مقاله پژوهشی
مجله علوم و فنون دریایی
صفحات ۱ تا ۱۰
دوره ۱۹، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۹

بررسی تنوع جمعیتی صدف مروارید ساز لب سیاه (*Pinctada persica*) در جزایر خارک، شیدور، هندورابی و لارک توسط روش PCR-RFLP

مریم معظمی[۱]، محمد علی سالاری علی آبادی*[۱]، بیتا ارچنگی[۱]، حسین ذوالقرنین[۱]، سید احمد قاسمی[۲]

۱. گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی ، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر
۲. گروه بیولوژی دریا، مرکز مطالعات و پژوهش‌های خلیج فارس، دانشگاه خلیج فارس بوشهر

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۵/۱۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۲/۱۷
شناسه دیجیتال (DOI) : 10.22113/jmst.2019.142975.2187

چکیده

مطالعه حاضر با هدف بررسی تنوع جمعیتی صدف مروارید ساز لب سیاه *Pinctada persica* در جزایرخارک، شیدور، هندورابی ولارک با تکیه بر روش PCR-RFLP صورت گرفت. در این راستا تعداد۵۱ نمونه از مجموع هر۴ ایستگاه و از عمق ۶-۱متری جمع آوری شد. استخراج DNA توسط روش CTAB انجام پذیرفت. از یک جفت آغازگرعمومی ژن سیتوکروم اکسیدازI برای انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمراز استفاده شد. هضم آنزیمی محصول PCR به طول ۷۱۰ جفت باز، توسط ۵ آنزیم محدودگر*Ava* II ,*Dde* I ,*Hin*dIII ,*Sfa*NI و *Taq* I صورت پذیرفت. قطعات حاصل از هضم آنزیمی پس از الکتروفورز بر روی ژل پلی اکریل آمید و رنگ آمیزی با نیترات نقره، ظاهر و عکس برداری گردید. طبق نتایج بدست آمده الگوی الکتروفورز هضم آنزیمی هر یک از ۵۱ نمونه جمع آوری شده از ۴ ایستگاه در سواحل شمالی خلیج فارس با هر کدام از ۵ آنزیم بکار رفته یکسان می‌باشد. نتایج حاصله مؤید آن است که جمعیت صدف مروارید ساز لب سیاه مورد مطالعه از نظر این ژن کاملا همگن و بدون تنوع ژنتیکی است.

واژگان کلیدی: ژن سیتو کروم اکسیداز، Black-Lip Pearl Oyster، خلیج فارس، PCR-RFLP

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

۱. مقدمه

کشور پهناور ایران به علت گستردگی وسیع جغرافیایی و دارا بودن زیستگاه‌های متعدد، از اهمیت اکولوژیکی بالایی برخوردار می‌باشد و لذا آگاهی از ویژگی‌های اکولوژیکی گونه‌های متعدد آبزیان در آب‌های ایران می تواند درجهت مدیریت ذخایر آبزیان در آینده مؤثر باشد. خانواده *Pteriidae* در سراسر سواحل شمالی خلیج فارس از جزیره لارک تا خارک پراکندگی دارند. از این خانواده در آب‌های جنوبی خلیج فارس می‌توان به ۷ گونه، متعلق به ۳ جنس (Al-Khayat and Al-Ansi, 2008) و همچنین در آب‌های شمالی خلیج فارس می‌توان به *Pinctada radiate* (Gervis and Sims, 1992) و *Pinctada persica* اشاره کرد (Ranjbar et al., 2016).

این صدف از دیر باز در خلیج فارس وجود داشته که به همین دلیل به آن نام *Pinctada margaritifera persica* داده‌اند. زیستگاه‌های اصلی و قدیمی صدف مروارید ساز لب سیاه در آب‌های جنوبی ایران بیشتر در آب‌های اطراف جزایر هندورابی، شیدور، خارک، کیش، لاوان، قشم، آب‌های بنادر شیبکوه، بستانه و اطرف جزیره لارک می‌باشد (Tajalipour, 1994).

صدف‌های مروارید ساز لب سیاه جزء جانوران چسبیده به بستر و دارای حرکت جزئی می‌باشند و عمدتا در نواحی زیر جزر و مدی زندگی می‌کنند (Nagappan nayar and Mahadevan, 1987). مشابه دیگر دو کفه‌ای‌ها، تغذیه در صدف‌های مروارید ساز به روش صافی خواری می‌باشد (Gervis and Sims, 1992).

پوسته‌ها در صدف‌های مروارید ساز توسط جبه ساخته می‌شوند که همچنین عاملی برای پیوند مروارید در طی عمل مروارید سازی است. در مطالعه بافت شناسی و هیستوشیمی ساختار جبه گونه جدید صدف مروارید سازخلیج فارس *Pinctada persica* و مقایسه آن با دو گونه دیگر صدف مروارید ساز *Pinctada radiate* و *Pteria penguin* نشان داده شد که لبه‌های جبه در سه گونه مورد مطالعه دارای ساختار مشابه سلولی هستند، اما در شکل چین خوردگی‌ها متفاوت هستند (Parvizi et al., 2018).

در گذشته این صدف در خلیج فارس دارای ذخایر فراوانی بوده است که به دلایل مختلف از قبیل ایجاد اختلال در اکوسیستم از طریق افزایش بار آلودگی‌ها، به خصوص سطح بالای آلودگی مواد نفتی در اثر استخراج و انتقال و سایر آلاینده‌های زیست محیطی و صید بی رویه موجب شد تا روز به روز ذخایر طبیعی آن دستخوش تغییر و کاهش فراوان شود. در سال‌های گذشته و در فصول تخم ریزی در مناطق جزایر لاوان، کیش، نخیلو، بندر گناوه و طاهری متاسفانه هیچگونه صدفچه‌ای یافت نشد (Rameshi, 2007). این امر نشان دهنده این مطلب است که تکثیر طبیعی بخاطر تراکم کم و پراکندگی بیش از حد صدف‌های مولد در حد صفر می باشد. به طوریکه تراکم صدف مروارید ساز لب سیاه در جزیره هندورابی ۰/۰۰۱ قطعه صدف در متر مربع و در جزیره شیدور صفر قطعه در متر مربع و در جزیره لاوان و سایر مناطق ذکر شده فوق بکلی از بین رفته است. به طوریکه در حال حاضر پس از جستجوهای متعدد غواصی به سختی می‌توان تعداد معدودی را جمع آوری نمود (Rameshi, 2011).

آنالیز DNA میتوکندری روشی جدیدی محسوب می‌شود که به عنوان ابزار تحقیقاتی برای زیست‌شناسان با مقاصد شیلاتی استفاده می‌شود (Ovenden and Brasher, 1994). مطالعات mtDNA روشی حساس و دقیق برای آشکار کردن تفاوت ژنتیکی که ممکن است بین جمعیت‌های یک گونه وجود داشته باشد فراهم می‌کند و می‌توان از آنها در رده بندی فیلوژنی و در تعیین تفاوت و شباهت ژنتیکی موجودات استفاده نمود (Avise, 2004).

با توجه به ارزش اقتصادی صدف مروارید ساز لب سیاه و از سویی نادر شدن این صدف با ارزش در آب‌های ایران، در این مطالعه تلاش شده به بررسی تنوع جمعیتی این گونه در حاشیه شمالی خلیج

فارس پرداخته شود به امید اینکه راهکاری مناسب جهت حفظ و احیای این گونه با ارزش ارائه گردد.

۲. مواد و روش‌ها

در پژوهش حاضر، نمونه برداری از ۴ ایستگاه مختلف شامل جزیره خارک، جزیره شیدور، جزیره هندورابی و جزیره لارک در سال ۱۳۸۹ انجام گرفت. مجموع ۵۱ نمونه از ۴ ایستگاه مذکور، توسط عملیات غواصی از اعماق ۶- ۱ متری جمع آوری گردید. بافت عضله نمونه‌ها پس از جدا سازی در الکل ۹۶ درصد، تثبیت و به آزمایشگاه مرکز مطالعات و پژوهش‌های خلیج فارس بوشهرمنتقل شد.

یک جفت پرایمر سیتوکروم اکسیداز میتوکندریایی در این پژوهش مورد استفاده قرار گرفت که برگرفته از مطالعه جایگاه آلوزایم‌ها، mtDNA و ژنوم هسته در بین جمعیت تازه‌بنیان‌شده صدف مروارید ساز لب سیاه در اقیانوس آرام می‌باشد (Arnaud et al., 2003). در جدول ۱ مشخصات ژن و آغازگرهای بکاربرده شده آمده است.

جدول ۱- مشخصات ژن و آغازگرهای مورد استفاده (Arnaud et al., 2003)

نام ژن	وزن مولکولی (جفت باز)	شماره دستیابی ژن	توالی آغازگر
COI	۷۱۰	AF374321.1	آغازگر جلو برنده 5´-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3´ آغازگر معکوس 5´-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3´

استخراج DNA توسط روش‌های فنل-کلروفرم (Hillis and Moritz, 1990)، و CTAB (Ausubel et al., 1994) صورت گرفت که با توجه به کیفیت استخراج DNA به روش CTAB، تمامی نمونه‌ها با تکیه بر این روش استخراج شدند. بهترین برنامه حرارتی و زمان‌بندی برای انجام واکنش PCR، بعد از چندین بار آزمایش و تکرار مطابق با جدول ۲ بدست آمد.

جدول ۲- پروتکل دمایی مناسب برای انجام واکنش PCR

مراحل	درجه حرارات (سانتی گراد)	زمان (ثانیه)	تعداد چرخه (سیکل)
واسرشته سازی اولیه	۹۵	۳۰۰	۱
واسرشته سازی	۹۴	۳۰	
الحاق	۵۵	۳۰	۳۰
بسط	۷۲	۳۰	
بسط نهایی	۷۲	۳۰۰	۱

در نهایت با توجه به مقاله‌ی موجود در موارد مشابه (۳)، ۵ آنزیم جهت برش تعیین گردید که شامل *Taq* I، *Sfa*N I، *Hin*d III، *Dde* I و *Ava* II می‌باشند. بعد از انجام واکنش PCR و سپری شدن زمان انکوباسیون و هضم آنزیمی تمام نمونه‌های محصول PCR به منظور مشاهده قطعات برش خورده، از ژل پلی اکریل آمید ۶ درصد، نشانگر 50 bp DNA Ladder و رنگ آمیزی نیترات نقره استفاده شد. پس از اتمام الکتروفورز ژل پلی اکریل آمید۶ درصد، جهت تجزیه و تحلیل تصاویر حاصل از این مرحله از نرم افزارهای Lab image و ONE-D-Scan استفاده شد. بر اساس وجود یا عدم وجود قطعات برش خورده توسط یک

نوع آنزیم، باندهای حاصل کدگذاری شدند. داده‌های بدست آمده جهت تعیین تنوع با نرم افزار Arlequin، آنالیز شدند که به دلیل عدم وجود تنوع در بین جمعیت‌های صدف مروارید ساز لب سیاه، از بکار بردن نرم افزار مذکور صرف نظر شد

۳. نتایج

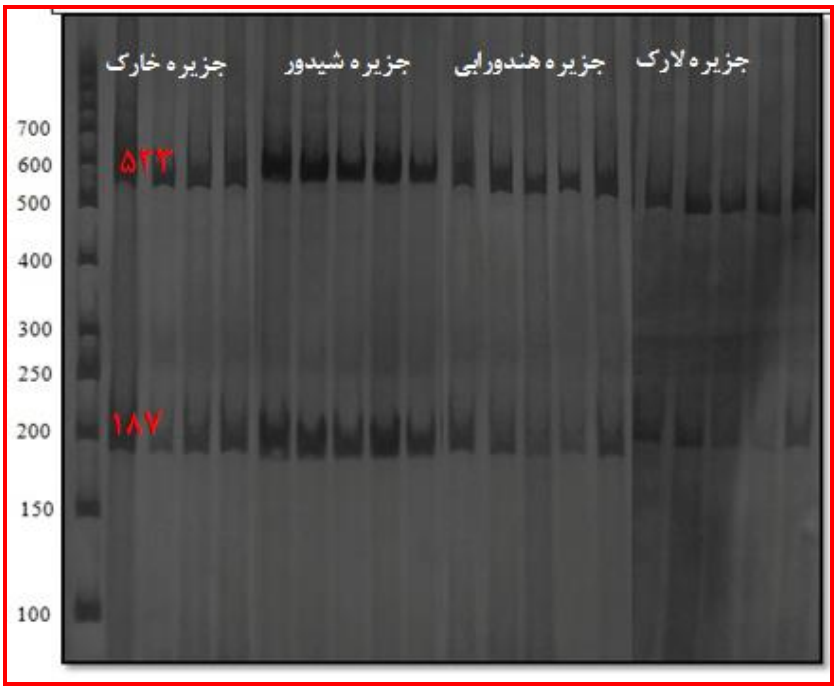
در پژوهش حاضر از ۴ ایستگاه مورد مطالعه تعداد ۵۱ نمونه محصول PCR ژن میتوکندریایی COI به طول حدود ۷۱۰ جفت باز بدست آمد. محصول PCR حاصل از تمام نمونه‌ها توسط ۵ آنزیم محدود الاثر *Taq* I، *Sfa*N I، *Hin*d III، *Dde* I و *Ava* II هضم گردید که توالی مورد شناسایی هر آنزیم بر روی ژن مورد هضم، محل برش ژن توسط هر آنزیم و همچنین تعداد محل‌های برش در ژن COI توسط هر آنزیم در جدول ۳ آمده است. در شکل۱، الگوهای باندی حاصل از هضم آنزیمی محصول PCR ژن COI توسط آنزیم *Taq* Iدر ۱۹ نمونه به تفکیک ۴ منطقه مورد مطالعه (حدود ۵ نمونه از هر منطقه) نشان داده شده است. الگوی باندی در تمام نمونه‌ها هم شکل بوده و پلی مورفیسم مشاهده نشد. الگوی هضم آنزیمی توسط آنزیم *Taq* I برای سایر نمونه‌ها نیز مشابه شکل ۱ می‌باشد. شکل ۲ نیز الگوی هضم آنزیمی توسط آنزیم *Dde* I را در ۱۹ نمونه به تفکیک ۴ منطقه مورد مطالعه (حدود ۵ نمونه از هر منطقه) نشان داده شده است. الگوی باندی در تمام نمونه‌ها هم شکل بوده و پلی مورفیسم مشاهده نشد. الگوی هضم آنزیمی توسط آنزیم *Dde* I برای سایر نمونه‌ها نیز مشابه شکل ۲ می‌باشد. در مورد سایر آنزیم‌ها نیز به همین ترتیب عمل شد و الگوی حاصل از هضم آنزیمی برای تمامی ۵۱ نمونه صدف مروارید ساز لب سیاه توسط ۳ آنزیم دیگر نیز مشابه یکدیگر بودند که شکل‌های مربوط به تأثیر سایر آنزیم‌ها در اشکال ۳، ۴ و ۵ ارائه گردیده است. تعداد قطعات، توالی مورد شناسایی و محل برش هر آنزیم در ژن COI در جدول ۳ نشان داده شده است. همچنین طول قطعات ایجاد شده بر اثر هضم آنزیمی محصول PCR در جدول ۴ آمده است.

جدول ۳- توالی مورد شناسایی، محل‌های برش و تعداد محل‌های برش در هضم آنزیمی محصول PCR ژن COI

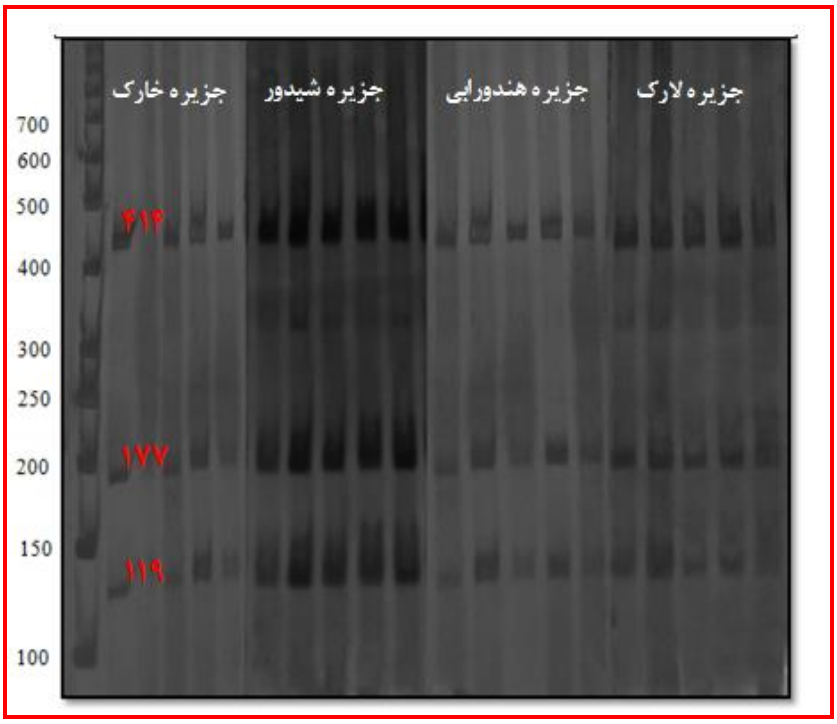
نام آنزیم محدودالاثر	تعداد قطعات	توالی مورد شناسایی و محل برش
Ava II	۳	G↓GWCC
Dde I	۳	C↓TNAG
*Hin*d III	۲	A↓AGCTT
*Sfa*N I	۲	CCATC(N) ↓
Taq I	۲	T↓CGA

جدول ۴- نام آنزیم محدود الاثر، تعداد و طول قطعات ایجاد شده بر اثر هضم آنزیمی محصول PCR

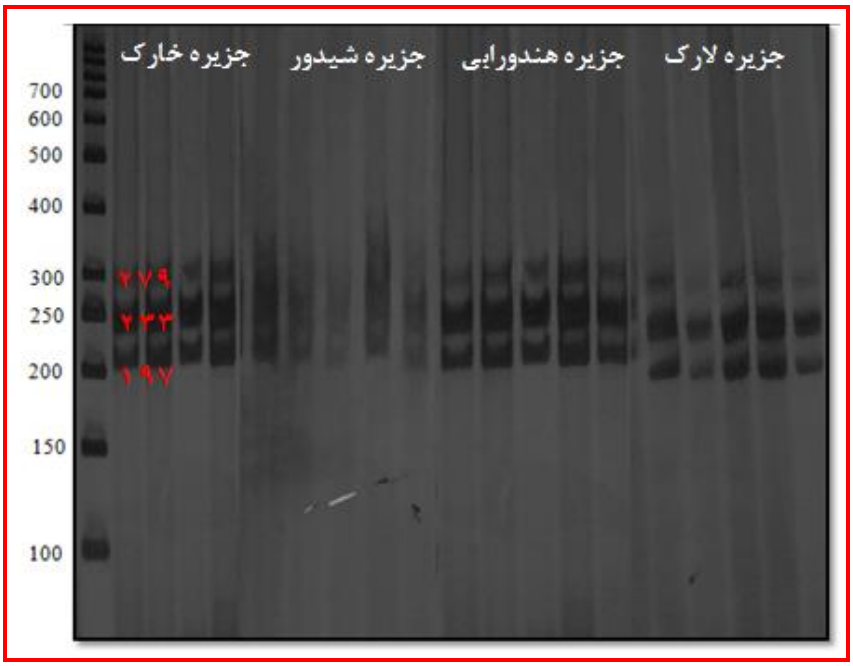
نام آنزیم محدودالاثر	تعداد قطعات	طول قطعات (جفت باز)
Ava II	۳	۱۹۷- ۲۳۳- ۲۷۹
Dde I	۳	۱۱۹- ۱۷۷- ۴۱۴
*Hin*d III	۲	۲۰۵- ۵۰۵
*Sfa*N I	۲	۲۳۵- ۴۷۵
Taq I	۲	۱۸۷- ۵۲۳



شکل ۱- تصویر هضم محصول PCR در صدف مروارید ساز لب سیاه توسط آنزیم (*Taq* I)

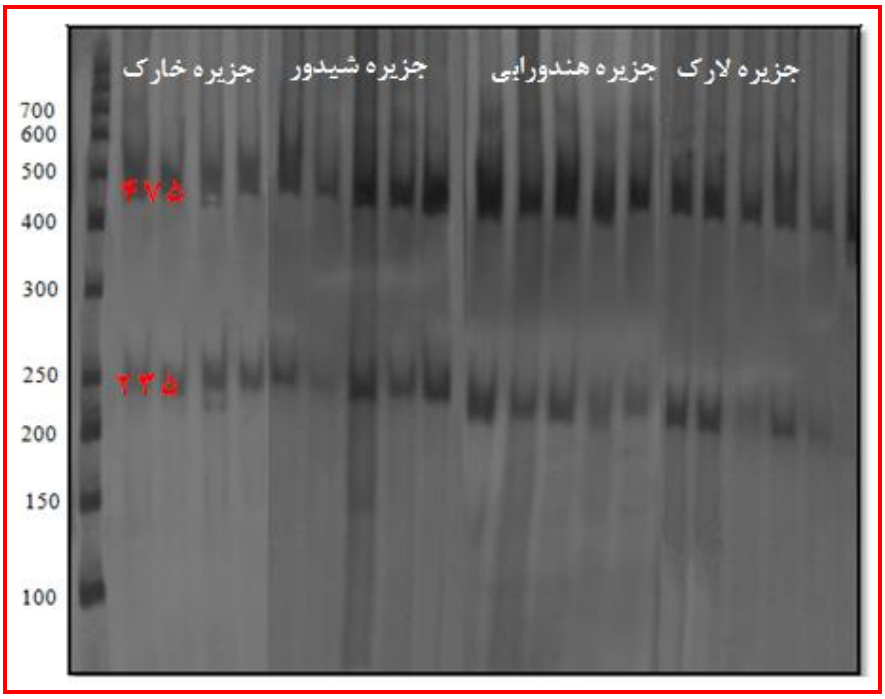


شکل ۲- تصویر هضم محصول PCR در صدف مروارید ساز لب سیاه توسط آنزیم (*Dde* I)



شکل ۳- تصویر هضم محصول PCR در صدف مروارید ساز لب سیاه توسط آنزیم (*Ava* II)

شکل ۴- تصویر هضم محصول PCR در صدف مروارید ساز لب سیاه توسط آنزیم (*Hin*d III)



شکل ۵- تصویر هضم محصول PCR در صدف مروارید ساز لب سیاه توسط آنزیم (*Sfa*N I)

۴. بحث و نتیجه گیری

نتایج حاصل از این تحقیق هیچ گونه پلی مورفیسمی را در جمعیت صدف مروارید ساز لب سیاه مناطق مورد مطالعه نشان نداد، بر این اساس می‌توان گفت که جمعیت صدف مروارید ساز لب سیاه در هر چهار ایستگاه، در جایگاه این ژن COI کاملا همگن بوده و جمعیتی قابل جداسازی تشخیص داده نشد. بررسی تنوع ژنتیکی صدف مروارید ساز لب سیاه موضوعی بحث برانگیز می باشد حتی پژوهش‌های صورت گرفته از طریق تکنیک آلوزایم‌ها نیز گواه آن می‌باشد (Hedgecock et al., 1996; Bierne et al., 1998, 2000).

Liu and Cordes, 2004 بر این عقیده اند که میزان تنوع ژنتیکی در میان جمعیت‌ها ممکن است محدود باشد لذا روشهای قوی‌تر مانند AFLP را پیشنهاد می کنند. مطالعات دیگر نشان از تنوع ژنتیکی این گونه در خلیج فارس و مناطق مورد پژوهش این مقاله را نشان داد که بخاطر توانایی بالای این نشانگر مولکولی در تشخیص تنوع ژنتیکی است (Ranjbar et al., 2013). همچنین داده‌های حاصل از مطالعات از طریق روش میکروستلایت وجود تنوع زنتیکی در بین این گونه را به علت قدرت تمایز بیشتر نشان داد (Ranjbar et al., 2016).

Nahavandi et al., 2005 در مطالعات قبلی انجام شده بر روی گونه نرمتن مرکب ببری *Pharaonis sepia*در خلیج فارس و دریای عمان بر روی ژن 18SrRNA نتوانستند تفاوت ژنتیکی در بین ایستگاه‌ها مشاهده نمایند و به این نتیجه رسیدند که ماهیان مرکب خلیج فارس و دریای عمان دارای یک جمعیت واحد می باشند. این در حالی است که دیگران با مطالعه ای که به روش میکروستلایت بر روی گونه ی نرم تن مرکب ببری انجام دادند به این نتیجه دست یافتند احتمالا بیش از یک جمعیت در شمال خلیج فارس وجود دارد و علت را توانایی بالاتر نشانگرهای میکروستلایت نسبت به روش RFLP-PCR بیان داشتند (Yavarmoghadam et al., 2015; Yavarmoghadam et al., 2017). بنابراین جهت مشاهده تمایز ژنتیکی وجمعیتی صدف مروارید سیاه، استفاده از دیگر روش‌های مولکولی لازم بنظر میرسد.

Hebert et al., 2003 پیشنهاد کردند که COI به عنوان بارکد برای شناسایی گونه‌ها استفاده شود، همچنین برای بررسی رابطه فیلوژنی دو کفه ایی‌ها از ITSها استفاده می‌شود (Lopez-Pinon et al., 2002; Kenchington et al., 2002; Yu et al., 2000). در مطالعات اخیر در مورد نوع Pinctada پیشنهاد شده است که COI با ITS جایگزین شود (Yu and Chu, 2006; He et al., 2005). بنابراین، در این موضوع، پیشنهاد می‌شود که نشانگرهای ITS برای تأیید نتایج این مطالعه مورد استفاده قرار گیرد.

سپاسگزاری

بدین وسیله مراتب تشکر و قدردانی مؤلفین از ریاست محترم مؤسسه ملی اقیانوس شناسی بوشهر، ریاست و کارکنان محترم مرکز مطالعات و پژوهش‌های خلیج فارس ابراز می گردد. همچنین از زحمات دکتر محمد شریف رنجبر برای تهیه نمونه صدف‌های مورد مطالعه، کمال تشکر را داریم.

منابع

Al- Khayat J. A. and Al- Ansi M. A. 2008. Ecologycal Features of Oyster Bed Distribution in Qatar Waters, Persian Gulf. Asian Journal of Scientific Reasearch.1 (6): 544-561.

Arnaud S., Monteforte M., Blanc F.and Bonhomme F. 2003. Evidence for male-biased effective sex ratio and recent step-by-step colonization in the bivalve *Pinctada mazatlanica*. Journal of Evolutionary Biology. 16: 790-796.

Ausubel F. M., Brent R., Kingston R. E., Moore D. D., Seidman J. G., Smith J. A. and Struhl K. 1994. Current Protocols in Molecular Biology. John Wiley and Sons, New York City. 444 p.

Avise J. C. 2004. Molecular markers. natural history and evolution. Sinauer Associates Inc Publishers. Sunderland, Massachusetts. 541p.

Bierne N., Launey S., Naciri- Graven Y. and Bonhomme F. 1998. Early effects of inbreeding as revealed by microsatellite analyses on Ostrea edulis Larvae. Genetics. 148: 1893–1906.

Bierne N., Tzitrone A. and David P. 2000. An inbreeding model of associative overdominance during a population bottleneck. Genetics. 155: 1981-1990.

Gervis M. H. and Sims N. A. 1992. The biology and culture of pearl oyster (Bivalvia: Pteriidae). Macati, Metro Manila, The overseas development administration. 49 p.

Hebert P. D. N., Cywinska A., Ball S. L.and deWaard J. R. 2003. Biological identifications through DNA barcodes. Proc. R. Soc. Lond. B. 270: 313–322.

Hedgecock D., McGoldrick D. J., Manahan D. T., Vavra J., Appelmans N. and Bayne B. L. 1996. Quantitative and molecular genetics analyses of heterosis in bivalve molluscs. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**.** 203: 49-59.

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

Kenchington E., Bird, C.J., Osborne J. and Reith M. 2002. Novel repeat elements in the nuclear ribosomal RNA operon of the flat oysters Ostrea edulis C. Linnaeus,1785 and O. angasi Sowerby, 1871. J Shellfish Res. 212: 697–705.

Liu Z.J. and Cordes J.F. 2004. DNA marker technologies and their applications in aquaculture genetics. Aquaculture. 238: 1–37.

Lopez-Pinon M.J., Insua A. and Mendez J. (2002) Identification of four scallop species using PCR and restriction analysis of the ribosomal DNA internal transcribed spacer region. Mar. Biotechnol. 4: 495–502.

Nagappan nayar K. and Mahadevan S. 1987. Ecology of pearl oyster beds. Central Marine Fisheries Research Institute. 39: 29-36.

Nahavandi R., Rezvani S., Vosoughi Gh.and Kazemi B. 2005. Study of 18SrRNA in the populations of pharaonis Sepia in the Persian Gulf and the Oman Sea with RFLP-PCR method. Iranian Journal of Fisheries Sciences. 14 (2):157-168.

Ovenden J. R. and Brasher D. J. 1994. Stock identity of the red and green rock lobsters inferred from mitochondrial DNA analaysis. In: Spiny Lobster Management. (Eds Phillips B.F.,Cobb J.S. and Kittaka J). Blackwell Scientific Publication, Oxford. pp. 230-249.

Parvizi F., Monsefi M., Noor, A., and Ranjbar M. S. (2018). Mantle histology and histochemistry of three pearl oysters: *Pinctada*

Gulf. Journal of Marine Science and Technology. 12(4): 40-50

Tajalipour M. 1994. Systematic supplemental study and dispersion of mollusks in Persian Gulf coastal waters. Khabir Publications. Tehran, Iran. 403P.

Yavarmoghadam H., Zolgharnein H., Salari M., Keyvanshokoh S. and Modarresi M.2017. Assay of genetic diversity of cuttlefish (Sepia pharaonis; Ehrenberg, 1831) populations using microsatellite markers in Bandar Abbas and Bushehr regions. Journal of Marine Science and Technology. 16(2), pp.1-7.

Yavarmoghadam H., Zolgharnein H.,Salari M.A., Keivanshokooh S.and Modaresi M. 2015. Genetic Analysis of Cuttlefish Sepia pharaonis (Ehrenberg, 1831) Populations in Persian Gulf with Microsatellite Markers. Journal of Shellfish Research. Vol. 34, 2: 469-472.

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. Bioch. Syst. Ecol. 34: 240-250.

Yu E.T., Juini-Menez M.A.and Monje V.D. (2000) Sequence variation in the ribosomal DNA internal transcribed spacer of Tridacna crocea. Mar Biotechnol. 2: 511–516.

persica, *Pinctada radiata* and *Pteria penguin*.Molluscan Research. 38(1): 11-20.

Rameshi H. 2007.The final report of the research project on the possibility of reproduction and breeding of larvae and production (Spot) of the pomegranate shell of the black lip in the laboratory and transferring to the sea. Iran Fisheries Research Institute, Hormozgan. 52 p.

Rameshi H. 2011.The final report of the research project on the possibility of reproduction and breeding of larvae and production (Spot) of the pomegranate shell of the black lip in the laboratory and transferring to the sea. Iran Fisheries Research Institute, Hormozgan. 52 p.

Ranjbar M. S., Zolgharnien H., Yavari V., Archangi B., Salari M. A., Arnaud-Haond S., and Cunha R. L. (2016). Rising the Persian Gulf black-lip pearl oyster to the species level: fragmented habitat and chaotic genetic patchiness in Pinctada persica. Evolutionary Biology.43(1): 131-143.

Ranjbar M., Zolgharnein H., Yavari V., Salari M and Archangi B. 2013.Study on Genetic Structure of Black- lippped Oyster *Pinctada sp. persica* using Sequencing of the cytochorome oxidase I (COI) in the Persian

Study on population diversity of the Black- lippped Oyster (*Pinctada persica*) using PCR-RFLP methods in the khark, Shidvar, Hendurabi and Larak Island

Maryam Moazami[1], Mohammad Ali Salari Aliabadi[1*], Bita Archangi[1], Hossein Zolgharnein[1], Seied Ahmad Qasemi[2]

1. Department of Marine Biology, Faculty of Marine and Oceanic Sciences, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr
2. Faculty of Marine Biology. Persian Gulf University, Bushehr

(DOI): 10.22113/jmst.2019.142975.2187

Abstract

In this study, genetic diversity of *Pinctada persica* population was evaluated using PCR-RFLP method. To determine and compare genetic diversity of *P. persica* populations in khark, shidvar, hendurabi and larak islands, 51 samples were collected from 1-6 m depths. DNA of samples was extracted by CTAB method. A pair of primers of *Pinctada persica* was used for polymerase chain reaction. Enzymatic digestion of PCR yield was performed using, AvaII, DdeI, HindIII, SfaNI and TaqI restriction enzymes. DNAs were collected and stained with silver staining after subjected to poly acrylamide gel electrophoresis The results revealed that electrophoresis and enzymatic digestion fragments of the 51 samples collected from four stations in the northern coast of Persian Gulf with all 5 enzymes were the same The results of this study confirm that *Pinctada persica* Based on the studied gene is completely homogenous in these stations and show no genetic diversity.

Keywords: Cytochrome oxidase gene, Black-Lip Pearl Oyster, Persian Gulf, PCR-RFLP

List of tables & figures

Fig 1. Image of digestion of PCR product in pomegranate shell of black lip by (*Taq* I) enzyme.
Fig 2. Image of digestion of PCR product in pomegranate shell of black lip by (*Dde* I) enzyme.
Fig 3. Image of digestion of PCR product in pomegranate shell of black lip by (*Ava* II) enzyme.
Fig 4. Image of digestion of PCR product in pomegranate shell of black lip by (*Hin*d III) enzyme.
Fig 5. Image of digestion of PCR product in pomegranate shell of black lip by (*Sfa*N I) enzyme.
Table 1. Specifications of the gene and primers used.
Table 2. Suitable temperature protocol for PCR reaction.
Table 3. Identification sequence, cutting sites and number of cutting sites in the enzymatic digestion of the PCI product of the cytochorome oxidase I (COI) gene.
Table 4. The limited enzyme name, the number and length of the components produced by the enzymatic digestion of the PCR product.

*Corresponding author, E-mail: salari@kmsu.ac.ir