

ساختار جمعیتی ماهی سنگسر معمولی (*Pomadasys kaakan* Cuvier, 1830) با استفاده از نشانگرهای مولکولی AFLP در خلیج فارس

محمدعلی سالاری علی آبادی^{۱*}، علی رضا راستگو^۲، مهدی محمدی^۳، بیتا ارچنگی^۱ و سید احمد قاسمی^۴

۱- استادیار گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر

۲- گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر

۳- استادیار، مرکز مطالعات و پژوهش‌های خلیج فارس، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر

۴- مربی مرکز مطالعات و پژوهش‌های خلیج فارس، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر

پذیرش: ۱۳۹۱/۰۹/۰۶

دریافت: ۱۳۹۱/۰۶/۲۱

*- نویسنده مسئول مقاله: Email: Salari@kmsu.ac.ir

چکیده

به منظور بررسی قرابت ژنتیکی دو جمعیت از ماهی سنگسر معمولی در خلیج فارس (مناطق آبادان و بندرعباس) از نشانگرهای مولکولی AFLP استفاده گردید. تعداد ۱۴ نمونه از آبادان (E ۵۶/۲۵" و ۵۱' ۴۸" N و ۲۲/۹۷' ۹۸' ۲۹°) و ۱۱ نمونه از بندرعباس (E ۱۹/۷۳" و ۲۷' ۵۶° و ۱۳/۵۶" N) جمع‌آوری شد. در مجموع ۴۱۰ باند قابل امتیازدهی با استفاده از شش ترکیب آغازگر EcoRI/MseI مشاهده شد که ۸۸ عدد از آنها چند شکل بودند (۲۱/۴۶ درصد). درصد باندهای چند شکل در ایستگاه آبادان ۸۸/۶۴ و در ایستگاه بندرعباس ۶۸/۱۸ درصد بود. مقدار هتروزیگوسیتی در ایستگاه آبادان (۰/۳۳۰) بیشتر از ایستگاه بندرعباس (۰/۲۲۲) محاسبه شد که علت آن را می‌توان به شرایط محیطی و اکولوژیک نسبت داد. ماتریکس فاصله ژنتیکی براساس ضریب Nei، فاصله ژنتیکی بین دو ایستگاه مورد مطالعه را ۰/۱۱۲ نشان داد. درخت فیلوژنی یک الگوی واضح از جدایی دو جمعیت را نشان داد که بیان‌کننده پراکنش محدود تخم و لارو سنگسر معمولی در مناطق آبادان و بندرعباس می‌باشد. همچنین الگوی پراکنشی این گونه با فاصله جغرافیایی کاملاً هماهنگی داشت که بیانگر این بود مخزن ژنی این گونه بین مناطق آبادان و بندرعباس یکنواخت نیست. در جمع‌بندی نهایی، با توجه به فاصله ژنتیکی و نمودار حاصل از آنالیز PCA بین دو ایستگاه، جمعیت‌ها از یکدیگر جدا بوده و می‌توان اظهار داشت که نمونه‌های ایستگاه آبادان و ایستگاه بندرعباس دو جمعیت جدا از هم هستند.

کلید واژگان: AFLP، انگشت‌نگاری ژنتیکی، سنگسر معمولی، *Pomadasys kaakan*، خلیج فارس.

مقدمه

نشانگر مولکولی AFLP^۱ یکی از تکنیک‌های توسعه یافته در انگشت‌نگاری ژنتیکی و روابط فیلوژنتیک است (Vos et al., 1995). این نشانگر مبتنی بر واکنش زنجیره‌ای پلیمرز بوده (PCR)^۲ و تلفیقی از روش‌های RFLP^۳ و RAPD^۴ می‌باشد که نواقص آنها را برطرف کرده است (Liu and Cordes, 2004). مزیت اصلی نشانگر AFLP این است که بدون هرگونه اطلاعات قبلی از ردیف بازی DNA، تعداد زیادی از باندهای چندشکل تنها در یک ژل پلی‌اکریل آمید، قابلیت امتیازدهی پیدا می‌کنند (Okumus and Ciftci, 2003). در مقایسه با مارکرهای مولکولی دیگر، AFLP دارای عملکرد بالایی در ارتباط با تکرارپذیری، قدرت تفکیک بالا و تعداد زیاد مارکرهای قابل آنالیز در واکنش PCR می‌باشد (Yarmohammadi et al., 2011).

ماهی سنگسر معمولی با نام علمی *Pomadasys kaakan* (Cuvier, 1830) یکی از گونه‌های تجاری در خلیج فارس می‌باشد (Valinassab et al., 2006) و پراکنش آن در اقیانوس هند از شرق آفریقا به سمت شمال تا سریلانکا و به سمت جنوب تا کوئینزلند در استرالیا گزارش شده است (Smith and Mckay, 1986). این گونه وابسته به بستر است که در آب‌های ساحلی گل‌آلود با بستر ماسه‌ای و گلی زیست می‌کند. همچنین ماهیان جوان در مناطق صخره‌ای و مصب‌ها یافت می‌شوند (AL- Abdessalaam, 1995). صید سالانه سنگسر معمولی در آب‌های استان بوشهر از ۱۱۵۴ تن در سال ۱۹۹۸ به ۷۴۸ تن در سال ۲۰۰۷ کاهش یافت

(Fakhri et al., 2011). همچنین کاهش ذخایر این گونه در آب‌های کویت از ۳۱۸ تن در سال ۱۹۸۲ به ۱۵۳ تن در سال ۱۹۹۹ گزارش شده است (Al-Husaini et al., 2002). مطالعات ژنتیکی بر روی گونه‌های مهم تجاری برای مدیریت پایدار شیلاتی و بازسازی ذخایر مورد نیاز می‌باشد (Han et al., 2009). نشانگر AFLP در بسیاری از آنالیزهای ژنتیکی از قبیل سیستماتیک مولکولی، شناسایی هیبریدها و نژادها، تنوع ژنتیکی گونه‌ها، آنالیز ساختار جمعیت و تهیه نقشه ژنومی در بسیاری از موجودات دریایی از قبیل ماهی (Faghhih ahmadani, 2011; Habibi, 2009; Yarmohammadi et al., 2011; Pouryosefi, 1385)، میگو (Wang et al., 2004)، صدف (Lallias et al., 2007) و خرچنگ (Xu et al., 2011) استفاده شده است. در ایران از نشانگرهای مولکولی AFLP در بسیاری از مطالعات تنوع ژنتیکی بر روی ماهیان تاسماهی ایرانی، تاسماهی ازون برون و سایر موجودات از قبیل لاین‌های ژاپنی کرم ابریشم ایران استفاده شده که بیانگر کارآمدی بالای این نشانگر است (Faghhih ahmadani, 2011; Habibi, 2009; Yarmohammadi et al., 2011; Pouryosefi, 2006). در خارج از کشور نشانگرهای مولکولی AFLP در مطالعات تنوع ژنتیکی بسیاری از گونه‌ها نظیر استورژن، سیم دریای سیاه، ماهی پرند و آزاد ماهی اطلس مورد بررسی قرار گرفته است (Congiu et al., 2002; Ludwig, 2008; Gwo et al., 2008).

از ضروریات انجام این مطالعه می‌توان به کاهش ذخایر این گونه و تأثیر آن بر روی تنوع ژنتیکی و عدم آگاهی از جمعیت‌های احتمالی اشاره کرد تا ضمن روشن شدن وضعیت ذخایر، از خطرها و تهدیدهای آتی و احتمال انقراض که برای این جانوران متصور است،

1. Amplified Fragment Length Polymorphism
2. Polymerase Chain Reaction
3. Restriction Fragment Length Polymorphism
4. Random Amplified Polymorphic DNA

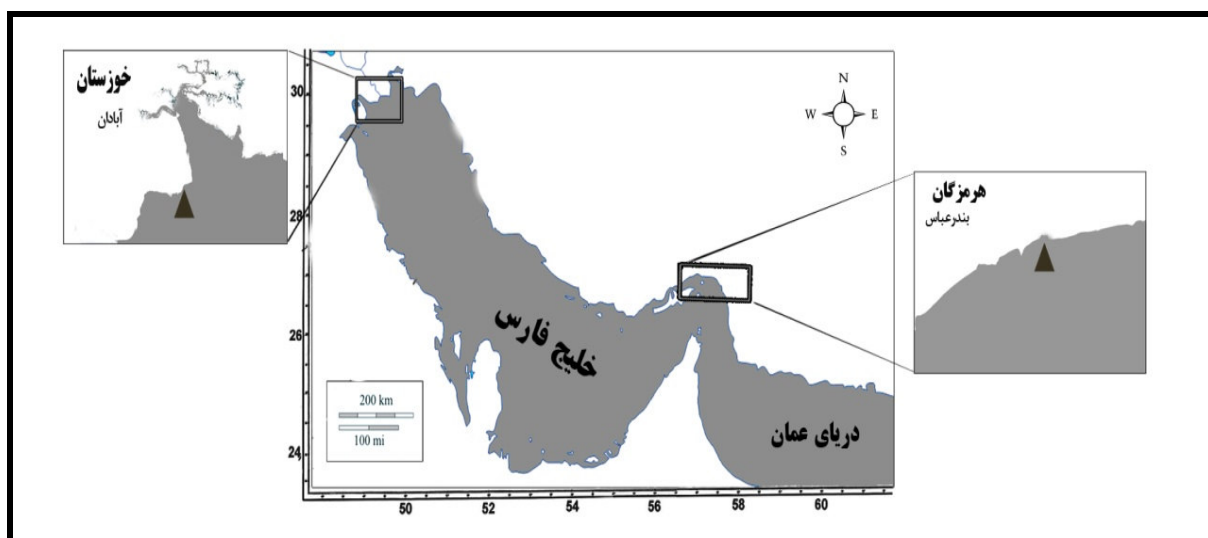
مطالعات و پژوهش‌های خلیج فارس واقع در بوشهر منتقل شد.

استخراج DNA با استفاده از روش CTAB (Jaferian et al., 2010)، به وسیله شکستن سلول‌ها، جدا کردن پروتئین‌ها و هیدرات‌های کربن از اسیدهای نوکلئیک و در نهایت رسوب دادن DNA با اتانول ۷۰ درصد صورت گرفت. برای تعیین کمیت و کیفیت DNA استخراج شده، از روش‌های اسپکتروفتومتری (WPA، مدل UV1101) و الکتروفورز روی ژل آگارز ۱ درصد (Cleaver، مدل Power supply EV200) استفاده گردید. واکنش AFLP براساس روش Vos و همکاران (۱۹۹۵) با اندکی تغییرات براساس روش بهینه‌شده در مرکز مطالعات و پژوهش‌های خلیج فارس انجام گردید.

پیشگیری کند و زمینه تکثیر و پرورش مصنوعی را به منظور بهره‌برداری اقتصادی از آن فراهم نماید. بنابراین مطالعه حاضر با هدف بررسی روابط فیلوژنتیکی و تنوع ژنتیکی سنگسر معمولی در خلیج فارس و تعیین قابلیت نشانگر مولکولی AFLP در شناسایی گونه‌ها انجام شد.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق، تعداد ۱۴ نمونه بالغ سنگسر معمولی از آبادان (E ۵۶° ۵۱' ۲۵" و N ۲۹° ۹۸' ۲۲/۹۷") در استان خوزستان و ۱۱ نمونه از بندرعباس (E ۱۹° ۷۳") و ۲۷ نمونه (N ۲۷° ۱۸' ۱۳/۵۶") در استان هرمزگان از محل تخلیه صید تجارتي صیدگاه‌های اداره کل شیلات جمع‌آوری شد (شکل ۱). مقدار ۳ تا ۵ گرم از باله دمی ماهی در الکل مطلق تثبیت و به آزمایشگاه مرکز



شکل ۱ موقعیت ایستگاه‌های نمونه‌برداری شده در سواحل شمالی خلیج فارس

تکثیر انتخابی با استفاده از ۶ جفت آغازگر که توالی آنها در جدول ۱ آمده است، انجام شد (Tang et al., 2004).

جدول ۱ آغازگرهای تکثیر انتخابی و توالی نوکلئوتیدی آنها (Tang et al., 2004)

آغازگرهای تکثیر انتخابی	توالی نوکلئوتید
E-AAG/M-CAC	GACTGCGTACCAATTCA AG
	GATGAGTCCTGAGTAAC AC
E-AGC/M-CAT	GACTGCGTACCAATTCA GC
	GATGAGTCCTGAGTAAC AT
E-AAG/M-CCG	GACTGCGTACCAATTCA AG
	GATGAGTCCTGAGTAAC CG
E-ACA/M-CAC	GACTGCGTACCAATTCA CA
	GATGAGTCCTGAGTAAC AC
E-ACT/M-CAT	GACTGCGTACCAATTCA CT
	GATGAGTCCTGAGTAAC AT
E-AGC/M-CCG	GACTGCGTACCAATTCA GC
	GATGAGTCCTGAGTAAC CG

محصولات حاصل از تکثیر انتخابی بر روی ژل پلی-اکریل آمید ۶ درصد در شرایط ۸۰ وات و دمای ۵۰ درجه الکتروفورز (دستگاه DNA sequencing gel، مدل Bio Rad) گردید. پس از الکتروفورز، رنگ آمیزی ژل به روش نیترا نقره انجام شد و از الگوی نواری به دست آمده عکس برداری شد. امتیازدهی باندها به صورت صفر و یک به ترتیب برای عدم وجود باند و وجود باند صورت گرفت. به منظور آنالیزهای آماری و نمودار PCA از نرم افزار Peakall GenAlex Version 6 (Yeh et al., PopGene and Smouse, 2005) (1999) استفاده شد. تجزیه و تحلیل خوشه‌ای که نشان دهنده قرابت افراد است، براساس روش Hierarchical Cluster در نرم افزار SPSS Version 16 انجام شد.

DNA ژنومی (۳۰۰ نانوگرم) با ۱۰ واحد از هر کدام از آنزیم‌های برشی EcoRI و MseI ساخته شده توسط شرکت Fermentas کشور فرانسه مورد هضم آنزیمی قرار گرفتند. به منظور هضم کامل ژنوم، محلول واکنش به مدت دو ساعت در دمای ۳۷ درجه و دو ساعت در دمای ۶۵ درجه قرار گرفت که به ترتیب بهترین دما برای عمل آنزیم‌های EcoRI و MseI می‌باشد. سپس دو نوع آداپتور آنزیم‌های برشی EcoRI و MseI در مدت ۱۲ ساعت در دمای ۲۲ درجه به انتهای قطعات برش خورده DNA ژنومی اتصال یافت. تکثیر قطعات طی دو مرحله تکثیر پیش انتخابی و انتخابی انجام گرفت. واکنش زنجیره‌ای پلیمرز با استفاده از دستگاه Corbett Research در مرحله تکثیر پیش انتخابی با ۲۵ چرخه شامل، ۹۴ درجه ۳۰ ثانیه، ۵۶ درجه ۶۰ ثانیه و ۷۲ درجه به مدت ۶۰ ثانیه با استفاده از آغازگرهایی با ترکیب E01=5'-GACTGCGTACCAATTCA-3' و M02=5'-GATGAGTCCTGAGTAAC-3' که با آداپتورها مکمل بوده و یک نوکلئوتید اضافی در انتهای ۳' (MseI+C و EcoRI+A) خود دارند، انجام گرفت. در مرحله دوم تکثیر، محصولات حاصل از تکثیر پیش انتخابی به نسبت ۵:۱ رقیق شده و در واکنش تکثیر انتخابی با سه نوکلئوتید انتخابی استفاده گردید. چرخه‌های حرارتی شامل ۳ دقیقه در دمای ۹۴°C برای واسرشته کردن اولیه و پس از آن ۳۰ چرخه با دمای ۹۴ درجه ۳۰ ثانیه، ۶۵ درجه ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه به مدت ۲ دقیقه که در ۱۲ چرخه اولیه دمای اتصال آغازگر به میزان ۱°C کاهش یافت و چرخه‌های باقیمانده در دمای ۵۴°C ثابت شد و در نهایت به مدت ۳۰ ثانیه در دمای ۷۲ درجه قرار گرفت. مراحل

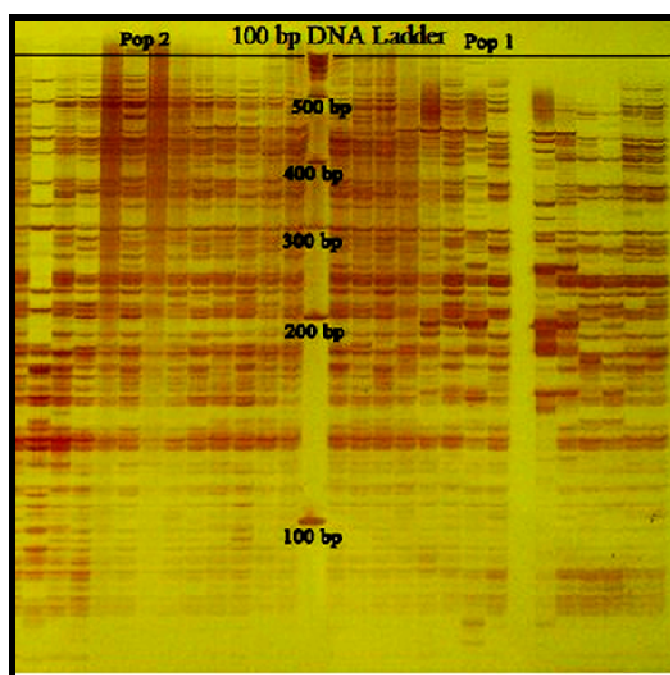
نتایج

بندرعباس ۶۸/۱۸ درصد بود. مقدار هتروزیگوسیتی در ایستگاه آبادان ۰/۳۳۰ و در ایستگاه بندرعباس ۰/۲۲۲ محاسبه شد. ماتریکس فاصله ژنتیکی براساس ضریب نی (Nei, 1987)، فاصله ژنتیکی بین دو ایستگاه مورد مطالعه را ۰/۱۱۲ نشان داد که با توجه به این مقدار فاصله ژنتیکی می توان جمعیت ها را از یکدیگر تفکیک کرد.

نمودار PCA نمونه های ایستگاه آبادان و ایستگاه بندرعباس را در گروه های کاملاً مجزا قرار داد. عدم همپوشانی ایستگاه ها نشان دهنده فاصله ژنتیکی بین آنهاست (شکل ۳). درخت فیلوژنی براساس روش Hierarchical Cluster. نمونه های ماهی سنگسر معمولی جمع آوری شده از ایستگاه آبادان و بندرعباس را کاملاً از هم تفکیک کرد (شکل ۴).

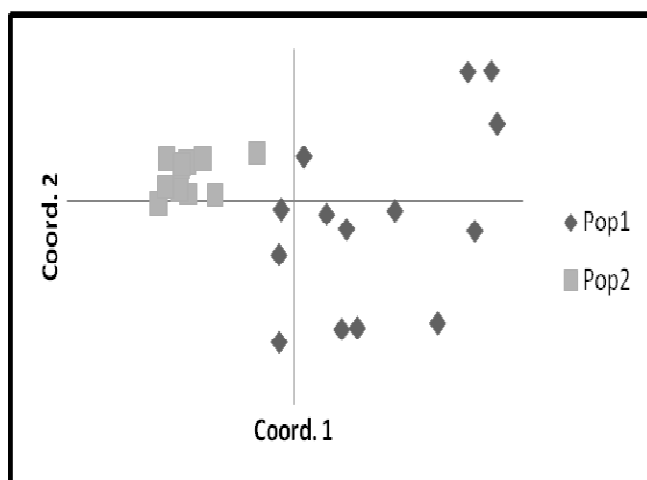
شش ترکیب آغازگر به کار رفته در این تحقیق در مجموع ۴۱۰ باند قابل امتیازدهی تولید کردند که ۸۸ باند آن چند شکل بودند. تعداد نوارهای تولید شده به وسیله هر جفت آغازگرهای مورد استفاده از ۴۹ تا ۹۰ و تعداد نوارهای چند شکل از ۶ تا ۱۹ عدد متغیر بود. میانگین تعداد باندهای امتیازدهی شده در هر جفت پرایمر ۶۸/۳۳ و درصد باندهای چند شکل ۲۱/۴۶ محاسبه شد.

ترکیب آغازگرهای E-AAG/M- و E-AGC/M-CCG به ترتیب بیشترین درصد پلی مورفیسم (۳۲/۲) و کمترین (۱۲/۲۴) را در جمعیت های مورد مطالعه نشان دادند (شکل ۲). در مجموع با توجه به میزان باند تولید شده، درصد باندهای چند شکل در ایستگاه آبادان ۸۸/۶۴ و در ایستگاه

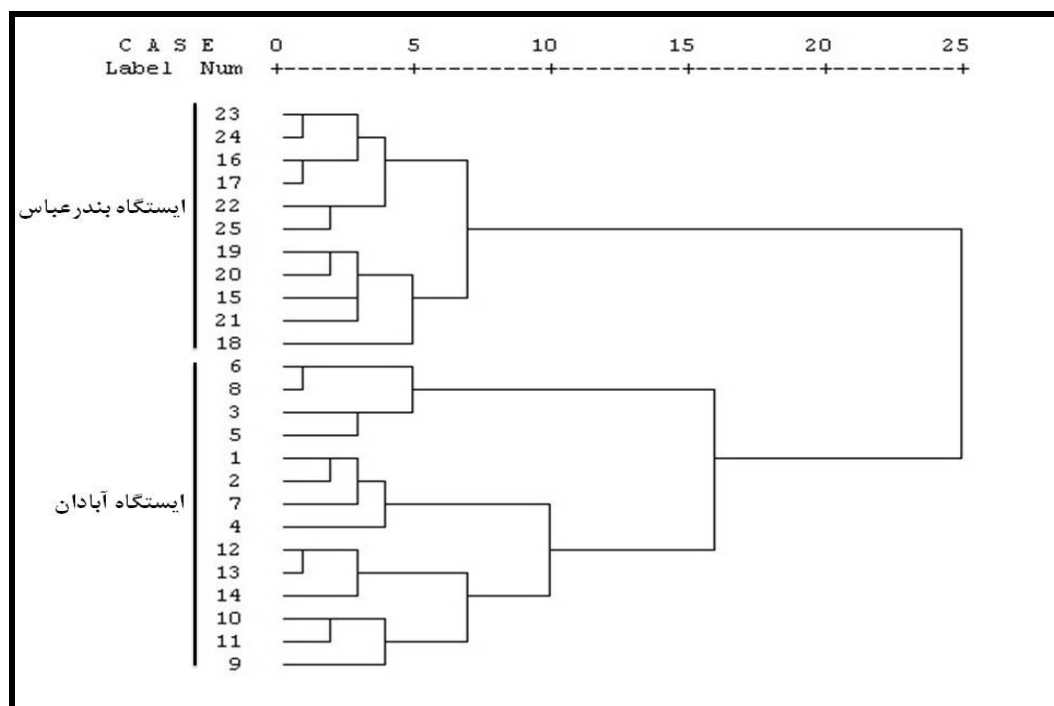


شکل ۲ ژل الکتروفورز تولید شده توسط ترکیب آغازگرهای E-AGC/M-CCG

(Pop1 بیانگر ایستگاه آبادان و Pop2 بیانگر ایستگاه بندرعباس است) مارکر مورد استفاده (100 bp DNA Ladder) در محدوده ۱۰۰ تا ۱۰۰۰ کیلوباز بوده است



شکل ۳ نمودار حاصل از آنالیز PCA برای ایستگاه‌های نمونه‌برداری (ایستگاه آبادان Pop1 و ایستگاه بندرعباس Pop2)



شکل ۴ نمودار خوشه‌ای برای تمام نمونه‌های مناطق آبادان و بندرعباس حاصل از ۱۰۰۰ بار نمونه‌برداری خود راه‌انداز مقیاس بالای درخت نشان‌دهنده فواصل ژنتیکی است

بحث

داراست، اما به علت پلی‌مورفیسم بالایی که تشخیص می‌دهد، بخصوص در مواقعی که روابط نزدیکی وجود دارد، از کارآمدترین نشانگرها می‌باشد. (Bonin et al.,

تکنیک مولکولی AFLP نشانگری است که تمام ویژگی‌های یک نشانگر مولکولی مناسب، غیر از همباز بودن را

که جمعیت‌های بزرگتر تمایل دارند تنوع ژنتیکی را در سطح بالاتری نگه دارند (Zhao et al., 2007) بنابراین، این احتمال نیز وجود دارد که جمعیت‌های بزرگتری از سنگسر معمولی در منطقه آبادان وجود داشته باشد.

ماهیان دریایی معمولاً سطح پایینی از اختلاف ژنتیکی به دلیل پتانسیل پراکنش تخم، لارو پلانکتونی یا مرحله بلوغ به همراه عدم وجود سدهای فیزیکی برای پراکنش بین مناطق همجوار را نشان می‌دهند (Hewitt, 2000; Yu et al., 2010). گونه سنگسر معمولی علاوه بر توانایی بالای شنای بالغان، با دارا بودن تخم و لاروهای پلاژیک می‌تواند این الگوی پراکنشی را تأیید کند. اما برخلاف این فرضیه، نتایج این پژوهش نشان داد که ذخایر ژنی سنگسر معمولی در خلیج فارس به صورت یکنواخت نبوده و پراکنش لاروها در مقیاس جغرافیایی کوچک وجود دارد که احتمالاً دلیل این امر برگشت ماهیان بالغ و تخم‌ریزی در نواحی والدینی است. از طرفی درخت فیلوژنی یک الگوی واضح را نشان داد که با فاصله جغرافیایی کاملاً هماهنگی دارد. جدایی ژنتیکی به دلیل فاصله جغرافیایی درون یک جمعیت پیوسته زمانی اتفاق می‌افتد که پراکنش تخم‌ها یا لاروها محدود شود (Yu et al., 2010). بنابراین، تخم‌ها و لاروهای این گونه احتمالاً به دلیل الگوی رفتاری گونه و مکانیسم‌های فیزیکی اقیانوس‌شناسی در مناطق تخم‌ریزی باقی می‌مانند. باقی‌ماندن تخم و لاروها در مناطق تخم‌ریزی به عنوان یک دلیل برای جدایی ژنتیکی در گونه *Gadus morhua* گزارش شده است (Pogson et al., 2001). دو ایستگاه بندرعباس و آبادان بیش از نهمصد کیلومتر با یکدیگر فاصله دارند و تماس دو جمعیت از طریق پدیده مهاجرت بعید به نظر می‌رسد که تجزیه و تحلیل نتایج حاضر نیز بیانگر وجود جریان ژنی کم بین ماهیان این دو منطقه است.

(2005). در مقایسه با RFLP که فقط جایگاه برش جهت تفاوت در توالی DNA استفاده می‌شود، نوکلئوتید انتخابی در AFLP امکان شناسایی پلی‌مورفیسم پس از جایگاه برش را نیز فراهم می‌کند. همچنین این روش ظرفیت شناسایی جهش‌های نقطه‌ای بیشتری را نسبت به RFLP داراست (Vos et al., 1995). همچنین تکنیک AFLP در شرایط اتصال شدیدتر که قابلیت تکثیر بهتر را تضمین می‌کند، انجام می‌شود (Folkertsma et al., 1996). از آنجا که داده‌های مولکولی از ضریب اطمینان بیشتری نسبت به داده‌های ریخت‌شناسی برای تفکیک جمعیت‌ها و شناسایی ذخایر ژنتیکی برخوردارند و از طرفی چون تفاوت‌های مورفولوژی و فیزیولوژی از ذخایر ژنومی هر موجود ناشی می‌شود، به همین دلیل بررسی تنوع ژنتیکی و روابط فیلوژنتیکی در بین جمعیت‌ها و نیز بین افراد داخل جمعیت به دلیل تغییرات شرایط محیطی ضروری است (Sivasundar & Biemann, 2005).

Freeland در سال ۲۰۰۵ بیان داشت که در مطالعات اکولوژی مولکولی در گونه‌های مختلف پراکنش آبیان وابسته به جنس است ولی در این مطالعه عامل جنسیت ماهی سنگسر معمولی (*P. kaakan*) مد نظر قرار نگرفته است؛ دلیل این امر ناشی از آن است که اولاً در این ماهی جنسیت تأثیری در مهاجرت و پراکنش ندارد و ثانیاً در مطالعات مربوط به اکولوژی مولکولی نمونه‌برداری باید کاملاً تصادفی باشد در غیر این صورت نتایج دچار اشکال اساسی خواهد شد (Salari-Aliabadi et al., 2009).

در این پژوهش، نمونه‌های ایستگاه آبادان دارای تنوع ژنتیکی بیشتری نسبت به ایستگاه بندرعباس بود که این امر می‌تواند بیانگر بروز تفاوت‌های ژنتیکی به علت متفاوت بودن خصوصیات اکولوژیک این منطقه از قبیل وجود خورهای متعدد باشد. از طرفی تئوری ژنتیک جمعیت پیش‌بینی می‌کند

تشکر و قدردانی

این پژوهش با همکاری دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر و مرکز مطالعات و پژوهش‌های خلیج فارس دانشگاه خلیج فارس بوشهر انجام شده است. از تمام افرادی که در اجرا و تکمیل این تحقیق ما را یاری نمودند، تشکر و قدردانی می‌نمایم.

منابع

- Ahmdany Faqih, A. 2011. Study of genetic diversity of *Liza klunzingeri* by using amplified fragment length difference markers (AFLP) in Hendijan (Khuzestan province) and Ziyarat creek (Bouchehr province), Master's thesis of Marine Biology, Islamic Azad University of Ahvaz; 113 p.
- Al-Abdessalam, T. Z. S. 1995. Marine species of the Sultanate of Oman, Ministry of Agriculture and Fisheries, Sultanate of Oman, 46 (95): 156-169.
- Al-Husaini, M., Al-Baz, A., Al-Ayoub, S., Safar, S., Al-Wazan, Z., Al-Jazzaf, S. 2002. Age, growth, mortality, and yield-per-recruit for nagroor, *Pomadasys kakaan*, in Kuwait's waters, *Fisheries research*, 59: 101-115.
- Bonin, A., Pompanon, F., Taberlet, P. 2005. Use of Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) Markers in surveys of Vertebrate Diversity, *Methods in Enzymology*, 395: 145-161.
- Congiu, L., Fontana, F., Patarnello, T., Rossi, R., Zane, L. 2002. The use of AFLP in sturgeon identification, *Journal of Applied Ichthyology*, 18: 286-289.
- Fakhri, A., Hajeb, P., Shadi, A., Kamalifar, R., Mirza, R. 2011. Growth Parameters and Mortality Rates of Javelin Grunter, *Pomadasys kaakan*, in the Persian Gulf World, *Journal of Fish and Marine Sciences*, 3 (4): 346-350.
- Folkertsma, R. T., Rouppe Van Der Voort, J., De Groot, K. E., Van Zandvoort, P. M., Schots, A., Gommers, F. J., Bakker, J. 1996.

بسیاری از موجودات دریایی لاروهای پلاژیک دارند که می‌توانند به وسیله جریان‌های دریایی در مقیاس وسیع پراکنش یابند (Han et al., 2009). چرخش عمومی آب در خلیج فارس تحت تأثیر جریان ناشی از تراکم^۱ می‌باشد به طوری که آب‌های دریای عمان پس از ورود به خلیج فارس تنها تا سواحل بوشهر پیشروی می‌کنند، سپس مسیر خود را به سوی سواحل جنوبی خلیج فارس طی می‌کنند و هیچگاه به سواحل خوزستان یا آبادان نمی‌رسند. این عامل در مهاجرت و پراکنش ماهیان بالغ و لاروهای ماهی سنگسر معمولی می‌تواند مؤثر باشد به طوری که به عنوان یک سد فیزیکی باعث جدایی جمعیت سنگسر معمولی آبادان از بندرعباس شده است (Kampf & Sadrinassab, 2006).

با توجه به فاصله ژنتیکی بین دو ایستگاه مورد مطالعه (۰/۱۱۲) براساس ضریب نی (Nei, 1987) و نمودار حاصل از آنالیز PCA می‌توان جمعیت‌ها را از یکدیگر تفکیک کرد و بیان داشت که نمونه‌های ایستگاه آبادان و ایستگاه بندرعباس دو جمعیت جدا از هم دارند. ارقامی که بیانگر مرز جمعیت، گونه و زیرگونه است اعداد مشخصی نیستند و در منابع مختلف متفاوت است و معمولاً فاصله کمتر از ۰/۲۵ جمعیت، بین ۰/۲۵ تا ۰/۷۵ زیرگونه و بیش از ۰/۷۵ به عنوان گونه جدید مطرح می‌شوند (Norouzi, 1386).

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که آنالیز ژنتیکی براساس تکنیک مولکولی AFLP یک روش مناسب برای بررسی روابط فیلوژنتیک در سطح گونه می‌باشد و از آنجا که این تکنیک مولکولی به اطلاعات قبلی از تاکسونومی موجود نیاز ندارد، می‌تواند در مطالعه فیلوژنتیکی بسیاری از موجودات مورد استفاده قرار گیرد.

1. Density Driven current

18. Nei M. 1987. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals, *Genetics*, 89: 583-590.
19. Norouzi, M. 2007. Study of population's structure of *Acipenser stellatus* in the Caspian Sea using microsatellite molecular methods, PhD thesis of Marine Biology, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, 169 p.
20. Okumus, I. and Çiftci, Y. 2003. Fish population genetics and molecular markers: II. Molecular markers and their applications in fisheries and aquaculture; *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*; 3: 51-79.
21. Peakall, M. and Smouse, A. 2005. Gene Alex 6: Genetic Analysis in Excel; Population genetic software for teaching and research. The Australian national university, Canberra, Australia.
22. Pogson, G. H., Taggart, C. T., Mesa, K. A., Boutilier, R. G. 2001. Isolation by distance in the Atlantic cod, *Gadus morhua*, at large and small geographic scales, *Evolution*, 55: 131-146.
23. Poursayfi, R. 2006. Sex determination in sturgeon *Acipenser stellatus* by using AFLP, Master's thesis. Ferdowsi University of Mashhad, 70 p.
24. Salari Aliabadi, M. A., Rezvani Gilkolaei, S., Savari, A., Zolgharnian, H., Nabavi S. M. B. 2009. Population genetic structure of cobia (*Rachycentron canadum*) revealed by microsatellite DNA markers; *Journal of Applied Biological Sciences*; 3 (1): 96-100.
25. Sivasundar, A. and Biemann, C. H. 2005. Genetic evidence of postglacial population expansion in Puget sound rockfish (*Sebastes emphaeus*), *Marine Biotechnology*, 7: 223-230.
26. Smith, M. M. and McKay, R. J. 1986. Haemulidae. In M. M. Smith and P. C. Heemstra (eds.) *Smiths' sea fishes*, Springer-Verlag, Berlin, 564-571.
27. Tang, T., Huang, J., Zhong, Y., Shi, S. 2004. High-throughput S-SAP by fluorescent multiplex PCR and capillary electrophoresis in plants, *Journal of Biotechnology*, 114: 59-68.
- Gene pool similarities of potato cyst nematode populations assessed by AFLP analysis, *M PMI-Molecular Plant Microbe Interactions*, 9: 47-54.
8. Freeland, J. R. 2005. *Molecular Ecology*. 1st ed., John Wiley and Sons, Ltd. The Atrium, Southern Gate, ISBN 978-0-470-09062-6, Chichester, West Sussex, England, 400 p.
9. Gwo, J. C., Hsu, T. H., Lin, K. H., Chou, Y. C. 2008. Genetic relationship among four subspecies of cherry salmon (*Oncorhynchus masou*) inferred using AFLP, *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 48: 776-781.
10. Habibi, A. 2009. Separately feasibility of spring and autumn migratory sea trout (*Salmo trutta caspica*) by using AFLP markers; Master's Thesis, Tarbiat Modares University, 69 p.
11. Han, Z. Q., Lin, L. S., Shui, B. N., Gao, T. X. 2009. Genetic diversity of small yellow croaker *Larimichthys polyactis* revealed by AFLP markers, *African Journal of Agricultural Research*, 4 (7): 605-610.
12. Hewitt, G. M. 2000. The genetic legacy of the Quaternary ice ages, *Nature*, 405: 907-913.
13. Jaferian, A., Zolgharnian, H., Mohammadi M., Salari-Aliabadi, M. A., Hossini, S. J. 2010. Morphometric study of *Eleutheronema tetradactylum* in Persian Gulf based on the truss network, *World Journal of Fish and Marine Sciences*, 2 (5): 401-403.
14. Kampf, J. and Sadrinasab, M. 2006. The circulation of the Persian Gulf: a numerical study, *Ocean Science*, 2: 27-41.
15. Lallias, D., Lapègue, S., Hecquet, C., Boudry, P., Beaumont, A. R. 2007. AFLP-based genetic linkage maps of the blue mussel (*Mytilus edulis*), *Animal Genetics*, 38: 340-349.
16. Liu, Z. J. and Cordes, J. F. 2004. DNA marker technologies and their applications in aquaculture genetics, *Aquaculture*, 238: 1-37.
17. Ludwig, A. 2008. Identification of *Acipenseriformes* species in trade, *Journal of Applied Ichthyology*, 24 (S1): 2-19.

- Ghasemi, A., Hassanzadeh, Saber M., Nowrouz Fashkhami, M. R., Baradaran Noveiri, Sh. 2011. Investigation of sex markers in persian sturgeon (*Acipenser persicus*) with using of AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) markers, *Iranian Journal of Biology*, 24 (6): 943-935.
33. Yeh, F. C., Yang, R. C., Boyle, T. 1999. POPGENE, Version 1.31: Microsoft Window-Based Free Ware for Population Genetic Analysis. University of Alberta, Edmonton, Canada.
34. Yu, C. G., Han, Z. Q., Ji Zheng, J., Li Jian Xue, L. J., Gao, T. X. 2010. Genetic population structure of *Ovalipes punctatus* revealed by AFLP markers, *Scientific Research and Essays*, 5 (13): 1649-1654.
35. Zhao, Y., Li, Q., Kong, L., Bao, Z., Wang, R. 2007. Genetic diversity and divergence among clam *Cyclina sinensis* populations assessed using amplified fragment length polymorphism, *Fisheries Science*, 73: 1338-1343.
28. Valinassab, T., Daryanabard, R., Dehghani, R., Pierce, G. J. 2006. Abundance of demersal fish resources in the Persian Gulf and Oman Sea, *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 86: 1455-1462.
29. Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., Lee, V., Hornes, T., Frijters, M., Pot, J., Peleman, J., Kuiper, M., Zabeau, M. 1995. AFLP: A New Technique for DNA Fingerprinting. *Nucleic Acid Research*, 23: 4407-4414.
30. Wang, Z. Y., Tsoi, K. H., Chu, K. H. 2004. Applications of AFLP technology in genetic and phylogenetic analysis of penaeid shrimp, *Biochemical Systematics and Ecology*, 32: 99-407.
31. Xu, Q., Chen, F., Shin, P. K. S., Cheung, S. G., Chen, Y., Ke, C. 2011. AFLP analysis of genetic variation among three natural population of horseshoe crab *Tachypleus tridentatus* along Chinese coast, *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 29 (2): 284-289.
32. Yarmohammadi, M., Pourkazemi, M.,

Study of population structure of the Javelin Grunter, *Pomadasys kaakan* (Cuvier, 1830) using AFLP molecular markers in the Persian Gulf

Mohammad Ali Salari Ali Abadi ^{1*}, Ali Reza Rastgoo ², Mehdi Mohammadi ³, Bita Archangi ¹, Seyed Ahmad Qasemi ⁴

- 1- Assistant Prof, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Faculty of Marine Science, Department of Marine Biology, Khorramshahr, Iran
- 2- M.Sc. of Marine Biology, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Faculty of Marine Science, Department of Marine Biology, Khorramshahr, Iran
- 3- Assistant Prof, Persian Gulf University, Persian Gulf Research and Study Center, Department of Biotechnology, Bushehr, Iran
- 4- M. Sc. of Marine Biology, Persian Gulf University, Persian Gulf Research and Study Center, Department of Biotechnology, Bushehr, Iran

*Corresponding author: Salari@kmsu.ac.ir

Abstract: Twenty five individuals of Javelin grunter, *Pomadasys kaakan*, collected from Abadan (29° N and 48° E) and Bandar Abbas (27° N and 56° E) stations along the Persian Gulf, was analyzed for relationship between two populations of this species, using Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP). A total of 410 putative loci were detected by six primer combinations, 88 of which were polymorphic (21.46%). The proportion of polymorphic loci in the Abadan and Bandar Abbas stations was calculated 88.64 and 68.18%, respectively. Average of heterozygosity in the Abadan (0.330) was higher than Bandar Abbas (0.222), which may be correlated with the environmental and ecological conditions of these stations. *Nei's* genetic distance for the two populations was estimated 0.112. The phylogenetic tree revealed a clear distinction line between the two populations, supporting that dispersal of eggs and larvae in the Persian Gulf is spatially restricted. Pattern of isolation by distance was observed in this species, indicating that the gene pool of *P. kaakan* in the Persian Gulf was not homogeneous. The results also showed that AFLP is a potent technique for genetic fingerprinting and species identification.

Keywords: AFLP, Genetic fingerprinting, Javelin grunter, *Pomadasys kaakan*, Persian Gulf