

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- کارشناس ارشد، شیلات استان کرمانشاه

۴- مربی، دانشگاه گنبد کاووس

Hashemzadeh Segherloo I^{*1}, Abdoli A², Purahmad R¹, Puria M³, Golzarianpour K⁴

1. Assistant Professors, University of Shahre Kord, Shahre Kord, Iran

2. Associate Professor, Shahid Beheshti 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، دوبلان و آب و تک در منطقه زاگرس برای تهیه توالی بارکد یا ژن COI مورد بررسی قرار گرفتند. در مجموع ۱۳ هاپلوتاایپ 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

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 حوضه‌های 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 می‌توان 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 می‌کنند 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 بین‌النهرین (شامل گونه‌های *trutta* و *barroisi* در ایران)، گروه آناتولی-ایرانی (شامل گونه‌های *saadii*، *damascina* و *buhsei*) و گروه خزر-آرال (شامل گونه‌های *aculeate* و *heratensis*) شناسایی شده است. به احتمال زیاد این جنس در اثر حوادث آلویلی پلوییدی به وجود آمده

است، زیرا گونه‌های این جنس هگزاپلویید ($2n=150$) هستند. جدا شدن گروه بین‌النهرینی 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 ریخت‌شناسی 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 پلی‌پلوییداسیون طبیعی یکی از فرایندهای گونه‌زایی در ماهیانی مثل کپورماهیان، آزادماهیان، ماهیان خاویاری و ماهیان مکنده است (Hallerman 2003). حالت پلی‌پلوییدی 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 هاپلویید 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

'3- (TTGAGCTCCGTGAAGTGTG) 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 کلرید منیزیم ۵۰ میلی‌مولار، ۰/۵ میکرولیتر ۲۵ dNTP میلی-محلول ۱۰ میلی‌مولار هر آغازگر، ۰/۵ میکرولیتر 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 پلیمرز 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 شجره‌شناسی، توالی انتهای ۵' 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^۱ 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، 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). 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 شاخص 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

پژوهشگران کشورهای مختلف توالی ژن یادشده را همراه با تهیه بانک‌های نمونه و تصویر نمونه‌ها تهیه کرده و آنها را در پایگاه-های اطلاعاتی خاصی برای استفاده سایر پژوهشگران ذخیره می-کنند. 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 شجره‌مادری آنها با استفاده از این توالی بررسی شود.

مواد و روش‌ها

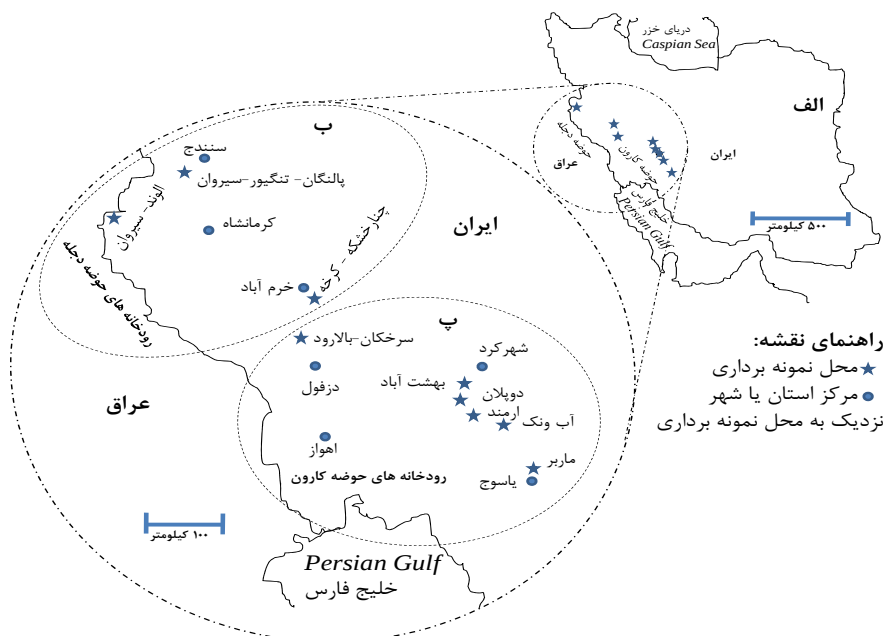
نمونه برداری از ماهیان مورد استفاده در این مطالعه در سال‌های ۱۳۸۶ تا ۱۳۸۹ با استفاده از الکتروشوکر در رودخانه‌های سیروان (پالنگان)، ارمند، الوند، سرخکان بالارود، ماربر، چنار خشکه، بهشت آباد، دویلان و آب و نک انجام شد (شکل ۱). در این مطالعه تعداد ۷ قطعه *C. damascina*، ۷ قطعه *C. aculeate*، ۲ قطعه *C. 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 5'-(5'-AACCTCTGTCTTCGGGGCTA) و 3'-(3'-TTGAGCTCCGTGAAGTGTG)

^۱ Alignment

جدول ۱- 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	<i>C. trutta</i>	<i>C. aculeate</i>	<i>C. damascina</i>
<i>C. trutta</i> (Meso)			
<i>C. aculeate</i> (Ca-Ar)	۷/۳ (۱۴/۳)		
<i>C. damascina</i> (An-Ir)	۶/۴ (۱۲/۳)	۵/۷ (۱۰/۹)	
<i>C. buhsei</i> (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



شکل ۱- نقشه محل‌های نمونه‌برداری ماهیان مورد مطالعه. الف) موقعیت کلی محدوده نمونه‌برداری؛ ب) رودخانه‌های حوزه دجله و پ) رودخانه‌های حوزه کارون. رودخانه‌های هر حوزه با اشکال بیضی محاط شده‌اند. کارون و دجله و فرات در جنوب غرب ایران ارونند رود را تشکیل داده و وارد خلیج فارس می‌شوند.

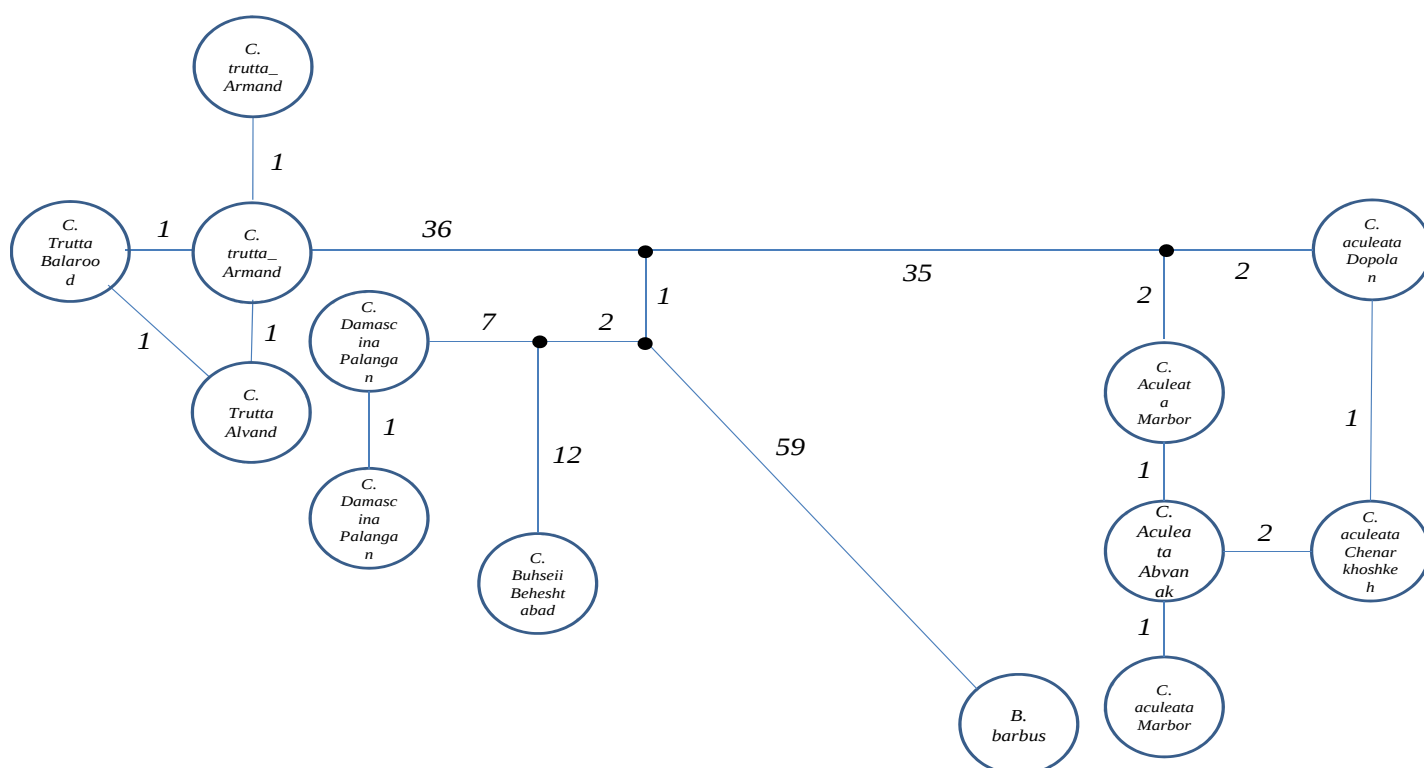
نتایج و بحث

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)،

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 مناسب‌ترین 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.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-09-19]

گونه	۲۶	۲۷	۲۸	۲۹	۳۰	۳۱	۳۲	۳۳	۳۴	۳۵	۳۶	۳۷	۳۸	۳۹	۴۰	۴۱	۴۲	۴۳	۴۴	۴۵	۴۶	۴۷	۴۸	۴۹	۵۰	۵۱	۵۲	۵۳	۵۴	۵۵	۵۶	۵۷	۵۸	۵۹	۶۰	۶۱	۶۲	۶۳	۶۴	۶۵	۶۶	۶۷	۶۸	۶۹	۷۰	۷۱	۷۲	۷۳	۷۴	۷۵	۷۶	۷۷	۷۸	۷۹	۸۰	۸۱	۸۲	۸۳	۸۴	۸۵	۸۶	۸۷	۸۸	۸۹	۹۰	۹۱	۹۲	۹۳	۹۴	۹۵	۹۶	۹۷	۹۸	۹۹	۱۰۰	۱۰۱	۱۰۲	۱۰۳	۱۰۴	۱۰۵	۱۰۶	۱۰۷	۱۰۸	۱۰۹	۱۱۰	۱۱۱	۱۱۲	۱۱۳	۱۱۴	۱۱۵	۱۱۶	۱۱۷	۱۱۸	۱۱۹	۱۲۰	۱۲۱	۱۲۲	۱۲۳	۱۲۴	۱۲۵	۱۲۶	۱۲۷	۱۲۸	۱۲۹	۱۳۰	۱۳۱	۱۳۲	۱۳۳	۱۳۴	۱۳۵	۱۳۶	۱۳۷	۱۳۸	۱۳۹	۱۴۰	۱۴۱	۱۴۲	۱۴۳	۱۴۴	۱۴۵	۱۴۶	۱۴۷	۱۴۸	۱۴۹	۱۵۰	۱۵۱	۱۵۲	۱۵۳	۱۵۴	۱۵۵	۱۵۶	۱۵۷	۱۵۸	۱۵۹	۱۶۰	۱۶۱	۱۶۲	۱۶۳	۱۶۴	۱۶۵	۱۶۶	۱۶۷	۱۶۸	۱۶۹	۱۷۰	۱۷۱	۱۷۲	۱۷۳	۱۷۴	۱۷۵	۱۷۶	۱۷۷	۱۷۸	۱۷۹	۱۸۰	۱۸۱	۱۸۲	۱۸۳	۱۸۴	۱۸۵	۱۸۶	۱۸۷	۱۸۸	۱۸۹	۱۹۰	۱۹۱	۱۹۲	۱۹۳	۱۹۴	۱۹۵	۱۹۶	۱۹۷	۱۹۸	۱۹۹	۲۰۰	۲۰۱	۲۰۲	۲۰۳	۲۰۴	۲۰۵	۲۰۶	۲۰۷	۲۰۸	۲۰۹	۲۱۰	۲۱۱	۲۱۲	۲۱۳	۲۱۴	۲۱۵	۲۱۶	۲۱۷	۲۱۸	۲۱۹	۲۲۰	۲۲۱	۲۲۲	۲۲۳	۲۲۴	۲۲۵	۲۲۶	۲۲۷	۲۲۸	۲۲۹	۲۳۰	۲۳۱	۲۳۲	۲۳۳	۲۳۴	۲۳۵	۲۳۶	۲۳۷	۲۳۸	۲۳۹	۲۴۰	۲۴۱	۲۴۲	۲۴۳	۲۴۴	۲۴۵	۲۴۶	۲۴۷	۲۴۸	۲۴۹	۲۵۰	۲۵۱	۲۵۲	۲۵۳	۲۵۴	۲۵۵	۲۵۶	۲۵۷	۲۵۸	۲۵۹	۲۶۰	۲۶۱	۲۶۲	۲۶۳	۲۶۴	۲۶۵	۲۶۶	۲۶۷	۲۶۸	۲۶۹	۲۷۰	۲۷۱	۲۷۲	۲۷۳	۲۷۴	۲۷۵	۲۷۶	۲۷۷	۲۷۸	۲۷۹	۲۸۰	۲۸۱	۲۸۲	۲۸۳	۲۸۴	۲۸۵	۲۸۶	۲۸۷	۲۸۸	۲۸۹	۲۹۰	۲۹۱	۲۹۲	۲۹۳	۲۹۴	۲۹۵	۲۹۶	۲۹۷	۲۹۸	۲۹۹	۳۰۰	۳۰۱	۳۰۲	۳۰۳	۳۰۴	۳۰۵	۳۰۶	۳۰۷	۳۰۸	۳۰۹	۳۱۰	۳۱۱	۳۱۲	۳۱۳	۳۱۴	۳۱۵	۳۱۶	۳۱۷	۳۱۸	۳۱۹	۳۲۰	۳۲۱	۳۲۲	۳۲۳	۳۲۴	۳۲۵	۳۲۶	۳۲۷	۳۲۸	۳۲۹	۳۳۰	۳۳۱	۳۳۲	۳۳۳	۳۳۴	۳۳۵	۳۳۶	۳۳۷	۳۳۸	۳۳۹	۳۴۰	۳۴۱	۳۴۲	۳۴۳	۳۴۴	۳۴۵	۳۴۶	۳۴۷	۳۴۸	۳۴۹	۳۵۰	۳۵۱	۳۵۲	۳۵۳	۳۵۴	۳۵۵	۳۵۶	۳۵۷	۳۵۸	۳۵۹	۳۶۰	۳۶۱	۳۶۲	۳۶۳	۳۶۴	۳۶۵	۳۶۶	۳۶۷	۳۶۸	۳۶۹	۳۷۰	۳۷۱	۳۷۲	۳۷۳	۳۷۴	۳۷۵	۳۷۶	۳۷۷	۳۷۸	۳۷۹	۳۸۰	۳۸۱	۳۸۲	۳۸۳	۳۸۴	۳۸۵	۳۸۶	۳۸۷	۳۸۸	۳۸۹	۳۹۰	۳۹۱	۳۹۲	۳۹۳	۳۹۴	۳۹۵	۳۹۶	۳۹۷	۳۹۸	۳۹۹	۴۰۰	۴۰۱	۴۰۲	۴۰۳	۴۰۴	۴۰۵	۴۰۶	۴۰۷	۴۰۸	۴۰۹	۴۱۰	۴۱۱	۴۱۲	۴۱۳	۴۱۴	۴۱۵	۴۱۶	۴۱۷	۴۱۸	۴۱۹	۴۲۰	۴۲۱	۴۲۲	۴۲۳	۴۲۴	۴۲۵	۴۲۶	۴۲۷	۴۲۸	۴۲۹	۴۳۰	۴۳۱	۴۳۲	۴۳۳	۴۳۴	۴۳۵	۴۳۶	۴۳۷	۴۳۸	۴۳۹	۴۴۰	۴۴۱	۴۴۲	۴۴۳	۴۴۴	۴۴۵	۴۴۶	۴۴۷	۴۴۸	۴۴۹	۴۵۰	۴۵۱	۴۵۲	۴۵۳	۴۵۴	۴۵۵	۴۵۶	۴۵۷	۴۵۸	۴۵۹	۴۶۰	۴۶۱	۴۶۲	۴۶۳	۴۶۴	۴۶۵	۴۶۶	۴۶۷	۴۶۸	۴۶۹	۴۷۰	۴۷۱	۴۷۲	۴۷۳	۴۷۴	۴۷۵	۴۷۶	۴۷۷	۴۷۸	۴۷۹	۴۸۰	۴۸۱	۴۸۲	۴۸۳	۴۸۴	۴۸۵	۴۸۶	۴۸۷	۴۸۸	۴۸۹	۴۹۰	۴۹۱	۴۹۲	۴۹۳	۴۹۴	۴۹۵	۴۹۶	۴۹۷	۴۹۸	۴۹۹	۵۰۰	۵۰۱	۵۰۲	۵۰۳	۵۰۴	۵۰۵	۵۰۶	۵۰۷	۵۰۸	۵۰۹	۵۱۰	۵۱۱	۵۱۲	۵۱۳	۵۱۴	۵۱۵	۵۱۶	۵۱۷	۵۱۸	۵۱۹	۵۲۰	۵۲۱	۵۲۲	۵۲۳	۵۲۴	۵۲۵	۵۲۶	۵۲۷	۵۲۸	۵۲۹	۵۳۰	۵۳۱	۵۳۲	۵۳۳	۵۳۴	۵۳۵	۵۳۶	۵۳۷	۵۳۸	۵۳۹	۵۴۰	۵۴۱	۵۴۲	۵۴۳	۵۴۴	۵۴۵	۵۴۶	۵۴۷	۵۴۸	۵۴۹	۵۵۰	۵۵۱	۵۵۲	۵۵۳	۵۵۴	۵۵۵	۵۵۶	۵۵۷	۵۵۸	۵۵۹	۵۶۰	۵۶۱	۵۶۲	۵۶۳	۵۶۴	۵۶۵	۵۶۶	۵۶۷	۵۶۸	۵۶۹	۵۷۰	۵۷۱	۵۷۲	۵۷۳	۵۷۴	۵۷۵	۵۷۶	۵۷۷	۵۷۸	۵۷۹	۵۸۰	۵۸۱	۵۸۲	۵۸۳	۵۸۴	۵۸۵	۵۸۶	۵۸۷	۵۸۸	۵۸۹	۵۹۰	۵۹۱	۵۹۲	۵۹۳	۵۹۴	۵۹۵	۵۹۶	۵۹۷	۵۹۸	۵۹۹	۶۰۰	۶۰۱	۶۰۲	۶۰۳	۶۰۴	۶۰۵	۶۰۶	۶۰۷	۶۰۸	۶۰۹	۶۱۰	۶۱۱	۶۱۲	۶۱۳	۶۱۴	۶۱۵	۶۱۶	۶۱۷	۶۱۸	۶۱۹	۶۲۰	۶۲۱	۶۲۲	۶۲۳	۶۲۴	۶۲۵	۶۲۶	۶۲۷	۶۲۸	۶۲۹	۶۳۰	۶۳۱	۶۳۲	۶۳۳	۶۳۴	۶۳۵	۶۳۶	۶۳۷	۶۳۸	۶۳۹	۶۴۰	۶۴۱	۶۴۲	۶۴۳	۶۴۴	۶۴۵	۶۴۶	۶۴۷	۶۴۸	۶۴۹	۶۵۰	۶۵۱	۶۵۲	۶۵۳	۶۵۴	۶۵۵	۶۵۶	۶۵۷	۶۵۸	۶۵۹	۶۶۰	۶۶۱	۶۶۲	۶۶۳	۶۶۴	۶۶۵	۶۶۶	۶۶۷	۶۶۸	۶۶۹	۶۷۰	۶۷۱	۶۷۲	۶۷۳	۶۷۴	۶۷۵	۶۷۶	۶۷۷	۶۷۸	۶۷۹	۶۸۰	۶۸۱	۶۸۲	۶۸۳	۶۸۴	۶۸۵	۶۸۶	۶۸۷	۶۸۸	۶۸۹	۶۹۰	۶۹۱	۶۹۲	۶۹۳	۶۹۴	۶۹۵	۶۹۶	۶۹۷	۶۹۸	۶۹۹	۷۰۰	۷۰۱	۷۰۲	۷۰۳	۷۰۴	۷۰۵	۷۰۶	۷۰۷	۷۰۸	۷۰۹	۷۱۰	۷۱۱	۷۱۲	۷۱۳	۷۱۴	۷۱۵	۷۱۶	۷۱۷	۷۱۸	۷۱۹	۷۲۰	۷۲۱	۷۲۲	۷۲۳	۷۲۴	۷۲۵	۷۲۶	۷۲۷	۷۲۸	۷۲۹	۷۳۰	۷۳۱	۷۳۲	۷۳۳	۷۳۴	۷۳۵	۷۳۶	۷۳۷	۷۳۸	۷۳۹	۷۴۰	۷۴۱	۷۴۲	۷۴۳	۷۴۴	۷۴۵	۷۴۶	۷۴۷	۷۴۸	۷۴۹	۷۵۰	۷۵۱	۷۵۲	۷۵۳	۷۵۴	۷۵۵	۷۵۶	۷۵۷	۷۵۸	۷۵۹	۷۶۰	۷۶۱	۷۶۲	۷۶۳	۷۶۴	۷۶۵	۷۶۶	۷۶۷	۷۶۸	۷۶۹	۷۷۰	۷۷۱	۷۷۲	۷۷۳	۷۷۴	۷۷۵	۷۷۶	۷۷۷	۷۷۸	۷۷۹	۷۸۰	۷۸۱	۷۸۲	۷۸۳	۷۸۴	۷۸۵	۷۸۶	۷۸۷	۷۸۸	۷۸۹	۷۹۰	۷۹۱	۷۹۲	۷۹۳	۷۹۴	۷۹۵	۷۹۶	۷۹۷	۷۹۸	۷۹۹	۸۰۰	۸۰۱	۸۰۲	۸۰۳	۸۰۴	۸۰۵	۸۰۶	۸۰۷	۸۰۸	۸۰۹	۸۱۰	۸۱۱	۸۱۲	۸۱۳	۸۱۴	۸۱۵	۸۱۶	۸۱۷	۸۱۸	۸۱۹	۸۲۰	۸۲۱	۸۲۲	۸۲۳	۸۲۴	۸۲۵	۸۲۶	۸۲۷	۸۲۸	۸۲۹	۸۳۰	۸۳۱	۸۳۲	۸۳۳	۸۳۴	۸۳۵	۸۳۶	۸۳۷	۸۳۸	۸۳۹	۸۴۰	۸۴۱	۸۴۲	۸۴۳	۸۴۴	۸۴۵	۸۴۶	۸۴۷	۸۴۸	۸۴۹	۸۵۰	۸۵۱	۸۵۲	۸۵۳	۸۵۴	۸۵۵	۸۵۶	۸۵۷	۸۵۸	۸۵۹	۸۶۰	۸۶۱	۸۶۲	۸۶۳	۸۶۴	۸۶۵	۸۶۶	۸۶۷	۸۶۸	۸۶۹	۸۷۰	۸۷۱	۸۷۲	۸۷۳	۸۷۴	۸۷۵	۸۷۶	۸۷۷	۸۷۸	۸۷۹	۸۸۰	۸۸۱	۸۸۲	۸۸۳	۸۸۴	۸۸۵	۸۸۶	۸۸۷	۸۸۸	۸۸۹	۸۹۰	۸۹۱	۸۹۲	۸۹۳	۸۹۴	۸۹۵	۸۹۶	۸۹۷	۸۹۸	۸۹۹	۹۰۰	۹۰۱	۹۰۲	۹۰۳	۹۰۴	۹۰۵	۹۰۶	۹۰۷	۹۰۸	۹۰۹	۹۱۰	۹۱۱	۹۱۲	۹۱۳	۹۱۴	۹۱۵	۹۱۶	۹۱۷	۹۱۸	۹۱۹	۹۲۰	۹۲۱	۹۲۲	۹۲۳	۹۲۴	۹۲۵	۹۲۶	۹۲۷	۹۲۸	۹۲۹	۹۳۰	۹۳۱	۹۳۲	۹۳۳	۹۳۴	۹۳۵	۹۳۶	۹۳۷	۹۳۸	۹۳۹	۹۴۰	۹۴۱	۹۴۲	۹۴۳	۹۴۴	۹۴۵	۹۴۶	۹۴۷	۹۴۸	۹۴۹	۹۵۰	۹۵۱	۹۵۲	۹۵۳	۹۵۴	۹۵۵	۹۵۶	۹۵۷	۹۵۸	۹۵۹	۹۶۰	۹۶۱	۹۶۲	۹۶۳	۹۶۴	۹۶۵	۹۶۶	۹۶۷	۹۶۸	۹۶۹	۹۷۰	۹۷۱	۹۷۲	۹۷۳	۹۷۴	۹۷۵	۹۷۶	۹۷۷	۹۷۸	۹۷۹	۹۸۰	۹۸۱	۹۸۲	۹۸۳	۹۸۴	۹۸۵	۹۸۶	۹۸۷	۹۸۸	۹۸۹	۹۹۰	۹۹۱	۹۹۲	۹۹۳	۹۹۴	۹۹۵	۹۹۶	۹۹۷	۹۹۸	۹۹۹	۱۰۰۰
C. capoeta	A	A	T	C	C	T	C	C	A	T	T	G	C	A	T	A	T	C	T	A	A	A	A	A	T	A	C	A	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C</																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																										



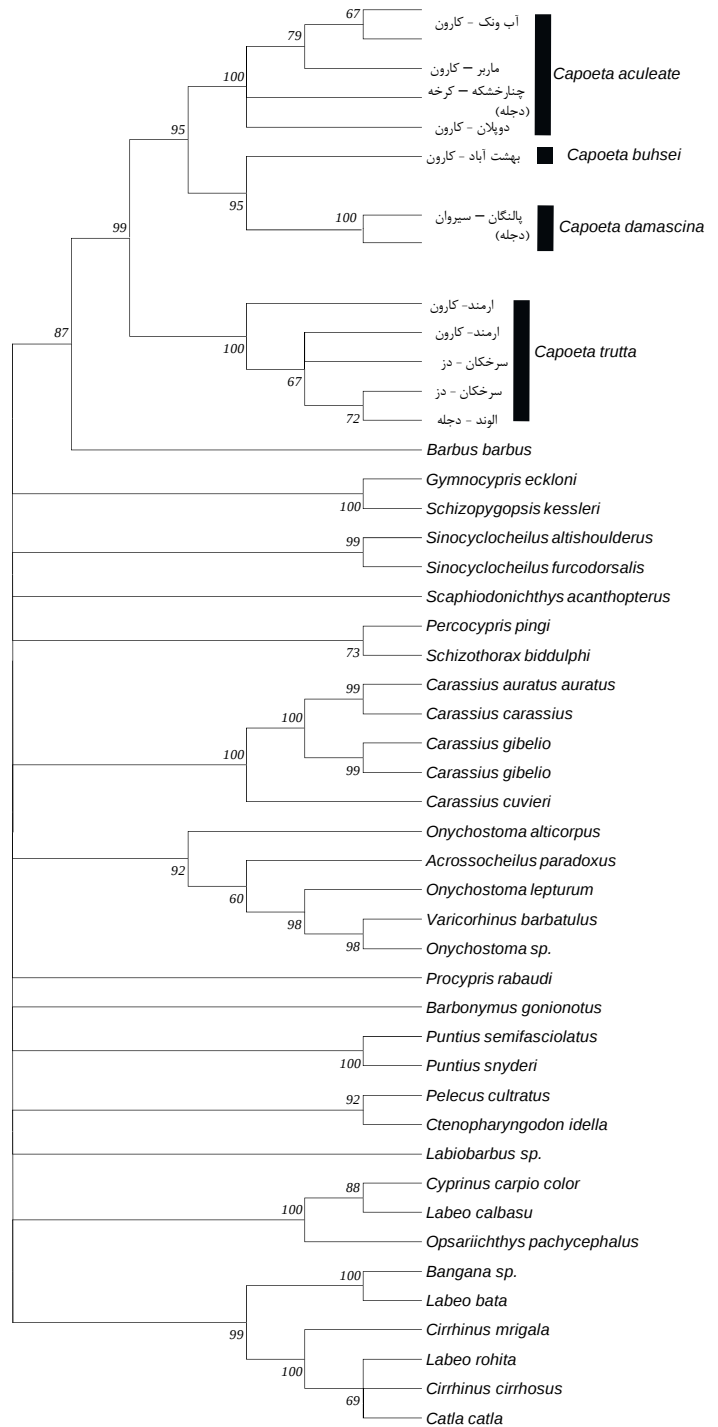
شکل ۲- شبکه هایلو تایی، ترسیم شده برای ژن COI ماهیان مورد بررسی. اعداد موجود در کنار خطوط نشان‌دهنده تعداد نوکلئوتیدهای متفاوت در بین هایلو تایی‌ها هستند.

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 (شکل ۳) 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

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 جدول ۱ ارائه شده است. در این رابطه گونه‌های *C. damascina* و *C. buhsei* 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 می‌توان زمان جدایی یا انشقاق گونه‌های *C.*

نتایج تحقیقات (Levin et al. 2012) مطابقت دارد، علاوه بر این (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 تا 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. با توجه 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* تکامل یافته است (Levin et al. 2012). در شبکه هاپلوتایپی ترسیم شده (شکل ۲)، 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 بین جمعیتی ماهیان مورد مطالعه تنها با توجه به تعداد کم نمونه‌های مورد استفاده 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.



شکل ۳- 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 بین‌النهرین معرفی شده توسط (Levin et al. 2012) کاملاً مشخص است. این مشاهده با

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, Largiadere 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, Stoeckle 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, Burrige 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, Gaffaroglu 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.