CORE
Metadata, citation and similar papers at core.ac.uk
Provided by Aquatic Commons
magiran.com

مطالعه ساختار ژنتیک جمعیت ماهی صبور (*Tenualosa ilisha*) در آبهای خوزستان با استفاده از روش مولکولی RAPD

الهام جرفی[۱]*؛ فرهاد امینی[۲]؛ سیدعلی قرشی[۳] و سید رضا سیدمرتضایی[۴]

ejorfi@gmail.com

۱ و ۴- مرکز تحقیقات آبزی‌پروری جنوب کشور، اهواز صندوق پستی: ۸۶۶-۶۱۶۴۵

۲- گروه بهداشت و تغذیه دام وطیور، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، صندوق پستی: ۶۴۳۵-۱۴۱۵۵

۳- گروه میکروبیولوژی، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست‌فناوری، تهران

تاریخ دریافت: شهریور ۱۳۸۶ تاریخ پذیرش: بهمن ۱۳۸۶

چکیده

هدف از این تحقیق، مطالعه ساختار جمعیت ماهی صبور (*Tenualosa ilisha*) در آبهای استان خوزستان با استفاده از روش مولکولی RAPD بود. برای این منظور، ۹ آغازگر RAPD بر روی ۴۸ نمونه ماهی صبور بدست آمده از هر یک از رودخانه‌های کارون، بهمنشیر و اروندرود و سواحل خلیج فارس آزمایش شد که حاصل آن ۵۸ نوار پلی‌مورفیک خوانا بود. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزارهای تخصصی RAPDPLOT، RAPDDIST وPOPGENE و برای بررسی آماری از تجزیه و تحلیل Canonical Discriminant استفاده شد. بیشترین فاصله ژنتیکی بین ماهیان صبور صید شده از اروندرود و سواحل خلیج فارس به میزان ۰/۱۹۸۷ و کمترین فاصله به مقدار ۰/۰۸۴۲ بین ماهیان صید شده از اروندرود و بهمنشیر مشاهده شد. قرار گرفتن نمونه ماهیان مربوط به رود کارون و سواحل خلیج فارس در یک سو و نمونه‌های اروندرود و بهمنشیر در سوی دیگر در درخت فایلوژنتیک (تبارشناختی) UPGMA مربوط به فاصله ژنتیکی جمعیتها بیانگر این فرضیه است که دو جمعیت ایرانی و عراقی از ماهی صبور وجود دارد که برای تخمریزی رودخانه‌های اختصاصی خود را انتخاب می‌نمایند. بر این اساس احتمالاً مقصد نهایی نمونه‌های برداشت شده از سواحل خلیج فارس، رودخانه کارون بوده است و دو گروه مجزای دیگر احتمالاً می‌توانند مربوط به رودهای دجله و فرات در عراق باشند. همچنین، مجزا بودن گروه‌های ماهیان صبور تحت بررسی و وجود همبستگی بالا بین داده‌های هر منطقه جغرافیایی (P<0.01) در تجزیه و تحلیل آماری Canonical Discriminant احتمال زندگی گله‌ای جمعیتهای این ماهی را مطرح می‌نماید. براساس دو فرضیه بالا و با در نظرگرفتن موقعیت ماهیان مناطق مختلف بر روی درخت تبارشناختی بدست آمده احتمالاً رودخانه بهمنشیر گذرگاهی اختصاصی برای کارون و مشترک با شط‌العرب می‌باشد در حالیکه اروندرود گذرگاه اختصاصی شط‌العرب است. تایید فرضیه‌های فوق نیازمند بررسی بیشتر می‌باشد.

کلمات کلیدی: ماهی صبور، *Tenualosa ilisha*، RAPD-PCR، کارون، اروندرود، بهمنشیر، خوزستان، خلیج‌فارس

* نویسندهٔ مسئول

magiran.com

مقدمه

ماهی صبور (*Tenualosa ilisha*) از خانواده شگ ماهیان (Clupeidae) می‌باشد که محدودهٔ پراکنش آن از شمال خلیج فارس تا پاکستان، هند، برمه و خاور دور از جمله چین و جنوب ویتنام است (غفله مرمضی و همکاران، ۱۳۷۷الف). این ماهی، گونه‌ای کوچگر رودخانه‌ای است که تغذیه و رشد آنها بصورت عمده در دریا انجام می‌گیرد اما برای تخمریزی به رودخانه‌ها مهاجرت می‌نماید (Haroon, 1998). به‌نظر می‌رسد علت اصلی مهاجرت این گونه به بالادست رودخانه‌ها در طول فصل تولید مثل، پر آبی رودخانه‌ها طی بارشهای بهاره باشد. تفاوتهای موجود در وضعیت رودخانه‌ها در فصل تولید مثل می‌تواند تغییراتی را در حضور این ماهی در مکانهای مختلف ایجاد نماید (Brahmane *et al.*, 2006). طبق گزارش Al-Hassan در سال ۱۹۹۹ماهی صبور معمولاً در روزهای اول اسفند ماه از رودخانه شط‌العرب تا ۲۰۰-۱۵۰ کیلومتری شمال شهر عماره بالا می‌رود تا به رودخانه دجله برسد. این ماهی در تالاب الحمار در شمال شهر بصره (عراق) به تکثیر و تولید مثل می‌پردازد Jawad *et al.*, 2004). تخمریزی ماهی صبور در چند مرحله صورت گرفته و دارای فصل تخمریزی طولانی است که ممکن است از ماه اردیبهشت (می) تا مرداد (آگوست) طول بکشد (Hussain *et al.*, 1991). طبق مطالعات غفله مرمضی در سال ۱۳۷۴ آغاز ورود این ماهی به رودخانه‌های بهمنشیر و اروند در اردیبهشت ماه آغاز و تا شهریور ماه بصورت تدریجی در طول مسیر مهاجرت آن تا سرشاخه‌های کارون ادامه می‌یابد.

اهمیت ماهی صبور چه از نظر مصرف داخلی و چه از لحاظ جنبه صادراتی آن بویژه به کشورهای حاشیه خلیج فارس کاملاً شناخته‌شده است بنحوی که در برخی از کارخانه‌های فرآوری شیلاتی استان خوزستان علاوه بر فعالیتهای معمول، بسته‌بندی و آماده‌سازی ماهی صبور بمنظور صادر به خارج از کشور صورت می‌گیرد (اطلاعات دریافت شده از شیلات آبادان). در سال ۱۳۸۵ حدود ۴۰ تن از این ماهی صادر شده است (اطلاعات دریافت شده از دامپزشکی استان خوزستان). با این حال در سالهای اخیر، صید این گونه در استان خوزستان دچار کاهش گردیده است و این وضعیت در سایر مناطق پراکنش این ماهی در دنیا نیز گزارش شده است (Rahman, 1997). گزارشهای فراوانی مبنی بر کاهش صید ماهی صبور در شط‌العرب عراق وجود دارد (Coad, 1997 و اطلاعات گرفته شده از متخصصین شیلاتی عراق). همچنین مشخص گردید ضریب بهره‌برداری از این گونه در مناطق صید خوزستان بیشتر از حد بهینه بهره‌برداری (۰/۵) می‌باشد که بیانگر اعمال فشار بالای صید بر روی جمعیت این گونه و بهره برداری بیش از حد آن است (رومیانی، ۱۳۸۵).

در رابطه با ماهی صبور در محدودهٔ خلیج فارس مطالعات متعددی صورت گرفته است که عمدهٔ آنها مبتنی بر مطالعات زیست‌شناسی شامل بررسی رژیم غذایی، توزیع فراوانی طولی و رابطه طول و وزن (Al-Nasiri & Al-Mukhtar, 1988)، زیست‌شناسی صید و وضعیت ذخایر این ماهی در آبهای مشترک عراق و کویت می‌باشد (Al-Baz & Grove, 1995). در ایران برخی از ویژگیهایی زیستی این ماهی از جمله تعیین فصل تخمریزی و الگوی پراکنش آن در رودخانه‌های خوزستان، خصوصیات مورفومتریک- مریستیک در بهمنشیر، همآوری در آبهای داخلی استان خوزستان، مقایسه ویژگیهای مورفومتریک مریستیک و توزیع فراوانی طولی ماهی صبور در گذرگاههای مهاجرت آن در استان خوزستان، مطالعه شده‌است (Ghafleh Marammazi *et al.*, 2004؛ غفله مرمضی، ۱۳۷۴؛ غفله مرمضی، ۱۳۷۷الف، غفله مرمضی، ۱۳۷۷ب). بررسی‌های Ghafleh Marammazi و همکاران در سال ۲۰۰۴ در ایران و Al-Hassan در سال ۱۹۹۹ در عراق گویای آن است که مهاجرت تولید مثلی ماهی صبور را می‌توان به دو دوره زمانی شامل فروردین تا خرداد و تیر تا مهر ماه در ایران و اسفند تا اردیبهشت ماه و تیر تا مهر ماه در عراق تقسیم نمود. همچنین مرمضی و همکاران (۱۳۷۷ب) حضور زود هنگام ماهی صبور در اروندرود و حضور طولانی‌تر آن در بهمنشیر را بعنوان مساله‌ای قابل بررسی بیان نموده‌اند. در بررسی‌های فوق، ضرورت مطالعه دقیق‌تر جمعیت‌های ماهی صبور با روشهای ژنتیک مولکولی مطرح شده است. تحقیقاتی که در سایر نقاط پراکنش ماهی صبور در جهان صورت‌گرفته است اکثراً بیانگر وجود بیش از یک ذخیره از این گونه است (Dahle *et al.*, 1997; Rahman & Salini *et al.*, 2003; Shifat *et al.*, 2004; Naevdal, 1998,2000; Brahmane *et al.*, 2006).

ابداع روش تکثیر DNA با استفاده از تکنیک PCR (واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز) امکان بررسی تغییرات ژنتیکی در جمعیتهای ماهیان را فراهم نموده‌است. روش مولکولی Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) شامل تکثیر قطعات DNA ژنومی بطور تصادفی با استفاده از یک آغازگر انفرادی کوتاه با چینش دلخواه و با کمک PCR می‌باشد. یکی از دلایل مهم

magiran.com

موفقیت آنالیز RAPD، بدست آوردن تعداد زیادی نشانگر ژنتیکی با استفاده از مقادیر کمی از DNA بدون نیاز به کلونینگ، چینش‌یابی یا سایر شاخصهای مولکولی ژنومی در رابطه با گونه مد نظر می‌باشد (Bardakci, 2001). آغازگرهای الیگونوکلئوتید تصادفی، RAPDهایی را تولید می‌کنند که بعنوان نشانگرهای مولکولی به شکل وسیعی استفاده شده‌اند. RAPDها این مزیت را دارند که برای کاربرد موفقیت‌آمیز آنها هیچگونه شناخت قبلی از ژنوم لازم نیست (Cushwa, 1996). همچنین در مقایسه با سایر روشهای مولکولی هزینه تمام شده آن کمتر است. در بعضی موارد استفاده از روش RAPD در مقایسه با روشهای دیگری همچون تجزیه و تحلیل mtDNA موثرتر بوده است، در حالیکه تجزیه و تحلیل mtDNA برای مشخص نمودن اختلاف درون جمعیتی ماهی تیلاپیا موفق نبوده است، روش RAPD حساسیت بیشتری را از خود نشان داده است (Shifat *et al.*, 2003). با این حال بعضی معایب این روش همچون ویژگی غالبیت در پلی‌مورفیسمهای RAPD، حساسیت بالای آن نسبت به تکثیر PCR، پایین‌بودن تکرارپذیری و احتمالاً دشواری مقایسه نتایج بدست‌آمده در آزمایشگاههای مختلف، کاربرد آن را با محدودیت روبرو ساخته است.

روش تجزیه و تحلیل Canonical Discriminant براساس داده‌های مورفومتریک و مریستیک برای تشخیص میان هیبریدهای معکوس ماهی سفید و ماهی سیم و والدین آنها بخوبی کارآیی خود را نشان داده است (Amini *et al.*, 2007). همچنین برای تشخیص میان جمعیتهای ماهی تیلاپیا در دریاچه Baringo در کنیا (Nyingi & Agnse, 2007)، انتخاب نشانگر جنسی در ماهی تیلاپیا (Bardakci, 2000)، تعیین ساختار ژنتیکی و مورفولوژیکی *Liza abu* در رودخانه‌های Orontes، دجله و فرات (Turan & Erguden, 2004) و ارزیابی تنوع ژنتیکی (Yeater *et al.*, 2004) از روش تجزیه و تحلیل Canonical Discriminant استفاده شده است.

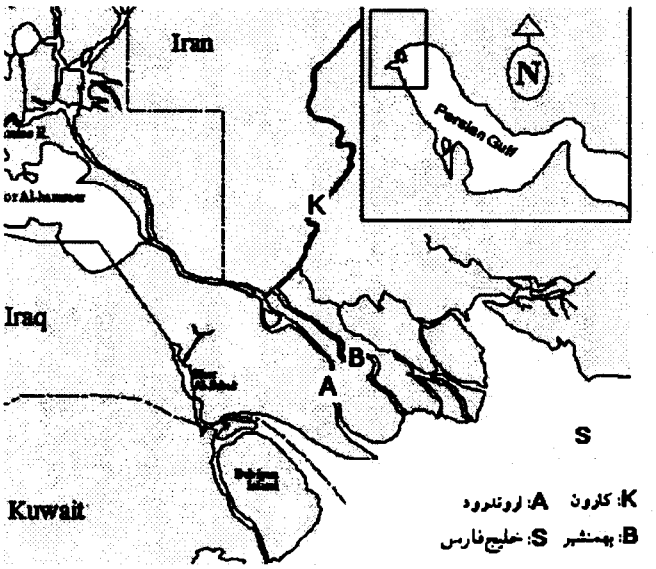
از آنجایی که تنوع ژنتیکی یکی از عوامل مهم در پایداری جمعیت جانوران و توان جمعیتها را در برابر شرایط نامساعدی همچون صید بی‌رویه افزایش می‌دهد و با توجه به فرضیات بدست‌آمده از مطالعات زیستی پیشین مبنی بر احتمال وجود ذخیره‌های مستقل از ماهی صبور در منابع آبی خوزستان، به منظور بررسی دقیق‌تر ساختار جمعیت ماهی صبور موجود در رودخانه‌ها و سواحل استان خوزستان در سطح مولکولی، روش RAPD بر روی این ماهی اجرا گردید.

مواد و روش کار

دوازده عدد ماهی صبور از هر یک از رودخانه‌های بهمنشیر، کارون، اروندرود و سواحل خلیج فارس در استان خوزستان (جمعاً ۴۸ نمونه) با استفاده از تور گوشگیر و در فصل تابستان (ماههای تیر و مرداد) صید شدند (شکل ۱ و جدول ۱) و در یخ به آزمایشگاه ژنتیک پژوهشکده آبزی‌پروری جنوب کشور منتقل گردیدند. از هر ماهی قطعه‌ای از باله دمی جدا و در اتانول تثبیت شد. DNA ژنومی از ۵۰ تا ۱۰۰ میلی‌گرم بافت باله به روش فنل- کلروفرم (Hillis *et al.*, 1996) با کمی تغییرات استخراج گردید. برای این منظور ابتدا بافت به تکه‌های بسیار کوچک تقسیم و در یک میکروتیوب اپندورف ۱/۵ میلی‌لیتری همراه با ۵۰۰ میکرولیتر محلول STE قرار داده شد. پس از آن ۴۰ میکرولیتر SDS (۱۰ درصد) و ۴ میکرولیتر پروتئیناز K به تیوب افزوده، مخلوط حاصل بمدت یک شب در حمام آب ۵۵ درجه سانتیگراد همراه با شیکر جهت انجام هضم آنزیمی نگهداری گردید. صبح روز بعد به منظور خالص‌سازی نمونه، معادل حجمی برابر از فنل متعادل شده با استفاده از STE در pH=۸ و دمای ۶۸ درجه سانتیگراد، کلروفرم و ایزوآمیل‌الکل به نسبت ۲۵:۲۴:۱ به محلول افزوده شد. میکروتیوبها به آرامی و بمدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق تکان داده شد. پس از ۵ دقیقه میکروسانتریفوژ (Eppendorf, 5415D) با سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه فاز بالایی محلول به آرامی جدا گردیده و به یک میکروتیوب جدید انتقال یافت. برای خالص‌سازی بیشتر، بار دیگر حجمی معادل از کلروفرم-ایزوآمیل‌الکل با نسبت ۲۴:۱ به میکروتیوب افزوده شده و بمدت ۱۰ دقیقه به آرامی تکان داده شد. سپس با ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه بمدت ۵ دقیقه سانتریفوژ گردیده و فاز بالایی به میکروتیوب جدیدی منتقل گردید. برای بدست‌آوردن خلوص بیشتر مرحله پیشین بار دیگر تکرار شد. به منظور ته‌نشین ساختن DNA معادل دو حجم اتانول خالص سرد (نگهداری‌شده در فریزر) و ۰/۱ حجم استات سدیم افزوده و بسیار آرام تکان داده شد. در این مرحله DNA بصورت یک کلاف درهم نمایان گردید. میکروتیوبها بمدت یک ساعت در فریزر ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شده و پس از آن با دور ۱۳۰۰۰ در دقیقه بمدت ۱۵ دقیقه، پلت DNA در کف میکروتیوب رسوب داده‌شد. پلت حاصل سپس در اتانول ۷۰ درصد بمدت یک ساعت نگهداری شد و پس از سانتریفوژ بمدت ۳ دقیقه و تخلیه الکل، بمدت ۱۵ تا ۲۰ دقیقه در انکوباتور ۳۷ درجه سانتیگراد خشک گردید. بعد از خشک شدن پلت بسته به

magiran.com

اندازه آن، در حداقل ۳۰ میکرولیتر آب خالص حل شد و ۳۰ دقیقه در انکوباتور ۳۷ درجه سانتیگراد نگهداری گردید تا پلت بخوبی حل گردد. برای تعیین کیفیت DNA استخراج شده نمونه‌ها در یک ژل آگارز (پلیمر پلی‌ساکارید) ۱ درصد همراه با نشانگر مناسب رانده شدند. از آنجایی که برای انجام آزمایشهایی همچون PCR، مقدار مشخصی از DNA بکار می‌رود، مقدار دقیق غلظت DNA با کمک دستگاه اسپکتروفتومتر (Genova MK2) اندازه‌گیری شد. میانگین دو بار خواندن بعنوان غلظت تقریبی نمونه مورد نظر قید گردید.



شکل ۱ : محل ایستگاههای جمع‌آوری ماهی صبور از رودخانه‌های کارون، بهمنشیر، اروندرود و سواحل خلیج فارس در استان خوزستان

جدول۱: مختصات نقاط نمونه‌برداری‌شده

مکان جغرافیایی	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی
کارون	۴۸° ۲۰′	۳۰° ۴۵′
بهمنشیر	۴۸° ۳۰′	۳۰° ۱۵′
اروندرود	۴۸° ۲۵′	۳۰° ۱۵′
خلیج‌فارس	۴۹° ۱۵′	۲۹° ۵۰′

دستورالعمل RAPD بعنوان واکنش پایه مورد استفاده قرار گرفت (Amini, 1999). روش RAPD برای ماهی صبور از نظر غلظت DNA، آنزیم *Taq*، $MgCl_2$، آغازگر، dNTPها، چرخه‌های دمایی با تکرارها و دماهای ذوب متفاوت بهینه‌سازی شد. در پایان، از میان ۱۵ آغازگر بررسی‌شده ۹ عدد که بهترین کیفیت پلی‌مورفیسم را داشتند، انتخاب گردیدند و مجدد تکرار صورت گرفت تا الگوی مشابه را نشان ندهد. شرایط مناسب برای واکنش تکثیر در حجم کلی ۲۵ میکرولیتر به این صورت تعیین شد: ۲۰ نانوگرم DNA، dNTP ۱۰۰میکرو مولار، آغازگر ۵ پیکومول، بافر PCR ۴ میکرولیتر، $MgCl_2$ ۲/۵ میلی‌مولار و

magiran.com

۰/۵ واحد آنزیم *Taq* DNA Polymerase (Cinnagene). یک قطره روغن معدنی به هر میکروتیوب افزوده شد تا از تبخیر محلول واکنش طی مراحل PCR پیشگیری شود. مرحله تکثیر PCR در یک دستگاه ترمال‌سایکلر (Corbet, AUS) انجام گرفت. چرخه‌های دمایی شامل یک چرخه مقدماتی در دمای ۹۴ درجه سانتیگراد بمدت ۲ دقیقه جهت مرحله واسرشته‌سازی، دمای ۳۶ درجه سانتیگراد، ۱ دقیقه بمنظور اتصال آغازگرها و دمای ۷۲ درجه سانتیگراد بمدت ۲ دقیقه برای توسعه آغازگر استفاده شد. سپس یک چرخه دمایی ۹۴ درجه سانتیگراد بمدت ۳۰ ثانیه، دمای ۳۶ درجه سانتیگراد بمدت ۱ دقیقه و دمای ۷۲ درجه سانتیگراد در ۲ دقیقه با تعداد تکرار ۴۰ بار انجام شد. نمونه‌های PCR در ژل پلی‌اکریلامایید ۵ درصد الکتروفورز گردیده و جریان برق ثابتی به ازای هر ژل ۳۰ میلی‌آمپر برقرار شد. برای رنگ‌آمیزی ژلها از روش نیترات نقره استفاده شد (Sambrook & Russel, 2001). با کمک دستگاه ژل داکیومنت (Uvidoc, EEC) از ژلهای رنگ آمیزی شده عکسبرداری انجام شد. لازم به ذکر است مراحل PCR با استفاده از ۹ آغازگر مورد نظر و در پی آن الکتروز برای کل نمونه‌ها دوبار تکرار گردید. پس از هر بار الکتروفورز محصول PCR، ضمن ثبت فاصله طی شده توسط نوارهای مختلف نشانگر استاندارد با استفاده از یک خط‌کش با دقت میلی‌متر، نوارهای پلی‌مورفیک که وضوح کامل داشتند در میان نمونه‌های مختلف مربوط به هر آغازگر تعیین گردید. در صورت وجود نوار مورد نظر ارزش ۱ و در صورت فقدان آن ارزش صفر به آن داده شد. برای بدست آوردن وزن قطعات پلی‌مورفیک برنامه DFRAG به‌کار گرفته‌شد. مقادیر شاخص شباهت S بین الگوهای RAPD متعلق به هر دو فرد، با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید:

که در فرمول فوق:

S= شاخص شباهت بین الگوهای RAPD متعلق به دو فرد

N_{AB} = تعداد نوارهایی است که در میان افراد A و B مشترک است.

N_A = تعداد نوارهای فرد A.

N_B = تعداد نوارهای فرد B می‌باشد (Black, 1995).

برای به‌دست‌آوردن خلاصه‌ای از مشخصات نوارهای به‌دست‌آمده از برنامه RAPDistance استفاده گردید. به‌منظور تجزیه و تحلیل داده‌ها و به‌دست‌آوردن فاصله ژنتیکی Nei در بین جمعیتها، از برنامه‌های RAPDDIST (Black,1995) و POPGENE (Yeh, 1999) استفاده شد و سپس ماتریس حاصل برای ایجاد دندروگرام UPGMA به برنامه PHYLIP و TREEVIEW (Version 3.5c) واردگردید. برای محاسبه ماتریس فاصله بین هر جفت از افراد جمعیتها، برنامه RAPDPLOT بکار گرفته شد. با کمک روشهای آماری و با استفاده از چندین متغیر متعلق به افراد مورد بررسی (در اینجا داده‌های حاصل از تجزیه و تحلیل RAPD) می‌توان میان آنها دو یا تعداد بیشتری گروه جدا از هم تشخیص داد که برای این منظور از روش تجزیه و تحلیل Canonical Discriminant در نرم‌افزار آماری SPSS (Ver. 13.0) استفاده گردید (Manly, 1997; Sokal *et al.*, 1995). اطلاعات حاصل از این روش افراد مورد مطالعه را به گروههای کوچکتری تقسیم می‌نماید که متعلقین هر یک از آنها در مقایسه با سایرگروهها بسیار به همدیگر شبیه‌اند (Yeater *et al.*, 2004).

نتایج

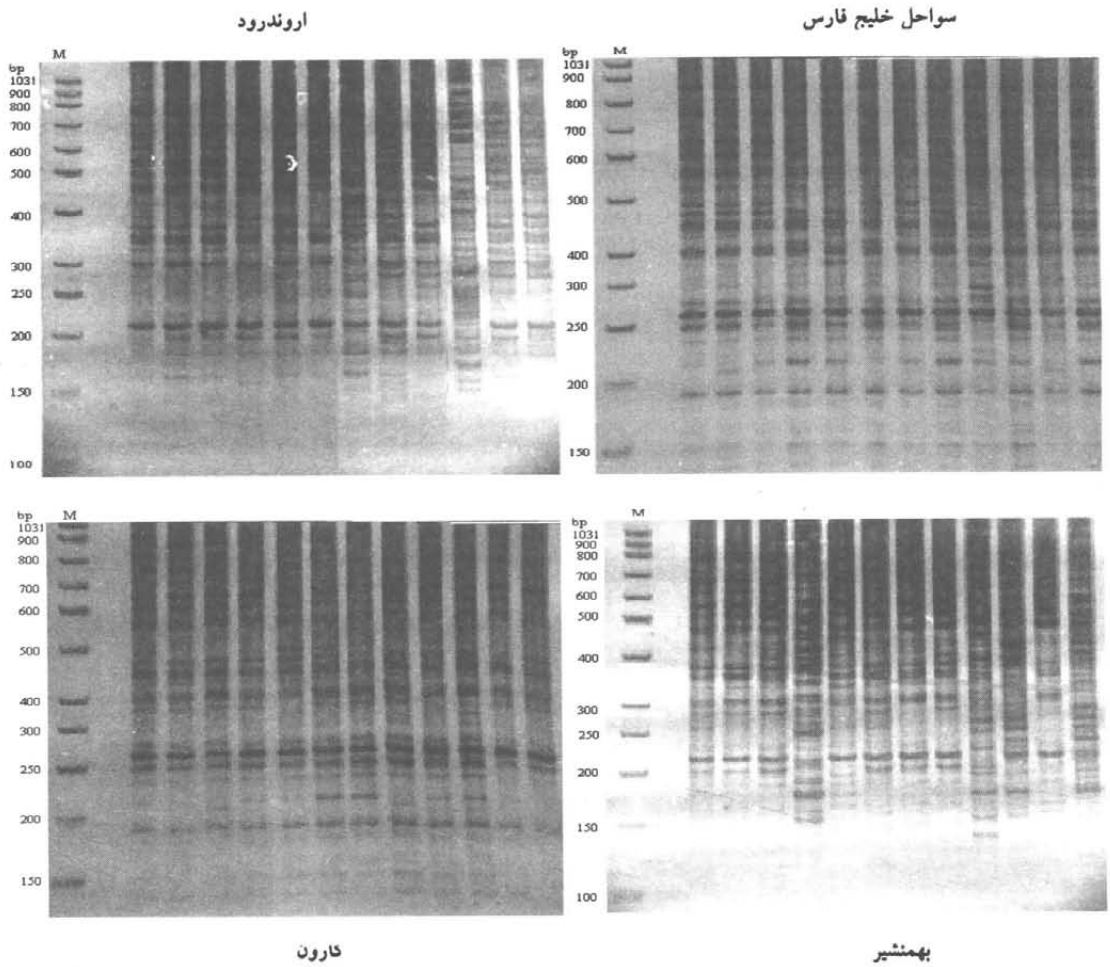
با اجرای عملیات PCR با استفاده از ۹ آغازگر، ۵۸ نوار پلی‌مورفیک ایجاد گردید. نمونه‌ای از الگوی RAPD بدست آمده در شکل ۲ نشان داده شده است. پس از مقایسه ژلهای مربوط به هر آغازگر، کمترین اندازه در میان ۵۸ قطعه پلی‌مورفیک معادل ۱۲۷bp و بیشترین اندازه برابر با ۵۸۱bp بود. بیشترین تعداد نوارهای پلی‌مورفیک مربوط به آغازگر P2 به میزان ۱۱ نوار و کمترین تعداد در آغازگرهای P7 و P8 برابر با ۳ نوار مشاهده شد. بطور میانگین ۶/۴ نوار به ازای هر آغازگر ایجاد شد. بزرگترین و کوچکترین دامنه اندازه بدست آمده در میان آغازگرهای مختلف بترتیب مربوط به آغازگرهای P5 و P7 بوده است (جدول۲).

فاصله‌های ژنتیکی محاسبه شده بین جمعیتها توسط Nei در سال ۱۹۸۷بیانگر آن بود که بیشترین شباهت در میان جمعیتهای اروندرود و بهمنشیر برابر با ۰/۹۱۸۳ و کمترین شباهت بین جمعیتهای اروندرود و سواحل خلیج فارس معادل ۰/۸۱۹۸ وجود دارد. در جدول ۳ نشاندهندهٔ فاصله ژنتیکی میان جمعتهاست، بیشترین فاصله بین جمعیتهای اروندرود و سواحل خلیج فارس به میزان ۰/۱۹۸۷ و کمترین فاصله به مقدار ۰/۰۸۴۲ بین جمعیتهای اروندرود و بهمنشیر بدست‌آمد.

همچنین در دندروگرام بدست‌آمده براساس فاصله ژنتیکی جمعیتها ملاحظه می‌شود که جمعیتهای اروندرود و بهمنشیر بر روی یک شاخه و روخانه کارون و سواحل خلیج فارس بر شاخه دیگر آن قرار گرفته‌اند (شکل۳).

magiran.com

نتایج حاصل از مقایسه دو به دوی ماهیان صید شده از رودخانه های کارون، بهمنشیر، اروندرود و سواحل خلیج فارس با کمک برنامه RAPDPLOT بصورت یک درخت فایلوژنی در شکل ۴ آمده است.



شکل۲: الگوی RAPD به‌دست‌آمده از آغازپگر P6، بترتیب از چپ به راست رودخانه‌های اروندرود و سواحل خلیج فارس، کارون و بهمنشیر در استان خوزستان

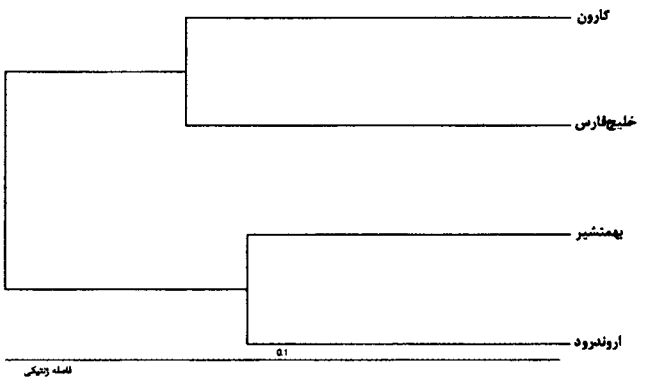
جدول۲: تعداد و اندازه قطعات تکثیر شده و مشخصات آغازگرها

آغازگر	توالی آغازگر (۵' به ۳')	تعداد کل قطعات پلی‌مورفیک	محدوده اندازه قطعات (bp)
P1	5'-CTG ACG TCA C-3'	۸	۴۰۳-۱۶۲
P2	5'-ACT GGG ACT C -3'	۱۱	۵۲۱-۲۱۵
P3	5'-GGA AGT CGC C -3'	۱۰	۴۵۷-۱۶۱
P4	5'-GAC GCC ACA C -3'	۴	۵۰۱-۲۳۹
P5	5'-AGC GTC ACT C-3'	۶	۵۸۱-۲۰۰
P6	5'-ACG GCC GAC C-3'	۸	۳۷۵-۱۶۵
P7	5'-AGT CGG CAC C -3'	۳	۲۷۳-۱۴۶
P8	5'-CCG ACC GGA A -3'	۳	۳۱۸-۱۵۴
P9	5'-CCG GTT CCA G -3'	۵	۴۴۵-۱۲۷

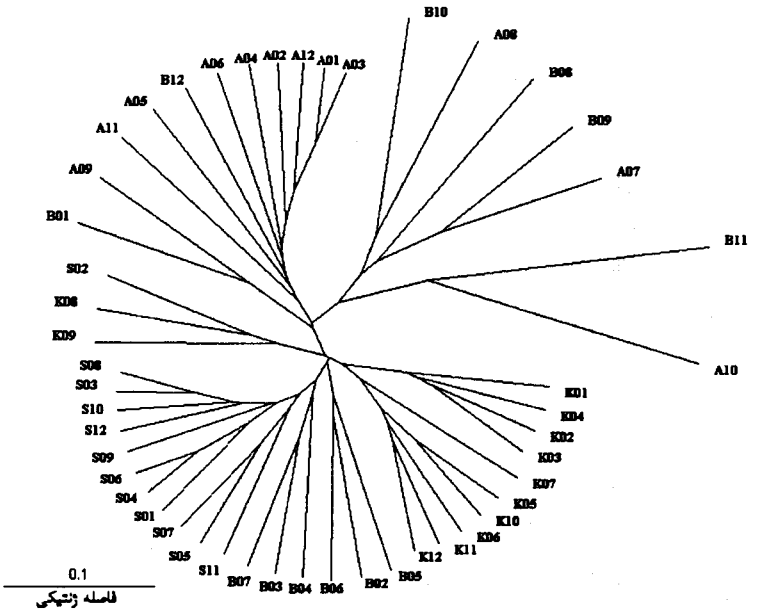
magiran.com

جدول۳: فاصله ژنتیکی بین جمعیتهای رودخانه‌های کارون، بهمنشیر، اروندرود و سواحل خلیج‌فارس

نقاط نمونه‌برداری	رودخانه کارون	رودخانه بهمنشیر	سواحل خلیج فارس	رودخانه اروندرود
رودخانه کارون	------	۰/۸۶۹۲	۰/۸۷۳۰	۰/۸۳٤٤
رودخانه بهمنشیر	۰/۱۴۰۱	------	۰/۸٤۸۱	۰/۹۱۸۳
سواحل خلیج فارس	۰/۱۳۵۸	۰/۱٦٤۷	------	۰/۸۱۹۸
رودخانه اروندرود	۰/۱۸۱۰	۰/۰۸۵۲	۰/۱۹۸۷	------



شکل ۳: فایلوگرام بدست‌آمده از مقایسه جمعیتهای ماهی صبور رودخانه‌های کارون، بهمنشیر، اروندرود و سواحل خلیج فارس



شکل۴: درخت فایلوژنی بدست آمده از تجزیه و تحلیل افراد جمعیتهای ماهی صبور
(K: کارون، S: سواحل خلیج‌فارس، B: بهمنشیر، A: اروندرود)

magiran.com

اطلاعات مربوط به ۵۸ لکوس پلی‌مورفیک بدست‌آمده، مورد تجزیه و تحلیل Canonical Discriminant قرار گرفته و اختلاف معنی‌داری را نشان دادند (P<0.01). نتایج حاصل از Discriminant Analysis Functions با توجه به جداول ۳ و ۴ سه تابع تشخیص برای این تجزیه و تحلیل تعریف شد که توابع تشخیص ۱ و ۲ از وضعیت بهتری برخوردار بودند و این دو تابع برای رسم نمودار استفاده شدند. در نمودار بدست‌آمده از تشخیص درون جمعیتی رودخانه‌های کارون، اروندرود، بهمنشیر و سواحل خلیج فارس، تمامی افراد مربوط به هر جمعیت در محدودهٔ کانون جمعیت مربوط به خود متمرکز شده‌اند (شکل۵).

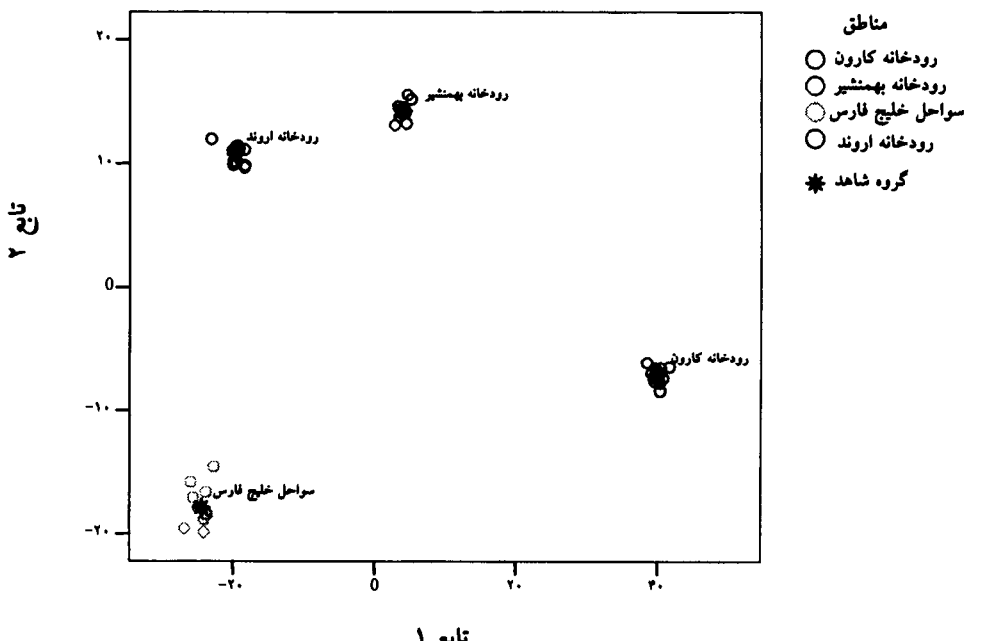
جداول۳ و ۴: تجزیه و تحلیل Canonical Discriminant Functions داده‌های مربوط به لکوس‌های پلی‌مورفیک

مقادیر ویژه توابع تشخیصی

توابع	مقدار ویژه	درصد انحراف	درصد تجمعی	همبستگی کنونیکال
۱	۷۰۸/۴۲۲	۷۸/۰	۷۸/۰	۰/۹۹۹
۲	۱۸۷/۲۵۱	۲۰/۶	۹۸/۶	۰/۹۹۷
۳	۱۲/۵۴۱	۱/۴	۱۰۰/۰	۰/۹۶۲

آزمون توابع با استفاده از Wilks' Lambda

آزمون توابع	Wikls' Lambda	مربع کای	درجه آزادی	مقدار معنی‌داری
۱ با ۳	۰/۰۰۰	۳۳۱/۳۸۳	۱۳۲	۰/۰۰۰
۲ با ۳	۰/۰۰۰	۱۸۰/۴۰۰	۸۶	۰/۰۰۰
۳	۰/۰۷۴	۵۹/۹۳۲	۴۲	۰/۰۳۶



شکل۵: پراکنش گروه‌های ماهیان صبور از نظر ۵۸ لکوس RAPD با استفاده از تجزیه و تحلیل Canonical discriminant

magiran.com

بحث

یکی از مهمترین نیازها در مدیریت شیلاتی شناخت ذخایر گونه‌ها می‌باشد. نداشتن آگاهی کافی از ساختار ذخیره نیز می‌تواند به برداشت نادرست (بیشتر یا کمتر) از آن منجر گردد (Pandian *et al.*, 2005). مطالعات انجام شده بر روی گونه‌های مختلف آبزیان در چند دهه گذشته بیانگر این بوده است که بیشتر گونه‌ها به واحدهای کمابیش مستقلی تقسیم می‌شوند که از نظر ژنتیکی با هم اختلاف دارند. در بسیاری از گونه‌ها، جمعیتها بدلیل عوامل جغرافیایی، زیستی یا رفتاری به واحدهای کوچکتری تقسیم می‌شوند (Hedrick, 2000). وجود چنین ساختاری چه از دیدگاه مدیریت شیلاتی و چه از نظر حفاظت منابع ژنتیکی دارای اهمیت بسیاری است (Allendorf *et al.*, 1987).

تاکنون چند پژوهش در رابطه با ژنتیک جمعیت ماهی صبور در محدوده پراکنش آن انجام شده است. از جمله Dahle و همکاران در سال ۱۹۹۷ با نمونه‌برداری از سه نقطه دارای شرایط مختلف (رودخانه، مصب و دریا) و با استفاده از ۷ آغازگر تصادفی روش RAPD را اجرا نمودند. در این بررسی روش RAPD، سه جمعیت متفاوت از ماهی صبور را در خلیج بنگال تشخیص دادند. تحقیق دیگری که توسط Rahman و Naevdal در سال ۱۹۹۸ بر روی بچه ماهی صبور (با نام محلی Jatka) در آبهای بنگلادش با روش آلوزایم انجام گردید، بیانگر اختلافات درون و بین جمعیتی حضور بیش از یک ذخیره در آبهای این منطقه بود. در مطالعه دیگری که توسط Shifat و همکاران در سال ۲۰۰۳ به روش RAPD بر روی نمونه‌های دو رودخانه مهم این کشور یعنی Padma و Meghna انجام گردید، ماهیان صبور به دو گروه عمده تقسیم شدند که بیانگر وجود دو جمعیت مختلف بوده است. در تحقیق دیگری Salini و همکاران در سال ۲۰۰۴ ضمن بررسی نمونه‌هایی از ماهی صبور متعلق به چند کشور مختلف (هند، اندونزی، مالزی و کویت) با کمک روشهای آلوزایم و مورفومتریک تفاوتهایی را در میزان فراوانی آللی جمعیتهای کویت، مالزی و بنگلادش یافتند و عنوان نمودند که این تفاوت می‌تواند بدلیل جدایی مکانی باشد. در جدیدترین بررسی انجام شده بر روی ماهی صبور که از شش نقطه در رودخانه‌های عمده هند برداشت گردیده است، با کمک روش RAPD نمونه‌ها تجزیه و تحلیل شدند (Brahmane *et al.*, 2006). نتایج حاکی از پلی‌مورفیسم بالا درون جمعیتها و بین آنها بوده است. تجزیه و تحلیل خوشه‌ای، شش جمعیت مختلف را در دو خوشه اصلی قرار داد که علت آن می‌تواند مکانهای مختلف تخمریزی باشد.

در بررسی حاضر درخت فایلوژنی بدست‌آمده حاصل از فاصله ژنتیکی بین جمعیتها (شکل۳)، نمونه‌های بررسی‌شده را در دو شاخه اصلی جدا از هم قرار داده که در یک شاخه اصلی ماهیان صبور رودخانه کارون و سواحل خلیج فارس و در شاخه اصلی دیگر ماهیان صبور رودخانه‌های بهمنشیر و اروندرود جای گرفتند. این یافته با بررسی‌های مورفومتریک قبلی در رابطه با توزیع فراوانی طولی ماهیان صبور در این چهار منطقه تطابق دارد (غفله مرمضی، ۱۳۷۳). مقایسه توزیع فراوانی طول ماهی صبور در مطالعه حاضر نشان داد که دامنه طول ماهیان صبور در رودخانه‌های بهمنشیر و اروندرود تقریباً مشابه و با دو منطقه دیگر یعنی رودخانه کارون و سواحل خلیج فارس متفاوت است. نتایج مقایسه بین جمعیتی از لحاظ فاصله ژنتیکی، نشان داد که نمونه‌های بررسی‌شده متعلق به جمعیتهای رودخانه کارون و سواحل خلیج فارس به یکدیگر نزدیکتر بوده‌اند (d=0.1358) که مؤید این است که به احتمال زیاد مقصد نهایی ماهیان صبور صید شده از سواحل خلیج فارس، رودخانه کارون بوده است. براساس این یافته، این فرضیه می‌تواند مطرح شود که دو جمعیت ایرانی (مهاجر به سمت کارون) و عراقی (مهاجر به سمت شط‌العرب) از ماهی صبور وجود دارد که در ناحیه جغرافیایی مورد بررسی برای تخمریزی رودخانه خاص خود را انتخاب می‌نماید. درخت فایلوژنی افراد (شکل۴)، دو شاخه اصلی مجزا یکی در بخش بالایی شامل ماهیان صبور رودخانه اروندرود و بخشی از ماهیان رودخانه بهمنشیر و دیگری در بخش پایینی شامل نمونه های رودخانه کارون، سواحل خلیج فارس و بخش دیگری از نمونه رودخانه بهمنشیر را تشکیل می‌دهند. همچنین این شاخه‌ها در درون خود به زیرشاخه‌هایی تقسیم گردیده‌اند بطوریکه ماهیان متعلق به رودخانه اروندرود خود نیز به دو زیرشاخه تقسیم شدند و جمعیتهای ماهیان صبور رودخانه کارون

magiran.com

و سواحل خلیج فارس نیز در شاخه‌هایی نسبتاً مستقل نسبت بهم قرار گرفتند. در مجموع از یافته‌های حاصل می‌توان چنین استنتاج نمود که شباهت نمونه ماهیان صبور رودخانه بهمنشیر در میان جمعیت کارون و اروندرود بیانگر آن است که رودخانه بهمنشیر گذرگاهی مشترک برای ماهیان صبور مهاجر به‌سمت رودخانه‌های کارون و شط‌العرب می‌باشد. از آنجایی که هیچ یک از نمونه‌های رودخانه کارون در کنار نمونه‌های رودخانه اروندرود قرار ندارند، احتمال می‌رود ماهیان صبوری که برای تخمریزی به رودخانه کارون می‌روند، تنها رودخانه بهمنشیر را بعنوان گذرگاه خود انتخاب می‌کنند که البته این می‌تواند ناشی از خطای نمونه‌برداری نیز باشد. از سوی دیگر ماهیان صبوری که از رودخانه اروندرود عبور می‌کنند دارای دو ویژگی هستند، یکی این‌که احتمالاً از لحاظ ژنتیکی با جمعیت رودخانه کارون تفاوت دارند و دیگر اینکه رودخانه اروندرود گذرگاه اختصاصی این ماهیان به سمت شط‌العرب می‌باشد. اگر فرض شود که جمعیت ماهی صبور رودخانه اروندرود در نهایت برای تخمریزی خود را به بالادست شط‌العرب برسانند، وجود یک دو شاخه اصلی در دندروگرام ماهیان صبور رودخانه اروندرود می‌تواند این فرضیه را مطرح سازد که جمعیت این رودخانه نیز خود متشکل از دو گروه مجزا است که احتمالاً برای تخمریزی به رودهای دجله و فرات یا هور الحمار در شمال شهر بصره می‌روند. این فرضیه با مطالب بیان شده توسط Jawad و همکاران در سال ۲۰۰۴ و Al-Hassan در سال ۱۹۹۹ همخوانی دارد. وجود شواهدی مبنی بر اختلاف در مورد زمان مهاجرت این ماهی در این منطقه، فرضیه وجود دو ذخیره در این مکان را تقویت می‌کند. در ایران شروع فصل مهاجرت اردیبهشت ماه و در عراق اسفند ماه ذکر شده است. غفله مرمضی و همکاران (۱۳۷۷ب) از مهاجرت زود هنگام صبور در رودخانه اروندرود بعنوان یک نکته با دلیل نامعلوم ذکر نموده‌اند. احتمال می‌رود با توجه به یافته‌های حاضر، این مهاجرت زود هنگام متعلق به جمعیتی ماهی صبوری باشد که مقصد نهایی آنان کشور عراق است.

همچنین وجود همبستگی بالا بین داده‌های هر جمعیت در تجزیه و تحلیل توابع تشخیصی (Canonical Discriminant Functions) و نیز پراکنش فشرده ماهیان صبور در اطراف مرکز گروهی نقطه تمرکز گروههای ماهیان تحت بررسی (شکل۵) توام با فاصله نزدیک ژنتیکی بین صبور ماهیان رودخانه‌های کارون، اروندرود و سواحل خلیج فارس (شکل ۴) این فرضیه را می‌تواند مطرح نمود که ماهی صبور زندگی گله‌ای داشته و در تمام طول عمر، افراد حاصل از یک تولید مثل با هم زندگی می‌کنند (Yeater *et al.*, 2004 ;Manly, 1997). البته تایید این فرضیه نیاز به بررسیها و پایشهای دیگری دارد.

به دلیل مشترک بودن ذخایر ماهی صبور در میان چند کشور خلیج فارس پیشنهاد می‌شود که در سراسر حوزه پراکنش آن در جنوب کشور و کشورهای همسایه از جمله عراق و کویت با بکارگیری تعداد بیشتری از افراد ماهی صبور با تنوع بیشتر مکانها و زمانهای نمونه‌برداری و روشهای دیگر مولکولی تنوع ژنتیکی این گونه و ارتباط یافته‌های مولکولی با شواهد فنوتیپی مورد بررسی قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

این طرح مطالعاتی با پشتیبانی مرکز تحقیقات آبزی‌پروری جنوب کشور و اداره کل شیلات استان خوزستان در اهواز انجام شده است. لذا نویسندگان مراتب تقدیر و تشکر خود را از جناب آقای دکتر جاسم غفله مرمضی رئیس مرکز، جناب آقای دکتر پور مغینمی مدیر کل شیلات و جناب آقای دکتر اسکندری معاونت مرکز تحقیقات، که در فراهم آوردن امکانات اجرایی همکاری و مساعدت فراوان نموده‌اند، اعلام می‌دارد.

منابع

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

غفله‌مرمضی، ج. ، ۱۳۷۳. بررسی بیولوژیک ماهی صبور *Tenualosa ilisha* در رودخانه بهمنشیر در زمان مهاجرت. پایان‌نامه کارشناسی ارشد دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تربیت مدرس (نور). ۷۹ صفحه.

غفله‌مرمضی، ج. ، ۱۳۷۴. بررسی بیولوژی ماهی صبور (فاز یک). مرکز تحقیقات شیلات خوزستان، اهواز. گزارش نهایی پروژه. ۲۱۲ صفحه.

غفله‌مرمضی، ج. ؛ المختار، م. و اسکندری، غ. ، ۱۳۷۷الف. همآوری ماهی صبور در آبهای داخلی خوزستان. مجله علمی شیلات. سال هفتم، شماره ۱، بهار ۱۳۷۷، ۱۴ صفحه.

غفله‌مرمضی، ج. ؛ المختار، م. و حسین‌زاده، ک. ب. ، ۱۳۷۷ب. مقایسه ویژگیهای مورفومریستیک و توزیع فراوانی طولی ماهی صبور (*Tenualosa ilisha* Ham. Buch. 1822) در گذرگاههای مهاجرت آن در استان خوزستان. مجله پژوهش و سازندگی، شماره ۳۹، تابستان ۷۷. صفحات ۱۱۳ تا ۱۲۰.

Al–Baz, A.F. and Grove D.J. , 1995. Population biology of Sbour *Tenualosa ilisha* (Hamilton–Buchanan) in Kuwait. Asian Fish Science. Vol. 8, No. (3-4), pp.239–254.

Al–Hassan, A. J. , 1999. Shad of the Shatt Al–Arab River in Iraq. Shad Journal, Vol. 5, No. 2, pp.1–4.

Allendorf, F. ; Ryman, N. and Utter, F. , 1987. Genetics and fishery management: Past, present, and future. *In:* (eds. N. Ryman and F. Utter). Population genetics and fishery management. Washington Sea Grant program, University of Washington. USA. pp.1-19

Al–Nasiri, S.K. and Al–Mukhtar, M.A. , 1988. On the biology of Sobour, *Hilsa ilisha* (Hamilton) from Ashar Canal, Basrah, Iraqi. Journal of Agricultural Science. Vol. 6, No. 1, pp.97–104.

Amini, F. , 1999. Genetic study on cold tolerence in tilapia. PhD thesis, School of Biological Science University of Wales Swansea, 310P.

Amini, F. ; Zamini, A.A. and Ahmadi, M.R. , 2007. Intergenering Hybridization between *Kutum, Rutilus frisii kutum*, and Bream, *Abramis brama orientalis*, of the Caspian Sea. Journal of the World Aquaculture Society. Vol. 38, No. 4, pp.497-505.

Bardakci, F. , 2000. The use of Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) markers in sex discrimination in Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* (Pisces: Cichlidae). Turk Journal of Biology. Vol. 24, pp.169-175.

Bardakci, F. , 2001. Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Markers. Turk Journal of Biology, Vol. 25, pp.185-196.

Black, W.C. , 1995. FORTRAN programs for the analysis of RAPD-PCR markers in populations. Department of Microbiology, Colorado State University, Ft. Collins, CO 80523.

Brahmane, M.P. ; Das, M.K. ; Sinha, M.R. ; Sugunna, V.V. ; Mukherjee, A. ; Singh, S.N.; Prakash, S. ; Maurye, P. and Hajra, A. , 2006. Use of RAPD fingerprinting for delineating populations of hilsa shad *Tenualosa ilisha* (Hamilton, 1822). Genetics and Molecular Research, Vol. 5, No. 4, pp.643-652.

Cushwa, W.T. and Medrano, J.F. , 1996. Applications of Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) assay for genetic analysis of livestock species. Animal Biotechnology. Vol. 7, No. 1, pp.11-31.

Coad, B. , 1997. Shad In Iranian waters. Shad Journal, Vol. 2, No. 4, pp.4-8.

Dahle, G. ; Rahman, M. and Eriksen, A.G. , 1997. RAPD fingerprinting used for discriminating

magiran.com

magiran.com

among three populations of Hilsa Shad (*Tenualosa ilisha*). Fisheries Research, Vol. 32, pp.263-269.

Ghafleh Marammazi, J. ; Eskandari, G.R. ; Al-Mukhtar, M.A. and Kiabi, B.H. , 2004. Study of spawning season and spawning ground of Soboor (*Tenualosa ilisha,* Ham. Bunch., 1822) during its migration in Khuzestan Rivers. Iranian Journal of Fisheries Sciences, Vol. 4, No. 1, pp.89-102.

Hedrick, P.W. , 2000. Genetics of populations. (2nd ed.). Jones and Bartlett Publishers. 553P.

Hillis, D.M. ; Moritz, C. and Mable, B.K. , 1996. Molecular systematics (2nd edn). Sinaure Associates. 655P.

Hussain, S.A. ; Al-Mukhtar, M.A. and Al-Daham, N.K. , 1991. Preliminary investigation on fisheries and some biological aspects of Sbour, *Hilsa ilisha* from Shatt Al-Arab River, Iraq. Basrah Journal, Agriculture Science, Vol. 4, No. 1&2, pp.141-151.

Jawad, L.A. ; Al-Mukhtar, M.A. and Ahmed, H.K. , 2004. The relationship between haematocrit and some biological parameters of the Indian shad, *Tenualosa ilisha.* Animal Biodiversity and Conservation. Vol. 27, No. 2, pp.47–52.

Manly, B.F.J. , 1997. Multivariate statistical methods. A primer (2nd edition). Chapman and Hall, London, United Kingdom. 216P.

Nyingi, D.W. and Agnese, J.F. , 2007. Recent introgressive hybridization revealed by exclusive mtDNA transfer from *Oreochromis leucostictus* (Trewavas, 1933) to *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) in Lake Baringo, Kenia. Journal of Fish Biology. Vol. 70, pp.148-154.

Pandian, T.J. ; Strussmann, S.A. and Marian, M.P., 2005. Fish genetics and aquaculture biotechnology. Science Publishers Inc. pp.29-32.

Rahman, M. , 1997. Studies on population structure of shad in Bangladesh waters with emphasis on population genetics of *Hilsa shad* (*Tenualosa ilisha*). PhD Thesis, University of Bergen, Norway.

Rahman, M. and Naevdal, G. , 1998. Identification of juvenile hilsa in Bangladesh by genetic methods. Fisheries Management and Ecology. Vol. 5, pp.255-260.

Rahman, M. and Naevdal, G. , 2000. Population genetic studies of hilsa shad, *Tenualosa ilisha* (Hamilton), in Bangladesh waters: Evidence for the existence of separate gene pools. Fisheries Management and Ecology. Vol. 7, pp.401-411.

Salini, J.P. ; Milton, D.A. ; Rahman, M.J. and Hussain, M.G. , 2004. Allozyme and morphological variation throughout the geographic range of the tropical shad, hilsa *Tenualosa ilisha.* Fisheries Research. Vol. 66, pp.53-69.

Sambrook, G. and Russell, D.W. , 2001. Molecular cloning. A labrotery manual. Cold Spring, Harbor Labrotory. USA.

Shifat, R. ; Begum, A. and Khan, H. , 2003. Use of RAPD fingerprinting for discriminating two populations of Hilsa shad (*Tenualosa ilisha* Ham.) from Inland Rivers of Bangladesh. Journal of Biochemistry and Molecular

magiran.com

Biology. Vol. 36, No. 5, pp.462-467.

Sokal, R.R. and Rohlf F, J. , 1995. Biometery. (3rd Ed.) Freeman and Co. 887P.

Turan, C. and Erguden, D. , 2004. Genetic and morphologic structure of *Liza abu* (Heckel, 1843) population from the Rivers Orontes, Euphrates and Tigris. Turk Journal of Veterinary Animal Science. Vol. 28, pp.729-734.

Yeater, K.M. ; Bollero, G.A. ; Bullock, D.G. ; Rayburn, A.L. and Rodriguez-Zas, S. , 2004. Assessment of genetic variation in Hairy Vetech using Canonical Discrimination Analysis. Journal of Corp Science. Vol. 44, pp.185-189.

Yeh, F.C. ; Yang, R.C. and Boyle T. , 1999. POPGENE Version 1.31; Microsoft Window-based free software for population genetics analysis. http:// www.ualberta.ca/~fyeh.2006.

magiran.com

A Study on population genetic of Hilsa shad, *Tenualosa ilisha*, in Khoozestan, Iran using molecular method (RAPD)

Jorfi E.[(1)*] ; Amini F.[(2)] ; Ghorashi S.A.[(3)] ; Mortezaei S.R.S.[(4)]

ejorfi@Gmail.com

1,4-South of Iran Aquaculture Research Center, P.O.Box: 61645-866 Ahwaz, Iran.

2- Department of Health and Nutrition of Animal and Poultry Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, P.O.Box: 14155-6453 Tehran, Iran

3- Department of Microbiology, National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology, Tehran, Iran

Received: September 2007 Accepted: February 2007

Keywords: *Tenualosa ilisha*, RAPD-PCR, Karoon, Bahmanshir, Arvandrood, Khouzestan, Persian Gulf

Abstract

The genetic structure of Hilsa Shad *Tenualosa ilisha* in Khouzestan waters including Karoon, Arvandrood and Bahmanshir Rivers as well as Persian Gulf was studied using RAPD technique. After optimizing PCR condition, nine RAPD primers were selected from which 58 polymorphic loci were obtained on 12 specimens from each geographical region (A total of 48 specimens). RAPDPLOT, RAPDDIST and POPGENE computer software were used to analyze the RAPD data. Canonical discriminant analysis was deployed for statistical assessment of the RAPD data. Maximum and minimum genetic distances were found between samples from Arvandrood River and Persian Gulf (0.1987) and Arvandrood and Bahmanshir Rivers (0.0852), respectively. The UPGMA dendrogram showed that the samples from Karoon River and Persian Gulf form one group and samples from Arvandrood and Bahmanshir Rivers form another suggesting the hypothesis that there are Iranian and Iraqi populations of the species that chose their own specific rivers for spawning. According to this hypothesis, the specimens from Persian Gulf chose Karoon as their spawning river. Other populations migrate to Tigris and Euphrates Rivers in Iraq. The canonical discriminant analysis of the RAPD data indicates that samples from the four geographical regions are statistically different from each other and high correlation was found for within region data ($P<0.01$). This suggests that *Tenualosa ilisha* is a schooling species. According to the hypotheses and considering the distribution of specimens in phylogenetic tree, it is concluded that Bahmanshir River is a specific pathway for the Iranian population fish heading towards Karoon River for spawning. The Iraqi population of the fish uses both Bahmanshir and Arvandrood Rivers to reach Shat-Al-Arab with Arvandrood being a specific route for the population. To verify these hypotheses further studies are needed.

* **Corresponding author**