بررسی ساختار ژنتیکی ماهی صبور (*Tenualosa ilisha*) آب‌های خلیج فارس و ساحل غربی مالزی با استفاده از توالی یابی ژنوم میتوکندری

بیتا ارچنگی[1*]، حسن مطوریان[2]، محمدعلی سالاری علی‌آبادی[3]، محمدتقی رونق[4]

۱- استادیار، گروه زیست دریا، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، استان خوزستان، خرمشهر، پست الکترونیکی: bita.archangi@gmail.com

۲- کارشناسی ارشد، گروه زیست دریا، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، استان خوزستان، خرمشهر، پست الکترونیکی: has7mat@yahoo.com

۳- استادیار، گروه زیست دریا، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، استان خوزستان، خرمشهر، پست الکترونیکی: salari1346@yahoo.com

۴- استادیار، گروه زیست دریا، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، استان خوزستان، خرمشهر، پست الکترونیکی: mt.ronagh@yahoo.com

* نویسنده مسوول

تاریخ دریافت: ۹۳/۹/۹ تاریخ پذیرش: ۹۴/۸/۲۶

© نشریه علمی ـ پژوهشی اقیانوس‌شناسی ۱۳۹۴، تمامی حقوق این اثر متعلق به نشریه اقیانوس‌شناسی است.

چکیده

مقاله حاضر به منظور ارزیابی ذخایر ژنتیکی ماهی صبور (*Tenualosa ilisha*) انجام شد. نواحی مورد نظر از سواحل ایرانی خلیج فارس (استان‌های خوزستان و بوشهر) و ایستگاه ساحل غربی مالزی به‌عنوان برون گروه انتخاب گردیدند. ابتدا آنالیز ژنوم میتوکندری از ناحیه D-loop برای تعداد ۸۶ نمونه از گونه مذکور انجام گرفت. سپس قطعات تکثیر شده توالی‌یابی گردیده و آنالیز ژنتیکی با استفاده از نرم افزارهای BioEdit، MEGA 6 و Arlequin انجام شد. نتایج نشان داد که چندین زیر جمعیت از ماهی صبور در منطقه خوزستان حضور دارند. کمترین میزان F_{st} در بین ایستگاه‌های سواحل خوزستان ($F_{st}= 0$) و بیشترین میزان F_{st} بین ایستگاه بوشهر با ساحل غربی مالزی به‌دست آمد ($F_{st}=$ ۰/۶۴). درخت فیلوژنی UPGMA نشان داد که جمعیت انتخاب شده از ساحل غربی مالزی تمایز ژنتیکی بالایی نسبت به جمعیت بزرگ سواحل ایرانی دارند و دو گروه نمونه‌های ایران و مالزی نهایتا در یک شاخه فیلوژنی قرار می‌گیرند.

کلمات کلیدی: *ماهی صبور (Tenualosa ilisha)، ژنوم میتوکندری، مالزی، خلیج فارس.*

۱. مقدمه

ماهی صبور با نام علمی *Tenualosa ilisha* از خانواده شگ ماهیان (Clupeidae) است. محدوده پراکندگی طبیعی این گونه از سواحل خلیج فارس تا اقیانوس هند و کشورهای چین و ویتنام گسترش یافته است. این ماهی از جمله ماهیان مهاجر آب‌های گرمسیری و نیمه گرمسیری است که مسافت‌های زیادی از رودخانه را برای تخم‌ریزی طی می‌نماید. رشد و نمو ماهیان جوان ماهی صبور در رودخانه انجام گرفته و تغذیه و رشد ماهی صبور بالغ عمدتا در دریا صورت می‌گیرد. این ماهی تنها گونه رودکوچ در بین ماهیان جنوب ایران است که برای تخم‌ریزی به رودخانه-های ایران و عراق مهاجرت می‌کند (Haroon, 1998).

ماهی صبور از نظر مصرف داخلی و تقاضای بالای بازار خارجی به‌خصوص برای کشورهای حاشیه خلیج فارس دارای اهمیت فراوانی است. هر چند بالاترین صید ماهی صبور در دلتای گنگ و مناطق فوقانی خلیج بنگال در کشورهای بنگلادش، هند و برمه است. به‌طور کلی بیش از ۲۰۰۰۰۰ تن در سال میزان صید این سه کشور در خلیج بنگال و اقیانوس هند گزارش شده است (FAO, 2013). میزان صید این گونه در استان‌های ساحلی جنوبی ایران حدود ۵۴۴۱ تن (سال ۱۳۹۲) بوده و بیش از ۸۵ درصد صید آن در استان خوزستان (۴۳۶۷ تن) انجام می‌گیرد که حدود ۹/۵ درصد میزان صید کل استان خوزستان (۴۵۷۰۷ تن) را ماهی صبور شامل می‌شود (سازمان شیلات ایران، ۱۳۹۲).

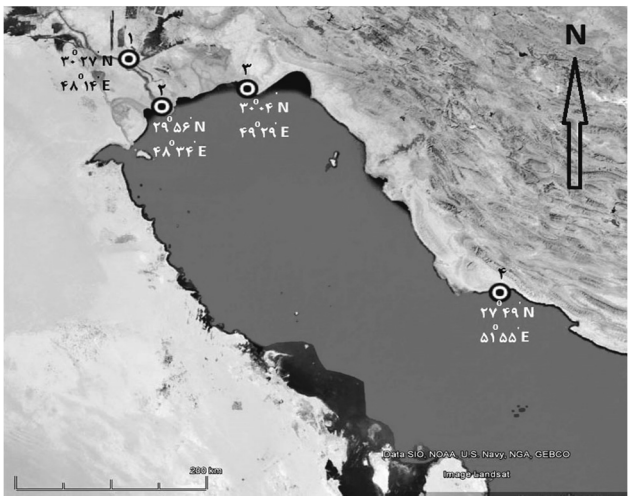
در سال‌های اخیر گزارش‌های فراوانی مبنی بر کاهش بیش از حد ذخایر شیلاتی این گونه با ارزش و کاهش سایز ماهیان ارایه شده است که بیانگر صید بی‌رویه و بدون توجه به قوانین شیلاتی است (شیلات آبادان، ۱۳۹۲). علاوه بر آن طبق گزارشات متعدد از جمله تحقیق رومیانی و همکاران (۱۳۸۵)، ضریب بهره برداری ماهی صبور در مناطق صید خوزستان بیش از حد بهینه بهره‌برداری تعیین شده است، که این عامل خود دلیل محکمی بر افزایش فشار صید و صیادی بر گونه مذکور و کاهش ذخایر ارزشمند آن است. با توجه به این‌که این گونه توسط دو کشور ایران و عراق مورد بهره‌برداری مشترک قرار می‌گیرد می‌توان به عمق فاجعه پی برد (سازمان شیلات ایران، ۱۳۹۲).

یکی از روش‌های بسیار سودمندی که امروزه در کشورهای پیشرفته جهت جبران خسارات وارده به ذخایر آبزیان انجام می‌گیرد، اعمال مدیریت ژنتیکی ذخایر است. به منظور ارایه روش‌های مدیریتی صحیح، ابتدا لازم است که ذخایر ژنی گونه‌های با ارزش با استفاده از روش‌های مولکولی و تلفیق آن‌ها با داده‌های بوم‌شناختی مورد مطالعه و بررسی دقیق قرار گیرند. در این صورت با داشتن اطلاعات کافی در این خصوص می‌توان روش‌های صحیح مدیریتی را به مرحله اجرا درآورد (Mazumder, 2009). در این راستا هدف از تحقیق حاضر، ارزیابی ذخایر ژنتیکی ماهی صبور (*Tenualosa ilisha*) در محدوده پراکندگی گونه بوده است، که ابتدا مطالعات مولکولی روی نمونه‌های سواحل استان‌های خوزستان و بوشهر انجام گرفت و سپس روی ایستگاهی در ساحل غربی کشور مالزی انجام شد. بدین منظور، با استفاده از تکثیر بخشی از قطعه D-loop از ژنوم میتوکندری و مطالعه توالی‌های به‌دست آمده، اطلاعاتی در مورد ذخایر ژنی گونه مذکور به‌دست آمد.

۲. مواد و روش‌ها

الف. نحوه انتخاب ایستگاه‌های نمونه‌برداری

جهت انجام آنالیز ژنتیکی و بررسی سطوح و الگوهای تنوع ژنی در مناطق مورد مطالعه، ضروری است حداکثر محدوده پراکنش گونه در نمونه‌برداری مدنظر قرار گیرد. همچنین به منظور پاسخگویی به اهداف مطرح شده در تحقیق حاضر، روش آنالیز سلسله مراتبی، به‌منظور تخمین تنوع ژنتیکی بین افراد در یک جمعیت[1]، در یک ناحیه[2]، بین ناحیه‌ای (بین دو استان خوزستان و بوشهر) و بین‌المللی (بین ایران و اقیانوس هند) انتخاب گردید تا حداکثر میزان تنوع ژنتیکی موجود بین افراد جمعیت‌ها با بیشترین دقت محاسبه گردد. به همین دلیل نواحی نمونه برداری به ۳ بخش کلی تقسیم گردیدند: استان خوزستان در منطقه حفار شرقی رود کارون (ایستگاه ۱)، مدخل اروند رود به خلیج فارس (ایستگاه ۲)، سواحل خلیج فارس در هندیجان (ایستگاه ۳)، سواحل خلیج فارس در استان بوشهر (ایستگاه ۴) و ساحل غربی کشور مالزی در سواحل اقیانوس هند (ایستگاه ۵) (جدول ۱، شکل ۱).



شکل ۱: موقعیت ایستگاه‌های نمونه‌برداری: موقعیت چهار ایستگاه داخلی

ب. استخراج DNA و تکثیر ژنوم میتوکندری

تعداد کل ۸۶ نمونه ماهی صبور از مناطق مورد نظر با استفاده از توری که در عرض رودخانه در مسیر عبور این

[1] Local population
[2] Regional

گونه ماهی قرار می‌دهند و همین‌طور با استفاده از تورهای صیادی در نواحی ساحلی نمونه برداری گردیدند. سپس نمونه‌ها به آزمایشگاه منتقل شدند. در آزمایشگاه از باله دمی (Fin clip) نمونه‌برداری گردید و جهت انجام استخراج DNA در الکل ۷۰٪ نگهداری شد.

ژنوم ماهی صبور با استفاده از روش فنل-کلروفرم (Sambrook and Russell, 2001) استخراج شد. سپس کیفیت ژنوم استخراجی روی ژل آگارز ۱٪ با استفاده از الکتروفورز مورد تایید قرار گرفت. همچنین کمیت DNA استخراج شده قبل از تکثیر ناحیه D-loop ژنوم میتوکندری توسط اسپکتروفتومتر بررسی شد.

بخش ۲۰۰۰ جفت بازی ناحیه D-loop ژنوم میتوکندری شامل بخشی از ژن‌های سیتوکروم b و ۱۲SrRNA از نمونه-های ماهی صبور تکثیر گردید. پرایمرهای مورد استفاده L-12260 (5'- CAT ATT AAA CCC GAA TGA TAT TT- 3') و H-1067 (5'- ATA ATA GGG TAT CTA ATC CTA GTT T- 3') انتخاب شدند (Martin et al., 1992). قطعه ژنوم میتوکندری در نمونه‌های ماهی صبور در یک واکنش PCR شامل ۳۰ میکرولیتر حجم کلی از ۲۰۰ نانوگرم DNA استخراج شده، ۳ میکرولیتر 10X Buffer (۵۰۰ mM KCl ،۱۰۰ mM Tris-HCl ، pH= ۸/۳)، ۱۵ mM MgCl2) همچنین ۳ میکرولیتر از ۲/۵ میلی مولار dDNTPs، ۱ میکرومولار از هر پرایمر و ۲ واحد از آنزیم Taq DNA polymerase، PCR گردید.

برنامه حرارتی مورد استفاده در PCR به صورت: واسرشته سازی اولیه در دمای ۹۴°C به مدت ۳ دقیقه، سپس ۳۵ چرخه شامل واسرشته سازی ۹۴ درجه و ۴۵ ثانیه، دمای الحاق ۴۵ درجه در ۴۵ ثانیه و بسط در ۷۲ درجه به مدت ۲ دقیقه و به دنبال آن در مرحله بسط نهایی در دمای ۷۲°C به مدت ۷ دقیقه انجام شد. پس از آن محصول PCR به‌دست آمده روی ژل آگارز ۱٪ ارزیابی شد و بهترین باندهای حاصل جهت انجام توالی‌یابی به شرکت‌های مربوطه ارسال شدند. نتایج به-دست آمده از توالی یابی ژنوم ماهی صبور در قطعات انتخابی تکثیر شده با استفاده از نرم افزارهای ژنتیکی از جمله BioEdit (Hall, 2013)، ترتیب‌بندی شدند و توالی‌های مرتب شده توسط نرم افزارهای MEGA نسخه ۶ (Kumar et al., 2008) و Arlequin (Excoffier et al., 2011) مورد بررسی قرار گرفتند.

۳. نتایج

آنالیز داده‌های مولکولی از توالی‌های ماهی صبور حضور ۸ هاپلوتیپ را در مناطق مورد مطالعه نشان داد که در منطقه بوشهر، هاپلوتیپ شماره ۱، در منطقه هندیجان هاپلوتیپ‌های شماره ۱، ۲ و ۵، در منطقه اروند هاپلوتیپ‌های ۱، ۳ و ۴، در منطقه کارون هاپلوتیپ‌های ۳، ۴ و ۵ و در منطقه مالزی هاپلوتیپ‌های ۶، ۷ و ۸ مشاهده شدند. هاپلوتیپ شماره ۱ در هر سه ایستگاه بوشهر، هندیجان و اروند مشترک است. همچنین هاپلوتیپ شماره ۳ بین ایستگاه هندیجان و کارون مشترک است. برای ژن‌های مورد بررسی، تنوع هاپلوتیپی (Hd)، تنوع نوکلئوتیدی (Pi) و میانگین تنوع هاپلوتیپ‌ها درون نواحی نمونه‌برداری و میانگین تنوع نوکلئوتیدی طبق جدول ۲ به‌دست آمده است.

جدول ۲: تعداد هاپلوتیپ‌ها (h)، تنوع هاپلوتیپی (Hd) و تنوع نوکلئوتیدی (pi) درون ناحیه‌ای

ایستگاه نمونه برداری	(h)	Hd	Pi
بوشهر	۱	۰/۰۰	۰/۰۰
هندیجان	۳	۰/۶۰۰	۰/۰۰۴۲۵
اروند	۳	۰/۷۰۰	۰/۰۰۲۵۵
کارون	۳	۰/۶۰۰	۰/۰۰۷۷۸
مالزی	۳	۰/۸۳۳	۰/۰۱۹۴۶
میانگین		۰/۷۵۷	۰/۰۱۱۰۶

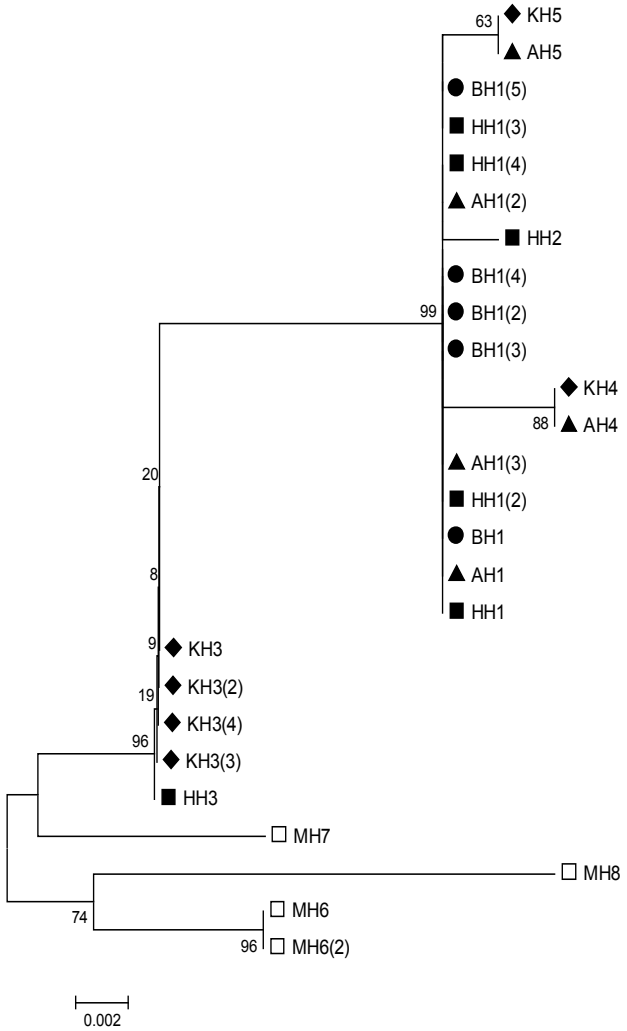
نتایج به‌دست آمده از داده‌های ژنتیکی جفت نواحی میزان F_{st} و جریان ژنی بین مناطق مورد مطالعه را نشان می‌دهد (جدول ۳).

جدول ۳: میزان F_{st} و جریان ژنی Nm محاسبه شده بین گروه‌های مورد مطالعه

گروه ۱	گروه ۲	Fst	Nm
بوشهر	هندیجان	۰/۰۰	۴/۸۸
بوشهر	اروند	۰/۰۰	۳/۵
بوشهر	کارون	۰/۵۲۱۷	۰/۲
بوشهر	مالزی	۰/۶۴۷۴	۰/۰۱
هندیجان	اروند	۰/۰۰	۲/۳۷
هندیجان	کارون	۰/۲۳۸۸	۱/۴۰
هندیجان	مالزی	۰/۵۴۷۳	۰/۰۲
اروند	کارون	۰/۴۲۵۲	۱/۱۴
اروند	مالزی	۰/۶۱۸۸	۰/۰۱
کارون	مالزی	۰/۳۶۸۸	۰/۰۴

به منظور بررسی جایگاه قرارگیری ماهی صبور آب‌های ایران روی درخت فیلوژنی، مقایسه توالی‌های D-loop مربوط به گونه مورد نظر در مناطق انتخابی مورد مطالعه قرار گرفت. در ابتدا

توالی‌ها با استفاده از برنامه CLUSTAL W هم‌تراز شدند، سپس به صورت دستی برای به حداقل رساندن بازهای ناجور، مورد بازبینی قرار گرفتند. درخت‌های تبارزایی به روش پیوند همجواری (NJ)، روش جفت گروه غیر وزنی از طریق میانگین حسابی (UPGMA) با استفاده از نرم افزار MEGA نسخه ۶ رسم شدند. همچنین آنالیز Bootstrap برای شاخه‌ها ۱۰۰۰ بار تکرار شد (شکل ۲).



شکل ۲: درخت تبارزایی گونه *Tenualosa ilisha* در مناطق مورد مطالعه بر اساس توالی یابی D-loop به روش NJ. (دایره توپر: نمونه‌های بوشهر، مربع: هندیجان، مثلث: اروند، لوزی: کارون، مربع توخالی: مالزی)

توالی‌های D-loop به‌دست آمده از نمونه‌های ماهی صبور رودخانه، سواحل ایرانی و همچنین ساحل مالزی در این مطالعه در بانک جهانی ژن در NCBI نیز به ثبت رسیده‌اند (جدول ۴).

۴. بحث و نتیجه‌گیری

در پروژه حاضر، آغازگرهای انتخابی مورد استفاده این قابلیت را داشته‌اند که تمایز ژنتیکی و تنوع هاپلوتایپی بین نمونه‌های ماهی صبور از مناطق مختلف را نشان دهند. مطالعات متعدد مولکولی ماهیان نشان می‌دهد که در سطوح تاکسونومیکی بالاتر، مناطق تکاملی با سرعت کمتر، مانند 12S rRNA و 16S rRNA ژن RNA ریبوزومی می‌توانند اطلاعات بیشتری در مورد تاریخچه تکاملی گونه‌های ماهیان ارایه دهند (Kocher and Stepien, 1997). تاکنون مطالعات زیادی روی تکامل توالی mtDNA در ماهی‌ها انجام گرفته است. طبق تحقیقات انجام شده، جایگزینی بازها نسبتا به سرعت رخ می‌دهند. ساختار DNA میتوکندری، نظام ژن و ساختار ثانویه عمدتا در ماهی‌ها، مانند سایر مهره داران حفظ شده است. ماهی DNA میتوکندری را به عنوان یک واحد به ارث برده و در نتیجه به عنوان نمونه یک ژن منفرد و مشخص شده می‌باشد، که این یک نقطه ضعف احتمالی به خصوص در مطالعات ژنتیکی جمعیت است. از آنجا که تاریخچه تکاملی یک ژن واحد می‌تواند متفاوت از تاریخ متوسط کل ژنوم باشد (Avise, 1994)، احتیاط در تفسیر درخت ژن میتوکندری به‌عنوان منعکس کننده تاریخچه جمعیت باید مدنظر قرار گیرد (Kocher and Stepien, 1997).

از سوی دیگر، ژن سیتوکروم b بهترین مورد برای مطالعه در ژنوم میتوکندری ماهی‌ها است (Kocher et al., 1989; Meyer et al., 1990; Carr and Marshall, 1991; Block et al., 1993; Zhu et al., 1994). از توالی DNA میتوکندری ژن سیتوکروم b، برای تجزیه و تحلیل انواع سطوح از روابط اعم از ژنتیک جمعیت و سطوح بالاتر سیستماتیک استفاده می‌شود. به‌عنوان مثال، Brahmane و همکاران (۲۰۰۶) داده‌های سیتوکروم b را برای ارزیابی سوالات فیلوژنتیکی و ژنتیک جمعیت در ماهی گرمسیری گونه *Abudefduf saxatilis* استفاده نمودند. سیتوکروم b برای تجزیه و تحلیل روابط میان گونه‌هایی از ماهیان دارتر شنی (خانواده سوف ماهیان)، آزاد ماهیان و کوسه ماهیان استفاده می‌شود. در سطوح بالاتر طبقه‌بندی، آزمون Lydeard و Roe (۱۹۹۷) جهت استفاده از سیتوکروم b برای آشکار کردن روابط فیلوژنتیک جهت تجزیه و تحلیل روابط میان ماهیان غضروفی استفاده می‌شود.

جدول ۴: هاپلوتیپ‌ها و جایگاه‌های پلی مورفیسم که به‌صورت پررنگ نشان داده شده‌اند، در هر هاپلوتیپ ماهی صبور در پروژه حاضر

جایگاه پلی مورف / هاپلوتیپ	۸ bp	۱۳ bp	۱۵ bp	۷۵ bp	۱۰۲ bp	۱۰۸ bp	۱۲۳ bp	۱۳۰ bp	۱۳۴ bp	۱۶۳ bp	۱۹۱ bp	۲۰۰ bp	۲۰۵ bp	۲۱۲ bp	۲۴۲ bp	۲۵۴ bp	۲۶۳ bp	۲۶۴ bp	۲۷۸ bp	۳۰۳ bp	۳۱۷ bp	۳۲ bp	۳۵۷ bp	۳۶۱ bp	۳۶۲ bp	۴۲۳ bp	۴۵۵ bp
۱ KF135646	A	A	G	C	C	G	A	A	A	A	G	C	G	G	A	C	C	T	A	A	T	G	C	G	C	T	C
۲ KF135647	A	A	G	C	C	G	A	A	A	A	G	C	G	G	A	C	C	T	A	A	T	G	T	G	C	**T**	C
۳ KF135648	**C**	**G**	**A**	C	C	G	A	A	A	A	G	C	A	G	A	C	C	T	A	A	T	G	C	G	C	T	**G**
۴ KF135649	A	A	G	C	C	G	A	A	A	A	G	C	G	G	A	C	C	T	A	A	T	G	C	**A**	C	**C**	C
۵ KF135650	A	A	G	C	C	G	A	A	A	A	G	C	G	G	A	C	C	T	A	A	T	G	C	G	**T**	T	C
۶ KF171950	**C**	**G**	**A**	C	**T**	**C**	A	A	A	A	**A**	C	A	G	A	**T**	**T**	**C**	A	A	T	**C**	C	G	C	T	**G**
۷ KF171951	**C**	**G**	**A**	C	C	G	**G**	**G**	**C**	A	G	C	A	**C**	A	**G**	C	T	A	A	T	**C**	C	G	C	T	**G**
۸ KF171952	**C**	**G**	**A**	**T**	C	G	A	A	A	**G**	**A**	**G**	A	**C**	**G**	**T**	C	**C**	**T**	G	**C**	**C**	C	G	C	T	**G**

ژن 12S rDNA توسط Stepien و همکاران (۱۹۹۷) جهت بررسی روابط بین گونه‌ها، جنس‌ها، خانواده‌ها و زیر راسته‌های ماهی Alenniiform، ابزار قوی در سطوح مختلف و تطابق با فرضیه‌های مورفولوژیکی را نشان داد. نتایج تحقیق حاضر بیانگر این نکته است که ژن‌های انتخابی از نواحی مذکور قابلیت پاسخگویی به سوالات تحقیق را داشته‌اند. محاسبه فراوانی هاپلوتیپ‌ها نشان می‌دهد که از بین تعداد ۸ نوع هاپلوتیپ به‌دست آمده بیشترین فراوانی مربوط به هاپلوتیپ شماره ۱ است که در ایستگاه بوشهر دارای ۱۰۰٪ فراوانی بوده و بین گروه‌های بوشهر، هندیجان و اروند مشترک است. به احتمال زیاد هاپلوتیپ مذکور به‌عنوان جد مشترک بین افراد کل منطقه[1] (سواحل ایرانی) محسوب می‌گردد.

از سوی دیگر مقایسه فراوانی و تنوع هاپلوتیپی بین سواحل ایرانی و ساحل غربی مالزی نشان می‌دهد که هیچ‌گونه هاپلوتیپ مشترکی بین ایستگاه‌های مذکور وجود ندارد. به احتمال زیاد، فاصله جغرافیایی و اختلافات بوم شناختی موجود بین دو منطقه[2] علت اصلی ایجاد هاپلوتیپ‌های جدید شده است. در مطالعه مشابهی که توسط Avise و همکاران (۱۹۸۹) انجام شد، میزان تنوع هاپلوتیپی بین ۰/۴ تا ۰/۸ گزارش شده است. همچنین در تحقیقی که توسط Mazumder و همکاران (۲۰۰۹) روی مطالعه تنوع ژنتیکی ماهی صبور در منطقه پراکنش گونه در بنگلادش انجام گردیده است، محدوده تنوع هاپلوتیپی بین ۰/۴ تا ۰/۸ گزارش شده است. این مقدار در تحقیق حاضر برای کل مناطق نمونه‌برداری (سواحل ایرانی و مقایسه آن‌ها با ساحل غربی مالزی) بین (۰/۸-۰/۰) به‌دست آمد. نتایج به‌دست آمده بیانگر این است که تنوع ژنتیکی در بین جمعیت‌های مورد مطالعه بالا است.

از سوی دیگر می‌توان گفت سطوح بالای تنوع ژنتیکی در بین ماهیان مهاجر در جمعیت‌های بزرگ Panmictic کاملا معمول است (Santos et al., 2007). از آنجا که ماهی صبور دارای الگوهای مهاجرتی است، وجود تنوع بالا در بین افراد کاملا قابل پیش‌بینی است. یعنی به عبارتی اندازه موثر جمعیت و نرخ مهاجرت به اندازه کافی بالا است و این عوامل تاثیر رانش ژنتیکی را که باعث کاهش تنوع بین جمعیتی می‌شود به اندازه زیادی کاهش می‌دهد.

میزان F_{st} به‌دست آمده بیانگر این است که در بین گروه‌های ماهی صبور در سواحل ایران (اروند، هندیجان و بوشهر) جریان ژنی بالایی برقرار است که این خود به‌دلیل رفتار مهاجرتی ماهی صبور است. از طرفی F_{st} بین گروه‌های سواحل ایران با مالزی به حدکثر مقدار ۰/۶۴ می‌رسد که بیانگر تمایز ژنتیکی موجود است. در تحقیق مشابهی که توسط Cockerham و Weir (۱۹۸۴) انجام شد، مقدار F_{st} را ۰/۰۹ گزارش کردند. این محققین بیان نمودند که تبادل ژنی بین گروه‌های ماهی صبور مورد مطالعه وجود دارد ولی همچنان به میزانی نیست که از تمایز ژنتیکی جلوگیری نماید. در تحقیق حاضر نیز هاپلوتیپ‌های منحصر به‌فرد در ناحیه سواحل ایرانی دیده شدند، که می‌تواند به‌دلیل شکل‌گیری تمایزهای ژنتیکی در زیر جمعیت‌های ماهی صبور باشد. در تحقیق دیگری نیز تمایز ژنتیکی تحت تاثیر فاصله جغرافیایی بین ماهیان صبور در بنگلادش گزارش شد (Brahmane et al., 2006). بنابراین به نظر می‌رسد زیر جمعیت‌های متعددی از ماهی صبور در رودخانه‌ها و سواحل ایران نیز حضور داشته باشند. آنالیز AMOVA سطوحی از تمایز بین جمعیتی را نشان می‌دهد. به‌علاوه به احتمال بسیار زیاد در منطقه سواحل ایرانی حداقل سه زیر جمعیت شامل جمعیت‌های رودخانه‌ای، خور و دریایی وجود داشته باشد. در مطالعه مشابهی که Dahle و همکاران (۱۹۹۷) در

[1] Regional distribution
[2] International distribution

بنگلادش انجام دادند نیز به نتیجه اخیر دست یافتند. این گروه با استفاده از روش مولکولی RAPD توانستند سه جمعیت جداگانه ماهی صبور را در Chandpur، Barguna و Cox's Bazar شناسایی نمایند. در پژوهش حاضر، آنالیز درخت فیلوژنی بر اساس روش پیوند همجواری (NJ)، روش جفت گروه غیر وزنی از طریق میانگین حسابی (UPGMA) و روش حداکثر ایجاز (MP)، نشان می‌دهد که با وجود تمایز ژنتیکی بین افراد گروه-های سواحل ایرانی (در سه ناحیه رودخانه‌ای، خور و دریایی) ماهیان صبور ایران همچنان در یک شاخه قرار دارند. از سوی دیگر نیز مقایسه برون گونه (Outgroup) انتخابی از ساحل غربی مالزی نشان داد که گونه *Tenualosa ilisha* در این منطقه علیرغم دارا بودن هاپلوتیپ‌های منحصر به‌فرد با ماهی صبور ایران در نهایت در یک شاخه درخت فیلوژنی قرار گرفته است. این نشان می‌دهد که علی‌رغم وجود تمایز ژنتیکی بین جمعیت‌های ماهی صبور در دو منطقه مطالعاتی ایران و ساحل غربی مالزی، همچنان دارای قرابت نزدیکی هستند.

تلفیق نتایج به‌دست آمده در پژوهش حاضر با مطالعات مولکولی که توسط جرفی و همکاران (۱۳۸۶) با استفاده از روش RAPD روی گونه مذکور انجام شده است، بر این حقیقت اذعان دارد که حداقل سه گروه مجزا (زیر جمعیت) از ماهی صبور در منطقه خوزستان و بوشهر وجود دارند که برای تخم‌ریزی، رودخانه‌های اختصاصی خود را انتخاب می‌کنند و به‌دلیل عادات مهاجرتی و حرکت گله‌ای ضمن حفظ تنوع ژنتیکی بین گروهی، دارای تمایز ژنتیکی نیز هستند. البته باید توجه داشت که روش RAPD نمی‌تواند به‌طور دقیق تمایز ژنتیکی را نشان دهد. به همین منظور در تحقیق حاضر از روش دقیق‌تر یعنی استفاده از ژنوم میتوکندری و روش توالی‌یابی بهره برده است. جهت حفظ ذخایر ژنی و اعمال روش-های مدیریت ژنتیکی در مورد گونه‌های با ارزش شیلاتی، نمونه-برداری فصلی و مستمر[1] و ارزیابی شرایط حاکم بر جمعیت‌هایی که مرتبا در معرض فشار صید قرار دارند، بسیار ضروری و با اهمیت به-نظر می‌رسد.

منابع

جرفی، ا.؛ امینی، ف.؛ قرشی، س.، ۱۳۸۶. مطالعه ساختار ژنتیک جمعیت ماهی صبور *Tenualosa ilisha* در آب‌های خوزستان با استفاده از روش مولکولی RAPD، مجله علمی شیلات ایران، شماره ۱، سال هفدهم، صفحات ۴۴-۳۱.

رومیانی، ل.، ۱۳۸۵. تخمین پارامترهای رشد و وضعیت صید ماهی صبور در استان خوزستان، پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد واحد علوم و تحقیقات اهواز، ۱۲۲ صفحه.

سازمان شیلات ایران، ۱۳۹۲. اداره آمار، کتابچه سالنامه آمارشیلاتی، ۶۵ صفحه.

Avise, J.C., 1994. Molecular markers, natural history and evolution. Chapman & Hall, New York, 459P.

Avise, J.C.; Arnold, J.; Ball, R.M., Bermingham, E.; Lamb, T.; Neigel, J.E.; Reeb, C.A.; Saunders, N.C., 1989. Intraspecific phylogeography: The mitochondrial DNA Bridge between population genetics and systematics. Annual Review of Ecological Systems, 18: 489-522.

Block, B.B.; Finnerty, J.R.; Stewart, A.F.R.; Kidd, J., 1993. Evolution of endothermy in fish: Mapping physiological traits on a molecular phylogeny. Science, 260: 210-214.

Brahmane, M.P.; Das, M.K.; Sinha, M.R., 2006. Use of RAPD fingerprinting for delineating populations of Hilsa shad *Tenualosa ilisha*. Genetics and Molecular Research, 5: 643-652.

Carr, S.M.; Marshall, H.D., 1991. Detection of intraspecific DNA sequence variation in the mitochondrial cytochrome b gene of Atlantic cod (*Gadus morhua*) by the polymerase chain reaction. Canadian Journal of Fish and Aquatic Sciences, 48: 48-52.

Dahle, G.; Rahman, M.; Erickson, A.G., 1997. RAPD fingerprinting used for discriminating among three populations of Hilsa shad *Tenualosa ilisha*. Fisheries Research, 32: 263-269.

Excoffier, L.; Lischer, H., 2011. ARLEQUIN VER 3.5 An integrated software package for population genetics data analysis. Swiss Institute of Bioinformatics, Switzerland, 174P.

[1] Ongoing monitoring

Mazumder, S.K.; Samsul Alam, M.D., 2009. High levels of genetic variability and differentiation in Hilsa shad *Tenualosa ilisha* populations revealed by PCR-RFLP analysis of the mitochondrial DNA D-loop region. Genetics and Molecular Biology, 32: 190-196

Meyer, A.; Kocher, T.D.; Basasibwaki, P.; Wilson, A.C., 1990. Monophyletic origin of Lake Victoria cichlid fishes suggested by mitochondrial DNA sequences. Nature, 347: 550-553.

Sambrook, G.; Russell, D.W., 2001. Molecular cloning: A laboratory manual (3rd ed.). Cold Spring Harbor Laboratory Press. USA.164P.

Santos, M.C.F.; Ruffino, M.L., 2007. High levels of genetic variability and panmixia of the tambaqui colossoma in the main channel of the Amazon River. Journal of Fish Biology, 71: 33-44.

Weir, B.S.; Cockerham, C.C., 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. Evolution, 38: 1358-1370.

Zhu, D.; Jamieson, B.G.M.; Hugall, A.; Moritz, C., 1994. Sequence evolution and phylogenetic signal in control region and cytochrome b sequences of rainbow fishes (Melanotaeniidae). Molecular Biology and Evolution, 11: 672-683.

FAO, 2013. FAO yearbook of fishery statistics, FAO Fisheries Series, 84: FAO, Rome, Italy. 57P.

Hall, T., 2013. BioEdit v 7.2.0. An abbott company. Available from: http://www.mbio.ncsu.edu/bioedit/ page2.html. [30 April 2007].

Haroon, A.K.Y., 1998. Hilsa Shad: Fish for the teeming millions, new management alternatives needed for the Hilsa young. Shad Journal, 3: 7-10.

Kocher, T.D.; Stepien, C.A., 1997. Molecules and morphology in studies of fish evolution. Academic Press, California, 314P.

Kocher, T.D.; Thomas, W.K.; Meyer, A.; Edwards, S.V.; Paabo, S.E.; Villablanca, E.X.; Wilson, A.C., 1989. Dynamics of mtDNA evolution in animals: Amplification and sequencing with conserved primers. Proceeding of National Academy of Science, USA. 86: 6196-6200.

Kumar, S.; Nei, M.; Dudley, J.; Tamura, K., 2008. MEGA: A biologistcentric software for evolutionary analysis of DNA and protein sequences. Brief Bioinformatics, 9: 299-306.

Martin, A.P.; Kessing, B.D.; Palumbi, S.R., 1992. Accuracy of estimating genetic distance between species from short sequences of mitochondrial DNA. Molecular Biology and Evolution Journal, 7: 485-488.