

## شاخص‌های ژنتیکی نسل‌های مختلف مولدین پرورشی میگوی سفید غربی

### *(Litopenaeus vannamei* Boone, 1931) در مراکز تکثیر واقع در سواحل خلیج فارس

#### استان بوشهر

محمد خلیل پذیر<sup>۱\*</sup>، سید احمد قاسمی<sup>۲</sup>، مریم میربخش<sup>۳</sup>

۱- پژوهشکده میگوی کشور، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی (AREEO)، بوشهر، ایران

۲- گروه بیوتکنولوژی، پژوهشکده خلیج فارس، دانشگاه خلیج فارس بوشهر، ایران

۳- موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی (AREEO)، تهران، ایران

#### نوع مقاله

##### مقاله پژوهشی اصیل

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۲/۲۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۲/۲۵

تاریخ چاپ الکترونیکی: ۱۴۰۰/۳/۱۰

\* نویسنده مسول:

dr.pazir@gmail.com

#### چکیده

هدف از انجام این مطالعه شناسایی جمعیت‌های مختلف مولدین میگوی سفید غربی پرورشی (*Litopenaeus vannamei*) و تأثیر آمیزش‌های خویشاوندی و غیر خویشاوندی بر روی شاخص‌های ژنتیکی و ضریب هم‌خونی نتاج حاصل از آنها در نسل دوم بود. با توجه به منشاء مولدین نگهداری شده در مراکز تکثیر استان بوشهر با استفاده از روش ریزماهوره‌ای، پس از شناسایی جمعیت‌های مختلف از میان سه ذخیره مولوکائی، های‌هلت و هیبرید در نسل اول، شاخص‌های ژنتیکی نتاج حاصل از آمیزش‌های درون و برون گروهی آنها در نسل‌های دوم بررسی شد. نتایج نشان داد که میزان تنوع ژنتیکی در ذخیره‌های مولوکائی و های‌هلت ( $0/0 \pm 46/09$  و  $0/50 \pm 0/07$ ) بیشتر از ذخیره هیبرید ( $0/0 \pm 38/06$ ) می‌باشد. میزان ضریب هم‌خونی ذخیره‌های مولوکائی، های‌هلت و هیبرید به ترتیب  $0/31$ ،  $0/41$  و  $0/41$  بود. لیکن به دلیل فاصله ژنتیکی کم میگوهای ذخیره هیبرید و مولوکائی پس از ادغام آنها با همدیگر دو جمعیت مولوکائی، های‌هلت به عنوان مولدین نسل اول معرفی شدند. در نسل دوم علیرغم بیشتر بودن میزان تنوع ژنتیکی در نتاج حاصل از آمیزش‌های برون گروهی مولوکائی×های‌هلت ( $0/47 \pm 0/12$ ) و های‌هلت×مولوکائی ( $0/39 \pm 0/08$ ) نسبت به نتاج آمیزش‌های درون گروهی مولوکائی×مولوکائی ( $0/19 \pm 0/04$ ) و های‌هلت×های‌هلت ( $0/11 \pm 0/03$ ) این مقادیر در مقایسه با نسل اول کاهش یافته بود. کمترین و بیشترین میزان ضریب هم‌خونی به ترتیب مربوط به نتاج مولوکائی×های‌هلت ( $0/268 \pm 0/18$ ) و مولوکائی×مولوکائی ( $0/145 \pm 0/145$ ) بود. با توجه به نتایج بدست آمده می‌توان عنوان نمود که عدم اطلاع از شاخص‌های ژنتیکی مولدین و آمیزش‌های صورت گرفته میان افراد خویشاوند عوامل اصلی کاهش شاخص‌های ژنتیکی و پسروری ژنتیکی ناشی از افزایش ضریب هم‌خونی در نسل‌های بعدی می‌باشند.

**کلید واژه‌ها:** میگوی سفید غربی، تنوع ژنتیکی، ضریب هم‌خونی، خلیج فارس

#### مقدمه

میگو مهمترین کالای شیلاتی در تجارت بین‌المللی غذاهای دریایی در جهان است که ارزش آن در میان محصولات شیلاتی ۱۵ درصد می‌باشد

[۱]. صنعت میگو در دهه‌های گذشته رشد چشمگیری داشته و انتظار می‌رود این رشد تا سال‌های آینده ادامه یابد. بطور کل میگوی سفید غربی

تقریباً ۷۸ درصد از کل تولید میگو در جهان را تأمین می‌کند [۲]. با توجه به شیوع بیماری لکه سفید در کشور، در طی سال‌های ۸۴-۱۳۸۳، میگوی

سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) با هدف ایجاد تنوع گونه‌ای و مقابله با مشکلات بوجود آمده ناشی از شیوع بیماری لکه سفید توسط

مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور با منشاء موسسه انستیتو اشنیک (The Oceanic Institute) واقع در جزیره هاوایی اقیانوس آرام و طی سال‌های ۸۴ تا ۹۶ با منشاء مولوکائی (Molokai) تأمین شده از کمپانی مولوکائی بروداستوک (Molokaei Broodstock Company)، کانابای (kona bay) و میگوهای های‌هلت تولید شده در دانشگاه هونولولو (University honolulu) جزیره هاوایی با عنوان مولدین های‌هلت (High Health) توسط فعالین بخش خصوصی به صنعت میگوی کشور معرفی گردید<sup>[۲]</sup>. امروزه میگوی سفید غربی به عنوان گونه نخست پرورشی کشور بطور کامل جایگزین میگوی سفید هندی (*Penaeus indicus*) شده است. شایان ذکر است که بر اساس آخرین آمار ارائه شده توسط سازمان شیلات ایران در سال ۱۳۹۹ میزان تولید این گونه پرورشی در کشور بالغ بر ۴۷ هزار تن بوده است که ارزش صادرات این محصول بالغ بر ۲۲۰ هزار دلار بر آورد شده می‌باشد<sup>[۴]</sup>. در حال حاضر به دلیل عدم دسترسی به ذخائر مولدین وحشی از جمله قوانین محدود کننده صادرات و واردات موجودات آبی و هزینه‌های هنگفت واردات مولدین از کشورهای مبدأ، تولید و عرضه پست لاروها در مراکز تکثیر استان بوشهر با استفاده از مولدین پرورش داده شده در محیط‌های محصور انجام می‌گیرد. شواهد حاکی از آن است که به دلیل انتخاب‌های نادرست صورت گرفته میان پیش مولدین جمع آوری شده از مزارع پرورش میگو، کاهش معنی داری در میزان تنوع ژنتیکی میگوهای سفید غربی بوجود آمده است<sup>[۵]</sup> به طوریکه مطالعات صورت گرفته توسط Akvaforsk و Gjedrem (۲۰۰۵)<sup>[۶]</sup> در کشور برزیل حاکی از آن بود که کاهش ایجاد شده در میزان تنوع ژنتیکی میگوهای سفید غربی ناشی از تکثیرهای درون گروهی (inbreeding) و افزایش ضریب همخونی بوده است که این موضوع موجب کاهش میزان رشد، بازماندگی، تولید مثل و توانایی در سازش آنها با تغییرات محیطی شده بود، همچنین عنوان شده که یک رابطه معنی داری میان کاهش تنوع ژنتیکی و کاهش تولید مثل مولدین میگوی سفید غربی وجود دارد<sup>[۷]</sup>. در مطالعه صورت گرفته بر روی لاین‌های نزدیک به هم در میگوی آبی (*L. Stylirostris*) که مدت زمان طولانی در محیط‌های محصور نگهداری شده بودند به دلیل افزایش درون آمیزی صورت گرفته علاوه بر کاهش رشد، میزان تولید و تنوع ژنتیکی میگوها به شدت کاهش یافته بود<sup>[۸]</sup>. آنها عنوان نمودند که با توجه به کاهش سطح تنوع ژنتیکی منجر به کاهش میزان رشد و افزایش حساسیت به عوامل بیماریزا می‌گردد لذا شناسایی جمعیت های میگوی آبی و استفاده از میگوهای عاری از هر گونه بیماری همراه با اجرای برنامه‌های به‌گزینی و تولید لاین از جمله راهکارهای ارائه شده جهت جلوگیری از کاهش میزان تنوع ژنتیکی است. از این رو باید تا حد امکان از درون آمیزی میان افراد یک خانواده بویژه زمانیکه میگوها تحت شرایط استرس‌زا پرورش داده می‌شوند جلوگیری به عمل آید، لذا میزان درون آمیزی در یک جمعیت نمی‌بایست به بیش از ۱۰ درصد افزایش یابد<sup>[۹]</sup>. با توجه به عدم واردات مولد به کشور و پرورش مولدین در محیط‌های محصور مراکز تکثیر با استفاده از پست لاروهای تولید شده، این احتمال وجود دارد که به دلیل انتخاب‌های نادرست صورت گرفته و عدم آگاهی از اطلاعات ژنتیکی ذخیره‌های مختلف میزان شاخص‌های ژنتیکی بعد از گذشت چند نسل به شدت کاهش پیدا کند. از این رو در این مطالعه سعی شده تا میزان شاخص‌های ژنتیکی در نسل‌های مختلف پیش مولدین میگوی سفید غربی و تأثیر نحوه به‌گزینی صورت گرفته و آمیزش‌های درون گروهی (Inbreeding) و برون گروهی (Cross-breeding) بر روی میزان پسروی ژنتیکی ناشی از افزایش ضریب همخونی در پیش مولدین پرورش یافته در محیط‌های محصور مورد بررسی قرار گیرد.

## مواد و روش‌ها

در این مطالعه شاخص‌های ژنتیکی نسل‌های مختلف مولدین میگوهای سفید غربی نگهداری شده در مرکز تکثیر بندرگاه استان بوشهر وابسته به پژوهشکده میگوی کشور مورد بررسی قرار گرفتند. در نسل اول بر اساس اطلاعات مربوط به تاریخچه نگهداری مولدین در مراکز تکثیر استان بوشهر و منشاء آنها، با هدف شناسایی جمعیت‌های مختلف میگوی سفید غربی سه ذخیره مختلف مولوکائی (M)، های‌هلت (H.H) و هیبرید (Hybrid) یا میگوهای حاصل از تلاقی مولدین مولوکائی و های‌هلت در مراکز تکثیر جمع آوری شد، سپس با استفاده از روش ریزماهورهای، شاخص‌های ژنتیکی جمعیت‌های مختلف از همدیگر تفکیک گردیدند و در نسل‌های دوم پس از آمیزش درون گروهی و برون گروهی میان مولدین نر و ماده دو جمعیت شناسایی شده در نسل اول، میزان شاخص‌های ژنتیکی نتاج حاصل از آمیزش‌های صورت گرفته در نسل دوم مورد بررسی قرار گرفتند. به منظور انجام مطالعات مولکولی در هر نسل از هر ذخیره، نمونه‌گیری از عضله پای شنای ۳۰ قطعه میگو در مجاورت الکل ۷۰ درصد صورت گرفت. استخراج ماده ژنتیکی DNA نمونه‌ها بر اساس روش CTAB انجام شد [۱۰]. روش کار به اختصار به این صورت بود که بعد از جدا سازی ۵۰ میلی‌گرم از بافت عضله و افزودن محلول CTAB (Conventional Cetyl Trimethylammonium Bromide) ۲ درصد و پروتئیناز K بعد از هموژنیزه نمودن، نمونه‌ها به مدت ۳-۲ ساعت تا زمان حل شدن قطعات بافتی در درجه حرارت ۵۶ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. سپس با افزودن محلول کلروفرم و فنل با نسبت ۲۴ به ۱ و شستشو با اتانول ۷۰ درصد استخراج DNA صورت گرفت. کیفیت و کمیت DNA های استخراج شده به ترتیب براساس وجود یا عدم وجود باند از ژل آگاروز ۱ درصد و نانودراپ مدل A&E Lab در طول موج‌های ۲۶۰، ۲۸۰ نانومتر و نسبت  $\frac{260}{280}$  نانوگرم بر میکرولیتر مورد بررسی قرار گرفتند [۱۱].

تکثیر توالی‌های تکراری DNA های نمونه‌های استخراج شده از طریق واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (Polymerase Chain Reaction) با استفاده از ۱۲ جفت نشانگر اختصاصی پلی مورفیک میگوی سفید غربی ساخته شده توسط شرکت متابیون آلمان به سفارش شرکت سهامی خاص روبین طب صورت پذیرفت [۱۲-۱۵] (جدول ۱).

جدول ۱. توالی نشانگرهای استفاده شده در تکثیر توالی‌های تکراری ریزماهورهای میگوهای سفید غربی (*L.vannamei*).

ردیف	پرایمر	توالی (5'→3')	جفت باز
۱	Lvan01	F: GCCATAAACGCAAGACTGAG	۱۳۶-۱۴۶
		R: GCAGGTATACGGTCATGTGTA	
۲	Lvan07	F: AAAGAGGAAGATGAGGAAG	۱۸۹-۲۲۳
		R: CCTCGGTTACGTATTTATTG	
۳	Pvan0013	F: TGCTCTGGTAACGACAAACG	۲۷۶-۲۸۴
		R: AGACCTGTGGCGAAGTGC	
۴	Pvan1758	F: TATGCTCGTTCCCTTTGCTT	۱۶۳-۱۸۹
		R: TTGAAGGAAAAGTGTGGGG	
۵	Pvan1815	F: GATCATTCGCCCTCTTTTT	۱۲۶-۱۴۱
		R: ATCTACGGTTCGAGAGCAGA	
۶	TUMXLv5.27	F: CAGACCCTAAATCTCCGTGC	۱۶۶-۱۸۲
		R: TGGAAAGGTCAGAGGTCACG	
۷	TUMXLv5.38	F: CCTTTATGACTTCCCCGAC	۲۰۰-۲۲۲
		R: CCGTACAGAAACGGAACGTC	
۸	TUMXLv8.32	F: TTACCGCCTAAGAGCGAATG	۲۱۶-۲۲۸
		R: TGTCTTTTCGTACCAGTCAAG	
۹	M1	F: GTGTGTTGCGGAATCGAA	۲۱۰-۲۱۷
		R: CTAACCAATATCGAATC	
۱۰	TUDGLv5-7.33	F: TGCTAGAATGTCTTTCGAAG	۱۱۵-۱۲۶
		R: GTCTGGGAAATCTTTAATG	
۱۱	TUDGLv7-9.17	F: ATGGTGAATATAAGGAAGCT	۸۹-۹۱
		R: TGTGATATGGTTTTGGAG	
۱۲	TUDGPv3-5.378	F: TCGGAAGGTGTCTTTCCAAAC	۱۸۰-۱۸۶
		R: AGGAAACCTATCATCGCCGT	

در این مطالعه از دستگاه ترموسایکلر مدل Corrbet جهت تکثیر توالی‌های تکرار شونده DNA (ماکروساتلایت) استفاده شد. واکنش زنجیره‌ای پلیمرز به ازای هر نمونه در حجم ۲۵ میکرولیتر حاوی ۱۲/۵ میکرولیتر مخلوط واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR Master Mix-Ampliqon)، ۱ میکرولیتر از هر نشانگر اختصاصی پیشرو و پسرو با غلظت ۱۰ پیکومول (جدول ۱)، ۹/۵ میکرولیتر آب مقطر دیونیزه و ۱ میکرولیتر DNA با غلظت ۵۰ نانوگرم بر میکرولیتر تهیه شد. تکثیر نشانگرها توسط دستگاه ترموسایکلر از سه مرحله تشکیل شده بود، مرحله اول شامل واسرشت شدن اولیه (Pre denature) در درجه حرارت ۹۴ درجه سانتیگراد به مدت ۳ دقیقه برای یک چرخه، مرحله دوم شامل واسرشت شدن (Denature) در ۹۴ درجه سانتیگراد، اتصال به قطعه هدف (Annealing) در درجه حرارت ۶۰-۵۴ درجه سانتیگراد و بسط شدن (Extraction) در درجه حرارت ۷۲ درجه سانتیگراد هر کدام به مدت ۳۰ ثانیه برای ۳۰ چرخه تنظیم گردید. در انتها بسط نهایی (Final Extraction) در درجه حرارت ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۵ دقیقه در یک چرخه صورت پذیرفت. بعد از تزریق ۵ میکرولیتر محصول PCR

به درون چاهک‌های ایجاد شده بر روی ژل پلی آکریل امید ۶ درصد همراه با نشانگر استاندارد ۳۰۰-۱۰۰ جفت باز (Base pair)، پس از ران نمودن دستگاه الکتروفورز عمودی مدل Amersham Se600 به مدت ۲ ساعت ۳۰ دقیقه، و رنگ آمیزی ژل پلی آکریل امید با نیترات نقره ۰/۱ درصد، طول هر باند با توجه به طول نشانگر استاندارد محاسبه شد<sup>[۱۶]</sup>. در ادامه با استفاده از نرم افزار Gene Alex (ver. 6) برای هر نشانگر مقادیر فراوانی آل‌های مؤثر و واقعی، هتروزیگوسیتی مورد انتظار، هتروزیگوسیتی مشاهده شده، ماتریکس شباهت و فاصله ژنتیکی<sup>[۱۷]</sup>، تعادل هاردی-واینبرگ، تفاوت ژنتیکی (Fst)، جریان ژنی، ضریب هم‌خونی (Fis) تعیین شد<sup>[۱۸]</sup>. همچنین میزان آل‌های نول با استفاده از نرم افزار Micro-Checker (ver. 2.2.3) مشخص گردید. درخت موضع شناسی تکاملی بین نمونه‌ها براساس فاصله ژنتیکی با استفاده از نرم افزار TFPGA ترسیم شد. در پایان مطالعه با توجه به مستقل بودن ذخیره‌های مختلف از یکدیگر اختلاف هتروزیگوسیتی مشاهده شده با هتروزیگوسیتی قابل انتظار و ضریب هم‌خونی ذخیره‌های مختلف میگو از طریق آزمون t-test مستقل با سطح اطمینان ۹۵، مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند.

## نتایج

### شاخص‌های ژنتیکی مولدین نسل اول

نتایج حاصل از بررسی میزان تنوع ژنتیکی مولدین میگوی سفید غربی سه ذخیره بررسی شده در نسل اول نشان داد که دامنه هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Ho) در جمعیت‌های هیبرید (H)، های‌هلت (H.H) و مولوکائی (M) به ترتیب ۰/۱۱-۰/۷، ۰/۱۶-۰/۸۵ و ۰/۲۱-۰/۹ بود، و حداکثر و حداقل هتروزیگوسیتی مورد انتظار (He) در جمعیت‌های فوق به ترتیب ۰/۴۳-۰/۸۵، ۰/۴۸-۰/۸۲ و ۰/۱۹-۰/۸۳ محاسبه شد. همچنین مقادیر هتروزیگوسیتی مشاهده شده در دو ذخیره هیبرید و های‌هلت بطور معنی داری کمتر از مقادیر مرتبط با هتروزیگوسیتی مورد انتظار بود (P>0.05). با این وجود علی‌رغم کمتر بودن میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده نسبت به هتروزیگوسیتی مورد انتظار در جمعیت مولوکائی هیچگونه تفاوت معنی دار آماری مشاهده نشد (P>0.05).

بیشترین تعداد آل واقعی (Na) مشاهده شده در ذخیره‌های هیبرید، های‌هلت هر کدام با ۹ و در ذخیره مولوکائی با میزان ۸ همگی مربوط به نشانگر Lvan07 بود. با این وجود دامنه آل‌های واقعی مشاهده شده در سه ذخیره مورد بررسی در دامنه ۹-۲ قرار داشت. در رابطه با آل‌های مؤثر (Ne) نتایج نشان داد که حداکثر و حداقل آن در ذخیره‌های هیبرید، های‌هلت و مولوکائی به ترتیب ۱/۷۶-۵/۶، ۱/۹۳-۵/۵۵ و ۱/۲-۵/۸۸ می‌باشد. از سوی دیگر فراوانی آل‌های واقعی در سطح بیشتر از ۵ درصد ( $\geq 5\%$ ) در ذخیره‌های هیبرید، های‌هلت و مولوکائی به ترتیب ۴/۸۷±۰/۶۶، ۴/۷۵±۰/۵۹ و ۳/۸۷±۰/۵۸ بود. میزان آل‌های اختصاصی برای ذخیره‌های هیبرید، های‌هلت به ترتیب ۰/۳۷±۰/۱۸، ۰/۷۵±۰/۳۶ بود لیکن هیچگونه آل اختصاصی برای ذخیره مولوکائی مشاهده نشد. با این وجود فراوانی آل‌های اختصاصی در سطوح بیشتر از ۲۵ ( $\geq 25\%$ ) و ۵۰ درصد ( $\geq 50\%$ ) صفر بود، لیکن هیچگونه تنوعی بالاتر از این اعداد مشاهده نشد (جدول ۲).

جدول ۲. آلل‌های اختصاصی و فراوانی آن‌ها ذخیره‌های هیبرید و های‌هلت در نشانگرهای مختلف.

فراوانی	آلل اختصاصی	نشانگر	جمعیت
۰/۲۲۵	۴	Pvan 1815	هیبرید (H)
۰/۱۰۰	۶	TUMXLv 5.27	
۰/۱۰۵	۸	TUMXLv 8.32	
۰/۰۷۵	۱۱	Lvan 07	های هلت (H.H)
۰/۴۵۰	۴	Pvan 0013	
۰/۱۲۵	۱	Pvan 1758	
۰/۲۷۵	۲	Pvan 1758	
۰/۱۵۰	۳	Pvan 1758	
۰/۰۲۵	۲	TUMXLv 8.32	

بررسی ضریب هم‌خونی نشان داد که مجموع این ضریب در ذخیره‌های مورد بررسی به دلیل کاهش میزان تنوع ژنتیکی (هتروزیگوسیتی) مثبت می‌باشد. بطوریکه این مقادیر در سه ذخیره هیبرید، های‌هلت و مولوکائی به ترتیب ۰/۴۱۲، ۰/۳۱۴ و ۰/۱۴۵ مشاهده شد. با این وجود در ذخیره‌های هیبرید و های‌هلت به ترتیب در دو نشانگر Pvan0013 و TUMXLv 5.27 و در ذخیره مولوکائی در چهار نشانگر Pvan، Pvan0013، TUMXLv 5.38 و TUMXLv 5.27، 1815 این میزان منفی گردید.

همچنین میزان تمایز ژنتیکی موجود میان جمعیت‌های مختلف حاکی از وجود یک تمایز ژنتیکی پائین تا متوسط بود. به گونه‌ای که یک تمایز ژنتیکی کاملاً معنی‌دار میان ذخیره‌های های‌هلت و مولوکائی با ۰/۱۸۲ در سطح متوسط وجود داشت ( $P < 0.01$ ). این در حالی بود که تمایز ژنتیکی موجود بین ذخیره‌های های‌هلت و هیبرید و هیبرید و مولوکائی به ترتیب با میزان ۰/۱۳۵ و ۰/۱۱۷ بطور معنی‌داری در سطح پائین تمایز ژنتیکی قرار داشت ( $P < 0.01$ ). در رابطه با مقادیر جریان ژنی (ارتباطات ژنتیکی)، بیشترین و کمترین میزان به ترتیب میان ذخیره‌های هیبرید و مولوکائی و ذخیره‌های های‌هلت و مولوکائی بود و بیشترین و کمترین میزان فاصله ژنتیکی به ترتیب میان ذخیره‌های های‌هلت و مولوکائی و ذخیره‌های هیبرید و مولوکائی و بیشترین شباهت ژنتیکی نیز میان ذخیره‌های هیبرید و مولوکائی مشاهده شد (جدول ۳).

جدول ۳. مقادیر فاصله موجود در میان جفت جمعیت‌های مورد مطالعه.

فاصله ژنتیکی		جمعیت
های هلت	هیبرید	های هلت
	۰/۵۱۲	
۰/۶۱۵	۰/۳۵۷	مولوکائی

براساس آزمون مربع کای ( $\chi^2$ ) در هر سه ذخیره هیبرید، های‌هلت و مولوکائی در نشانگرهای مختلف ریزماهواره انحراف از تعادل هاری واینبرگ مشاهده شد ( $P < 0.001$ ،  $P < 0.01$ ،  $P < 0.05$ ). به استثنای نشانگر Pvan 0013 در ذخیره هیبرید، نشانگرهای TUMXLv 5.38 و TUMXLv 8.32 در ذخیره‌های های‌هلت و نشانگرهای Pvan 1815، Pvan 0013 و TUMXLv 5.27 و TUMXLv 5.38 در ذخیره مولوکائی که هیچگونه اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نشد.

## شناسایی جمعیت‌های مختلف و به‌گزینی مولدین نسل اول

با توجه به تمایز ژنتیکی پائین، فاصله ژنتیکی کم و شباهت ژنتیکی بالای مولدین ذخیره مولوکائی و هیبرید در مقایسه با مولدین های هلت، با هدف کاهش آمیزش‌های خویشاوندی در مولدین نسل اول و بهبود شاخص‌های ژنتیکی در نتاج نسل دوم این دو ذخیره به عنوان جمعیت اول و ذخیره های هلت به عنوان جمعیت دوم در نظر گرفته شدند و نتاج آنها در نسل دوم حاصل آمیزش‌های صورت گرفته میان مولدین نر و ماده دو جمعیت فوق بصورت درون گروهی (Inbreeding) و برون گروهی (Cross-breeding) بود.

## شاخص‌های ژنتیکی مولدین نسل دوم

نتایج حاصل از بررسی میزان تنوع ژنتیکی میگوهای چهار نتاج نسل دوم حاکی از این بود که دامنه هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Ho) و مورد انتظار (He) در نتاج حاصل از آمیزش مولوکائی (نر) × های هلت (ماده) (M.H)، های هلت (نر) × مولوکائی (ماده) (H.M)، های هلت (نر) × های هلت (ماده) (H.H) و مولوکائی (نر) × مولوکائی (ماده) (M.M) به ترتیب  $0.11-0.179$ ،  $0.04-0.43$ ،  $0.00-0.38$ ،  $0.00-0.45$  و  $0.00-0.76$  و  $0.50$ ،  $0.48-0.82$ ،  $0.50-0.77$ ،  $0.60-0.78$  بود. آنالیز آماری نشان داد که مقادیر هتروزیگوسیتی مشاهده شده در سه نتاج میگوی نسل دوم بطور معنی داری کمتر از مقادیر مرتبط با هتروزیگوسیتی مورد انتظار بود. **Error! Reference source not found.** ( $P>0.05$ ). لیکن در میگوهای نتاج مولوکائی × های هلت (M.H) علیرغم کمتر بودن میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده نسبت به قابل انتظار این مقدار غیر معنی دار بود.

بیشترین تعداد آل واقعی (Na) در نتاج مولوکائی × های هلت (M.H) با ۹ آل در مقایسه با حداکثر ۷ آل در سه نتاج دیگر (مربوط به نشانگرهای M1 و TUDGLv5-7.33) مشاهده شد. همچنین دامنه آل واقعی در نتاج مولوکائی × های هلت (M.H) در فاصله ۹ - ۳ و در سه نتاج دیگر در دامنه ۸-۲ قرار داشت. در رابطه با آل های مؤثر (Ne) نتایج نشان داد که حداکثر و حداقل آن در چهار نتاج فوق به ترتیب  $2.02-6.29$ ،  $1.92-5.84$ ،  $2-4.28$  و  $1.98-4.12$  بود. همچنین بیشترین فراوانی آلی در سطح بیشتر از ۵ درصد ( $\geq 5\%$ ) در نتاج مولوکائی × های هلت (M.H) با  $4/59 \pm 0/45$  مشاهده شد لیکن این مقدار در نتاج های هلت × مولوکائی (H.M)، های هلت × های هلت (H.H) و مولوکائی × مولوکائی (M.M) به ترتیب  $4/17 \pm 0/39$ ،  $3/75 \pm 0/40$  و  $3/17 \pm 0/53$  بود. با این وجود بعضی از آل‌ها در جایگاه‌های مختلف برای نتاج مولوکائی × های هلت (M.H) با میزان  $0/67 \pm 0/28$  اختصاصی بودند لیکن در سه ذخیره دیگر هیچگونه آل اختصاصی مشاهده نشد (جدول ۴).

جدول ۴. آل های اختصاصی و فراوانی آن‌ها نتاج مولوکائی × های هلت در جایگاه‌های مختلف

فراوانی	آل اختصاصی	جایگاه	جمعیت مولوکائی × های هلت (M.H)
۰/۰۵۶	۵	Pvan 0013	
۰/۱۹۶	۵	Pvan 1758	
۰/۵۳۴	۴	Pvan 1815	
۰/۱۰۳	۵	Pvan 1815	
۰/۰۳۴	۶	Pvan 1815	
۰/۰۶۷	۱	TUMXLv 5.38	

۰/۰۳۳	۲	TUMXLv 5.38	
۰/۰۵۰	۲	M1	

بطور کلی ضریب هم خونی مشاهده شده در چهار نتاج نسل دوم مثبت شده بود. لیکن در نتاج مولوکائی × های هلت (M.H) با میزان  $۰/۲۶۸ \pm ۰/۱۸۵$  در نشانگرهای ۲، ۵، ۱۰، ۱۲، به دلیل افزایش میزان تنوع ژنتیکی نتاج های هلت × مولوکائی (H.M) با میزان  $۰/۷۳۲ \pm ۰/۱۰۱$  در نشانگرهای ۶، ۷، ۱۰، نتاج های هلت × های هلت (H.H) با میزان  $۰/۸۱۷ \pm ۰/۱۰۸$  در نشانگرهای ۶، ۸، ۱۰ و در نتاج مولوکائی × مولوکائی با میزان  $۰/۸۵۳ \pm ۰/۱۴۵$  تنها در نشانگر ۲ مقادیر ضریب هم خونی منفی شده بود.

نتایج حاصل از تمایز ژنتیکی میان نتاج نسل دوم حاکی از وجود یک تمایز ژنتیکی پائین تا متوسط بود. به گونه‌ای که تمایز ژنتیکی موجود میان نتاج مولوکائی × های هلت (M.H) با های هلت × مولوکائی (H.M) با میزان  $۰/۱۰۱$  بطور معنی داری در سطح متوسطی قرار داشت ( $P < 0.001$ ). همچنین تمایز ژنتیکی موجود میان نتاج مولوکائی × های هلت (M.H) با های هلت × های هلت (H.H) و های هلت × مولوکائی (H.M) با های هلت × های هلت (H.H) به ترتیب با میزان  $۰/۱۱۰$  و  $۰/۰۳۴$  بطور معنی داری در سطوح متوسط و پائینی از تمایز ژنتیکی بود ( $P < 0.001$ ) (جدول ۵).

جدول ۵. مقادیر تمایز ژنتیکی ذخیره‌های مختلف نسل دوم

M.M	H.H	H.M	M.H	ذخیره
			۰/۰۰۰	M.H
		۰/۰۰۰	۰/۱۰۱	H.M
	۰/۰۰۰	۰/۰۳۴	۰/۱۱۰	H.H
۰/۰۰۰	۰/۰۴۴	۰/۰۳۴	۰/۰۳۳	M.M

بیشترین میزان فاصله ژنتیکی میان نتاج مولوکائی × های هلت (M.H) با نتاج های هلت × های هلت (H.H) و کمترین میزان میان نتاج های هلت × مولوکائی (H.M) با های هلت × های هلت (H.H) وجود داشت (جدول ۶).

جدول ۶. مقادیر فاصله موجود در میان جفت جمعیت‌های مورد مطالعه

M.M	H.H	H.M	M.H	ذخیره
			۰/۰۰۰	M.H
		۰/۰۰۰	۰/۵۱۸	H.M
	۰/۰۰۰	۰/۱۳۳	۰/۵۳۶	H.H
۰/۰۰۰	۰/۱۷۷	۰/۱۴۵	۰/۱۵۴	M.M

### انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ

بر اساس آزمون مربع کای ( $\chi^2$ ) در هر چهار نتاج مولوکائی × های هلت (M.H)، های هلت × مولوکائی (H.M)، های هلت × های هلت (H.H) و مولوکائی × مولوکائی (M.M) در جایگاه‌های مختلف ریزماهوره انحراف از تعادل هاردی واینبرگ مشاهده شد ( $*P < 0.05$ ,  $**P < 0.01$ ).



( $P < 0.001$  \*\*\*). به استثنای جایگاه ۱ و ۵ در نتاج مولوکائی × های هلت (M.H)، جایگاه‌های ۵ و ۷ در نتاج های هلت × مولوکائی، جایگاه‌های ۶، ۷ و ۸ در نتاج های هلت × های هلت و جایگاه ۵ در نتاج مولوکائی × مولوکائی هیچگونه اختلاف معنی دار آماری مشاهده نشد.

## بحث

علیرغم غیربومی بودن میگوی سفید غربی امروزه این گونه به عنوان گونه نخست پرورشی کشور محسوب می‌گردد، لیکن با تولید مولدین اصلح و به‌گزین شده در مراکز تکثیر می‌توان تا حدود زیادی از پسروری ژنتیکی ناشی از هم‌خونی در اثر آمیزش‌های خویشاوندی و انتخاب‌های نادرست از طریق شناسایی جمعیت‌های مختلف این گونه در مراکز تکثیر پیشگیری نمود. بررسی‌های بدست آمده در کشور حاکی از آن بوده که روند انتخاب مولدین پرورشی در مراکز تکثیر میگوی استان بوشهر بیشتر بر اساس صفت رشد می‌باشد بطوریکه در این روش میگوهای انتخاب می‌شوند که در زمان کوتاه‌تری به حداکثر رشد خود رسیده باشند<sup>[۵]</sup>. این نحوه انتخاب مولد علاوه بر اینکه باعث از بین رفتن شانس مشارکت میگوهای با وزن کمتر در تولید نتاج بعدی می‌گردد می‌تواند با حذف بسیاری از آل‌های مؤثر نیز همراه شود<sup>[۱۹، ۲۰]</sup>. با توجه به عدم اجرای برنامه‌های به‌گزینی مولدین در مراکز تکثیر کشور از ابتدای معرفی این گونه و وابستگی بالای این صنعت به واردات مولد از خارج از کشور، نتایج بدست آمده از این مطالعه حاکی از وجود ذخیره‌های مختلف بویژه ذخیره‌های ناشی از تلاقی ناخواسته میان مولدین نر و ماده با منشاءهای مختلف بود. با توجه به اختلاف مشاهده شده میان مقادیر هتروزیکوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار در سه ذخیره مولوکائی، های هلت و هیبرید جمع آوری شده از مراکز تکثیر استان بوشهر نتایج دال بر کاهش تنوع ژنتیکی در ذخیره‌های نسل اول بود، بطوریکه در دو ذخیره‌های هیبرید و های هلت اختلاف مشاهده شده میان مقادیر فوق دالت بر معنی‌داری بودن این شاخص را داشت. امروزه عنوان شده که می‌توان با ایجاد آمیزش بین گروهی در میان ذخائر پرورش داده شده و یا افراد خانواده‌های مختلف علاوه بر بالا بردن میزان هتروزیکوسیتی و تنوع ژنتیکی در نتاج حاصله میزان افزایش بهره‌وری مولدین را تا حدودی افزایش داد<sup>[۲۱]</sup>. از سوی دیگر علیرغم اینکه میزان فراوانی آل‌های واقعی در سه ذخیره بررسی شده با میانگین ۴/۹۵ در دامنه ۹-۲ قرار داشت لیکن بررسی‌های صورت گرفته در مقایسه با سایر مطالعات انجام شده دالت بر کاهش میزان فراوانی آل‌های واقعی در ذخیره‌های موجود را داشت. با این وجود علیرغم کاهش اندک فراوانی آلی در ذخیره‌های مختلف نتاج دال بر مشاهده چندین آل اختصاصی در مولدین ذخیره های هلت و هیبرید را داشت. در این رابطه Ren و همکاران (۲۰۱۸)<sup>[۲۲]</sup> با مطالعه بر روی ذخائر میگوی سفید غربی پرورش داده شده در مراکز تکثیر کشور چین عنوان نمودند که به دلیل اجرای برنامه‌های به‌گزینی بر روی مولدین توسط مدیران مراکز تکثیر، میانگین فراوانی آل‌های واقعی مشاهده شد در جمعیت‌های بررسی شده با میزان ۵/۸۵ در دامنه ۴۳/۱۲-۴ قرار داشت. همچنین به دلیل کاهش تنوع ژنتیکی و فراوانی آلی در ذخیره‌های مختلف میزان ضریب هم‌خونی بدست آمده در مطالعه حاضر در مقایسه با مقادیر بدست آمده از مطالعه صورت گرفته توسط Ren و همکاران (۲۰۱۸)<sup>[۲۳]</sup> با میانگین ۰/۰۷۱، در تمامی جایگاه‌های بررسی شده به شدت افزایش یافته بود. بر اساس گفته Perez-Enriquez و همکاران (۲۰۰۹)<sup>[۲۴]</sup> افزایش میزان هتروزیکوسیتی مشاهده شده نسبت به هتروزیکوسیتی قابل انتظار علاوه بر افزایش میزان تنوع ژنتیکی با کاهش ضریب هم‌خونی می‌تواند همراه باشد، لذا یکی از دلایل افزایش ضریب هم‌خونی در ذخیره‌های مختلف ممکن است

به دلیل کاهش تنوع آلی ناشی از کوچک شدن جمعیت مولدین بوده باشد. امروزه عنوان شده که یکی از دلایل افزایش ضریب هم‌خونی در پیش مولدین ذخیره‌های مختلف، کاهش جمعیت مؤثر مولدین مشارکت‌کننده در برنامه‌های تولید مثلی و عدم به‌گزینی مناسب می‌تواند باشد [۲۴]. از آنجا که ثبات و فراوانی آلل‌ها را در نسل‌های مختلف بر اساس تعادل هاری-واینبرگ تعیین می‌گردد [۱۰]، لذا امروزه از این معادله جهت بررسی رابطه میان فراوانی ژنوتیپ و آلل‌ها استفاده می‌شود [۲۵] با این وجود افزایش آلل‌های نول همواره با افزایش هموزیگوسیتی و کاهش هتروزیگوسیتی در جمعیت‌ها همراه است [۲۶] با توجه به نتایج بدست آمده به دلیل انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ در ذخیره‌های شناسایی شده می‌توان عنوان نمود که انحراف از این تعادل علاوه بر کاهش تنوع ژنتیکی و افزایش ضریب هم‌خونی ناشی از وجود آلل‌های نول (Null allele) می‌باشد [۲۲]. از این رو با توجه به فاصله ژنتیکی و تمایز ژنتیکی پائین میان ذخیره هیبرید و مولوکائی با هدف افزایش بهبود شاخص‌های ژنتیکی در نسل دوم میگوهای این دو ذخیره به عنوان جمعیت مولوکائی و ذخیره‌های هلت به عنوان جمعیت‌های هلت در نظر گرفته شدند.

بررسی میزان شاخص‌های ژنتیکی براساس اختلاف موجود میان هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار در چهار نتاج حاصل از آمیزش‌های درون‌گروهی و برون‌گروهی این دو جمعیت در نسل دوم نشان داد که اختلاف میان هتروزیگوسیتی مشاهده شده با مورد انتظار در نتاج مولوکائی × های‌هلت (M.H) در مقایسه با نتاج دیگر بطور معنی‌داری کمتر بود. با این وجود میزان تنوع ژنتیکی در نتاج‌های هلت (نر) × مولوکائی (ماده) (H.M)، های‌هلت (نر) × های‌هلت (ماده) (H.H) و مولوکائی (نر) × مولوکائی (ماده) (M.M) در نسل دوم در مقایسه با مولدین نسل اول بطور معنی‌داری کاهش یافته بود ( $P < 0.05$ )، لیکن علیرغم کاهش تنوع ژنتیکی در نتاج مولوکائی × های‌هلت (M.H) در مقایسه با مولدین نسل اول هیچگونه اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ). از سوی دیگر مشاهده شد که میزان فراوانی آلل‌های واقعی به استثنای نتاج مولوکائی × های‌هلت (M.H) و های‌هلت × مولوکائی (H.M) در نتاج حاصل از آمیزش درون‌گروهی (Inbreeding) بطور معنی‌داری کاهش یافته بود ( $P < 0.05$ ). Goyard و همکاران (۲۰۰۳) [۲۵] عنوان نمودند که میزان فراوانی آلل‌های واقعی در جمعیت‌های وحشی در دامنه ۲۷ - ۱۴ قرار دارد، لذا در جمعیت‌های پرورشی به دلیل افزایش آمیزش‌های خویشاوندی و عدم انتخاب درست جمعیت این احتمال وجود دارد که بعد از ۴ تا ۷ نسل میزان فراوانی آلل‌ها به شدت با کاهش همراه شود. از این رو همانگونه که مشاهده می‌شود در نتاجی که حاصل آمیزش‌های خویشاوندی بودند میزان فراوانی آلل‌ها و همچنین میزان تنوع ژنتیکی در مقایسه با جمعیت مولدین نسل اول کاهش یافته بود. بنابراین هر چه فراوانی آلل‌ها در جمعیت‌های شناسایی شده کمتر باشد جمعیت بجای پلی مورف شدن به سمت مونومورف شدن پیش خواهد رفت، که این حالت معمولاً به دنبال نسل‌گیری متعدد از یک جمعیت و افزایش میزان آمیزش‌هایی خواهر-برادری (Full-sib Family) در جوامع ایجاد می‌شود [۲۶]، لذا در جمعیت‌هایی که دچار تنگناهای ژنتیکی (Bottleneck) می‌شوند، بویژه جمعیت‌هایی که در اسارت و یا در محیط‌های بسته نگهداری شده‌اند و یا مراکزی که دسترسی آن‌ها به منابع وحشی غیر ممکن است این حالت بیشتر مشاهده می‌شود [۲۷]. بنابراین ایجاد تنگناهای ژنتیکی علاوه بر کاهش میزان تنوع ژنتیکی و افزایش ضریب هم‌خونی در میگوهای پرورشی، معمولاً با کاهش شدید فراوانی آلی همراه است [۱۲]. همچنین میزان ضریب هم‌خونی مشاهده شد تنها در نتاج مولوکائی × های‌هلت (M.H) نسل دوم در مقایسه با سایر نتاج و مولدین نسل اول کاهش یافته بود این در حالی بود که در سایر نتاج بویژه نتاج حاصل از آمیزش‌های خویشاوندی درون‌گروهی این به شدت با افزایش همراه شد. با توجه به نتایج

بدست آمده همانگونه که مشاهده می‌شود آمیزش‌های خویشاوندی درون گروهی با کاهش شاخص‌های ژنتیکی و افزایش ضریب هم‌خونی در نتاج نسل دوم همراه بود، لیکن Ren و همکاران (۲۰۲۰b) [۲۸] عنوان نمودند که می‌توان با اجرای برنامه‌های به‌گزینی و تعیین شاخص‌های ژنتیکی تا حدود زیادی میزان ضریب هم‌خونی را کاهش داد. لذا از طریق به‌گزینی مولدین بر اساس روش‌های مولکولی نظیر ریزماهورای بویژه در میگوهای سفید غربی می‌توان تا حدود زیادی از می‌توان علاوه بر پیشگیری از کاهش شاخص‌های ژنتیکی صفات مرتبط با رشد و تولید مثل را بهبود بخشید [۲۹].

## نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج بدست آمده از این مطالعه حاضر مشاهده شد که علاوه بر کاهش شدید میزان شاخص‌های ژنتیکی بویژه فراوانی آلل‌ها و تنوع ژنتیکی در نتاج حاصل از آمیزش‌های خویشاوندی درون گروهی در مقایسه با آمیزش‌های غیر خویشاوندی حاصل از آمیزش‌های مولدین نر و ماده دو جمعیت مختلف، میزان ضریب هم‌خونی نیز در این نتاج نیز با افزایش همراه شده بود. بنابراین می‌توان اینچنین عنوان نمود که تفکیک و شناسایی جمعیت‌های مختلف در میگوهای سفید غربی پرورشی در کشور با هدف پیشگیری از کاهش شاخص‌های ژنتیکی از الزامات این صنعت می‌باشد.

**تشکر و قدردانی:** بدین وسیله، نویسندگان از همکاری پرسنل محترم مرکز تکثیر بندرگاه وابسته به پژوهشکده میگوی کشور بوشهر تشکر و سپاسگزاری می‌نمایند.

**تاییدیه اخلاقی:** موردی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

**تعارض منافع:** در مطالعه حاضر هیچگونه تعارض منافی وجود ندارد.

**سهم نویسندگان:** موردی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

**منابع مالی:** مقاله برگرفته از طرح پژوهشی بررسی به‌گزینی و انتخاب مولدهای حاصله از هر نسل به شماره K۹۱۰۱-۹۱۰۱-۹۱۰۲-۹۱۰۳-۱۲-۱۲-۱۴ می‌باشد.

## منابع

1. FAO. Aquaculture production (quantities and values) 1950-2019. In: FishStatJ -Software for Fishery Statistical Time Series. FAO Fisheries and Aquaculture Department, Rome. 2019.
2. Li E, Xu C, Wang X, Wang S, Zhao Q, Zhang M, et al. Gut microbiota and its modulation for healthy farming of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. Reviews in Fisheries Science & Aquaculture. 2018;26(3):381-99.
3. Pazir MK, Simruni MM, Hossini J. Detection and evaluation of the genetic variation *Litopenaeus vannamei* for different seed. 2016. Pp. 80. (in Persian).
4. Organization. IF. Statistical Yearbook of Iran Fisheries Organization 1397-1392. Deputy of Planning and Resource Management - Planning and Budget Office - Planning and Statistics Group.; 2019. Pp. 33. (in Persian).
5. Pazir MK, Ghaednia B, Aeinjamshid K, Pourkazemi M, Matinfar A, Afsharnasab M. Evaluation of genetic different between *Litopenaeus vannamei* of different race. 2017. Pp. 46. (in Persian).
6. Gjedrem T, Akvaforsk Å. Selection and breeding programs in aquaculture: Springer; 2005.

7. Sbordoni V, De Matthaëis E, Sbordoni MC, La Rosa G, Mattoccia M. Bottleneck effects and the depression of genetic variability in hatchery stocks of *Penaeus japonicus* (Crustacea, Decapoda). *Aquaculture*. 1986;57(1-4):239-51.
8. Bierne N, Beuzart I, Vonau V, Bonhomme F, Bédier E. Microsatellite-associated heterosis in hatchery-propagated stocks of the shrimp *Penaeus stylirostris*. *Aquaculture*. 2000;184(3-4):203-19.
9. Moss DR, Arce SM, Otoshi CA, Doyle RW, Moss SM. Effects of inbreeding on survival and growth of Pacific white shrimp *Penaeus (Litopenaeus) vannamei*. *Aquaculture*. 2007;272:S30-S7.
10. Valles-Jimenez R, Cruz P, Perez-Enriquez R. Population genetic structure of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) from Mexico to Panama: microsatellite DNA variation. *Marine Biotechnology*. 2004;6(5):475-84.
11. García-Alegría AM, Anduro-Corona I, Pérez-Martínez CJ, Guadalupe Corella-Madueño MA, Rascón-Durán ML, Astiazaran-Garcia H. Quantification of DNA through the NanoDrop Spectrophotometer: Methodological Validation Using Standard Reference Material and Sprague Dawley Rat and Human DNA. *International Journal of Analytical Chemistry*. 2020;2020.
12. Wolfus GM, Garcia DK, Alcivar-Warren A. Application of the microsatellite technique for analyzing genetic diversity in shrimp breeding programs. *Aquaculture*. 1997;152(1-4):35-47.
13. Cruz P, Ibarra AM, Mejia-Ruiz H, Gaffney PM, Pérez-Enríquez R. Genetic variability assessed by microsatellites in a breeding program of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Marine Biotechnology*. 2004;6(2):157-64.
14. Freitas PD, Jesus CM, Galetti Jr PM. Isolation and characterization of new microsatellite loci in the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* and cross-species amplification in other penaeid species. *Molecular Ecology Notes*. 2007;7(2):324-6.
15. Garcia DK, Alcivar-Warren A. Characterization of 35 new microsatellite genetic markers for the Pacific whiteleg shrimp, *Litopenaeus vannamei*: Their usefulness for studying genetic diversity of wild and cultured stocks, tracing pedigree in breeding programs, and linkage mapping. *Journal of shellfish research*. 2007;26(4):1203-16.
16. Borrell Y, Espinosa G, Romo J, Blanco G, Vázquez E, Sánchez J. DNA microsatellite variability and genetic differentiation among natural populations of the Cuban white shrimp *Litopenaeus schmitti*. *Marine Biology*. 2004;144(2):327-33.
17. Nei M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*. 1978;89(3):583-90.
18. Doyle RW. Inbreeding and disease in tropical shrimp aquaculture: a reappraisal and caution. *Aquaculture research*. 2016;47(1):21-35.
19. Moss SM, Otoshi C, Leung P. Optimizing strategies for growing larger *L. vannamei*. *Global Aquaculture Advocate*. 2005;8(5):68-9.
20. Tamayo RJM. Assessment of genetic variability in two lots of white shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) introduced to Cuba: *Universitetet i Tromsø*; 2006.
21. Hillen J, Coscia I, Vandeputte M, Hertzen K, Hellemans B, Maroso F, et al. Estimates of genetic variability and inbreeding in experimentally selected populations of European sea bass. *Aquaculture*. 2017;479:742-9.
22. Ren S, Mather PB, Tang B, Hurwood DA. Levels of genetic diversity and inferred origins of *Penaeus vannamei* culture resources in China: Implications for the production of a broad synthetic base population for genetic improvement. *Aquaculture*. 2018;491:221-31.
23. Perez-Enriquez R, Hernández-Martínez F, Cruz P. Genetic diversity status of White shrimp *Penaeus (Litopenaeus) vannamei* broodstock in Mexico. *Aquaculture*. 2009;297(1-4):44-50.
24. Ren S, Prentis P, Mather PB, Li Y, Tang B, Hurwood DA. Genetic parameters for growth and survival traits in a base population of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) developed from domesticated strains in China. *Aquaculture*. 2020a;523:735148.
25. Goyard E, Arnaud S, Vonau V, Bishoff V, Mouchel O, Pham D, et al. Residual genetic variability in domesticated populations of the Pacific blue shrimp (*Litopenaeus stylirostris*) of New Caledonia,

French Polynesia and Hawaii and some management recommendations. *Aquatic Living Resources*. 2003;16(6):501-8.

26. Castric V, Bernatchez L, Belkhir K, Bonhomme F. Heterozygote deficiencies in small lacustrine populations of brook charr *Salvelinus fontinalis* Mitchell (Pisces, Salmonidae): a test of alternative hypotheses. *Heredity*. 2002;89(1):27-35.

27. Norris A, Bradley D, Cunningham E. Microsatellite genetic variation between and within farmed and wild Atlantic salmon (*Salmo salar*) populations. *Aquaculture*. 1999;180(3-4):247-64.

28. Ren S, Mather PB, Prentis P, Li Y, Tang B, Hurwood DA. Quantitative genetic assessment of female reproductive traits in a domesticated pacific white shrimp (*Penaeus vannamei*) line in China. *Scientific reports*. 2020b;10(1):1-10.

29. Tan J, Luan S, Cao B, Luo K, Meng X, Kong J. Evaluation of genetic parameters for reproductive traits and growth rate in the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* reared in brackish water. *Aquaculture*. 2019;511:734244.

## Genetic characteristics of different generations broodstocks of *Litopenaeus vannamei* Boone, 1931 in hatchery centers located on the shores of the Persian Gulf in Bushehr province

Mohammad Khalil Pazir<sup>1\*</sup>, Seyed Ahmad Ghasemi<sup>2</sup>, Maryam Mirbakhsh<sup>3</sup>

1- Iranian Shrimp Research Center, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research, Education & Extension Organization (AREEO), Bushehr, Iran.

2- Department of Marine Biotechnology, Persian Gulf Institute, Persian Gulf University, Bushehr, Iran.

3- Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research, Education & Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran

### ABSTRACT

The aim of this study was to identify different population broodstocks of *Litopenaeus vannamei* and effect of inbreeding and cross-inbreeding on genetic characteristics and inbreeding coefficient of offspring in the next generation. According to origin of broodstocks kept in hatcheries of Bushehr province in the first generation, different populations were identified through microsatellite method from Hybrid, High health and Molokai stocks then, in the next generations genetic characteristics of offspring from their inbreeding and cross-inbreeding were examined. The results showed that the amount of genetic diversity in Molokai and High Health stocks ( $0.46\pm 0.09$  and  $0.50\pm 0.07$ ) was more than hybrid stock ( $0.38\pm 0.06$ ). The inbreeding coefficients of Molokai, High Health and hybrid stocks were 0.14, 0.31 and 0.41, respectively. Due to the low genetic distance between the hybrid and Molokai stocks, after mixing them together Molokai and High Health populations were introduced as the first generation broodstock. In the second generation, despite the high genetic diversity in the offspring of Molokai×High Health ( $0.47\pm 0.12$ ) and High Health×Molokai ( $0.39\pm 0.08$ ) than the offspring of Molokai×Molokai ( $0.19\pm 0.04$ ) and High Health× High Health ( $0.11\pm 0.03$ ), these values were reduced compared to the first generation. The lowest and highest inbreeding coefficients were related to the offspring of Molokai×High Health ( $0.268 \pm 0.18$ ) and Molokai× Molokai ( $0.853\pm 0.145$ ), respectively. According to the results, it can be said that the lack of knowledge about the genetic characteristics of broodstocks and mating between individual relationships (full and half sib) can reduce genetic characteristics and genetic depression due to increased inbreeding coefficients in next generations.

**KEYWORDS:** *Litopenaeus vannamei*, Genetic diversity, Inbreeding coefficients, Persian Gulf.

### ARTICLE TYPE

Original Research

### ARTICLE HISTORY

Received: 19 February 2021

Accepted: 15 May 2021

ePublished: 31 May 2021

\* Corresponding Author:

Email address: dr.pazir@gmail.com

Tel: +98

© Published by Tarbiat Modares University

eISSN:2476-6887 pISSN:2322-5513