

بررسی مولکولی جمعیت ذخایر ماهی حلوا سفید (*Pampus argenteus*)

خلیج فارس و دریای عمان در آبهای ایران و کویت

سهراب رضوانی گیل کلائی^{(۱)*}؛ نازلی گلستانی^(۲)؛ محمدرضا فاطمی^(۳)؛ فرامرز لالوئی^(۴) و

جاسم غفله مرمری^(۵)

Rezvani@ifro.ir

۱- موسسه تحقیقات شیلات ایران، تهران صندوق پستی: ۶۱۱۶-۱۴۱۵۵

۲ و ۳- دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران صندوق پستی: ۷۷۵-۱۴۵۱۵

۴- پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، ساری صندوق پستی: ۹۱۶

۵- پژوهشکده آبی پروری جنوب کشور، اهواز صندوق پستی: ۶۱۶۴۵/۸۶۶

تاریخ پذیرش: دی ۱۳۸۷

تاریخ دریافت: بهمن ۱۳۸۶

چکیده

بمنظور بررسی مولکولی جمعیت ماهی حلوا سفید خلیج فارس و دریای عمان تعداد ۱۶۲ نمونه شامل ۳۸ نمونه ارسالی از کویت و ۱۲۴ نمونه از ایران که ۴۴ نمونه از استان خوزستان و ۴۲ نمونه از چابهار و ۳۸ نمونه از بوشهر بود، مورد آزمایش قرار گرفت.

DNA کلیه نمونه ها با روش فنل- کلروفرم استخراج شد و با یک جفت پرایمر ژن ND₂، PCR گردید که در کلیه نمونه ها محصول PCR در حدود ۱۳۰۰ جفت باز بود. جهت آنالیز RFLP از ۱۶ آنزیم محدود الاثر شامل: *Tas Dra I*، *BseNI*، *Hin6I*، *Alw26 I*، *Tru I*، *Hpa II*، *Hinf I*، *Hae III*، *EcoR I*، *Pst I*، *Hind III*، *Bcl I*، *Alu I* و *Acc II* استفاده شد و با انجام الکتروفورز سیستم PAGE (ژل پلی آکریل آمید) و رنگ آمیزی نترات نقره باندهای DNA مشاهده گردید. از بین ۱۶ آنزیم بررسی شده، ۴ آنزیم *Hpa II*، *Acc II*، *Alu I*، *Hinf I* دارای الگوهای پلی مورفیم بوده است. بطور کلی الگوهای پلی مورفیم در ۱۳ نمونه از ۱۶۲ نمونه دیده شد. از بین هاپلوتیپ‌های پلی مورفیم بدست آمده، ۶ هاپلوتایپ از هاپلوتایپ‌های نادر بودند و تنها هر کدام یک بار تکرار شدند، اما سایر هاپلوتایپ‌های پلی مورفیم که تنها ۴ نوع بودند بیش از یک بار تکرار شدند. آنالیز آماری صورت گرفته با استفاده از نرم افزار REAP تفاوت معنی‌داری را در بین مناطق مورد بررسی نشان نداد ($P \geq 0.05$). در جمع‌بندی می‌توان اعلام کرد که ژن ND5 میتوکندری قادر به تفکیک جمعیت‌های احتمالی حلوا سفید در آبهای ایرانی خلیج فارس و دریای عمان و همچنین آبهای کویت نبوده و نمونه‌های بررسی شده وجود یک جمعیت را نشان می‌دهند.

لغات کلیدی: PCR-RFLP، ماهی حلوا سفید، *Pampus argenteus*، خلیج فارس و دریای عمان، ایران

مقدمه

ماهی زبیدی (*Pampus argenteus*) که به زبان فارسی حلوا سفید نامیده می‌شود دارای پراکنش وسیعی بوده بطوریکه بین مناطق اقیانوس هند تا غرب اقیانوس آرام و در سواحل هندوستان (Kagwade, 1988; Pati, 1982)، سواحل شرقی چین، جنوب غربی کره (Cho et al., 1989) و مناطقی که به غرب خلیج فارس منتهی می‌شوند، پراکنده است. این گونه از آبهای کویت به سمت عراق مهاجرت می‌کند و سپس به آبهای خوزستان می‌رسد و در خورهای ایران تخم‌ریزی می‌نماید (Parsamanesh, 2001; Al-Hossani, 2000).

ولی‌نسب و همکاران در سال ۱۳۸۳ به روش مساحت جاروب شده پراکنش و تراکم این گونه را در آبهای ایران مورد بررسی قرار دادند که مشخص شد که بالاترین تراکم در منطقه شرق جزیره هرمز (محدوده بین آبهای خلیج فارس و دریای عمان) و کمترین تراکم در آبهای دریای عمان بوده است. حلوا سفید، ماهیانی گله‌ای و پلاژیک با اندازه متوسط (نهایت طول ۶۰ سانتیمتر) هستند و در آبهای کم عمق، عموماً در مناطق ساحلی زندگی می‌کنند و گاهی وارد مصب (دهانه رود نزدیک به دریا) می‌شوند. ماهیان ریز و سخت‌پوستان پلاژیک در جیره غذایی آنها حایز اهمیت هستند. آنها معمولاً توسط تورهای ترال صید می‌شوند و جزء مهمترین ماهیان خوراکی بحساب می‌آیند، یک گونه از این خانواده به نام *Pampus argenteus* از اهمیت قابل توجه در خلیج فارس و دریای عمان برخوردار است (ستاری، ۱۳۸۲).

گونه حلوا سفید ذخیره‌ای مشترک بین کشورهای حاشیه خلیج فارس و دریای عمان بویژه ذخایر مشترک آبهای ایران و کویت است (Parsamanesh, 2001).

این ماهی در کشورهای عربی زبیدی نامیده می‌شود و در سالهای اخیر میزان صید آن کاهش چشمگیری داشته بنحویکه از ۴۲۸۱ تن در سال ۱۳۷۶ به ۲۱۷ تن در سال ۱۳۸۳ در ایران و در آبهای کویت صید آن از ۱۱۰۰ تن در سال ۱۹۹۴ به ۱۲۰ تن در سال ۲۰۰۰ رسیده است.

Angel و همکاران در سال ۲۰۰۸ روی ماهی قباد (horse mackerel) بین ذخایر آریزان اقیانوس اطلس و دریای مدیترانه تفاوت معنی داری پیدا نکردند. Gold و Richardson در سال ۱۹۹۱، در ۱۳ محل نمونه‌برداری در اقیانوس آرام از گونه Red drum (*Sciaenops ocellatus*) تفاوت معنی‌داری بین ساختار ژنتیکی جمعیت مورد بررسی بدست نیاوردند.

Liu و همکاران در سال ۲۰۰۶ با استفاده از mtDNA دو جمعیت از باس ژاپنی (*Lateolabrax japonicus*) را در

اقیانوس آرام جدا کردند.

Alarcon و همکاران در سال ۲۰۰۴ تفاوت معنی‌داری را بین ساختار ژنتیکی جمعیت شانگ وحشی و پرورشی (*Sparus aurata*) با استفاده از مولکول mtDNA بدست آوردند.

ماهی blue gill (*Lepomis macrochirus*) اولین گونه ماهی بود که بوسیله آنالیز RFLP، DNA میتوکندریایی آن مطالعه شد (Avisé et al., 1984). بتدریج این روش برای مطالعه ژنتیکی جمعیت دیگر ماهیان گسترش یافت. از اطلاعات چاپ شده چنین بنظر می‌آید که بیشترین مطالعات بر روی ماهی آزاد و در سالهای اخیر روی سخت‌پوستان و تاسماهیان صورت گرفته است (Pourkazemi, 1996; Hynes et al., 1996; Rezvani Gilkolaei, 1997, 2000).

همچنین مطالعات در مورد آنالیز mtDNA روی جمعیت گونه‌های تن ماهیان اقیانوس آتلانتیک و آرام (Graves et al., 1984)، آرتمیای دریاچه ارومیه (Eimanifar et al., 2006)، ماهی کپور معمولی (Kohlmann et al., 2002; Memis & Kohlmann, 2006) و *Macrurus magellanicus* (D'Amato & Carvalho, 2005) صورت گرفته است.

شناسایی مولکولی جمعیت‌های احتمالی این گونه در کنار روشهایی نظیر مورفومتریک و مریستیک می‌تواند اطلاعات دقیقتری از ذخایر این گونه که مشترک بین آبهای ایران و کشورهای عربی است در اختیار مدیریت شیلاتی قرار دهد تا برای اعمال مدیریت، بهره‌برداری پایدار و مسئولانه از آن، مورد استفاده قرار گیرد. در این تحقیق از روش مولکول PCR-RFLP بر روی ژن ND₂ از مولکول mtDNA استفاده شده است که هدف آن شناسایی و تمایز جمعیت‌های احتمالی این گونه در آبهای کویت و ایران در محدوده آبهای خلیج فارس و دریای عمان می‌باشد.

مواد و روش کار

تعداد ۱۲۴ نمونه ماهی حلوا سفید از آبهای ایران شامل؛ ۴۴ نمونه از آبهای استان خوزستان (بحرکان، منطقه اهواز و خوریات) و ۴۲ نمونه از دریای عمان (جابهار) و ۳۸ نمونه از بوشهر با استفاده از دامهای گوشگیر (Gillnet) صید و نمونه‌بانه از ماهیان تجاری تهیه گردید و در تیوبهای ۱۵۰ میلی‌لیتری حاوی الکل اتیلیک مطلق نگهداری شدند و علاوه بر این ۳۸ عدد نمونه نیز توسط محققین انستیتو تحقیقات علوم کویت (Kuwait Institute for Scientific Research) از آبهای کویت جمع‌آوری و با روش مشابه نگهداری و به موسسه تحقیقات شیلات ایران ارسال شد.

جهت انجام PCR (مدل Corbett Research) یک میکروتیوپ ۵۰۰ میکرولیتری انتخاب و مقدار ۰/۵ میکرولیتر dNTP، ۰/۵ میکرولیتر آنزیم Taq DNA polymerase، ۱/۵ میکرولیتر MgCl₂، ۱ تا ۵ میکرولیتر DNA (غلظت ۵۰ تا ۱۰۰ نانوگرم)، ۶ میکرولیتر بافر (۱۰ x) PCR، ۱/۵ میکرولیتر از هر پرایمر و مقدار معینی dH₂O به آن اضافه گردید بگونه ای که حجم کلی محلول درون لوله به ۵۰ میکرولیتر برسد. محتوی لوله را بدقت هم زده و لحظه‌ای سانتریفوز گردید. جهت انجام PCR از برنامه ذیل استفاده شد:

مرحله اول: Denaturation ۹۴ درجه سانتیگراد بمدت ۳ دقیقه (۱ چرخه)

مرحله دوم: Denaturation ۹۴ درجه سانتیگراد بمدت ۶۰ ثانیه

Annealing ۶۰ درجه سانتیگراد بمدت ۶۰ ثانیه

Extension ۷۲ درجه سانتیگراد بمدت ۹۰ ثانیه

(۳۰ چرخه)

مرحله سوم: Extension نهایی ۷۲ درجه سانتیگراد بمدت ۳ دقیقه (۱ چرخه)

برای اطمینان از درستی انجام PCR و نداشتن آلودگی یک تیوپ بعنوان کنترل منفی قرار گرفت که محتویات آن شامل مخلوط مواد لازم برای PCR بغیر از DNA الگو بود.

جهت کنترل کمی و کیفی محصول PCR، مقدار ۱۰ میکرولیتر از محصول PCR را همراه با مارکر اندازه bp DNA ۵۰ بر روی ژل آگارز ۱ درصد الکتروفورز کرده و سپس با رنگ آمیزی اتیدیوم بروماید و با استفاده از اشعه UV باندهای DNA مورد بررسی قرار گرفته و وزن مولکولی آن محاسبه گردید.

جهت انجام هضم آنزیمی محصول PCR، نمونه‌ها متناسب با شدت باند DNA، ۱ تا ۲ میکرولیتر انتخاب و در یک میکروتیوپ ریخته شد و مقدار ۲ میکرولیتر بافر آنزیم و ۰/۱ میکرولیتر آنزیم به آن اضافه گشت و سپس با dH₂O حجم آن به ۲۰ میکرولیتر رسانده شد. محلول فوق پس از مخلوط کردن بمدت ۲ تا ۳ ساعت در بن ماری ۳۷ درجه سانتیگراد قرار گرفته و سپس جهت بررسی کلیه نمونه‌ها همراه با مارکر ۵۰ bp بر روی ژل پلی‌اکریل آمید ۶ درصد الکتروفورز و با رنگ‌آمیزی نیترات نقره باندهای ایجاد شده مورد بررسی قرار گرفته و وزن مولکولی هر باند محاسبه گردید.

در این تحقیق از ۱۶ آنزیم محدود الاثر استفاده شد. این آنزیمها شامل: *Pst*، *Hind III*، *Bcl I*، *Alu I*، *Tas I*، *Dra I*، *Alw26 I*، *Tru I*، *Hpa II*، *Hinf I*، *Hae III*، *EcoR I*، *Hinc II* و *Acc II*، *BseNI*، *Hin6I* باندهای DNA ناشی از الگوهای هضم آنزیمی روی ژل

این نمونه‌ها برای انجام آزمایشات مولکولی به آزمایشگاه ژنتیک مولکولی پژوهشکده اکولوژی دریای خزر منتقل و در درجه ۲۰- سانتیگراد نگهداری گردیدند.

استخراج DNA با بهینه کردن روش فنل - کلروفرم انجام گردیده است (Hillis & Mortiz, 1990). در این روش مقدار ۵۰ تا ۱۰۰ میلیگرم از بافت باله را درون یک میکروتیوپ قرار داده و مقدار ۵۰۰ میکرولیتر STE، ۵۰ میکرولیتر SDS و ۴ میکرولیتر پروتئیناز K ۱۰ میلیگرم در میلی‌لیتر (Roche) به آن اضافه شد. سپس نمونه‌ها بمدت ۳ تا ۴ ساعت در حمام آب گرم ۵۰ درجه سانتیگراد قرار داده شد. پس از اینکه بافت باله بخوبی حل گردید، مقدار ۵۰۰ اکی والان در لیتر فنل به آن اضافه و سپس بمدت ۹۰ دقیقه در دمای اتاق بر روی شیکر قرار داده شد. پس از این مدت نمونه‌ها در ۱۳۰۰۰ rpm بمدت ۵ دقیقه سانتریفوز گردید. پس از سانتریفوز لایه رویی را بدقت جدا و به یک لوله ۱/۵ میلی‌لیتری دیگر منتقل گردید. مقدار ۵۰۰ اکی‌والان در لیتر کلروفرم به آن اضافه و سپس بخوبی تکان داده و ۲۰ دقیقه شیکر و سپس بمدت ۵ دقیقه سانتریفوز شد (۱۳۰۰۰ rpm). پس از سانتریفوز مجدداً لایه رویی را جدا کرده و مقدار ۴۰ اکی‌والان در لیتر استات سدیم و حدود ۲ برابر حجم برداشت شده (حدود ۸۰۰ اکی‌والان در لیتر) الکل مطلق به آن اضافه شد. سپس نمونه‌ها پس از چند تکان آرام به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۳۰۰۰ rpm سانتریفوز گردید. رسوب شیرینی رنگ تشکیل شده را با الکل ۷۰ درجه شستشو و پس از خشک کردن مقدار ۵۰ اکی‌والان در لیتر آب مقطر استریل به آن اضافه و بمدت ۳۰ تا ۴۵ دقیقه در حمام آب گرم ۳۷ درجه سانتیگراد قرار داده تا DNA حل گردد.

جهت بررسی کمی و کیفی DNA استخراج شده از روش اسپکتروفتومتری (مدل Beckman) و الکتروفورز ژل آگارز ۱ درصد و رنگ آمیزی اتیدیوم بروماید همراه با مارکر DNA ۱۰۰ bp استفاده شد. در روش اسپکتروفتومتری مقدار جذب نمونه‌ها در طول موج ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر اندازه‌گیری شده است.

از آنجایی که هیچگونه اطلاعاتی از ژنوم میتوکندری این گونه یا گونه‌های متعلق به این جنس در دسترس نبود یک جفت پرایمر براساس توالی نوکلئوتیدهای ژن میتوکندریایی ND2 ماهی کپور معمولی استفاده گردید (Yagishita et al., 2002)

Forward: 5- AAG TAG ATG GAT GCT CGC T-3
Reverse: 5- AAA GCT TTC GGG CCC ATA CCC CG-3
پرایمرهای فوق توسط شرکت MWG Biotech آلمان ساخته شد.

- آنزیم *Hpa II* بر روی یک نمونه از منطقه خوزستان (اهواز) دارای الگوی پلی مورفیسم بود، به نحویکه الگوی ۳ بانندی (۴۸۰، ۵۷۰ و ۲۵۰ جفت باز) دیده شد و در سایر نمونه‌ها که الگوی یکسانی داشتند، الگوی ۲ بانندی (۸۲۰ و ۴۸۰ جفت باز) دیده شد.

- آنزیم *Acc II* بر روی ۴ نمونه از ماهیان (۱ نمونه از منطقه خوزستان و ۳ نمونه از منطقه چابهار) دارای الگوی پلی مورفیسم بود، به نحویکه در ۱ نمونه از خوزستان و ۲ نمونه از چابهار الگوی ۳ بانندی (۲۲۰، ۴۰۰ و ۶۸۰ جفت باز) و در یک نمونه از چابهار الگوی ۳ بانندی دیگر (۱۵۰، ۲۰۰ و ۹۵۰ جفت بازی) و در سایر نمونه‌ها الگوی دو بانندی یکسان (۲۲۰ و ۱۰۸۰ جفت بازی) دیده شد (شکل ۳).

- آنزیم *Alu I* بر روی ۴ نمونه از ماهیان (۱ نمونه از منطقه خوزستان، ۱ نمونه از منطقه کویت و ۲ نمونه از منطقه چابهار) دارای الگوی پلی مورفیسم بود، به نحویکه در ۱ نمونه از کویت و ۱ نمونه از چابهار الگوی ۳ بانندی (۱۲۰، ۳۵۰ و ۸۳۰ جفت بازی)، در ۱ نمونه از منطقه خوزستان الگوی ۴ بانندی (۹۰، ۱۲۰، ۴۲۰ و ۶۷۰)، در یک نمونه از منطقه چابهار الگوی ۶ بانندی (۷۰، ۹۰، ۱۲۰، ۲۰۰، ۳۵۰ و ۴۷۰ جفت بازی) و در سایر نمونه‌ها الگوی ۵ بانندی یکسان (۷۰، ۹۰، ۱۲۰، ۳۵۰ و ۶۷۰ جفت بازی) دیده شد.

سایر آنزیمها بر روی محصول PCR در کلیه نمونه‌ها الگوی هضم آنزیمی مشابهی را ایجاد نمودند و همگی مونومورفیک بودند. هاپلوتیپ‌های AAAB، BAAA و AABA با فراوانی یک بعنوان هاپلوتیپ‌های نادر و کمیاب (Rare Haplotype) در منطقه خوزستان و هاپلوتیپ‌های نادر ACAA و DAAA در منطقه چابهار و هاپلوتیپ نادر CAAA نیز فقط در منطقه کویت دیده شد و در جدول ۲ آورده شده است. در منطقه بوشهر هیچگونه پلی مورفیسمی مشاهده نشد.

الکتروفورز و مقایسه نمونه‌ها با هم در هر ژل و اندازه‌گیری باندهای DNA با برنامه UV.DOC باندهای پلی مورفیک شمارش و ژنوتیپ‌ها و هاپلوتیپ‌ها تعیین گردیدند.

داده‌های بدست آمده از این تحقیق با استفاده از نرم‌افزار REAP (McElroy et al., 1992) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت برای تمایز جمعیت‌های ذخایر مناطق مختلف از آزمون همانندسازی با ۱۰۰۰ بار تکرار (Monte carlo) استفاده شد (Roff & Bentzen, 1989).

نتایج

کیفیت DNA استخراج شده با روش فنل-کلروفرم مناسب بود (شکل ۱). پس از آنکه با استفاده از یک جفت پرایمر ژن ND₂ به روش PCR، ناحیه مورد نظر تکثیر شد و در تمام نمونه‌ها باند DNA در اندازه ۱۳۰۰ جفت باز (bp) ظاهر گردید.

در این تحقیق از ۱۶ آنزیم محدودالتر بر روی محصول PCR مورد استفاده قرار گرفته و الگوهای الکتروفورزی بر روی ژل پلی‌اکریل آمید بدست آمد. تعداد باندها و قطعات ایجاد شده بر اثر هضم آنزیمهای محدودکننده در جدول ۱ و شکل‌های ۲ و ۳ ارائه شده است.

از بین ۱۶ آنزیم بکار رفته، ۴ آنزیم (*Hinf I*، *Acc II*، *Alu I*)، *Hpa II* دارای الگوهای پلی مورفیسم بود و در بین ۱۶۲ نمونه‌ای که مورد بررسی قرار گرفت در ۱۳ نمونه این الگوها را بوجود آورد که در مجموع ۱۰ هاپلوتیپ متفاوت ایجاد کرد (جدول ۲).

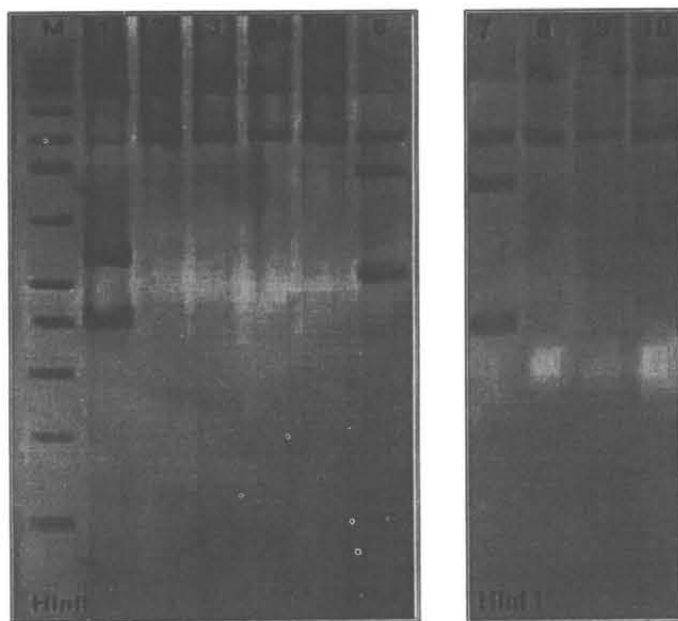
- آنزیم *Hinf I* بر روی نمونه‌ها دارای الگوهای پلی مورفیسم بوده بنحویکه در ۳ نمونه از ماهیان (۱ نمونه از خوزستان و ۲ نمونه از کویت) دارای الگوهای ۳ بانندی و در ۱ نمونه از منطقه چابهار دارای الگوی دو بانندی متفاوت و در سایر نمونه‌ها دارای الگوی ۲ بانندی یکسان بوده است. اندازه باندها در هر سه حالت شامل ۳ بانندی (۲۵۰، ۳۰۰، ۷۵۰ جفت باز) و در دو بانندی متفاوت (۱۱۵۵ و ۱۳۵ جفت باز) و در سایر نمونه‌ها (۷۴۰ و ۵۶۰ جفت باز) بوده است (شکل ۲).



شکل ۱: الکتروفورز DNA بر روی ژل آگارز (۱ درصد) رنگ‌آمیزی با اتیدیوم بروماید

جدول ۱: تعداد بازهای شناسایی شده، تعداد و اندازه قطعات ایجاد شده بر اثر هضم آنزیمی محصول PCR

ردیف	آنزیم	تعداد قطعات	اندازه قطعات حاصل از هضم آنزیم	جایگاه شناسایی
۱	<i>Hinf I</i>	۲	۵۶۰، ۷۴۰	5'-G [^] A N T C-3'
۲	<i>Hae III</i>	۳	۷۰، ۱۰۰، ۱۱۳۰	5'-G G [^] C C-3'
۳	<i>Eco R I</i>	۲	۷۰، ۱۲۳۰	5'-G [^] A A T T C-3'
۴	<i>Pst I</i>	۲	۵۰۰، ۸۰۰	5'-C T G C A [^] G-3'
۵	<i>Hind III</i>	۳	۷۰، ۱۳۰، ۱۱۰۰	5'-A [^] A G C T T-3'
۶	<i>Bcl I</i>	۴	۹۰، ۱۴۰، ۳۶۰، ۷۱۰	5'-T [^] G A T C A-3'
۷	<i>Tru I</i>	۷	۶۰، ۷۰، ۱۳۰، ۱۶۰، ۱۷۰، ۲۷۰، ۴۴۰	5'-T [^] T A A-3'
۸	<i>Alu I</i>	۵	۷۰، ۹۰، ۱۲۰، ۳۵۰، ۶۷۰	5'-A G [^] C T-3'
۹	<i>Acc II</i>	۲	۲۲۰، ۱۰۸۰	5'-C G [^] C G-3'
۱۰	<i>Dra I</i>	۲	۶۰۰، ۷۰۰	5'-T T T [^] A A A-3'
۱۱	<i>Tas I</i>	۵	۷۰، ۱۴۰، ۱۶۰، ۴۰۰، ۵۳۰	5'- [^] A A T T-3'
۱۲	<i>Hpa II</i>	۲	۴۸۰، ۸۲۰	5'-C [^] C G G-3'
۱۳	<i>BseN I</i>	۳	۱۴۰، ۱۸۰، ۹۸۰	5'-A C T G G N [^] -3'
۱۴	<i>Alw26 I</i>	۲	۵۰۰، ۸۰۰	5'-G T C T C (N) _۱ [^] -3' 3'-C A G A G (N) _۵ [^] -5'
۱۵	<i>Hin6 I</i>	۳	۷۰، ۲۰۰، ۱۰۳۰	5'-G [^] C G C-3'
۱۶	<i>Hinc II</i>	۲	۳۲۰، ۹۸۰	5'-G T P y [^] P u A C-3'

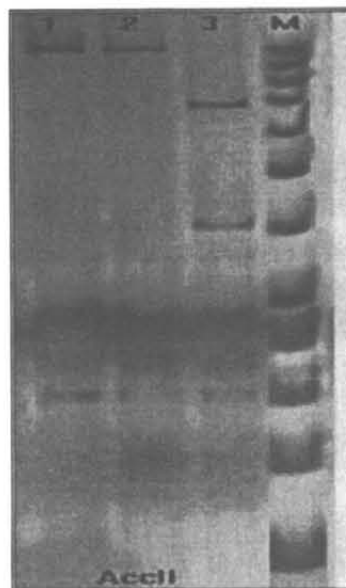


شکل ۲: الگوی هضمی مربوط به آنزیم *Hinf I*:

ستونهای شماره ۱، ۲، ۳ و ۴ مربوط به نمونه‌های آبهای خلیج فارس منطقه خوربات خوزستان، ۵، ۶ و ۷ آبهای خلیج فارس منطقه کویت و ۸، ۹، ۱۰ آبهای دریای عمان منطقه جابهار و M نشانگر مولکولی است.

نتایج آنالیز آماری با برنامه REAP و استفاده از ۴ هاپلوتیپ و حذف هاپلوتیپ‌های نادر، میانگین عددی تنوع هاپلوتیپ‌ها و میانگین عددی تنوع نوکلئوتیدها درون مناطق مورد بررسی را 0.01238 ± 0.000004 و 0.0875 ± 0.00143 است. همچنین در این بررسی میانگین عددی تنوع نوکلئوتیدها و درون مناطق مورد بررسی برابر با 0.01238 ± 0.000004 و حداکثر تنوع نوکلئوتیدی در بین ۴ منطقه مورد مطالعه برابر با 0.02247 و حداقل آن برابر با 0.000277 و میانگین آن 0.01258 ± 0.000001 بود در حالیکه میانگین اختلاف نوکلئوتیدی در بین مناطق مورد بررسی 0.002 محاسبه گردیده است و نیز نتایج حاصل از ۱۰۰۰ بار تکرار با استفاده از روش Monte carlo (Roff & Bentzen, 1989)، نشان داد که تفاوت آماری معنی‌داری از لحاظ پراکنش هاپلوتیپ‌ها در مناطق مختلف مورد بررسی وجود ندارد ($P > 0.05$).

$$(\chi^2 = 1/68, 0.1470 \pm 0.112, P \geq 0.05)$$



شکل ۳: الگوی هضمی آنزیم *Acc II*:

ستون‌های ۱ و ۲ مربوط به نمونه‌های آب‌های خلیج فارس، ستون ۳ آب‌های دریای عمان (منطقه چابهار) و M نشانگر مولکولی است.

جدول ۲: توزیع هاپلوتیپ‌ها در ۴ منطقه مورد بررسی. (از ذکر ۶ هاپلوتیپ نادر یاد شده صرف نظر شده است)

مناطق	CAAD	ABAA	AAAC	AAAA	جمع
کویت	۱	۰	۲	۳۴	۳۷
چابهار	۱	۲	۰	۳۷	۴۰
بوشهر	۰	۰	۰	۳۸	۳۸
خوزستان	۰	۱	۰	۴۰	۴۱
جمع	۲	۳	۲	۱۴۹	

بحث

DNA به روش فنل-کلر فرم با کیفیت مناسب استخراج گردید. پرایمرهای مورد استفاده در این بررسی که براساس توالی نوکلئوتیدی ژن ND₂ ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) (Yagishita et al., 2002) طراحی شد. بر روی DNA استخراج شده در گونه *Pampus argenteus* در واکنش PCR منجر به تکثیر باند تقریباً هم اندازه با طول ژن ND₂ کپور معمولی در حدود ۱۳۰۰ جفت باز گردید.

از ۱۶ آنزیم اندونوکناز ۴ آنزیم *Hinf I*, *Hpa II*, *Acc II* و *Alu I* دارای الگوهای پلی مورفیسم در ۱۳ نمونه از ۱۶۲ نمونه بودند. هاپلوتایپ‌های شناسایی شده منجر به نامگذاری ۱۰ نوع ترکیب هاپلوتیپی شد که از بین این هاپلوتیپ‌ها ۶ مورد هاپلوتیپ نادر بود. یعنی فقط در یک نمونه شناسایی شد، از این هاپلوتیپ‌ها بنابه دستورالعمل برنامه REAP در محاسبات آماری صرف نظر شد. هاپلوتیپ AAAA در بین ۴ منطقه کویت، چابهار، بوشهر و خوزستان با فراوانی بسیار بالایی مشترک است. هاپلوتیپ AAAC با فراوانی (۲) فقط در منطقه کویت دیده شد. هاپلوتیپ ABAA با فراوانی (۱ و ۲) بترتیب در منطقه چابهار و خوزستان، هاپلوتیپ CAAD با فراوانی (۱ و ۱) نیز در بین منطقه کویت و چابهار مشترک بوده است. در منطقه بوشهر هیچگونه پلی مورفیسمی دیده نشد (جدول ۲).

برای مقایسه فراوانی هتروژنیته جغرافیایی هاپلوتیپ‌ها در کل نمونه‌های مورد بررسی در مناطق مختلف برنامه شبیه‌سازی X^2 با استفاده از روش Monte Carlo (Roff & Bentzen, 1989) اجرا شد، آنالیز داده‌ها حاکی از غیر معنی‌دار بودن آماری پراکنش هاپلوتیپ‌ها در خلیج فارس و دریای عمان در آبهای ایران و کویت بود.

$$(\chi^2 = ۸/۶۸, ۰/۱۴۷۰ \pm ۰/۰۱۱۲, P \geq ۰/۰۵)$$

پلی مورفیسم ژنوم میتوکندری و هسته بعنوان شاخص‌های ژنتیکی ارزشمند در ارزیابی ژنوم و ساختار جمعیتی و محافظت از ذخایر ژنی گونه‌های مورد مطالعه مطرح می‌باشند (Sorgeloos, 1997). این در حالی است که با استفاده از مولکول mtDNA توسط Rezvani Gilkolaei در سالهای ۱۹۹۷ و ۲۰۰۰ جمعیت‌های چالباش و فیل ماهی از ذخایر دریای خزر و همچنین، کپور معمولی و وحشی از اروپا، آسیای شرقی و ترکیه توسط Kohlmann در سالهای ۲۰۰۰ و ۲۰۰۶، آرمیای دریاچه ارومیه توسط Eimanifar و همکاران در سال

۲۰۰۶، دو جمعیت باس ژاپنی (*Lateolabrax japonicus*) اقیانوس آرام توسط Liu و همکاران در سال ۲۰۰۶ و ساختار ژنتیکی جمعیت شانگ وحشی و پرورشی (*Sparus aurata*) توسط Alarcon و همکاران در سال ۲۰۰۴ از همدیگر جدا شدند. در عین حال با همین روش عقلی در سال ۱۳۸۴ روی جمعیت‌های ماهی کلمه، لالوئی و همکاران در سال ۱۳۸۲ ساختار جمعیت سس ماهی در سال ۱۳۸۲، Pourkazemi در سال ۱۹۹۶ ساختار جمعیت گونه‌های ماهیان خاویاری دریای خزر، Rezvani Gilkolaei در سالهای ۲۰۰۶ بر ساختار جمعیت (*Rutilus rutilus caspicus*) سواحل جنوبی دریای خزر، Angel و همکاران در سال ۲۰۰۸ روی جمعیت ماهی قباد (horse mackerel) از ذخایر آبریان اقیانوس اطلس و دریای مدیترانه و Gold و Richardson در سال ۱۹۹۱ روی جمعیت گونه Red drum (*Sciaenops ocellatus*) در اقیانوس آرام مطالعه نمودند اما قادر به تفکیک جمعیت‌ها نشدند.

بعلاوه قدرت تمایز mtDNA نسبت به نشانگرهای هسته‌ای در بررسی‌های متعددی از جمله در قزل‌آلای اقیانوس اطلس (Tessier et al., 1995)، در قباد اسپانیایی (Buonaccorsi et al., 2001b) و همچنین در Blue marlin (*Makaira nigricans*) (Buonaccorsi et al., 2001a) بالاتر بوده است و در pollock ساختار ژنتیکی فقط بوسیله mtDNA تشخیص داده شد.

میزان تنوع هاپلوتیپ‌ها در منطقه کویت بالاترین مقدار را داشت $۰/۱۵۶۲ \pm ۰/۰۷۸۵۸$ و در منطقه بوشهر کمترین مقدار و برابر صفر بوده است. تنوع نوکلئوتیدها نیز در منطقه کویت $۰/۰۲۶۷۲$ و بیشترین سطح را داشت. میانگین تنوع نوکلئوتیدی درون جمعیت‌های مورد بررسی برابر با $۰/۰۰۱۲۳۸ \pm ۰/۰۰۰۰۰۴$ و میانگین تنوع هاپلوتیپی برابر $۰/۰۰۸۷۵ \pm ۰/۰۰۱۴۳$ است. میانگین اختلاف نوکلئوتیدی در بین مناطق مورد بررسی با استفاده از آنالیز مولکولی RFLP بر روی ژن ND₂ ۰/۰۰۲ درصد می‌باشد. وجود پلی مورفیسم اندک در نمونه‌های مورد تحقیق ممکن است به یکی از دلایل زیر باشد:

وجود الگوهای نادر که حدود ۶ مورد آن مشاهده شده است، حاکی از وجود گروه‌هایی بوده که در گذشته وجود داشته و به مرور زمان بر اثر فشار صید و صیادی جمعیت آنها شدیداً کاهش پیدا کرده یا وجود این الگوهای نادر بیانگر ظاهر شدن گروه‌های جدید بر اثر شرایط موتاسیون‌زای محیط بوده که تعداد آنها در

Al-Hossani در سال ۲۰۰۰ وجود تخم و لارو زبیدی را در آبهای کویت و وجود لاروها را در آبهای ایران نیز متذکر شد، نمونه برداری از مراحل اولیه لاروهای مناطق مختلف آبهای خلیج فارس و دریای عمان که دارای قدرت مهاجرت زیادی نیستند و معمولاً در محلهای تخم‌ریزی و هجری تغذیه می‌کنند، می‌تواند برای بررسی دقیق‌تر مورد استفاده قرار گیرد و همچنین برای تکمیل این تحقیق در آینده نزدیک با استفاده از روش ریز ماهواره براساس پرایمرهای اختصاصی این گونه که از طریق دیگران معرفی شده (Gen Hua Yue, 2006) توسط نگارنده و همکاران صورت خواهد پذیرفت، که انتظار می‌رود نتایج جامع و کاملی از ساختار ژنتیک جمعیت این گونه را نشان دهد.

منابع

- ستاری، م.؛ شاهسونی، د. و شفیع، ش.، ۱۳۸۲. ماهی شناسی (۲) (سیستماتیک). ۵۰۲ صفحه.
- عقیلی، ر.، ۱۳۸۲. بررسی تنوع ژنتیکی در خانواده کپور ماهیان دریای خزر به روش PCR-RFLP. پایان‌نامه دوره دکتری حرفه‌ای دامپزشکی. دانشگاه آزاد، واحد گرمسار. ۱۴۲ صفحه.
- لالوئی، ف.؛ رضوانی گیل کلائی، س. و پورکاظمی، م.، ۱۳۸۲. بررسی مولکولی جمعیت ماهی *Barbus capito* در آبهای حوضه جنوبی دریای خزر بروش PCR-RFLP. مجله علمی شیلات ایران، سال دوازدهم، شماره ۱، بهار ۱۳۸۷، صفحات ۱۱۷ تا ۱۳۰.
- ولی‌نسب، ت.؛ دریانبرد، غ.؛ دهقانی، ر.؛ درویشی، خ. و صفی‌خانی، ح.، ۱۳۸۳. گزارش نهایی پروژه تعیین میزان توده زنده کفزیان خلیج فارس و دریای عمان به روش مساحت جاروب شده. انتشارات مؤسسه تحقیقات شیلات ایران. ۱۲۷ صفحه.
- Alarcón, J.A. ; Magoulas, A. ; Georgakopoulos, T. ; Zouros, E. and Alvarez, M.C. , 2004. Genetic comparison of wild and cultivated European populations of the gilthead sea bream (*Sparus aurata*). Aquaculture, Vol. 230, Issues1-4, pp 65-80.

حداقل بوده و ممکن است در آینده دارای ویژگی‌هایی شوند که در گروههای غالب یا برتر قرار گیرند.

دلیل دیگر اینکه، ژن ND₂ با استفاده از ۱۶ آنزیم قطع کننده حدوداً ۱۳/۵۳ درصد (۱۷۶bp) از کل محصول PCR (۱۳۰۰ bp) ژن ND₂ به طور مستقیم مورد بررسی قرار داد. در واقع طول زیادی از ژن بررسی نشد، این مساله حاکی از نارسایی این تکنیک بوده است، برای اینکه درصد بالاتری از ژن مورد بررسی قرار گیرد و نتایج حاصله قابل استنادتر باشد نیاز به استفاده از آنزیم‌های بیشتری می‌باشد و نیز استفاده از ژن‌های بیشتر در میتوکندری و همچنین روش توالی‌یابی ژن‌های میتوکندری (sequencing) می‌تواند تصویر بهتری از این گونه ارائه دهند.

گونه‌های ساکن پلاژیک طی روز یک مهاجرت عمودی از محدوده پلاژیک به آبهای عمیق‌تر دارند و برعکس آن در شب اتفاق می‌افتد، این یک ویژگی رفتاری است که می‌تواند سبب پتانسیل بالای برای جریان ژن و پراکندگی گردد (Giussi & Wöhler, 2001). برخلاف محیطهای خاکی، در قلمروهای آبی معمولاً مرزهای جغرافیایی برای جریان ژن و پراکندگی آرگانیسمها وجود ندارد. گونه‌هایی با اندازه جمعیت بزرگ و پراکندگی وسیع مانند ماهیان پلاژیک در میان مقیاسهای بزرگ جغرافیایی دارای ساختار ژنتیکی یکسانی هستند (Ovenden, 1990; Lundy et al., 1999; Shaw et al., 1999); اگرچه مثالهای زیادی هم وجود دارند که نتیجه بر عکس را نشان می‌دهند (D'Amato et al., 2005; Ruzzente et al., 1999).

در بررسی‌های Al-Hossani در سال ۲۰۰۰ ذکر شده است که ماهی زبیدی از آبهای کویت به آبهای عراق وارد می‌شود و سپس به سوی خورهای ایران می‌رود و تخم‌ریزی می‌کند. اگر نتیجه این تحقیق را با آنچه Al-Hossani در سال ۲۰۰۰ ذکر کرده و Parsamanesh و همکاران در سال ۲۰۰۱ با آنالیز فراوانی طول ثابت نموده است که زبیدی ایران، عراق و کویت از یک نذخیر می‌باشند، مطابقت داده شود حاکی از عدم وجود جمعیت‌های متفاوت در آبهای ایران و کویت در خلیج فارس است و بعبارت دیگر احتمال می‌رود که یک جمعیت واحد در خلیج فارس زندگی می‌کند.

اما در آبهای دریای عمان و منطقه چابهار احتمال وجود جمعیت جداگانه‌ای داده می‌شود، اما بدلیل محدود بودن تعداد نمونه‌ها تفاوت معنی‌داری با نمونه‌های جمع‌آوری شده در خلیج فارس مشاهده نشد.

- Al-Hossani, M. , 2000.** Fisheries of shared stock of the silver pomfret, *Pampus argenteus*, The northern Gulf; A case study. FAO corporate Document Repository, Originated by: Fisheries Department.
- Al-Hossani, M. , 2002.** Fishery of shared stock of the silver pomfret, *Pampus argenteus*, In the Northern Gulf; A case study. Presented to: Norway-FAO Expert Consultation on the Management of Shared Fish Stocks Bergen, Norway, 7-10 October.
- Angel, S.C.; M-Areal, T. and Sanjuan, A. , 2008.** Genetic variation in the mitochondrial DNA control region among horse mackerel (*Trachurus trachurus*) from the Atlantic and Mediterranean areas. Fisheries Research, Vol. 89, Issue 2, pp 122-131.
- Avise, J.C., Neigel, J.E. and Arnold, J. , 1984.** Demographic influences on mitochondrial DNA lineage survivorship in animal populations. Journal of Molecular Evolution, Vol. 20, pp.99-100.
- Buonaccorsi, V.P. ; McDowell, J.R. and Graves, J.E. , 2001a.** Reconciling patterns of inter-ocean molecular variance from four classes of molecular markers in blue marlin (*Makaira nigricans*). Molecular Ecology, Vol. 10, pp.1179-1196.
- Buonaccorsi, V.P. ; Starkey, E. and Graves, J. E. , 2001b.** Mitochondrial and nuclear DNA analysis of population subdivision among young-of-the-year Spanish mackerel (*Scomberomorus maculatus*) from the western Atlantic and Gulf of Mexico. Journal of Marine Biology, Vol. 138, pp.37-45.
- Cho, K.D. ; Kim, J.C. and Choe, Y.K. , 1989.** Studies on the biology of pomfrets *Pampus* spp. in the Korean waters and distribution and fishing condition. Bulletin of Korean Fisheries Society, Vol. 22, pp.294- 305.
- D'Amato, M.E. and Carvalho, G.R. , 2005.** Population genetic structure and history of the long-tailed hake, *Macruronus magellanicus*, in the SW Atlantic as revealed by mtDNA RFLP analysis. ICES Journal of Marine Science , Vol. 62, pp. 247-255.
- Eimanifar, A. ; Rezvani, S. and Carapetian, J. , 2006.** Genetic differentiation of *Artemia urmiana* from various ecological populations of Urmia Lake assessed by PCR amplified RFLP analysis. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, Vol. 333, pp.275-285.
- Giussi, A.R. and Wohler, O.C. , 2001.** Estimacio'n de la edad y la longitud de primera madurez de la merluza de cola (*Macruronus magellanicus*) del Mar Argentino. Informe Te'cnico Interno INIDEP, Vol. 82, pp. 6. (abstract in English).
- Hua Yue, G. ; Yang, W.T. and Li, J. , 2006.** Multiplex genotyping of novel microsatellites from Silver pomfret (*Pampus argenteus*) and cross-amplification in other pomfret species. Molecular Ecology Notes 6, pp.1073-1075.
- Graves, J.E. ; Ferris, S.P. and Dizon, AE. , 1984.** Close genetic similarity Atlantic and Pacific skipjack tuna demonstrated with restriction endonuclease analysis of mtDNA. Journal of Marine Biology, Vol. 79, pp.315-319.
- Hillis, D.M. and Mortiz. C. , 1990.** Molecular taxonomy. Sinauer associate Inc. publishers, Massachusetts, USA. 120P.
- Hynes, A. ; Ferguson, A. and Mccann, M.A. , 1996.** Variation in mtDNA and post-glacial colonisation of north- eastern Europe by brown trout. Journal of Fish Biology, Vol. 48, pp.54-61.

- Kagwade, P.V. , 1988.** Pomfret resources along north-west coast of India. *In: Living resources of the Indian Seas*, Bombay Research Centre, Central Marine Fisheries Research Institute, Bombay, India. pp.219- 224.
- Kohlmann, K. ; Kersten, P. ; Gross, R. , 2002.** PCR-RFLP analysis of the mitochondrial ND-3/4 and ND-5/6 gene polymorphism in the European and East Asian subspecies of common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Aquaculture*, Vol. 204, pp.507-516.
- Kohlmann, K. and Memis, D. , 2006.** Genetic characterization of wild common carp (*Cyprinus carpio* L.) from Turkey. *Aquaculture*, Vol. 258, pp.257-262.
- Liu, J.X. ; Gao, T.X. ; Yokogawa, K. and Zhang, Y.P. , 2006.** Differential population structuring and demographic history of two closely related fish species, Japanese sea bass (*Lateolabrax japonicus*) and spotted sea bass (*Lateolabrax maculatus*) in northwestern Pacific. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, Vol. 39, Issue 3, pp.799-811.
- Lundy, C.J. ; Moran, P. ; Rico, C. ; Milner, R. S. and Hewitt, G.M. , 1999.** Macrogeographical population differentiation in oceanic environments: a case study of European hake (*Merluccius merluccius*), a commercially important fish. *Molecular Ecology*, Vol. 8, pp.1889-1898.
- McElroy, D. ; Morar, P. ; Bermingham, E. and Cornfield, L. , 1992.** REAP: An integrated environment for the manipulation and phylogenetic analysis of restriction data. *Journal of Heredity*, Vol. 83, pp.157-158.
- Parsamanesh, A. , 2001.** A comparison of *Pomus argenteus* stock parameters in east and west Asia. *Indian Journal of Fish*, Vol. 48, No. 1, pp.63-70.
- Ovenden, J.R. , 1990.** Mitochondrial DNA and marine stock assessment: A review. *Australian Journal of Marine and Freshwater Research*, Vol. 41, pp.835-853.
- Pati, S. , 1982.** Studies on the maturation spawning and migration of silver pomfret, *Pampus argenteus* (Euphrasen) from Bay of Bengal. *Matsya*, Vol. 8, pp.12-22.
- Pourkazemi, M. , 1996.** Molecular and biochemical genetic analysis of sturgeon stock from the south Caspian Sea. School of Biological Science, University of Wales, UK. 258P.
- Rezvani Gilkolaei, S. , 1997.** Molecular population genetic studies of sturgeon species in the south Caspian Sea. School of Biological Sciences, University of Wales, UK. 196P.
- Rezvani Gilkolaei, S. , 2000.** Study of mtDNA variation of Russian sturgeon population from the south Caspian Sea using RFLP analysis of PCR amplified ND5/6 gene regions. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, Vol. 2, No. 1, pp.13-36.
- Rezvani Gilkolaei, S. ; Emanifar, A. ; Aghili, R. and Laloei, F. , 2006.** PCR-RFLP analysis of mitochondrial DNA for identification of *Rutilus rutilus caspicus* populations on the southern coast of the Caspian Sea, Iran. *Journal of Marine Biological Association of the United Kingdom*, Vol. 86, pp.1463-1467.
- Richardson, R. and Gold, J. , 1991.** Genetic studies in marine fishes. IV. An analysis of population structure in the red drum (*Sciaenops ocellatus*) using mitochondrial DNA. *Fisheries Research*, Vol. 12, Issue 3, pp. 213-241.
- Roff, A. and Bentzen, P. , 1989.** The statistical analysis of mitochondrial DNA polymorphisms: c2 and the problem of small samples. *Journal of Molecular Biology and Evolution*, Vol. 6, pp 539-545.

- Sorgeloos, P. , 1997.** Determination and identification of biological characteristics of *Artemia urmiana* for application in aquaculture. *In:* Sorgeloos, P. (Ed.), The Lake Urmiah Cooperation Project, Item A. Laboratory of Aquaculture and Artemia Reference Center, Belgium, pp.1-50.
- Tessier, N. ; Bernatchez, L. ; Presa, P.; and Angers, B. , 1995.** Gene diversity analysis of itochondrial DNA, microsatellites and allozymes in landlocked Atlantic salmon. *Journal of Fish Biology*, Vol. 47 (Suppl. A), pp. 156-163.
- Yagishita, N. ; Kobayashi, T. and Nakabo, T. , 2002.** Review of monophyly of the kyphosidae inferred from the mitochondrial ND2 gene. *Ichthyology Research*, Vol. 49, pp.103-108.

**Molecular evaluation of the population of
Silver Pomfret (*Pampus argenteus*)
in the Persian Gulf and Oman Sea
(Iranian & Kuwaiti waters)**

**Rezvani Gilkolaei S.^{(1)*} ; Golestany N.⁽²⁾ ; Fatemi M.⁽³⁾ ; Laloei F.⁽⁴⁾ and
Ghofleh Maramazi J.⁽⁵⁾**

Rezvani@ifro.ir

1 - Iranian Fisheries Research Organization, P.O.Box: 14155-6116 Tehran, Iran

2,3 - Science and Research Branch, Islamic Azad University, P.O.Box: 14515-775 Tehran, Iran

4 – Caspian Sea Ecology Center, P.O.Box: 961 Sari, Iran

5 – South Aquaculture Research Center, P.O.Box: 61645-877 Ahwaz, Iran

Received: February 2007

Accepted: January 2009

Keywords: PCR-RFLP, *Pampus argenteus*, Persian Gulf and Oman Sea, Iran

Abstract

A total of 162 specimens of Silver Pomfret (*Pampus argenteus*) including 38 samples from Kuwait and 124 samples from Iran (24 from Khuzestan, 24 from Chabahar and 38 from Bushehr) were examined for their DNA structure. DNA from all specimens was extracted using the Phenol-chloroform and amplified using PCR method with a pair of primers with ND₂ gene sequence. The PCR products were about 1300 (bp) for all samples. For RFLP analysis 16 restriction enzymes *Bcl I*, *Pst I*, *Acc II*, *BseN I*, *Tru I*, *Dra I*, *Alw26 I*, *Hin6 I*, *Tas I*, *Alu I*, *EcoR I*, *Hae III*, *Hinc II*, *Hind III*, *Hinf I* and *Hpa II* were used. DNA bands were visualized by Gel electrophoresis (polyacrylamid) and staining with silver nitrate. Out of 16 enzymes, four showed polymorphism that included *Hinf I*, *Alu I*, *Acc II*, and *Hpa II*. Of the total 162 samples, 13 showed polymorphic patterns. Six haplotypes were rare occurring only once, but others which were only four different kinds occurred more than once. The REAP test gave no significant result for the examined regions ($P>0.05$). Therefore, our results revealed that the *Pampus argenteus* stocks in the Persian Gulf and Oman Sea of Iranian and Kuwaiti waters constitute a unique population.

* Corresponding author