین جمعیتهای احتمالی مشخص گردد.

مواد و روشها: تحقیق به روش Cross sectional و بر روی ۱۲۰ نمونه ماهی سوکلا انجام گردید که از آبهای چهار منطقه سیستان و بلوچستان، هرمزگان، بوشهر و خوزستان به صورت تصادفی جمع‌آوری شده بودند. برای این منظور، ۲ گرم از بافت باله هر ماهی جدا گردید و درون میکروتیوب‌های ۲ میلی‌لیتری حاوی اتانول به آزمایشگاه انتقال یافت. استخراج DNA به روش فنل کلروفرم و بررسی پلی‌مورفیسم ژنومی با استفاده از روش PCR-RFLP انجام گردید. در این روش، محصول PCR ژن میتوکندریایی سیتوکروم اکسیداز I، با استفاده از ۶ آنزیم برشی (Restriction Enzyme یا Cutting Enzyme) مورد هضم آنزیمی قرار گرفت.

یافته‌ها: در این تحقیق محصول PCR ژن CoI، به طول ۱۰۶۰ جفت باز به دست آمد و ۶ جایگاه پلی‌مورفیک بررسی گردید، لیکن الگوی الکتروفورز محصولات هضم آنزیمی، در تمام نمونه‌ها هم‌شکل (مونومورف) بود و پلی‌مورفیسم (چندشکلی) مشاهده نگردید.

نتیجه‌گیری: به طور کلی عدم تنوع ژنتیکی و یا کاهش قابل توجه آن بین ماهیان، در مناطقی که امکان مهاجرت و جابجایی آنها از منطقه‌ای به منطقه دیگر (جریان ژنی) وجود دارد، گزارش گردیده است. ماهی سوکلا نیز که ماهی مهاجر است، به دلیل عدم وجود موانع فیزیکی و زیستی می‌تواند در سراسر خلیج فارس و دریای عمان مهاجرت نماید. بر این اساس، عدم مشاهده پلی‌مورفیسم در جمعیت ماهی سوکلای آبهای شمالی خلیج فارس و دریای عمان در پژوهش حاضر، ممکن است دور از واقعیت نباشد. بدیهی است استفاده از سایر نواحی ژنی و تعداد نمونه‌ها و آنزیم‌های بیشتر می‌تواند نتایج دقیق‌تری را نشان دهد.

واژگان کلیدی: ماهی سوکلا، *Rachycentron canadum*، PCR-RFLP، پلی‌مورفیسم ژنتیکی، خلیج فارس، دریای عمان

لطفاً به این مقاله به صورت زیر استناد نمایید:

Tala M, Kazemi Damane B, Laloie F, Soltani M, Azad M, Koochaki A. Investigation on Polymorphism of mitochondrial genome in Cobia fish *Rachycentron canadum* in the northern waters of the Persian Gulf and Oman Sea. Pejouhandeh 2011;16(5):246-51.

مقدمه

ماهی سوکلا با نام علمی *Rachycentron canadum* تنها گونه از خانواده Rachycentridae است. این ماهی که در آبهای دریایی گرمسیر و نیمه گرمسیر به غیر از مرکز و شرق اقیانوس آرام پراکنش جهانی دارد (۱)، تا وزن ۶۱ کیلوگرم و طول ۲ متر رشد می‌کند (۲). بنا به گزارش دقوقی (۱۳۸۵) که تنها مطالعه زیست‌شناسی ماهی سوکلا در کشور می‌باشد، این گونه در سواحل ایران دارای دو اوج تخم‌ریزی در بهار و

* **نویسنده مسؤول مکاتبات:** مریم طلا؛ تهران، میدان پونک، انتهای بزرگراه اشرفی اصفهانی، به سمت حصارک، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، دانشکده کشاورزی؛ **پست الکترونیک:** m_tala2002@yahoo.com

Archive of SID
www.SID.ir

تابستان است (۳). ماهی سوکلا برای پرورش در قفس ایده‌آل است و در میان گونه‌های مهم تجاری سریع‌ترین رشد را دارد، به طوری که در مناطق گرمسیر مانند تایوان در مدت یک سال به وزن ۶ الی ۱۰ کیلوگرم می‌رسد. رشد چشم‌گیر، امکان پرورش در تراکم زیاد، کیفیت خوب گوشت، ارزش بازاری زیاد و هزینه کم تولید این ماهی در مقایسه با سایرگونه‌ها، از ویژگیهای مطلوب آن برای آبزی‌پروری می‌باشد (۱، ۲ و ۴).

شرکت نروژی REFA، ظرفیت تولید ماهی سوکلا در قفسهای دریایی را تنها در استان هرمزگان ۷۵،۰۰۰ تا ۱۲۰،۰۰۰ تن برآورد کرده است (۵). از سوی دیگر، طبق اطلاعات دریافتی از اداره کل اطلاعات و آمار سازمان شیلات ایران (۱۳۸۹)، میزان صید این ماهی در کشور طی سالهای ۱۳۸۰ تا ۱۳۸۸، مجموعاً حدود ۱۱۶۷۴ کیلوگرم بوده که در صورت بهینه نمودن روشهای صید، قابل افزایش می‌باشد. اما هرگونه بهره‌برداری صحیح از منابع آبی اعم از صید یا پرورش، مستلزم شناسایی و تعیین ترکیب ذخایر و حفظ تنوع ژنتیکی جمعیتهای وحشی است. این در حالی است که غالباً بهره‌برداری از منابع دریاها بدون در نظر گرفتن ساختار ژنتیکی جمعیتهای طبیعی انجام می‌شود (۶ و ۷).

آگاهی از پلی‌مورفیسم ژنی از جنبه‌های مختلف دارای اهمیت است. به عنوان مثال وجود بعضی از پلی‌مورفیسم‌های ژنی سبب ایجاد ایمنی در برابر بعضی بیماریها مانند انفارکتوس می‌گردد (۸). از سوی دیگر شناسایی پلی‌مورفیسم ژنی می‌تواند در تعیین ساختار ژنتیکی و شناسایی جمعیتهای مختلف راهگشا باشد. یکی از روشهای شناسایی پلی‌مورفیسم در یک جایگاه ژنی، Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) می‌باشد. این روش، تحت تأثیر عوامل محیطی داخلی و خارجی نبوده و دقت و قابلیت اعتماد بسیار زیادی دارد. به علاوه سریع و ارزان است و تجهیزاتی که نیاز دارد در بیشتر آزمایشگاههای مولکولی موجود است. امروزه تعداد زیادی آنزیم برشی با قیمت مناسب در دسترس است که امکان شناسایی پلی‌مورفیسم‌ها را در ژنوم افزایش می‌دهند. اگرچه این روش در بسیاری موارد مفید است، اما معایبی نیز دارد، از جمله آنکه وقت‌گیر است (۹ و ۱۰).

ژنوم میتوکندری یا mtDNA، به طریق مادری به ارث می‌رسد و از اینرو پدیده کراسینگ اور و نوترکیبی در آن صورت نمی‌گیرد (۱۱)، در این صورت تنوع ژنتیکی در mtDNA از طریق جهش و عمدتاً جهشهای نقطه‌ای روی می‌دهد (۱۲ و ۱۳). امتیاز دیگر mtDNA آن است که سرعت جایگزینی نوکلئوتیدها در mtDNA مهره‌داران عالی تقریباً ۵ تا ۱۰ برابر بیشتر از ژنوم هسته است (۱۴ و ۱۵). بنابراین mtDNA شامل تنوع بیشتری در توالی بازهای آلی است که در نتیجه تشخیص گونه‌های کاملاً وابسته را امکان پذیر می‌نماید (۱۶). به علاوه ژنوم میتوکندری از نظر ساختاری و عملکرد، کوچکتر و ساده‌تر از ژنوم هسته می‌باشد (۱۷). البته برای mtDNA محدودیتهایی نیز متصور است، از جمله اینکه تحلیلهای mtDNA دلیل قاطعی برای وجود جدایی تولید مثلی درون یا بین جمعیتها فراهم نمی‌کند (۱۸).

ژن سیتوکروم اکسیداز I (CoI) از میان ژن‌هایی انتخاب گردید که در ژنوم میتوکندری ماهی سوکلا در بانک جهانی ژن (NCBI) موجود بودند. این ژن دارای اندازه قابل قبولی بوده و برای مطالعات جمعیت در سایر گونه‌ها کاربرد داشته است.

شناسایی جمعیت ماهیان با ارزشی از جمله ماهی سوکلا در آبهای کشور، نه فقط در راستای حفظ ذخایر اهمیت دارد، بلکه این اطلاعات راهکارهای مناسبی را در ارتباط با تکثیر و پرورش و همچنین بازسازی ذخایر این گونه به محققین ارائه می‌نماید. لیکن تنها مطالعه مولکولی این گونه در کشور، پژوهشی است که توسط سالاری و همکاران (۱۳۸۷) به روش ریزماهواره انجام گردیده و ماهیان آبهای سه استان هرمزگان، سیستان و بلوچستان و بوشهر را مطالعه نموده است (۱۹). سایر مطالعات مولکولی این گونه نیز محدود به سه پژوهش می‌باشد که دو پژوهش توسط Prutt و همکاران (۲۰۰۵)، همچنین Renshaw و همکاران (۲۰۰۵) به روش ریزماهواره و دیگری توسط Liu و همکاران (۲۰۰۵) و به روش RAPD و RFLP انجام گردیده است (۲۲-۲۰). در حقیقت کمبود مطالعات تعیین تنوع‌پذیری ژنتیکی ماهی سوکلا، انجام پژوهش حاضر را موجب گردید. این پژوهش، به منظور بررسی وجود پلی‌مورفیسم و شناسایی ویژگیهای ژنتیکی ماهی سوکلا در زیستگاههای جنوب کشور با استفاده از mtDNA و روش PCR-RFLP در سال ۱۳۸۹ انجام گردید که نتایج آن می‌تواند به طراحی و کاربرد استراتژی‌های حفاظت ژنتیکی در برنامه‌های کنترل ذخایر این گونه کمک نماید.

مواد و روشها

در این پژوهش که به روش Cross sectional انجام گردید، نمونه‌برداری در اسفند ۸۷ و فروردین ۸۸ و به صورت تصادفی از صیدگاههای چهار استان سیستان و بلوچستان (میدانی، درک، گالک)، هرمزگان (ضلع جنوبی جزیره قشم)، بوشهر (بندر بوشهر، بندر دیر، ضلع جنوبی جزیره خارک) و خوزستان (بندر ماهشهر و خور موسی) انجام شد و تعداد ۳۰ ماهی (از

Archive of SID

www.SID.ir

هر دو جنس نر و ماده) از صیدگاههای هر استان انتخاب گردید. در محل نمونه‌برداری ۲ گرم از بافت نرم باله سینه‌ای هر ماهی جدا گردید و به طور جداگانه درون میکروتیوب‌های ۲ میلی‌لیتری (Eppendorf) حاوی اتانول قرار داده شد و میکروتیوب‌ها به آزمایشگاه علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی واحد قشم منتقل گردیدند. استخراج DNA به روش فنل‌کلروفرم (۲۳) انجام گردید و به منظور اندازه‌گیری کمیت DNA، ابتدا مقدار ۴۹۵ میکرولیتر آب مقطر درون سل ویژه دستگاه بیوفتومتر (Eppendorf) ریخته شد و سپس مقدار ۵ میکرولیتر DNA به آن اضافه گردید. آنگاه سل در جایگاه ویژه خود درون دستگاه قرار داده شد و غلظت DNA بر حسب میکروگرم در میلی‌لیتر، اندازه‌گیری گردید.

طراحی آغازگر (پرایمر) بر اساس توالی ژن CoI واقع در mtDNA ماهی سوکلا، موجود در بانک جهانی ژن، و با استفاده از نرم افزار GENE RUNNER انجام گردید و یک زوج آغازگر به طول ۱۹ باز با مشخصات مندرج در جدول ۱ انتخاب گردید و جهت سنتز، به شرکت Metabion سفارش داده شد.

برای انجام واکنش PCR-RFLP، نمونه‌های DNA به مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی منتقل گردید. بهترین برنامه حرارتی و زمان‌بندی برای انجام واکنش PCR بعد از چندین بار آزمایش و تکرار مطابق با جدول ۲ به دست آمد.

جدول ۱- مشخصات ژن و آغازگرهای مورد استفاده

نام ژن	شماره دستیابی ژن	توالی پرایمر
CoI	EF609583.1	5'-AAC CAC CGC TAA ACA CTC-3' :آغازگر مستقیم
		5'-GCC AGC TAA AGA CTT TAA C-3' :آغازگر معکوس

جدول ۲- برنامه حرارتی و زمان‌بندی دستگاه ترموسایکلر برای انجام واکنش PCR

نام مرحله		دما (درجه سانتی‌گراد)	زمان (ثانیه)	تعداد چرخه
واسرشته‌سازی	Denaturing	۹۴	۳۰	
اتصال	Annealing	۵۰	۳۰	۳۰
توسعه	Extension	۷۲	۴۵	

به منظور انتخاب آنزیم‌های برشی برای انجام RFLP (هضم آنزیمی محصول PCR ژن میتوکندریایی CoI)، از نرم‌افزار Webcutter استفاده شد و آنزیم‌هایی انتخاب شدند که تا حد امکان، این ژن را به قطعات با اندازه قابل مشاهده و قابل تفکیک از یکدیگر تقسیم نمایند. بنابراین ۶ آنزیم به اسامی *Apo*I، *Bsr*I، *Alu*I ، *Hae*III، *Scrf*I و *Mbo*II انتخاب و از شرکت سازنده (Fermentas)، خریداری شدند. بعد از انجام واکنش RFLP و سپری شدن زمان انکوباسیون و هضم آنزیمی تمام نمونه‌های محصول PCR، به منظور مشاهده قطعات برش خورده، از ژل آگارز ۲٪ و یا ژل پلی‌اکریل‌آمید ۱۰٪ و مارکر ۱۰۰ جفت بازی استفاده گردید و برای تهیه عکس از هر ژل، دستگاه عکس‌برداری از ژل (UVIDoc) مورد استفاده قرار گرفت. اندازه باندهای حاصل از تأثیر هر آنزیم در محصول PCR ژن CoI، توسط نرم افزار UVITech و با توجه به اندازه باندهای مارکر مشخص گردید. سپس الگوهای به دست آمده از تأثیر هر آنزیم به دقت مورد بررسی قرار گرفت. به منظور انجام آنالیزهای آماری برای محاسبه تنوع هاپلوتیپ‌ها یا تنوع نوکلئوتیدها و رسم درخت خویشاوندی بین افراد یا گروهها، استفاده از نرم‌افزارهای اختصاصی Reap و POP GENE مورد نظر قرار گرفت.

یافته‌ها

در این تحقیق که بر روی ۱۲۰ ماهی سوکلای تهیه شده از صیدگاههای چهار منطقه خوزستان، بوشهر، هرمزگان و سیستان و بلوچستان (۳۰ نمونه از هر منطقه) انجام گردید، محصول PCR ژن میتوکندریایی CoI در تمام نمونه‌ها به طول ۱۰۶۰ جفت باز به دست آمد. محصول PCR حاصل از تمام نمونه‌ها توسط ۶ آنزیم برشی *Apo*I، *Bsr*I، *Alu*I، *Hae*III، *Scrf*I و *Mbo*II هضم گردید که توالی مورد شناسایی هر آنزیم بر روی ژن مورد هضم، محل برش ژن توسط هر آنزیم و همچنین تعداد محلهای برش در ژن CoI توسط هر آنزیم در جدول ۳ ارائه شده است.

در شکل ۱، الگوهای باندی حاصل از هضم آنزیمی محصول PCR ژن CoI توسط آنزیم *Bsr*I در ۱۲ نمونه به تفکیک چهار منطقه مورد مطالعه (۳ نمونه از هر منطقه) نشان داده شده است. همان‌طور که ملاحظه می‌شود الگوی باندی در تمام

Archive of SID
www.SID.ir

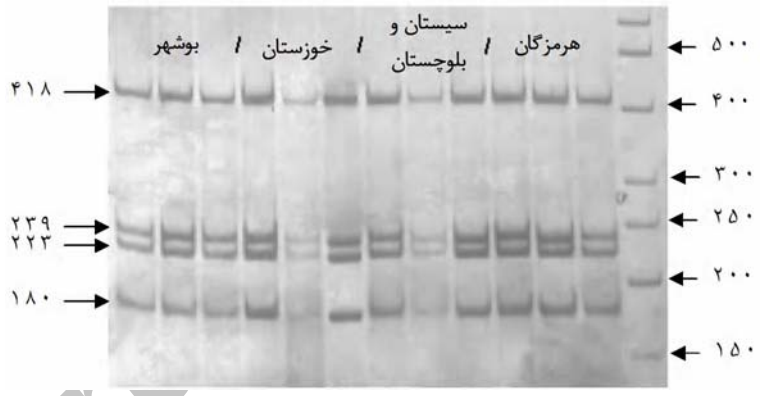
نمونه‌ها هم‌شکل (مونومورف) بوده و پلی‌مورفیسم (چند شکلی) مشاهده نمی‌شود. الگوهای باندی حاصل از هضم آنزیمی محصول PCR ژن CoI توسط آنزیم *Bsr*I در تمام ۱۰۸ نمونه دیگر (۲۷ نمونه از هر منطقه) نیز همانند شکل ۱، مشابه یکدیگر بودند.

شکل ۲ نیز الگوهای هم‌شکل حاصل از هضم محصول PCR ژن CoI توسط آنزیم *AIu*I در ۱۲ نمونه به تفکیک چهار منطقه مورد مطالعه را نشان می‌دهد. سایر ۱۰۸ نمونه مورد بررسی نیز الگوی مشاهده شده در شکل ۲ را نشان دادند و به این ترتیب استفاده از این آنزیم نیز پلی‌مورفیسم نشان نداد. در مورد سایر آنزیم‌ها نیز به همین ترتیب عمل شد و مشاهده گردید که الگوهای باندی حاصل از هضم آنزیمی محصول PCR تمام ۱۲۰ نمونه توسط ۴ آنزیم دیگر نیز مشابه یکدیگر بودند که به دلیل محدودیت فضای مقاله، شکلهای مربوط به تأثیر سایر آنزیم‌ها ارائه نگردیده است.

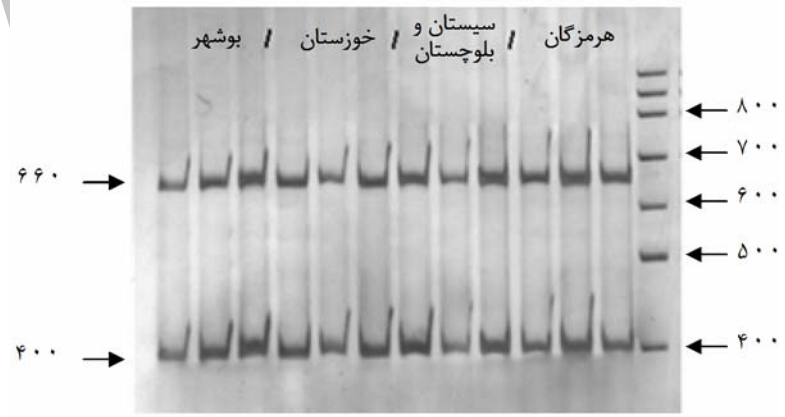
تعداد قطعات و طول هر قطعه حاصل از تأثیر هر آنزیم در ژن CoI در جدول ۴ نشان داده شده است.

جدول ۳- توالی مورد شناسایی و محلهای برش و تعداد محلهای برش در هضم آنزیمی محصول PCR ژن CoI

ردیف	نام آنزیم	توالی مورد شناسایی و محل برش	تعداد محلهای برش در ژن CoI
۱	*Apo*I	/AATT TTAA/	۲
۲	*Bsr*I	ACTGGN/ TGAC/CN	۳
۳	*Hae*III	GCGC/ /CGCG	۳
۴	*Mbo*II	GAAGA(N)/ CTTCT(N)/	۵
۵	*Alu*I	AG/CT TC/GA	۱
۶	*Scrf*I	CC/NGG GGN/CC	۳



شکل ۱- الگوی باندی حاصل از هضم محصول PCR ژن CoI توسط آنزیم *Bsr*I مربوط به سه نمونه از چهار منطقه مورد مطالعه



شکل ۲- الگوی باندی حاصل از هضم محصول PCR ژن CoI توسط آنزیم *AIu*I مربوط به سه نمونه از چهار منطقه مورد مطالعه

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۴- تعداد و طول قطعات حاصل از تأثیر هر یک از آنزیم‌های مورد استفاده در هضم آ نزیمی محصول PCR ژن میتوکندریایی CoI در ماهی سوکلا در چهار منطقه مورد مطالعه

نام آنزیم	*Alu*I	*Apo*I	*Hae*III	*Bsr*I	*Scrf*I	*Mbo*II
تعداد قطعات	۲	۳	۴	۴	۴	۶
طول هر قطعه (bp)	۶۶۰، ۴۰۰	۶۳۰، ۳۷۲، ۱۰۳	۶۷۰، ۱۳۲، ۱۳۲، ۱۲۶	۴۱۸، ۲۳۹، ۲۲۳، ۱۸۰	۴۹۸، ۲۴۲، ۱۷۲، ۱۴۸	۲۸۵، ۲۱۸، ۱۶۰، ۱۴۷، ۱۲۲، ۷۳

بحث

نتایج حاصل از این تحقیق هیچ‌گونه پلی‌مورفیسمی را در ماهیان سوکلای مناطق مورد مطالعه نشان نداد و از این رو انجام آنالیزهای آماری مورد نظر میسر نگردید. متأسفانه تعداد مطالعات اندکی برای بررسی تنوع ژنتیکی این گونه انجام شده است. در تنها بررسی که توسط سالاری و همکاران در سال ۱۳۸۷ انجام گردید (۱۹)، تنوع ژنتیکی ۱۸۴ نمونه ماهی سوکلا از سواحل هرمزگان، سیستان و بلوچستان و بوشهر با روش ریزماهواره مطالعه شد و از ۱۰ جفت آغازگر مورد استفاده، در ۷ جفت چند شکلی مشاهده گردید و سه جمعیت مجزا در سه منطقه فوق گزارش شد. البته آنها دامنه هتروزیگوسیتی مشاهده شده بین مناطق نمونه‌برداری در هفت لوکوس چند شکل را بین ۰/۱۵ تا ۱ با میانگین ۰/۶۵۵ و کمتر از دامنه هتروزیگوسیتی مورد انتظار (بین ۰/۷۶۷ تا ۰/۹۲۳ با میانگین ۰/۸۷۴) و نیز کمتر از میانگین مقادیر هتروزیگوسیتی مشاهده شده در ماهیان دریایی (۰/۷۹) گزارش نمودند (۱۹).

Renshaw و همکاران، تنوع ژنتیکی در ۲۴ نمونه ماهی سوکلا در سواحل میسی سیپی را با استفاده از ۳۵ ریز ماهواره بررسی نموده و ۳۳ ریزماهواره چند شکلی را نشان دادند. آنها نیز متوسط هتروزیگوسیتی مشاهده شده را ۰/۴۹۶ و کمتر از متوسط هتروزیگوسیتی مورد انتظار (۰/۵۶۳) و همین طور کمتر از مقدار هتروزیگوسیتی گزارش شده برای ماهیان دریایی (۰/۷۹) بدست آوردند (۲۱). Pruett و همکاران نیز در سال ۲۰۰۵، تنوع ژنتیکی در ۴۲ نمونه ماهی سوکلا در خلیج مکزیک، واقع در سواحل جنوبی ایالات متحده را با استفاده از روش ریزماهواره و ۲۰ جفت آغازگر، مورد بررسی قرار دادند و دامنه هتروزیگوسیتی مورد انتظار را بین ۰/۰۴۳ تا ۰/۹۱۰ (با میانگین ۰/۴۷۶) و دامنه هتروزیگوسیتی مشاهده شده را بین ۰/۰۴۳ تا ۰/۹۵۷ (با میانگین ۰/۵) و کمتر از هتروزیگوسیتی ماهیان دریایی گزارش نمودند (۲۰). Liu و همکاران، تنوع ژنتیکی ماهی سوکلا در آبهای سرزمینی کشور چین را توسط دو روش RAPD (با استفاده از ۱۷ آغازگر) و RFLP (با استفاده از ۱۹ آنزیم برشی و ژن میتوکندریایی سیتوکروم b) مطالعه نمودند و تنوع ژنتیکی نسبتاً بالایی را مشاهده کردند، به طوری که ۸۰/۸۵٪ از جایگاههای ژن مورد بررسی، پلی‌مورفیسم نشان دادند. آنها همچنین فاصله ژنتیکی بین نمونه‌ها را ۰/۲۶۰ محاسبه نمودند و نتایج حاصله را بیانگر مناسب بودن این دو روش در مطالعات جمعیتی ماهی سوکلا دانستند (۲۲).

عدم مشاهده پلی‌مورفیسم در این بررسی، شاید به این دلیل است که در نمونه‌های مورد مطالعه واقعاً چند شکلی وجود نداشته است. البته بدیهی است استفاده از تعداد نمونه‌ها و آنزیم‌های بیشتر و نیز سایر نواحی ژنی می‌تواند نتایج دقیق‌تری را نشان دهد. متأسفانه مطالعات مولکولی دیگری در زمینه بررسی تنوع ژنتیکی ماهی سوکلا با استفاده از روش PCR-RFLP در خلیج فارس و دریای عمان وجود ندارد که بتوان اطلاعات حاصله را با آن مقایسه نمود و تحلیل دقیق‌تری ارائه داد.

Kohlman و همکاران، عدم تنوع ژنتیکی و یا کاهش قابل توجه آن بین افراد را در مناطقی گزارش نموده‌اند که امکان مهاجرت و جابجایی ماهیان از منطقه‌ای به منطقه دیگر (جریان ژنی) وجود دارد (۲۴). ماهی سوکلا نیز از گروه ماهیان مهاجر است که به دلیل عدم وجود موانع فیزیکی و زیستی می‌تواند در سراسر خلیج فارس و دریای عمان مهاجرت نماید و به عبارت دیگر جریان ژنی بین تمام مناطق برقرار نماید. لذا عدم مشاهده چند شکلی در نمونه‌های مورد بررسی در مطالعه حاضر، ممکن است ناشی از مهاجر بودن این ماهی بوده و چندان دور از واقعیت نباشد، زیرا به طور کلی، مهاجرت زیاد در ماهیان و وجود پراکنش بالا که احتمالاً ناشی از عدم وجود موانع فیزیکی یا اکولوژیک برای ماهیان است، از جدایی ژنتیکی جمعیتها جلوگیری می‌کند. سالاری و همکاران نیز میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده بین مناطق نمونه‌برداری را ۰/۶۵۵ و کمتر از میانگین هتروزیگوسیتی مورد انتظار (۰/۸۷۴) و نیز کمتر از میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده در ماهیان دریایی (۰/۷۹) محاسبه نمودند (۱۹). بدیهی است اظهار نظر قطعی در این زمینه، مستلزم انجام مطالعات بیشتر می‌باشد.

نتیجه‌گیری

عدم مشاهده پلی‌مورفیسم در جمعیت ماهی سوکلای آبهای شمالی خلیج فارس و دریای عمان در پژوهش حاضر را ممکن

Archive of SID
www.SID.ir

است بتوان به عدم وجود موانع فیزیکی و زیستی در سراسر خلیج فارس و دریای عمان و در نتیجه امکان مهاجرت و جابجایی این ماهیان از منطقه‌ای به منطقه دیگر (جریان ژنی) نسبت داد. اگر چه استفاده از سایر نواحی ژنی و تعداد نمونه‌ها و آنزیم‌های بیشتر می‌تواند میزان صحت این نتیجه‌گیری را بررسی نماید.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از همکاری جناب آقای مهندس ناصر ولایی در تنظیم مقاله و همچنین جناب آقای عباس براهیمی قلعه قاضی ریاست محترم دانشگاه آزاد اسلامی واحد قشم سپاسگزاری می‌گردد.

REFERENCES

1. Liao IC, Huang TS, Tsai WS, Hsueh CM, Chang SL, Leaño EM. Cobia culture in Taiwan: current status and problems. Aquaculture 2004;237(1-4):155-65.
2. Kaiser JB, Holt GJ. Species profile Cobia. Southern Regional Aquaculture Center Publication 2005; No. 7202.
3. Daghooghi B. A survey of some biological aspects of Cobia (*Rachycentron canadum*). Final report of research design. Tehran: Iranian Fisheries Research Organization; 2008. (Text in Persian)
4. Resley MJ, Webb KA Jr, Holt GJ. Growth and survival of juvenile Cobia, *Rachycentron canadum*, at different salinities in a recirculating aquaculture system. Aquaculture 2006;253:398-407.
5. Izadi A, Besharat K. Marine fishes cage Culture. Tehran: Iranian Fisheries Organization; 2008. (Text in Persian)
6. Waldman JR. The importance of comparative studies in stock analysis. Fisheries Res 1999;43(1-3):237-46.
7. Hilsdorf AWS, Azeredo-Espin AML, Krieger MH, Krieger JE. Mitochondrial DNA diversity in wild and cultured populations of *Brycon opalinus* (Cuvier, 1819) (Characiformes, Characidae, Bryconinae) from the Paraíba do Sul Basin, Brazil. Aquaculture 2002;214(1-4):81-91.
8. Sajadi SM, Samiei Sh, Kheirandish M, Ataiei Z, Meshkani R, Kavari M, et al. The association of FXIII Val34Leu polymorphism with thrombotic events in patients referring to Iranian Blood Transfusion Organization. Sci J Blood Transfus Org 2008;4(4):247-52. (Full text in Persian)
9. Naghavi MR, Gharayazi P, Hosseini Salkade Gh. Molecular markers. 2ed ed. Tehran: University of Tehran press; 2009. (Text in Persian)
10. Cordes JF, Armknecht SL, Starkey EA, Graves JE. Forensic identification of sixteen species of Chesapeake Bay sportfishes using mitochondrial DNA restriction fragment-length polymorphism (RFLP) analysis. Estuaries 2001;24(1):49-58.
11. OkumuŞ İ, çiftci Y. Fish population genetic and molecular markers: II– Molecular markers and their application in fisheries and aquaculture. Turkish J Fisheries Aquat Sci 2003;3:51-79.
12. Brown WM, Prager EM, Wang A, Wilson AC. Mitochondrial DNA sequences of primates: tempo and mode of evolution. J Mol Evol 1982;18(4):225-39.
13. Gyllensten U, Wharton D, Josefsson A, Wilson AC. Paternal inheritance of mitochondrial DNA in mice. Nature 1991;352(6332):255-7.
14. Brown WM, Gerge M Jr, willson AC. Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. Proc Natl Acad Sci U S A 1979;76(4):1967-71.
15. Upholt WB, Dawid, IB. Mapping of mitochondrial DNA of individual sheep and goats: rapid evolution in the D loop region. Cell 1997;11(3):571-83.
16. Zhang J, Huang H, Cai Z, Huang L. Species identification in salted products of red snappers by semi-nested PCR-RFLP based on the mitochondrial 12S rRNA gene sequence. Food control 2006;17(7):557-63.
17. Mabuchi K, Senou H, Suzuki T, Nishida M. Discovery of an ancient lineage of *Cyprinus carpio* from Lake Biwa, central Japan, based on mtDNA sequence data, with reference to possible multiple origins of koi. J Fish Biol 2005;66(6):1516-28.
18. Ovenden JR, Brasher DJ. Stock identity of the red (*Jasus edwardsii*) and green (*Jasus verreauxi*) rock lobsters inferred from mitochondrial DNA analysis. In: Phillips BF, Kittaka J, editors. Spiny Lobsters: Fisheries and Culture. 2ed ed. Oxford: Wiley- Blackwell; 2000. p.302-20.
19. Salari Aliabadi MA, Rezvani Gilkolaei S, Savari A, Zolgharnein H, Nabavi SMB. Genetic comparison of Cobia populations (*Rachycentron canadum*) in Persian Gulf and Oman sea by Microsatellite. Islamic Azad University- Azad shahr Branch. Fishery magazine 2008;2(1):9-17. (Full text in Persian)
20. Pruett CL, Saillant E, Renshaw MA, Patton JC, Rexroad CE, Gold JR. Microsatellite DNA markers for parentage assignment and population genetic studies in Cobia, *Rachycentron canadum*. Mol Ecol Notes 2005;5(1):84-6.
21. Renshaw MA, Pruett CL, Saillant E, Patton JC, Rexroad CE, Gold JR. Microsatellite markers for Cobia, *Rachycentron canadum*. Gulf of Mexico Sci 2005;23(2):248-52.
22. Liu C, Liu L, Wang Z, Li Y. Studies on molecular genetic characteristics of Cobia *Rachycentron canadum*. J Trop Oceanogr 2005;24(1):77-85.
23. Taggart JB, Hynes RA, Prodöuhl PA, Fergusson A. A simplified protocol for routine total DNA isolation from salmonid fishes. J Fish Biol 1992;40(6):963-5.
24. Kohlman K, Gross R, Murakaeva A, kersten P. Genetic variability and structure of Common carp populations throughout the distribution range inferred from allozyme, micro satellite and mtDNA markers. Aquat Living Resour 2003;16:421-31.

Archive of SID

www.SID.ir