

بررسی جایگاه رده‌بندی گونه‌های *Luciobarbus esocinus* و *Tor grypus*، *Luciobarbus xanthopterus* و *Mesopotamichthys sharpeyi*

، ایرج عباسی دهکردی^۱، ایرج هاشم‌زاده سقرلو^{۲*}، مجتبی پوریا^۳، پری خواجه^۴

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد گروه شیلات و محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی و علوم زمین، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران.

۲. دانشیار گروه شیلات و محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی و علوم زمین، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران.

۳. کارشناس ارشد اداره شیلات استان کرمانشاه، کرمانشاه، ایران.

۴. مربی، دانشگاه پیام نور اهواز، اهواز، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۷/۳ تاریخ تصویب: ۱۳۹۷/۷/۱۶

چکیده

در بین کپورماهیان ایران برخی از گونه‌ها شامل *Mesopotamichthys L. xanthopterus*، *L. schejch*، *Luciobarbus esocinus* و *Tor grypus* از رشد خوبی در طبیعت برخوردار هستند. هدف این پژوهش بررسی جایگاه شجره‌شناسی میتوکندریایی ماهیان سونگ، گطان، بنی و شیربت است. در این مطالعه از توالی‌های ژن سیتوکروم اکسیداز زیر واحد یک (COI) استفاده شد. به‌منظور تهیه بارکد ژنتیکی کپورماهیان نمونه‌برداری در تالاب شادگان و رودخانه قصرشیرین انجام شد. نتایج نشان داد که گونه‌های *T. grypus* و *M. sharpeyi* از نظر تکاملی به هم نزدیک هستند. علاوه بر این نتایج نشان می‌دهد رابطه تکاملی بسیار نزدیکی در رابطه با ژن مورد استفاده در بین گونه‌های *L. xanthopterus* و *L. esocinus* وجود دارد (۰/۱۶ درصد فاصله ژنتیکی (K2P) که این امر می‌تواند نشان‌دهنده تمایز اخیر گونه‌های یاد شده و یا دورگ بودن یکی از آنها باشد. با توجه به دارنگاره‌های ترسیم شده و فواصل ژنتیکی می‌توان بیان نمود که ماهیان بنی و شیربت دارای منشأ شرقی بوده و همچنین ماهیان سونگ و گطان دارای منشأ غربی یا پالتارکتیک هستند.

واژگان کلیدی: کپورماهیان، شجره‌شناسی، میتوکندری، سیتوکروم اکسیداز زیر واحد یک، تمایز.

۱. مقدمه

در آب‌های شیرین ایران تنوع بالایی از ماهیان بومی ارزشمند وجود دارد (Tahami et al., 2011). ماهیان مورد بررسی در این پژوهش متعلق به خانواده کپورماهیان (Cyprinidae) هستند. تاکنون حدود ۳۰۰ گونه از آب‌های داخلی ایران گزارش شده است، که ۴۵ گونه آن‌ها از کپورماهیان بومزاد است (Esmaeili et al., 2018). تعدادی از گونه‌های بومزاد ایران به‌ویژه در حوضه دجله دارای رشد قابل توجهی بوده و یا در بین افراد بومی دارای ارزش خوراکی و طرفداران زیادی هستند (Abdoli, 2000). از این ماهیان می‌توان به گونه‌های سونگ *Luciobarbus Luciobarbus* *esocinus* Heckel, 1843، دولنج *Luciobarbus Tor grypus* *schejch* Heckel, 1843، شیربت *Mesopotamichthys* (Heckel, 1843)، بنی *sharpeyi* (Günther, 1874) گطان *Luciobarbus xanthopterus* Heckel, 1843 اشاره کرد (Coad, 2018).

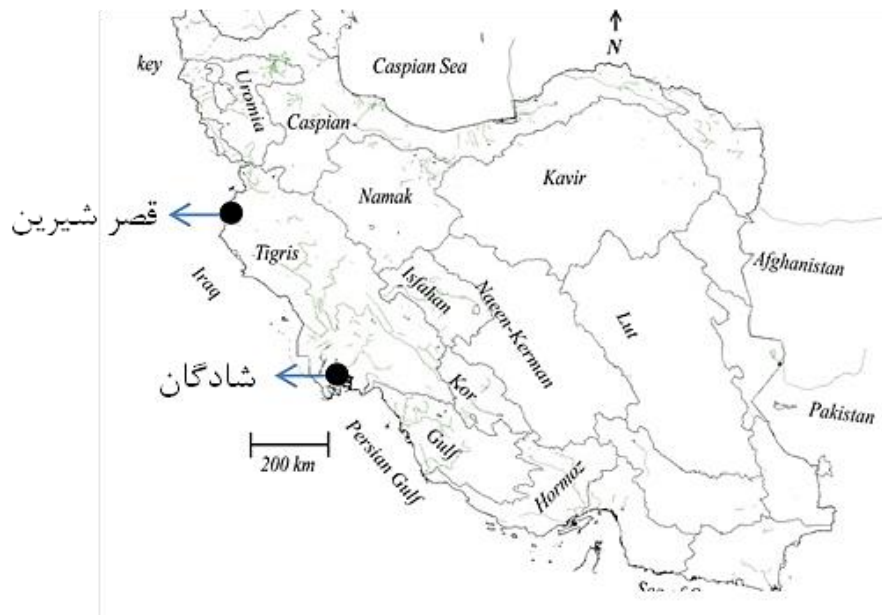
یکی از تهدیدهایی که ذخایر ژنتیکی این ماهیان را تهدید می‌کند، ورود ماهیان غیربومی و مهاجمی مثل تیلاپیا و کاراس به زیستگاه‌های این ماهیان است که می‌تواند اثرات مخربی را بر پیکره تنوع ژنتیکی این گونه‌ها وارد کرده و در نهایت ارزش‌های ژنتیکی ماهیان بومی را برای اصلاح نژاد و بهره‌برداری تجاری از بین ببرد. گونه‌های متعلق به جنس‌های *Carrasius* و *Tilapia* از جمله ماهیان غیربومی هستند که به‌دلیل رشد سریع، مقاومت بالا به آلودگی، سازش‌پذیری با زیستگاه‌های جدید و تغذیه از مواد غذایی مختلف حداقل از ۱۲ حوضه آبریز گزارش شده‌اند (Tahami et al., 2011).

در این مطالعه گونه‌های *L. esocinus* *L. xanthopterus* *L. schejch* و *M. sharpeyi* از نظر ژنتیکی شناسایی و جایگاه شجره‌شناسی آن‌ها مورد بررسی قرار می‌گیرد. به این منظور در این تحقیق از توالی‌های ژن سیتوکروم اکسیداز زیرواحد یک (COI: Cytochrome oxidase subunit one) استفاده شد. هدف از تهیه این توالی‌ها بهبود شناسایی گونه‌ها و کشف گونه‌های جدید از طریق مطالعه الگوهای تمایز توالی در یک منطقه استاندارد در ژنوم است (Hashemzadeh

Segherloo et al., 2012). 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 در بیش از ۹۰ درصد جانوران مطالعه شده، این روش کارآمد بوده است.

۲. مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری نمونه‌های ماهی گطان و بنی با استفاده از دام ثابت از تالاب شادگان انجام شد. نمونه‌های ماهیان سونگ و شیربت از رودخانه‌های قصر شیرین با استفاده از تور پرتابی تهیه شدند (شکل ۱). بعد از نمونه‌برداری قطعه‌ای از باله سینه‌ای ماهیان صید شده، قطع و در الکل اتانل ۹۵ درصد تثبیت شد. بعد از انتقال نمونه‌های باله به آزمایشگاه الکل نمونه‌ها مجدداً تعویض گردید و تا زمان استخراج در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. نمونه‌های DNA با استفاده از روش Chelex100 استخراج شد (Estoup, 1996). برای تکثیر ژن COI، آغازگرهای FCOI (5'-AACCTCTGTCTTCGG (3'-GGCTA و RCOI (5'-TTGAGCCTCC (3'-GTGAAGTGTG مورد استفاده قرار گرفتند (Hashemzadeh Segherloo 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 10X، ۰/۵ میکرولیتر کلریدمنیزیم ۵۰ میلی‌مولار، ۰/۵ میکرولیتر از محلول ۱۰ میلی‌مولار هر آغازگر، ۰/۵ میکرولیتر محلول dNTP ۲۵ میلی‌مولار، ۰/۵ میکرولیتر آنزیم بیوتنگ (۵ واحد در میکرولیتر) و دو میکرولیتر DNA بود (Estoup, 1996). شرایط دمایی واکنش زنجیره پلی‌مراز شامل یک چرخه ۱۰ دقیقه‌ای در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۳۵ چرخه ۹۴ 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 به‌طول تقریبی ۱۳۰۰ جفت باز



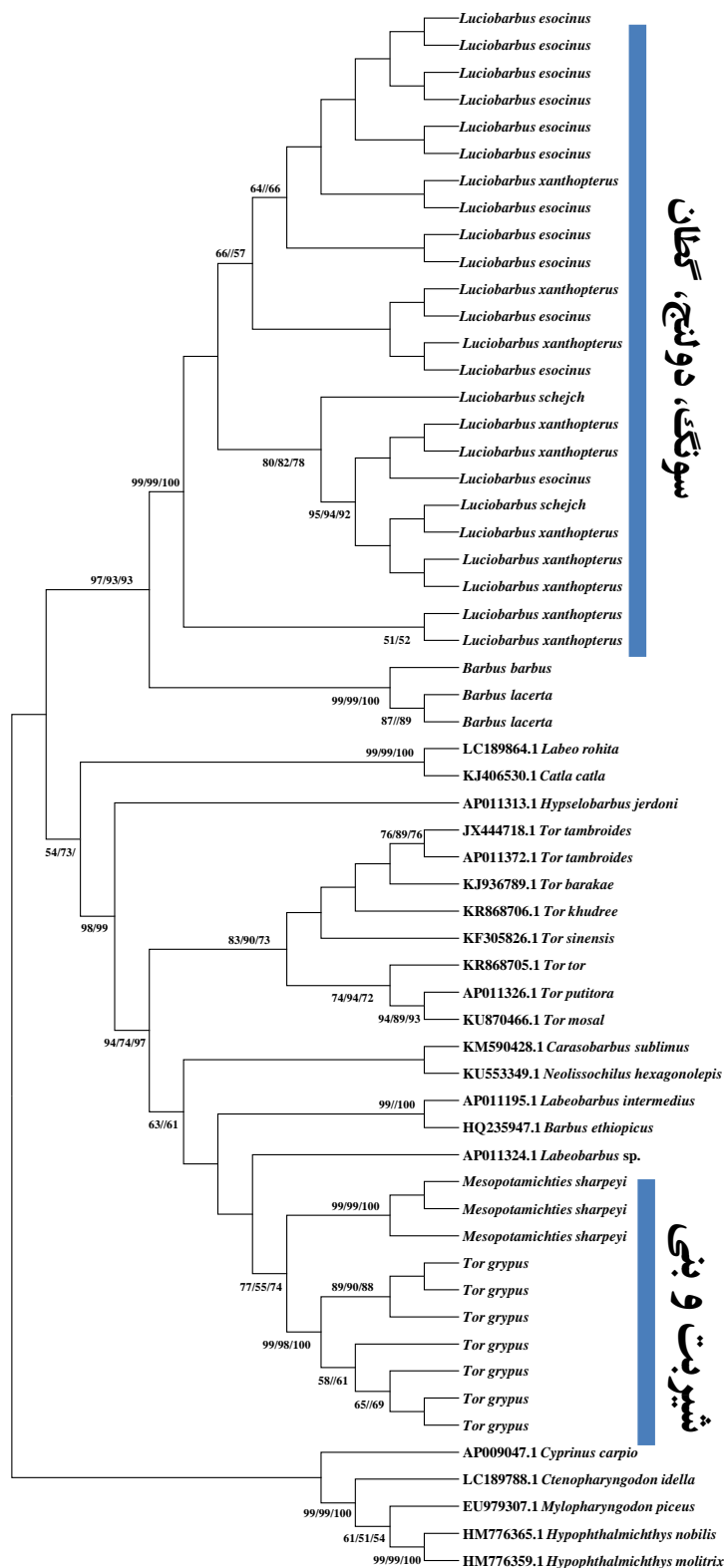
شکل ۱- موقعیت مناطق نمونه‌برداری. دایره سیاه نشان دهنده موقعیت تقریبی مکان‌های نمونه‌برداری است.

ماهیان *Hypopthalmichthys molitrix* و *Mylopharyngodon piceus* به عنوان گروه‌های خارجی استفاده شد. برای تایید اعتبار شاخه‌های دارنگاره از ۵۰۰ تکرار بوتسترپ استفاده شد. برای انتخاب مناسب‌ترین مدل تکاملی برای استفاده در روش ML از آزمون مدل‌های موجود در نرم‌افزار MEGA7 استفاده شد. برای تخمین مدت زمان تمایز گونه‌ها از جدیدترین اطلاعات فسیل‌شناسی (www.wahre-staerke.com) استفاده شد. به این منظور از نرم‌افزار Beast v1.7.5 استفاده شد (Drummond and Rambaut, 2007). پارامترهای مورد استفاده شامل مدل SRD06 برای تکامل توالی-ها، مدل ساعت مولکولی UCLN و پیش فرض Yule بود و سایر پارامترها بدون تغییر باقی ماندند (Tsigenopoulos et al., 2010). شبیه‌سازی ساعت مولکولی در ۱۰ میلیون نسل انجام شد که نمونه‌گیری در هر ۱۰۰۰ نسل انجام می‌شد و در نهایت ۲۵ درصد اولیه نمونه‌ها برای دقت بیشتر در تنظیم ساعت مولکولی حذف شدند.

۳. نتایج و بحث

در این بررسی در مجموع نه هاپلوتایپ به طول ۷۷۰ نوکلئوتید به دست آمد که هاپلوتایپ‌های یاد شده تحت کدهای دسترسی KM590441،

تکثیر شد. برای انجام عملیات تعیین توالی از آغازگر پیشرو (FCOI) استفاده شد. توالی‌های خام به صورت چشمی با توجه به توالی‌های مشابه موجود در بانک ژن و فایل‌های کروماتوگرام با استفاده از نرم‌افزار Bioedit V7.1.3 ویرایش شدند. عملیات انطباق توالی‌های COI با استفاده از نرم‌افزار ClustalX(1.83) (Thompson, 1997) انجام شد. به منظور یافتن توالی‌های مشابه برای استفاده در بررسی شجره‌شناسی، هاپلوتایپ‌های به دست آمده با استفاده از جستجوی Blast در بانک ژن NCBI با سایر توالی‌های موجود برای گونه‌های کیپورماهیان (Cyprinidae) مقایسه شدند (Altschul and Madden, 1997) و تعدادی از ژن‌های موجود در بانک ژن نیز در بررسی‌های رده‌بندی مورد استفاده قرار گرفت (شکل ۲). پس از انطباق و یکپارچه کردن توالی‌ها، یک قطعه به طول ۶۴۸ 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 MEGA7 استفاده شد (Kumar et al., 2016). برای ترسیم دارنگاره از روش‌های Maximum Likelihood و Parsimony Neighbor-Joining موجود در نرم‌افزار MEGA7 استفاده شد. از توالی‌های ژن



شکل ۱- دارنگاره ترسیم شده به روش الحاق همسایگی (NJ) برای توالی‌های به دست آمده در این بررسی. اعداد ارائه شده در کنار شاخه‌ها ضرایب بوتسترپ با ۵۰۰ بار تکرار هستند. اعداد بوتسترپ به ترتیب از سمت چپ به راست متعلق به دارنگاره‌های ML، MP و NJ هستند. کدهای ارائه شده در کنار اسامی علمی کدهای دسترسی هاپلوتایپ‌ها در بانک ژن (NCBI) هستند.

ذخیره شدند. هر سه دارنگاره ترسیم شده با روش‌های الحاق همسایگی (NJ)، ماکزیمم لایکلیهود (ML) و

KM590443, KM590444, KM590445,
KM590446, KM590447, KM590449,
KM590450, KM590451 در بانک ژن (NCBI)

جدول ۱- مدل‌های تکاملی مورد بررسی برای روش Maximum likelihood

مدل	آماره BIC	Gamma	مدل	آماره BIC	Gamma
HKY+G+I	۸۲۸۷/۳۷	۱/۱۲	GTR+I	۸۳۶۵/۰۲	n/a
TN93+G+I	۸۲۹۴/۳۹	۱/۱۶	T92+I	۸۳۸۰/۲۰	n/a
GTR+G+I	۸۳۰۵/۶۰	۱/۰۷	K2+I	۸۳۹۳/۴۹	n/a
HKY+G	۸۳۱۲/۴۱	۰/۱۶	JC+G+I	۹۱۳۶/۲۶	۲/۰۵
TN93+G	۸۳۱۳/۶۶	۰/۱۵	JC+G	۹۱۴۱/۸۱	۰/۱۷
T92+G+I	۸۳۱۵/۵۰	۱/۰۳	JC+I	۹۱۶۶/۷۹	n/a
GTR+G	۸۳۲۴/۷۶	۰/۱۶	K2	۹۱۹۶/۳۶	n/a
K2+G+I	۸۳۳۲/۱۴	۱/۰۶	T92	۹۲۰۰/۰۲	n/a
G	۸۳۳۶/۳۹	۰/۱۶	GTR	۹۲۰۴/۷۷	n/a
K2+G	۸۳۴۹/۲۹	۰/۱۷	HKY	۹۲۰۸/۲۳	n/a
HKY+I	۸۳۴۹/۳۸	n/a	TN93	۹۲۲۰/۰۷	n/a
TN93+I	۸۳۵۲/۷۱	n/a	JC	۹۹۰۸/۲۹	n/a

جدول ۲ - فاصله ژنتیکی بین گونه‌ای محاسبه شده بر اساس مدل K2P با نرم‌افزار MEGA7 به درصد.

گونه	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲	۱۳	۱۴	۱۵	۱۶	۱۷	۱۸	۱۹	۲۰		
<i>L. rohita</i>																						
<i>H. nobilis</i>	۱۷/۶																					
<i>H. molitrix</i>	۹/۹	۱۷/۶																				
<i>C. carpio</i>	۱۵/۱	۱۵/۷	۱۳/۲																			
<i>M. piceus</i>	۱۵/۵	۹/۶	۱۰/۰	۱۸/۰																		
<i>B. barbus</i>	۱۸/۳	۱۱/۹	۱۷/۲	۱۷/۸	۱۶/۳																	
<i>T. grypus</i>	۱۵/۰	۱۶/۰	۱۲/۸	۱۶/۶	۱۶/۹	۱۳/۲																
<i>M. sharpeyi</i>	۹/۱	۱۴/۶	۱۷/۷	۱۳/۲	۱۵/۵	۱۶/۶	۱۶/۲															
<i>L. schejch</i>	۱۵/۷	۱۶/۵	۱۰/۰	۱۵/۶	۱۳/۶	۱۵/۰	۱۵/۲	۱۶/۳														
<i>L. esocinus</i>	۰/۸	۱۶/۰	۱۶/۷	۹/۸	۱۶/۲	۱۳/۲	۱۵/۶	۱۶/۷	۱۶/۳													
<i>L. xanthopterus</i>	۰/۶	۰/۵	۱۵/۷	۱۶/۵	۹/۸	۱۵/۹	۱۳/۴	۱۵/۲	۱۵/۵	۱۶/۵												
<i>B. lacerta</i>	۹/۸	۹/۸	۱۰/۰	۱۶/۵	۱۵/۷	۱/۹	۱۷/۲	۱۱/۷	۱۶/۰	۱۶/۶	۱۶/۰											
<i>Labeobarbus sp.</i>	۱۶/۶	۱۵/۲	۱۵/۲	۶/۸	۹/۹	۱۷/۰	۱۸/۱	۱۲/۴	۱۸/۱	۱۷/۲	۱۳/۴											
<i>C. sublimus</i>	۷/۲	۱۶/۴	۱۶/۵	۱۶/۸	۱۶/۵	۶/۶	۵/۵	۱۶/۴	۱۶/۶	۱۳/۰	۱۵/۱	۱۶/۶	۱۶/۷									
<i>N. hexagonolepis</i>	۶/۳	۷/۶	۱۳/۲	۱۵/۲	۵/۹	۱۳/۵	۱۶/۶	۱۳/۳	۱۵/۶	۱۶/۶	۱۵/۹	۱۶/۶	۱۶/۶									
<i>T. punitora</i>	۶/۳	۷/۰	۶/۶	۱۶/۷	۱۲/۶	۱۲/۶	۱۲/۵	۶/۶	۶/۰	۱۶/۱	۱۶/۰	۱۳/۵	۱۶/۰	۱۵/۸	۱۳/۲							
<i>T. mosal</i>	۰/۵	۶/۵	۷/۲	۶/۸	۱۳/۲	۱۳/۲	۱۳/۲	۱۳/۱	۶/۶	۶/۲	۱۶/۷	۱۶/۲	۱۳/۷	۱۶/۲	۱۶/۰	۱۳/۰						
<i>T. khudree</i>	۲/۶	۲/۵	۵/۸	۷/۲	۶/۵	۱۶/۷	۱۲/۴	۱۲/۴	۱۲/۳	۶/۶	۵/۸	۱۵/۳	۱۶/۰	۱۳/۹	۱۶/۲	۱۶/۲	۱۳/۸					
<i>L. intermedius</i>	۶/۷	۷/۰	۶/۸	۶/۸	۷/۹	۶/۷	۱۶/۷	۱۵/۷	۱۶/۰	۱۵/۸	۷/۵	۶/۸	۱۶/۷	۱۷/۳	۱۳/۶	۱۶/۲	۱۶/۶	۱۶/۷				
<i>T. tamberoides</i>	۶/۵	۲/۶	۲/۸	۲/۶	۶/۰	۶/۳	۶/۷	۱۶/۴	۱۳/۴	۶/۷	۶/۷	۱۶/۴	۱۶/۰	۱۲/۹	۱۵/۶	۱۵/۶	۱۳/۷					
<i>T. tor</i>	۲/۵	۷/۰	۳/۷	۱/۶	۲/۵	۵/۸	۷/۲	۷/۸	۱۵/۱	۱۲/۹	۱۲/۲	۱۲/۹	۱۶/۰	۱۲/۹	۱۵/۸	۱۵/۱	۱۳/۴					
<i>T. sinensis</i>	۲/۶	۲/۵	۷/۴	۳/۰	۲/۳	۲/۱	۵/۹	۷/۵	۶/۸	۱۵/۳	۱۳/۳	۱۳/۴	۱۳/۳	۷/۷	۷/۱	۱۵/۵	۱۶/۲	۱۳/۷	۱۶/۰	۱۶/۰	۱۶/۴	
<i>T. barakae</i>	۲/۸	۲/۰	۲/۶	۵/۸	۲/۵	۲/۶	۲/۵	۹/۹	۷/۰	۷/۰	۱۵/۸	۱۶/۳	۱۶/۶	۱۶/۴	۶/۱	۱۶/۰	۱۶/۲	۱۶/۱	۱۶/۰	۱۶/۰	۱۶/۲	
<i>B. ethiopicus</i>	۹/۷	۷/۴	۷/۰	۶/۵	۰/۰	۶/۷	۷/۰	۶/۸	۶/۸	۷/۹	۶/۷	۱۶/۷	۱۵/۷	۱۶/۰	۱۵/۸	۷/۵	۶/۸	۱۶/۷	۱۷/۳	۱۳/۶	۱۶/۲	۱۶/۶

ترسیم شده گونه‌های *T. grypus* و *M. sharpeyi* به صورت دو خوشه خواهری با ضرایب بوتسترپ ۷۷ درصد (ماکزیمم لایکلیهود) ۷۴ درصد (الحاق همسایگی) و ۵۵ درصد (ماکزیمم پارسیمونی) در کنار هم قرار گرفته‌اند. در کنار این خوشه گونه‌هایی از ماهیان آفریقا و ماهی *Carrassobarbus* قرار گرفته‌اند (ضرایب بوتسترپ ۶۱ تا ۶۳ درصد). مجموعه ماهیان خوشه یاد شده با ماهیان جنس *Tor* یک گروه تک شجره‌ای را تشکیل می‌دهند (ضرایب بوتسترپ: ۹۴، ۷۷ و ۹۷

ماکزیمم پارسیمونی (MP) دارای شکل مشابهی بودند (شکل ۲) که تنها یکی از دارنگاره‌های یاد شده نشان داده شده است. بهترین مدل تکاملی برای روش ML بر پایه آماره BIC مدل HKY+G+I بود (جدول ۱). در این مطالعه در بین نمونه‌های *T. grypus* سه هاپلوتایپ و در مورد گونه *M. sharpeyi* یک هاپلوتایپ مشاهده شد. گونه *T. grypus* کمترین فاصله ژنتیکی را با ماهی *M. sharpeyi* دارد که برابر با ۴/۲ درصد است (جدول ۲). در دارنگاره‌های

هاپلوتایپ مشاهده شد. ماهی سونگ (*L. esocinus*) و ماهی گطان (*L. xanthopterus*) به ترتیب بیشترین اختلاف ژنتیکی را با ماهی *M. piceus* دارند که برابر با ۱۶/۷ درصد است و همچنین کمترین اختلاف را با ماهی *L. pectoralis* دارند که برابر با ۰/۵ درصد است (جدول ۱). همچنین اختلاف بین ماهیان سونگ و گطان ۰/۶ درصد می‌باشد که این خود نشان‌دهنده‌ی ارتباط نزدیک این دو گونه می‌باشد. بین ماهیان مورد مطالعه حداکثر اختلاف بین ماهیان بنی و سونگ ۱۶/۵۹ بود. هرچند که اختلاف ماهی سونگ و گطان (۰/۶ درصد) با گزارش‌های موجود در رابطه با ماهیان آب شیرین مطابقت دارد، اما فاصله نزدیک آن‌ها می‌تواند نشان‌دهنده تمایز جدید آن‌ها باشد و یا ایجاد یکی از آن‌ها در پی دورگ‌گیری که این موضوع باید با استفاده از سایر روش‌های ژنتیکی پیگیری و روشن شود، زیرا نشانگرهای میتوکندریایی که تنها از یک والد به ارث می‌رسند، نمی‌توانند پاسخ روشنی در رابطه با شجره پدیری موجودات ارائه دهند (Hallerman, 2003).

گونه‌های متعلق به جنس‌های *Barbus* و *Luciobarbus* با ضرایب بوتسترپ بالا (ضرایب بوتسترپ ۹۳ تا ۹۷ درصد) در یک گروه تک‌شجره‌ای قرار می‌گیرند که این مشاهده با سایر مطالعاتی که در مورد این گروه انجام شده است مطابقت دارد. از نظر کروموزومی گونه‌های جنس *Barbus* ۵۰ کروموزوم و گونه‌های جنس *Luciobarbus* ۱۰۰ کروموزوم دارند. این نشان می‌دهد که جنس *Luciobarbus* در اثر پلی‌پلوئیداسیون از جنس *Barbus* مشتق شده است. همچنین منشأ ماهیان *Luciobarbus* را می‌توان از اروپا دانست. Karaman (۱۹۷۱) معتقد است که گونه‌های ماهیان سونگ و گطان در واقع یک گونه می‌باشند، اما Almaça (۱۹۹۱) براین باور است که این دو گونه از هم جدا می‌باشند، همچنین Faddagh و همکاران (۲۰۱۲) با توجه به داده‌های هسته‌ای به این نتیجه رسیدند که این دو گونه از نظر ژنتیکی بسیار نزدیک می‌باشند آن‌ها علت این نزدیکی را دورگ‌گیری می‌دانند. تنها تفاوت ماهی سونگ و دولنج در اندازه فلس‌ها است که در ماهی دولنج فلس‌ها درشت‌تر و در ماهی سونگ فلس‌ها ریز هستند (مکاتبه شخصی با Joerg Freyhof). در مورد ماهی گطان تفاوت‌های

درصد به ترتیب در دارنگاره‌های ML، MP و NJ) که این امر نشان‌دهنده قرابت گونه‌های یادشده با گونه‌های آسیایی (شرقی) است. در کنار این موضوع نزدیک بودن گونه‌های *T. grypus* و *M. sharpeyi* به ماهیان آفریقایی نشان‌دهنده جد مشترک آن‌ها است با توجه به ساعت مولکولی تنظیم شده بر پایه داده‌های موجود در پایگاه فسیل‌شناسی برآورد می‌شود که جدایی گونه‌های آفریقایی و گونه‌های شیربت و بنی در حدود ۱۲/۷ میلیون سال پیش رخ داده است که این زمان به طور تقریبی با زمان ارتباط آسیا و آفریقا از طریق دریای سرخ همپوشانی دارد (Hashemzadeh Segherloo et al., 2017). ساعت مولکولی تنظیم شده نشان می‌دهد که گروه ماهیان آفریقایی-خاورمیانه‌ای در حدود ۲۰/۳ میلیون سال پیش از ماهیان شرق آسیا متمایز شده‌اند. رابطه نزدیک ماهی *T. grypus* و ماهی *M. sharpeyi* شاید نشان‌دهنده این موضوع باشد که گونه‌های یادشده در خاورمیانه و منطقه بین‌النهرین تمایز و تکامل یافته‌اند. Faddagh و همکاران (۲۰۱۲) قرار گرفتن ماهیان بنی، شیربت و *Carrasobarbus luteus* در یک خوشه را گزارش دادند.

همچنین Durand و همکاران (۲۰۰۰)، Wang و همکاران (۲۰۱۳) و Tsigenopoulos و همکاران (۲۰۱۰) با استفاده از ژن Cyt-b، به نتایج مشابهی دست پیدا کردند؛ این نتایج نیز نشان می‌دهند که ماهیان شیربت و بنی در یک خوشه یا گروه شجره-شناسی قرار می‌گیرند. Coad (۲۰۱۸) این دو گونه را متعلق به جنس *Barbus* نمی‌داند. منشأ ماهیان شیربت و بنی از شرق آسیا می‌باشد ولی این ماهیان در مناطق دجله و فرات بعدها از جد مشترکی مشتق شده‌اند، زیرا آن‌ها در یک گروه تک‌شجره‌ای قرار گرفته‌اند و انشقاق آن‌ها پس از جدایی از گونه‌های شرقی اتفاق افتاده است. ماهیان هندی با ضریب بوتسترپ ۱۰۰ در یک خوشه قرار گرفتند که ارتباط نزدیک این گونه‌ها را نشان می‌دهد، همچنین با ماهیان شیربت و بنی نزدیکی زیادی ندارند، زیرا در خوشه‌های کاملاً مجزا قرار دارند. در مجموع می‌توان ماهی بنی را از نظر ژنتیکی به ماهیان شیربت نزدیک دانست.

در این مطالعه در بین نمونه‌های *L. esocinus* یک هاپلوتایپ و در مورد گونه *L. pectoralis* سه

نداشته است، اما در فرض دوم می‌توان عنوان نمود که ماهی گطان در نتیجه دورگ‌گیری در بین ماهی سونگ و گونه‌ای مجهول به‌وجود آمده است. داده‌های این مطالعه برای آرایه نتیجه‌گیری قابل اعتماد کافی نیست و برای آزمون این فرضیات نیاز به انجام مطالعاتی با ژنوم هسته‌ای وجود دارد.

ریختی بیشتری وجود دارد اما تفاوت‌های ژنتیکی در ژن میتوکندریایی بررسی شده قابل توجه نیست. با توجه به رابطه نزدیک میتوکندریایی در بین ماهیان سونگ و گطان می‌توان دو فرض را در مورد شیوه پیدایش ماهی گطان مطرح نمود. در فرض اول دو گونه یادشده اخیراً از هم جدا شده‌اند و در نتیجه زمان کافی برای تمایز و تجمع جهش‌ها در ژن مورد بررسی وجود

References

- Abdoli, A., 2000. The inland water fishes of Iran. Iranian Museum of Nature and Wildlife.
- Almaça, C., 1991. Evolutionary, Biogeographical, and Taxonomic Remarks on Mesopotamian Species of *Barbus* Ss. *Museu Bocage*.
- Altschul, S.F., Madden, T.L., 1997. Gapped BLAST and PSIBLAST: A new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Research* 25, 3389-3402.
- Coad B.W., 2018. Freshwater Fishes of Iran. Available at: www.briancoad.com. Accessed 2018-05-02.
- Drummond, A.J., Rambaut, A., 2007. BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC Evolutionary Biology* 7, 214.
- Durand, J.-D., Tsigonopoulos, C.S., 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.
- Esmaili, H.R., Sayyadzadeh, G., Eagderi, S., Abbasi, K., 2017. Checklist of freshwater fishes of Iran. *FishTaxa* 3(3), 1-95.
- Estoup, A., 1996. Rapid one-tube DNA extraction for reliable PCR detection of fish polymorphic markers and transgenes. *Molecular Marine Biology and Biotechnology* 5, 295-298.
- Faddagh, M.S., Hussain, N.A., Al-Badran, A.I., 2012. DNA fingerprinting of eight cyprinid fish species of Iraqi inland waters using RAPD-PCR technique. *Advances in Life Sciences* 2, 9-16.
- Hallerman, E.M., 2003. Population genetics: principles and applications for fisheries scientists.
- Hashemzadeh Segherloo, I., Abdoli, A., Eagderi, S., Esmaili, H., Sayyadzadeh, G., Bernatchez, L., Hallerman, E., Geiger, M., Özulug, M., Laroche, J., 2017. Dressing down: convergent reduction of the mental disc in *Garra* (Teleostei: Cyprinidae) in the Middle East. *Hydrobiologia* 785, 47-59.
- Hashemzadeh Segherloo, I., Bernatchez, L., Golzarianpour, K., Abdoli, A., Primmer, C., Bakhtiary, M., 2012. Genetic differentiation between two sympatric morphs of the blind Iran cave barb *Iranocypris typhlops*. *Journal of Fish Biology* 81, 1747-1753.
- Karaman, M., 1971. Revision der Barben Europas, Vorderasiens und Nordaficas. Süsswasserfische der Türkei, 8 Teil. Mitteilungen aus dem Hamburgischen Zoologischen Museum und Institut 67, 175-254.
- Kerr, K.C., Stoeckle, M.Y., Dove, C.J., Weigt, L.A., Francis, C.M., Hebert, P.D., 2007. Comprehensive DNA barcode coverage of North American birds. *Molecular Ecology Notes* 7, 535-543.
- 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.
- Kumar, S., Stecher, G., Tamura, K., 2016. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution* 33, 1870-1874.
- Tahami, M., Khaefi, R., Esmaili, H., 2011. Invasion of exotic fish, *Carrasius* spp. (Actinopterygii: Cyprinidae) into the inland waters of Iran and their effects on native fishes. In: (Eds.), Proceeding of National Conference of Conservation of Biodiversity and Native Knowledge, Kerman, Iran.
- Thompson, J., 1997. The ClustalX windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research* 24, 4876-4882.
- Tsigonopoulos, C.S., 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.
- Wang, J., Wu, X., Chen, Z., Yue, Z., Ma, W., Chen, S., Xiao, H., Murphy, R.W., Zhang, Y., Zan, R., 2013. Molecular phylogeny of European and African *Barbus* and their West Asian relatives in the Cyprininae (Teleostei: Cypriniformes) and orogenesis of the Qinghai-Tibetan Plateau. *Chinese Science Bulletin* 58, 3738-3746.