مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی- مولکولی
دوره چهارم، شماره چهاردهم، بهار ۱۳۹۳

NCMBJ
Research Article
مقاله تحقیقی

بررسی تنوع ژنتیکی ماهی *Cyprinus carpio* پرورشی در استان خوزستان با استفاده از روش ریزماهواره ها

نازنین سلیمانی[1*] – غلامحسین محمدی[2] – مژگان خدادادی[3]

[1] کارشناسی ارشد تکثیر و پرورش آبزیان ، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز ، گروه شیلات ، اهواز ، ایران
[2] پژوهشگر ، بخش ارزیابی ذخایر ، مرکز تحقیقات آبزی پروری جنوب کشور، اهواز
[3] هیئت علمی ، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز ، گروه شیلات ، اهواز ، ایران

چکیده :

سابقه و هدف : کپور معمولی از گونه های اقتصادی است و به عنوان غذای مهمی محسوب می گردد . هم اکنون تکثیر این ماهی با ارزش در ایران از طریق تکثیر مصنوعی صورت می پذیرد که این روش در طولانی مدت می تواند به کاهش تنوع ژنتیکی درون جمعیتی منجر گردد . این تحقیق با هدف بررسی ساختار ژنتیکی ماهی کپور پرورشی در استان خوزستان با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره انجام گرفت .

مواد و روش ها : تعداد ۳۰ کپور معمولی در اردیبهشت ۱۳۹۰ از یک مزرعه پرورشی ماهی در استان خوزستان و مرکز تکثیر ماهیان گرمابی شهید ملکی جمع آوری گردید . استخراج DNA از بافت باله دمی به روش فنل - کلروفرم – ایزوآمیل الکل انجام شد . پس از بررسی کمیت و کیفیت DNA با استفاده از اسپکتروفتومتر و ژل آگارز ، واکنش زنجیره ای پلی مراز با استفاده از ۴ نشانگر ریزماهواره انجام گرفت .

یافته ها : دامنه ی H_o و H_e در بین جمعیت ها به ترتیب ۱-۰ و ۰,۸۲۵-۰ بود . بیشترین تعداد آلل واقعی مربوط به مرکز تکثیر شهید ملکی می باشد .

نتیجه گیری : تقریبا نیمی از جایگاه های ژنی انحراف از تعادل را نشان دادند که علت عمده ی آن را می توان به افزایش هتروزیگوسیتی نسبت داد . نتایج حاصل از ترسیم دندروگرام بیانگر تمایز ژنتیکی این دو جمعیت می باشد . با توجه به نتایج حاصل می توان بیان داشت ، بیشترین میزان تنوع ژنتیکی درون جمعیت مربوط به مرکز تکثیر شهید ملکی می باشد .

کلمات کلیدی : کپور معمولی پرورشی، استان خوزستان، DNA، ریزماهواره، تنوع ژنتیکی

مقدمه :

ماهی کپور معمولی بومی آسیای مرکزی است که طی قرن های متمادی در نواحی مختلف جهان گسترش پیدا کرده است (۱۴). منطقه ی گسترش طبیعی این ماهی از اروپا تا کشور دنیا چین بوده و در ایران در تمام حوضه های آبخیز وجود دارد، در سرتاسر دنیا نیز پرورش داده می شود (۳ و ۲). ماهی کپور یکی از مهم ترین ماهیان پرورشی به شمار می رود . پرورش ماهی کپور به علت صرفه ی اقتصادی و گوشت خوشمزه ی آن در اغلب کشورها از اهمیت ویژه ای برخوردار است (۶). هم اکنون، حفاظت و بازسازی ذخایر این ماهی با ارزش در ایران از طریق تکثیر مصنوعی و رهاسازی بچه ماهیان تولیدی در آب های طبیعی صورت می پذیردکه با وجود فواید تکثیر مصنوعی، تغییرات مورفولوژیک و ژنتیکی بارزی در میان نمونه های تکثیر مصنوعی و وحشی دیده می شود و این روش در طولانی مدت می تواند به کاهش تنوع ژنتیکی درون جمعیتی و ذخایر ژنی منجر گردد (۱۸). تنوع ژنتیکی آبزیان یکی از شاخص های مهم شرایط اکولوژیک منابع آبی می باشد (۲۳). کاهش تنوع

آدرس نویسنده مسئول : خوزستان اهواز زیتون کارمندی خیابان فیاض پلاک ۲۲
Email :nazanin.soleimani@gmail.com
تاریخ دریافت مقاله: ۹۱/۱۲/۸
تاریخ پذیرش: ۹۲/۶/۱۳

Archive of SID
www.SID.ir

ژنتیکی برای جمعیت ها زیان بار بوده و بر میزان برداشت آن ها تاثیر گذار می باشد (۵). بنابراین اطلاع از وضعیت ژنتیکی این گونه بسیار ضروری است . بدین منظور نشانگرهای مختلفی در بررسی های ژنتیک جمعیت استفاده می شوند، اما در میان این نشانگرها، نشانگرهای ریزماهواره به علت فراوانی و گستردگی بالا در ژنوم، همبارز بودن، توارث مندلی، کوچک بودن اندازه ی جایگاه ژنی و در نتیجه سهولت تعیین ژنوتیپ از طریق واکنش زنجیره ای پلیمراز و همچنین پلی مورفیسم بالا دارای کاربرد گسترده تری هستند (۹). ریزماهواره ها به علت بالا بودن تعداد آلل هایشان در میان تمام نشانگرها بالاترین میزان هتروزیگوسیتی را نشان می دهند (۱۷). این پلی مورفیسم بسیار بالا نشان می دهد که نشانگرهای ریزماهواره می توانند برای آنالیز ژنتیک جمعیت و تعیین نژادها بسیار مفید باشند (۱۰). علیرغم اهمیت اقتصادی این ماهی، اطلاعات چندانی در زمینه ی ساختار جمعیتی این گونه چه وحشی و چه پرورشی موجود نیست و اطلاعات محدود به بررسی های صورت گرفته توسط لالوئی و همکاران در سال ۱۳۸۷ بر ژنتیک جمعیت ماهی کپور معمولی در برخی از نواحی حوضه ی جنوبی دریای خزر با استفاده از روش mtDNA (PCR-RFLP) و مطالعات قلیچ پور و همکاران در سال ۱۳۸۹ می باشد که در خصوص ساختار ژنتیکی این ماهی در مناطق قره سو و انزلی با استفاده از نشانگر ریزماهواره صورت گرفته است. در استان خوزستان هیچ گونه مطالعه ای بر ساختار ژنتیکی این ماهی مهم اقتصادی صورت نگرفته است. بنابراین در این بررسی از تکنیک مولکولی آنالیز ریزماهواره با استفاده از ژن های مستقر بر ژنوم کپور معمولی برای ارزیابی ساختار جمعیتی این ماهی در استان خوزستان (یک مرکز تکثیر و یک مرکز پرورش) استفاده گردید.

مواد و روش ها :

۳۰ ماهی کپور معمولی از مرکز تکثیر شهید ملکی استان خوزستان و مرکز پرورش ماهیان گرمابی شهرستان شوشتر (بطور متوسط ۱۵ نمونه از هر منطقه) صید شد. نمونه برداری ها بصورت کاملا تصادفی انجام گرفت. حدود ۱۵ – ۱۰ گرم از بافت نرم باله های پشتی، دمی و بعضا سینه ای از هر ماهی جدا شده و در الکل اتانول ۹۶ درصد قرار داده شد. استخراج DNA با بهینه کردن روش فنل – کلروفرم – ایزوآمیل الکل از بافت باله ی ماهیان انجام پذیرفت. DNA های استخراجی پس از افزودن ۸۰ میکرولیتر آب مقطر استریل برای استفاده در مراحل بعدی در ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شدند (۲۵). بررسی کیفیت و کمیت DNA های استخراجی با استفاده از الکتروفورز ژل آگارز ۱ درصد و اسپکتروفتومتر صورت پذیرفت . واکنش PCR جهت تکثیر ۴ جایگاه ژنی ریزماهواره که از مطالعات انتشار یافته انتخاب شدند، انجام گردید(جدول ۱).

جدول ۱ : توالی و ویژگی های پرایمرهای مورد استفاده در آنالیز ریزماهواره ی کپور معمولی

نام آغازگر	توالی نوکلئوتید ها	محدوده آللی(bp)	Tm	ref
Syp4 (F)	5’– CACACCGGGCTACTGCAGAG –3’	~ ۲۷۴ ۱۹۶	۶۴/۰	۲۲
Syp4 (R)	5’– GTGCAGTGCAGGCAGTTTGC –3’	~ ۲۷۴ ۱۹۶	۶۱/۹	
HLJ809 (F)	5’– ATCATCACAGCCAAAGAAGT –3’	~ ۲۷۴ ۱۶۹	۵۳/۷	۱۵
HLJ809 (R)	5’– TACGGACATAGTGCAGACAA –3’	~ ۲۷۴ ۱۶۹	۵۵/۸	
LOC5 (F)	5’– TTACACAGCCAAGACTATGT –3’	~ ۱۶۸ ۱۰۱	۵۳/۷	۲۲
LOC5 (R)	5’ – CAAGTGATTTTGCTTACTGC – 3’	~ ۱۶۸ ۱۰۱	۵۳/۷	
HLJ848 (F)	5’ – GAGAACACGGCTGGATGG – 3’	~ ۳۰۰ ۲۷۹	۵۹/۶	۱۵
HLJ848 (R)	5’– GTGGGTGTTTGAATTGAGAT –3’	~ ۳۰۰ ۲۷۹	۵۳/۷	

تکثیر جایگاه های ژنی با استفاده از واکنش زنجیره ای پلیمراز (PCR) در حجم ۵۰ میکرولیتری شرایطی شامل ۲۰ نانوگرم DNA ، ۲۰۰ میکرومولار نوکلئوتیدها، ۲ واحد *Taq DNA polymerase* ، ۱,۵ میلی مولار کلرید منیزیم، PCR بافر 1x ، ۰,۸ میکرومولار از هر پرایمر و آب مقطر استریل تا رسیدن به حجم انجام شد. برنامه ی دستگاه ترموسایکلر برای واکنش زنجیره ای پلیمراز در جدول ۲ آورده شده است، با توجه به اینکه دمای اتصال هر ۴ پرایمر با یکدیگر متفاوت است جدول ۲ بطور کلی آورده شده است.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۲ :چرخه ی حرارتی واکنش زنجیره ی پلیمراز

مراحل	درجه حرارت	زمان	تعداد چرخه
واسرشته سازی اولیه	۹۴	۵ دقیقه	۱
واسرشته سازی	۹۴	۳۰ ثانیه	۱۰
الحاق یا اتصال	۱۰ درجه بالاتر از دمای اتصال	۴۰ ثانیه	
بسط یا گسترش	۷۲	۱ دقیقه	
واسرشته سازی	۹۴	۳۰ ثانیه	۲۵
الحاق یا اتصال	۳ درجه پایین تر از دمای اتصال	۴۰ ثانیه	
بسط یا گسترش	۷۲	۱ دقیقه	
گسترش نهایی	۷۲	۷ دقیقه	۴

محصولات واکنش زنجیره ای پلیمراز با روش الکتروفورز ژل پلی اکریل آمید ۸ درصد و رنگ آمیزی نیترات نقره همراه با نشانگر DNA، bp ۵۰ مشخص گردید. تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار Gen Alex 6.3 و رسم دندروگرام فاصله ژنتیکی با استفاده از روش جفت گروهی غیروزنی از طریق میانگین حسابی (UPGMA) با کمک نرم افزار TFPGA ترسیم گردید.

یافته ها :

در این بررسی ۳۰ نمونه باله ی ماهی کپور معمولی برای استخراج DNA مورد استفاده قرار گرفت . غلظت DNA تمام نمونه ها ۱۰۰ تا ۱۸۰ نانوگرم بود که با توجه به نتایج الکتروفورز ژل آگارز از کیفیت مناسبی برخوردار بودند. در مجموع ۴ جایگاه ژنی در این مطالعه استفاده شده که LOC5 در جمعیت مرکز پرورش مونومورف بوده و بیشترین انحراف از تعادل هاردی – واینبرگ در هر دو مرکز در جایگاه ژنی HLJ848 نشان داده شد و خارج از تعادل بود ($p < 0.05$). در دو جایگاه ژنی HLJ809 و LOC5 در جمعیت مرکز تکثیر اختلاف معنی دار نبوده است. کمترین و بیشترین میزان آلل به ترتیب در جایگاه های LOC5 ، ۱ در جمعیت مرکز پرورش و HLJ848 در جمعیت مرکز تکثیر ۸ مشاهده شد. آلل های موثر نیز در محدوده ی ۵,۵۴۱-۱ که در این میان پایین ترین میزان در جایگاه LOC5 و بالاترین میزان در جایگاه HLJ848 همانند آلل های مشاهده شده می باشد. دامنه ی هتروزیگوسیتی مشاهده شده بین دو منطقه ی نمونه برداری در جایگاه های ۴ گانه ۱-۰ بود. بیشترین مقدار هتروزیگوسیتی مشاهده شده در جایگاه Syp4 و HLJ848 در هر دومنطقه می باشد. بیشترین مقدار هتروزیگوسیتی مورد انتظار در جایگاه ژنی HLJ848 (مرکز تکثیر) ۰,۸۲۰ می باشد و کمترین مقدار آن در جایگاه ژنی LOC5 ، ۰ در مرکز پرورش است (جدول ۳) .

جدول ۳ : تنوع ژنتیکی جایگاه ژنی مورد استفاده در دو جمعیت مورد بررسی

Population	*Syp 4*	*HLJ809*	*LOC5*	*HLJ848*
Population۱ پرورش				
H_o	1.000	0.182	0.000	1.000
H_e	0.625	0.744	0.000	0.642
Population2 تکثیر				
H_o	1.000	0.400	0.214	1.000
H_e	0.640	0.460	0.375	0.820

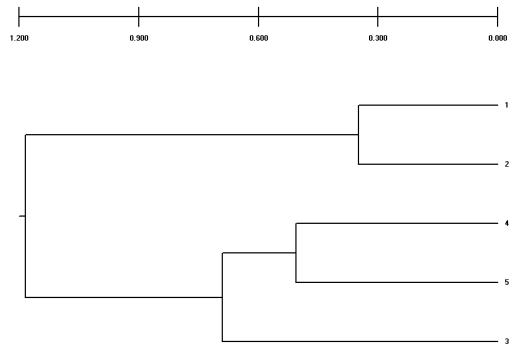
بیشترین مقدار شاخص شانون ۱,۸۴۹ در جمعیت مرکز تکثیر و کمترین آن (۰) در جمعیت مرکز پرورش به دست آمد(جدول ۴).

جدول ۴ : شاخص شانون در هر جایگاه ژنی مورد استفاده در دو جمعیت مورد بررسی

Population	*Syp 4*	*HLJ809*	*LOC5*	*HLJ848*
Population۱ پرورش				
I	1.040	1.375	0.000	1.209
Population2 تکثیر				
I	1.061	0.802	0.562	1.849

میزان F_{st} که نشان دهنده ی اختلاف بین این دو جمعیت است ۰,۱۱۹ می باشد که با توجه به این میزان تنوع پایینی بین این دو جمعیت نمایان می گردد. دندروگرام UPGMA بر اساس مقدار فاصله ی ژنتیکی نشان داد که این دو منطقه در دو شاخه ی مجزا قرار دارند(شکل ۱)

شکل ۱ : دندروگرام جمیعت دو مرکز پرورش (۱) و تکثیر(۲)



بحث :

امروزه تنوع ژنتیکی به عنوان یکی از شاخص های وضعیت اکولوژیک اکوسیستم های آبی به کار می رود و برای مناطق مختلف کاربرد علمی و مدیریتی بعنوان یک ابزار منحصر به فرد و توانمند جهت ارزیابی وضعیت و روند طولانی مدت جوامع

www.SID.ir

زیستی مطرح می باشد (۲۴). اولین مرحله ی مهم تدوین استراتژی مدیریت ذخایر آبزیان در منابع آبی،مشخص شدن ساختار ژنتیکی جمعیت های در حال بهره برداری است. این استراتژی در صورتیکه بر پایه ی روش های دقیق و قوی مثل داده های مولکولی باشد، می تواند علاوه بر حفظ تنوع زیستی، میزان برداشت و بهره برداری را به حد معقول و حداکثر برساند (۲۰). تکثیر موفقیت آمیز جایگاه های مورد استفاده در این بررسی حاکی از حفاظت شدگی این جایگاه ها می باشد. سه جایگاه از چهار جایگاه مورد مطالعه تنوع بالایی را نشان داد که شبیه مطالعات سابق توسط یوسفیان و همکاران و li و همکاران می باشد . مقایسه ی تنوع مشاهده شده در ماهی کپور با استفاده روش ریزماهواره با مطالعه ی همین ماهی توسط لالویی و همکاران در سال ۱۳۸۷ با استفاده از ژن ND3/4 و ND5/6 و روش PCR-RFLP بر تنوع بالای ریزماهواره ها دلالت دارد. با توجه به اینکه زیرگونه ی کپور معمولی ایران با سایر کشورها متفاوت است (۱۳،۵) و تاکنون مطالعه ای در جهت بررسی ماهیان پرورشی انجام نشده است، بررسی با سایر کشور ها چندان مقدور نمی باشد. هتروزیگوسیتی و تعداد آلل ها جز پارامترهای مهم تنوع ژنتیکی جمعیت ها از لحاظ روبرو شدن با تغییرات محیطی هستند (۱۱). در بررسی های تنوع ژنتیکی، غنای آللی نسبت به هتروزیگوسیتی دارای ارزش بالاتری است. با توجه به نتایج حاصل در این تحقیق، می توان اذعان نمود که انحراف از تعادل هاردی واینبرگ برخی از جایگاه های ژنی، به علت افزایش هتروزیگوسیتی است. در واقع، با مقایسه ی هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار در میان جمعیت ها و برخی از جایگاه های ژنی مورد بررسی در این تحقیق، مشاهده می شود که میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده از میزان هتروزیگوسیتی مورد انتظار بیشتر بوده، که این همان افزایش هتروزیگوسیتی است. در بررسی حاضر انحراف از تعادل هاردی واینبرگ مشاهده شده در بعضی جایگاه ها را می توان به اندازه ی کوچک جمعیت و تاثیر آن در نمونه برداری نسبت داد. هم چنین انحراف از تعادل در این جمعیت ها را می توان بر اثر اختلاط جمعیت ها و یا جفت گیری غیر تصادفی نیز باشد (۱۶). فرضیه ی تعادل هاردی واینبرگ بر اساس چگونگی توزیع ژن ها و ژنوتیپ های مختلف در یک جمعیت بنا شده است و بنابراین فرضیه، حضور تعادل ژنتیکی مبتنی بر چند شرط اصلی می باشد که از آن جمله می توان به بسته بودن جمعیت و عدم مهاجرت، بزرگی جمعیت و عدم رانش ژنتیکی، جفت گیری تصادفی و عدم انتخاب (بقا و کارایی یکسان ژنوتیپ ها در تولید اخلاف) و عدم جهش اشاره کرد (1). بطور کلی یک عامل مصنوعی به تنهایی نمی تواند انحراف از تعادل را توضیح دهد، اما مجموعه ای از عوامل ناشی از تکثیر مصنوعی و برنامه های بازسازی ذخایر می توانند در ایجاد افزایش و انحراف از تعادل در جمعیت های مورد بررسی دخیل باشند (۴). وجود تنگنای ژنتیکی در هر دو جمعیت تایید می شود. در جمعیت های پرورشی معمولا تنگنای ژنتیکی هنگامی رخ می دهد که تعداد کمی مولد، نتاج زیادی تولید کرده که تمام نسل بعد را تشکیل می دهند (۷). استفاده از نسبت های جنسی نابرابر و بقای متفاوت نتاج بدست آمده نیز از طریق کاهش اندازه ی جمعیت موثر باعث بروز تنگنای ژنتیکی می شوند (۱۸). آنالیز واریانس مولکولی به عنوان یک آنالیز آماری وسیله ی مناسبی برای مشخص کردن ساختار جمعیت و میزان تمایز ژنتیکی بین جمعیت است (۱۲). معمولا در بررسی های جمعیتی میزان F_{st} شاخص مهمی جهت تمایز و تفکیک ژنتیکی بین جمعیت ها می باشد (۸). میزان F_{st} بدست آمده (۰،۱۱۹) نشان دهنده ی تمایز متوسط بین دو جمعیت است. بر اساس معیار Wright در سال ۱۹۷۸، مقادیر F_{st} از صفر تا ۰،۰۵ میزان کم تمایز ژنتیکی، ۰،۰۵ تا ۰،۱۵ مقدار متوسط و ۰،۱۵ تا ۰،۲۵ مقدار بالای تمایز را نشان می دهد. طبق پیراسنجه های عنوان شده که مقدار شباهت ژنتیکی برای سطوح فیلوژنی مختلف در شاخه های مهره داران که توسط مقادیر فاصله ی ژنتیکی نئی (۱۹) محاسبه می شود برای جمعیت های هم گونه ۰،۹ – ۰،۸ ، برای گونه های هم جنس ۰،۸۵ – ۰،۳۵ می باشد (۲۱). مقدار فاصله ی بدست آمده در این بررسی ۰،۳۴۹ می باشد که در محدوده ی گونه های هم جنس قرار می گیرند. با توجه به نتایج بدست آمده و تجزیه و تحلیل های انجام شده در این تحقیق، اگرچه تنوع ژنتیکی مناسبی در درون هر یک از جمعیت ها مشاهده می شود، اما تنوع ژنتیکی چندانی میان جمعیت موجود در دو منطقه وجود ندارد. نتایج بدست آمده از این مطالعه ممکن است به سبب تعداد پرایمرها و تعداد نمونه های مورد بررسی محدود

Archive of SID

www.SID.ir

باشد. بنابراین داده های ژنتیکی و آنالیزهای بیشتری برای تایید وجود یا عدم وجود تفاوت های ژنتیکی بیشتر را می طلبد. با توجه به ارزیابی مقادیر بدست آمده می توان جمع بندی کرد که احتمالا یک جمعیت بوده و یک مدیریت ژنتیکی مناسب برای بالا بردن تنوع ژنتیکی ماهیان تکثیر مصنوعی شده نیاز است.

سپاسگزاری :

بدین وسیله از حوزه ی معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز و علی الخصوص مدیر پژوهش واحد جناب آقای مهندس علیرضا نویدی به جهت همکاری در انجام این تحقیق در قالب پایان نامه کارشناسی ارشد و هم چنین از جناب آقای دکتر شهاب سادات که از هیچ گونه همیاری و همکاری دریغ نفرمودند قدردانی می گردد.

Archive of SID

www.SID.ir

منابع :

۱) استانسفیلد و، ژنتیک، تئوری و مسائل ،ترجمه محمد صبور و حمیده غروی، چاپ اول، تهران: انتشارات فاطمی، ۱۳۷۳، .۶۹۶

۲) عمادی ح، قاسمی مجد پ، راهنمای مصرف کننده در: شناخت انواع ماهی و میگوی خوراکی، چاپ اول، تهران:انتشارات علمی آبزیان، ۱۳۸۶، ۲۵۱.

۳) فریدپاک ف، دستورالعمل اجرایی تکثیر و پرورش ماهی های گرم آبی، چاپ پنجم، تهران:انتشارات علمی آبزیان، ۱۳۸۹، ۳۰۵.

۴) قلیچ پور م، شعبانی ع، شعبان پور ب. مقایسه ساختار ژنتیکی دو جمعیت کپورمعمولی (Cyprinus carpio) در مناطق قره سو و انزلی با استفاده از هشت نشانگر ریزماهواره. تاکسونومی و بیوسیستماتیک،۱۳۸۹؛ سال دوم، شماره چهارم: ۳۹-۴۸ .

۵) لالوئی ف، رضوانی گیل کلایی س، فاطمی م، تقوی م. بررسی ژنتیک جمعیت ماهی کپور معمولی (Cyprinus carpio) حوضه جنوبی دریای خزر با استفاده از mtDNA (PCR-RFLP) . مجله علمی شیلات،۱۳۸۷؛ سال هفدهم، شماره دوم: ۱۰۲-۸۹ .

۶) وثوقی غ، مستجیر ب، ماهیان آب شیرین، چاپ هفتم، تهران: انتشارات دانشگاه تهران، ۱۳۸۵، ۳۱۷.

7) Allendrof F, Ryman N, Utter F, Genetic and fishery management: past, present and future, Ryman N, Utter F, Population genetics and fishery management, 1, Seattle: Washington sea grant publication, 1987, 440.

8) Ballox F, Logun-Moulin N. The estimate of population defferentation with microsatellite markers. Mol Ecol, 2002; 11(2): 155-165.

9) Chen L, Li Q, Yang J. Microsatellite genetic variation in wild and hatechery populations of the sea cucumber from northern china. Aquaculture Res, 2008; 39 (14): 1541-1549.

10) Dunham R, Biochemical and Molecular Marker, Dunham R, Aquaculture and Fisheries Biotechnology Genetic Approaches, 2nd, Wallingford, Oxfordshire , 2011, 504.

11) Frankham R. Genetic adaptation to captivity in conservation programs. Mol Ecol, 2008; 17(1): 325-333 .

12) Grassi F, Imazio S, Gomarasca S, Citterio S, Aina R, Sgorbati S, Sala F, Patrignani G, Labra M. Population structure and genetic variation within Valeriana wallrothii in relation to different ecological location. Plant Sci, 2004; 166(6): 1437-1441.

13) Kirpichnikov V. Methods and effectiveness of Rop-sha carp breeding. Immunication I. Breeding aims, Orginal Forms and Cross System. Russ J Genet, 1972; 8(1): 65-72.

14) Kohlman K, Gross R, Murakaeve A and Kersten P. Genetic variation and structure of common carp populations throughout the distribution range inferred from allozyme, microsatellite and mtDNA marker. Aquat. Living Resour, 2003; 16(5): 421-431.

15) Li D, Kang D, Yin Q, Sun X, Liang L. Microsatellite DNA Marker Analysis of Geneetic Diversity in Wild Common Carp (Cyprinus carpio L.) Populations. J Genet Genomics, 2007; 34(11): 984-993.

16) Lin Y, Chen S, Li J, Li B. Assessing the genetic strature of three Japanese flounder (Paralichthys olivaceus) stock by microsatellite markers. Aquaculture, 2005; 243(1-4): 103-111.

17) Liu Z,Concept of Genome and Genomic, Aquaculture genome technologies,1st, Oxford, Blackwell Publishing, 2007,584.

18) Machado-Schiaffino G, Depico E and Garcia E. Genetic variation losses in Atlantic salmon stocks created for supporitive breeding. Aquaculture, 2007; 264 (1-4): 59-65.

19) Nei M. Genetic distance between populations. ASN, 1972; 106(949): 283-292 .

20) Thai B, Pham T, Austin G. Genetic diversity of common carp in Vietnam using direct sequencing and SSCP analysis of the mitochondrial DNA control region. Aquaculture, 2006; 258(1): 228-240 .

21) Thrope J, Solcava A. The use of allozyme electrophoresis in vertebrate systematic. Zooll Scripta, 1994; 23(1): 3-18.

22) Yousefian M, Laloei F. Genetic Variations and Structure of Common Carp(Cyprinuns carpio) Population by Use of Biochemical, Mitochondrial and Microsatellite Markers. MEJSR, 2011; 7(3): 339-345.

23) Zhou J, Wu Q, Ye Y, Tong J. Genetic divergence between Cyprinus carpio haematopterus as assessed by mitochondrial DNA analysis, with emphasis on origin of European domestic carp. GSA, 2003; 119(1): 93-97 .

24) Zhou J, Wu Q, Ye Y, Tong J. Genetic variation analysis within and among six varietics of common carp in china using microsatellite markers. Russ J Genet, 2004; 40 (10): 1389-1393 .

25) http://genome-lab.ucdavis.edu/Protocols/dna_extraction_from_fish_fins.html

Archive of SID

www.SID.ir