ژنتیک نوین
دوره چهاردهم، شماره ٤، زمستان ١٣٩٨
صفحه ٢٩٦ - ٢٩١

تهیه بارکد ژنتیکی ماهیان چاه نیمه‌های زابل

Genetic Barcoding of fishes in Chahnimeh-ha, Zabol, Iran

نوشین لطیفی[١]، ایرج هاشم‌زاده سقرلو[*٢]، یونس شیخ[٣]، محمدرضا اشرف‌زاده[٤]، روح الله رحیمی[٤]

١- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه شیلات و محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی و علوم زمین، دانشگاه شهرکرد

٢- دانشیار، گروه شیلات و محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی و علوم زمین، دانشگاه شهرکرد

٣- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهرکرد

٤- استادیاران، گروه شیلات و محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی و علوم زمین، دانشگاه شهرکرد

Latifi N[1], Hashemzadeh Segherloo I[*2], Sheikh Y[3], Ashrafzadeh MR[4], Rahimi R[4]

1. MSc Student, Deparment of Fisheries and Environmental Sciences, Faculty of Natural Resources and Earth Sciences, ShahreKord University, ShahreKord, Iran
2. Associate Prof, Deparment of Fisheries and Environmental Sciences, Faculty of Natural Resources and Earth Sciences, ShahreKord University, ShahreKord, Iran
3. MSc Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, ShahreKord University, ShahreKord, Iran
4. Assistant Prof, Deparment of Fisheries and Environmental Sciences, Faculty of Natural Resources and Earth Sciences, ShahreKord University, ShahreKord, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: irajhashemzade@gmail.com

(تاریخ دریافت: ٩٧/١١/١٣ - تاریخ پذیرش: ٩٨/٩/٢٧)

چکیده

چاه نیمه‌های زابل در سال‌های اخیر به‌دلیل خشکسالی‌های مختلفی که باعث عدم پایداری آب در تالاب هامون گشته است، برای حیات آبزیان که در آن قسمت زیست می‌کنند، دارای اهمیت فراوان شده‌اند. این شرایط، شناسایی گونه و تنوع زیستی ماهیان این منطقه را جهت ایجاد اطلاعات پایه مورد نیاز، در مدیریت و حفاظت از ماهیان ضروری می‌سازد. به‌منظور شناسایی و تهیه بارکد ژنتیکی گونه‌های ماهی در چاه نیمه‌های زابل، عملیات نمونه‌برداری در سال ١٣٩٥ انجام شد. در مجموع ٢٩ نمونه شامل *Carassius* sp. *Schizothorax zaradunyi, Shizocypris altidorsalis, Cyprinus carpio, Gonorhynchus adiscus, Ctenopharingodon idella, Paracobitis rhadinaeus* صید شدند. برای انجام تحلیل‌های شجره‌شناسی، انتهای ′5 ژن COI در نمونه‌های مورد بررسی تعیین شد. جهت بررسی‌های شجره‌شناسی، از روش الحاق همسایگی (Neighbor-Joining)، استفاده شد. نتایج حاصل از این پژوهش وجود شش گروه شجره‌شناسی را نشان داد. بر همین اساس بیشترین میزان تمایز ژنتیکی ٢٧/١ درصد، بین گونه *P. rhadinaeus* و *C. idella* کمترین میزان تمایز ژنتیکی ١٠/٨ درصد، بین گونه *C. carpio* و *S. zarudyni* مشاهده شد.

واژه‌های کلیدی

چاه نیمه‌ها
زابل
شجره‌شناسی
ماهی
COI
DNA Barcoding

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-06-13]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1398.14.4.2.2]

مقدمه

تالاب بین‌المللی هامون یکی از تالاب‌های مهم دنیا و بزرگ‌ترین دریاچه آب شیرین در سراسر فلات ایران محسوب می‌شود (Noori 2000). خشک‌سالی‌های چند دهه اخیر و عدم پایداری آب باعث شده‌است حیات این تالاب دچار بحران شود (Noori *et al.* 2008). بنابراین با خشک شدن تالاب هامون اهمیت چاه نیمه‌های سیستان در تداوم حیات انسانی و جانوری مشهود است. در حال حاضر در سیستان چاه نیمه‌ها تنها زیستگاه گونه‌هایی است که سابقاً در دریاچه زیست می‌کرده‌اند. در واقع حوادث طبیعی و انسانی همچون خشک سالی و معرفی گونه‌های غیربومی در کنار سایر عوامل حیات و بقای ماهیان بومی این دریاچه را به خطر انداخته است. از آنجا که حفظ گونه‌های بومی آسیب‌پذیر از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است، تلاش جهانی برای دستیابی به این هدف رو به افزایش است (Abdoli 2000). مطالعه بر روی ماهیان دراکوسیستم‌های آبی از لحاظ تکاملی، بوم‌شناسی، رفتارشناسی، حفاظت و مدیریت درحوضه منابع آبی و بهره‌برداری دارای اهمیت بالایی است و به بیانی دیگر مطالعه بر روی ماهیان جهت رسیدن به درک صحیحی از زیست‌شناسی آن‌ها و مطالعه محیط‌های آبی اولین قدم در اقدامات حفاظتی محسوب می‌شود (Szlachciak and Zabkiewic 2008).

برای شناسایی ماهیان و تنوع جمعیتی و گونه‌ای آن‌ها رویکردهای مختلفی شامل ریخت‌شناسی، کالبدشناسی، سیتولوژی و روش‌های مولکولی وجود دارد. با توجه به این که شکل و ویژگی ریختی ماهیان تحت تأثیر محیط می‌باشد، نمی‌توان تنها با استناد به این صفات در مورد تفاوت رده‌بندی ماهیان متعلق به گونه‌های نزدیک و جمعیت‌های یک گونه قضاوت نمود. زیرا امکان دارد به دلیل شرایط مشابه یا متفاوت محیطی و اثرات محیط بر ریخت‌شناسی ماهیان، تشخیص گونه‌ها یا جمعیت‌ها با خطا انجام شود (Hashemzadeh Segherloo et al. 2012). به همین دلیل بهتر است از روش‌ها و معیارهایی استفاده شود که تحت تأثیر محیط قرار نداشته باشند. یکی از روش‌های یاد شده روش‌های سلول‌شناسی مثل بررسی کروموزوم‌ها است که این روش به‌دلیل پرزحمت بودن، استفاده از آن در مطالعات مطلوبیت چندانی ندارد. یکی دیگر از این روش‌ها، روش‌های مولکولی است. برای بررسی‌های مولکولی می‌توان از ژن‌های موجود در هسته و میتوکندری استفاده کرد. فرآیند پلی پلوئیداسیون طبیعی یکی از فرآیندهای گونه‌زایی در ماهیانی مثل کپورماهیان (Cyprinidae)، آزادماهیان (Salmonidae)، ماهیان خاویاری (Acipenseridae) و ماهیان مکنده (Catostomidae) است (Hallerman 2003). با توجه به این موضوع، استفاده از ژن‌های میتوکندریایی به‌دلیل ماهیت هاپلوئید آن‌ها، در مورد شجره‌شناسی گروه‌های مختلف کپورماهیان می‌تواند در مقایسه با ژن‌های هسته‌ای کارآمدتر باشد. هدف از تهیه توالی های بارکد DNA، بهبود شناسایی گونه‌ها و همچنین شناسایی گونه‌های جدید از طریق مطالعه الگوهای تمایز توالی در یک قطعه ٦٤٨ جفت‌بازی از ژن میتوکندریای *COI* معطوف شده‌است، که می‌توان آن را به راحتی با استفاده از تعداد محدودی آغازگر در گونه‌های مختلف تکثیر کرد (Kerr *et al.* 2007). کارایی این ژن در گروه‌های جانوری مختلف ارزیابی شده است و بیش از ٩٤ درصد گونه‌های مورد مطالعه دارای آرایه‌های بارکد مشخص و متمایز، با تغییرات درون گونه‌ای کم و تمایز بین گونه‌ای بالا نسبت به گونه‌های نزدیک بوده‌اند و گونه‌های ماهیان هم در این گروه قرار می‌گیرند (Hubert et al. 2008; Ward et al. 2005; Hajbabaei et al. 2006).

با توجه به ویژگی‌های این ژن، امروزه جنبشی در سراسر جهان آغاز شده که به‌واسطه آن پژوهشگران کشورهای مختلف توالی ژن یاد شده را همراه با تهیه بانک‌های نمونه و تصویر نمونه‌ها تهیه کرده و آن‌ها را در پایگاه اطلاعاتی خاصی برای استفاده سایر پژوهشگران ذخیره می‌کنند. با انجام این امور و تکمیل اطلاعات برای همه گونه‌های جانوری، امکان شناسایی سریع گونه‌ها با کمترین هزینه و انرژی فراهم خواهد شد. یکی از مزایای تهیه بارکد ژنتیکی در کنار شناسایی گونه ها، کشف گونه‌های مخفی است، به این مفهوم که ممکن است گونه از نظر ژنتیکی تمایز داشته باشند، اما از نظر ریخت‌شناسی به‌عنوان گونه‌های یکسانی طبقه‌بندی شوند (Freeland 2005). کاهش در ذخایر ژنتیکی جمعیت‌های ماهیان طبیعی یکی از مشکلات مهم مدیریتی شیلاتی محسوب می شود. امروزه نه تنها تنوع ژنتیکی بسیاری از جوامع ماهیان تغییر پیدا کرده است، بلکه هزاران جمعیت و گونه در اثر آلودگی، بهره‌برداری‌های بیش از اندازه، تخریب زیستگاه، سد

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-06-13]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1398.14.4.2.2]

شدن مسیر مهاجرت و سایر توسعه‌های انسانی به‌کلی نابود شده‌اند (Ferguson 1995).

با توجه به این‌که در مورد شناسایی تنوع گونه‌ای ماهیان شرق کشور کار منسجمی انجام نشده است و متاسفانه به‌دلیل مشکلات مرتبط با خشکسالی امکان از بین رفتن تنوع ژنتیکی و حتی انقراض گونه‌های آبزیان وجود دارد، در نتیجه اولین گام در مدیریت شناسایی تنوع ژنتیکی و رده‌بندی ماهیان این مناطق است، به‌همین علت در این مطالعه منطقه چاه نیمه‌های زابل برای مطالعه و تعیین تنوع گونه‌ای ماهیان انتخاب شده‌است.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری از ماهیان مورد استفاده در این مطالعه در سال‌های ۱۳۹۵ و ۱۳۹٦ با استفاده از تور ساچوک و دام در چاه نیمه‌های زابل انجام شد (شکل ۱). در زمان نمونه‌برداری باله سینه‌ای یا باله شکمی سمت راست ماهیان قطع و در الکل اتانل ۹٦ درصد برای مطالعات ژنتیکی تثبیت شد. برای شناسایی نمونه‌ها از چک لیست‌های موجود شامل Esmaeili et al. (2018)، Esmaeili et al. (2017) و Abdoli (2000) استفاده شد.

نمونه‌های DNA با استفاده از روش Chelex100 استخراج شدند (Estoup et al. 1996). برای تکثیر ژن COI، از آغازگرها با توالی (*FCOI20 (5′-AACCTCTGTCTTCGGGGCTC-3′* و (*5′-RCO120III (TTGAGCCTCCGTGAAGTGTG-3′* استفاده شد (Hashemzadeh Segherloo et al. 2012). برای انجام عملیات تعیین توالی ژن COI، ابتدا این ژن از طریق واکنش زنجیره پلیمراز (PCR) تکثیر شد. هر واکنش PCR به حجم ۲۵ میکرولیتر، شامل ۱۸ میکرولیتر آب مقطر، ۲/۵ میکرولیتر بافر 10X ، ۰/۵ میکرولیتر کلریدمنیزیم ۵۰ میلی‌مولار، ۰/۵میکرولیتر از محلول ۱۰ میلی‌مولار هر آغازگر، ۰/۵میکرولیتر dNTP ۲۵میلی‌مولار، ۰/۵ میکرولیتر آنزیم بیوتگ (۵ واحد در میکرولیتر) و دو میکرولیتر DNA بود (Estoup et al. 1996). شرایط دمایی واکنش زنجیره پلیمراز شامل یک چرخه ۱۰ دقیقه‌ای در دمای ۹٤ درجه سانتی‌گراد، ۳۵ چرخه ۹٤ درجه سانتی‌گراد (یک دقیقه)، ٦۱ درجه سانتی‌گراد (یک دقیقه) و ۷۲ درجه سانتی‌گراد (یک دقیقه) و در نهایت یک چرخه ۱۵ دقیقه‌ای در ۷۲ درجه سانتی‌گراد بود. در نتیجه واکنش PCR، یک قطعه از ژنوم میتوکندریایی به‌طول تقریبی ۱۱۰۰ جفت باز تکثیر شد. برای بررسی‌های شجره‌شناسی، توالی انتهای ′5 ژن *COI* با استفاده از دستگاه ABI 3100 تعیین شد. برای انجام عملیات تعیین توالی از آغازگر پیشرو (*FCOI120*) استفاده شد.

توالی‌های خام به‌صورت چشمی با استفاده از نرم‌افزار Bioedit V 7.1.33 ویرایش شدند. عملیات انطباق توالی‌های *COI* با استفاده از نرم‌افزار ClustalX انجام شد. پس از انطباق و یکپارچه کردن توالی‌ها، یک قطعه به طول ٦۱٤ جفت باز انتخاب شد، که در بین ماهیان مورد مطالعه مشترک بود. برای مشاهده هاپلوتایپ‌ها و تعیین تعداد آن‌ها شبکه هاپلوتایپی TCS با استفاده از نرم‌افزار PopArt ترسیم شد. برای اینکه شاخصی کمی برای مقایسه مقدار تمایز در بین گونه‌ها در دست باشد، از فاصله ژنتیکی K2P (Kimura 1980) محاسبه شده با استفاده از نرم‌افزار MEGA7 استفاده شد. برای ترسیم دارنگاره از روش مبتی بر مدل یعنی روش بیش‌ترین احتمال (Maximum Likelihood) و Neighbor-Joining (NJ) موجود در نرم‌افزار MEGA7 استفاده شد. مدل تکاملی دارای بیش‌ترین برازش برای داده‌های مورد بررسی با روش احتمال بیشنه توسط نرم‌افزار MEGA7 بر پایه شاخص اطلاعاتی بایسی (BIC: Bayesian Information Criterion) انتخاب شد.

نتایج و بحث

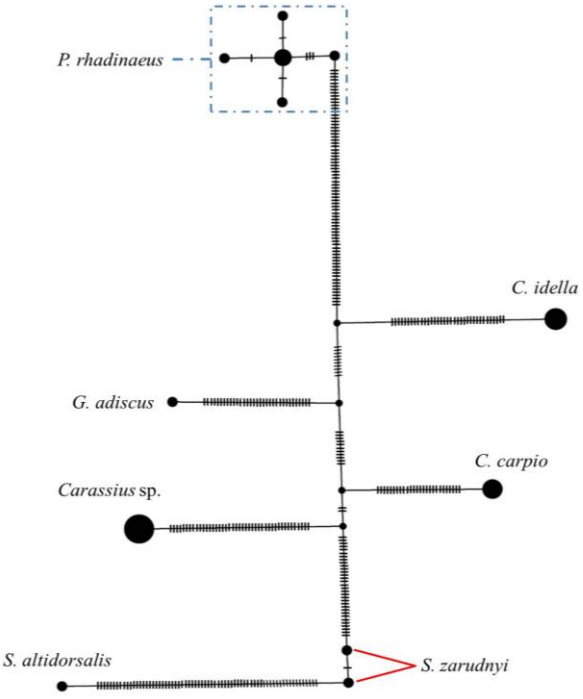
در این مطالعه تعداد ۹ قطعه *Carassius* sp.، ۷ قطعه *Paracobitis rhadinaeus*، ۲ قطعه *Schizothorax zarudyni*، ۱ قطعه *Gonorhynchus adiscus*، ٤ قطعه *Cyprinus carpio* و ٦ قطعه از *Ctenopharyngodon idella* از مناطق مورد مطالعه استفاده شد که سه گونه *Carassius* sp.، *C. carpio* و *C. idella* از ماهیان غیربومی هستند. در مجموع متوسط ترکیب نوکلئوتیدها در این توالی شامل ۲۸/۹درصد تیمین، ۲۸/٦ درصد سیتوزین، ۲۵/۱درصد آدنین و ۱۷/۷ درصد گوانین بود.

در بین نمونه‌های مورد بررسی ۱۲ هاپلوتایپ مشاهده شد که شامل پنج هاپلوتایپ برای *P. rhadinaeus*، یک هاپلوتایپ برای

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-06-13]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1398.14.4.2.2]

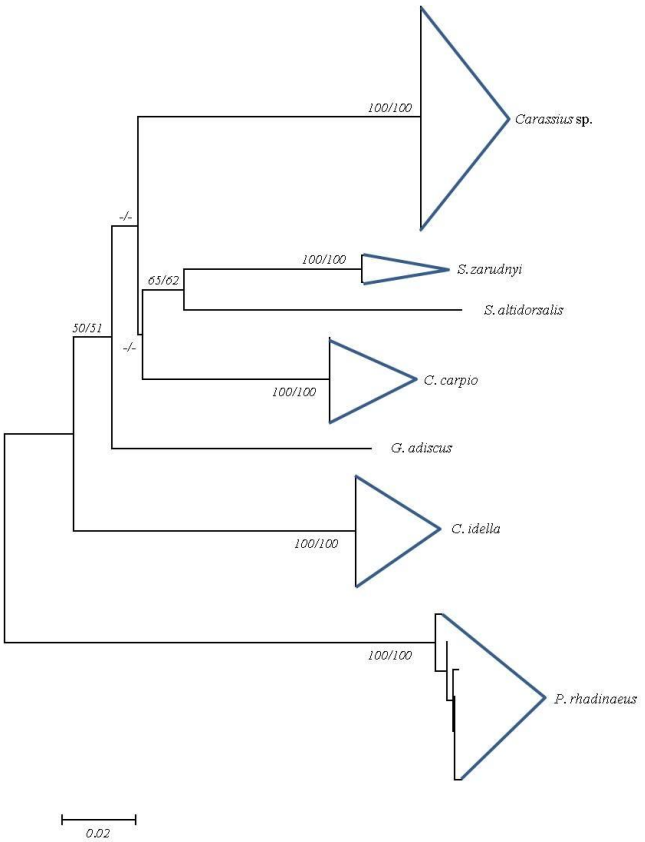
C. idella، یک هاپلوتایپ برای *G. adiscus*، یک هاپلوتایپ *C. carpio*، یک هاپلوتایپ برای *C. auratus*، دو هاپلوتایپ برای *S. zarudnyi* و یک هاپلوتایپ برای *S. altidorsalis* مشاهده شد (شکل ۲). عدم مشاهده هاپلوتایپ‌های متنوع را برای برخی گونه‌ها شاید بتوان به اندازه نمونه بسیار کوچک آن‌ها نسبت داد که این مورد یکی از معایبی است که ممکن است قضاوت‌های ارائه شده در رابطه با تنوع ژنتیکی در این مطالعه را با خطا همراه کند.

شکل ۱- موقعیت منطقه مورد مطالعه



شکل ۲- شبکه هاپلوتایپی ترسیم شده با برای توالی‌های تهیه شده در این مطالعه.

درخت تبارشناسی ترسیم شده مربوط به نمونه‌های مورد مطالعه با دو روش الحاق همسایگی (NJ) و احتمال بیشنه (ML) نتایج مشابهی را نشان داد. به‌همین دلیل تنها دارنگاره الحاق همسایگی به‌همراه ضرایب بوت‌استرپ مربوط به روش احتمال بیشینه ارائه شده‌است (شکل ۳). در دارنگاره یادشده می‌توان شش گروه شجره‌شناسی شامل ۱) *Carassius* sp.، ۲) *S. zarudnyi* و *S. altidorsalis*، ۳) *C. carpio*، ٤) *G. adiscus*، ٥) *C. idella* و ٦) *P. rhadinaeus* را تشخیص داد (شکل ۳). نمونه‌های *Carrasius* sp. با ضریب بوت‌استرپ صد در هر دو دارنگاره در یک خوشه قرار گرفتند و گونه‌های *S. zarudyni* و *S. altodorsalis* در یک خوشه تک‌شجره‌ای با ضریب بوت‌استرپ پایین (٦٥/٦٢) در یک گروه شجره‌شناسی قرار گرفتند.



شکل ۳- درخت تبارشناسی الحاق همسایگی و احتمال بیشینه ترسیم شده با استفاده از نرم‌افزار MEGA7 برای توالی‌های به‌دست آمده در این مطالعه. اعداد درج شده در امتداد شاخه‌های دارنگاره مقادیر Bootstrap محاسبه شده با ۱۰۰۰ تکرار به‌ترتیب از چپ به راست مربوط به روش‌های ML و NJ هستند. شاخه‌های دارای ضریب بوت‌استرپ کمتر از ۵۰ درصد با خط تیره (-) مشخص شده‌اند.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-06-13]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1398.14.4.2.2]

گونه *G. adiscus* با ضریب بوت‌استرپ پایین با گونه‌های *S. zarudyni*، *S. altidorsalis*، *Carassius* sp. و *C. carpio* در یک گروه قرار گرفتند، البته باید به این موضوع اشاره شود که این گروه‌بندی به‌دلیل عدم استفاده از سایر گونه‌ها و تنها استفاده از انواع گونه‌های موجود در منطقه مورد مطالعه رخ داده است و طبیعی است که با افزودن گونه‌های خویشاوند هرکدام از گونه‌های مورد بررسی الگوی خوشه‌بندی در دارنگاره تغییر خواهد کرد. گونه *P. rhadinaeus* در مقایسه با سایر گونه‌ها در هیچ یک از گروه‌های شجره‌شناسی فوق قرار نگرفت، که با توجه به تفاوت رده‌بندی این گونه و تفاوت آن با اعضای خانواده کپورماهیان این مشاهده طبیعی است.

فاصله ژنتیکی K2P درون گونه‌ای در گونه‌های *Carassius* sp.، *C.* carpio و *C. idella* صفر درصد بود. با توجه به این موضوع که این ماهیان از ماهیان غیربومی اقتصادی بوده و برای اهداف خوراکی صید می‌شوند ممکن است عدم وجود تنوع در آنها را بتوان به فعالیت‌های صید یاد شده و حساسیت نسبی بالای mtDNA نسبت به تنگناهای جمعیتی و یا انحراف ژنتیکی تصادفی دانست. به این مفهوم که صید در محیط محدود چاه نیمه‌ها به‌صورت فرایندی عمل می کند که اندازه جمعیت را کاهش داده و در این فرایند ژنوم mtDNA به‌دلیل کوچک بودن اندازه مؤثر جمعیت آن سریع تحت تأثیر قرار گرفته و ممکن است تنوع آن با سرعت بیش‌تری در مقایسه با ژنوم هسته‌ای کاهش پیداد کند (Hallerman 2003). از سوی دیگر ماهیان غیربومی یاد شده معمولاً در مراکز تکثیر با تعداد محدودی مولد تکثیر و در منابع آبی رهاسازی می‌شوند و همین موضوع نیز ممکن است یکی از دلایل عدم مشاهده تنوع در ژنوم mtDNA ماهیان یاد شده باشد. در مورد گونه‌های بومی که دارای تنوع هاپلوتایپی بودند (*P. rhadinaeus* و *S. zarudnyi*) مقادیر تمایز ژنتیکی درون گونه‌ای مشاهده شده که برابر با ۰/۳-۰/۲ بود با سایر مطالعات مطابقت دارد. تمایز توالی ژن COI در سطح درون گونه‌ای برای گروه‌های مختلف جانوری شامل خفاش‌ها ۰/٦ درصد (Clare et al. 2006). پرندگان آمریکای شمالی ۰/۲۷ درصد (Hebert et al. 2004). ماهیان دریایی ۰/۳۹ درصد (Ward et al. 2005) و در ماهیان آب شیرین کانادا ۰/۲۷ درصد (Hubert et al. 2008)، گزارش شده‌است. بیشترین تمایز ژنتیکی بین گونه‌های *P. rhadinaeus* و *C. idella* (۲۷/۱ درصد) و کمترین تمایز بین گونه‌های *S. zarudyni* و *C. carpio* (۱۰/۸ درصد) بود (جدول ۱). در مجموع با توجه به نتایج به‌دست آمده در این مطالعه تنها چهار گونه بومی در چاه‌نیمه‌های زابل شناسایی شد. اما با توجه به اینکه در این مطالعه از ازار نمونه‌برداری محدودی استفاده شده‌است نمی‌توان تنوع گونه‌ای ماهیان منطقه یاد شده را محدود به آنچه که در این مطالعه مشخص شد دانست. احتمالاً با استفاده از ابزار نمونه‌برداری دقیق‌تر و متنوع‌تری به‌توان تنوع گونه‌ای بیش‌تری را دراین منطقه شناسایی و مطالعه نمود.

جدول ۱- فواصل ژنتیکی K2P محاسبه شده در دو سطح درون گونه‌ای و بین گونه‌ای. در مواردی که تنها یک نمونه از یک گونه موجود بوده است فاصله درون‌گونه‌ای برای گونه یادشده با خط تیره مشخص شده‌است.

گونه	فاصله درون‌گونه	۲	۳	٤	٥	٦	۷
G. adiscus	-						
P. rhadinaeus	۰/۳	۲۳/٦					
S. altidorsalis	-	١٦/٣	۲۳/٥				
S. zarudnyi	۰/۲	١٤/١	۲۲/۲	١۲/٤			
Carassius sp	۰/۰۰	١٥/٤	۲۳/١	١٦/٥	١۳/۷		
C. idella	۰/۰۰	١٤/١	۲۷/١	١٦/٩	١٦/٣	۱۷/۲	
C. carpio	۰/۰۰	١۲/٦	۲۲	١٤	١۰/۸	١۲/۸	١٤/٣

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-06-13]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1398.14.4.2.2]

منابع

Abdoli A (2000) The Inland Water Fishes of Iran. Iranian Museum of Nature and Wildlife, Tehran. 378 p.

Altschul SF, Madden TL, Schaffer AA, Zhang JH, Miller W, Lipman DJ (1997) Gapped BLAST and PSI.

Esmaeili HR, Mehraban H, Abbasi K, Keivany Y and Brian WC (2017) Review and updated checklist of freshwater fishes of Iran: Taxonomy, distribution and conservation status. Iranian Journal of Ichthyology 4: 1-114.

Esmaeili HR, Sayyadzadeh G, Eagderi S, abbasi K (2018) Checklist of freshwater fishes of Iran. FishTaxa 3:1-95.

Estoup A, Largiader CR, Perrot E, Chourrout D (1996) Rapid one-tube DNA extraction for reliable PCR detection of fish polymorphic markers and transgenes. Molecular Marine Biology and Biotechnology 5:295-298.

Ferguson A, Taggart JB, Prodohl PA, Mcmeel O, Thompson C, Stone C, McGinnity P, Hynes RA (1995) The application of molecular markers to the study and conservation of Salmo. Journal of fish Biology 47:103-126.

Freeland JR (2005) Molecular Ecology. John Wiley & Sons, Ltd. 400 pp.

Hallerman (2003) Population Genrtic: principles and Applications for fisheries Scientists. American fisheries society, Bothesda, Maryland.

Hashemzadeh segherloo I, Bernatchez L, Golzarianpour K, Abdoli A, Primmer CR, Bakhtiary M (2012) Genetic differentiation between two sympatric morphs of the blind Iran care barb *Iranocypris typhlops*. Journal of fish Biology 81:1747-1753.

Hebert PDN, Stoeklem Zemlak T, Francis CM (2004) Identification of birds through DNA barcodes. Plos Biology 20:1657-1668.

Hubert N, Hanner R, Holm E, Mandark NE, Laviolette N, Taylor E, Burridge M, Wathinson D, Curry A, Bentzen P, Zhang J, April S, Bernatchez L (2008) Identifying Canadian Freshwater fishes through DNA Bacodes. *PLoS one* 3: p.e2490.

Kerr KCR, stoeckle MY, Dove CT, Weigt LA, Francis CM, Hebert PDN (2007) Comprehensive DNA brocade coverage of North American birds. Molecular Ecology Notes 7:535-716.

kimura M (1980) A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions though comparative studies of nucleotide sequences Joural of Molecular Evolution 16:11-120.

Machordom A, Doadrio I (2001) Evolutionary history and speciation modes in the cyprinid genus *Barbus*. Proceedings of the Royal society of London. Series B: Biological Sciences 268:1297-1306.

Noori GR, Arbabi T, Noori S (2008) Hamoon wetland the life of Sistan.Sepeher Publication Center Tehran, Iran, 150 P.(In Persian).

Ward RD, Zemlak TS, Innes BH, Last PR, Hebert PDN (2005) DNA barcoding Australia fish species. Philosophical Transactions of the Royal society: Biological Sciences 360:1847-1857.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-06-13]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1398.14.4.2.2]