

<https://tbj.ui.ac.ir/?lang=en>

Taxonomy and Biosystematics

E-ISSN: 2322-2190

Document Type: Research Paper

Vol. 17, Issue 2, No.63 (2025), P:1-16

Received: 17/03/2025 Accepted: 19/08/2025

Genetic diversity of Namak chub: *Squalius namak* (Actinopterygii: Leuciscinae) in the Jajrood River using microsatellite markers

Hamed Shabanloo

Ph. D. Graduated, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran
shabanloo.hamed@ut.ac.ir

Hadi Poorbagher

Professor, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran
poorbagher@ut.ac.ir

Soheil Eagderi * 

Associate Professor, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran
soheil.eagderi@ut.ac.ir

Abstract

The Namak chub (*Squalius namak*) is an endemic species of the inland waters of Iran. However, no study has been conducted on the structure and genetic diversity of its populations. To address this, 103 Namak chub (*S. namak*) were sampled from four stations in the Jajrood River, and five microsatellite loci (Sluc4, Sluc5, Sluc7, Sluc13, and SarN2) were used. GenAlEx and CERVUS genetic software were used to analyze the data. The number of alleles ranged from 2 to 37 (average 12.43), and expected heterozygosity ranged from 0 to 0.95 (average 0.74), both of which were higher than the averages typically reported for freshwater fish. The average F_{ST} index for genetic differentiation was estimated to be 0.19, and the mean gene flow (N_m) was 1.30. Analysis of molecular variance revealed high genetic diversity within populations and low diversity among them. All loci exhibited a pattern of deviation from Hardy–Weinberg equilibrium (HWE), likely due to the use of non-specific primers, the presence of null alleles, and possibly small sample sizes. According to the findings of the present study, the genetic diversity observed in the populations of the Namak chub at these four sites was high, and considering the relatively low level of gene flow and the high F_{ST} , there appears to be significant differentiation among the populations of this species in the studied areas. These results can support efforts in biodiversity conservation and management planning.

Keywords: Population genetics, Genetic differentiation, Microsatellite, Chub, Molecular marker.

Introduction

The genetic diversity of a species determines its adaptive capacity and evolutionary potential. Small populations of species with restricted distributions often have low genetic diversity within populations but high genetic differentiation between populations due to genetic drift and limited gene flow (Zhai et al., 2019). Genetic diversity is now a concern in many

*Corresponding author

Shabanloo, H., Poorbagher, H. and Eagderi, S. (2025). Genetic diversity of Namak chub: *Squalius namak* (Actinopterygii: Leuciscinae) in the Jajrood river, using microsatellite markers. *Taxonomy and Biosystematics*, 17(2), 1-16.

2322-2190 © The Author(s).

Published by University of Isfahan

This is an open access article under the CC BY-NC 4.0 License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>).



<http://dx.doi.org/10.22108/tbj.2025.144493.1299>

conservation programs, as low genetic diversity is associated with increased inbreeding, accumulation of deleterious mutations, and reduced adaptive potential (McCusker & Bentzen, 2010). Microsatellite loci are standard genetic markers used for population genetic analysis (Coates et al., 2009). In freshwater ecosystems, fish biodiversity is a good indicator of ecosystem health (Zhou et al., 2024). Freshwater fish species constitute 40% of the world's total fish diversity and are one of the most endangered animal groups (Costa et al., 2021). In terms of diversity and endemism, Iran has a high richness of freshwater fish. According to the latest studies, a total of 300 fish species belonging to 38 families and 110 genera live in the inland waters of Iran (Sayyadzadeh & Esmaeili, 2024). The genus *Squalius* is one of the important genera in the family *Leuciscidae*, with five species of this genus identified in the inland waters of Iran (Sayyadzadeh & Esmaeili, 2024), one of which is the Namak chub (*Squalius namak* Khaefi et al., 2016). This endemic species was recently described and as a result, few studies have been conducted on it (Mouludi-Saleh & Keivany, 2018).

Materials & Methods

The study area was the Jajroud River, one of the important aquatic ecosystems in the northeast of Tehran (Naderi et al., 2020). Using a Samus 725 electrofishing device, 103 *S. namak* were collected. Fish were anesthetized using a clove oil solution. Then, caudal fin clips were obtained from the samples and transferred into the labeled tubes containing 96% ethanol. DNA was extracted from the fin tissue using the phenol-chloroform method (Sambrook & Russel, 2001). PCR reaction was used to amplify five pairs of primers for this work. Since no specific primer was designed for this species, the primers from related species were used. For better separation of PCR products, electrophoresis on 8% polyacrylamide gel was used. Data obtained from AlphaEaseC software were first transferred to Excel. Then genetic indices such as number of alleles per locus (N_a), number of effective alleles (N_e), observed heterozygosity (H_o), expected heterozygosity (H_e), degree of differentiation (F_{ST}) and gene flow (N_m) were calculated using GenAlEx 6.5 software (Peakall & Smouse, 2006). Also, to determine the genetic diversity within and between populations based on F_{ST} and R_{ST} , the analysis of molecular variance (AMOVA) in the GenAlEx software package was used. Finally, principal component analysis (PCA) was performed to examine the genetic relationship of the four populations and the Hardy-Weinberg equilibrium test for the four loci used with Bonferroni correction in CERVUS 3.0.7 software.

Research Findings

The total number of alleles at the loci level ranged from 2 to 37, with the Sluc5 locus showing the highest number of alleles (37) and the Sluc4 locus showing the lowest number (2). The average number of alleles per locus was 10.25 in the Khojir 1 population, 26.25 in the Khojir 2 population, 11.75 in the Jajrood 1 population, and 1.5 in the Jajrood 2 population. The average observed heterozygosity in the Khojir 1 population was 0.65, in the Khojir 2 population was 0.68, in the Jajrood 1 population was 0.51, and in the Jajrood 2 population was 0.75. Expected heterozygosity values (H_e) ranged from 0.50 to 0.96 (average across all four populations: 0.74). At the population level, the highest and lowest average values were 0.94 and 0.37, observed in the Khojir 2 and Jajrood 2 populations, respectively. At the locus level, the degree of differentiation (F_{ST}) and gene flow (N_m) were calculated, and the average gene flow among the populations was 1.30, with the highest value observed at the Sluc5 locus (1.93) and the lowest at the SarN2 locus (0.49). The average genetic differentiation was 0.19, with the highest differentiation observed at the SarN2 locus (0.33). AMOVA based on R_{ST} indicated that 93% of the observed genetic variation was related to differences among individuals within populations, and 7% was due to differences among the four studied populations. The chi-square test with Bonferroni correction, used to examine Hardy-Weinberg equilibrium, showed that all loci deviated from equilibrium.

Discussion of Results & Conclusion

In this study, the average heterozygosity observed in the four populations was 0.64, which is higher than the values observed in freshwater fish (0.46) (Hedayati et al., 2017). If heterozygosity values are higher than the average, the level of genetic diversity is considered high; if they are lower, genetic diversity in that population is reduced (Farasati et al., 2020). The average total number of alleles for the four populations was 12.43, which was higher than the value calculated for freshwater fish (7.5) (Hedayati et al., 2017). This value is strongly affected by the number of samples (Gorjipoor & Nazari, 2014). In the present study, the average gene flow rate was 1.30, and the reason for the high genetic diversity observed in this species can be attributed to the existence of gene flow between populations. When $N_m < 1$, gene flow is the dominant factor causing differentiation, and when $N_m > 1$, genetic drift is the main factor causing genetic differentiation (Karami Nasab et al., 2014). However, high gene flow values do not necessarily guarantee genetic diversity, because a low number of parents and populations, and consequently interbreeding among small populations, can reduce diversity (Farasati et al., 2020). However, the number obtained in this study does not represent all real populations. Another point is that the F_{ST} rate does not reach unity in most cases because the effect of polymorphism (caused by mutations) effectively reduces the F_{ST} rate (Silavi et al., 2024). Based on the available analyses, it appears that the *S. namak* species exhibits favorable genetic diversity in the studied areas. Given the ecological importance of this endemic species in rivers, preserving its genetic diversity is deemed necessary and important.

تنوع ژنتیکی ماهی سفید رودخانه‌ای نمک (*Squalius namak*) (شعاع بالگان: سفید ماهیان) در رودخانه جاجرود با استفاده از نشانگرهای ریزماهوره

حامد شعبانلو، دانش آموخته دکتری بوم‌شناسی آبزیان، گروه شیلات، دانشکده‌گان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

shabanloo.hamed@ut.ac.ir

هادی پورباقر، استاد گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشکده‌گان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

poorbagher@ut.ac.ir

سهیل ایگدری* ، دانشیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشکده‌گان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

soheil.eagderi@ut.ac.ir

چکیده

ماهی سفید رودخانه‌ای نمک (*Squalius namak*) گونه‌ای بومزاد آب‌های داخلی ایران است که تاکنون مطالعه‌ای روی ساختار و تنوع ژنتیکی جمعیت‌های این گونه صورت نگرفته است. تعداد ۱۰۳ ماهی سفید رودخانه‌ای نمک (*S. namak*) از چهار ایستگاه از رودخانه جاجرود نمونه‌برداری شد و ایستگاه‌های نمونه‌برداری به گونه‌ای تعیین شدند که تمام تنوع زیستی در دسترس را در بر بگیرند. به منظور ارزیابی تنوع ژنتیکی از پنج نشانگر ریزماهوره‌ای (Sluc4, Sluc5, Sluc7, Sluc13, and SarN2) استفاده شد. از نرم‌افزارهای ژنتیکی Gene Alex و Cervus برای آنالیز داده‌ها استفاده شد. تعداد آلل‌ها در محدوده ۲ تا ۳۷ (میانگین ۱۲/۴۳) و هتروزیگوسیتی مورد انتظار در دامنه ۰ تا ۰/۹۵ (میانگین ۰/۷۴) قرار داشت که این مقادیر از میانگین گزارش شده برای ماهیان آب شیرین بالاتر بودند. در بررسی تمایز ژنتیکی میزان شاخص Fst به طور میانگین ۰/۱۹ و متوسط جریان ژنی (Nm) ۱/۳۰ برآورد شد. آنالیز واریانس مولکولی نشان داد تنوع ژنتیکی بالایی درون جمعیت‌ها وجود دارد. تمامی لوکوس‌ها الگوی انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ را نشان دادند که این امر می‌تواند در نتیجه استفاده از پرایمرهای غیراختصاصی، وجود آلل صفر (خشی) و کم بودن احتمالی نمونه‌ها باشد. با توجه به یافته‌های مطالعه حاضر، تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های ماهی سفید رودخانه‌ای نمک در این چهار ایستگاه بالا بوده است و با توجه به میزان نسبتاً کم جریان ژنی و مقدار زیاد Fst، به نظر می‌رسد تمایز چشمگیری بین جمعیت‌های این گونه در مناطق بررسی شده وجود دارد. این یافته‌ها می‌توانند به حفظ تنوع زیستی و برنامه‌ریزی‌های مدیریتی و حفاظتی کمک کنند.

واژه‌های کلیدی: ژنتیک جمعیت، تمایز ژنتیکی، میکروستلایت، ماهی سفید نمک، مارکر مولکولی.

* مسئول مکاتبات

شعبانلو، حامد، پورباقر، هادی و ایگدری، سهیل. (۱۴۰۴). تنوع ژنتیکی ماهی سفید رودخانه‌ای نمک (*Squalius namak*) (شعاع بالگان: سفید ماهیان) در رودخانه جاجرود با استفاده از نشانگرهای ریزماهوره، تاکسونومی و بیوسیستماتیک، ۱۷ (۲)، ۱-۱۶.



مقدمه

بیشتر مطالعات جهانی، تنوع زیستی را در سطح گونه‌ها (تنوع گونه‌ای) بررسی می‌کنند و مطالعات کمی تنوع ژن‌ها در موجودات، یعنی تنوع ژنتیکی و تنوع اکوسیستم‌ها (تنوع اکولوژیکی) را بررسی می‌کنند (Ellegren & Galtier, 2016). درواقع، هزینه نمونه‌برداری و تعیین ژنوتیپ تعداد کافی از افراد در گونه‌ها، درک ما را از عوامل تعیین‌کننده تنوع ژنتیکی درون گونه‌ای، به‌ویژه در مقیاس بزرگ، محدود کرده است (Manel et al., 2020). تنوع زیستی را می‌توان به‌عنوان تعداد، تنوع و تغییرپذیری موجودات زنده در مقیاس زمانی و مکانی تعریف کرد که شامل آرایه‌های بالاتر از گونه (جنس‌ها، خانواده‌ها و غیره) تا گونه‌ها، جمعیت‌ها، زیرجمعیت‌ها، افراد و ژن‌ها می‌شود (Bickham et al., 2000). برهم‌خوردن تعادل ژنتیکی در هریک از این سطوح، ارتباط مستقیمی با کاهش تنوع و به‌تبع افزایش آسیب‌پذیری در برابر استرس‌های محیطی و انقراض گونه‌ها دارد. هم انقراض و هم فرگشت گونه‌های جدید، بخشی جدایی‌ناپذیر از تاریخ حیات روی زمین بوده‌اند؛ اما امروزه به‌دلیل تخریب یا تغییر سریع زیستگاه‌های طبیعی، افزایش فعالیت‌های کشاورزی و آلودگی‌های شیمیایی، میزان انقراض کنونی ۱۰ تا ۱۰۰ برابر پیشینه تاریخی تخمین زده می‌شود (Pimm et al., 1995).

تنوع ژنتیکی، بیان‌کننده تفاوت در تعداد و نوع آلل‌های موجود در لوکوس‌های کروموزومی است و طی چند سال اخیر علاقه‌مندان زیادی را به‌دلیل نقش کلیدی در ساختار ذخایر طبیعی به خود جلب کرده است (Shabani et al., 2012). درواقع تنوع ژنتیکی یک گونه، ظرفیت سازگاری و پتانسیل تکاملی آن را تعیین می‌کند. جمعیت‌های کوچک متعلق به گونه‌هایی با توزیع محدود، اغلب دارای تنوع ژنتیکی کم در بین جمعیت‌ها هستند؛ اما تمایز ژنتیکی بالایی در میان جمعیت‌ها به‌دلیل رانش ژنتیکی و محدودیت جریان ژنی دارند (Zhai et al., 2019). امروزه تنوع ژنتیکی در بسیاری از برنامه‌های حفاظتی درخور توجه قرار گرفته است؛ زیرا تنوع ژنتیکی کم با بالارفتن میزان همخونی، تجمع جهش‌های مضر و کاهش پتانسیل سازگاری همراه است (McCusker & Bentzen, 2010)؛ بنابراین، تنوع یا گوناگونی ژنتیکی یک ویژگی اساسی هر جمعیت برای شایستگی بقای افراد آن جمعیت و همچنین بقای کل جمعیت است که امکان سازگاری با شرایط متغیر محیطی و استرس را فراهم می‌کند. ازاین‌رو، تضعیف تنوع ژنتیکی یک گونه، قابلیت سازگاری آن را کاهش و خطر انقراض آن را افزایش می‌دهد (Mukhopadhyay & Bhattacharjee, 2014).

طی دهه‌های گذشته، ژنتیک حفاظت از یک حوزه عمده‌تاً مبتنی بر نظریات بیولوژی جمعیت به یک حوزه تجربی کامل ارتقا یافته است و پیشرفت‌های تکنولوژیکی در ژنتیک مولکولی منجر به استفاده گسترده از نشانگرهای مولکولی در زیست‌شناسی حفاظت شده است (Ouborget al., 2010). ریزماهواره‌ها به‌عنوان رایج‌ترین و چندکاره‌ترین نوع نشانگر برای کاربردهای زیست‌محیطی ظهور کرده‌اند (Selkoe & Toonen, 2006). لوکوس‌های ریزماهواره نشانگرهای ژنتیکی استاندارد برای تجزیه و تحلیل ژنتیکی جمعیت هستند (Coates et al., 2009). ریزماهواره‌ها که با نام‌های توالی‌های کوتاه تکراری (STR)، توالی‌های ساده تکراری (SSRs) یا پلی‌مورفیسم‌های طولی با توالی ساده (SSLP) شناخته می‌شوند، موتیف‌های تکرارشونده پشت سر هم از ۱ تا ۶ جفت‌باز هستند که در تمام ژنوم‌های پروکاریوتی و یوکاریوتی که تا به امروز تجزیه و تحلیل شده‌اند، به وفور حضور دارند. با توجه به تعداد نوکلئوتیدها در واحد تکرار، ریزماهواره‌ها به‌عنوان مونو، دی، تری، تترا، پنتا یا هگزانوکلئوتید طبقه‌بندی می‌شوند. بیشتر ریزماهواره‌های ژنومی ریزماهواره‌های هسته‌ای هستند؛ با این حال، ریزماهواره‌ها در میتوکندری‌ها و کلروپلاست‌ها نیز توزیع شده‌اند (Kalia et al., 2011).

اکوسیستم‌های آب شیرین از جمله در معرض خطرترین اکوسیستم‌های جهان هستند و اگرچه تنها ۰/۸ درصد از سطح زمین را تشکیل می‌دهند، میزان ۶ درصد از تنوع گونه‌ها هستند (Dudgeon et al., 2006). تهدیدهای کلیدی در اکوسیستم‌های آب شیرین شامل گونه‌های مهاجم، تخریب و تکه‌تکه شدن زیستگاه، برداشت بی‌رویه آب، آلودگی‌های صنعتی، کشاورزی، نوری، صوتی و فعالیت‌های شیلاتی است (Faulks et al., 2017). در اکوسیستم‌های آب شیرین، تنوع زیستی ماهی‌ها به‌عنوان شاخص خوبی برای سلامت اکوسیستم در نظر گرفته می‌شود (Zhou et al., 2024). ماهیان آب شیرین ۴۰ درصد از تنوع کل ماهی‌های جهان را تشکیل می‌دهند و یکی از گروه‌های جانوری در معرض خطر هستند (Costa et al., 2021). در دهه‌های اخیر، جمعیت ماهیان آب شیرین در نتیجه تهدیدات مختلف، از جمله نابودی و تخریب زیستگاه، معرفی گونه‌های مهاجم، صید بی‌رویه، آلودگی و تغییرات اقلیمی، دچار افت شدید و کاهش دامنه شده است (Dudgeon, 2010). از نظر تنوع و بومزایی، کشور ایران دارای غنای بالایی از ماهیان آب شیرین است (Sayyadzadeh & Esmaeili, 2024)؛ به‌طوری‌که ماهیان آب‌های شیرین ایران حتی بدون در نظر گرفتن ماهیان آب‌های لب شور دریای خزر بسیار متنوع و جالب توجه هستند (Bagherian nejad, 2014).

طبق آخرین مطالعات، در مجموع ۳۰۰ گونه ماهی متعلق به ۳۸ خانواده و ۱۱۰ جنس در آب‌های داخلی ایران زیست می‌کنند (Sayyadzadeh & Esmaeili, 2024). جنس ماهی سفید رودخانه‌ای *Squalius* یکی از جنس‌های مهم در خانواده سفیدماهیان (*Leuciscidae*) به شمار می‌رود. پنج گونه از این جنس در آب‌های داخلی ایران شناسایی شده‌اند (Sayyadzadeh & Esmaeili, 2024) که یکی از آنها سفید ماهی رودخانه‌ای نمک (*Squalius namak* Khaefi et al., 2016) است. این گونه بومزاد اخیراً شناسایی شده و در نتیجه مطالعات کمی روی آن صورت گرفته است (Mouludi et al., 2018). (Saleh & Keivany, 2018). گونه *S. namak* دارای قدرت باروری بالا و سرعت رشد سریع است (CABI, 2023). از نظر تنوع ژنتیکی ماهی سفید رودخانه‌ای حوضه نمک دارای چهار نوکلئوتید متمایز در جایگاه COI در mtDNA است (Mouludi Saleh et al., 2018).

نظر به اینکه ماهی سفید رودخانه‌ای نمک یک گونه بومزاد و یکی از ماهیان مهم اکولوژیکی آب‌های داخلی ایران است (Khaefi et al., 2016) و تاکنون هیچ گونه مطالعه‌ای روی ساختار و تنوع ژنتیکی جمعیت‌های این گونه صورت نگرفته است، این پژوهش می‌تواند راهگشای تعدادی از سؤالات درخصوص ویژگی‌های جمعیتی این ماهی باشد. همچنین این پژوهش به حفظ تنوع زیستی و نیز حفاظت پایدار از این گونه کمک خواهد کرد.

مواد و روش‌ها

منطقه مطالعه شده: منطقه مطالعه‌شده رودخانه جاجرود، یکی از رودخانه‌های با جریان دائمی و از مهم‌ترین بوم‌سازگان‌های آبی است که در شمال‌شرق تهران جریان دارد (Naderi et al., 2020). حوضه آبخیز رودخانه جاجرود به مساحت ۶۷۴ کیلومتر مربع و طول جغرافیایی ۵۱ درجه و ۵۱ دقیقه تا ۵۱ درجه و ۲۲ دقیقه و عرض جغرافیایی ۳۵ درجه و ۴۵ دقیقه تا ۳۶ درجه قرار دارد. طول رودخانه اصلی حوضه جاجرود ۴۰ کیلومتر است (Najimi et al., 2023). این رودخانه در حوضه آبریز نمک واقع است و ابتدا وارد سد لتیان و سپس سد ماملو در پایین دست می‌شود (Shabanloo et al., 2022).

نمونه برداری ماهیان: با استفاده از دستگاه الکتروشوکر SAMUS ۷۲۵ تعداد ۱۰۳ ماهی سفید رودخانه‌ای نمک برای نمونه برداری صید شدند (شکل ۱). طول هر ایستگاه نمونه برداری در حدود ۹۰ متر به صورت سه تکرار ۳۰ متری بود (Shabanloo et al., 2021). نمونه‌ها با استفاده از محلول میخک (۱۰ گرم در هر لیتر آب مقطر) بیهوش شدند. سپس حدود ۱ سانتی متر از باله دمی به عنوان نمونه جدا شد و به داخل تیوپ حاوی اتانول ۹۶ درصد منتقل شد؛ زیرا هدف کمترین آسیب به سلامت ماهیان بود و در این زمینه عنوان شده است که نمونه برداری از باله دمی نسبت به بقیه باله‌ها آسیب کمتری بر ماهیان دارد (Ferguson, 2020). در پایان، بعد از اطمینان از بازیابی قدرت شنای نمونه‌ها، ماهیان صید شده به زیستگاه خود بازگردانده شدند و تنها تعداد اندکی به آزمایشگاه منتقل شدند.



شکل ۱- تصویر از ماهی سفید رودخانه‌ای نمک (*Squalius namak*) (شعاع بالگان: سفید ماهیان) از رودخانه جاجرود.

Fig. 1. Namak chub (*Squalius namak*) (Actinopterygii: Leuciscinae) from the Jajrood River

نمونه برداری در فصل پاییز سال ۱۴۰۰ در طول مسیر رودخانه جاجرود از پایین دست به سمت بالادست رودخانه در ۴ ایستگاه انجام شد (جدول ۱). ایستگاه‌های نمونه برداری به نحوی انتخاب شدند که تمام تنوع زیستگاهی در دسترس را شامل شوند. نمونه گیری در زیستگاه‌های مختلف موجود در رودخانه، در سه مسیر مختلف در خلاف جهت جریان انجام شد. همچنین به منظور جلوگیری از فرار ماهیان، در تمام ایستگاه‌ها از تورهای پشتیبان در بالادست و پایین دست استفاده شد (Eagderi et al., 2024).

جدول ۱- مختصات جغرافیایی ایستگاه‌های نمونه برداری و تعداد نمونه‌های ماهی سفید رودخانه‌ای نمک *Squalius namak* از رودخانه جاجرود

Table 1. Geographic coordinates of sampling stations and number of samples of Namak chub (*Squalius namak*) along the Jajrood River

ایستگاه	۱ خجیر	۲ خجیر	۱ جاجرود	۲ جاجرود
طول و عرض جغرافیایی	N 35°38'53.3" E 51°45'14.4"	N 35°39'25.9" E 51°44'21.8"	N 35°44'0.79" E 51°41'38.0"	N 35°44'0.4" E 51°41'42.1"
تعداد ماهی	۱۵	۶۶	۱۸	۴

استخراج DNA: با روش فنل - کلروفرم - ایزوآمیل الکل (Sambrook & Russel, 2001) استخراج DNA از بافت باله‌های ماهیان انجام گرفت. DNAهای استخراجی پس از افزودن ۳۰ میکرولیتر آب مقطر استریل برای استفاده در مراحل بعدی، یک شب در یخچال نگه داشته و سپس به فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. بررسی کمیّت و کیفیت DNAهای استخراجی با استفاده از الکتروفورز ژل آگارز ۱ درصد و نانو دراپ انجام شد. غلظت DNA تمام نمونه‌ها ۱۰۰ تا ۱۸۰ نانوگرم بود و با توجه به نتایج الکتروفورز ژل آگارز، از کیفیت مناسبی برخوردار بودند. واکنش PCR برای تکثیر پنج جفت پرایمر برای این آزمایش استفاده شد. به دلیل اینکه پرایمر اختصاصی برای این گونه طراحی نشده بود، از پرایمرهای گونه‌های نزدیک استفاده شد (جدول ۲).

جدول ۲- مشخصات پرایمرهای (آغازگرهای) استفاده شده برای بررسی ساختار ژنتیکی ماهی سفید رودخانه‌ای نمک *Squalius namak*

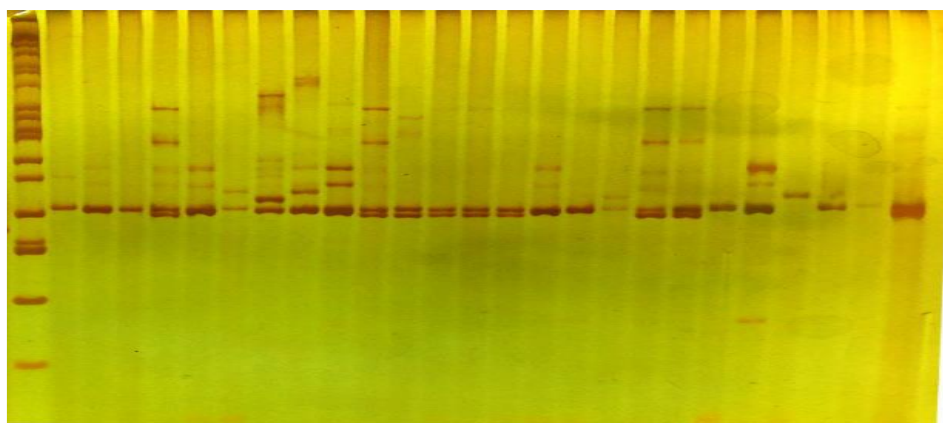
Table 2. The list of PCR primers and sequences used to investigate the genetic structure of the Namak chub (*Squalius namak*)

منابع Reference s	طول (Length)	اندازه آل (bp)	دامنه توالی تکرار (Domain)	توالی پرایمر (آغازگر) sequences (5'-3')	شماره number	لوکوس (نام) پرایمر Primer name
(Gigliarelli et al., 2012)	۲۰	۱۳۶-۱۹۸	(AG)26	AAGCATTACCCATGCAGAGC	۱	Sluc4-F
	۲۰			AGCTGCAACACAACCTCCAT		Sluc4-R
	۲۵	۲۴۲-۳۵۸	(TTC) 10	GAGAAAGAGAGACCAATCCATAGTT	۲	Sluc5-F
	۲۰		(TTA)5	CAAAGCAAGCATCAAACCTG		Sluc5-R
	۲۰	۲۰۰-۲۹۸	(CTTT)16	GGAAACTGACACATCGCTTG	۳	Sluc7-F
	۲۰			CGAAGGACTGGACTGGAAAG		Sluc7-R
(Mesquita et al., 2003)	۲۰	۲۲۸-۲۳۶	(CA)35	CACCCAGGCAATAAACAAGG	۴	Sluc13-F
	۲۰			GGGTAAAGGGTCGGTTTAGG		Sluc13-R
	۲۴	۱۱۰-۱۲۰	(AC)10	GAACAAACATCACTGAAGCACTCT	۵	SarN2-F
	۲۰			ACGTCAGACTTCAGGCATCC		SarN2-R

واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR): تکثیر لوکوس‌های ریزماهواره با استفاده از واکنش‌های زنجیره‌ای پلیمرز در حجم ۱۵ میکرولیتر شامل دو میکرولیتر DNA، یک میکرولیتر از هر پرایمر، ۷/۵ میکرولیتر مسترمیکس PCR (Ampliqon, Denmark) و آب مقطر تا رسیدن به حجم انجام شد. چرخه دمایی برای هر لوکوس ژنی عبارت بود از یک چرخه سه دقیقه‌ای در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد (واسرشت‌سازی اولیه) ۳۵ چرخه در ۹۴ درجه به مدت ۳۰ ثانیه (واسرشت‌سازی)، ۷۲ درجه به مدت یک دقیقه (بسط) و یک چرخه ۷۲ درجه‌ای به مدت سه دقیقه که به عنوان مرحله بسط نهایی صورت گرفت.

الکتروفورز عمودی: برای جداسازی بهتر محصولات PCR، از الکتروفورز روی ژل پلی‌اکریل آمید ۸ درصد استفاده شد. الکتروفورز عمودی برای هر ژل پلی‌اکریل آمید با جریان ۱۵۰ ولت به مدت چهار ساعت انجام شد. در نهایت، ژل از صفحات شیشه‌ای جدا شد و رنگ آمیزی توسط نیترا ت نقره انجام شد (شکل ۲) (Mesquita et al., ۲۰۰۳).

باند‌ها و محاسبه وزن مولکولی آنها استفاده شد. (2003, O'connell & Wright, 1997) و پس از عکس‌برداری از ژل‌ها، از نرم‌افزار AlphaEaseC برای امتیازدهی به



شکل ۲ - آرایش باندهای تشکیل‌شده محصول PCR نشانگرهای روی ژل پلی‌اکریل آمید ۸ درصد

Fig. 2. Bands in the 8% polyacrylamide gel produced via PCR using primer 1 for amplification of Sluc4 gene

آنالیز آماری: داده‌های حاصل از AlphaEaseC ابتدا به اکسل منتقل شدند و سپس شاخص‌های ژنتیکی نظیر تعداد آلل در هر لوکوس (Na)، تعداد آلل مؤثر (Ne)، هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده (H_o)، هتروزیگوسیتی مورد انتظار (H_e)، میزان تمایز (F_{st}) و جریان ژنی (Nm) با استفاده از نرم‌افزار GeneAlex 6.5 (Peakall & Smouse, 2006) محاسبه شدند. همچنین به منظور تعیین تنوع ژنتیکی درون و بین جمعیتی براساس مدل اللی بی‌نهایت (F_{st}) و مدل جهش پله‌ای (R_{ST}) از آنالیز واریانس مولکولی (AMOVA) بسته نرم‌افزاری GeneAlex استفاده شد. در نهایت، تجزیه براساس مؤلفه‌های اصلی (PCA) برای بررسی ارتباط ژنتیکی ۴ جمعیت و آزمون تعادل هاردی واینبرگ برای چهار لوکوس به کاررفته با تصحیح بونفرونی در نرم‌افزار Cervus 3.0.7 اجرا شد.

نتایج

در این مطالعه پنج جفت پرایمر استفاده شد که چهار جفت از آنها پلی‌مورف (چندشکل) بودند و برای ارزیابی تنوع ژنتیکی، نتایج قابل قبولی را نشان دادند. در مجموع ۳۷۲ باند قابل ارزش‌دهی در میان جمعیت‌های ۴ نقطه بررسی‌شده مشخص شد. تعداد کل آلل در سطح لوکوس در دامنه ۲ تا ۳۷ به دست آمد، لوکوس Sluc5 بیشترین تعداد آلل (۳۷) و لوکوس Sluc4 کمترین آلل (۲) را نشان دادند (جدول ۳). تعداد متوسط آلل به ازای هر لوکوس در جمعیت یک خجیر ۱۰/۲۵، جمعیت دو خجیر ۲۶/۲۵، جمعیت یک جاجرود ۱۱/۷۵ و جمعیت دو جاجرود ۱/۵ به دست آمد. میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده در جمعیت یک خجیر ۰/۶۵، جمعیت دو خجیر ۰/۶۸، جمعیت یک جاجرود ۰/۵۱ و جمعیت دو جاجرود ۰/۷۵ محاسبه شد. مقادیر هتروزیگوسیتی مورد انتظار (H_e)، در دامنه ۰/۵۰ تا ۰/۹۶ (میانگین کل چهار جمعیت ۰/۷۴) و در سطح مناطق نیز بیشترین و کمترین مقدار متوسط به ترتیب ۰/۹۴ و ۰/۳۷ متعلق به جمعیت‌های ۲ خجیر و ۲ جاجرود بود.

در سطح لوکوس‌ها میزان تمایز (F_{st}) و جریان ژنی (Nm) محاسبه شد (جدول ۴) و متوسط جریان ژنی (Nm) در بین مناطق ۱/۳۰ و بیشترین جریان ژنی در لوکوس Sluc5 (۱/۹۳) و کمترین مقدار آن در لوکوس SarN2 (۰/۴۹) مشاهده شد. میانگین تمایز ژنتیکی نیز ۰/۱۹ بود و بیشترین مقدار تمایز در لوکوس SarN2 (۰/۳۳) مشاهده شد.

جدول ۳ - تنوع ژنتیکی چهار لوکوس مطالعه‌شده در چهار جمعیت از ماهی سفید رودخانه‌ای نمک *Squalius namak* در رودخانه جاجرود.

Table 3. Genetic diversity of four studied loci in four populations of Namak chub (*Squalius namak*) in the Jajrood River based on microsatellite markers

جمعیت	لوکوس	Na	Ne	Ho	He
جمعیت ۱ خجیر	Sluc4	۷	۶/۱۲	۰/۲۸	۰/۸۳
	Sluc5	۱۶	۱۳/۳۳	۰/۸۰	۰/۹۲
	Sluc13	۱۲	۱۰/۶۶	۰/۷۵	۰/۹۰
	SarN2	۶	۳/۶۰	۰/۷۷	۰/۷۲
جمعیت ۲ خجیر	میانگین	۱۰/۲۵	۸/۴۳	۰/۶۵	۰/۸۵
	Sluc4	۱۵	۹/۵۰	۰/۴۲	۰/۸۹
	Sluc5	۳۷	۲۳/۵۴	۰/۹۰	۰/۹۵
	Sluc13	۲۸	۱۹/۷۸	۰/۶۰	۰/۹۴
جمعیت ۱ جاجرود	SarN2	۲۵	۱۷/۷۵	۰/۷۷	۰/۹۴
	میانگین	۲۶/۲۵	۱۷/۶۴	۰/۶۸	۰/۹۴
	Sluc4	۶	۲/۲۰	۰/۰۷	۰/۵۷
	Sluc5	۱۷	۱۱/۶۵	۰/۹۲	۰/۹۱
جمعیت ۲ جاجرود	Sluc13	۱۵	۱۰/۲۲	۰/۴۰	۰/۹۰
	SarN2	۹	۷/۱۱	۰/۶۲	۰/۸۵
	میانگین	۱۱/۷۵	۷/۸۰	۰/۵۱	۰/۸۰
	Sluc4	۲	۲	۱	۰/۵۰
جمعیت ۲ جاجرود	Sluc5	۲	۲	۱	۰/۵۰
	Sluc13	۲	۲	۱	۰/۵۰
	SarN2	۰	۰	۰	۰
	میانگین	۱/۵	۱/۵	۰/۷۵	۰/۳۷

Na: تعداد آلل، Ne: تعداد آلل مؤثر، Ho: هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده، He: هتروزیگوسیتی مورد انتظار

جدول ۴ - میزان جریان ژنی (Nm) و تمایز (F_{st}) در سطح چهار لوکوس (جایگاه ژنی) استفاده‌شده

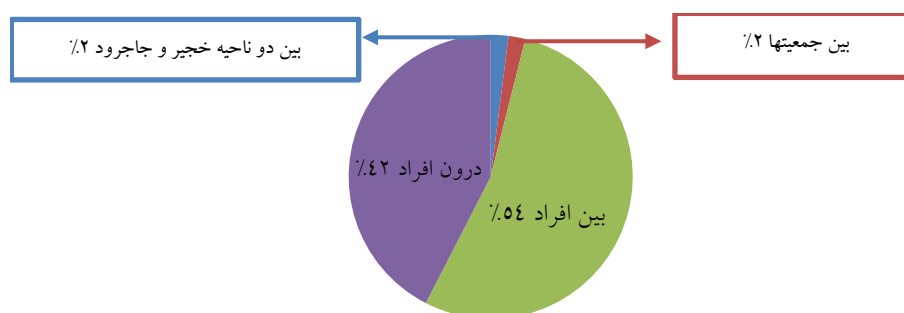
Table 4. Gene flow (Nm) and genetic differentiation (F_{st}) rates at the four studied loci

لوکوس (جایگاه ژنی)	Sluc4	Sluc5	Sluc13	SarN2	میانگین
Nm	۱/۱۰	۱/۹۳	۱/۶۸	۰/۴۹	۱/۳۰
F_{st}	۰/۱۸	۰/۱۱	۰/۱۲	۰/۳۳	۰/۱۹

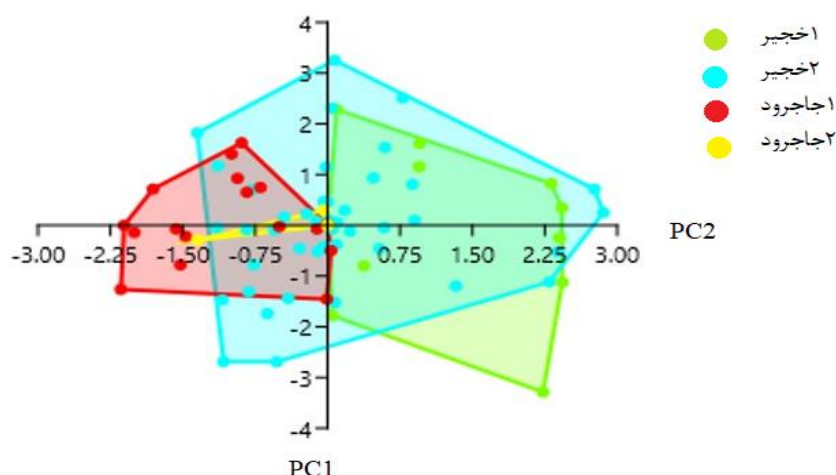
آنالیز واریانس مولکولی (AMOVA) در R_{st} بیان کننده این بود که ۹۳ درصد تمایز ژنتیکی مشاهده شده به تفاوت در میان افراد جمعیت های مختلف مربوط است و ۷ درصد نیز به دلیل تفاوت بین ۴ جمعیت مطالعه شده است (جدول ۵). همچنین نتایج F_{st} حاصل از AMOVA در سطح ۹۹ درصد نشان داد در گونه ماهی سفید رودخانه ای نمک (*S.namak*) ۴۲ درصد از تنوع مشاهده شده مربوط به افراد درون جمعیت های (Within Indiv) هر ایستگاه بوده و ۵۴ درصد از تنوع به افراد بین جمعیت های مختلف (Among Indiv) مربوط است و سهم تنوع در میان دو منطقه (خجیر و جاجرود) و چهار جمعیت (Among Pops) تنها ۲ درصد است (شکل ۳).

جدول ۵- آنالیز واریانس مولکولی (AMOVA) برحسب R_{st} Table 5. Analysis of molecular variance (AMOVA) in terms of R_{st}

درصد	P	df	
۷	۰/۰۱	۲	Among Pops
۹۳	۰/۰۱	۱۰۳	Within Indiv
۱۰۰	۰/۰۱	۲۰۵	Total

شکل ۳- چگونگی توزیع تنوع ژنتیکی مشاهده شده در ماهی سفید رودخانه ای نمک (*Squalius namak*) تحت معیار F_{st} Fig. 3. genetic diversity distribution among and within subgroups in the Namak chub (*Squalius namak*) based on estimated F_{st} values

نمودار دوی بعدی تحلیل مؤلفه های اصلی (PCA) برای بررسی روابط بین نمونه های ماهی سفید رودخانه ای نمک (*S.namak*)، نشان داد ماهیان ایستگاه های ۱ خجیر و ۲ خجیر و همچنین ماهیان ایستگاه های ۱ جاجرود و ۲ جاجرود همپوشانی بالایی دارند؛ اما ایستگاه های ۱ خجیر و ۱ جاجرود تفکیک پذیر هستند (شکل ۴).



شکل ۴- رابطه ژنتیکی میان چهار گروه مطالعه‌شده از ماهیان سفید رودخانه‌ای نمک با استفاده از تجزیه مؤلفه‌های اصلی (PCA)

Fig. 4. Genetic relationship between the four studied groups of Namak chub using principal component analysis (PCA)

آزمون مربع کای همراه با اعمال ضریب تصحیح بونفرونی برای بررسی تعادل هاردی - واینبرگ نشان داد تمام لوکوس‌ها انحراف از تعادل هاردی - واینبرگ داشتند (جدول ۶).

جدول ۶- بررسی تعادل هاردی - واینبرگ در ۴ لوکوس ریزماهواره برای جمعیت‌های نمونه‌برداری شده ماهی *Squalius namak* در رودخانه جاجرود.

Table 6. Hardy-Weinberg equilibrium analysis for microsatellite loci applied to studied groups of the Namak chub (*Squalius namak*) in the Jajrood River

نام لوکوس	مربع کا (خی ۲)	درجه آزادی	مقدار P
Sluc4	۱۹۷۹	۶۶۶	۰/۰۰
Sluc5	۳۹۷۷	۳۶۵۵	۰/۰۰
Sluc13	۳۵۷۲	۲۱۴۵	۰/۰۰
SarN2	۲۳۹۴	۱۷۱۱	۰/۰۰

بحث

هتروزیگوسیتی در مطالعه ساختار جمعیت گونه‌ها ارزش بسیار دارد؛ زیرا هر هتروزیگوت ناقل آلل‌های متفاوتی بوده که نشان‌دهنده گوناگونی است (Ghodsi et al., 2011). در این بررسی میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده در چهار جمعیت ۰/۶۴ بود که نسبت به مقادیر مشاهده‌شده در ماهیان آب شیرین (۰/۴۶) بالاتر است (Hedayati et al., 2017)؛ اما براساس نتایج تحلیل واریانس مولکولی بین جمعیت‌های دو ناحیه بررسی‌شده (خجیر و جاجرود) از این نظر تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ($P < 0.05$). در صورتی که مقادیر به‌دست آمده برای هتروزیگوسیتی بالاتر از حد متوسط باشد، میزان تنوع ژنتیکی نیز بالا است و اگر پایین‌تر باشد، میزان تنوع ژنتیکی در آن جمعیت کاهش پیدا کرده است (Farasati et al., 2020). ریزماهواره‌ها به علت بالابودن تعداد آلل‌هایشان، در بین تمام نشانگرها، بالاترین میزان هتروزیگوسیتی را نشان می‌دهند (Karami nasab et al., 2014). ممکن است در جمعیت‌های طبیعی، هتروزیگوسیتی از طریق همخونی، نمونه‌برداری غیرتصادفی، ساختار درون جمعیت، رانش ژنتیکی، آلل نول، فشار صید بی‌رویه یا ترکیبی از عوامل فوق‌رخ

دهد (Shabani & Kolangi Miandare, 2014). در این مطالعه، مقدار متوسط هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Ho) در سه جمعیت از مقدار متوسط هتروزیگوسیتی مورد انتظار (He) پایین تر بود که این امر نشان دهنده روند کاهشی تنوع ژنتیکی و وجود احتمالی درون آمیزی در افراد جمعیت های ماهیان *S.namak* است. به طور کلی دلایل زیست شناختی کاهش هتروزیگوسیتی به خوبی شناخته نشده است و آلل های تکثیر نشده یا نول، از مهم ترین عوامل ایجاد کننده کاهش در جایگاه های ژنی ریز ماهواره هستند (Shabani et al., 2012). به عنوان یک اصل، در صورتی که مقادیر هتروزیگوسیتی در محدوده ۳/ تا ۰/۸ باشد، نشانگرهای ریز ماهواره می توانند در نشان دادن تنوع ژنتیکی مفید واقع شوند (Farasati et al., 2020).

در بررسی های تنوع ژنتیکی، غنای آللی نسبت به هتروزیگوسیتی دارای ارزش بالاتری است. درواقع، بالا بودن غنای آللی، نشان دهنده بالا بودن اندازه مؤثر جمعیت بوده و برای ارزیابی تنوع ژنتیکی در جمعیت هایی مناسب تر است که برای برنامه های بهگزینی یا حفاظت انتخاب شده اند (Karami nasab et al., 2014). در مطالعه حاضر مجموع آلل های موجود برای تعداد چهار لوکوس در جمعیت یک خجیر ۴۱، در جمعیت دو خجیر ۱۰۵، در جمعیت یک جاجرود ۴۷ و در جمعیت دو جاجرود ۶ آلل بود. میانگین کل تعداد آلل ها برای چهار جمعیت برابر ۱۲/۴۳ بود که این مقدار بیشتر از مقدار محاسبه شده برای ماهیان آب شیرین (۷/۵) بود (Hedayati et al., 2017). این مقدار به شدت تأثیر گرفته از تعداد نمونه ها است؛ بر همین اساس، این امکان وجود دارد که در آزمایش های گوناگون با تعداد نمونه های متفاوت، تعداد آلل های واقعی مختلفی برای یک لوکوس معین به دست آید. پتانسیل بیولوژیکی هر جمعیت، در حقیقت به آلل های موجود در آن جمعیت بستگی دارد (Gorjipoor & Nazari, 2014). تغییراتی که تعداد آلل ها می توانند از نسلی به نسل دیگر داشته باشند، در جمعیت کوچک سریع تر از جمعیت بزرگ رخ می دهد؛ بنابراین، چنین احتمالی وجود دارد که در نسل های بعدی غنای آللی کاملاً متفاوت با وضعیت کنونی باشد (Hosseini et al., 2016).

یکی از ویژگی های مشخص در مطالعات ژنتیکی جمعیت، جریان ژنی در میان زیر جمعیت ها است. با سطوح بالای مهاجرت و جریان ژنی بین جمعیت، میزان شباهت جمعیت ها افزایش می یابد (Shabani et al., 2012). درواقع میزان جریان ژنی (Nm) به تعداد مولدین مهاجر از یک منطقه به منطقه دیگر گفته می شود؛ هرچه این میزان بین دو منطقه بیشتر باشد، به این معنی است که مهاجرت بین دو منطقه، بیشتر و اختلاف ژنتیکی، کمتر و میزان تنوع ژنتیکی در دو منطقه، بیشتر می شود (Silavi et al., 2024). در این مطالعه میزان متوسط جریان ژنی ۱/۳۰ بود و دلیل مشاهده تنوع ژنتیکی بالا در این گونه را می توان وجود جریان ژنی بین جمعیت ها دانست. هرگاه $Nm > 1$ باشد، جریان ژنی اصلی ترین عامل ایجاد تمایز ژنتیکی است و هرگاه $Nm < 1$ باشد، رانش ژنی عامل اصلی ایجاد تمایز ژنتیکی می شود (Karami nasab et al., 2014). مقدار متوسط جریان ژنی می تواند ناشی از مهاجرت طبیعی تغذیه ای و تولید مثل بین مناطق باشد (Shabani et al., 2012). در عین حال، بالا بودن مقادیر جریان ژنی نمی تواند تنوع ژنتیکی را تضمین کند؛ زیرا پایین بودن تعداد مولدین و جمعیت ها و در نتیجه آمیزش بین جمعیت های کوچک می تواند تنوع را کاهش دهد (Farasati et al., 2020).

فاکتور F_{st} توصیف کننده تمایز جمعیت ها در سطوح مختلف ساختار ژنتیکی است (Ghasemi & Pourjam, 2021). درواقع F_{st} تفاوت فراوانی آللی لوکوس های مطالعه شده در بین جمعیت های مختلف را ارزیابی می کند و مقادیر عددی این شاخص از صفر تا یک متغیر است. F_{st} برابر با صفر نشان دهنده عدم وجود تفاوت در بین جمعیت ها، آلل های یکسان

و فراوانی یکسان است (Hosseini et al., 2016). طبق یافته‌های مطالعه حاضر مقدار متوسط F_{st} برای چهار لوکوس برابر ۰/۱۹ بود که نشان‌دهنده تمایز نسبتاً بالا است. به‌طور کلی هرگاه میزان F_{st} کمتر از ۰/۰۵ باشد، نشان‌دهنده وجود تمایز کم، مقدار بین ۰/۰۵ تا ۰/۱۵ نشان‌دهنده تمایز متوسط، مقدار بین ۰/۱۵ تا ۰/۲۵ نشان‌دهنده تمایز بالا و مقدار بالای ۰/۲۵ نیز نشان‌دهنده تمایز ژنتیکی خیلی زیاد در بین جمعیت‌ها و جدایی کامل جمعیت‌هاست (Karami nasab et al., 2015)؛ با این حال، عدد به‌دست آمده در این مطالعه نمایانگر همه جمعیت حقیقی نیست. نکته دیگر اینکه میزان F_{st} در اکثر موارد به یک نمی‌رسد؛ زیرا اثر پلی مورفیسم (ناشی از جهش) به‌طور مؤثری میزان F_{st} را کاهش می‌دهد (Silavi et al., 2024). با تبادل افراد، تبادل ژن‌ها نیز پیش می‌آید و تبادل بیشتر منجر به کم‌شدن تمایز ژنتیکی بین جمعیت‌ها می‌شود. مهاجرت زیاد، از جدایی ژنتیکی جمعیت‌ها جلوگیری می‌کند و در ماهیان بین مقدار F_{st} و قابلیت پراکنش همبستگی منفی وجود دارد (Norouzi et al., 2013).

آنالیز واریانس مولکولی (AMOVA) به‌عنوان روشی مناسب در تعیین ساختار و تمایز ژنتیکی بین جمعیت‌ها مطرح است (Shabani et al., 2016). براساس نتایج این مطالعه، آنالیز واریانس مولکولی تحت معیار R_{st} و F_{st} بیان‌کننده این بود که بخش عمده تفاوت ژنتیکی مربوط به افراد جمعیت‌هاست ($R_{st}=93\%$, $F_{st}=96\%$) و تفاوت بین جمعیت‌ها و دو ناحیه اندک است. برای ریزماهورها میزان R_{st} می‌تواند بیشتر از F_{st} باشد. با توجه به اینکه R_{st} از دانسته‌های مربوط به اندازه آللی استفاده می‌کند و وابسته به جهش نیست، می‌تواند داده‌های بیولوژیک بهتری نسبت به معیار F_{st} فراهم کند (Karami nasab et al., 2015). اختلاف درون جمعیتی ممکن است به دلیل تفاوت ژنتیکی بین افراد باشد. در الگوی کلی ساختار ژنتیک جمعیت، اختلاف ژنتیکی درون جمعیتی در ماهیان، بیشتر از اختلاف ژنتیکی بین جمعیت‌هاست که این امر ممکن است ناشی از موانع اکولوژیکی باشد که باعث جلوگیری از پراکندگی می‌شوند (Ghasemi & Pourjam, 2021). بالاتر بودن تنوع درون جمعیتی نسبت به بین جمعیتی نشان می‌دهد در بین جمعیت‌های مختلف ساختار ژنتیکی بارزی وجود ندارد (Ghodsi et al., 2011). با تشدید توسعه شهرنشینی و نواحی صنعتی، بعضی از زیستگاه‌های تخم‌ریزی، مکان‌های نوزادگامی و تغذیه‌ای ماهیان از بین می‌روند و این امر می‌تواند جمعیت‌های متفاوتی را در بعضی از زیستگاه‌های جداشده درون یک ناحیه با فاصله جغرافیایی کوتاه به وجود آورد (Archangi et al., 2015).

نتایج PCA نشان دادند جمعیت‌های دو خجیر و دو جاجرود کمترین همپوشانی را با هم دارند و بنابراین براساس شاخصه‌های ژنتیکی گفته می‌شود ماهی سفید رودخانه‌ای نمک در رودخانه جاجرود دارای جمعیت‌های مجزا است و به نظر می‌رسد جریان ژنی بین جمعیت‌ها متأثر از فاصله جغرافیایی، تمایز جمعیت‌ها را افزایش دهد. انحراف از تعادل هاردی - واینبرگ که نشان‌دهنده بهگزینی، اختلاط جمعیت‌ها یا جفت‌گیری غیرتصادفی است، ممکن است در جمعیت‌های بسیاری از ماهیان وحشی رخ دهد؛ بنابراین، بررسی این موضوع جزء اولین مراحل در مطالعات مربوط به ساختار جمعیت‌ها است (Shabani et al., 2016). در بررسی‌های تعادل هاردی - واینبرگ در این مطالعه تمامی لوکوس‌ها از تعادل خارج بودند. به‌طور کلی در جمعیت‌های ماهیان، انحراف از تعادل هاردی - واینبرگ زیاد دیده می‌شود که ضریب تصحیح انحراف از تعادل هاردی - واینبرگ می‌تواند علل متعددی داشته باشد (Karami nasab et al., 2015). این انحراف از تعادل می‌تواند به کاهش اندازه جمعیت، وجود رابطه‌های خویشاوندی، وجود آلل‌های خشی و در نتیجه افزایش کاذب هموزیگوسیتی مرتبط

باشد (Farasati et al., 2020). انحراف از تعادل هاردی - واینبرگ را همچنین می‌توان به تعداد کم نمونه‌ها و خطای نمونه‌برداری (نمونه‌برداری از افراد خویشاوند) نسبت داد (Askari et al., 2014). در اینجا علاوه بر دلایل ذکر شده، انحراف از تعادل را می‌توان به غیراختصاصی بودن پرایمرها یا تعداد کم نمونه نیز نسبت داد. با توجه به نبود ثبت شجره ماهیان، باید مطالعات بیشتری را در آینده در دستور کار قرار داد (Gorjipoor and Nazari, 2014).

براساس آنالیزهای موجود، به نظر می‌رسد گونه *S. namak* دارای تنوع ژنتیکی مطلوبی در مناطق بررسی شده است و با توجه به اهمیت اکولوژیک این گونه بومزاد در رودخانه‌ها حفظ تنوع ژنتیکی آن لازم و ضروری به نظر می‌رسد. همچنین نتایج نشان دادند نشانگر ریزماهواره از توانایی بالایی برای نشان دادن میزان تنوع ژنتیکی در این ماهی برخوردار است. پیشنهاد می‌شود به منظور دستیابی به اطلاعات دقیق‌تر در ارتباط با این گونه با ارزش بومزاد ایران، در آینده مطالعاتی روی ژنوم میتوکندریایی منابع این گونه صورت گیرد.

تشکر و قدردانی

این مطالعه با حمایت مالی دانشگاه تهران انجام شده است.

References

- Archangi, B., Maturian, H., Salari, M. A., & Ronagh, M. T. (2015). Genetic Stock Assessment of *Tenualosa ilisha* of Persian Gulf Waters and Western Coast of Malaysia Using MtDNA Genome Sequencing. *Journal of Oceanography*, 6(23), 19-25. <http://joc.inio.ac.ir/article-1-846-fa.html> [In Persian]
- Askari, G., Shabani, A., & Rezaei, H. (2014). Study of genetic diversity of *Garra rufa* (Heckel, 1843) in Fars Province using microsatellite markers. *Modern Genetics Journal*, 8(4), 341-348. <https://mg.genetics.ir/article-1-1222-fa.html> [In Persian]
- Bagherian nejad, S. (2014). *Fonestical study of freshwater Fishes from Poldoukhtar county* [Unpublished master thesis]. Arak University. [In Persian]
- Bickham, J. W., Sandhu, S., Hebert, P. D., Chikhi, L., & Athwal, R. (2000). Effects of chemical contaminants on genetic diversity in natural populations: implications for biomonitoring and ecotoxicology. *Mutation research/Reviews in Mutation research*, 463(1), 33-51. [https://doi.org/10.1016/S1383-5742\(00\)00004-1](https://doi.org/10.1016/S1383-5742(00)00004-1)
- CABI (Centre for Agriculture and Biosciences International), (2023). *Squalius* (European chub). CABI press.
- Coates, B. S., Sumerford, D. V., Miller, N. J., Kim, K. S., Sappington, T. W., Siegfried, B. D., & Lewis, L. C. (2009). Comparative performance of single nucleotide polymorphism and microsatellite markers for population genetic analysis. *Journal of Heredity*, 100(5), 556-564. <https://doi.org/10.1093/jhered/esp028>
- Costa, M.J., Duarte, G., Segurado, P. and Branco, P. (2021). Major threats to European freshwater fish species. *Science of the Total Environment*, 797, 149105. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149105> .
- Dudgeon, D. (2010). Prospects for sustaining freshwater biodiversity in the 21st century: linking ecosystem structure and function. *Current Opinion in Environmental Sustainability*, 2(5-6), 422-430. <https://doi.org/10.1016/j.cosust.2010.09.001>
- Dudgeon, D., Arthington, A. H., Gessner, M. O., Kawabata, Z. I., Knowler, D. J., Lévêque, C., ... & Sullivan, C. A. (2006). Freshwater biodiversity: importance, threats, status and conservation challenges. *Biological reviews*, 81(2), 163-182. <https://doi.org/10.1017/S1464793105006950>
- Eagderi, S., Zamani-Faradonbeh, M., Mouludi-Saleh, A., & Poorbagher, H. (2024). Comparison of habitat suitability of Namak scraper, *Capoeta buhsei* Kessler, 1877 in autumn and winter seasons in the Jajroud River, Namak Lake basin. *Environmental Researches*, 14(28), 41-54. <https://doi.org/10.22034/eiap.2024.191702> [In Persian]
- Ellegren, H., & Galtier, N. (2016). Determinants of genetic diversity. *Nature Reviews Genetics*, 17(7), 422-433. <https://doi.org/10.1038/nrg.2016.58>
- Farasati, S., Khoshkholgh, M., & Yarmohammadi, M. (2020). Genetic diversity of cultured beluga sturgeon (*Huso huso*) brood stocks by using Microsatellite method. *Aquatic Physiology and Biotechnology*, 8(8), 55-72. <https://doi.org/10.22124/japb.2020.12704.1319> [In Persian]

- Faulks, L. K., Kerezszy, A., Unmack, P. J., Johnson, J. B., & Hughes, J. M. (2017). Going, going, gone? Loss of genetic diversity in two critically endangered Australian freshwater fishes, *Scaturiginichthys vermeilipinnis* and *Chlamydogobius squamigenus*, from Great Artesian Basin springs at Edgbaston, Queensland, Australia. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 27(1), 39-50. <https://doi.org/10.1002/aqc.2684>
- Ferguson, R. (2020). A comparative analysis of lethal and non-lethal fish sampling techniques [Master thesis, North Carolina State University]. <https://B2n.ir/nz1408>
- Ghasemi, S. A., & Pourjam, F. (2021). Population Genetic Structure and Genetic Diversity of Cobia (*Rachycentron canadum*) in the Persian Gulf and Makran Sea. *Taxonomy and Biosystematics*, 13(48), 33-46. <https://doi.org/10.22108/tbj.2021.128640.1160> [In Persian]
- Ghodsi, Z., Shabani, A., & Shabanpour, B. (2011). Genetic diversity of *Liza aurata* (Risso, 1810) in the coastal regions of Golstan province, using microsatellite marker. *Taxonomy and Biosystematics*, 3(6), 35-46. https://tbj.ui.ac.ir/article_17400.html [In Persian]
- Gigliarelli, L., Puletti, M., Giannetto, D., Franchi, E., Lanfaloni, L., Panara, F., Lorenzoni, M. and Lucentini, L. (2012) Isolation of microsatellite markers in *Squalius lucumonis* (Bianco, 1983) and cross-species amplification within the family Cyprinidae and other freshwater fish species. *Italian journal of zoology*, 79(2), 169-174. <https://doi.org/10.1080/11250003.2011.642900>
- Gorjipoor, E., & Nazari, S. (2014). Genetic variation in farmed population of Rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) based on microsatellite markers in Iran. *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 22(4), 93-106. <http://isfj.ir/article-1-1174-fa.html> [In Persian]
- Hedayati, S. A. A., Askari, G., Shabani, A., & Soltanifar, Z. (2017). Genetic comparison of *Garra rufa* (Heckel, 1843) in Shahpour (Kazeron) and Berim (Gachsaran) rivers by using microsatellite markers. *Cellular and Molecular Research (Iranian Journal of Biology)*, 30(1), 106-116. https://cell.ijbio.ir/article_639.html [In Persian]
- Hosseini, S. A., Shabani, A., & Rezaei, H.R. (2016). Genetic diversity of zagros zebrafish (*Aphanius vladkovi*) in Madar-o-dokhtar spring and Chehelgazi spring in the Chaharmahal-o-Bakhtiari Province by using microsatellite markers. *MGj*, 11(1), 91-99. <https://mg.genetics.ir/article-1-1407-fa.html> [In Persian]
- Kalia, R. K., Rai, M. K., Kalia, S., Singh, R., & Dhawan, A. K. (2011). Microsatellite markers: an overview of the recent progress in plants. *Euphytica*, 177(3), 309-334. <https://doi.org/10.1007/s10681-010-0286-9>
- Karami Nasab, M., Hosseinnia Z., Kolangi Miandare H, Shabany A. (2014). Genetic diversity of *Barbus grypus* in the Karkheh River in Khuzestan Province and cultured fish studied using a microsatellite marker. *Genetic Engineering and Biosafety Journal*, 3(2), 114-123. <https://gebsj.ir/article-1-171-fa.html> [In Persian]
- Karami Nasab, M., Shabani, A., Kolangi Miandare, H., & Sharbaty, S. (2015). Genetic diversity of *Barbus grypus* (Heckel, 1843) in Karoun and Dez rivers in Khuzestan province by using microsatellite marker. *JAIR*, 2(1), 63-74. <http://jair.gonbad.ac.ir/article-1-177-en.html> [In Persian]
- Khaefi, R., Esmaeili, H. R., Sayyadzadeh, G., Geiger, M. F., & Freyhof, J. (2016). *Squalius namak*, a new chub from Lake Namak basin in Iran (Teleostei: Cyprinidae). *Zootaxa*, 4169(1), 145-159. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4169.1.7>
- Manel, S., Guerin, P. E., Mouillot, D., Blanchet, S., Velez, L., Albouy, C., & Pellissier, L. (2020). Global determinants of freshwater and marine fish genetic diversity. *Nature communications*, 11(1), 692. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-14409-7>
- McCusker, M. R., & Bentzen, P. (2010). Positive relationships between genetic diversity and abundance in fishes. *Molecular Ecology*, 19(22), 4852-4862. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2010.04822.x>
- Mesquita, N., Cunha, C., Hänfling, B., Carvalho, G., Zé-Zé, L., Tenreiro, R. and Coelho, M. (2003) Isolation and characterization of polymorphic microsatellite loci in the endangered Portuguese freshwater fish *Squalius aradensis* (Cyprinidae). *Molecular Ecology Notes*, 3(4), 572-574. <https://doi.org/10.1046/j.1471-8286.2003.00515.x>
- Mouludi Saleh, A., Keivany, Y., and Jalali, S. A. H. (2018). Biometry of Chub (*Squalius namak* Khaefi et al., 2016) in rivers of Namak Basin. *Experimental animal Biology*, 7(1), 107-118. https://eab.journals.pnu.ac.ir/article_4927.html [In Persian]
- Mouludi-Saleh, A., & Keivany, Y. (2018). Morphometric analysis of *Squalius namak* Khaefi et al. 2016 in Khaznagh and Ghare-Chai rivers. *Sri Lanka Journal of Aquatic Science*, 23(2), 173-178. <http://doi.org/10.4038/slj.as.v23i2.7558>
- Mukhopadhyay, T., & Bhattacharjee, S. (2014). Study of the Genetic Diversity of the Ornamental Fish Badis badis (Hamilton-Buchanan, 1822) in the Terai Region of Sub-Himalayan West Bengal, India. *International Journal of Biodiversity*, 2014(1), 791364. <https://doi.org/10.1155/2014/791364>
- Naderi, M., Alioghli, S., Jahandideh, O., Rajabizadeh, Y., & Salarijazi, M. (2020). Determination of Optimal and Desirable Environmental Flow Release from Latian Dam reservoir with Consideration of Ecohydraulic,

- Hydrological and Hydromorphological Characteristics to Protect the Habitat of the Jajrood River. *Iranian Journal of Irrigation & Drainage*, 14(4), 1277-1300. https://idj.iaid.ir/article_114898.html [In Persian]
- Najimi, F., Aminnejad, B., & Nourani, V. (2023). Assessment of Climate Change's Impact on Flow Quantity of the Mountainous Watershed of the Jajrood River in Iran Using Hydroclimatic Models. *Sustainability*, 15(22), 15875. <https://doi.org/10.3390/su152215875>
- Norouzi, M., Nazemi, A., Pourkazemi, M., Samiei, M. H., Daneshvar, F., & Amirjanati, A. (2013). Genetic variability and differentiation of common Kilka fish (*Clupeonella cultriventris* Nordmann, 1840) in the southern coasts of Caspian Sea. *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 22(1), 139-148. <http://isfj.ir/article-1-879-fa.html> [In Persian]
- O'connell, M. and Wright, J.M. (1997) Microsatellite DNA in fishes. *Reviews in fish biology and fisheries*, 7(3), 331-363. <https://doi.org/10.1023/A:1018443912945>.
- Ouborg, N. J., Pertoldi, C., Loeschcke, V., Bijlsma, R. K., & Hedrick, P. W. (2010). Conservation genetics in transition to conservation genomics. *Trends in genetics*, 26(4), 177-187. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2010.01.001>
- Peakall, R. O. D., & Smouse, P. E. (2006). GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular ecology notes*, 6(1), 288-295. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2005.01155.x>
- Pimm, S. L., Russell, G. J., Gittleman, J. L., & Brooks, T. M. (1995). The future of biodiversity. *Science*, 269(5222), 347-350. <https://doi.org/10.1126/science.269.5222.347>
- Sambrook, J., & Russel DW. (2001). Rapid isolation of yeast DNA. In *Molecular cloning, a laboratory manual* (pp. 631-632). Cold Spring Harbor Laboratory.
- Sayyadzadeh, G., & Esmaeili, H. R. (2024). Freshwater lamprey and fishes of Iran: Reappraisal and updated checklist with a note on *Eagderi* et al. (2022). *Zootaxa*, 5402(1), 1-99. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.5402.1.1>
- Selkoe, K. A., & Toonen, R. J. (2006). Microsatellites for ecologists: a practical guide to using and evaluating microsatellite markers. *Ecology letters*, 9(5), 615-629. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2006.00889.x>
- Shabani, A., & Kolangi Miandare, H. (2014). Genetic structure comparison of *Paraschistura nielsenii* (Nalbant and Bianco, 1998 (of Shapour, Dalaki (Fars province) and Mand (Bushehr province) Rivers using microsatellite markers. *Journal of Aquatic Ecology*, 4(2), 71-79. <https://jae.hormozgan.ac.ir/article-1-31-fa.html> [In Persian]
- Shabani, A., Ghodsi, Z., & Naderi, L. (2012). Comparison of genetic diversity in two species of Golden mullet (Risso., 1810) (*Liza aurata*) and small mullet (*Liza saliens*) (Risso., 1810) in the southern Caspian Sea, using microsatellite markers. *Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics*, 1(4), 81-93. https://japu.gau.ac.ir/article_1345.html?lang=en [In Persian]
- Shabani, A., Kashiri, H., & Ghodsi, Z. (2016). Genetic diversity of Golden Mullet *Liza aurata* (Risso, 1810) in Gharehou and Gomishan regions and its comparison with dead samples using microsatellite markers. *Journal of Applied Ichthyological Research*, 4(3), 15-28. <http://jair.gonbad.ac.ir/article-1-260-en.html> [In Persian]
- Shabanloo, H., Poorbagher, H., & Eagderi, S. (2021). Effects of environmental parameters on morphological traits of *Squalius namak* in the Jajrood River. *Aquaculture Sciences*, 9(1), 172-181. https://www.aquaculturesciences.ir/article_137435.html [In Persian]
- Shabanloo, H., Poorbagher, H., & Eagderi, S. (2022). Effect of size on the relationship between habitat suitability index and niche overlap in Namak chub (*Squalius namak* Khaefi et al., 2016) in Jajrood River, Namak Lake basin. *Iranian Journal of Ecohydrology*, 9(4), 751-759. <https://doi.org/10.22059/ije.2022.343012.1640> [In Persian]
- Silavi, M., Rajabzadeh Ghatrami, E., & Nazemroaya, S. (2024). Determining the genetic diversity and inbreeding coefficient of cultured Anzeh (*Luciobarbus esocinus*) population using fluorescently labeled microsatellite markers (In press). *Journal of Marine Science and Technology*. <https://doi.org/10.22113/jmst.2024.447140.2587> [In Persian]
- Zhai, D. D., Li, W. J., Liu, H. Z., Cao, W. X., & Gao, X. (2019). Genetic diversity and temporal changes of an endemic cyprinid fish species, *Ancherythroculter nigrocauda*, from the upper reaches of Yangtze River. *Zoological research*, 40(5), 427. <https://dx.doi.org/10.24272/j.issn.2095-8137.2019.027>
- Zhou, J., Mogollón, J.M., van Bodegom, P.M., Beusen, A.H. and Scherer, L. (2024). Global regionalized characterization factors for phosphorus and nitrogen impacts on freshwater fish biodiversity. *Science of the Total Environment*, 912, 169108. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.169108>