مطالعه ساختار جمعیتی هامور معمولی *Epinephelus coioides* (Hamilton, 1822) با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره در خلیج فارس

حامد قناعتیان[۱]، محمد علی سالاری علی آبادی[۱*]، مهدی محمدی[۲]، حسین ذوالقرنین[۱] و سید احمد قاسمی[۲]

[۱]خرمشهر، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، گروه بیولوژی دریا

[۲]بوشهر، دانشگاه خلیج فارس بوشهر، مرکز مطالعات و پژوهشهای خلیج فارس، گروه بیوتکنولوژی دریا

تاریخ دریافت: ۹۰/۸/۲۸ تاریخ پذیرش: ۹۱/۵/۲۳

چکیده

ساختار جمعیتی *Epinephelus coioides*، هامور معمولی، در خلیج فارس از نظر ۶ جایگاه ریزماهواره پلی مورف مورد بررسی قرار گرفت. ۵-۳ گرم از بافت نرم هر کدام از ۱۲۰ نمونه صید شده از ۴ ایستگاه تهیه گردید. استخراج DNA با استفاده از روش استاندارد استات آمونیوم انجام وکمیت و کیفیت آن با روش‌های اسپکتروفتومتری و الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۱ درصد بررسی شد. قطعات DNA در دستگاه PCR تکثیر شده سپس بر روی ژل پلی اکریلامید رانده شد و رنگ آمیزی با کمک نیترات نقره صورت گرفت. میانگین پارامترهای ژنتیکی شامل آلل‌های واقعی و موثر برای تمامی لوکوس‌ها و جمعیت‌ها، بترتیب ۵/۴۵۸ و ۳/۷۹۳، همچنین هتروزیگوسیتی مشاهده شده و قابل انتظار بترتیب ۰/۵۰۰ و ۰/۶۴۹ می‌باشد. آزمون AMOVA بیشترین میزان F_{st}، (۰/۰۸۶) و کمترین میزان جریان ژنی (N_m=۲/۶۵۲) را بین دو جمعیت خوزستان و بوشهر، کمترین میزان F_{st}، (۰/۰۳۴) و بیشترین میزان جریان ژنی (N_m=۷/۰۷۰) را بین دو جمعیت دیر و بندرعباس نشان داد. جمعیت خوزستان جدایی نسبی را در قیاس با سایر جمعیت‌های مورد مطالعه نشان می‌دهد، بنابر این اعمال مدیریت شیلاتی جداگانه توصیه می‌گردد.

واژه های کلیدی: ساختار جمعیتی، تنوع ژنتیکی، ریزماهواره، خلیج فارس، هامور معمولی

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۳۳۵۵۵۸۷۲، پست الکترونیکی: salari@kmsu.ac.ir

مقدمه

خلیج فارس در بر دارنده مجموعه‌ای متنوع و بی نظیر از حیات وحش است. این پهنه آبی منحصر به فرد از آبهای بین المللی جدا بوده و تنها از طریق باریکه هرمز به آبهای آزاد مرتبط است. خلیج فارس زیستگاهی مناسب برای بسیاری از گونه‌های گیاهی و جانوری محسوب می‌شود. برخی از این گونه‌ها در معرض خطر انقراض و یا تهدید جدی اکولوژیک قرار گرفته اند (۳). هامور معمولی (*Epinephelus coioides*, Hamilton, 1822) از جمله با ارزش ترین و اقتصادی‌ترین ماهیان خلیج فارس محسوب می‌شود. تاکنون هیچ مطالعه‌ای پیرامون تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیتی این گونه در خلیج فارس صورت نگرفته است، بنابراین مطالعه حاضر می‌تواند پاسخگوی سوالات بسیاری پیرامون خصوصیات جمعیتی این گونه با ارزش و اقتصادی در خلیج فارس باشد.

هامور معمولی در لیست قرمز IUCN بعنوان گونه تقریباً تهدید شده قرار گرفته است. این گونه متعلق به خانواده Serranidae بوده و بهمراه دیگر اعضای جنس Epinephelus نقش مهمی در فعالیت‌های جهانی آبزی پروری ایفا می‌کند (۴). زیستگاه طبیعی این گونه، جنگل های مانگرو نواحی گرمسیری و نیمه گرمسیری، آبسنگ-های ساحلی گل آلود، بسترهای آبی زیر جزر و مدی، آبسنگ‌های مرجانی، مصب‌ها و لاگون‌هاست (۶).

Archive of SID
www.SID.ir

نشانگرهای DNA انقلابی در مطالعه ویژگی‌های جمعیتی آبزیان بوجود آورده است (۱۲). توالی‌های DNA یا ژنها که می‌توانند جهت شناسایی افراد یا گونه‌ها استفاده شوند، نشانگرهای ژنتیکی‌اند. این نشانگرها باید براحتی قابل شناسایی، متعلق به جایگاه خاصی از ژنوم و دارای پلی مورفیسم بالا باشند (۱۴). ریزماهواره ها (میکروستلایت‌ها) یا توالی‌های ساده تکرار شونده (SSRs)، توالی‌های تکراری ۶-۱ جفت باز از DNA می‌باشند. تنوع بالای ریز ماهواره‌ها بدلیل میزان بالای جهش در مقایسه با سایر نقاط-DNA است. کاربرد و تفسیر نتایج نسبتاً ساده، تشخیص پلی مورفیسم بالا، فراوانی زیاد در ژنوم یوکاریوتها، هم بارز بودن و تبعیت از توالی های ساده مندلی و در نتیجه امکان تشخیص افراد هتروزیگوت، امکان استفاده از آغازگرهای ریز ماهواره‌ای یک گونه در گونه‌های نزدیک و سیستم چند آللی از ویژگی‌های بارز این نشانگر است (۲۲ و ۲۳).

اطلاعات بدست آمده به کمک نشانگرهای مولکولی، درک بهتر از تنوع ژنتیکی گونه‌های دریایی نظیر هامور معمولی را هموار کرده، همچنین اطلاعات پیرامون فاصله ژنتیکی جمعیت‌ها که در مدیریت شیلاتی و آبزی پروری حائز اهمیت است، فراهم می‌نماید. هدف از انجام این تحقیق ارائه اطلاعات بیشتر در مورد ساختار ژنتیکی جمعیت‌های گونه هامور معمولی و تعیین تنوع ژنتیکی و شناسایی اختلافات ژنتیکی احتمالی موجود در بین جمعیت‌های خوزستان، بوشهر، دیر و بندرعباس می‌باشد.

مواد و روشها

این پژوهش در آبهای سواحل شمالی خلیج فارس صورت گرفت و برای پوشش کامل منطقه دو ایستگاه در منتهی الیه شرقی و غربی و دو ایستگاه در مناطق میانی بطوری که از فاصله جغرافیایی مناسبی برخوردار باشند در نظر گرفته شد (شکل ۱). پس از مشخص کردن ایستگاه‌های مناسب، ۵-۳ گرم از بافت نرم هر کدام از ۱۲۰ نمونه صید شده هامور معمولی (هر ایستگاه ۳۰ نمونه) تهیه گردید. نمونه‌های تهیه شده از ۴ ایستگاه (خوزستان، بوشهر، دیر و بندرعباس) در اتانول خالص (۹۶ درصد) فیکس شده، به آزمایشگاه بیوتکنولوژی مرکز مطالعات و پژوهش‌های خلیج فارس انتقال یافت. نمونه‌برداری طی ماه‌های خرداد و تیر ۱۳۸۹ صورت گرفت.

شکل ۱. موقعیت ایستگاه های نمونه برداری، ایستگاه۱: خوزستان (خور موسی و هندیجان)، ایستگاه۲: بوشهر، ایستگاه۳: دیر و ایستگاه۴: بندرعباس

استخراج DNA با استفاده از روش استاندارد استات آمونیوم انجام و کمیت و کیفیت آن با روش‌های اسپکتروفتومتری و الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۱ درصد بررسی شد. قطعات مورد نظر DNA توسط واکنش زنجیره ای پلیمراز (PCR) و به کمک ۶ آغازگر (پرایمر) ریز ماهواره تکثیر شد. بدلیل این که آغازگر اختصاصی برای این گونه طراحی نشده از آغازگرهای گونه‌های نزدیک استفاده گردید (جدول ۱). پنج جفت آغازگر مربوط به گونه *E. mera* شامل *Em-01*، *Em-03*، *Em-08* (۱۷)، *Em-07* و *Em-10* (۲۵) و یک جفت آغازگر دیگر مربوط به گونه *E. quernus* شامل *CA-7* بودند (۲۱). پرایمرهای ذکر شده با سفارش به شرکت بین المللی Metabion در آلمان تهیه شد.

Archive of SID
www.SID.ir

جدول۱- خصوصیات آغازگرها

جایگاه ریزماهواره	توالی آغازگر	دمای اتصال ($^{\theta}/^{\circ}C$)
Em-01	F: 5' –TATCTGGCAGAGGTTTTATT- 3' R: 5' –TTGGTTCTTATTGTTACTTT- 3'	۴۹
Em-03	F: 5' –AATACGGACACACGCACA- 3' R: 5' –GAACACGACCCCTGCTAA- 3'	۵۵
Em-07	F: 5' –ACTCTGCTCCCGCTTTGCTT- 3' R: 5' –TCTGTTTTGTCTCGCTTTTG- 3'	۵۸
Em-08	F: 5' –CCCCCTCTATCTCTCCAC- 3' R: 5' –CAAATAAGGCACGCTCTC- 3'	۵۵
Em-10	F: 5' –AAGACAAATAAATGCAGA- 3' R: 5' –ACCACAGGGGACTAAAGA- 3'	۵۰
CA-7	F: 5' –CACAGTGAAATACTCATAAGTGATG- 3' R: 5' –CAAGATGCCTGGGTATTTTTGG- 3'	۴۰

جهت جداسازی بهتر محصولات PCR، از الکتروفورز بر روی ژل پلی اکریلامید استفاده گردید. الکتروفورز عمودی برای هر ژل پلی اکریلامید با جریان ۱۵۰ ولت به مدت ۳ ساعت انجام شد. در نهایت ژل از صفحات شیشه‌ای جدا شده، رنگ آمیزی توسط نیترات نقره انجام گردید (۲۲). پس از عکس برداری از ژل ها، از نرم افزار LabImage 1D 2006 ver. 3.3.3 برای امتیاز دهی به باندها و محاسبه وزن مولکولی آنها، و از نرم افزار GeneAlex جهت آنالیزهای آماری (محاسبه تعداد آلل‌های واقعی و مؤثر، هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار، F_{st} و جریان ژنی، فاصله و شباهت ژنتیکی) استفاده گردید (۲۰). در نهایت دندروگرام فاصله ژنتیکی بر اساس معیار Nei (۱۶) با استفاده از نرم افزار TFPGA ver. 1.3 رسم گردید (۱۳).

نتایج

بررسی تیزی و شفافیت باندهای DNA بر روی ژل آگارز ۱٪ به کمک UV transilluminator همچنین بررسی کمیت آنها بوسیله دستگاه اسپکتروفتومتری، نشان داد کیفیت و کمیت DNA استخراجی مناسب بوده و میزان OD260/OD280، عموماً بین ۱/۸ تا ۲ است. آنالیزهای آماری نشان داد میانگین آلل‌های واقعی برای تمامی لوکوس ها و در هر جمعیت بین ۴/۶۶۷ (خوزستان) و ۶/۳۳۳ (بندرعباس) بوده و میانگین آلل‌های مؤثر برای تمامی لوکوس ها و در هر جمعیت بین ۳/۶۲۱ (دیر) و ۴/۵۵۹ (بندرعباس) می‌باشد. میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده بین ۰/۴۹۳ (دیر) و ۵۱۳/. (خوزستان) و میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده برای تمامی لوکوس‌ها و جمعیت‌ها، ۰/۵۰۰ نشان داده شد. بالاترین میزان شاخص شانون برای جمعیت بندرعباس (۱/۳۵۲) و پایین‌ترین میزان برای جمعیت خوزستان (۱/۲۲۲) بدست آمد (جدول ۲).

بررسی میزان انحراف از تعادل هاردی–واینبرگ به کمک آزمون مربع کای ($P<0/05$) نشان داد همه جمعیت‌ها در تمامی لوکوس‌ها به استثنای جمعیت خوزستان در لوکوس *Em-10* خارج از تعادل هاردی–واینبرگ هستند. بیشترین میزان F_{st} و کمترین میزان جریان ژنی بر اساس آزمون AMOVA در سطح خطای ۱٪، بترتیب ۰/۰۸۶ و ۲/۶۲۵ بین جمعیت‌های خوزستان و بوشهر، همچنین کمترین میزان F_{st} و بیشترین میزان جریان ژنی بترتیب ۰/۰۳۴ و ۷/۰۷۰ بین جمعیت‌های دیر و بندرعباس گزارش شد (جدول ۳).

Archive of SID

www.SID.ir

جدول۲- میانگین پارامترهای ژنتیکی برای تمامی لوکوس ها در هر جمعیت

جمعیت	N	N_a	N_e	I	H_o	H_e	F
خوزستان	۳۰/۰۰۰	۴/۶۶۷	۳/۲۷۱	۱/۲۲۲	۰/۵۱۳	۰/۶۵۵	۰/۲۶۷
بوشهر	۳۰/۰۰۰	۵/۸۳۳	۳/۷۲۱	۱/۲۷۵	۰/۴۹۴	۰/۶۳۵	۰/۳۳۵
دیر	۳۰/۰۰۰	۵/۰۰۰	۳/۶۲۱	۱/۲۶۹	۰/۴۹۳	۰/۶۴۵	۰/۳۶۸
بندرعباس	۳۰/۰۰۰	۶/۳۳۳	۴/۵۵۹	۱/۳۵۲	۰/۵۰۰	۰/۶۶۱	۰/۳۶۵
میانگین	۳۰/۰۰۰	۵/۴۵۸	۳/۷۹۳	۱/۲۸۰	۰/۵۰۰	۰/۶۴۹	۰/۳۳۴

N = تعداد نمونه‌ها، Na = تعداد آلل‌های واقعی، Ne = تعداد آلل‌های مؤثر، I = شاخص تنوع شانون، H_o = هتروزیگوسیتی مشاهده شده، H_e = هتروزیگوسیتی مورد انتظار

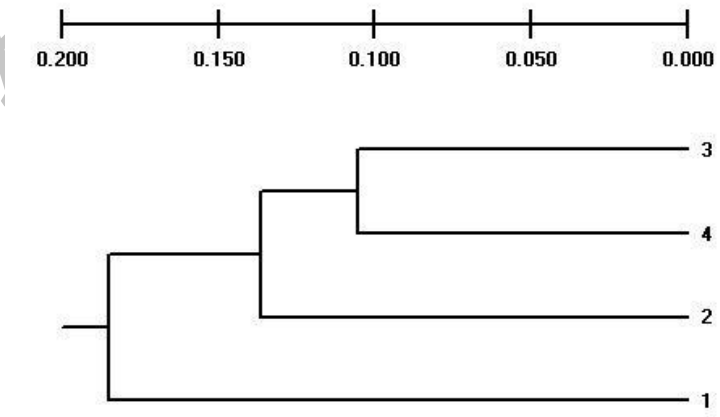
جدول۳- میزان جریان ژنی و F_{st} بین جمعیت های مناطق خوزستان، بوشهر، دیر و بندرعباس بر اساس آزمون AMOVA در سطح خطای ۱٪ (مقادیر زیر خط قطری نشان دهنده مقدار F_{st} و مقادیر بالای خط قطری نشان دهنده میزان جریان ژنی می باشد).

مناطق	خوزستان	بوشهر	دیر	بندرعباس
خوزستان	***	۲/۶۵۲	۵/۲۹۴	۳/۵۰۸
بوشهر	۰/۰۸۶	***	۵/۰۱۳	۵/۲۰۴
دیر	۰/۰۴۵	۰/۰۴۸	***	۷/۰۷۰
بندرعباس	۰/۰۶۷	۰/۰۴۶	۰/۰۳۴	***

ماتریکس جفت جمعیتی فاصله ژنتیکی بر اساس معیار Nei نیز بیشترین فاصله ژنتیکی را بین جمعیت‌های بوشهر و خوزستان (۰/۲۲۶) و کمترین فاصله ژنتیکی را بین جمعیت‌های دیر و بندرعباس (۰/۱۰۵) نشان داد (جدول۴). دندوگرام فاصله ژنتیکی بر اساس معیار Nei با استفاده از نرم‌افزار TFPGA نیز این مسئله را نشان داد (شکل۲).

جدول۴- ماتریکس جفت جمعیتی فاصله ژنتیکی بر اساس معیار ۱۹۷۲ Nei,

جمعیت ها	خوزستان	بوشهر	دیر	بندرعباس
خوزستان	۰/۰۰۰	-	-	-
بوشهر	۰/۲۲۶	۰/۰۰۰	-	-
دیر	۰/۱۶۹	۰/۱۳۴	۰/۰۰۰	-
بندرعباس	۰/۱۵۹	۰/۱۳۸	۰/۱۰۵	۰/۰۰۰



شکل۲. دندوگرام فاصله ژنتیکی بر اساس معیار ۱۹۷۲ Nei, (۱: خوزستان، ۲: بوشهر، ۳: دیر، ۴: بندرعباس).

Archive of SID
www.SID.ir

بحث و نتیجه گیری

تعداد افرادی که در هر نمونه‌برداری انتخاب می‌شوند، نکته مهمی در مطالعه ژنتیک جمعیت‌ها و ساختارشان است. در مطالعه‌ای مشابه بر روی هامور معمولی در آبهای تایلند، محققان تعداد۵۰-۳۰ نمونه به ازای هر ایستگاه انتخاب کردند (۴)، این تعداد در برخی پژوهش‌ها کمتر (۲۴) و در برخی دیگر بیشتر است (۱، ۲ و ۱۱). بر اساس نظریه O'Connell تعداد ۵۰ نمونه و شناسایی ۱۰-۵ آلل در کل برای مطالعه ساختار جمعیت‌ها کافی است (۱۹). بنابراین تعداد ۳۰ نمونه صید شده از هر ایستگاه و در مجموع انتخاب ۱۲۰ نمونه برای این مطالعه مناسب بوده است.

همان طور که ذکر شد بدلیل طراحی نشدن پرایمر اختصاصی *E. coioides*، از پرایمرهای اختصاصی گونه‌های نزدیک یعنی *E. mera* و *E. quernus* استفاده شد. استفاده از پرایمر گونه‌های نزدیک در مطالعات ممکن است موجب بروز اشتباهاتی نظیر جهش‌های نقطه‌ای یا بروز آلل‌های نول شود (۱۰). بنابراین این مسئله از محدودیت‌های مطالعه حاضر و مطالعات مشابه بوده، لذا تلاش برای طراحی و ساخت آغازگرهای اختصاصی گونه مورد مطالعه توصیه می‌شود. آزمون مربع کای نشان داد تمامی جمعیت-ها در تمامی لوکوس‌ها باستثنای یک مورد خارج از تعادل هاردی-واینبرگ هستند. جمعیت‌ها احتمالاً بدلیل فراوانی هموزیگوت‌ها، خارج از تعادل هاردی-واینبرگ هستند. درون آمیزی، در نتیجه جمعیت موثر کوچک و یا تعداد نامساوی والدین نر و ماده ممکن است دلایل انحراف از تعادل باشند (۴، ۸ و ۲۶). حضور آلل‌های نول در برخی لوکوس‌ها و جمعیت‌ها می‌تواند از دیگر دلایل این امر محسوب شود (۸ و ۲۶). گاهی اوقات فراوانی هموزیگوت‌ها و انحراف از تعادل ممکن است بدلیل حضور افراد کاملاً خویشاوند در نمونه باشد که نمی‌توانند معرفی از کل جامعه باشند (۱۵).

میزان هتروزیگوسیتی و تعداد آلل‌های مشاهده شده (H_o = ۰/۴۹۳ – ۰/۵۱۳ ؛N_a =۴/۶۶۷ – ۶/۳۳۳) در هامور معمولی تقریباً با آنچه در دیگر گونه‌های epinephelin گزارش شده همخوانی دارد (۱۷ و ۲۱). از سوی دیگر با وجود اینکه لاروهای ماهی تقریباً ساکن هامور معمولی، پلاژیک‌اند و توانایی ذاتی پراکنش بالایی دارند، در مقایسه با ماهیان مهاجر نظیر yellowtail king fish با H_o=۰/۷۲۹ (۱۸) و یا شیر ماهی با H_o=۰/۹۸۸ (۳) هتروزیگوسیتی نسبتاً پایینی دارند.

ساختار جمعیتی هامور معمولی (F_{st} =۰/۵۴) در مقایسه با آنچه در ماهیان پلاژیک گزارش شده، yellowtail kingfish با F_{st} = ۰/۰۴۶ (۱۸) و شیر ماهی با F_{st} = ۰/۰۳۱ (۳) و در مقایسه با گونه‌های کفزی نظیر vermillion snapper با F_{st} = ۰/۰۰۴ (۵) و dusky grouper با ۰/۰۱۸ = F_{st} (۷)، قویتر است. این ساختار جمعیتی قوی پیشنهاد می‌کند که جمعیت هامور ماهیان کوچک و قرنطینه است و دلبستگی به زیستگاه و حس قلمرو طلبی در نرها بالاست (۴ و ۹). چنین خصوصیاتی موجب تمایز جمعیت‌ها می-شود.

بطور کلی تمایز ژنتیکی در میان جمعیت‌های مورد مطالعه پایین است و این مسئله می‌تواند موجب کاهش سازش پذیری این موجود در مقابل تغییرات محیطی شود. دندروگرام فاصله ژنتیکی چکیده‌ای از تمام پارامترها را نشان می دهد. طبق این نمودار دیر و بندرعباس نزدیکترین جمعیت‌ها به هم بوده و خوزستان دورترین جمعیت از سایرین است. گرچه تمایز ژنتیکی بین جمعیت‌ها کم است اما این واقعیت که جمعیت خوزستان نسبتاً از سایر جمعیت‌ها جدا شده واضح و آشکار است. تخریب زیستگاه، بستر متفاوت، آلودگی محیط و فشارهای زیست محیطی بطور کلی، می توانند از دلایل عمده وقوع چنین پدیده‌ای باشند. از سوی دیگر بندرعباس متنوع‌ترین جمعیت مورد مطالعه است. بنابراین اعمال مدیریت

Archive of SID
www.SID.ir

جداگانه بر این جوامع منطقی بنظر می‌رسد. ایجاد محدودیت های صیادی در دوره تخم ریزی، پایش اثرات طبیعی و فعالیت‌های انسانی بر جوامع وحشی هامور معمولی فواید انکارناپذیری در بر خواهد داشت.

تشکر و قدردانی

ضمن تشکر از اساتید و کارکنان مرکز مطالعات و پژوهشهای خلیج فارس و دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، از زحمات بی شائبه مهندس مصطفی کامیاب که در تمامی مراحل این پژوهش همراه ما بودند همچنین مهندس محمد رضا صحرائیان، مهندس مجتبی نادری و مهندس صدرالدین مقدم که در مرحله نمونه‌برداری ما را یاری نمودند قدردانی می‌گردد.

منابع

۱. ابدالی، ن.، حسینی مزینانی، م.، عطایی، س.، حسینی، س. م.، و نقوی، م. ر.، ۱۳۹۰. بررسی میزان تنوع در چهار رقم زیتون ایرانی بامطالعه صفات مورفولوژیک و نشانگرهای مولکولی RAPD. مجله زیست شناسی ایران. جلد ۲۴، شماره ۶. صفحات ۸۷۹–۸۶۸.

۲. حاجی کرم، م.، نقوی، م. ر.، طالعی، ع. ر.، و آقایی، م. ج.، ۱۳۹۰. بررسی تنوع ژنتیکی نمونه‌های *Aegilops tauschii* نواحی شمالی ایران با استفاده از نشانگرهای SSR. مجله زیست شناسی ایران. جلد ۲۴، شماره ۳. صفحات ۳۹۹–۳۹۰.

۳. عابدی، ا.، ذوالقرنین، ح.، سالاری علی آبادی، م. ع.، محمدی، م.، و قاسمی، س. ا.، ۱۳۸۹. بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های شیر-ماهی *Sccomberomorus commerson* در خلیج فارس با استفاده از نشانگرهای میکروستلایت. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر. ۱۰۹ ص.

4. Antoro, S., Na-Nakorn, U., and Koedprang, W., 2006. Study of Genetic Diversity of Orange-Spotted Grouper, *Epinephelus coioides*, from Thailand and Indonesia Using Microsatellite Markers. *Marine Biotechnology*, 8: 17–26.

5. Bagley, M. J., Linquist, D. G., and Geller, J. B., 1999. Microsatellite Variation, Effective Population Size, and Population Genetic Structure of Vermillion Snapper, *Rhomboplites aurorubens*, off the Southeastern USA. *Marine Biology*, 134: 609620.

6. Cornish, A., and Harmelin-Vivien, M., 2004. *Epinephelus coioides*. 2006 IUCN Red List of Threatened Species.

7. De Innocentiis, S., Sola, L., Cataudela, S., and Bentzen, P., 2001. Allozyme and Microsatellite Loci Provide Discordant Estimates of Population Differentiation in the Endangered Dusky Grouper (*Epinephelus marginatus*) within the Mediterranean Sea. *Mol Ecol*, 10: 2163–2175.

8. Garcia de Leon, F. J., Chiki, L., and Bonhomme, P., 1997. Microsatellite Polymorphism and Population Subdivision in Natural Populations of European Sea Bass, *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758). *Mol Ecol*, 6: 51–62.

9. Heemstra, P. C., and Randall, J. E., 1993. FAO Species Catalogue. Groupers of the World (Family Serranidae, Subfamily Epinephelinae). An Annotated and Illustrated Catalogue of the Grouper, Rockcod, Hind, Coral Grouper and Lyretail Species Known to Date. *FAO Fish. Synop*, 125(16), P: 382.

10. Jarne, P., and Lagoda, P. J. L., 1996. Microsatellites, from Molecules to Populations and Back. *Trends in Ecology and Evolution*, 11: 424-429.

11. Larsson, L. C., Liker, L., Palm, S., Andre, C., Carvalho, G. R., and Ryman, N., 2007. Concordance of Allozyme and Microsatellite Differentiation in a Marine Fish, but Evidence of Selection at a Microsatellite Locus. *Molecular Ecology*, 16: 1135–1147.

12. Liua, Z. J., and Cordes, J. F., 2004. DNA Marker Technologies and Their Applications in Aquaculture Genetics. *Aquaculture*, 238 (2004). 1 –37.

13. Miller, M. P., 1997. Tools for Population Genetic Analysis (TFPGA) version 1.3. A Window Program for the Analysis of Allozyme and Molecular Population Genetic Data.

14. Murgia, C., Pritchard, J. K., Kim, S. Y., Fassati, A., and Weiss, R. A., 2006. Clonal Origin and Evolution of a Transmissible Cancer. *Cell*, 126(3): 477-87.

15. Na-Nakorn, U., Kamonrat, W., and Ngamsiri, T., 2004. Genetic Diversity of Walking Catfish, *Clarias macrocephalus*, in Thailand and

Archive of SID
www.SID.ir

Evidence of Genetic Introgression from Introduced Farmed *C. gariepinus*. *Aquaculture*, 240: 145–163.

16. Nei, M., 1972. Genetic Distance Between Populations. *American Naturalist*, 106: 283-292.
17. Nugroho, E., Takagi, M., Sugama, K., and Taniguchi, N., 1998. Detection of GT Repeats Microsatellite Loci and Their Polymorphism for Grouper of the Genus *Epinephelus*. *Fish Sci*, 64: 836–837.
18. Nugroho, E., Ferrel, D. J., Smith, P., and Taniguchi, N., 2001. Genetic Divergence of Kingfish from Japan, Australia and New Zealand Inferred by Microsatellite DNA and Mitochondrial DNA Control Region Markers. *Fish Sci*, 67: 843–850.
19. 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. *Fish Biology*, 47: 910-913.
20. 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.
21. Rivera, M. A. J., Graham, G. C., and Roderick, G. K., 2003. Isolation and Characterization of Nine Microsatellite Loci from the Hawaiian Grouper *Epinephelus quernus* (Serranidae) for Population Genetic Analyses. *Mar Biotechnol*, 5: 126–129.
22. Salari Aliabadi, M. A., Rezvani Gilkolaei, S., Savari, A., Zolgharnian, H., and Nabavi, S. M. B., 2009. Population genetic structure of cobia (*Rachycentron canadum*) revealed by microsatellite DNA markers. *Journal of Applied Biological Sciences*, 3 (1): 96-100.
23. Schlottere, C., 2000. Evolutionary Dynamics of Microsatellite DNA. Springer-Verlag. London. U.K.
24. Shaowu, Y., Jingqiu, L., Hai Guohua, Ch., Ben, Zh., and Shu, Y., 2008. Genetic Polymorphism of Microsatellite DNA of Natural and Cultured Populations of *Epinephelus malabaricus* in the Sea Close to Hainan, China. *Chin J Appl Environ Biol*, 14 (2): 215-219.
25. Taniguchi, N., and Nugroho, E., 2000. Genetic Characteristics of Introduced Fishes and Study of Genetic Evaluation of Fish Genetics and Breeding. (Japan: Japan Seawater Fisheries Cultivation Association) (In Japanese). 141–188.
26. Valles-Jimenez, R., Cruz, P., and Perez-Enriquez, R., 2005. Population Genetic Structure of Pacific White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) from Mexico to Panama: Microsatellite DNA Variation. *Marine Biotechnology*, 6: 475–484.

Archive of SID

www.SID.ir

Survey of Population Structure of Orange-spotted Grouper, *Epinephelus coioides* (Hamilton, 1822), Using Microsatellite Markers in the Persian Gulf

Ghanaatian H.[1], Salari Aliabadi M.A.[1], Mohammadi M.[2], Zolgharnein H.[1], Ghasemi S.A.[2]

[1] **Marine Biology Dept., Faculty of Marine Science, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr, I.R. of Iran**

[2] **Marine Biotechnology Dept., Persian Gulf Research and Study Center (PGRSC), Bushehr, I.R. of Iran**

Abstract

Population structure of *Epinephelus coioides* (Hamilton, 1822), Orange-spotted grouper, was studied based on six polymorphic microsatellite loci in the Persian Gulf waters. 3-5 gr of each individual's soft tissue were prepared through 120 hunted individuals of 4 sampling stations. DNA extraction was performed using a standard ammonium/acetate method. Quantification and quality control of DNA were done using spectrophotometery method and 1% agarose gel electrophoresis. DNA fragments was amplified via PCR and the products were run on polyacrylamide gel. Staining of the gels was performed through silver nitrate. Statistical analysis represented mean of genetic parameters include real and effective alleles, observed and expected heterozygosity for over loci in all populations, 5.458, 3.793, 0.500 and 0.649 respectively. The AMOVA test showed maximum rate of F_{st} (0.086) and minimum rate of N_m (2.652) between Khuzestan and Bushehr populations; Also minimum rate of F_{st} (0.034) and maximum rate of N_m (7.070) were between Dayyer and Bandar-Abbas populations. Khuzestan was the ultimate population and results were showed an intermediate separation from other studied populations; thereby separated fisheries management is recommended.

Key words: Population structure, Genetic diversity, Microsatellite, Persian Gulf, *Epinephelus coioides*.

Archive of SID

www.SID.ir