دانشگاه گنبد کاووس
نشریه "پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی"
دوره چهارم، شماره سوم، پاییز ۹۵
http://jair.gonbad.ac.ir

بررسی تنوع ژنتیکی ماهی کفال طلایی *Liza aurata* (Risso, 1810) در مناطق قره‌سو و گمیشان و مقایسه آن با نمونه‌های تلف شده با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره

علی شعبانی*[1]، حدیثه کشیری[2]، زهره قدسی[3]

[1]دانشیار، گروه شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
[2]استادیار، گروه شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
[3]دانشجوی دکتری شیلات، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران

تاریخ ارسال: ۹۴/۸/۲۷ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۴/۱۱/۲۶

چکیده

ماهی کفال طلایی (*L. aurata*) گونه‌ای غیر بومی و دارای ارزش تجاری بالا در دریای خزر می‌باشد. این گونه طی سال‌های اخیر در اثر ابتلا به بیماری نکروز عصبی ویروسی دچار تلفات شدیدی گردید. در تحقیق حاضر، به منظور ارزیابی و مقایسه ساختار ژنتیکی کفال طلایی در مناطق قره‌سو و گمیشان (۲۸ نمونه برای هر منطقه) و همچنین نمونه‌های تلف شده در منطقه قره‌سو (۲۸ نمونه) از شش جایگاه ریزماهواره‌ای (Mcs16EM، Mcs15AM، Muso10، Muso19، Muso22 و Muso27) استفاده شد. چند شکلی در تمام جایگاه‌های ژنی مشاهده شد. در بررسی شاخص‌های تنوع ژنتیکی، میانگین تعداد الل‌ها و هتروزیگوسیتی مشاهده شده به‌ترتیب ۱۴/۳۳ و ۰/۸۲ بدست آمد. همچنین از نظر غنای اللی و هتروزیگوسیتی تفاوت معنی‌داری بین نمونه‌های مورد بررسی مشاهده نشد. ۱۰ مورد از ۱۸ تست مورد بررسی انحراف معنی‌دار از تعادل هاردی-وینبرگ نشان دادند. میزان متوسط شاخص‌های درون آمیزی (F_{is})، تمایز ژنتیکی (F_{st}) و جریان ژنی (Nm) نیز به‌ترتیب ۰/۰۷۰، ۰/۰۳۳ و ۸/۴۰ بدست آمد. به علاوه، پایین‌ترین فاصله و بالاترین شباهت ژنتیکی بین نمونه‌های گمیشان و قره‌سو مشاهده گردید به‌نحوی‌که بر اساس دندروگرام UPGMA بر مبنای فاصله ژنتیکی، نمونه‌های قره‌سو و گمیشان در گروهی مجزا از نمونه‌های تلف شده قرار گرفتند.

***واژه‌های کلیدی*: *L. aurata*، ریزماهواره، قره‌سو، گمیشان**

*نویسنده مسئول: ali_shabany@yahoo.com

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-02]

مقدمه

امروزه به‌دلیل دخالت‌های مستقیم و غیر مستقیم بشر همچون ورود آلاینده‌ها، بهره‌برداری بی‌رویه، معرفی گونه‌های رقیب و شکارچی، تخریب زیستگاه‌ها و عواملی از این قبیل، بقای بسیاری از آبزیان در محیط‌های طبیعی به مخاطره افتاده و در آینده نیز گونه‌های بیشتری به این وضعیت دچار خواهند شد (Millennium Ecosystem Assessment. 2005). لذا، حفظ و نگهداری پایدار یک جمعیت از اهداف اساسی در زیست‌شناسی حفاظت و عاملی مهم در امر مدیریت شیلاتی می‌باشد. در این خصوص، آگاهی از اختلافات ژنتیکی از اهمیت بالایی در بررسی‌های مربوط به سیر تکاملی گونه‌ها، حفاظت و مدیریت منابع طبیعی و همچنین اصلاح برنامه‌های ژنتیکی دارد (Chauhan and Rajiv, 2010). تنوع ژنتیکی که مرتبط با تغییر و تنوع در نوکلئوتیدها، ژن‌ها، کروموزوم‌ها و یا ژنوم کامل موجودات می‌باشد (Wang *et al.,* 2009)، برای بقای گونه‌ها ضروری بوده و باعث بالا بردن ظرفیت گونه‌ها در سازش پذیری با تغییرات محیطی می‌گردد (Chauhan and Rajiv, 2010). در این راستا، ریزماهواره‌ها کاربرد گسترده‌ای در تعیین ساختار ژنتیکی داشته (Wang *et al.,* 2009) و جهت انجام مطالعات مربوط به ژنتیک جمعیت بسیار سودمند می‌باشند (Dunham, 2004). در واقع، این نوع نشانگرها به‌دلیل ویژگی‌هایی همچون فراوانی بالا در ژنوم موجودات، تنوع بالای قطعات تکرار شونده و هم‌بارز بودن بر برخی معایب دیگر نشانگرها جهت استفاده در مطالعات جمعیتی برتری دارند (Verspoor and Jordan, 1989). بنابراین در تحقیق حاضر از نشانگرهای ریزماهواره به‌منظور بررسی تنوع ژنتیکی ماهی کفال طلایی استفاده شد.

ماهی کفال طلایی با نام علمی *Liza aurata* یکی از گونه‌های استخوانی باارزش دریای خزر بوده که طی سال‌های ۱۳۰۹ تا ۱۳۱۳ به‌طور موفقیت آمیزی از دریای سیاه به دریای خزر پیوند داده شد. گونه مذکور در کمتر از ده سال در تمام سواحل دریای خزر گسترش یافت (Aslan Parviz, 1992). به‌نحوی‌که در سال‌های اخیر بیش از ۹۵ درصد صید کفال ماهیان را به خود اختصاص داده است (Darianabard, 2009). در سال ۱۳۸۰، کفال ماهیان طلایی در سواحل دریای خزر دچار تلفات شدیدی شدند که پس از بررسی علائم بالینی علت مرگ و میر بالای این گونه نکروز عصبی ویروسی (VNN) معرفی شد (Soltani *et al.,* 2010). سپس به دنبال تلفات این گونه در بهمن ماه ۱۳۸۴، دو مرکز رفرانس در ژاپن و تایوان نیز بیماری VNN را با استفاده از روش RT-PCR تایید نمودند (Haghighi *et al.,* 2009). با توجه به ارزش بالای ماهی کفال طلایی در دریای خزر، آگاهی از ساختار ژنتیکی این گونه ضروری به‌نظر می‌رسد. در این راستا، تحقیقات صورت گرفته روی ساختار ژنتیکی گونه مورد نظر در سواحل دریای خزر محدود به بررسی صورت گرفته توسط برخی محققین بوده است. (Behrouz *et al.,* 2014; Ghodsi *et al.,* 2014 and 2012). لذا با در نظر گرفتن اهمیت ماهی کفال

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-02]

طلایی در دریای خزر، در تحقیق حاضر به بررسی ساختار ژنتیکی *L. aurata* در رودخانه قره‌سو و تالاب گمیشان پرداخته شد.

مواد و روش‌ها

در تحقیق حاضر در مجموع از تعداد ۸۴ قطعه ماهی کفال طلایی نمونه‌برداری به عمل آمد که در این میان ۲۸ قطعه متعلق به رودخانه قره‌سو و ۲۸ قطعه متعلق به تالاب گمیشان بود. همچنین تعداد ۲۸ قطعه ماهی بیمار تلف شده در منطقه قره‌سو نیز مورد نمونه‌برداری قرار گرفت. حدود ۱ تا ۲ گرم از باله سینه‌ای یا دمی هر ماهی جداسازی و در تیوب‌های حاوی الکل اتانول ۹۶ درصد قرار داده شد. در نهایت نمونه‌ها به آزمایشگاه بیوتکنولوژی انتقال و DNA آن‌ها به روش فنل-کلروفرم استخراج گردید (Hillis *et al.*, 1996). به‌طور خلاصه، بافت خرد شده با استفاده از ۳۰ میکرولیتر (۱۰٪) SDS و ۵۰۰ میکرولیتر STE شامل کلرید سدیم (۰/۱ مولار)، تریس (۰/۰۵ مولار) و سدیم- اتیلن دی آمین تترا استیک اسید (۰/۰۱ مولار) و ۱۵ میکرولیتر پروتئیناز K (20mg/ml) در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد طی شب انکوبه گردید. DNA نمونه‌ها با استفاده از اتانول مطلق سرد پس از خالص سازی به روش فنل-کلروفرم رسوب داده شد. پس از آن به رسوب حاصله، میزان۱۰۰ میکرولیتر آب مقطر دو بار تقطیر اضافه و DNA بدست آمده تا زمان شروع آزمایشات مولکولی در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. همچنین کمیت و کیفیت DNA استخراج شده با استفاده از الکتروفورز افقی (ژل آگارز ۱٪) و بایوفتومتر (King *et al.*, 2001) تعیین گردید.

از شش جایگاه ریزماهواره‌ای جهت انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) استفاده گردید. اطلاعات مربوط به هر جایگاه در جدول ۱ آورده شده است. شرایط چرخه دمایی برای هر جایگاه عبارت بود از یک چرخه واسرشته سازی اولیه شامل ۹۴ درجه برای ۳۰ ثانیه، ۳۵ چرخه شامل ۹۴ درجه برای ۳۰ ثانیه، دمای اتصال (جدول ۱) برای ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه برای ۶۰ ثانیه، با یک بسط نهایی ۷۲ درجه برای ۱۰ دقیقه. پس از تکثیر جایگاه‌ها طی واکنش زنجیره‌ای پلیمراز، الکتروفورز عمودی محصولات PCR با استفاده از ژل پلی اکریل آمید ۸ درصد انجام گرفت (Sambrook *et al.*, 1989). ژل‌های حاصله به روش نیترات نقره رنگ آمیزی (Benbouza *et al.*, 2006) و تصویر آن‌ها با استفاده از دستگاه مستند ساز ژل ثبت گردید. در نهایت از نرم افزار Gel pro analyzer 3.0 جهت تعیین طول قطعات استفاده شد.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-02]

جدول ۱- اطلاعات مربوط به جایگاه‌های مورد استفاده در بررسی تنوع ژنتیکی کفال طلایی (*L. aurata*)

جایگاه	توالی	اندازه اللی	دمای‌اتصال (^{0}C)	شماره دستیابی در بانک ژن	منبع
Mcs16EM	**F:CAGATTGTTGTTCGGGAGGGCAGA R:GTCATGATGCTGCTATCAGGCAAA**	۳۶۴-۴۶۸	۶۰	**AY770930 65**	**Miggiano *et al.*, 2005**
Mcs15AM	**F:GAGCCAAACTGGTCACATGAAAGAGA R: ACTTTCAGTGCAGCGCCCAGTGTT**	۳۵۲-۴۴۰	۵۸	**AY770927 63**	**Miggiano *et al.*, 2005**
Muso10	**F: TTGCTCAGGGAACACATTGA R: CAAACAGAGACGTGATGCAAA**	۲۱۲-۳۰۴	۵۹	**EU570285**	**Xu *et al.*, 2009**
Muso19	**F: CACCACTATGGCATCCTTCA R: AACCCCTTTTCTTGCTCAAA**	۱۴۰-۲۱۲	۵۸	**EU570294**	**Xu *et al.*, 2009**
Muso22	**F: TGATGAGAATGGTGGTGACG R: TTTTGGGCTGCTTGTCTCTC**	۱۵۶-۲۱۲	۵۵	**EU570297**	**Xu *et al.*, 2009**
Muso27	**F:CTTGGCTGCCTGTATCCTGT R:CCTGAGAGTGAGGGGTCAAC**	۱۴۴-۲۲۸	۵۲	**EU570302**	**Xu *et al.*, 2009**

در نهایت، تعداد اللهای واقعی و مؤثر، هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار، جریان ژنی، شاخص‌های درون آمیزی و تمایز و همچنین نحوه توزیع تنوع مشاهده شده با استفاده از نرم‌افزار GenAlex 6.3 تعیین گردید (Peakall and Smouse, 2006). به منظور تعیین تفاوت بین نمونه‌های مورد بررسی از نظر مقادیر هتروزایگوسیتی مشاهده شده، مورد انتظار و تنوع آللی از تست ویلکاکسون غیر پارامتریک در نرم‌افزار SPSS-16 استفاده شد (Zar, 1998). امکان وجود اللهای خنثی، خطای دسته‌بندی و از دست دادن اللهای بزرگ با نرم‌افزار Microchecker 2.2.1 (Oosterhout *et al.,* 2004) ارزیابی گردید. از نرم‌افزار Genepop 3.1 (Raymond and Rousset, 1995) نیز به منظور بررسی انحراف از تعادل هاردی-وینبرگ با مقایسه هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار استفاده گردید. همچنین تعیین فاصله و شباهت ژنتیکی و ترسیم دندروگرام UPGMA بر اساس فاصله ژنتیکی با استفاده از نرم‌افزار PopGene 1.3.1 (Yeh *et al.,* 1999) انجام پذیرفت.

نتایج

تمامی جایگاه‌های مورد بررسی حالت چند شکلی نشان دادند. نتایج حاصل از نرم‌افزار Microchecker حاکی از عدم وجود خطای دسته بندی یا از دست دادن اللهای بزرگ بود. همچنین اللهای خنثی در جایگاه Mcs15AM مشاهده شد. اطلاعات مربوط به تعداد اللهای مؤثر و واقعی و همچنین هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار در جدول ۲ آورده شده است. میانگین تعداد اللهای واقعی برای نمونه‌های تلف شده، گمیشان و قره‌سو به‌ترتیب ۱۱/۸۳، ۱۵/۶۶ و ۱۲/۸۳ بدست آمد که حاکی از بالاتر بودن غنای اللی نمونه‌های گمیشان بود ($p>0.05$). هتروزیگوسیتی مشاهده شده در محدوده ۱/۰۰-

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-02]

۰/۲۸ بدست آمد به‌نحوی‌که پایین‌ترین و بالاترین میزان متوسط این شاخص به‌ترتیب متعلق به نمونه-های تلف شده (۰/۷) و گمیشان (۰/۹) بود. در بررسی هتروزیگوسیتی مورد انتظار نیز، میزان متوسط این شاخص به‌ترتیب ۰/۸۵، ۰/۸۹ و ۰/۸۸ برای نمونه‌های تلف شده، گمیشان و قره‌سو بدست آمد ($p>0.05$). در بررسی تعادل هاردی-وینبرگ، انحراف از تعادل بالایی مشاهده شد که پس از اعمال ضریب تصحیح بونفرونی (Rice, 1989)، از ۱۸ تست ممکنه (۶ جایگاه×۳جمعیت) تنها ۱۰ تست انحراف معنی‌داری از تعادل هاردی-وینبرگ نشان دادند. میزان متوسط Fis به عنوان شاخصی از درون آمیزی، ۰/۰۷۰ بدست آمد که حاکی از کسری هتروزیگوسیتی می‌باشد.

جدول ۲- پارامترهای تنوع ژنتیکی برای جایگاه‌های مورد استفاده در کفال طلایی (*L. aurata*)

جمعیت/جایگاه		Mcs16EM	Mcs15AM	Muso10	Muso19	Muso22	Muso27	میانگین (درسطح مناطق)
نمونه‌های تلف شده	Na	۱۷	۱۲	۱۲	۹	۱۱	۱۰	۱۱/۸۳
	Ne	۱۱/۴۴	۷/۳۲	۸/۲۹	۵/۶۲	۵/۰۷	۹/۳۸	۷/۸۵
	Ho	۰/۸۹	۰/۲۸	۱/۰۰	۰/۷۵	۰/۳۲	۱/۰۰	۰/۷
	He	۰/۹۱	۰/۸۶	۰/۸۷	۰/۸۲	۰/۸۰	۰/۸۹	۰/۸۵
	pHw	***	***	*	ns	***	***	
گمیشان	Na	۲۰	۱۴	۱۹	۱۶	۱۱	۱۴	۱۵/۶۶
	Ne	۱۴/۶۵	۱۰/۵۲	۱۲/۶۴	۹/۸۶	۵/۴۴	۹/۲۷	۱۰/۳۹
	Ho	۱/۰۰	۰/۷۱	۰/۸۲	۰/۹۲	۱/۰۰	۱/۰۰	۰/۹
	He	۰/۹۳	۰/۸۹	۰/۹۳	۰/۸۶	۰/۸۶	۰/۹۱	۰/۸۹
	pHw	*	***	ns	ns	ns	ns	
قره‌سو	Na	۲۱	۱۲	۱۴	۱۱	۷	۱۲	۱۲/۸۳
	Ne	۱۳/۶۳	۹/۸۰	۹/۴۴	۷/۰۶	۶/۴۷	۹/۹۸	۹/۴۸
	Ho	۰/۸۹	۰/۷۵	۰/۹۲	۰/۸۵	۰/۷۵	۰/۹۶	۰/۸۵
	He	۰/۹۳	۰/۹۰	۰/۹۲	۰/۸۸	۰/۸۱	۰/۸۹	۰/۸۸
	pHw	ns	ns	***	ns	***	***	
میانگین (درسطح جایگاه)	Na	۱۹/۳۳	۱۲/۶۶	۱۵	۱۲	۹/۶۶	۱۲	
	Ne	۱۳/۲۴	۹/۲۱	۱۰/۱۲	۷/۵۱	۵/۶۶	۹/۵۴	
	Ho	۰/۹۲	۰/۵۸	۰/۹۱	۰/۸۴	۰/۶۹	۰/۹۸	
	He	۰/۹۲	۰/۸۸	۰/۹	۰/۸۵	۰/۸۲	۰/۸۹	

Na: الل‌های واقعی، Ne: الل‌های موثر، Ho: هتروزیگوسیتی مشاهده شده، He: هتروزیگوسیتی مورد انتظار، pHw: تست احتمال تعادل هاردی-وینبرگ پس از ضریب تصحیح بونفرونی (ns: عدم معنی‌داری، *: $p<۰/۰۵$، **: $p<۰/۰۱$، ***: $p<۰/۰۰۱$).

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-02]

مقادیر مربوط به جریان ژنی و تمایز ژنتیکی به‌دست آمده در سطح نمونه‌های مورد بررسی در جدول ۳ آورده شده است. همانطور که از جدول پیداست، پایین‌ترین (Nm:۴/۹۳) و بالاترین (Nm:۱۵/۱۷) میزان جریان ژنی به‌ترتیب بین نمونه‌های تلف شده با گمیشان و گمیشان با قره‌سو بدست آمد. متوسط میزان Fst نیز به عنوان شاخصی از تمایز ژنتیکی، ۰/۰۳۳ به‌دست آمد که در این میان بالاترین و پایین‌ترین میزان این شاخص به‌ترتیب بین نمونه‌های تلف شده با گمیشان (Fst:۰/۰۳۴) و نمونه‌های گمیشان با قره سو (Fst:۰/۰۱۷) مشاهده شد.

جدول ۳- مقادیر مربوط به جریان ژنی و تمایز ژنتیکی در سطح نمونه‌های مورد بررسی کفال طلایی (*L. aurata*).

	نمونه‌های تلف شده	قره سو	گمیشان
نمونه‌های تلف شده	۰/۰۰۰	۸/۵۰	۴/۹۳
قره‌سو	۰/۰۲۳	۰/۰۰۰	۱۵/۱۷
گمیشان	۰/۰۳۴	۰/۰۱۷	۰/۰۰۰

اعداد بالا و پایین قطر به‌ترتیب نشان دهنده جریان ژنی (Nm) و تمایز ژنتیکی (Fst) می‌باشد.

نتایج حاصل از آنالیز واریانس مولکولی نشان داد که درصد بالایی از تنوع ژنتیکی مشاهده شده مربوط به درون جمعیت‌ها (۹۷٪) می‌باشد (شکل ۱).



شکل ۱- نحوه توزیع تنوع مشاهده شده در آنالیز واریانس مولکولی کفال طلایی (*L. aurata*)

در بررسی مقادیر شباهت و فاصله ژنتیکی، بالاترین و پایین‌ترین میزان فاصله ژنتیکی به‌ترتیب بین نمونه‌های تلف شده با گمیشان (۰/۷۱) و گمیشان با قره‌سو (۰/۳۶) مشاهده شد (جدول ۴). همچنین نتایج حاصل از ترسیم دندروگرام UPGMA بر اساس مقادیر فاصله ژنتیکی نشان داد که احتمالاً گروه

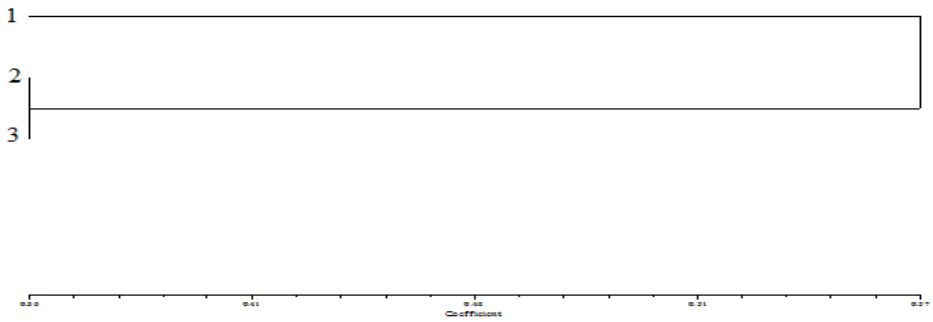
[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-02]

جدایی از نمونه‌های مورد بررسی وجود دارد، به‌نحوی‌که نمونه‌های تلف شده در شاخه‌ای مجزا از نمونه-های گمیشان و قره‌سو قرار گرفتند (شکل ۲).

جدول ۴- مقادیر مربوط به فاصله و شباهت ژنتیکی نمونه‌های کفال طلایی (*L. aurata*)

	نمونه‌های تلف شده	قره سو	گمیشان
نمونه‌های تلف شده	۰/۰۰۰	۰/۶۵	۰/۴۹
قره‌سو	۰/۴۱	۰/۰۰۰	۰/۶۹
گمیشان	۰/۷۱	۰/۳۶	۰/۰۰۰

اعداد بالا و پایین قطر به‌ترتیب نشان‌دهنده شباهت و فاصله ژنتیکی می‌باشد.



شکل ۲- دندروگرام UPGMA ترسیم شده بر اساس مقادیر فاصله ژنتیکی کفال طلایی (*L. aurata*) با استفاده از نرم‌افزار PopGene. (۱: نمونه‌های تلف شده، ۲: نمونه‌های قره سو و ۳: نمونه‌های گمیشان)

بحث و نتیجه‌گیری

تعیین ساختار ژنتیکی جمعیت‌های در حال بهره‌برداری به عنوان اولین مرحله تدوین استراتژی مدیریت ذخایر آبزیان مطرح می‌باشد به‌نحوی‌که اگر استراتژی‌های مربوطه بر پایه روش‌های دقیق و قوی همچون روش‌های مولکولی باشد، می‌توان علاوه بر کمک به حفظ تنوع زیستی، میزان برداشت و بهره‌برداری را به حد حداکثر معقول رسانید (Thai *et al.*, 2006). در تحقیق حاضر با توجه به اهمیت تجاری ماهی کفال طلایی و تلفات بالای ناشی از نکروز عصبی ویروسی در سال‌های اخیر، ساختار و تنوع ژنتیکی این گونه ارزشمند مورد بررسی قرار گرفت. در این راستا، از شش جایگاه ریزماهواره‌ای استفاده شد که همگی حالت چند شکلی نشان دادند. اندازه اللی بدست آمده در اغلب جایگاه‌های مورد بررسی، در محدوده کمی گسترده‌تر نسبت به محدوده گزارش شده برای کفال طلایی در مناطق بابلسر و چالوس (Ghodsi *et al.*, 2014) قرار داشت. در این خصوص، با توجه به استفاده از جایگاه‌های مشابه و تعداد نمونه‌های یکسان در هر دو تحقیق احتمال می‌رود اختلاف مشاهده شده به دلیل تنوع ژنتیکی

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-02]

بالاتر ماهی کفال طلایی در مناطق مورد ارزیابی در تحقیق حاضر باشد. در این راستا، میانگین تعداد آلل واقعی و هتروزیگوسیتی مشاهده شده به عنوان شاخص‌های مهمی از تنوع ژنتیکی (Na:۱۴/۳۳؛ Ho:۰/۸۲)، کمی بالاتر از مقادیر گزارش شده برای کفال طلایی در سواحل بابلسر و چالوس (Na:۱۲/۸۳؛ Ho:۰/۷۵) بدست آمد. همچنین، بهروز و همکاران (Behrouz *et al.,* 2014) در ارزیابی ساختار ژنتیکی کفال طلایی در مناطق فریدون‌کنار و رامسر، تعداد متوسط آلل و هتروزیگوسیتی مشاهده شده را به‌ترتیب ۶/۲۵ و ۰/۳۹ گزارش نمودند که پایین‌تر از مقادیر بدست آمده در این بررسی می‌باشد. این در حالی بود که مقادیر اللی و هتروزیگوسیتی مشاهده شده در تحقیق حاضر بسیار نزدیک به مقادیر گزارش شده برای کفال طلایی در مناطق میانکاله و گمیشان (Na:۱۴/۸۳ و Ho:۰/۸۸) (Ghodsi *et al.,* 2012) بود. مقایسه مقادیر متوسط آلل‌های واقعی و مؤثر بین نمونه‌های تلف شده و سایر نمونه‌ها حاکی از پایین‌تر بودن مقادیر مربوطه در نمونه‌های تلف شده بود. این موضوع در خصوص هتروزیگوسیتی مشاهده شده نیز صدق داشت هر چند تفاوت مشاهده شده معنی‌دار نبود ($p>۰/۰۵$). همچنین مقایسه نمونه‌های قره‌سو با گمیشان نشان داد که نمونه‌های گمیشان از تعداد الل و هتروزیگوسیتی بالاتری برخوردار بودند که این تفاوت نیز معنی‌دار نبود ($p>۰/۰۵$). بررسی‌ها نشان داده غنای اللی که بالا بودن آن نشان دهنده بالا بودن اندازه جمعیت مؤثر است، معیار مناسب‌تری نسبت به هتروزیگوسیتی در ارزیابی سطح تنوع نمونه‌ها بوده و هتروزیگوسیتی بیشتر مبتنی بر تغییرات تصادفی در فراوانی ژنی می‌باشد. مقایسه مقادیر بدست آمده در این بررسی برای کفال طلایی به عنوان یک گونه دریایی با مقادیر گزارش شده برای ماهیان دریایی (Na:۲۰/۶ و Ho:۰/۷۹) (Dewoody and Avise, 2000) حاکی از پایین‌تر بودن غنای اللی ماهی کفال طلایی در مناطق مورد نظر می‌باشد، این در حالیست که هتروزیگوسیتی مشاهده شده بسیار نزدیک به متوسط گزارش شده برای ماهیان دریایی بوده است.

انحراف از تعادل هاردی-وینبرگ که نشان از به‌گزینی، اختلاط جمعیت‌ها یا جفت‌گیری غیر تصادفی می‌باشد (Ciftci and Okumus, 2002) ممکن است در جمعیت‌های بسیاری از ماهیان رخ دهد (Lucentini *et al.,* 2009). لذا بررسی این موضوع جزو اولین مراحل در مطالعات مربوط به ساختار جمعیت‌ها می‌باشد (Raymond and Rousset, 1995). در بررسی حاضر نیز از ۱۸ تست مورد ارزیابی (۶جایگاه×۳جمعیت) فقط ۴ تست در تعادل قرار داشتند که پس از اعمال ضریب تصحیح بونفرونی، تنها ۱۰ تست انحراف معنی‌داری از تعادل نشان دادند. در خصوص توجیه انحراف از تعادل در جمعیت‌های ماهیان عوامل مختلفی مطرح می‌باشد که در این میان کسری هتروزیگوسیتی از اهمیت بالایی برخوردار می‌باشد. در این خصوص، شاخص درون‌آمیزی با ارزیابی میزان کسری یا افزایش هتروزیگوسیتی مشاهده شده در نمونه‌ها می‌تواند تا حد زیادی در شناسایی انحراف از تعادل سودمند

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-02]

می‌باشد (Ciftci and Okumus, 2002). در این تحقیق، در برخی جایگاه‌ها افزایش هتروزیگوسیتی اندکی مشاهده شد این در حالی بود که کسری هتروزیگوسیتی بالایی در سطح برخی جایگاه‌ها وجود داشت. بالاتر بودن قابل ملاحظه شاخص درون‌آمیزی نشان دهنده افزایش هموزیگوسیتی بوده که احتمالا به دلایلی همچون درون‌آمیزی، اختلاط جمعیت‌ها یا خطا در شناسایی هتروزیگوت‌ها می‌باشد (Ciftci and Okumus, 2002). در این راستا با استناد به نتایج حاصل از نرم‌افزار Microchecker، در خصوص مشاهده الل‌های خنثی در جایگاه Mcs15AM، نقش این الل‌ها در کسری مشاهده شده را نمی‌توان نادیده گرفت. در واقع الل‌های خنثی به عنوان یک عامل عمده کسری هتروزیگوسیتی مطرح می‌باشند (Xu *et al.,* 2001). در مجموع تنها یک عامل نمی‌تواند کسری هتروزیگوسیتی مشاهده شده و انحراف از تعادل را توجیه نماید و مجموعه‌ای از عوامل مطرح شده در بالا ممکن است در ایجاد آن مؤثر باشند.

تاریخچه زندگی یک گونه، رویدادهای تاریخی و همچنین موانع طبیعی از عوامل تأثیرگذار بر ساختار ژنتیکی جمعیت‌ها می‌باشند (Tiedemann *et al.,* 2000). در این خصوص، آنالیز واریانس مولکولی به عنوان روشی مناسب در تعیین ساختار و تمایز ژنتیکی بین جمعیت‌ها مطرح می‌باشد (Grassi *et al.,* 2004). در این بررسی با توجه به نتایج حاصل از آنالیز واریانس مولکولی بر اساس Fst تنها ۳٪ از تنوع مشاهده شده مربوط به بین جمعیت‌ها بوده و تمایز ژنتیکی پایینی (میانگین: ۰/۰۳۳) بر اساس معیار رایت (Wright *et al.,* 1978). بین نمونه‌های مورد بررسی مشاهده شد. وجود تمایز ژنتیکی پایین بین جمعیت‌های متعلق به گونه‌های دریایی در مطالعات بسیاری گزارش شده است (Ward *et al.,* 1994; Waples, 1998; Waples and Gaggiotti, 2006). در این راستا، معمول‌ترین عامل اثرگذار، جریان ژنی می‌باشد (Ward *et al.,* 1994). در واقع با تبادل بین افراد، تبادل ژن‌ها نیز صورت می‌گیرد که با افزایش این تبادلات، تمایز ژنتیکی نیز کاهش می‌یابد لذا پایین بودن شاخص‌های تمایز و تنوع بین جمعیت‌ها نشان دهنده وجود جریان ژنی بالا بین جمعیت‌ها می‌باشد (Pinera *et al.,* 2007). در تحقیق حاضر جریان ژنی نسبتا بالایی (میانگین: ۸/۴۰) بین نمونه‌های مورد بررسی مشاهده شد که می‌تواند دلیل مهمی برای تمایز پایین مشاهده شده باشد. تحقیقات پیشین در خصوص بررسی تنوع ژنتیکی کفال طلایی در مناطق بابلسر و چالوس (Ghodsi *et al.,* 2014) و میانکاله و گمیشان (Ghodsi *et al.,* 2012) نیز حاکی از تمایز ژنتیکی پایین (به‌ترتیب ۰/۰۱۸ و ۰/۰۱۶بین نمونه‌های بابلسر با چالوس و میانکاله با گمیشان) و جریان ژنی بالا (به‌ترتیب ۱۳/۶ و ۲۵ بین نمونه‌های بابلسر با چالوس و میانکاله با گمیشان) بوده است این در حالی بود که بهروز و همکاران (Behrouz *et al.,* 2014) تمایز ژنتیکی متوسط (۰/۰۷۸) و جریان ژنی نسبتا پایینی (۲/۹) را برای نمونه‌های کفال طلایی در مناطق رامسر و فریدونکنار گزارش نمودند. به هر حال، عوامل دیگری همچون خطای نمونه‌برداری

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-02]

(Hansen *et al.,* 1997)، انتخاب طبیعی (Nielsen *et al.,* 2009) و رانش ژنتیکی تصادفی (Selkoe *et al.,* 2006) نیز می‌تواند علاوه بر جریان ژنی در کاهش تمایز ژنتیکی بین جمعیت‌ها دخیل باشد. در مقایسه بین نمونه‌های مورد بررسی نیز بالاترین میزان تمایز (۰/۰۳۴) و پایین‌ترین میزان جریان ژنی (۴/۹۳) بین نمونه‌های گمیشان و تلف شده و کم‌ترین میزان تمایز (۰/۰۱۷) و بالاترین میزان جریان ژنی (۱۵/۱۷) بین نمونه‌های قره‌سو و گمیشان مشاهده شد. بالاترین و پایین‌ترین فاصله ژنتیکی نیز به‌ترتیب بین نمونه‌های تلف شده با گمیشان (۰/۷۱) وگمیشان با قره‌سو (۰/۳۶) مشاهده گردید که طبق معیار موجود (Thorpe and Solé-Cava, 1994) در محدوده گونه‌های متعلق به جنس‌های مشابه (۰/۸۵-۰/۳۵) قرار دارد. همچنین با توجه به دندروگرام UPGMA بدست آمده، نمونه‌های تلف شده در گروهی مجزا نسبت به سایر نمونه‌ها قرار گرفتند، لذا ممکن است گروه خاصی از کفال ماهیان طلایی در دریای خزر وجود داشته باشد که نسبت به عوامل بیماری‌زای ویروسی حساس‌تر بوده و زمینه مساعدتری جهت ابتلا به بیماری را دارا باشند. مقایسه ماهیان تلف شده با نمونه‌های قره‌سو و گمیشان در این بررسی بیانگر آنست که که اگرچه نمونه‌های تلف شده از منطقه قره‌سو جمع‌آوری شده‌اند اما از نظر ژنتیکی بین آن‌ها و سایر نمونه‌ها شباهت ژنتیکی پایینی وجود دارد. در مجموع با در نظر گرفتن این موضوع که ساختار ژنتیکی جمعیت‌ها ایستا نبوده و دائما در حال تغییر می‌باشد و عواملی از جمله غیر بومی بودن ماهی کفال طلایی، تلفات بالای مشاهده شده این گونه طی سال‌های اخیر، ورود بیش از پیش آلودگی‌ها و همچنین با استناد به نتایج حاصل از این تحقیق مبنی بر شباهت ژنتیکی پایین‌تر ماهیان تلف شده نسبت به نمونه‌های گمیشان و قره‌سو و تمایز و تنوع بین جمعیتی پایین، انجام ارزیابی‌های مولکولی بیشتر جهت آگاهی دقیق‌تر از وضعیت این گونه ارزشمند در سواحل جنوبی دریای خزر ضروری به‌نظر می‌رسد.

منابع

Aslan Parviz H. 1992. Caspian Sea mullets. Monthly Magazine of Aquatics, 3: 20-25. (In Persian).

Behrouz M., Norouzi M., Nazemi A. 2014. Genetic structure of golden grey mullet (*Liza aurata*) in southern basins of Caspian sea (Mazandaran province) using microsatellite method. Breeding and Aquaculture Sciences Journal, 1(1): 11-16. (In Persian).

Benbouza H., Jacquemin J.M., Baudoin J.P., Mergeai G. 2006. Optimization of the reliable, fast, cheap and sensitive silver staining method to detect SSR markers in polyacrylamide gels. Biotechnology Agronomy Society and Environment, 10: 77-81.

Chauhan T., Rajiv K. 2010. Molecular markers and their application in fisheries and aquaculture. Advance in Bioscience and Biotechnology, 1: 281-291.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-02]

Ciftci Y., Okumus I. 2002. Fish Population Genetics and Applications of Molecular Markers to Fisheries and Aquaculture: I-Basic Principles of Fish Population Genetics. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Science, 2: 145-155.

Darianabard G.H. 2009. Study of reproductive characteristics of golden grey mullet *Liza aurata* (Risso, 1810) in southern coasts of Caspian Sea. Master's thesis of Fisheries. Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources. (In Persian).

Dewoody J.A., Avise J.C. 2000. Microsatellite variation in Marine, freshwater and anadromous fishes compare with other. Animal Journal of Fish Biology, 56: 461-473.

Dunham R.A. 2004. Aquaculture and Fisheries Biotechnology: Genetic Approaches. CABI Publications. 400 P.

Ghodsi Z., Shabani A., Shabanpour B. 2012. Genetic diversity of golden grey mullet *Liza aurata* (Risso, 1810) in Golestan coasts using microsatellite markers. Taxonomy and Biosystematics, 3(6): 35-46. (In Persian).

Ghodsi Z. Shabani A., Shabanpour B. 2014. Genetic diversity of golden grey mullet *Liza aurata*, (Risso, 1810) in Mazandaran coasts using microsatellite markers. Modern Genetics Journal, 8(1): 29-36. (In Persian).

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

Haghighi Kar Seyedani S., Zorieh Zahra J., Purkazemi M., Shenavar Masouleh A. 2009. Investigation of viral neural necrosis (VNN) in Persian sturgeon using molecular method. 15th Iranian Veterinary Congress, pp: 34-34. (In Persian).

Hansen M.M., Nielsen E.E., Mensberg K.L.D. 1997. The problem of sampling families rather than populations: relatedness among individuals in samples of juvenile brown trout *Salmo trutta* L. Molecular Ecology, 6: 469-474.

Hillis D.M., Moritz C., Mable B.K. 1996. Molecular systematic, 2nd Edition, Sinauer Associates Inc. Sunderland. 655 P.

King T.L., Kalinowski S.T., Schill W.B., Spidle A.P., Lubinski, B.A. 2001. Population structure of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.); a range-wide perspective from microsatellite DNA variation. Molecular Ecology, 10: 807-821.

Lucentini L., Palomba A., Gigliarelli L., Sgaravizzi G., Lancioni H., Lanfaloni L., Natali M., Panara F. 2009. Temporal changes and effective population size of an Italian isolated and supportive-breeding managed northern pike (*Esox lucius*) population. Fisheries Research, 96: 139–147.

Miggiano E., Lyons R.E., Li Y., Dierens L.M., Crosettti D., Sola L. 2005. Isolation and characterization of microsatellite loci in the striped mullet, *Mugil cephalus*. Molecular Ecology Notes, 5: 323-326.

Millennium Ecosystem Assessment. 2005. Ecosystems and human well-being: Current state and trends: Findings of the conditions and trends working group of the millennium ecosystem assessment. Island Press, Washington DC. 948 P.

Nielsen E.E., Hemmer-Hansen J., Larsen P.F., Bekkevold D. 2009. Population genomics of marine fishes: identifying adaptive variation in space and time. Molecular Ecology, 18: 3128–3150.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-02]

Oosterhout C.V., Hutchinson W.F., Wills D.P.M., Shipley P. 2004. Micro-checker: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. Molecular Ecology Notes, 4: 535-538.

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

Pinera J.A., Blanco G., Vazquez E., Sanchez J.A. 2007. Genetic diversity of blackspot seabream (*Pagellus bogaraveo*) populations of Spanish Coasts: a preliminary study. Marine Biology, 151: 2153–2158.

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

Sambrook J., Fritsch E.F., Maniatis T. 1989. Electropkoresis of RNA through gels containing formaldehyde: Molecular Cloning, 2nd Edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY. 1626 P.

Selkoe K.A., Gaines S.D., Caselle J.E., Warner R.R. 2006. Current shifts and kin aggregation explain genetic patchiness in fish recruits. Ecology, 87: 3082–3094.

Soltani M., Ghasemi M., Sharif Rohani M., Sharifpoor E, Zoriyate Zahra J. 2010. Isolation and identification of Betanodavirus causing mass mortalities in golden grey mullet (*Liza auratus*) in the Caspian Sea. Iranian Journal of Veterinary Medicine, 4: 201-208.

Thai B.T., Pham T.A., Austin G.M. 2006. Genetic diversity of common carp in Vietnam using direct sequencing and SSCP analysis of the mitochondrial DNA control region. Aquaculture, 258: 228-240.

Thorpe J.P., Solé-Cava, A.M., 1994. The use of allozyme electrophoresis in vertebrate systematic. Zoologica Scripta, 23: 3-18.

Tiedemann R., Hardy O., Vekemans X., Milintkovich M.C. 2000. Higher impact of female than migration on population structure in large mammals. Molecular Ecology, 9: 1159-1163.

Verspoor E., Jordan W.C. 1989. Genetic variation at the Me-2locus in the Atlantic salmon within and between rivers: evidence for its selective maintenance. Fish Biology, 35: 205-213.

Wang M.L., Barkley N.A., Jenkins T.M. 2009. Microsatellite Markers in Plants and Insects, Part I: Applications of Biotechnology. Genes, Genomes and Genomics, 3(1): 54-67.

Waples R.S. 1998. Separating the wheat from the chaff: patterns of genetic differentiation in high gene flow species. Journal of Heredity, 89: 438-450.

Waples R.S., Gaggiotti O. 2006. What is a population? An empirical evaluation of some genetic methods for identifying the number of gene pools and their degree of connectivity. Molecular Ecology, 15: 1419–1439.

Ward R.D., Woodward M., Skibinski D.O.F. 1994. A comparison of genetic diversity levels in marine, freshwater, and anadromous fishes. Journal of Fish Biology, 44: 213-232.

Wright S. 1978. Evolution and the Genetics of Populations, Varibility within and among natural populations. University of Chicago Press, Chicago, USA. 278 P.

Xu Z., Primavera J.H., De La Pena L.D., Pettit P., Belak J., Warren A.A. 2001. Genetic diversity of wild and cultured black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) in the Philippines using microsatellites. Aquaculture, 199(1-2): 13-40.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-02]

Xu G., Shao C.H., Liao X., Tian Y., Chen S. 2009. Isolation and characterization of polymorphic microsatellite loci from soiuy mullet (*Mugil soiuy* Basilewsky, 1855). Conservation Genetics, 10: 653-655.

Yeh F.C., Yang R.C., Boyle T. 1999. POPGENE version 1.3.1. Microsoft Windowbases Freeware for population Genetic Analysis. Available: www.uallberta.ca/fyeh/. University of Alberta and the Centre for International Forestry Research.

Zar J.H. 1998. Biostatistical analysis, 4th Edition. Pentice Hall, New Jersey. 929 P.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-02]

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-02]