ژنتیک نوین
دوره نهم، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۳
صفحه ۱۷۸-۱۷۱

# تهیه بارکد ژنتیکی ماهیان جنس *Capoeta* در سرشاخه‌های کارون و دجله

## Genetic barcoding of *Capoeta* species in Karoon and Tigris tributaries

ایرج هاشم‌زاده‌سقرلو*[۱]، اصغر عبدلی[۲]، راضیه پوراحمد[۱]، مجتبی پوریا[۳]، کیاوش گلزاریان‌پور[۴]

۱- استادیاران، دانشگاه شهرکرد
۲- دانشیار، دانشگاه شهید بهشتی
۳- کارشناس‌ارشد، شیلات استان کرمانشاه
۴- مربی، دانشگاه گنبد کاوس

**Hashemzadeh Segherloo I*[1], Abdoli A[2], Purahmad R[1], Puria M[3], Golzarianpour K[4]**

1. Assistant Professors, University of Shahre Kord, Shahre Kord, Iran
2. Associate Professor, Shahid Beheshty University, Tehran, Iran
3. Graduate Student, Kermanshah Dept of Fisheries, Kermanshah, Iran
4. Instructor, University of Gonbad-e-Kavoos, Gonbad, Iran

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

(تاریخ دریافت: ۹۱/۱۲/۱۶- تاریخ پذیرش: ۹۲/۶/۵)

## چکیده

**در این مطالعه ۲۲ قطعه از ماهیان متعلق به گونه‌های *Capoeta trutta*، *C. damascina*، *C. aculeatae* و *C. buhsei* از رودخانه‌های سیروان (پالنگان)، ارمند، الوند، سرخکان بالارود، ماربر، چنار خشکه، بهشت آباد، دوپلان و آب ونک در منطقه زاگرس برای تهیه توالی بارکد یا ژن *COI* مورد بررسی قرار گرفتند. در مجموع ۱۳ هاپلوتایپ به دست آمد. مقدار تمایز توالی بارکد در سطح درون گونه ای برپایه ضریب تمایز K2P ۰/۱۳ درصد بود. نتایج نشان داد که ماهیان جنس *Capoeta* گروه تک شجره‌ای بوده و در مقایسه با سایر گونه‌های مورد بررسی به گونه *Barbus barbus* نزدیک‌تر بودند. بیشترین تمایز در بین گونه‌های *Capoeta trutta* و *C. aculeatae* (۷/۳ درصد) و کمترین مقدار تمایز در بین گونه‌های *C. buhsei* و *C. damascina* (۲/۷ درصد) وجود دارد. با توجه به ضرایب تمایز محاسبه شده بیشترین و کمترین زمان انشقاق گونه‌های مورد مطالعه ۱۴/۳۸-۹/۶ و ۵/۱۹- ۳/۵۵ میلیون سال برآورد شد.**

**واژه‌های کلیدی**

**بارکد**
**تمایز**
**زاگرس**
***Capoeta***
***COI***
**K2P**

[ Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-05-25 ]

[ DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.2.6.7 ]

## مقدمه

جنس *Capoeta* از خانواده کپورماهیان Cyprinidae بوده و در جنوب غربی آسیا پراکنش گسترده‌ای دارد. این جنس ۲۰ گونه را در خود جای می‌دهد، که هفت گونه از آنها در ایران حضور دارند (Coad 2013). گونه‌های این جنس را می‌توان در بیشتر حوضه های آبخیز ایران مشاهده کرد. منشا این جنس نامشخص بوده و ممکن است با جنس *Barbus/Aulopyge* و یا با *Cyprinion* و خویشاوندان آن در آسیای جنوبی و شرقی ارتباط داشته باشد (Howes 1982; Coad 2013). Levin et al. (2012) جنس *Capoeta* را با بررسی ژن *Cytb* نزدیک به جنس *Luciobarbus* گزارش کردند. در حوضه رودخانه‌های دجله و کارون که هر دو حوضه دجله بزرگ را تشکیل می‌دهند، به ویژه در زاگرس مرکزی سه گونه *C. damascina*، *C. buhsei*، *C. aculeate* و *C. trutta* حضور دارند. برپایه مطالعات ریخت‌شناسی گونه‌های یادشده به عنوان گونه‌های مشخص معرفی شده‌اند، اما در رابطه با روابط تکاملی و منشا ژنتیکی آنها در ایران اطلاعات کمی وجود دارد. با استفاده از روش‌های مولکولی در کنار بررسی‌های ریخت-شناسی علاوه بر قضاوت در مورد روابط رده‌بندی گونه‌ها می توان در مورد نحوه ارتباط تکاملی آنها با استناد به ضرایب ساعت مولکولی که بسته به ژن‌ها و موجودات حامل آنها می‌توانند متغیر باشند، قضاوت کرد. بر پایه مطالعات Levin et al. (2012) که با استفاده از ژن *Cytb* انجام شده، ماهیان جنس *Capoeta* تک شجره‌ای بوده و در بین جنس *Luciobarbus* قرار دارند. در مطالعه یادشده منشا یا زمان پیدایش ماهیان جنس *Capoeta* دوره میوسن میانی عنوان شده است. نزدیک‌ترین خویشاوند جنس *Capoeta* گونه *Luciobarbus subquincunciatus* است، که در حوضه دجله و فرات حضور دارد. پژوهشگران یاد شده عنوان می کنند که پیدایش بخش اختصاصی خراشیدن جلبک در ساختار دهان ماهیان این جنس یکبار در تکامل آنها رخ داده است. در این مقاله سه گروه اصلی بین‌النحرین (شامل گونه‌های *trutta* و *barroisi* در ایران)، گروه آناتولی-ایرانی (شامل گونه‌های *buhsei*، *damascina* و *saadii*) و گروه خزر-آرال (شامل گونه-های *aculeate* و *heratensis*) شناسایی شده است. به احتمال زیاد این جنس در اثر حوادث آلوپلی پلوئیدی به وجود آمده است، زیرا گونه‌های این جنس هگزاپلوئید (2n=150) هستند. جدا شدن گروه بین النحرینی احتمالاً در اوسط میوسن در حدود ۱۲/۶ میلیون سال قبل، اعضای ایرانی گروه آناتولی- ایرانی در پلیوسن (۶/۷ میلیون سال قبل) و گروه خزر و آرال در طی اواخر پلیوسن (۲/۶ میلیون سال قبل) رخ داده است (Levin et al. 2012).

Samaee and Patzner (2011) ماهیان *Capoeta* را در ۶ رودخانه در ایران از نظر ریخت شناسی بررسی کردند و گروه‌های متمایزی را شناسایی کردند، اما باید برای روشن شدن ریشه ژنتیکی یا غیرژنتیکی این تمایز، مطالعات بیشتری انجام شود.

برای بررسی‌های شجره‌شناسی مولکولی می‌توان از ژن‌های موجود در هسته و میتوکندری استفاده کرد. فرایند پلی‌پلوئیداسیون طبیعی یکی از فرایندهای گونه‌زایی در ماهیانی مثل کپورماهیان، آزادماهیان، ماهیان خاویاری و ماهیان مکنده است (Hallerman 2003). حالت پلی‌پلوئیدی با افزایش تعداد کروموزوم‌ها و افزایش تعداد نسخه‌های ژن‌های هسته‌ای می‌تواند نتایج بررسی‌های شجره‌شناسی را که با استفاده از ژن‌های هسته‌ای انجام می‌شوند با خطا همراه کند (Machordom and Doadrio 2001). با توجه به این موضوع، استفاده از ژن‌های میتوکندریایی به دلیل ماهیت هاپلوئید آنها، در مورد شجره‌شناسی گروه‌های مختلف کپورماهیان می‌تواند در مقایسه با ژن‌های هسته‌ای کارآمدتر باشد. هدف از تهیه توالی‌های بارکد DNA، بهبود شناسایی گونه‌ها و کشف گونه‌های جدید از طریق مطالعه الگوهای تمایز توالی در یک منطقه استاندارد در ژنوم است. در مورد جانوران، تحقیقات به یک قطعه ۶۴۸ جفت بازی از ژن میتوکندریایی *COI* معطوف شده است، که می‌توان آن را به راحتی با استفاده از تعداد محدودی آغازگر در گونه‌های مختلف تکثیر کرد (Kerr et al. 2007). کارایی این ژن در گروه‌های جانوری مختلف ارزیابی شده است و بیش از ۹۴ درصد گونه‌های مورد مطالعه دارای آرایه‌های بارکد مشخص و متمایز، با تغییرات درون گونه‌ای کم و تمایز بین گونه-ای بالا نسبت به گونه‌های نزدیک، بوده‌اند و گونه‌های ماهیان هم در این گروه قرار می‌گیرند (Ward et al. 2005; Hajibabaei et al. 2006; Hubert et al. 2008). با توجه به ویژگی‌های این ژن، امروزه جنبشی در سراسر جهان آغاز شده که به واسطه آن



[ Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-05-25 ]

[ DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.2.6.7 ]

پژوهشگران کشورهای مختلف توالی ژن یادشده را همراه با تهیه بانک‌های نمونه و تصویر نمونه‌ها تهیه کرده و آنها را در پایگاه‌های اطلاعاتی خاصی برای استفاده سایر پژوهشگران ذخیره می‌کنند. با انجام این امور و کامل شدن اطلاعات برای همه گونه‌های جانوری، امکان شناسایی سریع گونه‌ها با کمترین هزینه و انرژی فراهم خواهد شد. یکی از مزایای تهیه بارکد ژنتیکی در کنار شناسایی گونه‌ها، کشف گونه‌های مخفی است، به این مفهوم که ممکن است گونه‌ها از نظر ژنتیکی تمایز داشته باشند، اما از نظر ریخت‌شناسی به عنوان گونه‌های یکسانی طبقه‌بندی شوند (Freeland 2005). برای مثال در این رابطه در بین دو فرم دیسک دار و بدون دیسک ماهی کور غار ایران، *Iranocypris typhlops*، با تهیه بارکد ژنتیکی مشخص شده است که دو گونه از ماهی کور وجود دارد و آنها به جنس *Garra* نزدیک هستند (Hashemzadeh et al. 2012). با توجه به این که در منطقه زاگرس گونه‌های *Capoeta damascina*، *C.aculitae*، *C. buhsei* و *C. trutta* وجود دارند، در این مطالعه سعی شده است توالی و تنوع بارکد گونه‌های جنس *Capoeta* در منطقه یادشده مشخص شده و امکان شناسایی آنها و روابط شجره مادری آنها با استفاده از این توالی بررسی شود.

## مواد و روش‌ها

نمونه برداری از ماهیان مورد استفاده در این مطالعه در سال‌های ۱۳۸۶ تا ۱۳۸۹ با استفاده از الکتروشوکر در رودخانه های سیروان (پالنگان)، ارمند، الوند، سرخکان بالارود، ماربر، چنار خشکه، بهشت آباد، دوپلان و آب ونک انجام شد (شکل۱). در این مطالعه تعداد ۷ قطعه *C. damascina*، ۷ قطعه *C. aculeate*، ۲ قطعه *C. buhsei* و ۶ قطعه *C. trutta* از مناطق مورد مطالعه استفاده شد. در زمان نمونه برداری باله سینه‌ای یا شکمی سمت راست ماهیان قطع و در الکل اتانل ۹۶ درصد برای مطالعات ژنتیکی تثبیت شد و تعدادی از ماهیان نمونه برداری 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*، آغازگرها با توالی FCOI20 (5'-AACCTCTGTCTTCGGGGCTA -3') و (5′-TTGAGCCTCCGTGAAGTGTG -3′ RCOI20III) استفاده شدند (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 کلریدمنیزیم ۵۰ میلی‌مولار، ۰/۵ میکرولیتر از محلول ۱۰ میلی‌مولار هر آغازگر، ۰/۵ میکرولیتر dNTP ۲۵ میلی‌مولار، 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 دقیقه‌ای در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۳۵ چرخه ۹۴ درجه سانتی‌گراد (یک دقیقه)، ۶۱ درجه سانتی‌گراد (یک دقیقه) و ۷۲ درجه سانتی‌گراد (یک دقیقه) و در نهایت یک چرخه ۱۵ دقیقه‌ای در ۷۲ درجه سانتی‌گراد بود. در نتیجه واکنش PCR، یک قطعه از ژنوم میتوکندریایی به طول تقریبی ۱۱۰۰ جفت باز تکثیر شد که توالی کامل ژن *COI* را در بر داشت. برای انجام بررسی‌های شجره شناسی، 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[1] توالی‌های *COI* با استفاده از نرم‌افزار ClustalX (1.83) (Thompson et al. 1997) انجام شد. به منظور یافتن توالی‌های مشابه برای استفاده در بررسی شجره‌شناسی، هاپلوتایپ‌های 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). پس از انطباق و یکپارچه کردن توالی‌ها، یک قطعه به طول ۸۷۰ جفت باز انتخاب شد، که در بین ماهیان مورد مطالعه و توالی‌های موجود در بانک ژن مشترک بود. برای این که شاخصی کمی برای مقایسه مقدار تمایز در بین گونه‌ها در دست باشد، از فاصله ژنتیکی K2P (Kimura 1980) محاسبه شده با استفاده از نرم‌افزار MEGA5.1 استفاده شد (Tamura et al. 2007). برای ترسیم دارنگاره از روش مبتنی بر مدل یعنی روش بیشترین

[1] Alignment

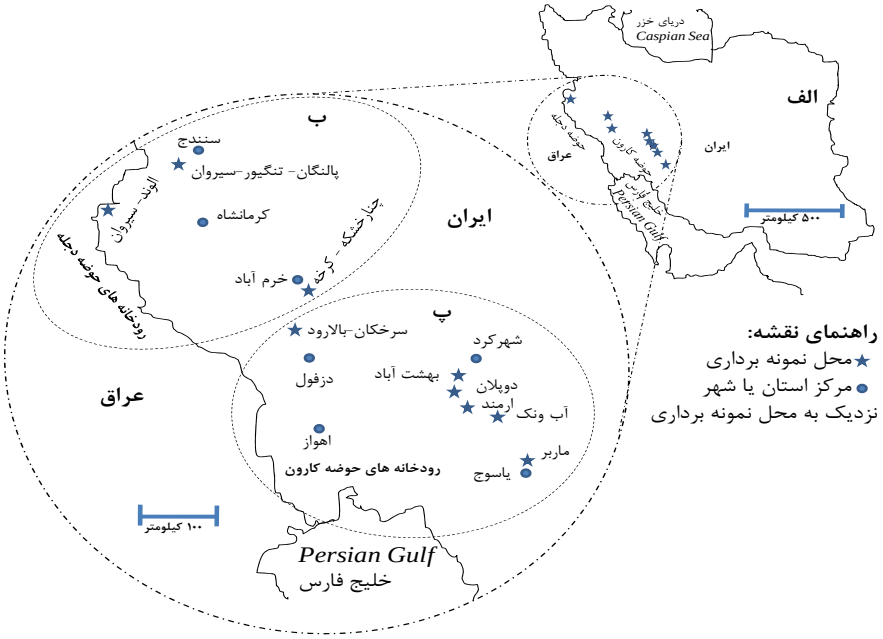


[ Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-05-25 ]
[ DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.2.6.7 ]

جدول۱- میانگین فاصله ژنتیکی K2P در بین گونه‌های مورد مطالعه بر اساس درصد تمایز توالی ژن *COI*. اعداد داخل پرانتز مدت زمان تخمینی اشتقاق گونه‌های مورد مطالعه براساس میلیون سال است.

| گونه | *C. trutta* | *C. aculeate* | *C. damascina* |
|---|---|---|---|
| *C. trutta* (Meso) | | | |
| *C. aculeate* (Ca-Ar) | ۷/۳ (۱۴/۳) | | |
| *C. damascina* (An-Ir) | ۶/۴ (۱۲/۳) | ۵/۷ (۱۰/۹) | |
| *C. buhsei* (An-Ir) | ۶/۶ (۱۲/۶) | ۵/۸ (۱۱/۱) | ۲/۷ (۵/۲) |

Meso) بین النحرین؛ Ca-Ar) خزر-آرال؛ An-Ir) آناتولی-ایران




شکل۱- نقشه محل‌های نمونه‌برداری ماهیان مورد مطالعه. الف) موقعیت کلی محدوده نمونه‌برداری؛ ب) رودخانه‌های حوضه دجله و پ) رودخانه‌های حوضه کارون. رودخانه‌های هر حوضه با اشکال بیضی محاط شده‌اند. کارون و دجله و فرات در جنوب غرب ایران اروند رود را تشکیل داده و وارد خلیج فارس می‌شوند.

احتمال (Maximum Likelihood) موجود در نرم‌افزار MEGA5.1 استفاده شد. مدل تکاملی دارای بیشترین برازش برای داده‌های مورد بررسی با روش احتمال بیشینه توسط نرم‌افزار MEGA5.1 و برپایه شاخص اطلاعاتی بایسی ( BIC: Bayesian Information Criterion) انتخاب شد. در این رابطه مدل TN93+G+I102 به عنوان مناسب ترین مدل انتخاب شد. برای تایید اعتبار شاخه‌های دارنگاره از آزمون بوسترپ با ۱۰۰۰ تکرار استفاده شد. برای ترسیم شبکه هاپلوتایپی و مشاهده روابط هاپلوتایپ‌های بدست آمده از نرم‌افزار TCS 1.21 ( Clement et al. 2000) استفاده شد. برای مشاهده همه هاپلوتایپ‌ها در یک شبکه هاپلوتایپی، تعداد گام‌های جهشی در نرم‌افزار افزایش داده شد.

## نتایج و بحث

در مجموع ۱۲ هاپلوتایپ (۵ هاپلوتایپ *C. aculeata*، دو هاپلوتایپ *C. damascina*، یک هاپلوتایپ *C. buhsei* و ۴ هاپلوتایپ *C. trutta*) شناسایی شد (جدول ۲ و شکل ۲). میانگین فاصله ژنتیکی K2P درون گونه‌ای در گونه *C. trutta* ۰/۰۷ درصد، در گونه *C. aculeate* ۰/۱۷ درصد، در گونه *C. buhsei* ۰/۰ درصد و در گونه *C. damascina* ۰/۱۷ درصد بود. در مورد گونه‌های مورد مطالعه فاصله ژنتیکی در سطح درون گونه‌ای با سایر مطالعات و نتایج آنها برای سطح رده‌بندی یاد شده مطابقت دارد. تمایز توالی ژن *COI* در سطح درون گونه‌ای برای گروه‌های مختلف جانوری شامل خفاش‌ها ۰/۶ درصد (Clare et al. 2006)، پرندگان آمریکای شمالی ۰/۲۷ درصد (Hebert et al. 2004)،



[ Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-05-25 ]
[ DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.2.6.7 ]

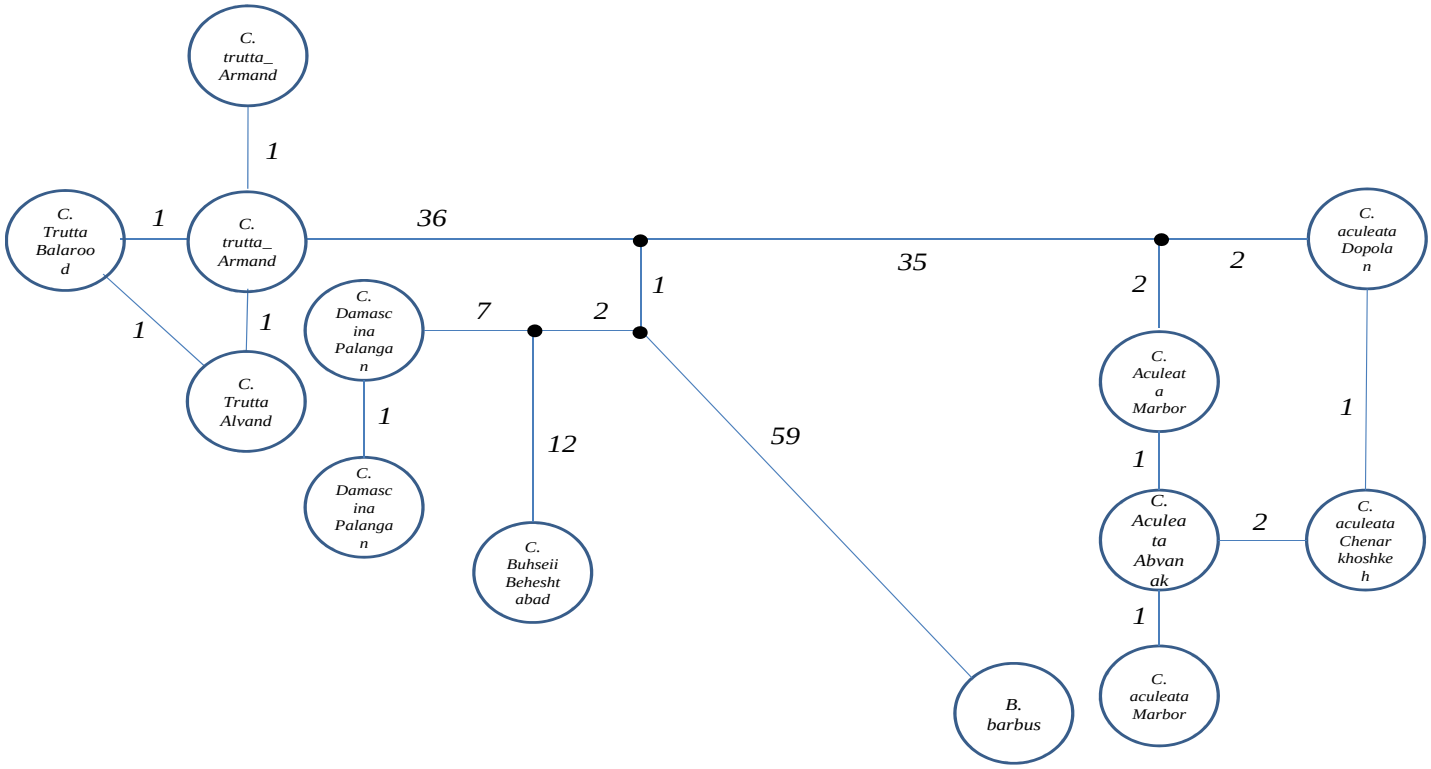
جدول ۲- جایگاه‌های متفاوت نسبت به توالی ژن *COI* ماهی *Capoeta capoeta*. شماره‌های ردیف اول جدول نشان‌دهنده شماره جایگاه‌ها هستند.

| گونه | ۳۶ | ۳۹ | ۴۲ | ۴۶ | ۵۷ | ۹۶ | ۱۱۴ | ۱۲۰ | ۱۲۳ | ۱۲۹ | ۱۳۸ | ۱۴۱ | ۱۴۵ | ۱۷۷ | ۱۹۵ | ۱۹۸ | ۲۱۶ | ۲۳۴ | ۲۴۳ | ۲۵۸ | ۲۶۴ | ۲۷۰ | ۲۷۶ | ۲۷۹ | ۲۸۶ | ۲۹۱ | ۳۰۰ | ۳۰۹ | ۳۱۲ | ۳۲۱ | ۳۲۴ | ۳۳۹ | ۳۵۱ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *C. capoeta* | A | A | T | C | C | T | C | C | A | T | T | G | C | A | T | A | T | C | T | A | A | A | T | A | C | C | C | T | G | A | A | G | A |
| *C. trutta* | G | C | . | T | . | C | T | . | T | C | C | A | T | . | . | G | . | A | C | . | C | . | C | G | . | . | T | . | A | . | G | . | . |
| *C. trutta* | G | C | . | T | . | C | T | . | T | C | C | A | T | . | . | G | . | A | C | . | C | . | C | G | . | . | T | . | A | . | G | . | . |
| *C. aculeate* | G | . | . | . | . | . | . | T | T | . | . | . | . | . | C | . | C | G | . | G | . | . | . | . | . | T | T | . | . | . | . | A | . |
| *C. buhsei* | . | . | . | . | T | C | T | T | T | . | C | . | . | . | . | . | . | A | . | . | G | G | C | G | T | . | T | C | . | G | G | . | . |
| *C. aculeate* | G | . | . | . | . | . | . | T | T | . | . | . | . | . | C | . | C | G | . | . | . | . | . | . | . | T | T | . | . | . | . | A | . |
| *C. damascina* | . | . | C | . | . | C | T | T | T | . | C | A | . | G | . | . | . | G | . | . | . | . | C | G | T | . | G | . | A | . | G | . | G |
| *C. damascina* | . | . | C | . | . | C | T | T | T | . | C | . | . | G | . | . | . | G | . | . | . | . | C | G | T | . | G | . | A | . | G | . | G |
| *C. damascina* | G | . | . | . | . | . | T | T | T | . | C | . | . | . | . | . | . | G | . | . | . | . | C | . | T | . | T | . | . | . | G | . | . |
| *C. damascina* | G | . | . | . | . | . | T | T | T | . | C | . | . | . | . | . | . | G | . | . | . | . | C | . | T | . | T | . | . | . | G | . | . |
| *C. aculeate* | G | . | . | . | . | . | . | T | T | . | . | . | . | . | C | . | C | G | . | G | . | . | . | . | . | T | T | . | . | . | . | A | . |

| گونه | ۳۵۴ | ۳۵۷ | ۳۶۰ | ۳۹۶ | ۳۹۹ | ۴۰۲ | ۴۰۳ | ۴۰۵ | ۴۱۴ | ۴۲۶ | ۴۲۹ | ۴۳۸ | ۴۴۴ | ۴۵۶ | ۴۶۲ | ۴۷۷ | ۴۹۸ | ۵۱۶ | ۵۲۸ | ۵۳۷ | ۵۴۰ | ۵۴۶ | ۵۵۲ | ۵۵۵ | ۵۶۱ | ۵۶۴ | ۵۹۱ | ۵۹۴ | ۶۲۱ | ۶۲۷ | ۶۳۹ | ۶۴۲ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *C. capoeta* | C | A | T | A | T | C | C | A | C | A | G | T | C | T | G | C | A | C | A | C | A | A | C | A | C | A | C | T | G | G | C | T |
| *C. trutta* | T | G | C | . | C | T | . | G | T | G | A | . | T | . | A | T | . | . | G | T | G | . | T | . | T | G | T | C | A | A | . | C |
| *C. trutta* | T | G | C | . | C | T | . | G | T | G | A | . | T | . | A | T | . | . | G | T | G | . | T | . | T | G | . | C | A | A | . | C |
| *C. aculeate* | . | . | . | . | C | T | . | . | . | . | . | . | . | . | A | T | . | . | . | . | . | . | . | G | T | . | . | . | . | . | . | . |
| *C. buhsei* | . | . | C | . | C | . | T | . | T | . | . | C | . | C | A | . | G | T | . | . | . | . | . | . | . | . | . | C | A | . | T | C |
| *C. aculeate* | . | . | . | . | C | T | . | . | . | . | . | . | . | . | A | . | . | . | . | . | . | . | . | G | T | . | . | . | . | . | . | . |
| *C. damascina* | . | . | C | C | C | . | T | . | T | . | . | . | . | . | A | . | G | T | . | . | . | G | . | . | . | . | . | C | A | A | . | C |
| *C. damascina* | . | . | C | C | C | . | T | . | T | . | . | . | . | . | A | . | G | T | . | . | . | G | . | . | . | . | . | C | A | A | . | C |
| *C. damascina* | . | . | C | . | C | . | T | . | T | . | . | . | . | . | A | . | G | T | . | . | G | . | . | . | . | . | . | C | A | A | . | C |
| *C. damascina* | . | . | C | . | C | . | T | . | T | . | . | . | . | . | A | . | G | T | . | . | G | . | . | . | . | . | . | C | A | . | . | C |
| *C. aculeate* | . | . | . | . | C | T | . | . | . | . | . | . | . | . | A | . | . | . | . | . | . | . | . | G | T | . | . | . | . | . | . | . |

[ Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-05-25 ]

[ DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.2.6.7 ]



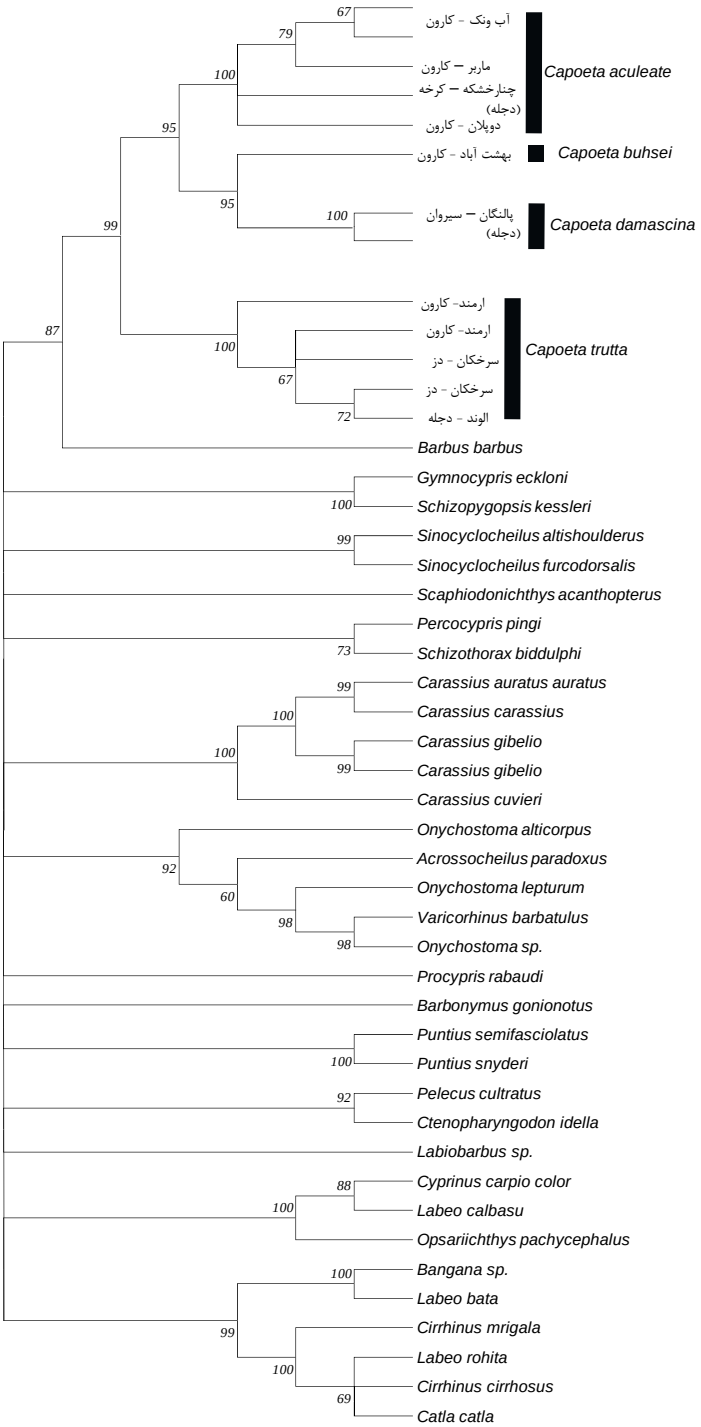

شکل۲- شبکه هاپلوتایپی ترسیم‌شده برای ژن *COI* ماهیان موردبررسی. اعداد موجود در کنار خطوط نشان‌دهنده تعداد نوکلئوتیدهای متفاوت در بین هاپلوتایپ‌ها هستند.

ماهیان دریایی ۰/۳۹ درصد (Ward et al. 2005)، در Lepidoptera ۰/۴۶ درصد (Hajibabaei et al. 2006) و در ماهیان آب شیرین کانادا ۰/۲۷ درصد (Hubert et al. 2008) گزارش شده است. مقدار تمایز مشاهده شده در بین گونه‌های مورد مطالعه در جدول۱ ارائه شده است. در این رابطه گونه‌های *C. buhsei* و *C. damascina* با ۲/۷ درصد تمایز توالی نزدیکترین گونه‌های مورد مطالعه بوده و بیشترین فاصله ژنتیکی در بین گونه‌های *C. trutta* و *C. aculeatae* وجود دارد (۷/۳ درصد). با توجه به میزان تمایز توالی در بین گونه‌های یک جنس در ماهیان آب شیرین که برابر با ۸/۳۷ درصد است (Hubert et al. 2008)، می‌توان عنوان کرد که مشاهدات حاضر نیز با گزارش‌های موجود در مورد ماهیان آب شیرین مطابقت دارد.

Levin et al. (2012) با توجه به فسیل‌های موجود و با بررسی ژن *Cytb* ساعت مولکولی ۰/۵۲ درصد در هر میلیون سال را محاسبه کردند، اما پیشتر ضریب ساعت مولکولی ۰/۷۶ درصد برای همین ژن گزارش شده است (Zardoya and Doadrio 1999). با توجه به ضرایب فوق می توان زمان جدایی یا انشقاق گونه های *C. trutta* و گونه *C. aculeatae* را ۱۴/۳۸ میلیون سال (ضریب ۰/۵۲) تا ۹/۶ میلیون سال (ضریب ۰/۷۶) و زمان جدایی دو گونه *C. buhsei* و *C. damascina* را ۵/۱۹ میلیون سال (ضریب ۰/۵۲) تا ۳/۵۵ میلیون سال (ضریب ۰/۷۶) محاسبه کرد. با توجه به زمان‌های جدایی محاسبه شده، سایر گونه‌های مورد مطالعه در زمانی بین زمان‌های یادشده مشتق شده‌اند، با توجه به این که گونه‌های جنس *Capoeta* تک شجره‌ای هستند (Levin et al. 2012) می‌توان زمان‌های اشتقاق یادشده را به عنوان زمان اشتقاق گونه‌های جنس یادشده از جد مشترک یا جنس *Capoeta* اولیه قلمداد کرد. در بین سایر گونه‌های مورد بررسی فاصله ژنتیکی بین جنس *barbus* و جنس *Capoeta* کمتر از فاصله سایر جنس‌ها بود (۹/۳ تا ۱۱ درصد) که این موضوع در دارنگاره ترسیم شده نیز قابل مشاهده است (شکل۳) در دارنگاره یادشده گونه *Barbus barbus* نزدیک‌ترین گونه به گونه‌های جنس *Capoeta* بوده و خوشه پایه‌ای را نسبت به گونه‌های مورد مطالعه تشکیل می‌دهد، علاوه بر این همانطور که در دارنگاره ترسیم شده می‌توان مشاهده



[ Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-05-25 ]
[ DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.2.6.7 ]




شکل۳- دارنگاره احتمال بیشینه (ML) ترسیم شده با استفاده از نرم‌افزار MEGA5.1 برای توالی‌های بدست آمده در این مطالعه و توالی‌های موجود در بانک ژن . اعداد درج شده در محل گره‌های دارنگاره مقادیر Bootstrap محاسبه شده با ۱۰۰۰ تکرار هستند.

کرد گروه‌های خزر–آرال، آناتولی–ایران و بین‌النحرین معرفی‌شده توسط Levin et al. (2012) کاملا مشخص است. این مشاهده با نتایج تحقیقات Levin et al. (2012) مطابقت دارد، علاوه براین Coad (2013) عنوان می‌کند که منشا جنس *Capoeta* در جنوب غرب آسیا دارای مسیر یکسان با مسیر مرتبط با پیدایش جنس *Barbus* است، که در این مطالعه نیز موضوع یادشده تایید می‌شود. با توجه به این که گونه‌های جنس *Capoeta* در داشتن ساختار دهانی مشابه هستند، می‌توان عنوان کرد که پیدایش آنها در گذشته یکبار رخ داده است یا آنها تک‌شجره‌ای هستند (Levin et al. 2012). با توجه به ساعت مولکولی یادشده (۰/۵۲) می‌توان زمان اشتقاق جنس *Capoeta* از *Barbus* را بر پایه اطلاعات موجود ۲۱/۱۵ تا ۱۷/۸۸ میلیون سال قبل برآورد کرد. ماهیان جنس *Capoeta* رابطه نزدیکی با جنس *Luciobarbus* دارند (Levin et al. 2012)، که در مطالعه یادشده زمان اشتقاق جنس *Luciobarbus* از جنس *Barbus* حدود ۲۵/۱ (۲۰/۹ تا ۳۰/۸ میلیون سال) میلیون سال قبل و زمان اشتقاق جنس *Capoeta* از *Luciobarbus* حدود ۱۷ (۱۴/۶ تا ۲۰/۷ میلیون سال) میلیون سال پیش برآورد شده است. باتوجه به موارد یادشده می‌توان برآورد بدست آمده در این مطالعه را نیز با برآوردهای سایر مطالعات مطابق دانست، زیرا براساس اطلاعات موجود در سیر تکامل ابتدا جنس *Luciobarbus* از جنس *Barbus* مشتق شده و سپس طی فرایند پلی پلوئیداسیون جنس *Capoeta* تکامل‌یافته است (Levin et al. 2012). در شبکه هاپلوتایپی ترسیم شده (شکل۲)، می‌توان مشاهده کرد که فاصله جهشی هاپلوتایپ‌های افراد متعلق به یک گونه، در همه موارد از یک تا دو جهش تجاوز نمی‌کند. با توجه به این که نمونه‌های مورد بررسی از رودخانه‌های مختلفی در حوضه دجله تهیه شده‌اند، می‌توان عنوان کرد که زمان جدایی جمعیت‌های رودخانه‌های مورد مطالعه در حدی نیست که موجب تمایز قابل توجه شود. با این حال ارائه قضاوت‌های بوم‌شناختی در مورد مهاجرت و روابط بین‌جمعیتی ماهیان مورد مطالعه تنها با توجه به تعداد کم نمونه‌های مورداستفاده در این مطالعه و همچنین با استفاده از ژن *COI* و یا سایر ژن‌های مشابه نمی‌تواند از قطعیت بالایی برخوردار باشد. ارائه قضاوت‌های دقیق در مورد روابط کنونی و گذشته نزدیک جمعیت‌های مورد مطالعه نیازمند استفاده از تعداد نمونه‌های بیشتر و نشانگرهایی مثل ریزماهواره‌ها است.



[ Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-05-25 ]
[ DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.2.6.7 ]

## منابع


Altschul SF, Madden TL, Schaffer AA, Zhang JH, 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.

Clare EB, Lim BK, Engstrom MD, Eger JL, Hebert PDN (2006) DNA barcoding of Neotropical bats: species identification and discovery within Guyana. Molecular Ecology Notes 7: 184-190.

Clement M, Posada D and Crandall K (2000) TCS: a computer program to estimate gene genealogies. Molecular Ecology 9: 1657-1660

Coad B (2013) Fresh water fishes of Iran. Available at http: //www.briancoad.com/contents.htm

Estoup A, Largiader CR, 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 (2005) *Molecular Ecology*. Chichester: John Wiley and Sons, Ltd.

Hajibabaei M, Janzen DH, Burns JM, Hallwachs W, Hebert PDN (2006) DNA barcodes distinguish species of tropical Lepidoptera. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA 103: 968-971.

Hallerman EM (2003) Population Genetics: Principles and Applications for Fisheries Scientists. American Fisheries Society, Bethesda, Maryland.

Hashemzadeh Segherloo I, Bernatchez L, Golzarianpour K, Abdoli A, Primmer CR and Bakhtiary M (2012) Genetic differentiation between two sympatric morphs of the blind Iran cave barb*Iranocypris typhlops*. Journal of Fish Biology 81: 1747-1753.

Hebert PDN, Stoekle M, Zemlak T, Francis CM (2004) Identification of birds through DNA barcodes. Plos Biology 2: 1657-1668.

Howes G (1982) Anatomy and evolution of the jaws in the semiplotine carps with a review of the genus *Cyprinion* Heckel, 1843 (Teleostei: Cyprinidae). Bulletin of the British Museum (Natural History) Zoology 42: 299-335.

Hubert N, Hanner R, Holm E, Mandrak NE, Laviolette N, Taylor E, Burridge M, Watkinson D, Curry A, Bentzen P, Zhang J, April J, Bernatchez L (2008) Identifying Canadian Freshwater Fishes through DNA Barcodes. PLoS ONE 3: E2490.

Kerr KCR, Stoeckle MY, Dove CJ, Weigt LA, Francis CM, Hebert PDN (2007) Comprehensive DNA barcode coverage of North American birds. Molecular Ecology Notes 7: 535-716.

Kimura M (1980) A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. Journal of Molecular Evolution 16: 11-120.

Levin BA, Freyhof J, Lajbner Z, Perea S, Abdoli A, Gaffaroğlu M, Özulug 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) Evolutionary history and speciation modes in the cyprinid genus Barbus. Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences 268: 1297-1306.

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.

Tamura K, Dudley J, Nei, M, Kumar S (2007) MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. Molecular Biology and Evolution 24: 1596-1599.

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.

Ward RD, Zemlak TS, Innes BH, Last PR, Hebert PDN (2005) DNA barcoding Australia's fish species. Philosophical Transactions of the Royal Society B 360: 1847-185.

Zardoya R, Doadrio I (1999) Molecular evidence of the evolutionary and biogeographical patterns of European cyprinids. Journal of Molecular Evolution 49: 227-237.




[ Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-05-25 ]

[ DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.2.6.7 ]