

روابط شجره‌شناسی و جغرافیایی برخی گونه‌های جنس *Capoeta* در حوضه‌های دجله، خلیج فارس، کرمان-نائین، نمک، تجن و خزر

Phylogenetic and geographic relationships of some species of the genus *Capoeta* in the Tigris, Persian Gulf, Kerman-Naeen, Namak, Tezdjen, and Caspian basins

ایرج هاشم زاده سقرلو^{۱*}، اصغر عبدلی^۲، راضیه پوراحمد^۱

۱- استادیاران، دانشگاه شهرکرد

۲- دانشیار، دانشگاه شهید بهشتی

Hashemzadeh Segherloo I^{*1}, Abdoli A², Purahmad R¹

1. Assistant Professors, University of Shahr-e-Kord, Iran

2. Associate Professor, Shahid Beheshti University

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: ihashem@nres.sku.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۹۳/۸/۱۰ - تاریخ پذیرش: ۹۴/۲/۱۵)

چکیده

در این مطالعه ۶۰ قطعه از گونه‌های مختلف جنس *Capoeta* در حوضه‌های دجله، کارون، مند، نائین-کرمان، نمک، خزر و تجن با استفاده از ژن *COI* مورد مطالعه قرار گرفتند. در مجموع ۱۹ هاپلوتاایپ مشاهده شد. در بین گونه‌های مورد بررسی سه گروه شجره‌شناسی شامل گروه *Capoeta damascina*، *Capoeta trutta* و *Capoeta capoeta* مشاهده شد. در گروه‌های یادشده هاپلوتاایپ‌های *C. buhesi* در حوضه نمک و کارون دارای رابطه بسیار نزدیکی بودند که این موضوع می‌تواند نشان‌دهنده رابطه احتمالی این حوضه‌ها در گذشته باشد. در حوضه خزر نیز هاپلوتاایپی مشاهده شد که با هاپلوتاایپ‌های *C. aculeata* نزدیکی زیادی داشت و این موضوع ممکن است نشان‌دهنده وجود گونه *C. aculeata* در حوضه خزر باشد. گونه‌های *C. barroisi* و *C. trutta* دارای فاصله ژنتیکی ۰/۶۵ تا ۰/۷۹ درصد بودند که این فاصله کم نشان‌دهنده رابطه تکاملی نزدیک آنها است.

واژه‌های کلیدی

Capoeta

ژن *COI*

هاپلوتاایپ

فاصله ژنتیکی

رابطه تکاملی

مقدمه

فون ماهیان آب شیرین ایران به واسطه موقعیت جغرافیایی آن که در بین مناطق آفریقا، اورینتال و پال‌آرکتیک قرار دارد، شامل گونه‌های مختلفی از ماهیان آب شیرین با منشا شرقی، آفریقایی، پال-آرکتیک و گروهی از ماهیانی است که ظاهراً خاستگاه آنها حوضه بین‌النهرین است (Abdoli 2000; Coad 2014). گروهی از گونه‌ها مثل گونه‌های *Capoeta* ظاهراً در منطقه آناتولی و بین‌النهرین تکامل پیدا کرده و در سایر مناطق خاورمیان پراکنده شده‌اند. گونه‌های ماهیان آب شیرین که دارای پراکنش گسترده‌ای هستند، به دلیل جدایی جغرافیایی و محدود بودن در زیستگاه‌های آب شیرین و عدم مهاجرت از طریق آب‌های شور، به گروه مناسبی برای بررسی‌های جغرافیای زیستی و قضاوت در مورد حوادث گذشته و حتی برای بررسی فرایندهای زیستی یا زمین‌شناسی، مبدل شده‌اند (Bianco 1990). جنس‌های ماهیانی که گونه‌های آنها در حوضه‌های مختلف وجود داشته و پراکنش وسیع‌تری دارند، برای بررسی‌های جغرافیای زیستی مفیدتر هستند. در ایران گونه‌های ماهیان آب شیرین شامل گونه‌های جنس *Capoeta*، *Barbus lacerta*، ماهی گوره‌خری، گونه *Salmo*، *Squalius cephalus*، *Albornoides*، *Alburnus* spp.، *Garra* spp.، *Cyprinion* spp.، *trutta* و تعدادی از گونه‌های دیگر دارای پراکنش بین حوضه‌ای هستند (Abdoli 2000). با توجه به پراکنش گونه‌های یادشده در بیش از یک حوضه و با طرح منشا مشترک برای گونه‌های یک جنس و با در نظر گرفتن فرایند تمایز در نتیجه جدایی جغرافیایی¹ (Freeland 2011) و گونه‌زایی پس از آن می‌توان با توجه به ارتباطات ژنتیکی گونه‌های یک جنس و با جمعیت‌های یک گونه در مورد حوادث زیستی و جغرافیایی که در گذشته مشاهدات امروزی را رقم زده است قضاوت کرد (Jing et al. 2013).

یکی از جنس‌های خانواده کپورماهیان (Cyprinidae) که در خاورمیانه پراکنش وسیعی دارد، جنس سیاه‌ماهیان (*Capoeta*) است که تاکنون ۲۰ گونه از آن توصیف شده است. برپایه اطلاعات موجود تاکنون ۷ گونه از جنس یادشده در ایران

توصیف شده است (Coad 2014). گونه‌های مختلف این جنس در ایران در حوضه‌های مختلف آب‌های داخلی شامل حوضه کارون (*C. trutta*، *C. cf. buhsei*، *C. barroisi*، *C. aculeata*)، دجله (*C. damascina* و *C. trutta*) نمک (*C. aculeata*، *C. buhsei* و *C. damascina*)، کر (*C. damascina* و *C. saadi*)، خزر (*C. capoeta*)، ارومیه (*C. capoeta*)، کرمان-نابین (*C. aculeate*)، خلیج فارس (*C. barroisi*، *C. intermedia*، *C. damascina* و *C. saadi*)، کویر (*C. damascina*)، تجن (*C. fusca* و *C. heratensis*)، بجنستان (*C. fusca*)، لوت (*C. fusca*)، سیستان (*C. fusca*)، جازموریان (*C. damascina*)، اصفهان (*C. aculeate*) پراکنش وسیعی دارند (Abdoli 2000). با توجه به پراکنش وسیع گونه‌های این جنس می‌توان آن را یکی از جنس‌های جذاب برای بررسی جغرافیای زیستی و همچنین برای بررسی روابط قدیمی در بین حوضه‌هایی است که امروزه ارتباطی با هم ندارند. در کنار موارد یادشده، در رابطه با رده‌بندی و روابط شجره‌شناسی ماهیان این جنس در ایران مطالعات خاصی صورت نگرفته است. مطالعات انجام شده بیشتر با بررسی‌های ریخت‌شناسی و مقایسه‌های ژنتیکی بوده‌اند که سوالات جمعیتی را پیگیری کرده‌اند. از مطالعات انجام شده در ایران در مورد گونه‌های این جنس می‌توان به بررسی ریخت-سنجی، سن و رشد ماهی *C. capoeta gracilis* (Gholizadeh et al. 2009)، بررسی پویایی جمعیت ماهی *C. trutta* (Pouria et al. 2012)، بررسی ریخت‌سنجی ماهی *C. capoeta gracilis* (Anvarifar et al., 2011)، بررسی خصوصیات زیستی و ریخت-سنجی ماهی *C. fusca* (Johari et al. 1387; Ostovari et al. 1391; Johari et al. 2009; Patimar and Mohammadzadeh 2011)، مقایسه ریخت‌شناسی جنس نر و ماده ماهی *C. capoeta* (Johari et al. 2010) و مطالعه ریخت‌شناسی *C. damascina* (Samaee and Patzner 2011) اشاره کرد. از مطالعات ژنتیکی انجام شده در ایران در مورد جنس *Capoeta* می‌توان به مطالعات جمعیتی انجام شده در مورد گونه *C. capoeta gracilis* در رودخانه‌های شمال ایران (Samaee et al. 2006; Anvarifar et al. 2013) و مطالعه تهیه بارکد ژنتیکی ماهیان جنس *Capoeta* در سرشاخه‌های کارون و دجله (Hashemzadeh

¹ Vicariance

(TTGAGCCTCCGTGAAGTGTG) *RCOI20III* مورد استفاده قرار گرفتند (Hashemzadeh et al. 2012). برای انجام عملیات تعیین توالی ژن *COI*، ابتدا این ژن تکثیر شد. هر واکنش PCR به حجم ۲۵ میکرولیتر، شامل ۱۸ میکرولیتر آب مقطر، ۲/۵ میکرولیتر بافر ۱۰X، ۰/۵ میکرولیتر کلرید منیزیم ۵۰ میلی مولار، ۰/۵ میکرولیتر از محلول ۱۰ میلی مولار هر آغازگر، ۰/۵ میکرولیتر dNTP ۲۵ میلی مولار، ۰/۵ میکرولیتر آنزیم بیوتگ (۵ واحد در میکرولیتر) و دو میکرولیتر DNA بود (Estoup et al. 1996). شرایط دمایی واکنش زنجیره پلیمراز شامل یک چرخه ۱۰ دقیقه-ای در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد، ۳۵ چرخه ۹۴ درجه سانتی گراد (یک دقیقه)، ۵۵ درجه سانتی گراد (یک دقیقه) و ۷۲ درجه سانتی-گراد (یک دقیقه) و در نهایت یک چرخه ۱۵ دقیقه‌ای در ۷۲ درجه سانتی گراد بود. در نتیجه واکنش PCR، یک قطعه از ژنوم میتوکندریایی به طول تقریبی ۱۱۰۰ جفت باز تکثیر شد. برای انجام بررسی‌های شجره‌شناسی، توالی انتهای 5' ژن *COI* با استفاده از دستگاه ABI 3100 تعیین شد. برای انجام عملیات تعیین توالی از آغازگر پیشرو (*FCOI20*) استفاده شد. توالی‌های خام به صورت چشمی با استفاده از نرم‌افزار Bioedit V 7.1.3 ویرایش شدند. عملیات انطباق توالی‌های *COI* با استفاده از نرم-افزار ClustalX (1.83) (Thompson et al. 1997) انجام شد. به منظور یافتن توالی‌های مشابه برای استفاده در بررسی شجره‌شناسی، هاپلوتا‌پ‌های بدست آمده با استفاده از جستجوی Blast در بانک ژن (NCBI) با سایر توالی‌های موجود برای گونه‌های کپورماهیان (Cyprinidae) مقایسه شدند (Altschul et al. 1997) و تعدادی از ژن‌های موجود در بانک ژن نیز در بررسی‌های رده-بندی مورد استفاده قرار گرفت (شکل ۲). پس از انطباق و یکپارچه کردن توالی‌ها، یک قطعه به طول ۶۳۵ جفت باز انتخاب شد، که در بین ماهیان مورد مطالعه و توالی‌های موجود در بانک ژن مشترک بود. برای این که شاخص کمی برای مقایسه مقدار تمایز در بین گونه‌ها در دست باشد، از فاصله ژنتیکی K2P (Kimura 1980) محاسبه شده با استفاده از نرم‌افزار MEGA6 استفاده شد (Tamura et al. 2013). برای ترسیم دارنگاره از روش Maximum Parsimoni و Neighbor-Joining موجود در نرم افزار MEGA6 استفاده شد. از توالی‌های ژن *COI* ماهی *Gobio*

(et al. 2014) اشاره کرد. از مطالعات دیگر در مورد ماهیان این جنس می‌توان به بررسی رده‌بندی مولکولی و ریخت‌شناسی مجموعه *C. damascina* (Alwan 2010)، مطالعات گونه‌های مختلف *Capoeta* در قلمروی پراکنش آنها و در ترکیه (Levin et al. 2008; Turan 2012) اشاره کرد. ماهیان جنس *Capoeta* هگزاپلوئید هستند (Alwan 2011) و تکامل آنها احتمالاً از طریق فرایند آلپولی‌پلوئیدی انجام شده است (Machordom and Doadrio 2001; Levin et al. 2012). در ماهیانی که پلی‌پلوئید هستند نمی‌توان از توالی‌های مربوط به ژن-های هسته‌ای که از هردو والد نر و ماده به ارث می‌رسند استفاده کرد (Machordom and Doadrio 2001). با توجه به اینکه ژنوم میتوکندریایی، هاپلوئید بوده و دارای توارث مادری است، می‌توان از آن برای مطالعه گذشته تکاملی شجره مادری استفاده کرد. در این مطالعه هم با در نظر گرفتن ملاحظات یاد شده از ژن *COI* که امروزه در مورد بسیاری از گونه‌های جانوری و به ویژه ماهیان از آن استفاده می‌شود، استفاده شد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری از ماهیان مورد استفاده در این مطالعه در سال‌های ۱۳۸۶ تا ۱۳۹۲ با استفاده از الکتروشوکر و ساچوک در رودخانه‌ها و سایر منابع آبی حوضه‌های دجله، کارون، کرمان-نابین، نمک، خزر، کر، مند و تجن انجام شد. در این مطالعه تعداد ۱۰ قطعه *C. damascina*، ۱۲ قطعه *C. aculeate*، ۱۵ قطعه *C. buhsei* و ۱۰ قطعه *C. trutta*، ۵ قطعه *C. heratensis*، ۲ قطعه *C. capoeta*، ۴ قطعه *C. saedii* و ۲ قطعه *C. barroisi* از مناطق مورد مطالعه، استفاده شد (شکل ۱). شناسایی گونه‌های برپایه مشخصات ارائه شده در (Coad 2014) و (Abdoli 2000) انجام شد. در زمان نمونه‌برداری باله سینه‌ای یا شکمی سمت راست ماهیان قطع و در الكل اتانل ۹۶ درصد برای مطالعات ژنتیکی تثبیت شد و تعدادی از ماهیان نمونه‌برداری شده در فرمالین ۱۰ درصد جهت نگهداری در آرشیو تثبیت شدند.

نمونه‌های DNA با استفاده از روش Chelex100 استخراج شدند (Estoup et al. 1996). برای تکثیر ژن *COI*، آغازگرهای (5'-AACCTCTGTCTTCGGGGCTA-3') *FCOI20* و

جدول ۱- فاصله ژنتیکی K2P (به درصد) محاسبه شده با نرم افزار MEGA 6 برای هاپلوتایپ های مشاهده شده در گونه های مختلف *Capoeta*

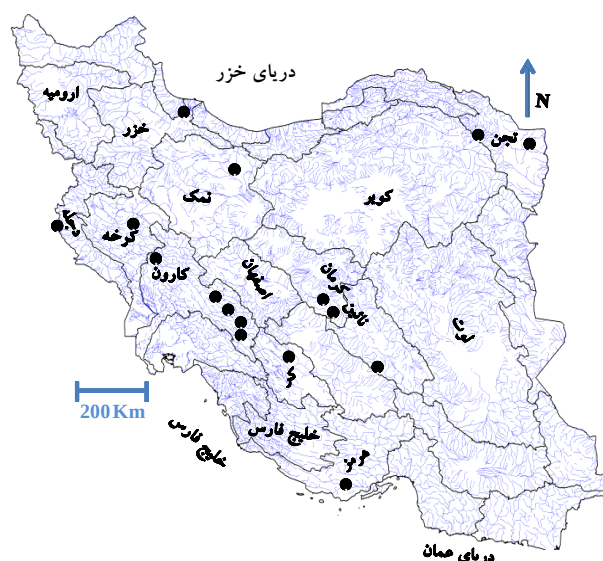
محل_گونه	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲	۱۳	۱۴	۱۵	۱۶	۱۷	۱۸
۱ <i>Capoeta aculeata_Karun</i>																		
۲ <i>Capoeta aculeata_Karun</i>	0.39																	
۳ <i>Capoeta aculeata_Karkheh</i>	0.26	0.13																
۴ <i>Capoeta barroisi_Mond</i>	7.25	7.10	7.25															
۵ <i>Capoeta barroisi_Mond</i>	7.10	6.95	7.10	0.13														
۶ <i>Capoeta buhsei_Jajrood</i>	4.77	4.34	4.49	6.06	5.91													
۷ <i>Capoeta buhsei_Jajrood</i>	4.92	4.49	4.63	6.21	6.06	0.13												
۸ <i>Capoeta buhsei_Karun</i>	4.92	4.49	4.63	6.21	6.06	0.39	0.52											
۹ <i>Capoeta capoeta_Sefidrud</i>	0.79	0.39	0.52	7.25	7.10	4.20	4.34	4.34										
۱۰ <i>Capoeta damascina_Leileh</i>	4.62	4.48	4.62	6.05	5.90	2.26	2.39	2.39	4.33									
۱۱ <i>Capoeta heratensis_Tajan</i>	2.26	1.85	1.99	7.39	7.24	4.34	4.48	4.48	1.72	4.05								
۱۲ <i>Capoeta saadii_Yazd</i>	4.20	3.78	3.92	6.20	6.05	0.92	1.05	1.18	3.64	2.25	4.33							
۱۳ <i>Capoeta saadii_Yazd</i>	4.34	3.92	4.06	6.35	6.20	1.05	1.18	1.32	3.78	2.39	4.48	0.13						
۱۴ <i>Capoeta sp._Karkheh</i>	3.92	3.78	3.92	5.62	5.48	2.13	2.26	2.53	3.64	1.98	4.06	1.99	2.12					
۱۵ <i>Capoeta sp._Karkheh</i>	3.78	3.64	3.78	5.77	5.62	1.99	2.13	2.40	3.50	2.12	3.92	1.85	1.99	0.13				
۱۶ <i>Capoeta saadii_Kerman</i>	5.05	4.62	4.77	6.49	6.35	1.45	1.58	1.72	4.48	2.80	5.19	0.79	0.92	2.53	2.67			
۱۷ <i>Capoeta saadii_Kerman</i>	4.91	4.48	4.62	6.64	6.49	1.32	1.45	1.58	4.34	2.39	4.76	0.65	0.79	2.39	2.53	0.39		
۱۸ <i>Capoeta trutta_Palangan</i>	6.50	6.35	6.50	0.65	0.52	5.62	5.77	5.77	6.50	5.61	6.94	5.47	5.62	4.90	5.05	5.76	5.91	
۱۹ <i>Capoeta trutta_Karun</i>	6.65	6.50	6.65	0.79	0.65	5.77	5.91	5.91	6.65	5.75	7.09	5.62	5.76	5.05	5.19	5.91	6.05	0.13

(Tsigenopoulos et al. 2010). تجزیه به مقدار ۱۰ میلیون نسل انجام شد که نمونه‌گیری هر ۱۰۰۰ نسل انجام می‌شد و در نهایت ۱۰ درصد اولیه نمونه‌ها برای دقت بیشتر در تنظیم ساعت مولکولی حذف شدند.

نتایج و بحث

در این بررسی ۱۹ هاپلوتایپ جدید به طول ۶۵۰ جفت باز مشاهده شد. هر دو دارنگاره ترسیم شده با روش‌های الحاق همسایگی (NJ) و ماکزیمم پارسیمونی (MP) دارای شکل مشابهی بودند (شکل ۲) که تنها یکی از دارنگاره‌های یادشده نشان داده شده است. گونه *C. saadii* از یزد و کرمان در یک خوشه قرار گرفته و هاپلوتایپ‌های متعلق به گونه *C. buhsei* متعلق به حوضه کارون و نمک رابطه نزدیکی را با هاپلوتایپ‌های *C. saadii* نشان دادند. در بیشتر موارد خوشه‌های تشکیل شده در هر دو دارنگاره با ضریب بوسترپ بالا حمایت شدند. مدت زمان

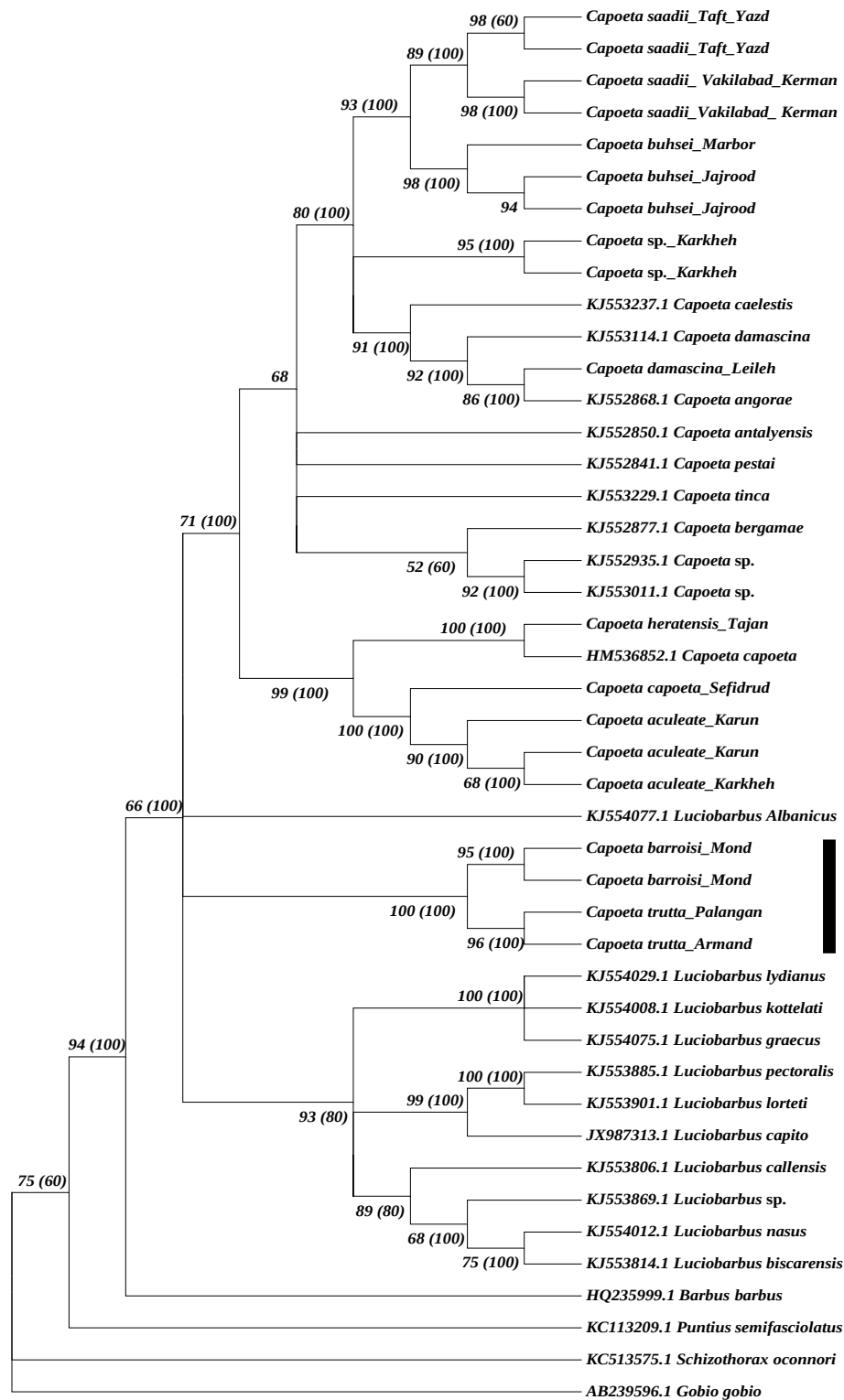
Schizothorax oconari و *gobio* به عنوان گروه‌های خارجی استفاده شد. برای تایید اعتبار شاخه‌های دارنگاره از آزمون بوسترپ با ۱۰۰۰ تکرار استفاده شد. برای ترسیم شبکه هاپلوتایپی و مشاهده روابط هاپلوتایپ‌های به دست آمده از نرم‌افزار TCS 1.21 (Clement et al. 2000) استفاده شد. برای مشاهده هاپلوتایپ‌ها در یک شبکه هاپلوتایپی، تعداد گام‌های جهشی در نرم‌افزار افزایش داده شد. برای تخمین مدت زمان تمایز گونه‌ها از جدیدترین اطلاعات فسیل‌شناسی (Böhme et al. 2003) استفاده شد. به این منظور از نرم‌افزار Beast v.1.7.5 استفاده شد (Drummond and Rambaut 2007). ساعت مولکولی با منظور کردن زمان دو تا ۵/۳ میلیون سال برای جد مشترک ماهیان جنس *Capoeta* و ۹ تا ۱۱/۱ میلیون سال برای جد مشترک گونه‌های *Luciobarbus* تنظیم شد. پارامترهای مورد استفاده شامل مدل SRD06 برای تکامل توالی‌ها، مدل ساعت مولکولی UCLN و پیش فرض Yule بود و سایر پارامترها بدون تغییر باقی ماندند



شکل ۱- موقعیت نمونه برداری‌های انجام شده

جنس در ترکیه وجود دارد، شاید بتوان خاستگاه آنها را منطقه آناتولی دانست. با قبول این فرض، ممکن است یکی از مسیرهای راهیابی هاپلوتایپ‌های یادشده به کارون از طریق دجله و سپس به حوضه‌های نمک و کرمان-نابین از طریق حوضه کارون باشد، اما این فرضیات و تایید آنها نیاز به انجام مطالعات و شواهد علمی بیشتری است. برای بحث در مورد مدت زمان جدایی هاپلوتایپ‌های مشاهده شده در حوضه کارون و نمک می‌توان از ضرایب ساعت مولکولی مختلفی استفاده کرد که توسط پژوهشگران مختلف تنظیم و ارائه شده است. یکی از ضرایب ارائه شده که بر پایه جدیدترین اطلاعات فسیل‌شناسی و با توجه به تمایز گونه‌های مختلف این جنس در ژن *cyt-b* ارائه شده است، ضریب ساعت مولکولی ۰/۵۲ درصد در میلیون سال است (Levin et al. 2012). با توجه به ضریب یادشده و مقدار تمایز تقریبی ۰/۴ درصد در بین هاپلوتایپ‌های کارون و نمک می‌توان عنوان کرد که رابطه بین حوضه‌ای یادشده قدمتی کمتر از یک میلیون سال دارد و با توجه به اینکه قدمت فرایندهای کوهزایی در منطقه زاگرس بسیار پیشتر از این زمان است، شاید بتوان این ارتباطات را به فرایندهای موضعی مثل تغییر حوضه آبریز رودخانه‌ها و انحراف مسیر آنها به حوضه‌های مجاور دانست (Coad 2014). مشاهدات مشابهی در مورد گونه *C. aculeate* هم گزارش شده

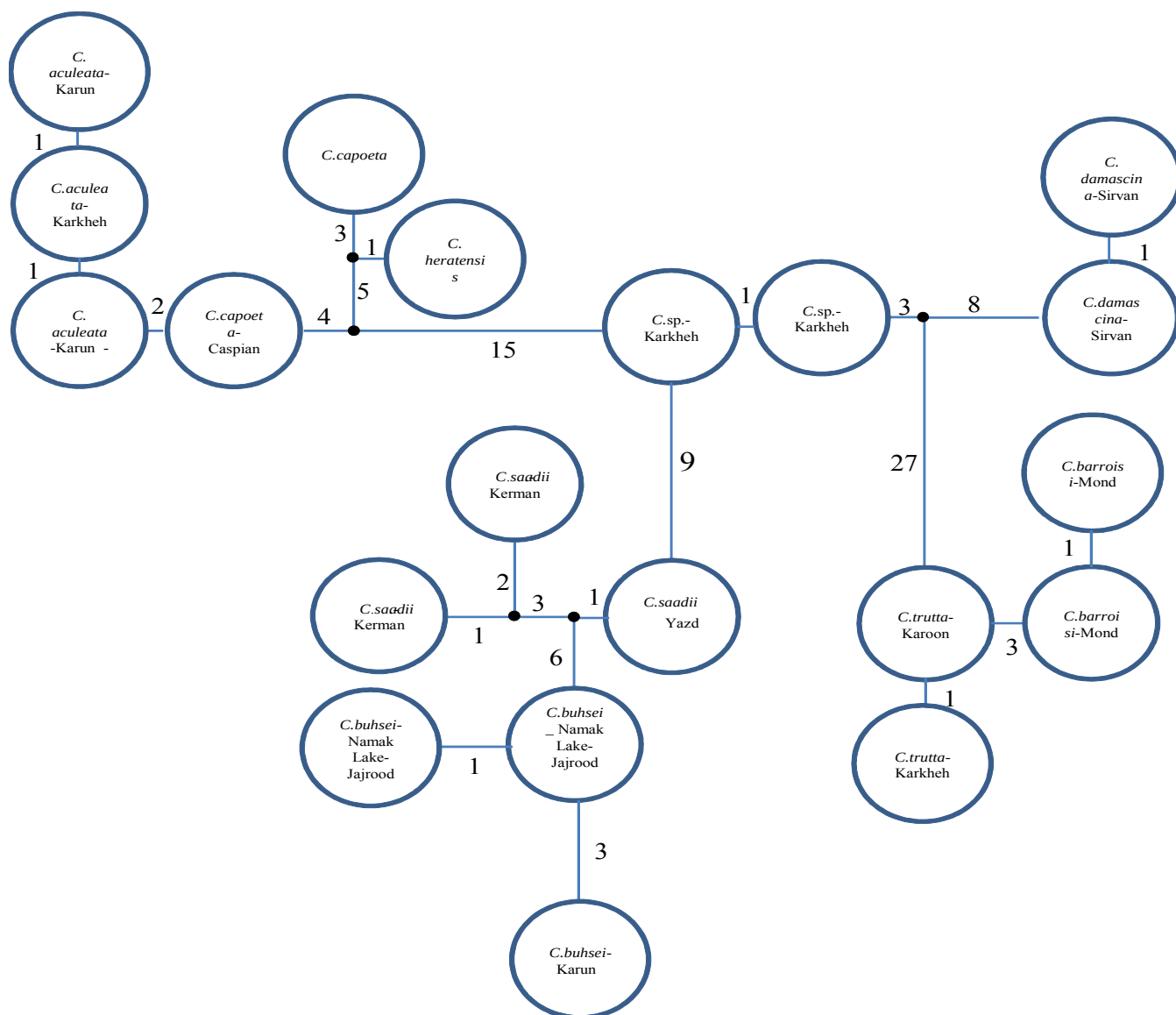
محاسبه شده برای انشقاق گونه‌های *C. saadii* و *C. buhsei* حدود ۱/۵ میلیون سال است (شکل ۴). هاپلوتایپ‌های *C. buhsei* متعلق به حوضه‌های نمک و کارون دارای رابطه نزدیکی بودند و در یک خوشه قرار می‌گیرند. گونه *C. buhsei* پیش‌تر آن‌دیمیک حوضه نمک معرفی شده است، اما با مشاهده نزدیکی هاپلوتایپ‌های یادشده، می‌توان محدوده پراکنش این گونه را در حوضه کارون نیز معرفی کرد. گونه *C. buhsei* رابطه نزدیکتری با گونه *C. saadii* در مقایسه با *C. dmascina* در رودخانه سیروان یا کرخه دارد (شکل ۳ و جدول ۱). این گونه یا گونه‌های نزدیک در حوضه‌های بینابینی مثل زاینده رود گزارش نشده است و وجود آن در دو حوضه کارون و نمک که از نظر جغرافیایی جدا هستند شاید نشان‌دهنده رابطه احتمالی در بین دو حوضه یادشده در گذشته باشد. رابطه نزدیک هاپلوتایپ‌های حوضه نمک، کارون و نائین-کرمان نشان‌دهنده ارتباط بین حوضه‌ای، حوضه‌های یادشده در گذشته است، اما در مورد این که این ارتباط چگونه بوده و هاپلوتایپ‌های یادشده از کدام حوضه به سایر حوضه‌ها راه یافته‌اند نمی‌توان با تکیه بر داده‌های این مطالعه قضاوت کرد. با توجه به این که قدیمی‌ترین فسیل‌های جنس *Capoeta* در منطقه آارات با قدمت دو تا ۵ میلیون سال کشف شده (Böhme et al. 2003)، و بیشترین تنوع ماهیان این



شکل ۲- دارنگاره ترسیم شده به روش الحاق همسایگی برای ژن *COI*. اعداد ارائه شده بر روی شاخه‌های مقادیر بضرپ بوسترپ هستند که مقادیر مرتبط با روش ماکزیمم پارسیمونی در داخل پراتنز ارائه شده‌اند. کدهای ارائه شده در کنار اسامی علمی گونه‌های برگرفته از بانک ژن، شماره‌های دسترسی به توالی‌های مورد استفاده هستند. خطوط سیاه رنگ عکودی در مقابل دارنگاره نشان‌دهنده گونه‌های مورد استفاده در این مطالعه هستند.

است (Babaei 2014). هاپلوتا‌یپ‌های دیگری در حوضه کرخه مشاهده شد، که فاصله ژنتیکی آن نسبت به *C. damascina* و *C. buhsei* بینایی بود (جدول ۱). مدت زمان جدایی خوشه *C. damascina* را از خوشه *C. buhsei* می‌توان برپایه داده‌های فسیلی این جنس و تفاوت توالی ژن *COI* آنها حدود ۲/۷ میلیون سال برآورد کرد (شکل ۳). در این گروه که می‌توان آن را مجموعه *C. damascina* دانست گونه‌های دیگری شامل *C. antalyensis*، *C. pestai*، *C. angorae*، *C. tinca* و *C. bergamae* نیز قرار دارند (شکل ۲). Karaman (1969) گونه *C. damascina* را زیرگونه *C. capoeta* می‌داند، اما Krupp (1985) نظر Karaman را بعید می‌داند (Coad 2014). نتایج این مطالعه نیز رابطه نزدیک گونه‌های *C. damascina* و *C. capoeta* را تأیید نمی‌کند (شکل ۲ و ۳). در خوشه دیگر می‌توان گونه‌های *C. capoeta* از حوضه خزر، *C. heratensis* از حوضه تجن، و *C. aculeata* از حوضه‌های کارون و کرخه را نام برد که زمان تمایز آن از گروه *C. damascina* حدود ۴ میلیون سال برآورد می‌شود (شکل ۴). در خوشه یادشده گونه‌های *C. capoeta* ترکیه و *C. heratensis* به هم نزدیک‌تر هستند ولی گونه *C. capoeta* متعلق به حوضه خزر به هاپلوتا‌یپ های *C. aculeata* متعلق به حوضه کارون و نمک نزدیک است (شکل‌های ۲ و ۳). این موضوع احتمالاً مربوط به اشتباه در شناسایی گونه است. ظاهراً نمونه‌های متعلق به رودخانه سفیدرود *C. aculeata* هستند، اما وجود این گونه در حوضه خزر در منابع گزارش نشده است (Coad 2014; Abdoli 2000). با این حال باید در مورد گونه *C. capoeta* در حوضه خزر نمونه‌های آن بررسی شوند تا بتوان در مورد فرضیات جغرافیای زیستی مرتبط با *C. heratensis* با اطلاعات بیشتری قضاوت کرد. با توجه به مواردی که در رابطه با خاستگاه احتمالی جنس *Capoeta* پیشتر گفته شد، وجود گونه *C. heratensis* در حوضه تجن و رابطه نزدیک آن با گونه *Capoeta capoeta* می‌تواند بیان‌کننده نحوه راه‌یابی این گونه به حوضه تجن باشد. مسیر احتمالی راه‌یابی آن را به حوضه تجن می‌توان از طریق حوضه خزر دانست. حوضه تجن در مجاورت حوضه خزر قرار دارد و این رودخانه پس از خروج از ایران در بیابان قره قروم در نزدیکی شهر تجن ترکمنستان ناپدید می‌شود. این حوضه می‌تواند در گذشته با حوضه خزر ارتباط

داشته باشد. از سوی دیگر فاصله ژنتیکی آن نسبت به گونه *C. Capoeta* در حدود ۰/۶۸ درصد است که در مقایسه با فاصله آن نسبت به گونه *C. aculeata* (۱/۷۲ درصد) کمتر بوده و نشان می‌دهد احتمالاً این گونه از حوضه خزر به این منطقه راه یافته است. با این وجود، برای اینکه بتوان فرضیات دقیق‌تری در این مورد ارائه داد باید از نمونه‌های بیشتری در حوضه خزر و حوضه‌های داخلی استفاده کرد. به هرحال این شواهد نشان می‌دهد که گونه *C. aculeata* احتمالاً در حوضه خزر هم وجود دارد که این موضوع باید با شواهد بیشتری تأیید شود. گروه سوم گونه‌های جنس *Capoeta*، گونه های *C. barroisi* و *C. trutta* هستند که در یک خوشه پایه یا اجدادی نسبت به سایر خوشه‌های این جنس قرار می‌گیرند (شکل ۲) و زمان جدایی آنها از سایر خوشه‌های این جنس ۴/۷ میلیون سال برآورد می‌شود (شکل ۴). خوشه مرتبط با آنها با ضریب بوسترپ ۱۰۰ درصد تأیید می‌شود (شکل ۲). فاصله ژنتیکی دو گونه یادشده نسبت به هم ۰/۶-۰/۷ درصد است (جدول ۱) که نشان‌دهنده رابطه تکاملی بسیار نزدیک آنها نسبت به هم است، این مشاهده با یافته‌های Turan (2008) در تناقض است. او گونه *C. barroisi* را زیرگونه *C. damascina* می‌داند، اما در این مطالعه و در مطالعه Levin et al. (2012) و Alwan (2010) نتایج مشابه و همسویی مشاهده شده است و می‌توان بر پایه نتایج حاضر و مطالعات یادشده، نتیجه‌گیری Turan (2008) را مغایر با این نتایج دانست. برپایه نتایج مشاهده می‌شود، گونه‌های *C. trutta* و *C. barroisi* در حدود ۰/۶ میلیون سال قبل از هم تمایز پیدا کرده‌اند (شکل ۴). این تمایز می‌تواند دارای ریشه زیست‌شناختی باشد، زیرا دو گونه یادشده به صورت هم بوم در حال حاضر در حوضه دجله وجود دارند (Coad 2014) و تمایز آنها باید دارای ریشه‌های زیستی مثل زیستگاه مطلوب و یا سایر مواردی باشد که موجب جدایی تولیدمثلی و تمایز آنها شده است، به هرحال باید در مورد ویژگی‌های زیستی، زیستگاه و رفتار این گونه‌ها در طبیعت بررسی بیشتری انجام شود تا بتوان در مورد این فرضیات اظهار نظر کرد. یکی از مکانیسم‌های گونه‌زایی در طبیعت تغییر صفات برای کاهش رقابت است (Pfenning and Pfenning 2010) که می‌تواند افراد یک گونه را از نظر زیستگاه و رفتار جدا کرده و در نهایت جدایی تولیدمثلی و تمایز بیشتر آنها

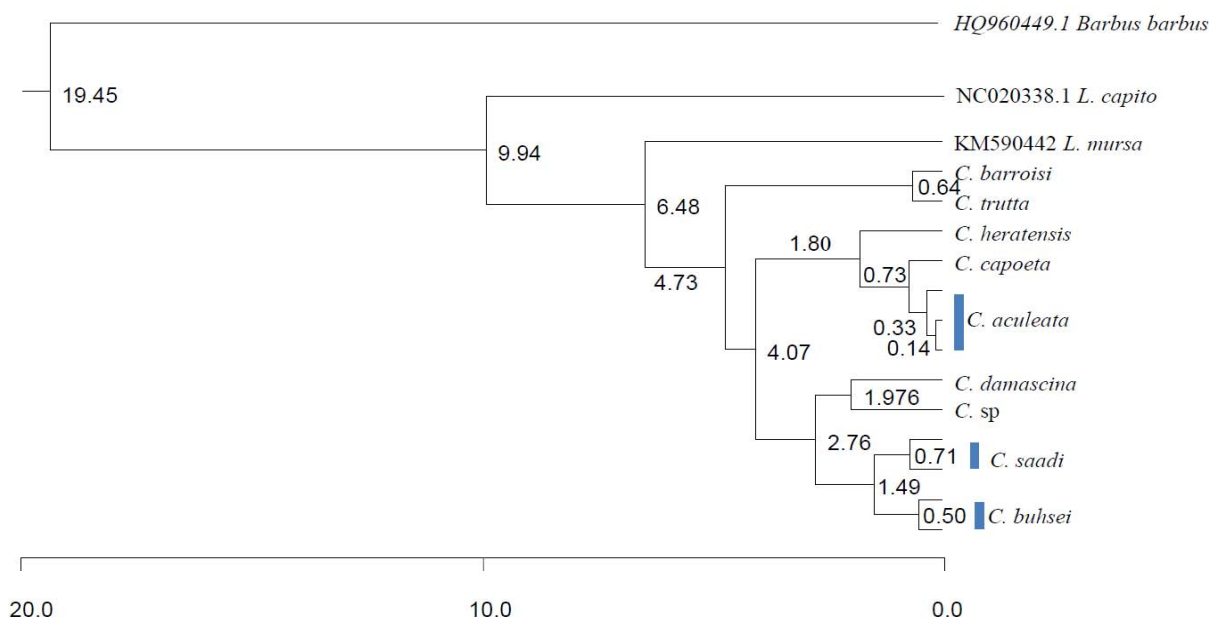


شکل ۳- شبکه هاپلوتایپی ترسیم شده برای گونه‌های مورد مطالعه. اعداد ارائه شده در کنار خطوط نشان‌دهنده تعداد گام‌های جهش تک نوکلئوتیدی در بین هاپلوتایپ‌ها هستند.

با نتایج سایر مطالعات مطابقت دارد (Durand et al. 2002; Tsigenopoulos et al. 2010; Levin et al. 2012). برپایه مطالعات انجام شده توسط سایر پژوهشگران ماهیان *Capoeta* هگزاپلوئید ($2n=150$) هستند و در اثر دورگ‌گیری در بین یکی از گونه‌های جنس *Luciobarbus* (جنس تتراپلوئید) (Levin et al. 2012) و گونه‌ای نامشخص تکامل یافته‌اند. مدت زمان تمایز این جنس از جنس *Luciobarbus* در ساعت مولکولی ارائه شده در شکل ۴ حدود ۶/۵ میلیون سال است.

را در طی زمان در پی داشته باشد. در مورد این گونه‌ها نیز که از لحاظ ریختی متمایز هستند و در توالی ژن بررسی شده هم حدودی از تمایز را نشان می‌دهند، شاید بتوان فرایند تغییر صفات را یکی از عوامل احتمالی تکامل آنها معرفی کرد.

در دارنگاره به دست آمده ملاحظه می‌شود که جنس‌های *Barbus* و *Luciobarbus* و همچنین *Schizothorax* نسبت به جنس *Capoeta* دارای رابطه اجدادی هستند. نزدیک‌ترین جنس به جنس *Capoeta*، جنس *Luciobarbus* است که این مشاهده نیز



شکل ۴ - ساعت مولکولی ترسیم شده برپایه اطلاعات فسیلی. اعداد در محل گره‌ها نشان‌دهنده زمان محاسبه شده برای جدایی شاخه‌ها بر پایه میلیون سال هستند. خط افقی پایین شکل نشان‌دهنده مقیاس زمانی از زمان صفر (حال حاضر) تا ۲۰ میلیون سال قبل است.

نتیجه‌گیری کلی

بر پایه نتایج به دست آمده و مطابق با نتایج مطالعات جدید در مورد جنس *Capoeta* می‌توان ماهیان این جنس را در ایران به سه گروه تکاملی شامل گروه *aculeata* شامل *C. aculeata*، *C. capoeta* و *C. heratensis*، گروه *damascina* شامل *C. damascina*، *C. buhsei*، *C. saadii* و گروه *trutta* شامل *C. trutta* و *barroisi* نسبت داد. در بین هاپلوتایپ‌های کارون و هاپلوتایپ گونه *C. buhsei* حوزه نمک رابطه نزدیکی وجود دارد.

در حوزه خزر هاپلوتایپی مشاهده شد که با گونه *C. aculeata* رابطه بسیار نزدیکی دارد.

سپاسگزاری

این پژوهش با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه شهرکرد و پژوهشکده علوم محیطی دانشگاه شهید بهشتی انجام شده است. نگارندگان بر خود لازم می‌دانند از حامیان مالی این پژوهش و سایر افرادی که در مراحل انجام پژوهش نقش داشته‌اند تقدیر و تشکر به عمل آورند.

منابع

- Abdoli A (2000) The inland water fishes of Iran. Iranian Museum of Nature and Wildlife.
- Altschul SF, Madden TL, Schäffer AA, Zhang J, Zhang Z, Miller W, Lipman DJ (1997) Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Research* 25:3389-3402.
- Alwan N (2010) Systematics, taxonomy, phylogeny and zoogeography of the *Capoeta damascina* species complex (Pisces: Teleostei: Cyprinidae) inferred from comparative morphology and molecular markers. PhD thesis.
- Anvarifar H, Farahmand H, Silva DM, Bastos RP, Anvarifar H (2013) Fourteen years after the Shahid-Rajaei

dam construction: an evaluation of the morphometric and genetic differentiation between isolated up-and downstream populations of *Capoeta gracilis* (Siah Mahi, Pisces: Cyprinidae) in the Tajan River (Iran). *Genetic and Molecule Research* 12:3465-3478.

Anvarifar H, Khyabani A, Farahmand H, Vatandoust S, Anvarifar H, Jahageerdar S (2011) Detection of morphometric differentiation between isolated up-and downstream populations of Siah Mahi (*Capoeta capoeta gracilis*) (Pisces: Cyprinidae) in the Tajan River (Iran). *Hydrobiologia* 673: 41-52.

Babaei O (2014) Barcoding of Qanat carps in Qanats of Naen and Ardestan regions. MSc. thesis. Shahr-e-Kord University.

- Bianco PG (1990) Potential role of the palaeohistory of the Mediterranean and Paratethys basins on the early dispersal of Euro-Mediterranean Freshwater fishes. *Ichthyological Exploration of Freshwaters Munchen* 1:167-184.
- Böhme M, Reichenbacher T, Schulz-Mirbach, München L (2003) Neogene freshwater fishes from Anatolia – a key for understanding the (palaeo-) biogeography of European freshwater fishes. Paper presented at the International Symposium of Fisheries and Zoology, Istanbul Clement M, Posada DCKA, Crandall KA (2000) TCS: a computer program to estimate gene genealogies. *Molecular Ecology* 9: 1657-1659.
- Coad BW (2014) Freshwater Fishes of Iran. Available at: www.briancoad.com
- Durand JD, Tsigenopoulos CS, Ünlü E, Berrebi P (2002) Phylogeny and Biogeography of the Family Cyprinidae in the Middle East Inferred from Cytochrome b DNA-Evolutionary Significance of This Region. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 22:91-100.
- Estoup A, Largiadier C, Perrot E, Chourrout D (1996) Rapid one-tube DNA extraction for reliable PCR detection of fish polymorphic markers and transgenes. *Molecular Marine Biology and Biotechnology* 5:295-298.
- Freeland JR, Kirk H, Petersen SD (2011) *Molecular Ecology* (2nd Edition). Wiley-Blackwell.
- Gholizade M, Ghorbani R, Salman Mahini AR, Hajimoradloo AM, Rahmani H, Mollaei M (2009) An Investigation on morphology, age and growth of *Capoeta capoeta gracilis* in Zarrin-Gol stream, Golestan Province of Iran. *Journal of Agriculture Science Natural Resources* 16 (Special issue 1-a): 54-63.
- Hashemzadeh Segherloo I, Bernatchez L, Golzarianpour K, Abdoli A, Primmer CR, Bakhtiary M (2012) Genetic differentiation between two sympatric morphs of the blind Iran cave barb *Iranocypris typhlops*. *Journal of Fish Biology* 81:1747-1753.
- Hashemzadeh SI, Abdoli A, Purahmad R, Puria M, Golzarianpour K (2014) genetic barcoding of *Capoeta* species in karoon and tigris tributaries. *Jornal of Modern Genetics* 2:171-178.
- Johari SA, Coad BW, Mazloomi S, Kheyri M, Asghari S (2009) Biological and morphometric characteristics of, *Capoeta fusca*, a cyprinid fish living in the qanats of south Khorasan, Iran: (Osteichthyes: Cyprinidae). *Zoology in the Middle East* 47: 63-70.
- Kimura M (1980) A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution* 16:111-120.
- Levin BA, Freyhof J, Lajbner Z, Perea S, Abdoli A, Gaffaroğlu M, Özuluğ M, Rubenyan HR, Salnikov VB, Doadrio I (2012) Phylogenetic relationships of the algae scraping cyprinid genus *Capoeta* (Teleostei: Cyprinidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 62:542-549.
- Machordom A, Doadrio I (2001) Evidence of a Cenozoic Betic–Kabilian Connection Based on Freshwater Fish Phylogeography (*Luciobarbus*, Cyprinidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 18:252-263.
- Johari N, Kazemian M, Shapoori M, Vatandoost S (2010) Comparison of morphometric and morphomeristic characteristics between male and female of siah mahi (*Capoeta capoeta*) in Talar River of the Mazandaran Province. *Journal of Marin Biology, Islamic Azad University (Ahvaz Branch)* 2: 53-64.
- Ostovari H, Shajiei H, Kami HG (2012) Analysis of some biological features of *Capoeta fusca* in the Southern Khorasan Province-Iran. *Animal Biojy* 3:1-9.
- Patimar R, Mohammadzadeh B (2011) On the biological characteristics of *Capoeta fusca* Nikolskii, 1897 in eastern Iran. *Journal of Applied Ichthyology* 27: 873-878.
- Pfennig DW, Pfennig KS (2010) Character displacement and the origins of diversity. *The American Naturalist* 176: S26.
- Pouria M, Abdoli A, Kazemian M, Nouri F, Khara H, Ejraei F (2012) Analysis of some population dynamics parameters in *Capoeta trutta* population in Alvand River of the Kermanshah Province. *Journal of Aquatics and Fisheries* 3: 17-25.
- Johari SA, Mazloomi S, Abdoli A, Khajavi H, Asghari S (2010) Identification and Distribution of Fish Fauna in Qanats and Standing Rivers of Qae'nat (South Khorasan Province, I. R. IRAN) *Journal of Fisheries of Islamic Azad University of Azad-Shahr* 4:115-121.
- Samaee SM, Patzner RA (2011) Morphometric differences among populations of Tu'ini, *Capoeta damascina* (Teleostei: Cyprinidae), in the interior basins of Iran. *Journal of Applied Ichthyology* 27: 928-933.
- Samaee SM, Mojazi-Amiri B, Hosseini-Mazinani SM (2006) Comparison of *Capoeta capoeta gracilis* (Cyprinidae, Teleostei) populations in the south Caspian Sea River basin, using morphometric ratios and genetic markers. *Folia Zoologica* 55: 323.
- Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipski A, Kumar S (2013) MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution* 30: 2725-2729.
- Thompson JD, Gibson TJ, Plewniak F, Jeanmougin F, Higgins DG (1997) The CLUSTAL-X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research* 25:4876-4882.
- Tsigenopoulos CS, Kasapidis P, Berrebi P (2010) Phylogenetic relationships of hexaploid large-sized barbs (genus *Labeobarbus*, Cyprinidae) based on mtDNA data. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 56:851-856.
- Turan C (2008) Molecular systematics of the *Capoeta* (Cypriniformes: Cyprinidae) species complex inferred from mitochondrial 16S rDNA sequence data. *Acta Zoologica Cracoviensia-Series A: Vertebrata* 51:1-14.