

مقایسه ژنتیکی ماهی سفید دریای خزر (*Rutilus frisii kutum* (Kamenskii, 1901) در رودخانه‌های گرگانرود و چشمه کیله (تنکابن) با استفاده از نشانگرهای ریزماهوره

محمد رضایی*، کارشناس ارشد گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران
علی شعبانی، استادیار گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران
بهاره شعبانپور، استادیار گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران
حدیثه کشیری، دانشجوی دکتری شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران

چکیده

ساختار ژنتیکی ماهی سفید سواحل جنوبی دریای خزر، با استفاده از نشانگر ریزماهوره بررسی گردید. تعداد ۵۰ قطعه ماهی در بهار ۸۵، از رودخانه‌های گرگانرود (استان گلستان) و چشمه کیله (استان مازندران) صید شدند. از ده جایگاه ژنی ریزماهوره‌ای، (Ca1, Ca3, CypG3, CypG24, CypG27, CypG30, Lid1, Rru2, Rru4, Z21908) در این بررسی استفاده شدند که هر ده جایگاه ژنی چندشکلی نشان دادند. میانگین تعداد ال در سطح جمعیت‌ها ۷/۹۵ بود که پایین‌تر از مقدار مشاهده شده در ماهیان رود کوچک است. هر دو جمعیت علایمی از بروز تنگنای ژنتیکی نشان دادند. مقدار هتروزیگوسیتی مشاهده شده در گرگانرود ۰/۸۰ و در چشمه کیله ۰/۷۴ به دست آمد. از میان ۲۰ تست جایگاه ژنی - جمعیت در ۱۱ تست انحراف معنی داری از تعادل هاردی - واینبرگ مشاهده شد. نتایج به دست آمده از F_{st} (۰/۰۰۸) و R_{st} (۰/۰۴) تمایز ژنتیکی پایینی را میان مناطق نشان داد. همچنین، بر اساس آنالیز واریانس مولکولی، تنها ۴ درصد تنوع مشاهده شده مربوط به بین جمعیت‌هاست. میزان فاصله ژنتیکی میان مناطق نیز ۰/۰۳ به دست آمد. به نظر می‌رسد مدیریت نامناسب برنامه بازسازی ذخایر ماهی سفید تأثیراتی منفی بر روی ساختار ژنتیکی این گونه گذاشته است.

واژه‌های کلیدی: تنوع ژنتیکی، دریای خزر، ریزماهوره، ساختار ژنتیکی، *Rutilus frisii kutum*

مقدمه

آلودگی، معرفی گونه‌های شکارچی و رقیب و یا ورود بیماری‌ها قادر به بقا در محیط‌های طبیعی نامناسب نیستند. در آینده نیز، گونه‌های بسیار بیشتری به این وضعیت دچار خواهند شد (Millennium Ecosystem Assessment, 2005; IUCN, 2006).

در حال حاضر، بسیاری از گونه‌های در معرض خطر برای محفوظ ماندن از خطر انقراض، نیاز به تکثیر مصنوعی دارند، زیرا به علت تأثیرات مستقیم یا غیر مستقیم انسانی، همچون از دست رفتن زیستگاه‌ها، بهره‌برداری بیش از حد،

جنوبی ترین بخش های این دریا در نواحی نزدیک به خط ساحلی زندگی می کند. این گونه، از مهمترین ماهیان استخوانی دریای خزر محسوب می گردد و در میان ساکنان سواحل دریای خزر به خاطر گوشت خوش طعم دارای محبوبیت بالایی است (Paykan Heyrati *et al.*, 2007). بیشترین میزان صید این گونه در طی دهه های گذشته در سال ۱۳۱۸ گزارش شده است، ولی میزان آن در طی سال های بعد به دلیل صید بیش از حد و نیز نامساعد شدن مناطق تخم ریزی طبیعی، این ماهی در رودخانه های جنوبی دریای خزر در اثر شن برداری و ورود فاضلاب های کشاورزی و صنعتی، روند کاهشی نشان داد تا اینکه در اوایل دهه ۶۰ به حداقل میزان خود رسید (ولی پور و خانی پور، ۱۳۸۸). بنابراین، سازمان شیلات ایران برنامه بازسازی ذخایر و تکثیر مصنوعی این گونه را شروع کرد. نتایج تحقیقات نشان می دهد که ضریب رشد ماهی سفید در سال های اخیر کاهش بارزی نشان داده است به این صورت که میزان افزایش طول و وزن آن به ازای سن در سال های اخیر به تدریج کاهش یافته است، که این امر، می تواند مربوط به برنامه بازسازی ذخایر سالانه این گونه باشد (ولی پور و خانی پور، ۱۳۸۸).

Coad (۲۰۰۰) با استفاده از ۱۸ معیار، ماهی سفید را به عنوان یکی از چهار گونه ماهی در معرض خطر ایران معرفی کرد. متأسفانه، تاکنون اطلاعاتی در مورد تنوع ژنتیکی این گونه در میان مناطق مختلف منتشر نشده است، بنابراین، با توجه به اهمیت بالای این گونه و همچنین از آنجا که داشتن اطلاعات در مورد ساختار ژنتیکی این گونه و تشخیص جمعیت های مختلف آن برای استفاده در برنامه های بازسازی ذخایر و حفظ تنوع این گونه ارزشمند ضروری است، در این تحقیق، از ۱۰ جایگاه ژنی ریزماهواره ای برای بررسی وضعیت ژنتیکی ماهی سفید در

تکثیر حمایتی یک استراتژی مدیریت جمعیت است، که در آن بالغین از طبیعت صید و در شرایط کنترل شده تکثیر می شوند و نتایج به دست آمده را بعداً در طبیعت رهاسازی می کنند. در سال ها یا دوره های بعد دوباره بالغین صید و فرآیند تکرار می شود (Fiumera *et al.*, 1999).

مطالعات Blanchet و همکاران (۲۰۰۸) بر آزاد ماهی اقیانوس اطلس (*Salmo salar*) نشان داد که با وجود فواید بالقوه در این شیوه تکثیر، تغییرات مورفولوژیک و ژنتیکی بارزی در میان نمونه های تکثیر مصنوعی و وحشی دیده می شود و این روش در طولانی مدت ممکن است به کاهش تنوع ژنتیکی درون جمعیتی، ذخایر ژنی بومی منجر شود (Machado-Schiaffino *et al.*, 2007). تنوع ژنتیکی، قابلیت بقای یک گونه یا جمعیت را از طریق ایجاد توانایی سازگاری با تغییرات محیطی فراهم می کند. بنابراین، تنوع ژنتیکی برای بقای طولانی مدت یک گونه ضروری است (Bataillon *et al.*, 1996).

به طور کلی مدیریت تنوع ژنتیکی در موجودات، نیازمند ارزیابی ساختار ژنتیکی و تفکیک ذخایر گونه مورد نظر است (Pujolar *et al.*, 2009). بنابراین، آگاهی و بررسی دایمی وضعیت ژنتیکی گونه هایی که در معرض تکثیر مصنوعی قرار دارند، برای حفظ و مدیریت آنها ضروری است. در میان نشانگرهای مولکولی که در مطالعات ژنتیک جمعیت استفاده می شوند، ریزماهواره ها به دلیل فراوانی و گستردگی بالا در ژنوم، همباز بودن، توارث مندلی، کوچک بودن اندازه جایگاه ژنی و در نتیجه سهولت تعیین ژنوتیپ از طریق واکنش زنجیره ای پلیمرز و همچنین چندشکلی بالایشان مناسبتر هستند (Dewoody and Avise, 2000; Chen *et al.*, 2008).

ماهی سفید (*Rutilus frisii* (Kamenskii, 1901) از رودخانه ترک در شمال دریای خزر تا

چشمه کیله (E ۵۹.۲۷' ۵۰° N ۱۲.۳۸' ۳۶°) در استان مازندران (شکل ۱) تعداد ۵۰ قطعه مولد ماهی سفید (۲۵ نمونه از هر منطقه) توسط مراکز صید سازمان شیلات ایران صید گردید. از هر قطعه، به میزان حدود ۲ گرم باله دمی جداسازی و برای نگهداری طولانی مدت در الکل اتیلیک ۹۵ درصد قرار داده شد.

دو رودخانه مهم سواحل جنوبی دریای خزر (گرگانرود و چشمه کیله) استفاده شد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه و استخراج DNA

در بهار ۱۳۸۵ از رودخانه گرگانرود (E ۱۶.۱۰' ۰' ۵۴° N ۳۶.۶۴' ۵۸°) در استان گلستان و رودخانه



شکل ۱- مناطق نمونه‌برداری ماهی سفید

رسوب DNA در آب مقطر دو بار تقطیر حل و برای نگهداری طولانی مدت در فریزر ۲۰- قرار داده شد. از ژل آگاروز ۱ درصد و بیوفتومتر برای تعیین کیفیت و کمیت DNA استفاده شد.

آنالیز مولکولی

ده جایگاه ژنی ریزماهوره‌ای Ca3، Ca1، CypG24، CypG3 (Dimsoski *et al.*, 2000)، CypG30، CypG27 (Baerwald and May, 2004)، Rru4، Rru2، Lid1 (Barinova *et al.*, 2004) و Z21908 (<http://zfin.org>) که در ماهی کلمه (*Rutilus rutilus*) حالت چندشکلی نشان داده بودند، از

DNA هسته‌ای، با استفاده از هضم پروتئیناز-K-(Sigma)، استخراج فنل-کلروفرم و رسوب اتانولی طبق روش عنوان شده توسط Hillis و همکاران (۱۹۹۶) استخراج شد. به طور خلاصه، نمونه بافت با استفاده از پروتئیناز-K در بافر استخراج (۱۰۰ میلی‌مول تریس اسیدی (Merck)، ۱۰ میلی‌مول EDTA یا اتیلن دی آمین تترا استیک اسید (Merck)، ۲۵۰ میلی‌مول کلرید سدیم و سولفات دودسیل سدیم (SDS) ۱ درصد: pH=۸) با نگهداری ۱۲ ساعته در دمای ۵۵ درجه هموژن و هضم گردید. بافت تجزیه شده با استفاده از روش فنل-کلروفرم خالص سازی و DNA از طریق اضافه کردن اتانول سرد و سانتریفیوژ کردن لوله‌های سانتریفیوژ رسوب داده شد.

دقیقه، با یک بسط نهایی ۷۲ درجه برای ۳ دقیقه. محصولات واکنش زنجیره‌ای پلیمرز بر روی ژل پلی آکریل آمید ۱۰ درصد (غیر یونیزه) جداسازی شدند. از نشانگر DNA (Ladder ۵۰ bp Fermentas) به عنوان شاخص برای تعیین اندازه الی استفاده شد در ادامه، ژل‌ها با استفاده از روش نیترا نقره (Bassam *et al.*, 1991) رنگ آمیزی شدند و پس از تهیه تصویر آنها توسط دستگاه مستندساز ژل، از نرم‌افزار ژل پرو آنالیزور (Gel pro analyser 3.0) برای محاسبه طول قطعات استفاده گردید.

مطالعات انتشار یافته انتخاب شدند. تکثیر جایگاه‌های ژنی با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمرز در حجم ۲۵ میکرولیتری و شرایطی شامل: ۱۵ نانوگرم DNA، ۰/۵ میکرومولار از هر پرایمر، ۴۰۰ میکرومولار از نوکلئوتیدها، یک واحد بین‌المللی Taq پلیمرز (Fermentas)، بافر ۱۰X PCR (Fermentas)، ۱/۵ میلی مولار کلرید منیزیم و آب مقطر تا رسیدن به حجم انجام گرفت. شرایط چرخه دمایی برای هر جایگاه ژنی عبارت بود از: ۳ دقیقه در ۹۴ درجه در ادامه ۳۵ چرخه شامل ۹۴ درجه برای ۳۰ ثانیه، درجه حرارت اتصال (جدول ۱) ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه برای ۱

جدول ۱- خصوصیات جایگاه‌های ژنی مورد استفاده در این بررسی

جایگاه ژنی	کد دسترسی	پرایمر	دمای اتصال
Ca1	AF277573	F: AAG ACG ATG CTG GAT GTT TAC R: CTA TAG CTT ATC CCG GCA GTA	۵۵
Ca3	AF277575	F: GGA CAG TGA GGG ACG CAG AC R: TCT AGC CCC CAA ATT TTA CGG	۵۲
CypG3	AY439122	F: AGT AGG TTT CCC AGC ATC ATT GT R: GAC TGG ACG CCT CTA CTT TCA TA	۵۹
CypG24	AY439142	F: CTG CCG CAT CAG AGA TAA ACA CTT R: TGG CGG TAA GGG TAG ACC AC	۵۸
CypG27	AY439145	F: AAG GTA TTC TCC AGC ATT TAT R: GAG CCA CCT GGA GAC ATT ACT	۴۹
CypG30	AY439148	F: GAA AAA CCC TGA GAA ATT CAA AAG A R: GGA CAG GTA AAT GGA TGA GGA GAT A	۵۲
Lid1	AB112732	F: TAA AAC ACA TCC AGG CAG ATT R: GGA GAG GTT ACG AGA GGT GAG	۵۱
Rru2	AB112738	F: TTC CAG CTC AAC TCT AAA GA R: GCA CCA TGC AGT AAC AAT	۴۶
Rru4	AB112740	F: TAA GCA GTG ACC AGA ATC CA R: CAA AGC CTC AAA AGC ACA A	۵۴
Z21908	G40270	F: ATT GAT TAG GTC ATT GCC CG R: AGG AGT CAT CGC TGG TGA GT	۵۹

آنالیز آماری

خطاهای دسته‌بندی، از دست دادن ال‌های بزرگ و وجود ال‌های نول با استفاده از نرم‌افزار Microchecker 2.2.1 (Oosterhout *et al.*, 2004) بررسی شد. تست عدم تعادل پیوستگی (disequilibrium) |

(linkage)، بین جفت جایگاه‌های ژنی، همچنین تست‌های احتمال انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ طبق روش زنجیره Markov، با استفاده از نرم‌افزار GENEPOP 3.1 (Raymond and Rousset, 2003) انجام شد. به منظور تعیین دلیل انحراف از تعادل، ضریب درون آمیزی (F_{is}) و

سطح معنی‌داری تست‌های تکرار شونده ضریب تصحیح یونفرونی استفاده شد (Rice, 1989).

نتایج

هر ده جایگاه ژنی مورد استفاده در این بررسی چند شکلی نشان دادند. نتایج به دست آمده از نرم‌افزار (Microchecker)، علایمی از وجود خطای دسته‌بندی یا از دست دادن الل‌های بزرگ را نشان نداد، ولی ممکن است که در جایگاه‌های ژنی CypG3، CypG30 و Lid1 در هر دو منطقه و جایگاه ژنی CypG27 در منطقه گرگانرود الل‌های نول وجود داشته باشند. در سطح ده جایگاه ژنی مورد بررسی، ۸۹ الل مختلف با میانگین ۸/۹ الل در هر جایگاه ژنی مشاهده شد که جایگاه‌های ژنی CypG24 (۱۳ الل) و Z21908 (۵ الل)، به ترتیب بیشترین و کمترین تعداد الل را نشان دادند.

در سطح مناطق مورد بررسی نیز، جایگاه ژنی Z21908 (۳ الل) در منطقه چشمه کیله و جایگاه ژنی Rru4 (۴ الل) در منطقه گرگانرود، کمترین تعداد الل را نشان دادند. مقادیر مربوط به تعداد الل مشاهده شده و مؤثر، همچنین هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار در هر منطقه در جدول ۲ آورده شده است. مقدار هتروزیگوسیتی مشاهده شده در منطقه چشمه کیله در محدوده (۱/۰۰-۰/۲۰) و در گرگانرود در محدوده (۱/۰۰-۰/۱۲) مشاهده شد و در هر دو منطقه کمترین میزان آن در جایگاه ژنی CypG30 به دست آمد، میزان هتروزیگوسیتی مورد انتظار در مناطق چشمه کیله و گرگانرود به ترتیب ۰/۷۹ و ۰/۷۸ محاسبه شد. از نظر مقادیر هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار تفاوت معنی‌داری میان مناطق مشاهده نشد ($p > 0/05$). مجموع تعداد الل واقعی و مؤثر به ترتیب در منطقه چشمه کیله ۷۹ و ۵۵/۳۴ و در منطقه گرگانرود ۸۰ و

سطح معنی‌داری آن با استفاده از نرم‌افزار FSTAT 2.9.3 (Goudet, 2001) محاسبه گردید. از همین نرم‌افزار برای تعیین G_{st} (معیار تمایزی مشابه F_{st} که تنها وابسته به فراوانی‌های اللی) به عنوان یکی از معیارهای تمایز استفاده شد. برای تعیین پارامترهای تنوع درون جمعیتی شامل تعداد الل واقعی (N_a) و مؤثر (N_e) و همچنین هتروزیگوسیتی مشاهده شده (H_o) و مورد انتظار (H_e) نرم‌افزار GenAlex 6.3 (Peakall and Smouse, 2006) مورد استفاده قرار گرفت، شیوه توزیع تنوع مشاهده شده، مقادیر فاصله ژنتیکی (D) و شباهت ژنتیکی (I) (Nei, 1978)، همچنین میزان تمایز بین مناطق با استفاده از معیارهای F_{st} (تمایز ژنتیکی زیر جمعیت‌های درون جمعیت کل بر طبق مدل آللی بی‌نهایت (IAM)) و R_{st} (تمایز زیر جمعیت‌ها بر اساس مدل جهش گام به گام (SMM))، تحت آنالیز واریانس مولکولی (AMOVA) نیز، با استفاده از همین نرم‌افزار محاسبه گردید. فرضیه وجود تنگنای ژنتیکی تحت مدل جهش دو فازی (TPM) که حد واسط مدل‌های جهش گام به گام (SMM) و بی‌نهایت (IAM) بوده، مکان‌های ژنی ریزماهورای بیشتری با این مدل سازگار هستند، با استفاده از نرم‌افزار Bottleneck 1.2.02 (Cornuet and Luikart, 1996) بررسی شد. این نرم‌افزار انحراف از تعادل جهش-انحراف (Drift-mutation equilibrium) را که در جمعیت‌های دچار تنگنای ژنتیکی شده اتفاق می‌افتد، بر اساس افزایش یا کسری هتروزیگوسیتی می‌آزماید. برای تعیین تفاوت بین دو منطقه در مقادیر هتروزیگوسیتی مشاهده شده، مورد انتظار و تنوع اللی از تست ویلکا کسون غیر پارامتریک در نرم‌افزار SPSS 16 استفاده شد (Zar, 1999). برای تنظیم

در هر دو منطقه و جایگاه ژنی CypG27، در منطقه چشمه کيله در تعادل بودند (جدول ۲). بیشتر ضرایب درون آمیزی به دست آمده معنی دار بودند که خصوصاً در منطقه گرگانرود کسری هتروزیگوسیتی بالایی نشان دادند. البته، جایگاه‌های ژنی Rru4 و Z21908 نیز علایمی از زیاد بودن هتروزیگوسیتی را در هر دو منطقه نشان دادند (جدول ۲). با توجه به اینکه مقادیر به دست آمده از ضرایب درون آمیزی جهت مشخصی را از نظر افزایش یا کسری هتروزیگوسیتی نداشتند، بنابراین، تمام جایگاه‌های ژنی حفظ شده، برای انجام آنالیزها استفاده گردیدند.

۵۲/۱۳ به دست آمد. از این نظر نیز میان مناطق مورد بررسی تفاوت معنی داری مشاهده نگردید ($p > 0/05$).

عدم تعادل پیوستگی بین هیچ کدام از جفت جایگاه‌های ژنی مشاهده نگردید. انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ برای تمام ترکیبات جایگاه ژنی - جمعیت محاسبه گردید. انحراف از تعادل بالایی در اکثر جایگاه‌های ژنی مشاهده شد، و بعد از اعمال ضریب تصحیح بونفرونی، از میان بیست تست جایگاه ژنی - جمعیت (دو جمعیت در ده جایگاه ژنی)، تنها نه تست شامل: جایگاه‌های ژنی Ca1، Ca3، CypG24 و Rru2

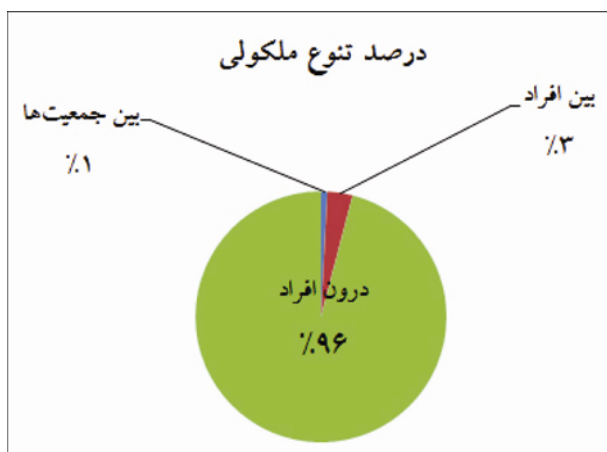
جدول ۲- تنوع ژنتیکی ده جایگاه ژنی مورد مطالعه در جمعیت‌های ماهی سفید

Z21908	Rru4	Rru2	Lid1	CypG30	CypG27	CypG24	CypG3	Ca3	Ca1	
۳	۴	۸	۷	۷	۱۰	۱۳	۱۰	۱۰	۷	N _a
۲/۳۸	۲/۹۴	۶/۰۳	۵/۲۹	۳/۶۷	۶/۱۵	۹/۳۹	۷/۱۰	۷/۱۰	۵/۳۴	N _e
۱/۰۰	۱/۰۰	۱/۰۰	۰/۶۰	۰/۲۰	۰/۷۶	۱/۰۰	۰/۶۰	۰/۹۲	۱/۰۰	H _o
۰/۵۸	۰/۶۶	۰/۸۳	۰/۸۱	۰/۷۲	۰/۸۳	۰/۸۹	۰/۸۵	۰/۸۵	۰/۸۱	H _e
-۰/۷۱	-۰/۵۰	-۰/۱۷	۰/۲۷	۰/۷۳	۰/۱۱	-۰/۰۹	۰/۳۲	-۰/۰۵	-۰/۲۱	F _{is}
***	***	ns	***	***	ns	ns	***	ns	ns	pHw
۵	۴	۱۰	۸	۵	۱۰	۱۱	۱۰	۱۱	۶	N _a
۲/۸۶	۲/۹۴	۷/۱۴	۵/۰۴	۲/۹۸	۶/۶۱	۷/۸۶	۷/۱۰	۵/۲۷	۴/۳۱	N _e
۱/۰۰	۱/۰۰	۱/۰۰	۰/۴۸	۰/۱۲	۰/۵۲	۱/۰۰	۰/۴۸	۰/۸۰	۱/۰۰	H _o
۰/۶۵	۰/۶۶	۰/۸۶	۰/۸۰	۰/۶۶	۰/۸۴	۰/۸۷	۰/۸۵	۰/۸۱	۰/۷۶	H _e
-۰/۵۲	-۰/۵۰	-۰/۱۴	۰/۴۱	۰/۸۲	۰/۴۰	-۰/۱۲	۰/۴۵	۰/۰۳	-۰/۲۸	F _{is}
***	***	ns	***	***	***	ns	***	ns	ns	pHw

N_a: تعداد الل، N_e: تعداد الل مؤثر، H_o: هتروزیگوسیتی مشاهده شده، H_e: هتروزیگوسیتی مورد انتظار، F_{is}: ضریب درون آمیزی (زیر مقادیر معنی دار خط کشیده شده است)، pHw: تست احتمال هاردی-واینبرگ بعد از ضریب تصحیح بونفرونی (ns: عدم معنی داری، * P ≤ 0/05، ** P ≤ 0/01، *** P ≤ 0/001)

(جدول ۳ و شکل ۲) نیز نشان داد که بیشتر تنوع مشاهده شده مربوط به درون جمعیت‌ها (برای هر دو F_{st} و R_{st} ۹۶ درصد) است و تنوع بین جمعیتی پائین است. میزان جریان ژنی (N_m) بالایی (۱۷/۱۸) نیز میان مناطق به دست آمد.

از نظر تمایز میان مناطق، مقدار F_{st} بر اساس فراوانی ۰/۰۱۴ و از طریق آنالیز واریانس مولکولی نیز ۰/۰۰۸ ($p > 0/05$) محاسبه گردید. مقادیر R_{st} و G_{st}، از دیگر معیارهای تمایز نیز به ترتیب ۰/۰۴ ($p < 0/05$) و ۰/۰۰۸ به دست آمدند. نتایج حاصل از آنالیز واریانس مولکولی



شکل ۲- چگونگی توزیع تنوع ژنتیکی مشاهده شده تحت معیار F_{st}

جدول ۳- آنالیز واریانس مولکولی (AMOVA) در R_{st}

Prob	Value	Stat	%	Est. var.	MS	SS	df	
			۴ درصد	۱/۸۵	۱۳۷/۰۰	۱۳۷/۰۰	۱	بین جمعیت‌ها
۰/۰۱۳	۰/۰۴	R_{st}	۹۶ درصد	۴۴/۵۱	۴۴/۵۱	۴۳۶۲/۵۲	۹۸	درون جمعیت‌ها

df (درجه آزادی)، SS (مجموع مربعات)، Ms (انحرافات میانگین مربع)، Prob (معنی دار بودن انحراف بعد از ۹۹۹ جایگزینی تصادفی).

ترتیب ۰/۹۶۵ و ۰/۰۳۵ به دست آمد. نتایج به دست آمده از تست تعادل-انحراف تحت مدل TPM، با استفاده از دو تست ویلکا کسون و Sign علایمی از بروز تنگنای ژنتیکی را در هر دو منطقه نشان دادند (جدول ۵).

در سطح جایگاه‌های ژنی نیز، میزان جریان ژنی (N_m) و تمایز (F_{st}) محاسبه شد (جدول ۴)، کمترین میزان تمایز مشاهده شده (۰/۰۰۳)، در جایگاه ژنی CypG3 و بیشترین میزان جریان ژنی (۴۸/۰۹) در جایگاه ژنی Z21908 به دست آمد. میزان شباهت و فاصله ژنتیکی بین مناطق نیز، به

جدول ۴- میزان تمایز (F_{st}) و جریان ژنی (N_m) در جایگاه‌های ژنی مورد بررسی

Z21908	Rru4	Rru2	Lid1	CypG30	CypG27	CypG24	CypG3	Ca3	Ca1	
۰/۰۰۵	۰/۰۱۵	۰/۰۰۹	۰/۰۱۷	۰/۰۲۴	۰/۰۲۶	۰/۰۰۹	۰/۰۰۳	۰/۰۲۶	۰/۰۰۹	F_{st}
۴۸/۰۹	۱۶/۵۰	۲۸/۶۲	۱۴/۴۰	۱۰/۱۲	۹/۳۲	۲۶/۲۸	۸۲/۶۱	۹/۳۱	۲۸/۲۲	N_m

جدول ۵- نتیجه آنالیز تنگنای ژنتیکی

H_e/H_d	تست Sign (P)	تست ویلکا کسون (P)	جمعیت‌ها
۱۰/۰	۰/۰۰۵	۰/۰۰۴	چشمه کیله
۹/۱	۰/۰۴	۰/۰۰۳	گرگانرود

p: احتمال، H_e : جایگاه‌های ژنی با زیاد بودن هتروزیگوسیتی، H_d : جایگاه‌های ژنی با کسری هتروزیگوسیتی

بحث

ریزماهورها، نشانگرهای ژنتیکی هستند که به صورت گسترده‌ای در مطالعات ژنتیک جمعیت گونه‌های پرورشی و وحشی ماهیان استفاده می‌گردند (Liu et al., 2009). با وجود اهمیت بالای ماهی سفید، متأسفانه این گونه فاقد جایگاه ژنی اختصاصی است و جایگاه‌های ژنی مورد استفاده در این بررسی بر اساس تنوع بالایشان در ماهی کلمه (Hamilton and Tyler, 2008) انتخاب شدند. با وجود غیر اختصاصی بودن، هر ده جایگاه ژنی در ماهی سفید دارای چندشکلی بودند. همچنین، با توجه به اینکه هیچ کدام از جفت جایگاه‌های ژنی عدم تعادل پیوستگی نشان ندادند، بنابراین، استفاده از این جایگاه‌های ژنی در مطالعات ژنتیکی ماهی سفید کارایی مناسبی خواهد داشت.

پیراسنجه‌های مربوط به تنوع ژنتیکی (همچون هتروزیگوسیتی و تعداد الل) برای جمعیت‌ها از لحاظ روبه‌رو شدن با تغییرات محیطی مهم هستند (Frankham, 2008)، و ویژگی‌هایی همچون: اندازه بدن و قابلیت رقابت، توانایی یک موجود برای استفاده و بقا در زیستگاه‌های طبیعی را تعیین می‌کند (Hakansson and Jensen, 2005). تحقیقات صورت گرفته نشان می‌دهد که رشد در ماهی سفید در مقایسه با سال‌های گذشته به طور بارزی کاهش یافته است؛ به این صورت که افزایش وزن و طول بر حسب سن به تدریج روند نزولی پیدا کرده است. این امر به طور مشخص می‌تواند مربوط به برنامه‌های بازسازی و تکثیر مصنوعی باشد که هر ساله توسط مرکز شیلات ایران انجام می‌شود (Valipour and Khanipour, 2007).

متأسفانه اطلاعاتی در مورد وضعیت ژنتیکی ماهی سفید قبل از شروع برنامه بازسازی ذخایر این گونه توسط مرکز شیلات ایران وجود ندارد. در این بررسی، میانگین

هتروزیگوسیتی مشاهده شده در سطح جمعیت‌های مورد بررسی ۰/۷۷ به دست آمد، که نسبت به مقادیر مشاهده شده در ماهیان آب شیرین و رود کوچ (به ترتیب ۰/۴۶ و ۰/۶۸) (Dewoody and Avise, 2000) بالاتر است. با توجه به اینکه الل‌های نادر فراوانی پایینی (حدود ۰/۰۱) دارند، بنابراین، ارتباطشان با هتروزیگوسیتی کم است و حذف چنین الل‌هایی اثر چندانی بر روی هتروزیگوسیتی نمی‌گذارد (Kitada et al., 2009). بنابراین، در بررسی‌های تنوع ژنتیکی و خصوصاً در مورد گونه‌هایی که تحت برنامه‌های تکثیر مصنوعی و بازسازی ذخایر قرار دارند، هتروزیگوسیتی نمی‌تواند شاخص مناسبی برای نشان دادن وضعیت ژنتیکی باشد (Petit et al., 1998).

تعداد متوسط الل در سطح جمعیت‌ها ۷/۹۵ محاسبه شد، که تقریباً مشابه مقادیر به دست آمده در ماهیان آب شیرین (۷/۵) (Dewoody and Avise, 2000) بود، ولی نسبت به ماهیان رود کوچ (۱۱/۳) (Dewoody and Avise, 2000) بسیار پایین‌تر است. بررسی‌های Koljonen و همکاران (۲۰۰۲)، مشخص کرد ماهیانی که برای برنامه‌های بازسازی ذخایر مورد استفاده قرار می‌گیرند، تغییرات معنی‌داری در فراوانی اللی نسبت به نمونه‌های وحشی نشان می‌دهند. با وجود پایین بودن تعداد الل مشاهده شده در این بررسی، هتروزیگوسیتی در حد مناسبی قرار دارد. به طور کلی، کم بودن تعداد الل بدون اینکه تغییر خاصی در مقدار هتروزیگوسیتی مشاهده شود، نشان‌دهنده وقوع تنگنای ژنتیکی در جمعیت است (Allendorf, 1986). نتایج به دست آمده از نرم‌افزار Bottleneck نیز، وجود تنگنای ژنتیکی در هر دو جمعیت مورد بررسی را تأیید می‌کند که به نظر می‌رسد شدت آن در منطقه چشمه کيله تا حدودی بیشتر باشد. در جمعیت‌های پرورشی، معمولاً تنگنای ژنتیکی هنگامی رخ می‌دهد که تعداد کمی مولد، نتاج

بنابراین، با توجه به نتایج به دست آمده از نرم‌افزار Microchecker، دلیل اصلی کسری در این جایگاه‌های ژنی را می‌توان ناشی از وجود ال‌های نول دانست. به جز فرضیه ال‌های نول، کسری هتروزیگوسیتی در اثر فاکتورهایی، همچون: ترکیب شدن دو جمعیت مختلف، تنگنای ژنتیکی، جفت‌گیری غیر تصادفی و به‌گزینی نیز ایجاد می‌شود (Li et al., 2007).

در جایگاه‌های ژنی Rru4 و Z21908، افزایش هتروزیگوسیتی معنی‌داری مشاهده شد. اشتباه در هنگام خواندن ال‌ها، انحراف ژنتیکی تصادفی و خطای PCR از عوامل ایجاد این افزایش هستند (Li et al., 2009). نتایج به دست آمده از نرم‌افزار Microchecker امکان وجود خطا در هنگام دسته‌بندی ال‌ها را نشان نداد. شرایط PCR جایگاه‌های ژنی مورد نظر نیز بهینه بود. بنابراین، انحراف ژنتیکی تصادفی می‌تواند یکی از عوامل اصلی افزایش هتروزیگوسیتی باشد. جمعیت مولدین ماهی سفید مورد استفاده در برنامه بازسازی ذخایر سالانه نوسان‌های زیادی دارد و به نظر می‌رسد قادر به حفظ اندازه جمعیت مؤثر بالایی نیست. تنگنای ژنتیکی و انحراف ژنتیکی تصادفی نیز، از عواملی هستند که در اثر کاهش اندازه مؤثر جمعیت ایجاد می‌شوند. به طور کلی، یک عامل به تنهایی نمی‌تواند علت انحراف از تعادل را توضیح دهد و مجموعه‌ای از عوامل فوق که بیشتر آنها ناشی از تکثیر مصنوعی هستند، می‌تواند دلایل انحراف از تعادل در جمعیت‌های مورد بررسی ماهی سفید باشند.

مولدین ماهی سفید در زمان مساعد شدن شرایط تخم‌ریزی معمولاً اواسط اسفند تا اردیبهشت از دریا به رودخانه‌ها مهاجرت می‌کنند، در حالی که به دلیل نبود محوطه‌های تخم‌ریزی مناسب، مولدین در زمان ورود به رودخانه برای تکثیر مصنوعی صید می‌شوند و با این

زیادی تولید کرده که تمام نسل بعد را تشکیل می‌دهند (Allendorf et al., 1987).

استفاده از نسبت‌های جنسی نابرابر و بقای متفاوت نتاج به دست آمده نیز از طریق کاهش اندازه جمعیت مؤثر باعث بروز تنگنای ژنتیکی می‌شوند (Machado-Schiaffino et al., 2007). کیفیت و کمیت بچه‌ماهیان رهاسازی شده ماهی سفید، در سال‌های اخیر نوسانات زیادی داشته و میانگین وزن بچه‌ماهیان از ۱/۵۶ گرم در سال ۱۳۷۱ به ۰/۷ گرم در سال ۱۳۷۷ کاهش یافته است و بقای بچه‌ماهیان در سال اول زندگی شدیداً به وزن بچه‌ماهیان رهاسازی شده در دریا بستگی دارد (ولی‌پور و خانی‌پور، ۱۳۸۸).

به نظر می‌رسد کاهش وزن بچه‌ماهیان رهاسازی شده، همچنین کاهش شدید تکثیر طبیعی باعث افت نتاج تولیدی و در نتیجه مرگ و میر بالای آنها و کاهش مولدین نسل‌های بعدی شده است، با وجود، این هم‌آوری بالای ماهی سفید مانع از بروز علایم کاهش تعداد مولدین بر روی تعداد لاروهای رهاسازی شده می‌شود. به نظر می‌رسد طولانی شدن فرآیند تکثیر مصنوعی ماهی سفید و مدیریت نامناسب آن باعث بروز تنگنای ژنتیکی در این گونه شده است.

در این بررسی، از ۲۰ تست جایگاه ژنی - جمعیت یازده تست عدم تعادل از هاردی - واینبرگ را نشان دادند. ضریب درون‌آمیزی در تعدادی از جایگاه‌های ژنی کسری هتروزیگوسیتی بالایی نشان داد که مقادیر به دست آمده در جایگاه‌های ژنی CypG3 و CypG30 در هر دو منطقه معنی‌دار بود ($p < 0/05$)، ال‌های تکثیر نشده یا نول، از مهمترین عوامل ایجاد کننده کسری در جایگاه‌های ژنی ریزماهوره‌ای هستند (Xu et al., 2001).

طبیعی، دلیل اصلی بالا بودن جریان ژنی را می‌توان مربوط به شیوه رهاسازی لاروهای به دست آمده از تکثیر مصنوعی دانست. بعد از تکثیر مولدین در مناطق مختلف، تخم‌های به دست آمده به مرکز تکثیر منتقل شده، بعد از هچ شدن لاروها و رسیدن به وزن مناسب، آنها را مختلط و بدون توجه به محل صید مولدین در تعداد محدودی از رودخانه‌ها رهاسازی می‌کنند که این امر، باعث بالا رفتن جریان ژنی و در نتیجه اختلاط ژنتیکی در بین ماهیان مناطق مختلف، همچنین کاهش تعداد مولدین در رودخانه‌هایی می‌شود که در آنها رهاسازی صورت نمی‌گیرد.

طبق پیراسنجه‌های عنوان شده توسط Thorpe (۱۹۸۲) که مقدار شباهت ژنتیکی را برای سطوح فیلوژنی مختلف در شاخه مهره‌داران محاسبه کرد، برای جمعیت‌هایی که به گونه‌های مشابه تعلق دارند، شباهت ژنتیکی بین ۰/۹۰-۰/۸۰، و در گونه‌های متعلق به جنس‌های مشابه بین ۰/۸۵-۰/۳۵ قرار دارد. مقدار به دست آمده در این بررسی (۰/۹۶۵)، در محدوده گونه‌های مشابه قرار دارد که با مقادیر تمایز پایین به دست آمده مطابق است.

نتیجه‌گیری

نتایج به دست آمده، نشان می‌دهد که شیوه تکثیر و رهاسازی نامناسب لاروها می‌تواند دلیل اصلی کم بودن تمایز، همچنین عامل بروز تنگنای ژنتیکی میان جمعیت‌های مورد بررسی ماهی سفید باشد. بازسازی رودخانه‌های محل تخم‌ریزی این گونه و فراهم آوردن امکان تکثیر طبیعی مولدین، بهترین شیوه برای جلوگیری از ادامه این فرآیند است. با توجه به ضرورت تکثیر مصنوعی، لازم است جدایی جمعیت‌های موجود در رودخانه‌های مختلف در هنگام تکثیر مصنوعی و رهاسازی مد نظر قرار گیرد.

وضعیت، حدود سی سال است که ماهی سفید در معرض برنامه‌های بازسازی ذخایر قرار دارد (ولی‌پور و خانی‌پور، ۱۳۸۸).

سدهای محیطی، فرآیندهای تاریخی و پیشینه زندگی (همانند روش جفت‌گیری)، از عواملی هستند که هر کدام تا حدودی ساختار ژنتیکی جمعیت‌ها را شکل می‌دهند (Tiedemann *et al.*, 2000). آنالیز واریانس مولکولی به عنوان یک آنالیز آماری وسیله مناسبی برای مشخص کردن ساختار جمعیت و میزان تمایز ژنتیکی بین جمعیت‌هاست (Grassi *et al.*, 2004).

نتایج آنالیز واریانس مولکولی بر اساس F_{st} تنها ۱ درصد از تنوع مشاهده شده را مربوط به بین جمعیت‌ها می‌داند و مقدار به دست آمده F_{st} (۰/۰۰۸) نیز تمایز بسیار پایینی را میان جمعیت‌ها نشان داد که معنی‌دار نبود ($p > ۰/۰۵$). بر اساس معیار Wright (۱۹۷۸)، میزان F_{st} بین ۰ تا ۰/۰۵ نشان‌دهنده تمایز پایین، میان جمعیت‌هاست. با توجه به اینکه R_{st} ، از اطلاعات مربوط به اندازه اللی استفاده کرده است و وابسته به جهش نیست، می‌تواند داده‌های بیولوژیک مناسبتری را نسبت به معیارهای F_{st} و G_{st} فراهم آورد (Balloux and Moulin, 2002). مقدار R_{st} به دست آمده، تمایز ژنتیکی پایین، اما معنی‌داری ($p < ۰/۰۵$) را میان مناطق مورد بررسی نشان داد. کم بودن تنوع بین جمعیتی و شاخص‌های تمایز، نشان‌دهنده وجود جریان ژنی بالا در بین جمعیت‌هاست (Pinera *et al.*, 2007).

نتایج به دست آمده جریان ژنی بسیار بالایی را میان مناطق نشان می‌دهد. شاهی فر (۱۳۷۳)، عنوان کرد ۷۳/۸ از لاروهای ماهی سفید رهاسازی شده در رودخانه محل رهاسازی، ۱۸ درصد در نزدیکترین رودخانه و تنها ۸/۲ درصد در مناطق دیگر و مسیرهای طولانی‌تر صید می‌شوند. با توجه به فاصله نسبتاً زیاد میان مناطق جدا از جریان ژنی

منابع

- شاهی فر، ر. (۱۳۷۳) گزارش نهایی پروژه پلاک گذاری ماهی سفید در دریای مازندران. سازمان تحقیقات و آموزش شیلات ایران، گزارش تحقیقاتی مرکز تحقیقات شیلات استان گیلان.
- ولی پور، آ. و خانی پور، ع. آ. (۱۳۸۸) ماهی سفید جواهر دریای خزر. انتشارات مرکز تحقیقات شیلات، تهران.
- Allendorf, F., Ryman, N. and Utter, F. (1987) Genetics and fishery management: past, present and future. In: Population genetics and fishery management (eds. Ryman, N. and Utter, F.) 64-67. Washington Sea Grant Publication/University of Washington press, Seattle.
- Allendorf, F. W. (1986) Genetic drift and the loss of alleles versus heterozygosity. *Zoological Biology* 5: 181-190.
- Baerwald, M. R. and May, B. (2004) Characterization of microsatellite loci for five members of the minnow family Cyprinidae found in the Sacramento-San Joaquin Delta and its tributaries. *Molecular Ecology* 4: 385-390.
- Balloux, F. and Lugon-Moulin, N. (2002) The estimate of population differentiation with microsatellite markers. *Molecular Ecology* 11: 155-165.
- Barinova, A., Yadrenkina, E., Nakajima, M. and Taniguchi, N. (2004) Identification and characterization of microsatellite DNA markers developed in ide *Leuciscus idus* and Siberian roach *Rutilus rutilus*. *Molecular Ecology Notes* 4: 86-88.
- Bassam, B. J., Caetano-Anolles, G. and Gresshoff, G. M. (1991) Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide gels. *Analytical biochemistry* 84: 680-683.
- Bataillon, T. M., David, J. L. and Schoen, D. J. (1996) Neutral genetic markers and conservation: simulated germplasm collections. *Genetics* 144: 409-417.
- Blanchet, S., Paez, D., Bernatchez, L. and Dodson, J. (2008) An integrated comparison of captive-bred and wild Atlantic salmon (*Salmo salar*): Implications for supportive breeding programs. *Biological Conservation* 141: 1989-1999.
- Chen, L., Li, Q. and Yang, J. (2008) Microsatellite genetic variation in wild and hatchery populations of the sea cucumber (*Apostichopus Japonicus* Selenka) from northern China. *Aquaculture Research* 39: 1541-1549.
- Coad, B. W. (2000) Criteria for assessing the conservation status of taxa (as applied to Iranian freshwater fishes). *Biologia Bratislava* 55: 539-557.
- Cornuet, J. M. and Luikart, G. (1996) Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data. *Genetics* 144: 2001-2014.
- Dewoody, J. A. and Avise, J. C. (2000) Microsatellite variation in marine, freshwater and anadromous fishes compared with other animals. *Journal of Fish biology* 56: 461-473.

- Dimoski, P., Toth, G. P. and Bagley, M. J. (2000) Microsatellite characterization in central stoneroller *Campostoma anomalum* (Pisces: Cyprinidae). *Molecular Ecology* 9: 2155-2234.
- Fiumera, A. C., Wu, L., Parket, P. G. and Fuetst, P. A. (1999) Effective population size in the captive breeding program of the Lake Victoria cichlid *Paralabidocbromis cbilotes*. *Zoo Biology* 18: 886-892.
- Frankham, R. (2008) Genetic adaptation to captivity in species conservation programs. *Molecular Ecology* 17: 325-333.
- Goudet, J. (2001) Fstat, a program to Estimate and Test Gene Diversities and Fixation Indices (version 2.9.3). Retrieved from <http://www2.unil.ch/popgen/softwares/fstat.htm>. On: 17 June 2008.
- Grassi, F., Imazio, S., Gomarasca, S., Citterio, S., Aina, R., Sgorbati, S., Sala, F., Patrignani, G. and Labra, M. (2004) Population structure and genetic variation within *Valeriana wallrothii* Kreyer in relation to different ecological locations. *Plant Science* 166: 1437-1441.
- Hakansson, J. and Jensen, P. (2005) Behavioural and morphological variation between captive populations of red junglefowl (*Gallus gallus*) possible implications for conservation. *Biological Conservation* 122: 431-439.
- Hamilton, P. B. and Tyler, C. R. (2008) Identification of microsatellite loci for parentage analysis in roach *Rutilus rutilus* and eight other cyprinidae fish by cross-species amplification and a novel test for detecting hybrids between roach and other cyprinids. *Molecular Ecology Resources* 8: 462-465.
- Hillis, D. M., Mable, B. K., Larson, A., Davis, S. K. and Zimmer, E. A. (1996) Nucleic Acids IV: sequencing and cloning. In: *Molecular Systematics* (eds. Hillis, D. M., Moritz, C. and Mable, B. K.) 321-384. Sinauer Associates, Sunderland.
- IUCN (2006) IUCN Red List of Threatened species. Retrieved from <http://www.redlist.org/>. On 18 May 2007.
- Kitada, S., Shishidou, H., Sugaya, T., Kitakado, T., Hamasaki, K. and Kishino, H. (2009) Genetic effects of long-term stock enhancement program. *Aquaculture* 290: 69-79.
- Koljonen, M. L., Tahtinen, J., Saias, M. and Koskiniemi, J. (2002) Maintenance of genetic diversity of Atlantic salmon (*salmo salar*) by captive breeding programmes and the geographic distribution of microsatellite variation. *Aquaculture* 212: 69-92.
- Li, J., Wang, G. and Bai, Z. (2009) Genetic variability in four wild and two farmed stocks of the Chinese freshwater pearl mussel (*Hyriopsis cumingii*) estimated by microsatellite DNA markers. *Aquaculture* 287: 286-291.
- Li, Q., Xu, K. and Yu, R. (2007) Genetic variation in Chinensis hatchery populations of the Japanese scallop (*Patinopecten yessoensis*) inferred from microsatellite data. *Aquaculture* 296: 211-219.

- Liu, F., Xia, J. H., Bai, Z. H., Fu, J. J., Li, J. L. and Yue, G. H. (2009) High genetic diversity and substantial population differentiation in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) revealed by microsatellite analysis. *Aquaculture* 297: 51-56.
- Machado-schiaffino, G., Depico, E. and Garcia-vazquez, E. (2007) Genetic variation losses in Atlantic salmon stocks created for supportive breeding. *Aquaculture* 264: 59-65.
- 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 D.C.
- Nei M. (1978) Estimation of average heterozygosity and genetic distance from small number of individuals. *Genetics* 89: 583-590.
- Oosterhout, C. V., Hutchinson, W. F., Wills, D. P. M. and Shipley, P. (2004) Micro-checker: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes* 4: 535-538.
- Paykan Heyrati, F., Mostafavi, H., Toloe, H. and Dorafshan, S. (2007) Induced spawning of kutum, *Rutilus frisii kutum* (Kamenskii, 1901) using (D-Ala⁶, Pro⁹-NET) GnRHa combined with domperidone. *Aquaculture* 265: 288-293.
- Peakall, R. and Smouse, P. E. (2006) Genalex 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes* 6: 288-295.
- Petit, R. J., Mousadik, A. E. and Pons, A. O. (1998) Identifying populations for conservation on the basis of genetic markers. *Conservation Biology* 12: 844-855.
- Pinera, J. A., Blanco, G., Vázquez, E. and Sánchez, J. A. (2007) Genetic diversity of blackspot seabream (*Pagellus bogaraveo*) populations off Spanish Coasts: a preliminary study. *Marine Biology* 151: 2153-2158.
- Pujolar, J. M., Deleo, G. A., Ciccotti, E. and Zane, L. (2009) Genetic composition of Atlantic and Mediterranean recruits of European eel *Anguilla anguilla* based on EST-linked microsatellite loci. *Journal of Fish Biology* 74: 2034-2046.
- Raymond, M. and Rousset, F. (2003) Genepop 3.4., an updated version of Genepop v.1.2 (1995): population genetics software for exact tests and ecumenicism. *Journal of Heredity* 86: 248-249.
- Rice, W. R. (1989) Analyzing tables of statistical tests. *Evolution* 43: 223-225.
- Thorpe, J. P. (1982) The molecular clock hypothesis: biochemical evolution, genetic differentiation and systematic. *Annual Review of Ecology and Systematics* 13: 139-168.
- Tiedemann, R., Hardy, O., Vekemans, X. and Milinkovitch, M. C. (2000) Higher impact of female than male migration on population structure in large mammals. *Molecular Ecology* 9: 1159-1163.
- Valipour, A. and Khanipour, A. A. (2007) Cultivation of autumn form *Rutilus frisii kutum*. Book of abstracts, Conference of warm water Aquaculture and biologic productivity of basins of arid climate. International symposium, Astrakhan, Russia, p 183.

- Wright, S. (1978) Evolution and the genetics of populations: variability within and among natural populations. University of Chicago Press, Chicago.
- Xu, Z., Primavera, J. H., De la Pena, L. D., Pettit, P., Belak, J. and Warren, A. A. (2001) Genetic diversity of wild and cultured black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) in the Philippines using microsatellites. Aquaculture 199: 13- 40.
- Zar, J. H. (1999) Biostatistical analysis. 4th ed., Prentice Hall, New Jersey.