

Genetic Diversity of the Obtuse Barracuda (*Sphyraena obtusata*, Cuvier 1829) in the Persian Gulf Revealed by AFLP Markers

Fekrandish H.^{1*}; Hayat F.¹

*h.fekrandish@iau.ac.ir

1-Department of Fisheries, Bushehr Branch, Islamic Azad University, Bushehr, Iran

Abstract

The Obtuse barracuda (*Sphyraena obtusata*) is a pelagic–neritic fish species widely distributed in coastal waters. This study investigated the genetic diversity of *S. obtusata* populations in the Persian Gulf using Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) markers. A total of 26 individuals were sampled from three localities: Bahrakan, Dayyer, and Bandar Abbas. Genomic DNA was extracted from dorsal fin tissue using the phenol–chloroform method, and five MseI/EcoRI primer combinations were applied for AFLP analysis. Across the populations, the percentage of polymorphic loci averaged 76.1%, with mean genetic diversity of 0.289 ± 0.022 and Shannon's index of 0.432 ± 0.031 , indicating a high level of within-population variation. Analysis of Molecular Variance (AMOVA) revealed that 16% of the total genetic variation was partitioned among populations, while 84% was attributed to within-population diversity ($p < 0.01$). The estimated mean gene flow ($Nm = 2.37$) suggests effective migration, likely supported by the pelagic nature of eggs and larvae. A dendrogram based on Nei's genetic distance further illustrated population differentiation consistent with geographic separation. These findings demonstrate considerable genetic diversity and moderate population structuring in *S. obtusata* populations within the Persian Gulf, providing valuable insights for future conservation and fisheries management strategies.

Keywords: Population diversity, Obtuse barracuda, AFLP marker, Persian Gulf.



مقاله علمی - پژوهشی:

مطالعه تنوع ژنتیکی ماهی کوتر دهان زرد (*Sphyraena obtusata*, Cuvier, 1829) در خلیج فارس با استفاده از نشانگرهای AFLP

حکیمه فکراندیش^{۱*}، فرشته حیات^۱

*h.fekrandish@iaua.ac.ir

۱- گروه شیلات، واحد بوشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، بوشهر، ایران

تاریخ پذیرش: شهریور ۱۴۰۴

تاریخ دریافت: خرداد ۱۴۰۴

چکیده

ماهی کوتر دهان زرد (*Sphyraena obtusata*) از گونه‌های پلاژیک - نریتیک است که معمولاً در سطح یا نزدیک سطح آب حرکت می‌کند. به منظور بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت ماهی کوتر دهان زرد با استفاده از «نشانگر چندشکلی طولی قطعه تکثیر شده»^۱، ۲۶ عدد ماهی از مناطق بحرکان، دیر و بندرعباس نمونه‌برداری گردید. DNA ژنومی از بافت باله پشتی با روش فنل-کلروفرم جدا شد. از ۵ ترکیب پرایمری MseI/EcoRI استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که میانگین درصد لوکوس‌های پلی مورفیسم در بین سه جمعیت ۱۰/۷۶٪، میانگین تنوع ژنتیکی (۰/۲۸۹±۰/۰۲۲) و میانگین شاخص شانون (۰/۴۳۲±۰/۰۳۱) بود که نشان از تنوع ژنتیکی جمعیت‌ها بود. نتایج تجزیه و تحلیل واریانس ملکولی (AMOVA) در سطح ۹۹ درصد، اختلاف بین سه جمعیت (۱۶٪) و درون جمعیت‌ها (۸۴٪) را نشان داد. همچنین میانگین جریان ژنی بین جمعیت‌ها ۲/۳۷ بود که نشان‌دهنده مهاجرت مؤثر بین جمعیت‌ها به دلیل داشتن تخم و لارو پلاژیک در این گونه است. دندروگرام فاصله ژنتیکی نشان داد که میزان تفکیک جمعیت‌ها بر اساس فاصله جغرافیایی آنها از یکدیگر بوده است.

کلمات کلیدی: تنوع جمعیت، کوتر دهان زرد، نشانگر AFLP

^۱ Amplified Fragment Length Polymorphism

مقدمه

تغییرات شرایط اقلیمی و جغرافیایی طی سال‌های متمادی بر جمعیت‌های آبزیان تاثیر گذاشته و سبب تغییر در تنوع ژنتیکی یا انقراض گونه‌ها گردیده است. تنوع ژنتیکی، قابلیت بقا یک گونه یا جمعیت را از طریق ایجاد توانایی سازگاری با تغییرات محیطی فراهم می‌کند. بنابراین، وجود تنوع ژنتیکی برای بقا طولانی‌مدت یک گونه ضروری است. از این‌رو، آگاهی و بررسی دائمی وضعیت ژنتیکی گونه‌هایی که در معرض بهره‌برداری و صید بی‌رویه قرار دارند، برای حفظ و مدیریت زیست‌شناختی و ژنتیکی و به عنوان پیش‌نیاز برای حفظ جمعیت‌ها و سازگاری آنها در شرایط محیطی ضروری است (Diz and Persa, 2009). شرایط زیست‌محیطی مناسب در خلیج فارس باعث گردیده است که این منطقه محل زیست گونه‌های متعددی از آبزیان مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری باشد. گونه‌های مختلفی از آبزیان کفزی نزدیک به کف، صخره‌ها و جزایر مرجانی و آبزیان سطح‌زی مهاجر در خلیج فارس نیز دیده می‌شوند (Siddeek *et al.*, 1999). در میان ماهیان سطح‌زی، کوتر ماهیان دارای اهمیت بسیار بالایی در زمینه‌های غذایی، صنعتی و تجاری هستند.

کوتر دهان زرد یکی از گونه‌های پلاژیک - نریتیک است که معمولاً در سطح یا نزدیک سطح آب حرکت می‌کند. این ماهیان روز فعال هستند، ماهیان بالغ و مسن به صورت انفرادی و ماهیان جوان در گله‌های کوچک در حاشیه آبسنگ‌های مرجانی و سواحل کم‌عمق دیده می‌شوند و به طور عمده از ماهیان اسکوییدها تغذیه می‌کنند. در ایران پراکنش جغرافیایی این ماهی در سراسر خلیج فارس و دریای عمان است. این ماهیان از نظر کیفیت گوشت به ماهیان تن و آزاد شبیه است. گوشت آن به صورت تازه، یخ‌زده، خشک و نمک سود در بازار عرضه می‌شود (Fischer and Bianchi, 1984).

تازه‌ترین مطالعات کوتر ماهیان اغلب بر بیولوژی و اکولوژی آنها صورت گرفته است. Rajesh و همکاران (۲۰۲۰) چرخه تولید مثل، بلوغ، نسبت جنسی و باروری *Sphyraena putnamae* در امتداد ساحل کارناتاكا در جنوب شرقی دریای عرب را مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد، نسبت جنسی بین ماده و نر (۱ به ۱/۰۸) تفاوت معنی‌داری نداشت. الگوی شاخص گنادوسوماتیک (GSI) و مراحل بلوغ ماده‌ها دو اوج را در تخم‌ریزی نشان داد. همچنین مشخص گردید باروری با طول و

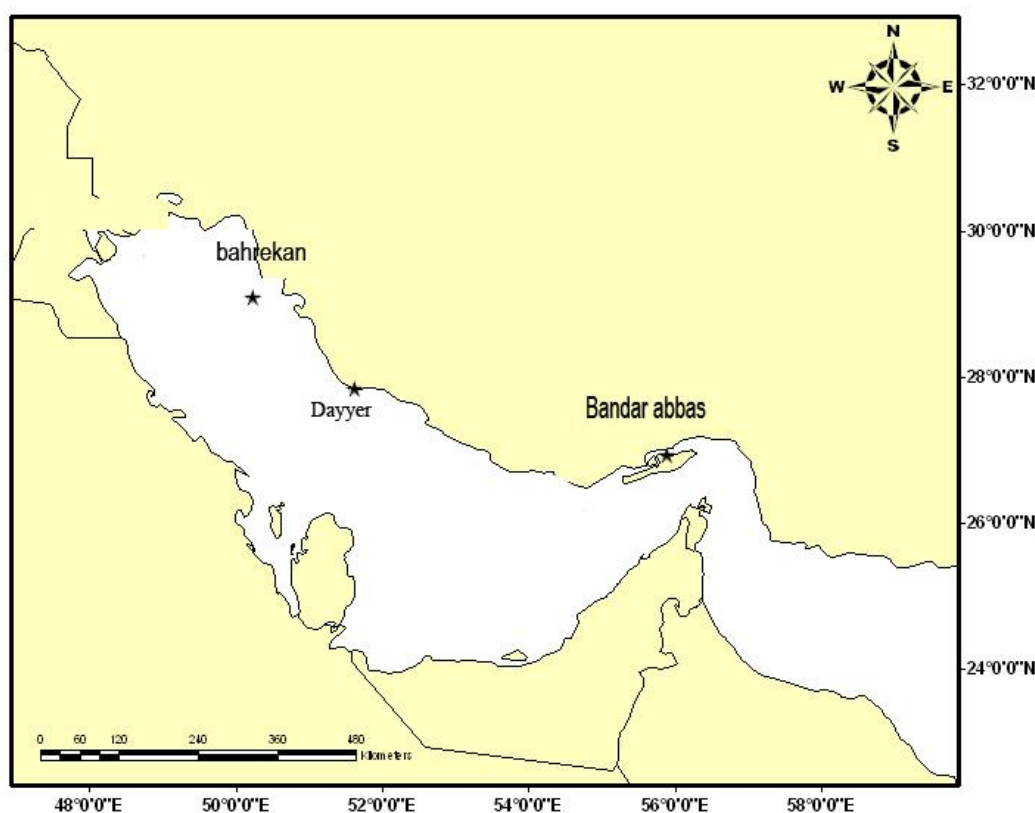
وزن ماهی همبستگی مثبت دارد که نشان می‌دهد، ماده‌های بزرگ‌تر تعداد تخم‌های بیشتری در مقایسه با کوچک‌تر تولید می‌کنند. Rajesh و همکاران (۲۰۲۱) غذا و عادات تغذیه *Sphyraena putnamae* را از جنوب شرقی دریای عرب و هند مورد مطالعه قرار دادند. نتایج نشان داد، ماهیان استخوانی غذای ترجیحی و غالب این ماهی بود درحالی‌که نرم‌تنان و سخت‌پوستان به ترتیب اقلام غذایی ثانویه و جانبی را تشکیل می‌دادند. نسبت معده خالی و شاخص پری معده بین جنس نر و ماده تفاوت معنی‌داری نداشت. نوجوانان هر دو جنس به طور قابل توجهی در مقایسه با بزرگسالان، شاخص پری معده بالاتری داشتند. Meshram و همکاران (۲۰۲۲) دینامیک تغذیه و ارزش غذایی *Sphyraena obtusata* جمع‌آوری شده از آبهای ساحلی کارناتاكا (جنوب شرقی دریای عرب و هند) را از اوت ۲۰۱۹ لغایت مارس ۲۰۲۰ مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که غالب‌ترین طعمه این ماهی از نظر فراوانی (۸۷/۸۰ درصد)، تعداد (۵۷/۶۳ درصد) و حجم (۹۱/۸۲ درصد) ماهیان استخوانی بودند. سخت‌پوستان و سفالوپودها کمتر دیده شدند. همچنین محتوای پروتئین و انرژی بالای این ماهی نشان داد که می‌تواند به عنوان یک غذای بسیار مغذی برای یک رژیم غذایی سالم در نظر گرفته شود، اما به دلیل مطالعات کم ژنتیکی، ابهامات زیادی در ارتباط با زیرگونه‌ها و جمعیت‌های این خانواده در ایران و جهان وجود دارد. Milana و همکاران (۲۰۱۴) سه ناحیه mtDNA (سیتوکروم اکسیداز I، سیتوکروم b و منطقه شاهد) را در نمونه‌های *Sphyraena viridensis* جمع‌آوری شده از مناطق ساحلی ایتالیا، به عنوان نشانگرهای مولکولی مفید در شناسایی گونه‌ها، تجزیه و تحلیل فیلوژنتیک و تشخیص توزیع تنوع ژنتیکی این ماهی مورد تجزیه و تحلیل قرار دادند. نتایج نشان داد که گونه *S. viridensis* از *S. spyraena*، و چهار گونه از کوتر ماهیان مدیترانه‌ای متمایز است و دو دودمان کاملاً متمایز را شناسایی کردند که در طول پلیستوسن از هم جدا شده‌اند. در ایران تاکنون میزان تنوع ژنتیکی و فاصله ژنتیکی درون و بین جمعیت‌های ماهیان مختلفی در خلیج فارس با استفاده از نشانگرهای AFLP بررسی شده است. اما با توجه به سوابق، استفاده از نشانگرهای AFLP در مطالعات جمعیتی ماهی کوتر دهان زرد در خلیج فارس تاکنون استفاده نشده است و با توجه به این‌که اطلاعات منتشره‌ای در زمینه بررسی تنوع جمعیت‌های مختلف این ماهی در خلیج فارس به چشم نمی‌خورد، با انجام این

پروژه، جمعیت‌های این گونه، قرابت بین جمعیت‌ها و تنوع درون گونه‌ای به دست آمد که این اطلاعات در حفاظت، ارزیابی ذخایر و حفاظت از این گونه کاربرد زیادی دارد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه از انتهای باله پشتی ۲۶ عدد ماهی کوتر دهان زرد که از سه منطقه در خلیج فارس (بحرکان، دیر و بندرعباس) با تور گوشگیر صید شده بودند، نمونه‌برداری گردید (شکل ۱). نمونه‌ها در الکل اتانول ۹۶٪ فیکس شده و به آزمایشگاه منتقل گردید. استخراج DNA از بافت به روش فنل کلروفرم انجام شد (Hillis and Moritz, 1990). مراحل AFLP بر اساس روش Vos و همکاران (۱۹۹۵) با کمی تغییر بر اساس روش بهینه شده، انجام شد. در مرحله هضم، ۲۲۰ نانوگرم از DNA ژنومی با ۲ واحد از آنزیم‌های برشگر MseI و EcoRI به مدت ۲ ساعت و در دمای ۹۳ درجه سانتی‌گراد و ۲ ساعت در دمای ۸۲ درجه سانتی‌گراد، انجام شد. سپس در مرحله

واسرشت‌سازی، الحاق آداپتورهای MseI و EcoRI با توالی مورد نظر و با غلظت ۲۰ میلی‌مول به همراه آنزیم الحاق دهنده T4 DNA Ligase و بافر الحاق به مدت ۱۲ ساعت در دمای ۲۲ درجه به انتهای قطعات برش خورده قطعات ژنومی انجام شد. پس از آن محصول واکنش به میزان ۹ برابر رقیق شده و محصول حاصل بر ژل آگارز برده شد تا انجام واکنش تایید گردد. تکثیر قطعات طی دو مرحله تکثیر پیش‌انتخابی و انتخابی انجام گرفت. در مرحله دوم تکثیر، محصولات حاصل از تکثیر پیش‌انتخابی به نسبت ۱:۲ رقیق شده و با استفاده از پنج ترکیب پرایمری (E-AAG/M-CAA, E-ACG/M-CAG, E-ACT/M-CAC, E-AAG/M-CTG, E-ACA/M-(CAA) تکثیر انتخابی انجام گردید (جدول ۱). محصولات حاصل از تکثیر انتخابی بر ژل پلی اکریل آمید ۸ درصد الکتروفورز گردید و سپس رنگ‌آمیزی ژل‌ها با روش نیترا ت نقره ۶ درصد انجام شد. از الگوی نواری به دست آمده تصویربرداری گردید و امتیازدهی باندها به صورت صفر و یک به ترتیب برای فقدان و وجود باند، صورت گرفت.



شکل ۱: نقشه مناطق نمونه برداری در خلیج فارس

جدول ۱: توالی آداپتورها و پرایمرهای مورد استفاده.

Type	Primer/Adaptor Name	Sequence (5' → 3')
Adaptor	EcoRI-Adaptor	5' - CTCGTAGACTGCGTACC- 3'
	MseI-Adaptor	5' - CATCTGACGCATGGTAA - 3'
Pre-selective Primers	EcoRI	5' - GACTGCGTACCAATTCA - 3'
	MseI	5' - GATGAGTCCTGAGTACC - 3'
Selective Primers	E-AAG/M-CAA	5' - GACTGCGTACCAATTC AAG - 3'
	E-ACG/M-CAG	5' - GACTGCGTACCAATTC ACG - 3'
	E-ACT/M-CAC	5' - GACTGCGTACCAATTC ACT - 3'
	E-AAG/M-CTG	5' - GACTGCGTACCAATTC AAG - 3'
	E-ACA/M-CAA	5' - GACTGCGTACCAATTC ACA - 3'
		5' - GATGAGTCCTGAGTAA CAA - 3'
		5' - GATGAGTCCTGAGTAA CAG - 3'
		5' - GATGAGTCCTGAGTAA CAC - 3'

ولی چون فراوانی آنها بیش از ۰/۰۱ نبود، می توان عنوان نمود که هیچ باند اختصاصی برای این سه جمعیت وجود نداشت. تعداد آلل واقعی Na که بیانگر تعداد آلل های مشاهده شده یک جایگاه در جمعیت است، به شدت تحت تاثیر اندازه نمونه است. هر پنج پرایمر مورد بررسی در این مطالعه چند شکلی نشان دادند. کمترین تعداد آلل های مورد مشاهده Na در جمعیت بحرکان (۱/۲۲۷ با انحراف معیار ۰/۲۰۷) و بیشترین در جمعیت دیر (۱/۸۶۴ با انحراف معیار ۰/۱۰۰) محاسبه شد. میانگین تعداد آلل های متفاوت مورد مشاهده در این مطالعه ۱/۶۲۱ با انحراف معیار ۰/۰۹۴ است. معیار دیگر بیانگر پلی مورفیسم، تعداد آلل های موثر Ne بوده که عکس هموزیگوسیتی مورد انتظار بوده و کمتر به تعداد نمونه حساس است. کمترین آلل های موثر، در جمعیت بحرکان به تعداد 1.330 ± 0.073 و بیشترین در جمعیت بندرعباس به تعداد 1.581 ± 0.068 محاسبه شد. میانگین تعداد آلل موثر در این مطالعه ۱/۴۸۷ با انحراف معیار ۰/۰۴۱ به دست آمد. علاوه بر شاخص های میانگین هتروزیگوسیتی و تنوع ژنتیکی بر اساس ضریب Nei (۱۹۷۸) شاخص شانون I (بیانگر میزان تنوع ژنتیکی در هر جمعیت است). نیز محاسبه گردید. تنوع بر اساس شاخص شانون از ۰/۳۰۶ با انحراف معیار ۰/۰۶۰ در جمعیت بحرکان تا ۰/۴۹۶ با انحراف معیار ۰/۰۴۸ در جمعیت بندرعباس متغیر بود. میانگین

درصد باند پلی مورفیسم، میزان شباهت و فاصله ژنتیکی بر اساس Nei (۱۹۷۸) تنوع ژنتیکی و مولفه های PCA بر اساس تست AMOVA در سطح خطای ۰/۰۱ و در نرم افزار GenAlex version 6.5 و PopGene انجام شد. تجزیه و تحلیل خوشه ای که نشان دهنده قرابت افراد است، بر اساس روش UPGMA در نرم افزار TFPGA version 1.1 بین سه منطقه محاسبه شد.

نتایج

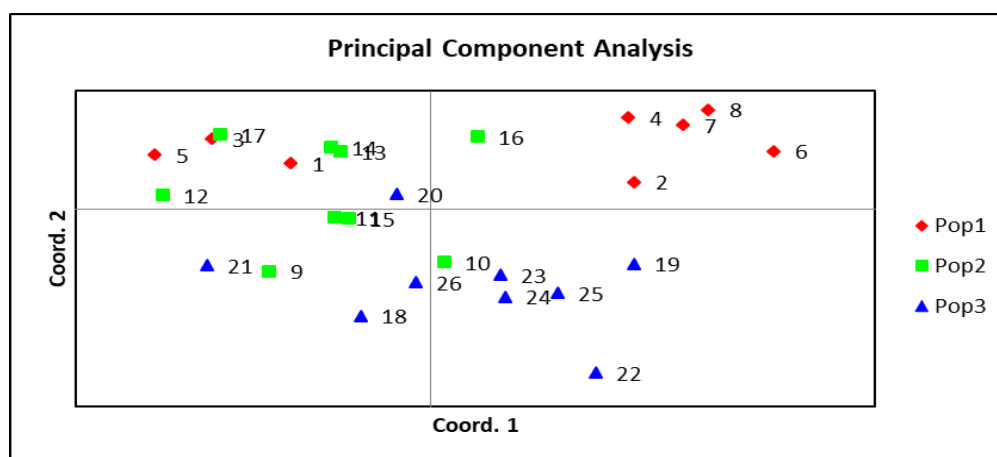
بر اساس تجزیه و تحلیل تنوع ژنتیکی ماهی کوتر دهان زرد در مناطق مختلف نمونه برداری، دامنه هتروزیگوسیتی (He) بر اساس ضریب Nei (۱۸۷۸) از ۰/۲۰۲ با انحراف معیار ۰/۰۴۱ برای ماهیان کوتر دهان زرد بحرکان تا ۰/۳۳۷ با انحراف معیار ۰/۰۳۵ برای ماهیان کوتر دهان زرد بندرعباس، متغیر بود. میانگین دامنه هتروزیگوسیتی کل جمعیت ها ۰/۲۸۹ با انحراف معیار ۰/۰۲۲ بود. کمترین تعداد باندهای پلی مورف در ماهیان کوتر دهان زرد بحرکان با ۱۴ عدد و بیشترین تعداد باندهای پلی مورف در ماهیان کوتر دهان زرد دیر با ۲۱ عدد بوده است. درصد باند پلی مورفیسم در گروه ماهیان کوتر دهان زرد بحرکان ۵۹/۰۹ درصد بود در حالی که در ماهیان دیر ۹۰/۹۱ درصد و در ماهیان بندرعباس ۸۶/۳۶ درصد محاسبه شد. میانگین باندهای پلی مورفیسم در سه جمعیت ۷۸/۷۹ درصد است. تعداد ۱ باند اختصاصی فقط برای ماهیان کوتر دهان زرد دیر مشاهده شد،

تنوع بر اساس شاخص شانون محاسبه شده بین جمعیت‌ها در این مطالعه ۰/۴۳۲ با انحراف معیار ۰/۰۳۱ به دست آمد (جدول ۲). بر اساس تجزیه و تحلیل PCA برای بررسی روابط بین نمونه‌ها، ماهیان بحرکان و دیر و بندرعباس، در گروه مجزا از یکدیگر قرار

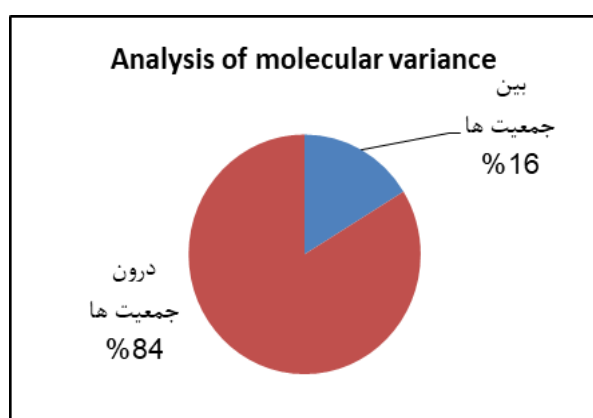
گرفتند و همپوشانی بالایی نداشتند و جمعیت‌های مجزا از یکدیگر را مشخص کردند (شکل ۲). ماهیان منطقه بندرعباس جدا از دو جمعیت دیگر قرار گرفتند و دو جمعیت بحرکان و دیر در ارتباط بودند.

جدول ۲: اطلاعات نمونه برداری از ماهی *Sphyræna obtusata* شامل مکان‌های نمونه برداری، تعداد نمونه و شاخص‌های تنوع ژنتیکی

Pop ID	Sampling site	Sample size	Observed number of alleles	Effective number of alleles	Number of polymorphic loci	Proportion of polymorphic loci	Nei's gene diversity	Shannon's information index
1	Bahrekan	8	1.227±0.207	1.330±0.073	14	59.09%	0.202±0.041	0.306±0.060
2	Dayyer	9	1.864±0.100	1.551±0.063	21	90.91%	0.303±0.031	0.493±0.042
3	Bandar abbas	9	1.773±0.130	1.581±0.068	20	86.36%	0.337±0.035	0.496±0.048
	Average		1.621±0.094	1.487±0.041		78.79%	0.289±0.022	0.432±0.031



شکل ۲: تجزیه و تحلیل PCA برای ماهیان کوتر دهان زرد بحرکان (Pop1)، دیر (Pop2) و بندرعباس (Pop3)



شکل ۳: تجزیه و تحلیل واریانس ملکولی (AMOVA) بین و درون جمعیتی نمونه‌های ماهی کوتر دهان زرد

در خصوص شاخص جدایی جمعیت (Fst) که بیانگر تمایز ژنتیکی بین جمعیت‌هاست، کمترین مقدار در جمعیت دیر و

تجزیه و تحلیل واریانس ملکولی (AMOVA) در سطح ۹۹ درصد، بیانگر اختلاف بین جمعیتی ماهیان بحرکان، دیر و بندرعباس به میزان ۱۶٪ و اختلاف درون جمعیتی به میزان ۸۴٪ بود (شکل ۳).

ماتریکس فاصله ژنتیکی بر اساس Nei (۱۹۷۸) بیشترین فاصله ژنتیکی را میان نمونه‌های دیر و چابهار (۰/۱۶۶) و کمترین میزان فاصله ژنتیکی را بین نمونه‌های دیر و بحرکان (۰/۱۱۰) نشان داد. میانگین فاصله ژنتیکی (۰/۲۲۳) محاسبه شد. محاسبه شباهت ژنتیکی نیز بر اساس ضریب Nei (۱۹۷۸) کمترین شباهت را بین نمونه‌های مورد مطالعه در ماهیان دیر و بندرعباس (۰/۸۴۷) و بیشترین شباهت را در ماهیان بحرکان و دیر (۰/۸۹۶) نشان داد (جدول ۳). میانگین شباهت ژنتیکی (۰/۸۰۱) محاسبه شد.

جدول ۳: شباهت ژنتیکی (بالا) و فاصله ژنتیکی (پایین) بر اساس

ضریب Nei (1978)

Population	Bahrekan	Dayyr	Bandar Abbas
Bahrekan	*****	0.896	0.876
Dayyr	0.110	*****	0.847
Bandar Abbas	0.132	0.166	*****

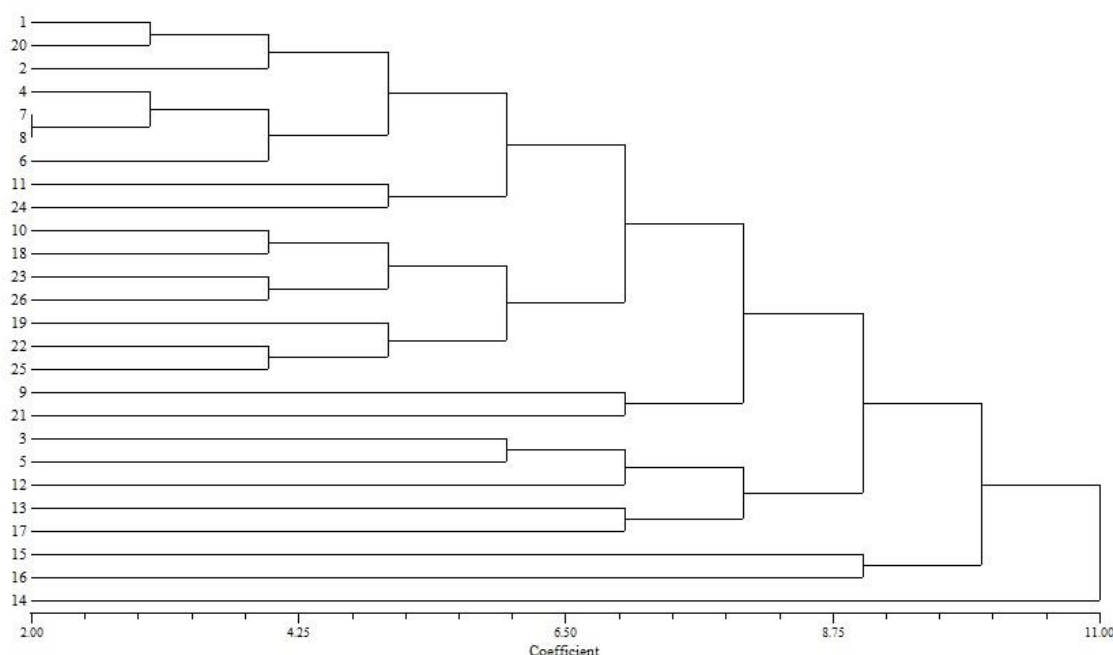
جدول ۴: میزان جریان ژنی (Nm) (پایین) و تمایز ژنتیکی (Fst)

(بالا) بین جمعیت‌های ماهی کوتر دهان زرد در خلیج فارس

Population	Bahrekan	Dayyr	Bandar Abbas
Bahrekan	*****	0.166	0.202
Dayyr	3.37	*****	0.125
Bandar Abbas	2.89	3.27	*****

بندرعباس (۰/۱۲۵) و بیشترین مقدار بین جمعیت بندرعباس و بحرکان (۰/۲۰۲) محاسبه شد. میانگین تمایز ژنتیکی بین جمعیت‌ها (۰/۱۶۲) با اختلاف معنی‌دار ($p < ۰/۰۰۱$) محاسبه شد. بیشترین میزان جریان ژنی Nm بین ماهیان دیر و بحرکان (۳/۳۷) و کمترین میزان جریان ژنی Nm بین ماهیان بحرکان و بندرعباس (۲/۸۹) مشاهده شد (جدول ۴). میانگین جریان ژنی (۲/۳۷) محاسبه گردید.

بر اساس درخت فیلوژنی حاصل از ضریب Nei (۱۹۷۸) بر اساس روش NTSYS و ماهیان سه منطقه نمونه‌برداری به دو کلاستر تقسیم شدند که در یک گروه نمونه‌های دیر و بحرکان و در گروه دیگر نمونه‌های بندرعباس قرار گرفتند (شکل ۴).



شکل ۴: نمایش خوشه‌ای فاصله ژنتیکی نمونه‌های ماهی کوتر دهان زرد در خلیج فارس بر اساس NTSYS (بالا) (۱-۸: بحرکان، ۹-۱۷: دیر، ۱۸-۲۶: بندرعباس) و فاصله ژنتیکی جمعیت‌های ماهی کوتر دهان زرد در خلیج فارس بر مبنای معیار فاصله ژنتیکی Nei (۱۹۷۸) بر اساس روش UPGMA

بحث

شرایط محیطی می‌شود. مطالعه تنوع ژنتیکی از اهمیت بالایی برای پایداری جمعیت‌ها برخوردار است و حفاظت از آن برای باقی‌ماندن تسلسل ژنتیکی و قابلیت آдаپته‌شدن گونه یا جمعیت در رویارویی با تغییرات محیطی مستمر، ضروری است (Aguirre-Pabón *et al.*, 2022). به منظور بررسی تنوع و ساختار ژنتیک جمعیت و شناسایی و تفکیک جمعیت‌های ماهی کوتر دهان زرد در خلیج فارس، از نشانگر ملکولی AFLP، با

ذخایر ماهیان به دلیل افزایش آلودگی‌ها، و بهره‌برداری و صید بی‌رویه در خلیج فارس در حال کاهش است. بنابراین، ارزیابی جمعیت‌های ماهی به منظور حفظ ذخایر ارزشمند ژنتیکی آن بسیار ضروری است. بهره‌برداری از ذخایر آبزیان بدون دانستن ساختار جمعیتی آنها باعث از بین رفتن ساختارهای ژنتیکی جمعیت‌ها و گونه‌ها و بالا رفتن آسیب‌پذیری گونه‌ها نسبت به

زیستگاه‌های طبیعی و آمیزش‌های خویشاوندی در نتیجه کوچک شدن جمعیت است که با گذشت زمان موجب کاهش آلل و کاهش هتروزیگوسیتی در ذخایر می‌شود (Norris et al., 1999).

Cui و همکاران در ۲۰۲۴ با بازتوالی‌یابی کل ژنوم، تنوع ژنتیکی و اثرات انتخابی را در پنج جمعیت از ماهی ماندارین (*Siniperca chuatsi*) بررسی کردند. نتایج نشان داد که در پنج جمعیت مورد بررسی، بیشترین مقادیر هتروزیگوس مشاهده شده (Ho) و هتروزیگوس مورد انتظار (He) به ترتیب ۰/۳۳ و ۰/۳۸ در جمعیت‌های هیلونگ‌جیانگ ثبت شد، در حالی که کمترین مقادیر Ho (۰/۲۷۱) و He (۰/۲۶۲) در جمعیت‌های هونان مشاهده گردید. تحلیل ساختار ژنتیکی نشان داد که پنج جمعیت مورد مطالعه به دو زیرگروه متمایز تقسیم می‌شوند و تفاوت معناداری در ساختار ژنتیکی آن‌ها وجود دارد. در این میان، جمعیت هیلونگ‌جیانگ به عنوان یک زیرگروه مستقل شناسایی شد که دارای بالاترین سطح تنوع ژنتیکی بود؛ موضوعی که با میزان بیشتر محتوای چربی در این جمعیت نسبت به گروه‌های جنوبی همخوانی دارد. همچنین نتایج نشان داد که ساختار ژنتیکی با موقعیت جغرافیایی حوضه‌های آبی ارتباط مستقیم دارد، به گونه‌ای که حضور در یک حوضه مشترک، تبادل ژنی مکرر را تسهیل کرده و موجب شباهت بیشتر در ساختار ژنتیکی جمعیت‌ها می‌شود.

نتایج حاصل از ماتریکس فاصله ژنتیکی بین جمعیت‌ها بر مبنای معیار ژنتیکی ضریب Nei (۱۹۷۸) بیشترین فاصله ژنتیکی را در ماهیان دیر و بندرعباس و کمترین فاصله ژنتیکی را در ماهیان دیر و بحرکان نشان داد. بیشترین شباهت ژنتیکی بین سه گروه ماهیان نیز در ماهیان دیر و بحرکان و کمترین شباهت ژنتیکی در ماهیان دیر و بندرعباس مشاهده شد که با فاصله جغرافیایی زیاد میان آنها و وجود جریان ژنی پایین مطابقت دارد. در مورد مقدار شباهت ژنتیکی برای سطوح فیلوژنی مختلف در شاخه مهره‌داران، جمعیت‌هایی که به گونه‌های مشابه تعلق دارند، شباهت ژنتیکی در دامنه ۰/۸۰-۰/۹۰ و گونه‌های متعلق به جنس‌های مشابه شباهت ژنتیکی در دامنه ۰/۸۵-۰/۳۵ را نشان دادند (Thorpe, 1982). مقدار میانگین شباهت ژنتیکی به دست آمده در این بررسی (۰/۸۰۱) محدوده گونه‌های مشابه را نشان می‌دهد که با مقادیر تمایز پایین به دست آمده مطابق است. نتایج Zhao و همکاران (۲۰۰۷) در بررسی تنوع ژنتیکی صدف *Cyclina sinensis* با استفاده از AFLP نشان داد که با افزایش

توجه به قابلیت‌ها و توانایی‌های آن مثل به‌نیازی به اطلاعات اولیه ژنوم برای بررسی این روش استفاده شد.

هتروزیگوسیتی بیانگر طیف وسیعی از ژنوتیپ به عنوان پاسخ به سازش‌پذیری در شرایط متغیر محیطی است و بسیاری از خصوصیات مهم اقتصادی مثل رشد، باروری و مقاومت در برابر بیماری را تحت تاثیر قرار می‌دهد (Beardmore et al., 1997). در خصوص دامنه هتروزیگوسیتی و تنوع ژنتیکی بر اساس ضریب Nei (۱۹۷۸) بیشترین این مقدار در ماهیان کوثر دهان زرد منطقه بندرعباس (0.35 ± 0.33) و کمترین در ماهیان بحرکان (0.41 ± 0.20) وجود داشت. میانگین دامنه هتروزیگوسیتی ماهی کوثر دهان زرد در خلیج فارس (0.22 ± 0.289) بدست آمد. همچنین در خصوص تنوع بر اساس شاخص شانون، کمترین این میزان در ماهیان بحرکان (0.60 ± 0.30) و بیشترین در ماهیان بندرعباس (0.48 ± 0.496) محاسبه شد. میانگین تنوع ژنتیکی ماهی کوثر دهان زرد بر اساس شاخص شانون 0.31 ± 0.432 به دست آمد. کمتر بودن مقدار هتروزیگوسیتی مورد مشاهده در نمونه‌های بحرکان ممکن است به علل مختلف از جمله عدم بهره‌برداری بهینه از منابع شیلاتی و احتمالاً پایین بودن میزان جریان ژنی (Nm) و تخریب زیستگاه‌های طبیعی ناشی از پساب فاضلاب شهری و صنایع بزرگ که در مجاورت دریا قرار دارند، پساب‌های سکوها‌ی نفتی و پساب پالایشگاه‌ها باشد که باعث آلودگی زیستگاه‌های طبیعی مثل خور شیلات و خور شرق در بحرکان است.

در مقایسه با تحقیق حاضر، بررسی تنوع ژنتیکی ماهی سنگسر معمولی در خلیج فارس با استفاده از نشانگر AFLP بیانگر کمترین میزان تنوع ژنتیکی سنگسر معمولی در منطقه بندرعباس (0.239) و بیشترین در منطقه آبادان با مقدار (0.331) بود (Salari Aliabadi et al., 2013). همچنین در بررسی مطالعه Fekrandish و همکاران (۲۰۱۵) بر گونه زمین کن دم نواری با نشانگر AFLP، جمعیت بحرکان و بندرعباس در مقایسه با ۴ جمعیت دیگر در خلیج فارس (خورموسی، شیف، مطاف، چارک)، تنوع هتروزیگوسیتی و میزان پلی‌مورفیسم کمتری نشان دادند. علت این امر به دلایل مختلفی از جمله آلودگی‌های ایجاد شده به‌وسیله پتروشیمی‌های موجود و ورود کشتی‌های صنعتی به ساحل در شمال خلیج فارس نسبت داده شد. از دلایل دیگر این مساله که محققان مختلف اشاره کردند می‌توان به صید بی‌رویه، استرس‌های زیست‌محیطی، تخریب

فاصله جغرافیایی، فاصله ژنتیکی نیز افزایش می‌یابد که علت آن احتمالاً کاهش جریان ژنی با افزایش فاصله جغرافیایی است. در نتیجه، نمونه‌هایی که از نظر جغرافیایی نزدیکتر هستند، از نظر ژنتیکی نیز شباهت بیشتری دارند و با افزایش فاصله جغرافیایی، فاصله ژنتیکی نیز افزایش می‌یابد.

بر اساس تجزیه و تحلیل مولفه PCA برای بررسی روابط بین نمونه‌ها، ماهیان بحرکان و بندرعباس در گروه مجزا از یکدیگر قرار می‌گیرند و همپوشانی بالایی ندارند. بنابراین، جمعیت‌های جدا از یکدیگر را مشخص می‌کنند. ماهیان منطقه دیر بین دو جمعیت هستند و با هر دو جمعیت بحرکان و بندرعباس در ارتباط هستند. همپوشانی جمعیت دیر با دو جمعیت دیگر دلیل بر شباهت ژنتیکی بیشتر جمعیت دیر با دو جمعیت دیگر به‌ویژه بحرکان است. به طور کلی، جمعیت‌های به هم پیوسته از نظر جغرافیایی شباهت ژنتیکی بیشتری دارند که ناشی از جریان ژنی بین جمعیت‌ها است (Hiransuchalert et al., 2020).

نتایج تجزیه و تحلیل واریانس ملکولی (AMOVA) در سطح ۹۹ درصد، اختلاف بین ۳ جمعیت ۱۶٪ و اختلاف درون جمعیتی ۸۴٪ بوده است. اختلاف درون جمعیتی می‌تواند به دلیل تفاوت ژنتیکی بین افراد باشد. اما قسمت زیادی از تفاوت مورد مشاهده بین جمعیت‌ها در مناطق مختلف احتمالاً به علت تفاوت‌های محیطی از جمله ساختارهای اقیانوس‌شناسی متفاوت، فاصله‌های جغرافیایی و چرخه بیولوژی گونه‌هاست و اغلب تصور شده که قسمت کمی از این تفاوت‌ها به طور ژنتیکی تعیین می‌شود (Nazia et al., 2021). در الگوی کلی ساختار ژنتیک جمعیت، اختلاف ژنتیکی درون جمعیتی در ماهیان دریایی بیشتر از اختلاف ژنتیکی بین جمعیت‌هاست که پیش‌تر بیان گردید، می‌تواند ناشی از موانع اقیانوسی یا زمینی باشد که باعث جلوگیری از پراکندگی می‌شود. با تشدید توسعه شهرنشینی و نواحی صنعتی، بعضی از زیستگاه‌های تخم‌ریزی، مکان‌های نوزادگاهی و تغذیه‌ای از بین رفته‌اند که ممکن است جمعیت‌های متفاوتی را در بعضی از زیستگاه‌های جدا شده درون یک ناحیه با فاصله جغرافیایی کوتاه به وجود آورد (Qian et al., 2011). خلیج فارس به دلیل نیمه بسته بودن و ورود مقادیر زیادی آلاینده‌های صنعتی و شهری به درون این اکوسیستم، به نظر می‌رسد که می‌تواند چنین تاثیری را القاء کند و تفاوت درون جمعیتی بیشتری نسبت به تفاوت بین جمعیتی در گونه‌های آبزیان به وجود آورد.

در بررسی حاضر، کمترین مقدار Fst بین جمعیت دیر و چابهار (۰/۱۲۵) و بیشترین مقدار Fst بین جمعیت بندرعباس و بحرکان (۰/۲۰۲) محاسبه شد. تجزیه و تحلیل نتایج نشان‌دهنده تمایز ژنتیکی تقریباً بالا بین جمعیت بحرکان در شرق خلیج فارس و جمعیت بندرعباس در غرب خلیج فارس است. این مسئله می‌تواند ناشی از مهاجرت کم جمعیت‌های این گونه بین مناطق مورد پراکنش باشد.

Mickett و همکاران (۲۰۰۳) در گربه ماهی کانالی (*Ictalurus punctatus*)، میزان Fst برابر با ۰/۴۴۵۶ را تمایز ژنتیکی زیاد بین جمعیت‌ها و میزان ۰/۱۷۶ را تمایز ژنتیکی متوسط بین جمعیت‌ها عنوان می‌کنند. همچنین Zhao و همکاران (۲۰۱۱) در ماهی حلوا سفید تمایز ژنتیکی متوسطی برابر با ۰/۱۱ را بین جمعیت‌های مورد بررسی تعیین نمودند. همچنین Fekrandish و همکاران (۲۰۱۵) در ماهی زمین‌کن دمنواری در خلیج فارس مقدار Fst برابر با ۰/۳۲۷ تعیین کردند. بنابراین، تمایز ژنتیکی زیاد را بین جمعیت‌ها مشخص نمودند. در این بررسی میانگین Fst برابر با ۰/۱۹۲ و با اختلاف معنی‌دار در بین جمعیت‌ها ($p < ۰/۰۱۰$) محاسبه شد که بیانگر ساختار جمعیتی قوی و تمایز بالای ژنتیکی است و نشان‌دهنده مهاجرت کم بین جمعیت‌هاست. این مسئله با فرضیه بیولوژی این گونه (سرعت شای کند) و رفتار schooling (بیشتر بودن تمایل به درون‌آمیزی در هر جمعیت)، مطابقت دارد (Carpenter et al., 1997). جمعیت‌هایی که به صورت گروهی زندگی می‌کنند و رفتار schooling دارند، نتاج یک والد با یکدیگر طلاق دارند و هم‌ژنی جمعیتی در درازمدت باعث تمایز بسیار با سایر جمعیت‌ها می‌شود (Zeng et al., 2020).

Ma و همکاران در ۲۰۲۴ به بررسی تنوع ژنتیکی، ساختار و تاریخچه جمعیتی پنج گونه ماهی سیکلید در حوضه رودخانه مالاگراسی پرداخته و احتمال وقوع هیبریداسیون میان آن‌ها را مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج نشان داد مقادیر جفتی Fst بین جمعیت‌های Kuirt، Kayit، Kalaerzis و Crane در بخش‌های میانی و بالایی رودخانه ایرتیش در چین همگی کمتر از ۰.۰۵ بود، در حالی که مقادیر جفتی Fst بین این چهار جمعیت و Burqin و Haba همگی بیش از ۰.۰۵ بود. مشابه Fst، مقادیر جفتی Ds بین جمعیت‌های Kuirt، Kayit، Kalaerzis و Crane همگی کمتر از ۰.۱۵ بود، اما مقادیر Ds بین آن‌ها و جمعیت‌های Burqin و Haba همگی بیش از ۰.۱۵ بود. این یافته‌ها نشان می‌دهد که تفکیک ژنتیکی متوسطی بین

تشکر و قدردانی

نویسندگان از تمامی افرادی که در انجام این پژوهش همکاری و همراهی داشتند و از کارکنان و مدیریت آزمایشگاه دانشگاه آزاد اسلامی واحد بوشهر به دلیل حمایت‌ها و مساعدت‌های ارزشمند آنها در طول مراحل انجام آزمایش‌ها، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌نمایند.

منابع

- Aguirre-Pabón, J., Berdugo, G.O. and Narváez, J.C., 2022. Population structure and low genetic diversity in the threatened lebranche *Mugil liza* in the Colombian Caribbean. *Fisheries Research*, 256, 106485. <https://doi.org/10.1016/j.fishres.2022.106485>
- Beardmore, J.A., Mair, G.C. and Lewis, R.I., 1997. Biodiversity in aquatic systems in relation to aquaculture. *Aquaculture Research*, 28(10), pp.829–839. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.1997.00947.x>.GOV.UK
- Carpenter, K.E., Krupp, F., Jones, D.A. and Zajonz, U., 1997. *The living marine resources of Kuwait, eastern Saudi Arabia, Bahrain, Qatar, and the United Arab Emirates*. FAO Species Identification Field Guide for Fishery Purposes. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 293 P.
- Cui, R., Huang, J., Wang, S. and Zhang, X., 2024. Whole-genome resequencing reveals genetic diversity and selection signatures in five populations of Mandarin Fish (*Siniperca chuatsi*). *Aquaculture Reports*, 39, 102406. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2024.102406>
- Diz, A.P. and Presa, P., 2009. The genetic diversity patterns of *Mytilus galloprovincialis* in Galician Rías (NW Iberian estuaries). *Aquaculture*, 287(3–4), pp.278–285. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.10.029>

جمعیت‌های Haba و Burqin با چهار جمعیت دیگر رخ داده است که ناشی از جداسازی انسانی مانند سدها بوده و حرکت آزادانه جمعیت‌ها را محدود کرده، در نتیجه تبادل ژن کاهش یافته و فاصله ژنتیکی به تدریج افزایش یافته است. He و همکاران ۲۰۲۵ با مطالعه تنوع ژنتیکی ماهی *Gymnocypris firmispinatus* با دو روش میکروساتلیت‌ها و DNA میتوکندری دریافتند که فشارهای محیطی متنوع مثل تخریب زیستگاه به دلیل توسعه نیروگاه‌های آبی، تغییر مسیر رودخانه‌ها، آلودگی آب، صید بی‌رویه و تأثیرات تغییرات اقلیمی جهانی از جمله افزایش دمای آب موجب می‌شوند که موجودات زنده با شرایط محلی سازگار شوند، در حالی که جداسازی جغرافیایی جریان ژن را کاهش داده و امکان انباشت تغییرات سازگاری در جمعیت‌های محلی را فراهم می‌آورد، که در نهایت می‌تواند به تمایز ژنتیکی و گونه‌زایی منجر شود.

در تحقیق حاضر، نشانگر ملکولی AFLP در بررسی تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیت کوثر دهان زرد در خلیج فارس با توجه به بی‌نیازی به اطلاعات اولیه از ژنوم گونه در این روش، استفاده شد. این نشانگر با موفقیت و دقت بالا سطوح تنوع ژنتیکی در این گونه را در مناطق مختلف تخمین زده است و ساختار جمعیتی با تمایز بالا از ماهی کوثر دهان زرد را در خلیج فارس مشخص نمود. بنابراین، می‌توان نشانگر AFLP را با توجه به مزایای آن از قبیل سرعت و دقت برای مطالعات ژنتیک جمعیت در سایر آبزیان خلیج فارس، پیشنهاد نمود. با توجه به یافته‌های این پژوهش و تجزیه و تحلیل‌های انجام شده، می‌توان عنوان نمود که اگرچه این نشانگر تنوع ژنتیکی مناسبی در درون هر یک از جمعیت‌های گونه کوثر دهان زرد تشخیص داد، اما اختلاف مولکولی چندانی بین جمعیت‌های موجود در مناطق نمونه‌برداری شده، وجود ندارد. بر اساس تجزیه و تحلیل نتایج، تنوع ژنتیکی ماهیان بحرکان نسبت به ماهیان دیر و بندرعباس کمتر بود و این تفاوت را می‌توان احتمالاً به میزان صید زیاد این گونه و شرایط نامساعدتر محیطی از جمله آلودگی بالای این منطقه و تخریب زیستگاه‌های طبیعی ماهیان کوثر دهان زرد نسبت به دو منطقه دیگر نسبت داد. آنچه از مطالعه حاضر می‌توان برآورد نمود، این است که احتمالاً ۳ جمعیت مجزا از ماهی کوثر دهان زرد در خلیج فارس وجود دارد.

- Fekrandish, H., Hosseini, S., Kamali, A. and Soltani, M., 2015.** Assessing genetic diversity of populations of bartail flathead (*Platycephalus indicus* Linnaeus, 1758) in the northern part of the Persian Gulf using AFLP markers. *Iranian Journal of Fisheries Sciences (IJFS)*, 14(4), pp.924–936. <http://jifro.ir/article-1-1171-en.html>
- Fischer, W. and Bianchi, G. (eds.), 1984.** *FAO species identification sheets for fishery purposes: Western Indian Ocean (Fishing Area 51). Vols. 1–6.* Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Hassanien, H.A., Elnady, M., Obeida, A. and Itriby, H., 2004.** Genetic diversity of Nile tilapia populations revealed by randomly amplified polymorphic DNA (RAPD). *Aquaculture Research*, 35(6), pp.587–593. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2004.01057.x>
- He, H., Tian, H., Wang, X., Peng, L., Zhong, L., Qi, P. and Ma, B., 2025.** Genetic diversity of *Gymnocypris firmispinatus*: Insights from microsatellites and mitochondrial DNA among wild, broodstock source, and broodstock populations. *Aquaculture Reports*, 42, p.102767. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2025.102767>
- Hillis, D.M. and Moritz, C., 1990.** *Molecular taxonomy.* Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates Inc Publishers. 120P.
- Hiransuchalert, R., Tongiang, B., Sae-Chua, C., Cherdasakulkij, C., Prasertflux, S., Khamnamtong, B. and Klinbunga, S., 2020.** The development of species-specific AFLP-derived SCAR and SSCP markers to identify mantis shrimp species. *Molecular Biology Reports*, 47, pp. 6807–6816. <https://doi.org/10.1007/s11033-020-05682-7>
- Ma, K., Tong, G., Zhang, L., Sun, H., Wei, M., Zhao, C., He, B., Yin, J. and Zhang, Y., 2024.** Genetic diversity and population structure of *Thymallus* sp. in China based on morphological and molecular markers. *Global Ecology and Conservation*, 54, p.e03098. <https://doi.org/10.1016/j.gecco.2024.e03098>
- Meshram, M.M., Rajesh, M., Suyani, N.K. and Rajesh, K.M., 2022.** Diet composition, feeding dynamics and proximate composition of obtuse barracuda *Sphyraena obtusata* (Cuvier, 1829) in the southeastern Arabian Sea. *The Egyptian Journal of Aquatic Research*, 48(2), pp. 163–168. <https://doi.org/10.1016/j.ejar.2021.09.008>
- Mickett, K., Morton, C., Feng, J., Li, P., Simmons, M., Cao, D., Dunham, R.A. and Liu, Z., 2003.** Assessing genetic diversity of domestic populations of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) in Alabama using AFLP markers. *Aquaculture*, 228(1–4), pp. 91–105. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(03\)00222-5](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00222-5)
- Milana, V., Ciampoli, M. and Sola, L., 2014.** mtDNA sequences of *Sphyraena viridensis* (Perciformes: Sphyraenidae) from Italy: insights into historical events and the phylogeny of the genus. *Biological Journal of the Linnean Society*, 113(2), pp. 635–641. <https://doi.org/10.1111/bij.12353>
- Nazia, A.K., Tãm, B.M., Jamaluddin, J.A. and Nor, S.A., 2021.** High genetic structure between natural populations of bighead catfish *Clarias macrocephalus* (Günther, 1864) from the Mekong Delta and Peninsular Malaysia. *Fisheries Research*, 241, 105993 P. <https://doi.org/10.1016/j.fishres.2021.105993>
- Nei, M., 1978.** Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, 89(3), pp. 583–590. <https://doi.org/10.1093/genetics/89.3.583>

- Norris, A. T., Bradley, D. G., Cunningham, E. D., 1999. Microsatellite genetic variation between and within farmed and wild Atlantic salmon population. Department of Genetics, Trinity College Dublin, Ireland. 247-264. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(99\)00212-4](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00212-4)
- Qian, X., Fei, C., Shin, P.K.S., Cheung, S.G., Yan, C. and Caihuan, K., 2011. AFLP analysis of genetic variation among three natural populations of the horseshoe crab *Tachypleus tridentatus* along the Chinese coast. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 29(2), pp. 284–289. <https://doi.org/10.1007/s00343-011-0042-6>
- Rajesh, K.M., Rohit, P., Abdussamad, E.M. and Viswambharan, D., 2020. Reproductive biology of the sawtooth barracuda, *Sphyrna putnamae* (Jordan and Seale, 1905) along the coastal waters of Karnataka, southeastern Arabian Sea. *Regional Studies in Marine Science*, 36, 101314 P. <https://doi.org/10.1016/j.rsma.2020.101314>
- Rajesh, K.M., Rohit, P., Viswambharan, D., Abdussamad, E.M. and Rajesh, M., 2021. Feeding behaviour of the sawtooth barracuda, *Sphyrna putnamae* (Jordan and Seale, 1905) along the southeastern Arabian Sea, India. *Regional Studies in Marine Science*, 47, 101974 P. <https://doi.org/10.1016/j.rsma.2021.101974>
- Salari Aliabadi, M., Rastgoo, A., Mohammadi, M., Archangi, B. and Ghasemi, S.A., 2013. Population structure of the black pomfret (*Pomadasys kaakan* Cuvier, 1830) using AFLP molecular markers in the Persian Gulf. [in Persian] *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 22(4), pp. 15–29. <https://doi.org/10.22092/ijfs.2013.100847>
- Siddeek, M.S.M., Fouda, M.M. and Hermosa, G.V., 1999. Demersal fisheries of the Arabian Sea, the Gulf of Oman and the Arabian Gulf. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 49(Supplement A), pp. 87–97. [https://doi.org/10.1016/S0272-7714\(99\)80013-4](https://doi.org/10.1016/S0272-7714(99)80013-4)
- Thai, B.T., Pham, T.A. and Austin, C.M., 2006. Genetic diversity of common carp in Vietnam using direct sequencing and SSCP analysis of the mitochondrial DNA control region. *Aquaculture*, 258(1–4), pp. 228–240. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.03.025>
- Thorpe, J.P., 1982. The molecular clock hypothesis: biochemical evolution, genetic differentiation and systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 13, pp. 139–168. <https://doi.org/10.1146/annurev.es.13.110182.001035>
- Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., van de Lee, T., Hornes, M., Frijters, A., Pot, J., Peleman, J., Kuiper, M. and Zabeau, M., 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research*, 23(21), pp. 4407–4414. <https://doi.org/10.1093/nar/23.21.4407>
- Zeng, Z., Liang, D., Li, J., Lyu, Z., Wang, Y. and Zhang, P., 2020. Phylogenetic relationships of the Chinese torrent frogs (Ranidae: *Amolops*) revealed by phylogenomic analyses of AFLP-Capture data. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 106753 P. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2020.106753>
- Zhao, F., Dong, Y., Zhuang, P., Zhang, T., Zhang, L., Shi, Z., 2011. Genetic diversity of silver pomfret (*Pampus argenteus*) in the Southern Yellow and East China Seas. *Biochemical Systematics and Ecology*, 39: 145-150. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2011.02.002>