ساختار ژنتیکی جمعیت ماهی کفال طلایی *Liza aurata* (Risso, 1810) در سواحل استان‌های گیلان و مازندران بر اساس توالی‌یابی منطقه‌ی کنترل mtDNA

زهره سعیدی*[۱]، سهراب رضوانی گیل کلائی[۲]، مهدی سلطانی[۳]، فرامرز لالویی[۴]، محمد جواد تقوی[۴]

۱- گروه شیلات، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران، صندوق پستی: ۷۷۵-۱۴۵۱۵

۲- مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران، صندوق پستی: ۶۱۱۶-۱۴۱۵۵

۳- گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران، صندوق پستی: ۶۴۵۳-۱۴۱۵۵

۴- موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، فرح آباد، ساری، ایران، صندوق پستی: ۹۶۱

تاریخ دریافت: ۲۹ مهر ۱۳۹۴ تاریخ پذیرش: ۱۸ بهمن ۱۳۹۴

چکیده

تنوع ژنتیکی ماهیان کفال طلایی (*Liza aurata*) موجود در سواحل جنوبی دریای خزر با استفاده از روش تعیین توالی ژن D-Loop در سواحل استان‌های گیلان (انزلی) و مازندران (ساری) بررسی گردید. DNA نمونه‌ها با استفاده از روش استات آمونیوم استخراج و کمیت و کیفیت آنها با استفاده از روش اسپکتروفتومتری و الکتروفورز ارزیابی گردید. نمونه‌های DNA تأیید شده، PCR و سپس توالی‌یابی شدند. توالی ناحیه‌ی D-Loop در DNA میتوکندریایی کفال طلایی پس از ویرایش شامل ۹۰۰ جفت باز (bp) بود. درجه‌ی خویشاوندی با تست Tajima با استفاده از نرم افزار MEGA بین کفال ماهیان طلایی محاسبه گردید. نتایج این بررسی اختلاف ژنتیکی بالا در مناطق نمونه‌برداری را نشان می دهد. فاصله‌ی ژنتیکی مشاهده شده بین مناطق نمونه‌برداری ۰/۴۳۵ بود. همچنین میزان بالایی از Fst (۰/۶۱۵) بین دو منطقه نمونه برداری مشاهده شد که این امر بیان‌کننده ی تمایز بین جمعیت‌های موجود می باشد. طبق نتایج حاصل از این بررسی در سواحل جنوبی دریای خزر، در دو منطقه نمونه‌برداری موجود در محدوده‌ی استان‌های گیلان و مازندران دو جمعیت متفاوت از ماهی کفال طلایی مشاهده شد.

کلمات کلیدی: دریای خزر، کفال طلایی،گیلان، مازندران، تنوع ژنتیکی، mtDNA

* عهده‌دار مکاتبات (✉)، zohreh.saeidiii@gmail.com

مقدمه

کفال ماهیان در ایران برای اولین بار در سال ۱۳۱۲ گزارش شدند (Shukolyukov, 1937)، ولی صید تجاری آن‌ها از سال ۱۳۲۱ هجری شمسی (۱۹۴۲ میلادی) آغاز گردید. کفال ماهیان بومی دریای خزر نبوده و طی سال‌های ۱۹۳۰ تا ۱۹۳۴ میلادی (۱۳۰۹ تا ۱۳۱۳ هجری شمسی) حدود سه میلیون عدد بچه ماهی کفال طلایی *Liza aurata*، کفال پوزه باریک *Liza saliens* و کفال مخطط *Mugil cephalus* از دریای سیاه به دریای خزر آورده شدند که در این میان سازگاری دو گونه کفال طلایی و کفال پوزه باریک با شرایط اکولوژیکی دریای خزر موفقیت آمیز بود و از پراکنش بسیار خوبی برخوردار گردیدند (اصلان پرویز، ۱۳۷۰: شریعتی، ۱۳۸۵و Oren, 1981). امروزه مدیریت بهینه ذخایر آبزیان به اطلاعاتی درمورد ساختار جمعیتی گونه‌ها نیاز دارد که علم ژنتیک آنرا در اختیار محققین قرار داده است. در صورتیکه مدیریت ذخایر بر پایه اطلاعات دقیق از قبیل مطالعات مولکولی باشد می‌تواند علاوه بر حفظ تنوع زیستی، میزان برداشت و بهره‌برداری را به حد معقول و حداکثر برساند (Murgia, *et al.*, 2002). میزان و الگوی پلی مورفیسم در توالی DNA حاوی اطلاعاتی مفید برای پی بردن به پیشینه‌ی جمعیت و همچنین مکانیسم مسئول در ایجاد و ابقا پلی‌مورفیسم می‌باشد (Li, 1997; Xian Liu, *et al.*, 2006). امروزه با کشف توالی‌های موجود در میتوکندری، امکان بررسی ژن‌های کنترل‌کننده موجود در این اندامک به عنوان یکی از دیدگاه‌های جدید و مهم مطالعات ژنتیکی در آمده است. وراثت مادری، عدم نوترکیبی و سرعت بالای جایگزینی نوکلئوتیدها، mtDNA را به یک نشانگر ایده‌آل در مطالعات سیستماتیک، فیلوژنی و جمعیت تبدیل کرده است. درحقیقت تغییرپذیری mtDNA ده‌برابر سریعتر از DNA هسته‌ای است و D-Loop تغییرپذیرترین منطقه از mtDNA می‌باشد. در نتیجه، بررسی هاپلوتایپ‌های منطقه D-Loop می‌تواند ابزاری مفید برای نشان دادن تنوع ژنتیکی باشد که این شاخص برای حفاظت از گونه‌ها بسیار مهم و تعیین کننده است (Cecconi *et al*,1995).

Papasotirpoulos و همکاران در سال ۲۰۰۷ با استفاده از آنالیز توالی ناحیه mtDNA پنج جنس از خانواده Mugilidae شامل *L. sallies, L. aurata, Chelon labrosus , L. ramada , Mugil cephalus* موجود در دریاچه Messolongi یونان به بررسی روابط خویشاوندی این خانواده پرداختند. آنالیز توالی‌ها نشان داد که بیشترین تفاوت ژنتیکی در بین *M.cephalus* با دیگر جنس‌های مورد مطالعه وجود داشته در حالی‌که *C.labrosus* و *L.aurata* نزدیک‌ترین به‌هم بودند.

Erguden و همکاران در سال ۲۰۱۰ با استفاده از آنالیز توالی ژن 16S rDNA از ناحیه ژنوم میتوکندری به بررسی روابط تاکسونومی بین جنس‌های *Mugil cephaus, Chelon labrosus, Oedalachelis labeo, L.abu, L.aurata L.saliens, L.ramada* از دریای مدیترانه و *Mugil soiuy* از دریای سیاه پرداختند. آنالیز توالی‌ها نشان دادکه *M.cephalus* به طور حتم از دیگرجنس‌ها جدا می‌باشد. در مقایسه درون گونه‌ای اختلافی در جنس *Liza* مشاهده نشد علاوه بر این پیشنهاد شد که دو جنس *M.soiuy* و *L.abu* تحت جنس *Liza* مورد توجه قرار گیرند یا اینکه جنس با اسم جدید برای این دو گونه در نظر گرفته شود.

قانع و همکاران در سال ۱۳۹۰ تنوع ژنتیکی ماهی کفال پوزه باریک را در سواحل جنوبی دریای خزر با

استفاده از روش توالی‌یابی mtDNA بررسی نمودند. طبق نتایج به‌دست آمده جمعیت یکسانی از ماهی کفال پوزه باریک در مناطق مورد بررسی مشاهده شد.

نادری و همکاران در سال ۱۳۹۰ تنوع ژنتیکی ماهی کفال پوزه باریک را در حوضه‌ی جنوبی دریای خزر با استفاده از جایگاه‌های ریز ماهواره بررسی نمودند. طبق نتایج به‌دست آمده بیش از یک جمعیت در مناطق مورد بررسی مشاهده شد.

با وجود اهمیت کفال طلایی به عنوان یکی از گونه‌های ارزشمند اقتصادی، اطلاعات کافی درباره ساختار جمعیتی آن در دریای خزر وجود ندارد. از مطالعات انجام شده می‌توان به تحقیق قدسی و همکاران در سال ۱۳۹۰ که تنوع ژنتیکی *Liza aurata* را در سواحل استان گلستان با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره مورد بررسی قرار دادند اشاره نمود. در این مطالعه تمایز بارز ژنتیکی در میان مناطق از طریق Rst,Fst و آنالیز واریانس مولکولی مشاهده نشد. همچنین نعمت زاده و همکاران در سال ۱۳۹۰، ۶ گونه از کفال ماهیان ایران را با استفاده از روش PCR-sequencing مورد مطالعه قراردادند که گونه *L. aurata* با گونه *L. subviridis* به روش آنالیز maximum parimony در یک شاخه قرار گرفتند اما به روش Neighbor joining این گونه با *L. saliens* در یک شاخه قرار گرفتند. چنین اطلاعاتی به علت تغییرات اکولوژیکی که در حال حاضر در دریاها در حال وقوع می باشند بسیار حائز اهمیت هستند. در این مطالعه به منظور بررسی تاریخچه‌ی تکاملی این گونه و نیز امکان استفاده از روش توالی‌یابی ژن D-Loop به منظور آشکار ساختن تمایز بین جمعیت‌ها، کفال ماهیان طلایی از دو منطقه در سواحل استان‌های گیلان و مازندران در حوضه‌ی جنوبی دریای خزر جمع‌آوری شدند.

مواد و روش‌ها

نمونه‌گیری

نمونه‌گیری از ۲۴ عدد ماهی کفال طلایی در زمستان ۱۳۹۰ از استان‌های گیلان (انزلی، طول جغرافیایی: ″31 ′21 °49، عرض جغرافیایی: ″00 ′29 °37) و مازندران (ساری، طول جغرافیایی: ″40 ′52 °52، عرض جغرافیایی: ″42 ′53 °36) و از تورهای صید پره انجام شد. باله‌های هر یک از ماهیان جدا شد و در میکروتیوب های ۱/۵ میلی لیتری حاوی الکل اتانول ۹۶ درصد تثبیت و به آزمایشگاه ژنتیک مولکولی پژوهشکده اکولوژی دریای خزر منتقل گردید و در فریزر ۲۰- درجه سانتی گراد برای نگهداری طولانی مدت قرار داده شد (شکل ۱).

استخراج DNA

استخراج DNA ژنومی از ۵۰ میلی‌گرم از هر نمونه باله ماهی فیکس شده به روش استات آمونیوم (McQuown *et al*., 2000) انجام پذیرفت. به‌منظور ارزیابی کمیت و کیفیت DNA استخراج شده از روش‌های اسپکتروفتومتری (biophotometer, شرکت Eppendorf) و الکتروفورز ژل آگارز ۱٪ استفاده گردید و نمونه‌های عاری از آلودگی پروتئینی و RNA جهت بکارگیری در آزمایشات PCR انتخاب گردیدند.

شکل ۱: مناطق نمونه برداری کفال طلایی در دریای خزر

واکنش زنجیره ای پلیمراز

در این تحقیق پرایمرهای D--TGGCATTTGGTTCCTACTTCAGG Loop F1 Forward و - TGCGGAGACTTGCATGTGTAAGT 12S1-H Reverse Primer (Atabeyoglu. 2007) جهت تکثیر ژن d-loop مورد استفاده قرار گرفتند. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در حجم ۵۰µl با استفاده از PCR Buffer=1x، $Mgcl_2$=1/8 mM، dntp=0/1mM، Primer F = 1/5 Pmol، Primer R=1/5 Pmol، Taq DNA Polymeras=unit 1، DNA Template =100- 200 ng و نیز آب مقطر دیونیزه برای رساندن به حجم مورد نظر انجام گرفت. شرایط چرخه دمایی و مشخصات داده شده به دستگاه ترموسایکلر (مدل Auto - Q شرکت Quanta biotech انگلستان) برای واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز به ترتیب مرحله جداسازی ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، مرحله اتصال پرایمرها به هدف در دمای ۴۹ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، مرحله بسط پرایمر در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه و در ۳۰ چرخه بهینه سازی گردید. کیفیت محصول PCR از طریق الکتروفورز ژل آگارز ۱/۵ درصد تعیین و برای محاسبه طول قطعات از نشانگر 50bp DNA (Fermentas) استفاده گردید.

توالی یابی محصول PCR

بررسی توالی DNA با استفاده از روش خاتمه‌ی دی‌داکسی (ddNTP) انجام پذیرفت (Pherson *et al.*,2000) سپس DNA های خالص مربوط به هر نمونه به همراه پرایمر برای تعیین توالی به شرکت BIONEER کشور کره‌جنوبی ارسال گردیدند.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

داده‌ها با استفاده از نرم افزارهای BioEdit version 7.1.3.0، DnaSP version 5.10.01، MEGA version 5.05، Arlequin version 3.1 (Excoffier, *et al.*, 2005) و GENEPOP (Raymond and

Rousset, 1995) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. توالی‌ها توسط برنامه‌ی Clustal X Thomson, *et al*., (1997) در نرم افزار BioEdit ردیف گردیدند. تنوع نوکلئوتیدی (P) و تنوع هاپلوتایپی (h) (Nei, 1987) برای هر جمعیت و شاخص ثابت Fst Hudson, *et al.*, (1992) برای به‌دست آوردن تمایز ژنتیکی با استفاده از نرم‌افزار DnaSP (Rozas, *et al.*, 2003) محاسبه گردید. میانگین اختلاف جفت نوکلئوتیدی (Tamura, *et al.*, 2007) داخل نمونه‌ها و بین نمونه‌های مناطق و رسم درخت نزدیکترین همسایه (Neighbor Joining) با استفاده از نرم‌افزار MEGA انجام پذیرفت. جریان‌ژنی(N_m) با استفاده از معادله Nm = [(1/Fst)-1]/2 (Weir and Cockerham, 1984) محاسبه گردید.

نتایج

در نتیجه تعیین توالی ژن D-LOOP ماهی کفال طلایی، طول قطعات در نمونه‌ها حدود ۹۰۰ جفت باز ارزیابی شد که در آنالیز داده‌ها مورد بررسی قرار گرفتند. از هر منطقه نمونه‌برداری یک توالی طبق کدهای KF 418242، KJ 769204 در Gene Bank ثبت گردید. جهت مقایسه توالی‌های گونه مورد مطالعه و مشخص نمودن نوکلئوتیدهای حفاظت شده و جهش یافته، با استفاده از نرم‌افزار MEGA تک تک نوکلئوتیدها با یکدیگر مقایسه گردیدند که این بررسی‌ها نشان دادند از تعداد ۹۲۳ ناحیه مورد مطالعه، تعداد ۴۸۹ ناحیه حفاظت شده و ۴۲۰ ناحیه متغیر و جهش یافته در توالی ژن نمونه‌های مورد مطالعه وجود دارد. تنوع هاپلوتایپی(h) ژن D-LOOP نمونه‌های ماهی کفال طلایی در منطقه مازندران(۱/۰۰۰) بیش از منطقه گیلان بود، درصورتیکه تنوع نوکلئوتیدی (p) بیشتر در استان گیلان (۰/۰۷۹) مشاهده شد(جدول۱). نتایج به‌دست آمده از داده‌ها تنوع نوکلئوتیدی(Nei and Kumar, 2000) را بین نمونه‌ها نشان داد. در بررسی میزان هتروزیگوسیتی، همواره هتروزیگوسیتی مشاهده شده بیش از هتروزیگوسیتی قابل انتظار بوده (جدول۱) و همچنین اختلاف معنی‌داری بین هتروزیگوسیتی مشاهده شده و قابل انتظار وجود داشت ($P\leq$۰/۰۵). انحراف از تعادل هاردی–واینبرگ بین دو منطقه‌ی مورد بررسی به طور معنی‌داری ($P\leq$۰/۰۵) مشاهده گردید (جدول۱).

جدول۱: تنوع هاپلوتایپی(h)، تنوع نوکلئوتیدی(P)، هتروزیگوسیتی مشاهده شده(H_o)، قابل انتظار(H_e) و تعادل هاردی واینبرگ (HWE) در نمونه‌های کفال طلایی دریای خزر

منطقه	N	h	P	H_o	H_e	HWE	Tajima´D
مازندران	۱۰	۱/۰۰۰	۰/۰۲۵	۰/۲۹۷	۰/۲۸۵	۰/۰۱۹	-۰/۸۵۲
گیلان	۱۴	۰/۹۲۷	۰/۰۷۹	۰/۳۵۴	۰/۳۴۶	۰/۰۲۱	-۱/۳۶۵

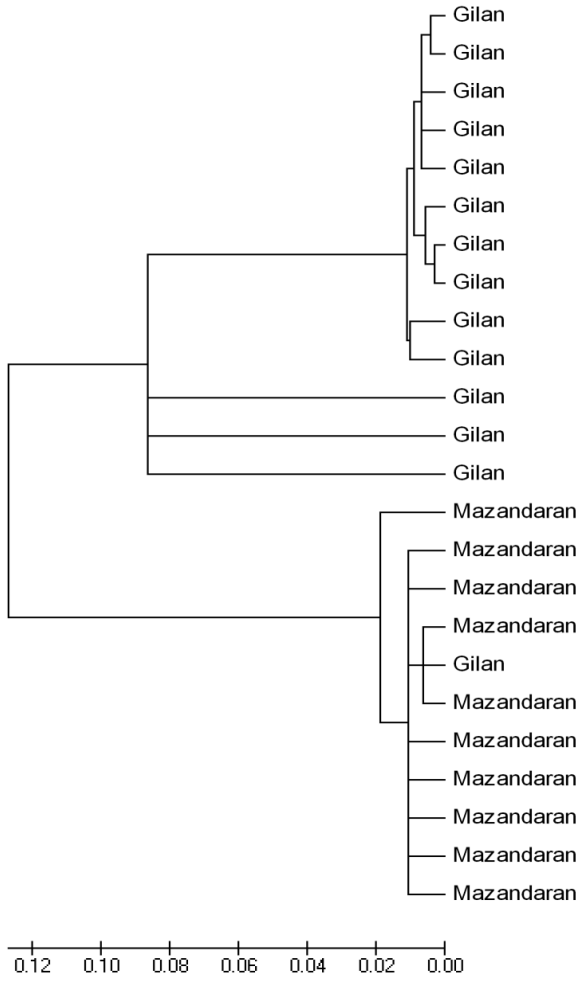
میزان تنوع ژنتیکی مشاهده شده بر اساس مدل Nie,1987 در نمونه‌های استان گیلان (۰/۹۲۰±۰/۰۵۱) بیش از نمونه‌های استان مازندران (۱/۰۰۰±۰/۰۳۲) بود.

براساس نتایج آنالیز AMOVA بیشترین تنوع ژنتیکی در داخل جمعیت‌ها (۰/۷۴) و کمترین تنوع ژنتیکی بین جمعیت‌های داخل هر ناحیه (۰/۰۸) مشاهده گردید (جدول۲).

جدول۲: آزمون واریانس یکطرفه بین مناطق نمونه‌برداری کفال طلایی در دریای خزر

جمعیت	مجموع مربعات	انحراف معیار	%	احتمالات
بین نواحی	۱۹/۲۷	۰/۰۲۱	۰/۱۸	۰/۰۳۸
بین جمعیت‌های هر ناحیه	۱۰/۳۵	۰/۰۸۷	۰/۰۸	۰/۰۲۴
داخل جمعیت	۹۲/۴۵	۰/۱۱۲	۰/۷۴	۰/۰۳۲

میزان جریان ژنی بر اساس مدل Nei (۱۹۸۷) ۰/۱۱۰ بود. میزان جریان ژنی محاسبه شده در دو منطقه نمونه‌برداری واقع در سواحل استان‌های گیلان و مازندران حاکی از وجود جریان ژنی (N_m) نسبتاً پایین در بین این دو منطقه بود و روشن نمود که بین این مناطق جدایی تولیدمثلی وجود دارد.



شکل۲: دندروگرام Neighbor-Joining کفال ماهیان طلایی در استان‌های گیلان و مازندران

شاخص تمایز Fst بین دو منطقه نمونه‌برداری بالا (۰/۶۱۵) بود که این امر بیان کننده‌ی تمایز بین جمعیت‌های موجود در آب‌های گیلان و مازندران می‌باشد.

درجه‌ی خویشاوندی با تست Tajima (۱۹۹۳) با استفاده از نرم‌افزار MEGA بین کفال ماهیان طلایی حاکی از اختلاف معنی‌دار (P≤۰/۰۵) درمیان نمونه‌های مناطق گیلان و مازندران می‌باشد (جدول۲). با توجه به دندروگرام (N.J)، نمونه‌های گیلان در شاخه‌ای جدا از شاخه‌ی اصلی قرار گرفته‌اند که این امر نشان دهنده‌ی وجود دو جمعیت متفاوت از کفال طلایی در سواحل جنوبی دریای خزر می‌باشد (شکل ۲).

بحث

شناسایی ساختار جمعیت و تحولات درون گونه‌ای یکی از نیازهای اساسی در اعمال مدیریت صحیح بهره‌برداری می‌باشد. mtDNA می‌تواند در شناسایی ذخایر ماهیان و تعیین سهم ذخایر مذکور در صید ذخایر ترکیبی مفید واقع شده و اطلاعات مفیدی را برای مطالعه‌ی وجود اختلاف ژنتیکی ماهیان در اختیار قرار دهد (Murgia, *et al.,* 2002). با توجه به اینکه تنوع ژنتیکی به عنوان یکی از سه عامل ضروری حفاظت از گونه‌ها بیان شده است (Miller, 1997)، بنابراین بررسی ساختار ژنتیکی جمعیت ماهی کفال طلایی به عنوان یک گونه‌ی مهم اقتصادی و با ارزش که تغییرات نزولی جمعیت آن در طی سالیان اخیر بطور قابل توجهی مشهود است (از ۶۵۹۹/۴ تن در سال ۸۲-۱۳۸۱ به ۳۸۶۵/۵ تن در سال ۹۱-۱۳۹۰) ضروری می‌باشد (دریانبرد،۱۳۹۱). در این مطالعه تمامی نمونه‌های *Liza aurata* مربوط به دو منطقه‌ی نمونه‌برداری واقع در سواحل استان‌های گیلان و مازندران، سطوح نسبتاً بالایی از تنوع هاپلوتایپی و نوکلئوتیدی را برای این مارکر مولکولی نشان دادند. تنوع هاپلوتایپی مشاهده شده در استان مازندران (۱/۰۰۰) بیش از استان گیلان و تنوع نوکلئوتیدی به‌دست آمده مربوط به استان گیلان (۰/۰۷۹) بیش از استان مازندران بود. تعداد کل هاپلوتایپ به‌دست آمده ۲۳ عدد بود، همچنین تعداد ۴۲۰ مکان متغیر به‌دست آمد که بیانگر تنوع جمعیتی نسبتاً بالا در داخل و بین جمعیت‌ها می‌باشد و این نتیجه با گزارشات Erguden و همکاران (۲۰۱۰) در جنس‌های کفال ماهیان دریای مدیترانه و Caldara و همکاران (۲۰۰۲) ، Rossi و همکاران (۱۹۹۸) ، Rossi و همکاران (۲۰۰۴)، Papasotirpoulos و همکاران (۲۰۰۷) در جنس‌های مشابه مطابقت داشت. در مطالعه‌ی انجام شده توسط Gold and Richardson (1991) که ساختار جمعیت Red drum را با استفاده از mtDNA مورد بررسی قرار دادند تعداد زیادی هاپلوتایپ mtDNA و سطوح بالایی از تنوع نوکلئوتیدی مشاهده شد. همچنین در مطالعه‌ی انجام شده توسط نادری و همکاران (۱۳۹۰) که ساختار ژنتیکی جمعیت کفال پوزه باریک را در حوضه‌ی جنوبی دریای خزر به روش مایکروستلایت بررسی نمودند، میزان بالائی از تنوع هاپلوتایپی و بیش از یک جمعیت در مناطق مورد بررسی مشاهده شد. بطور کلی ماهیان دریایی تنوع ژنتیکی بیشتری نسبت به ماهیان آب شیرین نشان می‌دهند که دلیل آن به اندازه بزرگ جمعیت موثر نسبت داده می‌شود (Rossi, *et al.,* 2004). در این بررسی مقدار Fst به‌دست آمده بین استان‌های گیلان و مازندران (۰/۶۱۵, p = ۰/۰۰۱) محاسبه گردید، بنابراین

تمایز ژنتیکی نسبتاً بالایی در جمعیت ماهی کفال طلایی وجود داشته که منجر به ایجاد دو جمعیت متفاوت از این گونه در سواحل جنوبی دریای خزر شده است. در تحقیق انجام شده توسط Gold and Richadson (1991) میزان Fst به‌دست آمده برای ۴ هاپلوتایپ mtDNA، مقادیری بین ۰/۰۱۹ تا ۰/۱۳۷ را شامل شد. در تحقیق انجام شده توسط نادری و همکاران (۱۳۹۰) میزان Fst کفال پوزه باریک، محدوده‌ی ۰/۰۱۷ در گمیشان و میانکاله تا ۰/۱۲۰ در بهشهر و بابلسر را در بر می‌گرفت که با نتایج حاصل از تحقیق حاضر مطابقت دارد. در مطالعه‌ی انجام شده توسط قدسی و همکاران (۱۳۹۰) میزان Fst در نمونه‌های کفال طلایی در سواحل استان گلستان ۰/۰۱۶ محاسبه شد که نتایج به‌دست آمده با تحقیق حاضر متفاوت می‌باشد. فاصله ژنتیکی (D) محاسبه شده بر اساس مدل Nei (۱۹۸۷) بین استان‌های گیلان و مازندران در این بررسی (۰/۴۳۵) بوده که بیانگر اختلاف بالا در بین این دو جمعیت می‌باشد. میزان جریان ژنی (N_m) بر اساس مدل Nei (۱۹۸۷) ۰/۱۱۰ محاسبه شد. براساس گزارش Li (۲۰۰۷) هرگاه جریان ژنی بیشتر از یک باشد عامل اصلی در ایجاد تمایز ژنتیکی جریان ژنی می‌باشد. در این بررسی میزان جریان ژنی در بین مناطق کوچکتر از یک بود که این امر نشان دهنده‌ی مهاجرت کم بین مناطق و در نتیجه جدایی تولید مثلی می‌باشد و خود عاملیست در ایجاد جمعیتی متفاوت. اصولاً اختلاف ژنتیکی بین جمعیت‌ها در نتیجه مجتمع شدن افراد در یک منطقه خاص بوجود می‌آید و جمعیت‌های یک گونه بواسطه آمیزش درونی با یکدیگر یک مخزن ژنی منحصر به همان جمعیت را ایجاد می‌کنند و خصوصیات تولید مثلی یک گونه عامل اصلی در تمایز آن جمعیت می باشد (Turan, *et al.*, 2005). در تحقیق انجام شده توسط قانع و همکاران (۱۳۹۰) سطوح بالایی از جریان ژنی (۵/۰۵) در میان نمونه‌های کفال پوزه باریک مشاهده شد. همچنین میزان جریان ژنی مشاهده شده توسط قدسی و همکاران (۱۳۹۰) در نمونه‌های کفال طلایی محدوده‌ی ۵/۱۳۵ تا ۳۹/۲۶۴ را در برگرفت. هرچه میزان جریان ژنی بین مناطق بیشتر باشد اختلاف ژنتیکی کمتر است (Nei, 1972) که با توجه به یافته‌های قانع (۱۳۹۰) و قدسی (۱۳۹۰) مبنی بر وجود جریان ژنی بالا در مناطق مورد بررسی، اختلاف ژنتیکی کم و در نتیجه عدم تفکیک جمعیت‌ها از هم می‌تواند قابل اثبات باشد.

میزان تنوع ژنتیکی مشاهده شده در این مطالعه برای نمونه‌های کفال طلایی در استان گیلان ۰/۰۵۱±۰/۹۲۰ و در استان مازندران ۰/۰۳۲±۱/۰۰۰ بوده که این میزان با گونه‌های *Sciaenops ocellatus* (Gold and Richardson ,1991) *Clupea harengus* و *Brevoorita tyrannus* (Kornfield and Boydanowicz,1987; Avise *et al*,1989) که گونه‌هایی دریایی می‌باشند مطابقت دارد اما با گونه‌های *Anguilla rostrata*، *Arius felis* و *Cynoscion nebulosus* (Avise *et al*,1989) با ویژگی‌های زندگی مشابه مغایر می‌باشد. شناخت فاکتورهای قابل قبول برای یافتن علت تنوع ژنتیکی آسان نمی‌باشد، به عنوان مثال در مطالعات انجام شده بر روی *Pagrus auratus* (Hauser *et al.*,2002)، *Gadus morhua* (Hutchinson *et al.*, 2003) و *sebastes crameri* (Gomez-Uchida and Banks, 2006) صید بی‌رویه عامل کاهش تنوع ژنتیکی شناخته شده در حالی‌که در بررسی انجام شده بر روی گونه‌هایی نظیر *colossoma*

Lutjanus campechanus، *macropomum* و *Sciaenops ocellatus* علیرغم کاهش چشمگیر در ذخایر، کاهش تنوع در mtDNA مشاهده نگردید در واقع افزایش فعالیت‌های انسانی باعث افزایش تنوع ژنتیکی در منطقه و وارد نمودن فشار زیاد بر ذخایر منطقه گشت (Cheng *et al.*, 2008). با این حال باید تمامی عوامل تأثیرگذار بر اندازه جمعیت شناسایی شوند تا بدین طریق بتوان در راستای نیل به ایجاد جمعیت‌هایی پایدار در منابع زیستی و در نهایت دستیابی به توسعه‌ی پایدار گام برداشت. طبق نتایج حاصل از این بررسی در جنوب دریای خزر، در محدوده‌ی استان‌های گیلان و مازندران دو جمعیت متفاوت از ماهی کفال طلایی وجود دارد که جمعیت موجود در محدوده‌ی آب‌های استان گیلان، ساختار خود را در مقایسه با جمعیت دیگر حفظ کرده است. با توجه به تعریف جمعیت که متشکل از افرادی است درون آمیزش که از نظر تولید مثلی از گروه‌های دیگر همان گونه جدا هستند و اگر چه این گروه‌های تولید مثلی از هم جدا می‌باشند اما به علت نبود جداسازی کامل یعنی وجود جریان ژنی به عنوان گونه قلمداد نمی‌گردند (ریحانی،۱۳۸۷)، این موضوع می‌تواند قابل اثبات باشد. شرایط اکولوژیک استان گیلان از نظر دما، شوری و اکسیژن محلول ازجمله عواملی هستند که در مقایسه با آب‌های استان مازندران متفاوت می‌باشند (لالوئی و همکاران، ۱۳۸۸). طبق گزارش پورغلام و همکاران (۱۳۷۵) میانگین درجه حرارت هوا و آب در سواحل جنوبی دریای خزر از غرب به شرق به طور میانگین ۳-۲ درجه افزایش می‌یابد. لذا برودت بیش از حد دمایی منجر به تشکیل گله‌هایی در نواحی غربی دریای خزر گردیده و مانع از مهاجرت معمول سالانه به طرف مناطق شرقی می‌گردد که این موضوع توسط بلیایوا و همکاران (۱۹۸۹) نیز بررسی گردید و تأثیر تغییرات درجه حرارت آب در تراکم و تمرکز گله‌های کفال مشاهده شد (غنی‌نژاد و همکاران، ۱۳۸۸). تغییر دمای متوسط آب به میزان ۳-۲ درجه سانتی‌گراد منجر به تغییرات شدید در تراکم و ترکیب گونه‌ای ماهیان می‌شود (غنی‌نژاد و همکاران، ۱۳۸۸ ;Radovich, 1961). این عوامل به‌خصوص در فصل تخم‌ریزی ماهی کفال طلایی که از اوایل شهریور آغاز و اوج آن دهه‌ی اول مهرماه می‌باشد (Berg,1965) می‌توانند موجب ایجاد سد بیولوژیک گردند. به‌طوریکه ملاحظه می‌شود اوج تخمریزی این‌گونه در استان گیلان در مهر ماه و در استان‌های مازندران و گلستان در آبان ماه انجام می‌گیرد (غنی‌نژاد و همکاران، ۱۳۸۸). به‌عبارت دیگر در مواردی موانع تولید مثلی پنهانی وجود دارد که از تبادلات اطلاعات ژنتیکی بین جمعیت‌ها جلوگیری می‌کند، بدین ترتیب ساختار جمعیتی این گونه می‌تواند متشکل از جمعیت‌هایی باشد که در کنار هم زندگی می‌کنند. ولی از نظر تولید مثلی مجزا هستند که باید تمامی عوامل تأثیرگذار در این زمینه به طور خاص بررسی و میزان تأثیر آنها تعیین شود.

به عنوان نتیجه‌ی کلی این گونه از کفال برخلاف گونه‌ی پوزه باریک با توجه به شرایط اکولوژیک دو منطقه‌ی گیلان و مازندران و رفتار تولیدمثلی خود از دو جمعیت متفاوت تشکیل شده است، که باید نظام بهره‌برداری متفاوت روی آن اعمال شود. به‌عبارت دیگر این گونه بیشتر تحت تأثیر شرایط محیط زیست خزر قرار گرفته است.

سپاسگزاری

در اینجا بر خود لازم می‌دانیم از زحمات کلیه کسانی که مارا در انجام این تحقیق یاری نمودند سپاسگزاری نماییم.

منابع

۱. اصلان پرویز، ح.، ۱۳۷۰. کفال ماهیان دریای خزر.ماهنامه آبزیان، ۱۴ صفحه.

۲. بلیایوا،و. ن. آ.، ولاسنکو، و. و.، ایوانف،و. پ.،۱۹۸۹. دریای خزر فون ماهیان و منابع اقتصادی آن‌ها. آکادمی علوم اتحادیه شوروی، مسکو. ۲۳۶ص. (به‌زبان روسی).

۳. پورغلام، ر.، یرملچف، و، ا.، بشارت،ک.، فضلی، ح.، ۱۳۷۵. ارزیابی ذخایر کیلکا ماهیان به‌روش هیدروآکوستیک. مرکز تحقیقات شیلاتی استان مازندران. ساری. ۱۲۱ صفحه.

۴. دریانبرد، غ.، ۱۳۹۱. بررسی برخی از شاخص‌های بیولوژیکی ماهیان استخوانی در سواحل جنوبی دریای خزر. مؤسسه تحقیقات شیلات ایران، ۱۳۰ صفحه.

۵. ریحانی، س.، ۱۳۸۷. بررسی جمعیت ماهی کلمه (*Rutilus rutilus* caspius) حوضه جنوبی دریای خزر به‌روش ریز ماهواره ای. پایان نامه کارشناسی ارشد بیولوژی ماهیان دریا، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، ۹۸ صفحه.

۶. شریعتی، ا.، ۱۳۸۵. بیولوژی ماهیان تجاری، شرکت سهامی شیلات ایران.۷۲ صفحه.

۷. غنی نژاد، د.، ۱۳۸۸. بررسی برخی ویژگی‌های زیستی کفال طلایی در سواحل ایرانی دریای خزر. مؤسسه تحقیقات شیلات ایران، ۵۰ صفحه.

۸. قانع، ر.، ۱۳۹۰. مطالعه‌ی تنوع ژنتیکی کفال پوزه باریک *(Liza saliens)* در سواحل جنوبی دریای خزر با استفاده از روش توالی‌یابی mtDNA. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات.

۹. قدسی، ز.، شعبانی، ع.، شعبانپور، ب.، ۱۳۹۰. بررسی تنوع ژنتیکی ماهی کفال طلایی(Risso,1810) *Liza aurata* در سواحل استان گلستان با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره. تاکسونومی و بیوسیستماتیک، سال سوم، شماره ششم، بهار ۱۳۹۰، ۳۵-۴۶ .

۱۰. لالوئی، ف.، روحی، ا.، واحدی، ف.، نصراله زاده، ح.، صفری، ر.، یعقوب زاده، ز.، ۱۳۸۸. بررسی هیدرولوژی و هیدروبیولوژی و آلودگی‌های زیست محیطی حوضه‌ی جنوبی دریای خزر (اعماق ۱۰ متر إلی ۱۰۰ متر). مؤسسه تحقیقات شیلات ایران، ۱۲۲ صفحه.

۱۱. نادری، ل.، شعبانی، ع.، شعبانپور، ب.، رضائی، ح.ر.، ۱۳۹۰. بررسی تنوع ژنتیکی ماهی کفال پوزه باریک در *lizasaliens* (Risso, 1810) حوضه‌ی جنوبی دریای خزر با استفاده از جایگاه‌های ریزماهواره. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.

۱۲. نعمت زاده، م.، رضوانی گیل کلایی، س.، خالصی، م.ک.، لالویی، ف.، ۱۳۹۰. بررسی تنوع ژنتیکی ۶ گونه از کفال ماهیان آب‌های ایران به‌روش PCR-sequencing با استفاده از ژنوم mtDNA..کتاب اولین کنفرانس ملی آبزی‌پروری ایران، ۱۵۸ صفحه.

13. Atabeyoglu, K., 2007. Determination of genetic differences between mtDNA D-Loop F1 and 12S1-H region of native salmons (*Salmo trutta*) cought in the Rivers of Aras, Karasu and Coruh in our district using PCR-RFLP and microsatellite methods. MS thesis, Department of Fisheries, institution of Natural and Applied Sciences, Ataturk University, 62p.

14. Avise, J.C., 1989. A role for molecular geneticists in the recognition and conservation of endangered species.

Trends in Ecology & Evolution. 4, 279–281.
15. Berg, L.S., 1965. Fresh water fishes of the USSR and adjacent countries. Vol.3. Academy of sciences of the USSR zoological Institute, 510p.
16. 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.
17. Cecconi, F., Giorgi, M., Mariottini, P., 1995. Unique features in the mitochondrial D-loop region of the European seabass *Dicentrarchus labrax*. Gene, 160(2):149-155.
18. Cheng, Q., Ma, C., Cheng, H., Zhang, Q., 2008. Mitochondrial DNA diversity of *Coilia mysyus* (Clupeiformes: Engraulidae) in three Chinese estuaries. Environmental Biology of Fishes, 83:277-282.
19. Erguden, D., Gurlek, M., Yaglioglu, D., 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, 2010.
20. Excoffier, L., Guillaume, L., Schneider, S., 2005. Arlequin(version 3.0):an integrated software package for population genetics data analysis. Evolutionary Bioinformatics, 1, 47-50.
21. Gold, J. R. and Richardson, L. R., 1991. Genetic studies in marine fishes.an analysis of population structure in the red drum (*Sciaenops ocellatus*) using mitochondrial DNA. Fisheries Research, 12:213-241.
22. Gomez-uchida, D., Banks, M., 2006. Estimation of effective population size for the long-lived Dark blotched Rock fish *Seabastes crameri*. Jornal of Heredity, 97:603-606.
23. Hauser, L., Adcock, G.,Smith, P., Bernal Ramirez, J., Carvalho, G., 2002. Loss of microsatellite diversity and low effective population size in an overexploited population of New Zealand snapper (*Pagrus auratus*). Proceedings of the National Academy of Sciences, 99(18):11742-11747.
24. Hudson, R.R., Slatkin, M., Maddison, W.P, 1992. Estimation of levels of gene flow from DNA sequence data. Genetics 132, 583–589.
25. Hutchinson, W., Oosterhout, C., Rogers, S., 2003. Temporal analysis of archived samples indicates marked genetic changes in declining North Sea cod (*Gadus morhua*). Royal Society. 270:2125-2132.
26. Kornfield, I., Boydanowicz, S.M., 1987. Differentiation of mithochondrial DNA in Atlantic herring, Clupea harengus. Fishery Bulletin, 85:561-568.
27. Li, W.H., 1997. Molecular Evolution. Sinauer Associates, inc., Publisher, Sunderland, Massachusetts, USA.
28. Liu, J.X., Gao, T.X., Yokogawa, K., Zhang, Y.P., 2006. Differentialpopulation structuring and demographic history of two closely related fish species, Japanese sea bass (*Lateolabrax japonicas*) and spotted sea bass (*Lateolabrax maculatus*) in Northwestern Pacific. Molecular phylogenetics and Evolution, 39:799-811.
29. Li. D., Kang, D., Yin, Q., Sun. Z., Liang, L., 2007. Microsatellite DNA marker analysis of Genetic Diversity wild common corp (*Cyprinus carpio l.*) *population*. Genetic and Genomic, 34:984-993.
30. McQuown, E. C., Sloss, B. L., Sheehan, R. J., Rodzen, J., Tranah, G. and May, B. 2000.Microsatellite and analysis of genetic variation in sturgeon :new sturgeon primer sequences for *Scaphirhynchus* and *Acipenser*. Tran's actions of the American fisheries society.139, 1380-1388.
31. 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. Computer software distributed by author.
32. Murgia, R., Tola, G., Archer, S.N., Vallerga.S., Hirano, J., 2002. Genetic identification of grey mullet species (Mugilidae) by analysis of mitochondrial

DNA sequence. Applicationto identify the origin of proce. Marine Biotechnology, 4(2):119–126.
33. Nei, M., 1972. Genetic distance between populations. American Naturalist, 106: 283-292.
34. Nei, M., 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals, Genetics 89:583-590.
35. Nei, M., 1987. Molecular Evolutionary Genetics. Columbia Univ. Press, New York.
36. Nei, M., Kumar, S., 2000. Molecular Evolution and Phylogenetics. New York: Oxford University Press.
37. Oren, O. H., 1981. The aquaculture of grey mullets. Cambridge University Press.507 p.
38. Papasotiropoulos, V., Klossa-Kilia, E., Kilias, G., Alahiotis, S., Kilias, G., 2007. Molecular phylogeny of grey mullets (Teleostei:Mugilidae) in Greece:evidence from sequence analysis of mtDNA segments. Biochemical Genetics, 45:623–636.
39. Pherson, M. J., Moller, S. G., 2000. PCR (Basic: from background to bench). BIOS Scientific Publishers, Oxford. 288pp.
40. Radovich, J.1961. Relationships of some marine organisms of the northeast pacific to water temperatures, particularly during 1957-1959. Calif. Dep. Fishery Bulletin. 112:1-62.
41. Raymond, M., Russet, E., 1995. GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenisms. Journal of Heredity, 86, 248-249.
42. Rossi, A.R, Capula, M., Crosetti, D., Campton, D.E., Sola, L., 1998. Genetic divergence and phylogenetic inferences in five species of Mugilidae (Pisces: Perciformes). Marine Biology, 131: 213-8.
43. Rossi, A.R., Ungaro, A., De Innocentiis, S., Crosetti, D., Sola, L., 2004. Phylogenetic analysis of Mediterranean Mugilids by allozymes and 16S rRNA genes investigation: Are the Mediterranean species of *Liza* monophyletic? Biochemical Genetics, 42:301-313.
44. Rozas, J., Sanchez, J. C., Delbarrio, X., Rozas, R., 2003. DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods. Bioinformatics 19: 2496-2497.
45. Shukolyukov, A., 1937. Kvoprosa obkklimatizatsii eherno-morskikh ryby kaspiiskom more [Acclimatization of Black Sea fish in the Caspian Sea]. Rybone KHozyaisvo. 6:34-35.
46. Tamura, K., Dudley, J., Nei, M., Kumar, S., 2007. Mega 4: Molecular Evolution Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. Molecular Biology and Evolution, 24: 1596-1599.
47. Thomson, J. M., 1997. The Mugilidae of the World. Mem Queensl Mus 41: 457-62.
48. Turan, C., Caliskan, M., Kucuktas, H., 2005. Phylogenetic relationships of nine mullet species (Mugilidar) in the Mediterranean Sea. Hydrobiologia, 532: 45-51.
49. Weir, B. S., Cockerham, C. C., 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. Evolution 38, 1358–1370.