دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
نشریه بهره‌برداری و پرورش آبزیان
جلد اول، شماره چهارم، زمستان ۱۳۹۱
http://japu.gau.ac.ir

مقایسه تنوع ژنتیکی دو گونه کفال طلایی (*Liza aurata*) و کفال پوزه باریک (*Liza saliens*) در حوضه جنوبی دریای خزر با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره

علی شعبانی[۱]، *زهره قدسی[۲] و لقمان نادری[۳]
[۱]دانشیار گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان،
[۲]دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع‌طبیعی گرگان،
[۳]دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد گروه بوم‌شناسی آبزیان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
تاریخ دریافت: ۹۰/۱۰/۲۸ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۱/۲/۱۰

چکیده

دو گونه کفال طلایی (*Liza aurata*) و کفال پوزه باریک (*Liza saliens*) طی سال‌های ۱۳۰۹ تا ۱۳۱۳ از دریای سیاه به دریای خزر معرفی شدند. شناخت تنوع ژنتیکی منابع دریایی اهمیتی حیاتی در مدیریت و حفاظت آن‌ها دارد، زیرا این مسأله اولین پیش‌نیاز برای حفظ سازگاری جمعیت‌ها تحت شرایط محیطی در حال تغییر است. در این مطالعه از ۵ جایگاه ریزماهواره به‌منظور مقایسه تنوع ژنتیکی ماهی کفال طلایی و کفال پوزه باریک در مناطق گمیشان و میانکاله در استان گلستان، بابلسر و چالوس در استان مازندران، انزلی و آستارا در استان گیلان استفاده شد. در گونه کفال طلایی: میانگین تعداد الل در جایگاه: N_a=۱۵/٤٦، هتروزیگوسیتی مشاهده شده برابر H_o=۰/۸٤۳ و هتروزیگوسیتی مورد انتظار برابر H_e=۰/۹۰۲ و در کفال پوزه باریک به‌ترتیب: N_a=۵/٦۳، H_o=۰/۷۸۵ و H_e=۰/٦۱۹ نشان داده شد. این مطلب نشان می‌دهد، اگرچه این گونه‌ها در وضعیت به نسبت مناسبی قرار دارند، اما این احتمال وجود داد که دچار تنگنای ژنتیکی شود.

واژه‌های کلیدی: کفال طلایی، کفال پوزه باریک، تنوع ژنتیکی، مایکروستلایت

---

* مسئول مکاتبه: zohrehghodsi13@gmail.com

مقدمه

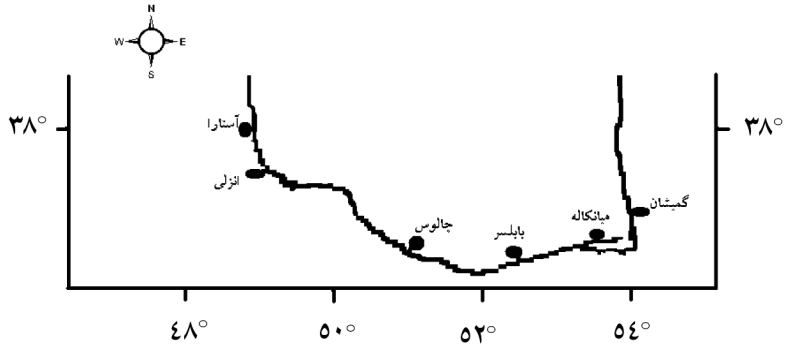
تنوع ژنتیکی را می‌توان به‌صورت تنوع توالی DNA ژنومی بین دو موجود یا دو جمعیت از موجودات تعریف کرد (گانتر، ۲۰۰۹). نشانگر مولکولی یک توالی خاصی از DNA است که به راحتی آشکار می‌شود و توارث آن به سادگی قابل رویت است (اسنپ و همکاران، ۲۰۰۷) و به‌طور مستقیم قادرند پراکندگی و تنوع ژنتیکی را تشخیص بدهند (فرگوسن، ۱۹۹۵). به کمک نشانگرها می‌توان تنوع ژنتیکی موجود را بررسی کرد و در حفظ و سازمان‌دهی آن اقدام نمود (ملچینگر، ۱۹۹۰). به‌طورکلی هدف از مطالعه تنوع ژنتیکی جمعیت برای توصیف و محاسبه میزان تنوع ژنتیکی داخل گونه‌ها است (وایر و کوکرهام، ۱۹۸٤). کفال‌ماهیان پراکنش جهانی دارند و بیش‌تر در دریاهای حاره‌ای و گرمسیری وجود دارند، به سادگی وارد مصب‌ها می‌شوند و حتی برخی از آن‌ها ساکن آب شیرین هستند. به‌طورکلی این خانواده شامل ۱۷ جنس و ۸۰ گونه در جهان می‌باشد (نلسون، ۱۹۸٤). این گونه در سال‌های ۱۳۰۹ تا ۱۳۱۳ توسط دانشمندهای روسی به دریای خزر معرفی شدند. حدود سه میلیون بچه‌ماهی از گونه‌های کفال مخطط (لینائوس، ۱۷۵۸) (*Mugil cephalus*)، کفال طلایی (رسیو، ۱۸۱۰) (*Liza aurata*)، کفال پوزه باریک (رسیو، ۱۸۱۰) (*Liza saliens*) 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 (خوروشکو، ۱۹۸۱).

مکان‌های ژنی ریزماهواره دسته خاصی از DNAهای تکراری متوالی هستند که به سرعت در حال جایگزینی یا تکمیل نشانگرهای دیگر هستند و دارای کاربردهای فراوانی در ژنتیک تکاملی و حفاظتی می‌باشند (انگرز و برناچز، ۱۹۹۸). این نشانگر در همه کروموزم‌ها و در بیش‌تر نواحی بین ژنومی وجود دارد (لیو و همکاران، ۲۰۰۱). با توجه به مطالعه‌های گسترده انجام شده مشخص گردید که ریزماهواره‌ها در بیش‌تر موجودات وجود دارد و در همه آن‌ها تنوع ژنتیکی بسیار بالایی از خود نشان داده است و قادر به کشف اختلافات در میان جمعیت‌های خیلی نزدیک به هم می‌باشد (هنکک، ۱۹۹۹) متأسفانه بر خلاف اهمیت موضوع، اطلاعات محدودی در خصوص ساختار ژنتیکی این گونه‌های ارزشمند وجود داشته است، تنها پژوهش منتشر شده مربوط به آنالیز ژنتیکی ماهی کفال طلایی در مناطق گمیشان و میانکاله با استفاده از ٦ لکوس مایکروستلایت می‌باشد (قدسی و همکاران، ۲۰۱۱)، بنابراین اطلاعات بسیار محدودی در مورد تنوع این گونه‌ها در سواحل جنوبی

دریای خزر وجود دارد. با توجه به این‌که این دو گونه به‌طور هم زمان و از یک دریای مشترک مادری به دریای خزر انتقال پیدا کرده‌اند. بنابراین، در این پژوهش با به‌کارگیری ۵ جایگاه ریزماهواره به مقایسه تنوع ژنتیکی دو گونه کفال طلایی و کفال پوزه باریک با یکدیگر در حوضه جنوبی دریای خزر، پرداخته شد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری: ۱٦۸ عدد ماهی کفال طلایی و ۱٦۸ عدد ماهی کفال پوزه باریک از ۵ منطقه گمیشان (۳۷ درجه و ۱۵ دقیقه و ٤۳ ثانیه شمالی و ٥٤ درجه و صفر دقیقه و ۲ ثانیه شرقی)، میانکاله (۳٦ درجه و ۵۳ دقیقه و ۲۵ ثانیه شمالی و ۵۳ درجه و ٤۳ دقیقه و ۳ ثانیه شرقی)، بابلسر (۳٦ درجه و ٤۲ دقیقه و ۸ ثانیه شمالی و ۵۲ درجه و ۳٦ دقیقه و ۸ ثانیه شرقی)، چالوس (۳٦ درجه و ٤۱ دقیقه و ۷ ثانیه شمالی و ۵۱ درجه و ۲۵ دقیقه و ۳۰ ثانیه شرقی)، انزلی (۳۷ درجه و ۲۷ دقیقه و ۳۵ ثانیه شمالی و ٤۹ درجه و ۳۷ دقیقه و ۸۵ ثانیه شرقی) و آستارا (۳۸ درجه و ۲۵ دقیقه و ۲۱ ثانیه شمالی و ٤۸ درجه و ۵۲ دقیقه و ۳۸ ثانیه شرقی) در سواحل جنوبی دریای خزر (۲۸ نمونه از هر منطقه) در پاییز سال ۱۳۸۷ نمونه‌برداری شد (شکل ۱). به‌منظور مطالعه ملکولی حدود ۳-۲ گرم از باله پشتی هر ماهی جمع‌آوری و در ظروف نمونه‌گیری دارای الکل اتیلیک مطلق قرار داده شد. سپس نمونه‌ها برای استخراج DNA به آزمایشگاه منتقل گردیدند.



شکل ۱- مناطق نمونه‌برداری ماهی کفال طلایی و کفال پوزه باریک.

آماده‌سازی نمونه‌ها: نمونه‌های بافتی در الکل اتیلیک ۹۵ درصد تا زمان استخراج DNA نگهداری شدند. استخراج DNA از نمونه‌ها به روش فنل- کلروفرم (هیلیس و همکاران، ۱۹۹٦) انجام شد. DNA استخراجی پس از افزودن ۱۰۰ میکرولیتر آب مقطر دو بار تقطیر تا زمان انجام مطالعه‌ها در فریزر ۲۰- نگهداری شد. کیفیت و کمیت DNA استخراجی نیز با استفاده از ژل آگارز ۱ درصد و روش اسپکتروفتومتری تعیین گردید.

واکنش زنجیری پلیمراز و الکتروفورز: به‌منظور بررسی تنوع ژنتیکی ماهی کفال طلایی از جایگاه‌های Mcs 16EM، Mcs 15AM، (میگائو و همکاران، ۲۰۰۵)، Muso10، Muso19، Muso22 (زو و همکاران، ۲۰۰۹) استفاده گردید (جدول ۱).

جدول ۱- آغازگرهای مورد استفاده برای تکثیر مکان‌های ریزماهواره در این مطالعه

جایگاه ژن	آغازگر	شماره دسترسی در NCBI
Mcs16EM	F: CAGATTGTTGTTCGGGAGGGCAGA R: GTCATGATGCTGCTATCAGGCAAA	AY770930
Mcs15AM	F:GAGCCAAACTGGTCACATGAAAGAGA R: ACTTTCAGTGCAGCGCCCAGTGTT	AY770927
Muso19	F: CACCACTATGGCATCCTTCA R: AACCCCTTTTCTTGCTCAAA	EU570294
Muso10	F: TTGCTCAGGGAACACATTGA R: CAAACAGAGACGTGATGCAAA	EU570285
Muso27	F:CTTGGCTGCCTGTATCCTGT R:CCTGAGAGTGAGGGGTCAAC	EU570302

تکثیر مکان‌های ژنی با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در حجم ۲۵ میکرولیتر و شرایطی شامل ۲۵ نانوگرم DNA، ۰/۵ میکرومولار از هر آغازگر، ٤۰۰ میکرومولار نوکلئوتیدها، یک واحد بین‌المللی آنزیم taq DNA پلیمراز، بافر ۱X PCR، ۱/۵ میلی‌مولار کلرید منیزیم و آب مقطر تا رسیدن به حجم موردنظر انجام گرفت. محصولات واکنش زنجیره‌ای پلیمراز بر روی ژل پلی‌آکریل‌آمید ۸ درصد (غیریونیزه) جداسازی شدند. سپس ژل‌ها به روش نیترات نقره (باسام و همکاران، ۱۹۹۱) رنگ‌آمیزی و پس از تهیه تصویر آن‌ها توسط دستگاه مستندساز ژل، از نرم‌افزارGel pro analyzer برای محاسبه طول قطعات استفاده گردید.

تجزیه آماری: با استفاده از نرم‌افزار GenAlex (پیکال و اسموز، ۲۰۰٦) تعداد آلل در هر جایگاه، آلل مؤثر، هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Ho) و مورد انتظار (He) محاسبه شد. برای تعیین تفاوت بین دو

گونه در مقادیر هتروزیگوسیتی مشاهده شده، مورد انتظار و تنوع آللی از نرم‌افزار SPSS 16 استفاده شد (زار، ۱۹۹۹). به‌منظور آزمون معنی‌دار بودن احتمال کسری هتروزیگوسیتی یا زیاد بودن هتروزیگوسیتی نیز از نرم‌افزار Genepop (ریموند و رزت، ۱۹۹۵) استفاده شد. به‌منظور تعیین تنوع ژنتیکی درون و بین جمعیتی براساس مدل اللی بی‌نهایت (Fst) با استفاده از آنالیز واریانس مولکولی (AMOVA) بسته نرم‌افزاری GenAlex مورد استفاده قرار گرفت.

نتایج

تعداد کل آلل در کفال طلایی در سطح جایگاه در دامنه ۲۶-۱۶ و برای کفال پوزه باریک ۱۲-۵ به‌دست آمد به‌نحوی‌که جایگاه Muso19 پایین‌ترین تعداد آلل برای هر دو گونه کفال طلایی و کفال پوزه باریک به‌ترتیب (۱۶) و (۵) و جایگاه Mcs 16EM بالاترین تعداد آلل را به‌ترتیب (۲۶) و (۱۲) نشان دادند. متوسط تعداد آلل‌های مشاهده شده و مؤثر برای کفال طلایی به‌ترتیب ۱۵/۴۶ و ۱۰/۸۰ و برای کفال پوزه باریک ۵/۶۳ و ۳/۸۴ به‌دست آمد که از این نظر بین این دو گونه تفاوت معنی‌داری مشاهده شد ($P<0/05$).

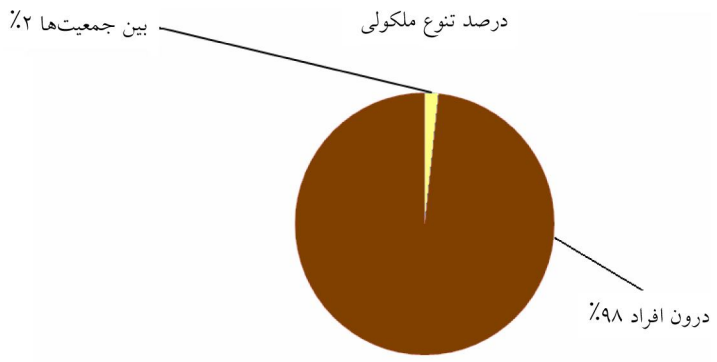
جدول ۲- جدول خصوصیات ۵ مکان ژنی تکثیر شده در این مطالعه

جایگاه ژن	T_m		اندازه باند		تعداد آلل	
	کفال طلایی	کفال پوزه‌باریک	کفال طلایی	کفال پوزه‌باریک	کفال طلایی	کفال پوزه‌باریک
Mcs16EM	۶۰	۵۷	۳۶۴-۴۶۸	۳۹۲ -۴۵۲	۲۶	۱۲
Mcs15AM	۵۸	۵۹	۳۵۲-۴۴۰	۳۵۶ -۴۱۲	۲۵	۱۱
Muso19	۵۸	۶۰	۱۴۰-۲۱۲	۱۴۸ -۱۹۲	۱۶	۵
Muso10	۵۹	۵۹	۲۱۲-۳۰۴	۲۴۰-۲۸۰	۲۵	۹
Muso27	۵۲	۶۱	۱۴۴-۲۲۸	۱۶۴-۱۹۲	۱۸	۸

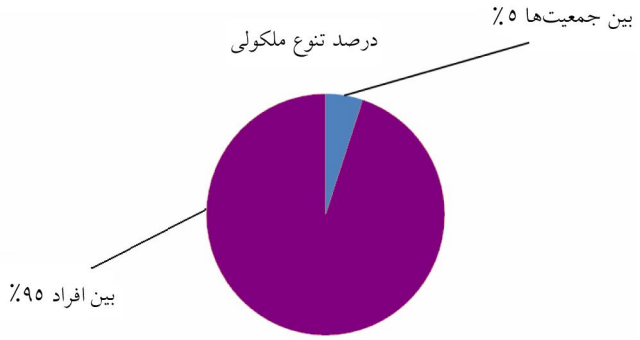
T_m= دمای اتصال

مقادیر میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده (H_o) و مورد انتظار (H_e) به‌ترتیب (H_o: ۰/۸۴۳) و (H_e: ۰/۹۰۲) برای کفال طلایی و (H_o: ۰/۷۸۵) و (H_e: ۰/۶۱۹) در کفال پوزه باریک به‌دست آمد. هم‌چنین بین گونه‌های مورد بررسی تفاوت معنی‌داری از نظر میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده و

موردانتظار، مشاهده نشد (P>۰/۰۵). در بررسی متوسط میزان شاخص درون‌آمیزی F_{is} گونه کفال طلایی میزان (۰/۰٦) و گونه کفال پوزه باریک (۰/۱۲۲-) را نشان داد. متوسط جریان ژنی (N_m) در کفال طلایی ۹/۲٤ و کفال پوزه باریک ٦/۹۱ برآورد شد. هم‌چنین نتایج AMOVA نشان داد که در گونه کفال طلایی ۹۸ درصد از تنوع مشاهده شده مربوط به درون جمعیت‌ها و تنها ۲ درصد از تنوع، مربوط به بین جمعیت‌ها و در کفال پوزه باریک ۹۵ درصد از تنوع مشاهده شده مربوط به درون جمعیت و ۵ درصد آن مربوط به بین جمعیت‌ها می‌باشد (شکل‌های ۲ و ۳).



شکل ۲- چگونگی توزیع تنوع ژنتیکی مشاهده شده در ماهی کفال طلایی تحت معیار F_{st}



شکل ۳- چگونگی توزیع تنوع ژنتیکی مشاهده شده در ماهی کفال پوزه باریک تحت معیار F_{st}

جدول ۳- جدول تنوع ژنتیکی در دو گونه ماهی کفال طلایی و کفال پوزه باریک

گونه	میانگین H_o	میانگین H_e	میانگین Na	میانگین Ne	میانگین F_{is}	میانگین N_m
کفال طلایی	۰/۸٤۳	۰/۹۰۲	۱۵/٤٦	۱۰/۸۰	۰/۰٦٦	۹/۲٤
کفال پوزه باریک	۰/۷۸۵	۰/٦۱۹	۵/٦۳	۳/۸٤	-۰/۱۲۲	٦/۹۱

H_o= هتروزیگوسیتی مشاهده شده، H_e= هتروزیگوسیتی مورد انتظار، N_e= میانگین تعداد آلل مؤثر، N_a= میانگین تعداد آلل N_m= جریان ژنی

بحث

داده‌های به‌دست آمده از بررسی‌های ژنتیکی جمعیت گونه‌هایی که به محیط‌های جدید معرفی شده‌اند، می‌تواند در درک این‌که چگونه این گونه‌ها در محیط جدید موفق به سازگاری و ادامه حیات خود شده‌اند بسیار مفید باشد (پولت و همکاران، ۲۰۰۹). در بیش‌تر موارد، جمعیت گونه‌هایی که از معرفی جمعیت کوچک اولیه به محیط جدید به‌وجود آمده‌اند کاهش تنوع ژنتیکی نشان داده‌اند (استوک‌ول و لگبرگ، ۲۰۰۲). تداوم طولانی‌مدت گونه‌های ماهی را می‌توان با استفاده از تنوع آللی، تنوع ژنی، اندازه جمعیت مؤثر و ساختار جمعیت مورد بررسی قرار داد (یو و همکارن، ۲۰۰٤) با وجود اهمیت بالای ماهی کفال طلایی (*Liza aurata*) و پوزه باریک (*Liza saliens*) به‌علت نبود جایگاه ژنی اختصاصی برای این گونه‌ها است، از ۱۱ جایگاه اختصاصی گونه کفال مخطط (*Mugil cephalus*) و ۱۰ جایگاه اختصاصی کفال سویی (*Mugil soiuy*) استفاده شده است، که تنها ۵ جایگاه برای هر دو گونه دارای چندشکلی بودند و هم‌چنین هیچ‌کدام از جفت جایگاه‌های ژنی نبود تعادل پیوستگی را نشان ندادند بنابراین استفاده از این جایگاه‌های ژنی دارای کارایی مناسبی برای این گونه است. تعداد متوسط آلل‌ها در هر جایگاه از مقیاس‌های رایج محاسبه تنوع جمعیت در اطلاعات به‌دست آمده از نشانگرهای ژنتیکی می‌باشد و کاهش تعداد آلل‌های مشاهده شده در سطح جمعیتی می‌تواند بیانگر کاهش تنوع ژنتیکی باشد (لایند و همکاران، ۲۰۰۹). هتروزیگوسیتی در مطالعه ساختار جمعیت گونه‌ها ارزش بسیار دارد، زیرا هر هتروزیگوت ناقل آلل‌های متفاوتی بوده که نشان‌دهنده تنوع است (دیز و پرسا، ۲۰۰۹). در این بررسی متوسط تعداد آلل‌ها، هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار برای کفال طلایی به‌ترتیب ۱۵/٤٦، ۰/۸٤۳و ۰/۹۰۲ و برای کفال پوزه باریک به‌ترتیب ۵/٦۳، ۰/۷۸۵ و ۰/٦۱۹ به‌دست آمد (جدول ۳). اگرچه از نظر تعداد آلل در بین دو گونه تفاوت معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) مشاهده شد، ولی از نظر هتروزیگوسیتی تفاوت معنی‌داری ($P>۰/۰۵$) بین گونه‌های مورد بررسی

مشاهده نشد. هم‌چنین، متوسط هتروزیگوسیتی در جمعیت‌های هر دو گونه مورد بررسی نزدیک به مقدار گزارش شده برای ماهیان آب شور (۰/۷۷) به‌دست آمد (دوودی و اوایس، ۲۰۰۰)، این در حالی است که میانگین تعداد آلل‌ها در ۵ جایگاه مورد استفاده در این بررسی در کفال طلایی پایین‌تر و عدد (۱۵/٤٦) و برای کفال پوزه باریک عدد (۵/٦۳) را نشان می‌دهد، که کم‌تر از میزان گزارش شده برای ماهیان دریایی (۱۹/۹) است (دوودی و اوایس، ۲۰۰۰). مقایسه داده‌های به‌دست آمده نشان می‌دهد که هتروزیگوسیتی در این بررسی برای هر دو گونه مناسب، ولی تعداد آلل به‌خصوص در گونه کفال پوزه باریک بسیار پایین‌تر از تعداد آللی است که برای ماهیان آب شور بیان شده است. هم‌چنین مقایسه تعداد آلل‌های این دو گونه باهم نشان‌دهنده تفاوت بالای تعداد آلل‌ها با یکدیگر است. پژوهش‌ها نشان می‌دهند که غنای آللی برای ارزیابی تنوع نمونه‌ها نسبت به هتروزیگوسیتی مناسب‌تر است. هم‌چنین بالا بودن غنای آللی نشان‌دهنده بالا بودن اندازه جمعیت مؤثر است (دیز و پرسا، ۲۰۰۹) در سطح جمعیت کاهش تعداد آلل‌های مشاهده شده در مکان‌های ژنی ریزماهواره می‌تواند نشانه‌ای از کاهش تنوع ژنتیکی کاربردی در دیگر نواحی ژنوم باشد (لایند و همکاران، ۲۰۰۹). اندازه جمعیت می‌تواند تمامی جنبه‌های ژنتیکی جمعیت را تحت‌تأثیر قرار دهد و یک متغیر کلیدی از نقطه‌نظر ژنتیکی محسوب می‌شود (ملکیان، ۲۰۱۱). در این بررسی، میانگین میزان آلل مؤثر (N_e) در کفال پوزه باریک در مقایسه با کفال طلایی کاهش قابل‌ملاحظه‌ای را نشان می‌دهد که علت این کاهش را می‌توان به کاهش اندازه مؤثر جمعیت کفال پوزه باریک نسبت داد. حدود یک میلیون بچه‌ماهی یک‌ساله و کوچک‌تر، از هر دو گونه کفال طلایی و کفال پوزه باریک به دریای خزر پیوند زده شده‌اند (خوروشکو، ۱۹۸۱)، بنابراین کفال ماهیان موجود در دریای خزر حاصل تولید مثل تعداد محدودی (با توجه به میزان تلفاتی که در دوره سازگاری با محیط جدید متحمل شده‌اند) از این دو گونه است که به دریای خزر پیوند زده شده‌اند. توجه به آمارهای صید موجود، غالبیت قابل‌توجه صید ۹۵ درصدی کفال طلایی را نسبت به کفال پوزه باریک نشان می‌دهد (دریانبرد، ۲۰۰۹)، که دلیل بر این نکته است که میزان جمعیت کفال پوزه باریک در دریای خزر به‌طور چشم‌گیری نسبت به کفال طلایی کم‌تر است و از طرفی مقارن بودن زمان تولید مثل این دو گونه با فعالیت ایستگاه‌های صید پره می‌تواند موفقیت تولیدمثلی را که بر اندازه جمعیت و به دنبال آن بر تنوع ژنتیکی مؤثر است، کاهش دهد.

در این بررسی جمعیت‌های هر دو گونه در بیش‌تر جایگاه‌ها انحراف از تعادل هاردی- واینبرگ را نشان دادند. F_{is} به توزیع هاردی- واینبرگ ژنوتیپ نمونه‌های درون زیرجمعیت‌ها مربوط می‌شود (کاروالهو، ۱۹۹۸). بررسی شاخص F_{is} در گونه نشان داد که در کفال طلایی کاهش هتروزیگوسیتی و

در گونه کفال پوزه باریک با افزایش هتروزیگوسیتی مواجه هستیم. دلایل زیست‌شناختی کاهش هتروزایگوسیتی به‌خوبی شناخته نشده است. آلل‌های تکثیر نشده یا نول، از مهم‌ترین عوامل ایجادکننده کاهش در جایگاه‌های ژنی ریزماهواره هستند (زو و همکاران، ۲۰۰۱). بنابراین دلیل اصلی کاهش هتروزیگوسیتی را می‌توان ناشی از وجود آلل نول دانست. افزایش هتروزیگوسیتی در کفال پوزه باریک می‌تواند نتیجه انحراف تصادفی باشد، انحراف ژنتیکی تصادفی ممکن است به‌وسیله نسبت‌های جنسی نابرابر یا مشارکت متفاوت مولدین در زمان تکثیر ایجاد شود (لی و همکاران، ۲۰۰۹). از آن‌جا که شرایط PCR جایگاه‌های ژنی موردنظر بهینه بوده، انحراف ژنتیکی تصادفی با توجه به کاهش شدید اندازه جمعیت ماهی کفال پوزه باریک می‌تواند یکی از عوامل اصلی افزایش هتروزیگوسیتی باشد. در میان ماهیان، گونه‌های دریایی به‌طور معمول از تنوع ژنتیکی بالا و تمایز ژنتیکی پایینی برخوردارند (وارد و همکاران، ۱۹۹٤). نتایج آزمون واریانس آنالیز مولکولی نیز بیانگر تباین ژنتیکی بالا در داخل گروه‌ها بوده، به‌طوری‌که ۹۸ درصد تنوع مشاهده شده در داخل جمعیت‌ها و تنها ۲ درصد تنوع در بین جمعیت‌های مورد بررسی کفال طلایی و در مورد کفال پوزه باریک ۹۵ درصد در داخل جمعیت‌ها و تنها ۵ درصد در بین جمعیت‌ها، مشاهده گردید. بالاتر بودن تنوع درون جمعیتی نسبت به بین جمعیتی نشان می‌دهد که در بین جمعیت‌های مختلف ساختار ژنتیکی بارزی وجود ندارد (دیز و پرسا، ۲۰۰۹) هم‌چنین کم بودن تنوع بین جمعیتی و شاخص‌های تمایز، نشان‌دهنده وجود جریان ژنی بالا در بین جمعیت‌هاست (پینرا و همکاران، ۲۰۰۷). یکی از ویژگی‌های مشخص در مطالعه‌های ژنتیکی جمعیت جریان ژنی در میان زیرجمعیت‌ها است، با سطوح بالای مهاجرت و جریان ژنی بین جمعیت، میزان شباهت جمعیت‌ها افزایش می‌یابد (نیگل، ۱۹۹۷) متوسط جریان ژنی (N_m) در کفال طلایی (۹/۲٤) به‌دست آمد که نسبت به جریان ژنی در کفال پوزه باریک (٦/۹۱) بالاتر است. این جریان ژنی می‌تواند ناشی از مهاجرت طبیعی تغذیه‌ای و تولیدمثلی بین مناطق باشد.

به‌نظر می‌آید درون‌آمیزی اجباری این گونه در طی ۸۰ سال حضور در آب‌های دریای خزر، موجب کاهش تنوع و وجود جریان ژنی بالا در بین جمعیت‌های هر دو گونه شده است. با توجه به داده‌های به‌دست آمده از این بررسی به‌نظر می‌رسد، کفال طلایی نسبت به کفال پوزه باریک در حال حاضر از تنوع ژنتیکی بیش‌تری برخوردارد است. ولی با توجه به شرایط به وجود آمده در سال‌های آینده، ممکن است این گونه‌ها با تنگنای ژنتیکی مواجه شود.

منابع

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

2.Bassam, B.J., Caetano-Anolles, G. and Gresshoff, G.M. 1991. Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide gels. Annual Biochemistry 84: 680-683.

3.Carvalho, G.R. 1998. Advances in Molecular Ecology. IOS Press, Amsterdam. 129p.

4.Daryanabard, Gh. 2009. Reproductive characteristics of fish, golden mullet Liza aurata (Risso, 1810) on the southern coast the Caspian Sea. Master degree thesis fisheries. Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, 32p. (Translated in Persian)

5.Dewoody, J.A. and Avise, J.C. 2000. Microsatellite variation in marine, freshwater and anadromous fishes compared with other animals. Fish Biology 56: 461-473.

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

7.Fergusen, 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, Pp: 81-104.

8.Ghodsi, Z., Shabani, A. and Shabanpour, B. 2011. Genetic diversity of *Liza aurata* (Risso, 1810) in the coastal regions of Golestan province, using microsatellite markers, Taxonomy and Biosystematics 6: 35-46.

9.Gunter, K. 2009. The dictionary of gene Technology Genomies, Transcription protemics. wiley-vch verlag GmbH and Co. KGaA, Weinheim. 1862p.

10.Hancock, J.M. 1999. Microsatellite and other simple sequence. In the microsatellite, Evolution and application. edit by D.B., Goldstein, F., and C. Schlotters. Oxford University Press. Pp: 1-11.

11.Hillis, D.M., Moritz, C. and Mable, B.K. 1996. Molecular systematics, 2nd edn. Sinauer Associates Inc, Publishers Sunderland, Massachusetts.

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

13.Li, J., Wang, G. and 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.

14.Lind, C.U., Evans, B.S., Knauer, J., Taylor, J.J.U. and Jerry, D.R. 2009. Decreased genetic diversity and a reduced effective population size in cultured silver-lipped pearl oysters (*Pinctada maxima*). Aquaculture 286: 12-19.

15.Liu, Z.J., Kim, S., Kucuktas, H. and Karsi, A. 2001. Multiple isoforms and an unusual cathodic isoform of creatine kinase from channel catfish (*Ictalurus punctatus*). Gene 275: 207-215.
16.Malekian, M. 2011. Molecular Ecology. Jihad University Mashhad. Press, first Edition, 135p. (Translated in Persian)
17.Melchinger, A. 1990. Use of molecular markers in breeding for oligogenic disease resistance. Plant Breeding 104: 1-19.
18.Miggiano, E., Lyons, R.E., Li, Y., Dierens, L.M., Crosetti, D. and Sola, L. 2005. Isolation and characterization of microsatellite loci in the striped mullet (*Mugil cephalus*). Molecular Ecology 5: 323-326.
19.Neigel, J.E. 1997. A comparison of alternative strategies for estimating gene flow from genetic markers. Annual Review of Ecology and Systematics 28: 105-128.
20.Nelson, J.S. 1984. Fishes of the world. John Willey and Sons Inc. 522p.
21.Peakall, R. and Smouse, P.E. 2006. GENALEX 6: genetic analysis in excel. Population genetic software for teaching and research. Molecular Ecology Notes 6: 288-295.
22.Pinera, J.A., Blanco, G., Vázquez, E. and Sánchez, J.A. 2007. Genetic diversity of blackspot seabream (*Pagellus bogaraveo*) populations Spanish Coasts: a preliminary study. Marin Biology 151: 2153-2158.
23.Poulet, N., Balaresque, P., Aho, T. and Björklund, M. 2009. Genetic structure and dynamics of a small introduced population: the pikeperch (*Sander lucioperca*), in the Rhône delta. Genetica 135: 77-86.
24.Raymond, M. and Rousset, F. 1995. GENEPOP (VERSION 1.3): Population genetic software for exact tests and ecumenicisim. Heredity 86: 248-249.
25.Snape, J.W., Foulkes, M.J., Simmonds, J., Leverington, M., Fish, L.J., Wang, Y. and Ciavarrella, M. 2007. Dissecting gene × environmental effects on wheat yields via QTL and physiological analysis. Euphemia 154: 401-408.
26.Stockwell, C. and Leberg, P. 2002. Ecological genetics and the translocation of native fishes: emerging experimental approaches. Western North American Naturalist 62: 32-38.
27.Ward, R.D., Woodwark, M. and Skibinski, D.O.F. 1994. A comparison of genetic diversity levels in marine, freshwater and anadromous fishes. Journal of Fish Biology 44: 213-232.
28.Weir, B.S. and Cockerham, C.C. 1984. Estimating Fstatistics for the analysis of population structure. Evolution 38: 6. 1358-1370.
29.Xu, Z., Primavera, J.H., De la Pena, L.D., Pettit, P., Belak, J. and Warren, A.A. 2001. Genetic diversity of wild and cultured black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) in the Philippines using microsatellites. Aquaculture 199: 13-40.

30. Xu, G., Shao, Ch., Liao, X., Tian, Y. and Chen, S. 2009. Isolation and characterization of polymorphic microsatellite loci from so-iuy mullet (*Mugil soiuy*). Conservation Genetics 10: 653-655.
31. Yue, G.H., Li, Y., Lim, L.C. and Orban, L. 2004. Monitoring the genetic diversity of three Asian arowana (*Scleropages formosus*) captive stocks using AFLP and mictosatellite. Aquaculture 237: 89-102.
32. Zar, J.H. 1999. Biostatistical analysis, 4th ed. Prentice Hall, Upper Saddle River New Jwesey, 07458.

Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

J. of Utilization and Cultivation of Aquatics, Vol. 1(4), 2012
http://japu.gau.ac.ir

Comparison of genetic diversity in two species of Golden mullet (Risso., 1810) (*Liza aurata*) and small mullet (*Liza saliens*) (Risso., 1810) in the southern Caspian Sea, using microsatellite markers

A. Shabani[1], *Z. Ghodsi[2] and L. Naderi[3]

[1]Associate Prof., Dept. of Fisheries, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, [2]M.Sc. Graduate, Dept. of Fisheries, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, [3]M.Sc. Graduate, Dept. of Aquatic Ecology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Received: 01/18/2012; Accepted: 04/29/2012

Abstract

Golden gray mullet (*Liza aurata*) and small mullet (*Liza saliens*) species introduced from Black sea into the Caspian Sea in 1930 till 1934. Genetic diversity of marine resources has vital import in their management and protection, as this is the first prerequisite for maintaining the consistency of populations in an inconsistent environmental conditions. In this study, we have used five microsatellite locations to investigate the level of genetic variation of *Liza aurata* and *Liza saliens* in Gomishan and Miyankale in Golestan province, Babolsar and Chalus in Mazandaran province and Anzali and Astara in Guilan province. *Liza aurata* showed mean number of alleles per locus (N_a)=15.46, observed heterozygosity (H_o)=0.843 and expected heterozygosity (H_e)=0.902 and in *Liza saliens*: (N_a)=5.63, (H_o)=0.785 and (H_e)=0.619. This indicates that, although these species are an alternative good but it is possible that genetic bottleneck will be as in future years.

Keywords: *Liza aurata*, *Liza saliens*, Genetic diversity, Microsatellite

*Corresponding Author; Email: zohrehghodsi13@gmail.com