

بررسی مولکولی جمعیت ماهی سوکلا *Rachycentron Canadum* در آب های شمالی خلیج فارس و دریای عمان با استفاده از ژن NADH dehydrogenase subunit ۲ (ND۲)

مریم طلا^{۱*}، منصور آزاد^۱، فرامرز لالویی^۲، سعید تمدنی جهرمی^۳، محمد جواد تقوی^۲

۱- گروه شیلات، واحد قشم، دانشگاه آزاد اسلامی، قشم ایران

۲- پژوهشکده اکولوژی دریای خزر- ساری

۳- پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان - بندر عباس

چکیده

سابقه و هدف: ماهی سوکلا *Rachycentron Canadum* از جمله ماهیان استخوانی خلیج فارس و دریای عمان است که از نظر اقتصادی حائز اهمیت می باشد. در مطالعه حاضر، بررسی جمعیت و تعیین میزان تنوع ژنتیکی این گونه به منظور حفظ تنوع زیستی و معرفی ژنوتیپ های احتمالی موجود در مناطق عمده صید و پراکنش آن جهت اعمال مدیریت صحیح بر ذخایر این گونه مهم و اقتصادی انجام گردید. **مواد و روش ها:** در این مطالعه ماهیان چهار منطقه از لحاظ ژنتیکی مورد ارزیابی قرار گرفتند. به این منظور ۱۲۰ عدد ماهی سوکلا از سواحل شمالی خلیج فارس و دریای عمان جمع آوری گردید. DNA با روش فنل- کلروفرم از بافت باله پشتی استخراج شد و واکنش PCR با استفاده از یک جفت آغازگر اختصاصی (پرایمر) بر اساس توالی نوکلئوتیدی ژن ND۲ (NADH dehydrogenase subunit ۲) طراحی گردید و سپس محصول PCR متعلق به ۵۴ عدد ماهی سوکلا برای مطالعه تنوع جمعیتی این گونه تعیین توالی شد.

یافته ها: نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که میزان تنوع هاپلوتیپی در درون جمعیت نمونه های بوشهر $0/00 \pm 0/00$ و در نمونه های سیستان و بلوچستان $0/00 \pm 0/03$ و میانگین دو منطقه $0/00 \pm 0/15$ بود. هم چنین میزان تنوع هاپلوتیپی در درون جمعیت نمونه های خوزستان $0/00 \pm 0/04$ ، در نمونه های هرمزگان $0/00 \pm 0/04$ و میانگین دو منطقه $0/00 \pm 0/04$ بود. همین طور میزان تنوع هاپلوتیپی در درون جمعیت نمونه های خوزستان $0/00 \pm 0/04$ و در نمونه های بوشهر $0/00 \pm 0/00$ و میانگین دو منطقه $0/00 \pm 0/02$ بود. هم چنین میانگین مناطق سیستان و بلوچستان و هرمزگان $0/00 \pm 0/035$ و میانگین مناطق بوشهر و هرمزگان $0/00 \pm 0/02$ ارزیابی گردید. در این پژوهش، در منطقه هرمزگان ۸، سیستان و بلوچستان ۴، بوشهر ۴ و در خوزستان ۵ هاپلوتیپ مشاهده شد که بیش ترین تنوع هاپلوتیپی در درون جمعیت ها به ترتیب در آب های هرمزگان و خوزستان و کم ترین تنوع هاپلوتیپی در بوشهر و سیستان و بلوچستان مشاهده گردید.

بحث: در بین هاپلوتیپ های مشاهده شده، چند هاپلوتیپ از منطقه خوزستان در یک شاخه Clade جداگانه از دیگر مناطق (هرمزگان، سیستان و بلوچستان و بوشهر) قرار گرفت که می توان استنباط کرد این گونه غیر مهاجر دارای جریان ژنی کم تری در منطقه خوزستان نسبت به مناطق دیگر مورد مطالعه می باشد. این درجه از تمایز ژنتیکی را می توان به اثر عواملی مانند ساختار هیدرودینامیک منطقه (جریان های دریایی) بین تنگه هرمز و گواتر، وجود جریان گردابی در خلیج عمان و هم چنین وجود جنگل های انبوه حرا به عنوان یکی از مهم ترین مناطق از لحاظ منطقه نوزاد گاهی برای لاروهای ماهی و میگو نسبت داد.

کلمات کلیدی: ماهی سوکلا *Rachycentron Canadum*، ژن ND۲ (NADH dehydrogenase subunit ۲)، خلیج فارس و دریای عمان، تعیین توالی

مقدمه

لیکن از تنوع زیستی بالایی برخوردار است، به طوری که زیستگاه ۴۰۰ تا ۴۵۰ گونه ماهی و بیش از ۳۰۰ تا ۴۵۰ نوع دیگر آبزیان به شمار می آید و همین موضوع باعث شده است که خلیج فارس از نظر تنوع زیستی در ردیف مناطق کم نظیر معرفی گردد (۵). در حال حاضر، تعداد زیادی از ماهیان خلیج فارس مورد بهره برداری

خلیج فارس با وجود مشکلات محیطی و اقلیمی قابل توجه،

* نویسنده مسئول:

قشم، خیابان فرمانداری، میدان نریمان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بین الملل قشم

پست الکترونیکی: M_Tala2002@Yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۰۷/۰۸

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۷/۰۵

شده است (۱۶). در این بین، روش استفاده از تفاوت در توالی های DNA، به دور از هر گونه اشتباه و از دقیق ترین روش ها در مطالعه ها تنوع ژنتیکی و ژنتیک جمعیت و طبقه بندی موجودهای می باشد.

مولکول mtDNA می تواند اطلاعات گذشته که مربوط به چگونگی انتخاب از اجزاء می باشد را در خود نگه دارد. اصولا اختلاف ژنتیکی بین جمعیت ها، در نتیجه جمع شدن و انبوه شدن افراد در یک منطقه ایجاد می گردد (۶). عناصر ژنوم میتوکندری برخلاف ژنوم هسته، در هنگام میوز از دو سر نو ترکیبی نمی یابند و تمام افراد، mtDNA مشابه والد ماده خود را حمل می کنند. این ترکیبات به استثنای زمان جهش زائی، فقط به یک نوع منفرد از مولکول به ارث می رسند و می توانند برای ارزیابی وابستگی بین جمعیت ها به کار روند (۱۸). این مزیت به دلیل توارث مادر زادی و تکامل سریع mtDNA می باشد. تخمین زده می شود که میزان تکامل mtDNA در پستانداران ۵ تا ۱۰ بار سریع تر از بخش مشابه در ژنوم هسته باشد. از سوی دیگر mtDNA حاوی اطلاعاتی است که در نشان گرهای هسته نمی توانند نگه داری شوند (۸).

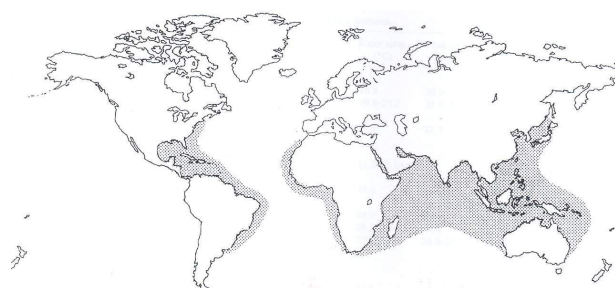
تحقیق حاضر که در جهت مقایسه تنوع ژنتیکی و شناخت ذخایر ژنی ماهی سوکلا انجام گردید، از اولین تحقیقاتی است که در آب های جنوبی ایران با استفاده از روش ژنتیکی پیشرفته تعیین توالی یا توالی یابی^۱ انجام گردیده است و اولین پژوهش انجام شده با استفاده از این روش در ماهی سوکلا می باشد.

امروزه جمعیت ماهی سوکلا در اکثر اکوسیستم های جهان و از جمله خلیج فارس و دریای عمان به علت صید غیر مجاز به شدت کاهش یافته است و ذخایر باقی مانده نیز به دلیل تخریب بسترهای تخم ریزی و فشار صید بی رویه، صید غیر قانونی و آلودگی، با مشکلاتی مواجه می باشد، لذا تکثیر طبیعی این ماهی از جمله در حوضه شمالی خلیج فارس و دریای عمان به حداقل رسیده است و از آنجا که طبق تصمیمات کنوانسیون CITES^۲ کشورهای مشترک در یک اکوسیستم آبی باید سهمیه سالانه برای هر یک از گونه های خود بر اساس نتایج گشت ارزیابی ذخایر تعیین نمایند، احتمال می رود در آینده تعیین سهمیه برای هر یک از گونه ها بر مبنای جمعیت های شناسائی شده صورت پذیرد. گسترش برنامه های مدیریتی و انجام فعالیت های بازسازی ذخایر ماهی سوکلا هنگامی می تواند مفید باشد که تنوع ژنتیکی ساختار جمعیت این گونه درک شود، زیرا این اطلاعات در انتخاب جمعیت های دهنده ژن در تکثیر مصنوعی

اقتصادی قرار دارند و بیشینه برداشت پایدار ذخایر ماهیان، از اهداف مدیریت شیلاتی است که دستیابی به آن، نیازمند آگاهی از ذخایر این ماهیان می باشد.

خانواده *Rachycentridae* یکی از قدیمی ترین و ابتدایی ترین ماهیان استخوانی است که تنها دارای یک گونه به نام سوکلا *Rachycentron canadum* می باشد. ماهی سوکلا که سطح زی و دارای رشد سریعی است، ساکن مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری و آب های گرم معتدله، به غیر از شرق اقیانوس آرام و دریای مدیترانه می باشد. این ماهی در غرب اقیانوس اطلس از ایالت ماساچوست تا آرژانتین، در شرق اقیانوس اطلس از جنوب موروکو تا جنوب آفریقا، در غرب اقیانوس آرام از ژاپن تا استرالیا دیده می شود و بیش ترین فراوانی را در خلیج مکزیک دارد (شکل ۱) (۲۰ و ۹ و ۲۲). فراوانی این گونه در فصول مختلف، متفاوت است و در زمستان، فراوانی بیش تری در مناطق گرمسیری دارد. این ماهی در ایران در سراسر دریای عمان و بخش شرقی خلیج فارس تا بوشهر پراکنش دارد (۳).

ماهی سوکلا دارای پروتئین با ارزش بالایی می باشد و به خاطر کیفیت بسیار خوب گوشت، یکی از بهترین گونه ها جهت آبی پروری محسوب می شود (۷).



شکل ۱- پراکنش جغرافیایی ماهی سوکلا

اقتباس از: Shaffer and Nakamura, 1989

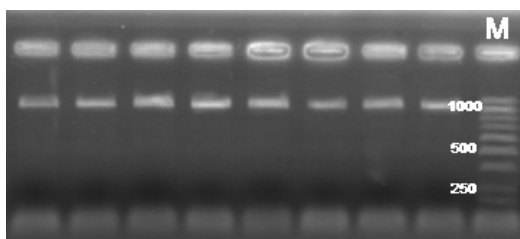
یکی از روش های مورد استفاده جهت ارزیابی ساختار ذخایر، هم چنین تشخیص گونه ها، جمعیت ها و نژادها، استفاده از صفات مرفومتريک و مریستیک نظیر طول بدن و تعداد فلس روی خط جانبی می باشد، اما به دلیل حساسیت زیاد صفات مرفومتريک و مریستیک به تغییر های محیطی و نیز اثر منفی دست کاری هنگام نشانه گذاری بر سلامت و بقای ماهیان و هم چنین محدود بودن تفسیر داده های نشانه گذاری در زمان جمع آوری آن ها، همگام با پیشرفت علم استفاده از نشان گرهای مولکولی مانند ریزماهوره، آلوزایم، **RFLP**، **AFLP**، **RAPD** که متأثر از عوامل محیطی نمی باشند، جهت شناسایی ساختار ژنتیکی ذخایر بیش از پیش رایج

1- Sequencing
2- Convention on International Trade Endangered Species of Fauna and Flora

پس از انجام آزمایش های فوق، ۱۲۰ نمونه محصول PCR به دست آمده به فریزر با دمای ۲۰- درجه سانتی گراد انتقال یافتند. سپس ۶۰ نمونه محصول PCR جهت تعیین توالی به شرکت تکاپو زیست ارسال گردید و تعیین توالی با روش خاتمه زنجیره با دی داکسی (ddNTP) انجام گردید. در این پژوهش، نتایج حاصل از تعیین توالی مربوط به ۵۴ نمونه از ۶۰ نمونه محصول PCR ارسالی به شرکت تکاپو زیست مورد بررسی قرار گرفت. در نهایت داده های به دست آمده از تعیین توالی قطعه ۹۵۰ جفت بازی ژن NADH میتوکندریایی با استفاده از نرم افزارهای Bio Edit و MEGA۴ مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج

در این مطالعه، آغازگرهای اختصاصی در واکنش PCR به خوبی عمل کرده و باعث تکثیر قطعه ژن میتوکندریایی مورد نظر (NADH ND۲) گردیدند. در نهایت تمامی نمونه ها، یک باند ویژه با وزن مولکولی ۱۱۰۰ جفت باز (bp) نشان دادند. کیفیت باند نمونه های محصول PCR، بر روی ژل آگارز ۲ درصد بررسی گردید و وزن مولکولی آن ها از طریق مقایسه با مارکر مولکولی bp ۵۰ تخمین زده شد. شکل ۲، تعدادی از باندهای محصول PCR نمونه های مورد مطالعه را نشان می دهد.



شکل ۲- تعدادی از محصول PCR های به دست آمده از نمونه های DNA در ماهی سوکلا

شکل ۳، درخت فیلوژنی که بر اساس فاصله ژنتیکی (۱۵) و به روش Neighbor-joining رسم شده را نشان می دهد. با توجه به درخت فیلوژنی مشخص می شود که نمونه های منطقه بوشهر و سیستان و بلوچستان به طور تقریب در دو شاخه جداگانه قرار گرفته اند و نمونه های هرمزگان و خوزستان نیز در شاخه های متعدد جای گرفته اند. همان گونه که مشاهده می شود، دو نمونه از هرمزگان و دو نمونه از خوزستان در دو شاخه کاملاً مجزا قرار گرفته اند. از مجموع ۵۴ نمونه مورد بررسی ۱۸ هاپلوتیپ جداسازی گردید که از لحاظ آماری قابل توجه می باشد. نتایج به دست آمده در این مطالعه نشان داد که میزان تنوع هاپلوتیپی در درون جمعیت نمونه های بوشهر 0.10 ± 0.03 در نمونه های سیستان و بلوچستان 0.10 ± 0.03 و میانگین دو منطقه 0.15 ± 0.03 بود. هم چنین میزان تنوع

از لحاظ تعیین ساختار جمعیت و نیز در بازسازی ذخایر ضروری به نظر می رسد. لذا تحقیق حاضر با اهداف کلی شناسایی ساختار ژنتیکی جمعیت ماهی سوکلا و هم چنین تعیین میزان تنوع ژنتیکی و فاصله ژنتیکی در درون و بین جمعیت های مختلف احتمالی در هر یک از مناطق مختلف نمونه برداری در آب های شمالی خلیج فارس و دریای عمان بر اساس روش مولکولی توالی یابی با استفاده از ژن ND۲ انجام گردید.

مواد و روش ها

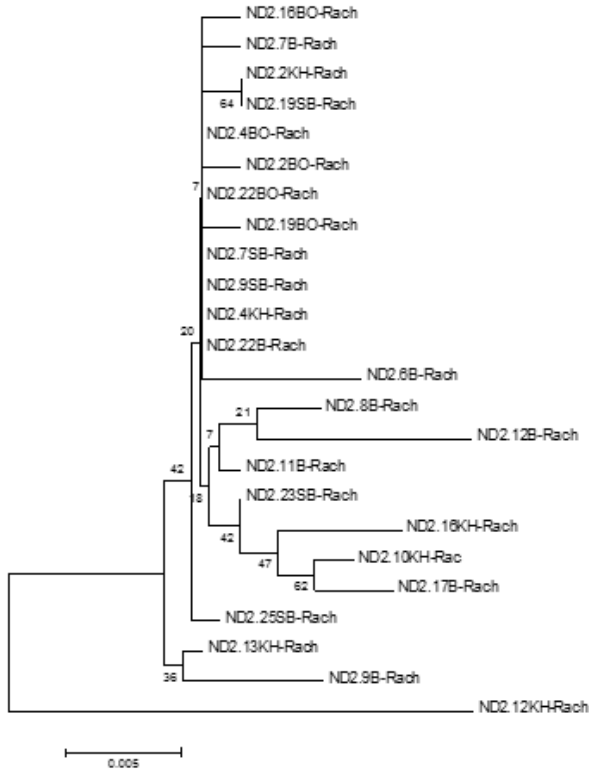
در این بررسی پس از مطالعه اولیه و تعیین ایستگاه ها، ۳ تا ۵ گرم از بافت نرم انتهای باله سینه ای و باله پشتی ۱۲۰ عدد ماهی سوکلا نمونه برداری گردید. این ماهی ها از صیدگاه های چهار استان سیستان و بلوچستان، هرمزگان، بوشهر و خوزستان که به عنوان ایستگاه های تحقیقاتی مورد نظر قرار گرفتند، صید شده بودند. نمونه های باله در اتانول خالص فیکس گردیدند و برای انجام آزمایش های ژنتیکی به آزمایشگاه بیوتکنولوژی پژوهشکده اکولوژی دریای خزر واقع در شهرستان ساری منتقل گردیدند. تعداد نمونه های مورد مطالعه، ۳۰ عدد در هر استان بود.

در این پژوهش، استخراج DNA به روش فنل- کلورفرم و از طریق شکستن سلول ها و جدا نمودن پروتئین ها و هیدرات های کربن از اسیدهای نوکلئیک و در نهایت رسوب دادن DNA از بافت ها با اتانول مطلق انجام گردید (۱۱).

جهت تکثیر قطعه ژن هدف و انجام واکنش زنجیره ای پلیمرز یا PCR (۱۴)، درون هر یک از ۱۲۰ تیوب حاوی ۱۰۰ نانوگرم DNA استخراجی، ۱ میکرولیتر از جفت آغازگرهای اختصاصی ماهی سوکلا که طراحی شده بود (۳۰ پیکومول)، ۰/۵ میکرولیتر dNTP (۱۰ میلی مولار)، ۰/۲ میکرولیتر Taq (۵۰ μ)، ۲/۵ میکرولیتر بافر PCR (X1۰) و ۰/۸ میکرولیتر MgCl₂ (۵۰ میلی مولار) افزوده شد و در نهایت حجم هر تیوب، با افزودن آب مقطر به ۲۵ میکرولیتر رسانده شد. سپس تیوب ها به مدت ۱۰ ثانیه سانتریفوژ شده و در ترموسایکلر قرار گرفتند. سیکل حرارتی مورد استفاده در دستگاه PCR عبارت بود از: سیکل اولیه شامل دمای ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۳ دقیقه و در پی آن، ۳۰ سیکل شامل دماهای واسرشته سازی denaturation ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال annealing ۴۵ ثانیه در دماهای اختصاصی ۵۵ تا ۶۳ درجه سانتی گراد، بسط و تکثیر extension ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۱ دقیقه و در آخر دمای تکثیر نهایی ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه. در نهایت، محصول PCR استحصالی، به منظور بررسی وجود و سنجش کیفیت آن، با استفاده از ژل آگارز ۲ درصد مورد ارزیابی قرار گرفت.

و بوشهر ۴ هاپلوتیپ، در منطقه خوزستان ۵ هاپلوتیپ و در منطقه هرمزگان (بندر عباس) ۸ هاپلوتیپ مشاهده گردید. بیشترین تنوع هاپلوتیپی ماهی سوکلا در درون جمعیت ها به ترتیب در مناطق هرمزگان و خوزستان و کمترین تنوع هاپلوتیپی در منطقه بوشهر و سیستان و بلوچستان مشاهده گردید (شکل ۴ و جداول ۲ و ۳).

هاپلوتیپی در درون جمعیت نمونه های خوزستان 0.04 ± 0.00 ، در نمونه های هرمزگان 0.04 ± 0.00 و میانگین دو منطقه 0.04 ± 0.00 بود. همین طور میزان تنوع هاپلوتیپی در درون جمعیت نمونه های خوزستان $0.04 - 0.00$ ، در نمونه های بوشهر 0.00 ± 0.00 و میانگین دو منطقه 0.02 ± 0.00 بود. هم چنین میانگین مناطق سیستان و بلوچستان و هرمزگان 0.35 ± 0.00 و میانگین منطقه بوشهر و هرمزگان 0.02 ± 0.00 ارزیابی گردید (جدول ۲ و ۳).



شکل ۴- درخت فیلوژنی NJ با در نظر گرفتن هاپلوتیپ های تفکیک شده از توالی ها ژن ND2 متعلق به نمونه های خوزستان (KH)، بوشهر (BO)، بندر عباس (B) (هرمزگان) و سیستان و بلوچستان (SB).

جدول ۴- فاصله ژنتیکی Pairwise بر اساس آنالیز توالی های هم عرض شده از ژن ND2 متعلق به نمونه های خوزستان (KH)، بوشهر (BO)، بندر عباس (B) (هرمزگان) و سیستان و بلوچستان (SB)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	
1. ND2.28BO-Rach																									
2. ND2.4BO-Rach	0.002																								
3. ND2.16BO-Rach	0.003	0.002																							
4. ND2.19BO-Rach	0.003	0.002	0.003																						
5. ND2.29BO-Rach	0.002	0.000	0.002	0.002																					
6. ND2.2KH-Rach	0.003	0.002	0.003	0.003	0.002																				
7. ND2.4KH-Rach	0.002	0.000	0.002	0.002	0.000	0.002																			
8. ND2.19KH-Rach	0.003	0.007	0.003	0.003	0.007	0.007	0.007																		
9. ND2.12KH-Rach	0.030	0.029	0.030	0.030	0.029	0.029	0.029	0.036																	
10. ND2.13KH-Rach	0.005	0.003	0.005	0.005	0.003	0.003	0.011	0.029	0.012																
11. ND2.18KH-Rach	0.010	0.009	0.010	0.010	0.009	0.009	0.009	0.009	0.036	0.012															
12. ND2.8B-Rach	0.009	0.007	0.009	0.009	0.007	0.007	0.014	0.036	0.011	0.016															
13. ND2.7B-Rach	0.003	0.002	0.003	0.003	0.002	0.002	0.009	0.036	0.005	0.010	0.009														
14. ND2.8B-Rach	0.007	0.005	0.007	0.007	0.005	0.007	0.005	0.009	0.034	0.007	0.014	0.012	0.007												
15. ND2.8B-Rach	0.011	0.009	0.011	0.011	0.009	0.011	0.009	0.016	0.034	0.007	0.016	0.014	0.011	0.011											
16. ND2.11B-Rach	0.003	0.002	0.003	0.003	0.002	0.002	0.009	0.036	0.005	0.010	0.009	0.003	0.007	0.011	0.003										
17. ND2.12B-Rach	0.014	0.012	0.014	0.014	0.012	0.012	0.041	0.012	0.018	0.019	0.014	0.012	0.019	0.010	0.010										
18. ND2.17B-Rach	0.010	0.009	0.010	0.010	0.009	0.009	0.005	0.036	0.012	0.010	0.016	0.010	0.010	0.010	0.010	0.014									
19. ND2.23B-Rach	0.002	0.000	0.002	0.002	0.000	0.002	0.000	0.007	0.029	0.003	0.009	0.007	0.002	0.005	0.009	0.002	0.012	0.009							
20. ND2.25B-Rach	0.002	0.000	0.002	0.002	0.000	0.002	0.000	0.007	0.029	0.003	0.009	0.007	0.002	0.005	0.009	0.002	0.012	0.009	0.000						
21. ND2.25B-Rach	0.002	0.000	0.002	0.002	0.000	0.002	0.000	0.007	0.029	0.003	0.009	0.007	0.002	0.005	0.009	0.002	0.012	0.009	0.000	0.000					
22. ND2.19SB-Rach	0.003	0.002	0.003	0.002	0.003	0.002	0.009	0.036	0.005	0.010	0.009	0.003	0.007	0.011	0.003	0.014	0.010	0.002	0.002	0.002					
23. ND2.25SB-Rach	0.003	0.002	0.003	0.002	0.003	0.002	0.009	0.036	0.005	0.010	0.009	0.003	0.007	0.011	0.003	0.014	0.010	0.002	0.002	0.002	0.003				
24. ND2.25SB-Rach	0.003	0.002	0.003	0.002	0.003	0.002	0.009	0.036	0.005	0.010	0.009	0.003	0.007	0.011	0.003	0.014	0.010	0.002	0.002	0.002	0.003	0.003			

جدول ۲- تعداد هاپلوتیپ ها، تنوع هاپلوتیپی^۲ و تعداد سایت های پلی مورف در توالی های به دست آمده در هر منطقه

تعداد سایت های پلی مورف	تنوع هاپلوتیپی	تعداد هاپلوتیپ ها	منطقه
۱۳	۰/۹	۴	SB
۲۹	۱	۸	B
۵	۰/۹	۴	BO
۵	۱	۵	KH

SB=Sistan Balouchestan, BO= Booshehr, KH= Khuzestan, B= Bandar Abbass (Hormozgan)

جدول ۳- میزان تنوع هاپلوتیپی و میانگین مناطق

میانگین میزان تنوع هاپلوتیپی منطقه

0.02 ± 0.00 بوشهر

0.04 ± 0.00 خوزستان

0.02 ± 0.00 بوشهر

0.04 ± 0.00 هرمزگان

0.15 ± 0.00 بوشهر

0.03 ± 0.00 سیستان و بلوچستان

0.04 ± 0.00 خوزستان

0.04 ± 0.00 هرمزگان

0.35 ± 0.00 سیستان و بلوچستان

0.04 ± 0.00 هرمزگان

پس از رسم درخت فیلوژنی، در مناطق سیستان و بلوچستان

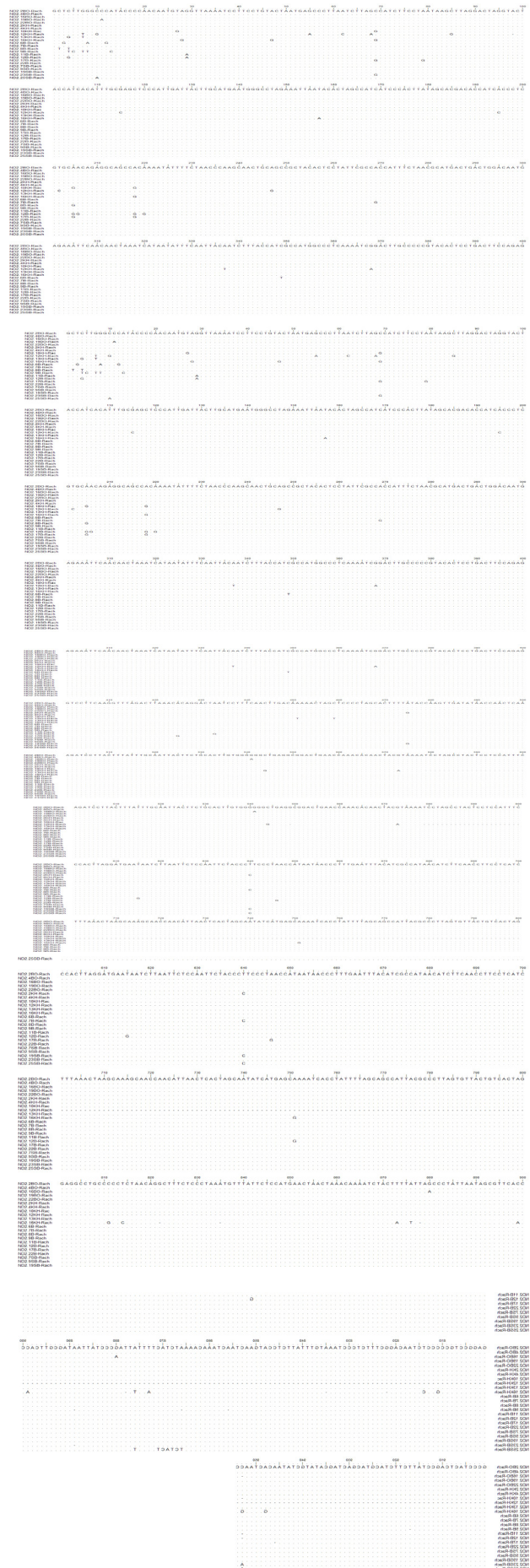
شکل ۵- توالی های هم عرض قرار گرفته و موارد جابجایی نوکلئوتیدی در زمینه ای از ۹۵۵ جفت باز از توالی های مورد استفاده در ارزیابی ژنتیکی نمونه های به دست آمده از مناطق مورد مطالعه با استفاده از ژن ND۲ در ماهی سوکلا مناطق خوزستان (KH)، سیستان و بلوچستان (SB)، بوشهر (BO) و بندر عباس (B) (هرمزگان)

بحث

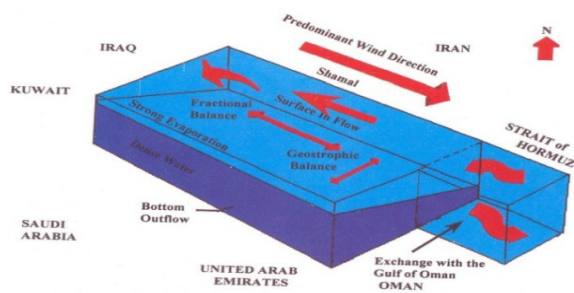
اعمال مدیریت بهینه و صحیح بر ذخایر آبزیان، نیازمند اطلاع و آگاهی از ساختار جمعیتی گونه های آبزیان است و علم ژنتیک با استفاده از روش های سریع و قابل اعتماد برای تعیین میزان خویشاوندی بین گونه ای و درون گونه ای، ابزار بسیار خوبی برای تهیه اطلاعات مورد نیاز می باشد. مهم ترین شرط لازم برای شناسایی ذخایر ژنتیکی گونه ها، بررسی تنوع درون گونه ای است که توسط توالی DNA مورد بررسی قرار می گیرد (۲۵).

در این مطالعه تعداد هاپلوتیپ های موجود در منطقه هرمزگان ۸ ، سیستان و بلوچستان ۴ ، بوشهر ۴ و در منطقه خوزستان ۵ عدد ثبت گردید و بیش ترین تنوع هاپلوتیپی در درون جمعیت ها به ترتیب در آب های هرمزگان و خوزستان و کم ترین تنوع هاپلوتیپی در بوشهر و سیستان و بلوچستان مشاهده شد.

نکته قابل توجه در این تحقیق این بود که در بین هاپلوتیپ های مشاهده شده، چند هاپلوتیپ از منطقه خوزستان در یک شاخه جداگانه از دیگر مناطق (هرمزگان، سیستان و بلوچستان و بوشهر) قرار گرفت که می توان استنباط کرد؛ این گونه غیر مهاجر، جریان ژنی کم تری در منطقه خوزستان نسبت به دیگر مناطق مورد مطالعه ایجاد کرده است. با توجه به درخت فیلوژنی به دست آمده در این تحقیق، به نظر می رسد که مناطق هرمزگان و سیستان و بلوچستان از تمایز ژنتیکی متوسط و جریان ژنی کم تری نسبت به دو منطقه خوزستان و بوشهر برخوردارند که این درجه از تمایز ژنتیکی را می توان به اثر عواملی مانند وجود جنگل های مانگرو نسبت داد که یکی از مهم ترین مناطق نوزادگاهی در چرخه زندگی لاروهای ماهی و میگو، به طور خصوص در تغذیه آن ها محسوب می گردد (۴). اصولاً ماهیان غیر مهاجر تمایل به تخم ریزی در نزدیکی سواحل، به ویژه جنگل های مانگرو دارند و نحوه تخم ریزی آن ها می تواند در ارتباط با مهاجرت و ساختار ژنتیکی آن ها اثر گذار باشد. در حقیقت پراکنش این جنگل ها از مهم ترین موانع در جهت ایجاد اشتقاق ژنتیکی بین جمعیت های ماهی در این مناطق محسوب می گردد. همان طور که در منابع مورد تأیید گزارش شده است، وجود جنگل های مانگرو در منطقه هرمزگان (قشم) نیز می تواند از عوامل مهم در عدم مهاجرت ماهی سوکلا از هرمزگان به سمت بوشهر



غرب و خروج از غرب به شرق؛ شکل ۵-۲)، می توانند در جابه جایی لاروهای ماهی از منطقه سیستان و بلوچستان موجب ترکیب و افزایش جریان ژنی بین مناطق سیستان و هرمزگان گردند. وجود جریان های گردابی که در دریای عمان وجود دارند نیز یکی از عوامل مهم در ترکیب جمعیتی این گونه در دو منطقه هرمزگان و سیستان و بلوچستان می باشد (۱۷).



شکل ۶- جریان های دریایی در تنگه هرمز و خلیج فارس

(Reynolds, ۱۹۹۳)

حالت توپولوژی خلیج گواتر در منطقه سیستان و بلوچستان که در اثر پیش رفتگی آب دریای عمان در خشکی به وجود آمده است و هم چنین وجود جنگل های انبوه حرا در منطقه هرمزگان در عدم انتقال مولدین و لاروهای ماهیان به مناطق پایین تر، از جمله خوزستان بی تأثیر نیستند. Xu و همکاران (۲۰۰۱)، مطالعه های در زمینه تعیین اختلاف ژنتیکی بین جوامع وحشی و پرورشی میگوی ببری سیاه *Peneaus monodon* در کشور فیلیپین با استفاده از مارکر های میکروساتلایت انجام دادند. آن ها پیشنهاد کردند که الگوی اختلاف ژنتیکی در بین چهار جمعیت از میگوهای وحشی مورد مطالعه به طور مشخصی با از میان رفتن جنگل های مانگرو در این مناطق در هم آمیخته و می توان ارتباطی منطقی بین اختلاف ژنتیکی به دست آمده و بازماندگی این جنگل ها برقرار کرد. تست همبستگی استفاده شده توسط این محققین در این تحقیق، ارتباط مثبتی را بین مدل اختلاف ژنتیکی بین جوامع میگوی مورد مطالعه و وضعیت جغرافیایی جنگل های مانگرو به دست می دهد که بیانگر اهمیت این جنگل ها در تفرق یا عدم تفرق ژنتیکی در بین جوامع آبزیان وابسته به این نوع مناطق می باشد.

نتیجه گیری

در این تحقیق بیش ترین تنوع هاپلوتیپی در درون جمعیت ها به ترتیب در آب های هرمزگان و خوزستان و کم ترین تنوع هاپلوتیپی در بوشهر و سیستان و بلوچستان مشاهده شد و مشخص گردید که این گونه غیر مهاجر، جریان ژنی کم تری در

باشد که خود موید وجود تفریق جمعیتی این گونه در دو منطقه مورد مطالعه می باشد. در حقیقت جنگل های مانگرو که به صورت بسیار گسترده در ساحل شمالی خلیج فارس از بندر خمیر تا قشم و هم چنین از هرمز تا جاسک و گواتر پراکنش دارند، از مهم ترین موانع در ایجاد اشتقاق ژنتیکی بین جمعیت های ماهی سوکلا در این پهنه جغرافیایی محسوب می گردند. یکی از مهم ترین عواملی که می تواند در ترکیب یا عدم ترکیب جمعیت دو منطقه دخالت داشته باشد، وجود سدهای فیزیکی و یا گیاهی در منطقه و تراکم، پراکنش و مهاجرت گروه های مختلف آبزیان در لایه های مختلف آب است که تابع شرایط محیطی و نوسانات مکانی و زمانی آن می باشد. یکی از موارد بسیار مهمی که می تواند در پراکنش آبزیان تأثیر فراوانی داشته باشد، شرایط زیست محیطی آن ها است (۱). Ruz-zante و همکاران (۱۹۸۸)، معتقدند که جریان ژنتیکی بین مناطق Weersing و Toonen (۲۰۰۹)، معتقدند که در محیط های دریایی عواملی نظیر جریان های دریایی و نیز جریان های گردابی^۳ می توانند موجب جلوگیری از ترکیب و انتشار لاروهای پلاژیک (در اینجا لاروهای ماهی سوکلا) بین مناطق گشته و کاهش جریان ژنی بین دو منطقه هرمزگان (بندر عباس) و گواتر (سیستان) را موجب گردند. در همین ارتباط می توان به وجود این گونه جریان گردابی در خلیج عمان اشاره کرد که می تواند در رفتار مهاجرتی لاروهای ماهی سوکلا در منطقه گواتر (سیستان) به هرمزگان، اثر گذار باشد.

ثابت شده است که رفتارهای مهاجرتی، جریان ژنی را در بین جمعیت ها آسان تر می کند. در این مطالعه نیز، این گونه جابجایی ها و افزایش جریان ژنی بین جمعیت های بوشهر، هرمزگان و سیستان و بلوچستان مشاهده گردید که از جریان ژنی مشاهده شده بین منطقه بوشهر، هرمزگان و سیستان و بلوچستان بیش تر بود. با توجه به ماتریس شباهت ژنتیکی و دندروگرام به دست آمده، به نظر می رسد که جمعیت ماهی سوکلا در منطقه خوزستان نسبت به سیستان و هرمزگان از تفرق بیش تری برخوردار است. این اختلاف ژنتیکی آشکار در جمعیت ماهی سوکلا در منطقه خوزستان نسبت به دو منطقه دیگر، ممکن است در اثر رانش ژنتیکی و یا وقوع جهش های احتمالی در بین جمعیت های مناطق مورد مطالعه باشد (۱۰).

عامل دیگری که می توان به آن اشاره کرد، ساختار هیدرو دینامیک منطقه (جریان های دریایی) بین تنگه هرمز و منطقه سیستان و بلوچستان می باشد. از آنجا که مناطق هرمزگان و سیستان و بلوچستان در یک راستا قرار دارند، جریان های دریایی که از تنگه هرمز شروع می شوند (ورود به تنگه هرمز از شرق به

منطقه خوزستان نسبت به دیگر مناطق مورد مطالعه ایجاد کرده است. هم چنین به نظر می رسد که مناطق هرمزگان و سیستان و بلوچستان از تمایز ژنتیکی متوسط و جریان ژنی کم تری نسبت به دو منطقه خوزستان و بوشهر برخوردارند که در این رابطه نقش جنگل های مانگرو به عنوان مهم ترین مناطق نوزادگاهی در چرخه زندگی لاروهای ماهی و میگو مهم می باشد که می تواند از عوامل مهم در عدم مهاجرت ماهی سوکلا از هرمزگان به سمت بوشهر باشد. هم چنین وجود سدهای فیزیکی و یا گیاهی در منطقه ، رفتارهای مهاجرتی ، ساختار هیدرو داینامیک منطقه (جریان های دریایی) بین تنگه هرمز و منطقه سیستان و بلوچستان ، وجود جریان های گردابی، حالت توپولوژی خلیج گواتر در منطقه سیستان و بلوچستان از مهم ترین موانع در ایجاد اشتقاق ژنتیکی بین جمعیت های ماهی سوکلا و تراکم، پراکنش و مهاجرت گروه های مختلف آبزبان در مناطق مختلف مورد مطالعه در این تحقیق می باشد.

سپاسگزاری:

بدین وسیله از کلیه همکاران محترم که در ارتباط با بررسی ، ابلاغ و حمایت های مختلف در جهت اجرای هر چه بهتر این پروژه فعالیت داشته اند قدردانی می گردد.

منابع

- ۱- ابراهیمی م، صادقیان ا. بررسی شرایط فیزیکیوشیمیایی دریای عمان. مجله علمی شیلات، ۱۳۷۵؛ سال سوم، شماره پنجم: ۱۸-۱
- ۲- پورکاظمی م، بردران نویری ش، نوروز فشخامی م. ر. مروری بر شناسایی جمعیت و نژادهای تاس ماهیان دریای خزر. موج سبز، بهار ۱۳۸۳: صفحه ۲۵-۲۱.
- ۳- سالاری علی آبادی م. ع، رضوانی گیل کلائی س، سواری ا، ذوالقرنین ح، نبوی س.م.ب. مقایسه ژنتیکی جمعیت های ماهی سوکلای (*Rachycentron canadum*) خلیج فارس و دریای عمان با استفاده از روش ریزماهوره. مجله علمی پژوهشی شیلات، ۱۳۸۷؛ سال دوم، شماره اول: ۱۷-۹
- ۴- صفیاری ش ۱۳۸۰، انتشارات موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع. جنگلهای مانگرو. قسمت دوم) جنگلهای مانگرو ایران).
- ۵- عوفی ف. بررسی اثرات ناشی از جنگ خلیج فارس بر روی تنوع زیستی آبزیان. موسسه تحقیقات شیلات ایران، ۱۳۷۸.
- ۶- لالویی ف، رضوانی گیل کلائی س، نیرانی م، تقوی م. بررسی مولکولی جمعیت ماهی کیلکای معمولی در حوضه جنوبی دریای خزر به روش PCR-RFLP. مجله علمی شیلات ایران، ۱۳۸۴؛ سال دوم: ۱۱۹-۱۲۸
- 7- Benetti DD, Alarcon JF, Stevens OM. Advances in hatchery and grow out technology of marine finfish candidate species for offshore aquaculture in the Caribbean. Proceedings of the Gulf and Caribbean Fisheries Institute, 2003; 54: 473-487.
- 8- Burton RS. Mating system of the intertidal copepod *Tigriopus californicus*. Mar.Biol, 1985; 86: 247-252
- 9- Ditty JG, Shaw RF. Larval development, distribution, and ecology of cobia *Rachycentron canadum* (Family: Rachycentridae) in the northern Gulf of Mexico. Fishery Bulletin, 1992; 90: 668-677.
- 10- Hall HJ, Nawarock N. A rapid method for detecting mitochondrial DNA variation in the brown trout. Journal of fish biology, 1995; 46: 360-364.
- 11- Hillis DM, Moritz C. Molecular taxonomy. Sinauer Associates Inc Publishers. Sunderland, Massachusetts. U.S.A., 1990; 120.
- 12- Hoelzel AR, Dover GA. Molecular genetic ecology. Oxford University Press, New York, 1991; 270.
- 13- McPherson JD. Sequence ready—or not?. Genome Res, 1997, 7; 1111-1113
- 14- Mullis KB, Saiki RK, Scharf S, Faloona F, Horn GT, Erlich HA, Arnheim N. Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. Science,

1985; 239: 487-491.

15- Nei M. Genetic distance between populations. *Amer, Naturalist*, 1972; 106: 283-292.

16- Rayman N. Conservation genetics considerations in fishery management. *J. Fish Biology*, 1991; 39: 211-224

17- Reynolds RM. Physical Oceanography of the Gulf, Strait of Hormoz and the Gulf of Oman result from the Mt.Mitchell expedition. *Marine Pollution Bulletin*, 1993; 27: 35-39.

18- Rodriguez AE, Martinez JC, Jorge R, Garcia JR, Ramirez JT. Description of a Distinct Snapper Larvae and Species Identification Based on Mitochondrial DNA Analyses. *Gulf and Caribbean Fisheries Institute*, 2007; 15: 168-172.

19- Ruzzante DE, Taggart CT, Cook D. A nuclear DNA basis for shelf-and bank-scale population structure in northwest Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Molecular Ecology*, 1998; 7: 1663-1680

20- Salari Aliabadi MA, Rezvani Gilkolaei S, Savari A, Zolgharnean H, Nabavi SMB. Microsatellite polymorphism in Iranian populations of cobia (*Rachycentron canadum* G.). *Biotechnology*, 2008; 7(4): 775-780.

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

22- Turner JP, Rooker JR. Effect of dietary fatty acids on the body tissues of larval and juvenile cobia and their prey. *J. Experimental Marine Biology and Ecology*, 2005; 322: 13-27.

23- Weersing K, Toonen RJ. Population genetics, larval dispersal, and connectivity in marine systems. *Mar. Ecol. Prog. Ser*, 2009; 393: 1-12

24- Xu Z, Primavera JH, Leobert D, Pena dl, Pettit P, Belak J, Alcivar-Warren A. Genetic diversity of wild and cultured Black Tiger Shrimp (*Penaeus monodon*) in the Philippines using microsatellites. *Aquaculture*, 2001; 199: 13-40.

25- Zhang J, Huang H, Cai Z, Huang L. Species identification in salted products of red snappers by semi-nested PCR-RFLP based on the mitochondria 12S rRNA gene sequence. *Food control*, 2007; 17: 557-563.

