View metadata, citation and similar papers at core.ac.uk
brought to you by CORE
provided by Aquatic Commons

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور – پژوهشکده میگوی کشور

عنوان:

ارزیابی و تعیین شاخصهای مؤثر در انتخاب مولدهای اصلح

مجری:
محمدخلیل پذیر

شماره ثبت
۵۰۹۳۰

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور- پژوهشکده میگوی کشور

عنوان پروژه : ارزیابی و تعیین شاخصهای مؤثر در انتخاب مولدهای اصلح
شماره مصوب پروژه : ۹۳۰۰۲-۹۳۵۲-۱۲-۸۰-۱۴
نام و نام خانوادگی نگارنده/ نگارندگان : محمد خلیل پذیر
نام و نام خانوادگی مجری مسئول (اختصاص به پروژه ها و طرحهای ملی و مشترک دارد) :
نام و نام خانوادگی مجری / مجریان : محمد خلیل پذیر
نام و نام خانوادگی همکار(ان) : محمد افشار نسب، محمد پورکاظمی، خسرو آئین جمشید، بابک قائدنیا، عباسعلی زنده بودی، حامد قناعتیان، عصمت باغ ملائی، قاسم غریبی، عباس متین فر، مریم میربخش، اکبر پای گذار، علیرضا اسدی، عبدالحمید ماهیانه، جواد حسینی، سید احمد قاسمی، رضا قربانی واقعی
نام و نام خانوادگی مشاور(ان) : -
نام و نام خانوادگی ناظر(ان) : -
محل اجرا : استان بوشهر
تاریخ شروع : ۹۳/۱/۱
مدت اجرا : ۲ سال
ناشر : موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور
تاریخ انتشار : سال ۱۳۹۶
حق چاپ برای مؤلف محفوظ است . نقل مطالب ، تصاویر ، جداول ، منحنی ها و نمودارها با ذکر مأخذ بلامانع است .

سوابق طرح یا پروژه و مجری مسئول / مجری»

پروژه : ارزیابی و تعیین شاخصهای مؤثر در انتخاب مولدهای اصلح

کد مصوب : ۹۳۰۰۲-۹۳۵۲-۱۲-۸۰-۱۴

شماره ثبت (فروست) : ۵۰۹۳۰ تاریخ : ۹۵/۱۰/۸

با مسئولیت اجرایی جناب آقای محمد خلیل پذیردارای مدرک تحصیلی دکتری تخصصی در رشته بهداشت و بیماریهای آبزیان می‌باشد.

پروژه توسط داوران منتخب بخش اصلاح نژاد و تکثیر و پرورش آبزیان در تاریخ ۹۵/۲/۲۷ مورد ارزیابی و با رتبه عالی تأیید گردید.

در زمان اجرای پروژه، مجری در :

ستاد □ پژوهشکده ■ مرکز □ ایستگاه □

با سمت کارشناس در پژوهشکده میگوی کشور مشغول بوده است.

عنوان	«فهرست مندرجات»	صفحه

چکیده ۱
۱-مقدمه ۲
۲-مواد و روش کار ۶
۲-۱- بررسی تاریخچه واردات مولدین سفیدغربی به کشور ۶
۲-۲-شناسایی مراکز تکثیر پرورش میگوی سفید غربی در کشور ۶
۲-۳-تاریخچه ورود مولدین وارده شده به کشور ۶
۲-۴- تعیین مراکز پرورش میگو ۷
۲-۴-۱- انتخاب مراکز پرورشی ۷
۲-۵-تعیین شاخص‌های ژنتیکی نسل‌های مختلف میگو ۸
۲-۵-۱- میگوهای نسل صفر (F_0) ۸
۲-۶- تجزیه و تحلیل شاخص‌های ژنتیکی جمعیت‌ها در جایگاه‌های میکروستلایت ۱۳
۲-۶-۱- به گزینی پیش مولدین نسل صفر (F_0) ۱۳
۲-۶-۲- تعیین شاخص‌های ژنتیکی میگوهای نسل اول (F1) ۱۴
۲-۶-۳- به گزینی میگوهای نسل اول (F_1) ۱۶
۲-۶-۴- تعیین شاخص‌های ژنتیکی میگوهای نسل دوم (F_2) ۱۶
۲-۷- تجزیه و تحلیل داده‌های بدست آمده ۱۶
۳- نتایج ۱۷
۳-۱- شاخص‌های ژنتیکی میگوهای نسل صفر ۱۷
۳-۱-۱- نتایج میزان تنوع ژنتیکی و فراوانی آلل ها ۱۷
۳-۱-۲- فراوانی آلل ها در جایگاه های مورد بررسی در سه جمعیت مورد مطالعه ۱۸
۳-۱-۳- میزان ضریب هم خونی (F_{is}) ۲۱
۳-۱-۴- تمایز ژنتیکی (F_{st}) جمعیت‌ها ۲۱
۳-۱-۵- فاصله ژنتیکی و شباهت ژنتیکی (Nei, 1972) ۲۲
۳-۱-۶- انحراف از تعادل هاردی–واینبرگ ۲۲
۳-۱-۷- تعداد میگوهای جمع آوری شده از مزارع پرورش میگو ۲۴
۳-۲- شاخص‌های ژنتیکی میگوهای نسل اول ۲۴
۳-۲-۱- میزان تنوع ژنتیکی و فراوانی آلل ها ۲۴

عنوان	«فهرست مندرجات»	صفحه

۲-۲-۳- فراوانی آلل ها در جایگاه های مورد بررسی در سه جمعیت مورد مطالعه ۲۵
۳-۲-۳- میزان ضریب هم خونی (F_{is}) ۲۸
۴-۲-۳- تمایز ژنتیکی (F_{st}) جمعیت‌ها ۲۹
۵-۲-۳- فاصله ژنتیکی و شباهت ژنتیکی (Nei, 1972) ۲۹
۶-۲-۳- انحراف از تعادل هاردی–واینبرگ ۳۰
۳-۳- شاخص‌های ژنتیکی میگوهای نسل دوم ۳۱
۱-۳-۳- میزان تنوع ژنتیکی و فراوانی آلل ها ۳۱
۲-۳-۳- فراوانی آلل‌های اختصاصی در جایگاه های مورد بررسی در میگوهای نسل دوم ۳۲
۳-۳-۳- فراوانی آلل‌ها در جایگاه‌های مختلف ۳۳
۴-۳-۳- میزان ضریب هم خونی (F_{is}) ۳۴
۵-۳-۳- تمایز ژنتیکی (F_{st}) جمعیت‌ها ۳۵
۶-۳-۳- فاصله ژنتیکی و شباهت ژنتیکی (Nei, 1972) ۳۵
۷-۳-۳- انحراف از تعادل هاردی– واینبرگ ۳۶
۴-۳- شناسایی عوامل بیماریزا ۳۷
۴- بحث ۳۸
۵-نتیجه گیری ۴۲
منابع ۴۳
چکیده انگلیسی ۴۵

چکیده

میگوی سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) امروزه به عنوان مهم‌ترین گونه‌های پرورشی میگوهای خانواده پنائیده در جهان محسوب می‌شود که به سرعت جایگزین بسیاری از گونه‌های بومی پرورشی در کشورهای آبزی‌پرور شده است. از آنجا که این گونه به عنوان یک گونه غیر بومی در کشور محسوب می‌شود، همواره این احتمال می‌رود که به دلیل عدم دسترسی به میگوهای وحشی و استفاده پی در پی از مولدین در اسارت، مقادیر شاخص‌های مولکولی از قبیل فراوانی آلل‌ها، تنوع ژنتیکی و تمایز ژنتیکی جمعیت‌های مختلف این گونه به دلیل آمیزش‌های خویشاوندی صورت گرفته به شدت کاهش یابد. از این رو در این مطالعه سعی شد تا با تعیین تاریخچه و منشاء ورود مولدین میگوی سفید غربی به کشور و همچنین استفاده از شاخص‌های ژنتیکی از قبیل میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده، هتروزیگوسیتی قابل انتظار، میزان فراوانی آللی، ضریب هم خونی، تمایز ژنی، فاصله ژنتیکی و شباهت ژنتیکی جمعیت‌های مختلف میگو در کشور شناسایی شوند. لذا با توجه به نتایج بدست آمده از میان جمعیت‌های مختلف وارد شده به کشور تنها سه جمعیت مولوکائی، ترکیبی و های‌هلث شناسایی شدند. بااین وجود به دلیل شباهت ژنتیکی میگوهای دو جمعیت مولوکائی و ترکیبی و همچنین بمنظور افزایش میزان تنوع ژنتیکی میگوهای این دو جمعیت به عنوان یک جمعیت در نظر گرفته شدند، که پس از مولد سازی و آمیزش درون گروهی و بین گروهی صورت گرفته میان مولدین نر و ماده دو جمعیت مولوکائی و های‌هلث در نهایت چهار ذخیره مختلف تولید شد. نتایج مطالعات مولکولی حاکی از آن بود که از میان ذخیره‌های نسل اول شاخص‌های ژنتیکی میگوهای ذخیره مولوکائی (ماده)×های‌هلث (نر) از قبیل فراوانی آلل‌های مؤثر، هتروزیگوسیتی مشاهده شده و تنوع ژنتیکی آنها بطور معنی داری بیشتر از سایر ذخیره‌ها بود. از این رو به‌گزینی میگوهای نسل اول جهت تولید میگوهای نسل دوم از میان مولدین این ذخیره صورت پذیرفت. لذا با توجه به عدم واردات مولد عاری از بیماری خاص از خارج از کشور، به دنبال آمیزش صورت گرفته میان مولدین نر و ماده این ذخیره و تولید میگوهای نسل دوم، نتایج مطالعات مولکولی حاکی از افزایش ۰ ضریب هم خونی و کاهش میزان تنوع ژنتیکی در این ذخیره در مقایسه با میگوهای نسل اول بود که این حالت ممکن است ناشی از آمیزش‌های خویشاوندی صورت گرفته میان مولدین نسل اول باشد. لذا با توجه به نتایج بدست آمده می‌توان عنوان نمود که در برنامه‌های تکثیر و اصلاح نژادی می‌بایست از آمیزش‌های خویشاوندی میان مولدین جلوگیری به عمل آید.

کلمات کلیدی: میگوی سفید غربی، شاخص‌های ژنتیکی، جمعیت، به‌گزینی

۱-مقدمه

ژنتیک مولکولی مطالعه علمی وراثت است این علم به مطالعه ساختمان، عمل و پویائی ژن‌ها، در سطح مولکولی می‌پردازد. در ژنتیک جمعیت ترکیب ژنتیکی و تکامل جوامع مختلف مورد مطالعه قرار می‌گیرد. مطالعات در زمنیه ژنتیک جمعیت با علوم دیگری همچون بوم شناسی، رده بندی، تاریخ طبیعی و آمار همپوشانی دارد. به موازات ژنتیک مولکولی، ژنتیک کمی به مطالعه صفاتی می‌پردازد که ریخت‌های حاصل از آن دارای مقادیر کمی بوده و توزیعشان همواره پیوسته می‌باشد.

از مهمترین کاربردهای ژنتیک جمعیت در علوم شیلاتی شناسایی ذخائر ژنتیکی معین و برآورد فراوانی نسبی آن‌ها در صید ذخائر طبیعی جهت مدیریت و حفاظت کارآمد شیلاتی می‌باشد. از این رو با استفاده از اطلاعات بدست آمده در کارگاه‌های تکثیر می‌توان علاوه بر بهبود جوامع طبیعی آن‌ها را احیای نمود (هالرمن، ۱۳۸۴).

همچنین شناسایی و تعیین گروه‌ها و جمعیت‌های آبزیان همراه با نشانه گذاری ژنتیکی بمنظور ردیابی تغییرات محسوس ایجاد شده در فراوانی آللی از مهمترین اهداف کاربردی مطالعات ژنتیکی در گروه‌های مختلف آبزیان می‌باشد، که می‌توان با استفاده از این روش‌ها برای شناسایی افراد یک گونه و یا فرزندانشان از سایر افراد هم گونه‌ای استفاده کرد (Hartl and Clark, 1998).

با توجه به اهمیت موضوع از زمان شروع صنعت تکثیر و پرورش میگو از سال ۱۹۷۰، تا کنون بیش از پنجاه کشور به توسعه این صنعت مبادرت ورزیده‌اند به گونه‌ای که حجم بالائی از تولیدات آبزیان این کشورها به میگوی پرورشی اختصاص یافته است (Van Hulten *et al*., 2002). امروزه مشاهده می‌شود که میگوهای خانواده پنائیده از مهم‌ترین گونه‌های پرورشی بوده که میزان تولید آن‌ها در سال ۲۰۱۱ میلادی در جهان به رقمی بالغ بر ۴ میلیون تن رسیده است که در این بین میگوی سفید غربی[1] ۹۰ درصد از سهم کل تولید جهانی میگو را بخود اختصاص داده بود (FAO, 2013).

زیستگاه اصلی میگوی سفید غربی سواحل اقیانوس آرام از جنوب مکزیک تا شمال کلمبیا می‌باشد (Perez Farfante & Kensley 1997) و بومی سازی این گونه اولین بار در زیستگاه طبیعی آن صورت گرفت (Gitterle *et al*., 2005). بدین منظور با ارائه یکسری راهکارها همراه با کاهش مخاطرات بهداشتی، شرایط پرورشی این گونه بهبود یافت (Lotz *et al*., 1995; Moss *et al*., 2005). در این رابطه لاین هایی انتخاب شدند که علاوه بر رشد مناسب، عاری از عوامل بیماریزا ویروسی بودند (Moss *et al*., 2006). این گونه در سال ۱۹۸۸ به آسیا معرفی شد و چند سال بعد جایگزین گونه ببری سیاه که گونه بومی جنوب شرق آسیا بود شد (Rosenberry, 1996). ورود میگوی سفید غربی اولین بار به کشور توسط مؤسسه تحقیقات شیلات ایران در سال ۲۰۰۴ (۱۳۸۳ شمسی)

1-*Litopenaeus vannamei*

بمنظور ایجاد تنوع گونه‌ای و مقابله با مشکلات ناشی از شیوع بیماری لکه سفید صورت گرفت و امروزه این گونه جایگزین گونه پرورشی سفید هندی شده است.

با توجه به رشد و توسعه سریع صنعت تکثیر و پرورش میگو در جهان عوامل بیماریزای تهدید کننده این صنعت از جمله باکتریایی، ویروسی، قارچی نیز سریعاً توسعه پیدا نمودند (Nunan *et al*. 1998). امروزه عنوان شده که حدود ۲۰ بیماری ویروسی، ۴ بیماری باکتریائی، ۳ بیماری قارچی و تعدادی انگل به عنوان عوامل بیماریزا قادرند در میگوهای خانواده پنائیده موجب ایجاد بیماری شوند (Tapay *et al*., 1999; Lightner, 2003) که از میان عوامل ویروسی، ویروس‌های متعلق به خانواده نیماویریده۱، پاروویریده۲، پیکورناویریده۳ و سایر ندوویریده‌ها۴ از مهم‌ترین عوامل بیماریزای ویروسی محسوب می‌شوند (Munro & Owens, 2007) که موجب ایجاد بیماری‌های ویروسی همانند بیماری ویروسی لکه سفید، بیماری نکروز عفونی بافت خونساز و هیپودرم۵، بیماری ویروسی کله زرد۶، بیماری ویروسی سندروم تورآ، بیماری باکیولوویروس مونودن۷، بیماری نکروز عفونی عضلات۸ و بیماری ویروسی هپاتوپانکراس۹ در میگوهای خانواده پنائیده می‌شوند (افشار نسب، ۱۳۸۶).

از مهمترین راهکارهای ارائه شده تولید میگوهای عاری از عوامل بیماریزا[۱۰] و میگوهای مقاوم به عوامل بیماریزا[۱۱] جهت مقابله با خسارات ناشی از عوامل بیماریزا در میگوهای خانواده پنائیده بوده است (Pruder *et al*., 1995; Lotz, 1997). که با انجام این راهکارها از یک سو علاوه بر افزایش تولید میگو در واحد سطح شیوع عوامل بیماریزا نیز بطور قابل ملاحظه‌ای کاهش پیدا کرد (Fegan & Clifford, 2001).

با توجه به اینکه میگوی سفید غربی به عنوان یک گونه غیر بومی در کشور محسوب می‌شود و همواره این احتمال وجود دارد که واردات بدون برنامه مولدین این گونه به کشور ممکن است با شیوع بیماری‌های نوظهور همراه شود. از این رو با ارائه یک راهکار مناسب می‌توان با فراهم آوردن ملزومات تولید میگوهای عاری از عوامل بیماریزا از جمله رعایت اقدامات ایمنی زیستی با به گزینی و انتخاب پیش مولدین پرورشی جمعیت‌های مختلف موجود در کشور میگوهای عاری از عوامل بیماریزای تولید نمود.

---

1 -*Nimaviridae*
2 -*Parvoviridae*
3 -*Picornaviridae*
4 -*Nidovirales*
5-Infectious Hypodermal and ematopoietic Necrosis Virus (IHHNV)
6-Yellow Head Virus (YHV)
7-MonodonBaculovirus (MBV)
8-Infection Myonecrosis Virus (IMNV)
9 -Hepatopancratic Virus (HPV)
10 -Specific pathogen-free (SPF)
11 -Specific pathogen-resistance (SPR)

همچنین حفاظت از منابع ژنتیکی در جوامع میگو نیازمند حفظ و نگهداری منابع ژنتیکی و الگوهای زیستی مشابه در مراکز تکثیر و جوامع وحشی یا طبیعی می‌باشد (Williams & Johnson, 2013; Hard, 1995). از مهمترین معایب محدود کردن جمعیت‌ها در مراکز تکثیر انقراض جمعیتی، از دست رفتن تنوع ژنتیک جوامع جمع آوری شده و از دست رفتن تنوع بین جوامع (هویت جمعیت) می‌باشد (Busack, 1995)

از دست رفتن تنوع ژنتیکی درون جمعیتی دارای چندین علت است که مهمترین علت آن انحراف ژنتیکی در حین نمونه گیری از سلول‌های جنسی در جمعیت‌های محدود می‌باشد. گفتنی است که از بین رفتن تنوع ژنتیکی در اثر انحراف ژنتیکی طی فرآیندی بنام تنش انقراض رخ می‌دهد که این روبداد با اندازه مؤثر جمعیت رابطه عکس دارد (Gilpin & Soule, 1986). همچنین آمیزش‌های دورن گروهی و از دست رفتن تنوع در اثر انحراف ژنتیکی می‌تواند باعث کاهش سازگاری و شایستگی گردد. لذا از بین رفتن شایستگی موجب کاهش اندازه مؤثر جمعیت شده و از این رو آمیزش‌های دورن گروهی و کاهش تنوع ژنتیکی به نوبه خود موجب کاهش بیشتر شایستگی خواهد شد. که در ادامه با کاهش مستمر اندازه جمعیت همواره با افزایش خطر انقراض همراه خواهد بود. از این رو کاهش تنوع ژنتیکی درون جمعیتی شایع‌ترین خطر و اثر سوء مرتبط با تصمیمات اتخاذ شده در مراکز تکثیر بویژه در رابطه با تعداد مولدین مورد استفاده و چگونگی آمیزش ایجاد شده بین آن‌ها از مهمترین دغدغه‌های تکثیر کنندگان می‌باشد.

از سوی دیگر مخاطرات ناشی از فرآیند تکثیر معمولاً با از بین رفتن تنوع ژنتکی درون جمعیتی همراه می‌باشد. از این رو براساس تئوری ژنتیک جمعیت از بین رفتن تنوع ژنتیکی جمعیت معمولاً با کاهش اندازه جمعیت مؤثر همراه می‌باشد. لذا از جمله راهکارای ارائه شده جهت افزایش نسبت اندازه جمعیت مؤثر به جمعیت کل در مراکز تکثیر میگو، استفاده از برنامه و طرح آمیزشی مناسب و صحیح بر اساس داده‌های حاصل از مطالعات مولکولی است.

با توجه به نگرانی‌های گفته شده از اواخر دهه ۱۹۶۰ استفاده از روش‌های ژنتیکی به علت دستیابی سریع به تنوع ژنتیکی فراوان همراه با قابلیت تشخیص آسان، تحول شگرفی را در استفاده از داده‌های ژنتیکی برای مطالعات جوامع ایجاد نمودند (Utter, 1991). از جمله روش‌های ژنتیکی مورد استفاده در شناسایی جمعیت‌های مختلف میگو روش مولکولی ریزماهواره بود. ریزماهوارک‌ها توالی‌های ساده تکرار شوند و واحدهای کوچک تکرار شوند ۶-۱ نوکلئوتیدی در بخش‌های مختلف ماده ژنتیکی DNA هستند که از این طریق با سنجش آنها، اطلاعات مورد نیاز در رابطه با تفاوت‌های ژنتیکی و جایگاه‌های متنوع محاسبه می‌گردد. لیکن در ابتدا با نمونه گیری از بافت عضلانی ذخائر مختلف میگوی سفید غربی در کشور بعد از شناسایی جمعیت‌های مختلف میگو، ذخیره‌های پیش مولدین نسل صفر از جمعیت‌های مختلف میگوی سفیدغربی در مزارع پرورشی کشور براساس

تاریخچه ورود و آزمایشات مولکولی ریزماهواره ای[1] بر اساس داده‌های حاصل از فراوانی آللی، هتروزیگوسیتی مشاهده شده، هتروزیگوسیتی قابل انتظار، مقادیر مربوط به ضریب هم خونی، جریان ژنی و تعادل هاری-واینتبرگ جمع آوری شدند. در ادامه با اجرای آمیزش‌های برنامه ریزی شده مولدین اصلح در نسل اول و دوم براساس شاخص‌های ژنتیکی انتخاب شدند.

1 -Microsatellite

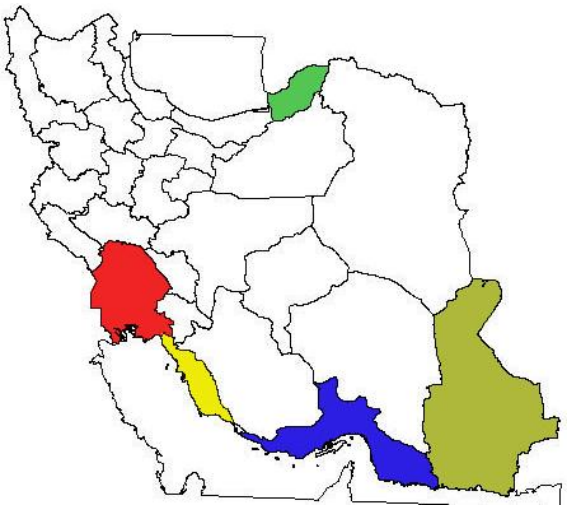
۲-مواد و روش کار

۲-۱-بررسی تاریخچه واردات مولدین سفیدغربی به کشور

بمنظور دستیابی به اطلاعات مربوط به تاریخچه مولدین میگوی سفید غربی در ابتدا با مراجعه به ادارات کل شیلات استان‌های بوشهر، خوزستان، هرمزگان، سیستان و بلوچستان و گلستان اطلاعات کاملی از تعداد مولدین وارداتی میگوهای سفید غربی به کشور و منشاء آن‌ها حاصل شد. براساس اطلاعات موجود مشاهده شد که میگوهای سفید غربی در جهان از چهار مرکز انستیو اوشنیک[۱]، مرکز آبزی پروری های هلث[۲]، سواحل دریایی کانابای[۳] و مزارع پرورشی مولوکائی[۴] منشاء گرفته‌اند.

۲-۲-شناسایی مراکز تکثیر پرورش میگوی سفید غربی در کشور

بر اساس اطلاعات موجود از تعداد مراکز تکثیر فعال و سایت‌های پرورش میگوی فعال در استان‌های فوق اطلاع حاصل شد (شکل ۱).



شکل ۱: استان‌های فعال در زمینه پرورش میگو در سطح کشور

۲-۳- تاریخچه ورود مولدین وارده شده به کشور

با توجه به اطلاعات بدست آمده مشاهده شد که مولدین میگوی سفید غربی از سال ۸۶ تا سال ۸۹ توسط بخش خصوصی وارد کشور شده است. این مولدین از مناطق مختلفی از جمله دانشگاه هلونولو واقع در منطقه هاوائی، سواحل کانابای، سواحل مولوکای و میگوهای های‌هلث مرکز انستیتو Oceanic وارد کشور شده بودند، که

1 -The Oceanic Institute (OI)
2 -High Health Aquaculture Inc.
3 -Kona Bay Marine Resources (now IAI Co.)
4 -Molokai Sea Farms

آخرین محموله وادرادتی میگو مربوط به میگوهای های هلث مرکز سفید برفی واقع در جزیره قشم بود که توسط آقای جمالی در سال ۸۹ وارد کشور شده بود.

گفتنی است که در طی سال ۹۰ و ۹۱ مراکز تکثیر میگوی کشور، مولدین خود را از مولدین جمع آوری شده از مراکز پرورش بویژه در استان‌های بوشهر و هرمزگان تأمین نموده بودند لذا با آگاهی از این موضوع و ترسیم تاریخچه مولدین مراکز تکثیر اقدام به انتخاب مراکز پرورش میگو جهت تهیه و جمع آوری پیش مولد نموده شد (جدول ۱).

جدول ۱: تاریخچه و منشاء ورود مولدین میگوی سفید غربی به کشور

استان	مرکز تکثیر	سال	منشاء		
بوشهر	رنگین کمان	۱۳۹۰	مولوکائی (نسل دوم)	مولوکائی (نسل سوم)	مولوکائی (نسل چهارم)
		۱۳۹۱	مولوکائی		
	زاد آوری مند، ارغوان میگو	۱۳۸۹	های هلث (نسل اول)		
		۱۳۹۰	های هلث (نسل دوم)		
		۱۳۹۱	های هلث (نسل سوم)		
	یاسین میگو	۱۳۹۰	مولوکائی (نسل سوم)	های هلث (نسل دوم)	
		۱۳۹۱	ترکیبی مولوکائی و های هلث		
هرمزگان (قشم)	سفید برفی	۱۳۸۹	های هلث (نسل اول)		
		۱۳۹۰	های هلث (نسل دوم)		
		۱۳۹۱	های هلث (نسل سوم)		

۴-۲- تعیین مراکز پرورش میگو

بر اساس اطلاعات بدست آمده از مراکز تکثیر میگو پس از رهگیری پست لاروهای فروخته شده به مراکز پرورش، انتخاب مراکز پرورش براساس نوع منشاء پست لاروها نمونه‌گیری از بافت عضلانی میگوهای پرورشی انجام شد (جدول ۲).

۱-۴-۲- انتخاب مراکز پرورشی

با توجه به منشاء مولدین مراکز تکثیر فوق و همچنین بمنظور دستیابی به جمعیت‌های مختلف لیست کاملی از مراکز پرورش دهنده میگوها با منشاء های مختلف بمنظور جمع آوری پیش مولد تهیه گردید. لذا با توجه به نوع مدیریت و همچنین میزان رشد و بازماندگی میگوهای پرورش داده شده از میان مراکز فوق تنها سه مرکز بمنظور جمع آوری پیش مولد انتخاب شد (جدول ۲). و نوع مدیریت بکار رفته به منظور به‌گزینی جمعیت‌های مختلف میگوی نسل صفر عاری از بیماری خاص صورت پذیرفت (جدول ۳).

جدول ۲: انتخاب مراکز پرورش میگوی سفید غربی با توجه به منشاء مولدین

ردیف	سایت پرورشی	مزرعه	منشاء مولدین
۱	حله	تعاونی ۲۷۲	High Health
۲	بندر ریگ	تعاونی ۶۷۸	Molokai
۳	دلوار ۱۴	یاسین میگو	Mix

جدول ۳: میانگین وزن و شاخص‌های مرتبط با پرورش پیش مولدین نمونه گیری شده از مزارع مختلف پرورشی

مزرعه	موقعیت	شوری	مساحت استخر (هکتار)	درصد بازماندگی	ضریب تبدیل غذایی	میزان برداشت از هر هکتار (تن)	تراکم ذخیره سازی در هکتار	مدت پرورش (روز)	میانگین وزن (گرم)
یاسین میگو	دلوار ۱۴	۴۲	۲	۸۵	۱/۲	۱۴	۶۰۰	۱۵۰	۲۴
گروه ۶۷۸	بندر ریگ	۵۲	۱/۴	۹۸	۱/۶	۵/۲	۳۳۰	۱۵۰	۱۵
تعاونی ۲۷۲	حله	۴۷	۱/۳	۹۴	۱/۴	۴	۲۵۰	۱۴۰	۲۰

۵-۲- تعیین شاخص‌های ژنتیکی نسل‌های مختلف میگو

۱-۵-۲- میگوهای نسل صفر (F_0)

۱-۱-۵-۲-نمونه گیری از پیش مولدین نسل صفر (F_0)

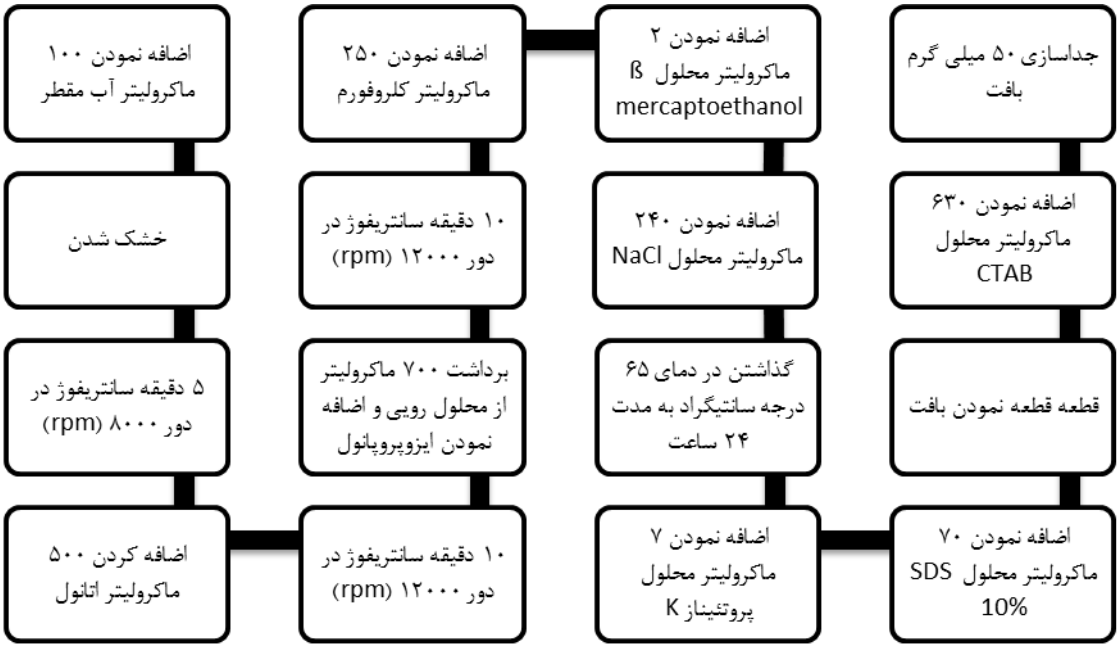
با توجه به اطلاعات حاصل از منشاء و تاریخچه ورود مولدین میگوی سفید غربی به کشور، در این مطالعه از اواخر خرداد تا اوایل شهریور ماه ۱۳۹۱ با انتخاب ۸ مرکز پرورش واقع در استان بوشهر از بافت عضلانی ۲۴۰ قطعه پیش مولد میگوی سفید غربی موجود در مراکز پرورش نمونه گیری صورت پذیرفت. بمنظور حفظ نمونه‌های بافتی، نمونه‌ها تا زمان انجام آزمایشات مولکولی در الکل ۹۶ درجه در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شدند (Tamayo, 2006) (شکل ۲).

شکل ۲: نمونه گیری از بافت عضله میگوهای پرورشی مراکز پرورش و نگهداری در الکل ۹۶ درجه

۲-۱-۵-۲- استخراج ماده ژنتیکی DNA

در این مطالعه بمنظور استخراج ماده ژنتیکی DNA از روش CTAB استفاده شد. روش کار بدین صورت بود که بعد از جدا سازی ۵۰ میلی گرم از بافت عضله میگو و قرار دادن آن در میکروتیوب های ۱/۵ میلی‌لیتر بمنظور هضم بافت از ۶۳۰ میکرولیتر محلول CTAB، ۷۰ میکرولیتر محلول SDS 10% و ۷ میکرولیتر آنزیم پروتئیناز K استفاده شد. در ادامه پس از گذشت یک شبانه روز به هر کدام از نمونه‌ها ۲۴۰ میکرولیتر محلول NaCl همراه با ۲ میکرولیتر بتامرکاپتواتانول و ۲۵۰ میکرولیتر کلروفرم افزوده شد که بعد از ته نشین نمودن DNA نمونه‌ها و شستشوی آن‌ها توسط اتانول به هر کدام از نمونه‌ها ۱۰۰ میکرولیتر آب مقطر تزریقی دوبار تقطیر اضافه و در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شد (Valles-Jimenez *et al.*, 2004) (شکل ۳ و نمودار ۱).

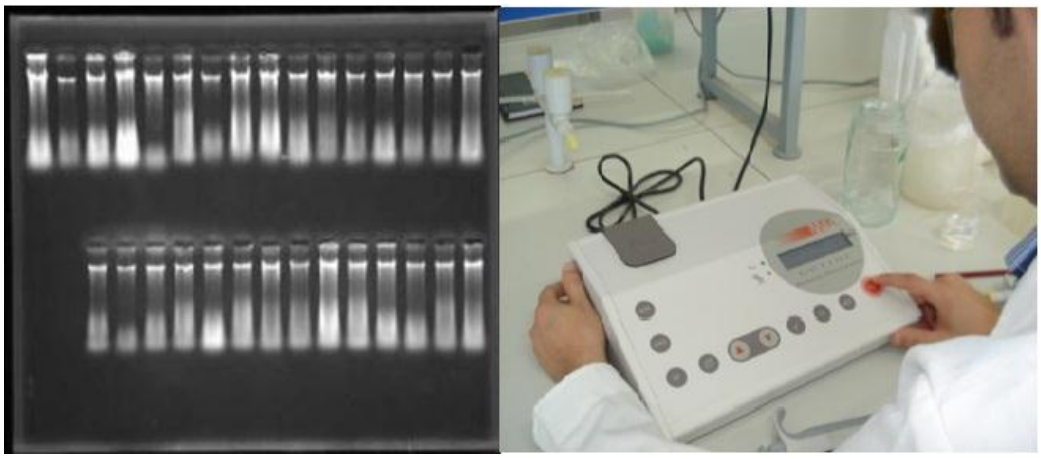
شکل ۳: خرد کردن و هموژنیزه نمودن بافت عضلانی میگوها



نمودار ۱: مراحل استخراج ماده ژنتیکی DNA از طریق روش CTAB

۳-۱-۵-۲-تعیین کیفیت و کمیت ماده ژنتیکی استخراج شده

بمنظور تعیین کیفیت DNA های استخراج شده بعد از انتقال ماده ژنتیکی DNA به ژل آگاروز ۱ درصد با استفاده از دستگاه الکتروفورز افقی کلور براساس وجود یا عدم وجود باند و شارپ بودن آن کیفیت DNA ها تعیین گردید. همچنین بمنظور تعیین کمیت DNA از دستگاه اسپکتوفتومتر مدل *WFA 1101* در طول موج‌های ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر و معادله $\frac{۲۶۰}{۲۸۰}$ میزان کمیت ماده ژنتیکی تعیین شد (Soto-Hernandez & Grijalva-Chon, 2005) شکل ۴.)



شکل ۴: تعیین کمیت و کیفیت DNA نمونه‌های استخراج شده

۴-۱-۵-۲-تکثیر توالی‌های تکرار شونده DNA **(میکروستلایت**[1]**)**

تکثیر توالی‌های تکراری DNA های نمونه‌های استخراج شده از طریق تکنیک PCR[2] با استفاده از ۸ جفت آغازگر اختصاصی پلی مورفیک میگوی سفید غربی ساخته شده توسط شرکت متابیون آلمان به سفارش شرکت سهامی خاص روبین طب صورت پذیرفت (Cruz *et al*., 2004; Freitas *et al*., 2007)(جدول ۴).

جدول ۴: توالی آغازگرهای استفاده شده در تکثیر توالی‌های تکراری (Microsatellite) میگوهای سفید غربی (*L.vannamei*) نسل صفر

آغازگر	توالی اسیدهای نوکلئوتید (′۵ ← ′۳)	سایز (bp)
Lvan01 (Freitas *et al*.,2007)	F: GCCATAAACGCAAGACTGAG R: GCAGGTATACGGTCATGTGTA	136-146
Lvan07 (Freitas *et al*.,2007)	F: AAAGAGGAAGATGAGGAAG R: CCTCGGTTACGTATTTATTG	189-223
Pvan0013 (Cruz *et al*., 2002)	F: TGCTCTGGTAACGACAAACG R: AGACCTGTGGCGAAGTGC	276-284
Pvan1758 (Cruz *et al*., 2002)	F: TATGCTCGTTCCCTTTGCTT R: TTGAAGGAAAAGTGTTGGGG	163-189
Pvan1815 (Cruz *et al*., 2002)	F: GATCATTCGCCCCTCTTTTT R: ATCTACGGTTCGAGAGCAGA	126-141
TUMXLv5.27 (Meehan *et al*., 2003)	F: CAGACCCTAAATCTCCGTGC R: TGGAAAGGTCAGAGGTCACG	166-182
TUMXLv5.38 (Meehan *et al*., 2003)	F: CCTTTATGACTTCCCCCGAC R: CCGTACAGAAACGGAACGTC	200-222
TUMXLv8.32 (Meehan *et al*., 2003)	F: TTACCGCCTAAGAGCGAATG R: TGTCCTTTCGTACCAGTCAAG	216-228
TUMXLv8.2 (Meehan *et al*., 2003)	F: TTACCGCCTAAGAGCGAATG R: TGTCCTTTCGTACCAGTCAAG	230-248

به منظور تکثیر توالی‌های تکرار شونده DNA روش کار بدین صورت بود که محصول PCR در حجم ۲۰ میکرولیتر مشتمل بر ۲ میکرولیتر (PCR Buffer)، ۱ میکرولیتر ($Mg\ Cl_2$)، ۰/۷ میکرولیتر (dNTP)، ۱ میکرولیتر (پرایمر پیشرو)، ۱ میکرولیتر (پرایمر معکوس)، ۰/۳ میکرولیتر (Taq DNA)، ۱۳ میکرولیتر آب مقطر دوبار تقطیر و ۱ میکرولیتر DNA نمونه تهیه شد (Freitas & Galetti Junior, 2002).

1-Microsatellite
2-polymerase chain reaction

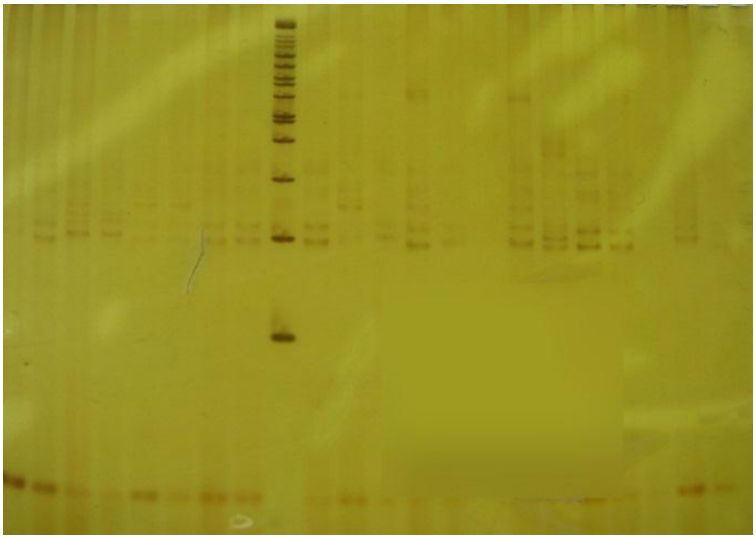
۵-۱-۵-۲-تکثیر جایگاه‌ها در دستگاه ترموسایکلر

در این مطالعه از دستگاه ترموسایکلر مدل Corrbet جهت تکثیر توالی‌های تکرار شونده DNA استفاده شد. تکثیر جایگاه‌ها توسط دستگاه ترموسایکلر از سه مرحله تشکیل شده بود، بدین صورت بود که مرحله اول شامل واسرشت شدن اولیه[۱] در درجه حرارت ۹۴ درجه سانتیگراد به مدت ۳ دقیقه برای یک چرخه، مرحله دوم شامل واسرشت شدن[۲] در ۹۴ درجه سانتیگراد، اتصال به قطعه هدف[۳] در درجه حرارت ۶۰ درجه سانتیگراد و بسط شدن[۴] در درجه حرارت ۷۲ درجه سانتیگراد هر کدام به مدت ۳۰ ثانیه برای ۳۰ چرخه تنظیم گردید. در انتها بسط نهایی[۵] در درجه حرارت ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۵ دقیقه در یک چرخه صورت پذیرفت.

در ادامه بعد از تزریق ۵ میکرولیتر محصول PCR به درون چاهک‌های ایجاد شده بر روی ژل پلی آکریل آمید ۸ درصد همراه با نشانگر استاندارد[۶] bp ۳۰۰۰–۱۰۰، پس از ران نمودن دستگاه الکتروفورز عمودی مدل کلور به مدت ۲ ساعت ۳۰ دقیقه، و رنگ آمیزی ژل پلی آکریل آمید با نیترات نقره ۱ درصد، طول هر باند با توجه به طول نشانگر استاندار محاسبه شد (Borrell *et al*., 2004) (شکل‌های ۵ و ۶).

شکل ۵: تزریق محصول PCR بر روی ژل آکریل آمید دستگاه الکتروفورز عمودی کلور

1-Pre denature
2-Denature
3-Anneealing
4-Extraction
5-Final Extraction
6 -Marker



شکل ۶: باندهای تشکیل شده بر روی ژل آکریل آمید

۶-۲-تجزیه و تحلیل شاخص‌های ژنتیکی جمعیت‌ها در جایگاه‌های میکروستلایت

با استفاده از نرم افزار Gene Alex (ver. 6) و POPGENE (ver 3.1) برای هر جایگاه مقادیر فراوانی آلل های مؤثر و واقعی، هتروزیگوسیتی مورد انتظار، هتروزیگوسیتی مشاهده شده، ماتریکس شباهت و فاصله ژنتیکی (Nei, 1978)، تعادل هاردی–واینبرگ، تفاوت ژنتیکی (F_{st})، جریان ژنی، ضریب هم خونی (F_{is}) تعیین شد (Peakall & Smouse, 2006). همچنین درخت موضع شناسی تکاملی بین نمونه‌ها براساس فاصله ژنتیکی با استفاده از نرم افزار TFPGA ترسیم گردید.

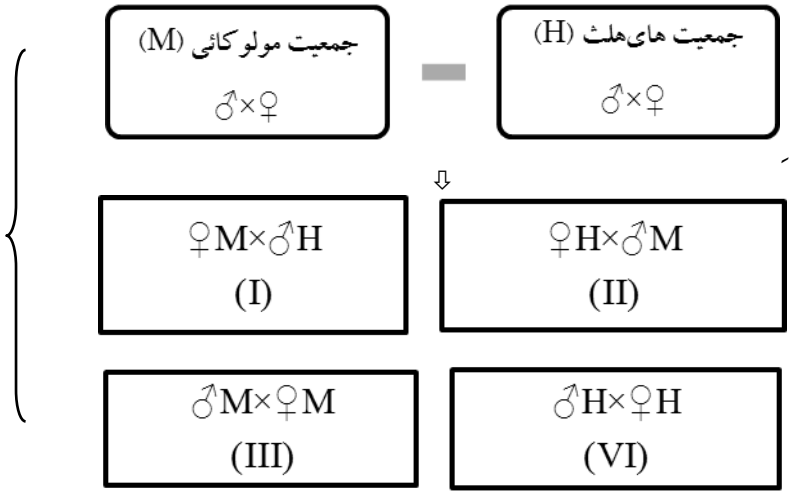
۱-۶-۲-به گزینی پیش مولدین نسل صفر (F_0)

در این مطالعه بهگزینی مولدین نسل صفر میگوی سفید غربی براساس منشاء ورود و داده‌های حاصل از شاخص‌های ژنتیکی بدست آمده از قبیل فراوانی آلل، هتروزیگوسیتی مشاهده شده، هتروزیگوسیتی قابل انتظار، میزان ضریب هم خونی، جریان ژنی، فاصله ژنتیکی، شباهت ژنتیکی و تعادل هاردی–واینبرگ صورت گرفت. لذا باتوجه به‌گزینی صورت گرفته و نتایج حاصل از آزمایشات بیماری شناسی دو جمعیت مولوکائی و های‌هلث از سه جمعیت مولوکائی، های‌هلث و ترکیبی (مخلوط مولوکائی و های‌هلث) میگوی سفید غربی جمع آوری شده از مراکز پرورش میگوی کشور به عنوان مولدین نسل صفر میگوهای عاری از بیماری خاص در نظر گرفته شدند. شایان ذکر است که بمنظور افزایش تنوع ژنتیکی، میگوهای جمعیت مولوکائی از دو جمعیت مولوکائی و ترکیبی انتخاب گردیدند (شکل ۷).

شکل ۷: بهگزینی پیش مولدین میگوی نسل صفر

۱-۱-۶-۲- تکثیر مولدین نسل صفر و تولید میگوهای نسل اول

با توجه به وجود مولدین دو جمعیت مولوکائی و های‌هلث تکثیر میگوهای نسل صفر به دو صورت داخل گروهی و بین گروهی صورت پذیرفت (نمودار ۲).



نمودار ۲: برنامه تلاقی درون گروهی و بین گروهی مولدین نسل صفر

۲-۶-۲- تعیین شاخص‌های ژنتیکی میگوهای نسل اول (F1)

۱-۲-۶-۲- نمونه گیری از میگوهای نسل اول (F1)

به دنبال تکثیر مولدین نسل صفر و تولید چهار ذخیره مختلف میگوی نسل اول از بافت عضله بچه میگوها با وزن ۵ گرم نمونه‌گیری به عمل آمد. با توجه به مطالب پیشین، نمونه‌ها تا زمان انجام مطالعات مولکولی ریزماهواره در

الکل ۹۶ درجه در درجه حرارت ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. در نهایت پس از استخراج ماده ژنتیکی با استفاده از روش CTAB و تعیین کمیت و کیفیت ماده ژنتیکی (DNA) استخراج شده تکثیر توالی‌های توالی‌های تکراری DNA های نمونه‌های استخراج شده از طریق تکنیک PCR[1] با استفاده از ۱۲ جفت آغازگر اختصاصی پلی مورفیک میگوی سفید غربی ساخته شده توسط شرکت متابیون آلمان به سفارش شرکت سهامی خاص روبین طب صورت پذیرفت (Garcia and Alcivar-Warren, 2007Cruz *et al*., 2004; Freitas *et al*., 2007;) (جدول ۵).

جدول ۵: توالی آغازگرهای استفاده شده در تکثیر توالی‌های تکراری (Microsatellite) میگوهای سفید غربی (*L.vannamei*) نسل اول دوم

ردیف	پرایمر	توالی (`3→`5)
۱	Lvan01 (De Freitas *et al*., 2007)	F: GCCATAAACGCAAGACTGAG
		R: GCAGGTATACGGTCATGTGTA
۲	Lvan07 (De Freitas *et al*., 2007)	F: AAAGAGGAAGATGAGGAAG
		R: CCTCGGTTACGTATTTATTG
۳	Pvan0013 (Cruz *et al*., 2002)	F: TGCTCTGGTAACGACAAACG
		R: AGACCTGTGGCGAAGTGC
۴	Pvan1758 (Cruz *et al*., 2002)	F: TATGCTCGTTCCCTTTGCTT
		R: TTGAAGGAAAAGTGTTGGGG
۵	Pvan1815 (Cruz *et al*., 2002)	F: GATCATTCGCCCCTCTTTTT
		R: ATCTACGGTTCGAGAGCAGA
۶	TUMXLv5.27 (De Freitas *et al*., 2007)	F: CAGACCCTAAATCTCCGTGC
		R: TGGAAAGGTCAGAGGTCACG
۷	TUMXLv5.38 (De Freitas *et al*., 2007)	F: CCTTTATGACTTCCCCCGAC
		R: CCGTACAGAAACGGAACGTC
۸	TUMXLv8.32 (De Freitas *et al*., 2007)	F: TTACCGCCTAAGAGCGAATG
		R: TGTCCTTTCGTACCAGTCAAG
۹	M1 (Wolfus *et al*.1997)	F: GTGTGTTGCGGAATCGAA
		R: CTAACCCAATATCGAATC
۱۰	TUDGLv5-7.33 (Garcia and Alcivar-Warren, 2007)	F: TGCTAGAATGTCTTTCGAAG
		R: GTCTGGGGAAATCTTTAATG
۱۱	TUDGLv7-9.17 (Garcia and Alcivar-Warren, 2007)	F: ATGGTGAATATAAGGAAGCT
		R: TGTGATATGGTTTTTGGAG
۱۲	TUDGPv3-5.378 (Garcia and Alcivar-Warren, 2007)	F: TCGGAAGGTGTCTTTCCAAAC
		R: AGGAAACCTATCATCGCCGT

1-polymerase chain reaction

۳-۶-۲- به گزینی میگوهای نسل اول (F_1)

با توجه به اینکه هدف از این مطالعه انتخاب یک ذخیره میگو به عنوان ذخیره میگوی عاری از بیماری خاص بود لذا بهگزینی میگوهای نسل اول بر اساس شاخص‌های ژنتیکی بدست آمده صورت پذیرفت. از این بر اساس اطلاعات بدست آمده ذخیره‌هایی از میگو انتخاب شدند که هم از فراوانی آللی و هتروزیگوسیتی بیشتری نسبت به سایر ذخیره‌های تولید شده برخوردار بودند و هم اینکه میزان ضریب هم خونی در آنها در مقایسه با سه ذخیره دیگر از کمترین میزان بر خوردار بود.

۱-۳-۶-۲- تکثیر مولدین نسل اول و تولید میگوهای نسل دوم

با توجه به وجود یک ذخیره از میگوهای نسل اول، بعد از مولد سازی آنها بر اساس برنامه تکثیر صورت گرفته در نهایت میگوهای نسل دوم از مولدین میگوی نسل اول حاصل شد.

۴-۶-۲- تعیین شاخص‌های ژنتیکی میگوهای نسل دوم (F_2)

۱-۴-۶-۲- نمونه گیری از میگوهای نسل دوم (F_2)

بمنظور تعیین شاخص‌های ژنتیکی میگوهای نسل دوم، پس از نمونه گیری از بافت عضله آنها و استخراج ماده ژنتیکی در نهایت با استفاده از ۱۲ جفت پرایمر اختصاصی شاخص‌های ژنتیکی میگوهای نسل دوم تعیین گردید (جدول ۵).

۷-۲- تجزیه و تحلیل داده‌های بدست آمده

در پایان مطالعه با استفاده از آزمون کلموگراف-اسمیرنوف نرمال نمودن پراکنش داده‌های حاصل از فراوانی آلل‌های مؤثر، هتروزیگوسیتی مشاهده شده، هتروزیگوسیتی قابل انتظار و ضریب هم خونی، با استفاده از نرم افزار آماری SPSS (Ver:18) از طریق آنالیز واریانس یک طرفه ANOVA با استفاده از آزمون Tukey`s و آنالیز t-test با سطح اطمینان ۹۵ درصد مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند.

۳- نتایج

۱-۳- شاخص‌های ژنتیکی میگوهای نسل صفر

۱-۱-۳- نتایج میزان تنوع ژنتیکی و فراوانی آلل ها

نتایج حاصل از بررسی میزان تنوع ژنتیکی میگوهای سفید غربی سه جمعیت مورد بررسی توسط هشت آغازگر اختصاصی میکروستلایت حاکی از این مطلب بود که دامنه هتروزیگوسیتی مشاهده شده (H_o) در جمعیت‌های ترکیبی، های هلث و مولوکائی به ترتیب ۰/۷-۰/۱۱، ۰/۸۵-۰/۱۶ و ۰/۹-۰/۲۱ بود. این در حالی بود که حداکثر و حداقل هتروزیگوسیتی مورد انتظار (H_e) در جمعیت‌های فوق به ترتیب ۰/۸۵-۰/۴۳، ۰/۸۲-۰/۴۸ و ۰/۸۳-۰/۱۹ بود.

همچنین بیشترین تعداد آلل واقعی (N_a) مشاهده شده در جمعیت‌های ترکیبی، های هلث هر کدام ۹ و در جمعیت مولوکائی ۸ بود که همگی مربوط به جایگاه آغازگر Lava07 بود. از سوی دیگر مشاهده شد که دامنه آلل واقعی مشاهده شده در سه جمعیت مورد بررسی در فاصله ۹ – ۲ قرار داشت. در رابطه با آلل های مؤثر (N_e) نتایج نشان داد که حداکثر و حداقل آن در جمعیت ترکیبی، های هلث و مولوکائی به ترتیب ۵/۶-۱/۷۶، ۵/۵۵-۱/۹۳ و ۵/۸۸-۱/۲ می‌باشد (جدول ۶).

همچنین نتایج حاصل بررسی آنالیز آماری داده‌های هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار حاکی از این مطلب بود که مقادیر هتروزیگوسیتی مشاهده شده در تمام جمعیت ترکیبی و های هلث بطور معنی داری کمتر از مقادیر مرتبط با هتروزیگوسیتی مورد انتظار می‌باشد ($P<0.05$). این در حالی بود که علیرغم کمتر بودن میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده نسبت به هتروزیگوسیتی مورد انتظار در جمعیت مولوکائی هیچگونه تفاوت معنی دار آماری مشاهده نشد ($P>0.05$) (جدول ۸).

جدول ۶: مقادیر شاخص‌های ژنتیکی میگوهای جمعیت مختلف نسل صفر

جمعیت	آغازگر	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	میانگین
ترکیبی (Mix)	تعداد نمونه	۱۸	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	۱۹	۱۹/۶۲۵±۰/۲۶۳
	تعداد آلل واقعی (N_a)	۳	۹	۳	۵	۴	۵	۶	۶	۵/۱۲۵±۰/۶۹۳
	تعداد آلل مؤثر (N_e)	۲/۲۴۲	۶/۵۰۴	۱/۷۶۶	۳/۶۵۳	۲/۹۳۰	۳/۴۹۳	۳/۵۵۶	۳/۴۳۸	۳/۴۴۸±۰/۴۹۹
	هتروزگوسیتی مشاهده شده (H_o)	۰/۱۶۷	۰/۴۵۰	۰/۴۵۰	۰/۳۵۰	۰/۳۰۰	۰/۵۵۰	۰/۷۰۰	۰/۱۰۵	۰/۳۸۴±۰/۰۶۹
	هتروزیگوسیتی مورد انتظار (H_e)	۰/۵۵۴	۰/۸۴۶	۰/۴۳۴	۰/۷۲۶	۰/۶۵۹	۰/۷۱۴	۰/۷۱۹	۰/۷۰۹	۰/۶۷۰±۰/۰۴۴
های هلث (H.H)	تعداد نمونه	۱۹	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	۱۰	۲۰	۱۸/۶۲۵±۱/۲۳۸
	تعداد آلل واقعی (N_a)	۳	۹	۴	۷	۳	۵	۶	۶	۵/۳۷۵±۰/۷۳۰
	تعداد آلل مؤثر (N_e)	۱/۹۳۶	۵/۵۵۶	۳/۱۶۲	۵/۲۶۳	۲/۴۹۲	۳/۱۳۷	۴/۰۸۲	۴/۹۶۹	۳/۸۲۵±۰/۴۷۶
	هتروزگوسیتی مشاهده شده (H_o)	۰/۱۵۸	۰/۶۵۰	۰/۳۰۰	۰/۵۰۰	۰/۲۰۰	۰/۸۵۰	۰/۶۰۰	۰/۷۵۰	۰/۵۰۱±۰/۰۹۱
	هتروزیگوسیتی مورد انتظار (H_e)	۰/۴۸۳	۰/۸۲۰	۰/۶۸۴	۰/۸۱۰	۰/۵۹۹	۰/۶۸۱	۰/۷۵۵	۰/۷۹۹	۰/۷۰۴±۰/۰۴۲
مولوکائی (M)	تعداد نمونه	۱۸	۲۰	۱۹	۱۹	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	۱۹/۵۰۰±۰/۲۶۷
	تعداد آلل واقعی (N_a)	۳	۸	۲	۶	۳	۵	۴	۴	۴/۳۷۵±۰/۶۸۰
	تعداد آلل مؤثر (N_e)	۲/۳۱۴	۵/۸۸۲	۱/۲۳۲	۴/۳۴۹	۱/۳۵۴	۳/۲۲۶	۳/۰۶۵	۳/۶۲۰	۳/۱۳۰±۰/۵۴۷
	هتروزگوسیتی مشاهده شده (H_o)	۰/۲۲۲	۰/۵۵۰	۰/۲۱۱	۰/۳۶۸	۰/۳۰۰	۰/۹۰۰	۰/۸۰۰	۰/۴۰۰	۰/۴۶۹±۰/۰۹۲
	هتروزیگوسیتی مورد انتظار (H_e)	۰/۵۶۸	۰/۸۳۰	۰/۱۸۸	۰/۷۷۰	۰/۲۶۱	۰/۶۹۰	۰/۶۷۴	۰/۷۲۴	۰/۵۸۸±۰/۰۸۴

جدول ۷: اختلاف آماری موجود میان هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار در جمعیتهای مورد مطالعه

$(H_o - H_e)$	جمعیت	*P value*
هتروزیگوسیتی مشاهده شد در مقابل هتروزیگوسیتی مورد انتظار	ترکیبی (Mix)	۰/۰۷
	های هلث (H.H)	۰/۰۲
	مولوکائی (M)	۰/۲۰۸

۲-۱-۳- فراوانی آلل ها در جایگاه‌های مورد بررسی در سه جمعیت مورد مطالعه

در رابطه با فراوانی آلل های واقعی در سطح بیشتر از ۵ درصد (5% ≤) در جمعیت‌های ترکیبی، های هلث و مولوکائی به ترتیب ۰/۶۶±۴/۸۷، ۰/۵۹±۴/۷۵ و ۰/۵۸±۳/۸۷ می‌باشد. از سوی دیگر مشاهده شد که بعضی از آلل ها در جایگاههای مختلف برای هر کدام از جمعیت‌ها اختصاصی می‌باشند (جدول). که این میزان برای جمعیت ترکیبی، های هلث به ترتیب ۰/۱۸±۰/۳۷، ۰/۳۶±۰/۷۵ بود لیکن هیچگونه آلل اختصاصی برای

جمعیت مولوکائی مشاهده نشد. از سوی دیگر عملاً فراوانی آلل های اختصاصی در سطوح بیشتر از ۲۵ (≥25%) و ۵۰ (≥50%) صفر می‌باشد، لیکن هیچگونه تنوعی بالاتر از این اعداد مشاهده نشد (جدول ۸).

جدول ۸: آلل های اختصاصی و فراوانی آنها جمعیت ترکیبی و های هلث در جایگاههای مختلف

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

جایگاه Lvan 01

نتایج حاکی از این بود که در جایگاه Lvan 01 بیشترین فراوانی آلل ۲ در جمعیت ترکیبی و مولوکائی می‌باشد در حالیکه در جمعیت‌های هلث بیشترین فراوانی در آلل ۳ مشاهده شد (نمودار ۳).

جایگاه Lvan 07

نتایج نشان داد که بیشترین فراوانی آلل در جمعیت ترکیبی، های هلث و مولوکائی به ترتیب مربوط به آلل ۶، ۸ و ۳ می‌باشد (نمودار ۳).

جایگاه Pvan 0013

نتایج حاکی از آن بود که در جمعیت ترکیبی، های هلث و مولوکائی به ترتیب فراوانی بیشترین آلل مربوط به آلل ۳، ۴ و ۳ می‌باشد (نمودار ۳).

جایگاه Pvan 1758

نتایج حاکی از آن بود که در جمعیت ترکیبی، های هلث و مولوکائی به ترتیب بیشترین فراوانی آلل مربوط به آلل ۸، ۲ و ۵ می‌باشد (نمودار ۳).

جایگاه Pvan 1815

نتایج حاکی از آن بود که در جمعیت ترکیبی، های هلث و مولوکائی به ترتیب بیشترین فراوانی آلل مربوط به آلل ۳، ۳ و ۲ می‌باشد (نمودار ۳).

جایگاه TUMXLv 5.27

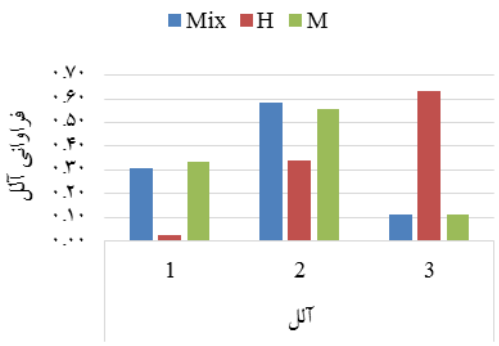
نتایج حاکی از آن بود که در جمعیت ترکیبی، های هلث و مولوکائی به ترتیب بیشترین فراوانی آلل مربوط به آلل ۵، ۴ و ۳ می‌باشد (نمودار ۳).

جایگاه TUMXLv 5.27

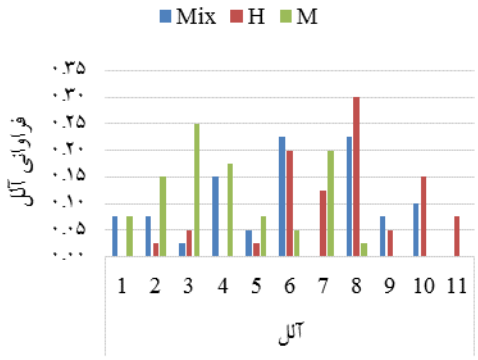
نتایج حاکی از آن بود که در جمعیت ترکیبی، های هلث و مولوکائی به ترتیب بیشترین فراوانی آلل مربوط به آلل ۵، ۴ و ۳ می‌باشد (نمودار ۳).

جایگاه TUMXLv 8.32

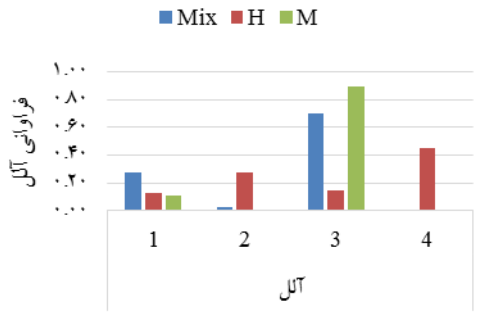
نتایج حاکی از آن بود که در جمعیت ترکیبی، های هلث و مولوکائی به ترتیب بیشترین فراوانی آلل مربوط به آلل ۵، ۳ و ۶ می‌باشد (نمودار ۳).



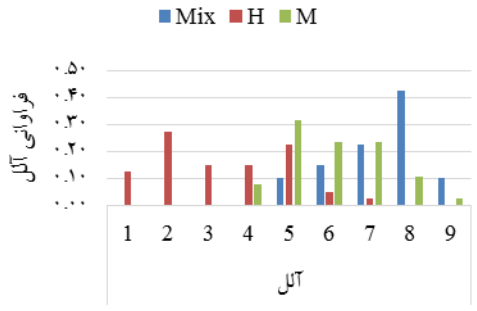
Lvan 01



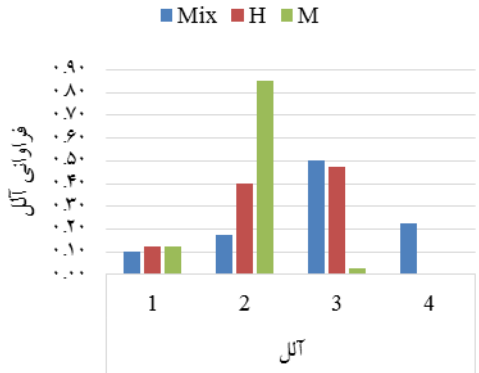
Lvan07



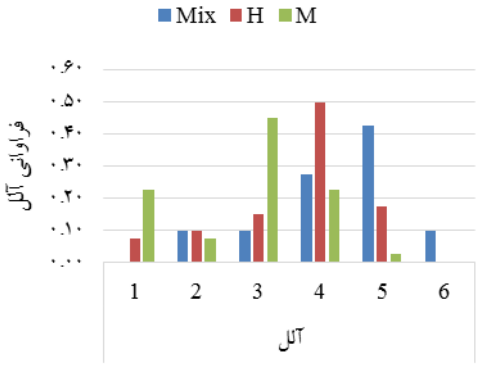
Pvan0013



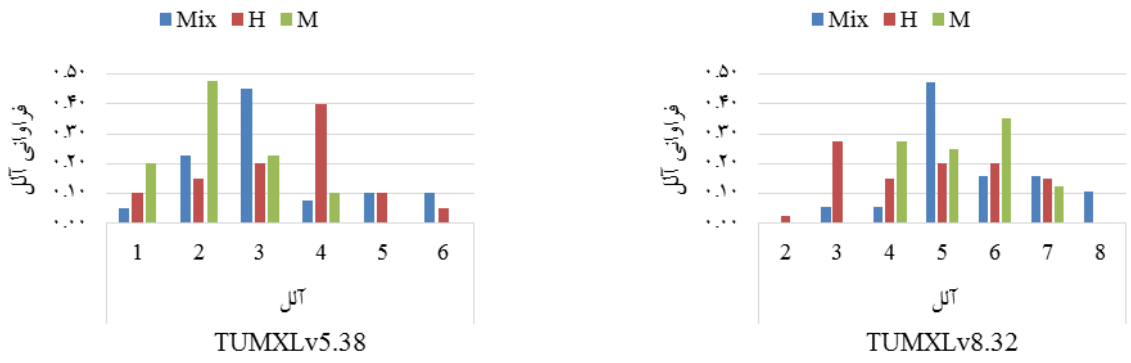
Pvan1758



Pvan1815



TUMXLv5.27



نمودار ۳: فراوانی آلل ها در جایگاه مختلف جمعیت‌های ترکیبی، های هلث و مولوکائی

۳-۱-۳- میزان ضریب هم خونی (F_{is})

تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از ضریب هم خونی نشان داد که میزان این ضریب در جمعیت‌های مورد بررسی به دلیل کاهش میزان تنوع ژنتیکی (هتروزیگوسیتی) مثبت می‌باشد. لیکن در جمعیت ترکیبی و های هلث به ترتیب در دو آغازگر Pvan0013 و TUMXLv 5.27 این میزان به دلیل افزایش میزان تنوع ژنتیکی منفی بود. این در حالی بود که در جمعیت مولوکائی این میزان در چهار آغازگر Pvan0013، Pvan 1815، TUMXLv 5.27 و TUMXLv 5.38 منفی بود (جدول ۹).

جدول ۹: مقادیر ضریب هم خونی (Fis) در جمعیت‌های ترکیبی، های هلث و مولوکائی

جمعیت	Lvan 01	Lvan 07	Pvan 0013	Pvan 1758	Pvan 1815	TUMXLv 5.27	TUMXLv 5.38	TUMXLv 8.32
ترکیبی	+۰/۶۹۹	+۰/۴۶۸	−۰/۰۳۷	+۰/۵۱۸	+۰/۵۴۵	+۰/۲۲۹	+۰/۰۲۶	+۰/۸۵۲
های هلث	+۰/۶۷۳	+۰/۲۰۷	+۰/۵۶۱	+۰/۳۸۳	+۰/۶۶۶	−۰/۲۴۸	+۰/۲۰۵	+۰/۰۶۱
مولوکائی	+۰/۶۰۹	+۰/۳۳۷	−۰/۱۱۸	+۰/۵۲۲	−۰/۱۴۸	−۰/۳۰۴	−۰/۱۸۷	+۰/۴۴۷

۴-۱-۳- تمایز ژنتیکی (F_{st}) جمعیت‌ها

نتایج حاصل از تمایز ژنتیکی میان جمعیت‌های مورد مطالعه حاکی از وجود یک تمایز ژنتیکی پائین تا متوسط بود. به گونه‌ای که تمایز ژنتیکی موجود میان جمعیت‌های های هلث و مولوکایی ۰/۱۸۲ بود که در سطح متوسط قرار داشت و از لحاظ آماری کاملاً معنی دار بود ($P<0.01$). این در حالی بود که تمایز موجود بین جمعیت‌های هلث و ترکیبی و همچنین جمعیت ترکیبی و مولوکائی به ترتیب ۰/۱۳۵ و ۰/۱۱۷ بود که این میزان در سطح پائین تمایز ژنتیکی قرار داشت، لیکن از لحاظ آماری کاملاً معنی دار بود ($P<0.01$). در رابطه با مقادیر جریان

ژنی (ارتباطات ژنتیکی) میان جمعیت‌های مختلف بیشترین میزان میان جمعیت‌های ترکیبی و مولوکائی و کمترین میزان میان جمعیت‌های هلث و مولوکائی بود (جدول ۱۰).

جدول ۱۰: مقادیر تمایز ژنتیکی جمعیت‌های مختلف شناسایی شده

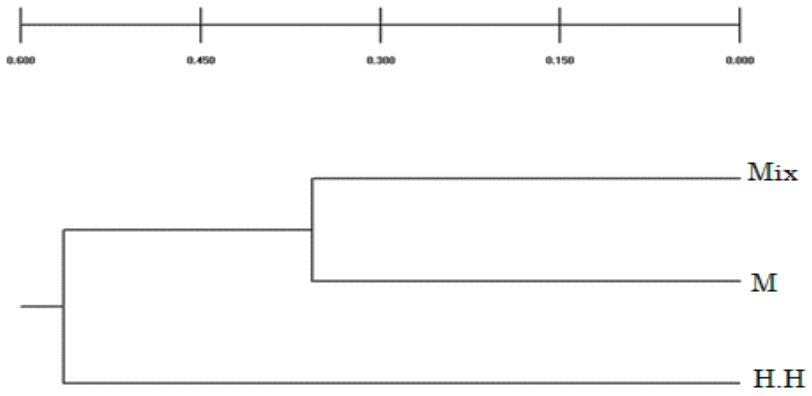
جمعیت	های هلث	مولوکائی
ترکیبی	۰/۱۳۵	۰/۱۱۷
مولوکائی	۰/۱۸۲	۰/۰۰

۵-۱-۳- فاصله ژنتیکی[1] و شباهت ژنتیکی[2] (Nei, 1972)

در این رابطه نتایج نشان داد که بیشترین میزان فاصله ژنیتکی میان جمعیت‌های هلث و مولوکائی و کمترین میزان میان جمعیت‌های ترکیبی و مولوکائی مشاهده شد. همچنین بیشترین شباهت ژنتیکی نیز میان جمعیت ترکیبی و مولوکائی مشاهده شد (جدول ۱۲ و نمودار ۴).

جدول ۱۱: مقادیر فاصله موجود در میان جفت جمعیت‌های مورد مطالعه

جمعیت	فاصله ژنتیکی	
	ترکیبی	های هلث
های هلث	۰/۵۱۲	
مولوکائی	۰/۳۵۷	۰/۶۱۵



نمودار ۴: درخت موضع شناسی تکاملی براساس فاصله ژنتیکی (براساس معیار Nei, 1972)

1 -Genetic Distance
2 -Genetic Identity

۶-۱-۳- انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ

براساس آزمون مربع کای (χ^2) در هر سه جمعیت ترکیبی، های هلث و مولوکائی در جایگاه‌های مختلف ریزماهواره انحراف از تعادل هاری واینبرگ مشاهده شد (*P<0.05, ** P<0.01, *** P<0.001*). به استثنای جایگاه Pvan 0013 در جمعیت ترکیبی، جایگاه‌های TUMXLv 5.38 و TUMXLv 8.32 در جمعیت‌های هلث و جایگاه‌های Pvan 0013، Pvan 1815، TUMXLv 5.27 و TUMXLv 5.38 در جمعیت مولوکائی که هیچگونه اختلاف معنی دار آماری مشاهده نشد (جدول ۱۲).

جدول ۱۲: نتایج آزمون کای (χ^2) برای تعادل هاری – واینبرگ برای جایگاه‌های مختلف پلی مورفیک در جمعیت‌های مختلف نسل صفر

جمعیت	عوامل تعادل χ^2	Lvan 01	Lvan 07	Pvan 0013	Pvan 1758	Pvan 1815	TUMXLv 5.27	TUMXLv 5.38	TUMXLv 8.32
ترکیبی	درجه آزادی	۳	۳۶	۳	۱۰	۶	۱۰	۱۵	۱۵
	آزمون مربع کای	۱۶/۴۷۱	۷۷/۰۳۷	۲/۸۱۳	۲۷/۱۲۲	۲۱/۹۲۷	۲۵/۴۱۸	۳۸/۵۱۹	۷۶/۲۳۵
	احتمال	۰/۰۰۱	۰/۰۰۰	۰/۴۲۱	۰/۰۰۲	۰/۰۰۱	۰/۰۰۵	۰/۰۰۱	۰/۰۰۰
	معنی دار بودن	***	***	ns	**	**	**	***	***
های هلث	درجه آزادی	۳	۳۶	۶	۲۱	۳	۱۰	۱۵	۱۵
	آزمون مربع کای	۱۱/۶۱۸	۷۱/۰۷۸	۲۴/۹۱۰	۳۸/۸۶۱	۱۹/۹۱۷	۳۸/۳۰۰	۱۶/۲۵۰	۲۰/۱۷۴
	احتمال	۰/۰۰۹	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۱۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۳۶۶	۰/۱۶۵
	معنی دار بودن	**	***	***	*	***	***	ns	ns
مولوکائی	درجه آزادی	۳	۲۸	۱	۱۵	۳	۱۰	۶	۶
	آزمون مربع کای	۱۸/۷۲۰	۴۸/۶۸۶	۰/۲۶۳	۳۳/۶۰۲	۰/۶۲۳	۱۴/۸۱۵	۶/۲۳۶	۱۵/۵۰۹
	احتمال	۰/۰۰۰	۰/۰۰۹	۰/۶۰۸	۰/۰۰۴	۰/۸۹۱	۰/۱۳۹	۰/۳۹۷	۰/۰۱۷
	معنی دار بودن	***	**	Ns	**	ns	ns	ns	*

۷-۱-۳- تعداد میگوهای جمع آوری شده از مزارع پرورش میگو

تعداد میگوهای جمعیت‌های مختلف ذخیره سازی شده در تانک‌های چهار تنی سالن قرنطینه

با توجه به نتایج حاصل از مطالعات مولکولی و جمعیت‌های شناسایی شده اقدام به جمع آوری پیش مولد از مزارع پرورش میگو نموده شد. لذا پس از جمع آوری پیش مولدین، با تراکم‌های مختلف در تانک‌های چهار تنی فایبرگلاس در سالن قرنطینه ایستگاه تحقیقاتی بندرگاه ذخیره به مدت یک ماه ذخیره سازی و از لحاظ وجود عوامل بیماریزا مورد بررسی قرار گرفتند (جدول ۱۳).

جدول ۱۳: تعداد میگوهای ذخیره سازی شده در تانک‌های نگهداری پیش مولدین به تفکیک جمعیت

جمعیت	مولوکائی					ترکیبی							های هلث					
تانک	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲	۱۳	۱۴	۱۵	۱۶	۱۷	۱۸
تعداد میگوهای ذخیره سازی شده	۱۷۳	۱۴۷	۱۳۰	۱۰۶	۱۹۰	۱۲۹	۸۵	۱۲۴	۹۵	۱۰۰	۱۰۳	۱۰۶	۱۴۸	۱۷۳	۱۱۳	۸۲	۲۲۰	۱۷۷
مجموع کل	۷۴۶					۷۴۲							۹۱۳					

۲-۳- شاخص‌های ژنتیکی میگوهای نسل اول

۱-۲-۳- میزان تنوع ژنتیکی و فراوانی آلل ها

با توجه به از بین رفتن ذخیره میگوهای حاصل از تلاقی درون گروهی مولوکائی × مولوکائی (M.M) نتایج حاصل از بررسی میزان تنوع ژنتیکی میگوهای سه ذخیره تولیدی نسل اول بررسی شده توسط دوازده آغازگر اختصاصی میکروستلایت حاکی از این مطلب بود که دامنه هتروزیگوسیتی مشاهده شده (H_o) در ذخیره‌های مولوکائی × های‌هلث (M.H)، های‌هلث × مولوکائی (H.M) و های‌هلث × های‌هلث (H.H) به ترتیب ۰/۹۷– ۰/۱۱، ۰/۹۰–۰/۰۳ و ۰/۸۳–۰/۰ بود. در حالی بود که حداکثر و حداقل هتروزیگوسیتی مورد انتظار (H_e) در جمعیت‌های فوق به ترتیب ۰/۸۴–۰/۴۶، ۰/۸۳–۰/۴۸ و ۰/۸۰–۰/۵۰ بود.

بیشترین تعداد آلل واقعی (N_a) مشاهده شده در ذخیره مولوکائی × های‌هلث (M.H) با ۹ آلل بود که این میزان در دو ذخیره دیگر هر کدام حداکثر ۸ آلل بود که مربوط به جایگاه‌های آغازگر M1 و TUDGLv5-7.33 بود. از سوی دیگر مشاهده شد که دامنه آلل واقعی مشاهده شده در ذخیره مولوکائی × های‌هلث (M.H) در فاصله ۹ – ۳ و در دو ذخیره دیگر در دامنه ۸–۲ قرار داشت. در رابطه با آلل های مؤثر (N_e) نتایج نشان داد که حداکثر و حداقل آن در سه ذخیره فوق به ترتیب ۶/۲۹–۲/۰۲، ۵/۸۴–۱/۹۲ و ۵/۱۱–۲ می‌باشد.

همچنین نتایج حاصل بررسی آنالیز آماری داده‌های هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار حاکی از این مطلب بود که مقادیر هتروزیگوسیتی مشاهده شده در دو ذخیره میگوی نسل اول بطور معنی داری کمتر از

مقادیر مرتبط با هتروزیگوسیتی مورد انتظار بود ($P<0.05$) (جدول ۱۴). این در حالی بود که در میگوهای ذخیره مولوکائی × های‌هلث علیرغم کمتر بودن میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده نسبت به قابل انتظار این مقدار غیر معنی دار بود (جدول ۱۵).

جدول ۱۴: مقادیر شاخص‌های ژنتیکی میگوهای جمعیت مختلف نسل اول

ذخیره	آغاز گر	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۰	۱	۲	میانگین
M.H	N	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰
	N_a	۳	۵	۵	۵	۶	۳	۷	۳	۹	۸	۷	۶	۵/۵۸۳±۰/۵۷
	N_e	۲/۰۲	۳/۸۰	۲/۹۸	۴/۱۸	۲/۸۳	۲/۳۸	۵/۴۷	۱/۸۴	۶/۲۹	۵/۵۶	۴/۶۴	۴/۷۰	۳/۸۹۳±۰/۴۳
	H_o	۰/۴۶۷	۰/۷۹۳	۰/۱۱۱	۰/۳۲۱	۰/۶۹۰	۰/۲۰۰	۰/۷۳۳	۰/۱۳۳	۰/۶۳۳	۰/۹۶۷	۰/۶۳۳	۰/۸۶۲	۰/۵۴۵±۰/۰۸۵
	H_e	۰/۵۰	۰/۷۴	۰/۶۶	۰/۷۶	۰/۶۵	۰/۵۸	۰/۸۲	۰/۴۶	۰/۸۴	۰/۸۲	۰/۷۹	۰/۷۹	۰/۷۰۰±۰/۰۳۷
H.M	N	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰
	N_a	۲	۷	۴	۴	۳	۳	۳	۵	۷	۸	۷	۵	۵/۰۰±۰/۵۵
	N_e	۱/۹۱۸	۵/۵۳۸	۲/۹۴۲	۳/۱۴۶	۲/۰۷۳	۲/۵۱۲	۴/۰۸۱	۳/۱۷۷	۳/۷۳۲	۴/۶۲۱	۵/۸۴۲	۳/۲۷۴	۳/۵۷۱±۰/۳۶۲
	H_o	۰/۰۳۴	۰/۳۶۷	۰/۰۴۵	۰/۱۲۹	۰/۰۹۷	۰/۶۴۵	۰/۹۰۳	۰/۳۵۵	۰/۶۱۳	۰/۸۲۸	۰/۶۷۷	۰/۶۷۷	۰/۴۴۸±۰/۰۹۱
	H_e	۰/۴۷۹	۰/۸۱۹	۰/۶۶۰	۰/۶۸۲	۰/۵۱۸	۰/۶۰۲	۰/۷۵۵	۰/۶۸۵	۰/۷۳۲	۰/۷۸۴	۰/۸۲۹	۰/۶۹۵	۰/۶۸۷±۰/۰۳۲
H.H	N	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰
	N_a	۲	۷	۳	۳	۳	۳	۴	۵	۸	۴	۷	۵	۴/۵۰±۰/۵۵
	N_e	۲/۰۰	۴/۲۸	۲/۱۸	۲/۹۲	۲/۰۲	۲/۱۳	۲/۶۶	۲/۹۲	۳/۷۵	۳/۷۷	۵/۱۱	۳/۸۵	۳/۱۳۱±۰/۲۹۲
	H_o	۰/۰۰	۰/۰۳۳	۰/۰۰	۰/۰۶۹	۰/۱۷۲	۰/۶۶۷	۰/۶۰۰	۰/۷۰۰	۰/۶۳۳	۰/۷۳۱	۰/۶۳۳	۰/۸۳۳	۰/۴۲۳±۰/۰۹۶
	H_e	۰/۵۰	۰/۷۶۶	۰/۵۴۱	۰/۶۵۷	۰/۵۰۵	۰/۵۳۱	۰/۶۲۴	۰/۶۵۷	۰/۷۳۳	۰/۷۳۴	۰/۸۰۴	۰/۷۴۰	۰/۶۴۹±۰/۰۳۱

- N: تعداد نمونه، N_a: تعداد آلل واقعی، N_e: تعداد آلل مؤثر، H_o: هتروزگوسیتی مشاهده شده، H_e: هتروزیگوسیتی مورد انتظار

جدول ۱۵: اختلاف آماری موجود میان هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار در جمعیتهای مورد مطالعه

$(H_o - H_e)$	ذخیره	*P value*
هتروزیگوسیتی مشاهده شد در مقابل هتروزیگوسیتی مورد انتظار	مولوکائی × های‌هلث (M.H)،	۰/۱۰۷
	های‌هلث × مولوکائی (H.M)	۰/۰۲۸
	های‌هلث × های‌هلث (H.H)	۰/۰۳۶

۲-۲-۳- فراوانی آلل ها در جایگاه‌های مورد بررسی در سه جمعیت مورد مطالعه

در رابطه با فراوانی آلل های واقعی در سطح بیشتر از ۵ درصد (5% ≥) بیشترین فراوانی در ذخیره مولوکائی × های‌هلث (M.H) با ۴/۵۹±۰/۴۵ بود این در حالی بود که فراوانی آلل‌های واقعی در ذخیره‌های های‌هلث × مولوکائی (H.M) و های‌هلث × های‌هلث (H.H) به ترتیب ۴/۱۷±۰/۳۹ و ۳/۷۵±۰/۴۰ بود. از سوی دیگر مشاهده شد که بعضی از آلل ها در جایگاههای مختلف برای ذخیره مولوکائی × های‌هلث (M.H) با میزان ۰/۶۷±۰/۲۸

اختصاصی می‌باشند (جدول ۱۶). لیکن در دو ذخیره دیگر هیچگونه آلل اختصاصی مشاهده نشد. از سوی دیگر عملاً فراوانی آلل های اختصاصی در سطوح بیشتر از ۲۵ (≥ 25%) در کلیه ذخیره‌های تولید شده صفر بود.

جدول ۱۶: آلل های اختصاصی و فراوانی آنها جمعیت ترکیبی و های هلث در جایگاههای مختلف

جمعیت	جایگاه	آلل اختصاصی	فراوانی
مولوکائی × های‌هلث (M.H)	Pvan 0013	۵	۰/۰۵۶
	Pvan 1758	۵	۰/۱۹۶
	Pvan 1815	۴	۰/۵۳۴
	Pvan 1815	۵	۰/۱۰۳
	Pvan 1815	۶	۰/۰۳۴
	TUMXLv 5.38	۱	۰/۰۶۷
	TUMXLv 5.38	۲	۰/۰۳۳
	M1	۲	۰/۰۵۰

جایگاه Lvan 01

نتایج حاکی از این بود که در جایگاه Lvan 01 بیشترین فراوانی آلل ۲ در ذخیره M.H می‌باشد در حالیکه در ذخیره‌های H.M و H.H بیشترین فراوانی در آلل ۳ مشاهده شد (نمودار ۵).

جایگاه Lvan 07

نتایج نشان داد که بیشترین فراوانی آلل ۳ و ۵ در ذخیره M.H مشاهده شد در حالیکه در دو ذخیره دیگر فراوانی آلل از کمترین میزان بر خوردار بود (نمودار ۵).

جایگاه Pvan 0013

نتایج حاکی از آن بود که در ذخیره H.H بیشترین فراوانی آلل مربوط به آلل ۱ بود این در حالی بود که آلل ۴ در ذخیره M.H و H.M کاملاً اختصاصی بود (نمودار ۵).

جایگاه Pvan 1758

نتایج حاکی از آن بود که بیشترین فراوانی آلل ۳ به ترتیب در ذخیره‌های H.M، H.H و M.H مشاهده شد این در حالی بود که آلل ۵ برای ذخیره M.H اختصاصی بود (نمودار ۵).

جایگاه Pvan 1815

نتایج حاکی از آن بود که بیشترین فراوانی آلل ۲ به ترتیب در ذخیره‌های H.H و H.M مشاهده شد در حالیکه آلل‌های ۴، ۵ و ۶ در ذخیره M.H اختصاصی بود (نمودار ۵).

جایگاه TUMXLv 5.27

نتایج حاکی از آن بود که بیشترین فراوانی آلل ۲ و ۱ در ذخیره‌های M.H، H.M و H.H مشاهده شد (نمودار ۵).

جایگاه TUMXLv 5.38

نتایج حاکی از آن بود که آلل‌های ۱ و ۲ در ذخیره M.H اختصاصی بود، در حالیکه بیشترین فراوانی آلل ۴ و ۵ در ذخیره H.H مشاهده شد (نمودار ۵).

جایگاه TUMXLv 8.32

نتایج حاکی از آن بود که آلل ۳ در ذخیره M.H بیشترین فراوانی را داشت، این در حالی بود که در ذخیره H.H آلل شماره ۲ از بیشترین فراوانی بر خوردار بود (نمودار ۵).

جایگاه M1

نتایج حاکی از آن بود که آلل ۲ در ذخیره M.H بصورت اختصاصی بود، لیکنبیشترین فراوانی آلل شماره ۶ به ترتیب در ذخیره‌های H.M و H.H مشاهده شد (نمودار ۵).

جایگاه TUDGLv 5-7.33

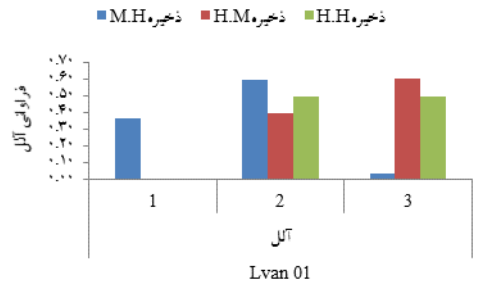
نتایج حاکی از آن بود که آلل ۳ در ذخیره M.H بیشترین فراوانی را داشت، در حالی بود که بیشترین فراوانی آلل ۵ در ذخیره M.H مشاهده شد (نمودار ۵).

جایگاه TUDGLv 7-9.17

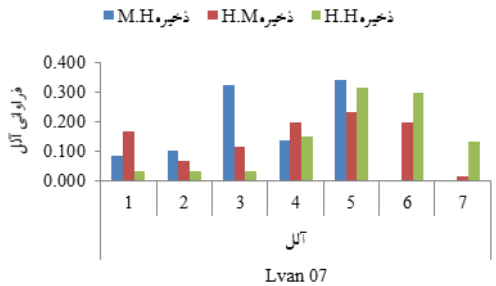
نتایج حاکی از آن بود که بیشترین فراوانی آلل ۲ به ترتیب در ذخیره‌های M.H، H.H و H.M مشاهده شد (نمودار ۵).

جایگاه TUDGAPv 3-5.378

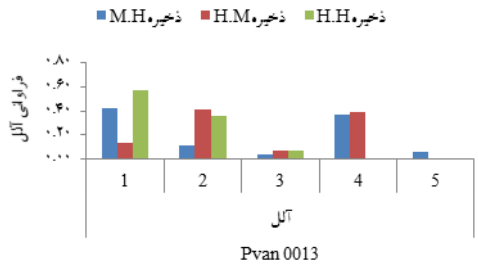
نتایج حاکی از آن بود که آلل ۱ در ذخیره M.H اختصاصی بود، این در حالی بود که در ذخیره M.H آلل شماره ۵ از بیشترین فراوانی بر خوردار بود (نمودار ۵).



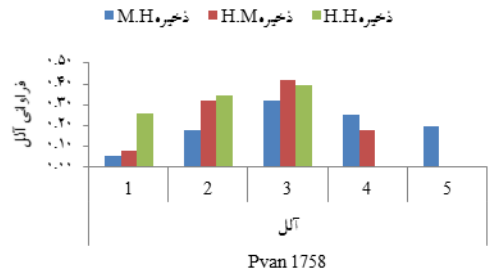
Lvan 01



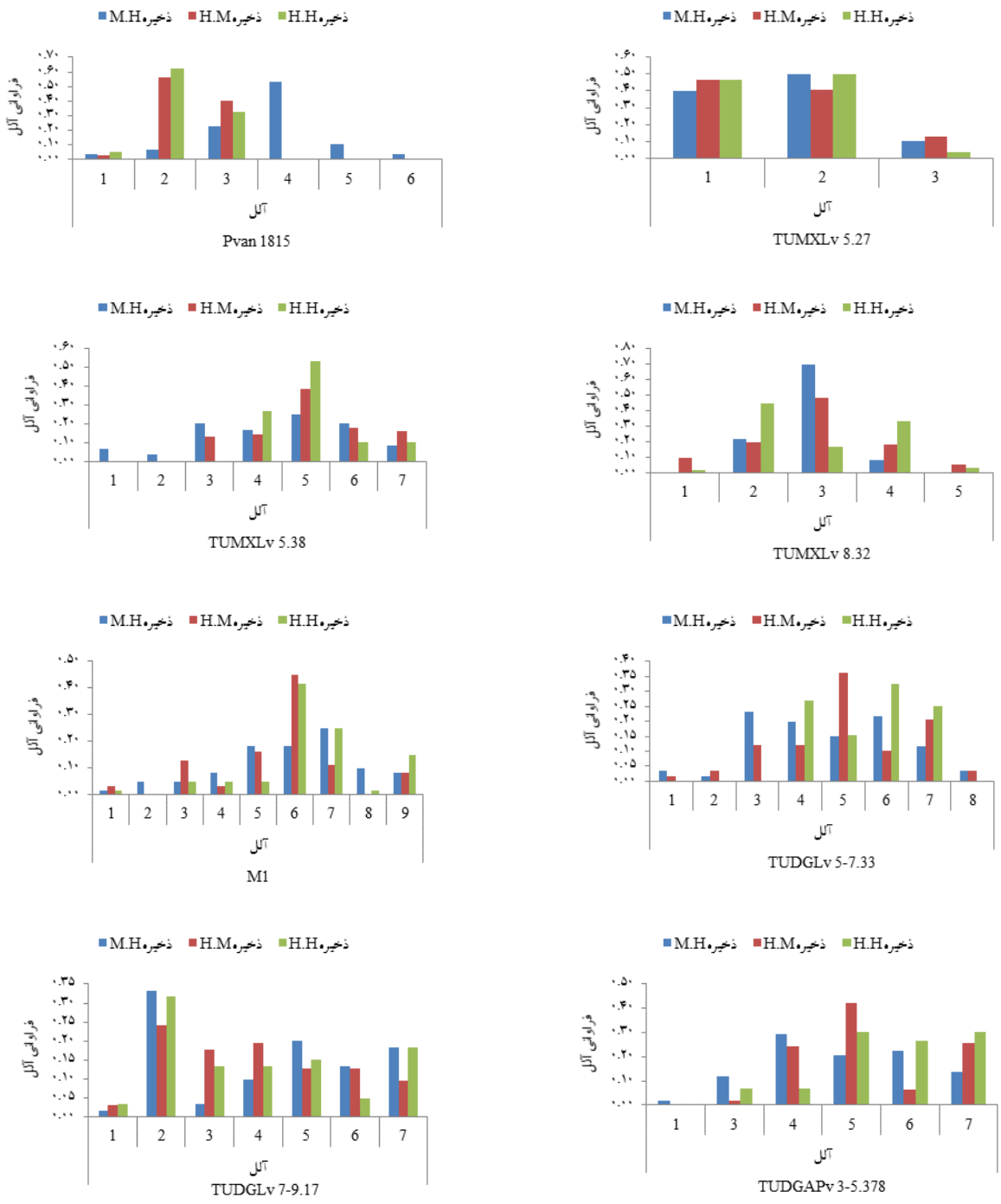
Lvan 07



Pvan 0013



Pvan 1758



نمودار ۵: فراوانی آلل ها در جایگاه مختلف ذخیره‌های نسل اول

۳-۲-۳- میزان ضریب هم خونی (F_{is})

تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از ضریب هم خونی نشان داد که میزان این ضریب در ذخیره‌های مورد بررسی به دلیل کاهش میزان تنوع ژنتیکی (هتروزیگوسیتی) مثبت می‌باشد. لیکن در ذخیره مولوکائی × های‌هلث در

آغازگرهای ۲، ۵، ۱۰، ۱۲ این میزان به دلیل افزایش میزان تنوع ژنتیکی منفی بود. این در حالی بود که در ذخیره های‌هلث × مولوکائی در آغازگر ۶، ۷، ۱۰ و در ذخیره های‌هلث × های‌هلث در آغازگر ۶، ۸ و ۱۰ مقادیر ضریب هم خونی منفی شده بود (جدول ۱۷).

جدول ۱۷: مقادیر ضریب هم خونی (Fis) در جمعیت‌های ترکیبی، های هلث و مولوکائی

ذخیره	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲
M.H	+۰/۰۷۵	−۰/۰۷۷	+۰/۸۳۳	+۰/۵۷۸	−۰/۰۶۷	+۰/۶۵۵	+۰/۱۰۳	+۰/۷۰۸	+۰/۲۴۷	−۰/۱۷۹	+۰/۱۹۴	−۰/۰۹۵
H.M	+۰/۹۲۸	+۰/۵۵۳	+۰/۹۳۱	+۰/۸۱۱	+۰/۸۱۳	−۰/۰۷۲	−۰/۱۹۶	+۰/۴۸۲	+۰/۱۶۳	−۰/۰۵۶	+۰/۱۸۳	+۰/۰۲۵
H.H	+۱/۰۰	+۰/۹۵۶	+۱/۰۰	+۰/۸۹۵	+۰/۶۵۸	−۰/۲۵۵	+۰/۰۳۹	−۰/۰۶۵	+۰/۱۳۶	+۰/۰۰۵	+۰/۲۱۳	−۰/۱۲۶

۴-۲-۳- تمایز ژنتیکی (F_{st}) جمعیت‌ها

نتایج حاصل از تمایز ژنتیکی میان ذخیره‌های مورد مطالعه حاکی از وجود یک تمایز ژنتیکی پائین تا متوسط بود. به گونه‌ای که تمایز ژنتیکی موجود میان ذخیره‌های مولوکائی × های‌هلث (M.H) با های‌هلث × مولوکائی (H.M) ۰/۰۷۸ بود که در سطح پائنی قرار داشت و از لحاظ آماری کاملاً معنی دار بود (*P<0.001*). همچنین تمایز موجود بین ذخیره مولوکائی × های‌هلث (M.H) با های‌هلث × های‌هلث (H.H) و همچنین ذخیره های‌هلث × مولوکائی (H.M) با های‌هلث × های‌هلث (H.H) به ترتیب ۰/۱۰۳ و ۰/۰۳۶ بود که این میزان نیز در سطح پائینی از تمایز ژنتیکی قرار داشت و از لحاظ آماری کاملاً معنی دار بود (*P<0.001*) (جدول ۱۸).

جدول ۱۸: مقادیر تمایز ژنتیکی ذخیره‌های مختلف نسل اول

ذخیره	H.H	H.M
M.H	۰/۱۰۳	۰/۰۷۸
H.M	۰/۰۳۶	۰/۰۰۰

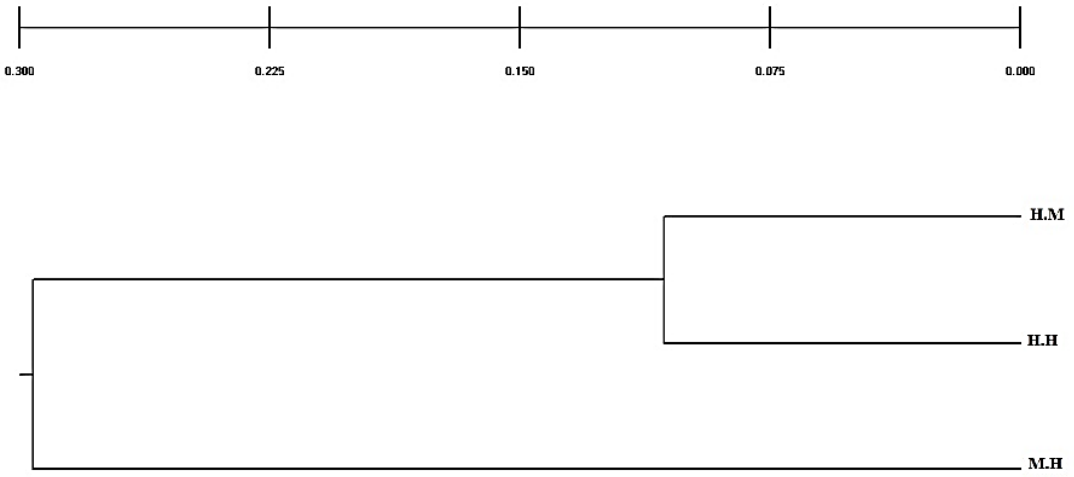
۵-۲-۳- فاصله ژنتیکی[1] و شباهت ژنتیکی[2] (Nei, 1972)

در این رابطه نتایج نشان داد که بیشترین میزان فاصله ژنیتکی میان ذخیره مولوکائی × های‌هلث با ذخیره های‌هلث × های‌هلث و کمترین میزان میان ذخیره های‌هلث × مولوکائی با های‌هلث × های‌هلث وجود داشت (جدول ۲۰ و نمودار ۶).

1 -Genetic Distance
2 -Genetic Identity

جدول ۱۹: مقادیر فاصله موجود در میان جفت جمعیت‌های مورد مطالعه

ذخیره	فاصله ژنتیکی	
	H.H	H.M
M.H	۰/۳۶۹	۰/۲۹۹
H.M	۰/۱۴۲	۰/۰۰



نمودار ۶: درخت موضع شناسی تکاملی براساس فاصله ژنتیکی (براساس معیار Nei, 1972)

۶-۲-۳- انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ

براساس آزمون مربع کای (χ^2) در هر سه ذخیره مولوکائی × های‌هلث (M.H)، های‌هلث × مولوکائی (H.M) و های‌هلث × های‌هلث (H.H) در جایگاه‌های مختلف ریزماهواره انحراف از تعادل هاری واینبرگ مشاهده شد (*$P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$). به استثنای جایگاه ۱، ۵ و ۷ در ذخیره مولوکائی × های‌هلث (M.H)، جایگاه‌های ۶ و ۷ در ذخیره های‌هلث × مولوکائی و جایگاه‌های ۶، ۷ و ۸ در ذخیره های‌هلث × های‌هلث هیچگونه اختلاف معنی دار آماری مشاهده نشد (جدول ۲۱).

جدول ۲۰: نتایج آزمون کای (χ^2) برای تعادل هاری – واینبرگ برای جایگاه‌های مختلف پلی مورفیک در ذخیره‌های مختلف

ذخیره	عوامل تعادل χ^2	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲
M.H	درجه آزادی	۳	۱۰	۱۰	۱۰	۱۵	۳	۲۱	۳	۳۶	۲۸	۲۱	۱۵
	آزمون مربع کای	۱/۶۴	۲۶/۷۱	۷۲/۳۱	۴۴/۰۶	۱۲/۱۳	۲۰/۰۳	۲۶/۵۲	۲۷/۶۰	۷۹/۸۰	۵۷/۲۵	۵۸/۸۹	۴۷/۶۰
	احتمال	۰/۶۴۹	۰/۰۰۳	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۶۶۹	۰/۰۰۰	۰/۱۸۷	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۱	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰
	معنی دار بودن	ns	**	***	***	ns	***	ns	***	***	***	***	***
H.M	درجه آزادی	۱	۲۱	۶	۶	۳	۳	۱۰	۱۰	۲۱	۲۸	۲۱	۱۰
	آزمون مربع کای	۲۴/۹۷	۶۵/۰۹	۵۲/۱۳	۶۲/۹۴	۲۷/۱۰	۱/۳۸	۹/۳۹	۳۴/۶۲	۴۵/۰۵	۴۷/۶۶	۵۷/۶۸	۴۶/۱۸
	احتمال	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۷۱۱	۰/۴۹۶	۰/۰۰۰	۰/۰۰۲	۰/۰۱۲	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰
	معنی دار بودن	***	***	***	***	***	ns	ns	***	**	*	***	***
H.H	درجه آزادی	۱	۲۱	۳	۳	۳	۳	۶	۱۰	۲۸	۶	۲۱	۱۰
	آزمون مربع کای	۲۸/۰۰	۱۷۰/۹۸	۵۶/۰۰	۴۶/۶۰	۱۷/۹۸	۴/۳۰	۴/۷۵	۱۳/۶۴	۶۵/۶۱	۲۴/۲۷	۹۳/۶۸	۳۴/۲۶
	احتمال	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۲۳۱	۰/۵۷۶	۰/۱۹۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰
	معنی دار بودن	***	***	***	***	***	ns	ns	ns	***	***	***	***

۳-۳- شاخص‌های ژنتیکی میگوهای نسل دوم

۱-۳-۳- میزان تنوع ژنتیکی و فراوانی آلل ها

براساس اطلاعات حاصل از داده‌های ژنتیکی نسل اول میگوهای ذخیره مولوکائی × های‌هلث به عنوان مولدین نسل اول جهت تولید میگوهای نسل دوم انتخاب شدند. از این رو نتایج بدست آمده از بررسی میزان تنوع ژنتیکی توسط دوازده آغازگر اختصاصی میکروستلایت در میگوهای نسل دوم حاکی از آن بود که دامنه هتروزیگوسیتی مشاهده شده (H_o) در آنها در دامنه ۰/۰–۰/۹۰ قرار داشت، لیکن حداکثر و حداقل هتروزیگوسیتی مورد انتظار (H_e) در ذخیره نسل دوم فوق به ترتیب ۰/۸۵–۰/۵۸ بود.

بیشترین تعداد آلل واقعی (N_a) مشاهده شده در میگوهای این نسل ۷ آلل بود که مربوط به جایگاه‌های آغازگر ۲ و ۱۱ بود. از سوی دیگر مشاهده شد که دامنه آلل واقعی مشاهده شده در دامنه ۷ – ۳ قرار داشت. در رابطه با آلل های مؤثر (N_e) نتایج نشان داد که حداکثر و حداقل آن در فاصله ۶/۶۴–۲/۳۸ بود.

همچنین نتایج حاصل بررسی آنالیز آماری داده‌های هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار حاکی از این مطلب بود که مقادیر هتروزیگوسیتی مشاهده شده در میگوی نسل دوم بطور معنی داری کمتر از مقادیر مرتبط با هتروزیگوسیتی مورد انتظار بود ($P<0.05$)(جدول ۲۱ و جدول ۲۲).

جدول ۲۱: مقادیر شاخص‌های ژنتیکی میگوهای جمعیت مختلف نسل دوم

ذخیره	آغاز گر	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	میانگین
میگوی نسل دوم	N	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰
	N_a	۴	۷	۴	۴	۳	۳	۴	۵	۶	۶	۷	۶	۴/۹۱۷±۰/۴۱۷
	N_e	۳/۱۴	۶/۶۴	۲/۳۸	۲/۹۳	۲/۴۱	۲/۴۴	۳/۱۵	۳/۹۶	۴/۵۰	۴/۸۰	۴/۳۵	۳/۹۹	۳/۷۲۴±۰/۳۶
	H_o	۰/۱۴	۰/۲۹	۰/۰۴	۰/۰۰	۰/۳۸	۰/۷۰	۰/۷۷	۰/۳۰	۰/۶۳	۰/۹۰	۰/۵۹	۰/۸۷	۰/۴۶۷±۰/۰۹۲
	H_e	۰/۶۸	۰/۸۵	۰/۵۸	۰/۶۶	۰/۵۹	۰/۵۹	۰/۶۸	۰/۷۵	۰/۷۸	۰/۷۹	۰/۷۷	۰/۷۵	۰/۷۰۵±۰/۰۲۶

- N: تعداد نمونه، N_a: تعداد آلل واقعی، N_e: تعداد آلل مؤثر، H_o: هتروزگوسیتی مشاهده شده، H_e: هتروزیگوسیتی مورد انتظار

جدول ۲۲: اختلاف آماری موجود میان هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار در جمعیتهای مورد مطالعه

$(H_o - H_e)$	ذخیره	*P value*
هتروزیگوسیتی مشاهده شد در مقابل هتروزیگوسیتی مورد انتظار	میگوی نسل دوم	۰/۰۲

۲-۳-۳- فراوانی آلل‌های اختصاصی در جایگاه‌های مورد بررسی در میگوهای نسل دوم

در رابطه با فراوانی آلل های واقعی در سطح بیشتر از ۵ درصد (5% ≤) بیشترین فراوانی مشاهده شد ۴/۵۰±۰/۴۰ بود. از سوی دیگر مشاهده شد که بعضی از آلل ها در جایگاههای مختلف برای ذخیره میگوی نسل دوم با میزان ۰/۱۷±۰/۱۱ اختصاصی بودند (

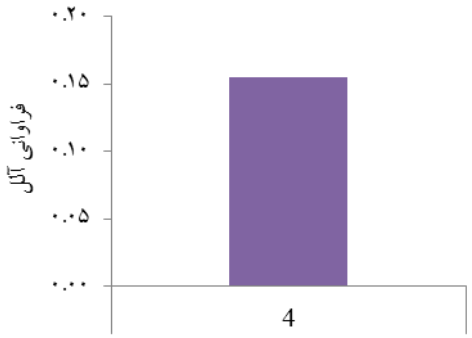
جدول ۲۳). از سوی دیگر عملاً فراوانی آلل های اختصاصی در سطوح بیشتر از ۲۵ (25% ≤) عملاً صفر بود.

جدول ۲۳: آلل های اختصاصی و فراوانی آنها جمعیت ترکیبی و های هلث در جایگاههای مختلف

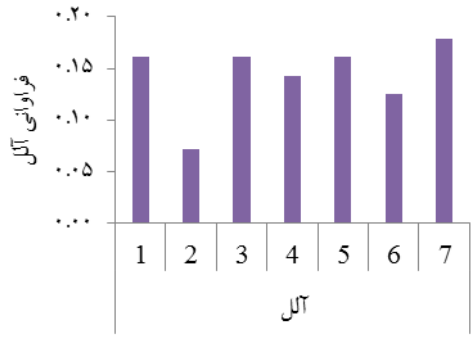
جمعیت	جایگاه	آلل اختصاصی	فراوانی
میگوی نسل دوم	Lvan 01	۴	۰/۱۵۵
	TUDGAPv 3-5.378	۲	۰/۰۱۷

۳-۳-۳- فراوانی آلل‌ها در جایگاه‌های مختلف

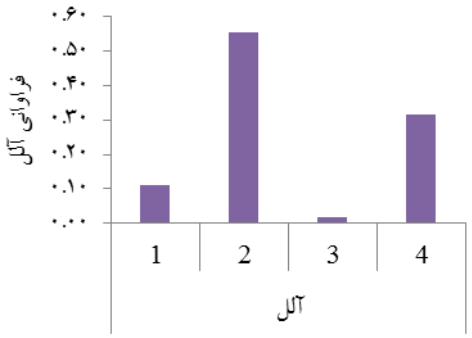
نتایج حاکی از این بود که در جایگاه Lvan 01 بیشترین فراوانی مربوط به آلل ۴ بود. این در حالی بود که در جایگاه Lvan 07 بیشترین فراوانی مربوط به آلل‌های ۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶ و ۷ مشاهده شد. همچنین جایگاه‌های TUMXLv 8.32، M1، TUDGLv 5-7.33، TUDGLv 7-9.17 و TUDGAPv 3-5.378 از بیشترین میزان فراوانی آلل برخوردار بودند (نمودار ۷).



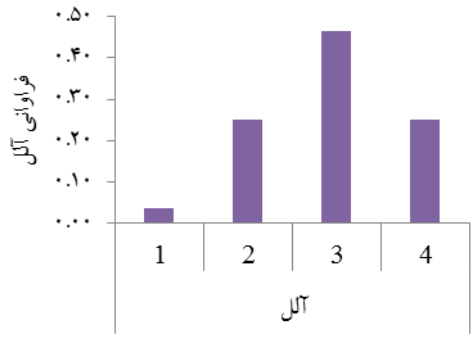
Lvan 01



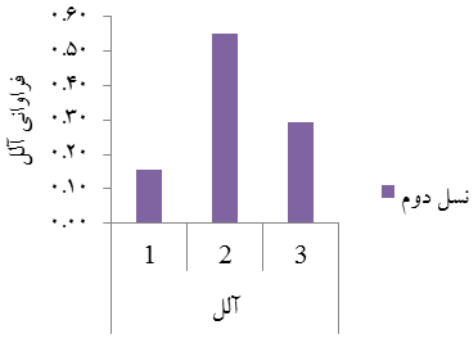
Lvan 07



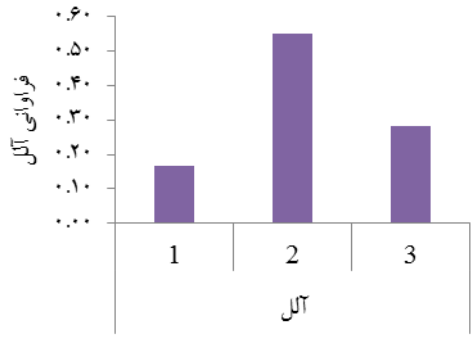
Pvan 0013



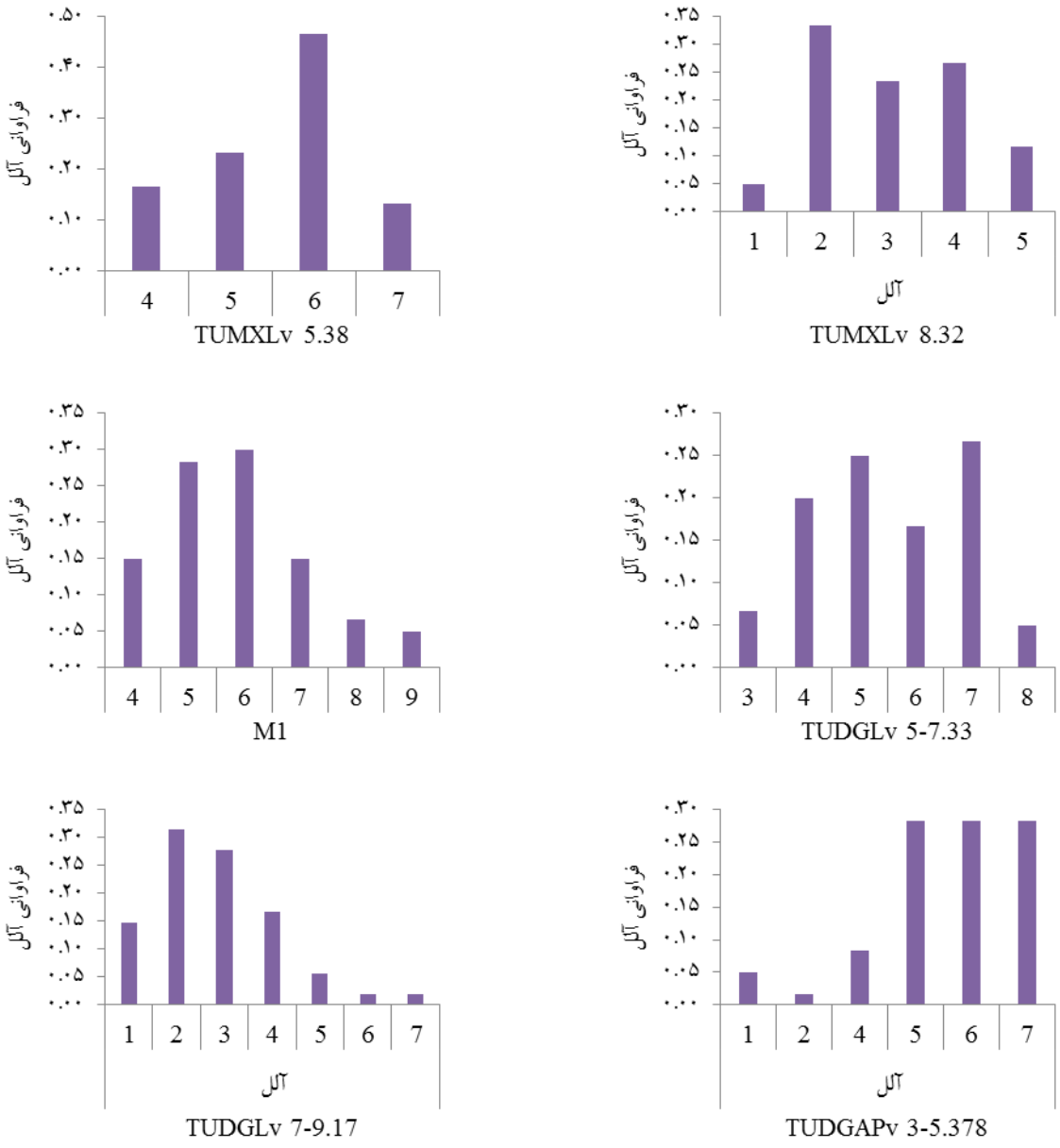
Pvan 1758



Pvan 1815



TUMXLv 5.27



نمودار ۷: فراوانی آلل های در جایگاه مختلف در میگوهای نسل دوم

۴-۳-۳- میزان ضریب هم خونی (F_{is})

تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از ضریب هم خونی نشان داد که میزان این ضریب در میگوهای نسل دوم به دلیل کاهش میزان تنوع ژنتیکی (هتروزیگوسیتی) مثبت بود. لیکن با این وجود این میزان در آغازگرهای ۶، ۷، ۱۰، ۱۲ به دلیل افزایش میزان تنوع ژنتیکی منفی بود (جدول ۲۵).

جدول ۲۴: مقادیر ضریب هم خونی (Fis) در جمعیت‌های ترکیبی، های هلث و مولوکائی

ذخیره	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲
میگوی نسل دوم	+۰/۷۹۸	+۰/۶۶۴	+۰/۹۳۶	+۱/۰۰	+۰/۳۵۲	−۰/۱۸۸	−۰/۱۲۴	+۰/۵۹۹	+۰/۱۸۶	−۰/۱۳۷	+۰/۲۳۱	−۰/۱۵۶

۵-۳-۳- تمایز ژنتیکی (F_{st}) جمعیت‌ها

نتایج حاصل از تمایز ژنتیکی میان میگوهای نسل دوم با ذخیره‌های نسل اول حاکی از وجود یک تمایز ژنتیکی پائین تا متوسط بود. به گونه‌ای که تمایز ژنتیکی موجود میان میگوهای نسل دوم با ذخیره‌های مولوکائی × های‌هلث (M.H)، های‌هلث × مولوکائی (H.M) و های‌هلث × های‌هلث (H.H) به ترتیب ۰/۰۹۱، ۰/۰۲۶ و ۰/۰۵۰ بود که از لحاظ آماری کاملاً معنی دار بود ($P<0.001$). (جدول ۲۵).

جدول ۲۵: مقادیر تمایز ژنتیکی ذخیره‌های مختلف نسل اول

ذخیره	M.H	H.M	H.H
میگوهای نسل دوم	۰/۰۹۱	۰/۰۲۶	۰/۰۵۰

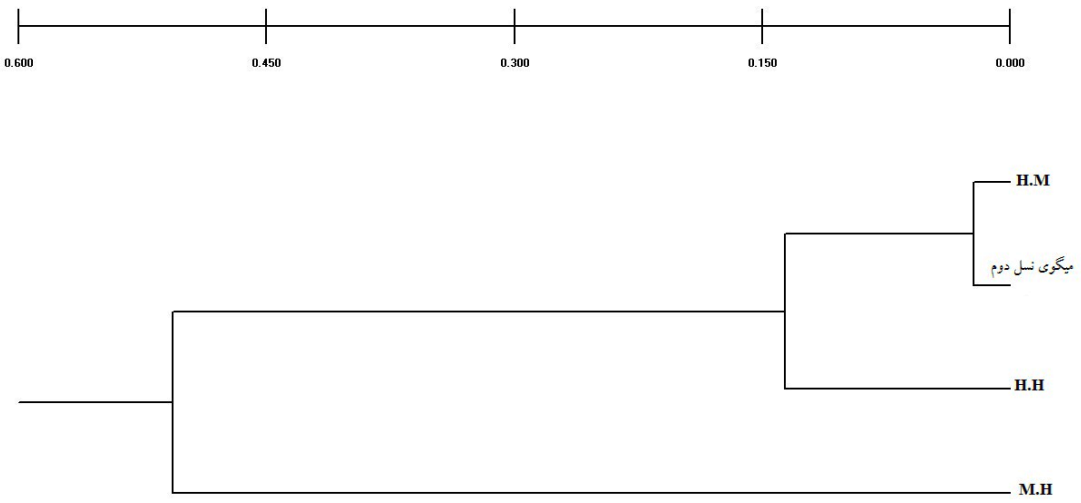
۶-۳-۳- فاصله ژنتیکی[1] و شباهت ژنتیکی[2] (Nei, 1972)

در این رابطه نتایج نشان داد که بیشترین میزان فاصله ژنیتکی میان میگوهای نسل دوم با ذخیره مولوکائی × های‌هلث و کمترین میزان با میگوهای ذخیره های‌هلث × مولوکائی مشاهده شد. از این رو بیشترین شباهت میان میگوهای نسل دوم با میگوهای ذخیره های‌هلث × مولوکائی وجود داشت (جدول ۲۶) (نمودار ۸).

جدول ۲۶: مقادیر فاصله موجود در میان جفت جمعیت‌های مورد مطالعه

ذخیره	فاصله ژنتیکی		
	M.H	H.M	H.H
میگوی نسل دوم	۰/۳۸۱	۰/۱۱۸	۰/۱۸۸

1 -Genetic Distance
2 -Genetic Identity



نمودار ۸: درخت موضع شناسی تکاملی براساس فاصله ژنتیکی (براساس معیار Nei, 1972)

۷-۳-۳- انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ

براساس آزمون مربع کای (χ^2) در هر سه ذخیره مولوکائی × های‌هلث (M.H)، های‌هلث × مولوکائی (H.M) و های‌هلث × های‌هلث (H.H) در جایگاه‌های مختلف ریزماهواره انحراف از تعادل هاری واینبرگ مشاهده شد (*$P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$). به استثنای جایگاه ۱، ۵ و ۷ در ذخیره مولوکائی × های‌هلث (M.H)، جایگاه‌های ۶ و ۷ در ذخیره های‌هلث × مولوکائی و جایگاه‌های ۶، ۷ و ۸ در ذخیره های‌هلث × های‌هلث هیچگونه اختلاف معنی دار آماری مشاهده نشد (جدول ۲۷).

جدول ۲۷: نتایج آزمون کای (χ^2) برای تعادل هاری – واینبرگ برای جایگاه‌های مختلف پلی مورفیک در ذخیره نسل دوم

ذخیره	عوامل تعادل χ^2	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲
نسل دوم	درجه آزادی	۶	۲۱	۶	۶	۳	۳	۶	۱۰	۱۵	۱۵	۲۱	۱۵
	آزمون مربع کای	۵۲/۲۴	۹۲/۹۵	۵۴/۰۹	۸۴/۰۰	۱۸/۰۷	۶/۵۴	۳/۶۵	۵۴/۵۸	۳۷/۴۹	۶۸/۰۲	۴۹/۸۸	۳۵/۱۹
	احتمال	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۸۸	۰/۷۲۴	۰/۰۰۰	۰/۰۰۱	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۲
	معنی دار بودن	***	***	***	***	***	ns	ns	***	**	***	***	**

۴-۳- شناسایی عوامل بیماریزا

نتایج حاصل آزمایشات باکتریایی، مولکولی و آسیب شناسی در نسل‌های مختلف میگوی عاری از بیماری خاص حاکی از عدم شناسایی عوامل بیماریزایی در نسل‌های مختلف بود.

۴- بحث

امروزه میگوی سفید غربی به عنوان مهم‌ترین گونه پرورشی در جهان محسوب شده که به سرعت جایگزین گونه‌های بومی در مناطق پرورشی شده است. لذا با توجه به توسعه صنعت آبزی پروری در جهان، پرورش این گونه از سال ۱۳۸۴ با ورود اولین محموله میگوی عاری از بیماری خاص در کشور نهادینه شد و در طی چند سال اخیر همزمان با افزایش سطح زیر کشت میگو در کشور این گونه بطور کامل جایگزین میگوی سفید هندی شده است. از این رو با توجه به غیر بومی بودن این گونه و مسئله انتقال عوامل بیماریزای به گونه‌های بومی کشور به دنبال واردات این گونه، همزمان با افزایش سریع مزراع پرورشی همواره نگرانی‌های محیطی و اجتماعی از جمله خطر شیوع عوامل بیماریزای ویروسی، باکتریایی، قارچی و انگلی وجود داشته است (Aguirre Guzman & Ascencio Valle, 2000). لذا عملکرد ضعیف مدیریتی و استفاده از میگوهای آلوده به عوامل بیماریزا همواره می‌تواند با خطر شیوع بسیاری از بیماری‌ها از جمله بیماری ویروسی همراه باشد که علاوه بر ضرر و زیان اقتصادی فراوانی می‌تواند با رکود صنعت همراه باشد (Saulnier *et al*., 2000).

از جمله راهکارهای ارائه شده استفاده از میگوهای عاری از بیماری خاص بمنظور کاهش خطر ورود عوامل بیماریزا به داخل کشور می‌باشد (Flegel, 2006). با توجه به اینکه میگوهای عاری از بیماری خاص در شرایط عاری از عوامل بیماریزا و تحت شرایط غربالگری شدید نگهداری و تولید می‌شوند، به عنوان گزینه مناسب جهت جلوگیری از شیوع بیماری در مزارع پرورشی محسوب می‌شوند (Saulnier *et al*., 2000).

در این مطالعه سعی شد تا در ابتدا براساس نتایج حاصل از مطالعات مولکولی جمعیت‌های پرورشی میگوی سفید غربی موجود در کشور شناسایی شوند. تعیین تاریخچه و منشاء ورود مولدین عاری از بیماری خاص به داخل کشوردر طی سال‌های گذشته حاکی از این بود که تنها نسل‌های سوم و چهارم جمعیت‌های های‌هلث و مولوکائی در برخی مناطق وجود دارد. که با توجه به نتایج بدست آمده سه جمعیت مولوکائی، های‌هلث و ترکیبی که شامل پیش مولدین حاصل از آمیزش میگوهای مولوکائی و های‌هلث در مراکز تکثیر بخش خصوصی بود شناسایی شدند. داده‌ها بدست آمده حاکی از کاهش میزان تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های شناسایی شده همراه با افزایش میزان ضریب هم خونی در آنها بود. با توجه به مطالعات پیش صورت گرفته عنوان شده بود که کاهش تنوع ژنتیکی و افزایش ضریب هم خونی ممکن است ناشی از عدم آگاهی مراکز تکثیر بخش خصوصی از وجود رابطه‌های خویشاوندی میان مولدین موجود در مراکز تکثیر و آمیزش‌های غیر اصولی صورت گرفته بوده باشد (Borrell *et al*., 2000;Tamayo, 2006; Ditlecadet *et al*., 2006). با این وجود بررسی‌ها نشان داد که میزان تنوع ژنتیکی میگوهای جمعیت مولوکائی در مقایسه با دو جمعیت دیگر در چهار جایگاه Pvan 0013، Pvan1815، TUMXLv5.27 و TUMXLv5.38 بطور معنی داری افزایش یافته بود. این در حالی بود که در هر کدام از جمعیت‌های ترکیبی و های‌هلث این میزان تنها در یک جایگاه به ترتیب Pvan 0013 و TUMXLv5.27 افزایش یافته بود. لذا به دلیل افزایش تنوع ژنتیکی صورت گرفته، میزان ضریب هم خونی مشاهده شده در

جمعیت مولوکائی در مقایسه با دو جمعیت دیگر از کمترین میزان بر خوردار بود. Perez-Enriquez و همکاران (۲۰۰۹) عنوان نمودن که افزایش میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده نسبت به هتروزیگوسیتی قابل انتظار علاوه بر افزایش میزان تنوع ژنتیکی با کاهش ضریب هم خونی می‌تواند همراه شود.

از سوی دیگر Valles و همکاران (۲۰۰۴) عنوان نمودند که تعادل هاری–واینبرگ قادر است که ثبات و فراوانی آلل‌ها را در نسل‌های مختلف مورد بررسی قرار دهد. از این رو امروزه از این معادله جهت بررسی رابطه میان فراوانی ژنوتیپ و آلل ها استفاده می‌گردد (Goyard *et al*., 2003). لذا با توجه به وجود انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ در جمعیت‌های شناسایی شده می‌توان عنوان نمود که انحراف از این تعادل در جمعیت‌های مورد مطالعه علاوه بر کاهش تنوع ژنتیکی و افزایش ضریب هم خونی می‌تواند به دلیل افزایش آلل های نول[1] ایجاد شده باشد (Castric *et al*., 2002). همچنین در مطالعه‌ای دیگر عنوان شد که آلل های نول می‌توانند موجب افزایش هموزیگوسیتی و کاهش هتروزیگوسیتی در جمعیت‌ها شوند که در نهایت با انحراف از تعادل هاری – واینبرگ همراه خواهند شد (Tamayo, 2006).

لذا با توجه به نتایج بدست آمده بررسی‌های حاکی از کاهش تعداد آلل‌های مؤثر در جمعیت‌های شناسایی شده بود. از این رو عنوان شده که هر چه تعداد 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 نسل گیری متعدد از یک جمعیت و افزایش میزان آمیزش‌هایی خواهر-برادری[2] در جوامع ایجاد خواهد شد (Castric *et al*., 2002; Hartl and Clark, 1998). از این رو جمعیت‌هایی که دچار تنگناهای ژنتیکی[3] 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 مشاهده می‌شود (Norris *et al*. 1999). از این رو ایجاد تنگناهای ژنتیکی علاوه بر کاهش میزان تنوع ژنتیکی و افزایش ضریب هم خونی در میگوهای پرورشی، با کاهش شدید فراوانی آللی همراه خواهد بود (Wolfus *et al*., 1997).

همچنین با توجه به نتایج بدست آمده مشاهده شد که میانگین تعداد آلل‌های مشاهده شد در سه جمعیت شناسایی شده در میگوهای نسل صفر به دنبال استفاده از هشت جفت آغازگر اختصاصی میگوی سفید غربی در دامنه ۹-۲ عدد قرار داشت. Goyard و همکاران (۲۰۰۳) عنوان نمودند که در صورت استفاده از آغازگرهای Lvann 01 و Lvann 02 در جمعیت‌های وحشی تعداد آلل مشاهده شده در دامنه ۲۷ – ۱۴ عدد قرار دارد، این در حالی بود که در جمعیت‌های پرورشی به دلیل افزایش آمیزش‌های خویشاوندی و عدم انتخاب درست جمعیت ممکن است

1 Null allele
2 Full-sib Family
3 Bottleneck

بعد از ۴ تا ۷ نسل کاهش شدید فراوانی آلل ها مشاهده می‌شود، به گونه‌ای که این میزان به ۹ – ۱ هم خواهد رسید.

از سوی دیگر نتایج حاکی از آن بود که میزان تمایز ژنتیکی کمی میان جمعیت‌های مختلف وجود داشت لیکن این میزان از لحاظ آماری کاملاً معنی دار بود (Goudet, 2001). با این وجود دو جمعیت مولوکائی و ترکیبی از کمترین میزان فاصله ژنتیکی و بیشترین میزان شباهت ژنتیکی در مقایسه با جمعیت های‌هلث برخوردار بودند. لذا در این مطالعه بمنظور بالا بردن میزان تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های شناسایی شده، افراد دو جمعیت مولوکائی و ترکیبی با همدیگر مخلوط شدند و به عنوان یک جمعیت در نظر گرفته شدند.

از این رو بمنظور بهبود شاخص‌های ژنتیکی و فنوتیپی از قبیل رشد و بازماندگی، انتخاب میگوهای نسل صفر از هر سه جمعیت صورت پذیرفت. بدین صورت که از میان سه جمعیت شناسایی شده در نهایت دو جمعیت مولوکائی و های هلث به عنوان مولدین نسل صفر در نظر گرفته شدند که پس از آمیزش‌های دورن گروهی و بین گروهی صورت گرفته میان مولدین نر و ماده آنها در انتها سه ذخیره میگو به عنوان میگوهای نسل اول بدست آمد. با توجه به نتایج بدست آمده مشاهده شد که به دلیل افزایش میزان شاخص هتروزیگوسیتی مشاهده شده نسبت به هتروزیگوسیتی قابل انتظار در ذخیره میگوهای حاصل از آمیزش بین گروهی مولدین ماده مولوکائی با مولدین نر های‌هلث در مقایسه با دو ذخیره دیگر، میزان تنوع ژنتیکی بطور معنی داری افزایش یافته بود. از سوی دیگر میزان ضریب هم خونی در میگوهای ذخیره فوق بطور معنی داری کمتر از دو ذخیره دیگر بود که این حالت می‌تواند ناشی از افزایش میزان هتروزیگوسیتی و در نهایت افزایش میزان تنوع ژنتیکی در میگوهای ذخیره فوق باشد (Norris *et al*., 1999; Ditlecadet *et al*., 2006).

همچنین بررسی تعداد آلل‌های واقعی حاکی از فراوانی تعداد آلل‌ها در میگوهای ذخیره مولوکائی × های‌هلث بود، بطوریکه از میان ۱۲ آغازگر مورد استفاده در این مطالعه در ۶ آغازگر آلل اختصاصی مشاهده شد، لیکن در دو ذخیره دیگر هیچ آلل اختصاصی مشاهده نشد. از سوی دیگر با وجود اینکه میزان تمایز ژنتیکی موجود میان ذخیره‌های مختلف نسل اول از کمترین میزان ممکن برخوردار بود، لیکن بررسی‌های آماری صورت گرفته حاکی از وجود اختلاف معنی دار میان ذخائر تولید شده بود. از سوی دیگر به دلیل شباهت ژنتیکی موجود میان ذخیره‌های های‌هلث×مولوکائی و های‌هلث×های‌هلث و فاصله ژنتیکی زیاد میگوهای ذخیره ولوکائی×های‌هلث با دو ذخیره دیگر، میگوهای این ذخیره به عنوان مولدین نسل اول جهت تولید میگوهای نسل دوم انتخاب شدند.

شایان ذکر است که به دلیل عدم واردات مولدین عاری از بیماری خاص از خارج از کشور در سال دوم مطالعه بالاجبار در پی تلاقی مولدین نر و ماده نسل اول و تولید میگوهای نسل دوم، مقادیر ضریب هم خونی در میگوهای تولیده شده نسل دوم به بدلیل کاهش میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده نسبت به هتروزیگوسیتی قابل انتظار، بطور معنی داری افزایش یافته بود (Castric *et al*., 2002; De Donato *et al*., 2005). از سوی همزمان با کاهش فراوانی آلل‌های مؤثر در میگوهای نسل دوم تعداد آلل‌های اختصاصی مشاهده شده در مقایسه با مولدین

نسل اول بطور معنی داری کاهش یافته بود، به گونه‌ای که آلل‌های اختصاصی تنها در دو آغازگر Lvan 01 و TUDGAPv 3-5.378 مشاهده شد (Norris *et al*., 1999). همچنین میزان تمایز ژنتیکی مشاهده شد در میگوهای نسل دوم در مقایسه با میگوهای نسل اول از کمترین میزان برخوردار بود لیکن این میزان از لحاظ آماری کاملاً معنی دار بود. از این رو عنوان شده که این حالت می‌تواند ناشی از افزایش میزان آمیزش‌های خواهر-برادری در میگوهای نسل دوم باشد (De Donato *et al*., 2005; Ditlecadet *et al*., 2006).

۵- نتیجه گیری

در این مطالعه سعی شد که انتخاب میگوهای نسل صفر از مناطق مختلف پرورشی کشور، براساس شاخص‌های ژنتیکی و منشاء ورود آن‌ها از جمعیت‌های مختلف صورت گیرد (Tamayo, 2006; Sedhuraman *et al*., 2014). از این رو عنوان شده که استمرار این روند به علت عدم رعایت انتخاب درست پیش مولدین موجب کوچک شدن جمعیت بعد از چند نسل متوالی خواهد شد. که به دلیل کاهش میزان تنوع ژنتیکی و فراوانی آلل‌های مؤثر در نهایت با افزایش میزان ضریب هم‌خونی و حذف دستی برخی از آلل‌های موجود در جمعیت‌ها همراه خواهد شد که در نتیجه آن با کاهش برخی از صفات فنوتیپی و افزایش حساسیت به عوامل پاتوژن را نسل‌های تولید شده مواجهه خواهیم شد. ازاین رو می‌بایست بمنظور افزایش شاخص‌های ژنتیکی از قبیل فراوانی آلل‌ها و تنوع ژنتیکی همراه با کاهش میزان ضریب هم خونی حتی المقدور از آمیزش‌های خویشاوندی جلوگیری به عمل آید.

منابع

۱- افشار نسب، م. ۱۳۸۶. بیماری‌های ویروسی میگوهای خانواده پنائیده. وزارت جهاد سازندگی، موسسه تحقیقات شیلات ایران. ۲۱۰ صفحه.

۲- هالرمن، ا. ۱۳۸۴. کاربرد ژنتیک جمعیت در شیلات (جلد دوم). ترجمه: ایرج هاشم زاده سقرلو. انتشارات نقش مهر. ۱۵۱ ص.

3- Aguirre Guzman, G., Ascencio Valle, F., 2000. Infectious disease in shrimp species with aquaculture potential. Recent research developments in microbiology, 333-348.

4- Borrell, Y., Espinosa, G., Romo, J., Blanco, G., Vázquez, E., Sánchez, J., 2004. DNA microsatellite variability and genetic differentiation among natural populations of the Cuban white shrimp Litopenaeus schmitti. Marine Biology 144, 327-333.

5- Busack, C.A., 1995. Genetic risks and hazards in hatchery operations: fundamental concepts and issues. In: Am. Fish. Soc. Symp., pp. 71-80.

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

7- Cruz, P., Ibarra, A.M., Mejia-Ruiz, H., Gaffney, P.M., Pérez-Enríquez, R., 2004. Genetic variability assessed by microsatellites in a breeding program of Pacific white shrimp (Litopenaeus vannamei). Marine Biotechnology 6, 157-164.

8- Cruz, P., Mejia-Ruiz, C., Perez-Enriquez, R., Ibarra, A., 2002. Isolation and characterization of microsatellites in Pacific white shrimp Penaeus (Litopenaeus) vannamei. Molecular Ecology Notes 2, 239-241.

9- De Donato, M., Manrique, R., Ramirez, R., Mayer, L., Howell, C., 2005. Mass selection and inbreeding effects on a cultivated strain of Penaeus (Litopenaeus) vannamei in Venezuela. Aquaculture 247, 159-167.

10- Ditlecadet, D., Dufresne, F., Le François, N.R., Blier, P.U., 2006. Applying microsatellites in two commercial strains of Arctic charr (Salvelinus alpinus): potential for a selective breeding program. Aquaculture 257, 37-43.

11- FAO, 2013. Fishery and Aquaculture Statistics. Global capture production 1950-2011 (FishstatJ).In: FAO Fisheries and Aquaculture Department [online or CD-ROM]. Rome. Updated 2013.

12- Fegan, D., Clifford III, H., 2001. Health management for viral diseases in shrimp farms. In: The New Wave, Proceedings of the Special Session on Sustainable Shrimp Culture, Aquaculture, pp. 168-198.

13- Flegel, T., 2006. Detection of major penaeid shrimp viruses in Asia, a historical perspective with emphasis on Thailand. Aquaculture 258, 1-33.

14- Freitas, P.D., Jesus, C.M., GALETTI, P.M., 2007. 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 7, 324-326.

15- Freitas, P.D.d., Galetti Junior, P.M., 2002. PCR-based VNTR core sequence analysis for inferring genetic diversity in the shrimp Litopenaeus vannamei. Genetics and Molecular Biology 25, 431-434.

16- Garcia, D.K., Alcivar-Warren, A., 2007. 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 26, 1203-1216.

17- Gilpin, M., M/E. Soulé. 1986. Minimum viable populations: processes of species extinction. Conservation biology: the science of scarcity and diversity. Sinauer, Sunderland, Massachusetts, USA, 19-34.

18- Gitterle, T., Rye, M., Salte, R., Cock, J., Johansen, H., Lozano, C., Suárez, J.A., Gjerde, B., 2005. Genetic (co) variation in harvest body weight and survival in Penaeus (Litopenaeus) vannamei under standard commercial conditions. Aquaculture 243, 83-92.

19- Goudet, J., 2001. FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9. 3). In, City.

20- Goyard, E., Arnaud, S., Vonau, V., Bishoff, V., Mouchel, O., Pham, D., Wyban, J., Boudry, P., 2003. 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 16, 501-508.

21- Hartl, D.L., Clark, A.G., 1998. Principles of population genetics. Third edition.

22- Hopkins, J.S., Sandifer, P.A., DeVoe, M.R., Holland, A.F., Browdy, C.L., Stokes, A.D., 1995. Environmental impacts of shrimp farming with special reference to the situation in the continental United States. Estuaries 18, 25-42.
23- Lightner, D., 2003. Exclusion of specific pathogens fro disease prevention in a penaeid shrimp biosecurity program 1-116 in C.-S. Lee and PJ O'Bryen, editors. Biosecurity in Aquaculture Production Systems: Exclusion of Pathogens and Other Undesirables. The World Aquaculture Society, 1-116.
24- Lotz, J.M., 1997. Viruses, biosecurity and specific pathogen-free stocks in shrimp aquaculture. World Journal of Microbiology and Biotechnology 13, 405-413.
25- Lotz, J.M., Browdy, C.L., Carr, W.H., Frelier, P.F., Lightner, D.V., 1995. USMSFP suggested procedures and guidelines for assuring the specific pathogen status of shrimp broodstock and seed. In: Swimming through troubled water. Proceedings of the special session on shrimp farming, Aquaculture, pp. 66-75.
26- Meehan, D., Xu, Z., Zuniga, G., Alcivar-Warren, A., 2003. High frequency and large number of polymorphic microsatellites in cultured shrimp, Penaeus (Litopenaeus) vannamei [Crustacea: Decapoda]. Marine Biotechnology 5, 311-330.
27- Moss, S.M., Arce, S.M., Moss, D.R., Otoshi, C.A., 2006. Disease prevention strategies for penaeid shrimp culture. The Oceanic Institute, Hawaii USA.
28- Moss, S.M., Doyle, R.W., Lightner, D.V., 2005. Breeding shrimp for disease resistance: challenges and opportunities for improvement. Diseases in Asian aquaculture V. Manila: Asian Fisheries Society, 379-393.
29- Munro, J., Owens, L., 2007. Yellow head-like viruses affecting the penaeid aquaculture industry: a review. Aquaculture research 38, 893-908.
30- Norris, A., Bradley, D., Cunningham, E., 1999. Microsatellite genetic variation between and within farmed and wild Atlantic salmon (Salmo salar) populations. Aquaculture 180, 247-264.
31- Nunan, L., Poulos, B., Lightner, D., 1998. The detection of white spot syndrome virus (WSSV) and yellow head virus (YHV) in imported commodity shrimp. Aquaculture 160, 19-30.
32- Peakall, R., Smouse, P.E., 2006. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. Molecular Ecology Notes 6, 288-295.
33- Perez-Enriquez, R., Hernández-Martínez, F., Cruz, P., 2009. Genetic diversity status of White shrimp Penaeus (Litopenaeus) vannamei broodstock in Mexico. Aquaculture 297, 44-50.
34- Pérez Farfante, I., Kensley, B., 1997. Penaeoid and sergestoid shrimps and prawns of the world. Keys and diagnoses for the families and genera. Memoires du Museum National d'Histoire Naturelle (France).
35- Pruder, G.D., Brown, C.L., Sweeney, J.N., Carr, W.H., 1995. High health shrimp systems: seed supply—theory and practice. Swimming Through Troubled Water, Proceedings of the Special Session on Shrimp Farming. World Aquaculture Sociely, Baton Rouge, LA USA, 40-52.
36- Rosenberry, B., 1996. Shrimp news international. In. World Shrimp Farming, San Diego, 2006 (19): 1-164, City.
37- Saulnier, D., Haffner, P., Goarant, C., Levy, P., Ansquer, D., 2000. Experimental infection models for shrimp vibriosis studies: a review. Aquaculture 191, 133-144.
38- Sedhuraman, V., Haq, M.B., Kavitha, P., Ahamed, A.S., Banu, M.N., Tiwary, C., Srinivasan, M., 2014. Geographical differentiation and wssv infestation of spf litopenaeus vannamei brood stock shrimp using molecular verdicts.
39- Soto-Hernandez, J., Grijalva-Chon, J., 2005. Genetic differentiation in hatchery strains and wild white shrimp Penaeus (Litopenaeus) vannamei (Boone, 1931) from northwest Mexico. Aquaculture International 12, 593-601.
40- Tamayo, R.J.M., 2006. Assessment of genetic variability in two lots of white shrimp, Litopenaeus vannamei (Boone, 1931) introduced to Cuba.
41- Tapay, L.M., Nadala Jr, E.C.B., Loh, P.C., 1999. A polymerase chain reaction protocol for the detection of various geographical isolates of white spot virus. Journal of virological methods 82, 39-43.
42- Utter, F.M., 1991. Biochemical genetics and fishery management: an historical perspective. Journal of Fish Biology 39, 1-20.
43- Valles-Jimenez, R., Cruz, P., Perez-Enriquez, R., 2004. Population genetic structure of Pacific white shrimp (Litopenaeus vannamei) from Mexico to Panama: microsatellite DNA variation. Marine Biotechnology 6, 475-484.
44- Van Hulten, M.C., Reijns, M., Vermeesch, A.M., Zandbergen, F., Vlak, J.M., 2002. Identification of VP19 and VP15 of white spot syndrome virus (WSSV) and glycosylation status of the WSSV major structural proteins. Journal of General Virology 83, 257-265.
45- Williams, R., Johnson, P., 2013. Genetic Policing: The Uses of DNA in Police Investigations. Willan.
46- Wolfus, G.M., Garcia, D.K., Alcivar-Warren, A., 1997. Application of the microsatellite technique for analyzing genetic diversity in shrimp breeding programs. Aquaculture 152, 35-47.

Abstract
Nowadays, *Litopenaeus vannamei* are the most important species of farmed penaeidae shrimp in the world that is rapidly replacing native species in areas aquaculture. Due to demand increase for this species culture, shrimp displacement to different areas may be associated with some potential pathogens transferred to new areas farmed. Therefore, in this study were prepared bi-osecurity conditions for specific disease-free production of *L. vannamei*. Thereafter, three populations (Molokaei, High health and mix of Molokaei and High health) of the shrimp various reserves were detected base on origin and genetic indexes such as: observed heterozygosity, expected heterozygosity, allele frequency, coefficient inbreeding, genetic differentiation, genetic distance and genetic identity. On the other hand, epidemiological studies indicate non pathogens (viral, bacterial, fungal and parasitic) recognition of different populations selected in the quarantine salon. The bioassay results showed that the average weight and length of the populations of High health and Mix significantly greater than was a population of Molokaei. The shrimp populations were stocked in fiberglass tank (five ton) and were kept separated in the quarantine salon. During maintenance shrimp of populations in the quarantine salon were evaluated living and non-living pathogens with PCR, microbiology and biochemical methods. There is not any pathogens detection from shrimp populations stocking in the quarantine salon, so the shrimps were carried over to pond for broodstock culture of specific pathogenic free.

Keyword: *Litopenaeus vannamei*, specific pathogenic free, bi-osecurity, population

Ministry of Jihad – e – Agriculture
AGRICULTURAL RESEARCH, EDUCATION & EXTENSION ORGANIZATION
Iranian Fisheries Science Research Institute – Shrimp Research Center

---

Project Title : Supply and protected different population of *Litopenaus vannamei* subadult zero foster (F_0) from difference provices Iran
Approved Number:14-80-12-9352-93002
Author: Mohammad Khalilpazir
Project Researcher : Mohammad Khalilpazir
Collaborator(s) *:* J. Hossieni, A. Ghasemi, M. Porkazemi, A. Zendehbodi, Kh. Aein jamshid, B. Ghaednia, A. Matinfar, M. Afsharnasab, Gh. Gaharibi, R. Ghorbani vaghei, M. Mirbakhsh, A. Paygozar, A.R. Asadi, H. Ghanaatian, E. Baghmolaei, A. Mahianeh
Advisor(s): -
Supervisor:-
Location of execution : Bushehr Province
Date of Beginning :2014
Period of execution : 2 Years
Publisher : Iranian Fisheries Science Research Institute
Date of publishing : 2017

All Right Reserved . No Part of this Publication May be Reproduced or Transmitted without indicating the Original Reference

MINISTRY OF JIHAD - E - AGRICULTURE
AGRICULTURAL RESEARCH, EDUCATION & EXTENSION ORGANIZATION
Iranian Fisheries Science Research Institute -Shrimp Research Center

Project Title :

Supply and protected different population of *Litopenaus vannamei* subadult zero foster (F_0) from difference provices Iran

Project Researcher :

Mohammad Khalil Pazir

Register NO.

50930