Archive of SID

مجله بوم شناسی آبزیان

Journal homepage: http://jae.hormozgan.ac.ir

تنوع و تمایز ژنتیکی ماهی کپور معمولی *Cyprinus carpio* در سواحل جنوبی دریای خزر و رودخانه سد ارس

آمنه امیرجنتی، مهرنوش نوروزی*، محمد هادی سمیعی، محمد بهروز

دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن، گروه شیلات و بیولوژی دریا، تنکابن، ایران

نوع مقاله:
پژوهشی

تاریخچه مقاله:
دریافت: ۹۳/۰۶/۲۴
اصلاح: ۹۳/۱۱/۲۰
پذیرش: ۹۳/۱۱/۲۹

کلمات کلیدی:
ریزماهواره
ژنتیک جمعیت
ماهی کپور
Cyprinus carpio

چکیده

ماهی کپور معمولی، *Cyprinus carpio* یکی از گونه‌های مهم اقتصادی دریای خزر است. هدف از این مطالعه بررسی تنوع و تمایز ژنتیکی ماهی کپور معمولی در مصب گرگانرود، سواحل رامسر، تالاب انزلی و رودخانه سد ارس با استفاده از پرایمرهای ریزماهواره بود. در مجموع ۱۰۰ نمونه ماهی بالغ از مناطق نمونه برداری جمع آوری شد. از هفت جفت پرایمر ریزماهواره، بر روی DNA ژنومی ماهی کپور استفاده گردید که فقط ۵ جفت از آنها (MFW6، MFW7، MFW9، SyP4 و Ca3/4) چند شکلی (پلی مورف) نشان دادند و از آنها برای تعیین تنوع ژنتیکی کپور معمولی استفاده شد. میانگین اللی آنها در جایگاه‌ها ۷/۷ (دامنه Na ، ۲ تا ۱۲ الل در جایگاه‌ها) بود. همه مناطق نمونه‌برداری اللهای اختصاصی نشان دادند. میانگین هتروزیگوسیتی قابل انتظار و هتروزیگوسیتی مشاهده شده به ترتیب ۰/۷۹۰ و ۰/۸۶۳ محاسبه شد. در بررسی تعادل هاردی وینبرگ (H-W) بیشتر جایگاه ها خارج از تعادل بودند. میانگین ضریب خویشاوندی (F_{IS})، جریان ژنی (Nm) و شاخص تمایز (F_{ST}) بر اساس فراوانی اللی به ترتیب ۰/۱۰۴-، ۲/۹ و ۰/۰۹۹ به دست آمد. بر اساس تست AMOVA میزان F_{ST} و R_{ST} بین مناطق معنی‌دار بود. بررسی حاضر، تنوع و تمایز ژنتیکی جمعیت‌های ماهی کپور معمولی در مناطق نمونه برداری را نشان می‌دهد.

مقدمــه

ماهی کپور معمولی، *Cyprinus carpio* Linnaeus 1758 از خانواده Cyprinidae است (Kohlmann *et al*., 2003). این ماهی از گونه‌های اقتصادی دریای خزر است و به عنوان منبع غذایی مهمی برای مردم محسوب می‌گردد. هرچند این گونه به صورت بومی و طبیعی در تمام سواحل دریای خزر وجود دارد و برای تولید مثل وارد مصب رودخانه‌ها می‌شود، اما در سال‌های اخیر به علت صید بی‌رویه و از بین رفتن محل‌های تولید مثل، نسل آن کاهش پیدا کرده، به طوری که جزو گونه‌های نیازمند به حفاظت در منطقه به شمار می‌رود (عبدلی و نادری، ۱۳۸۷). بیشترین فراوانی این گونه در جنوب شرقی دریای خزر (خلیج گرگان و تالاب گمیشان) می‌باشد (عبدلی و نادری، ۱۳۸۷). این ماهی در آب‌های شیرین و لب شور زندگی می‌کند. دمای مناسب جهت رشد این ماهیان ۱۸ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد می‌باشد و از دمای بالای ۱۰ درجه سانتی‌گراد تا ۳۰ درجه سانتی‌گراد تغذیه می‌نمایند. کپور معمولی همه‌چیزخوار است و از موجودات ریز بستر آب، کرم‌ها، سخت‌پوستان، نوزاد حشرات و حتی فضولات حیوانی و گیاهی، لاشه حیوانات، تخم ماهیان و نوزادان خود مصرف می‌کند (ستاری و همکاران، ۱۳۸۲). این ماهیان در تالاب‌ها و استخرهای پرورشی تا حد زیادی از شیرونومیده و در دریای خزر از نرم‌تنان، سخت‌پوستان، کرم‌ها و مواد

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: mnoroozi@tonekaboniau.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

پوسیده گیاهی و جانوری تغذیه می‌کنند (عبدلی، ۱۳۸۷). کپور معمولی در سن ۳ تا ۴ سالگی بالغ می‌شود. تولیدمثل آن‌ها در فصل بهار از اردیبهشت ماه شروع و تا اوایل تیرماه ادامه می‌یابد. ماهی کپور معمولی در حوضه جنوبی دریای خزر در تالاب انزلی دوره مهاجرت از اواخر اردیبهشت ماه تا پایان خرداد ماه است و در رودخانه قره‌سو و گرگانرود از فروردین ماه تا پایان اردیبهشت ماه می‌باشد (عبدلی، ۱۳۸۷).

استفاده اصولی و پایدار از ذخایر ارزشمند ماهی کپور معمولی نیازمند شناخت کامل از ذخایر و جمعیت های موجود آن می‌باشد. این آگاهی می‌تواند راهگشای برنامه ریزی برای مسئولین مربوطه و کلیه عوامل بهره بردار در جهت کمک به حفظ ذخایر موجود و کاهش فشار صید این ماهی باشد. تنوع ژنتیکی منابع دریایی اهمیتی حیاتی برای حفاظت و مدیریت از آنها داشته، به عنوان اولین نیازمندی برای حفاظت از سازش جمعیت‌ها در مقابل تغییرات شرایط محیطی است (Diz and Presa, 2009). همچنین هر چه دانش ما از جمعیت ها و تنوع درون گونه ای بیشتر باشد تلاش برای حفاظت از آن گونه موفقیت آمیزتر است. نشانگرهای مولکولی به عنوان ابزاری مناسب برای این منظور هستند که از جمله آنها، نشانگر ریزماهواره می‌باشد که قادر است سطوح بالایی از چندشکلی را نشان دهد (Chistiakov *et al*., 2005). طبیعت چند اللی ریزماهواره‌ها، توراث همبارز، و فراوانی بالا موجب شده است که آنها کاربری موفقی در رشته‌های مختلف تحقیقی و عملی داشته باشند (Sekar *et al*., 2009). تاکنون مطالعات زیادی در دنیا با استفاده از روش‌های مولکولی و ریزماهواره بر روی کپور ماهیان انجام شده است. از جمله Lior و همکاران (۲۰۰۳) با استفاده از ریزماهواره‌ها تنوع جمعیت کپور معمولی را بررسی کردند. Mondol و همکاران (۲۰۰۶) با استفاده از ۵ جایگاه ریزماهواره‌ها سویه‌های متفاوت کپور را در بنگلادش بررسی کردند. Thai و همکاران (۲۰۰۷) با استفاده از ۴ جایگاه ریزماهواره تنوع ژنتیکی و جمعیت‌های بومی و غیربومی کپور معمولی در ویتنام را بررسی کردند. Kohlmann و همکاران (۲۰۰۳) تمایز و تغییرپذیری ژنتیکی را بر اساس ۴ جایگاه ریزماهواره در جمعیت‌های اهلی و وحشی کپور معمولی بررسی کردند. در ایران، Yousefian (۲۰۱۱)، با استفاده از ۵ جایگاه ریزماهواره تغییرات ژنتیکی کپور معمولی در جنوب شرقی دریاچه خزر را بررسی کرد. Yousefian و Laloei (۲۰۱۱)، در بررسی تنوع زیستی و ساختارهای جمعیتی کپور معمولی با استفاده از ۵ جایگاه ریزماهواره، به این نتیجه رسیدند که ریزماهواره‌ها ابزار اثربخشی برای شناسایی و تفکیک جمعیت‌های متفاوت کپور معمولی هستند. قلیچ پور و همکاران (۱۳۸۹)، با استفاده از نشانگر ریزماهواره در ارزیابی ساختار جمعیتی این گونه در مناطق قره سو و انزلی، وجود جریان ژنی بالا بین مناطق مورد بررسی را گزارش کردند و علت آن را ناشی از مهاجرت طبیعی ماهی و همچنین روش رهاسازی لاروهای حاصل از تکثیر مصنوعی بیان کردند.

ماهی کپور معمولی به صورت بومی و طبیعی در تمام سواحل دریای خزر و دریاچه سد ارس وجود دارد و سالانه میلیونها قطعه بچه ماهی گرمابی از جمله ماهی کپور معمولی در سد ارس رهاسازی می‌شود. از آنجاییکه تکثیر مصنوعی این گونه و رها سازی آن بدون توجه به محل صید مولدین در نقاط مختلف دریای خزر و رودخانه سد ارس سالهاست که انجام می‌گیرد، بررسی تمایز و تنوع ژنتیکی ماهی کپور معمولی بین این مناطق ضروری است. مطالعه حاضر بر روی ماهی کپور معمولی با استفاده از جایگاه‌های ریزماهواره برای مطالعه ساختار جمعیت‌های این ماهی در حوضه جنوبی دریای خزر در مصب گرگانرود، سواحل رامسر، تالاب انزلی و رودخانه سد ارس انجام گردید تا تشکیل جمعیت‌های احتمالی ماهی کپور معمولی، تمایز و تنوع ژنتیکی آن در این مناطق مشخص گردد.

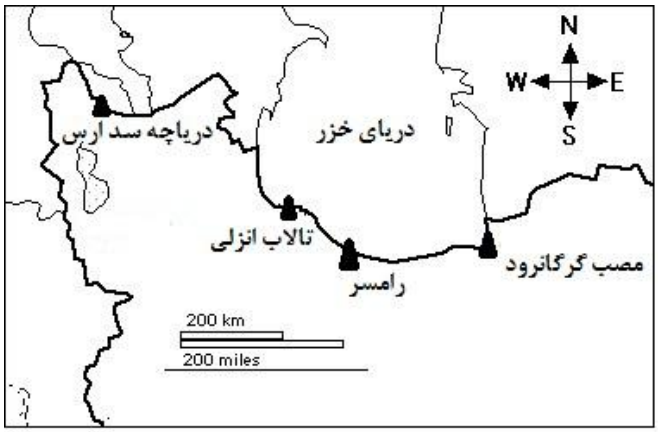
مواد و روش‌ها

در مجموع از ۱۰۰ نمونه ماهی کپور بالغ از مصب گرگانرود (37° 47′, 36° 34′ N, 54° 02′, 56° 16′ E) ۲۰ نمونه، سواحل رامسر (36° 54′ 1.08″ N, 50° 40′ 57″ E) ۲۰ نمونه، تالاب انزلی (37° 28′ 16″ N, 49° 27′ 44″ E) ۳۰ نمونه و رودخانه سد ارس (۴۸°۲۷′ N, ۴۰°۱′E) ۳۰ نمونه، از قسمت باله‌ی دمی نمونه گیری انجام گرفت (شکل ۱). سپس نمونه‌ها در الکل ۹۶٪ تثبیت گردید و در نهایت به آزمایشگاه ژنتیک انتقال یافت و در فریزر ۸۰- درجه سانتی گراد، تا شروع مرحله‌ی استخراج نگهداری شدند. استخراج DNA از بافت باله‌ی دمی ماهی کپور معمولی با استفاده از کیت از شرکت Roach آلمان و طبق

www.SID.ir

Archive of SID

دستورالعمل شرکت سازنده انجام گردید. به منظور بررسی کمیت و کیفیت DNA استخراج شده از روش های اسپکتروفتومتری و الکتروفورز ژل آگارز ۱٪ استفاده گردید.



شکل ۱. نمایی از مناطق نمونه برداری از ماهی کپور معمولی که در آن مصب گرگانرود، رامسر تالاب انزلی و دریاچه سد ارس نشان داده شده است

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با ۷ جفت پرایمر ریزماهواره طراحی شده برای ماهی کپور MFW6، MFW7، MFW9 (Thai *et al.*, 2007)، Ca3/4 (Dimsoski *et al.*, 2000)، SyP4 (Crooijmans *et al.*, 1997) و Z9/10، Loc5 (Turner *et al.*, 2004) انجام گردید (جدول ۱). واکنش PCR توسط دستگاه ترموسایکلر ساخت شرکت BIO-RAD با استفاده از ۲/۵ میکرولیتر بافر PCR ، ۰/۵ میلی مولار dNTP، ۱ میکرولیتر پرایمر، (۵0Mm) MgCl2 ۱ میکرولیتر ، ۰/۴ واحد آنزیم Taq DNA Polymerase و ۳-۲ میکرومولار DNA هدف و با آب مقطر تا رسیدن به حجم ۲۵ میکرولیتر انجام شد. شرایط چرخه دمایی و مشخصات داده شده به دستگاه ترموسایکلر برای واکنش زنجیره ای پلی مراز به ترتیب مرحله جداسازی ۹۵ - ۹۴ درجه سانتیگراد از ۴۵-۳۰ ثانیه، مرحله اتصال پرایمرها به هدف از ۵۸ تا ۶۲ درجه سانتیگراد به مدت ۴۰-۳۰ ثانیه و ۳۵ چرخه، مرحله بسط پرایمر ۷۲ درجه سانتیگراد، ۴۰ ثانیه تا یک دقیقه بهینه سازی گردید. محصول PCR بر روی ژل پلی اکریل آمید ۸ درصد (دیونیزه) الکتروفورز شد و رنگ آمیزی ژل با نیترات نقره انجام گرفت (Bassam *et al.*, 1991). در انتها تصویر ژل ها تهیه گردید و تصاویر با استفاده از نرم افزار uvitec بررسی شدند (http://www.labtech-equipment.com/UV/UV.html).

جدول۱. نام جایگاه، توالی پرایمر، دمای الصاق (درجه سانتیگراد)، تعداد چرخه (ثانیه)، اندازه اللی (جفت باز) و منبع هر یک از پرایمرها

جایگاه	توالی پرایمرها	چرخه/دما	اندازه اللی	منبع
MFW6	F-ACCTGATCAATCCCTGGCTC R-GTTTGGGACTTTTAAATCACGTTG	۳۵/۶۲	۱۳۸ -۲۰۴	Thai *et al*. 2007
MFW7	F-TACTTTGCTCAGGACGGATGC R-GTTTATCACCTGCACATCGCCACTC	۳۵/۶۲	۱۵۳-۲۴۶	
MFW9	F-GATCTGCAAGCATATCTGTCG R-GTTTATCTGAACCTGCAGCTCCTC	۳۵/۶۰	۹۶-۱۵۰	
SyP4	F-CACACCGGGCTACTGCAGAG R-GTGCAGTGCAGGCAGTTTGC	۳۰/۵۸	۲۷۶-۳۱۲	Crooijmans *et al*. 1997
Ca3/4	F-GGACAGTGAGGGACGCAGAC R-TCYAGCCCCAAATTTTACGG	۳۰/۶۰	۲۵۰-۳۵۴	Dimsoski *et al.* 2000
Z9/10	F-CGTCTGACAGCCTGCATG R-CTCGGCGCAGTAGGGAAC	-	بدون باند	Turner *et al*., 2004
Loc5	F-TTACACAGCCAAGACTATGT R-CAAGTGATTTTGCTTACTGC	-	بدون باند	

www.SID.ir

Archive of SID

آنالیز آماری شامل، فراوانی اللی، تعداد اللی (Na[1]) و تعداد اللهای موثر (Ne[2]) در جایگاههای ریزماهواره، اللهای اختصاصی، هتروزیگوسیتی مورد انتظار (He[3]) و مشاهده شده (Ho[4])، مقادیر ضریب خویشاوندی (F_{IS}[5])، ضریب آمیزش خویشاوندی درون افراد نسبت به کل (Fit[6])، شاخص تمایز[7] (R_{ST} و F_{ST})، جریان ژنی (Nm[8]) ماتریس شباهت و فاصله ژنتیکی براساس Nei,1972 و تعادل هاردی وینبرگ براساس X^2 ، درسطح احتمال ۰/۰۱ در نرم افزار GeneAlex (Peakall and Smouse, 2006) انجام شد. همچنین تمایز ژنتیکی بر اساس تست AMOVA[9] و غنی سازی اللی[10] (A_R) با استفاده از نرم افزار Arlequin 3.5 (Excoffier *et al.*, 2005) با استفاده از ۱۰۰۰۰ شبیه سازی در هر مورد نیز محاسبه گردید.

نتایــج

به منظور بررسی ژنتیک جمعیت نمونه های ماهی کپور معمولی از ۷ جفت پرایمر ریزماهواره استفاده گردید که پس از تکثیر و الکتروفورز ژل پلی اکریل آمید ۵ جفت آنها تولید باندهای پلی مورفیک نمودند (MFW6، MFW7، MFW9 و SyP4 ، Ca3/4). در هنگام شمارش الگوی باندی در تمام جایگاهها یکی و در برخی موارد دو باند دیده شد. اندازه اللی به دست آمده از ۹۶ تا ۳۵۴ جفت باز بود (جدول ۱). در کل ۵۷ الل در ۱۰۰ نمونه شناسایی شد. در نمونه های مصب گرگانرود ۴۹ الل شناسایی شد که ۳۸ الل آن در فراوانی بیشتر از ۰/۰۵ هستند. در نمونه های سواحل رامسر ۴۱ الل شناسایی شد که ۲۹ الل آن در فراوانی بیشتر از ۰/۰۵ هستند. در نمونه های تالاب انزلی ۴۶ الل شناسایی شد که ۳۰ الل آن در فراوانی بیشتر از ۰/۰۵ هستند. در نمونه های رودخانه سد ارس ۴۴ الل شناسایی شد که ۳۲ الل آن در فراوانی بیشتر از ۰/۰۵ هستند (جدول ۱). بیشترین فراوانی اللی (۰/۴۲۵) را جایگاههای SyP4 در سواحل رامسر نشان داد. بیشترین تعداد اللی را جایگاه MFW6 با ۱۳ الل نشان داد (جدول ۱).

میانگین تعداد الل واقعی و مؤثر به ترتیب ۷/۷۵ و ۵/۶۳ و دامنه اللی از ۲ تا ۱۲ الل به دست آمد. دامنه اللی در جایگاه MFW6 از ۲ تا ۱۱ الل (A_R =۹/۸۲)، MFW7 از ۲ تا ۱۲ الل (A_R =۹/۶۰)، MFW9 از ۷ تا ۹ الل (A_R =۹/۴۲)، SyP4 از ۵ تا ۱۱ الل (A_R =۹/۹۳)، Ca3/4 از ۷ تا ۹ الل (A_R =۹/۲۶) مشاهده گردید (جدول ۲). مجموعاً ۶ الل اختصاصی یافت شد. تعداد الل اختصاصی در نمونه های مصب گرگانرود ۳ الل و سواحل رامسر یک الل، تالاب انزلی یک الل و رودخانه سد ارس یک الل با فراوانی بیش از ۰/۰۵ بودند که این اللها در هیچ یک از دیگر مناطق نمونه برداری شناسایی نشدند. جایگاه MFW6 با تعداد یک الل اختصاصی در تالاب انزلی (به فراوانی ۰/۰۵۱ در ۱۵۳ جفت باز) و ۳ الل اختصاصی همه در مصب گرگانرود (به فراوانی ۰/۰۵۱ در ۱۴۷ جفت باز ، ۰/۱۰۰ در ۲۰۱ جفت باز و ۰/۱۵۰ در ۲۰۴ جفت باز) نشان داد. جایگاه MFW9 یک الل اختصاصی در سواحل رامسر (به فراوانی ۰/۱۵۰ در ۱۵۰ جفت باز) و یک الل اختصاصی در رودخانه سد ارس (به فراوانی ۰/۱۰۰ در ۱۱۱ جفت باز) نشان داد.

در این بررسی دامنه Ho در تمامی جایگاه ها از ۰/۲۵۰ تا یک با میانگین ۰/۸۶۳ و دامنه He از ۰/۵۰۰ تا ۰/۸۹۸ با میانگین ۰/۷۹۰ بود (جدول ۲). کمترین مقدار Ho، عدد ۰/۲۵۰ در جایگاه SyP4 در نمونه های جمع آوری شده از رامسر به دست آمد. کمترین مقدار He، ۰/۵۰۰ در جایگاه MFW6 مربوط به مصب گرگانرود و بیشترین آن، ۰/۸۹۸ در جایگاه MFW7 در نمونه های انزلی بود (جدول ۲). در بررسی تعادل هاردی وینبرگ (H-W) همه جایگاه ها خارج از تعادل بودند (P<۰/۰۰۱). فقط در جایگاه SyP4 در نمونه های انزلی و جایگاه Ca3/4 در نمونه های رامسر انحراف از تعادل دیده نشد (جدول ۲). میانگین ضریب آمیزش خویشاوندی درون افراد نسبت به کل (Fit) برابر با ۰/۰۱۵ و دامنه آن از ۰/۱۷۲- در جایگاه MFW6 تا

1. Number of alleles
2. Effective alleles
3. Expected heterozygosity
4. Observed heterozygosity
5. inbreeding coefficient within individuals relative to the population
6. inbreeding coefficient within individuals relative to the total
7. The inbreeding coefficient within subpopulations, relative to the total.
8. Number of Migrants
9. Analysis of Molecular Variance
10. Allelic Richment

www.SID.ir

Archive of SID

۰/۲۵۳ در جایگاه Ca3/4 محاسبه گردید (جدول ۳). میانگین ضریب آمیزش خویشاوندی (F_{IS}) در جایگاهای ریزماهواره ۰/۱۰۴- بود و دامنه آن از ۰/۲۲۲- در جایگاه MFW9 تا ۰/۶۷۴ در جایگاه SyP4 محاسبه گردید. مقادیر مثبت F_{IS} نشان‌دهنده کاهش هتروزیگوسیتی است. جایگاه MFW9 با کمترین میزان F_{IS} بالاترین میزان هتروزیگوسیتی را در تمامی جایگاه‌ها نشان داد.

بر اساس فراوانی اللی دامنه F_{ST} از ۰/۰۶۱ تا ۰/۲۰۶ با میانگین ۰/۰۹۹ و جریان ژنی ۰/۹۶۶ تا ۲/۲۵۴ به دست آمد (جدول ۳)، که نشان دهنده تمایز ژنتیکی متوسط می‌باشد (Balloux and Lugan, 2002). میزان F_{ST} ، R_{ST} و جریان ژنی بر اساس تست AMOVA ، معنی‌دار بود ($P<0/01$) و نشان دهنده جدا شدن جمعیت‌ها می‌باشد. در تمام موارد، میزان R_{ST} بین جفت جمعیت‌ها بالاتر از میزان F_{ST} به دست آمد. دامنه فاصله ژنتیکی بر اساس Nei (۱۹۷۲)، ۰/۳۹۹ تا ۰/۷۰۲ و دامنه شباهت ژنتیکی ۰/۳۱۳ تا ۰/۶۷۱ به دست آمد.

جدول ۲. مقادیر تعداد آللی (Na)، آلل های مؤثر (Ne)، هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Ho)، هتروزیگوسیتی قابل انتظار (He)، غنی سازی اللی (A_R)، ضریب خویشاوندی (F_{IS})، انحراف از تعادل هاردی- وینبرگ (معنی دار نیست، ns . $P<0/001$ *** . $P<0/01$ ** . $P<0/05$ *) در ۵ جایگاه ریزماهواره

میانگین		تعدادنمونه منطقه/جایگاه	۳۰ مصب گرگانرود	۳۰ تالاب انزلی	۲۰ سواحل رامسر	۲۰ رودخانه سد ارس	میانگین
	Na(Ne)		۱۱ (۹/۲)	۱۰(۵/۵)	۲(۲)	۲(۲)	
	Ho(He)	MFW6	۱(۰/۸۹۲)	۱(۰/۸۲۱)	۱(۰/۵۰۰)	۱ (۰/۵۰۰)	
۹/۸	A_R		۱۰/۸	۸/۸	۱	۱	۹/۸
-۰/۱۵	$(Signif_{HW})$ F_{IS}		-۰/۱۰۵***	-۰/۲۰۲*	۰***	۰***	-۰/۱۵
	Na(Ne)		۱۱ (۸/۴)	۱۲(۹/۸)	۸(۵/۳)	۷(۴/۲)	
	Ho(He)	MFW7	۰/۷۶۷(۰/۸۸۲)	۰/۷۰۰(۰/۸۹۸)	۱ (۰/۸۱۴)	۱(۰/۷۶۳)	
۹/۶	A_R		۱۰/۵	۱۱/۲۱	۱	۱	۹/۶
۰/۱۹	$(Signif_{HW})$ F_{IS}		۰/۱۴۸***	۰/۲۳۷***	۰***	۰***	۰/۱۹
	Na(Ne)		۸ (۵/۶)	۷(۵/۲)	۷(۵/۷)	۹(۵/۹)	
	Ho(He)	MFW9	۱(۰/۸۲۲)	۱ (۰/۸۰۸)	۱(۰/۸۲۵)	۱(۰/۸۳۳)	
۹/۴	A_R		۷/۹	۶/۶	۷	۹	۹/۴
-۰/۱۹	$(Signif_{HW})$ F_{IS}		-۰/۲۰۱*	-۰/۲۲۲***	-۰/۱۸۸***	-۰/۱۷۶***	-۰/۱۹
	Na(Ne)		۱۱ (۷/۵)	۸(۵/۲)	۵(۳/۷)	۶(۴/۶)	
	Ho(He)	SyP4	۱(۰/۸۶۸)	۱(۰/۸۱۱)	۰/۲۵۰(۰/۷۳۴)	۰/۹۵۰(۰/۷۸۶)	
۹/۹	A_R		۹/۹	۷/۷	۵	۶	۹/۹
-۰/۰۳	$(Signif_{HW})$ F_{IS}		*** -۰/۱۳۵	ns-۰/۲۱۷	۰/۶۷۴***	-۰/۱۸۴*	-۰/۰۳
	Na(Ne)		۸ (۵/۸)	۹(۶/۹)	۷(۴/۳)	۷(۵/۰)	
	Ho(He)	Ca3/4	۰/۲۶۷(۰/۸۲۸)	۰/۳۶۷(۰/۸۵۶)	۰/۹۵۰(۰/۷۶۸)	۱ (۰/۸۰۳)	
۹/۲	A_R		۷/۶	۸/۵	۷	۷	۹/۲
۰/۲	$(Signif_{HW})$ F_{IS}		۰/۶۸۷***	۰/۵۸۳***	ns-۰/۲۱۳	-۰/۲۲۲***	۰/۲
	تعداد کل اللی (فراوانی> ۰/۰۵)						
۷/۷(۵/۶)	Na(Ne)		۹/۸ (۷/۳)	۹/۲(۶/۵)	۵/۸(۴/۲)	۶/۲(۴/۳)	۷/۷(۵/۶)
۸۶۳(۰/۷۹۰)	Ho(He)		۰/۸۰۷(۰/۸۵۸)	۰/۸۱۳(۰/۸۳۹)	۰/۷۲۸(۰/۷۴۷)	۰/۹۹۰(۰/۷۳۷)	۸۶۳(۰/۷۹۰)
۰/							۰/
	Fis		۰/۰۷۷	۰/۰۳۵	۰/۰۹۱	-۰/۱۹۴	

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۳. میزان شاخص تمایز (F_{ST}) و ضریب آمیزش خویشاوندی (Fit) و جریان ژنی (Nm) در هر جایگاه

میانگین (SE)	Ca3	Syp4	MFW9	MFW7	MFW6	
۰/۰۹۹(۰/۰۲)	۰/۰۶	۰/۱۰	۰/۰۶	۰/۰۶	۰/۲۰	F_{ST}
۰/۰۱۵(۰/۰۷)	۰/۲۵۳	۰/۱۰۰	-۰/۱۴۳	۰/۰۳۷	-۰/۱۷۲	Fit
۲/۹ (۰/۵۷)	۳/۹۴	۲/۲۵	۳/۸۷	۳/۴۷	۰/۹۶	Nm

بحث

ماهی کپورمعمولی به صورت بومی و طبیعی در تمام سواحل دریای خزر، خلیج گرگان، تالاب گمیشان، تالاب انزلی و دریاچه سد ارس وجود دارد و برای تولید مثل وارد مصب رودخانه ها می‌شود. بررسی اکولوژی و ژنتیک جمعیت ماهیان با ارزش اقتصادی، برای حفاظت از ذخایر آنها و حفظ صید پایدار بسیار ضروری است (Wang *et al.*, 2011). تنوع ژنتیکی، قابلیت بقای یک گونه و یا جمعیت را از طریق ایجاد توانایی سازگاری با تغییرات محیطی فراهم می کند. یکی از ابزار بررسی تنوع ژنتیکی یک جمعیت، تشخیص تنوع اللی است. فراوانی اللی و هتروزیگوسیتی از شاخص‌های مهم تنوع ژنتیکی جمعیت‌ها در مواجه شدن با تغییرات محیطی هستند (Frankham, 2008) و ویژگی‌هایی همچون رقابت و توانایی برای بقای یک موجود در زیستگاه‌های طبیعی را تعیین می‌سازند (Hakansson and Jensen, 2005). در بررسی حاضر میانگین تعداد اللی ۷/۷ و دامنه اللی بین ۲ تا ۱۲ الل به دست آمد. در مقایسه با دیگر مطالعات بر روی ماهی کپور معمولی با استفاده از ریزماهواره‌ها، قلیچ پور و همکاران (۱۳۸۹) در ۵۴ نمونه ماهی کپور معمولی از مصب رودخانه قره‌سو و تالاب انزلی، دامنه اللی را ۱۱ تا ۱۸ الل و بالاتر از دامنه اللی به دست آمده توسط Crooijmans و همکاران (۱۹۹۷) با همان پرایمرها برروی کپور معمولی گزارش کردند. تفسیر آنها چنین بود که این اختلاف ممکن است در نتیجه تفاوت در تعداد نمونه‌ها باشد، اما می‌تواند حاکی از تنوع ژنتیکی بالاتر در جمعیت های کپور معمولی در مناطق مورد بررسی نیز باشد. Yousefian و Laloei (۲۰۱۱)، در مقایسه تنوع ژنتیکی ماهی کپور معمولی به وسیله نشانگرهای ریزماهواره، میتوکندری و بیوشیمیایی در ۳۰ عدد ماهی کپور معمولی از سواحل جنوبی دریای خزر، دامنه اللی به وسیله نشانگرهای ریزماهواره را بین ۵/۵ تا ۱۳ الل گزارش کردند. بر اساس نتایج آنها نشانگرهای ریز ماهواره ابزار مناسبی برای بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت‌ها هستند. در بررسی حاضر، با وجود اینکه تعداد اللی به دست آمده در محدوده ماهیان آب شیرین و ماهی کپورمعمولی می‌باشد، اما باید توجه داشت که در این بررسی تعداد زیادی الل با فراوانی کمتر از ۰/۰۵ مشاهده شد. وجود اللهای زیاد با فراوانی پایین نشان دهنده تنگناهای ژنتیکی یا اثرات آمیزش خویشاوندی است (Alarcon *et al.*, 2004). در سال‌های اخیر افزایش فعالیت صیادی قانونی و غیرقانونی و کاهش تکثیر طبیعی، باعث شده میزان صید برخی ماهیان استخوانی روند کاهشی پیدا کند. بنابراین می‌توان وجود اللهای زیاد با فراوانی پایین را به علت کاهش شدید ذخایر این ماهی در سالیان گذشته دانست.

هتروزیگوسیتی شاخصی برای ارزیابی تنوع ژنتیکی است و اهمیت زیادی در مطالعه ساختار جمعیت گونه‌ها دارد. زیرا تأمین کننده طیف وسیعی از ژنوتیپ به عنوان پاسخی به سازش پذیری در شرایط متغیر محیطی است و بسیاری از خصوصیات مهم اقتصادی مثل رشد، باروری و مقاومت در برابر بیماری تحت تأثیر آن است (Beardmore *et al.*, 1997). نتایج بررسی حاضر در ماهی کپور معمولی نشان می‌دهد که میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده (۰/۰۵±) ۰/۸۶۳ است و بیشتر از مقدار اعلام شده (۰/۲۵ ±۰/۵۴) برای ماهیان آب شیرین می‌باشد (DeWoody and Avis , 2000). در مقایسه با دیگر مطالعات بر روی ماهی کپور معمولی با استفاده از ریزماهواره‌ها، قلیچ پور و همکاران (۱۳۸۹) بر روی ۵۴ نمونه ماهی کپور معمولی در مصب رودخانه قره‌سو و تالاب انزلی، میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده را یک و هتروزیگوسیتی قابل انتظار را ۰/۹۰ گزارش کردند و میانگین مقادیرهتروزیگوستی اعلام شده در بررسی آنها بالاتر از میزان اعلام شده توسط Crooijmans و همکاران (۱۹۹۷) با همان پرایمرها بر روی کپور معمولی بود و دلیل آن را تفاوت در تعداد نمونه و یا وجود تنوع ژنتیکی بالاتر در جمعیت های کپور معمولی در مناطق مورد بررسی دانستند. Yousefian و Laloei (۲۰۱۱)، در بررسی ۳۰ عدد ماهی کپور معمولی از سواحل جنوبی دریای خزر، دامنه هتروزیگوسیتی قابل انتظار ۰/۷۸۲ تا ۰/۸۴۹ را گزارش کردند. در بررسی حاضر، با وجود

www.SID.ir

Archive of SID

اینکه دامنه هتروزیگوسیتی مشاهده شده را ۰/۲۵۰ تا یک و دامنه هتروزیگوسیتی قابل انتظار ۰/۵۰۰ تا ۰/۸۹۸ و در حد قابل قبولی به دست آمد اما وجود اللهایی با فراوانی پایین و ضریب خویشاوندی مثبت نشان از کاهش تنوع ژنتیکی و افزایش آمیزش خویشاوندی دارد که تحت تأثیر عواملی همچون صید بی‌رویه، کاهش تکثیر طبیعی و شیوه‌های نادرست تکثیر مصنوعی است. به طور مثال، مرکز تکثیر و پرورش شهید کاظمی پلدشت (مرکز تکثیر پرورش ماهیان گرمابی در شمال غرب کشور) سالانه میلیونها قطعه بچه ماهی گرمابی از جمله ماهی کپور معمولی در سد ارس رها می‌کند. البته قابل ذکر است که بررسی های تنوع ژنتیکی در مورد گونه هایی که تحت برنامه های تکثیر مصنوعی و بازسازی ذخایر قرار دارند، هتروزیگوسیتی نمی تواند شاخص مناسبی برای نشان دادن وضعیت ژنتیکی باشد (Petit *et al.*, 1998). همچنین احتمال افزایش هتروزیگوسیتی در برخی جایگاه‌ها ممکن است به علت وجود اللهای نول باشد که به اشتباه رتبه دهی شده اند (McQuown *et al.*, 2003).

متأسفانه، یکی از عواملی که در طی سال‌های اخیر باعث فشار بر ذخایر و بهره برداری بی رویه از ذخایر گردیده است، سهم بسیار زیاد ماهیان غیراستاندارد و نابالغ است. علاوه بر این، در هریک از مناطق نمونه برداری مشکلات دیگری نیز مشاهده می‌شود. به عنوان مثال در تالاب انزلی علاوه بر صید بی رویه، وجود آلودگی زیست محیطی، تخریب زیستگاه اصلی (تالاب انزلی) و پایین آمدن سطح آب دریای خزر طی چند دهه گذشته، منجر به کاهش ذخایر ماهیان در تالاب انزلی شده است (جمال زاد فلاح و همکاران، ۱۳۹۰). در رودخانه و دریاچه سد ارس، ترکیب گونه‌ای ماهیان آن در اثر دستکاری‌های انسانی (رهاسازی گونه‌های اقتصادی، گونه‌های صید تفریحی و گونه‌های ناخواسته)، تحت تاثیر قرار می‌گیرد. مثلاً ماهی غیربومی کاراس، نقش مهمی در کنترل جمعیت ماهیان اقتصادی دریاچه دارد. ماهیان غیربومی به دلیل تغذیه فعال از لارو ماهیان اقتصادی و رقابت شدید غذایی با ماهیان جوان آنها، نقش مهمی در کنترل جمعیت ماهیان اقتصادی دارند. ماهی کاراس کفزی‌خوار، با ماهیان کفزی‌خوار اقتصادی مانند کپور معمولی رقابت غذایی دارد و از آنجاییکه نسبت به شرایط نامساعد محیطی مقاوم است لذا جمعیت آن افزایش می‌یابد (عباسی و سرپناه، ۱۳۸۰). همچنین رودخانه سد ارس که از رودخانه های مرزی ایران است درگیر آلودگی‌های مختلفی است که از جمله آن ریختن فاضلاب صنعتی، خانگی و بیمارستانی در آب و حفاری معدن مس سونگون باعث آلودگی رودهای منتهی به ارس می‌شود و خسارات زیادی به آبزیان آن وارد می‌آورد.

گسترش بی‌رویه گردشگری در سواحل رامسر منجر به پیامدهای زیست محیطی منفی در این سواحل شده است. ورود انواع فاضلابها و قایقرانی به عنوان یکی از فعالیتهای اصلی گردشگری ساحلی، زیستگاههای دریایی را که محل زندگی بسیاری از آبزیان از جمله ماهی کپور معمولی است، تحت تاثیر قرار داده است. همچنین تخلیه مقادیر عظیمی از رسوبات ناشی از ساخت و ساز پروژه های توسعه گردشگری ساحلی و فعالیتهای وابسته به آن از دیگر اثرات زیانبار آنست. یکی از دلایل کاهش غنای گونه ای و تراکم کفزیان در مصب گرگانرود نیز، به علت عدم و جود پوشش گیاهی مناسب، آلودگی‌ها و فاضلاب‌های ناشی از آلودگی‌های انسانی و طبیعی حاصل از پیشرفت صنایع و تأسیس کارگاه‌های متعدد در جوار رودخانه است. همچنین رهاسازی فاضلاب‌ها بی‌آنکه به دستگاه تصفیه مجهز باشند خطر مهمی برای زیست انواع آبزیان می‌باشد. با توجه به استقرار صنایع در حوزه رودخانه گرگان رود و تخلیه فاضلاب آنها که در بیشتر موارد وارد سیستم آب سطحی می گردد و همچنین دفع های روستایی و شهری به داخل رودخانه و از طرفی تأثیر آب‌های سطحی از ضایعات و کود و سموم کشاورزی (مفتاح هلقی، ۱۳۸۸) ، به نظر می‌رسد آب این رودخانه برای ماهیان در وضعیت مناسبی قرار ندارد. با توجه به موارد ذکر شده چنین روند کاهش تنوع ژنتیکی، آمادگی برای بیماری و سایر فاکتورهای انتخابی را افزایش می‌دهد (Shen and Gong, 2004) و در صورت تداوم وضع موجود باید شاهد کاهش شدید در اندازه جمعیت این گونه در آینده نزدیک بود.

در بررسی حاضر بر روی ماهی کپور معمولی، در تمامی مناطق نمونه برداری تقریباً تمام جایگاه‌ها خارج از تعادل هاردی- وینبرگ بودند ($P<0/001$). افزایش هتروزیگوسیتی، اختلاط جمعیت‌ها و یا جفتگیری غیرتصادفی عامل انحراف از تعادل هاردی- وینبرگ هستند. Kohlmann و همکاران (۲۰۰۳)، Mondo و همکاران (۲۰۰۶)، Thai و همکاران (۲۰۰۷)، Yousefian و Laloei (۲۰۱۱)، انحراف از تعادل هاردی- وینبرگ را در بررسی ساختار ژنتیکی ماهی کپور معمولی به وسیله

www.SID.ir

Archive of SID

ریزماهواره‌ها گزارش کردند. Mondo و همکاران (۲۰۰۶)، Thai و همکاران (۲۰۰۷)، انحراف از تعادل هاردی- وینبرگ را در جایگاه‌ها ناشی از اندازه کوچک جمعیت مؤثر و تنگنای ژنتیکی در جمعیت‌ها عنوان می‌کند.

میزان F_{ST} بر اساس فراوانی اللی ۰/۰۹۹ به دست آمد که نشان دهنده تمایز ژنتیکی متوسط می‌باشد، میزان جریان ژنی ۲/۹ محاسبه گردید. در بررسی شاخص تمایز F_{ST} پیشنهاد شده است که مقدار بین صفر تا ۰/۰۵ نشان دهنده تمایز ژنتیکی پایین، مقدار بین ۰/۰۵ تا ۰/۱۵ ، تمایز متوسط و مقدار بین ۰/۱۵ تا ۰/۲۵، تمایز بالاست و مقدار بالای ۰/۲۵ تمایز ژنتیکی خیلی بالاست (Wright, 1978). تست تمایز R_{ST} و F_{ST} بر اساس تست AMOVA بین مناطق نمونه برداری معنی دار بود ($P<۰/۰۱$). Shaklee و همکاران (۱۹۸۲)، Thorpe و Sol-Cave (۱۹۹۴)، میزان فاصله ژنتیکی (Nei, 1972) برای جدایی جمعیت ها را به طور میانگین ۰/۳ (دامنه آن از ۰/۰۳ تا ۰/۶۱) ذکر کرده اند که با فاصله ژنتیکی مشاهده شده در این بررسی مطابقت دارد (۰/۳۹۹) و نشان دهنده تمایز ژنتیکی بین جمعیت های مشاهده شده است. بنابراین ساختار ژنتیکی جمعیت ها از یکدیگر جداست و به نظر می‌رسد جمعیت‌های متفاوت ژنتیکی در مصب گرگانرود، سواحل رامسر، تالاب انزلی و رودخانه سد ارس وجود داشته باشد. با وجود تمایز ژنتیکی بین جمعیتهای مورد مطالعه، علت تمایز ژنتیکی متوسط برقراری جریان ژنی بین مناطق نمونه برداری است. وجود استعداد پراکنش بالا که احتمالاً ناشی از نبود موانع فیزیکی یا اکولوژیکی برای این ماهیان در سواحل جنوبی دریای خزر است موجب ارتباط زیاد در هنگام مهاجرت در زیر جمعیت ها می‌شود که علت وجود ساختار جمعیتی متوسط این گونه است. میزان فاصله ژنتیکی در این بررسی نیز نشان دهنده تمایز ژنتیکی بین جمعیت‌های مشاهده شده است. با توجه به فاصله نسبتاً زیاد بین رودخانه سد ارس و سایر مناطق نمونه برداری، دلیل وجود جریان ژنی را میتوان مربوط به شیوهٔ رهاسازی لاروهای به دست آمده از تکثیر مصنوعی دانست. در بسیاری از موارد مولدین صید شده به منطقه دیگری (مرکز تکثیر و پرورش شهید کاظمی پلدشت) برای تکثیر مصنوعی منتقل می شوند. همچنین پس از تکثیر و بعد از هچ شدن لاروها و رسیدن به وزن مناسب، آنها را مختلط و بدون توجه به محل صید مولدین در تعداد محدودی از رودخانه ها رهاسازی می‌کنند که این امر، باعث بالا رفتن جریان ژنی و در نتیجه اختلاط ژنتیکی در بین ماهیان مناطق مختلف می‌شود.

نتایج این مطالعه، با وجود اللهای اختصاصی و تست تمایز معنی‌دار در هر یک از مناطق نمونه‌برداری، دلایل اولیه را برای وجود جمعیت‌های متمایز ماهی کپور معمولی در مصب گرگانرود، سواحل جنوبی دریای خزر در منطقه رامسر، تالاب انزلی و رودخانه سد ارس نشان می‌دهد. بازسازی رودخانه های محل تخم ریزی این گونه و فراهم آوردن امکان تکثیر طبیعی مولدین، بهترین شیوه برای حفظ و نگهداری تنوع ژنتیکی جمعیت‌های متمایز این ماهی ارزشمند است.

منابـع

جمال زاد فلاح، ف.، خارا، ح.، دقیق روحی، ج.، صیاد بورانی، م. ۱۳۹۰. بررسی مقایسه ای میزان شیوع و شدت آلودگی های انگلی اردک ماهی (*Esox lucius* linnaeus, 1785) در مناطق چهارگانه تالاب انزلی. مجله تالاب، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز. سال دوم، شماره ۸، صفحات ۶۵-۵۳.

ستاری، م.، شاهسونی، د.، شفیعی، ش. ۱۳۸۲. ماهی شناسی۲ سیستماتیک. انتشارات حق شناس. ۵۰۲ ص.

عباسی، ک.، سرپناه، ع. ۱۳۸۰. شناسایی، بررسی فراوانی و پراکنش ماهیان دریاچه سد ارس و شاخابه های ایرانی آن. مجلمه علمی شیلات. سال دهم، شماره ۲، صفحات ۶۲- ۴۱.

عبدلی، الف.، نادری، م. ۱۳۷۸. تنوع زیستی ماهیان حوضه جنوبی دریای خزر. انتشارات علمی آبزیان. ۲۴۲ ص.

قلیچ پور، م.، شعبانی، ع.، شعبانپور، ب. ۱۳۸۹. مقایسه ساختار ژنتیکی دو جمعیت کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در مناطق قره سو و انزلی با استفاده از هشت نشانگر ریزماهواره. تاکسونومی و بیوسیستماتیک. سال دوم، شماره ۵، صفحات ۴۸-۴۱.

مفتاح هلقی، م. ۱۳۸۸. برآورد حداکثر بار آلودگی مجاز قابل تخلیه به گرگان رود. مجله پژوهش‌های حفاظت آب و خاک. سال شانزدهم، شماره ۱، صفحات ۳۵ - ۱۹.

www.SID.ir

Archive of SID

Alarcon, J.A., Magoulas, A., Georgakopoulos, T., Zouros, E., Alvarez, M.C. 2004. Genetic comparison of wild and cultivated European populations of the gilthead sea bream (*Sparus aurata*). Aquaculture. 230: 65–80.

Balloux, F., Lugon-Moulin, N. 2002. The estimate of population diffrention with microsatellite markers. Molecular Ecology. 11: 155-165.

Beardmore, J.A., Mair, G.C., Lewis, R.I. 1997. Biodiversity in aquatic systems in relation to aquaculture. Aquaculture Research. 28: 829-839.

Bassam, B.J., Caetano-Anolles, G., Gressoff, G.M. 1991. Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide gels. Annual Biochemistery. 84: 680-683.

Chistiakov, D. A, Hellemans, B., Haley, C.S, Law, A.S, Tsigenopoulos, C.S, Kotoulas, G, Bertotto, D., Libertini, A., Volckaert, F.A. 2005. A microsatellite linkage map of the European sea bass *Dicentrarchus labrax* L. Genetics. 170: 1821-1826.

Crooijmans, R.P.M., Bierbooms, V., Komeh, J., Vanderpoel, J.J., Groenen, M. 1997. Microsatellite markers in common carp (*Cyprinus carpio*). Animal Genetics. 28: 129-134.

Dewoody, J.A., Avise, J.C. 2000. Microsatellite variation in marine, freshwater and anadramous fishes compared with other animals. Journal of fish biology. 56: 461-473.

Dimsoski, P, Toth, G.P., Bagley, M.J. 2000. Microsatellite chaeacterization in (Cyprinidae). Molecular Ecology. 9: 2187-2189.

Diz, P.A., Presa, P. 2009. The genetic diversity pattern of *Mytilus alloprovincialis* in Galician Rias (NW Iberian estuaries). Aquaculture. 287: 278-285.

Excoffier, L., Laval, G., Schneider S. 2005. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. Evolutionary Bioinformatics Online. 1: 47-50.

Frankham, R. 2008. Genetic adaptation to captivity in species conservation programs. Molecular Ecology. 17: 325-333.

Hakansson, J., Jensen, P. 2005. Behavioural and morphological variation between captive populations of red jungle fowl (*Gallus gallus*) possible implications for conservation. Biological Conservation. 122: 431-439.

Kohlmann, K., Kersten, P., Flajshans, M. 2003. Microsatellite-based genetic variability and differentiation of domesticated, wild and feral common carp (*Cyprinus carpio*) populations. Aquaculture. 247: 253-266.

Lior, D., Shula, B., Marcus, F., Uri, L., Jossi, H. 2003. Recent duplication of the common carp (*Cyprinus carpio*) genome as revealed by analysis of microsatellite loci. Molecular Biology Evolution. 20(9): 1425-1434.

Mondol, K.R., Islam, S., Alam, S. 2006. Characterization of different strain of common carp (*Cyprinus carpio*) (Cyprinidae, Cypriniformes) in Bangladesh using microsatellite DNA markers. Genetics and Molecular Biology. 29: 626-633.

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

McQuown, E., Krueger, C.C., Kincaid, H.L. 2003. Genetic comparison of Lake Sturgeon population: Differentiation based on allelic frequencies at seven microsatellite loci. Journal of Great Lakes Research. 29: 3-13.

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.

Petit, R.J., Mousadik, A.E., Pons, A.O. 1998. Identifying populations for conservation on the basis of genetic markers. Conservation Biology. 12: 844-855.

Sekar, M., Suresh, E., Kumar, N.S., Nayak, S.K., Balakrishna, C. 2009. Microsatellite DNA markers a fisheries perspective Part 1: The nature of microsatellites. Genetics & Biodiversity. pp. 27-29.

Shaklee, J.B., Tamaru, C.S., Waples, R.S. 1982. Speciation and evolution of marine fishes studied by electrophoretic analysis of proteins. Pacific Science. 36: 141-157.

Shen, X.Y., Gong, Q.L. 2004. Population genetic structure analysis of the imported turbot seedlings Scophthalmus maximus. Using RAPD and microsatellite technique. Chinese Journal of Oceanology and Limnology. 35: 332-341.

Thai, B.T., Burridge, C.P., Pham, T.A., Austin, C.M. 2007. Genetic diversity of common carp (*Cyprinus carpio* L.) in Vietnam using four microsatellite loci. Aquaculture. 269: 174-186.

Turner, F., Dowling, T.E., Broughton, R.E., Gold, J.R. 2004. Variable microsatellite marker amplify across divergent lineages of Cyprinidae fish. Conservation Genetic. 5: 279-281.

www.SID.ir

Archive of SID

Yousefian, M., Laloei, F. 2011. Genetic variations and structure of common carp, (*Cyprinus carpio*) populations by use of biochemical, mitochondrial and microsatellite markers. Middle-East Journal of Scientific Research. 7(3): 339-345.

Yousefian, M. 2011. Genetic variations of common cap (*Cyprinus carpio*) in South-Eastern of Caspian Sea using five microsatellite loci. World Journal of Zoology. 6(1): 56-80.

Wang, J., Chenghui, W., Long, Q., Yuqing, M.A., Xinxin, Y., Zsigmond, J., Sifa, L. 2011. Genetic characterization of 18 novel microsatellite loci in northern pike (*Esox lucius*). Genetic and Molecular Biology. 34: 169-172.

Thorpe, J.P., Sole-Cava, A.M. 1994. The use of allozyme electrophoresis in invertebrate systematics. Zoologica Scripta. 23: 3-18.

Wright, S. 1978. Evolution and the genetics of population, variability within and among natural populations. The University of Chicago Press, Chicago.

www.SID.ir