تنوع و تمایز ژنتیکی ماهی شیر (*Scomberomorus commerson*) در سواحل شمالی خلیج فارس و دریای عمان با روش مولکولی ریزماهواره

- **مهرنوش نوروزی***: گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن، صندوق پستی: ٤٦٨١٧
- **مهدی زاهدی‌پور**: گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن، صندوق پستی: ٤٦٨١٧

تاریخ دریافت: آبان ١٣٩٤ تاریخ پذیرش: بهمن ١٣٩٤

چکیده

هدف مطالعه حاضر، بررسی ساختار ژنتیکی ماهی شیر *Scomberomorus commerson*، در خلیج فارس و دریای عمان با استفاده از جایگاه‌های ریزماهواره بود. ۹۰ نمونه ماهی شیر بالغ، در مجموع از سه منطقه کنارک و پسابندر در استان سیستان و بلوچستان، بندرعباس در استان هرمزگان و دیر در استان بوشهر، جمع‌آوری شد. پنج جفت پرایمر ریزماهواره (C83Sc، H96Sc، J43Sc، F6Sc و L42Sc) برای تعیین تمایز ژنتیکی استفاده گردید. بر اساس نتایج، میانگین اللی در جایگاه‌های مختلف ۰/٦٨ ± ۷/٥ (دامنه آن از ٤ تا ١٣ الل) به‌دست آمد. نمونه‌های تمامی مناطق دارای الل‌های اختصاصی بودند. میانگین ضریب خویشاوندی در جایگاه‌های ریزماهواره مثبت محاسبه شد. میانگین هتروزیگوسیتی مورد انتظار و مشاهده شده به‌ترتیب ۰/۰۵±۰/۷۸۳ و ۰/۰۱±۰/۵۷۱ محاسبه شد. تمامی جایگاه‌ها خارج از تعادل هاردی وینبرگ بودند. میزان شاخص تمایز و جریان ژنی بر اساس فراوانی اللی به‌ترتیب ۰/۱۲۷ و ۲/۱۱ محاسبه شد. بر اساس آزمون AMOVA، شاخص‌های تمایز Fst و Rst تفاوت معنی‌داری بین مناطق نمونه‌برداری نشان داد (p<۰/۰۱). میزان فاصله ژنتیکی نیز نشان‌دهنده تمایز ژنتیکی بین گروه‌های مورد مطالعه بود. مطالعه حاضر نشان‌دهنده وجود گروه‌های متمایز ژنتیکی ماهی شیر در خلیج فارس و دریای عمان می‌باشد

کلمات کلیدی: ماهی شیر، *Scomberomorus commerson*، ژنتیک جمعیت، ریزماهواره

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: mnoroozi@toniau.ac.ir

مقدمه

ماهی شیر *Scomberomorus commerson* متعلق به خانواده تن ماهیان، دریازی، نریتیک، پلاژیک، اقیانوس‌رو و ساکن اعماق ۱۰ تا ۷۰ متری است. باوجود این‌که ماهی شیر با مهاجرت‌های طولانی ساحلی شناخته می‌شود، ولی جمعیت‌های ساکن و دائمی آن‌ها نیز وجود دارند. رفتارهای جمعیت‌های ساکن و مهاجر متفاوت است. مهاجرین بعد از تخم‌ریزی صدها کیلومتر از محل به‌صورت دسته‌هایی با ماهیان بیش‌تر ۲ و ۳ ساله دور می‌شوند، حال آن‌که غیرمهاجرین تنها محل تخم‌ریزی را ترک می‌کنند (صادقی، ۱۳۸۰). این ماهی در جنوب خلیج فارس به‌شدت تحت فشار صیادی قرار دارد (Grandcourt و همکاران، ۲۰۰۵) و از نظر وضعیت ذخایر گونه‌ای در سال ۲۰۱۴ در فهرست گونه‌های در نزدیکی تهدید (=Near NT Threatened species) اتحادیه بین‌المللی حفاظت از طبیعت (IUCN) قرار گرفت (Collette و همکاران، ۲۰۱۱).

کاهش ذخایر آبزیان در اکثر نقاط دنیا سبب گردیده است که محققین توجه زیادی به روش‌های مولکولی جهت مدیریت ذخایر آبزیان کنند (Chistiakov و همکاران، ۲۰۰۵). به‌طورکلی ماهیان پلاژیک غالباً تمایز ژنتیکی کمی در مناطق مختلف جغرافیایی نشان می‌دهند که ناشی از نبودن موانع فیزیکی و مبادله ژنتیکی بالا و هم‌چنین ویژگی‌های زیستی همانند اندازه بزرگ جمعیت و دوره زندگی شناورزی در مراحل اولیه زندگی است (Zhan و همکاران، ۲۰۰۹). در میان روش‌های مولکولی، جایگاه‌های ریزماهواره یکی از بهترین روش‌های شناسایی ساختار جمعیت در ماهیان پلاژیک می‌باشند. زیرا آن‌ها به فراوانی در طول ژنوم پراکنده‌اند، سطوح بالایی از چندشکلی را نشان می‌دهند و به‌راحتی با واکنش PCR تکثیر می‌شوند (Georgescu و همکاران، ۲۰۱۳). هم‌چنین از جایگاه‌های ریزماهواره طراحی شده برای یک گونه، اغلب می‌توان در گونه‌های نزدیک و خویشاوند، با موفقیت استفاده کرد (Chistiakov و همکاران، ۲۰۰۵). پیش‌تر، مطالعات مولکولی زیادی بر روی خانواده تن ماهیان با استفاده از جایگاه‌های ریزماهواره انجام شده است. از جمله می‌توان بررسی ساختار ژنتیک جمعیت شیر ماهی در آب‌های شمالی خلیج فارس (عابدی و همکاران، ۱۳۸۹) و دریای عمان (Herwerden و همکاران، ۲۰۰۶)، بررسی ساختار ژنتیکی ماهی قباد ژاپنی اسپانی (*S. niphonius*) با طراحی جایگاه‌های ریزماهواره (Lin و همکاران، ۲۰۱۲؛ Xing و همکاران، ۲۰۰۹؛ Yokoyama و همکاران، ۲۰۰۶)، بررسی ساختار ژنتیکی ماهی قباد برزیلی (*S. brasiliensis*) با طراحی جایگاه‌های ریزماهواره (Gold و همکاران، ۲۰۱۰؛ Renshaw و همکاران، ۲۰۰۸)، اشاره نمود. مطالعه حاضر بر روی ماهی شیر با استفاده از جایگاه‌های ریزماهواره برای مطالعه ساختار جمعیت‌های این ماهی در آب‌های خلیج فارس (بوشهر)، آب‌های هرمزگان و دریای عمان (سیستان و بلوچستان) انجام گردید تا وجود جمعیت‌های احتمالی ماهی شیر، تمایز و تنوع ژنتیکی آن در این مناطق مشخص گردد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌گیری از ۹۰ نمونه ماهی بالغ شیر از سه منطقه (هر منطقه ۳۰ نمونه) شامل آب‌های سیستان و بلوچستان از دو ناحیه کنارک و پسابندر (E ′۰۴ °۵۹، N ′۳۵ °۲۵، E ′۱۰ °۶۰، N ′۳۹ °۲۴)، آب‌های هرمزگان از سه ناحیه‌ی لارک، بندرعباس و جزیره قشم (E ′۱۰ °۵۵، N ′۲۱ °۲۶، E ′۳۰ °۵۵، N ′۲۳ °۲۶، E ′۴۳ °۵۶، N ′۲۵ °۲۶) و آب‌های بوشهر از دو ناحیه دیر و کنگان (E ′۰۸ °۵۹، N ′۳۰ °۲۷، E ′۲۴ °۵۱، N ′۲۰ °۲۷) از قسمت نرم باله دمی انجام شد (شکل ۱). قسمت‌های جدا شده هر یک از نمونه‌ها جداگانه درون میکروتیوپ ۱/۵ میلی‌لیتری حاوی الکل ۹۶ درصد قرار گرفت. برای نگه‌داری بهتر، نمونه‌ها تا شروع مرحله استخراج در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. استخراج DNA با استفاده از کیت استخراج (High pure PCR template preparation kit) (شرکت روچ آلمان، کد ۱۱۷۹۶۸۲۸۰۰۱) انجام گردید. به‌منظور بررسی کمیت و کیفیت DNA استخراج شده از روش‌های اسپکتروفتومتری و الکتروفورز ژل آگارز ۱ درصد استفاده شد.

برای بررسی تنوع ژنتیکی شیر ماهی از ۸ جفت پرایمر ریزماهواره طراحی شده برای ماهی شیر شامل پرایمرهای (C83Sc، H96Sc، J43Sc، F6Sc، L42Sc) (Herwerden و همکاران، ۲۰۰۶) و ماهی قباد ژاپنی-اسپانی شامل پرایمرهای (spma20، spma9، spma6) (Xing و همکاران، ۲۰۰۹) استفاده گردید (جدول ۱).

واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز در حجم ۲۵ میکرولیتر شامل: ۰/۲dNTPs، میلی‌مولار، پرایمر ۰/۳ تا ۰/۵ میکرولیتر ۰/۵ میلی مولار، DNA، ۲۰۰ نانوگرم، HotStarTaqTM DNA polymerase، ۰/۳ واحد، PCR بافر x ۱، کلرید منیزیم ۲/۵ میلی‌مولار و آب مقطر دیونیزه برای رساندن به حجم مورد نظر در pH برابر ۸/۷ انجام گرفت.

شرایط چرخه دمایی و مشخصات داده شده به دستگاه ترموسایکلر برای واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز به‌ترتیب مرحله جداسازی ۹۵-۹۴ درجه سانتی‌گراد ۳۰ ثانیه، مرحله اتصال پرایمرها به هدف از ۵۲ تا ۵۹ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳۰

ثانیه، مرحله بسط پرایمر ۷۲ درجه سانتی‌گراد، ۳۰ ثانیه تا ۱ دقیقه و ۳۵ چرخه بهینه سازی گردید (جدول ۱). محصول PCR بر روی ژل پلی‌اکریل آمید ۸ درصد (دیونیزه) الکتروفورز شد و رنگ آمیزی ژل با نیترات نقره انجام گرفت (Bassam و همکاران، ۱۹۹۱). سپس تصویر ژل‌ها با استفاده از نرم‌افزار Uvitec مورد بررسی قرار گرفت.

شکل ۱: نمایی از مناطق نمونه‌برداری از ماهی شیر که در آن آب‌های استان‌های سیستان و بلوچستان، هرمزگان و بوشهر نشان داده شده است

جدول۱: خصوصیات جایگاه‌های ریزماهواره در شیر ماهی

جایگاه	تکرار موتیف	توالی پرایمر	$MgCl_2$	دما	اندازه باند
C83Sc	(TG)5TC(TG)11	F ACGCAGCAATGCACCGTGG R AAGAATCAACACAAACAGCACC	۲/۵	۵۷	۱۴۲-۲۰۰
H96Sc	(TG)5TT(TG)7AG(TG)4	F AAAGAATGGAAATTCAGATCAC R TAAAATGACATCATCCCATGG	۲/۵	۵۵	۱۵۶-۲۱۰
J43Sc	(TG)4CC(TG)15	F TGATCTAATCAATGGGAGAGG R TGCTCACATGTGCAAGCAAT	۱/۷۵	۵۵	۱۳۰-۱۸۸
F6Sc	(TGTC)8	F TGATGAGGCTGAAAGACTGAC R AGGTAGTGACCAACGCTCC	۲/۱۲	۵۶	۱۴۴-۲۰۸
L42Sc	(CA)13GA(CA)2GA(CA)4	F ATGGCAACGGCGAGATTAAGG R TCCAGAACAGCAGCAGTTTCC	۱/۲۵	۵۹	۲۵۲-۳۰۲

پس از رتبه‌دهی به آلل‌ها محاسبات آماری شامل فراوانی آللی، تعداد آللی (Na) و تعداد آلل‌های موثر (Ne)، هتروزیگوسیتی مورد انتظار (He) و مشاهده شده (Ho)، ضریب خویشاوندی درون جمعیت (Fis) و ضریب خویشاوندی کل (Fit)، تعادل هاردی واینبرگ براساس$\chi 2$، تست تمایز براساس فراوانی آللی، فاصله ژنتیکی براساس Nei (۱۹۷۲) و مقادیر شاخص تمایز Fst Rst و براساس آزمون AMOVA در سطح اطمینان ۹۹ درصد با نرم‌افزار GeneAlex ورژن ۶ محاسبه گردید (Peakall و Smouse، ۲۰۰۹). هم‌چنین تمایز ژنتیکی و غنی‌سازی آللی (AR) با استفاده از نرم‌افزار Arlequin 3.5 (Excoffier و Lischer، ۲۰۰۵) با استفاده از ۱۰۰۰۰ بار شبیه‌سازی در هر مورد محاسبه شد.

نتایج

در این مطالعه از ۸ جایگاه مورد بررسی فقط پنج جایگاه (C83Sc، H96Sc، J43Sc، F6Sc و L42Sc) در PCR تکثیر شدند و چندشکلی (پلی‌مورف) نشان دادند. در هنگام شمارش الگوی باندی در تمامی جایگاه‌ها یکی و در برخی موارد دو باند دیده شد که از خصوصیات الگوی دیپلوئید است. اندازه اللی به‌دست آمده از ۱۳۰ تا ۳۰۲ جفت باز بود (جدول ۱). در مجموع ۷۹ الل در ۹۰ نمونه شناسایی شد که بسیاری از آن‌ها در فراوانی کم‌تر از ۰/۰۵ قرار داشتند. به‌طوری‌که در نمونه‌های آب‌های بوشهر از دو ناحیه دیر و کنگان و بندرعباس فقط ۲۶ الل و در نمونه‌های چابهار ۲۸ الل در فراوانی بیش‌تر از ۰/۰۵ شناسایی گردید. جایگاه J4Sc بیش‌ترین میزان فراوانی اللی را از ۰/۱۶۷ تا ۰/۴۳۳ نشان داد. میانگین تعداد الل واقعی و موثر به ترتیب ۷/۵±۰/۶۸ و ۴/۹ ±۰/۵۶ و دامنه اللی از ۴ تا ۱۳ الل در جایگاه‌های مختلف به‌دست آمد. دامنه اللی در جایگاه F6Sc از ۶ تا ۱۳ الل (A_R=۱۲/۶)، L42Sc از ۶ تا ۷ الل (A_R=۱۳/۵۹)، H96Sc از ۴ تا ۷ الل (A_R =۱۳/۵)، C83Sc از ۷ تا ۱۲ الل (A_R =۱۵/۷)، J43Sc از ۴ تا ۱۰ الل (A_R =۱۴/۵) مشاهده گردید (جدول ۲). مجموعاً ۹ الل اختصاصی یافت شد. تعداد الل

اختصاصی در فراوانی بیش‌تر از ۰/۰۵ در نمونه‌های بوشهر ۴ الل (جایگاه‌های F6sc، H96Sc و C83Sc)، بندرعباس ۲ الل (جایگاه‌های H96Sc و C83Sc) و چابهار ۳ الل (جایگاه‌های L42Sc و H96Sc) بود که این الل‌ها در هیچ‌یک از دیگر مناطق نمونه‌برداری شناسایی نشد (جدول ۲).

در این بررسی، دامنه Ho در تمامی جایگاه‌ها از ۰/۳۰۱ تا ۰/۷۲۱ با میانگین ۰/۰۱± ۰/۵۷۱ و دامنه He از ۰/۶۴۹ تا ۰/۸۶۲ با میانگین ۰/۰۵±۰/۷۸۳ بود (جدول ۳). در بررسی تعادل هاردی واینبرگ (H-W) همه جایگاه‌ها خارج از تعادل بودند (p≤۰/۰۰۱). میانگین ضریب خویشاوندی درون جمعیت (Fis)، ۰/۱۰۶±۰/۷۴۱ و ضریب خویشاوندی کل (Fit)، ۰/۰۹۴±۰/۷۷۰ به‌دست آمد. Fis به‌جز در جایگاه C83Sc در تمامی جایگاهای ریزماهواره مثبت بود (جدول ۳) که نشان‌دهنده کاهش هتروزیگوسیتی است. جایگاه H96Sc با کم‌ترین میزان Fis به‌طور میانگین بالاترین میزان هتروزیگوسیتی را در تمامی جایگاه‌ها نشان داد.

دامنه شاخص تمایز Fst براساس فراوانی اللی از ۰/۰۳۷ تا ۰/۰۴۴ به‌دست آمد (جدول ۴) که نشان‌دهنده تمایز ژنتیکی کم می‌باشد (Balloux و Lugan، ۲۰۰۲). میزان Fst، Rst و جریان ژنی براساس آزمون AMOVA، معنی‌دار بود (p<۰/۰۱). دامنه فاصله ژنتیکی براساس Nei (۱۹۷۲)، ۰/۵۷۶ تا ۰/۶۶۶ و دامنه شباهت ژنتیکی ۰/۳۹۵ تا ۰/۴۱۳ به‌دست آمد (جدول ۵). نتایج حاصل از آنالیز واریانس مولکولی در سطح ۹۹ درصد براساس شاخص تمایز Fst نشان داد که اختلاف بین افراد ۶۳ ٪، اختلاف درون افراد ۲۲ درصد و اختلاف بین جمعیت‌ها ۱۵ درصد است.

جدول ۲: نتایج اللی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های مورد مطالعه ماهی شیر

مناطق نمونه‌برداری/جایگاه		بوشهر	بندرعباس	چابهار	میانگین(±SD)
C83Sc	N_a	(۱)۱۲	(۱)۷	۷	
	Ne	۷/۲۵	۴/۷۷	۴/۶۳	
	A_R	۱۲	۷	۷	۱۵/۷۸(±۲/۱)
H96Sc	N_a	(۲) ۷	(۱) ۴	(۲) ۵	
	Ne	۶	۳/۱۶	۴/۰۱	
	A_R	۷	۴	۵	۱۳/۵۹(±۱/۶)
J43Sc	N_a	۴	۱۰	۱۰	
	Ne	۲/۸۴	۶	۶/۶۹	
	A_R	۴	۱۰	۱۰	۱۴/۵۱(±۱/۱)
F6Sc	N_a	(۱)۱۳	۸	۶	
	Ne	۶/۵۲	۵/۰۴	۳/۳۲	
	A_R	۱۳	۸	۶	۱۲/۶۷(±۲)
L42Sc	N_a	۷	۷	(۱) ۶	
	Ne	۵/۷۱	۴/۱۱	۴/۴۱	
	A_R	۷	۷	۶	۱۳/۵۹(±۲/۲)
میانگین(±SD)	N_a	۸/۶	۷/۲	۶/۸	۷/۵۳±۰/۶۸
	Ne	۵/۶۶	۴/۶۱	۴/۶۱	۴/۹۶ ±۰/۵۶
مجموع الل با فراوانی>۰/۰۵ در هرمنطقه		۲۶	۲۶	۲۸	
مجموع الل اختصاصی در هرمنطقه		۴	۲	۳	

- تعداد اللی (Na)، تعداد الل موثر (Ne) و غنی‌سازی اللی (A_R)، داخل پرانتز (تعداد الل اختصاصی)

جدول ۳: نتایج هتروزیگوسیتی در تنوع ژنتیکی و ضریب خویشاوندی جمعیت‌های مورد مطالعه ماهی شیر

مناطق نمونه‌برداری/جایگاه		بوشهر	بندرعباس	چابهار
C83Sc	Ho	۰/۷۲۱	۰/۷۱۰	۰/۷۱۵
	He	۰/۸۶۲	۰/۷۹۱	۰/۷۸۴
	Fis	۱/۰۰۰	-۰/۰۳۷	۰/۲۵۱
H96Sc	Ho	۰/۳۰۱	۰/۵۱۰	۰/۴۳۳
	He	۰/۸۳۳	۰/۶۴۸	۰/۷۵۱
	Fis	۱/۰۰۰	۱/۰۰۰	۱/۰۰۰
J43Sc	Ho	۰/۶۵۰	۰/۶۲۰	۰/۵۹۵
	He	۰/۶۴۹	۰/۸۳۳	۰/۸۵۱
	Fis	۱/۰۰۰	۰/۸۸۴	۰/۹۶۲
F6Sc	Ho	۰/۶۶۰	۰/۶۵۰	۰/۶۳۳
	He	۰/۸۴۷	۰/۸۰۲	۰/۶۹۹
	Fis	۱/۰۰۰	۰/۸۳۹	۰/۱۱۱
L42Sc	Ho	۰/۳۲۰	۰/۵۲۰	۰/۵۲۳
	He	۰/۸۲۵	۰/۷۵۷	۰/۷۷۳
	Fis	۰/۴۰۸	۰/۶۵۷	۱/۰۰۰
میانگین(±DS)	Ho	۰/۵۳۰(±۰/۱۱)	۰/۶۰۲(±۰/۱۳)	۰/۵۸۰(±۰/۱۰)
	He	۰/۸۰۳(±۰/۰۳)	۰/۷۷۳(±۰/۰۲)	۰/۷۷۲(±۰/۰۲)
	Fis	۰/۸۷۹(±۰/۱۰)	۰/۶۶۵(±۰/۰۹)	۰/۶۸۱(±۰/۱۰)

- ضریب خویشاوندی (Fis)، هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Ho) و قابل انتظار (He)

جدول ۴: شاخص تمایز (Fst) در قسمت بالای جدول و جریان ژنی (Nm) در قسمت پایین جدول در ماهی شیر

شاخص تمایز جریان ژنی		بوشهر	بندرعباس	چابهار
	بوشهر	-	۰/۰۳۸	۰/۰۳۷
	بندرعباس	۲/۳۰۱	-	۰/۰۴۴
	چابهار	۲/۳۳۷	۲/۱۵۹	-

جدول ۵: شباهت ژنتیکی در قسمت بالای جدول و فاصله ژنتیکی در قسمت پایین جدول در ماهی شیر

شباهت ژنتیکی فاصله ژنتیکی		بوشهر	بندرعباس	چابهار
	بوشهر	-	۰/۴۰۸	۰/۴۱۳
	بندرعباس	۰/۵۹۹	-	۰/۳۹۵
	چابهار	۰/۵۷۶	۰/۶۶۶	-

بحث

در بررسی حاضر، از هشت جفت پرایمر ریزماهواره که برای تن ماهیان طراحی شده بود، فقط ۵ جفت آن در PCR تکثیر شدند. می‌توان ریزماهواره‌ها را در گونه‌هایی با خویشاوندی نزدیک که از جد مشترکی باشند در اکثر موارد با موفقیت استفاده کرد. اما با افزایش فاصله فیلوژنتیکی میزان موفقیت کاهش می‌یابد و علت آن قرارگرفتن بازهای جانشین در مناطق پهلوگیری ریزماهواره‌هاست که محل باند شدن با پرایمرها می‌باشد (Cui و همکاران، ۲۰۰۵).

دامنه اللی ماهی شیر در این بررسی، ۴ تا ۱۳ الل در هر جایگاه و میانگین تعداد اللی مشاهده شده ۷/۵±۰/۶۸ الل به‌دست آمد که از متوسط تعداد آلل در هر جایگاه در ماهیان دریایی (۲۰/۶±۱۱/۸) کم‌تر است (Dewoody و Avise ، ۲۰۰۰). در مقایسه با سایر محققین، Herwerden و همکاران (۲۰۰۶)، در ماهی شیر دریای عمان با استفاده از همین ۵ جفت پرایمر، دامنه اللی را ۹ (C83Sc) تا ۲۸ (L42Sc) الل شناسایی کردند. عابدی و همکاران (۱۳۸۹) میانگین تعداد اللی ماهی شیر آب‌های شمالی خلیج فارس را ۵ الل گزارش کردند و دلیل این کاهش را نسبت به ماهیان آب شور جریان ژنی بالا در

خلیج فارس، میزان بالای مهاجرت در مولدین و آمیزش خویشاوندی دانستند. باید توجه داشت که در این بررسی تعدادی الل با فراوانی کم‌تر از ۰/۰۵ به‌دست آمد. وجود الل‌های زیاد با فراوانی پایین نشان‌دهنده تنگناهای ژنتیکی یا اثرات آمیزش خویشاوندی است (Alarcon و همکاران، ۲۰۰۴) و یا ناکافی بودن تعداد نمونه‌ها باشد. از آن‌جایی‌که ضریب آمیزش خویشاوندی نیز در مطالعه حاضر مثبت بود، بنابراین احتمال استرس وارده به جمعیت ماهی شیر (ناشی از صید بی‌رویه) وجود دارد. به‌طوری‌که نتایج بررسی‌های جمعیتی و صید ماهی شیر در جنوب ایران توسط سایر محققین نشان می‌دهد که این ماهی به شدت تحت فشار صیادی قرار دارد (فخری و همکاران، ۱۳۹۰؛ Grandcourt و همکاران، ۲۰۰۵؛ پارسامنش، ۱۳۷۹).

دامنه هتروزیگوسیتی در بررسی حاضر، ۰/۳۰۱ تا ۰/۷۲۱ به‌دست آمد. در مقایسه با سایر محققین، Herwerden و همکاران (۲۰۰۶)، در ماهی شیر دریای عمان با استفاده از همین ۵ جفت پرایمر، دامنه آن‌را ۰/۶۸۰ (H96Sc) تا ۰/۹۱۷ (L42Sc) اعلام کردند. عابدی و همکاران (۱۳۸۹) در بررسی ساختار ژنتیکی جمعیت‌های ماهی شیر در آب‌های شمالی خلیج فارس، دامنه هتروزیگوسیتی مشاهده شده بین ۰/۸۷۵ تا ۱/۰۰۰ با میانگین ۰/۹۸۸ و دامنه هتروزیگوسیتی مورد انتظار بین ۰/۵ تا ۰/۸۰۳ با میانگین ۰/۷۰۸ گزارش کردند. Herwerden و همکاران (۲۰۰۶) بیان نمودند عدم وجود یک مانع قابل توجه برای جلوگیری از پراکنش ماهیان در محیط دریایی، به‌طور موثر هتروزیگوسیتی را میان جمعیت‌ها کاهش می‌دهد و این امر در مورد گونه‌های پرتحرک و مهاجر با لاروهای پلانکتونیک مانند شیر ماهی وجود دارد. در بررسی حاضر میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده (۰/۰۱±۰/۵۷۱) از متوسط هتروزیگوسیتی مشاهده شده در ماهیان دریایی (۰/۷۹±۰/۲۶) کم‌تر است (Dewoody و Avise، ۲۰۰۰). احتمالاً دلیل آن میزان بالای مهاجرت در ماهیان شیر بالغ خلیج فارس و دریای عمان، میزان بالای جریان ژنی در این آب‌ها و ارتباط ژنتیکی لاروهای پلاژیک با یکدیگر است. علاوه بر این، خصوصیات بوم‌شناختی خلیج فارس و دریای عمان و هم‌چنین خصوصیات فیزیکی آن باعث همگن شدن آب و جابجایی لاروهای پلاژیک از یک منطقه به دیگر نقاط می‌شود. کاهش هتروزیگوسیتی مشاهده شده نسبت به هتروزیگوسیتی قابل انتظار می‌تواند نشان‌دهنده وجود تنگنای ژنتیکی و کاهش تنوع ژنتیکی نیز باشد. کاهش تغییر پذیری ژنتیکی در ذخایر وحشی جمعیت‌ها به‌علت استرس وارده به جمعیت می‌تواند ناشی از صید بی‌رویه و زوال تولید مثل در محیط طبیعی باشد (Alam و Islam ، ۲۰۰۰). در مناطق مختلف خلیج فارس آلودگی نفتی به‌همراه سایر آلودگی‌های شهری، کشاورزی و صنعتی سبب تخریب این بوم سامانه ارزشمند شده و منابع با ارزش آبزیان موجود در آن در معرض خطر آلودگی‌های مختلف قرار گرفته‌اند و موجب تهدید جمعیت‌های آبزی موجود در آن شده است (Pourang و همکاران، ۲۰۰۵). علاوه بر آلودگی‌های مختلف این مناطق که موجب کاهش زادآوری می‌شود، صید بی‌رویه است که با گذشت زمان موجب کاهش اللی و کاهش هتروزیگوسیتی در ذخایر می‌گردد. از این رو به‌نظر می‌رسد که ذخیره مورد نظر، فشار صیادی زیادی را متحمل می‌شود. این نتایج با یافته‌های Al-Oufi و همکاران (۲۰۰۴)، Grandcourt و همکاران (۲۰۰۵) که اظهار می‌کنند ذخایر ماهی در منطقه راپمی شامل خلیج فارس، دریای عمان و بخشی از دریای عرب به‌صورت بی‌رویه برداشت می‌شود، مطابقت می‌کند. لذا باید راهکارهای مدیریتی به‌منظور کاهش خطرات فشار صیادی بر ذخیره ماهی شیر در منطقه مورد مطالعه ارائه شود. در صورت ادامه وضعیت موجود این احتمال وجود دارد که شاهد کاهش شدید در اندازه جمعیت این گونه در آینده نزدیک بود.

در بررسی حاضر بر روی ماهی شیر، همه جایگاه‌ها خارج از تعادل هاردی- واینبرگ بودند ($p<0/001$). با توجه به این‌که این ماهی دریازی، نریتیک، پلاژیک، اقیانوس رو و دارای مهاجرت‌های طولانی ساحلی است، بنابراین انحراف از تعادل هاردی- واینبرگ در آن قابل توجیه است (Herwerden و همکاران، ۲۰۰۶). کم بودن تعداد نمونه مورد بررسی نیز می‌تواند عامل دیگری برای انحراف از تعادل هاردی- واینبرگ در تن ماهیان باشد (Xing و همکاران، ۲۰۰۹). نتایج هتروزیگوسیتی این بررسی و مقایسه آن با سایر مطالعات (عابدی و همکاران، ۱۳۸۹؛ Herwerden و همکاران، ۲۰۰۶) بر روی تن‌ماهیان نشان می‌دهد که اعضای جنس *Scomberomorus* دارای تحرک بالا و اختلاط جمعیتی در منطقه هستند. عابدی و همکاران (۱۳۸۹) در بررسی ساختار ژنتیکی جمعیت‌های ماهی شیر در آب‌های شمالی خلیج‌فارس، دلیل انحراف را مهاجرت‌های فصلی طولانی این ماهی اعلام کردند. در بررسی حاضر به‌نظر می‌رسد، مهاجرت و اختلاط جمعیت‌ها مهم‌ترین عاملی است که سبب می‌گردد تعادل هاردی - واینبرگ برقرار نباشد.

براساس آزمون AMOVA میزان Fst و Rst بین مناطق نمونه‌برداری معنی‌دار بود ($p<0/01$). از این رو به‌نظر می‌رسد که گروه‌های مختلف ژنتیکی در مناطق نمونه‌برداری وجود دارد. پیش‌تر صادقی (۱۳۸۰) اعلام کرده بود، باوجود این‌که ماهی شیر با مهاجرت‌های طولانی ساحلی شناخته می‌شود، ولی جمعیت‌های ساکن و دائمی آن‌ها نیز وجود دارند. پایین بودن مقدار Fst در این مطالعه، به‌علت پلی‌مورفیسم بالا (ناشی از جهش) در ریزماهواره‌ها و مهاجرت این ماهی در مناطق مختلف است که به‌طور موثری میزان Fst را کاهش می‌دهند (Balloux و

Lugan، ۲۰۰۲). به‌طورکلی مهاجرت زیاد از جدایی ژنتیکی جمعیت‌ها جلوگیری می‌کند و در ماهیان بین مقدار Fst و قابلیت پراکنش همبستگی منفی وجود دارد (Waples، ۱۹۸۷). گونه‌های دریایی دارای زادآوری و پراکنش بالایی هستند. این موضوع به‌خصوص در گونه‌های پرتحرک با لاروهای پلاژیک مانند ماهی شیر وجود دارد (Gold و همکاران، ۲۰۱۰). Shaklee و همکاران (۱۹۸۲) و Thorpe و Sol-Cave (۱۹۹۴) میزان فاصله ژنتیکی (Nei، ۱۹۷۲) برای جدایی جمعیت‌ها را به‌طور میانگین ۰/۳ (دامنه آن از ۰/۰۳ تا ۰/۶۱) ذکر کرده‌اند که با فاصله ژنتیکی مشاهده شده در این بررسی مطابقت دارد و نشان‌دهنده تمایز ژنتیکی بین گروه‌های مشاهده شده است. اگرچه هنوز به‌طور دقیق مشخص نشده است که این ماهی در زمان تخم‌ریزی خود به کدام منطقه مهاجرت می‌کند اما وجود مولدانی که بدون مهاجرت، به‌طور محلی در خلیج فارس و دریای عمان تخم‌ریزی می‌کنند به اثبات رسیده است (Collette، ۲۰۰۱؛ Dudley و همکاران، ۱۹۹۲).

بررسی حاضر، نشان می‌دهد که گروه‌های متمایز ژنتیکی ماهی شیر که در خلیج فارس و دریای عمان زیست می‌کنند. وجود الل‌های اختصاصی، Fst و Rst معنی‌دار، تاییدکننده وجود گروه‌های ژنتیکی متمایز در مناطق نمونه‌برداری شده است. احتمال دارد که گروه‌های ژنتیکی دیگری از این ماهی، در منطقه وجود داشته باشد که نیازمند به مطالعه و بررسی بیش‌تری است.

تشکر و قدردانی

این پژوهش در آزمایشگاه تحقیقات ژنتیک مولکولی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن انجام پذیرفت. از تمامی همکاران گرامی در آزمایشگاه تحقیقات ژنتیک مولکولی واحد تنکابن به‌ویژه جناب آقای دکتر ناظمی تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

۱. **پارسامنش، ا.، ۱۳۷۹.** اصول ارزیابی ذخایر آبزیان موسسه تحقیقات شیلات ایران. مدیریت اطلاعات علمی و روابط بین الملل. ۱۶۴ صفحه.

۲. **صادقی، ن.، ۱۳۸۰.** ویژگی‌های زیستی و ریخت‌شناسی ماهیان جنوب ایران (خلیج فارس و دریای عمان). چاپ اول. انتشارات نقش مهر. ۴۳۰ صفحه.

۳. **عابدی، ا.؛ ذوالقرنین، ح.؛ سالاری، م.؛ محمدی، م.؛ قاسمی، ا.؛ ارچنگی، ب. و میرزا، ر.، ۱۳۸۹.** بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های شیر ماهی (*Scomberomorus commerson*) خلیج فارس با استفاده از نشانگرهای میکروستلایت. مجله علوم و فنون دریایی. دوره ۹، شماره ۴، صفحات ۸۳ تا ۹۱.

4. **Alam, S. and Islam, S., 2005.** Population genetic structure of *Catla catla* (Hamilton) revealed by microsatellite DNA markers. Aquaculture. Vol. 246, pp: 151-160.

5. **Alarcon, J.A.; Magoulas, A.; Georgakopoulos, T.; Zouros, E. and Alvarez, M.C., 2004.** Genetic comparison of wild and cultivated European populations of the Gilthead Sea bream (*Sparus aurata*). Aquaculture. Vol. 230, pp: 65-80.

6. **Al-Oufi, H.S.; Clareboudt, M.R.; McIlwain, J. and Goddard, S., 2004.** Final Report: Stock Assessment and Biology of the Kingfish (*Scomberomorus commerson* Lace´pe`de) in the Sultanate of Oman. College of Agricultural and Marine Sciences, Department of Marine Science and Fisheries, Muscat, Oman. 135 P.

7. **Bassam B.J.; Caetano-Anolles G. and Gressoff G.M., 1991.** Fast and sensitive silver standing of DNA in polyacrylamide gels. Annual Biochemistry. Vol. 84, pp: 680-683.

8. **Balloux, F. and Lugon-Moulin, N., 2002.** The estimate of population differentiation with microsatellite markers. Molecular Ecology. Vol. 11, pp: 155-165.

9. **Chistiakov, D.A.; Hellemans, B.; Haley, C.S.; Law, A.S.; Tsigenopoulos, C.S.; Kotoulas, G.; Bertotto, D.; Libertini, A. and Volckaert, F.A., 2005.** A microsatellite linkage map of the European sea bass *Dicentrarchus labrax* L. Genetics. Vol. 170, pp: 1821-1826.

10. **Collette, B.; Chang, S. K.; Di Natale, A.; Fox, W.; Juan Jorda, M.; Miyabe, N. and Nelson, R., 2011.** *Scomberomorus commerson*. The IUCN Red List of Threatened Species 2011, e.T170316A6745396.

11. **Collette, B.B., 2001.** Scombridae. Tunas (also, albacore, bonitos, mackerels, seerfishes and wahoo). In: Carpenter, K.E., Niem, V. (Eds.), FAO Species Identification Guide for Fishery Purposes. The Living Marine Resources of the Western Central Pacific, vol. 6. Bony fishes, part 4 (Labridae to Latimeriidae). FAO, Rome, pp: 3720-3755.

12. **Cui, J.Z.; Shen, X.Y.; Yang, G.P.; Gong, Q.L. and Gu, Q.Q., 2005.** Characterization of microsatellite DNAs in *Takifugu rubripes* genome and their utilization in the genetic diversity analysis of *T. rubripes* and *T. pseudommus*. Aquaculture. Vol. 250, pp: 129-137.

13. **Dewoody, J.A. and Avise, J.C., 2000.** Microsatellite variation in marine, freshwater and anadromous fishes compared with other animals. Journal of Fish biology. Vol. 56, pp: 461-473.

14. **Dudley, R.G.; Aghanashinikar, A.P. and Brothers, E.B., 1992.** Management of the Indo Pacific Spanish mackerel (*Scomberomoruscommerson*) in Oman. Fishery Research. Vol. 15, pp: 17-43.

15. **Excoffier, L.; Laval, G. and Schneider, S., 2005.** Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. Evolutionary Bioinformatics Online. Vol. 1, pp: 47-50.

16. **Georgescu, S.E.; Burcea, A.; Florescu, I.; Popa, O.G.; Dudu, A. and Costache, M., 2013.** Microsatellite Variation in Russian Sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii*) from Aquaculture. Animal Science and Biotechnologies. Vol. 47, No. 1, pp: 73-76.

17. **Grandcourt, E.M.; Al-Abdessalaam, T.Z.; Francis, F. and Al-Shamsi, A.T., 2005.** Preliminary assessment of the biology and fishery for the narrow-barred Spanish mackerel, *Scomberomorus commerson* (Lac´ep`ede, 1800), in the southern Arabian Gulf. Fisheries Research. Vol. 76, pp: 277-290.

18. **Gold, J.R.; Jobity, A.M.C.; Saillant, E. and Renshawa, M.A., 2010.** Population structure of carite

(*Scomberomorus brasiliensis*) in waters offshore of Trinidad and northern Venezuela. Fisheries Research. Vol. 103, pp: 30-39.

19. **Herwerden, L.V.; Mcilwain, J.; Al-Oufib, H.; Al-Amry, W. and Reyes, A., 2006.** Development and application of microsatellite markers for *Scomberomorus commerson* (Perciformes, Te leostei) to population genetic study of Arabian Peninsula stocks. Fisheries Research. Vol. 79, pp: 258-266.
20. **Lin, L.; Zhu, L.; Liu, S.F.; Tang, Q.S.; Su, Y.Q. and Zhuang, Z.M., 2012.** Polymorphic microsatellite loci for Japanese Spanish mackerel (*Scomberomorus niphonius*). Genetics and Molecular Research. Vol. 11, No.2, pp: 1205-1208.
21. **Nei, M., 1972.** Genetic distance between populations. American Naturalist. Vol. 106, pp: 283-292.
22. **Peakall, R. and Smouse, P.E., 2006.** GENALEX 6: genetic analysis in excel. Population genetic software for teaching and research. Molecular Ecology Notes. Vol. 6, pp: 288-295.
23. **Pourang, N.; Nikouyan, A. and Dennis, J.H., 2005.** Trace element concentration in fish, sediments and water from northern part of the Persian Gulf. Environmental monitoring and assessment. Vol. 109, pp: 293-316.
24. **Renshaw, M.A.; Douglas, K.C.; Rexroad C.A.; Jobity, A.M.C. and Gold, J.R., 2008.** Isolation and characterization of microsatellite markers in the Serra Spanish mackerel, *Scomberomorus brasiliensis*. Permanent Genetic Resources Note. pp: 835-838.
25. **Shaklee, J.B.; Tamaru, C.S. and Waples, R.S., 1982.** Speciation and evolution of marine fishes studied by electrophoretic analysis of proteins. Pacific Science. Vol. 36, pp: 141-157.
26. **Thorpe, J.P. and Sole-Cava, A.M., 1994.** The use of allozyme electrophoresis in invertebrate systematics. Zoologica Scripta. Vol. 23, pp: 3-18.
27. **Waples, R.S., 1987.** A multispecies approach to the analysis of gene flow in marine shore fishes. Evolution. Vol. 41, pp: 385-400.
28. **Xing, S.; Xu, G.B.; Liao, X.L.; Chen, S.L. and Yang, G.P., 2009.** Twelve polymorphic microsatellite loci from adinucleotideen- riched genomic library of Japanese Spanish mackerel (*Scomberomorus niphonius*). Conservation Genetic. Vol. 10, pp: 1167-1168.
29. **Yokoyama, E.; Sakamoto, T.; Sugaya, T. and Kitada, S., 2006.** Six polymorphic microsatellite loci in the Japanese Spanish mackerel, *Scomberomorus niphonius*. Molecular Ecology Notes. Vol. 6, pp: 323-324.
30. **Zhan, A.; Hu, J.; Hu, X. and Zhou, Z., 2009.** Fine scale population genetic structure of Zhikong scallop (*Chlamys farreri*): Do local marine currents drive geographical differentiation? Marine Biotechnology. Vol. 11, pp: 223-235.