شناسایی مولکولی و فیلوژنی گونه *Gammarus komareki* (Gammaridae) از رودخانه جاجرود با روش بارکدگذاری DNA

سیامک یوسفی سیاه‌کلرودی*[۱]، هادی یوسفی سیاهکلرودی[۱]، فریده چناری[۲]، شادی خاتمی[۳]

*siamak.yousefi1@gmail.com

۱- گروه زیست شناسی، دانشکده علوم زیستی، واحد ورامین- پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، پیشوا، ایران
۲- گروه تحقیق و توسعه ماهیران، شرکت پروتئین گستر سینا، تهران، ایران
۳- گروه بیولوژی دریا، دانشکده منابع طبیعی، واحد بندرعباس، دانشگاه آزاد اسلامی، بندرعباس، ایران

تاریخ دریافت: آبان ۱۳۹۸ تاریخ پذیرش: فروردین ۱۳۹۹

چکیده

گاماروس‌ها از انواع سخت‌پوستان ناجورپا متعلق به خانواده Gammaridae بوده که نقش و اهمیت زیادی در زنجیره غذائی، پالایش محیط از مواد آلی و حساسیت بالایی نسبت به آلودگی‌های محیطی دارند. بنابراین، شناسایی آنها از اهمیت زیادی برخوردار است. از آنجایی‌که شناسایی جنس گاماروس به دلیل ویژگی‌های ریخت‌شناسی شبیه به هم بسیار مشکل می‌باشد، هدف مطالعه حاضر شناسایی دقیق مولکولی و بررسی روابط فیلوژنی گونه *Gammarus komareki* از رودخانه جاجرود در شرق استان تهران در مقایسه با سایر نقاط ایران و جهان بود. بدین منظور، جمع‌آوری و نمونه‌برداری با استفاده از تور دستی کوچک از گونه *G. komareki* رودخانه جاجرود به صورت فصلی از مهر ۱۳۹۲ لغایت تیر ۱۳۹۳ صورت پذیرفت. به منظور مطالعات مولکولی مقداری بافت از هر نمونه با اسکالپل جدا و در الکل اتیلیک ۹۵ درجه تثبیت گردید. سپس DNA نمونه‌ها با استفاده از روش CTAB استخراج و قطعه ژنی زیر واحد یک سیتوکروم اکسیداز میتوکندری (COI) تکثیر و توالی‌یابی شد. پس از تکثیر قطعه ژن و توالی‌یابی آن، درخت‌های تبارشناسی Neighbor Joining و Maximum Likelihood با استفاده از نرم‌افزارهای MEGA7 ترسیم گردیدند. نتایج مطالعه حاضر نشان داد، اگرچه نمونه‌های موردنظر از نظر ریخت‌شناسی متعلق به گونه *Gammarus komareki* می‌باشند که از سایر مناطق ایران گزارش شده است، با این‌حال بررسی‌های مولکولی نشان داد نمونه‌های مطالعه حاضر با قرار گرفتن در دو کلاد مختلف به دو دسته تقسیم شدند. بنابراین، این احتمال وجود دارد که شاید این نمونه‌ها متعلق به گونه‌های جداگانه باشند. که اثبات این امر نیازمند بررسی‌های دقیق‌تر با سایر نشانگرهای ژنتیکی می‌باشد.

لغات کلیدی: تنوع ژنتیکی، گاماروس، جاجرود، شرق تهران، ایران

*نویسنده مسئول

[Downloaded from isfj.ir on 2026-10-31]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1399.29.3.3.5]

مقدمه

Gammaridaeنامی است که برای خانواده گاماروس‌ها Gammarusبه کار می‌رود و جانورانی از شاخه بندپایان، زیرشاخه سخت‌پوستان، رده مالاکوستراکا، فوق رده پراکاریدا و راسته دو جورپایان (Amphipoda) هستند. این راسته شامل حدود ۶۰۰۰ گونه می‌شود که آنها را در چندین زیر راسته و خانواده جای داده است که که بنوبه خود در بر دارنده چند خانواده می‌باشد و خانوادهGammaridae از آن جمله است (Grabowski and Pesi, 2007). تاکنون حدود ۸۰۰ گونه گاماریده آب شیرین شناسائی شدند که بیش‌ترین تنوع را در مناطق سرد دارند. جنس گاماروس متعلق به خانواده گاماریده می‌باشد. گاماروس‌ها به میزان زیادی در ستون آبهای شیرین، لب‌شور و زیستگاه‌های دریایی وجود دارند و نقش کلیدی در ساختار و عملکرد اجتماعات آبزی بعهده دارند. این موجودات اغلب در اجتماعات بزرگ به صورت دسته‌ای زندگی می‌کنند و در چرخه اتتقال کربن در زنجیره غذایی نقش مهمی به عنوان موجودات دترتیوس‌خوار، چرا کننده یا شکارچی موجودات کوچک‌تر یا تخم و لاروها بعهده دارند (Kelly *et al*., 2002; Christie and Kraufvelin, 2003) و جزء مهمی از منابع غذایی برای سایر موجودات می‌باشند (Costa and Costa, 2000). گاماروس همچنین به طور وسیعی در مطالعات اکوتوکسیکولوژی (Costa *et al*., 2005; Fialkowski and Rainbow, 2006)، به‌عنوان مدل مهم برای مطالعات عکس‌العمل‌های میزبان-انگل (Kostadinova and Mavrodieva, 2005)، تکامل و اکولوژی (Ironside *et al*., 2003) و رقابت انگل‌های واسطه (MacNeil *et al*., 2004) بکار می‌رود. اگرچه تلاش‌های زیادی برای استفاده از ویژگی‌های مورفولوژیک برای تعیین روابط فیلوژنی در بین Amphipoda وجود دارد، نتایج این بررسی‌ها کاملاً تجربی است و در اکثر گروه‌ها بر پایه ویژگی‌های اندکی می‌باشد. در خصوص گروه‌هایی مانند Gammaridae تحقیقات بسیار کمی صورت گرفته است (Englisch *et al*., 2003). گاماروس یکی از فراوان‌ترین و متنوع‌ترین جنس‌های ناجورپایان می‌باشد که تاکنون ۲۰۴ گونه برای این جنس توصیف شده است (Vainola *et al*., 2008) که مهم‌ترین گونه‌های آن‌ها در آب-های شیرین وجود دارند. برای تشخیص گونه‌های این جنس باید به ویژگی‌های ریخت‌شناسی متنوعی توجه شود که اغلب به دلیل دو شکلی جنسی و تغییرات آنتوژنیک در حال تغییر می‌باشند و این امر شناسایی ریخت‌شناسی را با پیچیدگی‌های بیش‌تری مواجه می‌کند. گاماروس یکی از جنس‌هایی است که دارای گونه‌های فراوان می‌باشد که هنوز تاکسونومی و سیستماتیک و ارتباطات درون گونه‌ای و بین گونه‌ای در میان آنها به میزان زیادی در میان آرایه‌شناسان نامشخص است (Meyran *et al*., 1997; Costa *et al*., 2007). مطالعات فیلوژنتیک فقط شامل گونه‌های اندک و فقط در ارتباط با فون و منطقه جغرافیایی خاصی می‌باشد (Englisch *et al*., 2003; Hou *et al*., 2007). مطالعه Hou و همکاران (۲۰۰۷) با به-کارگیری ۴ ژن هسته‌ای و میتوکندریایی در ارتباط با شناسایی جنس گاماروس انجام شد که سهم ارزشمندی در فهم روابط فیلوژنی و تاکسونومی این گروه پیچیده در اقیانوس اطلس شمالی داشت. Karaman (۱۹۳۴)، Birstein (۱۹۴۵)، Karaman (۱۹۶۹)، Ruffo (۱۹۷۹)، Pesce و همکاران (۱۹۸۲) و Mateus وMateu (۱۹۹۰) مطالعات پراکنده‌ای بر دوجورپایان کشور انجام دادند. همچنین نمونه‌برداری گسترده‌ای از ۱۸۵ ایستگاه از نواحی مختلف کشور انجام شد. جهت شناسایی گونه‌های حوضه‌های آبریز ایران و مطالعات زیست‌شناختی دوجورپایان کشور آغاز گردید که شامل: یاوری (۱۳۷۹)، امرائی(۱۳۸۰)، بناکار (۱۳۸۰)، نقیب (۱۳۸۱)، زینی (۱۳۸۳)، نهاوندی (۱۳۸۳) و صناعی (۱۳۸۴) است. مطالعات اخیر در استان چهارمحال و بختیاری، شامل معرفی سه گونه جدید، بررسی جغرافیای زیستی این گونه‌ها و استفاده از صفات ریختی با استفاده از میکروسکوپ الکترونی نگار (SEM) می‌باشد (Khalaji-Pirbalouty and Sari, 2004, 2006). گرایش بیش‌تر پژوهشگران به مباحث تنوع زیستی و تکامل موجب شده است که شناسایی گونه‌ها اهمیت بیش‌تری پیدا کند. بررسی‌های اولیه در شناسایی گونه‌ها معمولاً با توجه به ویژگی‌های ریخت‌شناختی صورت می‌گیرد و سپس ارتباطات فیلوژنتیک با استفاده از داده‌های مولکولی، تخمین زده می‌شود (Kohn, 2003; Franklin *et al*., 2007; Lorenz and Puillandre, 2015) در فرآیند گونه‌زایی، در سطح پایین‌دستی تکامل، آنالیزهای ژنتیک جمعیت و در سطوح بالاتر آنالیزهای فیلوژنتیک مطرح است (Olivera, 2006). آنالیز توالی‌های زیستی بر پایه اصول محکم تکامل استوار است. معمولاً تشابهات[1] و واگرایی[2] توالی‌های زیستی مرتبط با یکدیگر با همردیفی (انطباق) توالی مشخص می‌شوند و باید در قالب درخت‌های فیلوژنتیکی مورد تفسیر قرار گیرند. از این‌رو فیلوژنی مولکولی از حوزه‌های بنیادی و مهم در بیوانفورماتیک محسوب می‌شود (Puillandre *et al*., 2012). فیلوژنتیک مطالعه

[1] Similarities
[2] Divergences

[Downloaded from isfj.ir on 2026-10-31]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1399.29.3.3.5]

تاریخچه تکاملی موجودات زنده با استفاده از نمودارهای (دیاگرام‌های) درختی شکل برای نشان دادن اجداد و شجره‌نامه جانداران است (Kohn,1990). امروزه داده‌های مولکولی که به شکل توالی‌های DNA یا پروتئین وجود دارند، قادرند چشم‌انداز تکاملی بسیار مناسبی را از موجودات فعلی نشان دهند (Kaas *et al.*, 2010). زیرا همانطوریکه موجودات تکامل (نمو) می‌یابند، انباشته شدن جهش‌های مواد ژنتیکی، در طول زمان موجب تغییر فنوتیپی و ریختی موجودات می‌شوند. طی سال‌های اخیر، بارکدگذاری DNA، به عنوان روشی برای شناسایی تاکسون‌ها به شکل چشمگیری در میان تاکسونومیست‌ها، بوم‌شناسان و زیست‌شناسان تنوع زیستی، مورد توجه قرار گرفته است. این روش ابزار قدرتمندی برای شناسایی گونه‌های جانوری است و می‌تواند به عنوان مکمل تاکسونومی سنتی مورد استفاده قرار گیرد (Hebert a *et al.*, 2003). از آنجایی‌که تکنیک‌های توالی‌یابی جدید و بررسی‌های مولکولی، فرصت‌های بی‌شماری را برای مطالعات ژنتیکی جانداران فراهم کرده است، در مطالعه حاضر، از ژن سیتوکروم اکسیداز یک (COI) به عنوان بارکد، برای شناسایی دقیق گونه استفاده شد. بررسی‌های فیلوژنتیک و شناسایی مولکولی گونه‌های هر منطقه می‌تواند پایه مطالعات بعدی را بنیانگذاری کند. مطالعات انجام شده، تاکنون صرفاً براساس ریخت‌شناسی بوده است. از اینرو، پژوهش حاضر، اولین مطالعه در زمینه فیلوژنی مولکولی گونه است که تاکنون گزارشی از بررسی‌های ریخت‌شناختی و مولکولی آن در منطقه مورد نظر ثبت نشده است. همچنین در این پژوهش مقایسه توالی‌های نوکلئوتیدی از رودخانه جاجرود با سایر توالی‌های ثبت شده از همین گونه در پایگاه داده‌ای NCBI و BOLD System انجام شد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری

با توجه به برنامه تعیین شده برای پژوهش حاضر، مکان‌های مختلف رودخانه‌های شرق استان تهران در نقشه مشخص شد (شکل۱). انتخاب ایستگاه‌ها بر اساس امکان دسترسی، وضعیت طبیعی منطقه، پوشش گیاهی، شیب زمین، پیوستن شاخه‌های فرعی به شاخه اصلی، سرعت جریان آب، پوشش گیاهی و بستر رودخانه صورت پذیرفت. نمونه‌برداری با تور دستی کوچک با چشمه‌هایی به قطر یک میلی‌متر و از زیر سنگ‌های حاشیه رودها و چشمه‌هایی که معمولاً آب با سرعت پایین جریان دارد و نیز از لابلای گیاهان آبی ایستگاه‌های انتخابی صورت گرفت. سپس نمونه‌ها به یک ظرف بزرگ پر از آب انتقال داده شدند تا شن‌ها و مواد آلی در حال پوسیدن از نمونه‌ها جدا شود. سپس نمونه‌های عاری از مواد اضافی به ظروف پلاستیکی انتقال داده شده با اضافه کردن اتانول ۷۰٪ تثبیت شدند (Özbek *et al.*, 2017) و با برچسب محل و تاریخ نمونه‌برداری برای هر ایستگاه مشخص شده و سپس نمونه‌ها، به آزمایشگاه دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران منتقل گردید و پس از شناسایی توسط کلیدهای شناسایی موجود، جهت بررسی‌های مولکولی مورد استفاده قرار گرفتند (Karaman and Pinkster, 1997; Stock, 1998). تفاوت‌های تاکسونومیک بین گونه‌های مختلف در گاماروس‌ها، اگرچه کم است ولی مجزا و پایدار است. در برخی موارد تفاوت‌های مرفولوژیک بین دو گونه بسختی قابل تشخیص است. صفاتی که در یک گونه بسیار پایدار است (شکل چشم و ساختار پالپ‌های آرواره‌ای)، برای شناسایی موفولوژیک مورد بررسی قرار گرفتند. برای این منظور نمونه‌ها پس از تشریح، مشاهده و شناسایی قسمت‌ها در زیر استریومیکروسکوپ و میکروسکوپ نوری تا سطح گونه مورد شناسایی قرار گرفتند (Özbek *et al.*, 2017).

بررسی‌های ریخت‌شناسی

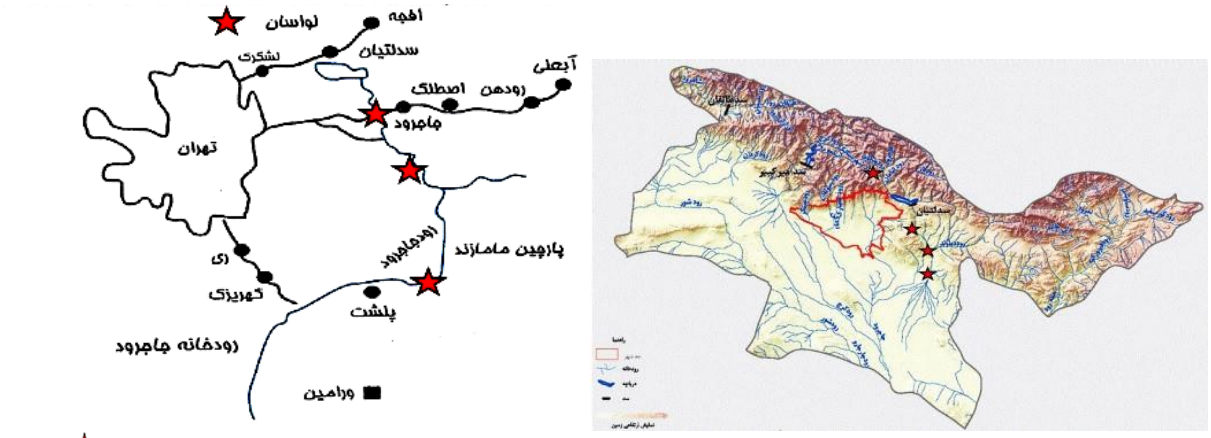
در زیر استریومیکروسکوپ اجزای بدنی نمونه‌ها به‌وسیله سوزن‌های تشریح ظریف جدا شده و پس از شناسایی اولیه با میکروسکوپ نوری، مطالعه دقیق‌تر با مقایسه با کلیدهای شناسایی شناسایی موجود (Karaman and Pinkster, 1997; Stock, 1998)، صورت گرفت. بررسی خصوصیات ریخت‌شناسی مانند شکل لوب‌های کناری سر، اندازه چشم‌ها، ساختار پالپ آرواره فوقانی، تارچه‌های بند سوم این پالپ، پوشش و تجهیزات شاخک اول، شکل و پوشش پایک و تاژک شاخک دوم، تجهیزات گناتوپودهای اول و دوم و ... انجام شد (جدول ۱ و شکل ۲).

بررسی‌های مولکولی

برای ارزیابی مولکولی و استخراج DNA ۵۰ میلی‌گرم از بافت از هر نمونه با اسکالپل جدا شد، و پس از هموژن کردن آن، ۶۰۰ میکرولیتر بافر لیزکننده CTAB ۲٪ (100 mMTrisHCl, 20 mM EDTA,1.4 M NaCl, CTAB) به آن اضافه گردید و باقیمانده استخراج با روش فنل-کلروفروم انجام شد. کیفیت و کمیتDNA استخراج شده با استفاده از الکتروفورز ژل آگارز ۱٪ تعیین گردید.

[Downloaded from isfj.ir on 2026-10-31]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1399.29.3.3.5]



شکل ۱: نقشه رودخانه‌های استان تهران (راست) محدوده رودخانه جاجرود (چپ) و موقعیت ایستگاه‌های نمونه‌برداری (★)

Figure 1: A map of rivers in Tehran Province within (Right) the Jajroud river zone and the position of sampling stations (Left)

جدول ۱: ایستگاه‌های نمونه‌برداری در شرق استان تهران

Table 1: The sampling stations in the eastern Tehran province

رودخانه	ایستگاه	موقعیت جغرافیایی		
		عرض (شمالی)	طول (شرقی)	ارتفاع از سطح دریا (متر)
جاجرود	۱	35^0 ۵۵' ۴۳"	51^0 ۳۱' ۲۷"	۱۹۳۱
	۲	35^0 ۴۳' ۲۶"	51^0 ۴۲' ۶۵"	۱۴۵۵
	۳	35^0 ۴۰' ۰۸"	51^0 ۴۳' ۰۹"	۱۳۲۸
	۴	35^0 ۳۱' ۲۶"	51^0 ۴۷' ۸۳"	۱۱۶۷

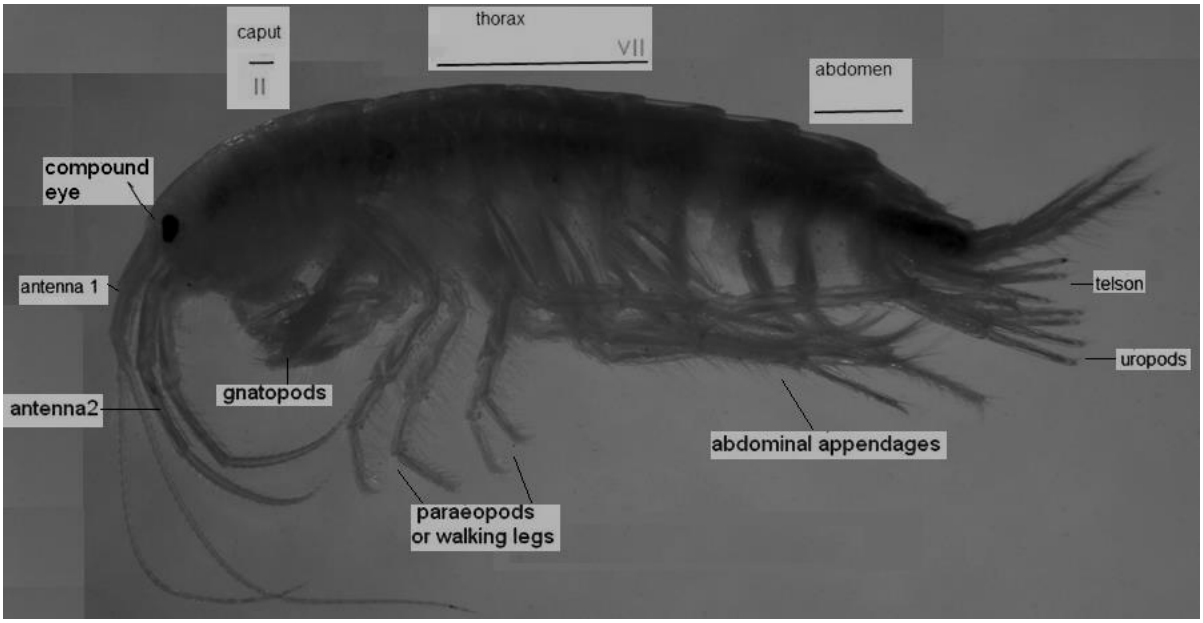
سپس با استفاده از پرایمر (LCO1490 5′-GGT CAA CAA) ATC ATA AAG ATA TTG G-3′, HCO2198 5′-TAA ACT TCA GGG TGA CCA AAA AAT CA-3′) (Folmer *et al*., 1994) واکنش زنجیره‌ای پلیمراز جهت تکثیر قطعه ژنی سیتوکروم اکسیداز I (COI) انجام شد. هر واکنش در حجم ۲۵ میکرولیتری شامل بافر (1X)، ۱میلی‌مولار MgCl2، ۰/۲ میلی‌مولار dNTP، ۵ پیکومول از هر آغازگر رفت و برگشت، ۱/۵U آنزیم Tag DNA Polymerase و ۳۰-۲۰ نانوگرم DNA الگو بود. برنامه حرارتی برای واکنش موردنظر شامل: مرحله واسرشته‌سازی اولیه: ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ دقیقه و مرحله واسرشته‌سازی: ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه، مرحله الحاق: ۴۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، مرحله بسط: ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۹۰ دقیقه و نهایتاً مرحله بسط نهائی: ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ دقیقه و تعداد ۳۵ چرخه در نظر گرفته شد. محصولات تکثیر شده به همراه سایز مارکر ۱۰۰bp بر ژل آگارز ۱/۵ درصد الکتروفورز و با safe stain رنگ‌آمیزی شدند (Asensio, 2007). محصولات PCR مناسب، جهت تعیین توالی به شرکت Bioneer کره جنوبی ارسال گردیدند.

آنالیزهای نرم‌افزاری

توالی‌های بدست آمده در مطالعه حاضر که برای اولین بار از منطقه جاجرود گزارش شده است، با نرم‌افزار Chromas 2.1.1 Lite بررسی و در نرم‌افزار CLC Sequence viewer 6.5.4 به توالی اسیدآمینه ترجمه شدند، قالب خواندن (Frame) آن‌ها تعیین شد (Knudsen *et al*., 2012) و با دریافت شماره پذیرش، توالی‌ها در بانک ژنNCBI ثبت گردیدند. سایر توالی‌های ثبت شده از همین گونه از سایت BOLD System و NCBI استخراج شدند. همردیف‌سازی توالی‌ها در نرم‌افزار ClustalW انجام شد. درخت فیلوژنی تجزیه و تحلیل ماتریس داده‌ها براساس روش‌های مبتنی بر فاصله یا پیوند همجواری (Neighbour Joining)، ماکزیمم احتمال (Maximum likelihood) با استفاده از مدلK2P با نرم‌افزار MEGA7 (Kumar *et al*., 2015) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

[Downloaded from isfj.ir on 2026-10-31]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1399.29.3.3.5]



شکل۲: نمایی از قسمت‌های مختلف بدن گاماروس (Tsoi and Chu, 2005)
Figure 2: schematic view of the *Gammarus* body plan

در این بررسی از ۲۴ توالی ثبت شده در پایگاه داده‌ها شامل توالی‌هایی از این گونه از نقاط مختلف دنیا، سایر توالی‌ها و ۵ توالی مطالعه حاضر، بودند. مطابق با نتایج Lipinskaya و همکاران (۲۰۱۸) گونه‌هایی با فاصله زیادی نسبت به سایر گونه‌های جنس *Gammarus* بودند. برای برون گروه از گونه *Chaetogammarus ischnus* استفاده شد. هدف از قرار دادن اوت گروپ و گونه‌های کلاد دور مقایسه بهتر گونه‌های نزدیک بهم با گونه‌ای است که از نظر ژنتیکی با گونه مورد مطالعه تفاوت بیشتری دارد. این کار صحت کار را افزایش می‌دهد و مقایسه را آسان‌تر می‌کند.

نتایج

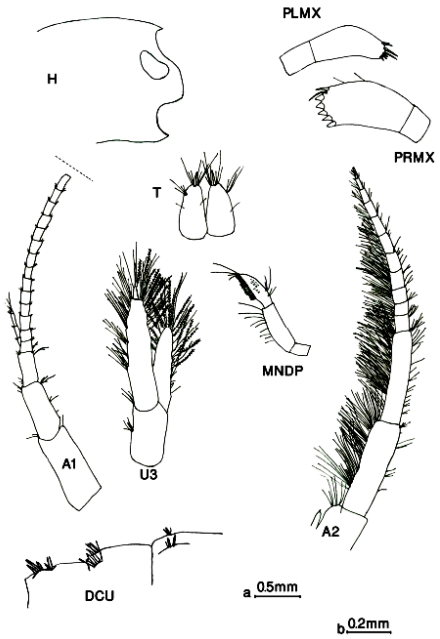
مطالعات ریخت‌شناسی

با بررسی صفات ریخت‌شناسی، مشاهده گردید که شاخک اول بلند و تقریباً دو سوم طول بدن و دارای تارچه‌های کم و شاخک دوم دارای تارچه‌های متراکم با طول زیاد و تاژک در سطح پشتی شکمی فشرده شده است. گناتوپود اول دارای یک خار میانی و تعداد زیادی خارهای کوچک‌تر در طول حاشیه خلفی و سطح داخلی و گناتوپود دوم دارای یک خار میانی و سه خار زاویه‌ای قوی می‌باشد. پای سینه‌ای سوم و چهارم دارای تارچه‌های زیاد و بلند روی مروس و کارپوس و پاهای سینه‌ای پنجم الی هفتم دارای خارهای قوی و تارچه‌های کوتاه می‌باشند. گوشه خلفی شکمی اولین صفحه اپی‌مرال گرد و در صفحات دوم و سوم چهارگوش تا کمی نوک‌دار است. طول شاخه داخلی پای دمی سوم سه چهارم طول شاخه خارجی و هر دو شاخه دارای تارچه‌های پروش می‌باشد. طول لوب‌های تلسون دو برابر عرض و دارای خارها و تارچه‌هایی در بخش انتهایی و تعدادی تارچه در سطح پشتی آن می‌باشند (شکل‌های ۳، ۴، ۵ و ۶).

مطالعات مولکولی

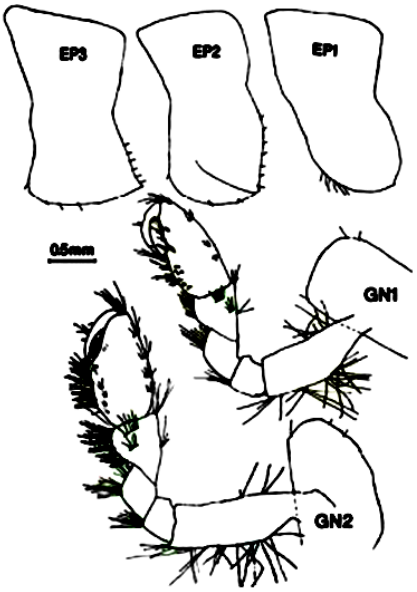
نتیجه محاسبات فیلوژنی و روابط تکاملی (Maximum Likelihood) ML و NJ (Neighbour Joining) ۲۴ توالی ژن COI از گونه *Gammarus Komareki* و سایر توالی‌ها الگوی توپولوژی یکسانی را برای درختان تکاملی نشان داد. نتایج اختلافات ژنتیکی در توپولوژی درختان تکاملی منعکس شد. نمونه‌های مورد مطالعه در دو شاخه مجزا ازهم قرار گرفتند. نمونه *Gammarus* sp. *SY1*(LC057152)، *Gammarus* sp. SY3 (LC057150)، *Gammarus* sp. *SY4*(LC057151) در شاخه‌ای جدا از سایر نمونه‌های مطالعه حاضر و حتی با سایر نمونه‌های ثبت شده از این گونه از ایران قرار گرفتند. با این‌حال، این نمونه‌ها با یکدیگر شباهت فراوانی داشتند و با ارزش بوت استراپ بالا (ML=۹۰) و (NJ=۹۸) در کلادی مشترک قرار گرفتند.

[Downloaded from isfj.ir on 2026-10-31]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1399.29.3.3.5]



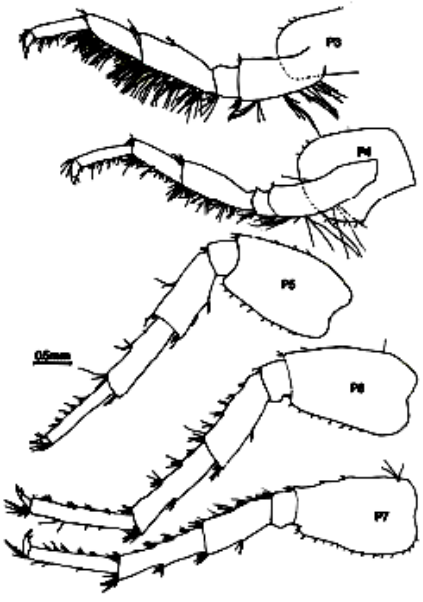
شکل۳: مقیاس‌ها: (PRMX و PLMX)b، (MNDP، DCU، u3، A2، A1، T و H)a H: سر، T: تلسون، A1: شاخک۲A ،۱: شاخک DCU، ۲: ناحیه پشتی بندهای دمی،U۳: پای دمی MNDP، ۳: پالپ آرواره فوقانی،PRMX: پالپ آرواره تحتانی راست، PLMX: پالپ آرواره تحتانی چپ

Figure 3: Scales. H a (MNDP ،DCU ،u3 ،A2 ،A1 ،T و H). H=head, T= Telson, A1= Antennae, A2= Antennae DCU, 2: posterior tail segment, U3:Uropod, MNDP3:upper mandibular pulp, PRMX: lower right mandibular pulp, PLMX: lower left mandibular pulp



شکل ۴: EP1–EP3: صفحات اپی‌مرال ۳–۱، GM1: پای گیره‌ای ۱، GN2: پای گیره‌ای ۲

Figure 4: EP3-EP1: Epimeral plates 1-3. GM1: Clamp foot 1. GN2: Clamp foot2

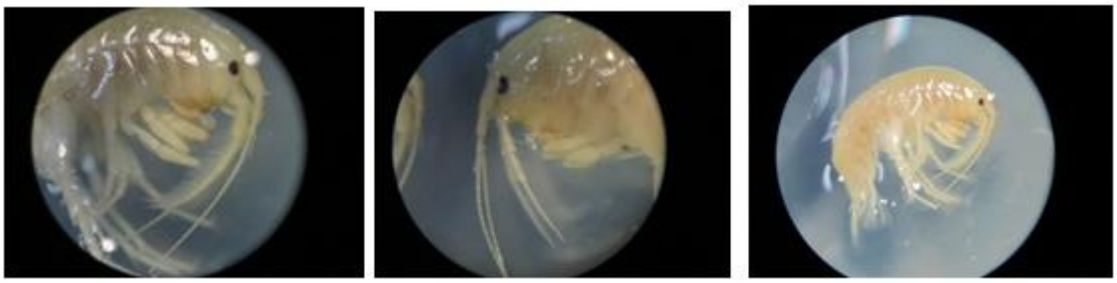


شکل ۵: EP1–EP3: صفحات اپی‌مرال ۳–۱، GM1: پای گیره‌ای ۱، GN2: پای گیره‌ای ۲

Figure 5: EP3-EP1: Epimeral plates 1-3. GM1: Clamp foot 1. GN2: Clamp foot 2

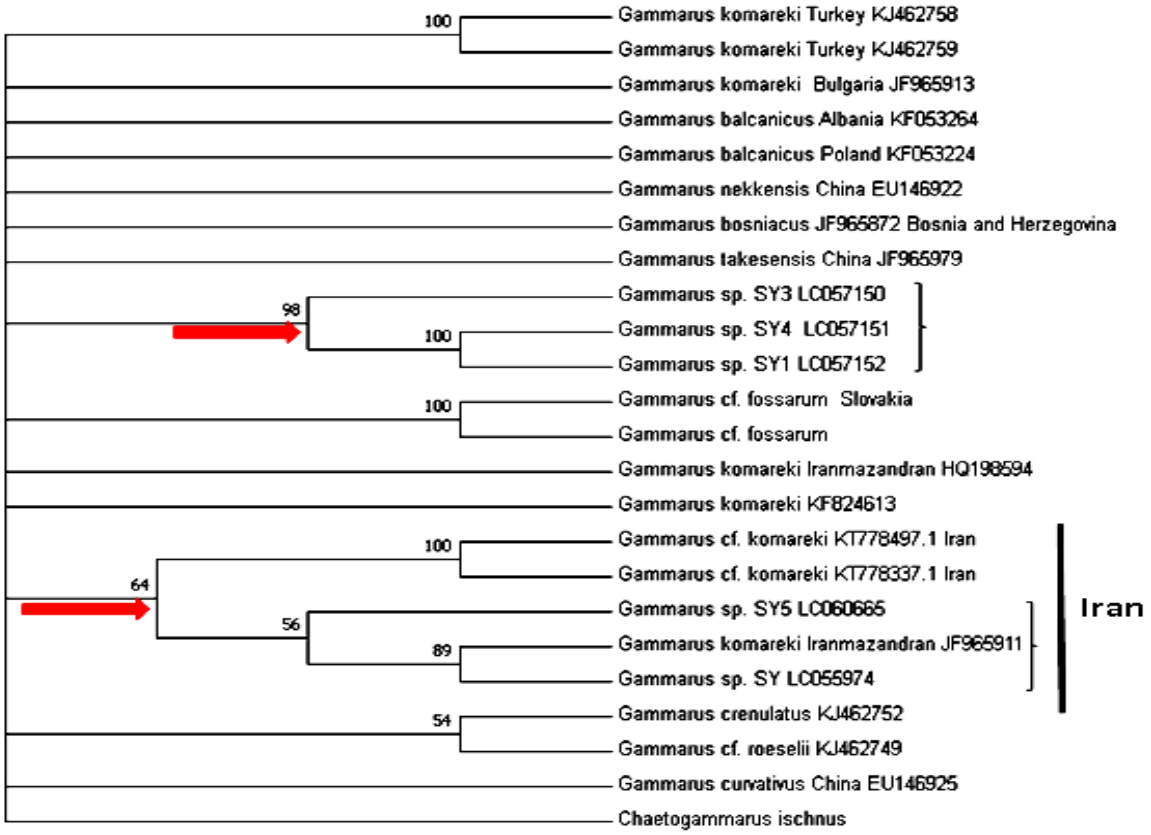
[Downloaded from isfj.ir on 2026-10-31]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1399.29.3.3.5]



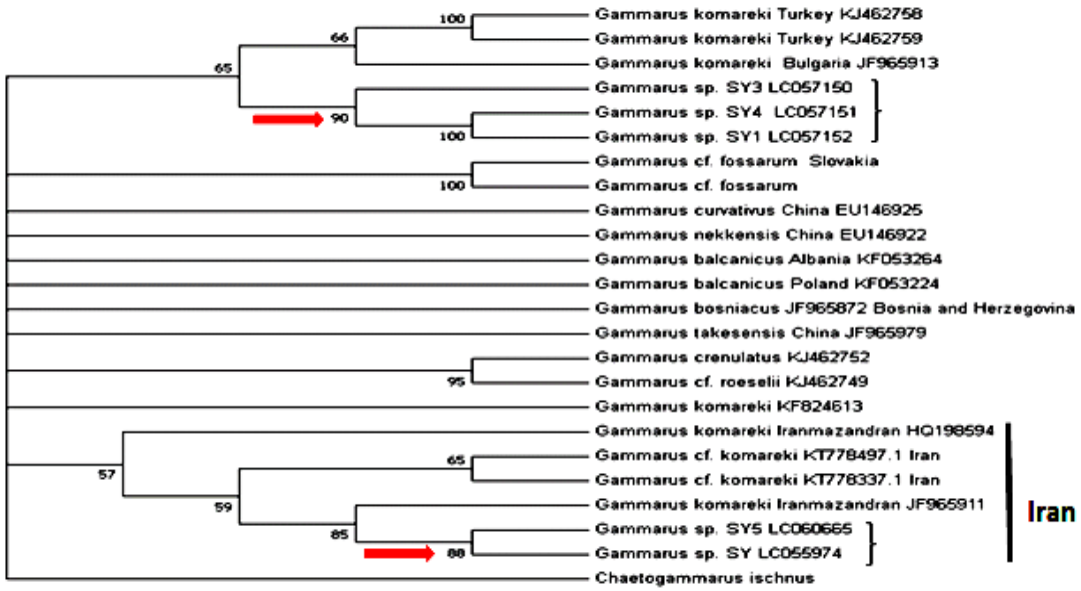
شکل ۶: نمایی از نمونه *G. Komareki* مورد آزمایش در زیر استریومیکروسکوپ
Figure 6: A close shot of *G. Komareki*

دو نمونه دیگر *Gammarus* sp. *SY*(LC055974) و *Gammarus* sp. SY5 (LC060665) با سایر نمونه‌های ثبت شده از این گونه از استان مازندران با ارزش بوت استراپ (ML=۵۷) و (NJ=۶۴) در کلادی مشترک قرار گرفتند. تفاوت نمونه‌های ثبت شده از ایران با گونه‌های مشابه از سایر نقاط دنیا با نتایج شمارش تفاوت نوکلئوتیدها پس از همردیف سازی با نرم‌افزار و محاسبه چشمی آن نیز قابل رویت بود (شکل‌های۷ و ۸).



شکل۷: درخت فیلوژنی Neighbor Joining گونه *Gammarus kumareki*. درصدهای بوت استراپ روی گره‌ها نشان داده شده است. فلش‌های قرمز و علایم مشخص شده نشان‌دهنده قرار گرفتن نمونه‌های مورد مطالعه در دو شاخه مجزا می‌باشد
Figure 7: A Neighbor Joining phylogenic tree of *G. Komareki*. Percentage bootstraps are indicated above each node. Signs indicate isolated position of samples

[Downloaded from isfj.ir on 2026-10-31]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1399.29.3.3.5]



شکل۸: درخت فیلوژنی Maximum Liklihood گونه *Gammarus kumareki*. درصدهای بوت استراپ روی گره‌ها نشان داده شده است. فلش قرمز و علایم مشخص شده نشان‌دهنده قرار گرفتن نمونه‌های مورد مطالعه در دو شاخه مجزا می‌باشد

Figure 8: Maximum Liklihood phylogenic tree of *G. Komareki*. Percentage bootstraps are indicated above each node. Signs indicate isolated position of samples

بحث

نتایج تحقیق پس از بررسی‌های ریخت‌شناسی نشان داد، گاماروس‌های مطالعه حاضر متعلق به گونه *Gammarus komareki* می‌باشند که با نتایج Zamanpoore و همکاران (۲۰۱۱) درخصوص گاماروس‌های جمع‌آوری شده از حاشیه شمالی البرز همخوانی داشت. لوب‌های جانبی سر ته صاف، چشمان بزرگ و لوبیایی شکل، شاخک اول کوتاه‌تر از دوسوم طول بدن و کم تار، تاژک اصلی شاخک بند۱ ۲۹-۲۰ بند و تاژک ضمیمه آن معمولاً سه بندی است. شاخک ۲ بسیار پرتار با تارچه‌های بلند، اغلب ۱۱ بندی است از ویژگی‌های کلیدی ریخت‌شناسی این گونه می‌باشد (Karaman, 1969). علیزاده اقتدار و ساری (۱۳۸۷) نیز با مطالعه گاماروس‌های استان‌های آذربایجان‌غربی، آذربایجان‌شرقی و اردبیل دریافتند گونه مذکور، گونه غالب در این استان‌هاست. محققان پراکنش این گونه را در مناطق بلغارستان، شمال یونان، مولداوی، سواحل دریای سیاه و نیمه شمالی کشور ترکیه و شمال ایران گزارش کردند (Karaman and Pinkster, 1977). این گونه را در ایران اولین‌بار Karaman (۱۹۳۴؛ ۱۹۶۹) از سلطان آباد و سپس از ویلا دره کوه‌های سبلان در آذربایجان گزارش گردید. وی بیان داشت این گونه پراکنش وسیعی در بسیاری مناطق ایران دارد.

در مطالعات سال‌های اخیر این گونه از استان تهران، لرستان، اصفهان، چهارمحال و بختیاری، کردستان و از سه استان گلستان، مازندران و گیلان گزارش نیز به ثبت رسیده است (علیزاده اقتدار و ساری، ۱۳۸۷). برای تشخیص گونه‌های این جنس باید به ویژگی‌های ریخت‌شناسی متنوعی از جمله شکل چشم، ویژگی‌های شاخک‌ها، خصوصیات زوائد دهانی، ویژگی‌های یوروپود و تارهای آن و... توجه شود (Karaman, 1969) که اغلب به دلیل دوشکلی جنسی و تغییرات آنتوژنیک درحال تغییر می‌باشند و این امر شناسایی ریخت‌شناسی را با پیچیدگی‌های بیش‌تری مواجه می‌کند. Khalaji-Pirbalouty و Sari (۲۰۰۴) با مطالعه در نمونه‌های استان چهارمحال و بختیاری، این گونه را در ایران دارای پای دمی ۳ فاقد تارچه پروش روی حاشیه خارجی اگزوپود معرفی می‌کنند. در نمونه‌های استان لرستان (امرائی، ۱۳۸۰) اگزوپود و اندوپود پای دمی ۳ در حاشیه خارجی و داخلی دارای تارچه پرورش ذکر شده است که با گزارش‌های مشابهی از شمال استان لرستان (یوسفوند، مکاتبه شخصی) منطبق می‌باشد. اعلام چنین تفاوت‌هایی در تارچه‌های پای دمی ۳ به عنوان صفت کلیدی در شناسایی این گونه نیازمند مطالعه کامل جمعیت‌های این گونه از ایران است. به همین دلیل در مطالعه حاضر بر مطالعات

[Downloaded from isfj.ir on 2026-10-31]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1399.29.3.3.5]

مولکولی تاکید شده است. لذا، ضرورت مطالعات مولکولی جهت تعیین دقیق جایگاه تاکسونومیک و شناسایی جمعیت‌های مطالعه شده را مشخص می‌سازد. این تحقیق اولین مطالعه مولکولی برای شناسایی دقیق این گونه براساس DNAبارکدینگ از رودخانه جاجرود می‌باشد. DNA بارکدینگ به تشخیص گونه‌هایی با خصوصیات مورفولوژیک مشابه (گونه‌های خواهری) و گونه‌هایی که نیای مشترک دارند و روابط تکاملی آنها می‌پردازد. اقداماتی که تاکنون در این زمینه صورت گرفته، کارایی این رویکرد را برای شناسایی گونه‌ها در گروه‌های بزرگی از جانوران مانند پرندگان، ماهیان، سخت‌پوستان و نرم‌تنان به اثبات رسانده است (Hebert b *et al*., 2003). نمونه‌های موردنظر (همگی از ایستگاه‌های مختلف در رودخانه جاجرود می‌باشند)، از نظر ریخت‌شناسی متعلق به گونه *Gammarus kumareki* بودند، با این‌حال نتایج شناسایی مولکولی و درخت تکاملی و تطبیق آن‌ها با یکدیگر و سایر نمونه‌ها از ایران تفاوت‌های بارزی را در میان آن‌ها آشکار ساخت و این نمونه‌ها در کلادهای مجزا قرار گرفتند. عطاران فریمان و موسوی (۱۳۹۲) و چناری و همکاران (۱۳۹۶) نیز بر اساس روش بارکدگذاری DNA به شناسایی نرمتنان و خرچنگ‌های گرد منطقه خلیج فارس پرداختند و نتایج آنها نشان داد برخی نمونه‌های موفولوژیک با وجود تفاوت در رنگ ممکن است متعلق به گونه‌های جداگانه باشد. Knowlton (۲۰۰۰) بیان کردند که زمانی‌که دو گونه در یک کلاد قرار می‌گیرند، منشا یکسان دارند، دارای روابط مونوفیلیتیک هستند و گونه‌های خواهری محسوب می‌شوند و جد یکسانی دارند. روش‌های مختلفی برای تعیین حد و مرزگونه‌ها براساس درختان تکاملی پیشنهاد شده است. برای مثال، به گونه‌های مختلف یک جنس زمانی "مونوفیلتیک" گفته می‌شود که اعداد مربوط به ضریب بوت استراپ آنها با میزان بالایی از آن شاخه حمایت کند. هنگامی که یک گونه در شاخه‌ای جداگانه با ضریب حمایت بالا قرار گیرد، نشان می‌دهد این گونه می‌تواند متعلق به گونه جداگانه یا متفاوتی باشند و در غیر این صورت نتیجه عکس خواهد شد (Monaghan *et al*., 2005). بررسی‌های مولکولی نشان داد نمونه‌های مطالعه حاضر با قرار گرفتن در دو کلاد مختلف به دو دسته تقسیم شدند. بنابراین، این احتمال وجود دارد که شاید این نمونه‌ها متعلق به گونه‌های جداگانه باشند. نمونه *Gammarus* sp. SY1(LC057152)، (LC057150) *Gammarus* sp. *SY3*، *Gammarus* sp. *SY*4(LC057151) در شاخه‌ای جدا از سایر نمونه‌های مطالعه حاضر و حتی با سایر نمونه‌های ثبت شده از این گونه از ایران قرار گرفتند. وجود گونه‌های پنهان در اکوسیستم‌های آبی بسیار معمول است. گونه‌های پنهان به گونه‌هایی اطلاق می‌شود که از لحاظ مورفولوژی بسیار شبیه اما از لحاظ ژنتیکی با هم متفاوت هستند. یوسفی سیاهکلرودی و همکاران (۱۳۹۷) با بررسی تنوع ژنتیکی گاماروس در رودخانه‌های شرق استان تهران نشان دادند که *G. komareki* دارای جمعیت‌های متنوعی در رودخانه‌های شرق استان تهران می‌باشد، هر چند از نظر ریخت‌شناسی تفاوت عمده‌ای در این جمعیت‌ها مشاهده نکردند. همچنین فراوانی آن در ایستگاه‌های مختلف، متفاوت بود که بیانگر اختلاف شرایط محیطی رودخانه‌ها بود. شایان ذکر است، در بررسی‌های Ozbek و Rasoli (۲۰۱۴) که در زمینه شناخت ریخت‌شناسی این گونه در مناطق شمال‌غربی ایران صورت گرفت، زیر گونه جدیدی از این گونه گزارش گردید. نتایج مطالعه حاضر نشان داد با این‌که نمونه‌های مورد نظر از نظر ریخت‌شناسی متعلق به گونه *Gammarus komareki* می‌باشند که از سایر مناطق ایران گزارش شده است، با این‌حال از نظر بررسی‌های ژنتیکی در کلادهای کاملاً جداگانه قرار گرفتند. بنابراین احتمال می‌رود متعلق به گونه‌های جداگانه باشند که اثبات این امر نیازمند بررسی‌های دقیق‌تر با سایر نشانگرهای ژنتیکی می‌باشد.

منابع

امرایی، ر.، ۱۳۸۰. بررسی بیوسیستماتیکی برخی از دوجورپایان رودخانه های لرستان. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده علوم، دانشگاه تهران.

بناکار، ف.، ۱۳۸۰. مطالعه بیوسیستماتیک دوجورپایان رودخانه‌های استان تهران و دینامیک جمعیتی، تولیدمثلی گونه در منطقه خجیر. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال.

چناری، ف.، نبوی، م.ب.، سالاری، م.ع.، سواری، ا. و ذوالقرنین، ح.، ۱۳۹۶. شناسایی مورفوتایپ‌های رنگی گونه *Leptodius exaratus* (Xanthidae:Brachyuran) بر اساس مطالعات مولکولی و میکروسکوپ الکترونی. مجله علمی شیلات ایران. ۲۶(۳): ۱۳۹-۱۴۹.

زینی، م.، ۱۳۸۳. مطالعه گونه‌های دوجورپایان *Gammarus komareki* استان کردستان و چرخه زندگی. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده علوم، دانشگاه تهران

صناعی، ف.، ۱۳۸۴. مطالعه دوجورپایان (Crustacea: Amphipoda) استان کهگیلویه و بویر احمد با استفاده از روش‌های مورفولوژیکی و تکوینی. پایان نامه کارشناسی

[Downloaded from isfj.ir on 2026-10-31]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1399.29.3.3.5]

ارشد، دانشکده زیست شناسی، پردیس علوم، دانشگاه تهران.

عطاران فریمان،گ. و موسوی پور، ی.، ۱۳۹۲. اولین بررسی فیلوژنتیکی گونه *Goniobranchus* (annulatus Mollusca: *Nudibranchia*) در آب‌های ناحیه زیر جزر و مدی خلیج چابهار براساس توالی ژن سیتوکروم اکسیداز C زیر واحد I. مجله علمی شیلات ایران. ۲۲: ۸۶-۷۷.

علیزاده اقتدار، ح. و ساری، ع.ر.، ۱۳۸۷. دوجورپایان Ponto-Caspian و گروه گونه‌ای *Gammarus pulex* (Crustacea: Amphipoda) در آذربایجان ایران. مجله علوم دانشگاه تهران. ۳۳ (۱): ۳۵-۴۷

نقیب، م.، ۱۳۸۱. مطالعه پراکندگی، سیکل تکوینی و تعیین عدد کروموزومی دوجورپایان استان‌های اصفهان و قم .پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده علوم، دانشگاه تهران.

نهاوندی، ن.، ۱۳۸۳. بیوسیستماتیک *Pontogammarus maoticus* و *Gammarus komareki* در منطقه هیرکانی. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه شهید بهشتی.

یاوری، ی.، ۱۳۷۹. مطالعه بیوسیستماتیک چهار جمعیت محلی دوجورپایان حوضه آبریز قره‌چای استان مرکزی . پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده علوم، دانشگاه شیراز.

یوسفی سیاهکلرودی، ه.، یوسفی سیاه‌کلرودی، س. و خاتمی، ش.، ۱۳۹۷. تنوع ژنتیکی گاماروس در رودخانه های شرق استان تهران با استفاده از توالی یابی ژن CO1 میتوکندریایی. ۷۱ (۳): ۲۳۶-۲۴۵

Asensio, G.L., 2007. PCR-based methods for fish and fishery products authentication. *Trends in Food Science and Technology*, 18: 558-566. Doi: 10.1016/j.tifs.2007.04.016.

Birstein, J.A., 1945. Zametka o presnovodnykh visshikh rakoobraznykh Turkmanii Irana. *Uchenye Zapiski Moskovskogo Gosudarstvennogo Universiteta*, 83: 151-164. [In Russian].

Christie, H. and Kraufvelin, P., 2003. Mechanisms regulating amphipod population density within macroalgal communities with low predator impact. *Scientia Marina*, 68: 189-198. Doi: 10.3989/scimar.2004.68s1189.

Costa, F.O. and Costa, M.H., 2000. Review of the ecology of *Gammarus locusta* (L.). *Polish Archives of Hydrobiology*, 48: 541–559.

Costa, F.O., Neuparth, T., Correia, A.D. and Costa, M.H., 2005. Multi-level assessment of chronic toxicity of estuarine sediments with the amphipod *Gammarus locusta*: II. Organism and population-level endpoints. *Marine Environmental Research*, 60: 93-110. Doi: 10.1016/j.marenvres.2004.08.005.

Costa, F.O., Dewaard, J.R., Boutillier, J., Ratnasingham, S., Dooh, R.T., Hajibabaei, M. and Hebert, P.D.N., 2007. Biological identifications through DNA barcodes: the case of the Crustacea.Canadian. *Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 64: 272-295. Doi: 10.1139/f07-008

Englisch, U., Coleman, C.O. and Wagele, J.W., 2003. First observations on the phylogeny of the families Gammaridae, Crangonyctidae, Melitidae, Niphargidae, Megaluropidae and edicerotidae (Amphipoda, Crustacea), using small subunit Rdna gene sequences. *Journal of Natural History*, 37: 2461-2486. Doi: 10.1080/00222930210144352

Fialkowski, W. and Rainbow, P.S., 2006. The discriminatory power of two biomonitors of trace metal bioavailabilities in freshwater streams. *Water Research*, 40: 1805-1810. Doi: 10.1016/j.watres.2006.02.035

Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R. and Vrijenhoek, R., 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3: 294-299.

[Downloaded from isfj.ir on 2026-10-31]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1399.29.3.3.5]

Franklin, J.B., Fernando, S.A., Chalke, B.A. and Krishnan, K.S., 2007. Radular morphology of *Conus* (Gastropoda:Caenogastropoda: Conidae) from India. *Molluscan Research*, 27(3):111-122.

Grabowski, M. and Pesi, V.C., 2007. New data on the distribution and checklist of fresh- and brackishwater Gammaridae, Pontogammaridae and Behningiellidae (Amphipoda) in Bulgaria. Lauterbornia, 59: 53-62.

Hebert, P.D.N., Cywinska, A., Ball, S.L. and deWaard, J.R., 2003. Biological identifications through DNA barcodes. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences., 7(1512): 313-321. Doi: 10.1098/rspb.2002.2218.

Hebert, P.D.N., Cywinska, A., Ball, S.L. and deWaard, J.R., 2003. Identification of birds through DNA barcodes. *A Peer-Reviewed Open-Access Journal.* 10(2): 1657-1663 (e312). Doi: 10.1371/journal.pbio.0020312

Hou, Z., Fu, J. and Li, S., 2007. A molecular phylogeny of the genus *Gammarus* (Crustacea: Amphipoda) based on mitochondrial and nuclear gene sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 45: 596-611. Doi: 10.1016/j.ympev.2007.06.006

Ironside, J.E., Smith, J.E., Hatcher, M.J., Sharpe, R.G., Rollinson, D. and Dunn, A.M., 2003. Two species of feminizing microsporidian parasite coexist in populations of *Gammarus duebeni*. *J. Evol. Biol*, 16: 467-473.

Kaas, Q., Westermann, J.C. and Craik, D.J., 2010. Conopeptide characterization and classifications: An analysis using ConoServer. *Toxicon*, 55(8): 1491-1509. Doi: 10.1016/j.toxicon.2010.03.002

Karaman, G.S. and Pinkester, S., 1977. Fresh water Gammarus species from Europe, north Africa and adjacent regions of Asia (Crustacea: Amphipoda) *Gammarus pulex*- group and related species. *Bijdragen tot de Dierkunde*, 47(1): 97.

Karaman, G.S., 1934. Über asiatische Süsswassergammariden. *Zoologischer Anzeiger*, 106: 127-134. [In German]

Karaman, G.S., 1969. Bemerkungen über Gammarus komareki Schäf., Sein Taxonomie und Verbreitung. *Black Fragment*, 6: 33-44. [In German].

Kelly, D.W., Dick, J.T.A. and Montgomery, Y.I., 2002. The functional role of *Gammarus* (Crustacea, Amphipoda): shredders, predators or both? *Hydrobiologia*, 485: 199-203. Doi: 10.1023/A:1021370405349

Khalaji-Pirbalouty, V. and Sari, A., 2004. Biogeography of amphipods (Crustacea: Amphipoda, Gammaridae) from the Central Zagros mountains, Iran, with descriptions of two new species. *Journal of Natural History*, 38(9): 2425-2445. Doi:10.1080/00222930310001647406.

Khalaji-Pirbalouty, V. and Sari, A., 2006. Description of *Gammarus balutchi* sp. nov. (Amphipoda: Gammaridae) from Iran, based on light and Electron microscopy. *Zoologische Mededelingen*, 80(6): 91-100. Doi:10.11646/ zootaxa.2894.1.3.

Knowlton, N., 2000. Molecular genetic analyses of species boundaries in the sea. *Hydrobiologia*, 420:73-90. Doi: 10.1023/A:1003933603879.

Knudsen, B., Knudsen, T., Flensborg, M., Sandmann, H., Heltzen, M., Andersen, A., Dickenson, M., Bardram, J., Steffensen, P.J., Mønsted, S., Lauritzen, T., Forsberg, R., Thanbichler, A., Bendtsen, J.D., Gorlitz, L., Rasmussen, J., Tordrup, D., Værum, M., Ravn, M.N., Hachenberg, C., Fisker, E., Dekker, P., De Meza, J., Hein, A.M.K., Sinding, J.B., Quorning, J., Hvam, K., Mikkelsen, S., Liboriussen, P., Grydholt, J.,

[Downloaded from isfj.ir on 2026-10-31]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1399.29.3.3.5]

Handberg, H., Bundgaard, M., Joecker, A., Simonsen, M., Nielsen, P.R.L., Joecker, A., Fleischer, P., Jakobsen, J., Juul, S., Appelt, U., Fejes, A. and Christensen, A.S., 2012. CLC Sequence Viewer, 6.7.1. CLC bio. 2P.

Kohn, A.J., 2003. Infaunal invertebrates of an intertidal sand flat, Dampier, Western Australia.pp: 109-113. In: Wells F.E., Walker D.I. and Jones D.S. (Eds.). Proceedings of the Eleventh International Marine Biological Workshop: The Marine Flora and Fauna of ampier.

Kohn, A.J., 1990. Tempo and mode of evolution in Conidae. *Malacologia*, 32: 55-67.

Kostadinova, A. and Mavrodieva, R.S., 2005. Microphallids in *Gammarus insensibilis* Stock, 1966 from a Black Sea lagoon: host response to infection. *Parasitology*, 131: 347-354. doi: 10.1017/s0031182005007845.

Kumar, S., Stecher, G. and Tamura, K., 2015. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. Molecular Biology and Evolution.

Lipinskaya, T., Radulovici, A. and Makaranka, A., 2018. First DNA barcoding based record of *Echinogammarus trichiatus* (Martynov, 1932) (Crustacea, Gammaridae) in Belarus. BioInvasions Records. 7(1): 55-60. Doi: 10.3391/bir.2018.7.1.08

Lorenz, F. and Puillandre, N., 2015. *Conus hughmorrisoni*, a new species of cone snail from New Ireland, Papua New Guinea (Gastropoda: Conidae). *European Journal of Taxonomy*, 29: 1-15. Doi: 10.5852/ejt.2015.129.

MacNeil, C., Prenter, J., Briffa, M., Fielding, N.J., Dick, J.T.A., Riddell, G.E., Hatcher, M.J. and Dunn, A.M., 2004. The replacement of a native freshwater amphipod by an invader: roles for environmental degradation and intraguild predation. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 61: 1627-1635. Doi: 10.1139/f04-091

Mateus, A. and Mateus, E., 1990. Etude d'une collection d'amphipodes spécialement du sud-ouest asiatique- du Muséum d'Historie Naturelle de Vienne (Autriche). *Annalen Des Naturhistorischen Museums in Wien*, 19(B): 273-331.

Meyran, J.C., Monnerot, M. and Taberlet, P., 1997. Taxonomic status and phylogenetic relationships of some species of *Gammarus* (Crustacea, amphipoda) deduced from mitochondrial DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 8: 1-10.

Monaghan, M.T., Balke, M., Gregory, T.R. and Vogler, A.P., 2005. DNA-based species delineation in tropical beetles using mitochondrial and nuclear markers. Philosophical Transactions of the Royal Society B: *Biological Sciences*, 360: 1925-1933. Doi: 10.1098/rstb.2005.1724.

Olivera, B.M., 2006. Conus peptides: Biodiversity-based discovery and exogenomics. *The Journal of Biological Chemistry*, 281(42): 31173-31177. Doi: 10.1074/jbc. R600020200.

Özbek, M., Özkan, N. and Çamur-Elipek, B., 2017. Freshwater and Brackish Amphipods (Crustacea: Amphipoda) from Turkish Thrace Region (Including Çanakkale Province). *Acta Zoologica Bulgarica*, 69 (4): 493-499.

Ozbek, M. and Rasouli, H., 2014. *Gammarus komareki* aznavensis subsp. nov., a new amphipod subspecies from Iran (Amphipoda: Gammaridae). *Turkish Journal of Zoology*, 38(3): 326-333. Doi: 10.3906/zoo-1306-1

Pesce, G.L., Pace, R. and Maggi, D., 1982. Ricerchi faunistiche in acque sotterranee fratiche de l´Iran nordoccidetale. *Rivis Idrobiol.*21(1/3): 37-74. [In French]

[Downloaded from isfj.ir on 2026-10-31]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1399.29.3.3.5]

Puillandre, N., Lambert, A., Brouillet, S. and Achaz, G., 2012. ABGD, Automatic Barcode Gap Discovery for primary species delimitation. *Mol. Ecol*, 21: 1864-1877.

Ruffo, S., 1979. Descrizione di due nuovi Anfipodi anoftalmi dell Iran e del Madagascar. Bollettino del Museo Civvico di Storia Naturale, Verona, 6: 419-440.

Stock, J.H., 1998. The systematic of certain Ponto-Caspian Gammaridae (Crustacea, Amphipoda). Mitt. *Hamburg Zoological Museum*, 70: 75-95.

Tsoi, K.H. and Chu, K.H., 2005. Sexual dimorphism and reproduction of the amphipod *Hyale crassicornis* Haswell (Gammaridea: Hyalidae). *Zoological Studies*, 44(3): 382-392. Doi: 10.1111/azo.12267

Vainol, A.R., Witt, J.D.S., Grabowski, M. and Bradbury, J.H., 2008. Global diversity of amphipods (Amphipoda: Crustacea) in freshwater. *Hydrobiologia*, 595: 241-255. Doi: 10.1007/s10750-007-9020-6.

Zamanpoor, M., Grabowski, M., Poeckl, M. and Schiemer, F., 2011. Taxonomic review of freshwater *Gammarus* (Crustacea: Amphipoda) from Iran. *Zootaxa*, 3140: 1-14. Doi: 10.11646/zootaxa.3140.1.1

[Downloaded from isfj.ir on 2026-10-31]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1399.29.3.3.5]

Molecular and phylogenic identification of *Gammarus komareki* species (Gammaridae) from the Jajrood River using DNA barcoding method

Yousefi Siahkalroudi S.[1*]; Yousefi Siahkalroudi H.[1]; Chenari F.[2]; Khatami Sh.[3]

1. Department of Biology, Faculty of Biological Sciences, Varamin-Pishva branch, Islamic Azad University, Pishva, Iran
2. Research and Development of Mahiran, Protein Gostar Sina co. Tehran, Iran
3. Department of Marine Biology, Faculty of Natural Resources, Bandar Abbas branch, Islamic Azad University, Bandar Abbas, Iran

Abstract

Gammarus (Crustacea: Amphipoda) are Gammaridae family that play an important role in food chain, environmental refining of organic matter and high sensitivity to environmental contamination. Therefore, it is important to identify them. Since the identification of the genus *Gammarus* is very difficult due to similar morphological features, the aim of the present study was to molecular identification and investigation of the phylogenetic relationships of *G. komareki* from the Jajrood River, east of Tehran compared to other parts of Iran and the rest of the world. For this purpose, sampling of *G. komareki* species in Jajrood River was done in season from October 2013 to July 2014. Samples were collected by a small manual tour. For molecular studies, some tissue was isolated from each sample with scalpel and fixed in 95% ethyl alcohol. The DNA of the samples was then extracted using the CTAB method and the gene fragment of a mitochondrial cytochrome oxidase (COI) subunit was amplified and sequenced. After gene fragment amplification and sequencing, Neighbor Joining and Maximum Likelihood trees were plotted using MEGA7 software. The results of the present study showed that although the specimens were morphologically belonging to *Gammarus komareki* species reported from other parts of Iran, Molecular studies showed that the samples of the present study were divided into two categories by being placed in two different clouds. Therefore, it is possible that these specimens may belong to separate species, which needs further investigation with other genetic markers.

Keywords: Genetic diversity, *Gammarus*, Jajrood, The east of Tehran, Iran

[*]Corresponding author

[Downloaded from isfj.ir on 2026-10-31]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1399.29.3.3.5]