مقاله تحقیقی

مجله تحقیقات دامپزشکی، ۱۳۹۳، دوره ۶۹، شماره ۱، ۹۳-۸۵

Original Article

Journal of Veterinary Research. 69,1:85-93, 2014

بررسی ملکولی جمعیت میگوی موزی (*P.merguiensis*) در منطقه خلیج فارس و دریای عمان با استفاده از نشانگرهای میکروساتلایت (ریزماهواره)

سعید تمدنی جهرمی[1*] سهراب رضوانی گیل کلایی[2] سید حسن قدیر نژاد[3] احمد غروقی[2] مریم طلا[4] محمد رضا صادقی[1]

۱) بخش ژنتیک، پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان، بندر عباس - ایران

۲) بخش بیو تکنولوژی، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، تهران - ایران

۳) بخش ارزیابی ذخایر، مرکز تحقیقات ذخایر آبزیان داخلی کشور، گرگان - ایران

۴) گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قشم، قشم - ایران

(دریافت مقاله: ۱۵ مرداد ماه ۱۳۹۲ ، پذیرش نهایی: ۸ آبان ماه ۱۳۹۲)

چکیده

زمینه مطالعه: شناسایی ژنتیکی ذخایر گونه‌های مهم و اقتصادی میگوهای منطقه خلیج فارس از اولویت‌های مهم در جهت یافتن منابع طبیعی و بکر در جهت اطمینان از به گزینی و فاصله ژنتیکی بین جمعیت‌ها می‌باشد. **هدف:** در این پژوهش بررسی جمعیت و تعیین میزان تنوع ژنتیکی گونه میگوی موزی (*Penaeus merguiensis*) مورد مطالعه قرار گرفت. **روش کار:** نمونه برداری در ۳ منطقه پراکنش این گونه (بندرگواتر، اطراف جزیره هرمز و بندر جاسک به تعداد ۴۰ نمونه از هر منطقه در یک نوبت) انجام و بررسی ملکولی جمعیت‌های مورد مطالعه با استفاده از نشانگرهای ملکولی ریزماهواره انجام گردید. **نتایج:** از مجموع ۸ پرایمر مورد استفاده در این تحقیق فقط ۵ پرایمر قادر به تولید محصول PCR مناسب گردیدند. مجموعا ۷ آلل اختصاصی در سه جمعیت مورد مطالعه یافت شد. میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده در اغلب موارد کمتر از هتروزیگوسیتی قابل انتظار بودند. بررسی تعادل هاردی واینبرگ نشان داد که اکثر جایگاه‌های ژنی مورد مطالعه خارج از تعادل بودند. حداکثر میزان Fst (F- statistic) بر اساس فراوانی آلل‌ها (۰۸۸/) بین نمونه‌های مناطق هرمز و گواتر که دارای کمترین جریان ژنی بودند (Number of migrants=۲/۵۸۰) و حداقل آن (۰۱۶/) بین مناطق هرمز و جاسک که دارای بیشترین جریان ژنی بودند (Nm=۱۵/۷۳۳) دیده شد. **نتیجه‌گیری نهایی:** از نتایج حاصل استنباط می‌گردد که مناطق هرمز و گواتر از تمایز ژنتیکی متوسط با جریان ژنی کمتری نسبت به دو منطقه هرمز و جاسک برخوردار میباشد. این درجه از تمایز ژنتیکی را می‌توان به اثر فاکتورهایی از قبیل ساختار هیدرودینامیک منطقه (جریان‌های دریایی) بین منطقه تنگه هرمز و گواتر، وجود جریان گردابی در خلیج عمان، الگوی حرکتی مولدین در زمان تخمریزی و همچنین وجود جنگل‌های انبوه حرا به عنوان یکی از مهمترین مناطق نوزادگاهی ارتباط داد.

واژه‌های کلیدی: میگوی موزی، *Penaeus merguiensis*، ساختار ژنتیکی، ریزماهواره، خلیج فارس و دریای عمان

مقدمه

میگوهای جنس پنائوس (*Penaeus*) یکی از مهمترین ذخایر آبزیان اقتصادی در دریای عمان و خلیج فارس می‌باشند که نقش مهمی در صنعت صید و صیادی و تکثیر و پرورش در کشور ایفا می‌نمایند. میگوی موزی (*Penaeus merguiensis*) از محدوده جزیره قشم تا منطقه گواتر در استان سیستان و بلوچستان گسترده است. این گونه درصد بسیار بالایی (۶۰٪) از صید سالانه میگو در استان هرمزگان را بخود اختصاص می‌دهد. پراکنش این گونه در آبهای استان هرمزگان از منطقه تولا در غرب تا آبهای ساحلی منطقه جاسک در شرق می‌باشد. این گونه بیشتر بسترهای گلی و گلی - شنی و آبهای نیمه شفاف و یا گل آلود را ترجیح می‌دهد.

شناسایی ژنتیکی ذخایر یکی از اولویت‌های مهم در جهت یافتن منابع طبیعی و بکر در جهت اطمینان از به گزینی گونه‌ها می‌باشد. فاکتورهایی نظیر جایگاه جغرافیایی، جریان‌های دریایی، چرخه زندگی و خصوصیت‌های اکولوژیکی می‌توانند بر روی اختلاف و فاصله ژنتیکی بین جمعیت‌های آبزیان مؤثر باشند. اثرات این مؤلفه‌ها در مطالعات جمعیتی بر روی میگوی *Litopeneaus schmitti* به اثبات رسیده و در جهت حفظ ذخایر ژنتیکی و برنامه‌های تکثیر و پرورش این گونه مؤثر بوده است (۱۱).

نشانگرهای ریزماهواره (Microsatellite) توالی نوکلئوتیدی تکراری ساده از ژنوم موجود می‌باشند که بین ۱ تا ۶ جفت باز تکرار شده اند و میزان بالایی از تنوع ژنتیکی (پلی مورفیسم) را نشان می‌دهند (۹). آنها بطور عمده در نقاط خاصی از ژنوم پراکنده‌اند. مزیت استفاده از آنها به جهت کوچک بودن جایگاه ژنی آنها، توارث مندلی آنها در نتاج و نشان دادن تنوع در مقیاس بسیار بالا می‌باشد (۱۰).

Xu و همکاران در سال ۲۰۰۱ (۲۴)، از مارکرهای میکروساتلایت جهت تعیین ساختار ژنتیکی جمعیت‌های میگوی ببری سیاه دریایی در جزایر فیلیپین و ارتباط آن با وضعیت قرار گرفتن جنگل‌های مانگرو استفاده کردند همچنین در این ارتباط Tamadoni Jahromi و Othman در سال ۲۰۱۱، اقدام به شناسایی ۸ جایگاه ژنی از توالی‌های میکروساتلایت برای اولین بار در میگوی ببری سبز (*P. semisulcatus*) جهت بررسی جمعیت‌های مختلف این گونه در آبهای منطقه خلیج فارس و دریای عمان نمودند (۲۰).

در ایران نیز تحقیقات مختلفی در ارتباط با شناسایی ژنتیکی

*)نویسنده مسؤول: تلفن: ۰۷۶۱-۳۳۳۱۱۳۴ نمابر: ۰۷۶۱-۳۳۴۰۰۱۷ Email: stamadoni@yahoo.com

ذخایرآبزیان با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره انجام شده است. Rezvani Gilkolaei و همکاران در سال ۲۰۱۲، ۹ جایگاه میکروساتلایتی را جهت بررسی تنوع ژنتیکی و تمایزبین فرم‌های مختلف بهاره و پاییزه ماهی سفید (*Rutilus frisii kutum*) در تالاب انزلی مورد مطالعه قرار دادند. داده‌های این بررسی نشان داد که فرم‌های بهاره و پاییزه تالاب انزلی باید در برنامه‌های بازسازی ذخائراین گونه در دریای خزر مورد توجه قرار گیرد (۱۷).

تنوع ژنتیکی میگوی سفید (*Metapenaeus affinis*) با استفاده از نشانگرهای ریز ماهواره‌ای در سواحل خلیج فارس (استان خوزستان) توسط Shokoohmand و همکاران در سال ۲۰۱۱ انجام شد که نتایج حاصل از الکتروفورز ژل پلی اکریل آمید در هر ۵ جایگاه در نمونه‌های مورد بررسی حالت پلیمورف را نشان دادند (۱۹).

با توجه به ضرورت اعمال مدیریت علمی بر ذخائر ژنتیکی موجود جهت استفاده از عمده‌ترین گونه میگوی این مناطق (*P. merguiensis*) در امر تکثیر و پرورش، مولدسازی و بازسازی ذخایر، بررسی تنوع ژنتیکی و مطالعات جمعیتی بر روی این گونه در جهت حفظ تنوع زیستی و معرفی ژنوتیپ‌های احتمالی موجود در مناطق عمده صید و پراکنش این گونه با استفاده از نشانگرهای ملکولی اجتناب ناپذیر می‌باشد. لذا در این مطالعه به جنبه‌های مختلف استفاده از نشانگرهای ریزماهواره جهت تعیین تنوع ژنتیکی گونه میگوی موزی پرداخته شده است.

مواد و روش کار

نمونه برداری: نمونه برداری به صورت تصادفی به روش ترال کف از مناطق هرمز با مشخصات جغرافیایی 57º06'N و 56º 29'E، جاسک با مشخصات جغرافیایی 25 º33'N و 57 º44'E و گواتر با مشخصات جغرافیایی 25°10'N , 61°35'E، به تعداد ۴۰ نمونه از هر منطقه در اعماق ۶۰m تا ۸۰ در یک نوبت در پاییز سال ۱۳۸۸ انجام گرفت. از هر نمونه ۲g از عضلات پشتی و پای شنا برداشته و در الکل اتیلیک خالص نگهداری و به آزمایشگاه منتقل شدند (تصویر۱).

استخراج ژنوم کل (DNA Total) با استفاده از روش فنل - کلروفورم: در این روش ابتدا ۵۰mg از بافت عضلانی را در داخل تیوپ‌های ۱/۵ میلی لیتری قرارداده و خورد گردید. سپس ۵۰۰µL از محلول (Triss, EDTA (Salt, STE، ۶µL پروتئینیاز K (۱۰ mg/mL) و ۲۰µL، SDS ۲۰٪ (سدیم دودسیل سولفات) به تیوبها اضافه و بعد از مرحله هضم سلولی مقدار ۴۲۵ ماکرولیترفنل (PH=8) و ۴۲۵µL کلروفرم - ایزوآمیل الکل (۲۴:۱) اضافه نموده و سانتریفوژ گردیدند. فاز رویی را به تیوب‌های جدید منتقل و به مقدار هم حجم آن کلروفورم - ایزوآمیل الکل (۲۴:۱) اضافه کرده و عمل هم زدن و سانتریفوژ کردن انجام گرفت. در نهایت دو برابر حجم محلول بالایی جدا شده، اتانول خالص و ۵۰µL نمک ۴mol اضافه شد و به مدت یک شبانه روز در فریزر ۲۰°C- قرار داده شد. نمونه‌ها سانتریفوژ گردیده ومحلول رویی دور ریخته ودر مرحله بعد پلاک‌های DNA با الکل ۷۰٪ شستشو و سپس به مقدار ۵۰µL از بافر TE و یا آب مقطر اضافه گردید و برای استفاده در مراحل بعدی ۲۰°C- نگهداری شدند. DNA استخراج شده جهت ارزیابی کیفی با استفاده از ژل آگارز الکتروفورز و جهت ارزیابی کمی با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر با استفاده از رابطه میزان جذب نوری (OD) نمونه‌ها در طول موج ۲۸۰nm به ۲۶۰nm مورد ارزیابی قرار گرفتند. از آنجا که این نسبت در نمونه‌های مناسب و بدون آلودگی پروتیینی و یا آلودگی RNA بین ۱/۸ تا ۲ می‌باشد، پس از بررسی نمونه‌های مناسب انتخاب و جهت تولید محصول PCR مورد استفاده قرار گرفت (۲۱).

تولید محصول PCR: در این راستا در حدود ۱۰۰ng از DNA استخراج شده (۲µL از DNA رقیق شده به نسبت ۱/۱۰) در یک واکنش به میزان ۲۵µL حاوی ۱µL از پرایمر Forward و ۱µL از پرایمر Reverse (پیشرو و معکوس)، ۲µL، ۲۵mmol، MgCl2، ۲/۵µL، ۱۰mmol (USA dNTP (Promega، ۵µL (Promega) 5X PCR buffer و ۵ واحد از آنزیم (Promega) Taq DNA polymerase و ۱۱/۵µL آب مقطر استفاده شد.

سیکل حرارتی مورد استفاده در دستگاه PCR شامل سیکل اولیه ۹۴ درجه به مدت ۴ دقیقه و ۳۰ ثانیه، به دنبال آن ۴۰ سیکل شامل دماهای واسرشته سازی (denaturation) ۹۴° به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال (annealing) ۴۵ ثانیه در دماهای اختصاصی برای هر پرایمر (طبق جدول۱)، بسط و تکثیر (Extension) ۷۲° به مدت ۱ دقیقه و در آخر دمای تکثیر نهایی ۷۲° به مدت ۵ دقیقه بود. محصول PCR با استفاده از ژل پلی آکریل آمید ۶٪ و رنگ آمیزی ایتیدیوم بروماید و با استفاده از اشعه UV مورد ارزیابی قرار گرفت. تصاویر از طریق دستگاه مستند ساز ژل (شرکت Vilber Lourmant) با استفاده از برنامه نرم افزاری Photo capture مورد بررسی قرار گرفت. جهت ارزیابی و طبقه بندی باندهای حاصله از برنامه نرم افزاری AlphaImager 2200 استفاده شد (جدول۱).

آنالیز آماری: فراوانی آللی Allele frequency، هتروزایگوسیتی مورد انتظار Expected Heterozygosity (He) و هتروزایگوسیتی مشاهده شده Observed Heterozygosity (Ho)، جداول و گراف‌های مربوط به توزیع فراوانی آل‌ها در جایگاه‌های میکروساتلایتی، بررسی تعادل هاردی واینبرگ، Fst (F- statistic) بر اساس تست (AMOVA) Analysis of Molecular Variance و همچنین بر اساس توزیع فراوانی آلل‌ها در سطح احتمال ۰/۰۱، اندازه جمعیت مهاجر و رابطه آن با Fst و همچنین تعیین فاصله ژنتیکی بین جمعیت‌های مورد مطالعه و (Test Assignment تست همگرایی جمعیت‌ها) بر اساس توزیع فراوانی آل‌ها با استفاده از نرم افزار GenAlEx محاسبه گردید (۱۵).

نتایج

۱- **تنوع ژنتیکی**: در این بررسی دامنه Ho بین مناطق نمونه برداری در تمامی لکوس‌ها ۰/۲۵۰ تا ۰/۹۵۰ و متوسط آن ۰/۶۱ بود که کمترین مقدار در جایگاه ژنی Mer1 نمونه‌های متعلق به منطقه گواتر (۰/۲۵۰) و بیشترین

جدول ۱. پرایمرهای مورد استفاده جهت تولید محصول PCR.

شماره در بانک ژنی NCBI	تکرار موتیف‌ها	درجه حرارت	غلظت $MgCl_2$	دامنه آللی	پرایمر مورد استفاده	جایگاه ژنی (لوسای)
EF580120	(CA)۲۸	۵۴	۲*mM*	۳۴۰ - ۳۹۴	R: AATTTTGGCGGATTTCTGTC F: GATAAGCACACCCATTGTG	Mer1
AY267186	(CT) ۲۲	۵۴	۲*mM*	۱۵۵ - ۲۳۰	R: GTCGCGGATTTTCAGAAGTC F: CCTTGCTAGCAGAAGCCTTG	Mer2
DQ387978	(CT)۲۰	۵۵	۱/۵*mM*	۱۴۶ - ۱۸۳	R: AAAGAGCGAGGGAAGGAGAG F: GCTACACGTTACGCATGCAC	Mer3
DQ387981	(GA) ۱۳	۵۴	۲*mM*	۱۵۰ - ۲۰۶	R: GCCTTGCTAGCAGAAGCCTA F: TCGGTGATACGTCTCCATCA	Mer4
DQ387984	(GA) ۳۸	۵۶	۱/۵*mM*	۱۹۸ - ۲۵۰	R: TCATGCGGGTTTCTCTCTCT F: GCGTGTTCATGTGTTTGTGA	Mer5

جدول۲. بررسی جایگاه‌های ژنی ریزماهواره در میگوی موزی. تعداد نمونه‌ها (n)، تعداد آلل‌ها (Na)، هتروزایگوسیتی مشاهده شده (Ho) و هتروزایگوسیتی قابل انتظار (He) برای هر جایگاه ژنی نشان داده شده است.

منطقه	جایگاه ژنی	He	Ho	Ne	Na	N
هرمز	Mer1	۰/۵۴۸	۰/۳۷۵	۲/۲۱۳	۶/۰۰۰	۴۰
	Mer2	۰/۸۴۲	۰/۷۵۰	۶/۳۲۴	۱۲/۰۰۰	۴۰
	Mer 3	۰/۵۱۷	۰/۷۰۰	۲/۰۷۰	۶/۰۰۰	۴۰
	Mer4	۰/۵۳۹	۰/۵۰۰	۲/۱۶۹	۵/۰۰۰	۴۰
	Mer5	۰/۷۱۶	۰/۸۲۵	۳/۶۱۶	۶/۰۰۰	۴۰
جاسک	Mer1	۰/۶۴۳	۰/۴۲۵	۲/۸۰۲	۷/۰۰۰	۴۰
	Mer2	۰/۸۵۲	۰/۹۵۰	۶/۷۳۷	۱۳/۰۰۰	۴۰
	Mer 3	۰/۵۸۸	۰/۸۰۰	۲/۴۳۰	۶/۰۰۰	۴۰
	Mer4	۰/۷۰۳	۰/۵۰۰	۳/۳۶۵	۶/۰۰۰	۴۰
	Mer5	۰/۶۷۷	۰/۵۷۵	۳/۰۹۸	۷/۰۰۰	۴۰
گواتر	Mer1	۰/۳۶۸	۰/۲۵۰	۱/۵۸۳	۶/۰۰۰	۴۰
	Mer2	۰/۷۸۳	۰/۸۵۰	۴/۶۱۸	۱۰/۰۰۰	۴۰
	Mer 3	۰/۳۲۲	۰/۳۰۰	۱/۴۷۵	۴/۰۰۰	۴۰
	Mer4	۰/۶۷۷	۰/۷۷۵	۳/۰۹۲	۴/۰۰۰	۴۰
	Mer5	۰/۶۵۳	۰/۵۷۵	۲/۸۸۰	۵/۰۰۰	۴۰

مقدار در جایگاه Mer2 مربوط به منطقه جاسک ثبت گردید. دامنه He بین مناطق نمونه برداری درتمامی لکوس‌ها۰/۳۲۲ تا ۰/۸۴۲ و متوسط آن۰/۶۲۸ بود که کمترین مقدار در جایگاه ژنی Mer3 نمونه‌های متعلق به منطقه گواتر (۰/۳۲۲) و بیشترین مقدار ۰/۸۵۲ در جایگاه Mer2 مربوط به منطقه جاسک ثبت گردید (جدول ۲).

۲ـ فراوانی آللی: حداکثر تعداد آللی در تمامی مناطق در جایگاه ژنی Mer2 درمنطقه جاسک با۱۳ آلل و حداقل آن در جایگاه ژنی Mer3 و Mer4 در منطقه گواتر با ۴ آلل مشاهده می‌گردد (جدول ۲). اما بیشترین فراوانی با بیش از ۰/۰۵ در جایگاه ژنی Mer5 با ۶ آلل در منطقه جاسک و کمترین تعداد آلل با فراوانی کمتر از ۰/۰۵ در جایگاه ژنی Mer2 با ۹ آلل در منطقه گواتر مشاهده گردید. حداکثر فراوانی آللی را در جایگاه ژنی Mer2 در نمونه‌های منطقه هرمز، جاسک و گواتر با فراوانی بترتیب ۱۲، ۱۳ و ۱۰ آلل مشاهده گردید. نمونه‌های منطقه هرمز، جاسک و گواتر آلل‌های اختصاصی را در این جایگاه ژنی (Mer2) نشان ندادند. نمونه‌های منطقه هرمز آلل‌های اختصاصی را تنها در جایگاه ژنی Mer4 نشان دادند. نمونه‌های منطقه گواتر آلل‌های اختصاصی را در جایگاه‌های ژنی مختلف از جمله در جایگاه ژنی Mer4 نشان دادند. آلل‌های اختصاصی در جدول ۳ بصورت برجسته مشخص شده‌اند. مجموعاً ۷ آلل اختصاصی در ۳ منطقه مورد مطالعه یافت شد که بیشترین آلل منحصربفرد در جایگاه ژنی Mer3 با ۴ عدد و کمترین آن در جایگاه جایگاه‌های ژنی Mer4 با ۱ آلل مشاهده گردید. در جایگاه‌های ژنی Mer2 و Mer5 آلل‌های اختصاصی دیده نشدند (جدول ۳).

تعادل هاردی ـ واینبرگ (Hardy-Weinberg Equilibrium): به منظور بررسی تعادل هاردی واینبرگ در تمامی مناطق مورد بررسی از میگوی موزی و جایگاه‌های ژنی مختلف از آزمون X2 استفاده شد. مناطق هرمز در جایگاه‌های ژنی Mer1، *Mer2*، جاسک در جایگاه‌های ژنی Mer3، Mer4، Mer5 و گواتر در جایگاه‌های ژنی Mer1، Mer3 و Mer4 خارج از تعادل ($p\leq$۰/۰۰۱) هاردی ـ واینبرگ بودند (جدول ۴).

فاکتورهای Fst (F-statistic) و جریان ژنی: براساس تست AMOVA برگرفته از نمونه‌های سه منطقه کمترین میزان Fst (۰/۰۱۹) و بیشترین جریان ژنی (Nm=۱۲/۷۵۸) را بین منطقه هرمز و جاسک و بیشترین میزان Fst (۰/۱۵۳) و کمترین جریان ژنی (۱/۳۸۲) را بین مناطق گواتر و هرمز مشاهده گردید (جدول ۵).

شباهت و فواصل ژنتیکی: ماتریس شباهت ژنتیکی با استفاده از معیار فاصله ژنتیکی Nei بوسیله نرم افزار GenAllex محاسبه گردید. با توجه به مقادیر بدست آمده بیشترین فاصله ژنتیکی و کمترین شباهت ژنتیکی بین نمونه‌های مناطق هرمز و گواتر ثبت گردید. از طرف دیگر کمترین فاصله ژنتیکی و بیشترین شباهت ژنتیکی بین نمونه‌های مناطق جاسک و هرمز وجود دارد (تصویر ۲).

نمودار سنجش در جفت جمعیت‌ها (Assignment test): نمودار سنجش ژنتیکی جمعیت‌ها در تصویر ۵ به صورت جفت آورده شده است. این گراف‌ها درجه تفکیک هر جمعیت را بر اساس فراوانی آللی مشخص می‌نماید.

بحث

۱ـ آلل‌های بدست آمده و آلل‌های اختصاصی: در این مطالعه مجموعاً ۴۴ آلل در میگوی موزی مشاهده گردید. بیشترین فراوانی با بیش از ۰/۰۵ در جایگاه ژنی Mer5 با ۶ آلل در منطقه جاسک و کمترین تعداد آلل با

جدول ۳. فراوانی آللی جایگاه‌های مورد مطالعه وضعیت آلل های اختصاصی متعلق به میگوی موزی (آلل های اختصاصی در جدول با سایز درشت‌تر مشخص شده‌اند).

	جایگاه ژنی Mer1				جایگاه ژنی Mer2				جایگاه ژنی Mer3				جایگاه ژنی Mer4				جایگاه ژنی Mer5		
A*	هرمز	جاسک	گواتر	A	هرمز	جاسک	گواتر	A	هرمز	جاسک	گواتر	A	هرمز	جاسک	گواتر	A	هرمز	جاسک	گواتر
۱	۰/۰۱۳	۰/۰۰۰	۰/۰۷۵	۱	۰/۱۱۲	۰/۰۲۵	۰/۰۰۰	۱	۰/۰۱۳	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۱	۰/۱۲۵	۰/۱۱۲	۰/۰۵۰	۱	۰/۰۱۳	۰/۰۵۰	۰/۰۰۰
۲	۰/۰۳۸	۰/۰۸۷	۰/۰۰۰	۲	۰/۲۳۷	۰/۲۲۵	۰/۲۸۷	۲	۰/۲۳۷	۰/۳۰۰	۰/۱۲۵	۲	۰/۰۰۰	۰/۰۵۱	۰/۰۰۰	۲	۰/۰۸۷	۰/۰۱۳	۰/۱۵۰
۳	۰/۱۱۲	۰/۱۵۰	۰/۷۸۸	۳	۰/۰۵۰	۰/۱۱۲	۰/۰۵۰	۳	۰/۰۵۰	۰/۰۲۵	۰/۰۰۰	۳	۰/۰۵۰	۰/۰۱۳	۰/۰۰۰	۳	۰/۰۰۰	۰/۰۷۵	۰/۰۷۵
۴	۰/۶۳۷	۰/۵۵۰	۰/۰۲۵	۴	۰/۰۱۳	۰/۰۲۵	۰/۰۱۶	۴	۰/۶۵۰	۰/۵۶۳	۰/۸۱۳	۴	۰/۱۳۸	۰/۱۷۵	۰/۳۲۵	۴	۰/۳۸۷	۰/۵۲۵	۰/۵۰۰
۵	۰/۰۲۵	۰/۰۱۳	۰/۰۰۰	۵	۰/۰۷۵	۰/۰۳۸	۰/۰۳۸	۵	۰/۰۳۸	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۵	۰/۶۵۰	۰/۴۷۵	۰/۴۱۲	۵	۰/۲۲۵	۰/۱۲۵	۰/۲۶۲
۶	۰/۱۷۵	۰/۱۵۰	۰/۰۳۸	۶	۰/۱۶۲	۰/۲۳۷	۰/۲۷۵	۶	۰/۰۱۳	۰/۰۳۸	۰/۰۰۰	۶	۰/۰۳۸	۰/۰۷۵	۰/۲۱۳	۶	۰/۰۱۳	۰/۱۲۵	۰/۰۱۳
۷	۰/۰۰۰	۰/۰۳۸	۰/۰۱۳	۷	۰/۰۰۰	۰/۰۷۵	۰/۰۳۰	۷	۰/۰۰۰	۰/۰۵۰	۰/۰۰۰					۷	۰/۲۷۵	۰/۰۸۷	۰/۰۰۰
۸	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۶۳	۸	۰/۰۱۳	۰/۰۵۰	۰/۰۳۸	۸	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۵۰۲								
۹	۰/۰۰۰	۰/۰۱۳	۰/۰۰۰	۹	۰/۲۲۵	۰/۱۲۵	۰/۲۲۵	۹	۰/۰۰۰	۰/۰۲۵	۰/۰۳۸								
				۱۰	۰/۰۱۳	۰/۰۱۳	۰/۰۱۳												
				۱۱	۰/۰۳۸	۰/۰۲۵	۰/۰۲۵												
				۱۲	۰/۰۳۸	۰/۰۱۳	۰/۰۰۰												
				۱۳	۰/۰۲۵	۰/۰۳۸	۰/۰۰۰												

جدول ۴. بررسی تعادل هاردی ـ واینبرگ در سه منطقه نمونه برداری شده در پنج جایگاه ژنی میکروساتلایت در میگوی موزی.
Ns (non significant)=معنی دار نیست, *=p<۰/۰۵, **=p<۰/۰۱, ***=p=۰/۰۰۰۱

جمعیت	جایگاه ژنی	درجه آزادی	مربع خی	احتمال	معنی‌دار بودن
هرمز	Mer1	۱۵	۵۸/۷۴۴	۰/۰۰۰	***
هرمز	Mer2	۶۶	۱۰۱/۶۲۷	۰/۰۰۳	**
هرمز	Mer 3	۱۵	۱۱/۵۹۸	۰/۷۰۹	Ns
هرمز	Mer4	۱۰	۱۴/۸۹۰	۰/۱۳۶	Ns
هرمز	Mer5	۱۵	۱۹/۵۴۶	۰/۱۹۰	Ns
جاسک	Mer1	۲۱	۳۲/۵۳۵	۰/۰۵۲	Ns
جاسک	Mer2	۷۸	۴۳/۴۱۷	۰/۹۹۹	Ns
جاسک	Mer 3	۱۵	۵۳/۰۵۷	۰/۰۰۰	***
جاسک	Mer4	۱۵	۴۴/۳۳۷	۰/۰۰۰	***
جاسک	Mer5	۲۱	۷۱/۳۵۲	۰/۰۰۰	***
گواتر	Mer1	۱۵	۵۵/۸۷۷	۰/۰۰۰	***
گواتر	Mer2	۴۵	۴۰/۹۷۳	۰/۶۴۳	Ns
گواتر	Mer 3	۶	۱۲/۶۷۴	۰/۰۴۹	*
گواتر	Mer4	۶	۱۷/۲۸۷	۰/۰۰۸	**
گواتر	Mer5	۱۰	۶/۴۵۳	۰/۷۷۶	Ns

جدول ۵. میزان Fst بر اساس فراوانی آلل‌ها و همچنین بر اساس AMOVA Test در میگوی موزی و رابطه آنها با میزان مهاجرت (Nm). *A.Fre: Allele Frequency*.

جمعیت۱	جمعیت۲	Nm (AMOVA)	Fst (AMOVA)	Nm (A.Fre.)	Fst (A. Fre.)
هرمز	جاسک	۱۲/۷۵۸	۰/۰۱۹	۱۵/۷۳۳	۰/۰۱۶
هرمز	گواتر	۱/۳۸۲	۰/۱۵۳	۲/۵۸۰	۰/۰۸۸
جاسک	گواتر	۱/۷۸۶	۰/۱۲۳	۳/۱۵۸	۰/۰۷۳

فراوانی کمتر از ۰/۰۵ در جایگاه ژنی Mer2 با ۱۰ آلل در درمنطقه گواتر ثبت گردید. مجموعاً ۷آلل اختصاصی در سه جمعیت مورد مطالعه در میگوی موزی یافت شد بیشترین آلل منحصر بفرد در لکوس Mer3با۴ عدد و کمترین آن در لکوس Mer4 با۱آلل مشاهده گردید. این آلل های بی همتا می توانند به عنوان یک ردیاب مناسب در شناسایی جریان ژنی، برنامه‌های تولید مثلی همانند مولد سازی و همچنین دورگه گیری در میگوهای گونه موزی در خلیج فارس و دریای عمان مورد توجه قرار گیرند. این نگرش در استفاده از میکروساتلات‌ها برای آنالیز تنوع ژنتیکی در برنامه‌های تولید مثلی و همچنین مطالعه برروی جداسازی و ارائه جایگاه‌های ژنی جدید به عنوان مارکرهای ژنتیکی در مطالعه ژنتیکی میگوی *P. japonicus* استفاده شده است (۱۲).

۲- کاهش‌های هتروزیگوسیتی: معمولاً در ارزیابی تنوع ژنتیکی از شاخص هایی همچون هتروزیگوسیتی استفاده می‌شود. این شاخص مبین طیف وسیعی از ژنوتیپ‌ها در ارزیابی سازش پذیری در شرایط مختلف محیطی است و بسیاری از خصوصیات مهم از جمله رشد، مقاومت در مقابل بیماریها و باروری را تحت تأثیر خود قرار می‌دهد (۲). در این مطالعه میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Ho) بین مناطق نمونه برداری شده در میگوی موزی دربیشتر مناطق کمتر از هتروزیگوسیتی قابل انتظار بود. این کاستی در هتروزیگوسیتی مشاهده شده نسبت به هتروزیگوسیتی قابل انتظار ممکن است در نتیجه تنگناهای ژنتیکی نظیر آمیزش درون جمعیتی، رانش ژنتیکی و همچنین صید بی رویه و از دست رفتن زیستگاه‌ها برای تکثیر طبیعی و یا آمیزش های خویشاوندی بوسیله تکثیر مصنوعی در انجام پروژه‌های باز سازی ذخایر بوده باشد. همچنین این کاهش نشان دهنده کاهش در تغییرپذیری در شرایط مختلف محیطی بوده است که علت آن می تواند به خاطر استرس وارد به جمعیت‌ها در اثر صید بی رویه میگوی موزی (صید غیرقانونی در تمام طول سال) درمنطقه هرمز و جاسک بوده باشد. از طرفی کاهش تنوع ژنتیکی (کاهش هتروزیگوسیتی قابل انتظار) آمادگی موجود را برای اکتساب بیماری و سایر فاکتورهای انتخابی را افزایش داده و در نتیجه می توان انتظار داشت که در آینده کاهش در اندازه جمعیت را شاهد باشیم (۲۵).

۳- جریان ژنی (Gene Flow) وتعادل‌هاردی واینبرگ (HWE) Hardy Weinberg Equilibrium: مقدار Fst (شاخص ثبات کل

جمعیتی) بیانگر میزان تنوع ژنتیکی در اثر تفاوت‌های آللی در بین جمعیت‌هاست و بطور تئوری بین صفر و یک است. مقادیر به سمت یک نشاندهنده میزان تمایز جمعیت‌ها از یکدیگر است. مقدار کم Fst نشاندهنده پایین بودن پلیمورفیسم در جمعیت است. در حقیقت مقدار صفر نشاندهنده یک جمعیت پانمکتیک است که دو جمعیت دارای رابطه آمیزشی آزاد هستند و مقدار یک به معنای این است که دو جمعیت کاملاً از هم جدا بوده و هیچگونه جریان ژنی در بین جمعیت‌ها وجود ندارد (۷). معمولاً جریان ژنی بوسیله میزان مهاجرت بیان می‌گردد (m) و این مقدار بستگی به میزان جابجایی آلل‌ها در هر جمعیت برای هرنسل برمی‌گردد (۱). در این بررسی حداکثر میزان Fst براساس فراوانی آلل‌ها در هر جایگاه ژنی در میگوی موزی بین نمونه‌های مناطق هرمز و گواتر که دارای کمترین جریان ژنی بودند (Nm= ۲/۵۸۰) ۰/۰۸۸ و حداقل آن بین مناطق هرمز و جاسک که دارای بیشترین جریان ژنی بودند (Nm= ۱۵/۷۳۳) ۰/۰۱۶ دیده شد (جدول ۵).

از طرف دیگر تست AMOVA مقادیر ثبت شده مربوط به Fst و همچنین میزان مهاجرت و تداخل ژنی Nm که بر اساس فراوانی آللی بدست آمده را در میگوی موزی تأیید می‌کند. بر اساس این تست نیز کمترین میزان Fst (۰/۰۱۹) و بیشترین جریان ژنی (۱۲/۷۵۸) را در مابین منطقه هرمز و جاسک و بیشترین میزان Fst (۰/۱۵۳) و کمترین جریان ژنی (۱/۳۸۲) را مابین منطقه گواتر و هرمز میبینیم (جدول ۵). برای تفسیر Fst پیشنهاد شده است که مقدار بین صفر تا ۰/۰۵ نشان دهنده تمایز ژنتیکی پایین، مقدار ۰/۰۵ تا ۰/۱۵ تمایز متوسط و مقدار بین ۰/۱۵ تا ۰/۲۵ نشاندهنده تمایز بالا بین جمعیت‌ها و بالا تر از ۰/۲۵ تمایز خیلی بالا را نشان دهد (۲۳).

از نکات دیگری که می‌توان اشاره کرد اینست که میزان Fst به طور معمول زیر ۰/۰۵ مطرح می‌شود که ممکن است اینطور تصور شود که ساختار بین زیر جمعیت‌ها ضعیف است ولی همیشه عدد بدست آمده نشانگر همه جمعیت حقیقی نیست و دیگرنکته اینکه میزان Fst در اکثر مواقع به عدد یک نمیرسد زیرا اثر پلیمورفیسم (ناشی از جهش) به طور چشمگیری مقدار Fst را کاهش می‌دهد (۶،۱۳،۲۳).

Wright در سال ۱۹۷۸ بر این باور است که مقدار Fst کمتر از ۰/۰۵ نیز می‌تواند نشانگر تمایز ژنتیکی مهمی باشد و نشاندهنده تمایز ناچیز نیست (۲۳). با توجه به میزان Fst بین نمونه‌های ثبت شده مربوط به میگوی موزی بنظر می‌رسد که مناطق هرمز و گواتر از تمایز ژنتیکی متوسط با جریان ژنی کمتری نسبت به دو منطقه هرمز و جاسک برخوردارند که این درجه از تمایز ژنتیکی را می‌توان به اثر فاکتورهایی از قبیل ساختار هیدرو داینامیک منطقه (جریان‌های دریایی) بین منطقه تنگه هرمز و گواتر اشاره کرد. Ruzzante و همکاران در سال ۱۹۹۸ (۱۸) معتقدند که جریان ژنتیکی بین مناطق می‌تواند تحت تأثیر این عامل قرار گیرد. همچنین Weersing و Toonen در سال ۲۰۰۹ معتقدند که در محیط‌های دریایی عواملی از قبیل جریان‌های دریایی و همچنین جریان‌های گردابی (Eddy) می‌تواند موجب جلوگیری از ترکیب و انتشار لاروهای پلاژیک (در اینجا لاروهای میگو) بین مناطق گشته و موجب کاهش جریان ژنی و افزایش Fst بین دو منطقه هرمز و گواتر گردند. در همین ارتباط می‌توان به وجود اینگونه جریان گردابی در خلیج عمان اشاره کرد که می‌تواند در رفتار مهاجرتی لاروهای میگوی موزی در منطقه گواتر به هرمز اثر گذار باشد (۲۲) (تصویر ۳).

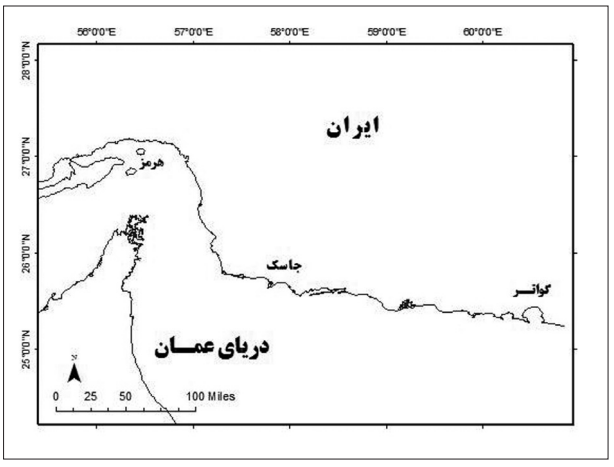
میگوهای خانواده Penaeidea اغلب در طول چرخه زندگی خود نقاط متفاوتی را جهت لانه گزینی انتخاب می‌کنند. بنابراین آنها مجبورند که برای کامل کردن چرخه زندگی خود دائماً بین این مناطق مهاجرت کنند (۴).

اغلب میگوهای خانواده پنائیده در محل‌هایی دور از ساحل تخم‌ریزی می‌کنند در حالیکه میگوهای جوان محل‌های نزدیک به ساحل را برای سکونت انتخاب می‌کنند. مهاجرت عمودی در طول فاز پلاژیک زندگی لاروها و همچنین انتقال آنها از طریق جریان‌های دریایی مکانیسمی است که معمولاً پست لاروها را به محل نوزادگاها می‌برد.

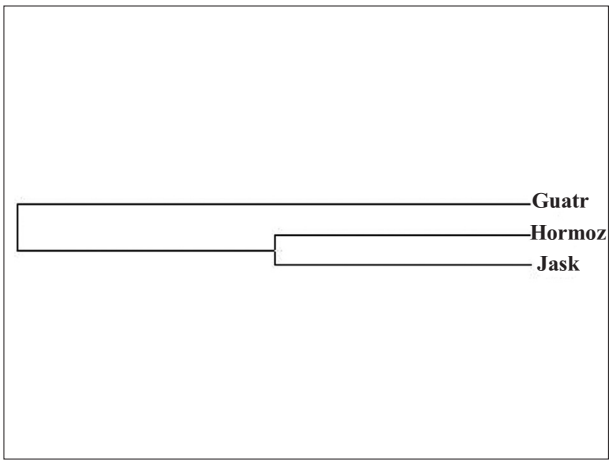
بنابراین اینگونه رفتارهای مهاجرتی، جریان ژنی را در بین جمعیت‌ها آسانتر می‌کند. در این مطالعه نیز اینگونه جابجایی‌ها و افزایش جریان ژنی را بین جمعیت‌های هرمز و جاسک شاهد هستیم که نسبتا از جریان ژنی مشاهده شده بین منطقه هرمز و گواتر بیشتر است. Jackson و همکاران در سال ۲۰۰۱ معتقدند که لاروهای متعلق به خانواده پنائیده می‌توانند در حدود ۱۰۰km بین محل تخم‌ریزی دور از ساحل و نوزادگاه‌های نزدیک به ساحل تردد نمایند که این امر می‌تواند یکی از عوامل مهم در ایجاد جریان ژنی بین مناطق مورد بررسی باشد. با توجه به ماتریس شباهت ژنتیکی با استفاده از معیار فاصله ژنتیکی Nei در میگوی موزی و دندروگرام بدست آمده بنظر می‌رسد که جمعیت این گونه در منطقه گواتر نسبت به دو منطقه دیگر از جمله جاسک و هرمز از تفرق بیشتری برخوردار می‌باشد. این اختلاف ژنتیکی آشکار در جمعیت میگوی موزی در منطقه گواتر نسبت به دو منطقه دیگر ممکن است در اثر رانش ژنتیکی و یا وقوع موتاسیون‌های احتمالی در بین جمعیت‌های مناطق مورد مطالعه باشد (۸).

از طرف دیگر عبور جریان دریایی که از تنگه هرمز شروع می‌شود (ورود به تنگه هرمز از شرق به غرب و خروج از غرب به شرق، (تصویر ۴) می‌تواند موجب ترکیب و افزایش جریان ژنی بین مناطق جاسک و هرمز و کاهش Fst بین این دو منطقه گردد که می‌توان این اثر را در افزایش جریان ژنی در نمونه‌های میگوی موزی مربوط به هرمز و جاسک ملاحظه کرد (۱۹).

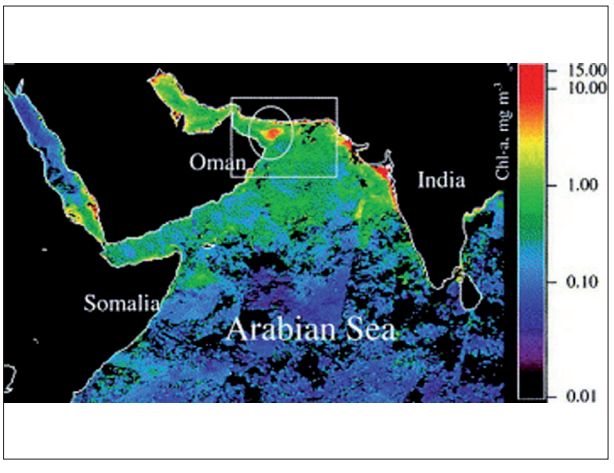
حالت توپولوژی منطقه خلیج گواتر که در اثر پیش رفتگی آب دریای عمان در خشکی بوجود آمده است و همچنین وجود جنگل‌های انبوه حرا در عدم انتقال مولدین و پست لاروها به مناطق پایین تر از جمله جاسک و هرمز بی تأثیر نیستند. جنگل‌های مانگرو به عنوان یکی از مهمترین



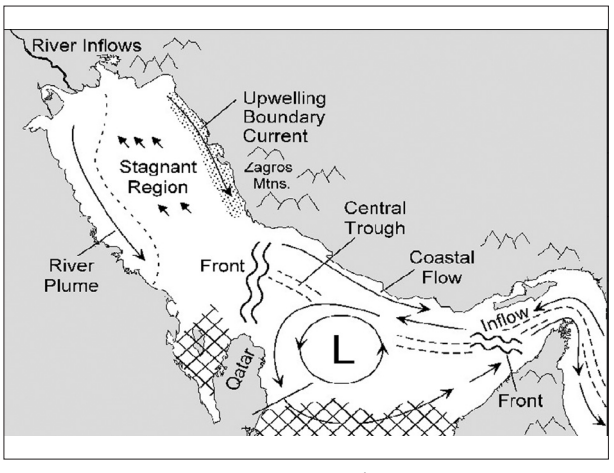
تصویر ۱. مناطق مورد نمونه برداری (پاییز ۱۳۸۸).



تصویر ۲. دندروگرام UPGMA شباهت ژنتیکی با استفاده از معیار فاصله ژنتیکی Nei در میگوی موزی (۱۴).



تصویر ۳. وضعیت جریان گردابی (Eddy) ایجاد شده در خلیج عمان (۵).

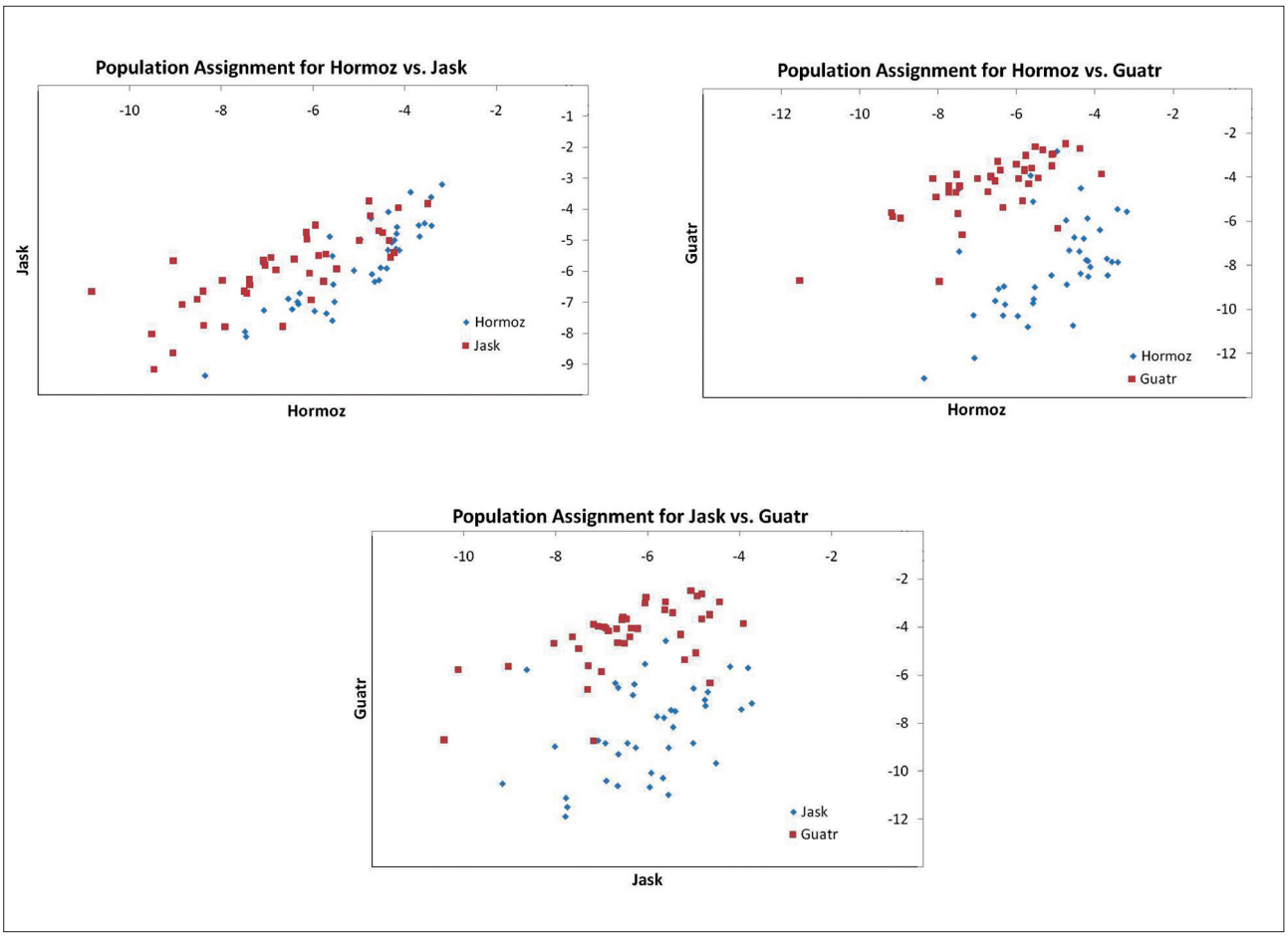


تصویر ۴. جریان‌های دریایی در تنگه هرمز و خلیج فارس (۱۶).

مناطق از لحاظ منطقه نوزاد گاهی (Nursery habitate) برای چرخه زندگی لاروهای میگومورد توجه بوده و همچنین از مناطق مهم در تغذیه لاروهای ماهی و میگوبحساب می‌آید(۳).

در حقیقت جنگل‌های مانگرو که بصورت بسیار گسترده در ساحل شمالی خلیج فارس از بندر خمیر تا قشم و همچنین از هرمز تاجاسک و گواتر پراکنش دارند از مهمترین موانع محسوب شده در جهت ایجاد اشتقاق ژنتیکی بین جمعیت‌های میگودر این پهنه جغرافیایی محسوب می‌گردند. Xu و همکاران در سال ۲۰۰۱، مطالعاتی را در زمینه تعیین اختلاف ژنتیکی بین جوامع وحشی و پرورشی میگوی ببری سیاه (*P. monodon*) در کشور فیلیپین با استفاده از مارکرهای میکروساتلایت انجام دادند. آنها پیشنهاد کردند که الگوی اختلاف ژنتیکی در بین چهار جمعیت از میگوهای وحشی مورد مطالعه به طور مشخصی با از میان رفتن جنگل‌های مانگرو در این مناطق در هم آمیخته و می توان ارتباط منطقی را در اختلاف ژنتیکی بدست آمده و بازماندگی این جنگل‌ها برقرار کرد. تست همبستگی استفاده شده در این تحقیق بوسیله این محققین ارتباط مثبتی را بین مدل اختلاف ژنتیکی بین جوامع میگوی مورد مطالعه و وضعیت جغرافیایی جنگل‌های مانگرو بدست می‌دهد که این امر بیانگر اهمیت این جنگل‌ها در تفرق یا عدم تفرق ژنتیکی در بین جوامع آبزیان وابسته به این نوع مناطق می باشد(۲۴).

۴- تست سنجش ژنتیکی جمعیت (Assignment Test): با توجه به نمودارهای تست سنجش ژنتیکی جمعیت میگوی موزی در مناطق مورد بررسی مشاهده می‌گردد که کمترین واگرایی جمعیت و بیشترین جریان ژنی (۱۲/۷۵۸) را در مابین منطقه هرمز و جاسک و بیشترین واگرایی بین جمعیت‌ها وکمترین جریان ژنی (۱/۳۸۲) را مابین منطقه گواتر و هرمز مشاهده گردید(تصویر۵). You در سال ۲۰۰۸، از این تست در جهت تفریق ارتباط ژنتیکی و جمعیتی بین جمعیت‌های گوناگونی از میگوی ببری سیاه (*Penaeus monodon*) در منطقه ایندو پاسیفیک استفاده کرد. نتایج نشان دادند که جمعیت‌های قسمت غربی اقیانوس هند بی همتا و اختصاصی هستند در حالیکه دیگر جمعیت‌های مورد مطالعه بصورت مشخص با هم تداخل داشتند. این یافته‌ها می تواند در جهت مطالعه الگوی مهاجرتی در میان جمعیت‌های مورد مطالعه کاربرد داشته باشد و بنابراین نقش مهمی را در مطالعات و یافتن ارتباط بین جمعیت‌ها و ذخائر



تصویر ۵. نمودار سنجش ژنتیکی جمعیت‌ها در میگوی موزی در ۳ منطقه مورد مطالعه.

آبزیان ایفا می‌نماید(۲۵). در این بررسی مشخص گردید که نشانگرهای ملکولی بخصوص نشانگرهای ریزماهواره می‌توانند به صورت ابزاری مناسب در جهت تفکیک جمعیت‌های آبزیان از جمله میگوی موزی بکار روند و اینکه اینگونه نشانگرها را می‌توان در گونه‌هایی با خویشاوندی نزدیک با جد و نیای مشترک به راحتی استفاده کرد.

تشکر و قدردانی

این تحقیق با حمایت مالی موئسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور انجام گردید. بدینوسیله از کلیه همکاران محترم بویژه جناب آقای دکتر مطلبی ریاست محترم و همچنین جناب آقای دکتر شریف روحانی معاونت محترم پژوهشی مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور قدردانی می‌گردد. از جناب آقای دکترمحمد صدیق مرتضوی، ریاست محترم و همچنین جناب آقای مهندس رضا دهقانی معاونت محترم پژوهشی پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان بخاطر حمایت‌های بیشائبه و همچنین از تمام همکاران عزیز دیگر در پژوهشکده که در جهت اجرای پروژه نهایت همکاری را داشته اند صمیمانه تشکر می‌گردد.

References

1. Avise, J.C. (1994) Molecular Markers, Natural History and Evolution. Chapman & Hall, New York, USA.
2. Beardmore, J.A., Mair, G.C., Lewis, R.I. (1997) Biodiversity in aquatic systems in relation to aquaculture. Aquac Res. 28: 829-839.
3. Biagi, P., Nisbet, R. (2006) The prehistoric fisher-gatherers of the western coast of the Arabian Sea: A case of seasonal sedentarization. World Archaeol. 38: 220-238
4. Dall, W., Hill, B.J., Rothlisberg, P.C., Staples, D.J. (1990) The Biology of the Penaeidae. Advances in Marine Biology. London Academic Press. London, UK.
5. DanLing, T., Hiroshi, K., Alvarinho, J.L. (2002) Short-term variability of phytoplankton blooms associated with a cold eddy in the north-western Arabian Sea. Remote Sens Environ. 81: 82- 89.

6. Hedrick, P.W. (1999) Highly variable loci and their interpretation in evolution and conservation [Perspective]. Evolution. 53: 313-318.
7. Holsinger, K.E., Bruce, S.W. (2009) Genetics in geographically structured populations: defining, estimating and interpreting F_{st}. Nat Rev Gent. 10: 639-650.
8. Jackson, J.C., Rothlisberg, P.C., Pendrey, R.C. (2001) Role of larval distribution and abundance in overall life-history dynamics. Mar Ecol Prog Ser. 213: 241-252.
9. Jarne, P., Lagoda, P.J.L. (1996) Microsatellites, from molecules to populations and back. Trends Ecol Evol. 11: 424-429.
10. Liu, Z.J., Li, P., Kocabas, A., Ju, Z., Karsi, A., Cao, D. (2001) Microsatellite-containing genes from the channel catfish brain: evidence of trinucleotide repeat expansion in the coding region of nucleotide excision repair gene RAD23B. Biochem Biophys Res. 289: 317-324.
11. Maggioni, R., Rogers, A.D., Maclean, N. (2003) Population structure of *Litopenaeus schmitti* (Decapoda: Penaeidae) from Brazilian coast identified using six polymorphic microsatellite loci. Mol Ecol. 12: 3213-3217.
12. Moore, S.S., Whan, V., Davis, G., Byrne, K., Hetzel, D.J.S., Preston, N. (1999) The development and application of genetic markers for the *Kuruma prawn* (*Penaeus japonicus*) and their use in parentage determination and linkage mapping. Aquaculture. 173: 19-32.
13. Nagylaki, T. (1998) Fixation indices in subdivided populations. Genetics. 148: 1325-1332.
14. Nei, M. (1972) Genetic distance between populations. Am Nat. 106: 283-292.
15. Peakall, R., Smouse, P.E. (2006) GenAlEx 6: Genetic Analysis in Excell. Population Genetic Software for Teaching and Research, The Australian National University publications, Canberra, Australia.
16. Reynolds, R.M. (1993) Physical oceanography of the gulf, strait of Hormoz and the gulf of Oman result from the Mt.Mitchell expedition. Mar Pollut Bull. 27: 35-39.
17. Rezvani Gilkolaei1, S., Kavan, S.L., Safari, R. (2012) A study of genetic structure of *Rutilus frisii* kutum in Anzali lagoon, using microsatellite markers. J Agric Sci Tech. 14: 327-337.
18. Ruzzante, D.E., Taggart, C.T., Cook, D. (1998) A nuclear DNA basis for shelf-and bank-scale population structure in northwest Atlantic cod (*Gadus morhua*). Mol Ecol. 7: 1663-1680.
19. Shokoohmand, M., Zolgharneen, H., Laloei, F., Fooroghmand, A.M., Savari, A. (2011) Genetic variation of *Metapenaeus affinis* in Persian Gulf coastal waters using microsatellite markers. Iran J Fish Sci. 20: 48-54.
20. Tamadoni Jahromi, S., Othman, A.S. (2011) Isolation and characterization of novel microsatellite loci in Green Tiger shrimp (*Penaeus semisulcatus*). Int J Life Sci Pharm Res. 1: 121-125.
21. Taggart, J.B., hynes, R.A., Prodohal, P.A., Ferguson, A. (1992) A simplified protocol for routine total DNA isolation from salmonid fishes. J Fish Biol. 40: 963-965.
22. Weersing, K., Toonen, R.J. (2009) Population genetics, larval dispersal, and connectivity in marine systems. Mar Ecol Prog Ser. 393: 1-12.
23. Wright, S. (1978) Evolution and Genetics of Population, Variability within and among Natural Populations. Vol. 4. The University of Chicago Press, Chicago, USA.
24. Xu, Z., Primavera, J.H., Leobert, D., Pena, D.L., Pettit, P., Belak, J. (2001) Genetic diversity of wild and cultured Black Tiger shrimp (*Penaeus monodon*) in the philippines using microsatellites. Aquaculure. 199: 13-40.
25. You, E.M., Chiu, T.S., Liu, K.F., Tassanakajon, A., Klinbunga, S., Triwitayakorn, K. (2008) Microsatellite and mitochondrial haplotype diversity reveals population differentiation in the tiger shrimp (*Penaeus monodon*) in the Indo-Pacific region. Anim Genet. 39: 267-277.

Molecular investigation of banana shrimp (*P. merguiensis*) populations from Persian Gulf and Oman sea using microsatellite markers

Tamadoni Jahromi, S.[1*], Rezvani Gilkolaei, S.[2], Ghadirnejad, S.H.[3], Ghoroghi, A.[2], Tala, M.[4], Sadeghi, M.R.[1]

[1]*Department of Genetic, Persian Gulf and Oman Sea Ecological Research Institute, Bandar Abbass-Iran*

[2]*Department of Biotechnology, Iranian Fisheries Research Organization, Tehran-Iran*

[3]*Department of Stock Assessment, Inland Waters Aquatic Stocks Research Centre, Gorgan-Iran*

[4]*Department of Fisheries, Islamic Azad University, Qeshm Island-Iran*

(Received 6 August 2013 , Accepted 30 November 2013)

Abstract:

BACKGROUND: Molecular investigation of important commercial shrimp species is one of the main goals to find out the pure populations and brood stocking of marine resources. **OBJECTIVES:** The purpose of the present study was to study the population of *P. merguiensis* and determining the extent of genetic diversity of this species. **METHODS:** Samples were collected from three major distribution areas in the Persian Gulf and Oman Sea. Molecular investigation was carried out using microsatellite markers. **RESULTS:** Only five out of the eight primers of *P. merguiensis* produced good amplified PCR products with fixed annealing temperature. The rest of the primers were either not easily amplified or produced nonspecific bands. Seven alleles were found to be unique to each of the three populations of *P.merguiensis.* Occurrences of heterozygosity deficiency were found at most loci. These heterozygosity deficiencies in observed heterozygosity in comparison to expected heterozygosity may be due to inbreeding, genetic drift and consequences of illegal overharvesting of *P. merguiensis* in the studied areas as well. Deviation from Hardy-Weinberg Equilibrium in both studied species was significant in most microsatellite loci ($p<0.001$). We observed deviation from HWE in most loci with hetrozygosity deficits. The genetic variation results showed that the pairwise Fst values were significant between studied populations. The assignment test revealed high gene flow between Hormoz and Jask and restricted genetic flow between Guatr and Hormoz populations. **CONCLUSIONS:** It seems that the changes in immigration patterns of populations between Hormoz, Jask and Guatr areas depend on the influence of Persian Gulf currents or the life cycle of *P. merguiensis* in studied areas. Alternatively, the presence of ecological barriers such as mangrove forests may result in restricted genetic flow between Guatr and both Hormoz and Jask populations.

Key words: microsatellite markers, PCR, Persian Gulf, *P.merguiensis*, Oman sea

Figure Legends and Table Captions

Table 1. The primers which used for PCR production.

Table 2. Characterizations of five microsatellite loci of *P. merruiensis*. Number of individuals examined (n), number of alleles (Na), effective allele number (Ne), observed heterozygosity (Ho) and expected heterozigosity (He) are listed for each locus.

Table 3. Allele frequencies (by population) for five microsatellite loci in *P. merguiensis* (Unique alleles are shown in bold).

Table 4. Summary of Hardy-Weinberg Equilibrium tests for five microsatellite loci in three separate populations of *P. merguiensis* generated using GenAlEx software.

Table 5. F_{ST} values for pairwise comparison based on allele frequency value and AMOVA test and relation of F_{ST} and migration rate among different populations of *P. Merguiensis.*

Figure 1. Sampling areas in northern part of Persian Gulf and Oman Sea.

Figure 2. UPGMA dendrogram based on distance matrixes for three population areas. Scale refers to genetic distance (Nei, 1972).

Figure 3. Eddy turbulence distributed in Gulf of Oman (5).

Figure 4. Marine currents in the Persian Gulf (16).

Figure 5. Assignment tests (graph) for three studied populations based on allele frequency.

***Corresponding author's email: stamadoni@yahoo.com, Tel: 0761-3331134, Fax: 0761- 3340017**