magiran.com

بررسی مولکولی جمعیت شانه‌دار دریای خزر (*Mnemiopsis leidyi*) به روش RAPD

فرامرز لالوئی[۱]* ؛ سهراب رضوانی گیل کلائی[۲] و محمد جواد تقوی[۳]

Laloei@yahoo.com

۱ و۳ - پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، ساری صندوق پستی: ۹۶۱

۲- موسسه تحقیقات شیلات ایران، تهران صندوق پستی ۶۱۱۶- ۱۴۱۵۵

تاریخ دریافت: اردیبهشت ۱۳۸۸ تاریخ پذیرش: تیر ۱۳۸۹

چکیده

به منظور تعیین ساختار ژنتیکی جمعیت شانه‌دار دریای خزر (*Mnemiopsis leidyi*) تعداد ۲۰۰ نمونه شانه‌دار از نواحی جنوبی دریای خزر (سواحل گیلان، مازندران و گلستان) و شمالی آن (آبهای روسیه) جمع‌آوری گردید. استخراج DNA با بهینه‌سازی روش فنل– کلروفرم انجام شد، بطوریکه غلظت آن در کلیه نمونه‌ها ۵۰ تا ۱۰۰ نانو گرم بود. جهت انجام آنالیز RAPD از ۱۹ پرایمر استفاده شده و کلیه نمونه‌ها همراه با نشانگر 50pb DNA روی ژل آگارز ۱ درصد الکتروفورز گردیدند. تجزیه و تحلیل داده‌ها و آنالیز آماری با استفاده از نرم‌افزار POPGENE صورت گرفت. پس از انجام الکتروفورز، ۱۰پرایمر از ۱۹ پرایمر، الگوهای باندی چند شکلی را نشان دادند. براساس تجزیه و تحلیل داده‌ها، میانگین تنوع ژنتیکی در مناطق نمونه‌برداری ۰/۱۸۹ بود و بیشترین تنوع در ناحیه شمالی دریای خزر مشاهده شد. همچنین بیشترین فاصله ژنتیکی بین نمونه‌های ناحیه شمالی و سواحل گلستان (۰/۰۸۹) و کمترین آن بین سواحل مازندران و گیلان دیده شد. علاوه بر این بیشترین میانگین میزان شاخص شانن در نمونه‌های ناحیه شمالی دریای خزر مشاهده گردید (۰/۰۰۱). ترسیم نمودار شجره‌ای نمونه‌ها نشان داد که نمونه‌های سواحل مازندران، گیلان و گلستان در یک شاخه و نمونه‌های ناحیه شمالی دریای خزر در شاخه جداگانه قرار دارند. همچنین تنوع ژنتیکی مشاهده شده بین نمونه‌های ناحیه شمالی (آبهای روسیه) و نمونه‌های سواحل گلستان اختلاف معنی‌داری مشاهده گردید ($P<0/05$). با توجه به نتایج بدست آمده و وجود تفاوت ژنتیکی معنی‌دار بین نمونه‌ها، می‌توان عنوان نمود که جمعیت یکسانی از شانه‌دار وجود نداشته و حداقل دو جمعیت در دریای خزر زیست می‌نمایند.

لغات کلیدی: تنوع ژنتیکی، RAPD ,*Mnemiopsis leidyi*، دریای خزر

* نویسندهٔ مسئول

magiran.com

مقدمه

شانه‌دار *Mnemiopsis leidyi* یکی از گونه‌های شانه‌داران می‌باشد که بومی مناطق مصبی سواحل غربی شمال و جنوب آمریکا است. این گونه به میزان زیاد از زئوپلانکتونها، تخم و لارو ماهیان تغذیه نموده و از این طریق می‌تواند به جمعیت ماهیان آسیب برساند. شانه‌داران سریع رشد کرده و می‌توانند به میزان زیاد تغذیه، رشد و تولید مثل نمایند (روحی و همکاران، ۱۳۸۶). طی سالهای ۱۹۸۰ تهاجم گونه *M. leidyi* به دریای سیاه بتدریج بر کل اکوسیستم اثر گذاشت بطوریکه بعنوان یکی از مهمترین دلایل کاهش شدید ذخایر و صید ماهیان پلاژیک در دریای سیاه گزارش شده است (Kideys & Moghim, 2003).

کاهش سریع تراکم تخم و لارو ماهیان و مزوزئوپلانکتونها و تغییر ترکیب گونه‌ای اکوسیستم‌ها از هشدارهای ورود این جانور محسوب می‌شوند (Konsulov & Kamburska, 1998).

پس از تهاجم *M. leidyi* به دریای خزر بعلت سرعت زیاد تکثیر طی سالهای اخیر، فراوانی و زیتوده آن به سرعت افزایش یافته و هم اکنون کل اکوسیستم دریای خزر را فرا گرفته است (روحی و همکاران، ۱۳۸۶). پس از تهاجم آن صید کیلکا ماهیان در آبهای ایران از ۹۵ هزار تن در سال ۱۳۷۸ به ۶۴ هزار تن در سال ۱۳۷۹ و ۴۵ هزار تن در سال ۱۳۸۰ و حدود ۲۱ هزار تن در سال ۱۳۸۱ کاهش یافته است (باقری و همکاران، ۱۳۸۴).

تاکنون مطالعاتی درخصوص بررسی جمعیتهای احتمالی *M. leidyi* صورت نگرفته است. Podar و همکاران در سال ۲۰۰۱ مطالعاتی را در مورد فیلوژنی شانه‌داران انجام دادند. آنان با استفاده از توالی ژن 18s rRNA، تاکساهای مهم شانه‌داران را مورد مطالعه قرار دادند.

Bridge و همکاران در سال۱۹۹۲ نیز ارتباط فیلوژنی ردهٔ Cnidaria و شاخه Ctenophora را با استفاده از mtDNA مورد مطالعه قرار دادند. نتایج نشان داد که mtDNA در آنتروزوآ به شکل مولکولهای حلقوی می‌باشد، در حالیکه سیفوزوآ، کوبوزوآ و هیدروزوآ دارای mtDNA خطی هستند. علاوه بر این نشان داده شد که شانه‌داران نیز دارای mtDNA حلقوی می‌باشند. همچنین Medlin و همکاران در سال ۱۹۹۸ فرضیات تکامل ۲۳ تاکسا از متازوآ شامل شانه‌داران را مورد ارزیابی قرار دادند.

هدف از این تحقیق بررسی مولکولی جمعیت *M. leidyi* در حوضه جنوبی و شمالی دریای خزر به روش RAPD می‌باشد تا از این طریق بتوان مارکرهای مولکولی مناسب را جهت شناسایی گونه و جمعیتهای احتمالی آن که توانسته‌اند در مناطق مختلف دریای خزر با ویژگی‌های متفاوت زیست نمایند، شناسایی و معرفی نمود.

مواد و روش کار

نمونه‌برداری از شانه‌دار دریای خزر به تعداد ۱۵۰ نمونه از حوضه جنوبی شامل ۵۰ نمونه از سواحل گیلان (منطقه آستارا)، ۵۰ نمونه از سواحل مازندران (منطقه امیرآباد) و ۵۰ نمونه از سواحل گلستان (منطقه گمیشان) و همچنین ۵۰ نمونه از خزر شمالی (آبهای روسیه) انجام گردید (شکل ۱).

کلیه نمونه‌ها با استفاده از تور چشمه ۱۰۰ میکرون و بصورت کششی جمع‌آوری گردیدند. نمونه‌ها پس از تثبیت در الکل مطلق به آزمایشگاه ژنتیک مولکولی پژوهشکده اکولوژی دریای خزر منتقل شدند.

استخراج DNA با بهینه کردن روش فنل- کلروفرم از بافت شانه‌دار انجام شد (Fevolden & Pogson, 1997) و بررسی کمی و کیفی DNA استخراج شده توسط دستگاه بیوفتومتر (مدل اپندورف) و الکتروفورز ژل آگارز ۱ درصد صورت پذیرفت.

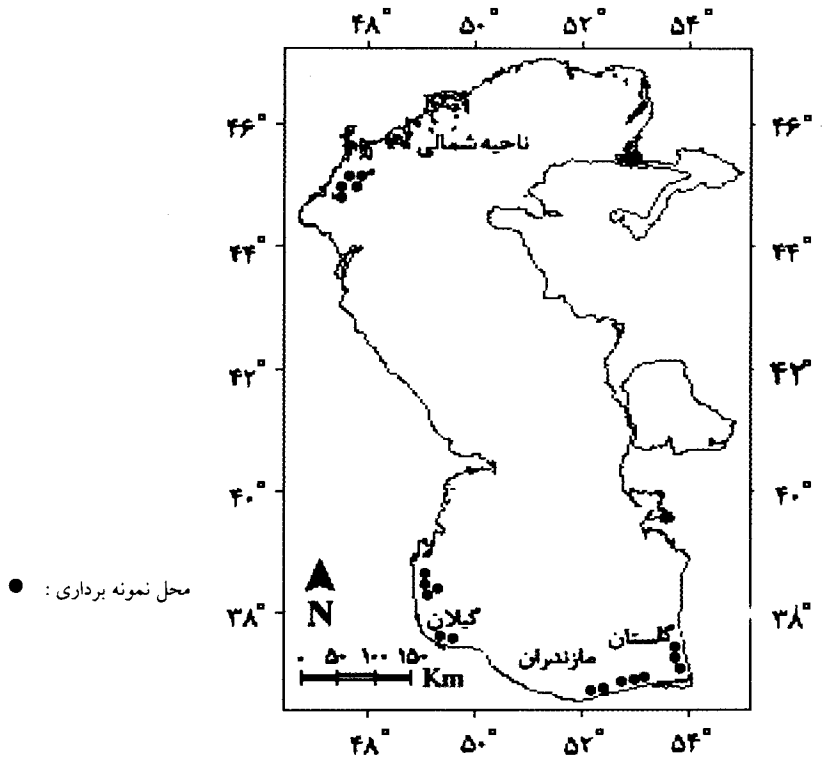
برای انجام واکنش RAPD از ۱۹ پرایمر تصادفی ۱۰ نوکلئوتیدی (NAPS unit of standard primers) استفاده گردید (جدول ۱). واکنش PCR با استفاده از ۵µl بافر PCR (۱۰X)، dNTP با غلظت ۲۰۰µM، ۱ واحد آنزیم Taq DNA polymerase، $MgCl_2$ با غلظت ۲/۵ mM، ۲۰ نانوگرم DNA هدف و آب مقطر به اندازه‌ای که حجم نهایی محلول واکنش به ۲۵µl برسد، انجام شد.

برنامه دستگاه ترمال سایکلر (مدل Auto-Q شرکت Quanta biotech) بترتیب: مرحله اول واسرشته شدن (Denaturation) ۹۴ درجه سانتیگراد به مدت ۶۰ ثانیه، مرحله دوم اتصال پرایمرها به هدف (Annealing) ۳۶ تا ۴۱ درجه سانتیگراد به مدت ۶۰ ثانیه و مرحله سوم بسط پرایمر (Extension) ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۲ دقیقه برای ۳۰ چرخه تنظیم گردید.

به منظور مشاهده باندهای حاصل از واکنش PCR از الکتروفورز ژل آگارز ۱ درصد و رنگ‌آمیزی نیترات نقره همراه با نشانگر 50pb DNA استفاده شد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار POPGENE ver. 1.31 انجام شد (Yeh *et al.*, 1999). همچنین نمودار خوشه‌ای برای نمونه‌های مورد مطالعه براساس میانگین فاصله ژنتیکی با استفاده از روش UPGMA رسم گردید (Nei,1972).

magiran.com



شکل ۱: موقعیت ایستگاههای نمونه‌برداری

جدول ۱ : توالی پرایمرهای تصادفی مورد استفاده در واکنش PCR

شماره	توالی	شماره	توالی
۱	ACT TGT GCG G	۱۱	CAA GGG AGG T
۲	TGG GCT CGC T	۱۲	GAG CTC GCG A
۳	CCC ACT GAC G	۱۳	CAA GGG AGG T
٤	GCT GCT GGA G	١٤	GAG CTC GCG A
٥	GGT GGC GGG A	١٥	GGG CAC GCG A
٦	GCT GCT GGA G	١٦	GAG GGC AAG A
٧	GAG GTC CAG A	١٧	TTC CCC GCG C
٨	ATC GGG TCG G	١٨	GAG CAC CAG G
٩	GCT GCT GGA G	١٩	CCT GGG CTT C
١٠	CTT TCG TGC T		

نتایج

در این بررسی تعداد ۲۰۰ نمونه شانه‌دار برای استخراج DNA مورد استفاده قرار گرفت. غلظت DNA برای کلیه نمونه‌ها ۵۰ تا ۱۰۰ نانوگرم بود که با توجه به الکتروفورز ژل آگارز از کیفیت مناسبی برخوردار بودند. جهت انجام واکنش RAPD تعداد ۱۹ پرایمر مورد استفاده قرار گرفت. از این تعداد پرایمر، ۱۰ پرایمر الگوهای باندی چند شکلی را بین نمونه‌های مورد بررسی نشان دادند که در مجموع ۱۴۴ باند ایجاد گردید. با توجه به جدول۲ نمونه‌های ناحیه شمالی دریای خزر با ۴۹/۳۱

magiran.com

درصد دارای بیشترین باندهای چند شکلی و نمونه‌های سواحل مازندران با ۴۷/۲۲ درصد دارای کمترین باندهای چند شکلی بودند.

جدول ۳ نشان می‌دهد که بیشترین میانگین تعداد آللهای مشاهده شده و آللهای موثر در ناحیه شمالی بترتیب۱/۴۹۲ و ۱/۳۰۴ و کمترین آن در سواحل مازندران بود. ضمن اینکه میانگین تعداد آللهای مشاهده شده و تعداد آللهای موثر در کل مناطق نمونه‌برداری شده، بترتیب ۱/۴۹۳ و ۱/۳۳۶ بوده است.

براساس شاخص تنوع ژنتیکی Nei در سال ۱۹۷۳ میزان تنوع در نمونه‌های سواحل گلستان از ۰/۰۵ تا ۰/۱۱، در سواحل مازندران ۰/۰۱ تا ۰/۰۲، در سواحل گیلان ۰/۰۶ تا ۰/۱۸ و در نمونه‌های ناحیه شمالی دریای خزر از ۰/۱۲ تا ۰/۲۸ برآورد گردید. بر این اساس بیشترین تنوع در ناحیه شمالی دریای خزر مشاهده گردیده است.

میانگین تنوع ژنتیکی در نمونه‌های سواحل مازندران، گیلان، گلستان و ناحیه شمالی دریای خزر بترتیب ۰/۱۳۹، ۰/۱۴۶، ۰/۱۳۳ و ۰/۱۷۲ و میانگین تنوع ژنتیکی در کل مناطق نمونه‌برداری شده ۰/۱۸۹ بود (جدول ۳). همانگونه که جدول ۳ نشان می‌دهد بیشترین میانگین تنوع ژنتیکی مربوط به ناحیه شمالی دریای خزر بوده است.

براساس محاسبات انجام شده، بیشترین میانگین میزان شاخص شانن در ناحیه شمالی دریای خزر (۰/۲۵۶) و کمترین آن در سواحل گلستان (۰/۲۰۶) مشاهده گردید. ضمن اینکه میانگین این شاخص در کل نمونه‌های مورد بررسی ۰/۲۵۶ بود.

در جدول ۴ فواصل ژنتیکی بین نمونه‌های شانه‌دار بصورت ماتریسی براساس فاصله ژنتیکی برآورد شده است (Nei, 1972, 1978). بیشترین فاصله ژنتیکی بین نمونه‌های سواحل گلستان با ناحیه شمالی دریای خزر (۰/۰۸۹) و کمترین فاصله بین نمونه‌های سواحل مازندران با گیلان (۰/۰۰۱) می‌باشد. ضمن اینکه میانگین فاصله ژنتیکی بین مناطق نمونه‌برداری شده نیز ۰/۰۴۱ بود.

جدول ۲: تعداد و درصد باندهای چند شکلی مشاهده شده در نمونه‌های شانه‌دار دریای خزر

مناطق	مازندران	گلستان	گیلان	ناحیه شمالی
تعداد	٦٨	٧٠	٦٩	٧١
درصد	٤٧/٢٢	٤٨/٦١	٤٧/٩٢	٤٩/٣١

جدول۳: میانگین تعدادآللهای مشاهده شده، آللهای موثر، تنوع ژنتیکی و شاخص شانن در مناطق مختلف نمونه‌برداری از شانه‌دار دریای خزر

مناطق	آلل مشاهده شده	آلل قابل انتظار	تنوع ژنی	شاخص شانن
مازندران	١/٤٧٢	١/٢٣٨	٠/١٣٩	٠/٢١٣
گیلان	١/٤٧٩	١/٢٥٠	٠/١٤٦	٠/٢٢٣
گلستان	١/٤٨٦	١/٢٢٤	٠/١٣٣	٠/٢٠٦
ناحیه شمالی	١/٤٩٣	١/٣٠٤	٠/١٧٢	٠/٢٥٦
میانگین	١/٤٩٣	١/٣٣٦	٠/١٨٩	٠/٢٧٦

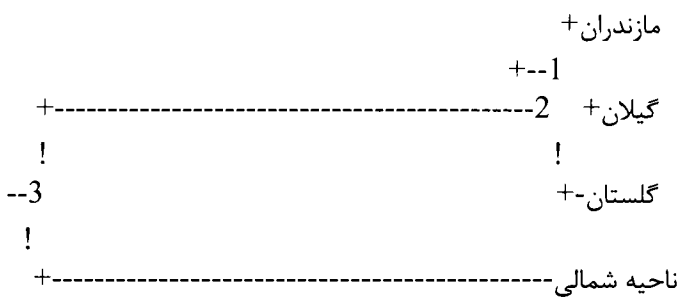
جدول٤ : فواصل ژنتیکی در چهار منطقه نمونه‌برداری شده از شانه‌دار دریای خزر

مناطق	مازندران	گیلان	گلستان	ناحیه شمالی
مازندران	٠/٠٠٠	٠/٩٩٨	٠/٩٩٦	٠/٩٢٦
گیلان	٠/٠٠١	٠/٠٠٠	٠/٩٩٦	٠/٩٣١
گلستان	٠/٠٠٤	٠/٠٠٤	٠/٠٠٠	٠/٩١٥
ناحیه شمالی	٠/٠٧٦	٠/٠٧٢	٠/٠٨٩	٠/٠٠٠

magiran.com

علاوه بر این میزان جریان ژنی بین نمونه‌های سواحل مازندران و گیلان ۴۵۰/ ۴، بین سواحل گلستان و ناحیه شمالی ۲/۱۲۴ و بین مناطق نمونه‌برداری شده ۲/۰۴۷ بود.

ترسیم نمودار شجره‌ای نمونه‌های شانه‌دار در ۴ منطقه مورد بررسی براساس فاصله ژنتیکی Nei (۱۹۷۲) و به روش UPGMA انجام گرفت. براساس نتایج حاصله (شکل ۲) نمونه‌های سواحل مازندران، گیلان و گلستان در یک شاخه و نمونه‌های ناحیه شمالی دریای خزر در شاخه‌ای جداگانه قرار گرفت. ضمن اینکه در شاخه اول، نمونه‌های سواحل مازندران و گیلان مجدداً در یک شاخه و نمونه‌های سواحل گلستان در شاخه دیگر قرار گرفته است. بدین ترتیب خوشه ۳ شامل نمونه‌های شانه‌دار ناحیه شمالی همراه با خوشه ۲، خوشه ۲ شامل خوشه ۱ و نمونه‌های سواحل گلستان و در نهایت خوشه ۱ شامل نمونه‌های سواحل مازندران و گیلان می‌باشد. با توجه به محاسبات انجام شده، بیشترین فاصله بین نمونه‌های ناحیه شمالی با خوشه ۳ بود (۳/۹۴) و کمترین طول بین نمونه‌های سواحل مازندران و خوشه ۱ و همچنین نمونه‌های سواحل گیلان با خوشه ۱ بود.



شکل ۲ : نمودار شجره‌ای نمونه‌های شانه دار دریای خزر

بحث

از آنجائیکه تفکیک جمعیتها و شناسایی ذخایر ژنتیکی براساس داده‌های ریخت‌شناسی از ضریب اطمینان کمتری نسبت به داده‌های مولکولی برخوردار می‌باشد و از طرفی چون تفاوتهای مورفولوژی و فیزیولوژی از ذخایر ژنومی هر ارگانیسم ناشی می‌شود، به همین دلیل بررسی تنوع ژنتیکی در بین جمعیتها و نیز بین افراد داخل جمعیت بدلیل تغییرات شرایط محیطی ضروری است (Sivasundar & Biemann, 2005)

در این بررسی، براساس داده‌های جمع‌آوری شده و تجزیه و تحلیل آماری، بیشترین و کمترین درصد چند شکلی باندهای مشاهده شده بترتیب مربوط به ناحیه شمالی و سواحل مازندران بود. با توجه به اینکه بیشترین درصد چند شکلی باندها مربوط به ناحیه شمالی دریای خزر می‌باشد، بنابراین چنین استنباط می‌گردد که نمونه‌های این منطقه دستخوش بیشترین تغییرات محیطی واقع شده است.

با توجه به اینکه ناحیه شمالی دریای خزر از نظر عمق، شوری و دما با نواحی میانی و جنوبی متفاوت می‌باشد، افراد این ناحیه دارای ساختار ژنتیکی متفاوت با سایر مناطق دریای خزر بوده که توانسته‌اند در آبهایی با شوری کم و شرایط زیستی متفاوت زندگی نمایند. این امر می‌تواند بدلیل تکثیر فراوان و احتمال زیاد بروز موتاسیون به ازاء زادآوری بالایی که این گونه دارد، ناشی گردد.

شاخص شانن نیز بعنوان یکی از معیارهای تنوع ژنی برای جمعیتها مورد استفاده قرار می‌گیرد. با توجه به اینکه شاخص شانن در نمونه‌های مربوط به ناحیه شمالی دریای خزر بیشترین مقدار می‌باشد (۰/۲۵۶)، می‌توان نتیجه گرفت که این ناحیه دارای بیشترین چند شکلی است. با در نظر گرفتن مقادیر بدست آمده می‌توان استنباط نمود که جایگاههای نوکلئوتیدی متفاوت منجر به بروز تفاوت ژنتیکی بالایی در نمونه‌های شانه‌دار ناحیه شمالی دریای خزر شده است.

یکی از مشکلات در آنالیز ساختار جمعیتی مربوط به محاسبه مقدار جریان ژنی می‌باشد. جریان ژنی یکی از مهمترین معیارها در تکوین ساختار جمعیتی گونه‌های مورد مطالعه است. بطوریکه میزان آن بیانگر واحد تکاملی مستقل جمعیتهای محلی یک منطقه می‌باشد (Slatkin, 1993). در صورتیکه جریان ژنی

magiran.com

بین جمعیتها زیاد باشد، بیانگر تکامل گروهی آنها بوده و در صورتیکه کم باشد، نشانگر این است که هر یک از جمعیتها تقریباً بطور مستقل از یکدیگر تکامل یافته‌اند (Slatkin, 1993).

بنابراین تفاوتهای بالای ژنتیکی بین جمعیتها زمانی رخ می‌دهد که میزان جریان ژنی کمتر از یک باشد و زمانیکه میزان جریان ژنی بزرگتر از یک باشد، بیانگر این است که جریان ژنی بحدی زیاد است که موجب جلوگیری از تفاوتهای ناشی از انتخاب طبیعی شده است (Tremblay & Ackerman, 2001).

بنابراین میزان جریان ژنی بدست آمده در این بررسی، برای تمام مناطق نمونه‌برداری (۲/۰۴۷) بیانگر این است که جریان ژنی بحدی است که باعث عدم بروز تفاوت ژنتیکی بالا می‌گردد.

همانگونه که ذکر گردید، نمونه‌های شانه‌دار ناحیه شمالی دریای خزر دارای بیشترین میزان تنوع ژنتیکی نسبت به سایر مناطق بود (۰/۲۵۶) که این امر می‌تواند حاکی از بروز تفاوتهای ژنتیکی بعلت متفاوت بودن خصوصیات اکولوژیک منطقه نسبت به سایر مناطق دریای خزر باشد.

تجزیه و تحلیل‌های انجام شده نشان می‌دهد که اثرات درجه حرارت، شوری، دسترسی به شکار و شکارچی از مهمترین عوامل موثر در جمعیت شانه‌دار می‌باشد (Shiganova *et al.*, 2001; Marco *et al.*, 2006).

آنچه که از میزان فواصل ژنتیکی و برخی خویشاوندی نمونه‌های شانه‌دار استنباط می‌شود، این است که نمونه‌های سواحل مازندران و گیلان از شباهت ژنتیکی نسبتاً بالایی برخوردار بوده و نمونه‌های سواحل گلستان نیز از شباهت ژنتیکی کمتری نسبت به دو استان دیگر برخوردار است. نمونه‌های شانه‌دار ناحیه شمالی دریای خزر با توجه به اینکه در شاخه مجزایی قرار گرفته‌اند، از تنوع ژنتیکی نسبتاً متفاوتی نسبت به سایر نمونه‌ها برخوردار می‌باشند. این موضوع بیانگر این است که شانه‌دار دریای خزر ممکن است از منابع واحد یا جمعیت واحد به طریقی وارد دریای خزر شده و بعد با توجه به شرایط مناسب دریای خزر دچار تغییرات ژنتیکی شده است یا اینکه این گونه از ابتدا از منابع متفاوتی وارد دریای خزر گردیده و متناسب با شرایط زیستی خود، در سرتاسر دریای خزر پراکنده گردیده است.

با توجه به موارد فوق و وجود تفاوت ژنتیکی معنی‌دار بین نمونه‌ها، می‌توان عنوان نمود که جمعیت واحدی از شانه‌دار در دریای خزر وجود نداشته و می‌توان عنوان نمود که با این بررسی حداقل دو جمعیت از این گونه در دریای خزر وجود دارد. بطور کلی با توجه به نتایج بدست آمده و فرضیه تحقیق می‌توان عنوان نمود که پرایمرهای RAPD می‌توانند تنوع ژنتیکی را در بین نمونه‌های مختلف شانه‌دار در ناحیه شمالی و جنوبی دریای خزر آشکار سازند.

در این رابطه پیشنهاد می‌گردد، این تحقیق بصورت گسترده‌تر با جمع‌آوری نمونه‌هایی از نواحی شمالی و میانی دریای خزر و همچنین از دریای سیاه انجام تا بتوان براساس نتایج بدست آمده جمعیتهای بیشتری شناسایی نمود.

منابع

باقری، س.؛ سبک‌آرا، ج.؛ روحی، ا.؛ پرافکنده حقیقی، ف.؛ قاسمی، ش. و رضوانی، ب.ع.، ۱۳۸۴. بررسی فراوانی و پراکنش شانه‌داران در حوزه جنوبی دریای خزر (سواحل استان گیلان). موسسه تحقیقات شیلات ایران. گزارش نهائی پروژه. ۳۲ صفحه.

روحی، ا.؛ نادری، م.؛ واحدی، ف.؛ قاسمی، ش.؛ افرایی، م.ع.؛ باقری، س. و رستمیان، م.ت.، ۱۳۸۶. بررسی فراوانی و پراکنش شانه‌داران و امکان مبارزه بیولوژیک با آنها در حوزه جنوبی دریای خزر. موسسه تحقیقات شیلات ایران. گزارش نهائی پروژه. ۵۳ صفحه.

Bridge D., Cunningham C.W., Schierwater B., Desalle R. and Buss L.W., 1992. Proceedings of the National Academy of Sciences, USA. 89:8750–8753.

Fevolden S.E. and Pogson G.H., 1997. Genetic divergence at the synaptophysin locus among Norwegian coastal and North–east Arctic population of Atlantic Cod. Journal of Fish Biology, 51:895-908.

Konsulov A.S. and Kamburska L.T., 1998. Ecological determination of the new Ctenophore, *Beroe ovata*, invasion in the Black Sea. Oceanology. Proceedings Institute of Oceanography Varna. 2:95-198.

Kideys A.E. and Moghim M., 2003. Distribiotion of the alien Ctenophora *Mnemiopsis leidy* in the Caspian Sea in August 2001. Marine Biology, 142:163-171.

magiran.com

Marco M., Faasse A. and Bayha M., 2006. The Ctenophore *Mnemiopsis leidy* A. Agassiz 1865 in coastal waters of the Netherlands: An unrecognized invasion? Aquatic Invasions, 1(4):270-277.

Medlin L., Elwood H.J., Stickel S. and Sogin M.L., 1998. The characterization of enzymatically amplified eukaryotic 16S-like rRNA-coding regions. Gene, 71:491–499.

Nei M., 1972. Genetic distance between populations. American Naturalist, 106:283-292.

Nei M., 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. Proceedings of the National Academy of Sciences, USA. 70:3321-3323.

Nei M., 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. Genetics, 89:583-590.

Podar M., Haddock S.H.D., Sogin M.L. and Harbison G.R., 2001. A molecular phylogenetic farmework for the phylum Ctenophora using 18S rRNA genes. Molecular Phylogenetic and Evolution, 21:218-230.

Tremblay R.L. and Ackerman J.D., 2001. Gene flow and effective population size in Leopanthes (Orchidaceas): A case for genetic drift. Biological Journal of the Linnean Society, 72:47-62.

Shiganova T.A., Mirzoyan A., Studenikina E.A., Volovik S.P., Zervoudaki S.O., Cristou E.D., Skirta A.Y. and Dumont H.J., 2001. Population development of the invader ctenophore *Mnemiopsis leidyi*, in the Black Sea and in the others sea of the Mediterranean basin. Marine Biology, 139:431-445.

Sivasundar A. and Biemann C.H., 2005. Genetic evidence of postglacial population expansion in Puget sound rockfish (*Sebastes emphaeus*). Marine Biotechnology, 7:223-230.

Slatkin M., 1993. Isolation by distance in equilibrium and non-equilibrium population. Evolution, 47:264-279.

Yeh F.C., Yang R.C. and Boyle T., 1999. Popgene, Version 1.31.

magiran.com

Investigation of genetic structure in populations of *Mnemiopsis leidyi* from north and south of Caspian Sea using RAPD Method

Laloei F.[(1)*]; Rezvani Gilkolaei S.[(2)] and Taghavi M.J.[(3)]

Laloei@yahoo.com

1,3- Caspian Sea Ecology Research Center, P.O.Box: 961 Sari, Iran

2- Iranian Fisheries Research Organization, P.O.Box: 14155-6116 Tehran, Iran

Received: May 2009 Accepted: July 2010

Keywords: Genetic diversity, RAPD, *Mnemiopsis leidyi*, Caspian Sea

Abstract

The molecular structure in populations of *Mnemiopsis leidyi* were examined for 200 samples from the south (Guilan, Mazandaran and Golestan provinces) and north of the Caspian Sea. DNA was extracted from *M. leiydi* tissue by phenol-chlorophorm method and its concentration was found at 50 to 100ng. We used the PCR method using 19 random primers (10bp). The PCR products of samples were accompanied with standard marker (50bp DNA). To measure fragment size, samples were run on a 1% agarose gel. Ten of the ninteen primers showed polymorphism. Statistical analysis of data was performed using POPGENE software. The avarage genetic variation was 0.189 in total samples and the maximum variation was found in samples from north of the Caspian Sea. Also, The maximume genetic distance was between north of the Sea and Golestan coasts in the south (0.089). The minimum genetic distance was between Mazandaran and Guilan coasts (0.001). The UOGMA dendogram showed two clusters. The samples of Mazandaran, Guilan and Golestan coasts were placed in one cluster and samples of the north area in another. The genetic diversity was significantly different between samples of the north area and Golestan coasts ($P<0.05$). We found a significant genetic divergence between some samples and therefore suggested at least two genetic groups of *Mnemiopsis leidyi* in the Caspian Sea.

* Corresponding author