

بررسی تنوع ژنتیکی گونه کفال طلایی (*Liza aurata*) (Risso.,1810) در سواحل استان مازندران با استفاده از نشانگرهای ریزماهوره

Genetic diversity of *Liza aurata* (Risso,1810) in the coastal regions of Mazandaran province, using microsatellite markers

زهره قدسی^{۱*}، علی شعبانی^۲، بهاره شعبانپور^۳

۲، ۱-۳- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد و استادیاران دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

Zohreh Ghodsi^{1*}, Ali Shabani², Bahareh Shabanpour³

1,2,3. MSc Student and Assistant Professors, Gorgan University of Agricultural Sciences and
Natural Resources.

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: zohrehghodsi13@gmail.com

(تاریخ دریافت: ۹۰/۷/۶ - تاریخ پذیرش: ۹۱/۹/۸)

چکیده

ماهی کفال طلایی از گونه‌های تجاری ارزشمندی است که در نواحی جنوبی دریای خزر از اهمیت اقتصادی بالایی برخوردار است. در این مطالعه از ۶ جایگاه ریزماهوره به منظور بررسی تنوع ژنتیکی ماهی کفال طلایی در دو منطقه بابل و چالوس در استان گلستان استفاده شد. تمایز بارز ژنتیکی در میان مناطق از طریق F_{st} و آنالیز واریانس مولکولی مشاهده شد و میزان نسبتاً بالایی از جریان ژنی بین جمعیت‌ها مشخص گردید. تنوع ژنتیکی دو منطقه شامل بابل: تعداد ال در جایگاه: $N_a=12/833$ ، تعداد ال مؤثر: $N_e=9/402$ ، هتروزیگوسیتی مشاهده شده: $H_o=0/756$ و هتروزیگوسیتی مورد انتظار $H_e=0/887$ و چالوس: $N_a=13/667$ ، $N_e=9/945$ ، $H_o=0/708$ و $H_e=0/882$ نیز تفاوت معنی‌داری نداشتند.

واژه‌های کلیدی

تنوع ژنتیکی،
دریای خزر،
ریزماهوره،
کفال طلایی،
هتروزیگوسیتی

مقدمه

وارد نمود (Razavi 1990). از آنجا که هیچ گونه مطالعه ژنتیکی درباره تنوع ژنتیکی این گونه موجود نیست و تنها یک مطالعه مبتنی بر شاخص های مرستیکی و مورفولوژیک جهت شناسایی جمعیت های این گونه در دریای خزر صورت پذیرفته است (Pourfaraje et al. 2008)، لذا اطلاعات بسیار محدودی در مورد تنوع این گونه در سواحل جنوبی دریای خزر وجود دارد. لکوس- های ریزماهواره دسته خاصی از DNA های تکراری متوالی هستند که به سرعت در حال جایگزینی یا تکمیل دیگر مارکرها هستند و دارای کاربردهای فراوانی در ژنتیک تکاملی و حفاظتی هستند (Angers and Bernatchez 1998). مایکروستلایت ها به علت بالا بودن تعداد الل هایشان در میان تمام مارکرها بالاترین میزان هتروزیگوسیتی را نشان می دهند (Liu 2007). این پلی- مورفیسیم بسیار بالا نشان می دهد که نشانگرهای ریزماهواره می- توانند برای تجزیه و تحلیل ژنتیکی جمعیت و تعیین نژادها بسیار مفید باشند (Dunham 2004). با وجود اهمیت زیاد ماهی کفال طلایی برای ساکنین سواحل دریای خزر و صید بالای این گونه، اطلاع از وضعیت ژنتیکی این گونه در مناطق عمده پراکنش آن بسیار ضروری می باشد. بنابراین، در این تحقیق با به کارگیری ۶ جایگاه ریزماهواره به بررسی ساختار ژنتیکی ماهی کفال طلایی در مناطق بابلسر و چالوس که جزو مناطق عمده پراکنش این گونه محسوب می شدند، پرداخته شد.

مواد و روش ها

نمونه برداری

۵۶ عدد ماهی کفال طلایی از مناطق بابلسر (عرض جغرافیایی $36^{\circ} 42' 18''$ و طول جغرافیایی $52^{\circ} 36' 18''$) و چالوس (عرض جغرافیایی $36^{\circ} 41' 7''$ و طول جغرافیایی $51^{\circ} 25' 30''$) (۲۸ نمونه از هر منطقه) در پاییز سال ۱۳۸۷ به صورت تصادفی نمونه برداری شد. به منظور مطالعه ملکولی حدود ۲-۳ گرم از باله پشتی هر ماهی جمع آوری و در ظروف نمونه گیری حاوی الکل اتیلیک مطلق قرار داده شد. سپس نمونه ها برای استخراج DNA به آزمایشگاه ژنتیک و بیوتکنولوژی دانشکده شیلات دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی گرگان منتقل

تنوع ژنتیکی از تفاوت در توالی نوکلئوتیدهای DNA در بین افراد حاصل می شود (Utter 1991). در مورد منابع دریایی، تنوع ژنتیکی اهمیتی حیاتی جهت مدیریت و حفاظت از آنها داشته و به عنوان اولین پیش نیاز برای حفظ سازگاری جمعیت ها در شرایط محیطی در حال تغییر قلمداد می شود (Angers and Bernatchez 1998). مارکرهای ملکولی به طور مستقیم قادرند پراکندگی و تنوع ژنتیکی را تشخیص بدهند (Ferguson 1995). آگاهی از میزان ذخایر توارثی و تنوع ژنتیکی بین افراد یک گونه از اهداف ارزشمند مدیریت ذخایر و اصلاح نژاد می باشد، به طوریکه بررسی های ژنتیک جمعیت یا اکولوژی مولکولی ماهیان باارزش اقتصادی به منظور حفاظت از جمعیت آنها و حفظ صید پایدار بسیار ضروری می باشد (Wang 2007). به طور کلی مدیریت تنوع ژنتیکی در موجودات، نیازمند ارزیابی ژنتیکی و تفکیک ذخایر گونه مورد نظر است (Pujolar 2009). کفال ماهیان از جمله ماهیان با ارزشی هستند که توسط دانشمندان روسی طی سالهای ۱۳۰۹ تا ۱۳۱۳ به دریای خزر معرفی شدند. حدود سه میلیون بچه ماهی از گونه های کفال مخطط (*Mugil (Linnaeus 1758)*) ، کفال (*cephalus*) ، کفال طلایی (*(Liza aurata) (Risso.,1810)*) ، کفال پوزه باریک (*(Liza saliens) (Risso.,1810)*) از دریای سیاه به دریای خزر انتقال داده شد. اما تنها دو گونه کفال طلایی و پوزه باریک توانستند با شرایط دریای خزر سازگار شوند (Khoroshko 1981). اعضای این خانواده عمدتاً ماهیان کرانه ای و کمتر متعلق به آب شیرین هستند که بطور گسترده در آب های گرمسیری و نیمه گرمسیری پراکنده اند. کفال ماهیان در آب های با شوری متغیر، از آب شیرین تا آب های با شوری ۳۳ در هزار زندگی می کنند. این گونه عمدتاً در آب های دریایی جایی که تخم های شناور رشد میکنند، تخم ریزی می نماید (Halfman et al. 1997). صید کفال ماهیان در ایران از سال ۱۹۴۲ آغاز شد. طی سال های بعد به علت صید بی رویه به خصوص صید انبوه کفال ماهیان در سال بهره برداری ۱۳۶۱-۱۳۶۲ (۶۹۷۵ تن) که متوسط وزن ماهیان صید شده فقط ۲۱۰ گرم بود، لطمه شدیدی به ذخایر آنها

و مورد انتظار و همچنین معنی‌دار بودن احتمال کسری هتروزیگوسیتی یا زیاد بودن هتروزیگوسیتی نیز از نرم افزار Genepop (Raymond and Rousset 1995) استفاده شد. به منظور تعیین تنوع ژنتیکی درون و بین جمعیتی و همچنین میزان تمایز بین جمعیتی بر اساس مدل الی بی‌نهایت (Fst) با استفاده از آنالیز واریانس مولکولی (AMOVA) بسته نرم‌افزاری Genealex مورد استفاده قرار گرفت. تعیین فاصله و شباهت ژنتیکی Nei (Nei 1972) و رابطه فیلوژنتیک بین جمعیت‌ها با استفاده از نرم‌افزار PopGene (Yeh et al 1999) صورت گرفت.

جدول ۱- کد و توالی آغازگرهای مورد استفاده در بررسی تنوع ژنتیکی ماهی

کفال طلایی دریای خزر *Liza aurata*

توالی آغازگر	وزن (جفت باز)	کد آغازگر
F: 5'-CAGATTGTTGTTTCGGGAGGGCAGA-3' R: 5'-GTCATGATGCTGCTATCAGGCAAA-3'	۳۴۷-۲۷۰	Mcs16EM
F: 5'-GAGCCAAACTGGTCACATGAAAGAGA-3' R: 5'-ACTTTCAGTGCAGCGCCAGTGT-3'	۳۳۸-۱۸۶	Mcs15AM
F: 5'-CTTGGCTGCCTGTATCCTGT-3' R: 5'-CCTGAGAGTGAGGGGTCAAC-3'	۱۴۴-۲۲۸	Muso27
F: 5'-TTGCTCAGGGAACACATTGA-3' R: 5'-CAAACAGAGACGTGATGCAAA-3'	۲۵۲-۲۳۶	Muso10
F: 5'-CACCACTATGGCATCCTTCA-3' R: 5'-AACCCCTTTTCTTGCTCAAA-3'	۱۵۸-۱۴۶	Muso19
F: 5'-TGATGAGAATGGTGGTGACG-3' R: 5'-TTTGGGCTGCTGTCTCTC-3'	۲۱۲-۱۹۴	Muso22

شدند. نمونه‌های بافتی در الکل اتیلیک ۹۵ درصد تا زمان استخراج DNA نگهداری شدند. استخراج DNA از نمونه‌ها به روش فنل-کلروفرم (Hillis and Moritz 1996) انجام پذیرفت. DNA استخراجی پس از افزودن ۱۰۰ میکرولیتر آب مقطر دو بار تقطیر تا زمان انجام مطالعات در فریزر ۲۰- نگهداری شد. کیفیت و کمیت DNA استخراجی نیز با استفاده از ژل آگارز یک درصد و روش اسپکتروفوتومتری تعیین شد.

آزمایشهای PCR و الکتروفورز به منظور بررسی تنوع ژنتیکی ماهی کفال طلایی از جایگاه‌های Muso10، Mcs 15AM، Mcs 16EM (Miggiano et al. 2005)، Muso19، Muso22، Muso27 (Xu et al. 2009) استفاده شد (جدول ۱). تکثیر لکوس‌ها با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمرز در حجم ۲۵ میکرولیتر و شرایطی شامل ۱۵ نانوگرم DNA، ۰/۵ میکرومولار از هر آغازگر، ۴۰۰ میکرومولار نوکلئوتیدها، یک واحد بین‌المللی DNA taq پلیمرز، بافر PCR ۱X، ۱/۵ میلی مولار کلرید منیزیم و آب مقطر تا رسیدن به حجم انجام گرفت. سیکل دمایی برای هر جایگاه عبارت بود از ۳ دقیقه در ۹۴ درجه در ادامه ۳۵ سیکل شامل ۹۴ درجه برای ۳۰ ثانیه، درجه حرارت اتصال ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه برای یک دقیقه، با یک بسط نهایی ۷۲ درجه برای ۳ دقیقه. محصولات واکنش زنجیره‌ای پلیمرز بر روی ژل پلی‌آکریل‌آمید ۸ درصد (غیر یونیزه) جداسازی شدند. سپس ژل‌ها به روش نیترا ت نقره (Bassam 1991) رنگ آمیزی و پس از تهیه تصویر آنها توسط دستگاه مستندساز ژل، از نرم افزار Gel pro analyzer برای محاسبه طول قطعات استفاده شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

تعداد ال در هر جایگاه، ال موثر، هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Ho) و مورد انتظار (He) با استفاده از نرم افزار Genealex (Peakall and Smouse 2006) محاسبه شد. برای تعیین تفاوت بین دو منطقه در مقادیر هتروزیگوسیتی مشاهده شده، مورد انتظار و تنوع الی از تست ویلکاکسون غیر پارامتریک در نرم افزار 16 SPSS استفاده شد (Zar 1999). برای تست انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ از مقایسه بین هتروزیگوسیتی مشاهده شده

نتایج و بحث

تعداد کل ال‌ها در سطح جایگاه‌های مورد مطالعه در دامنه ۲۴ - ۷ به دست آمد به نحویکه جایگاه Muso22 پایین‌ترین (۷) و جایگاه Mcs 15AM بالاترین (۲۴) تعداد ال را نشان دادند. تعداد متوسط ال‌های مشاهده شده و موثر در بابلرس به ترتیب ۱۲/۸۳۳ و ۹/۴۰۲ و در چالوس ۱۳/۶۶ و ۹/۹۴۵ به دست آمد که از این لحاظ بین مناطق مورد نظر تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.

جدول ۲- تنوع ژنتیکی ۶ جایگاه مورد مطالعه در جمعیت‌های کفال طلایی

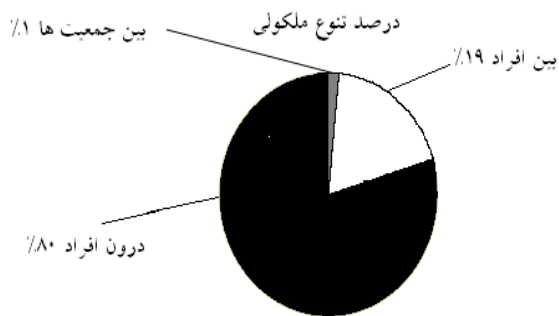
Muso22	Muso19	Muso10	Muso27	Mcs15AM	Mcs16EM	
۷	۱۱	۱۴	۱۲	۱۲	۲۱	N _a
۶/۴۷	۷/۰۶	۹/۴۴	۹/۹۸۷	۹/۸۰۰	۱۳/۶۳۵	N _e
۰/۰۷۱	۰/۷۸۶	۰/۸۲۱	۱/۰۰۰	۱/۰۰۰	۰/۸۵۷	H _o
۰/۸۵۸	۰/۸۵۸	۰/۸۹۴	۰/۹۰۰	۰/۸۹۸	۰/۹۲۷	H _e
۰/۹۱۶	۰/۰۸۵	۰/۸۱	-۰/۱۱۱	-۰/۱۱۴	۰/۰۷۵	F _{IS}
***	ns	*	**	*	ns	pHw
۹	۹	۱۴	۱۱	۲۴	۱۵	N _a
۵/۷۶۵	۵/۶۲۰	۱۱/۳۶۲	۷/۸۰۱	۱۶/۱۵۶	۱۲/۹۵۹	N _e
۰/۱۷۹	۰/۷۵۰	۰/۷۵۰	۰/۷۸۶	۰/۸۹۳	۰/۸۹۳	H _o
۰/۸۲۷	۰/۸۲۲	۰/۹۱۲	۰/۸۷۲	۰/۹۳۸	۰/۹۲۳	H _e
۰/۷۸۴	۰/۰۸۸	۰/۱۷۸	۰/۰۹۹	۰/۰۴۸	۰/۰۳۲	F _{IS}
***	*	ns	***	ns	ns	pHw

(N_a) تعداد الل؛ (N_e) تعداد الل موثر

(H_o) هتروزیگوسیتی مشاهده شده؛ H_e: هتروزیگوسیتی مورد انتظار؛ F_{IS}: ضریب درون آمیزی

(pHw) تست احتمال هاردی-واینبرگ (ns: عدم معنی داری؛ * P ≤ ۰/۰۵؛ ** P ≤ ۰/۰۱؛ *** P ≤ ۰/۰۰۱)

(P > ۰/۰۵). مقادیر هتروزیگوسیتی مشاهده شده (H_o) و مورد انتظار (H_e) به ترتیب در دامنه ۱/۰۰-۰/۰۷ (متوسط: ۰/۷۳۲) و ۰/۸۲-۰/۹۳ (متوسط: ۰/۸۸۵) قرار داشت. متوسط هتروزیگوسیتی مشاهده شده در سطح مناطق نیز به ترتیب ۰/۷۵۶ و ۰/۷۰۸ برای بابلرس و چالوس به دست آمد (جدول ۲). همچنین بین مناطق مورد بررسی تفاوت معنی داری از نظر میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار، مشاهده نشد (P > ۰/۰۵). در بررسی تعادل هاردی-واینبرگ، ۷ نمونه از ۱۲ تست مورد بررسی (۶ جایگاه ۲ × ۲ منطقه) به طور معنی داری (P ≤ ۰/۰۵) انحراف از تعادل نشان دادند. متوسط شاخص درون آمیزی (F_{IS}) و جریان ژنی به ترتیب ۰/۱۸۰ و ۱۳/۶۰۶ را نشان دادند. از نظر تمایز بین مناطق میزان شاخص F_{ST} بر اساس آنالیز واریانس مولکولی (AMOVA)، به ترتیب ۰/۰۱۸ به دست آمد. همچنین نتایج براساس AMOVA نشان داد تنوع بین جمعیت‌ها پایین و تنها یک درصد است و بیشتر تنوع درون افراد و بین افراد است (شکل ۲).



شکل ۲- چگونگی توزیع تنوع ژنتیکی مشاهده شده تحت معیار F_{ST}

بر اساس معیار فاصله ژنتیکی Nei میزان شباهت ژنتیکی بین دو منطقه ۰/۷۱۲ و مقدار فاصله ژنتیکی ۰/۳۳۹ به دست آمد. دندروگرام UPGMA بدست آمده بر اساس مقدار فاصله ژنتیکی نیز جدایی را بین جمعیت‌های دو منطقه مورد بررسی نشان داده است.

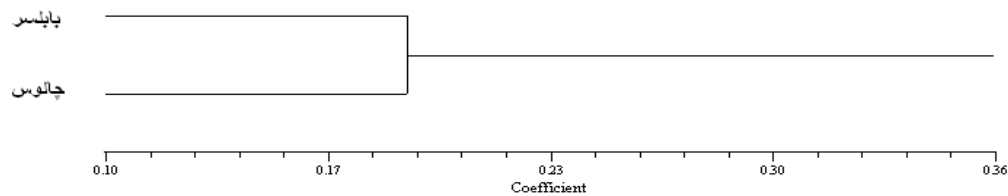
جدول ۳- میزان جریان ژنی (Nm) و تمایز (Fst) در سطح شش جایگاه مورد استفاده

جایگاه	Mcs16EM	Mcs15AM	Muso27	Muso10	Muso19	Muso22	میانگین
Nm	۱۱/۰۵۹	۱۱/۱۵۹	۱۵/۶۰۷	۱۲/۲۰۷	۱۲/۰۸۷	۱۳/۵۱۵	۱۳/۶۰۶
Fst	۰/۰۱۴	۰/۰۲۲	۰/۰۱۶	۰/۰۲۰	۰/۰۲۰	۰/۰۱۸	۰/۰۱۸

جدول ۴- آنالیز واریانس مولکولی (AMOVA) در F_{ST}

	Df	SS	MS	Est.var.	%	Stat	Value	Prob
بین افراد	۵۴	۱۷۴/۲۵۰	۳/۲۲۷	۰/۵۱۵	۱۹ درصد			
درون جمعیت‌ها	۵۶	۱۲۳/۰۰۰	۲/۱۹۶	۲/۱۹۶	۸۰ درصد	F _{ST}	۰/۰۱۵	۰/۰۱
جمعیت‌ها	۱	۵/۵۸۰	۵/۵۸۰	۰/۰۴۲	۱ درصد			

Df(درجه آزادی)، SS (مجموع مربعات)، Ms (انحراف میانگین مربع)، Prob (معنی دار بودن انحراف بعد از ۹۹۹ جایگزینی تصادفی).



شکل ۳- دندروگرام UPGMA بر اساس مقدار فاصله ژنتیکی

درمورد وضعیت ژنتیکی این ماهی از خاستگاه اصلی آن در دریای سیاه و همچنین دریای خزر به عنوان یک گونه پیوندی وجود ندارد. در این بررسی از ۱۱ جایگاه اختصاصی گونه کفال منخط (*Mugil cephalus*) و ۱۰ جایگاه اختصاصی کفال سویی (*Mugil soiu*) استفاده شده است، که تنها ۶ جایگاه برای هر دو گونه دارای چند شکلی بودند و همچنین هیچ کدام از جفت جایگاه‌ها ی ژنی عدم تعادل پیوستگی را نشان ندادند، بنابراین، استفاده از این جایگاه‌های ژنی دارای کارایی مناسبی برای این گونه است. هتروزیگوسیتی و تعداد الل‌ها جزو پارامترهای مهم تنوع ژنتیکی جمعیت‌ها از لحاظ روبرو شدن با تغییرات محیطی می‌باشند

ریزماهواره‌ها نشانگرهای ژنتیکی هستند که به صورت گسترده‌ای در مطالعات ژنتیک جمعیت گونه‌های پرورشی و وحشی ماهیان مورد استفاده قرار می‌گیرند (Liu et al. 2009). در واقع این نشانگرها ارزش بالایی داشته به طوریکه علاوه بر فراوانی بالا در ژنوم تمام موجودات، تنوع قطعات تکرار شونده در آن‌ها بالا است که دلیل آن را می‌توان به نرخ بالای جهش در این نوع نشانگرها نسبت داد و از طرفی به دلیل همباز بودن، هتروزیگوسیتی و جهش را بهتر از سایر نشانگرها نشان می‌دهد (Liu and Cordes 2004). با وجود اهمیت بالای ماهی کفال طلایی (*Liza aurata*) متأسفانه این گونه فاقد جایگاه ژنی اختصاصی است و اطلاعاتی

دلایل زیست شناختی این چنین کسری به خوبی شناخته نشده است و فاکتورهای زیادی همچون اثر وهلانده، درون آمیزی، الل نول و بهگزینی برای توضیح آن مطرح شده‌اند. جدا از دلایل بیولوژیکی معمول در ایجاد کسری هتروزیگوسیتی، ریزماهوره‌ها به طور خاص مستعد این پدیده هستند (Diz and Presa 2009). افزایش هتروزیگوسیتی نیز در جایگاه Mcs15AM و Muso22 مشاهده می‌شود که می‌تواند نتیجه خطای PCR، اشتباه در هنگام خواندن الل و انحراف تصادفی باشد، انحراف ژنتیکی تصادفی ممکن است بوسیله نسبت‌های جنسی نابرابر یا مشارکت متفاوت مولدین در زمان تکثیر ایجاد شود (Li et al. 2009). از آنجا که شرایط PCR جایگاه‌های ژنی مورد نظر بهینه بوده، انحراف ژنتیکی تصادفی می‌تواند یکی از عوامل اصلی افزایش هتروزیگوسیتی باشد. آنالیز واریانس مولکولی به عنوان یک آنالیز آماری وسیله مناسبی برای مشخص کردن ساختار جمعیت و میزان تمایز ژنتیکی بین جمعیت‌ها است (Grassi et al. 2004). نتایج آنالیز واریانس مولکولی بر اساس F_{st} تنها یک درصد از تنوع مشاهده شده را مربوط به جمعیت‌ها نشان داد و از نظر فراوانی اللی تفاوت معنی‌داری ($P > 0.05$) میان مناطق مشاهده نشد، F_{st} به دست آمده بر اساس فراوانی (0.018) و آنالیز واریانس مولکولی (0.015) پائین بوده که نشان‌دهنده تمایز بسیار پایین در میان جمعیت‌ها بوده است، بر اساس معیار Wright (1987) مقادیر F_{st} میان 0.05 - نشان‌دهنده تمایز پائین میان نمونه‌ها می‌باشد. کم بودن تنوع بین جمعیتی و شاخص‌های تمایز، نشان‌دهنده وجود جریان ژنی بالا در بین جمعیت‌ها است (Pinera et al. 2007). بالاتر بودن تنوع درون جمعیتی نسبت به بین جمعیتی نشان می‌دهد که در بین جمعیت‌های مختلف ساختار ژنتیکی بارزی وجود ندارد که جریان ژنی بالا می‌تواند ناشی از مهاجرت طبیعی مابین مناطق باشد (Diz and Presa 2009). با توجه به غیر بومی بودن این گونه و تاریخچه کوتاه مدت حضور کفال طلایی در دریای خزر، صید بالا، بسته بودن این دریا و عدم ارتباط آن با آب‌های آزاد و با توجه به داده‌های حاصل از این بررسی به نظر می‌رسد، این گونه در حال حاضر از شرایط نسبتاً مناسبی برخوردار است. پایین بودن تنوع میان جمعیت‌ها می‌تواند

(Frankham 2008) و ویژگی‌هایی همچون قابلیت رقابت و توانایی یک موجود برای بقا در زیستگاه‌های طبیعی را تعیین می‌سازد (Hakansson and Jensen 2005). کاهش تعداد الل‌های مشاهده شده در سطح جمعیتی می‌تواند بیانگر کاهش تنوع ژنتیکی باشد (Lind et al. 2009). هتروزیگوسیتی در مطالعه ساختار جمعیت گونه‌ها ارزش بسیار دارد زیرا هر هتروزیگوت ناقل الل‌های متفاوتی بوده که نشان دهنده تنوع است (Diz and Presa 2009). در این بررسی متوسط تعداد الل‌ها، هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار به ترتیب $13/250$ ، $0/732$ و $0/885$ به دست آمد. روی هم رفته، تفاوت معنی‌داری ($P > 0.05$) از لحاظ تعداد الل و هتروزیگوسیتی بین مناطق مورد بررسی مشاهده نشد. همچنین، متوسط هتروزیگوسیتی در جمعیت‌های هر دو گونه مورد بررسی نزدیک به مقدار گزارش شده برای ماهیان آب شور ($0/77$) به دست آمد (Dewoody and Avise 2000). میانگین تعداد الل‌ها در هر جایگاه برای ماهیان آب شور $19/9$ گزارش شده است (Dewoody and Avise 2000). این در حالی است که میانگین تعداد الل‌ها در 6 جایگاه مورد استفاده در این بررسی پایین تر و عدد $13/250$ را نشان می‌دهد. مقایسه داده‌های حاصل نشان می‌دهد که هتروزیگوسیتی به دست آمده در این بررسی مناسب ولی تعداد الل آن پایین تر از تعداد اللی است، که برای ماهیان آب شور بیان شده است. تحقیقات نشان می‌دهند که غنای اللی برای ارزیابی تنوع نمونه‌ها نسبت به هتروزیگوسیتی مناسب تر است. همچنین بالا بودن غنای اللی نشان‌دهنده بالا بودن اندازه جمعیت موثر است (Grassi et al. 2004) و به طور کلی تعداد کم الل نشانه‌ای از تنگنای ژنتیکی است که در شرایط جمعیت وحشی، ممکن است به دلیل جدا شدن جمعیت و یا کاهش شدید اندازه موثر باشد (Ha et al. 2009). انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ در جمعیت ماهیان زیاد است (Lucentini et al. 2006). در این بررسی هر دو جمعیت در اکثر جایگاه‌ها انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ را نشان دادند، 7 نمونه از 12 تست مورد بررسی به طور معنی‌داری ($P \leq 0.05$) انحراف از تعادل نشان دادند. جایگاه Muso22 کمبود هتروزیگوسیتی بالایی را نشان دادند.

نیست و همچنین هیچ گونه مطالعه‌ای بر تنوع ژنتیکی کفال ماهیان موجود در این دریا صورت نگرفته است. با این وجود به نظر می‌آید درون آمیزی اجباری این گونه در طی ۸۰ سال حضور در آبهای بسته دریای خزر موجب کاهش شدید تنوع و وجود جریان ژنی بالا در بین جمعیت‌ها شده است.

ناشی از تنوع ژنتیکی پایین در جمعیت کفال اولیه باشد که از دریای سیاه به دریای خزر پیوند داده شده اند، همچنین مولدین اولیه از یک یا از دو منطقه نزدیک بهم در دریای سیاه انتخاب شده اند و یا تنوع ژنتیکی این گونه در دریای سیاه پایین است، که متاسفانه اطلاع کافی از محل برداشت کفال در دریای سیاه موجود

منابع

Angers B, Bernatchez L (1998) Combined use of SMM and non SMM methods to infer fine structure and evolutionary history of brook charr (*Salvelinus fontinalis*, Salmonidae) populations from microsatellites. *Molecular Biology Evolution* 15: 143-159.

Bassam BJ, Caetano-Anolles G and Gresshoff GM (1991) Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide gels. *Annual Biochemistry* 84: 680-683.

Diz PA, Presa P (2009) The genetic diversity pattern of *Mytilus alloprovincialis* in Galician Rías (NW Iberian estuaries). *Aquaculture* 287: 278-285.

Dewoody JA, Avise JC (2000) Microsatellite variation in marine, freshwater and anadromous fishes compared with other animals. *Fish Biology* 56: 461-473.

Dunham RA (2004) *Aquaculture and Fisheries Biotechnology Genetic Approaches*. CABI Publishing, Auburn university, 358pp

Ferguson M (1995) The role of molecular genetic markers in the management of cultured fish. G. R. Carvalhoand, T. J. Pitcher (Eds.), *Molecular Genetics in Fisheries*. London:Chapman and Hall 81-104p.

Frankham R (2008) Genetic adaptation to captivity in species conservation programs. *Molecular Ecology* 17: 325-333.

Grassi F, Imazio S, Gomasasca S, Citterio S, Aina R, Sgorbati S, Sala F, Patrignani G and Labra M (2004) Population structure and genetic variation within *Valeriana wallrothii* Kreyer in relation to different ecological locations. *Plant Science* 166: 1437-1441.

Ha HP, Nguyen TT, Poompuang S, Na-Nakorn U (2009) Microsatellites revealed no genetic differentiation between hatchery and contemporary wild populations of striped catfish, *Pangasianodon hypophthalmus* (Sauvage 1878) in Vietnam. *Aquaculture* 291 : 154-160.

Halfman GS, Collette BB and Facey DE (1997) *The diversity of fishes*. Blackwell Science. Oxford, 528pp.

Hillis DM, Moritz C (eds) (1996) *Molecular systematics*, 2nd edn. Sinauer Associates Inc, Publishers Sunderland Massachusetts 736pp

Hakansson J, Jensen P (2005) Behavioural and morphological variation between captive populations of red junglefowl (*Gallus gallus*) – possible implications for conservation. *Biological Conservation* 122: 431-439.

Khoroshko AI (1981) population abundance and structure in long-finned Mullet (Genus *Liza*, Mugilidae) during Acclimation in the Caspian sea. *Ichthyology*. 22: 62-69.

Li J, Wang G, Bai Z (2009) Genetic variability in four wild and two farmed stocks of the Chinese freshwater pearl mussel (*Hyriopsis cumingii*) estimated by microsatellite DNA markers. *Aquaculture*. 287: 286-291.

Lind CU, Evans BS, Knauer J, Taylor JJU, Jerry DR (2009) Decreased genetic diversity and a reduced effective population size in cultured silver-lipped pearl oysters (*Pinctada maxima*). *Aquaculture* 286:12-19.

Liu Z, Cordes JF (2004) DNA marker technologies and their applications in aquaculture genetics. *Aquaculture* 238:1-37.

Liu Z (2007) *Aquaculture Genome Technologies* Blackwell Publishing Oxford 487pp.

Liu F, Xia JH, Bai ZH, Fu JJ, Li JL, Yue GH (2009) High genetic diversity and substantial population differentiation in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) revealed by microsatellite analysis. *Aquaculture* 297: 51-56.

Lucentini L, Palomba A, Lancioni H, Gigliarelli L, Natali M, Panara F (2006) Microsatellite polymorphism in Italian populations of northern pike (*Esox lucius* L.). *Fisheries Research* 80: 251-262.

Miggiano E, Lyons RE, Li Y, Dierens LM, Crosetti D, Sola L (2005) Isolation and characterization of microsatellite loci in the striped mullet *Mugil cephalus*. *Molecular Ecology* 5: 323-326.

Nei M (1972) Genetic distance between populations. *American Naturalist* 106: 283- 92.

Peakall R, Smouse PE (2006) GENALEX 6: genetic analysis in excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes* 6: 288-295.

Pinera JA, Blanco G, Vázquez E, Sánchez JA (2007) Genetic diversity of blackspot seabream (*Pagellus bogaraveo*) populations Spanish Coasts: a preliminary study. *Marin Biology* 151:2153-2158.

Pourfaraje V, Karami M, military, SH, Rafiee G, Jara H (2008) studied polymorphism diversity golden mullet *Liza aurata* (Risso, 1810) in the southern coast of the Caspian Sea Iranian Fisheries Journal Summer 2008: 35-48. (In Farsi).

Pujolar J M, Deleo GA, Ciccotti E, Zane L (2009) Genetic composition of Atlantic and Mediterranean recruits of European eel *Anguilla anguilla* based on EST-linked microsatellite loci. *Journal of Fish Biology* 74: 2034-2046.

Raymond M and Rousset F (1995) GENEPOP (VERSION 1.3): Population genetic software for exact tests and ecumenicisim. *Heredity* 86:248-249.

Razavi Sayad B (1990) Management reserves the economic teleosts Caspian Sea. However, proper operation of the National Conference of Caspian fish stocks Babolsar 265-300.(In Farsi).

Utter FM (1991) Biochemical genetics and fishery management: an historical perspective. *Journal of Fish Biology* 39: 1-20.

Wang C, Yu X, Tong J (2007) Microsatellite diversity and population genetic structure of redfin culture (*Culter erythropterus*) in fragmented lakes of the Yangtze River. *Hydrobiologia* 586: 321-329.

Wright S (1987) Evolution and the genetics of populations, vol. 4: variability within and among natural populations. University of Chicago Press Chicago 584pp.

Xu G, shao Ch, Liao X, Tian Y, Chen S (2009) Isolation and characterization of polymorphic microsatellite loci from so-iuy mullet (*Mugil soiyu* Basilewsky 1855). *Conservation Genetics* 10: 653-655.

Yeh FC, Yang RC, Boyle T (1999) POPGENE version 1.3.1. Microsoft Window-bases Freeware for population Genetic Analysis. University of Alberta and the Centre for International Forestry Research.

Zar JH (1999) Biostatistical analysis, 4th ed. Prentice Hall, Upper Saddle River New Jwesity 458pp.