بررسی تنوع ژنتیکی ماهی کفال پوزه باریک (*Liza saliens*) در سواحل استان گیلان وگلستان با استفاده از روش توالی یابی DNA میتوکندری

چکیده

ماهی کفال پوزه باریک (*Liza saliens*) یکی از گونه‌های با ارزش و اقتصادی دریای خزر است که تاکنون مطالعه‌ای در مورد ژنتیک جمعیت آن انجام نشده است. در این بررسی به منظورتعیین ساختار ژنتیک جمعیت ماهی کفال پوزه باریک در دو منطقه غربی (انزلی)، شرقی (تالاب گمیشان) حوضه جنوبی دریای خزر از روش توالی یابی ژن ۱۶ S rRNA میتوکندریایی استفاده شد. توالی بدست آمده از ژن مورد نظر bp552 بود. در مجموع بین ۷ هاپلوتایپ متفاوت و۳۳ جایگاه متغیر بدست آمد. تنوع هاپلوتایپی و نوکلئوتیدی در نمونه‌های کل مناطق به ترتیب برابر ۰/۴۴ و ۰/۰۰۷ بود. نتایج بدست آمده از فاصله ژنی میزان پایینی از فاصله ژنی را در نمونه‌های دو منطقه نشان داد. برآورد جریان ژنی حاکی از وجود جریان ژنی دربین نمونه‌های دومنطقه بود و بین دو منطقه جدایی تولیدمثلی وجود نداشت. همچنین تفاوت ژنتیکی معنی‌داری بین دومنطقه مشاهده نشد ($P\geq ۰/۰۵$) و می‌توان عنوان نمود که جمعیت یکسانی از ماهی کفال پوزه باریک در مناطق مورد بررسی وجود دارد.

واژگان کلیدی: *Liza saliens*، 16S rRNA، توالی‌یابی DNA میتوکندری، تنوع ژنتیکی، دریای خزر.

سهراب رضوانی گیل کلائی [۱]
رحمان قانع [۲*]
حسن فضلی [۳]
ابوالقاسم کمالی [۴]
فرامرز لالوئی [۵]
محمدجوادتقوی [۶]

۱. موسسه تحقیقات شیلات ایران، استادیار پژوهشی بخش ژنتیک، تهران، ایران
۲. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، دانشجوی کارشناسی ارشد شیلات، تهران، ایران
۳. پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، استادیار پژوهشی بخش ارزیابی ذخایر، ساری، ایران
۴. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، استاد گروه شیلات، تهران، ایران
۵، ۶. پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، کارشناس بخش بیوتکنولوژی، ساری، ایران

*** مسئول مکاتبات:**
Rahman_203@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۳/۶
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۶/۲۰

مقدمه

خانواده کفال‌ماهیان دارای دامنه تحمل حرارتی و شوری بالایی هستند که در تمامی آب‌های گرمسیری و نیمه گرمسیری جهان پراکنده‌اند (El-Zaeem, 2011). گونه‌های این خانواده براساس خواص ظاهری طبقه‌بندی می‌شوند (Tereshenko, 1950 ; Oren, 1981).

کفال‌ماهیان بومی دریای خزر نبوده و از دریای سیاه به این دریا منتقل و معرفی شده‌اند. طی سال‌های ۱۹۳۰ تا ۱۹۳۴ میلادی (۱۳۰۹ تا ۱۳۱۳ هجری شمسی) حدود سه میلیون عدد بچه‌ماهی کفال یک‌ساله و کوچک‌تر، از سه گونه کفال طلایی (*Liza aurata*)، کفال پوزه‌باریک (*Liza saliens*) و کفال مخطط (*Mugil cephalus*) از دریای سیاه به دریای خزر پیوند زده شدند که پیوند دو گونه کفال طلایی وکفال پوزه‌باریک موفقیت آمیز بوده و درمدت کوتاهی بخوبی با شرایط اکولوژیکی دریای خزر سازگار شده و از پراکنش بسیار خوبی برخوردار گردیدند

Archive of SID

www.SID.ir

کفال‌ماهیان در دریای خزر تاکنون مطالعات جامعی انجام نشده است. طی سال‌های اخیر صید ماهی کفال پوزه‌باریک از دریای خزر به‌شدت کاهش یافته است و بیش‌ترین لطمه به ذخایر آن وارد شده است (فضلی و غنی نژاد، ۱۳۸۳).

به طور کلی هدف از انجام این تحقیق، مطالعه ذخایر این گونه جهت شناسایی تنوع ژنتیکی و وجود جمعیت‌های متفاوت احتمالی در دو منطقه غرب و شرق از حوضه جنوبی دریای خزر و همچنین مطالعه انواع هاپلوتیپ های بدست آمده و فاصله ژنتیکی بین آن‌ها در دو منطقه انزلی و تالاب گمیشان براساس توالی‌یابی ناحیه 16S rRNA مولکول mtDNA بوده است.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری در دو منطقه صید انزلی و تالاب گمیشان در دو فصل صید زمستان ۱۳۸۹ و پاییز ۱۳۹۰ انجام شد. در هر منطقه تعداد ۱۵ نمونه کفال پوزه‌باریک به‌طور کاملاً تصادفی انتخاب شد. از هر نمونه ۵-۳ گرم از بافت باله دمی تهیه و در اتانول ۹۶ درصد تثبیت شد. نمونه‌ها جهت آزمایشات بعدی به آزمایشگاه ژنتیک مولکولی پژوهشکده اکولوژی دریای خزر (شهرستان ساری) منتقل شدند. جدول ۱ تعداد و پراکنش و موقعیت جغرافیایی نمونه‌های جمع‌آوری شده از ماهی کفال پوزه باریک را در ایستگاه‌های مختلف نشان می‌دهد.

ماهی کفال پوزه‌باریک با نام علمی *Liza saliens* (Risso, 1810) که در سابق جزء جنس *Mugil* طبقه‌بندی شده بود، متعلق به تیره کفال‌ماهیان (Mugilidae) می‌باشد (Belyaeva *et al*., 1989) که یکی از گونه‌های با ارزش ماهیان استخوانی دریای خزر است (Ghaninejad *et al*., 2009).

امروزه آنالیز DNA میتوکندری به علت ویژگی‌های خاص خود وسیله‌ای سودمند برای مطالعات ژنتیک مولکولی است (Meyer, 1993; Billington and Hebert, 1991).

در بیش‌تر گونه‌ها DNA میتوکندری (mtDNA) بسیار متغیر بوده و از این رو مارکر خوبی برای مشخص کردن اختلافات ژنتیکی می‌باشند. امروزه هدف اصلی آزمایشات ژنتیک مولکولی در آبزیان، آنالیز ساختار جمعیتی، تنوع ژنتیکی، ارتباطات گونه‌ای، سیستماتیک وطبقه‌بندی آن‌ها می‌باشد (Rezvani Gilkole, 1997).

یکی از اهداف مهم مدیریت شیلاتی برداشت بهینه و پایدار از ذخایر ماهیان از اهداف مدیریت شیلاتی است که دستیابی به آن نیازمند آگاهی و شناخت ذخایر هریک از گونه‌ها می‌باشد (رضوانی گیل کلائی و همکاران، ۱۳۸۸). در مورد مطالعات تنوع ژنتیکی (Oren, 1981; Avanesove,1972; Zablotski, 1966; Kosarev and Yablonskaya, 1994).

جدول ۱: موقعیت جغرافیایی ایستگاه‌های نمونه‌برداری شده در سواحل گیلان و گلستان (۱۳۹۰-۱۳۸۹)

موقعیت	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی	ایستگاه نمونه برداری	تعداد نمونه
گیلان	۴۹°۲۱' ۳۱"	۳۷°۲۹' ۵۰"	تعاونی پره شهیدنوبخت انزلی	۱۵
گلستان	۵۳°۳۵' ۱۷"	۳۷°۰۷' ۲۳"	تالاب گمیشان	۱۵

جهت استخراج DNA ژنومی از بافت باله به روش استات آمونیوم استفاده شد (Pourkazemi, 1996). برای این منظور حدود ۵۰ میلی‌گرم از نمونه باله ماهی کاملا خشک و به تیوپ ۱/۵ میلی‌لیتری منتقل و له شد. سپس برای هضم بافت مورد نظر به‌ویژه پروتئین‌ها بر روی آن ۵۰۰ میکرولیتر از بافر STE، ۵۰ میکرولیتر SDS (سدیم دو دسیل سولفات) ۱۰ درصد و ۳ میکرولیتر پروتئیناز K اضافه گردید. جهت فعال نمودن کامل آنزیم تیوپ حاوی نمونه به مدت ۴۵ دقیقه تا ۱ ساعت در شیکر قرار داده و پس از آن به مدت یک شب در بن ماری ۵۰ تا ۵۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. طی این مدت نمونه به طور کامل هضم شده و بصورت امولسیونی غلیظ در آمد. نمونه‌ها به‌مدت یک شب در بن ماری قرار داده شده سپس

Archive of SID

www.SID.ir

آن‌ها را خارج نموده و به هر تیوپ ۱۶۰ میکرولیتر استات آمونیوم اضافه شد و برای مدت حداقل یک ساعت با استفاده از شیکر به‌هم زده و بلافاصله در ۱۳۰۰۰ دور (Cold room centrifuge) به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید. به آرامی ۵۰۰ میکرولیتر از فاز بالایی را توسط یک نمونه‌بردار جدا کرده، در داخل تیوپ جدیدی ریخته و برای حذف بقایای استات آمونیوم بر روی آن ۵۰۰ میکرولیتر ایزوپروپانول اضافه گردید. لوله‌ها با دست به آرامی چندین مرتبه سر و ته شده، در دور ۱۳۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ نموده و فاز بالایی محلول دور ریخته شد. جهت خارج نمودن کامل ایزوپروپانول، ۱۰۰ میکرولیتر الکل ۷۰ درصد به لوله‌ها اضافه و در دور ۱۳۰۰۰ به مدت ۲ دقیقه سانتریفیوژ گردید. پس از عمل سانتریفیوژ فاز الکل جدا شده و تیوپ‌ها در دمای اتاق قرار داده شد تا تمام الکل آن خشک و تبخیر شود. پس از خشک شدن بر روی رسوب DNA ۱۰۰ میکرولیتر آب مقطر استریل اضافه شد و در بن ماری در دمای ۴۰ درج سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه قرار داده تا DNA به‌طور کامل در آب حل و قطعات ناخواسته هضم گردد. در پایان در فریزر و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. جهت تعیین کیفیت DNAهای استخراج شده از الکترفورز ژل آگارز (پلیمر پلی ساکارید) ۱ درصد استفاده شد.

واکنش PCR برای ماهی کفال از نظر غلظتDNA، آنزیم Taq، $Mgcl_2$، آغازگر، dNTP، چرخه‌های دمایی با تکرارها و دماهای ذوب متفاوت بهینه‌سازی شد. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با استفاده از یک جفت پرایمر برگرفته شده از Tamura و همکاران (۲۰۱۱) که جهت تکثیر توالی نوکلئوتیدهای 16S rRNA، ژنوم میتوکندری کفال خاکستری (*Mugil cephalus*) به کار برده بود، استفاده شد.

ترادف ژنی پرایمر مورد نظر عبارتست از:

پرایمر جلوبر:

5′- CGCCTGTTTATCAAAAACAT - 3′

پرایمر معکوس:

5′ - CCGGTCTGAACTCAGATCACG - 3′

برای انجام واکنش PCR و تکثیر قطعه ژن هدف از ۲۰ نانوگرم DNA ، ۵ میکرولیتر بافر (1x) PCR، $MgCl_2$ با غلظت ۱/۶ میلی مول، ۱/۵ میلی‌مول dNTP، ۱/۲پیکومول از هر آغازگر، ۲/۵ واحد آنزیم Taq DNA Polymerase و در نهایت آب مقطر به اندازه‌ای که حجم نهایی محلول واکنش به ۵۰ میکرولیتر برسد، انجام شد.

مرحله تکثیر DNA در دستگاه ترمال سایکلر (Auto Q) انجام گرفت که از دستگاه با برنامه زیر استفاده گردید:

چرخه مقدماتی در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱ دقیقه، در ادامه ۳۲ چرخه شامل دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴۵ ثانیه جهت واسرشته سازی، دمای ۵۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴۵ ثانیه به‌منظور اتصال برای اتصال آغازگرها، دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴۵ ثانیه و در نهایت دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌منظور بسط نهایی به‌مدت ۵ دقیقه انجام شد.

محصول PCR بدست آمده در ژل آگارز ۱/۵ درصد الکتروفورز گردید تا از تکثیر تخصصی ژن مورد نظر اطمینان حاصل شود.

توالی‌یابی یک‌طرفه از ژن بدست آمده توسط شرکت بیونر کره‌جنوبی انجام شد در نهایت پس ازتعیین توالی قطعه bp 552از ژن 16S rRNA میتوکندریایی بدست آمد.

تمامی توالی‌ها به‌وسیله برنامه Clustal X در نرم‌افزار BioEdit 7.1.3.0 ردیف شدند (Thompson *et al*., 1997).

تنوع DNA میتوکندری با سنجش تنوع نوکلئوتیدی (π) و تنوع هاپلوتایپی (*h*) (Nei, 1987) برای هر جمعیت با استفاده از نرم‌افزار DnaSP 5.10.01 (Rozas *et al*., 2003) محاسبه شد. فاصله ژنتیکی (Kumar *et al*., 2004) بین جمعیت‌ها بر اساس مدل Maximum Composite Likelihood، میانگین اختلاف جفت نوکلئوتیدی (Tamura *et al*., 2007) داخل جمعیت‌ها و بین جمعیت‌ها با استفاده از نرم‌افزار Mega Verison 5.05 بدست آمد.

شاخص ثابت Fst، (Hudson *et al*., 1992) برای بدست آوردن تنوع ژنتیکی در تمام مناطق و بین دو منطقه و جریان

Archive of SID

www.SID.ir

ژنی (نانومتر) با استفاده از نرم‌افزار DnaSP 5.10.01 محاسبه شد.

نتایج

نمونه‌ها جهت تعیین توالی‌یابی به شرکت بیونر کره جنوبی فرستاده شدند، اما تعداد ۲ نمونه با توجه به غلظت کم DNA آن‌ها جواب قابل قبولی نداشتند، از این‌رو مورد بررسی قرار نگرفتند. تمامی توالی‌ها با شماره ثبت (FJ874767, EF437095, AY169702, GQ258709-10) که از گونه مورد نظر در GenBank موجود بودند، مطابقت داده شد که دارای تطابق ۹۸ درصد بودند. توالی‌ها پس از تصحیح و ردیف شدن شامل ۵۵۲ جفت باز (bp) بود.

از میان توالی‌های بدست آمده در مجموع ۷ هاپلوتایپ مشاهده شد و تعداد ۳۳ جایگاه متغیر بدست آمد، ۷ هاپلوتایپ در نمونه‌های منطقه گیلان (Ha7, Ha6, Ha5, Ha4, Ha3, Ha2, Ha1) و ۲ هاپلوتایپ در نمونه‌های منطقه گلستان (Ha2, Ha1) مشاهده شد. از بین هاپلوتیپ‌های بدست آمده، هاپلوتایپ Ha1, Ha3 در بین دو منطقه مشترک بود و پنج هاپلوتیپ Ha2, Ha4, Ha5, Ha6,Ha7 در جمعیت گیلان منحصربه‌فرد بود. تنوع هاپلوتایپی (h) ژن 16S rRNA در نمونه‌های کفال پوزه‌باریک مناطق گیلان و گلستان به ترتیب ۰/۶۵ و ۰/۱۵ بود، در حالی‌که تنوع نوکلئوتیدی (π) به ترتیب ۰/۰۱۳۵ و ۰/۰۰۰۳ بود (جدول ۲). نتایج بدست آمده از داده‌ها میزان پایینی از تنوع نوکلئوتیدی را بین نمونه‌ها نشان داد و اختلاف ژنتیکی بین نمونه‌ها معنی‌دار نبود ($P\geq$۰/۰۵) (جدول ۳).

جدول ۲: توزیع هاپلوتایپ میتوکندریایی در نمونه‌های کفال پوزه باریک (*Liza saliens*) آنالیز شده سواحل استان گیلان و گلستان (۱۳۹۰-۱۳۸۹)

مکان/ هاپلوتایپ	گیلان	گلستان	Σ
Ha1	۹	۱۲	۲۱
Ha2	۲		۲
Ha3	۱	۱	۱
Ha4	۱		۱
Ha5	۱		۱
Ha6	۱		۱
Ha7	۱		۱
∑	۱۵	۱۳	۲۸

جدول ۳: سطوح تنوع ژنتیکی نمونه کفال پوزه باریک (*Liza saliens*) در سواحل استان گیلان و گلستان (۱۳۹۰-۱۳۸۹) (n: تعداد نمونه، h: تنوع هاپلوتایپی، π: تنوع نوکلئوتیدی)

منطقه	*n*	تعداد هاپلوتایپ	شاخص تنوع مولکولی	
			π	*h*
گیلان	۱۵	۵	۰/۰۱۳۵	۰/۶۵
گلستان	۱۳	۲	۰/۰۰۰۳	۰/۱۵
تمام نمونه‌ها	۲۸	۷	۰/۰۰۷	۰/۴۴

Archive of SID

www.SID.ir

مقدار جریان ژنی بدست آمده در بین نمونه های دو منطقه ۲/۱۵ بود که حاکی از وجود جریان ژنی (Nm) در بین دو منطقه بود و بین این دو منطقه جدایی تولیدمثلی وجود ندارد.
برای اندازه‌گیری تمایز ژنتیکی از فاکتور Fst استفاده می‌شود که به طور مستقیم و یا از میان ارتباط با تعداد مهاجرت موثر برآورد کننده تمایز می‌باشد که پس از آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم افزار DnaSP ارزش Fst را در تمام نمونه‌های دو منطقه ۰/۰۹ نشان داد. مقدار فاصله ژنتیکی (d) بین نمونه‌های مناطق بدست آمده ۰/۰۱ بود که حاکی از وجود شباهت ژنتیکی بین نمونه‌های مناطق بود.

بحث و نتیجه گیری

تنوع ژنتیکی به عنوان یکی از سه عامل ضروری حفاظت از گونه‌ها بیان شده است (Miller, 1997). طی سالیان گذشته با پیشرفت علم ژنتیک تکنیک‌های سریع و قابل اعتمادی برای تعیین ساختار ژنتیکی جمعیت‌ها، میزان خویشاوندی بین گونه‌ای و درون گونه‌ای به‌وجود آمده است.
مدیریت بهینه ذخایر آبزیان به اطلاعاتی در مورد ساختار جمعیتی گونه‌ها نیاز دارد که این علم آن را در اختیار محققین گذاشته است (Adams and Hutchings, 2003). چندین نواحی DNA هسته و میتوکندری برای شناسایی گونه‌های ماهیان و بررسی ساختار ژنتیکی آن‌ها به کار گرفته شده است (Ballard and Whitlock, 2004).
ناحیه ۱۶ S rRNA از DNA میتوکندری یک مارکر مناسب برای مطالعات ژنتیکی ماهیان می‌باشد (Dudud *et al.*, 2011; Hillis and Dixon, 1991).
در این تحقیق ژن 16S rRNA ماهی کفال پوزه‌باریک که روی ژنوم میتوکندری قرار دارد، با تکنیک PCR تکثیر و سپس توالی‌یابی شد. تمام نمونه‌های کفال پوزه‌باریک سطوح نسبتاً پایینی از تنوع هاپلوتایپی و تنوع نوکلئوتیدی را برای این مارکر مولکولی نشان دادند که تنوع هاپلوتایپی و تنوع نوکلئوتیدی کل بدست آمده به ترتیب ۰/۴۴ و ۰/۰۰۷ بود. این مقدار با مقادیر پایین تنوع هاپلوتایپی و تنوع نوکلئوتیدی در گزارش Nguyen و همکاران در سال ۲۰۰۸ که به مطالعه تنوع ژنتیکی در گونه *Tor tambroides* و *T.douronensis* (Cyprinidae) با استفاده از ژن 16S rRNA در آب‌های مالزی پرداخت، مطابقت داشت. همچنین این مقدار با گزارشات Erguden و همکاران (۲۰۱۰) در جنس‌های کفال‌ماهیان دریای مدیترانه، Caldara و همکاران (۲۰۰۲)، Rossi و همکاران (۲۰۰۴) و Papasotirpoulos و همکاران (۲۰۰۷) در جنس‌های مشابه مطابقت داشت.
براساس گزارش Li و همکاران (۲۰۰۷) هرگاه Nm>۱ باشد، جریان ژنی اصلی‌ترین عامل در ایجاد تمایز ژنتیکی است و هرگاه Nm<۱ باشد، رانش ژنی عامل اصلی ایجاد تمایز ژنتیکی می‌شود.
یکی از دلایل یکسان بودن جمعیت در این دو منطقه احتمالاً وجود تبادل جریان ژنی می‌باشد که بین این نمونه‌ها وجود دارد. از آن‌جایی‌که جریان ژنی یکی از مهم‌ترین عوامل شکل‌گیری در ساختار ژنتیکی جمعیت‌ها و گونه‌ها می‌باشد، تفاوت‌های ژنتیکی مابین جمعیت‌ها زمانی رخ می‌دهد که جریان ژنی موجب جلوگیری از تفاوت‌های ناشی از انتخاب طبیعی نگردد (Tremblay and Ackerman, 2001). میزان جریان ژنی بدست آمده در بین مناطق بیانگر انجام مهاجرت‌های زیاد می‌باشد. با توجه به این‌که در دریا موانع فیزیکی و زیستی نبوده و تفاوت‌های نسبی محیطی نظیر دما، شوری بین مناطق مختلف دریای خزر وجود ندارد، عملاً مهاجرت به‌راحتی از منطقه‌ای به منطقه دیگر امکان‌پذیر می‌باشد.
نتایج این بررسی با گزارش Khoshkholgh و همکاران (۲۰۱۱) مطابقت داشت که به بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت تاس‌ماهی‌ایرانی (*Acipencer persicus*) در حوضه جنوبی دریای خزر با استفاده از روش توالی‌یابی منطقه کنترلی DNA (D- loop) میتوکندریایی پرداختند. در طی این بررسی نمونه تاس‌ماهی ایرانی از ۴ منطقه آستارا، رودخانه سفید رود، نوشهر و بندرترکمن جمع‌آوری گردید. نتایج آنالیز Fst بر اساس روش دو پارامتری و آنالیز واریانس مولکولی (AMOVA) نشان داد بیش‌ترین تنوع در درون نمونه‌ها می‌باشد و اختلاف بین نمونه‌های مناطق آستارا، نوشهر و بندر ترکمن معنی‌دار نبود. برآورد جریان ژنی نشان داد که بین نمونه‌های رودخانه سفیدرود

Archive of SID

www.SID.ir

و دیگر مناطق جدایی تولیدمثلی وجود دارد که ممکن است در نتیجه جدایی جغرافیایی باشد.

در بررسی پورغلام و همکاران در سال ۱۳۸۸ به بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت گاوماهی سرگنده (*Neogobius gorlap*) حوضه جنوبی دریای خزر با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره‌ای پرداختند که در آن با توجه به وجود اختلاف معنی‌دار میزان Fst عنوان نمود که۳ گروه ژنتیکی متفاوت از این گونه در حوضه جنوبی دریای خزر وجود دارد که این تفاوت بین ۳ گروه می‌تواند به خاطر اختلاف در نوع بستر، شیب بستر، وسعت عمق کم در نواحی مختلف و همچنین نوع تغذیه (تنوع ماکروبنتوزها در غرب و شرق حوضه جنوبی باهم متفاوت می‌باشد) و تقابل گونه‌ای در این وجود تنوع در گونه موثر می‌باشد و شرایط زیست محیطی می‌تواند باعث تغییرات در ساختار گاوماهیان شود.

هرچند شناختن فاکتورهای قابل قبول برای یافتن علت سطوح پایین اختلافات ژنتیکی آسان نمی‌باشد، ولی فعالیت های بیش از حد انسانی می‌تواند یکی از این دلایل باشد. از اهم این فعالیت‌های انسانی، صید بی‌رویه می‌باشد. بهره‌برداری بیش ازحد یکی از عوامل اصلی انقراض گونه‌های دریایی است که می‌تواند بر اندازه جمعیت ماهیان تاثیر منفی داشته باشد (Cheng *et al*., 2008). از این‌رو در منطقه جنوبی دریای خزر برخی مقیاس‌ها برای صید و آلودگی‌ها به منظور کاهش تاثیر فعالیت‌های انسانی استفاده و بکار گرفته شود.

در این مطالعه مقدار فاصله ژنتیکی کل بدست آمده از نرم افزار Mega4 بین سه منطقه ۰/۰۵ بود. مطالعات انجام شده نشان می‌دهد که میزان متوسط فاصله ژنتیکی بین جمعیت‌های هم گونه (*Conspecific populations*) ۰/۰۷- ۰/۰۰۲ و بین گونه‌های هم‌جنس (*Conspecific population*) ۰/۰۳-۰/۶۱ می‌باشد (Shaklee *et al*., 1982; Thorp and Sol-Cave, 1994).

مقدار فاصله ژنتیکی بین منطقه انزلی و گمیشان ۰/۰۱ بود که مقدار فاصله ژنتیکی بدست آمده در محدوده جمعیت‌های هم گونه بوده و حاکی از تشابه زیاد نمونه‌های بین دو منطقه می‌باشد.

فاکتور Fst نشان دهنده وجود تمایز بین جمعیت در سطوح مختلف ساختار ژنتیکی می‌باشد.

با توجه به گزارش Wright در سال (۱۹۷۸) هرگاه میزان Fst بدست آمده کم‌تر از ۰/۰۵ باشد، نشان دهنده وجود تمایز کمی در بین جمعیت‌ها می‌باشد، اگر چه حتی مقدار کم Fst نیز می‌تواند بازگوکننده اختلاف ژنتیکی مهمی در بین جمعیت‌ها باشد (Menezes *et al*., 1992). هرگاه مقدار آن بین ۰/۰۵ تا ۰/۱۵ باشد، نشان دهنده تمایز متوسط و مقدار بالای ۰/۱۵ نشان دهنده تمایز بالاست.

در این بررسی مقدار Fst بدست آمده بین دو منطقه گیلان و گلستان ۰/۰۹ بود. میزان تمایز ژنتیکی در دو منطقه گیلان با گلستان در محدوده تمایز ژنتیکی متوسط قرار دارد.

یکی از عوامل کاهش ذخایر کفال پوزه باریک مساله ورود شانه‌دار به دریای خزر است که طی سال‌های گذشته وارد این دریا شده و به‌دلیل مناسب بودن شرایط محیطی، به‌خوبی گسترش یافته است (Ivanov *et al*., 2000).

شانه‌دار مهاجم به‌شدت از زئوپلانکتون‌ها تغذیه می‌کند که می‌تواند نوعی رقابت غذایی را بین شانه‌دار و لارو ماهی کفال پوزه‌باریک به‌وجود آورده و فقر غذایی موجب کاهش ضریب بقاء کفال‌پوزه باریک شود. از طرف دیگر با توجه به این‌که زمان تکثیر و تخم‌ریزی کفال پوزه‌باریک ماه های گرم سال بوده، تراکم زیاد شانه‌دار مهاجم و تغذیه از تخم و لارو این ماهی می‌تواند بر بازسازی ذخایر این گونه تاثیر نامطلوبی داشته باشد و به‌شدت از ذخایر این گونه کاسته شود (فضلی و غنی نژاد، ۱۳۸۳) که این مساله می‌تواند بر تنوع ژنتیکی این گونه تاثیر نامطلوبی گذاشته و تنوع این ذخایر را در حوضه جنوبی دریای خزر بکاهد.

در این بررسی با توجه به نتایج حاصله و معنی‌دار نبودن اختلافات ژنتیکی بدست آمده بین مناطق مختلف نمونه‌برداری و سایر داده‌های بدست آمده از مطالعه حاضر می‌توان عنوان نمود که در بخش جنوبی دریای خزر، مدرک کمی وجود دارد که بیان کند نمونه های کفال پوزه‌باریک به دو جمعیت مجزا تقسیم شود و در تمام مناطق مورد بررسی یک جمعیت واحد زندگی می‌کنند. وجود این ساختار ژنتیکی همسان می‌تواند به‌دلیل عادت‌های اکولوژیکی، مهاجرت آزادانه ماهیان به سایر مناطق،

Archive of SID

www.SID.ir

نبود تقابل بین گونه‌های کفال پوزه‌باریک، فعالیت‌های شدید انسانی همچون صید و صیادی و آلودگی محیط دریایی باشد.

بدیهی است اظهارات قطعی در این زمینه مستلزم انجام مطالعات بیش‌تر است. از این‌رو پیشنهاد می‌گردد از ناحیه دیگری از ژنوم میتوکندریایی مثل ناحیه D-LOOP مورد مطالعه قرار گیرد و این تحقیق به‌صورت گسترده‌ای با جمع‌آوری نمونه‌هایی از نواحی شمالی و میانی دریای خزر انجام گیرد تا بتوان براساس نتایج بدست آمده و شناسایی جمعیت احتمالی، مدیریت اصولی را برای ذخایر این ماهیان اعمال نمود.

سپاسگزاری

این طرح مطالعاتی با پشتیبانی مرکز تحقیقات شیلات ایران انجام شد، لذا از جناب آقای طالشیان کارشناس بخش ارزیابی ذخایر پژوهشکده اکولوژی دریای خزر سپاسگزاری می‌گردد.

منابع

پورغلام، ح.، زمینی، ع.، لالوئی، ف.، خارا، ح.، نادری، م. و تقوی، م. ج.، ۱۳۸۸. بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت گاوماهی سرگنده (*Neogobius gorlap*) حوضه جنوبی دریای خزر با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره ای در حوضه جنوبی دریای خزر. مجله علمی شیلات ایران، سال هجدهم، شماره ۴.

فضلی، ح. و غنی نژاد، د.، ۱۳۸۳. بررسی صید و برخی جنبه‌های زیست‌شناختی کفال‌ماهیان در حوضه جنوبی دریای خزر. مجله علمی شیلات ایران، شماره ۱، صفحات ۱۱۲-۹۷.

رضوانی گیل کلائی، س.، سالاری علی آبادی، م. ع.، سواری، ا.، ذوالقرنین، ح. و نبوی، س. م. ب.، ۱۳۸۸. بررسی ساختار ژنتیکی ماهی سوکلا (*Rachycentron canadum*) با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره. مجله علمی شیلات ایران، سال هجدهم، شماره ۳.

Adams, B. K. and Hutchings, A., 2003. Micro geographic population structure of brook char: A comparison of microsatellite and mark-recapture data. Journal of fish Biology, 62:517-533.

Avanesov, A. M., 1972. The present status of mullets reproduction (the genus mugil) in the Caspian Sea. Voprosy Ikhtiologii (Problems of Ichthyology), Vol.12, 3: 467-470.

Ballard, J. W. O. and Whitlock, M. C., 2004. The incomplete natural history of mitochondria. Molecular Ecology, 13: 729–744.

Belyaeva, V. N., Kazanchee, E. N. and Raspopov, V. M., 1989. The Caspian Sea. Ichthyfauna and commercial resources. Nauka, Moscow, 236pp.(In Russian).

Billington, N. and Hebert D. N., 1991. Mitochondrial DNA diversity in fishes and its implications for introductions. Can. J. Fish, Aquat, Sci, 48 (Suppllement 1): 80–94.

Caldara, F., Bargelloni, L., Ostellari, L., Penzo, E., Colomb, L. and Patarnello, T., 2002. Molecular phylogeny of Grey Mullets based on mitochondrial DNA sequence analysis, Evidence of a differential rate of evolution at the intra family level. Molecular Phylogenetics and Evolution, 6: 416-424.

Cheng, Q., Ma, C., Cheng, H. and Zhang, Q., 2008. Mitochondrial DNA diversity of Coilia mysyus (Clupeiformes: Engraulidae) in three Chinese estuaries. Environ Biol fish, 83:277-282.

Dudud, A., Georgescu, S. E., Popa, O., Dinischiotu, A. and Costache, M., 2011. Mitochondrial 16S and 12S rRNA sequence analysis in four Salmonid species from Romania. Acta Zoologica Academiae Scientiarum Hungaricae, 57(3): 233–246.

El-zaeem, S. Y., 2011. Phenotype and genotype differentiation between flathead grey mullet [*Mugil cephalus*] and thinlip grey mullet [*Liza ramada* (Pisces: Mugilidae)]. African Journal of Biotechnology, Vol. 10, (46): 9485-9492.

Erguden, D., Gurlek, M., Yaglioglu, D. and Turan, C., 2010. Genetic Identification and Taxonomic Relationship of Mediterranean Mugilid Species Based on Mitochondrial 16S rDNA Sequence Data. Journal of Animal and Veterinary Advances, 9(2): 336-341.

Ghaninejad, D., Abdolmalaki, S. and Kuliyev, Z. M., 2009. Reproductive biology of the leaping grey mullet, *Liza salience* in the Iranian coastal waters of the Caspian Sea. Iranian journal of fisheries sciences, 9(3): 402-411.

Hillis, D. M. and Dixon, M. T., 1991. Ribosomal DNA: molecular evolution and phylogenetic inference. The Quarterly Review of Biology, 66: 411–453.

Hudson, R. R., Slatkin, M. and Maddison, W. P., 1992. Estimation of levels of gene flow from DNA sequence data. Genetics, 132: 583–589.

Ivanov, P. I., Kamakim, A. M., Ushivtzev, V. B., Shiganova, T., Zhukova, O., Aladin, N., Wilson, S. L., Harbison, G. R. and Dumount, H. J., 2000. Invasion of Caspian Sea by the Jelly fish

Archive of SID

www.SID.ir

from the south Caspian Sea. Ph.D Thesis, University of Wales, Swansea.

Rezvani Gilkolaei, S., 1997. Molecular population genetic studies of sturgeon species in the South Caspian Sea. Ph.D. thesis, University of Wales, Swansea.

Rossi, A. R., Ungaro, A., De Innocentiis, S., Crosetti, D. and Sola, L., 2004. Phylogenetic analysis of Mediterranean Mugilids by allozymes and 16S rRNA genes investigation: Are the Mediterranean species of Liza monophyletic? Biochem Genet, 42: 301-313.

Rozas, J., Sanchez, J. C., Delbarrio, X. and Rozas, R., 2003. DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods. Bioinformatics, 19: 2496-2497.

Shaklee, J. B., Tamaru, C. S. and Waples, R. S., 1982. Speciation and evolution of marine fishes studied by electrophoretic analysis of proteins. Pacific Science, 36: 141-157.

Tamura, K., Dudley, J., Nei, M. and Kumar, S., 2007. Mega 4: Molecular Evolution Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. Mol. Bio. Evol., 24: 1596-1599. PMID: 17488738.

Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M. and Kumar, S., 2011. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance and Maximum Parsimony Methods. Molecular Biology and Evolution, (In Press).

Tereshenko, K. K., 1950. Materials for the Caspian Sea mullets fisheries (KASPINIRO) in tarybn. Khva I okeanogr, 11: 49-86. (In Russian).

Thompson, J. D., Gibson, T. J., Plewniak, F., Jeanmougin, F. and Higgins D. G., 1997. The ClustalX windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. Nucleic Acid, Res, 24: 4876–4882.

Thorp, J. P. and Sol-Cave, A. M., 1994. The use of allozyme electrophoresis in vertebrate systematics. Zoological Scripta, 23: 3-18.

Wright, S., 1978. Evolution the Genetics of population variability within and Natural population. University of Chicago press, vol 4.

Zablotski, V. I., 1966. Changes in the parasite fauna mullet in connection with its acclimatization in the Caspian Sea. In:Acclimatization of animals in the USSR. A. I. Yanushevich(Ed.). Israeli Program for Scientific Translation, Jerusalem, IPST.Cat. No. 1218, PP. 238–239.

menemiopsis leidyi (Ctenophora). Biological Invation, Vol.2, PP. 255-259.

Khoshkholgh, M., Pourkazemi, M., Nazari, S. and Azizzadeh Pormehr, L., 2011. Genetic diversity in the Persian sturgeon, *Acipenser percicus*, from the south Caspian Sea based on mitochondrial DNA sequences of the control region. Caspian J, Env, Sci, Vol. 9 No.1, PP. 17-25.

Kosarev, A. N. and Yablonskaya, E. A., 1994. The Caspian Sea. SPB Academic Publishing, The Hague, NL, 255 p.

Kumar, S, Tamura, K. and Nei, M., 2004. MEGA3: integrated software for molecular evolutionary genetics analysis and sequence alignment. Brief Bioinform, 5: 150–163.

Li, D., Kang, D., Yin, Q., Sun. Z. and Liang, L., 2007. Microsatellite DNA marker analysis of Genetic Diversity wild common carp (*Cyprinus carpio l.*) population. Genetic and Genomic, 34: 984-993.

Menezes, M. R., Martins, M. and Naik, S., 1992. Interspecific genetic divergence in grey mullets from the Goa region. Aquaculture, 105: 117-129.

Meyer, A., 1993. Evolution of mitochondrial DNA in fishes. In: Hochachka, P. W., Mommsen, T. P. (Eds.), Biochemistry and Molecular Biology of Fishes, Elsevier, Amsterdam, PP. 1.

Miller, M. P., 1997. Tools for population genetic analyses (TFPGA) 1.3. A window program for the analysis of allozyme and molecular population genetic data. Computersoftware distributed by author.

Nei, M., 1987. Molecular Evolutionary Genetics. Columbia Univ. Press, New York.

Nguyen, .T. T. T., Ingram, B., Sungan, S., Gooley, G., Sim, S. Y., Tinggi, D. and De Silva, S. S., 2008. Mitochondrial DNA diversity of broodstock of two indigenous mahseer species, Tor tambroides and T. douronensis (Cyprinidae) cultured in Sarawak, Malaysia. Thailand, Kasetsart University press.

Oren, O. H., 1981. Aquaculture of Grey Mullets. Cambridge University Press, Cambridge, 507p.

Papasotirpoulos, V., Klossa-Kilia, E., Kilias, G., Alahiotis, S. and Kilias, G., 2007. Molecular phylogeny of grey mullets (Teleostei:Mugilidae) in Greece:evidence from sequence analysis of mtDNA segments. Biochem Genet, 45: 623–636.

Pourkazemi, M., 1996. Molecular and Biochemical Genetic Analysis of sturgeon stocks

Archive of SID

www.SID.ir