ژنتیک نوین
دوره پنجم، شماره ۱، بهار ۱۳۸۹
صفحه ۵۲-۴۷

بررسی مقایسه‌ای ساختار ژنتیکی ماهی سیم دریای خزر (*Abramis brama orientalis*) با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره

سعید کیوان شکوه*[۱]، احمد قاسمی[۲]

۱- استادیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر
۲- مربی پژوهشی مرکز تحقیقات و مطالعات خلیج فارس، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر
* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: Keyvan56@yahoo.com

(تاریخ دریافت: ۸۸/۲/۲۹ - تاریخ پذیرش: ۸۹/۲/۱۹)

چکیده

هدف از انجام این پژوهش، مقایسه سطح تنوع ژنتیکی جمعیت‌های ایرانی و آذربایجانی ماهی سیم (*Abramis brama orientalis*) دریای خزر با استفاده از پنج نشانگر ریزماهواره بود. کاهش تعداد آلل‌ها در جمعیت‌های ایرانی ماهی سیم حاکی از کاهش تنوع ژنتیکی ذخایر ایرانی به دلیل درون آمیزی و رانش ژنتیکی می‌باشد. تمایز ژنتیکی (Fst) میان جمعیت‌های ایرانی و آذربایجانی قابل ملاحظه بود که دلیل آن می‌تواند تعداد بیشتر آلل‌ها در جمعیت آذری باشد. انحرافات معنی‌دار از تعادل هاردی-واینبرگ در جمعیت‌های ایرانی نسبت به جمعیت آذری در تعداد بیشتری از جایگاه‌های ژنی مشاهده شد. علاوه بر احتمال وجود آلل‌های صفر، کاهش ناخالصی می‌تواند ناشی از آمیزش میان افراد خویشاوند در جمعیت‌های ایرانی باشد. نتایج این پژوهش می‌تواند در برنامه ریزی و تصمیم سازی مدیران جهت بهره برداری و حفاظت از این گونه ارزشمند مورد توجه قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی

تنوع ژنتیکی،
نشانگرهای ریزماهواره،
ماهی سیم دریای خزر،
Abramis brama orientalis

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2024-05-14]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1389.5.1.4.5]

مقدمه

ماهی سیم (*Abramis brama orientalis*) در حوضه دریای خزر شامل آب‌های ایران، آذربایجان و روسیه زیست می‌نماید (۱). در ایران، تالاب انزلی و مناطق همجوار آن در سواحل دریای خزر به عنوان زیستگاه اصلی این گونه به شمار می‌آید (۲). Kiabi و همکارانش (۲) بر اساس شاخص‌های IUCN، این گونه ارزشمند از نظر اقتصادی را جزء گونه‌های در معرض خطر انقراض دسته-بندی نموده‌اند. این شاخص‌ها شامل کاهش شدید و سریع ذخایر، کم بودن تعداد افراد، تخریب زیستگاه و پراکنش محدود گونه مورد نظر می‌باشد. در دهه ۶۰، صید بیش از حد و تخریب زیستگاه‌های طبیعی این گونه در ایران موجب کاهش شدید جمعیت ماهی سیم تا حد صفر گردید. در نتیجه به منظور بازسازی ذخایر این گونه، تکثیر مصنوعی و رهاسازی آن به زیستگاه‌های طبیعی مورد توجه قرار گرفت. در سال ۱۳۶۵، تکثیر مصنوعی ماهی سیم در ایران با استفاده از تنها چند جفت مولد محدود جهت استحصال تخمک و اسپرم انجام شد. در سال‌های بعد، بازسازی جمعیت‌های ماهی سیم با استفاده از نسل‌های حاصل از همان مولدین اولیه ادامه یافت.

با توجه به اینکه ناخالصی، طیف وسیعی از ژنوتیپ‌ها را جهت سازگاری با شرایط متغیر محیطی مهیا نموده و از آنجا که افراد با ناخالصی بیشتر معمولا در بسیاری از صفات اقتصادی نظیر رشد، هماوری و مقاومت در برابر بیماری‌ها برتر هستند، میزان هتروزایگوسیتی هم در جمعیت‌های طبیعی و هم در جمعیت‌های پرورشی دارای اهمیت بسیار زیادی است (۳). در حال حاضر، نشانگرهای ریزماهواره در تعیین ساختار ژنتیکی بسیاری از جمعیت‌های پرورشی و ذخایر وحشی آبزیان مورد استفاده قرار گرفته است (۴، ۵، ۶، ۷، ۸ و ۹). نشانگرهای ریزماهواره متشکل از ردیف‌های تکراری نوکلئوتیدها است که تکامل آنها از طریق کاهش و یا افزایش واحدهای تکرار شونده انجام شده و نرخ جهش در آنها بالا است (۱۰). این نشانگرها همبارز بوده و توارث آنها از قوانین مندلی تبعیت می‌نماید (۶). میزان پلی مورفیسم در نشانگرهای ریزماهواره بالا بوده و به طور وسیعی در طول ژنوم موجودات یوکاریوت پراکنده هستند (۱۱، ۱۲ و ۱۳).

از آنجا که به منظور کاهش تنوع ژنتیکی ناشی از درون آمیزی (Inbreeding)، امکان وارد کردن مولدین مورد نیاز ماهی سیم از آب‌های واقع در محدوده کشور آذربایجان توسط سازمان‌های مسئول وجود دارد، هدف از انجام این پژوهش، مقایسه سطح تنوع ژنتیکی جمعیت‌های ایرانی و آذری ماهی سیم با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره بود.

مواد و روش‌ها

نمونه برداری

نمونه‌های ماهی سیم از دو منطقه مختلف شامل تالاب انزلی واقع در جنوب غربی دریای خزر و آب‌های ساحلی نزدیک به دهانه سفیدرود صید گردید. نمونه‌های آذربایجان از آب‌های ساحلی نزدیک به رودخانه کورا تهیه شد. همه نمونه‌ها با استفاده از تور صید شدند. از هر منطقه ۶۰ قطعه ماهی به صورت تصادفی انتخاب و از بافت ماهیچه آنها نمونه برداری و تا زمان استخراج DNA در اتانول مطلق نگهداری شد.

استخراج DNA و تجزیه و تحلیل نشانگرهای ریزماهواره

تقریبا ۵۰ میلی گرم از بافت ماهیچه هر ماهی برای استخراج DNA مورد استفاده قرار گرفت. استخراج DNA ژنومی با استفاده از آنزیم پروتئیناز K، فنل-کلروفرم، ایزوآمیل آلکل و اتانول انجام شد (۱۴). کیفیت نمونه‌های DNA با استفاده از الکتروفورز ژل آگاروز ۱ درصد مورد تایید قرار گرفت.

پنج جایگاه ژنی ریزماهواره در این تحقیق مورد استفاده قرار گرفت که شامل Ca1، Ca3، Ca5 (۱۵) Z8145 و Z10362 (۱۶) بود (جدول ۱). شرایط واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) به ویژه دمای اتصال، بهینه سازی شد تا محصولات باندی قابل ثبت تولید شود. دمای اتصال برای آغازگرهای Ca3، Ca5، Ca1، Z8145 و Z10362 به ترتیب ۵۵، ۵۲، ۵۸، ۵۵، و ۶۵ درجه سانتیگراد تنظیم گردید. حجم نهایی واکنش PCR ۵ میکرولیتر و حاوی حدود ۱۰۰ نانوگرم DNA الگو، ۱۰ پیکومول از هر آغازگر، ۲۰۰ میکرومولار از هر dNTP، ۰/۵ واحد تک پلیمراز (ساخت شرکت سیناژن)، ۱/۵ میلی مولار $MgCl_2$ و ۱X بافر PCR بود.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2024-05-14]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1389.5.1.4.5]

جدول ۱- مشخصات نشانگرهای ریزماهواره مورد استفاده در این تحقیق

توالی	دمای اتصال	شماره ثبت	جایگاه
F-AAGACGATGCTGGATGTTTAC R-CATTAGCTTATCCCGGCAGTA	۵۸	AF277573	Ca1
F-GGACAGTGAGGGACGCAGGAC R-TCTAGCCCCCAAATTTTACGG	۵۵	AF277575	Ca3
F-TTGAGTGGATGGTGCTTGTA R-GCATTGCCAAAAGTTACCTAA	۵۲	AF277577	Ca5
F-GCATCTTCAGACAGGACGGT R-CTGAGGGGTATACAGCGCCC	۵۵	G40625	Z8145
F-GGTGACCTCATGGAAGCATT R-AGCTACTGAAACCCTTTGGC	٦۵	G39785	Z10362

برنامه حرارتی PCR نیز به صورت ۳ دقیقه در دمای ۹۴ درجه جهت واسرشته سازی اولیه تنظیم شد و پس از آن با ۳۰ چرخه ۳۰ ثانیه‌ای در ۹۴ درجه، ۳۰ ثانیه در دمای اتصال مربوطه و یک دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتیگراد ادامه یافت. برنامه فوق با درجه حرارت ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۵ دقیقه بسط و خاتمه یافت. جداسازی محصولات PCR با کاربرد ژل‌های پلی آکریلامید ۱۰ درصد انجام شد و به منظور ظاهرسازی باندها از رنگ آمیزی نیترات نقره استفاده گردید (۱۴).

تجزیه و تحلیل داده‌ها به وسیله ویرایش ۶ نرم افزار GENALEX (۱۷) و با محاسبه فراوانی‌های آللی و ژنوتیپی و بررسی هتروزایگوسیتی مورد انتظار و مشاهده شده انجام شد. انحراف از تعادل هاردی- واینبرگ مورد آزمون قرار گرفت و فاصله ژنتیکی بین جمعیت‌ها بر اساس شاخص فاصله (D) و شباهت ژنتیکی Nei (I) (۱۸) تخمین زده شد. تمایز ژنتیکی جمعیت‌ها نیز با محاسبه مقادیر Fst مورد ارزیابی قرار گرفت (۱۹). ضریب درون آمیزی (Fis) (۱۹) هر جمعیت و لکوس که نماینده انحراف از تعادل هاردی- واینبرگ در هر جمعیت می‌باشد نیز محاسبه گردید.

نتایج

فراوانی‌های آللی کلیه جایگاه‌های هر جمعیت در جدول شماره ۱ آورده شده است. کمترین و بیشترین تعداد متوسط آلل‌ها به ازای هر لکوس به ترتیب در جمعیت تالاب انزلی (۳/۸) و جمعیت آذربایجان (۷/۴) مشاهده شد. هیچ آلل اختصاصی در جمعیت‌های مورد مطالعه مشاهده نشد. میانگین هتروزایگوسیتی مشاهده شده در جمعیت آذربایجان نسبت به هتروزایگوسیتی دو جمعیت دیگر بالاتر بود (جدول ۲). انحرافات زیاد تا بسیار زیاد از تعادل هاردی- وینبرگ در ۱۰ مورد از ۱۵ مورد (۵ لکوس×۳ جمعیت) مشاهده گردید (جدول ۲). بر اساس مقادیر Fis، کمترین کاهش هتروزایگوسیتی در جمعیت آذربایجان مشاهده شد.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2024-05-14]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1389.5.1.4.5]

جدول ۲- تنوع پنج جایگاه ریزماهواره در جمعیت‌های ایرانی و آذربایجانی سیم دریای خزر (*A*: تعداد آلل‌ها؛ *Ho*: هتروزایگوسیتی قابل مشاهده؛ *He*: هتروزایگوسیتی مورد انتظار؛ *P*: مربع آزمون کای در تعادل هاردی-واینبرگ؛ *Fis*: شاخص تثبیت)
$^{*}P<0.05$, $^{**}P\leq 0.001$

جایگاه	پارامتر	انزلی	سفیدرود	آذربایجان
Ca1	*A*	۲	۲	٤
	Ho	۰/۲۸	۰/۳۳	۰/٦۸
	He	۰/٦۹	۰/۷٦	۰/۸٤
	P	**۰/۰۰۰	**۰/۰۰۰	**۰/۰۰۰
	Fis	*۰/۵۹٤	*۰/۵٦٦	۰/۱۹۰
Ca3	*A*	٤	٤	۷
	Ho	۰/۳۹	۰/۳۳	۰/۷٦
	He	۰/۷۸	۰/۷۸	۰/۸٦
	P	۰/۵۲٤	۰/۰٦٦	۰/۷۷۳
	Fis	۰/۵۰۰	*۰/۵۷۷	۰/۱۱٦
Ca5	*A*	۷	۷	۱۵
	Ho	۰/۳۲	۰/۳۸	۰/٦۵
	He	۰/۸۱	۰/۸٤	۰/۸٦
	P	*۰/۰٤۲	*۰/۰۲۰	۰/۸۲۷
	Fis	*۰/٦۰۵	*۰/۵٤۸	*۰/۲٤٤
Z8145	*A*	٤	٤	٦
	Ho	۰/۲۵	۰/۲۷	۰/۷۱
	He	۰/۷۱	۰/٦۹	۰/۸٦
	P	**۰/۰۰۱	**۰/۰۰۰	۰/۳۳۲
	Fis	*۰/٦٤۸	*۰/٦۰۹	۰/۱۷٤
Z10362	*A*	۲	۳	۵
	Ho	۰/۵۲	۰/٤۵	۰/٦۷
	He	۰/۸٦	۰/۷٦	۰/۸۸
	P	**۰/۰۰۰	**۰/۰۰۰	**۰/۰۰۰
	Fis	۰/۳۹۵	*۰/٤۰۸	۰/۲۳۹
میانگین تعداد آللها به ازای هر لکوس		۳/۸	٤	۷/٤
میانگین *Ho*		۰/۳۵۲	۰/۳۵۲	۰/٦۹٤
میانگین *He*		۰/۷۷۰	۰/۷٦٦	۰/۸٦۰

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2024-05-14]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1389.5.1.4.5]

جدول ۳- مقادیر Nm (بالا) و Fst (پایین) در بین جمعیت‌های ماهی سیم ایرانی و آذری

جمعیت	انزلی	سفیدرود	آذربایجان
انزلی	_	۱۶/۳۰	۷/۲۵
سفیدرود	۰/۰۰۷	_	۴/۵۶
آذربایجان	۰/۰۲۶	۰/۰۳۶	_

جدول ۴- فاصله (D) (بالا) و شباهت (I) (پایین) ژنتیکی بین جمعیت‌های ماهی سیم ایرانی و آذری

جمعیت	انزلی	سفیدرود	آذربایجان
انزلی	_	۰/۰۷	۰/۲۳
سفیدرود	۰/۹۲	_	۰/۲۶
آذربایجان	۰/۷۹	۰/۷۴	_

بحث

تکثیر و رهاسازی بچه ماهی به زیست بوم‌های طبیعی یکی از روش‌های سنتی حفاظت از گونه‌های در معرض خطر انقراض است. وجود تنوع ژنتیکی در جمعیت ماهیان رهاسازی شده بر قابلیت سازگاری آنها در برابر شرایط متغیر محیطی و بقای آنها تاثیر حیاتی دارد (۲۰). یکی از روش‌هایی که به طور موفقیت-آمیزی جهت مطالعه ساختار ژنتیکی جمعیت‌ها مورد استفاده قرار گرفته و می‌گیرد، بررسی نشانگرهای ریزماهواره است. این نوع نشانگرها در ژنوم بسیاری از ماهی‌ها کشف گردیده و در مطالعه بسیاری از جنبه‌ها نظیر زیست شناسی تکامل، ژنتیک و بوم شناسی گونه‌ها مورد استفاده قرار گرفته است (۲۱). با تعیین پراکنش جغرافیایی و فراوانی آلل‌ها، امکان شناسایی جمعیت‌های محلی مهیا می‌گردد. در این تحقیق، نشانگرهای ریزماهواره جهت ارزیابی تنوع و ساختار ژنتیکی جمعیت‌های ماهی سیم دریای خزر در ایران و آذربایجان مورد استفاده قرار گرفت.

نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان می‌دهد اگر چه میانگین تعداد آلل‌ها به ازای هر جایگاه و همچنین هتروزایگوسیتی قابل مشاهده در جمعیت‌های ایرانی با هم قابل قیاس است، اما در مقایسه با جمعیت آذربایجان به طور معنی‌داری پایین‌تر است. شیلات ایران هر ساله حدود ۱۵ میلیون بچه ماهی سیم را به تالاب انزلی رهاسازی می‌نماید. از آنجا که در عملیات تکثیر مصنوعی تعداد مولدین موثر (Ne) محدود بوده است، امکان از دست رفتن برخی از آلل‌ها در طی زمان وجود داشته است. حذف تنوع آللی در گونه‌های دیگر نظیر جمعیت‌های دانمارکی و لهستانی قزل آلای قهوه‌ای نیز گزارش گردیده است (۷ و ۲۲). کاهش هتروزایگوسیتی می‌تواند ناشی از پدیده‌های درون آمیزی و یا رانش ژنتیکی باشد. از آنجا که کاهش هتروزایگوسیتی در اثر درون آمیزی به مرور زمان تشدید خواهد شد، استفاده از مولدین آذری جهت آمیزش با سیم ایرانی در عملیات تکثیر مصنوعی، می‌تواند موجب بهبود هتروزایگوسیتی جمعیت‌های سیم ایرانی شود. در واقع، از آنجا که جمعیت آذربایجان احتمالا به دلیل اندازه جمعیت موثر پایدارتر دارای پلی مورفیسم بالاتری است، آمیزش آنها با جمعیت‌های ایرانی می‌تواند قابلیت سازگاری و همچنین بقای جمعیت‌های سیم ایرانی را ارتقا دهد. البته اجرای چنین برنامه‌هایی باید پس از مطالعه دقیق تنوع ژنتیکی جمعیت‌های تفریخگاهی و بروز نشانه‌هایی مبنی بر وقوع کاستی ناشی از درون آمیزی در آنها باشد. از آنجا که بهبود تنوع ژنتیکی بسیار کند و در اثر پدیده‌هایی نظیر مهاجرت و یا جهش انجام می‌شود (۲۰)، بنابراین مدیریت تنوع ژنتیکی مراکز تکثیر باید به صورتی باشد که موجب افزایش موفقیت ماهیان رهاسازی شده در زیست بوم‌های طبیعی شود.

انحرافات معنی‌دار از تعادل هاردی-واینبرگ در جمعیت‌های ایرانی نسبت به جمعیت آذری در تعداد بیشتری از لکوس‌ها مشاهده شد. علاوه بر احتمال وجود آلل‌های پوچ، کاهش هتروزایگوسیتی می‌تواند ناشی از آمیزش میان افراد خویشاوند در جمعیت‌های ایرانی باشد. علاوه بر این، اغلب مقادیر Fis در جمعیت‌های ایرانی به طور معنی‌داری ($P<0/05$) بالاتر از صفر بود که حاکی از آمیزش غیر تصادفی میان افراد جمعیت می‌باشد.

محاسبه مقادیر Fst بر اساس تفاوت فراوانی‌های آللی در جمعیت‌ها، شاخص مناسبی برای ارزیابی میزان تمایز ژنتیکی جمعیت‌ها می‌باشد (۲۳). در این تحقیق، مقدار Fst میان

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2024-05-14]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1389.5.1.4.5]

جمعیت‌های ایرانی (P<۰/۰۵) به طور معنی‌داری بالاتر از صفر نبود که نشان می‌دهد جمعیت‌های سیم ایرانی از نظر ژنتیکی متمایز نیستند. به عبارت دیگر، مقدار عددی Nm بین جمعیت‌های ایرانی ۱۶/۳۰ می‌باشد که خود دلیلی بر سطح بالای جریان ژنی و تعلق آنها به یک جمعیت واحد می‌باشد. میزان تمایز ژنتیکی جمعیت‌های ایرانی و آذری از لحاظ آماری معنی‌دار بود که دلیل آن می‌تواند وجود تعداد آلل‌های بیشتر در جمعیت آذربایجان باشد. فاصله ژنتیکی میان جمعیت‌های ایرانی ۰/۰۷ بود که خود نشانه دیگری مبنی بر عدم وجود تفاوت میان جمعیت‌های مذکور می‌باشد. در مقابل، میزان فاصله ژنتیکی بیشتری میان جمعیت‌های ایرانی و آذری مشاهده شد.

بر اساس نتایج حاصل از این تحقیق، تنوع ژنتیکی جمعیت‌های ایرانی ماهی سیم به دلیل درون آمیزی و رانش ژنتیکی کاهش یافته است. نتایج این پژوهش می‌تواند در برنامه ریزی و تصمیم سازی مدیران جهت بهره برداری و حفاظت از این گونه ارزشمند مورد توجه قرار گیرد.

منابع

1. Berg LS (1962) *Freshwater fishes of the U.S.S.R. and adjacent countries*, Israel Program for Scientific Translations, Jerusalem.
2. Kiabi BH, Abdoli A, Naderi, M (1999) Status of the fish fauna in the south Caspian Basin of Iran. *Zoology in the Middle East*, 18, 57-65.
3. Beardmore JA, Mair GC, Lewis RI (1997) Biodiversity in aquatic systems in relation to aquaculture. *Aquaculture Research*, 28, 829-839.
4. Brooker AL, Cook D, Bentzen P, Wright JM, Doyle RW (1994) Organization of Microsatellites Differs between Mammals and Cold-Water Teleost Fishes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 51, 1959-1966.
5. Norris AT, Bradley DG, Cunningham EP (1999) Microsatellite genetic variation between and within farmed and wild Atlantic salmon (*Salmo salar*) populations. *Aquaculture*, 180, 247-264.
6. DeWoody JA, Avise JC (2000) Microsatellite variation in marine, freshwater and anadromous fishes compared with other animals. *Journal of Fish Biology*, 56, 461-473.
7. Was A, Wenne R (2002) Genetic differentiation in hatchery and wild sea trout (*Salmo trutta*) in the Southern Baltic at microsatellite loci. *Aquaculture*, 204, 493-506.
8. Salgueiro P, Carvalho G, Collares-Pereira MJ, Coelho MM (2003) Microsatellite analysis of genetic population structure of the endangered cyprinid *Anaecypris hispanica* in Portugal: implications for conservation. *Biological Conservation*, 109, 47-56.
9. Lucentini L, Palomba A, Lancioni H, Gigharelli L, Natali M, Panara F (2006) Microsatellite polymorphism in Italian populations of northern pike (Esox lucius L.). *Fisheries Research*, 80, 251-262.
10. Weber JL, Wong C (1993) Mutation of human short tandem repeats. *Human Molecular Genetics*, 2, 1123-1128.
11. Tautz D, Renz M (1984) Simple sequences are ubiquitous repetitive components of eukaryotic genomes. *Nucleic Acids Research*, 12, 4127-4138.
12. Ellegren H (1992) Polymerase-Chain-Reaction (PCR) analysis of microsatellites - a new approach to studies of genetic-relationships in birds. *Auk*, 109, 886-895.
13. Gottelli D, Sillerozubiri C, Applebaum GD, Roy MS, Girman DJ, Garciamoreno J, Ostrander EA, Wayne RK (1994) Molecular genetics of the most endangered Canid - the ethiopian wolf *Canis simensis*. *Molecular Ecology*, 3, 301-312.
14. Pourkazemi M, Skibinski DOF, Beardmore JA (1999) Application of mtDNA d-loop region for the study of Russian sturgeon population structure from Iranian coastline of the Caspian Sea. *Journal of Applied Ichthyology*, 15, 23-28.
15. Dimsoski P, Toth GP, Bagley MJ (2000) Microsatellite characterization in central stoneroller *Campostoma anomalum* (Pisces : Cyprinidae). *Molecular Ecology*, 9, 2187-2189.
16. Shimoda N, Knapik EW, Ziniti J, Sim C, Yamada E, Kaplan S, Jackson D, de Sauvage F, Jacob H, Fishman MC (1999) Zebrafish genetic map with 2000 microsatellite markers. *Genomics*, 58, 219-232.
17. Peakall R, Smouse PE (2006) GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*, 6, 288-295.
18. Nei M (1972) Genetic Distance between Populations. *American Naturalist*, 106, 283-292.
19. Weir BS, Cockerham CC (1984) Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, 38, 1358-1370.
20. Avise JC (1994) *Molecular markers, natural history and evolution*, Chapman & Hall, New York.
21. Dunham RA (2004) *Aquaculture and fisheries biotechnology : genetic approaches*, CABI Pub., Wallingford, Oxfordshire, UK ; Cambridge, MA, USA.
22. Hansen MM, Nielsen EE, Ruzzante DE, Bouza C, Mensberg KLD (2000) Genetic monitoring of supportive breeding in brown trout (*Salmo trutta* L.), using microsatellite DNA markers. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 57, 2130-2139.
23. Hartl DL, Clark AG (1997) *Principles of population genetics*, Sinauer Associates, Sunderland, Mass.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2024-05-14]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1389.5.1.4.5]