

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

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

زهره قدسی^{*}، علی شعبانی^۲، بهاره شبانپور^۳
۱، ۲ و ۳- دانش آموخته 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 ریزماهواره به منظور برسی تنوع ژنتیکی ماهی کفال طلایی در دو منطقه بابلسر و چالوس در استان گلستان استفاده شد. تمایز بارز ژنتیکی در میان مناطق از طریق F_{st} و آنالیز واریانس مولکولی مشاهده نشد و میزان نسبتاً بالایی از جریان ژنی بین جمیعت‌ها مشخص گردید. تنوع ژنتیکی دو منطقه شامل بابلسر: تعداد الل در جایگاه: $N_a=12/833$ ، $N_e=9/402$ و هتروژیگوستی $N_e=9/945$ ، $N_a=13/667$ و هتروژیگوستی $H_e=0/756$ و چالوس: $N_a=0/882$ و $N_e=0/882$ نیز تفاوت معنی‌داری نداشتند.

واژه‌های کلیدی
تنوع ژنتیکی،
دریای خزر،
ریزماهواره،
کفال طلایی،
هتروژیگوستی

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 شاخص‌های مریستیک و مورفو‌لوزیک جهت شناسایی جمعیت‌های 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). مایکرو‌ستلایت‌ها به علت بالا بودن تعداد الال هایشان در میان تمام مارکرها بالاترین میزان هترو‌زاگوسيتی را نشان می‌دهند (Liu 2007). این پلی-مورفیسم بسیار بالا نشان می‌دهد که نشانگرهای ریزماهواره می‌توانند 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 می‌باشد. 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 می‌شدن، پرداخته شد.

مواد و روش‌ها

نمونه برداری

۵۶ عدد ماهی کفال طلایی از مناطق بابلسر (عرض جغرافیایی "۸/۸۹" ۳۶° ۴۲' طول جغرافیایی "۸/۵۹" ۵۲° ۳۶' و چالوس (عرض جغرافیایی "۷/۶۳" ۳۶° ۴۱' ۲۸° ۰۵' طول جغرافیایی "۳۰/۷۸" ۵۱° ۲۵' ۰۲/۲۸) 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 جمع‌آوری و در ظروف نمونه‌گیری حاوی الكل اتیلیک مطلق قرار داده شد. سپس نمونه‌ها 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 می‌شود (Utter 1991). در مورد منابع دریایی، تنوع ژنتیکی اهمیتی حیاتی جهت مدیریت و حفاظت از آنها داشته و به عنوان اولین پیش‌نیاز برای حفظ سازگاری جمعیت‌ها در شرایط محیطی در حال تغییر قلمداد می‌شود (Angers and Bernatchez 1998). مارکرهای ملکولی به طور مستقیم قادرند پراکندگی و تنوع ژنتیکی را تشخیص بدهند (Ferguson 1995). آگاهی از میزان ذخایر تواریثی و تنوع ژنتیکی بین افراد یک گونه از اهداف ارزشمند مدیریت ذخایر و اصلاح نژاد می‌باشد، به طوریکه بررسی‌های ژنتیک جمعیت یا اکولوژی مولکولی ماهیان بالارزش اقتصادی به منظور حفاظت از جمعیت آنها و حفظ صید پایدار بسیار ضروری می‌باشد (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 داشمندان روسی طی سالهای ۱۳۰۹ تا ۱۳۱۳ به دریای خزر معرفی شدند. حدود سه میلیون بچه ماهی از گونه‌های کفال مخطط (*Mugil* Linnaeus 1758)، کفال طلایی (*Liza aurata*) (Risso., 1810)، کفال (*Liza saliens*) (Risso., 1810) از دریای سیاه به دریای خزر انتقال داده شد. اما تنها دو گونه کفال طلایی و پوزه باریک (Khoroshko 1981). اعضای این خانواده عمدتاً ماهیان کرانه‌ای و کمتر متعلق به آب شیرین هستند که بطور گسترده در آب‌های گرمسیری و نیمه‌گرمسیری پراکنده‌اند. کفال ماهیان در آب‌هایی با شوری متغیر، از آب شیرین تا آب‌هایی با شوری ۳۳ در هزار زندگی می‌کنند. این گونه عمدتاً در آب‌های دریایی جایی که تخم‌های شناور رشد می‌کنند، تخم‌ریزی می‌نماید (Halfman et al. 1997).

صید کفال ماهیان در ایران از سال ۱۹۴۲ آغاز شد. طی سال‌های بعد به علت صید بی رویه به خصوص صید انبوه کفال ماهیان در سال بهره برداری ۱۳۶۲-۱۳۶۱ (۶۹۷۵ تن) که متوسط وزن ماهیان صید شده فقط ۲۱۰ گرم بود، لطمہ شدیدی به ذخایر آنها

و مورد انتظار و همچنین معنی دار بودن احتمال کسری هتروزیگوستی یا زیاد بودن هتروزیگوستی نیز از نرم افزار Raymond and Rousset (1995) Genepop منظور تعیین تنوع ژنتیکی درون و بین جمعیتی و همچنین میزان تمایز بین جمعیتی بر اساس مدل الی بینهایت (*Fst*) با استفاده از Genealex آنالیز واریانس مولکولی (AMOVA) (بسته نرم افزاری Nei Genealex) و رابطه فیلوزنیک بین جمعیت‌ها با استفاده از نرم-افزار 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'-CAGATTGTTCTGGGAGGGCAGA-3' R: 5'-GTCATGATGCTGATCAGCAA-3'	۳۴۷-۲۷۰	Mcs16EM
F: 5'-GAGCCAAACTGGTCACATGAAAGAGA-3' R: 5'-ACTTCAGTGCAGCGCCCAGTGT-3'	۳۳۸-۱۸۶	Mcs15AM
F: 5'-CTTGGCTGCCGTATCCTGT-3' R: 5'-CCTGAGAGTGAGGGTCAAC-3'	۱۴۴-۲۲۸	Muso27
F: 5'-TTGCTCAGGGAACACATTGA-3' R: 5'-CAAACAGAGACGTGATGCAA-3'	۲۵۲-۲۳۶	Muso10
F: 5'-CACCACTATGCCATCCTTCA-3' R: 5'-AACCCTTTCTTGCTCAA-3'	۱۵۸-۱۴۶	Muso19
F: 5'-TGATGAGAATGGTGGTGACG-3' R: 5'-TTTGGGCTGCTGTCTC-3'	۲۱۲-۱۹۴	Muso22

نتایج و بحث

تعداد کل الیا 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 الی را نشان دادند. تعداد متوسط الیا مشاهده شده و موثر در بابلسر 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.

شدن. نمونه‌های بافتی در الکل اتیلیک ۹۵ درصد تا زمان استخراج DNA نگهداری شدن. استخراج DNA از نمونه‌ها به روش فنل-کلروفرم (Hillis and Moritz 1996) انجام پذیرفت. DNA استخراجی پس از افروden 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 (Miggiano et al. 2005) Mcs 15AM، Mcs 16EM (Xu et al. 2009) Muso27، Muso22، Muso19 (جدول ۱). تکثیر لکوس‌ها با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در حجم ۲۵ میکرولیتر و شرایطی شامل ۱۵ نانوگرم ۰/۵ DNA، میکرومولار از هر آغازگر، ۴۰۰ میکرومولار نوکلئوتیدها، یک واحد بین‌المللی taq پلیمراز، بافر PCR ۱X، ۱/۵ میلی مولار کلرید منزیم 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 پلیمراز بر روی ژل پلی‌اکریل آمید ۸ درصد (غیر یونیزه) جداسازی شدند. سپس ژل‌ها به روش نیترات 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

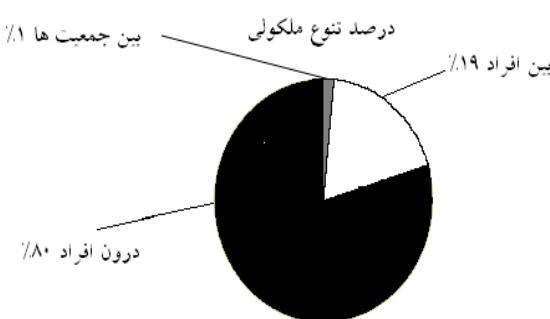
تعداد الی در هر جایگاه، الی موثر، هتروزیگوستی مشاهده شده (Ho) و مورد انتظار (He) با استفاده از نرم افزار Genealex (Peakall and Smouse 2006) محاسبه شد. برای تعیین تفاوت بین دو منطقه در مقادیر هتروزیگوستی مشاهده شده، مورد انتظار و تنوع الی از تست ویلکاکسون غیر پارامتریک در نرم افزار 16 SPSS استفاده شد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

جدول ۲- تنوع ژنتیکی عجایگاه 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	۰/۸۴۴	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	۰/۹۳۳	H _e
۰/۷۸۴	۰/۰۸۸	۰/۱۷۸	۰/۰۹۹	۰/۰۴۸	۰/۰۳۲	F _{IS}
***	*	ns	***	ns	ns	pHw

(N_a) تعداد الی (N_e) تعداد الی موثر(H_o) هتروزیگوستی مشاهده شده؛ H_e: هتروزیگوستی مورد انتظار؛ F_{IS}: ضریب درون آمیزی

(pHw) تست احتمال‌هارדי_واینبرگ (ns: عدم معنی داری؛ *: P≤۰/۰۱؛ **: P≤۰/۰۵؛ ***: P≤۰/۰۰۱)

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

(P>۰/۰۵). مقادیر هتروزیگوستی مشاهده شده (H_o) و مورد انتظار (H_e) به ترتیب در دامنه ۰/۰۷-۱/۰۰ (متوسط : ۰/۷۳۲) و ۰/۸۲-۰/۹۳ (متوسط: ۰/۸۸۵) قرار داشت. متوجه هتروزیگوستی مشاهده شده در سطح مناطق نیز به ترتیب ۰/۷۵۶ و ۰/۷۰۸ برای بابلسر و چالوس به دست آمد (جدول ۲). همچنین بین مناطق مورد بررسی تفاوت معنی داری از نظر میزان هتروزیگوستی مشاهده شده و مورد انتظار، مشاهده نشد (P>۰/۰۵). در بررسی تعادل هارדי_واینبرگ، ۷ نمونه از ۱۲ تست مورد بررسی (6 جایگاه × 2 منطقه) به طور معنی داری (Fis ≤ ۰/۰۵) انحراف از تعادل نشان دادند. متوجه شاخص درون آمیزی (Fis) و جریان ژنی به ترتیب ۰/۱۸۰ و ۰/۶۰۶ را نشان دادند. از نظر تمایز بین مناطق میزان شاخص Fst بر اساس آنالیز واریانس مولکولی (AMOVA)، به ترتیب ۰/۰۱۸ به دست آمد. همچنین نتایج براساس AMOVA نشان داد تنوع بین جمیعت‌ها پایین و تنها یک درصد است و بیشتر تنوع درون افراد و بین افراد است (شکل ۲).

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 جمیعت‌های دو منطقه مورد بررسی نشان داده است.

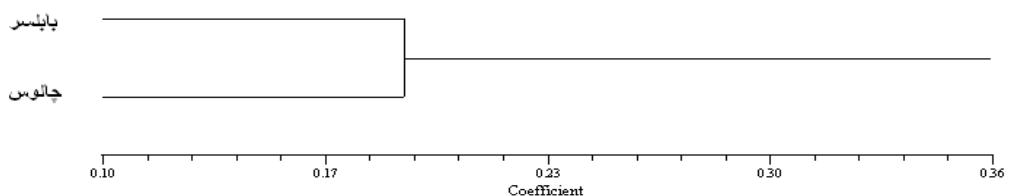
جدول ۳- میزان جریان ژنی (Nm) و تمایز (Fst) در سطح شش جایگاه مورد استفاده

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

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

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

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

در مورد 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 مخطط (*Mugil cephalus*) و ۱۰ جایگاه اختصاصی کفال سویی (*Mugil soiuy*) 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 جایگاه های ژنی دارای کارایی مناسبی برای این گونه است. هتروزیگوستی و تعداد الها جزو پارامترهای مهم تنوع ژنتیکی جمعیت ها از لحاظ رو برو شدن با تغییرات محیطی می باشد.

ریزماهواره ها نشانگرهای ژنتیکی هستند که به صورت گسترده ای در مطالعات ژنتیک جمعیت گونه های پرورشی و وحشی ماهیان مورد استفاده قرار می گیرند (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 آن ها بالا است که دلیل آن را می توان به نرخ بالای جهش در این نوع نشانگرها نسبت داد و از طرفی به دلیل همبارز بودن، هتروزیگوستی و Liu and Cordes (2004). با وجود اهمیت بالای ماهی کفال طلایی (*Liza aurata*) متسافانه این گونه قادر جایگاه ژنی اختصاصی است و اطلاعاتی

دلالی زیست شناختی این چنین کسری به خوبی شناخته نشده است و فاکتورهای زیادی همچون اثر وهلاند، درون‌آمیزی، ال نول و بهگزینی برای توضیح آن مطرح شده‌اند. جدا از دلایل بیولوژیکی معمول در ایجاد کسری هتروزیگوستی، ریزماهواره‌ها به طور خاص مستعد این پدیده هستند (Diz and Presa 2009). افزایش هتروزیگوستی نیز در جایگاه Muso22 و Mcs15AM مشاهده می‌شود که میتواند نتیجه خطای PCR باشد، اشتباه در هنگام خواندن ال و انحراف تصادفی باشد، انحراف ژنتیکی تصادفی ممکن است بواسیله نسبتهای جنسی نابرابر یا مشارکت متفاوت مولدهای در زمان تکثیر ایجاد شود (Li et al. 2009). از آنجا که شرایط PCR جایگاه‌های ثالثی مورد نظر بهینه بوده، انحراف ژنتیکی تصادفی می‌تواند یکی از عوامل اصلی افزایش هتروزیگوستی 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 الی تفاوت معنی‌داری ($P < 0.05$) میان مناطق مشاهده نشد، F_{st} به دست آمده بر اساس فراوانی (۰/۱۸) و آنالیز واریانس مولکولی (۰/۰۱۵) پائین بوده که نشان‌دهنده تمایز بسیار پایین در میان جمعیت‌ها بوده است، بر اساس معیار Wright (1987) مقادیر F_{st} میان (۰/۰۵-۰/۰۵) 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 کوتاه‌مدت 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 ال‌های مشاهده شده در سطح جمعیتی میتواند بیانگر کاهش تنوع ژنتیکی باشد (Lind et al. 2009). هتروزیگوستی در مطالعه ساختار جمعیت گونه‌ها ارزش بسیار دارد زیرا هر هتروزیگوت ناقل ال‌های متفاوتی بوده که نشان دهنده تنوع است (Diz and Presa 2009). در این بررسی متوسط تعداد ال‌های هتروزیگوستی مشاهده شده و مورد انتظار به ترتیب ۰/۷۳۲، ۱۳/۲۵۰ و ۰/۸۸۵ به دست آمد. روی هم رفته، تفاوت معنی‌داری ($P < 0.05$) از لحاظ تعداد ال و هتروزیگوستی بین مناطق مورد بررسی مشاهده شد. همچنین، متوسط هتروزیگوستی در جمعیت‌های هر دو گونه مورد بررسی نزدیک به مقدار گزارش شده برای ماهیان آب شور (۰/۰۷۷) به دست آمد (Dewoody and Avise 2000). میانگین تعداد ال‌های در هر جایگاه برای ماهیان آب شور ۱۹/۹ گزارش شده است (Dewoody and Avise 2000). این در حالی است که میانگین تعداد ال‌های در ۶ جایگاه مورد استفاده در این بررسی پایین تر و عدد ۱۳/۲۵۰ را نشان می‌دهد. مقایسه داده‌های حاصل نشان می‌دهد که هتروزیگوستی به دست آمده در این بررسی مناسب ولی تعداد ال آن پایین تر از تعداد الی است، که برای ماهیان آب شور بیان شده است. تحقیقات نشان می‌دهند که غنای الی برای ارزیابی تنوع نمونه‌ها نسبت به هتروزیگوستی مناسب تر است. همچنین بالا بودن غنای الی نشان‌دهنده بالا بودن اندازه جمعیت موثر است (Grassi et al. 2004) و به طور کلی تعداد کم ال 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، ۷ نمونه از ۱۲ تست مورد بررسی به طور معنی‌داری ($P \leq 0.05$) انحراف از تعادل نشان دادند. جایگاه Muso22 کمبود هتروزیگوستی 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 وجود جریان ژئو 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 مولدهای 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 متساقن 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 Evolution15: 143-159.
- Bassam BJ, Caetano-Anolles G and Grosshoff 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, Gomarasca 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 Conservation122: 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 ecumenicism. *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 soiuy* 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 Jwesey 458pp.