

## ساختار جمعیتی ماهی شوریده (*Otolithes ruber*) در سواحل شمالی خلیج فارس

- سیداحمد قاسمی\*: گروه زیست فناوری، پژوهشکده خلیج فارس، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر
- سیدجواد حسینی: گروه زیست فناوری، پژوهشکده خلیج فارس، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر

تاریخ دریافت: فروردین ۱۳۹۶ تاریخ پذیرش: تیر ۱۳۹۶

### چکیده

ماهی شوریده *Otolithes ruber* یکی از ماهیان تجاری مهم خلیج فارس می باشد. در این تحقیق با به کارگیری روش چندشکلی طولی (AFLP) ساختار جمعیتی و میزان تنوع این گونه در ۶ منطقه خورموسی، هندیجان، گناوه، بوشهر، دیر و عسلویه بررسی گردید. در مجموع ۳۴۵ باند با به کار بردن ۷ جفت پرایمر انتخابی (+۳) به دست آمد که به طور میانگین ۳۷/۲ درصد چندشکلی را نشان می دادند. بیشترین و کمترین درصد پلی مورفیسم به ترتیب با جفت پرایمر E-AAG/M-CAT (۳۹٪) و E-ACA/M-CAG (۲۵٪) حاصل گردید. میانگین تنوع ژنتیکی (h) و شاخص شانن به ترتیب ۰/۲۸ و ۰/۴۶ محاسبه شد. در جمعیت بوشهر بیشترین میزان شاخص تنوع ژنتیکی و شاخص شانن (I) به ترتیب به میزان ۰/۳۳ و ۰/۵ به دست آمد. ارزش شاخص Fst در بین جمعیت ها در محدوده ۰/۰۲۲ تا ۰/۲۳۳ بود. شاخص Fst و آنالیز AMOVA اختلاف معنی داری را بین جمعیت ها نشان می دهند. براساس آنالیز Fst و دندروگرام شباهت افراد، سه جمعیت از ماهی شوریده در خورموسی، بوشهر و دیر قابل تفکیک می باشد. اما تمایز ژنتیکی بین جمعیت ها بالا نبود.

**کلمات کلیدی:** ماهی شوریده، تنوع ژنتیکی، ساختار جمعیت، خلیج فارس، ایران



## مقدمه

قلاب و در مواردی به وسیله گرگور صید می‌گردد. اهمیت اقتصادی این گونه باعث شده که فشار صیادی جهت بهره‌برداری بیش‌تر از ذخیره با شدت انجام گیرد و در برخی موارد کاهش صید و کاهش میانگین طولی در جمعیت‌های گونه را به‌همراه داشته است (اسکندری و همکاران، ۱۳۹۲). از این‌رو شناخت جمعیت‌های ماهی شوریده در راستای حفظ ذخایر ژنتیکی این گونه بسیار ضروری می‌باشد.

با توجه به اهمیت ماهی شوریده از نظر اقتصادی در ایران، در این تحقیق با هدف بررسی ساختار جمعیتی این گونه در آب‌های شمال خلیج فارس نمونه‌هایی از شش منطقه خورموسی، هنديجان، گناوه، بوشهر، دیر و عسلویه، با استفاده از روش AFLP مورد ارزیابی قرار گرفته‌اند. نتایج این تحقیق برای حفاظت از جمعیت‌ها و مدیریت صید ماهی شوریده مفید خواهد بود.

## مواد و روش‌ها

**نمونه‌گیری:** منطقه مورد بررسی در این پژوهش آب‌های ساحلی ایران در خلیج فارس شامل خورموسی، هنديجان، گناوه، بوشهر، دیر و عسلویه (شکل ۱) بود. از ماهیان صید شده توسط قایق‌های صیادی به‌میزان یک تا دو گرم از بافت ماهیچه جداسازی گردید و با ذکر محل نمونه‌برداری، بلافاصله در الکل ۹۶ درصد تثبیت و به آزمایشگاه منتقل گردید.



شکل ۱. مناطق نمونه‌برداری از ماهی شوریده در خلیج فارس (۱. خورموسی، ۲. هنديجان، ۳. گناوه، ۴. بوشهر، ۵. دیر و ۶. عسلویه)

DNA ژنومی با هضم بافت عضلانی توسط پروتئیناز K و با روش استاندارد فنل-کلروفرم جداسازی شد (Sombrook و همکاران، ۲۰۰۱). کیفیت DNA با استفاده از الکتروفورز با ژل آگارز یک درصد و کمیته با استفاده از اسپکتوفتومتر (Biophotometr: WTW) اندازه‌گیری گردید. در نهایت هر نمونه به غلظت ۱۰۰ نانوگرم در میکرولیتر رقیق‌سازی گردید.

در دهه‌های اخیر مطالعات ژنتیک جمعیت توجه زیادی را به‌خود جلب کرده است زیرا تنوع ژنتیکی برای پایداری گونه و حفاظت از گونه‌ها ضروری است. مطالعات قبلی نشان می‌دهد که فقدان هتروزیگوسیتی زیان‌آور و میزان تنوع درون گونه‌ای باید در سطح بالایی نگه داشته شود (Reed و Frankham، ۲۰۰۲). علاوه بر این، تحقیقات تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیت می‌تواند اطلاعات مهم در ارزیابی منابع ماهیان ارائه نماید که برای نظارت بر پایداری جمعیت آبزیان و مدیریت ماهیگیری به‌کار گرفته شود (Song و همکاران، ۲۰۱۰). نشانگرهای مولکولی روش‌های موثر برای تشخیص ژنتیکی تنوع و تعیین ساختار جمعیت‌ها هستند (Yuan و همکاران، ۲۰۱۳؛ Yao و همکاران، ۲۰۱۲). در میان انواع مختلف نشانگرهای مولکولی، روش انگشت‌نگاری چندشکلی طول قطعه (AFLP) روشی مبتنی بر PCR است که ترکیبی از نقاط قوت تکثیر چندین جایگاه، تنوع بالا، عدم نیاز به اطلاعات اولیه از ژنوم موجود، تکرارپذیری بالا و غلبه بر نقاط ضعف RFLP و RAPD است (Vos و همکاران، ۱۹۹۵)، که آن‌را برای تشخیص تغییرات ژنتیکی بسیار کارآمد است. تا به حال، ثابت شده است که AFLP یک روش موفق در مطالعه ساختار ژنتیکی جمعیت و تمایز بسیاری از ماهی‌ها از جمله، کپور معمولی (Wang و همکاران، ۲۰۰۰)، گربه‌ماهی کانال (Mickett و همکاران، ۲۰۰۳)، ماهی *Synechogobius ommaturus* (Song و همکاران، ۲۰۱۰)، ماهی *Pleuronectes yokohamae* (Liu و همکاران، ۲۰۱۲)، ماهی *Perinereis aibuhitensis* (هم‌چنین در ماهیان خلیج فارس مانند ماهی سنگسر (راستگو و همکاران، ۱۳۹۱)، حلواه سیاه (شریفی و همکاران، ۱۳۹۲) ماهی زمین‌کن (فکراندیش و همکاران، ۱۳۹۲) به‌کار گرفته شده است. وضعیت فعلی خلیج فارس نشان‌دهنده آسیب جدی است که بر اکوسیستم آبزیان و هم‌چنین ذخایر آن وارد آمده است (Mughal، ۲۰۱۳) یکی از ذخایر با ارزش شیلاتی موجود در این محیط آبی، ماهی شوریده با نام علمی *Otolithes ruber* متعلق به خانواده شوریده ماهیان (Sciaenidae) می‌باشد. تاکنون ۵۱ جنس و ۹۳ گونه از این خانواده گزارش شده است (IUCN، ۲۰۰۷). ماهی شوریده *O. ruber* با نام انگلیسی croaker Tiger-toothed یکی از ماهیان مهاجر کرانه‌ای می‌باشد. این ماهی از مهم‌ترین گونه‌های شیلاتی و از ماهیان ممتاز منطقه جنوب ایران بوده و در طبقه‌بندی تجاری جز ماهیان درجه یک محسوب می‌گردد. این گونه بیش‌تر در مناطقی با بستری گل و مصب رودخانه‌ها یافت می‌شود. حوضه گسترش این ماهی بسیار وسیع بوده، در سرتاسر آب‌های ساحلی دریای عمان و خلیج فارس و به‌ویژه در آب‌های منطقه خوزستان گسترش دارد و توسط تور گوشگیر، ترال،



و محصولات به میزان ۱۰ برابر رقیق شدند. در مرحله تکثیر انتخابی از محصول پیش انتخابی و آغازگرهایی که دارای ۳ نوکلئوتید اضافی بودند استفاده شد. واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز مربوطه در حجم ۱۵ میکرولیتر شامل ۵ میکرولیتر محصول واکنش PCR پیش انتخابی رقیق شده ۱۰ میکرومول آغازگر EcoRI، ۱۰ میکرومول آغازگر MseI، ۲/۵ میلی‌مول MgCl<sub>2</sub>، ۰/۲ میلی‌مول dNTPs و ۱ واحد آنزیم Taq polymerase انجام شد. چرخه حرارتی PCR در ۳۰ چرخه به صورت: ۳۰ ثانیه مرحله واسرشته‌سازی در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۳۰ ثانیه مرحله اتصال دما در چرخه اول ۶۵ درجه سانتی‌گراد بود، سپس دما تا ۱۱ چرخه بعدی به‌ازای هر یک چرخه، یک درجه سانتی‌گراد کاهش یافت و ۱۸ چرخه بعد در دمای ۵۴ درجه سانتی‌گراد ادامه یافت و یک دقیقه مرحله بسط در ۷۲ درجه سانتی‌گراد انجام شد. از بین جفت پرایمرها تعداد ۷ جفت پرایمر که دارای بیش‌ترین تعداد باند پلی‌مورف و کم‌ترین پس زمینه بود برای آنالیز کل جمعیت‌ها استفاده گردید.

آزمایشات AFLP براساس روش استاندارد (Vos و همکاران، ۱۹۹۵) با کمی تغییرات انجام گرفت. واکنش هضم با استفاده از ۱۰ واحد از هریک از آنزیم‌های برشی EcoRI و Tru91 (جایگاه برشی مشابه MseI ساخت شرکت Fermentas) و ۳۰۰ نانوگرم DNA ژنومی در حجم ۲۰ میکرولیتر و در دمای ۳۷ درجه ۲ ساعت و سپس ۲ ساعت در ۶۵ درجه سانتی‌گراد انجام شد. پس از هضم DNA، اتصال آداپتورها با شرایط ۱۰ واحد آنزیم T4، ۱۰ میلی‌مول ATP، ۱۰۰ میلی‌مول آداپتورها و محلول هضم شده DNA، در دمای ۲۲ درجه به مدت ۱۰ ساعت انجام گردید. مرحله تکثیر پیش انتخابی با استفاده از آغازگرهایی که کاملاً مکمل توالی آداپتورها و یک نوکلئوتید اضافی +۱ در شرایط انجام شد. چرخه حرارتی PCR در ۳۰ چرخه به صورت: ۳۰ ثانیه مرحله واسرشت سازی در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۳۰ ثانیه مرحله اتصال در ۵۶ درجه سانتی‌گراد و ۱ دقیقه مرحله بسط در ۷۲ درجه سانتی‌گراد انجام شد. کیفیت محصول پیش انتخابی روی ژل آگارز ۱ درصد بررسی شد.

جدول ۱: توالی آداپتورها و پرایمرهای مورد استفاده در روش AFLP

آغازگر	توالی
Adapters	EcoRI-adapter -CTCGTAGACTGCGTACC-3'
	-AATGGTACGCAGTCTAC-3'
Pre-amplification primer	MseI-adapter -GACGTGAGTCCTGAG-3'
	-TACTCAGGACTCAT-3'
Selective amplification primer	EcoRI -GACTGCGTACCAATTC-3'
	MseI -GATGAGTCCTGAGTAA-3'
	۱-E-AGG/M-CAA -GACTGCGTACCAATTCAGG-3'
	۲-E-AAG/M-CTC -GATGAGTCCTGAGTAACAA-3'
	۳-E-AAG/M-CAT -GACTGCGTACCAATTCAGG-3'
	۴-E-AAG/M-CAC -GATGAGTCCTGAGTAACAT-3'
	۵-E-AAG/M-CAG -GACTGCGTACCAATTCAGG-3'
	۶-E-ACA/M-CAG -GATGAGTCCTGAGTAACAG-3'
	۷-E-ACT/M-CAA -GACTGCGTACCAATTCAGG-3'
	-GATGAGTCCTGAGTAACAA-3'
	-GATGAGTCCTGAGTAACAA-3'
	-GATGAGTCCTGAGTAACAA-3'
	-GATGAGTCCTGAGTAACAA-3'
	-GATGAGTCCTGAGTAACAA-3'

**تجزیه و تحلیل:** باندهای روشن و بدون ابهام در طول‌های مختلف از ۵۰ bp تا ۱۰۰۰ به‌عنوان باندهای قابل استفاده در نظر گرفته شد. ارزش دهی در حضور (۱) و در عدم حضور باند (۰) در نظر گرفته شد و داده‌ها به‌صورت ماتریس در اکسل وارد گردید. درصد چندشکلی جایگاه، تعداد آلل مشاهده، تعداد آلل موثر، تنوع ژنتیکی و شاخص شانون توسط GenAlex ۶,۵ محاسبه شد (Peakall و Smouse, ۲۰۰۶). و شاخص شباهت و تفاوت ژنتیکی با استفاده از شاخص Nei به‌دست آمد (Nei, ۱۹۸۷). علاوه بر این تجزیه براساس تجزیه و تحلیل مولفه‌های اصلی با استفاده از نرم‌افزار GenAlex ۶,۵ انجام گرفت و نمودار دو

**الکتروفورز و رنگ آمیزی نیترا نقره:** ۱۰ میکرولیتر از محصول PCR انتخابی با ۸ میکرولیتر رنگ فرماید (فرماید ۹۸ درصد، محلول بروموفنل بلو، زیلن سیانول و ۱۰ میلی‌مولار EDTA با pH=۸) ترکیب شد. سپس در ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶ دقیقه واسرشت شده و پس از آن به‌سرعت روی یخ سرد گردید. ۷ میکرولیتر از محصول فوق بر روی ژل اکریل امید ۶ درصد (اکریل امید ۴۰ درصد، اوره) در دستگاه الکتروفورز (۳۸×۳۰) DNA Sequencing gel به مدت ۱/۵ ساعت در دمای ژل ۹۵ درجه سانتی‌گراد در ۷۵ وات الکتروفورز گردید. پس از الکتروفورز، ژل با روش نیترا نقره رنگ آمیزی شد.



محاسبه شد و ماتریس حاصل برای رسم درخت UPGMA در نرم‌افزار Mega6 مورد استفاده قرار گرفت.

### نتیج

تحلیل آماری ۸۰ نمونه از ماهی شوریده با روش AFLP، با استفاده از ۷ جفت پرایمر، در مجموع ۳۴۱ باند قابل ارزش دهی در میان شش جمعیت مشخص کرد. میانگین تعداد قطعات تکثیر شده به‌ازاء هر جفت پرایمر ۴۱/۷۱ باند بود. از این تعداد باند ۱۲۹ باند چند شکل بودند که میانگین باندهای چندشکل ۳۲/۸۲٪ محاسبه شد (جدول ۲). تعداد جایگاه چندشکل در هر آغازگر از ۱۲-۲۳ با میانگین ۱۸/۴۲ جایگاه متنوع بود بیش‌ترین درصد جایگاه چندشکل با ۵۰ درصد مربوط به جفت پرایمر اختصاص داشت (جدول ۲).

بعدی جهت گروه‌بندی و بررسی روابط بین جمعیت‌ها ترسیم گردید. اختلاف جفتی بین نمونه‌های جمعیت‌ها براساس شاخص Fst و اختلاف معنی‌داری شاخص Fst با ۱۰۰۰۰ بار شبیه‌سازی در ۳,۵ Arlequin محاسبه گردید (Excoffier و همکاران، ۲۰۱۰). تجزیه و تحلیل واریانس مولکولی (AMOVA) برای بررسی بیش‌تر ساختار جمعیتی به‌کار گرفته شد. و از الگوی جغرافیایی جمعیت‌ها و شاخص Fst به‌منظور شناسایی گروه‌های مناسب برای AMOVA استفاده گردید (Excoffier و همکاران، ۱۹۹۲). جریان ژن با استفاده از معادله محاسبه شد. رابطه بین فواصل ژنتیکی و فاصله جغرافیایی با استفاده از آزمون منتل در نرم‌افزار GenAlex6,۵ مشخص گردید فاصله بین دو جمعیت فاصله مستقیم نمی‌باشد بلکه طول خط ساحلی به‌عنوان بین جمعیت‌ها در نظر گرفته شد. فاصله ژنتیکی بین افراد در نرم‌افزار GenAlex6,۵

جدول ۲: تعداد باند و درصد پلی‌مورفیسم حاصل از ۸ پرایمر در ماهی شوریده در آنالیز AFLP

مجموع	E-ACT/M-CAA	E-ACA/M-CAG	E-AAG/M-CAC	E-AAG/M-CAT	E-AAG/M-CAT	E-AAG/M-CTC	E-AGG/M-CAA	
۳۴۱	۳۵	۶۶	۴۵	۴۴	۵۸	۵۳	۴۰	تعداد لوکوس
۱۲۹	۱۲	۱۷	۲۲	۱۶	۲۳	۱۹	۲۰	تعداد لوکوس پلی‌مورف
۳۷/۸۳	۳۲/۲۸	۲۵/۷۵	۴۸/۹	۳۶/۳۶	۳۹/۶۵	۳۵/۸۴	۵۰	درصد چندشکلی

بوشهر مشاهده شد درحالی‌که کم‌ترین میزان این دو شاخص (۰/۲۴ و ۰/۳۶) در جمعیت عسلویه محاسبه گردید. هم‌چنین از نظر آماری اختلاف معنی‌داری بین شاخص‌های تنوع ژنتیکی در جمعیت‌ها مشاهده گردید ( $P < 0.01$ ).

شاخص‌های برآورد تنوع ژنتیکی به‌همراه میزان چندشکلی برای هر جمعیت با استفاده از GenAlex6,۵ به‌دست آمد که نتایج در جدول ۳ مشاهده می‌شوند. تنوع ژنتیکی (He) که شاخصی از میزان تنوع است در کل جمعیت‌ها برابر با ۰/۲۸ است. بیش‌ترین میزان تنوع ژنتیکی و شاخص شانن (I) به‌ترتیب به‌میزان ۰/۳۳ و ۰/۵ در جمعیت

جدول ۳: مشخصات مکان‌های نمونه‌برداری، تعداد نمونه و شاخص‌های تنوع ژنتیکی

uHe	He	I	Ne	Na	N	Pop
۳۳۴/۰	۳۲۵/۰	۴۹۱/۰	۵۴/۱	۹۱/۱	۲۰	Mean
۰/۱۸/۰	۰/۱۷/۰	۰/۲۳/۰	۰/۴/۰	۰/۵/۰	.	SE
۳۳۲/۰	۳۱۶/۰	۴۷۶/۰	۵۴/۱	۸۸/۱	۱۰	Mean
۰/۲۱/۰	۰/۲۰/۰	۰/۲۶/۰	۰/۴/۰	۰/۶/۰	.	SE
۳۱۸/۰	۳۰۳/۰	۴۵۶/۰	۵۱/۱	۸۰/۱	۱۰	Mean
۰/۲۲/۰	۰/۲۱/۰	۰/۲۸/۰	۰/۴/۰	۰/۷/۰	.	SE
۳۴۵/۰	۳۳۶/۰	۵۰۳/۰	۵۸/۱	۹۴/۱	۲۰	Mean
۰/۱۹/۰	۰/۱۹/۰	۰/۲۴/۰	۰/۴/۰	۰/۴/۰	.	SE
۲۸۹/۰	۲۷۴/۰	۴۱۵/۰	۴۶/۱	۶۶/۱	۱۰	Mean
۰/۲۳/۰	۰/۲۲/۰	۰/۳۰/۰	۰/۴/۰	۰/۹/۰	.	SE
۲۵۵/۰	۲۴۲/۰	۳۶۹/۰	۴۱/۱	۶۵/۱	۱۰	Mean
۰/۲۵/۰	۰/۲۳/۰	۰/۳۲/۰	۰/۵/۰	۰/۹/۰	.	SE



و هنديجان وجود داشت. هم‌چنين ميزان جريان ژني با ميزان فاصله جغرافيايي جفت جمعيت‌هاي رابطه عكس را نشان داد.

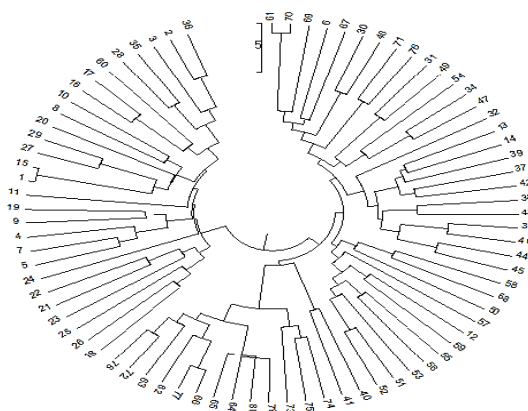
جدول ۶: شاخص جفتی  $F_{st}$  (داده‌های پایین) و حد معنی‌دار بودن (داده‌های بالا) ۶ جمعیت ماهی شوریده در خلیج فارس براساس داده‌های AFLP

خورموسی	هنديجان	گناوه	بوشهر	دير	عسلويه
۰۰۰/۰	۰/۰۳۴	۰/۰۰۵	۰۰۱/۰	۰۰۱/۰	۰۰۱/۰
۰۴۶/۰	۰۰۰/۰	۰۰۱/۰	۰۰۱/۰	۰۰۱/۰	۰۰۱/۰
۰۶۴/۰	۱۳۴/۰	۰۰۰/۰	۰۱۷/۰	۰۰۱/۰	۰۰۱/۰
۱۲۵/۰	۱۸۹/۰	۰۶۷/۰	۰۰۰/۰	۰۰۱/۰	۰۰۱/۰
۲۰۷/۰	۲۰۸/۰	۲۰۳/۰	۱۵۳/۰	۰۰۰/۰	۴۱۷/۰
۲۰۴/۰	۲۱۳/۰	۲۱۶/۰	۱۸۸/۰	۰۴۱/۰	۰۰۰/۰

جدول ۷: میزان  $N_m$  بین جفت جمعیت‌های ماهی شوریده در آب‌های شمال خلیج فارس

خورموسی	هنديجان	گناوه	بوشهر	دير
خورموسی				
هنديجان	۳۸/۱۰			
گناوه	۳۱/۷	۲۴/۳		
بوشهر	۴۸/۳	۱۴/۲	۹۹/۶	
دير	۹۱/۱	۶۰/۱	۷۸/۲	۹۶/۱
عسلويه	۶۴/۱	۲۶/۱	۵۳/۱	۱۵/۲
				۷۰/۱۱

براساس درخت ترسیم شده با استفاده از روش UPGM، افراد جمعیت خورموسی و هنديجان در یک شاخه، بوشهر در یک شاخه و دير و عسلويه در کلاستر جداگانه‌ای قرار می‌گیرند (شکل ۲). نمودار دو بعدی تجزیه و تحلیل مولفه‌های اصلی بیانگر آن است که جمعیت‌های دير و عسلويه در کنار هم، هنديجان و خورموسی باهم و بوشهر-گناوه در یک گروه جداگانه قرار می‌گیرند (شکل ۳).



شکل ۲. دندروگرام حاصل از ماتریس اختلاف براساس UPGMA برای ۸۰ نمونه ماهی شوریده با نشانگر AFLP

فاصله ژنتیکی و شباهت ژنتیکی بین جمعیت‌ها براساس شاخص Nei نشان داد که بیش‌ترین فاصله ژنتیکی بین جمعیت عسلويه با هنديجان به میزان ۰/۱۹ وجود دارد و کم‌ترین فاصله ژنتیکی بین عسلويه و دير (۰/۳۱) مشاهده گردید (جدول ۴).

جدول ۴: ماتریس شباهت و اختلاف ژنتیکی بین ۶ جمعیت ماهی شوریده (مثلث بالا اختلاف و مثلث پایین شباهت ژنتیکی)

خورموسی	هنديجان	گناوه	بوشهر	دير	عسلويه
۰۰۰/۰	۹۵۶/۰	۹۵۶/۰	۹۳۹/۰	۸۸۱/۰	۸۴۲/۰
۰۴۵/۰	۰۰۰/۰	۹۲۰/۰	۹۱۰/۰	۸۷۳/۰	۸۲۰/۰
۰۴۵/۰	۰۸۳/۰	۰۰۰/۰	۹۵۴/۰	۸۸۴/۰	۸۴۴/۰
۰۶۳/۰	۰۹۴/۰	۰۴۷/۰	۰۰۰/۰	۹۱۳/۰	۸۷۳/۰
۱۲۶/۰	۱۳۶/۰	۱۲۳/۰	۰۹۱/۰	۰۰۰/۰	۹۷۰/۰
۱۷۲/۰	۱۹۸/۰	۱۶۹/۰	۱۳۵/۰	۰۳۱/۰	۰۰۰/۰

نتایج اولیه نشان داد که بیش‌تر سهم تنوع ژنتیکی مربوط به تنوع درون گونه می‌باشد. آنالیز واریانس نشان داد که در مجموع سهم تنوع درون جمعیتی از تنوع بین جمعیت‌های بیش‌تر است تنوع درون جمعیت‌ها ۸۲ درصد و اختلاف بین گروه‌ها ۱۵ درصد است هم‌چنین سهم اختلاف بین جمعیت‌ها درون هر گروه ۳ درصد محاسبه گردید (جدول ۵).

جدول ۵: آنالیز واریانس مولکولی برای ۸۰ نمونه، ۶ جمعیت و سه گروه ماهی شوریده

Source	df	SS	Est. Var.	%
Among Regions	۲	۳۳/۳۱۰	۴۷/۴	۱۵
Among Pops	۳	۶/۱۰۷	۹۱/۰	۳
Within Pops	۷۴	۵/۱۸۲۷	۷/۲۴	۸۲

شاخص جفتی  $F_{st}$  بین جمعیت‌های مختلف ماهی شوریده نشان می‌دهد که اختلاف معنی‌داری بین جمعیت خورموسی، گناوه و دير و عسلويه وجود دارد ( $P < ۰/۰۱$ ). اما اختلاف معنی‌داری بین جمعیت‌های خورموسی و هنديجان، گناوه و بوشهر، دير و عسلويه وجود ندارد ( $P > ۰/۰۱$ ). شاخص جدایی جمعیت ( $F_{st}$ )، در سطح ۹۹ درصد نشان می‌دهد که بین نمونه‌های شمال خلیج فارس، بوشهر و عسلويه و دير اختلاف معنی‌داری وجود دارد ( $P < ۰/۰۱$ ) و جمعیت‌های متمایزی می‌باشند (جدول ۶).

جریان ژنی در جدول ۷ نشان داده شده است. میزان جریان ژنی از کم (۱/۲۶) تا متوسط (۱۱) متغیر بود. بیش‌ترین جریان ژنی بین جمعیت‌های خورموسی و هنديجان (۱۰/۳۸)، دير و عسلويه (۱/۱۷) مشاهده گردید. کم‌ترین میزان جریان ژنی (۱/۲۶) بین جمعیت عسلويه

در نمونه‌های مطاف ۸۹/۸ درصد بود، در حالی که در نمونه‌های بوشهر ۸۶/۲۳ و خورموسی ۸۵/۷ درصد محاسبه شد که اختلاف چندانی با هم ندارند ( $P < 0.01$ ).

بیشترین دامنه هتروزیگوسیتی و تنوع ژنتیکی در ماهیان حلوا سیاه منطقه بوشهر ( $0.381/16 \pm 0/0$ ) و کمترین در ماهیان بندرعباس ( $0.297 \pm 0/20$ ) وجود دارد. میانگین تنوع ژنتیکی ماهی حلوا سیاه بر اساس شاخص شانون  $0.494 \pm 0/24$  است (شریفی و همکاران، ۱۳۹۱). تنوع ژنتیکی سنگسرمعمولی در منطقه بندرعباس ( $0.239$ ) و بیشترین در منطقه آبادان با مقدار ( $0.331$ ) بود (سالاری و همکاران، ۱۳۹۱). همچنین در بررسی دیگری در گونه زمین کن دمنواری با نشانگر AFLP توسط فکرنادیش و همکاران (۱۳۹۲)، جمعیت بحرکان و بندر عباس در مقایسه با ۴ جمعیت دیگر در خلیج فارس (خورموسی، شیخ، مطاف، چارک) تنوع هتروزیگوسیتی و میزان پلی مورفیسم کمتری را نشان دادند. میزان تنوع ژنتیکی به دست آمده برای ماهی شوریده در حد متوسط می‌باشد. این مقدار برای مارکرهای غالب و مغلوب در حد نرمال می‌باشد همچنین در مقایسه با گونه‌های خلیج فارس که تاکنون کار شده است در حد متوسط می‌باشد. در مطالعه میتوکندریایی نصری و همکاران (۱۳۹۶) در ماهی شوریده تنوع بسیار پایینی به دست آمده است. تئوری ژنتیک جمعیت پیش‌بینی می‌کند که جمعیت‌های بزرگ‌تر تمایل به نگهداشتن تنوع ژنتیکی در سطح بالاتر را دارند (Wang و همکاران، ۲۰۱۰) بنابراین می‌توان احتمال داد که جمعیت‌های بزرگ‌تری از ماهی شوریده در بوشهر وجود داشته باشد. گونه مورد بررسی در سال‌های اخیر تحت بهره‌برداری شدید قرار گرفته است و تقاضای فراوان برای گوشت سبب تلاش صیادی زیادی برای بهره‌برداری از ذخایر موجود شده است (اسکندری و همکاران، ۱۳۹۲) افزایش بهره‌برداری گونه سبب کاهش فراوانی جمعیت این گونه شده است. این مسئله می‌تواند تاثیر مستقیمی روی تنوع ژنتیکی داشته باشد.

**ساختار جمعیت ماهی شوریده در خلیج فارس: ماتریکس فاصله ژنتیکی بین جمعیت‌ها بر مبنای معیار ژنتیکی ضریب (۱۹۷۸) Nei، نشان داد که بیشترین فاصله ژنتیکی بین ماهیان دیر و خورموسی است و کمترین فاصله ژنتیکی را بین ماهیان هندیجان و خورموسی، دیر و عسلویه نشان داد. که با فاصله جغرافیایی زیاد میان آن‌ها و وجود جریان ژنی پایین مطابقت دارد.**

آنالیز واریانس ملکولی (AMOVA) اختلاف بین ۳ جمعیت را ۱۵٪ و اختلاف درون جمعیتی را ۸۲٪ نشان داد. اختلاف درون جمعیتی می‌تواند به دلیل تفاوت ژنتیکی بین افراد باشد. در الگوی کلی ساختار ژنتیک جمعیت، اختلاف ژنتیکی درون جمعیتی در ماهیان دریایی بیش‌تر از اختلاف ژنتیکی بین جمعیت‌هاست که همان‌گونه که بیان گردید می‌تواند ناشی از موانع اقیانوسی یا اکولوژیکی

Principal Coordinates (PCoA)



شکل ۳. رابطه میان شش جمعیت ماهی شوریده با استفاده از تجزیه مولفه‌های اصلی

(مولفه اول و دوم مجموعاً ۱۸ درصد اختلاف ژنتیکی را دربر می‌گیرند)

## بحث

در این تحقیق با استفاده از ۷ جفت پرایمر ۳۴۵ باند با ۳۷/۵ درصد پلی مورفیسم به دست آمد. که در مقایسه با دیگر ماهیان، از جمله ماهی *Larimichthys polyactis* (۷۵ درصد) (Han و همکاران، ۲۰۰۹) (*Tachypleus tridentate*) (۷۸ درصد) (Xu و همکاران، ۲۰۱۱)، *Pleuronectes yokohamae* دارای ۷۲ درصد تنوع باندی (Zhang و همکاران، ۲۰۱۲)، *Perinereis aibuhitensis* دارای تنوع باندی ۷۹ درصد (Liu و همکاران، ۲۰۱۵) درصد چندشکلی کم‌تر می‌باشد. اما در مقایسه با ماهیان خلیج فارس درصد چندشکلی بیش‌تری مشاهده می‌گردد. در ماهی سنگسرمعمولی با ۶ ترکیب پرایمر ۴۱۰ باند قابل امتیازدهی با ۲۱/۴۶ درصد چندشکلی محاسبه شد (سالاری و همکاران، ۱۳۹۰). در ماهی حلواسیاه (*Parastromateus niger*) درصد باندهای پلی مورفیسم ۱۲/۰۷ بود (شریفی و همکاران، ۱۳۹۱). در زمین کن دمنواری (*Platycephalus indicus*)، در ۱۰ ترکیب پرایمر درصد باندهای پلی مورف ۱۷/۳۲٪ محاسبه گردید (فکرنادیش و همکاران، ۱۳۹۲). در ماهی مید *Liza klunzingeri* درصد باندهای پلی مورف ۲۴/۰۲ بود (احمدی و همکاران، ۱۳۹۰). نتایج نشان‌دهنده میزان تنوع کم در ماهی شوریده می‌باشد که می‌تواند ناشی از شرایط اکولوژیکی خلیج فارس به دلیل محدود بودن باشد. کمی چندشکلی در سایر ماهیان خلیج فارس نیز گزارش شده است.

**هتروزیگوسیتی و تنوع ژنتیکی: میانگین شاخص‌های شانن و تنوع ژنتیکی در ماهی شوریده به ترتیب بیش‌ترین تنوع ژنتیکی (۰/۳۳) و شاخص شانن (۰/۵) در ایستگاه بوشهر بود و کمترین تنوع ژنتیکی و شاخص شانن در ایستگاه عسلویه به ترتیب ۰/۲۴ و ۰/۳۱ به دست آمد. اختلاف معنی‌داری بین شاخص‌های تنوع در بوشهر و خورموسی وجود ندارد ( $P < 0.01$ ). هم‌چنین درصد باندهای چندشکل**





تبادل ژنی بالا با یکدیگر هستند. این مساله با بیولوژی این گونه که سرعت شنای کند دارد مطابقت دارد (Carpenter و همکاران، ۱۹۹۷). ماهیان دریایی معمولاً سطح پایینی از اختلاف ژنتیکی به دلیل پتانسیل پراکنش تخم، لارو پلانکتونی یا مرحله بلوغ به همراه عدم وجود سدهای فیزیکی برای پراکنش بین مناطق هم جوار را نشان می دهند (Hewitt, ۲۰۰۰; Ye و همکاران، ۲۰۱۰).

بر اساس درخت ترسیم شده با استفاده از روش UPGMA، افراد جمعیت خورموسی و هنديجان در یک شاخه، بوشهر در یک شاخه و دیر و عسلویه در کلاستر جداگانه‌ای قرار می گیرند. هم چنین PCoA نشان داد که جمعیت‌های دیر و عسلویه در کنار هم هنديجان و خورموسی باهم و بوشهر در یک گروه جداگانه قرار می گیرند. بنابراین بر اساس شاخصه‌های ژنتیکی می توان گفت که ماهی شوریده در آب‌های خوزستان، منطقه بوشهر و دیر دارای جمعیت‌های مجزا می باشد اما تمایز جمعیتی بالایی در بین آن‌ها نمی باشد. به نظر می رسد که جریان ژنی بین جمعیت‌ها متاثر از فاصله جغرافیایی تمایز جمعیت‌ها را کاهش می دهد. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که آنالیز ژنتیکی بر اساس تکنیک مولکولی AFLP یک روش مناسب برای بررسی روابط ساختار جمعیت‌های ماهیان در خلیج فارس است. بر اساس نتایج حاصل می توان گفت که جمعیت‌های جنوب خلیج فارس متفاوت از جمعیت‌های شمال خلیج فارس می باشند.

## منابع

۱. اسکندری، غ.؛ سواری، ا.؛ کوچین، پ. و تقوی مطلق، س. ا.، ۱۳۹۲. روند ساختار طولی صید، ضرایب مرگ و میر و بهره برداری ماهی شوریده (*Otolithes ruber*) در ۵ سال گذشته در شمال غربی خلیج فارس. مجله علمی شیلات ایران، شماره ۸، صفحه ۹۰.
۲. سالاری علی آبادی، م. ع.؛ راستگو، ع. ر.؛ محمدی، م.؛ ارچنگی، ب. و قاسمی، س. ا.؛ ۱۳۹۰. ساختار جمعیتی ماهی سنگسر معمولی (*Pomadasys kaakan* Cuvier, 1830) با استفاده از نشانگرهای مولکولی AFLP در خلیج فارس. علوم و فنون شیلات، سال ۱، شماره ۱، صفحه ۲۷ تا ۳۷.
۳. شریفی، م.؛ سوری نژاد، ا.؛ حسینی، ج.؛ قاسمی، ا. و فقیه، ا.، ۱۳۹۱. بررسی تنوع ژنتیکی ماهی حلواسیاه *Parastromateus niger* در سواحل ایرانی خلیج فارس با استفاده از نشانگر ملکولی AFLP. مجله بوم شناسی. دوره ۲، شماره ۲، صفحات ۶۱ تا ۸۱.
۴. فقیه احمدانی، ا.؛ حسینی، س. ج. و قاسمی، س. ا.، ۱۳۹۰. مطالعه کروموزومی ماهی مید *Liza klunzingeri* و بررسی تنوع ژنتیکی آن در خور زیارت (استان بوشهر) و رودخانه زهره (استان

که باعث جلوگیری از پراکندگی می شود (Lin و همکاران، ۲۰۰۹: Qian و همکاران، ۲۰۱۱).

جریان ژنی در بین جمعیت‌های بررسی شده از مقادیر کم (۱/۶) تا زیاد (۱۱/۵) متغیر بود. جمعیت‌های دارای فاصله جغرافیایی کم دارای جریان ژنی بالایی می باشند. بر این اساس بیشترین جریان ژنی بین جمعیت خورموسی - هنديجان و دیر عسلویه وجود داشت و کمترین میزان جریان ژنی بین جمعیت عسلویه و هنديجان در تحقیق حاضر ۱/۹۳ محاسبه شد. بر اساس گزارش Liu و همکاران (۲۰۰۷) هرگاه  $Nm > 1$  باشد جریان ژنی اصلی ترین عامل در کمی تمایز ژنتیکی است و هرگاه  $Nm < 1$  باشد رانش ژنی عامل اصلی ایجاد تمایز ژنتیکی می شود. میزان جریان ژنی در تحقیق فعلی هر چند در حد زیادی نیست اما همین مقدار هم نشان دهنده این است که مقدار متوسط مهاجرت موثر بین جمعیت‌ها وجود دارد. این جریان ژنی می تواند ناشی از مهاجرت ماهی شوریده یا از داشتن تخم و لارو پلاژیک توسط طریق ممکن است یکی از علل عمده وجود جریان ژنی بیش تر از یک در این گونه باشد (Smith-Vaniz, ۱۹۸۴).

فاکتور Fst توصیف کننده تمایز جمعیت‌ها در سطوح مختلف ساختار ژنتیکی می باشد (Wei و Cockerham, ۱۹۸۴). میزان Fst از ۰/۰۹ تا ۰/۲۲ محاسبه گردید. در بررسی حاضر، کمترین مقدار Fst بین جمعیت بوشهر و خورموسی (۰/۰۹) و بیشترین مقدار Fst بین جمعیت مطلق و خورموسی (۰/۲۱۹) محاسبه شد. نتایج نشان دهنده تمایز ژنتیکی بین جمعیت دیر و عسلویه در شرق خلیج فارس و جمعیت‌های بوشهر و خورموسی در غرب خلیج فارس است که دارای بیشترین فاصله ژنتیکی و کمترین شباهت ژنتیکی بودند. این مساله می تواند ناشی از مهاجرت کم جمعیت‌های این گونه بین مناطق مورد پراکنش باشد که با بیولوژی این گونه که سرعت شنای کندی دارد و دارای مهاجرت‌های عمودی می باشد نیز مطابق است. Mickett و همکاران (۲۰۰۳)، در گربه ماهی کانالی (*Ictalurus punctatus*)، میزان Fst برابر با ۰/۴۴ را تمایز ژنتیکی زیاد بین جمعیت‌ها و میزان ۰/۱۷ را تمایز ژنتیکی متوسط بین جمعیت‌ها عنوان می کنند. هم چنین Zhao و همکاران (۲۰۱۱) در ماهی *Pampus argenteus* تمایز ژنتیکی متوسطی ۰/۱۱ بین جمعیت‌های مورد بررسی تعیین نمودند. فکراوندیش و همکاران (۱۳۹۲) در ماهی زمین کن دمنواری در خلیج فارس مقدار Fst برابر با ۰/۳۲۷ و در نتیجه تمایز ژنتیکی زیاد بین جمعیت‌ها را مشخص نمودند. در این بررسی میانگین Fst برابر با ۰/۱۹۲ و با اختلاف معنی دار در بین جمعیت‌ها ( $P < ۰/۰۱$ ) محاسبه شد که بیانگر تمایز جمعیتی و تمایز ژنتیکی کم تا متوسط است و نشان دهنده مهاجرت کم تا زیاد بین جمعیت‌ها می باشد. این بدین معنی است که جمعیت‌های نزدیک دارای



۱۹. **Reed, D.H. and Frankham, R., 2002.** Correlation between fitness and genetic diversity. *Conserv. Biol.* Vol. 17, pp: 230-237.
۲۰. **Sambrook, J. and Russell, D.W., 2001.** Molecular cloning: a laboratory manual. ColdSpringLaboratoryPress, NewYork.
۲۱. **Smith Vaniz, W.F., 1984.** Carangidae: relationships. In: Moser, H.G., Richards, W.J., Cohen, D.M., Fahay, M.P., Kendall Jr., A.W., Richardson, S.L. (Eds.), *Ontogeny and Systematics of Fishes.* Am. Soc. Ichthyol. Herpetol. Spec. Publ. Vol. 1, pp: 522-530.
۲۲. **Song, N.; Zhang, X.M. and Gao, T.X., 2010.** Genetic diversity and population structure of spottedtail goby (*Synechogobius ommaturus*) based on AFLP analysis. *Biochemical Systematics and Ecology.* Vol. 38, No. 6, pp: 1089-1095.
۲۳. **Vos, P.; Hogers, R.; Bleeker, M.; Reijans, M.; Van de Lee, T.; Hornes, M. and Zabeau, M., 1995.** AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic acids research.* Vol. 23, No. 21, pp: 4407-4414.
۲۴. **Wang, Z.Y.; Jayasankar, P. and Khoo, S.K., 2000.** AFLP fingerprinting reveals genetic variability in common carp stocks from Indonesia. *Asian Fish. Sci.* Vol. 13, pp: 139-147.
۲۵. **Xu, Q.; Chen, F.; Shin, P.K.; Cheung, S.G.; Chen, Y. and Ke, C., 2011.** AFLP analysis of genetic variation among three natural populations of horseshoe crab *Tachypleus tridentatus* along Chinese coast. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology.* Vol. 29, pp: 284-289.
۲۶. **Yao, X.; Deng, J. and Huang, H., 2012.** Genetic diversity in *Eucommia ulmoides* (Eucommiaceae), an endangered traditional Chinese medicinal plant. *Conserv. Genet.* Vol. 13, pp: 1499-1507.
۲۷. **Young, W.P.; Wheeler, P.A.; Coryell, V.H.; Keim, P. and Thorgaard, G.H., 1998.** A detailed linkage map of rainbow trout produced using doubled haploids. *Genetics.* Vol. 148, pp: 839-850.
۲۸. **Yuan, L.; Hu, C. and Zhang, L., 2013.** Population genetics of a tropical sea cucumber species (*Stichopus monotuberculatus*) in China. *Conserv. Genet.* Vol. 14, pp: 1279-1284.
۲۹. **Zhang, H.; Yu, H.; Gao, T.; Zhang, Y.; Han, Z. and Xiao, Y., 2012.** Analysis of genetic diversity and population structure of *Pleuronectes yokohamae* indicated by AFLP markers. *Biochemical Systematics and Ecology.* Vol. 44, pp: 102-108.
۳۰. **Zhao, F.; Dong, Y.; Zhuang, P.; Zhang, T.; Zhang, L. and Shi, Z., 2011.** Genetic diversity of silver pomfret (*Pampus argenteus*) in the Southern Yellow and East China Seas. *Biochemical Systematics and Ecology.* Vol. 39, pp: 145-150.
- خوزستان) با استفاده از نشانگر AFLP. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز. ۸۳ صفحه.
۵. **فکراندیش، ح؛ کمالی، ا؛ حسینی، س.ج. و سلطانی، م، ۱۳۹۲.** مطالعه تنوع ژنتیکی ماهی زمین کن دم‌نواری (*Platycephalus indicus* Linnaeus, 1758) در خلیج فارس با استفاده از نشانگرهای AFLP. رساله دکتری، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران. ۱۲۵ صفحه.
۶. **نصری، م؛ قاسمی، ا. و قریب‌خانی، م. ۱۳۹۵.** بررسی تنوع ژنتیکی ماهی شوریده (*Otolithes ruber*) در خلیج فارس و دریای عمان با استفاده از توالی‌یابی ژن rRNA ۱۶S میتوکندریایی. مجله علمی- پژوهشی زیست‌شناسی دریا. سال ۸، شماره ۳۱، صفحات ۱ تا ۱۲.
۷. **Excoffier, L., and Lischer, H.E., 2010.** Arlequin suite ver ۳.۰: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular ecology resources.* Vol. 10, No. 3, pp: 564-567.
۸. **Excoffier, L.; Laval, G. and Schneider, S., 2005.** Arlequin version 3.0: an integrated software package for population genetics data analysis. *Evolution Bioinformatics.* Vol. 1, pp: 47-50.
۹. **Excoffier, L.; Smouse, P.E. and Quattro, J.M., 1992.** Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics.* Vol. 131, pp: 479-491.
۱۰. **IUCN (International Union for Conservation of Nature). 2007.** The IUCN red list of threatened species, Available: <http://www.iucnredlist.org>.
۱۱. **Liu, Z., 2007.** *Aquaculture Genome Technologies.* First edition, Blackwell Publishing, Australia. 551 p.
۱۲. **Liu, F.; Shi, H Z.; Guo, Q.S.; Lv, F.; Yu, Y.B.; Lv, L.L. and Zhang, M.M., 2015.** Analysis of the genetic diversity and population structure of *Perinereis aihuhitensis* in China using TRAP and AFLP markers. *Biochemical Systematics and Ecology.* Vol. 59, pp: 194-203.
۱۳. **Mickett, K.; Morton, C.; Feng, J.; Li, P.; Simmons, M.; Cao, D.; Dunham, R.A. and Liu, Z., 2003.** Assessing genetic diversity of domestic populations of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) in Alabama using AFLP markers. *Aquaculture.* Vol. 228, pp: 91-105.
۱۴. **Mughal, M., 2013.** *Persian Gulf Desert and Semi-desert. Biomes & Ecosystems.* Vol. 3, Robert Warren Howarth (ed.). Ipswich, MA: Salem Press. pp: 1000-1002.
۱۵. **Nei, M., 1972.** Genetic distance between populations. *Am. Nat.* Vol. 106, 283e292.
۱۶. **Nei, M. and Li, W.H., 1979.** Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* Vol. 76, pp: 5269-5273.
۱۷. **Peakall, R. and Smouse, P.E., 2006.** GENALEX 6: genetic analysis in excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology.* Vol. 6, pp: 288-295.
۱۸. **Qian, X.; Fei, C.; Shin, P.K.S.; Cheung, S.G.; Yan, C. and Caihuan, K., 2011.** AFLP analysis of genetic variation among three natural population of horseshoe crab *Tachypleus tridentatus* along Chinese coast. *Chinese journal of Oceanology and limnology.* Vol. 29, pp: 284-289.

