

## ژنتیک جمعیت ماهی شبه شوریده دهان سیاه (*Atrubucca nibe*) Jordan and Thompson, 1911) در سواحل شمال غربی دریای عمان با استفاده از روش PCR-sequencing

مرجان مسافر\*<sup>۱</sup>، سهراب رضوانی گیل کلانی<sup>۲</sup>، پرگل قوام مصطفوی<sup>۳</sup>

۱- گروه بیولوژی دریا، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران، صندوق پستی ۱۴۵۱۵-۷۷۵

۲- موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، تهران، ایران، صندوق پستی: ۱۱۶-۱۳۱۸۵

تاریخ پذیرش: ۲۰ بهمن ۱۳۹۵

تاریخ دریافت: ۱۷ مهر ۱۳۹۵

### چکیده

ماهی شبه شوریده دهان سیاه از ماهیان با ارزش اقتصادی می‌باشد که اطلاعات ژنتیکی اندکی از این گونه منتشر شده‌است. در این مطالعه به منظور بررسی تنوع ژنتیکی ماهی شبه شوریده دهان سیاه (*Atrubucca nibe*) در دریای عمان با استفاده از روش توالی‌یابی ژن D-Loop تعداد ۳۴ نمونه از بافت نرم باله از نواحی فجیره از کشور امارات متحده عربی و چابهار از جمهوری اسلامی ایران جدا و در اتانول ۹۶ درصد نگهداری شد. DNA با استفاده از روش استات آمونیوم استخراج گردید و کمیت و کیفیت آن به روش‌های اسپکتروفتومتری و الکتروفورز مورد بررسی قرار گرفت. نمونه DNAهای مطلوب، PCR و توالی‌یابی شدند. توالی ناحیه D-Loop شامل ۲۷۰ جفت باز بود. توالی‌ها توسط نرم افزارهای Bio edit، DnaSP 5.10.0.1، Arlequin و Genepop آنالیز شدند. تنوع هاپلوتیپی در فجیره، ۰/۹۳ و در چابهار، ۰/۸۳ بدست آمد. همچنین تنوع نوکلئوتیدی در فجیره به مقدار ۰/۱ و در چابهار به مقدار ۰/۰۸ دیده شد. در مطالعه حاضر مقدار هتروزیگوسیتی دیده شده در نمونه‌های چابهار ۰/۴۵ و در نمونه‌های فجیره ۰/۵۰ مشاهده شد. در این پژوهش میزان  $F_{ST}$  بین مناطق مورد مطالعه میانه تخمین زده شد که این امر موید تمایز بین جمعیت‌های موجود می‌باشد. طبق نتایج حاصل از این بررسی با وجود جریان ژنی مطلوب، دو جمعیت متفاوت از شبه شوریده دهان سیاه را می‌توان در نواحی چابهار و فجیره مشاهده نمود.

**کلمات کلیدی:** شبه شوریده دهان سیاه، ژنتیک جمعیت، توالی‌یابی، دریای عمان

## مقدمه

رشد روز افزون جمعیت جهان، افزایش نیاز بشر به تامین غذا و مصرف منابع آبرزیان سبب افزایش صید بی رویه خواهد شد. همسو با آن عواملی همچون تخریب زیستگاه‌ها و انواع آلودگی‌های محیطی و قابلیت محدود بازسازی ذخایر منجر به آسیب‌پذیری جوامع آبرزیان و به دنبال آن کاهش ذخایر بسیاری از ماهیان مهم و اقتصادی همچون ماهی شوریده (*Otolithes ruber*) و شیر (*Scomberomorus commerson*) (دریانبرد و همکاران، ۱۳۸۳) و در نتیجه افزایش توجه صیادان به آن دسته از ماهیانی که در گذشته چندان مورد توجه نبوده‌اند خواهد شد. یکی از این گروه ماهیان، شبه شوریده دهان سیاه است. با آغاز بهره‌برداری از ذخایر فانوس ماهیان دریای عمان در سال ۱۳۷۷، ذخایر ماهی شبه شوریده دهان سیاه، به عنوان صید ضمنی این گونه معرفی شده و به تدریج از اهمیت تجاری ویژه‌ای برخوردار گردید (سالارپوری، ۱۳۹۲).

بررسی ساختار ژنتیکی ماهیان اهمیت ویژه‌ای در مدیریت برداشت ذخایر و بازسازی گونه‌های در خطر دارد. در دسترس نبودن داده‌های ساختار ژنتیکی جمعیت‌های ماهیان می‌تواند در دراز مدت، پیامدهای نامطلوبی به ویژه بر روی جمعیت‌های مورد بهره‌برداری به دنبال داشته باشد. به همین منظور زیست‌شناسان و بوم‌شناسان، نیازمند بررسی دقیق تنوع ژنتیکی آبرزیان در هر کشور می‌باشند (Allendorf and Utter, 1979). تنوع ژنتیکی مهمترین عامل جهت جلوگیری از انقراض موجودات و حفاظت از تنوع زیستی است (روشنی، ۱۳۸۷). در این راستا مدیریت شیلاتی باید از طریق برداشت پایدار از ذخایر کمک شایسته‌ای به

حفظ ذخایر و تنوع ژنتیکی جمعیت‌ها نماید، و لذا یکی از اصول مهم مدیریت شیلاتی شناسایی ذخایر آبرزیان می‌باشد (WaldMan et al., 1999). اکثر گونه‌های آبرزیان دارای بیش از یک ذخیره می‌باشند (محمدیان و همکاران، ۱۳۸۹). بررسی ساختار جمعیتی در آبرزیان توسط روش‌های مختلفی انجام می‌گیرد. یکی از این روش‌ها بکارگیری صفات مورفومتریک و مرستییک مانند تعداد فلس‌های روی خط جانبی و طول بدن می‌باشد؛ اما با توجه به حساسیت صفات مورفومتریک و مرستییک به تغییرات محیطی (Adams and Hutchings, 2003; Ghasemi et al., 2007)، با پیشرفت علم، استفاده از نشانگرهای مولکولی که متاثر از فاکتورهای محیطی نمی‌باشند جهت شناسایی ساختار ژنتیکی ذخایر بیش از پیش مورد توجه پژوهشگران قرار گرفت. در حال حاضر جهت مطالعه تنوع ژنتیکی گونه‌ها، نشانگرهای DNA با اعتمادترین ابزار می‌باشند. DNA میتوکندریایی در حقیقت نشانگری ژنتیکی است که کاربرد گسترده‌ای در مطالعات ژنتیکی دارد (Hynes et al., 1996). مطالعات صورت گرفته بر روی DNA میتوکندریایی در واقع روشی حساس و سنجیده می‌باشد که از آن جهت نمایان ساختن شباهت ژنتیکی، رده‌بندی‌های فیلوژنیک و تفاوت‌های ژنتیکی بین جمعیت‌های یک گونه می‌توان استفاده نمود (Avisé, 1994; Moritz, et al., 1987; 2004). امروزه طبقه‌بندی و بررسی میزان تنوع در جمعیت‌ها با استفاده از تفاوت توالی‌های DNA صورت می‌پذیرد (نقوی و همکاران، ۱۳۸۶).

در میان تنوع زیستی چشمگیر خلیج فارس و دریای عمان، شناخت ماهی‌ها می‌تواند یکی از اولویت‌های نخست جهت حفاظت از تنوع زیستی

شکستن سلول‌ها، جدا نمودن پروتئین‌ها و هیدرات‌های کربن از اسیدهای نوکلئیک و در نهایت رسوب دادن DNA از بافت‌ها استخراج گردید. به منظور ارزیابی کمیت و کیفیت DNA استخراج شده از روش‌های اسپکتروفتومتری و الکتروفورز ژل آگارز ۱٪ استفاده شد. میزان جذب DNA در طول موج‌های ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر محاسبه گردید. نمونه‌های DNA با نسبت ۱/۸ تا ۲ جهت بکارگیری در آزمایشات PCR انتخاب شدند.

جدول ۱: موقعیت جغرافیایی ایستگاه‌های نمونه‌برداری شده

ایستگاه	طول	عرض	تعداد نمونه
فجیره	۵۶° ۲۰' E	۲۵° ۷' N	۲۰
چابهار	۶۰° ۳۷' E	۲۵° ۱۷' N	۱۴



شکل ۱. موقعیت مناطق نمونه‌برداری

از آنجایی که داشتن توالی DNA مربوط به یک منطقه خاص از ژنوم یک گونه این اجازه را می‌دهد تا همین منطقه خاص از ژنوم مربوط به گونه‌های بسیار نزدیک یا جمعیت‌های مشابه آن را با همان آغازگر تکثیر کرد، با آزمودن نشانگرهای موجود در آزمایشگاه، بهترین نشانگر که مربوط به ماهی آزاد دریای خزر (*Caspian Salmo trutta*) (Atabeyoglu, ۲۰۰۸) است، انتخاب شد.

مذکور باشد. گشتی در پایگاه داده‌های مولکولی نشان می‌دهد که تا کنون اطلاعاتی از این گونه ثبت نشده است و بررسی ژنتیک جمعیت این گونه توجیه اقتصادی و ملی دارد و از آنجایی که ماهی شبه شوریده از گونه‌های دارای ارزش اقتصادی می‌باشد (Talwar and Kacker, 1984)، بررسی ژنتیک جمعیت آن در حوزه‌های مورد مطالعه پیش‌نیازی جهت انجام فعالیت‌های زیست‌شناسی، اکولوژی و مولکولی در خصوص این ماهی است. از این رو مطالعه حاضر با هدف بررسی میزان تنوع ژنتیکی در میان جمعیت‌های ماهی شبه شوریده در محدوده مناطق مورد مطالعه و ارائه اطلاعات راهبردی جهت مدیریت مسئولانه ذخایر گونه مورد مطالعه در راستای نیل به اهداف برداشت پایدار از ذخایر آبزیان صورت پذیرفت.

## مواد و روش‌ها نمونه‌برداری

در این بررسی پس از مطالعه‌ی اولیه و تعیین ایستگاه‌ها شامل صیدگاه‌های فجیره در امارات متحده عربی و چابهار در استان سیستان و بلوچستان (جدول ۱)، (شکل ۱)، از هر ایستگاه با استفاده از تور ترال و توسط کشتی تحقیقاتی فردوس، ۳۴ عدد ماهی شبه شوریده دهان سیاه صید و سپس ۳-۵ گرم از باله‌ی دمی هر کدام جدا و در اتانول ۹۶ درصد فیکس گردیده و به آزمایشگاه پژوهشکده اکولوژی خزر واقع در شهرستان ساری منتقل گردید.

## استخراج DNA و PCR

استخراج DNA به روش استات آمونیوم صورت پذیرفت، بدین منظور DNA تمامی نمونه‌ها به وسیله

توالی‌های بدست آمده با استفاده از برنامه Clustal-W (Chen *et al.*, 2006) در نرم‌افزار BIOEDIT 7.0.3.1 (Hall, 1999) همتراز شدند. پس از همترازی، ویژگی‌های توالی‌های نوکلئوتیدی (هاپلوتا‌یپ‌ها و جایگاه‌های پلی مورفیسم، تعداد و تنوع هاپلوتا‌یپی و نوکلئوتیدی، اختلاف ژنتیکی، هتروزیگوسیتی مشاهده شده و موردانتظار، ال‌های واقعی و موثر، جریان ژنی و واگرایی بین مناطق) توسط نرم‌افزار DnaSP 5.10.0.1 (Librado and Rozas, 2009)، Genepop و Arlequen آنالیز شدند.

2007) بود انتخاب شده و به دنبال آن مراحل مربوط به انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمرز صورت پذیرفت (جدول ۲).

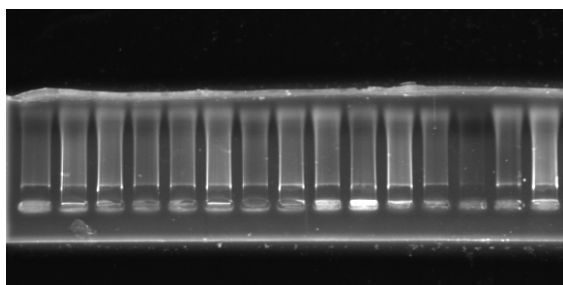
### توالی‌یابی

پس از انجام PCR و ارزیابی محصولات آن، جهت توالی‌یابی، نمونه‌های DNA ماهی شبه شوریده توسط شرکت تکاپوزیست به شرکت Bioneer کشور کره جنوبی ارسال شده و توالی‌یابی توسط دستگاه DNA Sequence Analyzer انجام گردید.

### تجزیه و تحلیل داده‌ها

جدول ۲: توالی آغازگر مورد استفاده

جایگاه	توالی آغازگر
D-Loop F1	F: 5'- TGGCATTGGTTCTACTTCAGG -3'
12S1-H	R: 5'- TGCGGAGACTTGCATGTGTAAGT -3'



شکل ۲: ارزیابی DNA استخراج شده شبه شوریده در نواحی مورد بررسی به روش اسنات آمونیم

### بررسی محصول واکنش زنجیره‌ای پلیمرز

با استفاده از شیب دمایی، بهترین دمای اتصال آغازگر به رشته‌ی الگو تعیین شد. کیفیت و کمیت محصول PCR بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد مورد ارزیابی قرار گرفت و مشاهده شد وزن قطعات در حدود ۲۷۰ جفت باز می‌باشد.

### نتایج

#### بررسی کمیت و کیفیت DNA استخراج شده

کیفیت DNA استخراجی از نظر شکستگی و یا عدم شکستگی DNA، وجود آلودگی‌های پروتئینی و یا RNA توسط روش الکتروفورز افقی بر روی ژل آگارز یک درصد و رنگ آمیزی اتیدیوم بروماید بررسی شد. کیفیت باندهایی که توسط دستگاه مستندساز ژل با برنامه UVI- DocMw Ver. 99.04 مشاهده شدند در شکل ۲ نمایه شده است. همچنین میزان جذب نوری DNAهای استخراج شده به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج‌های ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر محاسبه گردید.

### بررسی تنوع ژنتیکی

جهت تایید داده‌های حاصل از توالی‌یابی از هر منطقه داده‌هایی جهت BLAST در پایگاه جهانی ژن انتخاب شد، که نتایج حاصله حاکی از صحت داده‌های توالی‌یابی در این پژوهش بودند. نتایج بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت شبه شوریده در دریای عمان با استفاده از توالی‌یابی ژن D-Loop، با طول تقریبی ۲۳۰ جفت

باز، توسط CIUSTAL-W، در دو ناحیه فجیره و چابهار به ترتیب ۴۷ و ۳۹ جایگاه پلی‌مورف و ۱۶ هاپلو تایپ ثبت شد. تنوع نوکلئوتیدی، تعداد هاپلو تایپ‌ها و تنوع هاپلو تیبی در ناحیه فجیره بیش‌تر از چابهار محاسبه شد (جدول ۳).

جدول ۳: تنوع نوکلئوتیدی ( $p(\pi)$ )، تعداد هاپلو تایپ ( $n$ )، تنوع هاپلو تایپ ( $h$ )، تعداد جایگاه پلی‌مورف

نواحی نمونه برداری	$\pi$	N	h	تعداد جایگاه پلی‌مورف
فجیره	۰/۱۲	۱۱	۰/۹۳	۴۷
چابهار	۰/۰۸	۵	۰/۸۳	۳۹
میانگین	۰/۱۰		۰/۸۸	

عنوان شاخصی از گوناگونی ژنتیکی برای هر ناحیه محاسبه گردید (جدول ۴).

### ترکیب نوکلئوتیدی

فراوانی هر یک از بازهای تیمین، سیتوزین، آدنین و گوانین (به درصد) و مقدار بازهای انتقالی (Transitions) و متقاطع (Transversion) جهت تخمین شاخص R نیز محاسبه گردید (جدول ۵).

ارزش  $p$  در تعادل هاردی-واینبرگ ( $p-HWE$ ) در چابهار به میزان بیش‌تر و برابر ۰/۰۴۱ بدست آمد. الل‌های موثر در فجیره مقدار بیش‌تری را به خود اختصاص دادند. همچنین الل‌های مشاهده شده در فجیره ۱۵ و در چابهار به میزان کم‌تر و برابر ۱۲ الل محاسبه شد. تنوع ژنی جمعیت مورد مطالعه در فجیره ۰/۰۶±۰/۹۳ و در چابهار ۰/۰۷±۰/۸۳ تخمین زده شد. همچنین هتروزیگوسیتی مشاهده شده و قابل انتظار به

جدول ۴: هتروزیگوسیتی مشاهده شده، هتروزیگوسیتی قابل انتظار، ارزش  $p$  در تعادل - واینبرگ، تعداد الل موثر، تعداد الل مشاهده شده، گوناگونی ژنتیکی.

نواحی نمونه برداری	$H_O$	$H_E$	HWE p-value	تعداد الل موثر	تعداد الل مشاهده شده	تنوع ژنی
فجیره	۰/۵۰	۰/۷۲	۰/۰۳۱	۲/۵۵	۱۵	۰/۹۳
چابهار	۰/۴۵	۰/۶۷	۰/۰۴۱	۲/۴۸	۱۲	۰/۸۳

جدول ۵: ترکیب نوکلئوتیدی (به درصد)، بازهای انتقالی، مقاطع و شاخص R در نواحی مورد مطالعه

ناحیه نمونه برداری	C	T	A	G	t <sub>i</sub>	t <sub>v</sub>	R
فجیره	۱۷/۴۸	۳۳/۲۰	۲۴/۰۱	۲۵/۳۱	۲۶	۲۴	۱/۰۸
چابهار	۱۷/۲۴	۳۳/۷۴	۲۳/۷۷	۲۵/۲۵	۱۸	۲۱	۰/۸۵۷
میانگین	۱۷/۳۶	۳۳/۴۷	۲۳/۸۹	۲۵/۲۸	۲۲	۲۲/۵۰	۰/۹۷

ساختار جوامع زیستی می‌دهد (Rezvani Gilkolaei *et al.*, 2007).

یکی از مواردی که در روش توالی‌یابی ژنوم میتوکندریایی بررسی و مقایسه می‌شود، درصد نوکلئوتیدهای مختلف است. در بررسی کنونی ترکیب نوکلئوتیدی A: ۲۳/۸۹٪، C: ۱۷/۳۶٪، G: ۲۵/۲۸٪ و T: ۳۳/۶۰٪ با نسبت GC برابر ۴۲/۶۴٪ بدست آمد. Ward و همکاران (۲۰۰۵) در بررسی خود میانگین نسبت GC را در سیتوکروم اکسیداز زیر واحد ۱ در ۱۴۳ گونه ماهی استخوانی (Teleost) ۴۷/۱٪ و در بین ۶۱ گونه از ماهیان غضروفی ۴۲/۲٪ بدست آوردند، همچنین بیان نمودند که نسبت GC در بین سفره ماهی‌ها بیش‌تر از کوسه ماهیان بود. نتایج بررسی حاضر نشان دهنده اختلاف نسبی با نتایج بدست آمده از ماهیان دیگر خانواده‌ها می‌باشد. دلایل تفاوت در نسبت GC در ماهیان هنوز شناخته نشده است (Ward, 2005). جانیشینی نوکلئوتیدی که در بین بازهای یک توالی رخ می‌دهد از نوع Transition و Transversion است. Transition زمانی رخ می‌دهد که یک باز پورین (A و G) به باز پورین دیگر و یا یک باز پیریمیدین (C و T) به باز پیریمیدین دیگر تبدیل شود و Transversion زمانی رخ می‌دهد که یک باز پورین به باز پیریمیدین و یا بالعکس تبدیل شود و این دو فاکتور به عنوان شاخص‌های تنوع مولکولی مطرح می‌باشند (Tamura *et al.*, 2004). در این مطالعه تعداد

میزان جریان ژنی بر اساس مدل (Nei, 1972) ۲/۷۴ اندازه‌گیری شد. همچنین جهت اندازه‌گیری تمایز ژنتیکی از فاکتور F<sub>ST</sub> استفاده گردید. بر این اساس میزان F<sub>ST</sub> برابر ۰/۰۸ محاسبه شد.

## بحث

آشکارسازی پراکنش جغرافیایی، تمایز ریختی و ویژگی‌های پایه‌ای ژنتیکی، یکی از پایه‌ای‌ترین نیازها در مدیریت دانش‌بنیان و حفاظتی گونه‌هاست. اما باید توجه داشت که شاخص‌های مورفولوژیک روش مطمئنی جهت تفکیک جمعیت‌های احتمالی نمی‌باشند (Sorgeloos, 1997). به همین دلیل از نشانگرهای ژنتیکی به صورت موفقیت‌آمیزی جهت ایجاد ارتباط میان جمعیت‌های آبریان و تعیین ساختار ذخایر آن‌ها استفاده می‌شود (Van Herwerden *et al.*, 2006). تعیین توالی ژنوم جانداران با پیشرفت و تجهیز دستگاه‌های تعیین توالی و نرم‌افزارهای تخصصی مطالعات ژنتیکی، متداول، آسان‌تر و به دور از هرگونه خطا است (Hedrick, 1999). بهره‌گیری از ژنتیک جمعیت آبریان یکی از راه‌های مطالعه ساختار ژنتیکی جهت مطالعه و بررسی گوناگونی‌های درون‌گونه‌ای موجودات آبرزی است، زیرا مطالعه و بررسی تنوع زیستی و ساختار ژنتیکی جمعیت آبریان و همچنین ارتباط‌های سیستماتیک این موجودات درک روشنی از

می‌تواند حاکی از استرس‌های محیطی این منطقه باشد، بندر چابهار یکی از مناطق آزاد و از قطب‌های اصلی صید و صیادی کشور است و در نتیجه باتوجه به بالا بودن نرخ تردد کشتی‌ها، افزایش استرس و آلودگی این ناحیه دور از ذهن نیست. شایان ذکر است که تنوع ژنتیکی در گونه‌هایی که در محیط‌های ناپایدار و پراسترس زندگی می‌کنند، نسبت به گونه‌های مشابه در محیط‌های پایدار بیش‌تر است اما در دوره‌های کوتاه تکاملی (چند نسل)، چنانچه گونه‌ای به مدت طولانی در معرض آلودگی قرار گیرد، در محدوده‌ی سنی خاصی تحت فشار صید باشد، زیستگاه طبیعی آن از بین برود و یا مکان تخم‌ریزی آن محدود شود، تنوع ژنتیکی آن گونه کاهش خواهد یافت، همچنین صید بی‌رویه ماهیان بالغ و عدم جایگزینی آن‌ها در طی نسل‌های مختلف سبب می‌گردد که تنها تعداد معدودی قادر به ازدیاد نسل باشند، در نتیجه ماهیان زاده شده، از مولدین اندکی تولید می‌گردند که این امر سبب کاهش تنوع ژنتیکی می‌گردد (Welch et al., 2010).

Saeidi و همکاران (۲۰۱۴) با توالی‌یابی mtDNA در ماهی *Liza aurata*، میزان تنوع هاپلو تیبی را ۱/۰۰ و تنوع نوکلئوتیدی را ۰/۱۵۱-۰/۰۷۳ محاسبه نمودند. در مطالعه‌ای که Khoshkholgh و همکاران (۲۰۱۱) با استفاده از توالی‌یابی mtDNA در ماهی *Acipenser percicus* انجام دادند میانگین تنوع هاپلو تیبی را ۰/۰۲۸±۰/۰۶۴ و میانگین تنوع نوکلئوتیدی را ۰/۰۱۱±۰/۰۴۴۲ گزارش کردند. رضوانی و همکاران (۱۳۹۱) با توالی‌یابی DNA میتوکندریایی گونه *Liza saliens* میانگین تنوع هاپلو تیبی را ۰/۴۴ و میانگین تنوع نوکلئوتیدی را ۰/۰۰۷ بیان نمودند. بر این اساس پارامترهای ذکر شده با داده‌های حاصل از این پژوهش

Transition و Transversion در فجیره، میزان بیش‌تری را به خود اختصاص دادند.

هاپلو تیب، شاخص مناسبی جهت تعیین میزان گوناگونی ژنتیکی میان جمعیت‌ها است. تراز تنوع هاپلو تیبی می‌تواند از صفر (تمام افراد جمعیت دارای هاپلو تیب‌های مشابه) تا یک (همه افراد جمعیت دارای هاپلو تیب‌های متفاوت) متغیر باشد (Abiom et al., 2005). در تحقیق حاضر بیش‌ترین تعداد هاپلو تیب‌ها در فجیره ثبت گردید و چابهار ۵ هاپلو تیب را به خود اختصاص داد. تنوع هاپلو تیبی به ترتیب در فجیره برابر ۰/۹۳ و در چابهار برابر ۰/۸۳ بدست آمد. تنوع نوکلئوتیدی در فجیره به مقدار ۰/۱ و در منطقه چابهار به مقدار کم‌تر و برابر ۰/۰۸ دیده شد. همچنین میانگین تنوع هاپلو تیبی و نوکلئوتیدی به ترتیب ۰/۸۸ و ۰/۱ محاسبه گردید (جدول ۳). شاخص‌های مورد اشاره در فجیره مقدار بیش‌تری را به خود اختصاص دادند. در توجیه این مطلب دلایل مختلفی را می‌توان ذکر نمود: ناحیه فجیره می‌تواند زیستگاه جمعیت‌های مختلفی از گونه مورد نظر باشد، و یا افزایش شاخص‌های مذکور را می‌توان نشان دهنده پویایی ژنتیکی بالا و مناسب‌تر بودن ساختار جمعیتی این ناحیه نسبت به چابهار، به علت فرصت بیش‌تر جهت تکثیر طبیعی، بهره‌برداری بهینه از منابع شیلاتی آن منطقه و عدم تخریب زیستگاه طبیعی دانست. همچنین این نکته حائز اهمیت است که تعداد نمونه‌ها در بررسی حاضر به علت وجود برخی محدودیت‌ها کم می‌باشد و این می‌تواند خود عاملی باشد در حصول برخی نتایج.

همانطور که ذکر گردید کمینه پارامترهای بحث شده در چابهار مشاهده شد. دادن یک معنای زیستی به پارامترهای مذکور آسان نیست اما نتایج حاصله

هتروزیگوسیتی مشاهده شده  $0/50 < H_0 < 0/45$  می‌تواند در اثر عواملی مانند تخریب تخم‌ریز گاه‌ها، کاهش شدید جمعیت در اثر صید زیاد یا عواملی مانند درون‌آمیزی و یا انتخاب طبیعی باشد (Hauser et al., 2002; Zheng et al., 2009). هتروزیگوسیتی در ماهیان می‌تواند پیرو ویژگی‌های زیستی و بازتابی از زیستگاه آن‌ها باشد. معمولاً گونه‌های دریایی دارای سطوح تنوع ژنتیکی بالاتری (میانگین هتروزیگوسیتی موردانتظار ۰/۷۹) نسبت به گونه‌های آب شیرین (میانگین هتروزیگوسیتی موردانتظار ۰/۴۶) و گونه‌های رود کوچک (میانگین هتروزیگوسیتی موردانتظار ۰/۶۸) می‌باشند (DeWoody and Avise, 2000). براساس مطالب ذکر شده می‌توان چنین بیان نمود که داده‌های حاصل از بررسی حاضر (میانگین هتروزیگوسیتی مورد انتظار ۰/۷۱) با مطلب فوق هم‌خوانی دارند.

در بررسی‌های میزان تنوع ژنتیکی، غنای اللی نسبت به هتروزیگوسیتی دارای اهمیت بیش‌تری می‌باشد، زیرا بالا بودن غنای اللی نشان‌دهنده‌ی بالا بودن اندازه جمعیت مؤثر است و بهره‌گیری از آن جهت ارزیابی تنوع ژنتیکی جمعیت‌هایی که برای برنامه‌های به‌گزینی یا حفاظت انتخاب شده‌اند، مناسب‌تر می‌باشد (Diz and Persa, 2009). در این بررسی فنجیره بیش‌ترین میزان غنای اللی (۱۵) را دارا بود و چابهار کم‌ترین مقدار (۱۲) را از لحاظ این پارامتر به خود اختصاص داد. طبق مطالب ذکر شده مشاهده می‌شود که تنوع هاپلوتیپی و هتروزیگوسیتی نیز موید این موضوع می‌باشند. متوسط تعداد ال‌ها در هر جایگاه ژنی، در ماهیان آب شور (۲۰/۶)، در ماهیان آب شیرین (۷/۵) و در ماهیان رود کوچک (۱۱/۳) گزارش شده‌است (DeWoody and Avise, 2000) که

همخوانی چندانی ندارند که باتوجه به تفاوت در گونه مورد مطالعه و منطقه مورد بررسی توجیه‌پذیر می‌باشد.

هتروزیگوسیتی یکی از شاخص‌های بسیار مهم در بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت‌ها می‌باشد. هتروزیگوسیتی از این روی اهمیت دارد که در طی فرایندهای طبیعی نوترکیبی<sup>۱</sup> و جدایی<sup>۲</sup>، امکان تولید گسترده‌ای از ژنوتیپ‌ها را، برای بهره‌برداری شایسته از منابع به روش‌های مختلف، فراهم می‌آورد (Fei et al., 2007). مطالعات صورت گرفته نشان می‌دهند که اکثر مواقع افرادی که دارای هتروزیگوسیتی بیش‌تری می‌باشند، نسبت به افرادی که دارای هتروزیگوسیتی کم‌تری هستند، در ویژگی‌های مختلفی مانند رشد، باروری، و پایداری در برابر بیماری‌ها، برتری دارند (Xu et al., 2001). در مطالعه حاضر، دامنه هتروزیگوسیتی مشاهده شده در بین جمعیت‌های بررسی شده در محدوده ۰/۵۰ – ۰/۴۵ با میانگین کل ۰/۴۷ بود. کم‌ترین مقدار هتروزیگوسیتی دیده شده در نمونه‌های چابهار ۰/۴۵ و بیش‌ترین هتروزیگوسیتی دیده شده، در نمونه‌های فنجیره ۰/۵۰ مشاهده شد. دامنه هتروزیگوسیتی برآورد شده بین ۰/۶۷ تا ۰/۷۷ با میانگین ۰/۷۱ بود. فنجیره بیش‌ترین میانگین هتروزیگوسیتی موردانتظار را داشت (۰/۷۲) و در ناحیه چابهار هتروزیگوسیتی برآورد شده به میزان کم‌تر (۰/۶۷) مشاهده شد. در این بررسی در تمامی مناطق نمونه‌برداری شده هتروزیگوسیتی مشاهده شده نسبت به هتروزیگوسیتی برآورد شده مقدار پایین‌تری را به خود اختصاص داد (جدول ۴) که این امر نشان‌دهنده کاهش در تغییرپذیری ژنتیکی و کاهش تنوع ژنتیکی در نمونه‌ها می‌باشد. پایین بودن

<sup>1</sup> Recombination

<sup>2</sup> Segregation



اختصاصی ذکر شد. سالاری (۱۳۸۸) در بررسی ماهی سوکلا، اکثر جایگاه‌های بررسی شده را خارج از تعادل معرفی نمود. Alam و Islam (۲۰۰۵) در بررسی ژنتیک جمعیت گونه *Catla catla* علت انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ را به اندازه کم نمونه‌ها نسبت دادند. Dahle و همکاران (۲۰۰۶) در بررسی ماهی *Gadus morhua* افزایش هموزیگوسیتی، رانش ژنتیکی، الل صفر، انتخاب، مخلوط شدن و غیرکافی بودن نمونه‌ها را علت انحراف از تعادل بیان می‌نمایند. Kitanishi و همکاران (۲۰۰۸) در مطالعه‌ای که بر روی ماهی *Oncorhynchus masou* انجام دادند، انحراف از تعادل را به خطا در نمونه‌برداری نسبت دادند. Rocha-Olivares و همکاران (۲۰۰۳) در بررسی بر روی صخره ماهی مکزیکی مشاهده نمودند که همه ایستگاه‌ها در تعادل قرار دارند. مشاهدات همسانی در خروج از تعادل هاردی-واینبرگ در دیگر ماهیان دریایی و دیگر مناطق بررسی شده نیز دیده شده‌است.

جریان ژنی یکی از مهم‌ترین معیارها در تکوین ساختار جمعیتی گونه‌های مورد مطالعه است، به طوری که میزان آن بیانگر واحد تکاملی مستقل جمعیت‌های محلی یک منطقه می‌باشد (Slatkin, 1993). میزان جریان ژنی به تعداد مولدین مهاجر از یک منطقه به منطقه‌ی دیگر در طی یک نسل اطلاق می‌شود. عوامل مختلفی بر میزان جریان ژنی تاثیرگذار است. یکی از این عوامل جریان‌های آبی است. جریان‌های آبی ناشی از بادهای موسمی یکی از عواملی هستند که به افزایش مهاجرت و به دنبال آن جریان ژنی کمک می‌کنند. از دیگر عوامل موثر طول عمر گونه آبرزی می‌باشد که باتوجه به این که گونه شبه شوریده دهان سیاه دارای سن بالایی است (۱۴ سال) (سالارپوری، ۱۳۹۲)، دارای

باتوجه به مطالب ذکر شده مطابقت نداشتن داده‌های حاصل از این بررسی را می‌توان به علت تعداد کم نمونه‌ها و محدود بودن مناطق مورد مطالعه دانست.

پلی مورفیسم در ژنوم موجودات به عنوان شاخص ژنتیکی ارزشمند برای ارزیابی تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیتی به منظور حافظت از ذخایر ژنی گونه‌ها محسوب می‌شود (Thai et al., 2006). طی مطالعات صورت گرفته مشخص شد که بیش‌ترین تعداد جایگاه پلی مورف را منطقه فجیره (۴۷) داشته و منطقه چابهار (۳۹) میزان کم‌تری از شاخص مذکور را به خود اختصاص داده‌است، که این مطلب باتوجه به تعداد هاپلو تیپ‌ها و تنوع هاپلو تیپی ذکر شده دور از ذهن نمی‌نماید. در مطالعه حاضر، نتایج بدست آمده از بررسی میزان ترازمندی هاردی-واینبرگ نشان داد هر دو منطقه بررسی شده دارای انحراف معنی‌داری از این تراز هستند ( $P < 0.05$ ) (جدول ۴). ترازمندی هاردی-واینبرگ در جوامعی صادق است که شرایطی چون شمار بالای افراد، جمعیت بسته، جفت‌گیری تصادفی و احتمال جهش بالا در آن حکم‌فرما باشد (Salanti et al., 2005; Wright, 1969). انحراف از تراز هاردی واینبرگ در جمعیت ماهیان زیاد دیده می‌شود، نوروزی (۱۳۹۲) در مطالعه ماهی کیلکای معمولی خزری (*Clupeonella cultriventris*) و پورغلام و همکاران (۱۳۹۰) با بررسی گاو ماهی سرگنده (*Neogobius gorlap*)، خارا و همکاران (۱۳۸۷) با بررسی مای سیم تالاب انزلی و سواحل جمهوری آذربایجان در بیش‌تر موارد انحراف از تعادل را مشاهده کردند. در مطالعه صورت گرفته توسط رضوانی و همکاران (۱۳۸۹) بر روی گاو ماهی خزری یکی از علت‌های انحراف از تعادل استفاده از پرایمر غیر

۰/۱۵ تمایز بالا و مقدار بالای ۰/۲۵ تمایز بسیار بالا را نشان می‌دهد (Wright, Ballox and Moulin, 2002)؛ (1978). باتوجه به این موضوع تمایز ژنتیکی جمعیت‌های مورد بررسی با میانگین ۰/۱ در محدوده میانه قرار خواهد داشت. معمولاً  $F_{st}$  برای ماهیان دریایی پایین است، و میانگین آن ۰/۰۲ گزارش شده است (Waples, 1998)، که نتایج حاصل از این مطالعه با این موضوع مطابقت نداشته و بیانگر میزان بیش‌تری از تمایز میان جمعیت‌ها می‌باشد. Charrier و همکاران (۲۰۰۶) در بررسی ساختار ژنتیکی *Pollachius pollachius* ارتباط مثبتی میان مقدار  $F_{ST}$  و فاصله جغرافیایی مشاهده نکردند و تمایز ژنتیکی پایین این ماهی را ناشی از جریان ژنی بالا بین مولدین مناطق مختلف بیان نمودند. سالاری (۱۳۸۸) در بررسی جمعیت‌های ماهی سوکلا در خلیج فارس و دریای عمان میزان  $F_{ST}$  را بین ۰/۰۰ تا ۰/۰۶۳ بدست آورد و بیان نمود تمایز ژنتیکی حاصل از  $F_{ST}$  با جریان ژنی و فاصله جغرافیایی نمونه‌ها منطبق می‌باشد. Guo و همکاران (۲۰۱۳) تمایز ژنتیکی بالا با میانگین ۰/۳۰۶ را در بین ۴ جمعیت شوورت ماهی نقره‌ای یافته و بیان نمودند این نتایج با میزان پایین جریان ژنی به دست آمده در آن بررسی هم‌خوانی دارد.

باتوجه به اینکه منطقه فجیره از لحاظ پارامترهای مذکور بیش‌ترین مقدار را به خود اختصاص داده است علت این امر را می‌توان اجتماع چندین جمعیت در آب‌های این منطقه، تعداد کم نمونه و یا ناشی از مناسب بودن ساختار جمعیتی و پویایی این جمعیت دانست. در مقابل میزان فاکتورهای مذکور در چابهار را می‌توان به علت شرایط سخت و پراسترس و عدم پایداری محیط بیان نمود. در این پژوهش داده‌های حاصل از میزان

شانس بیش‌تری جهت انجام مهاجرت و پراکنش دارد. از دیگر عواملی که تاثیر مطلوبی بر مهاجرت و تبادل ژنی دارد، می‌توان به روش تولیدمثل اشاره کرد. جمعیت‌هایی که از طریق برون‌آمیزی تولیدمثل می‌کنند قادر به تبادل ژنتیکی بیش‌تری در مقایسه با جمعیت‌هایی که فقط از طریق درون‌آمیزی تولیدمثل می‌کنند می‌باشند (ملکیان، ۱۳۹۲). هر چه میزان جریان ژنی بین دو منطقه بیش‌تر باشد بیانگر آن است که مهاجرت بین مناطق بیش‌تر بوده و اختلاف ژنتیکی کم‌تر می‌باشد. نقش اختلاف ژنتیکی و جریان ژنی وابسته به آن در شکل‌گیری الگوی اختلاف ژنتیکی، از نظر تئوری و تجربی به خوبی به اثبات رسیده است (Rousset, 2004). بر اساس گزارش Li و همکاران (۲۰۰۷)، هر گاه  $Nm > 1$  باشد، جریان ژنی و هر گاه  $Nm < 1$  باشد، رانش ژنتیکی اصلی‌ترین عامل در ایجاد تمایز ژنتیکی است. بنابراین از آنجا که میزان جریان ژنی در مطالعه حاضر (۲/۱۴) بزرگ‌تر از یک به دست آمد، عامل اصلی ایجاد تمایز ژنتیکی جمعیت‌های ماهی شبه شوریده دهان سیاه در نواحی مورد مطالعه جریان ژنی می‌باشد. باتوجه به میزان جریان ژنی مشاهده شده، میزان اختلاف ژنتیکی بررسی شده دور از انتظار نخواهد بود. اختلاف ژنتیکی که آن را با شاخص  $F_{ST}$  نمایش می‌دهند، روش مرسوم برآورد تمایز ژنتیکی در مطالعات ژنتیکی می‌باشد.  $F_{ST}$  بیش‌تر شامل اندازه‌گیری تمایز در زیرجمعیت‌ها است و بیش‌ترین کاربرد را در آزمون واگرایی ژنتیکی کل در بین زیرجمعیت‌ها دارد و مقدار آن همیشه مثبت بوده و بین عدد صفر (هیچ زیرجمعیتی وجود ندارد) و یک (وجود زیرجمعیت و جدایی کامل جمعیت‌ها) متغیر است. مقدار  $F_{ST}$  اگر بین صفر تا ۰/۰۵ باشد، تمایز ژنتیکی پایین، بین ۰/۰۵ تا

خزر (استان مازندران). پایان نامه ی کارشناسی ارشد. دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.

۴. رضوانی، س.، رزمجو، ا.، قوام مصطفوی، پ.، نیرانی، م.، تقوی، م.ج.، لالوئی، ف.، ۱۳۸۹. بررسی ساختار ژنتیکی جمعیت گاو ماهی خزری در غرب و مرکز سواحل جنوبی دریای خزر. موسسه تحقیقات شیلات ایران. ۲۶ صفحه.

۵. روشنی، س.، ۱۳۸۷. بررسی ساختار ژنتیکی لاک پشت دریایی نوک عقابیی خلیج فارس *Eretmochelys imbricata* با استفاده از نشانگر مولکولی microsatellite. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر. ۱۵۰ صفحه.

۶. سالارپوری، ع.، ۱۳۹۲. گزارش بررسی ذخایر شبه شوریده دهان سیاه (*Atrobucca nibe*) در خلیج فارس و دریای عمان. وزارت جهاد کشاورزی. پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان. ۹۶ صفحه.

۷. سالاری علی آبادی، م.ع.، ۱۳۸۸. بررسی ساختار ژنتیکی جمعیت های ماهی سوکلا *Rachycentron canadum* در خلیج فارس و دریای عمان با استفاده از روش مولکولی ریزماهوره. رساله دکتری. دانشگاه علوم فنون دریایی خرمشهر. ۲۳۰ صفحه.

۸. محمدیان، س.، رضوانی گیل کلائی، س.، کاظمیان، م.، کمالی، ا.، تقوی، م.ج.، روح الهی، ش.، لالوئی، ف.، نیرانی، م.، ۱۳۸۹. مطالعه تنوع ژنتیکی و ساختار ژنتیکی ماهی سیاه کولی *Vimba vimba persa* (Pallas, 1814) در سواحل شرقی و غربی دریای خزر (رودخانه های حویق و گرگانرود) با استفاده از نشانگرهای ریزماهوره. تاکسونومی و بیوسیستماتیک، ۲(۵)، ۲۹-۳۸.

۹. ملکیان، م.، ۱۳۹۲. بوم شناسی مولکولی. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد. ۳۰۴ صفحه.

هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار بیانگر کاهش تنوع در مناطق مورد بررسی بودند. این موضوع با توجه به استرس های ناشی از فعالیت های انسانی در هر منطقه مانند صید بی رویه و همچنین آلودگی روزافزون آب ها دور از ذهن نیست. همچنین در این مطالعه میزان جریان ژنی و تمایز ژنتیکی در کنار تطابق با یکدیگر، میزان اختلاف ژنتیکی مناطق را متوسط بیان نموده و نشان دادند علی رغم مهاجرت مناسب بین مناطق، دو جمعیت متفاوت از شبه شوریده دهان سیاه را می توان در نواحی چابهار و فجیره مشاهده نمود.

### سپاسگزاری

در اینجا بر خود لازم می دانیم از زحمات کلیه کسانی که مارا در انجام این تحقیق یاری نمودند سپاسگزاری نماییم.

### منابع

۱. پورغلام، ح.، زمینی، ع.، لالوئی، ف.، خارا، ح.، تقوی، م.ج.، ۱۳۹۰. بررسی ساختار ژنتیک جمعیت گاو ماهی سرگنده (*Neogobius gorlap*) مازندران با دریای خزر در سواحل استان های گلستان و استفاده از نشانگر- های ریزماهوره ای. مجله علوم زیستی واحد لاهیجان، ۵(۲)، ۳۳-۴۴.
۲. خارا، ح.، پور کاظمی، م.، وثوقی، ح.، رضوانی، س.، نظامی بلوچی، ع.، قاسمی، ا.، حسن زاده، م.، احمدنژاد، م.، قناعت پرست، ا.، کیوان، ا.، ۱۳۸۷. تنوع ژنتیکی ماهی سیم *Abramis brama orientalis* در تالاب انزلی، سواحل جنوبی (ایران) و جنوب غربی دریای خزر (جمهوری آذربایجان). مجله زیست شناسی ایران، ۲۱(۴)، ۸۵۶-۸۴۹.
۳. دریانبرد، غ.، ۱۳۸۷. مطالعه خصوصیات تولیدمثلی ماهی کفال طلائی (*liza aurat*) در سواحل جنوبی دریای

- cod (*Gadus morpha*) populations. ICES Journal of Marine Science, 63, 209-215.
22. Dewoody, J.A., Avise, J.C., 2000. Microsatellite variation in marine, freshwater and anadromous fishes compared with other animals. Journal of Fish Biology, 56, 461-473.
  23. Diz, P.A., Persa, P., 2009. The genetic diversity pattern of *Mytilus alloprovincialis* in Galician Rias (NW Iberian estuaries). Aquaculture, 287, 278-285.
  24. Fei, C., Wei, Y., Fu-Ling, Y., 2007. Isolation of DNA microsatellites and preliminary genomic analysis of Mud crab (*Cirrhina molitorolla*). Zoological research, 28 (2), 119-125.
  25. Guo, Y.S. Yan C.Z., Zhang, Y.L., Zheng, J.N., Xu, Y.M., Du, T., Wang, Z.D., Lid, C.W., 2013. ssr analysis in four wild populations of silver sillago sillago sihama. Oceanologia et limnologia Sinica, 44(2), 267-276.
  26. Hall, T.A., 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/ NT. Nucleic Acids Symp. Ser., 41, 95-98.
  27. Hauser, L., Adcock, G., Smith, P., Bernal Ramirez, J., Carvalho, G., 2002. Loss of microsatellite diversity and low effective population size in an overexploited population of New Zealand snapper (*Pagrus auratus*). Proc/Nat/Acad Sci USA, 99(18), 11742-11747.
  28. Hedrick, P.W., 1999. Perspective: Highly variable genetic loci and their interpretation in evolution and conservation. Evolution, 53, 313-318.
  29. Hynes, R.A., Ferguson. A., McCann, M.A., 1996. Variation in mitochondrial DNA and postglacial colonization of north western Europe by brown trout. Journal of fish Biology, 48, 54-67.
  30. Khoshkholgh, M., Pourkazemi, M., Nazari, S., Azizzadeh Pormehr, L., 2011. Genetic diversity in the Persian sturgeon, *Acipenser persicus*, from the south Caspian Sea based on mitochondrial DNA sequences of the control region. Caspian Journal of Environmental Sciences, 9 (1), 17-25.
  31. Kitanishi, S., Yamamoto, T., Higashi, S., 2008. Microsatellite variation reveals fine-scale genetic structure of masu salmon, *Oncorhynchus masou*, within the Atsuta River. Ecology of Freshwater Fish, 18(1), 65-71.
  32. Librado, P., Rozas, J., 2009. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. Bioinformatics, 25, 1451-1452.
  ۱۰. نقوی، م.، قره یاضی، ب. و حسینی سالکده، ق.، ۱۳۸۶. نشانگرهای مولکولی. انتشارات دانشگاه تهران. ۳۳۴ صفحه.
  ۱۱. نوروزی، م.، ناظمی، ع.، پورکاظمی، سمیعی، م.ه.، دانشور، ف.، امیرجنتی، آ.، ۱۳۹۲. تنوع و تمایز ژنتیکی ماهی کیلکای معمولی خزری (Nordmann, *Clupeonella cultriventris*(1840) دریای خزر. مجله علمی شیلات، ۲۰(۱)، ۱۴۸-۱۳۹.
  12. Aboim, M.A., Menezes, G.M., Schlitt, T., Rogers, A.D., 2005. Genetic structure and History of Population of the deep Sea Fish *Helicolenus dactyloptenus* (Delaroche,1809) inferred from mtDNA sequence Analysis. Molecular Ecology, 14, 1343-1354.
  13. Adams B.K., Hutchings, J.A., 2003. Microgeographic population structure of brook charr: a comparison of microsatellite and mark-recapture data. Journal of Fish Biology, 62, 517-533.
  14. Alam, M.S., Islam, M.S., 2005. Population genetic structure of *Catla catla* (Hamilton) revealed by microsatellite DNA markers. Aquaculture, 246, 151-160.
  15. Allendorf, F.W., Utter, F.M., 1979. Population genetics. In Fish Physiology (Hoar, W.S., Randall, D.J. & Brett, J.R., eds). Academic Press, New York, 8, 407-54.
  16. Atabeyoglu, K., 2007. Determination of genetic differences between mtDNA D-Loop F1 and 12S1-H region of native salmon (*Salmo trutta*) caught in the Rivers of Aras, Karasu and Coruh in our district using PCR-RFLP and microsatellite methods. MS thesis, Department of Fisheries, institution of Natural and Applied Sciences, Ataturk University, 62 p.
  17. Avise, J.C., 2004. Molecular Markers, Natural History, and Evolution Second Edition. Sinauer, Sunderland, MA. 684 P.
  18. Balloux, F., Brunner, H., Lugon- Moulin, N., 2002. The estimate of population differentiation with microsatellite markers. Molecular Ecology, 11, 321-323.
  19. Charrier, G., Durand, J., Quiniou, L., Laroche, J., 2006. An investigation of the population genetic structure of Pollack (*Pollachius pollachius*) based on microsatellite markers. ICES Mar Sci, 63(9), 1705-1709.
  20. Chen, C., Forbes, F., François, O., 2006. fastruct: model-based clustering made faster. Molecular Ecology Notes, 6, 980-983.
  21. Dahle, G., Jorstad, K.E., Rusaas, H.E., Ottera, H., 2006. Genetic characteristics of brood stock collected from four Norwegian coastal

44. Tamura, K., Nei, M., Kumar, S., 2004. Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101, 11030-11035.
45. Thai, B. T., Pham, T. A., Austin, G.M., 2006. Genetic diversity of common carp in Vietnam using direct sequencing and SSCP analysis of the mitochondrial DNA control region. *Aquaculture*, 258, 228-240.
46. Van Herwerden, L., Choat, J., Dudgeon C., Carlos, G., Newman S., Frisch A., van Oppen, M., 2006. Contrasting patterns of genetic structure in two species of the coral trout *Plectropomus* (Serranidae) from east and west Australia: introgressive hybridisation or ancestral polymorphisms. *Mol Phylogenet Evol*, 41, 420-435.
47. Waldman, I.D., Robinson, B.F., Rowe, D.C., 1999. A logistic regression based extension of the TDT for continuous and categorical traits. *Annals of Human Genetics*, 63, 329-340.
48. Waples, R.S., 1998. Separating the wheat from the chaff: Patterns of genetic differentiation in high gene flow species. *Journal of Heredity*, 98, 438- 450.
49. Ward, R.D., Zemplak, T.S., Innes, B.H., Last, P.R., Hebert, P.D.N., 2005. DNA barcoding Australia's fish species. *Philosophical transactions of the royal society*, doi: 10.1098. Published online.
50. Welch, D.J., Ballagh, A., Newman, S.J., Lester, R.J., Moore, B., Herwerden, L., Horne, J., 2010. Defining the stock structure of northern Australia's threadfin salmon species, FRDC project, NO. 2007/032.
51. Wright, S., 1978. *Evolution and the Genetics of Population, Variability Within and Among Natural Populations*. The University of Chicago: Chicago Press.
52. Xu, Z., Primavera, J.H., de la Pena, L.D., Pettit, P., Belak, J., Alcivar-Warren, A., 2001. Genetic diversity of wild and cultured black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) in the Philippines using microsatellites. *Aquaculture*, 199, 13-40
53. Zheng, X., Ilkeda, M., Kong, L., Lin, X., Li, Q., Taniguchi, N., 2009. Genetic diversity and population structure of golden cuttlefish, *Sepia esculenta* (*Cephalopoda: Sepiidae*) indicated by microsatellite DNA variations. *Mar. Ecol*, 30, 448-454.
33. Moritz, C., Dowling, T., Brown, W.M., 1987. Evolution of animal mitochondrial DNA: Relevance for population biology and systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 18, 269-292.
34. Nei, M., 1972. Genetic distance between populations. *American Naturalist*, 106, 283-292.
35. Ghasemi, A; Keyvanshkoh, S; Shahriari-Moghadam, M and Khara, H. 2007. Genetic comparison of Iranian and Azeri populations of the oriental bream *Abramis brama orientalis* (Berg) using microsatellites. *Aquaculture Research*, V. 38(16), 1742-1746.
36. Rezvani Gilkolaei, S., Imanifar, A., Aghili, R., Laloei, F., 2007. PCR- RFLP analysis of mitochondrial DNA for identification of *Rutilus rutilus* population on the southern coast of the Caspian Sea, *Iranian Journal of Marine Biology Association*. U. K., 86, 1463-1467.
37. Rocha-Olivares, A., Leal-Navarro, R.A., Kimbrell, C., Lynn, E.A., Vetter, R.D., 2003. Microsatellite variation in the Mexican rockfish *Sebastes macdonaldi*. *Scientia Marina*, 67(4), 451-460.
38. Rousset, F., 2004. *Genetic Structure and Selection in Subdivided Populations*. Princeton: Princeton University Press.
39. Saeidi, Z., Rezvani Gilkolaei, S., Soltani, M., Laloei, F., 2014. Population genetic studies of *Liza aurata* using D-Loop sequencing in the southeast and southwest coasts of the Caspian Sea. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 13(1), 216-227.
40. Salanti, G., Amountza, G., Ntzani, E.E., Ioannidis, J.P.Z., 2005. Hardy- Weinberg equilibrium in genetic association studies: an empirical evaluation of reporting, deviations, and power. *Eur J Hum Genet*, 13, 840-848.
41. Slatkin, M., 1993. Isolation by distance in equilibrium and non- equilibrium population. *Evolution*, 47, 264-279.
42. Sorgeloos, P., 1997. Determination and identification of biological characteristics of *Artemia* Urumiana for application in aquaculture. In: Sorgeloos, P.(Ed.), *The Lake Urumiah Cooperation Project, Item A*, pp. 1-50. Belgium: Laboratory of Aquaculture and *Artemia* Reference Center.
43. Talwar, P.K., Kacker, R.K., 1984. *Commercial sea fishes of India*. Zoological Survey of India, Calcutta. 997 P.