بررسی تنوع ژنتیکی ماهی گل خورک (*Periophthalmus waltoni*) با استفاده از نشانگر های RAPD در خلیج فارس

سعاد یعش بچاری[1]، حسین ذوالقرنین[1]، مهدی محمدی[2]، محمد علی سالاری علی آبادی[*1]، سید احمد قاسمی[2]

۱. گروه زیست شناسی دریا، دانشکدۀ علوم دریایی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر
۲. گروه بیوتکنولوژی دریا، مرکز مطالعات و پژوهش های خلیج فارس، دانشگاه خلیج فارس بوشهر

* نویسندۀ مسؤول مقاله: Email

چکیده

به منظور مطالعه ژنتیکی جمعیت های گل خورک ماهی *Periophthalmus waltoni* در مناطق خور زنگی، هندیجان و دلوار با استفاده از روش مولکولی RAPD، تعداد ۶۹ نمونه گل خورک ماهی جمع آوری شد. DNA ژنومی نمونه‌ها از بافت نرم باله ماهی به روش فنل- کلروفرم استخراج و سپس کمیت و کیفیت DNA استخراج شده با استفاده از روش اسپکتروفتومتری و الکتروفورز ژل آگارز ۱ درصد تعیین شد. واکنش زنجیره ای پلیمراز (PCR) با استفاده از ۶ پرایمر RAPD ده نوکلئوتیدی صورت گرفت. مقادیر مربوط به فراوانی آللی، تعداد آللهای واقعی و موثر، هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار، شاخص شانون، میزان شباهت و فاصله ژنتیکی, مقادیر Gst و جریان ژنی بر اساس آزمون AMOVA با استفاده از نرم افزار ژنتیکی Gene Alex و Pop Gene محاسبه گردید. بر اساس داده های فراوانی آللی، مجموعا ۹ آلل اختصاصی یافت شد که ۵ عدد از آنها مربوط به نمونه های منطقه هندیجان و ۳ عدد از آنها مربوط به نمونه های منطقه دلوار و ۱ عدد در منطقه خورزنگی مشاهده شد. میانگین میزان تنوع ژنتیکی در جمعیت هندیجان ۰/۲۵۰۹ در حالیکه مقدار آن در منطقه خور زنگی ۰/۱۸۱۵ و در منطقه دلوار ۰/۲۲۶۷ می باشد. در سطح معنی داری ۰/۰۱ میزان شباهت ژنتیکی بین دو جمعیت هندیجان و خورزنگی ۰/۸۳۳ در حالیکه میزان شباهت بین هندیجان و دلوار ۰/۹۰۱ و میزان شباهت بین دلوار و خورزنگی ۰/۹۲۴ می باشد. نتایج این بررسی نشان داد که سه جمعیت مورد بررسی در واقع سه جمعیت مجزا بوده و متعلق به دو کلاستر می باشند.

واژگان کلیدی: ماهی گل خورک، *Periophthalmus waltoni*، RAPD-PCR، خلیج فارس، شباهت و فاصله ژنتیکی.

* نویسنده مسوول، پست الکترونیک:salari@kmsu.ac.ir

۱. مقدمه

گل خورک ها از گروه گاو ماهیان می باشد که بعد از کپور ماهیان بزرگترین خانواده ماهیان را تشکیل می دهد. گونه غالب گل خورک ماهیان متعلق به جنس *periophthalmus waltoni* بوده که دارای پراکنشی در طول سواحل خلیج فارس تا پاکستان می باشد (Murdy, 1989). ماهیان این راسته بطور کامل به زندگی دوزیستی سازش یافته اند و اغلب فعالیت های خود را که شامل تغذیه، جفت گیری و دفاع از قلمرو می باشد را بر روی خشکی انجام می دهند و دارای اعضای تخصصی تکامل یافته از جمله چشم برای دید هوایی و باله شکمی صفحه مانند جهت خزیدن و تنفس پوستی می باشند. گل خورک ارزش اقتصادی کمی دارد ولی غذای محبوب مردم تایوان، ژاپن، کره و چین محسوب می شود. غذای آنها بی مهرگان کوچک و جلبک های میکروسکوپی بوده و از لحاظ جنسی هرمافرودیت هستند (Clayton, 1993). گل خورک طعمه ای است برای جانوران شکارچی خشکی و آبزی و در واقع خود منبع اصلی غذای ماهی ها و پرندگان محل سکونت خود را تشکیل می دهند (Clayton, 1993; Clayton and Vaughan, 1988).

آگاهی از وجود تنوع ژنتیکی در جمعیت های یک گونه از دیدگاه آبزی پروری و همچنین بهره برداری از ذخایر طبیعی و تعیین سیاست های حمایتی برای حفاظت از گونه های در معرض خطر انقراض حائز اهمیت است (Hassanien *et al*., 2004). از آنجا که مطالعات پیشین جهت شناسایی جمعیت های این گونه عمدتا مبتنی بر شاخص های مریستیک و مورفومتریک بوده است لذا اطلاعات کمی از بررسی های تنوع ژنتیکی این گونه وجود دارد. یکی از روش های مبتنی بر PCR که امروزه جهت بررسی تنوع و روابط ژنتیکی میان جمعیت ها بکار می رود روش RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA) می باشد. از جمله مزایای این روش که در ان از آغازگرهای کوتاه دارای توالی تصادفی جهت تکثیر بخشهای مجزایی از ژنوم یک موجود استفاده میشود، سهولت و سرعت انجام آزمایشهای مربوط به آن و مهمتر از آن عدم نیاز به وجود اطلاعات در مورد پیشینه ژنتیکی موجود مورد نظر می باشد (Hadrys *et al*., 1992).

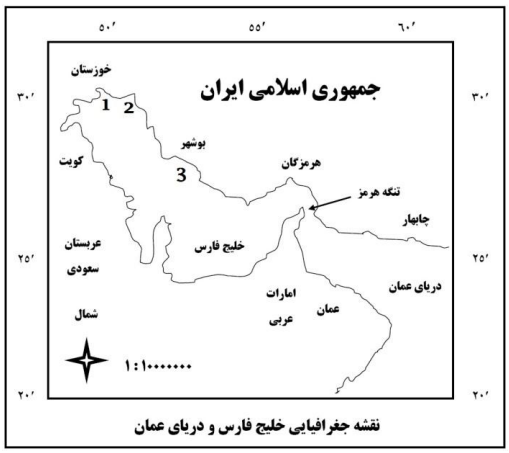
از این روش جهت بررسی روابط و تنوع ژنتیکی در گونه های مختلفی از ماهیان نظیر قزل آلای قهوه ای و ماهی آزاد اقیانوس اطلس (Elo *et al*., 1997)، باس دهان بزرگ (Williams *et al*., 1998) کپور معمولی (Bartfai *et al*., 2003)، کپور ماهیان هندی (Barman *et al*., 2003) و تیلاپیا (Hassanien *et al*., 2004) استفاده شده است. Daud و همکاران در سال ۲۰۰۵ تنوع ژنتیکی ۵ جمعیت از گل خورک خال طلایی مالاکا *periophthalmus chrysospilos* را با استفاده از روش RAPD مورد بررسی قرار دادند که از ۲۰ پرایمر ۸ پرایمر باندهای واضحی آشکار ساختند و از ۹۵ باند ۴۱ باند پلی مورفیسم بودند. Mohammadi در سال ۲۰۰۷ تنوع ژنتیکی ماهی *Boleophthalmus Boddarti* را در مالزی و در شش جمعیت مختلف بررسی نمودند که پلی مورفیسم مشاهده شده بین ۳۱/۳۵ الی ۴۷/۳۲ درصد در نوسان بوده و بیشترین پلی مورفیسم مربوط به جزیره ای جدا شده از مالزی بود که کلاستر مجزایی را تشکیل داده بود.

هدف از انجام این تحقیق ارائه اطلاعات در مورد ساختار ژنتیکی جمعیت های گونه گل خورک *Periophthalmus waltoni* و تعیین تنوع ژنتیکی و شناسایی اختلافات ژنتیکی احتمالی موجود در بین مناطق هندیجان، خور زنگی و دلوار می باشد.

۲. مواد و روش ها

جمع آوری نمونه ها بصورت تصادفی با استفاده از صید تجارتی صیادان محلی و از منطقه خور زنگی و هندیجان واقع در استان خوزستان و منطقه دلوار واقع در استان بوشهر انجام شد (شکل ۱). پس از حصول اطمینان از هویت تاکسونومیک ماهی با استفاده از

خصوصیات مریستیک و مورفومتریک تعداد ۶۹ عدد ماهی گل خورک انتخاب گردید. بافت باله پشتی جدا و پس از فیکس نمودن در الکل مطلق ۹۶ درصد جهت انجام مطالعات بعدی به آزمایشگاه بیوتکنولوژی مرکز مطالعات خلیج فارس در استان بوشهر منتقل شدند. استخراج DNA با استفاده از روش فنل-کلروفورم انجام شد (Hillis and Moritz, 1990). ارزیابی کمیت و کیفیت DNA استخراجی با استفاده از اسپکتروفتومتر و الکتروفورز آن بر روی ژل آگاروز ۱ درصد همراه با مقایسه با نشانگر DNA (100 bp DNA Ladder, MBI Fermentas) و مشاهده وضوح و شدت باندهای تولید شده انجام شد.



شکل ۱. موقعیت مناطق نمونه برداری در سواحل شمالی خلیج فارس (۱ منطقه خور زنگی، ۲ منطقه هندیجان واقع در استان خوزستان و ۳ منطقه دلوار واقع در استان بوشهر).

در این تحقیق از ۶ عدد آغازگر ۱۰ نوکلئوتیدی با توالی های مختلف استفاده شد (جدول ۱). در هر واکنش PCR با حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر از ۱۵ نانوگرم DNA، بافر PCR، ۴۰۰ میکرومولار از هر dNTP، ۰/۵ میکرومولار آغازگر و ۱ واحد آنزیم تک پلیمراز و ۱/۵ میلی مولار کلرید منیزیم استفاده شد. در هر سری از آزمایش ها از یک کنترل منفی نیز استفاده گردید. آغازگر های مورد استفاده در واکنش های PCR ساخت شرکت سیناژن بود. واکنش PCR در تیوپ های ۰/۲ میکرولیتری انجام شد. برنامه حرارتی دستگاه ترموسایکر به صورت ۹۴ درجه سانتیگراد به مدت ۵ دقیقه برای واسرشته سازی اولیه، همراه با ۳۵ چرخه حرارتی به صورت ۹۴ درجه سانتیگراد به مدت یک دقیقه جهت واسرشته سازی، ۴۲ درجه سانتیگراد به مدت یک دقیقه جهت اتصال آغارگر و ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۳ دقیقه جهت بسط انجام شد. پس از آن نیز به منظور بسط نهایی واکنش از درجه حرارت ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۵ دقیقه استفاده گردید. به منظور ظاهر سازی و بررسی الگوی باند های نمونه ها ۵ میکرولیتر ازهر محصول PCR بر روی ژل پلی اکریلامید ۳ درصد همراه با مقایسه با نشانگر DNA (50 bp DNA Ladder, MBI Fermentas) رانده شد و پس از الکتروفورز ۱۵۰ ولت به ۴ ساعت، ژل های مورد نظر با استفاده از نیترات نقره رنگ آمیزی گردید (کیوان شکوه و همکاران، ۱۳۸۳).

جدول ۱. کد و توالی آغازگرهای مورد استفاده در بررسی تنوع ژنتیکی ماهی گل خورک

توالی آغازگر	کد آغازگر
5´-CAGGCCCTTC-3´	Opa (01)
5´-AATCGGGCTG-3´	Opa (04)
5´-GAAACGGGTG-3´	Opa (07)
5´-GTGATCGCAG -3´	Opa (10)
5´-CAAACGTCGG -3´	Opa (19)
5´-GTTGCGATCC -3´	Opa (20)

تصاویر ژل پلی اکریل آمید پس از رنگ آمیزی توسط دستگاه مستند ساز ژل مدل HEROLAB D69168Wiesloch ثبت و ذخیره گردید. ژنوتیپ هر فرد با مشاهده الگوی باندی مربوط به آن تعیین گردید. امتیازدهی باندها با ثبت عدد یک در صورت وجود باند و ثبت عدد صفر در صورت عدم وجود باند مورد نظر در الگوی باندی هر فرد انجام شد (Das *et al*., 2005). در تعیین ژنوتیپ افراد تنها باند های تکرارپذیر و با وضوح زیاد ثبت گردید و از ثبت باندهای ضعیف و تکرارناپذیر صرف نظر گردید. جهت حصول اطمینان از حضور باندها و تکرارپذیری آنها، آزمایشهای PCR دو بار تکرار گردید. تنوع ژنتیکی، شاخص شانون، میزان شباهت، فاصله ژنتیکی بر اساس Nei (1972, 1978)، جریان ژنی، تنوع ژنتیکی بر اساس تست AMOVA در سطح خطای ۰/۰۱ در نرم افزار GeneAlex (Peakall and Smouse, 2006) و PopGene (Yeh *et al*., 1999) مورد محاسبه قرار گرفت.

۳. نتایج

تعداد باندهای تولید شده بوسیله همه پرایمرهای مورد استفاده در جمعیت خور زنگی ۴۱ باند با میانگین ۶/۶ باند برای هر پرایمر بود که بیشترین تعداد باندهای تولید شده توسط پرایمر شماره ۴ با ۱۰ باند و کمترین تعداد باندهای تولید شده متعلق به پرایمر شماره ۷ با ۲ باند می باشد. تعداد باندها در سطح فراوانی ۵ درصد در منطقه خور زنگی برابر با ۴۰ می باشد. تعداد باندهای تولید شده بوسیله همه پرایمرهای مورد استفاده در جمعیت دلوار ۴۶ باند با میانگین ۷/۱ باند برای هر پرایمر بودکه بیشترین تعداد باندهای تولید شده توسط پرایمر شماره ۴ و ۱۹ با ۱۰ باند و کمترین متعلق به پرایمر شماره ۲۰ و ۷ با ۵ باند می باشد. تعداد باندها در سطح فراوانی ۵ درصد در منطقه دلوار برابر با ۴۴ می باشد. درصد باندهای پلی مورفیسمی در جمعیت هندیجان ۸۶/۴۴ درصد بود در حالی که درصد باندهای پلی مورفیسم در منطقه خور زنگی۶۶/۱ درصد و درصد باند های پلی مورفیسم در منطقه دلوار ۷۴/۵۸ بود. میانگین باندهای پلی مورفیسم در سه جمعیت۷۵/۷۱ درصد می باشد. این بررسی ها بیانگر وجود تنوع ژنتیکی بیشتر این گونه در منطقه هندیجان می باشند. بر اساس داد های فراوانی آللی مجموعا ۹ آلل اختصاصی یافت شد که ۵ عدد از این آللها مربوط به نمونه های منطقه هندیجان و ۱ آلل دیگر در نمونه های خور زنگی و ۳ عدد از این آلل ها در نمونه های منطقه دلوار یافت شد. در منطقه هندیجان بیشترین آلل اختصاصی مشاهده شده در پرایمر شماره ۱ با ۵ آلل اختصاصی مشاهده شده و در سایر پرایمر ها آلل اختصاصی مشاهده نشد. در منطقه خور زنگی آلل اختصاصی در پرایمرهای شماره ۱۹ با ۱ آلل اختصاصی و در سایر پرایمرها آلل اختصاصی مشاهده نشد. در سه جمعیت بیشترین آلل اختصاصی در پرایمر شماره ۱ با ۵ آلل اختصاصی و کمترین در پرایمر شماره ۱۰ و ۴ مشاهده شد، که فاقد آلل اختصاصی بود (جدول ۲). میانگین میزان تنوع ژنتیکی در جمعیت هندیجان ۰/۲۵۰۹ با انحراف معیار ۰/۱۶۶۸ محاسبه گردید در حالی که میانگین میزان تنوع ژنتیکی در مناطق خور زنگی و دلوار به

ترتیب ۰/۱۸۱۵ با انحراف معیار ۰/۱۷۴۵ و دلوار۰/۲۲۶۷ با انحراف معیار۰/۱۷۴۳ به دست آمد (جدول ۲). میزان Gst با میزان جریان ژنی رابطه عکس دارد به عبارتی دیگر وقتی میزان Gst در بیشترین مقدار ممکن باشد میزان جریان ژنی بین نمونه ها در کمترین مقدار ممکن می باشد به بیانی دیگر ارتباط بین نمونه ها کمتر می باشد (جدول ۳).

میزان فاصله و شباهت ژنتیکی بین جمعیت ها با استفاده از معیار ژنتیکی Nei (1978) و با استفاده از نرم افزار ژنتیکی PopGene مورد آنالیز قرار گرفت و بیشترین میزان شباهت ژنتیکی بدست آمده بین دو جمعیت خور زنگی و دلوار و بیشترین میزان فاصله ژنتیکی محاسبه شده بین دو جمعیت هندیجان و خور زنگی مشاهده شد (جدول ۴ و شکل ۲).

جدول ۲. میزان تنوع ژنتیکی در سه جمعیت هندیجان، خور زنگی و دلوار

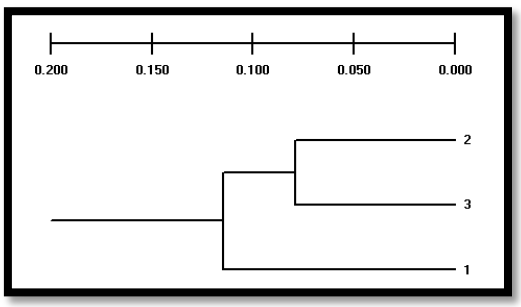
منطقه	تعداد نمونه ها	تعداد باندها	باندهای اختصاصی	میانگین تنوع ژنتیکی	میانگین شاخص شانون (H)	انحراف معیار
هندیجان	۲۳	۵۳	۵	۰/۲۵۰۹	۰ /۳۸۸۷	۰/۱۶۸۶
خور زنگی	۲۳	۴۱	۱	۰/۱۸۱۵	۰/۲۸۶۰	۰/۱۷۴۵
دلوار	۲۳	۴۶	۳	۰/۲۲۶۷	۰/۳۵۰۹	۰/۱۷۴۳

جدول ۳. میزان جریان ژنی و Gst بین جمعیت های هندیجان، خور زنگی و دلوار (مقادیر زیر خط قطری نشان دهنده مقدار Gst و مقادیر بالای خط قطری نشان دهنده میزان جریان ژنی می باشد).

	هندیجان	خور زنگی	دلوار
هندیجان	***	۰/۶۸۷	۰/۹۷۴
خور زنگی	۰/۲۶۰	***	۱/۰۳۳
دلوار	۰/۲۰۴	۰/۱۹۵	***

جدول ۴. میزان فاصله و شباهت ژنتیکی بین جمعیت ها با استفاده از معیار ژنتیکی Nei (1978) (مقادیر زیر خط قطری نشان دهنده مقدار فاصله ژنتیکی و مقادیر بالای خط قطری نشان دهنده میزان شباهت ژنتیکی می باشد).

	هندیجان	خور زنگی	دلوار
هندیجان	***	۰/۸۸۶۳	۰/۹۰۷۶
خور زنگی	۰/۱۲۰۷	***	۰/۹۲۹۲
دلوار	۰/۰۹۷۰	۰/۰۷۳۵	***



شکل ۲. درخت فیلوژنی حاصل از معیار ژنتیکی Nei (1978) (۱ منطقه خور زنگی، ۲ منطقه هندیجان واقع در استان خوزستان و ۳ منطقه دلوار واقع در استان بوشهر).

۴. بحث و نتیجه گیری

اولین قدم در مدیریت صحیح منابع و ذخایر شناسایی ذخایر ژنتیکی گونه های بومی همان منطقه می باشد. از طرف دیگر تشخیص گونه ها، جمعیتها و یا نژادها از نظر مدیریتی و حفاظت از گونه های در معرض خطر نیز حائز اهمیت می باشد. در این پروژه از تکنیک مولکولی RAPD جهت بررسی ۶۹ نمونه *Periophthalmus waltoni* جمع آوری شده از سه منطقه هندیجان و خورزنگی در استان خوزستان و دلوار در استان بوشهر استفاده شد. در این بررسی۲۰ پرایمر مورد استفاده قرار گرفت که در این بین فقط ۶ پرایمر باند های واضحی دادند. تعداد این باند ها ۵۹ عدد بود. در این مطالعه خور زنگی کمترین مقدار پلی مورفیسم (۶۶/۱ درصد) و هندیجان بیشترین مقدار پلی مورفیسم (۸۶/۴۴ درصد) را نشان داد که این تفاوت در پلی مورفیسم جمعیت های مختلف یک گونه دلایل مختلفی از جمله آلودگی های ایجاد شده توسط پتروشیمی های موجود در منطقه خور زنگی می توان ذکر نمود.

Camargo و همکاران در سال ۲۰۰۶ نشان دادند که ماهی Neotropical محصور شده در رودخانه Urban در جنوب برزیل دارای کاهش هتروزیگوسیتی ناشی از آلودگی آن محیط می باشد مشابه وضعیت فوق در منطقه خورزنگی نیز احتمال دارد کاهش پلی مورفیسم به علت آلودگی های ایجاد شده توسط پتروشیمی های موجود در منطقه باشد که وارد آب می شوند. Hassanien و همکاران در سال ۲۰۰۴ تنوع ژنتیکی تیلاپیا *Oreochromis niloticus* در رودخانه نیل در مصر را مورد بررسی قرار داد بیشترین درصد باندهای پلی مورفیسم در منطقه Qena می باشد که ناشی از تفاوت جغرافیایی زیاد این منطقه با بقیه مناطق مورد بررسی می باشد. در این بررسی هندیجان دارای درصد بالای پلی مورفیسم بود ولی برخلاف نتایج Hassanien و همکاران در سال ۲۰۰۴ به نظر نمی رسد این درصد بالای پلی مورفیسم تابع فاصله جغرافیایی زیاد باشد. در این منطقه ورود آب شیرین و اختلاط آن با آب دریا به دلیل ورود رودخانه زهره به این منطقه تغییرات محیطی فراوانی را ایجاد کرده که می توان احتمال داد این درصد بالای پلی موفیسم تابع این تغییرات می باشد.

نتایج این بررسی نشان داد که آلل های بیشتر هندیجان ناشی از وضعیت متغییر محیطی در منطقه هندیجان باشد که باعث شده علاوه بر پلی مورفیسم بالا آلل های اختصاصی این منطقه بیشتر از دلوار و خور زنگی باشد. Engelbrecht و Mulder در سال ۱۹۹۹ و Hassanien در سال ۲۰۰۴ هم دلایل مشابهی را برای بالاتر بودن آلل های اختصاصی جمعیت ساکن در یک منطقه در مقایسه با جمعیت ساکن در مناطق دیگر پیشنهاد کرده اند.. البته احتمال می رود که علت پایین بودن آلل های اختصاصی در خور زنگی آلودگی های موجود در آن منطقه باشد (Demeeus *et al*., 1993).

احتمال می رود که جریان ژنی کم باعث افزایش آلل های اختصاصی هندیجان با سایر مناطق شده است .اما در مورد خور زنگی می توان احتمال دادکه مواد سمی بر میزان مرگ و میر جمعیت ها، میزان تنوع ژنتیکی و فراوانی تاثیر گذاشته و آن را کاهش می دهد. این احنمال وجود دارد که آلل های کمیاب و نادر در طول این مدت نیز از بین بروند (Gillespie and Guttman, 1998; Belfiore and Anderson, 2001; Theodorakis *et al*., 2001).

بالاتر بودن تنوع ژنتیکی در هندیجان (۰/۲۵۰۹)، نشان دهنده سالم تر بودن و مناسب تر بودن ساختار محیطی در منطقه هندیجان نسبت به خورزنگی (۰/۱۸۱۵) و دلوار (۰/۲۲۶۷) می باشد و به نظر می رسد بهتر بودن شرایط زیست محیطی در هندیجان باعث شده که تولید مثل در بین گل خورک بیشتر باشد که در نتیجه آن تنوع ژنتیکی هم افزایش می یابد. در بررسی حاضر احتمالا فاکتورهای طبیعی نامناسب مانند شوری و آلودگی وارده از طرف پتروشیمی های موجود در منطقه خورزنگی از طریق

انتخاب طبیعی تنوع ژنتیکی را کاهش داده و بر ساختار ژنتیکی اثر می گذارند.

میزان Gst بین جمعیت هندیجان و خور زنگی ۰/۲۶۰ وبین هندیجان و دلوار ۰/۲۰۴ و بین جمعیت خور زنگی و دلوار ۰/۱۹۵ محاسبه گردید بنابر این گل خورک در مناطق هندیجان و خور زنگی تمایز ژنتیکی بسیار بالایی را نشان می دهد. میزان Nm بین جمعیت هندیجان و خورزنگی ۰/۶۸۷، میزان آن بین جمعیت هندیجان و دلوار ۰/۹۷۴ و بین خور زنگی و دلوار ۱/۰۳۳می باشد. بنابراین بیشترین مهاجرت بین خورزنگی و دلوار و کمترین تمایزژنتیکی بین جمعیت خورزنگی ودلوار وجود دارد یعنی بر خلاف فاصله جغرافیایی بالا مهاجرت بین این دو زیاد است. همچنین کم ترین مهاجرت بین جمعیت هندیجان و خورزنگی رخ داده است در نتیجه بیشترین تمایز ژنتیکی بین همین دوجمعیت، خور زنگی و هندیجان مشاهده می گردد. حال این‌که بیشترین مهاجرت بین خور زنگی و دلوار رخ داده که حاصل آن تمایز ژنتیکی پایین بین جمعیت های ساکن این دو منطقه می باشد.

نتایج حاصل از میزان شباهت ژنتیکی با میزان جریان ژنی بین سه منطقه همخوانی دارد. نتایج بدست آمده نشان می دهد که هر چند این سه جمعیت تفاوت خیلی زیادی از هم ندارند ولی سه جمعیت جدا و مستقل می باشند و در واقع نتایج بدست آمده از میزان Gst و جریان ژنی تایید کننده میزان شباهت به دست آمده بین سه جمعیت براساس معیار ژنتیکی Nei (1972) می باشد. در بررسی حاضر بر اساس تست AMOVA و میزان اختلاف ژنتیکی در سطح معنی داری ۰/۰۱، بین جمعیت هندیجان، دلوار و خور زنگی برابر با ۲۶ درصد و میزان تنوع و اختلاف ژنتیکی در داخل جمعیتها در سطح معنی داری ۰/۰۱ برابر با ۷۴ درصد بود و این نشان می دهد که اختلاف ژنتیکی در داخل جمعیت ها بیشتر از اختلاف ژنتیکی بین جمعیت ها می باشد.

با توجه به ارزیابی مقادیر بدست آمده از فراوانی آللی، هتروزیگوسیتی، تنوع ژنتیکی، Gst و ترسیم درخت فیلوژنی می‌توان جمع‌بندی نمود که سه جمعیت گل خورک *Periophthalmus waltoni* در منطقه هندیجان، خور زنگی و دلوار از هم جدا هستند و به نظر می رسد که ساختار ژنتیکی جمعیت گل خورک در منطقه هندیجان وضعیت بهتری نسبت به خور زنگی و دلوار دارد. از لحاظ ارزیابی روش مولکولی نیز نتایج نشان داد که روش RAPD از توانایی خوبی برای نشان دادن میزان تنوع ژنتیکی در گل خورک *Periophtalmus waltoni* برخوردار است.

منابع

کیوان شکوه، س.، پور کاظمی، م. و کلباسی، م. ۱۳۸۳. بررسی امکان تشخیص جنسیت فیل ماهی *Huso huso* با استفاده از روش PCR-RAPD. مجله علمی شیلات ایران، سال سیزدهم، ،شماره ۱. صفحات ۱۴۹-۱۶۲.

Barman, H., Barat, A., Bharat, M., Banerjee, Y., Meher, P., Reddy, P. and Jana, R. 2003. Genetic variation between four species of Indian major carps as revealed by random amplified polymorphic DNA assays. Aquacult. 217: 115-123.

Batfai, R., Egedi, S., Yue, G. H., Kovacs, B., Urbanyi, B., Tamas, G., Horvath, L. and Orban, L. 2003. Genetic analysis of two common carp broodstocks by RAPD and microsatellite markers. Aquacult. 219: 157-167.

Belfiore N. M. and Anderson S. L. 2001. Effects of contaminants on genetic patterns in aquatic organisms: a review. Mutat. Res. 489: 97 –122.

Camargo, M. M. P. and Martinez C. B. r. 2006. Biochemical and physiological biomarkers in Prochilodus lineatus submitted to insitu tests in an urban stream in southern Brazil. Environ. Toxicol. Pharmacol. 21: 61-69.

Clayton, D. A. 1993. Mudskippers. Oceanography and Marine Bulletin: an annual review. 31: 507-577.

Clayton, D. A. and Vaughan T. C. 1988. Ethogram of *Boleophthalmus boddarti* (Pallas)

amplified polymorphic DNA (RAPD). Aquac. Res. 35: 587-593.

Hillis, D. M. and Moritz, C. 1990. Molecular taxonomy. Sinauer Associates Inc Publishers. Sunderland, Massachusetts. U. S. A., 120 p.

Mohammadi, M. 2007. Genetic Diversity of *Boleophthalmus Boddarti* and Other Malaysian Gobies. PhD thesis, Universiti Putra Malaysia.

Murdy, E. O. 1989. A taxonomic revision and cladistic analysis of the *oxudercine gobies* (Gobiidae: Oxurdercinae). Rec. Aust. Mus. Suppl. 11: 1–93.

Nei, M. 1972. Genetic distance between populations. Am. Nat. 106: 283-292.

Nei, M. 1978. Molecular Evolutionary Genetics. Columbia University Press, Mew York, NY.

Peakall, R. and Smouse, P. E. 2006. GENALEX version 6. Genetic analysis in Excel, population genetic software for teaching and research. Mol. Ecol. Notes. 6: 288-295.

Theodorakis, C. W., Bickham, J. W. and Lamb, T. 2001. Integration of genotoxicity and population genetic analysis in kangaroo rats (*Dipodomys merriami*) exposed to radionuclide contamination at the Nevada test site, USA. Environ. Toxicol. Chem. 20: 317-326.

Williams, D. J., Kazianis, S. and Walter, R. B. 1998. Use of random amplified polymorphic DNA (RAPD) for identification of largemouth bass subspecies and their intergrades. Trans. Am. Fish. Soc. 127: 825–832.

Yeh, F. C., Yang, R. C. and Boyle T. 1999. POPGENE, version 1.31. Microsoft Window-based freeware for population genetic analysis, University of Alberta, Edmonton, Website http://www.ualberta,ca/ -fyeh.

(Teleostei, Gobiidae), a mudskipper found on the mudflats of Kuwait. Journal of the University of Kuwait Science. 15: 115-139.

Das, P., Prasad, H., Meher, P. K., Barat, A. and Jana R. K. 2005. Evaluation of genetic relationship among six labeo species using randomly amplified polymorphic DNA (RAPD). Aquac. Res. 36: 564-569.

Daud, S. K., Mohamadi, M., Siraj, S. S. and Zakaria, M. P. 2005. Morphometric analysis of Malaysian oxudercine goby, *Boleophthalmus boddarti* (Pallas, 1770). Pertanika J. Trop. Agric. Sci. 28 (2): 121-134.

Demeeus, T., Michalakis, Y., Renaud, F. and Olivier, I. 1993. Polymorphism in heterogeneous environments, evolution of habitat selection and sympatric speciation: soft and hard selection models. Evolution. Ecol. 7: 175–198.

Elo, K., Ivanoff, S., Jukka, A., Vuorinen, J. A. and Piironen, J. 1997. Inheritance of RAPD markers and detection of interspecific hybridization with brown trout and Atlantic salmon. Aquacult. 152: 55-56.

Engelbrecht G. D. and Mulder P. F. 1999. Extremely high genetic differentiation between two populations of the river goby, *Glossogobius callidus* (Smith, 1937). Water S. A. 25 (1) 85-90.

Gillespie, R. B. and Guttman, S. I. 1998. Chemical-induced changes in the genetic structure of populations: effects on allozymes.In: Forbes VE, editor. Genetics and ecotoxicology. Philadelphia: Taylor and Francis, pp. 55 –77.

Hadrys, H., Balick, M. and Schierwater, B. 1992. Application of random amplified polymorphic DNA (RAPD) in molecular ecology. Mol. Ecol. 1: 55-63.

Hassanien, H. A., Einady M., Obeida A. and Itriby H. 2004. Genetic diversity of Nile tilapia populations revealed by randomly