بهره‌برداری و پرورش آبزیان
جلد دوم، شماره سوم، پاییز ۱۳۹۲
http://japu.gau.ac.ir

بررسی ساختار ژنتیکی صدف مرواریدساز محار (*Pinctada radiata*) در جزیره هندورابی

معین رجایی[۱]، *[*]حمید فرحمند[۲]، هادی پورباقر[۳] و محمدصدیق مرتضوی[۴]

[۱]دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد اکولوژی آبزیان، دانشگاه تهران، [۲]دانشیار گروه شیلات، دانشگاه تهران، [۳]استادیار گروه شیلات، دانشگاه تهران، [۴]استادیار پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان، بندرعباس

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۱۲/۸ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۳/٦

چکیده

خلیج فارس یکی از زیستگاه‌های مهم گونه *Pinctada radiata* می‌باشد و فقدان اطلاعات ژنتیکی در مورد این‌گونه با ارزش در منطقه خلیج فارس دیده می‌شود. در این پژوهش تعداد ۳۰ عدد صدف محار با روش غواصی در جزیره هندورابی تهیه و ساختار ژنتیکی آن‌ها مورد بررسی قرار گرفت. بیشترین تنوع ژنی ۰/۸۱٦ در لوکوس M052 و کمترین آن ۰/۷٦۸ در لوکوس M059 مشاهده شد. همچنین بیشترین میزان درون‌آمیزی در لوکوس M068 و کمترین آن در لوکوس M059 دیده شد. علاوه‌بر این جمعیت هندورابی از نظر هتروزیگوتی و تعداد الل‌ها تقریباً با سایر نقاط پراکنش این جنس در دنیا برابر است. از سوی دیگر مقایسه میزان درون‌آمیزی جمعیّت هندورابی با سایر نقاط پراکنش این جنس در دنیا نشان داد که میزان درون‌آمیزی در جمعیّت هندورابی از بیشتر جمعیّت‌های مورد مقایسه بیشتر است. در نتیجه، این‌گونه که در گذشته پراکنش وسیعی در خلیج فارس داشته، در حال حاضر به‌دلیل انقراض‌های محلی به جمعیّت‌های کوچک‌تری تقلیل یافته است. بروز چنین انقراض‌هایی علاوه‌بر کاهش اندازه جمعیّت سبب کاهش تنوع ژنتیکی و افزایش درون‌آمیزی جمعیّت‌های صدف محار شده است.

واژه‌های کلیدی: ذخیره، ساختار ژنتیکی، هندورابی، *Pinctada radiata*

[*] مسئول مکاتبه: hfarahmand@ut.ac.ir

مقدمه

تنوع ژنتیکی درون‌گونه‌ای در جمعیت‌های طبیعی از اهمیّت زیادی برخوردار است و به‌عنوان یک اولویت جهانی برای حفاظت مشخص شده است. تنوع ژنتیکی نه تنها نشان‌دهنده سازگاری‌های تکاملی است، بلکه نقش بنیادی درتوانایی یک گونه برای مقابله در برابر فشارهای محیطی و اکولوژیکی دارد (الندورف و لویی کارت، ۲۰۰۷). رید و فرانکام (۲۰۰۳) با مروری که بر روی ۳٤ مطالعه گوناگون انجام دادند به‌این نکته پی بردند که ارتباط معنی‌داری بین تنوع ژنتیکی و فیتنس موجود وجود دارد، بنابراین لزوم حفاظت از تنوع ژنتیکی را نشان می‌دهد. همچنین کاهش تنوع ژنتیکی بر میزان درون‌آمیزی نیز اثر می‌گذارد. به‌همین دلایل سازمان جهانی حفاظت، تنوع ژنتیکی را یکی از سه اولویت جهانی حفاظت شمرده است (مک‌نیلی و همکاران، ۱۹۹۰). تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های مختلف سطوح متفاوتی دارد. به‌طور طبیعی جمعیت‌های بزرگ برون‌آمیز سطح تنوع ژنتیکی بالایی دارند که باعث می‌شود افراد در برابر تغییرات محیطی واکنش‌های متفاوتی از خود نشان دهند. اما جمعیّت‌های کوچک از تنوع ژنتیکی کمی برخوردارند که با گذشت هر نسل مقدار آن کاهش می‌یابد، در نتیجه کاهش، افزایش و یا حذف برخی الل‌ها در نسل‌های بعد اتفاق می‌افتد. بنابراین بی‌توجهی به مسائل ژنتیکی در مدیریت گونه‌های تجاری می‌تواند منجربه شکست این برنامه‌ها شود.

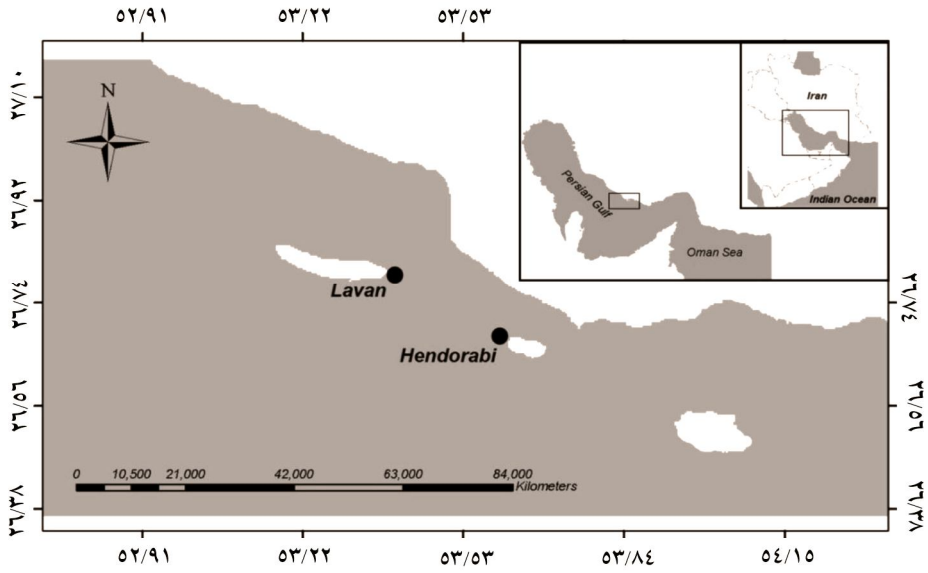
علاوه‌بر اهمیّت در حفاظت، اولین مرحله در ارزیابی ذخایر، کشف ذخیره و جمع‌آوری اطلاعات در مورد یک ذخیره با ارزش است. لارکین (۱۹۷۲) ذخیره را این‌گونه تعریف کرد: گروهی از جانوران که دارای خزانه ژنی مشترک و به اندازه کافی مشخص باشد تا بتوان بر آن مدیریت نمود (پارسامنش، ۲۰۰۱). از دیدگاه ارزیابی و مدیریت ذخایر دانستن ساختار ژنتیکی ذخایر طبیعی برای مدیریت دراز مدت ذخایر آبزیان حیاتی است (بنزی و بال منت، ۱۹۹٤). تعیین تنوع ژنتیکی ذخایر می‌تواند به‌عنوان مبنایی برای تعیین ساختار ذخایر باشد (بگ و همکاران، ۱۹۹۹). در اغلب موارد روش‌های متعددی مورد استفاده قرار می‌گیرند تا این مساله مشخص شود. این روش‌ها مطالعات ریخت‌سنجی همانند روش خط سیر پیرامونی (مارکوز و همکاران، ۲۰۱۰)، نقطه‌گذاری (کاردین، ۲۰۰۵) و ریخت‌سنجی سنتی (تلیگ زوآری و همکاران، ۲۰۱۰) و تکنیک‌های ژنتیکی را شامل می‌شود. از جمله تکنیک‌های ژنتیکی می‌توان به ریزماهواره‌ها (بنزی و اسمیت‌کین، ۲۰۰٦؛ لیند و همکاران، ۲۰۰۷)، AFLP (یو و چو، ۲۰۰٦؛ گوانگ‌دانگ، ۲۰۰۹)، RAPD (کیم و همکاران، ۲۰۰۸) و توالی‌یابی میتوکندریایی (یو و همکاران، ۲۰۰٦؛ چنگ و همکاران، ۲۰۱۱) اشاره کرد.

ریزماهواره‌ها یا ردیف‌های تکراری ساده (SSR) در دو دهه گذشته به یکی از پرکاربردترین مارکرهای مولکولی مورد استفاده پژوهشگران علوم مختلف تبدیل شده است. چندشکلی بالا و تفسیر نتایج به نسبت ساده دو ویژگی مهم ریزماهواره‌ها هستند که آن‌ها را تبدیل به ابزار مولکولی قدرتمند در مباحث ژنتیک جمعیّت کرده‌اند (زای و همکاران، ۲۰۰۲). ردیف‌های ریزماهواره‌ای غیر پایدارند و با کاهش یا افزایش واحدهای تکرارشونده دچار تغییرات فراوان در طول می‌شوند. به‌طور خلاصه از جمله کاربردهای ریزماهواره‌ها می‌توان به تهیه نقشه‌های پیوستگی، شناسایی افراد و خانواده‌ها و شناسایی نژاد و بررسی‌های ژنتیک جمعیّت اشاره کرد. مزایای ریزماهواره‌ها چندشکلی بالا، پراکنش یکنواخت در ژنوم، توارث هم غلبه و سهولت تعیین ژنوتیپ‌ها می‌باشد. تلاش، زمان و هزینه زیاد از جمله مهمترین معایب ریزماهواره‌ها می‌باشند.

صدف‌های مرواریدساز در کشورهای زیادی برای تولید مروارید مورد بهره‌برداری قرار می‌گیرند. در گذشته صید مروارید در خلیج فارس زیاد بود و حدود ۸۰ درصد تولید جهانی مروارید طبیعی را در برمی‌گرفت (آلماتار و همکاران، ۱۹۹۳). وجود جزایر متعدد و سکوهای مرجانی و صخره‌های همراه با آب گرم و حاصلخیز بخش‌هایی از پهنه خلیج‌فارس از جزیره خارک تا دهانه هرمز را به صورت یکی از زیستگاه‌های مهم انواع صدف‌های مرواریدساز درآورده است. گونه صدف محار *Pinctada radiata* گونه‌ای از رده دوکفه‌ای‌ها می‌باشد که در آب‌های اطراف جزایر هندورابی، کیش، فارور، هرمز، لارک، تنب بزرگ و تنب کوچک، ابوموسی و لاوان پراکنش دارد (حسین‌زاده صحافی و همکاران، ۱۳۷۹). با وجودی که در سال ۱۹٦۰ حدود ۸۰ درصد از مروارید طبیعی دنیا از خلیج فارس تأمین می‌شد (صدف لب سیاه و صدف محار) اما متأسفانه امروزه ذخایر آن به دلایل زیر کاهش یافته است (۱) صید بی‌رویه در سال‌های گذشته توسط صیادان بومی جهت استحصال مروارید، (۲) وجود چاه‌های نفت و کشتی‌های نفتکش با تخریب بستر در زیستگاه‌های صدف، (۳) صید قاچاق در زمان تعطیلی فصل صید و تولید مثل و (٤) پراکندگی بسیار زیاد مولدین و عدم لقاح در فصل تخم‌ریزی برای صدف لب سیاه. با توجه به این‌که جمعیت این‌گونه رو به کاهش می‌باشد، بروز درون‌آمیزی و کاهش تنوع ژنتیکی در جمعیّت آن امری اجتناب‌ناپذیر به‌شمار می‌رود. بنابراین با توجه به ارتباط مستقیم تنوع ژنتیکی با زیستایی جمعیت، بررسی تنوع ژنتیکی این گونه جهت جلوگیری از کاهش تنوع ژنتیکی آن از اهداف اصلی این مطالعه می‌باشد. در این پژوهش با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره ساختار ذخیره گونه *P. radiata* در منطقه جزیره هندورابی مورد بررسی قرار می‌گیرد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری: عملیات نمونه‌گیری از جزایر هندورابی در زمستان ۱۳۸۹ صورت گرفت. موقعیّت جغرافیایی این جزیره در شکل ۱ نشان داده شده است. تعداد ۳۰ عدد صدف محار با روش غواصی SCUBA و در عمق ۱۰-۸ متر تهیه شد.



شکل ۱- موقعیت جغرافیایی و فاصله بین جزایر هندورابی و لاوان

بافت ماهیچه نزدیک‌کننده[1] از صدف‌ها جدا شد و در اتانول ۹٦ درصد جهت انجام مطالعات مولکولی نگهداری شد. سپس نمونه‌ها به آزمایشگاه بیوتکنولوژی گروه شیلات دانشگاه تهران منتقل شدند.

استخراج DNA: ۰/۵ گرم از بافت ماهیچه نزدیک‌کننده در داخل میکروتیوپ ۱/۵ استریل قرار داده شد و به آن ۳۰۰ میکرولیتر از محلول لایزیز بافر و ۳۰ میکرولیتر پروتئیناز K (۱۰mg/ml) اضافه شد و به‌مدت ۵ ساعت در بن‌ماری ۵۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. سپس کل DNA ژنوسمیک با روش فنل-کلروفرم ایزوآمیل الکل استخراج شد (سامبروک و همکاران، ۱۹۸۹). کیفیت DNAهای موجود در نمونه‌های استخراج شده به‌واسطه الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۱ درصد بررسی شد و

1- Adductor muscle

مقدار DNA با استفاده از دستگاه طیف‌سنج نقره‌ای (NanoDrop-ND1000) در طول موج ۲٦۰ میکرومتر اندازه‌گیری شد.

رقیق‌سازی DNA: با توجه به این‌که مقادیر بافت مورد استفاده در عملیات استخراج متفاوت می‌باشد، پس از اندازه‌گیری مقدار غلظت DNA سعی شد مقدار غلظت DNA در بیشتر نمونه‌ها به‌صورت تقریبی برابر شود که این عمل با تنظیم نسبت نمونه DNA و آب مقطر انجام شد و در نهایت مقدار تقریبی DNA برای بیشتر نمونه‌ها به ۸۰–٦۰ نانوگرم در میلی‌لیتر تبدیل شد.

پس از استخراج DNA، برای انجام بررسی‌های ریزماهواره‌ای جمعیت موردنظر با مرور منابع صورت گرفته از ٦ جایگاه ریز ماهواره استفاده شد که مشخصات آن‌ها در جدول ۱ ارایه شده است.

جدول ۱- مشخصات ریزماهواره‌های به‌کار رفته شده در مطالعه

نام لوکوس	توالی آغازگر (5'-3')	توالی‌های تکراری ریزماهواره	طول محصول PCR	تعداد الل مشاهده شده	دمای اتصال	مرجع
HNUPM052	F:F: GATTTAAGGGAGCCGAGACC R:R: TAGTCGGGCGCATACTCTTC	$(TA)_6$	۱٦۰–۲۳۸	۱٤	٦۰	شی و همکاران، ۲۰۰۹
HNUPM068	F: GGCAAGTTCATCGCATAGTTC R: TCCACCAGAAGAGAAACCAAC	$(AAT)_4$	۳۰۸–۳۵۳	۷	٦۱	شی و همکاران، ۲۰۰۹
HNUPM059	F: CGAATGCGAACTACGTGAAC R: GGAGGGATGGTGCTAAAATG	$(TC)_7$	۲۸٤–۳۷٦	۱۸	۵۵	شی و همکاران، ۲۰۰۹
Pmx 16_23	F: CCATACCCACCCACCATC R: TATCAAAGTCGGGAGGCA	$(GT)_{26}$	۱٦۵–۱۸۰	۱۸	۵٦	کوآنگ و همکاران، ۲۰۰۹
Pmx + 022	F: ACA ATA AAG CGC CAT AGC R: TCA TCG TCT CAT CCT GAA C	$(CT)_{17}$	۱٤۷–۱۹۷	۲۱	۵٦	اسمیت و همکاران، ۲۰۰۳
JCUPm 1_g8	F: TTAGTTGTTTGGGGTTTTGAGAC R:CAGAAGCAATTCTAAATCAATCAG	$(CT)_8$	۲۱۳–۲٤۱	۱۷	۵۵	ایوانز و همکاران، ۲۰۰٦

تکثیر ریزماهواره‌ها: پس از انتخاب نشانگرهای موردنظر واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) برای تکثیر هر کدام از ریزماهواره‌ها به‌صورت جداگانه و اختصاصی انجام شد. با توجه به‌این نکته که در بانک جهانی ژن هیچ آغازگر اختصاصی ریزماهواره برای گونه صدف محار ثبت نشده بود، آغازگرهای مورد بررسی از گونه‌های نزدیک به صدف محار با توجه به درخت تبارشناسی جنس *Pinctada* انتخاب شدند (یو و چو، ۲۰۰٦؛ کان‌ها و همکاران، ۲۰۱۱). از برنامه‌های دمایی و ترکیب بیوشیمیایی متفاوت برای آغازگرهای متفاوت استفاده شد. ترکیب بیوشیمیایی واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز در جدول ۲ ارایه شده است.

جدول ۲- مقدار مواد استفاده شده برای ساخت یک واکنش PCR

ردیف	محتوا	میزان (میکرولیتر)
۱	ddH2O	۱٦/۵
۲	10x PCR buffer	۲/۵
۳	Mgcl2	۱/۵
٤	dNTP	۱/۰
۵	Rp	۱/۰
٦	F p	۱/۰
۷	DNA	۱/۰
۸	Taq DNA polymerase	۰/۵
	میزان کل	۲۵/۰

برای انجام واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز از دو برنامه برای آغازگرهای متفاوت استفاده شد. از برنامه دمایی یک برای آغازگر HNUPM052 (جدول ۳) و برنامه دمایی دو برای آغازگرهای HNUPM068 و HNUPM059 استفاده شد (جدول ٤) آغازگرهای JCUPm 1_g8 و Pmx + 0222 و Pmx 16_23 نیز با شرایط دمایی و بیوشیمیایی گوناگون مورد بررسی قرار گرفتند.

جدول ۳- مراحل واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (آغازگر HNUPM052)

مراحل	دما (درجه سانتی‌گراد)	زمان
واسرشته‌سازی اولیه	۹٦	۷ دقیقه
واسرشته‌سازی ثانویه	۹٤	۱ دقیقه
اتصال آغازگر	۵۷	۱ دقیقه
توسعه اولیه	۷۲	۱ دقیقه
توسعه ثانویه	۷۲	۷ دقیقه

جدول ٤- مراحل واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (آغازگرهای HNUPM068 و HNUPM059)

مراحل	دما (درجه سانتی‌گراد)	زمان
واسرشته‌سازی اولیه	۹٦	۷ دقیقه
واسرشته‌سازی ثانویه	۹٤	۱ دقیقه
اتصال آغازگر	۵۷	۱ دقیقه
توسعه اولیه	۷۲	۱ دقیقه

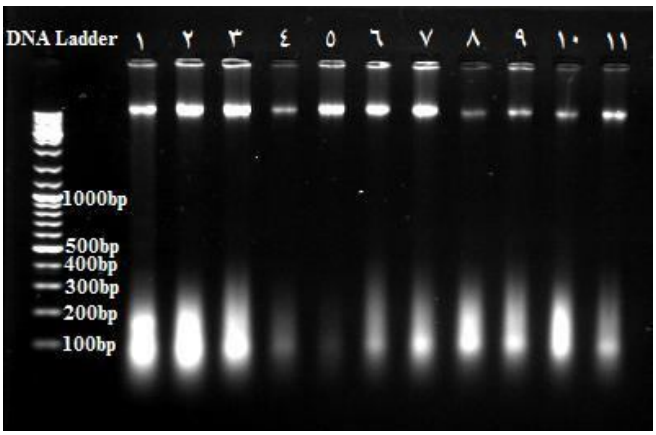
پس از تکثیر ریزماهواره‌های مورد بررسی موفقیت عملیات تکثیر به‌واسطه الکتروفورز محصولات PCR بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد بررسی شد (شکل ۳).

پس از کسب اطمینان از موفق بودن عملیات PCR، محصول PCR بر روی ژل متافور ٤ درصد (FMC, Rockland, Maine, USA) برده شد (شکل ٤).

آنالیزهای آماری: تعداد الل‌ها (N_A)، هتروزیگوتی مشاهده شده (H_o)، هتروزیگوتی مورد انتظار (H_e) و تعداد الل‌های مؤثر (N_e) با استفاده از نرم‌افزار Popgen 1.32 محاسبه شدند (نی، ۱۹۷۳؛ یه و همکاران، ۱۹۹۳؛ لاپاتی، ۲۰۰۰). برای محاسبه ضریب درون‌آمیزی (F_{IS})، غنای اللی (R_S) (لبرگ، ۲۰۰۸) و تنوع ژنی از نرم‌افزار FSTAT 2.9.3.2 استفاده شد (گودت، ۱۹۹۵).

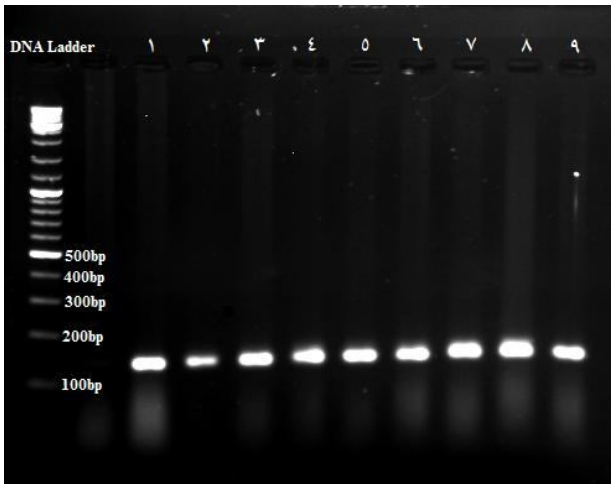
نتایج

DNAهای استخراج شده آلودگی کمی داشتند (شکل ۲) و غلظت آن‌ها به‌طور میانگین حدود ۱۳۱۱/۱۹ ng/µl بود، بنابراین با استفاده از آب مقطر غلظت نمونه‌ها به‌طور تقریبی به حدود ۸۰-٦۰ نانوگرم در میلی‌لیتر رقیق‌سازی شد.



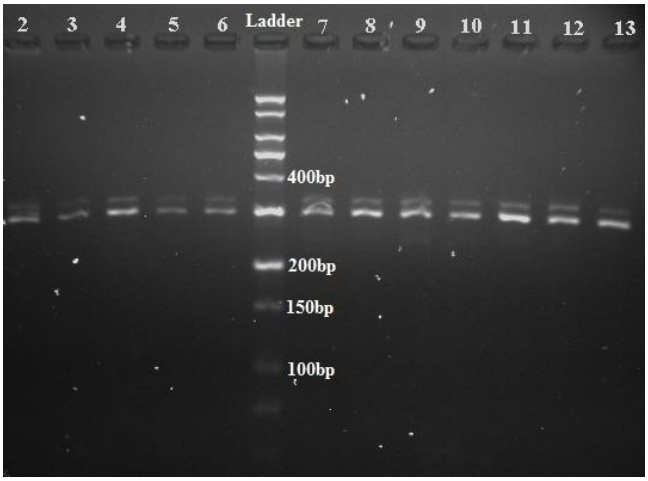
شکل ۲- کیفیت DNA استخراج‌شده به‌واسطه الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۱ درصد، شماره‌های یک تا ۱۱ نشان‌دهنده ژنوم کامل و DNA Ladder نشان‌دهنده اندازه طول قطعات می‌باشد

موفقیّت عملیات تکثیر به‌واسطه الکتروفورز بر روی ژل اگارز ۱/۵ درصد مورد بررسی قرار گرفت (شکل ۳). از میانگین آغازگرهای به‌کار رفته آغازگرهای JCUPm 1_g8 و Pmx + 0222 و Pmx 16_23 تحت شرایط دمایی و بیوشیمیایی گوناگون هیچ باندی تشکیل ندادند.



شکل ۳- بررسی وجود ریزماهواره‌ها در محصول PCR. شماره‌های یک تا نه نشان‌دهنده ریزماهواره‌های تکثیرشده آغازگر HNUPM052 و DNA Ladder نشان‌دهنده استاندارد اندازه می‌باشد

آغازگرهای HNUPM068 و HNUPM059 و HNUPM052 در محدوده موردنظر باند تشکیل دادند که با استفاده از الکتروفورز بر روی ژل متافور ٤ درصد هتروزیگوتی و هوموزیگوتی الل‌ها مورد بررسی قرار گرفت (شکل ٤).



شکل ٤- محصول PCR آغازگر HNUPM068 بر روی ژل متافور ٤ درصد (FMC, Rockland, Maine, USA). شماره‌های ۱۳-۲ نشان‌دهنده ریزماهواره‌های تکثیرشده و Ladder نشان‌دهنده اندازه قطعات می‌باشد

تنوع ژنتیکی تخمین‌زده شده در میان نشانگرهای مختلف متفاوت بود. تنوع ژنتیکی محاسبه شده که به‌صورت تعداد الل‌ها در هر لوکوس (N_A) مشخص شده است، از ۷ الل در لوکوس HNUPM059 تا ۱۰ الل در لوکوس HNUPM052 متغیر بود. تعداد کل الل‌های به‌دست آمده از مجموع جایگاه‌ها در جمعیّت کل برابر با ۲۸ و میانگین تعداد الل‌ها به ازای هر لوکوس ۸/٦٦٦٧ بود. هتروزیگوتی مشاهده‌شده در میان لوکوس‌های مختلف تفاوت چندانی نداشت. دامنه هتروزیگوتی مشاهده‌شده بین ۰/٦١٥٤ و ۰/۷۳۹۱ به‌دست آمد. همچنین دامنه هتروزیگوتی موردانتظار بین ۰/۷۵۷۳ و ۰/۸۱٤٥ بود. سایر نتایج مربوطه در (جدول ٥) ارائه شده است.

جدول ۵- شاخص‌های تنوع ژنتیکی جمعیّت صدف محار در جزیره هندورابی. داده‌ها عبارتند از: اندازه الل‌ها[1]، تعداد الل‌ها (A)، هتروزیگوتی مشاهده شده (H_o)، هتروزیگوتی موردانتظار (H_e)، تعداد الل‌های مؤثر (N_e)

لوکوس	اندازه آلل‌ها	N_A	H_o	H_e	N_e
HNUPM052	۱۲۲-۱۵۸	۱۰	۰/۷۳۹۱	۰/۸۱٤٥	٤/۹۲۰۹
HNUPM068	۲۵۳-۳۲٦	۹	۰/٦۱٥٤	۰/۷۷۸۳	٤/۲۲٥
HNUPM059	۲٥۷-۳۱۲	۷	۰/٦٦٦۷	۰/۷٥۷۳	۳/۸۳٤۸
میانگین		۸/٦٦٦۷	۰/٦۷۳۷	۰/۷۸۳۳	٤/۳۲٦۹

برای بررسی وضعیت درون‌آمیزی در جمعیّت‌های مورد مطالعه از آماره F_{IS} برای هر کدام از جایگاه‌های ریزماهواره استفاده شد (جدول ٦). بیشترین مقدار درون‌آمیزی در لوکوس HNUPM068 و کمترین آن در لوکوس HNUPM059 مشاهده شد. به‌طور میانگین مقدار درون‌آمیزی در جمعیّت صدف محار در جزیره هندورابی ۰/۱۲۱ به‌دست آمد. غنای اللی در میان لوکوس‌ها از ۷ تا ۹/۸٦۸ متغیر بود و به‌طور میانگین مقدار آن در همه لوکوس‌ها ۸/٥٥٦ به‌دست آمد. همچنین لوکوس HNUPM052 بیشترین میزان تنوع ژنی را داشت به‌طور میانگین میزان تنوع ژنی در لوکوس‌های مورد بررسی ۰/۷۸۹ به‌دست آمد (جدول ٦).

جدول ٦- مقادیر ضریب درون‌آمیزی (F_{IS})، غنای اللی (R_S) و تنوع ژنی برای جایگاه‌های موجود در جمعیّت مورد مطالعه

لوکوس	F_{IS}	R_s	تنوع ژنی
HNUPM052	۰/۰۹٤	۹/۸٦۸	۰/۸۱٦
HNUPM068	۰/۲۱٥	۸/۸۰۱	۰/۷۸٤
HNUPM059	۰/۰٥۲	۷	۰/۷٦۷
میانگین	۰/۱۲۱	۸/٥٥٦	۰/۷۸۹

بحث

براساس نتایج به‌دست آمده میانگین تعداد الل‌های مشاهده شده در نمونه‌های جمع‌آوری شده از جزیره هندورابی ۸/٦ می‌باشد که این عدد به مقدار زیادی تحت تأثیر تعداد نمونه‌ها می‌باشد. به‌همین

1- Allele range

جهت بایستی تعداد نمونه‌ها حداقل ۳۰ عدد باشد تا تعداد الل‌های واقعی در بررسی‌های ریزماهواره‌ای نشان داده شود (گلدستین و اسچلونزر، ۱۹۹۹؛ سیلوا و روسو، ۲۰۰۰؛ پیکال و اسموس، ۲۰۰۵). این مورد در پژوهش حاضر رعایت شد بنابراین می‌توان تنوع ژنتیکی به‌دست‌آمده را با سایر نقاط پراکنش این جنس مقایسه کرد. بررسی جمعیت هندورابی از نظر هتروزیگوتی و تعداد الل‌ها نشان می‌دهد که جمعیّت هندورابی وضعیت خوبی دارد. جدول ۷ مقایسه‌ای بین تنوع ژنتیکی به‌دست‌آمده در جمعیّت هندورابی با ۸ جمعیت دیگر از جنس *Pinctada* در سایر نقاط دنیا را نشان می‌دهد (لیند و همکاران، ۲۰۰۷). همان‌طور که مشاهده می‌شود تنوع اللی صدف محار در جزیره هندورابی تقریباً با سایر نقاط پراکنش این جنس برابر است. چنین امری نشان‌دهنده این است که برخلاف صید بیش از اندازه هنوز صدف‌های این جزیره تنوع خوبی دارند. با توجه به این‌که کاهش تنوع ژنتیکی توانایی یک گونه برای مقابله با تغییرات محیطی را کمتر می‌کند (فرانکام، ۲۰۰۳)، بنابراین بایستی عنوان نمود که جمعیّت هندورابی از اهمیّت حفاظتی بالایی برخوردار است. به‌همین دلیل بایستی تنوع موجود به‌خوبی حفاظت شود تا در اثر کاهش اندازه جمعیت تنوع ژنتیکی موجود کاهش نیابد، زیرا کاهش اندازه جمعیت هندورابی می‌تواند با برهم زدن تعادل میان جهش و رانش سرعت کاهش تنوع ژنتیکی را افزایش دهد (وادا و جری، ۲۰۰۸). بنابراین با توجه به این‌که تنوع ژنتیکی در جمعیّت‌های طبیعی از اهمیّت زیادی برخوردار است و به‌عنوان فاکتور اصلی جهت آداپتاسیون و گونه‌زایی معرفی می‌شود (آلندورف و لویی‌کارت، ۲۰۰۷)، لزوم حفاظت از تنوع موجود بیش از پیش آشکار می‌شود.

از سوی دیگر مقایسه میزان درون‌آمیزی جمعیت هندورابی با سایر نقاط پراکنش این جنس نشان می‌دهد میزان درون‌آمیزی در جمعیت هندورابی به‌جز جمعیّت Aru از سایر جمعیّت‌ها بیشتر است (جدول ۷). چنین امری می‌تواند مرتبط با کاهش اندازه جمعیت باشد زیرا کاهش اندازه جمعیت احتمال درون‌آمیزی را افزایش می‌دهد (فرانکام، ۲۰۰۳). ضرایب درون‌آمیزی به‌دست‌آمده در این پژوهشگر بیانگر بروز این پدیده در جمعیّت هندورابی است، زیرا بروز تغییر یا اختلاف معنی‌دار در تنوع ژنتیکی بیشتر از آن‌که مربوط به افزایش اندازه جمعیّت باشد ناشی از کاهش اندازه جمعیّت است (آموس وهاروود، ۱۹۹۸). این مورد می‌تواند دلیل بسیار خوبی برای میزان درون‌آمیزی بیشتر جمعیّت هندورابی نسبت به سایر نقاط پراکنش این جنس باشد. با توجه به اینکه افزایش میزان درون‌آمیزی یکی از مهمترین عوامل در انقراض جمعیّت‌های طبیعی می‌باشد (فرانکام، ۲۰۰۳) بایستی حداکثر تلاش جهت جلوگیری از کاهش جمعیت این‌گونه انجام شود.

جدول ۷- مقایسه تنوع ژنتیکی جمعیت هندورابی با ۸ جمعیت دیگر از جنس *Pinctada* در سایر نقاط دنیا

	Hendourabi	Hainan Island	Vietnam	West Papua	Bali	Aru	West Australia	Torres Strait	Eastern Australia	میانگین
N_A	۸/٦۷	۷/۸۳	۷/٦۰	۱۰/۰۰	۹/۵۰	۱۰/۵۰	۹/۳۰	۸/٦۰	٦/۸۳	۸/۷٦
R_S	۸/۵٦	٦/٦٦	۷/۱۰	۷/۵٦	۷/۷۷	۸/۰۵	۷/٤۰	٦/۷۳	٦/٦۷	۷/۳۹
H_O	۰/٦۷	۰/٦۹	۰/٦۱	۰/٦۹	۰/٦٦	۰/٦۹	۰/٦٦	۰/۷٤	۰/۷۰	۰/٦۸
H_E	۰/۷۸۳۳	۰/٦۸	۰/۷۰	۰/۷٤	۰/۷۳	۰/۷۲	۰/۷۰	۰/۷۱	۰/٦۷	۰/۷۲
F_{IS}	۰/۱۲	۰/۱۱	۰/۱۲	۰/۱۱	۰/۰۷	۰/۱۲	۰/۰۸	۰/۰۸۱	۰/۰۳	۰/۱۰

چنین نتایجی فقط از لحاظ مقایسه‌ای صحیح می‌باشد و با توجه به این‌که هیچ‌گونه اطلاعات ژنتیکی از گذشته این صدف در جزیره مذکور موجود نمی‌باشد بنابراین نمی‌توان با قطعیت سخن از کاهش یا افزایش تنوع ژنتیکی زد. اما به‌طورکلی می‌توان این‌گونه نتیجه‌گیری کرد که این‌گونه که در گذشته پراکنش وسیعی در خلیج فارس داشته، در حال حاضر به‌دلیل انقراض‌های محلی به جمعیّت‌های کوچک‌تری تقلیل یافته‌است. آنچه مسلم است بروز چنین انقراض‌هایی علاوه‌بر کاهش اندازه جمعیّت سبب حذف بخشی از تنوع ژنتیکی این‌گونه و افزایش درون‌آمیزی در این جمعیّت شده است. با توجه به این‌که درون‌آمیزی و کاهش تنوع ژنتیکی خطر انقراض گونه‌ای را افزایش می‌دهند (فرانکام، ۲۰۰۳)، بایستی با جمعیّت جزیره هندورابی به‌عنوان واحدی دارای مدیریت جداگانه برخورد شود و از نقل و انتقال بین حوضه‌ای افراد خودداری گردد زیرا این نقل و انتقالات می‌تواند پدیده‌هایی مانند اختلال در مجموعه ترکیبات ژنتیکی همساز و کاهش سازگاری‌های محلی جمعیت را در پی داشته باشد و پایداری جمعیّت را به مخاطره اندازد. از طرف دیگر برای بررسی تأثیر انقراض‌های محلی بر تنوع ژنتیکی بایستی میزان ارتباط آن جمعیّت با جمعیّت‌های دیگر مورد بررسی قرار گیرد تا تأثیر مهاجرت یا عدم مهاجرت بر روی تنوع ژنتیکی جمعیت مورد بررسی مشخص گردد.

سپاسگزاری

از مجموعه کارمندان ایستگاه پژوهشی نرم‌تنان خلیج فارس به‌ویژه آقای مهندس رامشی، جناب آقای دکتر نعمت‌اللهی، سرکار خانم مهندس خلیلی، آقای مهندس احمد فرهادی و مهندس اصغر عزیزیان تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

1. Allendorf, F., and Luikart, G. 2007. Conservation and the genetics of populations. Wiley-Blackwell, London. 642p.
2. Almatar, S., Carpenter, K., Jackson, R., Alhazeem, S., Al-Saffar, A., Abdul-Ghaffar, A., and Carpenter, C. 1993. Observations on the pearl oyster fishery of Kuwait. J. Shellfish Research. 12: 35-39.
3. Amos, W., and Harwood, J. 1998. Factors affecting levels of genetic diversity in natural populations. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences. 353: 177-185.
4. Begg, G.A., Friedland, K.D., and Pearce, J.B. 1999. Stock identification and its role in stock assessment and fisheries management: an overview. Fisheries Research. 43: 1-8.
5. Benzie, J., and Smith-Keune, C. 2006. Microsatellite variation in Australian and Indonesian pearl oyster (*Pinctada maxima)* populations. Marine Ecology Progress Series. 314: 197-211.
6. Benzie, J.A.H., and Ballment, E. 1994. Genetic differences among black-lipped pearl oyster (*Pinctada margaritifera*) populations in the western Pacific. Aquaculture. 127: 145-156.
7. Cadrin, S.X. 2005. Chapter 7-Morphometric Landmarks. In. Steven, X.C., Kevin, D.F., John R. WaldmanA2-Steven X. Cadrin, K.D.F., John, R.W. (Ed.). Stock Identification Methods. Burlington, Academic Press. Pp: 153-172.
8. Cheng, Y., Jin, X., Shi, G., Wang, R., and Xu, T. 2011. Genetic diversity and population structure of miiuy croaker populations in East China Sea revealed by the mitochondrial DNA control region sequence. Biochemical Systematics and Ecology. 39: 718-724.
9. Cunha, R., Blanc, F., Bonhomme, F., and Arnaud-Haond, S. 2011. Evolutionary patterns in pearl oysters of the genus *Pinctada*. Marine Biotechnology. 13: 181-192.
10. Frankham, R. 2003. Genetics and conservation biology. Comptes Rendus Biologies. 326: 22-29.
11. Goldstein, D.B., and Schlotterer, C. 1999. Microsatellites: evolution and applications. Pp: 8-18.
12. Goudet, J. 1995. FSTAT (version 1.2): a computer program to calculate F-statistics. J. Heredity. 86: 485-486.
13. Guangdong, C. 2009. Genetic characteristics of hybrid populations derived by crossing Chinese and Indian pearl oysters (*Pinctada fucata)* based on AFLP markers. African Journal of Agricultural Research. 4: 659-664.
14. Kim, C., Na, H.R., and Choi, H.K. 2008. Genetic diversity and population structure of endangered *Isoetes coreana* in South Korea based on RAPD analysis. Aquatic Botany. 89: 43-49.

15. Labate, J.A. 2000. Software for population genetic analyses of molecular marker data. Crop Science. 40: 1521-1528.
16. Leberg, P. 2008. Estimating allelic richness: effects of sample size and bottlenecks. Molecular Ecology. 11: 2445-2449.
17. Lind, C.E., Evans, B.S., Taylor, J.J.U., and Jerry, D.R. 2007. Population genetics of a marine bivalve (*Pinctada maxima)* throughout the Indo-Australian Archipelago shows differentiation and decreased diversity at range limits. Molecular Ecology. 16: 5193-5203.
18. Marquez, F., Robledo, J., Penaloza, G.E., and Van der Molen, S. 2010. Use of different geometric morphometrics tools for the discrimination of phenotypic stocks of the striped clam (*Ameghinomya antiqua)* in north Patagonia, Argentina. Fisheries Research. 101: 127-131.
19. McNeely, J.A., Miller, K.R., Reid, W.V., Mittermeier, R.A., and Werner, T.B. 1990. Conserving the world's biological diversity. IUCN Gland. 342p.
20. Ne, L., Bargelloni, L., and Patarnello, T. 2002. Strategies for microsatellite isolation : a review. Molecular Ecology. 11: 1-16.
21. Nei, M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. Proceedings of the National Academy of Sciences. 70: 3321-3323.
22. Parsamanesh, A. 2001. Principle of Fish stock assessment. IFRO. Press, 163p.
23. Peakall, R., and Smouse, P.E. 2005. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. Molecular Ecology Notes. 6: 288-295.
24. Reed, D., and Frankham, R. 2003. Correlation between fitness and genetic diversity. Conservation Biology. 17: 230-237.
25. Silva, E., and Russo, C. 2000. Techniques and statistical data analysis in molecular population genetics. Hydrobiologia. 420: 119-135.
26. Tlig-Zouari, S., Rabaoui, L., Irathni, I., Diawara, M., and Ben Hassine, O. 2010. Comparative morphometric study of the invasive pearl oyster (*Pinctada radiata*) along the Tunisian coastline. Biologia. 65: 294-300.
27. Wada, K.T., and Jerry, D.R. 2008. Chapter 12-Population genetics and stock improvement. In: (Ed.). The Pearl Oyster. London, Elsevier. Pp: 437-471.
28. Yu, D.H., and Chu, K.H. 2006. Low genetic differentiation among widely separated populations of the pearl oyster (*Pinctada fucata)* as revealed by AFLP. J. Experimental Marine Biology and Ecology. 333: 140-146.
29. Yu, D.H., and Chu, K.H. 2006. Species identity and phylogenetic relationship of the pearl oysters in *Pinctada* Röding, 1798 based on ITS sequence analysis. Biochemical Systematics and Ecology. 34: 240-250.
30. Yu, D.H., Jia, X., and Chu, K.H. 2006. Common pearl oysters in China, Japan, and Australia are conspecific: evidence from ITS sequences and AFLP. Fisheries Science. 72: 1183-1190.