بررسی تنوع ژنتیکی کفشک‌ماهی گرد (*Euryglossa orientalis*) سواحل خوزستان و بوشهر با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره

- **مریم نیری‌راد:** گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکدهٔ علوم دریایی و اقیانوسی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، صندوق پستی: ٦٦٩
- **حسین ذوالقرنین:** گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکدهٔ علوم دریایی و اقیانوسی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، صندوق پستی: ٦٦٩
- **حمید گله داری:** گروه ژنتیک، دانشگاه شهید چمران اهواز، صندوق پستی: ٨٣١٥١-٦١٣٥٧
- **محمدعلی سالاری علی‌آبادی*:** گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکدهٔ علوم دریایی و اقیانوسی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، صندوق پستی: ٦٦٩

تاریخ دریافت: شهریور ۱۳۹۱ تاریخ پذیرش: دی ۱۳۹۱

چکیده

به‌منظور مطالعه ساختار ژنتیکی جمعیت کفشک‌ماهی گرد (*Eurygloss orientalis*) با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره تعداد ٥٦ نمونه ماهی از سواحل خوزستان و بوشهر جمع‌آوری شد. DNA ژنومی نمونه‌ها از بافت باله ماهی با استفاده از روش فنل- کلروفرم استخراج و کمیت و کیفیت DNA استخراج شده توسط روش اسپکتروفتومتری و الکتروفورز ژل آگارز ۱ درصد بررسی شد. واکنش PCR با استفاده از ٦ جفت پرایمر ریزماهواره صورت گرفت. محصول PCR توسط ژل پلی آکریل آمید ۸ درصد الکتروفورز و با نیترات نقره رنگ‌آمیزی شد. آنالیز داده‌ها توسط نرم‌افزار ژنتیکی GeneAlex محاسبه گردید. از بین ٦ جفت پرایمر ریزماهواره‌ای ۲ جفت آن پلی‌مورف بودند. میانگین تعداد آلل‌های مشاهده شده و موثر در خوزستان به‌ترتیب ١٤/٥ و ١٠/٧٠٨ و در منطقه بوشهر ۱۳/٥ و ۹/٥۱۱ بوده است. هم‌چنین میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار به‌ترتیب ۰/۸۳۷ و ۰/۸۸۹ محاسبه شد. براساس نتایج به‌دست آمده در هر دو منطقه و در جایگاه‌های مختلف ریزماهواره انحراف از تعادل هاردی- واینبرگ مشاهده نشد. هم‌چنین مقدار F_{st} بین نمونه‌های سواحل خوزستان و بوشهر ۰/۰۲٥ بود. فاصله ژنتیکی بین خوزستان و بوشهر ۰/۳۱۱ و شباهت ژنتیکی ۰/۷۳۳ می‌باشد. براساس نتایج به‌دست آمده می‌توان بیان نمود که شباهت زیادی بین دو جمعیت از لحاظ ژنتیکی وجود دارد.

واژگان کلیدی: تنوع ژنتیکی، کفشک‌ماهی گرد (*Eurygloss orientalis*)، ریزماهواره، خلیج فارس

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

مقدمه

امروزه شناسایی گونه‌ها، زیرگونه‌ها و جمعیت‌های آبزیان از اهمیت زیادی برخوردار است زیرا که علاوه بر مدیریت صحیح و بهره‌برداری مناسب موجب اجرای برنامه‌های اصولی جهت حفاظت از گونه‌ها به‌عنوان شاخص‌های مهم تعیین شرایط اکولوژیک منابع آبی می‌باشد. کاهش تنوع ژنتیکی برای جمعیت‌ها زیان‌آور بوده و بر میزان برداشت آن‌ها تاثیرگذار می‌باشد. بهره‌برداری از ذخایر گونه‌های مختلف، نیاز به شناخت کافی از وضعیت ذخایر گونه‌ها، نژادها و جمعیت‌های متعدد آن دارد تا بتوان مدیریت اصولی بر ذخایر اعمال نمود (Zhao و همکاران، ۲۰۰۵).

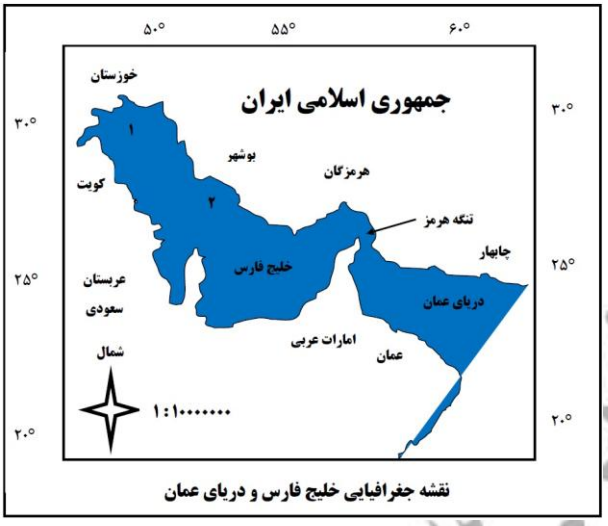
کفشک‌ماهیان در مناطق مختلف جغرافیایی پخش و پراکنش دارند که بیش‌ترین آن‌ها در مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری (۰/۷۵ کل گونه‌ها) و مابقی در مناطق معتدله زیست می‌کنند (Gibson, 2005). کفشک‌ماهیان در دریای عمان و سواحل خلیج‌فارس در ایران یافت می‌شوند و از ماهیان بومی این مناطق هستند (Fishbase، ۲۰۰۶). این ماهیان دوجنسی بوده و در مناطقی دور از ساحل تخم‌ریزی نموده و اکثراً تخم‌های پلاژیک تولید می‌کنند. تخم‌ریزی فصلی در میان کفشک‌ماهیان در ارتباط با موقعیت جغرافیایی متغیر است (Minami و Tanaka، ۱۹۹۲). کفشک گرد، کف‌زی بوده و در سواحل با بستر شنی یا گلی زیست می‌کند، و از زئوبنتوزها و موجودات کف‌زی بی‌مهره تغذیه می‌نماید(Fishbase، ۲۰۰۶).

تاکنون مطالعات گسترده‌ای در خصوص تنوع ژنتیکی کفشک‌ماهی گرد صورت نگرفته است. Porta و Alvarez (۲۰۰۴) طی مطالعه بر روی گونه *Senegal Sol* توانستند ۱۵ جایگاه ریزماهواره‌ای را طراحی و به‌نام خود در بانک ژنی NCBI ثبت نمایند. هم‌چنین ساختار جمعیت و خویشاوندی ژنتیکی ذخایر هچری *Senegal Sol* از خانواده کفشک‌ماهیان با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره‌ای توسط Porta و همکاران (۲۰۰۶) صورت گرفت که نتایج حاکی از واگرایی زیادی بین دو گروه F_1 بود. Thai و همکاران (۲۰۰۷) با استفاده از ۴ جایگاه ریزماهواره به مطالعه تنوع ژنتیکی ماهی‌کپور(*Cyprino carrio*) در ویتنام پرداخته و تنوع بالایی را در ماهیان وحشی نسبت به ماهیان پرورشی مشاهده کردند. سالاری‌علی‌آبادی (۱۳۸۷) با استفاده ازروش مولکولی ریزماهواره در بررسی ساختار جمعیت‌های ماهی‌سوکلا(*Rachycentron canadum*) توانست سه جمعیت از این ماهی را در بندرعباس، بوشهر و چابهار مشاهده نماید.

هدف از انجام این تحقیق ارائه اطلاعات بیش‌تر در مورد ساختار ژنتیکی جمعیت‌های گونه کفشک‌ماهی گرد *Euryglossa orientalis* (Bloch and Schneider, 1801) و تعیین تنوع ژنتیکی و شناسایی اختلافات ژنتیکی احتمالی موجود در بین مناطق آب‌های سواحل خوزستان و بوشهر می‌باشد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری از کفشک‌ماهی گرد در سواحل شمالی خلیج فارس و در محدوده جغرافیایی کرانه‌های استان خوزستان (۲۸ نمونه) و استان بوشهر (۲۸ نمونه) با استفاده از تور ترال کف صورت گرفت (شکل ۱). از هر نمونه مقدار ۱ تا ۲ گرم بافت باله جمع‌آوری و در اتانول ۹۵ درصد نگهداری و به آزمایشگاه ژنتیک دانشگاه شهید چمران اهواز منتقل گردید. استخراج DNA با استفاده از روش فنل- کلروفرم با استفاده از باله ماهی انجام شد (Fevolden و Pogson، ۱۹۹۷). جهت تعیین کمیت و کیفیت DNA استخراج شده و تعیین غلظت و خلوص DNA استخراجی از روش‌های اسپکتروفتومتری و الکتروفورز ژل آگارز ۱ درصد استفاده گردید.



شکل ۱: موقعیت ایستگاه‌های نمونه‌برداری در سواحل شمالی خلیج فارس (۱- ایستگاه خوزستان ۲- ایستگاه بوشهر)

برای انجام واکنش PCR از ۶ جفت پرایمر ریزماهواره استفاده گردید (جدول۱). واکنش PCR با استفاده از ۲/۵ میکرولیتر بافر(10X) PCR، ۰/۷۵ میکرولیتر $MgCl_2$ (۵۰ میلی مولار) و ۰/۵ میکرولیتر آنزیم Taq DNA Polymerase (۵u/µ) و ۱۰۰ نانوگرم DNA الگو و ۰/۵ میکرولیتر dNTP (۱۰ میلی مولار) و آب مقطر به اندازه‌ای که حجم نهایی محلول واکنش به ۲۵ میکرولیتر برسد، انجام شد. برنامه دستگاه ترموسایکلر به‌ترتیب شامل مرحله واسرشته‌شدن (Denaturation) در ۹۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳۰ ثانیه، مرحله دوم اتصال پرایمرها به هدف (Annealing) ۶۰-۵۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۵ ثانیه و مرحله سوم بسط پرایمر (Extension) ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱ دقیقه برای ۳۵ چرخه تنظیم گردید.

محصول PCR (۸-۷ میکرولیتر) با استفاده از الکتروفورز ژل پلی‌اکریل‌آمید ۸ درصد و رنگ‌آمیزی نیترات نقره همراه با نشانگر DNA ۵۰ bp، مشاهده گردید.فراوانی آللی، هتروزیگوسیتی مورد انتظار و مشاهده شده، تعداد آل‌های واقعی و موثر برای هر جایگاه، تعادل هاردی واینبرگ، مقادیر F_{st}، جریان ژنی و تنوع ژنتیکی در سطح خطای ۰/۰۱ با نرم‌افزار GeneAlex (Peakall و Smouse، ۲۰۰۵) و PopGene (Yeh و همکاران، ۱۹۹۹) محاسبه گردید.

جدول ۱: مشخصات جایگاه‌ها و آغازگرهای مورد استفاده

جایگاه	توالی پرایمر	توالی تکراری	Accession number
Sol 9A	F: 5-TCTCGTCGAGTCAAATGTCC-3 R: 5-CTCAGAATAAAGCTCGTTTAGC-3	$(CA)_9(GA)_9$	AF441389
Sol 13B	F: 5- GATCCCGACACTCACAAACG-3 R: 5-CACCCTCAGTGTAAATTGCC-3	(GT)12	AF441385
Sol MII	F: 5-TTCAAAGCAGTCGTCCTCAGG-3 R: 5-ACGAGGTAGGTGGAAAGCTGC-3	$(GTC)_{10}$	AY426693
Sol A	F: 5-GATCATTAGT GAGGTCACACG-3 R: 5-CATGACATCATCGCAGAGG-3		AY426692
Sol 19A	F: 5-GATCCTCTGT GCCACGACGTTGG-3 R: 5-GATCTGGCCGAGAGCAGATGC-3	$(GT)_{12}$	AF441387
Sol CA 13	F: 5-AAGGCAGATGTCGATCACTGC-3 R: 5-TTGAACAACGCCTAGAATTAG-3	$(GAA)_{10}$	AF441390

نتایج

نتایج حاصل از الکتروفورز ژل پلی اکریل‌آمید در ۲ جایگاه از ۶ جایگاه در نمونه‌های مورد بررسی حالت پلی‌مورف نشان دادند و ۴ جایگاه دیگر مونومورف بودند. بر اساس داده‌های فراوانی آللی جایگاه‌های مختلف ریزماهواره‌ای پلی مورفیک مشاهده می‌شود که حداکثر تعداد آللی در دو منطقه نمونه‌برداری در جایگاه ژنی Sol 13B با ۲۰ آلل و حداقل آن در دو منطقه در جایگاه ژنی پلی‌مورفیک Sol MII با ۱۰ آلل دیده می‌شود. میانگین فراوانی آللی مشاهده شده در ۲ جایگاه ۱۴ آلل می‌باشد. جدول ۲ نشان می‌دهد که بیش‌ترین تعداد آلل‌های واقعی و آلل‌های موثر در منطقه خوزستان و مربوط به Sol 13B می باشد که به‌ترتیب ۱۹ و ۱۴/۴۳۶ آلل می‌باشد و کم-ترین تعداد آلل واقعی ۱۰ آلل از Sol MII مربوط به نمونه‌های منطقه خوزستان و بوشهر درحالی‌که کم‌ترین آلل موثر در منطقه بوشهر و مربوط به Sol MII می‌باشد. در تمامی مناطق نمونه‌برداری و در تمام جایگاه‌ها مقدار آلل‌های موثر از مقدار آلل‌های واقعی کم‌تر می‌باشد.

دامنه هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Ho) بین مناطق نمونه‌برداری در جایگاه‌های دوگانه ۰/۷۵۰ تا ۰/۹۶۳ با میانگین ۰/۸۳۷ بود. بیش‌ترین هتروزیگوسیتی مشاهده شده جایگاه ژنی Sol 13B در نمونه‌های جمع‌آوری شده از منطقه خوزستان و کم‌ترین مقدار آن در جایگاه ژنی Sol MII در نمونه‌های جمع‌آوری شده از منطقه بوشهر می‌باشد. دامنه هتروزیگوسیتی مورد انتظار (He) ۰/۸۵ تا۰/۹۳۱ با میانگین ۰/۸۸۹ بود. محاسبه ضرایب افت هتروزیگوسیتی نشان می‌دهد که در تمام مناطق نمونه‌برداری در تمامی جایگاه‌ها (به غیر از Sol 13B در نمونه‌های جمع‌آوری شده از منطقه خوزستان) افزایش هتروزیگوسیتی یا به‌عبارت دیگر بیش‌تر بودن مقادیر He نسبت به Ho وجود دارد (جدول ۲). بر اساس نتایج آزمون کای در هر دو منطقه خوزستان و بوشهر هر دو جایگاه ژنی Sol 13B و Sol MII در تعادل هاردی- واینبرگ قرار دارند (P<۰/۰۱).

جدول ۲: مقادیر هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Ho) و مورد انتظار (He)، آلل‌های واقعی (Na) و موثر (Ne) در ۲ جایگاه ریزماهواره پلی مورفیک در مناطق مختلف نمونه‌برداری کفشک گرد

منطقه	فاکتور	Sol 13B	Sol MII
خوزستان	Ne	۱۴/۴۳۶	۶/۶۸۰
	Na	۱۹	۱۰
	He	۰/۹۳۱	۰/۸۵۰
	Ho	۰/۰۹۶۳	۰/۷۷۸
بوشهر	Ne	۱۱/۸۷۹	۷/۱۴۳
	Na	۱۷	۱۰
	He	۰/۹۱۶	۰/۸۶۰
	Ho	۰/۸۵۷	۰/۷۵۰

بحث

دانستن تنوع ژنتیکی یکی از قدم‌های مهم در مدیریت منابع شیلاتی و برنامه‌های آمیزشی انتخابی آبزی‌پروری است. فعالیت‌های آبزی‌پروری ممکن است تنوع ژنتیکی حاضر در ذخایر پرورشی را توسط آمیزشی بین افراد مرتبطه کاهش دهد (Thai و همکاران، ۲۰۰۷). ریزماهواره‌ها نشانگرهای ژنتیکی بسیار متنوعی هستند که به‌طور هم‌بارز منطبق بر مدل مندلی توارث می‌یابند. ریزماهواره‌ها برای کاربردهای متنوع تحقیقاتی شیلاتی و آبزی‌پروری بسیار مفید می‌باشند، مخصوصاً زمانی که تفاوت ژنتیکی در داخل و در بین جمعیت‌ها محدود باشد. از انواع کاربرد آن در آبزی‌پروری می‌توان به نظارت بر تغییرات تنوع ژنتیکی اشاره کرد (Thai و همکاران، ۲۰۰۷). اصلی‌ترین سطح تنوع زیستی، تنوع درون‌گونه‌ای است. تفاوت بین اعضای هر گونه ژنتیکی و یا بر اثر عوامل محیطی است (Goswami و همکاران، ۱۹۸۶). استفاده از روش‌های مولکولی، تنوع را در موجودات نسبت به روش‌های معمول و کلاسیک گذشته مانند مطالعه مورفولوژیک و آنالیز صفات کمی بهتر نشان می‌دهد. علاوه براین چون پارامترهای مولکولی تحت تاثیر عوامل محیطی نیستند از آن‌ها می‌توان به‌منظور مقایسه نمونه‌ها از مکان‌های متفاوت بهره جست (Advise و همکاران، ۲۰۰۴).

با توجه به این موارد و دیگر ویژگی‌هایی که در ادامه آمده است جهت شناسایی تنوع ژنتیکی جمعیت کفشک‌ماهی در این مطاله از نشانگر مولکولی ریزماهواره استفاده گردید. تنوع در تعداد واحدهای تکرار شونده در جایگاه ریزماهواره‌ای، موجب افزایش چندشکلی (پلی‌مورفیسم) بسیار بالا در آن‌ها می‌شود. وجود چنین ناپایداری‌های قابل توارث در جایگاه‌های ریزماهواره‌ای، توارث هم بارز در آنان، فراوانی بالا در ژنوم موجودات و امتیازدهی آسان و دقیق، آن‌ها را تبدیل به ابزاری سودمند برای مطالعات ژنتیکی و تکاملی کرده است (Manel، ۲۰۰۳؛ Moss، ۲۰۰۳).

در بررسی حاضر از ۶ جفت نشانگر ریزماهواره بررسی شده در کفشک‌ماهی گرد (*Euryglossa orientalis*) دو جفت در منطقه مذکور پلی‌مورف بودند. طبق مطالعاتی که توسط Porta و همکاران (۲۰۰۶) پیرامون مطالعه جمعیت‌های کفشک پرورشی Senegal sole انجام گرفت از میان ۸ لوکوس استفاده شده هر ۸ تا پلی مورف بودند. جایگاه‌های ریزماهواره‌ای مورد استفاده مطالعه فوق در چند مورد با جایگاه‌های مورد استفاده در مطالعه حاضر مشترکند از جمله Sol 9A وSol 19A و Sol CA13 وSOL MII و Sol A که در مطالعه فوق پلی‌مورف بودند ولی در مطالعه حاضر در کفشک گرد Sol 9A و Sol 19A و Sol CA13 و Sol A مونومورف بودند. این نشان دهنده این است که جایگاه‌های پلی مورف استفاده شده متعلق به یک گونه برای جنس‌های نزدیک الزاماً پلی‌مورفیسم نشان نمی‌دهند. میانگین تعداد آلل در جایگاه Sol MII که در مطالعه Porta (۲۰۰۶) مشترک می‌باشد ۱۰ آلل بدست آمده است. این میزان در مطالعه Porta و همکاران (۲۰۰۶) بر روی *Solea senegalensis* با استفاده از روش ریزماهواره برای جایگاه Sol MII در سه جمعیت وحشی و پرورشی ۸ آلل به‌دست آمده است. Thai و همکاران (۲۰۰۷) در مطالعه خود بر روی تنوع ژنتیکی کپورمعمولی در ویتنام با استفاده از ۴ جایگاه ریزماهواره‌ای هر ۴ جایگاه را پلی‌مورف معرفی نمودند.

آلل‌های مشاهده شده در هر جایگاه ژنی به‌شدت تحت تاثیر اندازه نمونه می‌باشد، بنابراین ممکن است در آزمایش‌های مختلف با تعداد نمونه‌های متفاوت، تعداد آلل‌های واقعی مختلفی برای یک جایگاه بدست آید. Dewoody و Advise (۲۰۰۰) میانگین تعداد آلل مشاهده شده برای‌ماهیان آنادروموس را ۱۱/۳، برای ماهیان آب‌شور ۲۰/۶ و برای ماهیان آب شیرین ۷/۵ گزارش داده‌اند. در مطالعه حاضر میانگین تعداد آللی مشاهده شده ۱۴ می‌باشد و از آن‌جایی که کفشک‌ماهی گرد (*Euryglossa orientalis*) گونه آب‌شور می‌باشد میزان میانگین آللی مشاهده برای آن نزدیک به میزان گزارش شده توسط Dewoody و Advise (۲۰۰۰) می‌باشد. Salari Aliabadi و همکاران (۲۰۰۸) در مطالعه پلی‌مورفیسم ریزماهواره در ماهی سوکلا میانگین تعدا آللی مشاهده شده را ۱۲/۳۷۵ به‌دست آوردند که متوسط تعداد در هر لوکوس در ماهیان آب‌شور (۲۰/۶) کم‌تر بوده و علت آن را جریان ژنی و مهاجرت در منطقه آب‌های آزاد چابهار و تنگناهای ژنتیکی و آمیزش‌های خویشاوندی در محیط نسبتاً بسته خلیج فارس بیان کردند. Portaوهمکاران(۲۰۰۶)درمطالعه‌خودبرروی*Solea senegolensis* از خانواده کفشک‌ماهیان راست گرد میانگین آللی ۱۵ را به‌دست آوردند که به میانگین آللی مطالعه حاضر نزدیک می‌باشد. صفری و همکاران (۱۳۸۵) نیز تعداد آلل مشاهده شده بین ۷ تا ۱۵ آلل به‌دست آوردند. در حالی که Lundrigan و همکاران (۲۰۰۵) در مطالعه تنوع ژنتیکی جمعیت‌های پرورشی *Solvinus alpines* در شمال آمریکا فراوانی آللی بین ۲۵ تا ۶۵ آلل را گزارش نمودند.

در بررسی و مطالعات تنوع ژنتیکی درون جمعیتی یک گونه از معیارهایی هم‌چون هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Ho) و مورد انتظار (He) برای هر منطقه در هر جایگاه ژنی و به ازای هر جایگاه ژنی در تمام مناطق مورد استفاده قرار می‌گیرد. سطح تنوع ژنتیکی در گونه‌های مختلف و در جمعیت‌های مختلف یک گونه در مناطق مختلف ساکن می‌باشند، متفاوت است. Dewoody و Advise (۲۰۰۰) میانگین هتروزایگوسیتی در ماهیان آب‌شیرین، شور و آنادروموس را به‌ترتیب ۰/۴۶، ۰/۷۹ و ۰/۶۸ اعلام نمودند. میانگین هتروزایگوسیتی مشاهده شده در این مطالعه ۰/۸۳۷ می‌باشد. این میانگین نزدیک به هتروزیگوسیتی اعلام شده در ماهیان آب شور توسط Dewoody و Advise (۲۰۰۰) می‌باشد. در مطالعه Barroso و همکاران (۲۰۰۵) بر روی *Brycon opalinus*، Ho را از ۰/۲۳ تا ۱ به‌دست آورده‌اند. کمبود هتروزیگوسیتی مشاهده شده به‌علت وجود آلل‌های صفر است. در بیش‌تر مطالعات اهمیت حضور آلل‌های صفر توضیحی برای کاهش هتروزایگوسیتی می‌باشد. احتمالات دیگر به جز آلل صفر در کاهش هتروزایگوسیتی می‌توان به‌دلایلی مانند آمیزش بین افراد مرتبط را ذکر کرد. در مطالعه Porta و همکاران (۲۰۰۶) میزان هتروزایگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار در جمعیت وحشی نسبت به دو نسل F_1 مورد مطالعه بیش‌تر بوده است.

هترزایگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار به‌ترتیب ۰/۷۰۴ و ۰/۸۰۱ بوده است که این میزان نزدیک به مقادیر مرتبط به‌دست آمده در این مطالعه می‌باشد. صفری (۱۳۸۶) نیز هتروزایگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار را به‌ترتیب ۰/۵-۱ با میانگین ۰/۷۵ و ۰/۴۷-۱ با میانگین ۰/۷۳ به‌دست آورد.

در مطالعه حاضر همه جایگاه‌های پلی‌مورف در تعادل هاردی واینبرگ قرار گرفتند. هم‌چنین در مطالعه Fei و همکاران (۲۰۰۷) بر جداسازی DNA ریزماهواره‌ای و آنالیز مقدماتی ژنتیکی Mud carp با وجود اختلاف بین هتروزایگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار، در بیش‌تر جایگاه‌ها انحراف از تعادل هاردی- واینبرگ به‌طور معنی‌داری وجود ندارد. این در حالی است که در مطالعه Salari و همکاران (۲۰۰۸) عدم مشاهده تعادل هاردی- واینبرگ را به‌وجود آل‌های صفر، رانش ژنتیکی، مخلوط شدن جمعیت‌ها، ناکافی بودن نمونه‌ها، مهاجرت ماهیان مولد در بین مناطق نمونه‌برداری نسبت دادند. در مطالعه Barroso و همکاران (۲۰۰۵) تمام جمعیت‌ها به جز جمعیت متعلق به‌رودخانه Itagacaba از تعادل هاردی- واینبرگ انحراف داشته‌اند که کاهش هتروزایگوسیتی را نشان داده‌اند که حضور آل‌های صفر علت انحراف از تعادل هاردی- واینبرگ می‌باشد.

اگر مقدار F_{st} بین ۰/۰۵-۰ باشد نشان‌دهنده تمایز ژنتیکی اندک، مقدار بین ۰/۱۵-۰/۰۵ تمایز ژنتیکی میانه و مقدار بین ۰/۲۵-۰/۱۵ تمایز ژنتیکی بالا و بیش از ۰/۲۵ تمایز ژنتیکی خیلی بالا را نشان می‌دهد (Dorak، ۲۰۰۶). در این مطالعه F_{st} مشاهده شده بین خوزستان و بوشهر به‌میزان ۰/۰۲۵ بوده که نشان‌دهنده تمایز ژنتیکی کم می‌باشد و هم‌چنین مطابق با میزان جریان ژنی ۹/۹۲۵ بین این دو منطقه می‌باشد که بیانگر نزدیکی و مشابهت دو جمعیت مورد مطالعه می‌باشد. در حالی که در مطالعه Dahle و همکاران (۲۰۰۶) روی بررسی ویژگی‌های ژنتیکی ذخایر جمع‌آوری شده از چهار جمعیت ماهی Cod میزان F_{st} به‌دست آمده ۰/۰۳۷ تا ۰/۰۰۲ که تفاوت‌های ژنتیکی معنی‌داری در بین گروه‌های ذخایر جمع‌آوری شده از ۴ منطقه جغرافیایی را نشان می‌دهد. در مطالعه Porta و همکاران (۲۰۰۶) بر ساختار جمعیتی *Solea selegalensis* میزان F_{st} به‌دست آمده نشان‌دهنده واگرایی زیادی بین دو گروه F_1 می‌باشد. در مطالعه Barroso و همکاران (۲۰۰۵) نیز از آنجایی که روی دو جمعیت پرورشی و وحشی گونه *Brycon opalinus* با استفاده از نشانگر ریزماهواره F_{st} به دست آمده ۰/۰۴۳ بوده که به طور معنی‌داری جمعیت‌ها را از هم جدا دانسته‌اند.

منابع

۱. **سالاری علی‌آبادی، م.ع.، ۱۳۸۷.** بررسی ساختار ژنتیکی جمعیت‌های ماهی سوکلا *Rachycentron canadum* در خلیج فارس و دریای عمان با استفاده از روش مولکولی میکروستلایت. رساله دکتری رشته بیولوژی دریا گرایش جانوران دریا، گروه بیولوژی دریا، ۱۲۳ صفحه.

۲. **صفری، م.، ۱۳۸۵.** بررسی ساختارجمعیت ماهی شیپ (*Acipenser nudiventris*) دریای خزر با استفاده از روش ریزماهواره. پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. ۱۰۸ صفحه.

3. **Advise J.; Magoulas, A. and Alvarez, M.C., 2004.** Genetic comparison of wild and cultivated European population of the gill head sea bream. Aquaculture, Vol. 230, No. 1, pp. 65-80.

4. **Barroso, R.M.; Hilsdorf, A.W.S.; Moreira, H.L.M.; Cabello, P.H. and Traub-Cseko, Y.M., 2005.** Genetic diversity of wild and cultured populations of *Brycon opalinus* (Cuvier, 1819) Characiforme, Characidae, Bryconiae) using microsatellites. Aquaculture, Vol. 247, No. 1, pp. 51-65.

5. **Dahle, G.; Jorstad, K.E.; Rusaas, H.E. and Ottera, H., 2006.** Genetic characteristics of brood stock collected from four Norwegian coastal cod (Gadus morhua) populations. ICES J. Mar. Sci., Vol. 63, No. 1, pp. 209-215.

6. **Dewoody, J.A. and Avise, J.C., 2000.** Microsatellite variation in marine, freshwater and anadramous fishes compared with other animals. J. Fish Biol., Vol. 56, No. 1, pp. 461-473.

7. **Dorak, M.T., 2006.** Real time PCR. BIOS advanced methods. Taylor and Francis Group, NY, USA.

8. **Fei, C.; YE, W. and YE, F., 2007.** Isolation of Microsatellite DNA and Preliminary Genomic Analysis of Mud Carp (*Cirrhina molitorella*). Zool. Res., Vol. 28, No. 2, pp. 119-125.

9. **Fevolden, S.E. and Pogson, G.H., 1997.** Genetic divergence at the synaptophysin (Syp I) locus among Norwegian coastal and north-east arctic populations of Atlantic cod, *Gadus morhua*. J. Fish Biol., Vol. 51, No. 1, pp. 895-908.

10. **FishBase, 2006.** FishBase: a global information system on fishes. Available online at: http://filaman.ifm-geomar.de/search.php. Accessed 15 Mar 2006.

11. **Gibson, R.N., 2005.** Flatfishes: Biology and Exploitation. (Ed.), Blackwell, Oxford, UK. 391 pp.
12. **Goswami, H.K., 1986.** Cytogenetic effects of methylisocyanate exposure in Bhopal. Hum. Genet. Vol. 74, No. 1, pp. 81-84.
13. **Lundrigan, T.A.; Reist, D.R. and Ferguson, M.M., 2005.** Microsatellite genetic variation within and among Arctic charr (*Salvelinus alpinus*) from aquaculture and natural populations in North America. Aquaculture, Vol. 244, No. 1, pp. 63-75.
14. **Manel, S.; Schwartz, M.K.; Luikart, G. and Taberlet, P., 2003.** Landscape genetic: combing landscape ecology and population genetics. Trends in ecology and evolution, Vol. 18, No. 1, pp. 189-197.
15. **Minami, T. and Tanaka, M., 1992.** Life history cycles in flat fish from the northwestern Pacific, with particular reference to their early life histories. Netherlands Journal of Sea Research, Vol. 29, No. 1, pp. 35–48.
16. **Moss, R. and Piertney, S.B., Palmer, S.C.F., 2003.** The use and abuse of microsatellite DNA makers in conservation biology. Wild life biology, Vol. 9, No. 1, pp. 243-250.
17. **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.
18. **Porta, J. and Alvarez, M.C., 2004.** Development and characterization of microsatellite from Senegal sole (Solea senegalensis). Mol. Ecol. Notes, Vol. 4, No. 1, pp. 277– 279.
19. **Porta, J.; Porta, J.M.; Martinez-Rodriguez, G. and Alvarez, M.C., 2006.** Genetic structure and genetic relatedness of a hatchery stock of Senegal sole (*Solea senegalensis*) inferred by microsatellites. Aquaculture, Vol. 251, No. 1, pp. 46– 55.
20. **Salari Aliabadi, M.A.; Rezvani Gilkolaei, S.; Savari, A.; Zolgharnean, H. and Nabavi, S.M.B., 2008.** Microsatellite polymorphism in Iranian populations of cobia (*Rachycentron canadum* G.). Biotechnology, Vol. 7, No. 4, pp. 775-780.
21. **Thai B.T.; Burridge C.P. and Austin C.M., 2007.** Genetic diversity of common carp (*Cyprinus carpio* L.) in Vietnam using four microsatelite loci. Aquaculture, Vol. 269, No. 1, pp. 1-4
22. **Yeh, F.C.; Yang, R.C. and Boyle, T., 1999.** POPGENE, Version 1.31: Microsoft Window-Based Free Ware for Population Genetic Analysis. University of Alberta, Edmonton, Alta.
23. **Zhao, N.; Shao, Z.; Ai, W.; Zhou, B.; Brosse, S. and Chang, J., 2005.** Microsatellite assessment of Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis* Gray) genetic variability. J. Appl. Ichthyol., Vol. 21, No. 1, pp. 7-13.

Genetic diversity of Oriental sole (*Euryglossa orientalis*) using microsatellite marker in the Persian Gulf (Khuzestan and Bushehr)

- **Maryam Nayerirad:** Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, P.O. Box: 669, Khorramshahr, Iran
- **Hossein Zolgharnean:** Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, P.O. Box: 669, Khorramshahr, Iran
- **Hamid Galledari:** Department of Genetics, Faculty of Science, Shahid Chamran University, Khuzestan, P.O. Box: 61357-83151, Ahvaz, Iran
- **Mohammad Ali Salari Aliabadi*:** Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, P.O. Box: 669, Khorramshahr, Iran

Received: August 2012 Accepted: January 2013

Keywords: Genetic diversity, *Eurygloss orientalis*, microsatellite, Persian Gulf.

Abstract:

The aim of this study was to analysis the population genetic structure of *Eurygloss orientalis* based on microsatellite markers. For these purpose 58 samples of *Eurygloss orientalis* from two regions of Persian Gulf (Khuzestan and Bushehr) were collected. DNA was extracted and using 6 pairs of microsatellite primers. Polymerase chain reaction (PCR) was conducted out of 6 microsatellite primers and results shows that 2 loci were polymorphic. Analysis revealed that the average number of observed and effective alleles in Khuzestan and Bushehr were 14.5, 10.708 and 13.5, 9.511 respectively. The mean observed and expected heterozygosity was 0.837 and 0.889 respectively. There are no significant deviations from HWE. The F_{st} value between populations was 0.025. The highest genetic distance between Khuzestan and Bushehr was 0.13 and the lowest genetic similarity was 0.733. The F_{st} value suggested no genetic differences between populations.

* Corresponding author's email: salari@kmsu.ac.ir