بررسی تنوع و ساختار ژنتیکی ماهی غبغبو (*Alburnoides nicolausi*) در رودخانه‌های جوشان و حوضیان (استان لرستان)

حدیثه کشیری[1*]
علی رضامند[2]

۱. استادیار گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیطزیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.
۲. دانشجوی دکتری بوم‌شناسی آبزیان، دانشکده شیلات و محیطزیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.

***مسئول مکاتبات:**
hadiskashiri@gmail.com

کد مقاله: ۱۳۹۹۰۳۰۸۳۶
تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۷/۲۰
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۸/۱۵
این مقاله پژوهشی و برگرفته از طرح پژوهشی است.

چکیده

ماهی غبغبو (*Alburnoides nicolausi*) یکی از گونه‌های بنتوپلاژیک آب شیرین بااهمیت اکولوژیکی بالا می‌باشد. این ماهی بومی ایران بوده و در حوضه دجله یافت می‌شود. در پژوهش حاضر با توجه به عدم وجود اطلاعات در زمینه ژنتیک جمعیت *A. nicolausi*، به ارزیابی تنوع و ساختار ژنتیکی این‌گونه ارزشمند پرداخته شد. بدین منظور نمونه‌های ماهی از رودخانه‌های جوشان و حوضیان (استان لرستان) طی زمستان ۱۳۹۶ جمع‌آوری و با استفاده از جایگاه‌های STRs مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج به‌دست‌آمده نشان داد ماهی غبغبو از تنوع آللی (میانگین آللی: ۸/۱۶) و هتروزایگوسیتی مناسبی (میانگین هتروزایگوسیتی مشاهده‌شده: ۰/۹۵۸) برخوردار می‌باشد. در مقایسه بین جمعیتی، تفاوت معنی‌داری ازنظر تنوع آللی و هتروزایگوسیتی بین نمونه‌های موردنظر مشاهده نشد (P>۰/۰۵). در بررسی تعادل هاردی-وینبرگ، در دو مورد انحراف معنی‌دار از تعادل وجود داشت که پس از اعمال ضریب تصحیح بونفرونی در تعادل قرار گرفت. نتایج حاصل از آنالیز واریانس مولکولی نیز نشان داد که بخش عمده تنوع مشاهده‌شده مربوط به درون جمعیت‌ها می‌باشد. میزان FST و RST به‌عنوان پیراسنجه‌های تمایز ژنتیکی به ترتیب ۰/۰۶۲ و ۰/۰۸۶ به دست آمد. در این خصوص، میزان شاخص مهاجرت مؤثر بین نمونه‌های موردبررسی در سطح نسبتاً پایینی قرار داشت (۴/۳۰). همچنین از مجموع ۶۸ آلل مشاهده‌شده، تعداد قابل‌توجهی آلل اختصاصی در جمعیت‌ها وجود داشت (۱۷ و ۲۱ آلل به ترتیب برای نمونه‌های جوشان و حوضیان). روی‌هم‌رفته، با توجه به نتایج به‌دست‌آمده به نظر می‌رسد *A. nicolausi* از سطح مناسبی از تنوع ژنتیکی برخوردار بوده و احتمالاً جمعیت‌های موردبررسی نیز جدا از هم هستند. اطلاعات به‌دست‌آمده از پژوهش حاضر می‌تواند برای تدوین برنامه‌هایی باهدف مدیریت و حفاظت از ذخایر بومی آب شیرین سودمند باشد.

واژگان کلیدی: آب شیرین، تنوع آللی، جمعیت، حوضه دجله، هتروزایگوسیتی.

مقدمه

جنس *Alburnoides* بانام عمومی خیاطه متعلق به خانواده Cyprinidae بوده که در بخش‌هایی از آسیا و اروپا پراکنش یافته‌اند (Coad, ۲۰۱۳). این ماهیان اندازه کوچکی داشته و عمدتاً در اکوسیستم‌های آب شیرین کم‌عمق و غنی از اکسیژن با بستر سنگ و گراویل یافت می‌شوند. تاکنون ۳۴ گونه از جنس *Alburnoides* شناسایی‌شده که در این میان ۱۱ گونه مختلف در بخش‌های مختلف ایران همچون حوضه جنوبی دریای خزر، حوضه آبریز کویر نمک (رودخانه کرج، جاجرود، حبلِ رود و قره‌چای)، دجله، کر، دریاچه ارومیه و قنات‌های شاهرود گزارش‌شده است (Mousavi-Sabet *et al.*, ۲۰۱۵ a,b؛ Coad and Bogutskaya, ۲۰۰۹, ۲۰۱۲؛ Kottelat and Freyhof, ۲۰۰۷؛ صادقی و همکاران، ۱۳۹۱). *Alburnoides nicolausi* یکی از گونه‌های مهم این جنس بوده که بومی ایران می‌باشد. این ماهی بنتوپلاژیک بوده و در حوضه دجله یافت می‌شود (Bogutskaya and Coad, ۲۰۰۹). تاکنون اطلاعات چندانی در ارتباط با شرایط و ویژگی‌های اکولوژیکی و

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-05-24]

زیست‌شناختی این‌گونه ارزشمند موجود نمی‌باشد و مطالعات صورت گرفته محدود به بررسی ویژگی‌های ریختی (جولاده رودبار و همکاران، ۱۳۹۴) و رابطه طول و وزن این ماهی (Rezamand *et al.*, ۲۰۱۸; Mousavi-Sabet *et al.*, ۲۰۱۷) بوده است.

هر فرد به‌عنوان یک خزانه ژنی و جمعیت‌ها به‌عنوان گروه متنوعی از ژن‌ها بوده که ممکن است تحت تأثیر عواملی همچون آلودگی، تغییرات شرایط آب‌وهوایی و تخریب زیستگاه‌ها قرار گیرند. متأسفانه طی سال‌های اخیر، جمعیت بسیاری از ماهیان رودخانه‌ای به دلیل دخالت‌های روزافزون بشر در طبیعت تغییریافته (Rosenfeld, ۲۰۰۳)، به‌نحوی‌که تنوع ژنتیکی بسیاری از جمعیت‌ها در اثر فعالیت‌هایی همچون مسدود شدن مسیر مهاجرت ناشی از احداث سد و ورود آلاینده‌ها کاهش‌یافته است (Zhao *et al.*, ۲۰۰۵). بر اساس فهرست قرمز اتحادیه بین‌المللی حفاظت از طبیعت (IUCN)، برخی گونه‌های *Alburnoides* همچون *A. maculatus* (Freyhof, ۲۰۱۱)، *A. ohridanus* و *A. prespensis* (Freyhof and Kottelat, ۲۰۰۸) به‌عنوان گونه‌های آسیب‌پذیر معرفی‌شده‌اند. این در حالی است که تاکنون هیچ‌گونه اطلاعاتی در خصوص وضعیت جمعیت‌های *A. nicolausi* وجود ندارد؛ بنابراین با توجه به اهمیت اکولوژیکی *A. nicolausi* به‌عنوان یک‌گونه آب شیرین و همچنین اهمیت حفاظت از تنوع زیستی به‌عنوان شاخص مهمی از توسعه‌یافتگی کشورها، آگاهی از ساختار و تنوع ژنتیکی جمعیت‌ها امری مهم و ضروری به نظر می‌رسد.

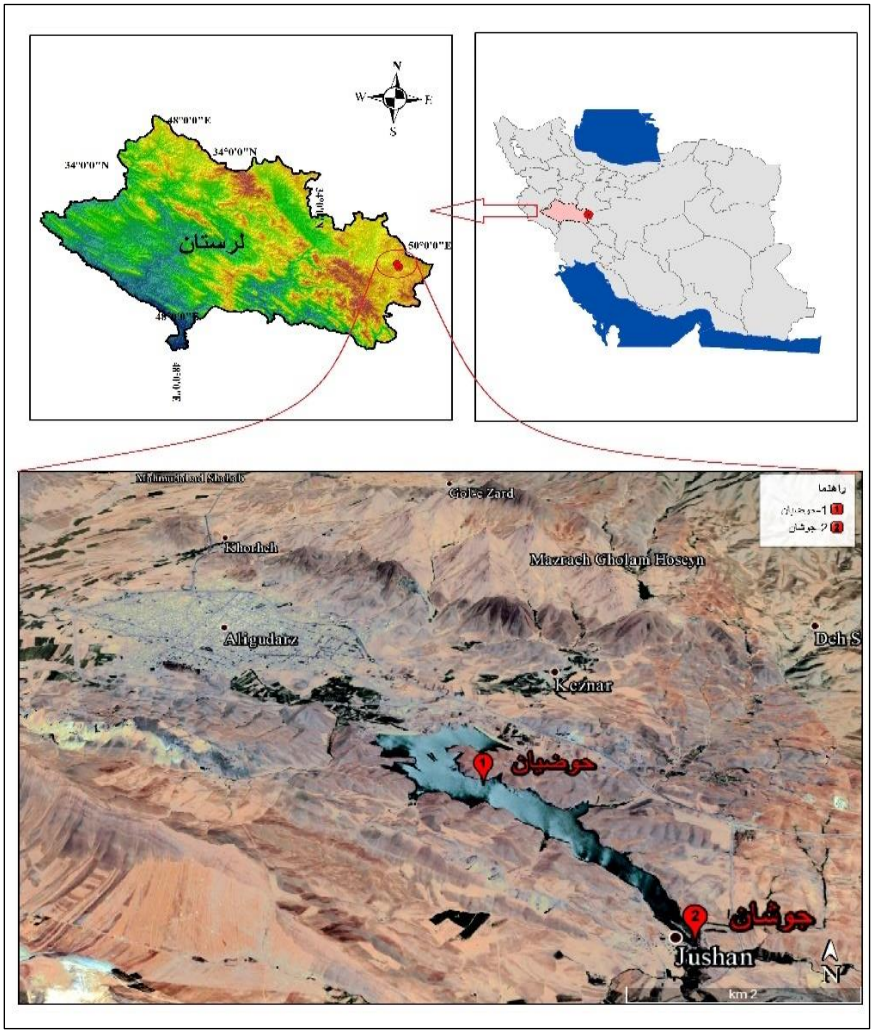
تنوع ژنتیکی از اهمیت بالایی برای پایداری جمعیت‌های طبیعی ماهیان برخوردار بوده (Xia *et al.*, ۲۰۱۴, ۲۰۱۵) و به‌عنوان مقیاسی برای پیش‌بینی سطح سازگاری گونه‌ها با شرایط آینده محیطی در نظر گرفته می‌شود، به‌نحوی‌که کاهش تنوع ژنتیکی در ذخایر وحشی گونه‌های آب شیرین می‌تواند روی سازگاری آن‌ها با شرایط محیطی در حال تغییر اثرگذار باشد (Mkare *et al.*, ۲۰۱۷). درواقع توانایی یک جمعیت برای سازگاری و تکامل می‌تواند مرتبط با هتروزایگوسیتی و تعداد کل آلل‌های موجود در یک جمعیت باشد (Frankham *et al.*, ۲۰۱٤)؛ بنابراین آگاهی از ساختار و تنوع ژنتیکی جمعیت‌ها برای مدیریت ذخایر وحشی ضروری می‌باشد (Geist *et al.*, ۲۰۰۹). در این خصوص، نشانگرهای مولکولی به‌عنوان ابزار کارآمدی جهت ارزیابی تنوع ژنتیکی درون و بین جمعیتی ماهیان مطرح می‌باشند (Kashiri *et al.*, ۲۰۱۹; Abdul-moneer, ۲۰۱٤). در بین نشانگرهای مختلف، ریز ماهواره‌ها یا تکرارهای کوتاه پشت‌هم (STRs) یکی از بهترین نشانگرهای مولکولی در مطالعات ژنتیک جمعیت می‌باشند (Tibihika *et al.*, ۲۰۱۹; Yang *et al.*, ۲۰۲۰). در این راستا، اگرچه مجموعه رو به افزایشی از سایر نشانگرهای مولکولی و تکنیک‌های توالی یابی وجود دارد، اما STRs به دلیل سادگی همچنان به‌عنوان یک گزینه مهم مطرح می‌باشند (Guichoux *et al.*, ۲۰۱۱; Curto *et al.*, ۲۰۱۳). همچنین علاوه بر سادگی، این نشانگرها دارای یکسری ویژگی‌های مهم همچون وراثت هم بارز، فراوانی در ژنوم، چندریختی بالا و قابلیت تکثیر می‌باشند که آن‌ها را برای مطالعات ژنتیک جمعیت ایده آل ساخته است (Sundaray *et al.*, ۲۰۱٦; Chiou *et al.*, ۲۰۲۰). در پژوهش حاضر نیز از شش جایگاه STRs برای ارزیابی ساختار و تنوع ژنتیکی *A. nicolausi* در رودخانه‌های استان لرستان استفاده شد. نتایج حاصل از پژوهش حاضر می‌تواند اطلاعات مفیدی در زمینه ساختار ژنتیکی جمعیتی *A. nicolausi* جهت مدیریت بهینه برای حفاظت از جمعیت‌های این‌گونه ارزشمند ارائه دهد.

مواد و روش‌ها

تعداد ۳۰ قطعه ماهی *Alburnoides nicolausi* (شکل ۱) از هر یک از رودخانه‌های جوشان (۳۳۲۰۳۸۱۰ N; ۴۹۴۴۵۸۲۴ E) و حوضیان (۳۳۲۱۵۳۶۲ N; ۴۹۴۳۵۱۲۰ E) در استان لرستان (شکل ۲) طی زمستان ۱۳۹۶ جمع‌آوری گردید. شناسایی نمونه‌ها بر اساس کلیدهای شناسایی معتبر برای گونه موردنظر (Bogutskaya and Coad, ۲۰۰۹) صورت گرفت. پس از جمع‌آوری و شناسایی نمونه‌ها، حدود ۱×۱ سانتی‌متر مربع از باله دمی هر نمونه به‌طور جداگانه در تیوب‌های حاوی الکل اتانول ۹۶ درصد قرار داده شد.

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-05-24]

شکل ۱: گونه *Alburnoides nicolausi* (استان لرستان، ۱۳۹۶).



شکل ۲: موقعیت جغرافیایی رودخانه‌های مورد نمونه‌برداری واقع در استان لرستان (۱۳۹۶).

DNA هر نمونه با استفاده از کیت استخراج DNA از بافت‌های جانوری (GeneAll Tissue and Tissue SV plus mini kits, South Korea) بر اساس شیوه‌نامه ارائه‌شده توسط شرکت سازنده استخراج گردید. درنهایت میزان ۱۰۰ مایکرولیتر آب مقطر استریل به هر یک از

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-05-24]

DNA های استخراج‌شده اضافه و تا زمان انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. کمیت و کیفیت هر یک از نمونه‌های استخراج‌شده نیز به ترتیب با استفاده از بایوفتومتر (Ependorf BioPhotometer، مدل RS ۲۳۲ C، آلمان) و الکتروفورز ژل آگارز ۱ درصد تعیین شد.

به‌منظور انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR)، از شش آغازگر شامل Albi۲۲، Albi۶۱، Albi۴۶۲A، Albi۴۶۲B (Urbankova *et al.*, ۲۰۱۳)، LIeA-۰۷۱ و LIec-۰۹۰ (Dubut *et al.*, ۲۰۰۹) استفاده شد که در مطالعات قبلی صورت گرفته توسط Urbankova و همکاران (۲۰۱۳)، حقیقی و همکاران (۱۳۹۳) و جهانگیری و همکاران (۱۳۹۳) روی گونه‌های مختلف *Alburnoides* چندشکلی نشان داده بودند. ویژگی آغازگرهای مورداستفاده در جدول ۱ آورده شده است. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در دستگاه ترموسایکلر (Bio-RAD MJ Mini Thermal Cycler, Hercules, CA, USA) در حجم نهایی ۱۲/۵ مایکرولیتر (۲ مایکرولیتر DNA، ۱ مایکرولیتر از هر یک از آغازگرهای پسین و پیشین، ۶/۲۵ مایکرولیتر مستر میکس (Red Load Taq Master, Jena Bioscience) و ۲/۲۵ مایکرولیتر آب مقطر (PCR grade water) انجام شد. برنامه PCR نیز بدین‌صورت بود: ۳ دقیقه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۳۵ چرخه شامل ۳۰ ثانیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۳۰ ثانیه در دمای ۵۰ تا ۵۸ درجه سانتی‌گراد (جدول ۱)، ۱ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد و یک چرخه نهایی در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ دقیقه.

جدول ۱: ویژگی آغازگرهای STRs مورداستفاده برای گونه *Alburnoides nicolausi* (استان لرستان، ۱۳۹۶).

آغازگر	کد دسترسی	اندازه آللی	توالی	تعداد آلل‌ها	دمای اتصال (درجه سانتی‌گراد)
Albi۲۲	JX۲۲۸۹۵۶	۲۰۴-۱۴۴	F: CAG GAG CCA CTG TAG TGC R: GGG ACT GGT GGA TTC ATA GAC	۱۵	۵۸
Albi۶۱	JX۲۲۸۹۵۷	۱۲۰-۹۶	F: AAC TCC CTC GCG TGC C R: ATA TTG ATC AGC GCT TTG TCG	۷	۵۲
Albi۴۶۲A	KC۱۶۱۲۰۵	۲۸۴-۲۴۴	F: CTC CAT TGT GCC CAC ATA CAC R: CCA GAG ATC AGC GCT CAG	۱۱	۵۸
Albi۴۶۲B	KC۱۶۱۲۰۶	۳۸۰-۳۴۰	F: CTC CAT TGT GCC CAC ATA CAC R: CCA GAG ATC AGC GCT CAG	۱۱	۵۸
LIeA-۰۷۱	FJ۶۰۱۷۱۵	۳۳۸-۳۳۶	F: GTCTTAGATTGTGTAGCGGG R: ACTTCAGTTACTAAGAGATTAGTGA	۹	۵۰
LIeC-۰۹۰	FJ۶۰۱۷۲۲	۲۸۰-۲۱۶	F: TCAGACACAACTAACCGACC R: GGCGCTGTCCAGAACTGA	۱۵	۵۵

محصولات PCR روی ژل پلی‌اکریل‌آمید ۸ درصد جداسازی شدند. همچنین از لدر ۱۰۰ bp (Fermentas, Waltham, MA) به‌عنوان نشانگر برای تعیین اندازه آللی استفاده شد. درنهایت ژل‌های به‌دست‌آمده به روش نیترات نقره (Benbouza *et al.*, ۲۰۰۶) رنگ‌آمیزی و تصاویر مربوط به آن‌ها با استفاده از دستگاه مستندساز ژل ثبت گردید.

اندازه آللی با استفاده از نرم‌افزار GelAnalyzer تعیین شد (Media Cybernetics, Silver Spring, MD, USA). امکان وجود آلل‌های نول، از دست رفتن آلل‌های بزرگ و خطای دسته‌بندی با استفاده از برنامه Microchecker (Van Oosterhout *et al.*, ۲۰۰۴) بررسی شد. پیراسنجه‌های تنوع ژنتیکی شامل تعداد آلل‌ها، آلل‌های مؤثر، آلل‌های اختصاصی، هتروزایگوسیتی مشاهده‌شده و مورد انتظار، مهاجرت مؤثر، فاصله و شباهت ژنتیکی (Nei, ۱۹۷۸) با استفاده از برنامه GenAlex ۶,۳ (Peakall and Smouse, ۲۰۰۶) تعیین شد. تفاوت در پیراسنجه‌های تنوع ژنتیکی نیز با استفاده از آزمون Wilcoxon-Mann-Whitney در SPSS ارزیابی شد (Zar, ۲۰۱۰). روش Linkdis در Genetix

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-05-24]

برای بررسی عدم تعادل پیوستگی استفاده شد (Belkhir *et al.*, ۱۹۹۹). بررسی جمعیت‌ها ازنظر انحراف از تعادل هاردی–وینبرگ با استفاده از نرم‌افزار GenePop ۳,٤ (Raymond and Rousset, ۱۹۹٥) انجام شد. ضریب تصحیح بونفرونی نیز برای تنظیم سطح معنی‌داری تست‌ها اعمال شد (Rice, ۱۹۸۹). شاخص درون آمیزی و تمایز ژنتیکی (FST; Weir and Cockerham, ۱۹۸٤) با استفاده از نرم‌افزار FSTAT ۲,۹,۳ (Goudet, ۲۰۰۱) و شاخص تمایز RST نیز با استفاده از RSTCALC (Goodman, ۱۹۹۷) تعیین شد. بررسی رابطه بین جمعیت‌ها با استفاده از دندروگرام UPGMA بر اساس فاصله ژنتیکی Nei نیز از طریق برنامه Populations ۱,۲,۳۰ (Langella, ۲۰۰۲) انجام شد. با استفاده از نرم‌افزار Arlequin ۳,۱ (Excoffier *et al.*, ۲۰۰۷) نیز آنالیز واریانس مولکولی جهت تعیین نحوه توزیع تنوع ژنتیکی درون و بین جمعیت‌ها انجام شد.

نتایج

در پژوهش حاضر، تنوع ژنتیکی *A. nicolausi* با استفاده از شش جایگاه STRs مورد ارزیابی قرار گرفت که تمامی جایگاه‌های مورداستفاده چندشکلی نشان دادند. درمجموع، ۶۸ آلل در سطح جایگاه‌های موردبررسی مشاهده شد. تنوع آللی ۱۱/۳ بود که جایگاه‌های Albi۲۲ و LIeC-۰۹۰ (۱۵ آلل) بیشترین و Albi٦۱ (۷ آلل) کمترین تعداد آلل را نشان دادند (جدول ۱). اندازه قطعه‌های تکثیرشده بین ۹۶ تا ۳۸۰ جفت باز بود (جدول ۱). با استناد به نتایج Microchecker، خطای دسته‌بندی و امکان از دست دادن آلل‌های بزرگ در سطح جایگاه‌های موردبررسی وجود نداشت. همچنین عدم تعادل پیوستگی معنی‌داری در هیچ‌یک از جایگاه‌ها پس از اعمال تصحیح بونفرونی مشاهده نشد (P>۰/۰۵). نتایج مربوط به تعداد آلل‌های واقعی مشاهده‌شده، آلل‌های مؤثر، هتروزایگوسیتی مشاهده‌شده و مورد انتظار در سطح جمعیت و جایگاه‌ها در جدول ۲ آورده شده است. هتروزایگوسیتی مشاهده‌شده و مورد انتظار در سطح نمونه‌های موردبررسی به ترتیب در محدوده ۰/۷۸۷ تا ۱/۰۰۰ (میانگین: ۰/۹۵۸) و ۰/۷۰۹ تا ۰/۸۹۸ (میانگین: ۰/۸۱۵) قرار داشت. تعداد آلل‌های مشاهده‌شده و مؤثر نیز به ترتیب در محدوده ۴ تا ۱۳ و ۳/۴۴ تا ۹/۸۰ بود که پایین‌ترین و بالاترین میزان برای هر دو پیراسنجه به ترتیب در سطح جایگاه‌های Albi٦۱ و LIeC-۰۹۰ برای نمونه‌های جوشان مشاهده شد. در مقایسه بین جمعیتی، میانگین هتروزایگوسیتی مشاهده‌شده و مورد انتظار برای نمونه‌های جوشان به ترتیب ۰/۹۷۶ و ۰/۸۱۳ و برای نمونه‌های حوضیان به ترتیب ۰/۹۴۰ و ۰/۸۱۷ به دست آمد که از این نظر تفاوت معنی‌داری بین نمونه‌های موردبررسی مشاهده نشد (Wilcoxon: ۰/۰۵ <P). همچنین باوجوداینکه تنوع آللی مشاهده‌شده در نمونه‌های جوشان (۷/۸۳) کمی پایین‌تر از نمونه‌های حوضیان (۸/۵۰) بود، این تفاوت ازنظر آماری معنی‌دار نبود (Wilcoxon: P>۰/۰۵). تعداد ۱۷ و ۲۱ آلل اختصاصی به ترتیب در نمونه‌های جوشان و حوضیان مشاهده شد. میانگین آلل‌های اختصاصی نیز به ترتیب ۲/۸۳ و ۳/۵۰ برای نمونه‌های جوشان و حوضیان به دست آمد. تعداد آلل‌های اختصاصی مشاهده‌شده در سطح جایگاه و جمعیت در جدول ۲ آورده شده است. اطلاعات مربوط به فراوانی آلل‌های اختصاصی نیز در جدول ۳ نشان داده‌شده است.

جدول ۲: پیراسنجه‌های تنوع ژنتیکی برای گونه *Alburnoides nicolausi* (استان لرستان، ۱۳۹٦).

		Albi۲۲	Albi٦۱	Albi٤٦۲A	Albi٤٦۲B	LIeA-۰۷۱	LIeC-۰۹۰	میانگین
جوشان	A_o	۹	۴	۸	۸	۵	۱۳	۷/۸۳
	A_e	۶۴/۶	۴۴/۳	۸۸/۶	۶/۱۲	۳/۶۶	۹/۸۰	۶/۰۹
	H_o	۰/۸۵۷	۱/۰۰۰	۱/۰۰۰	۱/۰۰۰	۱/۰۰۰	۱/۰۰۰	۰/۹۷۶
	H_e	۰/۸۴۹	۰/۷۰۹	۰/۸۵۵	۰/۸۳۷	۰/۷۲۷	۰/۸۹۸	۰/۸۱۳
	A_p	۴	۱	۳	۰	۲	۷	۲/۸۳
	pHWE	ns	ns	ns	ns	ns	ns	

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-05-24]

		Albi۲۲	Albi۶۱	Albi۴۶۲A	Albi۴۶۲B	LIeA-۰۷۱	LIeC-۰۹۰	میانگین
	F_{is}	−۰/۰۰۹	−۰/۴۱۰	−۰/۱۷۰	−۰/۱۹۵	−۰/۳۷۵	−۰/۱۱۴	−۰/۲۱۲
حوضیان	A_o	۱۱	۶	۸	۱۱	۷	۸	۸/۵۰
	A_e	۷/۱۳	۴/۵۱	۳/۸۸	۷/۵۴	۵/۲۳	۶/۵۳	۵/۸۰
	H_o	۰/۷۸۷	۱/۰۰۰	۰/۹۲۹	۱/۰۰۰	۰/۹۲۹	۱/۰۰۰	۰/۹۴۰
	H_e	۰/۸۶۰	۰/۷۷۸	۰/۷۴۲	۰/۸۶۷	۰/۸۰۹	۰/۸۴۷	۰/۸۱۷
	A_p	۶	۳	۳	۳	۴	۲	۳/۵۰
	pHWE	ns	ns	ns	ns	ns	ns	
	F_{is}	۰/۰۸۶	−۰/۲۸۵	−۰/۲۵۱	−۰/۱۵۳	−۰/۱۴۸	−۰/۱۸۱	−۰/۱۵۵

A_o: تعداد آلل‌های مشاهده‌شده، A_e: تعداد آلل‌های مؤثر، H_o: هتروزایگوسیتی مشاهده‌شده، H_e: هتروزایگوسیتی مورد انتظار، A_p: آلل‌های اختصاصی، pHWE: تست احتمال تعادل هاردی- وینبرگ پس از اعمال ضریب تصحیح بونفرونی (ns: عدم معنی‌داری، *P<۰/۰۰۸، **P<۰/۰۰۱، ***P<۰/۰۰۰۱).

انحراف از تعادل هاردی-وینبرگ در سطح جمعیت-جایگاه موردبررسی قرار گرفت. از ۱۲ تست مورد ارزیابی (۲ جمعیت×۶ جایگاه)، در دو مورد انحراف معنی‌دار از تعادل وجود داشت که پس از اعمال ضریب تصحیح بونفرونی، در تعادل قرار گرفت. میانگین شاخص FIS برای نمونه‌های جوشان و حوضیان به ترتیب ۰/۲۱۲- و ۰/۱۵۵- به دست آمد. تنها در نمونه‌های حوضیان در سطح جایگاه Albi۲۲ کسری هتروزایگوسیتی اندکی مشاهده شد (P>۰/۰۵). در این راستا، احتمال وجود آلل‌های نول در سطح جایگاه‌های موردنظر تأیید نشد. افزایش هتروزایگوسیتی مشاهده‌شده نیز در جایگاه Albi۶۱ برای نمونه‌های جوشان و حوضیان و LIeA-۰۷۱ برای نمونه‌های جوشان معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). نتایج مربوط به شاخص FIS در جدول ۲ نشان داده‌شده است.

در بررسی روابط ژنتیکی بین جمعیتی، میزان FST و RST به‌عنوان شاخص‌های تمایز ژنتیکی بین جمعیت‌ها به ترتیب ۰/۰۶۲ و ۰/۰۸۶ به دست آمد. با توجه به نتایج آنالیز واریانس مولکولی، ۱۸ درصد از تنوع ژنتیکی مشاهده‌شده در بین جمعیت‌ها وجود داشت درحالی‌که تنوع بین افراد درون جمعیت و تنوع درون افراد به ترتیب ۲/۶۳ و ۷۹/۳۷ درصد بود. در بررسی شباهت ژنتیکی بین جمعیتی، میزان این شاخص بین نمونه‌های موردبررسی، ۰/۴۲۰ بود. همچنین میزان شاخص مهاجرت مؤثر (N_m) بین نمونه‌های موردبررسی ۴/۳۰ به دست آمد. بر اساس دندروگرام مبتنی بر فاصله ژنتیکی نیز می‌توان بیان داشت که احتمالاً دو جمعیت موردبررسی جدا از هم هستند (شکل ۳).

جدول ۳: اطلاعات مربوط به فراوانی آلل‌های خاص برای گونه *Alburnoides nicolausi* (استان لرستان، ۱۳۹۶).

جوشان			حوضیان		
جایگاه	آلل	فراوانی	جایگاه	آلل	فراوانی
Albi۲۲	۱۱	۰/۲۵۰	Albi۲۲	۱	۰/۰۳۶
Albi۲۲	۱۲	۰/۱۴۳	Albi۲۲	۲	۰/۰۷۱
Albi۲۲	۱۴	۰/۱۰۷	Albi۲۲	۳	۰/۲۱۴
Albi۲۲	۱۵	۰/۰۳۶	Albi۲۲	۴	۰/۱۴۳
Albi۶۱	۱	۰/۲۵۰	Albi۲۲	۵	۰/۰۳۶
Albi۴۶۲a	۹	۰/۲۱۴	Albi۲۲	۶	۰/۲۱۴
Albi۴۶۲a	۱۰	۰/۱۰۷	Albi۶۱	۵	۰/۱۴۳
Albi۴۶۲a	۱۱	۰/۱۰۷	Albi۶۱	۶	۰/۰۷۱
L۱ea-۰۷۱	۱	۰/۳۲۱	Albi۶۱	۷	۰/۰۳۶
L۱ea-۰۷۱	۲	۰/۰۷۱	Albi۴۶۲a	۱	۰/۰۷۱
L۱eC-۰۹۰	۹	۰/۱۷۹	Albi۴۶۲a	۳	۰/۲۸۶

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-05-24]

جوشان			حوضیان		
جایگاه	آلل	فراوانی	جایگاه	آلل	فراوانی
L۱eC-۰۹۰	۱۰	۰/۱۰۷	Albi٤٦٢a	۴	۰/۱۰۷
L۱eC-۰۹۰	۱۱	۰/۰۳۶	Albi٤٦٢b	۱	۰/۱۰۷
L۱eC-۰۹۰	۱۲	۰/۰۳۶	Albi٤٦٢b	۴	۰/۱۴۳
L۱eC-۰۹۰	۱۳	۰/۰۷۱	Albi٤٦٢b	۱۱	۰/۰۳۶
L۱eC-۰۹۰	۱۴	۰/۰۳۶	L۱ea-۰۷۱	۵	۰/۲۸۶
L۱eC-۰۹۰	۱۷	۰/۰۳۶	L۱ea-۰۷۱	۷	۰/۱۴۳
			L۱ea-۰۷۱	۸	۰/۰۳۶
			L۱ea-۰۷۱	۹	۰/۰۷۱
			L۱eC-۰۹۰	۱	۰/۰۷۱
			L۱eC-۰۹۰	۲	۰/۱۴۳

شکل ۳: دندروگرام UPGMA بر اساس فاصله ژنتیکی برای گونه *Alburnoides nicolausi* (استان لرستان، ۱۳۹٦).

بحث و نتیجه‌گیری

ساختار جمعیتی گونه‌های مختلف ماهیان می‌تواند در اثر عوامل گوناگون فیزیکی و زیستی همچون ورود آلاینده‌ها، تخریب زیستگاه، جهش، درون آمیزی و ... طی زمان تغییر کند (Nasren *et al.*, ۲۰۰۹). در این خصوص، تنوع ژنتیکی به‌عنوان یکی از سطوح اصلی تنوع زیستی برای پایداری گونه‌ها در شرایط محیطی در حال تغییر مهم بوده (Vellend and Geber, ۲۰۰۵) و کاهش تنوع ژنتیکی می‌تواند منجر به کاهش قابلیت بازمانی و افزایش احتمال انقراض به‌ویژه برای گونه‌هایی شود که با شرایط پرتنش محیطی مواجه هستند (Martinez *et al.*, ۲۰۱۸)؛ بنابراین، آگاهی از تنوع ژنتیکی موجود به‌ویژه برای گونه‌هایی با جمعیت‌های کوچک و یا در معرض کاهش جمعیت از اهمیت بسیاری برخوردار است. در پژوهش حاضر، تمامی جایگاه‌های مورداستفاده برای تعیین سطح تنوع ژنتیکی *A. nicolausi* چندشکلی نشان دادند. در ارزیابی سطح تنوع ژنتیکی جمعیت‌ها، هتروزایگوسیتی و تعداد آلل‌های مشاهده‌شده به‌عنوان پیراسنجه‌های مهم مطرح بوده و مرتبط با ویژگی‌های مهمی همچون رقابت و بقا می‌باشند (Hakansson and Jensen, ۲۰۰۵). هر هتروزایگوت ناقل آلل‌های متفاوت بوده و نشان‌دهنده تنوع می‌باشد. بااین‌وجود، ازآنجایی‌که هتروزایگوسیتی نسبت به تنوع آللی کمتر تحت تأثیر اندازه جمعیت می‌باشد، این شاخص ممکن است در جمعیت‌هایی که در معرض اندازه پایین جمعیت مؤثر و یا تنگنای ژنتیکی قرار دارند، همچنان در سطح بالایی قرار داشته باشد (Petit *et al.*, ۱۹۹۸). Cardova-

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-05-24]

Alarcon و همکاران (۲۰۱۹) نیز بیان داشتند که هتروزایگوسیتی ممکن است در شرایط وجود برخی عوامل همچون تغییرات دموگرافیک، زیرساختارهای جمعیتی و جریان ژنی افزایش موقت و ناپایداری نشان دهد. در این خصوص، تنوع آللی شاخص مناسب‌تری در تعیین سطح تنوع جمعیت‌ها بوده و بالا بودن آن نشان‌دهنده بالا بودن اندازه جمعیت مؤثر است (Diz and Presa, ۲۰۰۹). در این پژوهش، میانگین هتروزایگوسیتی مشاهده‌شده و مورد انتظار به ترتیب ۰/۹۵۸ و ۰/۸۱۵ به دست آمد. در مقایسه بین جمعیتی نیز، تفاوت معنی‌داری ازنظر هتروزایگوسیتی مشاهده‌شده و مورد انتظار بین نمونه‌های جوشان و حوضیان مشاهده نشد (Wilcoxon: P>۰/۰۵). در بررسی تنوع آللی، میانگین آلل‌های مشاهده‌شده ۸/۱۶ بود. در این راستا، باوجود بالاتر بودن تعداد آلل‌های مشاهده‌شده در نمونه‌های جوشان نسبت به نمونه‌های حوضیان تفاوت موجود ازنظر آماری معنی‌دار نبود (Wilcoxon: P>۰/۰۵). در این راستا حقیقی و همکاران (۱۳۹۳) در بررسی ساختار ژنتیکی *Alburnoides echiwaldii* در گرگان رود و چالوس، میانگین آللی را ۴/۸۶ گزارش کردند که پایین‌تر از میزان مشاهده‌شده، در این پژوهش بود. این در حالی است که جهانگیری و همکاران (۱۳۹۳) در مقایسه ژنتیکی دو جمعیت *A. echiwaldii* در استان گلستان، تنوع آللی قابل‌توجهی (۱۶/۵) را گزارش نمودند. همچنین میزان هتروزایگوسیتی مشاهده‌شده (۰/۹۶) در پژوهش حقیقی و همکاران (۱۳۹۳) تقریباً مشابه با میزان مشاهده‌شده در پژوهش حاضر بود درحالی‌که این میزان توسط جهانگیری و همکاران (۱۳۹۳) کمی پایین‌تر (۰/۸۳۳) گزارش شد. در بررسی دیگری روی گونه *Alburnoides bipunctatus* در آب‌های جمهوری چک، تنوع آللی و هتروزایگوسیتی پایینی گزارش شد (به ترتیب ۵/۴۱ و ۰/۴۳) (Mendel *et al.*, ۲۰۰۸). متأسفانه، تاکنون گزارشی در خصوص وضعیت ساختار و تنوع ژنتیکی جمعیت‌های *A. nicolausi* منتشرنشده تا به توان با داده‌های به‌دست‌آمده از این تحقیق مقایسه نمود. بااین‌حال، با توجه به مطالعه مروری انجام‌شده توسط DeWoody و Avise (۲۰۰۰) روی ۱۳ گونه آب شیرین (میانگین آللی و هتروزایگوسیتی به ترتیب: ۷/۵ و ۰/۴۶) به نظر می‌رسد نمونه‌های *A. nicolausi* در مناطق موردبررسی، از سطح تنوع ژنتیکی قابل قبولی برخوردار باشند.

جمعیت‌ها ممکن است تحت تأثیر پدیده‌هایی مانند جفت‌گیری غیر تصادفی و به‌گزینی، اثر وهلاند و ترکیب دو جمعیت مختلف، درون آمیزی و رانش ژنتیکی (Li *et al.*, ۲۰۰۷) و یا برخی عوامل دیگر همچون تعداد کم نمونه، اشتباه در تفسیر آلل‌ها مانند وجود آلل‌های نول (Borrell *et al.*, ۲۰۰۸) انحراف از تعادل هاردی–وینبرگ نشان دهند. در پژوهش حاضر در ارزیابی جمعیت‌ها ازنظر تعادل هاردی–وینبرگ، ۲ مورد از تست‌های موردنظر انحراف از تعادل نشان دادند که پس از اعمال ضریب تصحیح بونفرونی انحراف معنی‌داری مشاهده نشد. همچنین در یک مورد برای نمونه‌های حوضیان در سطح جایگاه Albi۲۲ کسری هتروزایگوسیتی اندکی مشاهده شد (FIS:۰/۰۸۶). در این خصوص، احتمال وجود آلل نول تأیید نشد. در سطح جایگاه Albi۶۱ برای نمونه‌های جوشان و حوضیان و همچنین LIeA-۰۷۱ برای نمونه‌های جوشان نیز افزایش هتروزایگوسیتی معنی‌داری مشاهده شد. اشتباه هنگام خوانش آلل‌ها، خطای پی‌سی آر و انحراف تصادفی از عوامل بروز افزایش هتروزایگوسیتی هستند (Li *et al.*, ۲۰۰۹). با توجه به نتایج، احتمال خطا هنگام خوانش رد شد. همچنین شرایط پی‌سی‌آر نیز برای جایگاه‌های موردبررسی بهینه بود. در این راستا، انحراف تصادفی را شاید به توان به‌عنوان یک عامل بالقوه در نظر گرفت. در مطالعات پیشین صورت گرفته توسط کشیری و همکاران (۱۳۹۴)، رضایی و همکاران (۱۳۹۱) و Kashiri و همکاران (۲۰۱۹) روی سایر گونه‌های آب شیرین نیز انحراف تصادفی به‌عنوان یک عامل بالقوه در بروز افزایش هتروزایگوسیتی بیان‌شده است. به‌هرحال، کسری و افزایش هتروزایگوسیتی در جمعیت‌های طبیعی پدیده‌های پیچیده‌ای بوده که نمی‌توان به‌تنهایی با یک عامل آن را توجیه نمود و احتمالاً ترکیبی از عوامل مختلف می‌توانند در این زمینه تأثیرگذار باشند.

بر اساس مطالعات انجام‌شده، در جمعیت‌های کوچک احتمال وقوع رانش ژنتیکی وجود داشته که این امر باعث افزایش تمایز ژنتیکی می‌گردد (Zhai *et al.*, ۲۰۱۹). در پژوهش حاضر، تمایز ژنتیکی بین نمونه‌های *A. nicolausi* با استفاده از پیراسنجه‌های FST و RST ارزیابی شد. با توجه به معیار Wright (۱۹۷۸) میزان FST بین ۰ تا ۰/۰۵، ۰/۰۵ تا ۰/۱۵ و ۰/۱۵ تا ۰/۲۵ به ترتیب نمایانگر تمایز جمعیتی پایین، تمایز و تفکیک جمعیتی متوسط و درنهایت اختلاف ژنتیکی بالا می‌باشد. جمعیت‌های کوچک به دلیل این‌که بیشتر مستعد رانش ژنتیکی هستند در پژوهش

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-05-24]

حاضر، میزان FST، ۰/۰۶۲ به دست آمد که معنی‌دار بود و با توجه به معیار Wright (۱۹۷۸) نشان‌دهنده سطح متوسطی از تمایز ژنتیکی بین جمعیتی است. دراین‌ارتباط Wachirachaikarn و همکاران (۲۰۰۹) بیان داشتند که شاخص RST به دلیل استفاده از اطلاعات اندازه آللی پیراسنجه کارآمدتری در برآورد تمایز جمعیت می‌باشد. در این پژوهش میزان RST بین نمونه‌های موردبررسی ۰/۰۸۶ به دست آمد که کمی بالاتر از میزان مشاهده‌شده برای FST بود. بر اساس Hardy و همکاران (۲۰۰۳) و Slatkin (۱۹۹۵) میزان RST تحت مدل جهش SMM، بالاتر از FST می‌باشد. به‌هرحال، در شرایط نرخ بالای مهاجرت و کوتاه بودن زمان جدایی جمعیت‌ها که تمایز وابسته به مدل جهش نباشد، میزان دو شاخص FST و RST می‌تواند نزدیک به هم نیز باشد (Rousset, ۱۹۹٦). آنالیز واریانس مولکولی در پژوهش حاضر نشان داد که بخش عمده تنوع مشاهده‌شده مربوط به درون افراد جمعیت می‌باشد. در این خصوص Diz و Presa (۲۰۰۹) بیان داشتند که درصورتی‌که تنوع بین جمعیت‌ها پایین‌تر از تنوع درون جمعیتی باشد، در بین جمعیت‌ها ساختار ژنتیکی بارزی وجود ندارد. بااین‌حال، ۱۸ درصد از کل تنوع بین جمعیت‌ها مشاهده شد که میزان قابل‌توجهی می‌باشد. همچنین در بین ۶۸ آلل مشاهده‌شده در نمونه‌های موردبررسی، تعداد قابل‌توجهی آلل اختصاصی در جمعیت‌ها مشاهده شد به‌نحوی‌که به ترتیب ۱۷ و ۲۱ آلل اختصاصی در نمونه‌های جوشان و حوضیان وجود داشت. شاخص N_m نیز که بیانگر سطح تبادلات ژنتیکی بین جمعیت‌ها می‌باشد (Zhang *et al.*, ۲۰۲۰)، ۴/۳۰ به دست آمد. این امر حاکی از آن است که مهاجرت بالایی بین نمونه‌های موردبررسی وجود ندارد. در این راستا، هر چه نرخ مهاجرت بین جمعیت‌ها بالاتر، تنوع بین جمعیتی و میزان شاخص‌های تمایز جمعیتی نیز پایین‌تر می‌باشد (Pinera *et al.*, ۲۰۰۷). درواقع، هر چه تبادل بین افراد بیشتر، تبادل ژن‌ها نیز بیشتر و درنتیجه تمایز بین جمعیت‌ها پایین‌تر می‌شود. نتایج حاصل از بررسی فاصله و شباهت ژنتیکی نیز مؤید وجود فاصله ژنتیکی قابل‌توجه بین نمونه‌های جوشان و حوضیان می‌باشد. روی‌هم‌رفته با توجه به نتایج حاصل از روابط ژنتیکی و همچنین دندروگرام مبتنی بر فاصله ژنتیکی به نظر می‌رسد نمونه‌های موردبررسی احتمالاً متعلق به دو جمعیت جدا باشند. در این راستا حقیقی و همکاران (۱۳۹۳) نیز دو جمعیت متمایز از *Alburnoides echiwaldii* را در رودخانه‌های کرگان رود و چالوس شناسایی کردند. این در حالی است که Mendel و همکاران (۲۰۰۸) شباهت ژنتیکی بالایی را برای گونه *Alburnoides bipunctatus* در آب‌های جمهوری چک گزارش نمودند. به‌هرحال جهت اظهارنظر قطعی در خصوص امکان متمایز بودن جمعیت‌های *A. nicolausi*، انجام مطالعات تکمیلی، شناسایی رفتارها و ویژگی‌های بیولوژیکی این‌گونه ضروری به نظر می‌رسد.

با توجه به نتایج به‌دست‌آمده از پژوهش حاضر به نظر می‌رسد *A. nicolausi* به‌عنوان یک‌گونه آب شیرین از تنوع آللی و ژنی مطلوبی برخوردار بوده و احتمالاً جمعیت‌های جدایی را در رودخانه‌های موردبررسی تشکیل می‌دهند. بااین‌حال، با توجه به مسائلی همچون خشک‌سالی، ورود آلودگی‌های مختلف و تغییر شرایط زیستگاهی، ممکن است تنوع مشاهده‌شده و بقای این‌گونه ارزشمند بومی در درازمدت تحت تأثیر قرار گیرد. با در نظر گرفتن این موضوع و همچنین با توجه به عدم وجود اطلاعات کافی در ارتباط با گونه *A. nicolausi*، انجام مطالعات و بررسی‌های تکمیلی در خصوص نیازها و ویژگی‌های زیستی و اکولوژیکی و همچنین شرایط محیطی حاکم بر رودخانه‌ها امری ضروری به نظر می‌رسد، چراکه این اطلاعات برای حفاظت از ذخایر ماهیان آب شیرین کشور از اهمیت بالایی برخوردار است.

منابع

جولاده، آ.، رحمانی، ح.، وطن‌دوست، ص.، نجفی، م. و رحیمی، ق.، ۱۳۹٤. بازنگری آرایه‌شناسی چهار گونه توصیف‌شده از جنس *Alburnoides* با استفاده از ویژگی‌های ریخت‌شناسی. مجله بوم‌شناسی آبزیان، ۵ (۲): صفحات ۱۷-۱.

جهانگیری، ل.، شعبانی، ع. و رضایی، ح. ر.، ۱۳۹۳. مقایسه ژنتیکی دو جمعیت ماهی خیاطه (*Alburnoides eichwaldi*) در رودخانه‌های تیل‌آباد و شیرآباد گلستان با استفاده از نشانگرهای ریز ماهواره. فصلنامه علمی-پژوهشی محیط‌زیست جانوری، ۶ (۱): صفحات ۴۳-۳۵.

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-05-24]

حقیقی، ا.، ستاری، م.، درافشان، س. و کیوانی، ی.، ۱۳۹۳. ساختار ژنتیکی ماهی خیاطه (*Alburnoides echiwaldii*) در رودخانه‌های گرگان رود و چالوس. تاکسونومی و بیوسیستماتیک، ۶ (۱۹): صفحات ۱۴-۱.

رضایی، م.، شعبانی، ع.، شعبانپور، ب. و کشیری، ح.، ۱۳۹۱. تنوع ریز ماهواره‌ای و ساختار ژنتیک جمعیت ماهی سفید *Rutilus Frisii kutum* در سواحل استان مازندران. مجله زیست‌شناسی ایران، ۲۵ (۴): صفحات ۵۵۸-۵۴۸.

صادقی، ح.، شجیعی، ه. و شرقی، ش.، ۱۳۹۱. شناسایی فون و بررسی پراکنش ماهیان قنات‌های شهرستان شاهرود. زیست‌شناسی جانوری، ۵ (۲): صفحات ۷۷-۶۳.

کشیری، ح.، شعبانی، ع. و قدسی، ز.، ۱۳۹٤. بررسی ساختار جمعیتی Oxynoemacheilus *angorae* (Steindachner, ۱۸۹۷) در رودخانه‌های قشلاق (استان کردستان)، سفید برگ و گاماسیاب (استان کرمانشاه) با استفاده از نشانگرهای ریز ماهواره. مجله بوم‌شناسی آبزیان، ۵ (۳): صفحات ۱۱-۱.

Abdul-moneer, P. M., ۲۰۱٤. Application of microsatellite markers in conservation genetics and fisheries management: Recent advances in population structure analysis and conservation Strategies. Genetics Research International, PP.۱-۱۱.

Belkhir, K., Borsa, P., Goudet, J. and Bonhomme, F., ۱۹۹۹. Genetix: software for Windows for population genetics, Version ٤,۰۲. Montpellier (France): Laboratory Genome and Pollution, CNRS-UPR, University of Montpellier II (in French).

Benbouza, H., Jacquemin, J. M., Baudoin, J. P. and Mergeai, G., ۲۰۰٦. Optimization of a reliable, fast, cheap and sensitive silver staining method to detect SSR markers in polyacrylamide gels. Biotechnology, Agronomy, Society and Environment, ۱۰: ۷۷-۸۱.

Bogutskaya, N. G. and Coad, B. W., ۲۰۰۹. A review of vertebral and fin-ray counts in the genus *Alburnoides* (Teleostei: Cyprinidae) with a description of six new species. Zoosystematica Rossica, ۱۸: ۱۲٦–۱۷۳.

Borrell, Y. J., Bernardo, D., Blanco, G., Vazquez, E. and Sanchez, J. A., ۲۰۰۸. Spatial and temporal variation of genetic diversity and estimation of effective population sizes in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) populations from Asturias (Northern Spain) using microsatellites. Conservation Genetics, ۹: ۸۰۷-۸۱۹.

Cardova-Alarcon, V., Araneda, C., Jilberto, F., Magnolfi, P., Toledo, M. I. and Lam, N., ۲۰۱۹. Genetic diversity and population structure of *Genypterus chilensis*, a commercial benthic marine species of the South Pacific. Frontiers in Marine Science, ٦: ۱-۱۲.

Chiou, C. Y., Shih, H. C., Tsai, C. C., Jin, X. L., Ko, Y. Z., Mantiquilla, J. A. and Weng, I. S. and Chiang, Y. C., ۲۰۲۰. The genetic relationships of Indian jujube (Ziziphus mauritiana Lam.) cultivars using SSR markers. Heliyon, ٦: e۰۵۰۷۸.

Coad, B. W. and Bogutskaya, N. G., ۲۰۰۹. *Alburnoides qanati*, a new species of cyprinid fish from southern Iran (Actinopterygii, Cyprinidae). ZooKeys, ۱۳: ٦۷-۷۷.

Coad, B. W. and Bogutskaya, N. G., ۲۰۱۲. A new species of riffle minnow, *Alburnoides holciki*, from the Hari River basin in Afghanistan and Iran (Actinopterygii: Cyprinidae). Zootaxa, ۳٤۵۳: ٤۳-۵۵.

Coad, B. W., ۲۰۱۳. Freshwater fishes of Iran. Available at: http://www.briancoad.com.

Curto, M. A., Tembrock, L. R., Puppo, P., Nogueira, M., Simmons, M. P. and Meimberg, H., ۲۰۱۳. Evaluation of microsatellites of *Catha edulis* (qat; Celastraceae) identified using pyrosequencing. Biochemical Systematics and Ecology, ٤۹: ۱-۹.

DeWoody, J. A. and Avise, J. C., ۲۰۰۰. Microsatellite variation in marine, freshwater and anadromous fishes compares with other animals. Journal of Fish Biology, ۵٦: ٤٦۱-٤۷۲.

Diz, A. P. and Presa, P., ۲۰۰۹. The genetic diversity pattern of *Mytilus galloprovincialis* in Galician Rias (NW Iberian estuaries). Aquaculture, ۲۸۷: ۲۷۸-۲۸۵.

Dubut, V., Martin, J. F., Gilles, A., Van Houdt, J., Chappaz, R. and Costedoat, C., ۲۰۰۹. Isolation and characterization of polymorphic microsatellite loci for the dace complex: *Leuciscus leuciscus* (Teleostei: Cyprinidae). Molecular Ecology Recourses, ۹: ۱۱۷۹-۱۱۸۳.

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-05-24]

Excoffier, L., Laval, G. and Schneider, S., ۲۰۰۷. Arlequin (version ۳٫۰): an integrated software package for population genetics data analysis. Evolutionary Bioinformatics Online, ۱: ٤۷-۵۰.

Freyhof, J., ۲۰۱۱. *Alburnoides maculatus*. The IUCN Red List of Threatened Species, e.T۱۸٤٤٥۳A۸۲۷۸۸۳۸.

Frankham, R., Bradshaw, C. J. A. and Brook, B. W., ۲۰۱٤. Genetics in conservation management: Revised recommendations for the ۵۰/۵۰۰ rules, Red List criteria and population viability analyses. Biological Conservation, ۱۷۰: ۵٦-٦۳.

Freyhof, J. and Kottelat, M., ۲۰۰۸. *Alburnoides ohridanus*. The IUCN Red List of Threatened Species, e.T۱۳۵٦۱۷A٤۱٦۳۰۹۹.

Geist, J., Kolahsa, M., Gum, B. and Kuehn, R., ۲۰۰۹. The importance of genetic cluster recognition for the conservation of migratory fish species: the example of the endangered European huchen *Hucho hucho* (L.). Journal of Fish Biology, ۷۵: ۱۰٦۳-۱۰۷۸.

Goodman, S. J., ۱۹۹۷. RST Calc: a collection of computer programs for calculating estimates of genetic differentiation from microsatellite data and determining their significance. Molecular Ecoogy, ٦: ۸۸۱-۸۸۵.

Goudet, J., ۲۰۰۱. FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version ۲٫۹٫۳). Available from http://www۲.unil.ch/popgen/softwares/fstat.htm.

Guichoux, E., Lagache, L., Wagner, S., Chaumeil, P., Leger, P., Lepais, O., Lepoittevin, C., Malausa, T., Revardel, E. and Salin, F., ۲۰۱۱. Current trends in microsatellite genotyping. Molecular Ecology Resources, ۱۱(٤): ۵۹۱- ٦۱۱.

Hakansson, J. and Jensen, P., ۲۰۰۵. Behavioural and morphological variation between captive populations of red jungle fowl (*Gallus gallus*) possible implications for conservation. Biological Conservation, ۱۲۲: ٤۳۱-٤۳۹.

Hardy, O. J., Charbonnel, N., Freville, H. and Heuertz, M., ۲۰۰۳. Microsatellite allele sizes: a simple test to assess their significance on genetic differentiation. Genetics, ۱٦۳(٤): ۱٤٦۷-۱٤۸۲.

Kashiri, H., Shabani, A., Gorgin, S., Rezaei, M. and Jabale, A. R., ۲۰۱۹. Temporal stability of genetic diversity revealed by microsatellite markers in restocked populations of Caspian roach, *Rutilus caspicus* (Yakovlev, ۱۸۷۰). Animal Biology, ٦۹: ۳۲۷-۳٤۷.

Kottelat, M. and Freyhof, J., ۲۰۰۷. Handbook of European freshwater fishes. Publications Kottelat, Cornol and Freyhof, Berlin. ٦٤٦ pp.

Langella, O., ۲۰۰۲. Population genetic software, POPULATIONS ۱٫۲٫۳۰. Retrieved from http://bioinformatics.org/~tryphon/populations.

Li, Q., Xu, K. and Yu, R., ۲۰۰۷. Genetic variation in Chinese's hatchery populations of the Japanese scallop (*Patinopecten yessoensis*) inferred from microsatellite data. Aquaculture, ۲۹٦: ۲۱۱-۲۱۹.

Li, J., Wang, G. and Bai, Z., ۲۰۰۹. Genetic variability in four wild and two farmed stocks of the Chinese freshwater pearl mussel (*Hyriopsis cumingii*) estimated by microsatellite DNA markers. Aquaculture, ۲۸۷: ۲۸٦-۲۹۱.

Martinez, A. S., Willoughby, J. R. and Christie, M. R., ۲۰۱۸. Genetic diversity in fishes is influenced by habitat type and life-history variation. Ecology and Evolution, ۸(۲۳): ۱۲۰۲۲-۱۲۰۳۱.

Mendel, J., Lusk, S., Halacka, K., Luskova, V., Vetesnik, L., Caleta M. and Ruchin, A. ۲۰۰۸. Genetic diversity of spirlin, *Alburnoides bipunctatus*, with notes on its occurrence. Biodiverzita Ichtyofauny CR, ۷: ۲۵-۳۷.

Mkare, T. K., Vuuren, J. and Teske, P. R., ۲۰۱۷. Conservation implications of significant population differentiation in an endangered estuarine seahorse Biodiversity and Conservation, ۲٦: ۱۲۷۵-۱۲۹۳.

Mousavi-Sabet, H., Anvarifar, H. and Azizi, F., ۲۰۱۵a. *Alburnoides tabarestanensis*, a new species of riffle minnow from the southern Caspian Sea basin in Iran (Actinopterygii: Cyprinidae). International Journal of Ichthyology, ۲۱: ۱٤٤-۱۵۲.

Mousavi-Sabet, H., Vatandoust, S. and Doadrio, I., ۲۰۱۵b. Review of the genus *Alburnoides Jeitteles*, ۱۸٦۱ (Actinopterygii, Cyprinidae) from Iran with description of three new species from the Caspian Sea and Kavir basins. Caspian Journal of Environmental Sciences, ۱۳(٤): ۲۹۳-۳۳۱.

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-05-24]

Mousavi-Sabet, H., Heidari, A. and Vatandoust, S., ۲۰۱۷. Length-weight and length-length relationships for ۱۱ species of the genus *Alburnoides* Jeitteles, ۱۸٦۱ (Cyprinidae) from Iran. Journal of Applied Ichthyology, ۳۳(۳): ٦۰۹-٦۱۲.

Nasren, S. H., Islam, M. N., Quader Khan, M. G., Islam, M. D. S. and Alam, M. D. S., ۲۰۰۹. Genetic variation and differentiation in the Stinging catfish *Heteropneustes fossilis* (Bloch), population assessed by heterologous microsatellite DNA markers. Indian Journal of Biotechnology, ۸: ۸۵-۹۰.

Nei, M., ۱۹۷۸. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from small number of individuals. Genetics, ۸۹: ۵۸۳-۵۹۰.

Peakall, R. and Smouse, P. E., ۲۰۰٦. GenAlEx ٦: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research – an update. Molecular Ecology Notes, ٦: ۲۸۸-۲۹۵.

Petit, R. J., Mousadik, A. E. and Pons, A. O., ۱۹۹۸. Identifying populations for conservation on the basis of genetic mrkers. Conservation Biology, ۱۲: ۸٤٤-۸۵۵.

Pinera, J. A., Blanco, G., Vázquez, E. and Sanchez, J. A., ۲۰۰۷. Genetic diversity of blackspot seabream (*Pagellus bogaraveo*) populations off Spanish Coasts: a preliminary study. Marine Biology, ۱۵۱: ۲۱۵۳-۲۱۵۸.

Raymond, M. and Rousset, F., ۱۹۹۵. GENEPOP (version ۱,۲): population genetic software for exact tests and ecumenicism. Journal of Heredity, ۸٦: ۲٤۸-۲٤۹.

Rezamand, A., Pouladi, M., Qadermarzi, A., Ghorbani, R. and Mohammadi Movahed, M., ۲۰۱۸. Length–weight relationships of two endemic species of Alburnoides nicolausi (Bogutskaya & Coad, ۲۰۰۹) and *Alburnus zagrosensis* (Coad, ۲۰۰۹) in Houzian River, Lorestan Province, Iran. Journal of Applied Ichthyology, ۳٤(۳): ۷۵۸-۷۵۹.

Rice, W. R., ۱۹۸۹. Analysing tables of statistical tests. Evolution, ٤۳: ۲۲۳-۲۲۵.

Rosenfeld, J., ۲۰۰۳. Assessing the habitat requirement of stream fishes: an overview and evaluation of different approaches. Transaction of the American Fisheries Society, ۱۳۲: ۹۵۳-۹٦۸.

Rousset, F., ۱۹۹٦. Equilibrium values of measures of population subdivision for stepwise mutation processes. Genetics, ۱٤۲: ۱۳۵۷-۱۳٦۲.

Slatkin, M., ۱۹۹۵. A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. Genetics, ۱۳۹: ٤۵۷-٤٦۲.

Sundaray, J. K., Rasal, K. D., Chakrapani, V., Swain, P., Kumar, D., Ninawe, A. S., Nandi, S. and Jayasankar, P., ۲۰۱٦. Simple sequence repeats (SSRs) markers in fish genomic research and their acceleration via nextgeneration sequencing and computational approaches. Aquaculture International, ۲٤(٤): ۱۰۸۹-۱۱۰۲.

Tibihika, P. D., Curto, M., Dornstauder-Schrammel, E., Winter, S., Alemayehu, E., Waidbacher, H. and Meimberg, H., ۲۰۱۹. Application of microsatellite genotyping by sequencing (SSR-GBS) to measure genetic diversity of the East African *Oreochromis niloticus*. Conservation Genetics, ۲۰: ۳۵۷-۳۷۲.

Urbankova, S., Mendel, J. and Vyskocilova, M., ۲۰۱۳. Microsatellite loci for population studies of the genus *Alburnoides* and four other critically endangered and vulnerable cyprinids in the Czech Republic. Molecular Ecology Research, ۱۳(۳): ۵٤٦-۵٤۹.

Van Oosterhout, C., Hutchinson, W. F. D., Wills, D. P. M. and Shipley, P., ۲۰۰٤. MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. Molecular Ecology Notes, ٤: ۵۳۵-۵۳۸.

Vellend, M. and Geber, M. A., ۲۰۰۵. Connections between species diversity and genetic Diversity. Ecology Letters, ۸(۷): ۷٦۷- ۷۸۱.

Wachirachaikarn, A., Rungsin, W., Srisapoome, P. and Na-Nakorn, U., ۲۰۰۹. Crossing of African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell, ۱۸۲۲), strains based on strain selection using genetic diversity data. Aquaculture, ۲۹۰: ۵۳-٦۰.

Weir, B. S. and Cockerham, C. C., ۱۹۸٤. Estimating F-statistic for the analysis of population structure. Evolution, ۳۸: ۱۳۵۸-۱۳۷۰.

Wright, S., ۱۹۷۸. Evolution and the Genetics of Populations, Vol. ٤: Variability within and among natural populations. Chicago, USA, University of Chicago Press, ۵۹۰ pp.

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-05-24]

Xia, J. H., Wan, Z. Y., Ng, Z. L., Wang, L., Fu, G. H., Lin, G., Feng, L. and Gen, H. Y., ۲۰۱٤. Genome-wide discovery and in silico mapping of gene-associated SNPs in Nile tilapia. Aquaculture, ٤۳۲: ٦۷-۷۳.

Xia, J. H., Bai, Z., Meng, Z., Zhang, Y., Wang, L., Liu, F., Jing, W., Wan, Z. Y., Li, J., Lin, H. and Yue, G. H., ۲۰۱٥. Signatures of selection in tilapia revealed by whole genome resequencing Scientific Reports, ٥: ۱٤۱٦۸.

Yang, W., Dan, Y. and Xinzhi, L., ۲۰۲۰. Genetic Diversity of *Toona ciliata* Populations Based on SSR Markers. Journal of Resources and Ecology, ۱۱(٥): ٤٦٦-٤۷٤.

Zhai, D., Zhang, Z., Zhang, F., Liu, H., Cao, W. and Gao, X., ۲۰۱۹. Genetic diversity and population structure of a cyprinid fish (*Ancherythroculter nigrocauda*) in a highly fragmented river. Applied Ichthyology, ۳٥(۳): ۱-۸.

Zhao, N., Ai, W., Shao, Z. l., Zhu, B., Brosse, S. and Chang, J., ۲۰۰٥. Microsatellites assessment of Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis Gray*) genetic variability. Journal of Applied Ichthyology, ۲۱: ۷-۱۳.

Zhang, Q., Sun, C., Zhu, Y., Xu, N. and Liu, H. ۲۰۲۰. Genetic diversity and structure of the round-tailed paradise fish (Macropodus ocellatus): Implications for population management. Global Ecology and Conservation. ۲۱: e۰۰۸۷٦.

Zar, J. H., ۲۰۱۰. Biostatistical Analysis. ٥th Edition. Pearson, Prentice Hall, NJ, USA.

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-05-24]

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-05-24]