ژنتیک نوین
دوره دوازدهم، شماره ۱، بهار ۱۳۹۶
صفحه ۶۹ - ۶۱

بررسی شجره شناسی ماهیان جنس *Garra* در حوضه‌های کارون، کرخه، دز، دجله و مند با استفاده از ژن سیتوکروم اکسیداز زیرواحد یک

Phylogenetic analysis of the genus *Garra* in Karun, Karkheh, Dez, Tigris, and Mond Basins (Iran) using Cytochrom Oxidase subunit I

فرزاد کیانی[۱]، ایرج هاشم زاده سقرلو*[۱]، اصغر عبدلی[۲]، فردین شالوئی[۱]، فرزانه نیکوخواه[۱]

۱- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، دانشیار، استادیار، استادیار، گروه شیلات و محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی و علوم زمین، دانشگاه شهرکرد
۲- دانشیار گروه تنوع زیستی و مدیریت اکوسیستم، پژوهشکده علوم محیطی، دانشگاه شهید بهشتی

Kiani F[1], Hashemzadeh Segherloo I*[1], Abdoli A[2], Shaloee F[1], Nikukhah F[1]

1- Former MSc student, Associate Professor, Assistant Professor, Assistant Professor, Department of Fisheries and Environmental Sciences, Faculty of Natural Resources and Earth sciences, Shahr-e-Kord University, Shahr-e-Kord
2- Associate Professor, Department of Biodiversity and Ecosystem Management, Environmental Sciences Research institute, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran

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

(تاریخ دریافت: ۹۴/۷/۷ - تاریخ پذیرش: ۹۵/۲/۳۱)

چکیده

در این مطالعه شجره‌شناسی ماهیان *Garra* در حوضه‌های کارون، کرخه و دز در مقایسه با ماهیان *Garra rufa*، *Garra mondica* و *Garra typhlops* در حوضه‌های دجله، مند، کرخه و دز بررسی شد. تعداد ۲۶ قطعه از ماهیان جنس *Garra* از قسمت‌های مختلف حوضه‌های یاد شده با استفاده از توالی ژن سیتوکروم اکسیداز زیر واحد یک (COI) مورد ارزیابی قرار گرفت. برای بررسی روابط شجره‌شناسی از روش‌های الحاق همسایگی (Neighbour-Joining) و احتمال بیشینه (Maximum Likelihood)، برای بررسی روابط بین هاپلوتایپ‌ها از روش ترسیم شبکه هاپلوتایپی و برای مقایسه مقدار تمایز در بین گونه‌های مورد مطالعه از فاصله ژنتیکی K2P استفاده شد. در بین نمونه‌های مورد بررسی در مجموع ۱۰ هاپلوتایپ و سه گروه شجره‌شناسی مشاهده شد. در بررسی فاصله‌های ژنتیکی بین‌گروهی، مقدار فاصله ژنتیکی در بین *G. rufa* و نمونه‌های متعلق به حوضه‌های کارون، دز و کرخه (*Garra gymnothorax*)، ۵/۸۷ درصد بود. بیش‌ترین فاصله ژنتیکی مشاهده شده برابر ۱۲/۳۹ بین *G. gymnothorax* و *Garra tibanica* و کم‌ترین فاصله ژنتیکی برابر با ۱/۵۱ درصد بین *G. mondica* و *Garra elegans* مشاهده شد. فاصله ژنتیکی بین هاپلوتایپ‌های *G. gymnothorax* ۰/۳۳ درصد بود. بر پایه نتایج به‌دست آمده از این مطالعه می‌توان گفت که ماهیان جنس *Garra* در حوضه‌های کارون، دز و کرخه با *Garra rufa* تفاوت دارند که با تفاوت‌های ریخت شناسی موجود در سایر مطالعات مطابقت دارد. در مقایسه با گونه *G. rufa* که پراکنش وسیعی در حوضه‌های دجله، فرات و حوضه‌های ایرانی مثل مند و کر دارد، گونه *G. gymnothorax* تنها در حوضه‌های کارون، دز و کرخه پراکنش داشته و با توجه به روابط نزدیک با گونه *G. typhlops* احتمالاً این گونه در حوضه کارون-دز و کرخه تکامل یافته است. در مجموع با توجه به اینکه در این مطالعه تنها از یک ژن استفاده شده‌است به‌نظر می رسد جهت قضاوت بهتر لازم است از ژن‌های دیگر، به‌ویژه نشانگرهای هسته‌ای مثل ژن *RAG7*، رودوپسین و یا روش‌های توالی‌یابی نسل جدید نیز استفاده شده و هم‌چنین از سایر نقاط حوضه کارون، دز و کرخه و سایر منابع آبی مجاور نمونه‌هایی تهیه و بررسی شود.

واژه‌های کلیدی

تمایز ژنتیکی
حوضه کارون-دز
حوضه کرخه
سیتوکروم اکسیداز زیرواحد یک
Garra gymnothorax

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.1.7.7]

مقدمه

در میان ماهیان خانواده Cyprinidae، جنس *Garra* در سراسر خاورمیانه، جنوب شرق آسیا و مناطق حاره‌ای آفریقا یافت می‌شود (Coad 2016). تاکنون ۱۲۶ گونه از این جنس در جهان و ۱۱ گونه در ایران گزارش شده‌است (Esmaeili et al. 2016; Mousavi-Sabet et al. 2016). گونه‌های ایرانی جنس *Garra* را می‌توان در دو گروه شجره‌شناسی عمده *Garra variabilis* و *Garra rufa* تقسیم‌بندی کرد (Hashemzadeh Segherloo et al. 2017). گروه شجره‌شناسی *G. variabilis* شامل گونه‌های *G. variabilis*، *Garra nudiventris* و *Garra rossica* بوده و گروه *G. rufa* شامل گونه‌های *G. rufa*، *Garra mondica*، *Garra persica*، *Garra typhlops*، *Garra lorestanensis*، *Garra gymnothorax*، *Garra tashanensis* و *Garra amirhosseini* است (Esmaeili et al. 2016; Hashemzadeh Segherloo et al. 2017; Mousavi-Sabet et al. 2016). گونه *G. variabilis* در حوضه دجله در غرب ایران گزارش شده‌است، اما گونه‌های *G. rossica* و *G. nudiventris* در نواحی شرقی ایران پراکنش دارند و گونه‌های گروه *G. rufa* در حوضه‌های خلیج فارس و کر گزارش شده‌اند (Hashemzadeh Segherloo et al. 2017). بر پایه گزارش‌های موجود در حوضه کارون–دز سه تا چهار گونه از ماهیان جنس *Garra* شامل *G. typhlops*، *G. lorestanensis* و *G. gymnothorax* وجود دارند (Berg 1949; Abdoli 2000; Farashi et al. 2014; Mousavi-Sabet and Eagderi 2016).

Berg (1949) بر پایه بررسی الگوی فلس پوشی ناحیه سینه‌ای در ماهیان نمونه‌برداری شده از حوضه دز در دزفول و ایذه در حوضه کارون ماهیان *Garra* ساکن مناطق یاد شده را *G. rufa gymnothorax* نامیده است. برپایه اطلاعات ارایه شده (Berg 1949)، زیرگونه موجود در حوضه دز– کارون در بین باله‌های سینه‌ای و در ناحیه سینه فاقد فلس است، ولی در گونه *G. rufa* در ناحیه بین باله‌های سینه ای فلس وجود دارد. Abdoli (2000) ماهیان کارون را *G. rufa* معرفی می‌کند. امروزه *G. rufa gymnothorax* معرفی شده توسط Berg (1949) به‌عنوان *G. gymnothorax* شناخته شده و مورد پذیرش قرار گرفته است (Eschmeyer et al. 2016).

معمولاً در ماهیان، صفات ریختی ممکن است تحت تأثیر محیط تغییر کند و تفاوت‌های مشاهده شده بیش‌تر ریشه محیطی داشته باشد تا آن‌که توسط عوامل ژنتیکی کنترل شود، از سوی دیگر ممکن است تفاوت‌های ریختی ریشه در عوامل ژنتیکی و تاریخ تکاملی نیز داشته باشند. تفاوت‌های یادشده در مورد ماهیان حوضه کارون، دز و کرخه و گونه *G. rufa* ممکن است نشان دهنده تفاوت‌هایی در سازگاری‌های محیطی و یا تفاوت‌های ژنتیکی باشد. در این مطالعه تلاش بر این بود که با استفاده از توالی ژن سیتوکروم اکسیداز زیر واحد یک (*Cytochrome Oxydase subunit 1*) تفاوت‌های احتمالی ماهیان حوضه کارون *G. rufa gymnothorax*، با نمونه‌های رودخانه کرخه، دز و حوضه‌های دجله و مند بررسی شود. علت انتخاب این ژن این بود که استفاده از توالی ژن *CO1* برای شناسایی گونه‌ها در بیش از ۹۰ درصد مهره‌داران موثر بوده است (Ward et al. 2005; Hajibabaei et al. 2006; Hubert et al. 2008).

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری از ماهیان مورد استفاده در این مطالعه در سال‌های ۱۳۸۶، ۱۳۸۹، ۱۳۹۰ و ۱۳۹۵ از رودخانه‌های حوضه کارون (٤ نمونه: N31:55:05.67 E50:36:07.37)، دز (۲ نمونه: N33:38:41.44, E48:54:10.18 و N33:03:53.63 E48:37:52.89)، کرخه (۵ نمونه: N33:31:08.56 E48:46:22.6) در استان‌های چهار محال و بختیاری و لرستان، رودخانه مند بوشهر (۳ نمونه: N28:43:59 E51:47:58) و رودخانه دجله (۱۲ نمونه: N35:04:01.34 E46:36:10.37 و N35:07:19.40 E46:14:12.45) در کردستان (شکل ۱) با استفاده از الکتروشوکر کوله پشتی انجام پذیرفت. نمونه های مورد نظر ابتدا در عصاره گل میخک بی‌هوش شدند. در زمان نمونه‌برداری، باله سینه‌ای سمت راست ماهیان قطع و در الکل اتانل ۹٦ درصد برای مطالعات ژنتیکی تثبیت شد. هم‌چنین، ماهیانی که از باله سینه‌ای آن‌ها نمونه‌برداری صورت گرفت، جهت بررسی الگوهای فلس-

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.1.7.7]

پوشی در فرمالین ۱۰ درصد نگهداری شدند. استخراج DNA با استفاده از روش کیلاکس (Chelex 100) صورت گرفت (Estoup et al. 1996). برای تکثیر قطعه ژن سیتوکروم اکسیداز ۱ از آغازگرهای پیشرو (FCO1) و معکوس (RCO1) (جدول ۱) با توجه به مطالعات قبلی استفاده شد (Hashemzadeh Segherloo et al. 2012). برای انجام عملیات تعیین توالی ژن *COI*، ابتدا این ژن با استفاده آغازگرهای یادشده تکثیر شد. هر واکنش PCR به حجم ۲۵ میکرولیتر، شامل ۱۸ میکرولیتر آب‌مقطر، ۲/۵ میکرولیتر بافر۱۰X، ۰/۵ میکرولیتر کلرید منیزیم ۵۰ میلی‌مولار، ۰/۵ میکرولیتر از محلول ۱۰ میلی‌مولار هر آغازگر، ۰/۵ میکرولیتر از بازهای آلی (dNTP) ۲۵ میلی‌مولار، ۰/۵ میکرولیتر آنزیم بیوتگ (پنج واحد در میکرولیتر) و دو میکرولیتر DNA بود (Estoup et al. 1996). شرایط دمایی واکنش زنجیره پلیمراز شامل یک چرخه ۱۰ دقیقه‌ای در دمای ۹٤ درجه سانتی‌گراد، ۳٤ چرخه ۹٤ درجه سانتی‌گراد (یک دقیقه)، ۵۵ 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 ۱۳۰۰ جفت‌باز، تکثیر شد. برای انجام بررسی‌های شجره شناسی، توالی انتهای ژن *COI* با استفاده از آغازگرهای پیشرو و معکوس (جدول ۱) و با دستگاه ABI3100تعیین شد. توالی‌های خام به‌صورت چشمی با استفاده از نرم‌افزار Bioedit V 7.2.5 ویرایش شدند. عملیات انطباق توالی‌های COI با استفاده از نرم‌افزار MEGA7 انجام شد. به‌منظور یافتن توالی‌های مشابه برای استفاده در بررسی شجره شناسی، هاپلوتایپ‌های به‌دست آمده با استفاده از جستجوی BLAST (Altschul et al. 1997) در بانک ژن (*NCBI*) با سایر توالی‌های موجود برای گونه‌های کپورماهیان مقایسه شده و تعدادی از توالی‌های متعلق به گونه‌های جنس *Garra* و گونه *Danio rerio* به‌عنوان گروه خارجی جهت استفاده در این مطالعه انتخاب شدند (جدول ۲). در پایان، یک قطعه توالی به‌طول ٦۰۷ جفت‌باز به دست آمد که در بین ماهیان مورد مطالعه و توالی‌های موجود در بانک ژن، مشترک بود. برای ایجاد شاخص کمی برای مقایسه مقدار تمایز در بین گونه‌ها، فاصله ژنتیکی K2P (Kimura 1980) با استفاده از نرم‌افزار MEGA7 محاسبه شد (Kumar et al. 2016). برای آزمون شجره‌شناسی از روش آماری بوسترپ با ۱۰۰۰ و ۵۰۰ تکرار به‌ترتیب برای ترسیم دارنگاره الحاق همسایگی (Neighbor-joining) و Maximum Likelihood (ML) استفاده شد، که در درخت ترسیم شده شاخه‌های دارای مقدار بوسترپ کمتر از ۵۰ درصد حذف شدند. برای مشاهده روابط بین هاپلوتایپ‌ها در سطح درون گونه‌ای و بین گونه‌ای شبکه هاپلوتایپی با استفاده از نرم‌افزار TCS 1.2.1 ترسیم شد (Clement et al. 2000). برای مشاهده تمام هاپلوتایپ‌ها در یک شبکه، تعداد گام‌های جهشی در نرم‌افزار در ۲۵ جهش تنظیم شد. آزمون saturation با استفاده از نرم‌افزار DAMBE Xia and Lemey (2009) انجام شد.

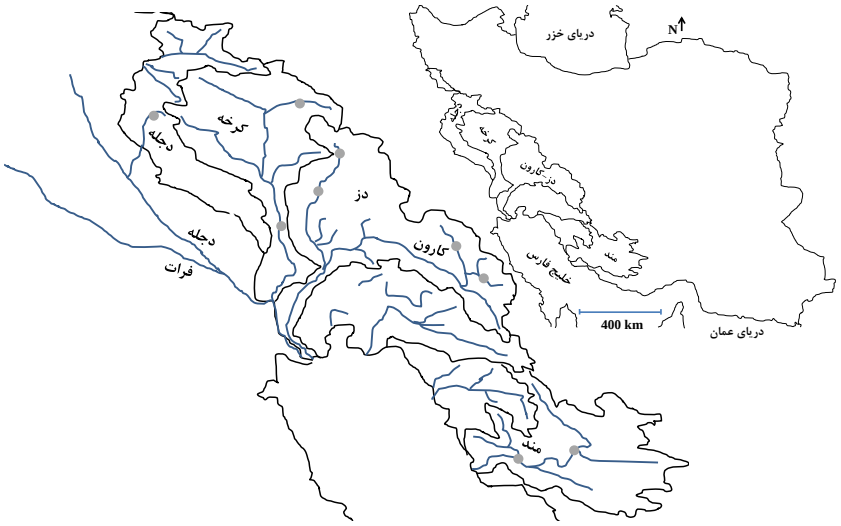
جدول ۱- آغازگرهای مورد استفاده جهت تکثیر ژن *COI*

نوع و نام آغازگر	توالی پرایمر
پرایمر پیشرو (FCOI20)	5′ -AACCTCTGTCTTCGGGGCTA-3′
پرایمر معکوس (RCOI20)	5′-AGTGGTTATGYGGCTGGCTT-3′

جدول ۲- گونه‌های برگرفته از بانک ژن (*NCBI*)

گونه	کد دسترسی	گونه	کد دسترسی
Danio rerio	KM244705.1	*Garra nana*	KJ553487.1
Garra barreimiae	KM214734.1	*Garra nasuta*	JX074219.1
Garra congoensis	HM418166.1	*Garra orientalis*	AP011202.1
Garra cyrano	JX074214.1	*Garra persica*	KM214807.1
Garra elegans	KM214702.1	*Garra rufa*	KM214692.1
Garra festai	KJ553590.1	*Garra sahilia*	KM214718.1
Garra ghorensis	KJ553348.1	*Garra tibanica*	KM214748.1
Garra gotyla	JF915613.1	*Garra turcica*	KM214696.1
Garra jordanica	KJ553525.1	*Garra typhlops*	KM214776.1

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.1.7.7]



شکل ۱- مناطق نمونه برداری

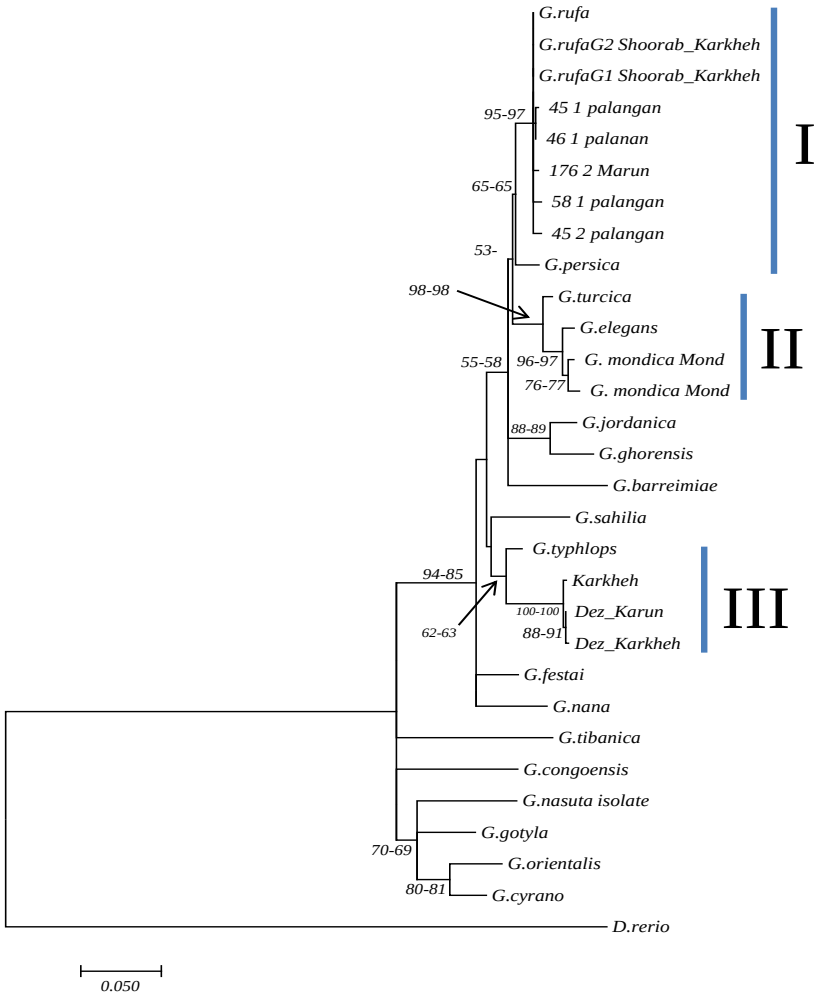
نتایج و بحث

در مجموع، پنج هاپلوتایپ برای *G. rufa* و هم‌چنین سه هاپلوتایپ برای گونه *G. gymnothorax* و دو هاپلوتایپ برای *G. mondica* مشاهده شد (شکل ۳). ترکیب نوکلئوتیدها در توالی‌های بررسی شده شامل ۲۸/۵ درصد نوکلئوتید تیمین (T)، ۲۶/٤ درصد نوکلئوتید سیتوزین (C)، ۲۶/۷ درصد نوکلئوتید آدنین (A) و ۱۸/٤ درصد نوکلئوتید گوانین (G) بود. از ٦۰۷ جفت‌باز مورد بررسی تعداد ۱۷۰ جفت‌باز متغیر بودند که ۱۳۲ نوکلئوتید دارای حالت Parsimony informative بودند، به این مفهوم که این نقاط حاوی حداقل دو نوع نوکلئوتید بوده و حداقل دوتای آن‌ها دارای فراوانی دو یا بیش‌تر هستند. در توالی‌های مورد بررسی اشباع (Saturation) قابل‌توجهی در بین رمزهای ژنتیکی مشاهده نشد (ISS<ISSC; $P<0.01$). بهترین مدل تکاملی برای توالی‌های مورد استفاده در این مطالعه بر پایه معیار اطلاعاتی آکایکه (AIC) مدل *GTR+G+I* بود. هر دو روش Maximum Likelihood و الحاق همسایگی نتایج مشابهی را به‌دست دادند و به همین دلیل تنها دارنگاره Maximum Likelihood همراه با مقادیر بوسترپ بالاتر از ۵۰ درصد برای هر دو دارنگاره ارایه شده‌است (شکل ۲). در هر دو دارنگاره، ماهیان مورد مطالعه همراه با تعدادی از گونه‌های برگرفته از بانک ژن در یک گروه تک شجره‌ای (Monophyletic) با مقادیر بوسترپ ۹٤ و ۸۵ درصد به‌ترتیب در دارنگاره‌های Maximum Likelihood و الحاق همسایگی قرار گرفتند (شکل ۱). در بین نمونه‌های بررسی شده در این مطالعه می‌توان سه زیرگروه‌گروه شجره‌شناسی (subclade) شامل گروه‌های *G. rufa* (I) در حوضه‌های کرخه، دجله (پالنگان) و مند با مقادیر بوسترپ ۹۵ و ۹۷ درصد، *G. mondica* (II) در حوضه مند و دجله با مقدار بوسترپ ۹۸ درصد و *G. gymnothorax* (III) در حوضه‌های کارون، دز و کرخه با مقادیر بوسترپ ٦۲ و ٦۳ درصد مشاهده کرد (شکل ۲). در گروه شجره‌شناسی I گونه‌های *G. rufa* و *G. persica*، در گروه شجره‌شناسی II گونه‌های *G. mondica*، *G. elegans* و *G. turcica* و در گروه شجره‌شناسی III گونه‌های *G. gymnothorax* و *G. typhlops* حضور دارند. در بررسی فاصله‌های ژنتیکی بین‌گروهی (جدول ۳)، مقدار فاصله ژنتیکی ژن *CO1* در بین *G. rufa* و *G. persica*، ۲/۵٦ درصد و در بین *G. rufa* و *G. gymnothorax*، ۵/۸۷ درصد است. بیش‌ترین فاصله ژنتیکی برابر ۱۲/۳۹ در بین *G. gymnothorax* و *G. tibanica* و کمترین فاصله ژنتیکی برابر با ۱/۵۱ درصد در بین *G. mondica* و *G. elegans* مشاهده شد (جدول ۳). فاصله ژنتیکی *G. gymnothorax* نسبت به گونه‌های *G. rufa* و *G. mondica* به‌ترتیب برابر با ۵/۸۷ و ۵/۸۸ درصد است (جدول ۳). قرار گرفتن هاپلوتلیپ‌های *G. gymnothorax* در یک زیرگروه شجره‌شناسی مستقل در کنار فاصله ژنتیکی قابل توجه آن نسبت به گونه‌های دیگر به نوعی نشان‌دهنده جدایی تکاملی این گونه از گونه‌هایی مثل *G. rufa* و *G. mondica* است. برای اولین بار Berg (1949) ماهیان پائین دست کارون در منطقه ایذه را به‌عنوان یکی از

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.1.7.7]

زیرگونه‌های گونه *G. rufa* به نام *G. rufa gymnothorax* معرفی کرد. علت نام‌گذاری یاد شده هم عدم وجود فلس در ناحیه سینه-ای نمونه‌های متعلق به منطقه کارون و وجود فلس در ناحیه سینه-ای گونه *G. rufa* بوده است. امروزه در منابع علمی مثل کاتالوگ ماهیان و سایر انتشارات علمی از ماهیان یاشده به‌عنوان *G. gymnothorax* یاد می‌شود (Eschmeyer et al. 2016). نتایج این مطالعه نیز نشان می‌دهد، در کنار تفاوت‌های ریخت‌شناسی عنوان شده تفاوت‌های ژنتیکی قابل توجهی در بین *G. gymnothorax* و گونه *G. rufa* وجود دارد (جدول ۳ و شکل ۲).

در مطالعات بارکدینگ در مورد ماهیان آب‌شیرین، مشخص شده است مقدار تمایز ژن *CO1* در سطح جمعیت‌های داخل یک گونه حدود صفر تا ۷/۴۲ درصد (به‌طور متوسط ۰/۲۷ درصد) است و تفاوت‌ها در بین گونه‌های یک جنس صفر تا ۱۹/۳۳ درصد (به-طور متوسط ۸/۳ درصد) است (Hubert et al. 2008). در مورد ماهیان دریایی هم مقادیر تمایز ژنتیکی در سطح درون‌گونه‌ای صفر تا ۱۴/۰۸ درصد و در سطح بین‌گونه‌ای صفر تا ۲۰/۶۳ درصد (به‌طور متوسط ۹/۹۳ درصد) گزارش شده و در بیش از ۹۵ درصد گونه‌های بررسی شده مقدار تمایز درون گونه‌ای کمتر از دو درصد بوده است (Ward et al. 2005).

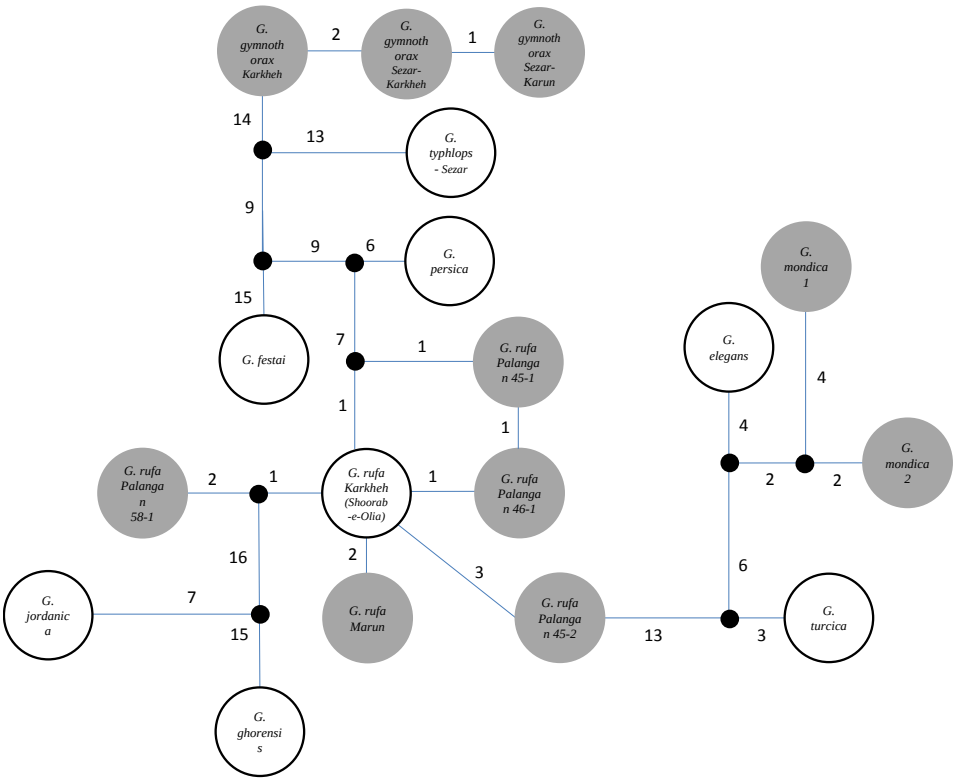


شکل ۲- دارنگاره Maximum Likelihood ترسیم شده برای ۶۰۷ جفت باز انتهای ′5 ژن سیتوکروم اکسیداز زیرواحد یک. اعداد ارایه شده در کنار شاخه‌ها به ترتیب ضرایب بوسترپ دارنگاره‌های Maximum Likelihood و الحاق همسایگی هستند. در این دارنگاره تنها ضرایب بوسترپ بزرگ‌تر از ۵۰ درصد نمایش داده شده‌اند. خطوط آبی درمقابل خوشه‌های دارنگاره نشان‌دهنده گروه‌های شجره‌شناسی مشاهده شده در این مطالعه هستند.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.1.7.7]

جدول ۳- فواصل ژنتیکی K2P در بین گونه‌های مختلف. ارقام ارایه شده به درصد است.

	۱	۲	۳	٤	٥	٦	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲	۱۳	۱٤	۱٥	۱٦	۱۷	۱۸
G.gymnothorax (۱)																		
G. mondica (۲)	٥/۸۸																	
G.rufa (۳)	٥/۸۷	٤/٤٦																
G. persica (٤)	٥/۷٥	٤/۳۱	۲/٥٦															
G. turcica (٥)	٥/۸۷	۲/۲۸	۳/۲٥	۳/۷٦														
G.elegans (٦)	٥/۹٤	۱/٥۱	٤/۱۰	٤/۱۳	۲/۱۹													
G.jordanica (۷)	٦/۲٥	٥/۹٥	٤/۳۳	٥/۲۱	٤/۸٤	٥/۹٥												
G.festai (۸)	٦/۱۱	٦/۳۱	٥/٦۹	٥/۲۰	٥/۹۳	٦/٦۹	٦/٦۹											
G.ghorensis (۹)	۷/۷٥	٦/٦۹	٥/۷۳	٥/۹٤	٥/٥٦	٦/٦۹	۳/۷٦	٦/٦۸										
G.barriemiae (۱۰)	۷/۹۹	۷/۰٥	٦/۲۳	٥/۹۳	٦/۲۹	۷/٤۳	۷/۰٥	۷/٦۱	۸/۱۹									
G.nana (۱۱)	۷/۲۳	٦/۷۷	٥/۹۱	٥/۲۰	٥/۹٤	۷/۲٤	۷/٤۳	٥/٥٥	۷/٦۱	۸/۷٦								
G.sahilia (۱۲)	۷/٦۱	٦/٦۸	٦/٥۱	٦/٤۹	٦/٤۸	۷/٦۳	۷/٦۳	٦/۸٥	٦/۸٥	۸/۳۷	۷/٦۰							
G.orientalis (۱۳)	۱۰/٥٤	۸/٦۲	۹/۸۰	۸/٥۳	۸/۱۳	۹/۷۰	۱۰/۹۰	۸/۳٥	۹/٦۹	۱۱/۰۷	۹/۲۸	۱۰/۰۷						
G.nasuta (۱٤)	۱۰/۳۸	۱۰/٥۷	۱۰/۰۲	۹/۰۸	۱۰/٦٥	۱۰/۲۷	۱۰/٤۷	۸/۹۰	۹/٦۹	۱۲/٦۸	۱۰/٦٤	۱۱/٦٥	۸/٥۷					
G.gotyla (۱٥)	۱۱/۷۱	۸/۹۸	۹/٥۳	۸/۱۱	۸/۸۷	۹/۲۷	۱۱/۰٦	۸/۱۲	۱۰/٦٤	۱۱/۸٤	۹/۸۳	۱۰/۰۳	٦/۸۱	۷/۰۰				
G.congoensis (۱٦)	۱۰/۰٤	۹/۸٦	۹/٦۳	۸/٦۸	۸/۸۷	۱۰/٤٥	۱۱/٤٦	۹/۸۷	۱۰/٤٤	۱۱/٤۳	۹/٤٦	۸/۸۸	۸/۸۹	۹/۸٤	۷/۹۲			
G.tibanica (۱۷)	۱۲/۳۹	۱۱/۷۲	۱۰/٥۰	۹/۹۰	۱۰/۸۹	۱۲/۱۳	۱۱/۷۲	۱۰/۷۲	۱۲/۳۲	۱۲/۳۰	۱۱/۰۷	۱۲/۱۰	۱۰/۷۲	۱۰/٤۸	۹/٦۷	۱۱/۸۹		
G.cyrano (۱۸)	۱۱/۱۳	۹/٦۹	۱۰/۱۳	۹/۸۸	۹/۱۱	۱۰/۰۸	۱۰/٦۸	۹/۳۱	۹/۸۷	۱۱/٦۷	۹/۸۸	۱۰/۰٥	٤/٦٦	٦/۸۳	٦/۰۷	۸/۸۸	۱۰/٥۰	
G. typhlops (۱۹)	٤/۱۲	٦/۱٤	٤/٤٦	٤/۳۱	٥/۷٦	٦/۱٤	٥/۷۷	٤/۳۰	٦/٥۰	۷/٦۳	٥/۷٥	٥/۲۰	۹/٥۰	۸/۸۹	۹/۲۷	۹/٦٦	٥۰/۹۰	۹/٦۹



شکل ۳- شبکه هاپلوتایپی ترسیم شده برای ژن *COI* ماهیان مورد بررسی. اعدادی که در کنار خطوط قرار دارند نشان‌دهنده تعداد نوکلئوتیدهای متفاوت (جهش) در بین نمونه‌ها هستند. دایره‌های خاکستری نشان‌دهنده هاپلوتایپ‌های مشاهده شده در این مطالعه هستند. دایره‌های سیاه‌رنگ نشان‌دهنده هاپلوتایپ‌های نامشخصی است که به مسیرهای جهشی و در نتیجه گونه‌های متفاوت ختم می‌شوند.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.1.7.7]

دامنه وسیع مقادیر تمایز را می‌توان به موارد محدودی نسبت داد که در سطح درون‌گونه‌ای و بین‌گونه‌ای دارای تمایز قابل‌توجهی بوده و در بررسی‌های سنتی مثل ریخت‌شناسی در یک گروه رده-بندی قرار گرفته و یا در مورد آن‌ها نفوذ ژنتیکی رخ داده است (Hubert et al. 2008). برای مثال در مطالعه Hubert et al. (2008) در سطح درون‌گونه‌ای، در ۹۶ درصد افراد بررسی شده مقدار تمایز ژنتیکی کمتر از یک درصد بود. در مطالعه Birecikligil et al. (2016) مقدار تمایز در بین گونه‌های ماهیان دو تا چهار درصد عنوان شده‌است. با توجه به این موضوع، می‌توان تفاوت ۵/۸۷ درصدی هاپلوتایپ مشاهده شده در حوضه‌های کرخه، دز و کارون را نسبت به هاپلوتایپ‌های *G. rufa*، نشان-دهنده تمایز ژن *CO1*، در حدی دانست که در بین گونه‌های مختلف یک جنس وجود دارد. البته باید به این نکته توجه داشت که در برخی موارد، مرزهای رده‌بندی (تمایز) ممکن است تغییر کند. مثلاً در مطالعه Hubert et al. (2008)، ضرائب تمایز در سطح درون‌گونه‌ای از صفر تا ۷/۴۲ درصد، در سطح بین گونه های یک جنس از صفر تا ۱۹/۳۳ درصد و در بین جنس‌های یک خانواده از ۲/۶۷ تا ۲۳/۲۲ درصد متغیر بوده است. این نشان‌دهنده آن است که در موارد معدودی نیز ممکن است بین اختلافات ریخت شناسی و اختلافات ژنتیکی، مطابقت وجود نداشته باشد، اما روش بارکدینگ، با استفاده از توالی ژن *CO1*، در تفکیک و شناسایی بیش از ۹۰ درصد مهره‌داران موثر بوده است (Ward et al. 2005; Hajibabaei et al. 2006; Hubert et al. 2008).

علاوه بر نتایج یاد شده در این مطالعه، با توجه به گروه‌بندی‌های مشاهده شده در دارنگاره و با توجه به این که فاصله ژنتیکی ماهیان *G. gymnothorax* در مقایسه با ماهی کور غار لرستان *G. typhlops* نزدیک‌تر (۴/۳۰-۳/۹۳: ۴/۱۲ درصد) است تا فاصله ژنتیکی گروه *G. rufa* و ماهی کور غار لرستان (۴/۴۶ درصد)، بنابراین می‌توان عنوان نمود که ماهی کور غار با گونه *G. gymnothorax* از نظر شجره‌شناسی رابطه نزدیکی داشته و احتمالاً دارای منشأ مشترکی هستند. با توجه به نتایج به‌دست آمده در این مطالعه می‌توان پراکنش گونه *G. gymnothorax* را علاوه بر رودخانه کارون در رودخانه‌های کرخه و دز نیز معرفی کرد. در مطالعات گذشته پراکنش این گونه تنها در حوضه کارون گزارش شده بود (Hashemzadeh Segherloo et al. 2017).

با توجه به شبکه هاپلوتایپی که برای گونه‌های مورد مطالعه تهیه شده‌است، هاپلوتایپ‌های مشاهده شده در رودخانه سیروان (پالنگان) و مارون، از یک تا سه نوکلئوتید با هاپلوتایپ مربوط به گونه *G. rufa* بانک ژن فاصله دارند. با توجه به این‌که *G. rufa* در رودخانه‌های پالنگان و مارون به‌صورت شاخه‌های فرعی در شبکه هاپلوتایپی به هاپلوتایپ موجود در بانک ژن متصل بوده و هاپلوتایپ یادشده جایگاه مرکزی دارد می‌توان هاپلوتایپ‌های رودخانه پالنگان و مارون را از هاپلوتایپ‌های نسبتاً جدید در نظر گرفت. در شبکه هاپلوتایپی، هاپلوتایپی که بیش‌ترین ارتباط را با سایر هاپلوتایپ‌ها داشته باشد به‌عنوان قدیمی‌ترین هاپلوتایپ شناخته می‌شود. در این رابطه هاپلوتایپ‌های متعلق به رودخانه شوراب علیا در حوضه کرخه با هاپلوتایپ موجود در بانک ژن مشابه بوده و در شبکه هاپلوتایپی دارای موقعیت مرکزی هستند، این امر ممکن است نشاندهنده قدمت بالاتر این هاپلوتایپ باشد. در رابطه با هاپلوتایپ‌های مشاهده شده برای گونه *G. mondica* می‌توان هاپلوتایپ‌های این گونه را از هاپلوتایپ‌های جدید به شمار آورد، اما در این قضاوت باید با احتیاط برخورد شود، زیرا در این مطالعه همه هاپلوتایپ‌های موجود شناسایی نشده و نمونه‌برداری محدود بوده است و بنابراین نمی‌توان نتایج را قطعی دانست. در شبکه هاپلوتایپی، هاپلوتایپ مشاهده شده برای گونه *G. gymnothorax* در رودخانه کرخه در مسیر جهش از سایر هاپلوتایپ‌های گونه *G. gymnothorax* در رودخانه‌های دز و کارون به سایر گونه‌ها قرار دارد و همین موضوع ممکن است نشان‌دهنده قدیمی بودن این هاپلوتایپ باشد (شکل ۳). از نظر جغرافیایی در حوضه دز هر دو نوع هاپلوتایپ مشاهده شده در حوضه‌های کارون و کرخه، وجود دارد. با توجه به این‌که حوضه دز در بین دو حوضه کرخه و کارون قرار دارد ممکن است بتوان مرکز منشأ هاپلوتایپ‌های یادشده را رودخانه دز عنوان نمود. اما باید یادآوری شود که تعداد نمونه‌ها در این مطالعه محدود بوده و نمی‌توان با قطعیت در مورد روابط یادشده قضاوت نمود. به همین دلیل برای تأیید نتایج مشاهده شده باید از نمونه‌های بیش‌تری در نقاط مختلف حوضه‌های یاد شده استفاده شود.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.1.7.7]

از نظر جغرافیایی پراکنش گونه *G. gymnothorax* محدود به حوضه‌های کارون، دز و کرخه است و با وجود ارتباط نزدیک این حوضه با حوضه‌های دجله، نمی‌توان توجیه خاصی در مورد پراکنش محدود آن طرح نمود. شاید بتوان فرضیاتی مثل فرضیات زیست‌شناختی و یا حتی تغییرات درون حوضه‌ای و جدایی حوضه‌ها در گذشته را مطرح نمود. با توجه به رابطه شجره‌شناسی نزدیک گونه *G. gymnothorax* و گونه *G. typhlops* در حوضه-دز، می‌توان این فرض را مطرح نمود که احتمالاً گونه *G. gymnothorax* در حوضه دز-کارون-کرخه تکامل یافته و از اجزای بومی فون ماهیان منطقه یاد شده‌است. شواهد این موضوع را می‌توان رابطه تکاملی این گونه با گونه *G. typhlops* و عدم گزارش این گونه در سایر نقاط خاورمیانه عنوان نمود (Hashemzadeh Segherloo et al. 2017). با فرض این‌که گونه-های *G. typhlops* و *G. gymnothorax* از نیاکان مشترکی در حوضه دز-کارون-کرخه مشتق شده‌اند و تمایز بین نمونه‌های این گونه‌ها بر پایه ضرایب ساعت‌های مولکولی موجود برای کپورماهیان (Levin et al. 2012) نیازمند زمان تکاملی ٦-٥ میلیون سال است، می‌توان وجود نیاکان مشترک گونه‌های *G. typhlops* و *G. gymnothorax* را در حوضه‌های دز-کارون-کرخه در بازه زمانی یادشده محتمل دانست.

در مجموع نتایج این مطالعه تنها نشان دهنده شجره‌شناسی مادری نمونه‌های مورد مطالعه است (Hallerman 2003). گاهی ممکن است روابط شجره‌شناسی مبتنی بر ژن‌های میتوکندریایی به دلیل فرایندهایی مثل دورگ‌گیری، نفوذ ژنتیکی و یا دسته‌بندی ناقص تیره‌ها (Takahashi et al. 2001) نشان‌دهنده واقعیت نباشد، که این مطالعه هم با توجه به موارد یادشده ممکن است در معرض ابهامات مشابهی قرار گیرد. بنابراین پیگیری مطالعات با استفاده از سایر نشانگرها و روش‌های مولکولی مثل ریزماهواره‌ها و توالی ژن‌های هسته‌ای مثل ژن RAG7 و یا روش‌های بررسی مجموعه ژنوم شامل انواع روش‌های توالی‌یابی نسل جدید (Next Generation Sequencing) برای درک بهتر روابط زیستی و شجره شناسی قابل توصیه است.

سپاسگزاری

این پژوهش با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه شهرکرد و با استفاده از پژوهانه شماره ٦٨٨M١GRD٩٤ انجام شده‌است.

منابع

Abdoli A (2000) The inland water fishes of Iran. Iranian Museum of Nature and Wildlife. 378 pp. (In Farsi)

Altschul SF, Madden TL, Schaffer AA, Zhang JH, ZhangZ, Miller W, Lipman DJ (1997) Gapped BLAST and PSIBLAST:a new generation of protein database search programs. Nucleic Acids Research 25: 3389-3402.

Berg LS (1949) Presnovodnye ryby Irana i sopredel'nykh stran [Freshwater fishes of Iran and adjacent countries]. Trudy Zoologicheskogo Instituta Akademii Nauk SSSR 8: 783-858.

Birecikligil SS, Yücel ŞY and Çiçek E (2016) A Taxonomic Evaluation of *Alburnus sellal* Heckel, 1843 and *Alburnus adanensis* Battalgazi, 1944 Based on Morphological Characters and Mitochondrial DNA Sequences. Pakistan Journal of Zoology 48: 465-465.

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

Coad BW (2016) Freshwater fishes of Iran. Available at http: //www.briancoad.com

Eschmeyer WN, Fricke R and van der Laan R (eds). CATALOG OF FISHES: GENERA, SPECIES. (http://researcharchive.calacademy.org/research /ichthyology/catalog/fishcatmain.asp).Electronic version accessed 24 12 2016.

Esmaeili HR, Sayyadzadeh G and Eagderi S (2016) Review of the genus Garra Hamilton, 1822 in Iran with description of a new species: a morpho-molecular approach (Teleostei: Cyprinidae). Iranian Journal of Ichthyology 3: 82-121.

Estoup A, Largiader CR, Perrot E and 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.

Farashi A, Kaboli M, Rezaei HR, Naghavi MR, Rahimian H and Coad BW (2014) Reassessment of the taxonomic position of Iranocypris typhlops Bruun & Kaiser, 1944 (Actinopterygii, Cyprinidae). *ZooKeys*, (374), p.69.

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

Hallerman EM (2003) Population genetics : principles and applications for fisheries scientists. American Fisheries Society. 458 pp.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.1.7.7]

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.

Hashemzadeh Segherloo I, Abdoli A, Eagderi S, Esmaeili HR, Sayyadzadeh G, Bernatchez L, Hallerman E, Geiger MF, Özulug M, Laroche J and Freyhof J (2017) Dressing down: convergent reduction of the mental disc in Garra (Teleostei: Cyprinidae) in the Middle East. Hydrobiologia 785: 47-59.

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

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, FrancisCM, Hebert PDN (2007) Comprehensive DNA barcode coverage of North American birds. Molecular EcologyNotes 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: 111-120.

Kumar S, Stecher G and Tamura K (2016) MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. Molecular biology and evolution p.msw054.

Levin A, Freyhof J, Lajbner Z, Perea S, Abdoli A, Gaffaroğlu M, Özuluğ M, Rubenyan HR, Salnikov VB and Doadrio I (2012) Phylogenetic relationships of the algae scraping cyprinid genus *Capoeta* (Teleostei: Cyprinidae). Molecular Phylogenetics and Evolution, 62: 542-549.

Mousavi-Sabet H and Eagderi S (2016) *Garra lorestanensis*, a new cave fish from the Tigris River drainage with remarks on the subterranean fishes in Iran (Teleostei: Cyprinidae). FishTaxa 1: 45-54.

Mousavi-Sabet H, Vatandoust S, Fatemi Y and Eagderi S (2016) Tashan Cave a new cave fish locality for Iran; and *Garra tashanensis*, a new blind species from the Tigris River drainage (Teleostei: Cyprinidae). FishTaxa 1: 133-148.

Takahashi K, Terai Y, Nishida, M and Okada N (2001) Phylogenetic relationships and ancient incomplete lineage sorting among cichlid fishes in Lake Tanganyika as revealed by analysis of the insertion of retroposons. Molecular Biology and Evolution, 18:2057-2066.

Ward RD, Zemlak TS, Innes BH, Last PR, Hebert PDN (2005) DNA barcoding Australia's fish species.Philosophical Transactions of the Royal Society B360:1847-185.

Xia X and Lemey P (2009) Assessing substitution saturation with DAMBE. The phylogenetic handbook: a practical approach to DNA and protein phylogeny 2:615-630.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.1.7.7]