



## بررسی تنوع گونه‌ای زیرخانواده قنات‌ماهیان (Cypriniformes: Leuciscinae) در حوضه آبریز دریای خزر، ایران با

### رویکرد مولکولی

امیر پورشبانان<sup>۱</sup>، فائزه یزدانی‌مقدم<sup>۲\*</sup>، منصور علی‌آبادیان<sup>۳</sup>، فرشته قاسم‌زاده<sup>۴</sup>، سیدحامد موسوی‌ثابت<sup>۴</sup>

<sup>۱</sup> دانشجوی دکتری، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

<sup>۲</sup> استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

<sup>۳</sup> استاد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

<sup>۴</sup> دانشیار، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه‌سرا، ایران

#### چکیده

حوضه آبریز دریای خزر یکی از بوم‌سازگان‌های مهم ایران با تنوع گونه‌ای بالا از آبزبان مختلف بوده به طوری که موضوع تعیین وضعیت آرایه‌شناختی فون ماهیان آن همیشه مورد توجه بوده است. تاکنون تعداد ۲۹۷ گونه از ماهیان آب شیرین و لب‌شور از ایران گزارش شده که زیرخانواده قنات‌ماهیان (Leuciscinae) به‌عنوان یکی از متنوع‌ترین گروه‌های ماهیان، بیشترین تنوع گونه‌ای را در حوضه آبریز دریای خزر به‌خود اختصاص داده است. در مطالعه حاضر، طی سال‌های ۹۸-۱۳۹۵ نمونه‌برداری از گونه‌های گزارش شده از این زیرخانواده در این حوضه آبریز انجام گرفت. علاوه بر مطالعات ریختی، به‌منظور بررسی وضعیت روابط تبارشناختی اعضای این زیرخانواده در حوضه آبریز خزر، تجزیه و تحلیل‌های بی‌زین (BI) با استفاده از ژن سیتوکروم C اکسیداز زیر واحد یک (COXI) صورت پذیرفت. نتایج نشان دادند که در حوضه خزر، جنس‌های *Alburnus Acanthobrama*، *Abramis*، *Alburnoides tabarestanensis* و *Alburnoides samiii* تنها گونه‌های بوم‌زاد این حوضه می‌باشند؛ لذا جهت حفظ تنوع گونه‌ای زیرخانواده قنات‌ماهیان در ایران و به‌ویژه این حوضه آبریز، نیاز به حفاظت از گونه‌های در معرض خطر و حفظ ذخایر ژنتیکی آن‌ها می‌باشد.

#### واژه‌های کلیدی:

تنوع زیستی، گونه بوم‌زاد، تبارزایی، ژن میتوکندریایی.

#### نوع مقاله:

پژوهشی اصیل

DOI: 10.22034/jair.8.5.16

#### تاریخچه مقاله:

دریافت: ۰۰/۰۹/۲۴

پذیرش: ۰۰/۱۱/۱۰

#### نویسنده مسئول مکاتبه:

فائزه یزدانی‌مقدم، استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

ایمیل: yazdani@um.ac.ir

#### ۱ | مقدمه

(*al.*, 2018). اعضای این زیرخانواده شامل ۳۶ جنس و ۳۲۱ گونه در جهان می‌باشد که تاکنون ۱۵ جنس و ۴۵ گونه از آن در ایران گزارش و توصیف شده است (Esmaili *et al.*, 2018; Fricke *et al.*, 2021).

زیرخانواده قنات‌ماهیان در ۱۳ حوضه آبریز ایران پراکنش دارد که حوضه خزر بیشترین تنوع گونه‌ای را به‌خود اختصاص داده است. تاکنون جنس‌های *Alburnus*، *Alburnoides*، *Acanthobrama*، *Abramis*، *Rutilus*، *Leuciscus*، *Leucaspilus*، *Chondrostoma*، *Blicca*، *Squalius*، *Scardinius* و *Vimba* از این حوضه صید و گزارش شده است. این درحالی است که حضور جنس‌ها و گونه‌های گزارش شده از این زیرخانواده شامل *Ballerus sapa* و *Pelecus cultratus* از حوضه خزر، نیاز به گرفتن نمونه و شناسایی ریختی و مولکولی دارد (Esmaili *et al.*, 2018). در رابطه با اعضای زیرخانواده قنات‌ماهیان در ایران به‌ویژه حوضه خزر، تاکنون مطالعات متعددی انجام شده که عمدتاً به جنبه‌های

امروزه به‌علت صید بی‌رویه، عوامل نامساعد زیست‌محیطی مانند ورود آلاینده‌ها و تخریب مکان‌های طبیعی تخم‌ریزی ماهیان و وجود موانع از جمله سدها و جاده‌ها، ذخایر ماهیان به‌ویژه گونه‌های بوم‌زاد و ارزشمند شدیداً کاهش یافته و تنوع گونه‌ای آن‌ها مورد تهدید قرار گرفته شده است (Myers, 1990). راسته کپورماهی‌شکلان (Cypriniformes) با بیش از ۴۴۰۰ گونه، متنوع‌ترین گروه ماهیان آب شیرین و به‌ندرت لب‌شور می‌باشد. زیرخانواده قنات‌ماهیان (Leuciscinae) بیشترین تنوع گونه‌ای را در خانواده Leuciscidae در این راسته به‌خود اختصاص داده است (Perea *et al.*, 2010; Schönhuth *et al.*, 2018; Fricke *et al.*, 2021). این زیرخانواده پراکنش وسیعی را در اوراسیا (به‌جز هند و جنوب شرقی آسیا) داشته و از لحاظ ریختی فاقد سبیلک و سوراخ آرواره‌ای بوده و علاوه بر تعداد مهره‌های زیاد، معمولاً دارای دو ردیف دندان حلقی می‌باشند (Kottelat & Freyhof, 2007; Nelson, 2016; Schönhuth *et al.*)

مختلف زیستی، شیلاتی، ریخت‌شناسی و الگوهای پراکنش آن‌ها پرداخته شده است ( e. g. Saadati, 1977; Armantrout, 1980; Abdoli, 2000; Patimar *et al.*, 2005; Abdoli and Naderi, 2009 ; Mousavi-Sabet *et al.*, 2015 a, b; Mohammadian-Kalat *et al.*, 2015; Sattari *et al.*, 2019; Pourshabanan *et al.*, 2019; Coad, 2020). برخلاف این، مطالعات تبارزادی محدود به بررسی روابط گونه‌های برخی از جنس‌های این زیرخانواده در ایران می‌باشد ( Seifali *et al.*, 2012; Teimori *et al.*, 2015; Jouladeh-Roudbar *et al.*, 2016; Khaefi *et al.*, 2016; Mohammadian-Kalat *et al.*, 2021; Pourshabanan *et al.*, 2017) و تاکنون مطالعه‌ای به‌منظور بررسی سنخیت و اعتبار اعضای این زیرخانواده از دیدگاه تبارشناختی در حوضه خزر انجام‌گرفته نشده است.

درک تنوع زیستی و استفاده مناسب از منابع زیستی گونه‌ها می‌تواند بینش‌های سودآوری را نه‌تنها برای درک الگوهای تنوع زیست‌شناختی بلکه برای حفاظت از آنها نیز فراهم آورد. ازاین‌رو در مطالعه حاضر به بررسی روابط تبارشناختی جنس‌ها و گونه‌های گزارش شده از زیرخانواده قنات ماهیان در حوضه آبریز خزر به‌منظور تأیید سنخیت و اعتبار آن‌ها و همچنین معرفی گونه‌های بوم‌زاد پرداخته شده است.

## ۲ | مواد و روش‌ها

در کل تعداد ۳۰ نمونه از گونه‌های مختلف زیرخانواده قنات ماهیان طی سال‌های ۱۳۹۵ تا ۱۳۹۸ با استفاده از دستگاه الکترو شوکر (ولتاژ ۱۲۰-۱۰۰ ولت) و همچنین تور پره ساحلی از نقاط مختلف حوضه دریای خزر صید و مختصات جغرافیایی و نام محل نمونه‌برداری ثبت گردید (جدول ۱). پس از فرایند صید، نمونه‌ها کدگذاری و باله سینه‌ای سمت راست آن‌ها همراه با عضله قاعده باله جدا و در الکل ۹۹/۷ درصد جهت فعالیت‌های مولکولی نگه‌داری شدند. بعد از گرفتن عکس از نمونه‌ها، آن‌ها در فرمالین ۱۰ درصد تثبیت و به آزمایشگاه جانورشناسی دانشکده علوم در دانشگاه فردوسی مشهد منتقل گردیدند. نمونه‌ها پس از ثبت کد موزه‌ای با استفاده از صفات ریختی توصیفی منابع مختلف ( Abdoli, 2000; Mousavi-Sabet *et al.*, 2015 b; Keivany *et al.*, 2016; Mohammadian-Kalat *et al.*, 2017; Coad, 2020) مورد مطالعه و شناسایی قرار گرفتند.

جدول ۱- فهرست و محل نمونه‌برداری گونه‌های زیرخانواده قنات ماهیان از حوضه خزر ایران در مطالعه حاضر.

ردیف	نام گونه	محل نمونه‌برداری - استان	مختصات جغرافیایی
۱	<i>Abramis brama</i>	تالاب انزلی - گیلان	37°27'30. 6"N, 49°22'25. 0"E
۲	<i>Acanthobrama microlepis</i>	رودخانه قزل‌اوزن - زنجان	37°04'11. 4"N, 48°38'01. 1"E
۳	<i>Alburnoides eichwaldii</i>	رودخانه بالیقوچای - اردبیل	38°04'26. 0"N, 48°04'57. 8"E
۴	<i>A. eichwaldii</i>	رودخانه ارس - خدا آفرین - آذربایجان شرقی	39°08'25. 7"N, 46°57'45. 8"E
۵	<i>A. eichwaldii</i>	رودخانه ارس - مرزآباد - آذربایجان شرقی	38°52'32. 9"N, 46°31'28. 3"E
۶	<i>A. holciki</i>	رودخانه اترک، بابا امان - خراسان شمالی	37°28'41. 9"N, 57°26'02. 4"E
۷	<i>A. parhami</i>	رودخانه اترک، بابا امان - خراسان شمالی	37°28'41. 9"N, 57°26'02. 4"E
۸	<i>A. samiii</i>	فومن - گیلان	37°13'42. 5"N, 49°20'36. 5"E
۹	<i>A. samiii</i>	قلعه گردن - مازندران	36°45'33. 4"N, 50°49'58. 3"E
۱۰	<i>A. tabarestanensis</i>	رودخانه تجن، ساری - مازندران	36°33'51. 3"N, 53°05'06. 9"E
۱۱	<i>A. tabarestanensis</i>	رودخانه توجی، شیرگاه - مازندران	36°18'08. 5"N, 52°53'03. 6"E
۱۲	<i>Alburnus chalcoides</i>	رودخانه سفیدرود - گیلان	36°59'04. 6"N, 49°57'51. 4"E
۱۳	<i>A. chalcoides</i>	رودخانه بابلرود - مازندران	36°39'21. 6"N 52°38'22. 0" E
۱۴	<i>A. filippii</i>	رودخانه سفیدرود - گیلان	36°59'01. 6"N, 49°57'52. 4"E
۱۵	<i>A. filippii</i>	رودخانه بالیقوچای - اردبیل	38°02'21. 0"N, 48°02'58. 0"E
۱۶	<i>A. hohenerkeri</i>	رودخانه سیاهرود، قائم‌شهر - مازندران	36°28'36. 0"N, 52°53'08. 9"E
۱۷	<i>Blicca bjoerkna</i>	تالاب انزلی - گیلان	37°27'30. 6"N, 49°22'25. 0"E
۱۸	<i>Leucaspis delineatus</i>	تالاب انزلی - گیلان	37°27'30. 6"N, 49°22'25. 0"E
۱۹	<i>Leuciscus aspius</i>	دریاچه سد ارس - آذربایجان غربی	39°09'46. 0"N, 45°17'28. 4"E
۲۰	<i>L. aspius</i>	تالاب انزلی - گیلان	37°28'53. 7"N, 49°19'33. 1"E
۲۱	<i>Rutilus lacustris</i>	تالاب انزلی - گیلان	37°30'13. 1"N, 49°17'40. 6"E
۲۲	<i>R. lacustris</i>	رودخانه ارس - آذربایجان شرقی	38°52'02. 5"N, 46°32'06. 8"E
۲۳	<i>R. frisii</i>	تالاب انزلی - گیلان	37°27'30. 6"N, 49°22'25. 0"E
۲۴	<i>Scardinius erythrophthalmus</i>	تالاب انزلی - گیلان	37°29'13. 1"N, 49°19'40. 6"E
۲۵	<i>Squalius turcicus</i>	قارقلوق علیا - آذربایجان غربی	39°17'22. 3"N, 45°07'07. 3"E
۲۶	<i>S. turcicus</i>	رودخانه بالیقوچای - اردبیل	38°04'26. 0"N, 48°04'57. 8"E
۲۷	<i>S. turcicus</i>	سراوان - گیلان	37°03'42. 5"N, 49°40'34. 6"E
۲۸	<i>S. turcicus</i>	کشیل - مازندران	36°28'22. 1"N, 52°05'46. 1"E
۲۹	<i>S. turcicus</i>	گالش‌کلا - مازندران	36°12'28. 8"N, 52°45'53. 9"E
۳۰	<i>Vimba persa</i>	تالاب انزلی - گیلان	37°30'28. 0"N, 49°18'39. 6"E

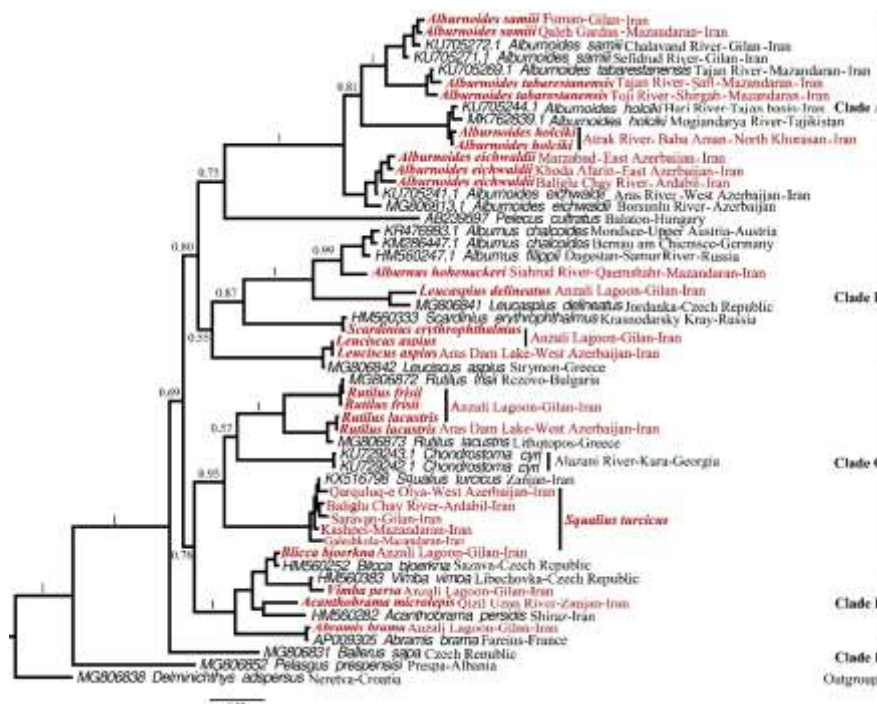
مونت کارلو شامل سه زنجیره گرم و یک زنجیره سرد بوده که برای دو اجرای موازی (هر کدام ۴۰ میلیون نسل) اجرا و هر ۱۰۰۰ نسل، یک درخت نمونه‌برداری شد. سپس ۲۵ درصد (۱۰ میلیون از نسل‌ها)، یعنی درختانی که به مرحله همگرایی نرسیده بودند و احتمال پسین خوبی نداشتند، از داده‌ها حذف گردیدند. لازم به ذکر است که میزان حمایت هر گره برای شاخه‌های با احتمال پسین برابر و بالاتر از ۰/۹۵ به‌عنوان شاخه‌هایی با حمایت بالا در نظر گرفته شدند. درنهایت درخت حاصله با استفاده از نرم‌افزار FigTree نسخه ۴.۰.۴ (Rambaut, 2018) ترسیم و مورد تحلیل قرار گرفته شد.

### ۳ | نتایج

درخت تبارشناختی مطالعه حاضر روابط جنس‌ها و گونه‌های زیرخانواده قنات‌ماهیان را در حوضه خزر باتوجه به اطلاعات موجود در بانک ژن به‌خوبی نشان می‌دهد (شکل ۱). براین اساس اعضای این زیرخانواده در پنج کلاد اصلی A تا E گروه‌بندی می‌شوند. کلاد A شامل دودمان جنس *Alburnoides* و گونه *Pelecus cultratus* و کلاد B شامل دودمان جنس‌های *Leucaspilus*، *Scardinius*، *Alburnus* و *Leuciscus* می‌باشد. قابل ذکر است که این دو کلاد با احتمال پسین و حمایت کمتر از ۰/۹۵ تشکیل گردیده و همچنین از یکدیگر جدا می‌شوند. این در حالی است که کلاد C شامل جنس‌های *Rutilus*، *Chondrostoma* و *Squalius* و کلاد D که در برگیرنده جنس‌های *Vimba*، *Blicca*، *Acanthobrama*، *Abramis* می‌باشند از حمایت بالایی برخوردار هستند. کلاد اصلی E شامل گونه *Ballerus sapa* می‌باشد که با حمایت حداکثری نسبت به کلاد مشترک چهار کلاد ذکر شده تشکیل گردیده است.

فعالیت‌های مولکولی: استخراج DNA، واکنش‌های زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) و توالی‌یابی مقطه استخراج DNA از باله‌ها و یا عضله مربوطه با روش نمکی (Aljanabi and Martinez, 1997) انجام گرفت. برای انجام PCR از روش محلول برای تکثیر ژن میتوکندریایی سیتوکروم C اکسیداز زیر واحد یک (*COXI*) باتوجه به آغازگر (پرایمر) های رفت و برگشت و شرایط بکار برده شده در مطالعه Perea et al. (2010) استفاده شد. پس از انجام PCR و به‌منظور اطمینان از تکثیر ژن موردنظر، مرحله الکتروفورز روی ژل آگارز ۱٪ انجام و سپس محصولات به‌منظور تخلیص سازی و توالی‌یابی به شرکت ماکروژن (Macrogen) در کره جنوبی ارسال گردید.

تحلیل‌های تبارزادی: در مجموع تعداد ۵۳ توالی از زیرخانواده قنات‌ماهیان شامل ۲۷ عدد از مطالعه حاضر و ۲۶ عدد از بانک ژن به همراه برون‌گروه‌های *Delminichthys adspersus* و *Pelagus prespensis* به‌منظور ترسیم درخت تبارشناختی استفاده گردید. قابل ذکر است در ارتباط با گونه‌های *Ballerus sapa*، *Chondrostoma cyri* و *Pelecus cultratus*، به دلیل عدم یافت و صید آن‌ها طی سال‌های اخیر در ایران و همچنین گونه‌های *Alburnus chalcoides* و *Alburnus filippii* به دلیل عدم تهیه توالی در مطالعه حاضر، از داده‌های موجود در بانک ژن استفاده شده است (شکل ۱). به‌منظور ترسیم درخت به روش بی‌زی (Bayesian Inference=BI) با استفاده از نرم‌افزار Jmodeltest نسخه ۲.۰.۱ (Darriba et al., 2014) مدل تکاملی TPM3+G بر اساس معیار اطلاعاتی BIC (Bayesian Information Criterion) انتخاب و با نرم‌افزار MrBayes نسخه ۳.۰.۲ (Huelsenbeck and Ronquist, 2001) اجرا گردید. در ارتباط با درخت‌های بی‌زی، پیش‌فرض برنامه زنجیره مارکوف



شکل ۱- درخت تبارشناختی اعضای زیرخانواده قنات‌ماهیان در حوضه خزر ایران با استفاده از ژن میتوکندریایی *COXI* و بر اساس روش بی‌زی (توالی‌های به‌دست‌آمده در مطالعه حاضر با رنگ قرمز و بانک ژن با رنگ مشکی مشخص شده‌اند).

## ۴ | بحث و نتیجه‌گیری

(2010) *et al.* (Schönhuth *et al.* 2018) مشابه مطالعه حاضر نشان می‌دهد جنس‌های *Blicca*, *Acanthobrama*, *Abramis* و *Vimba* در یک کلاد مشترک قرار دارند. در ارتباط با روابط تبارزادی سایر جنس‌ها و گونه‌ها، تفاوت‌ها و شباهت‌های مشاهده شده بین مطالعات ذکر شده و مطالعه حاضر می‌تواند مرتبط به نوع نشانگر، تحلیل‌ها و حتی تعداد نمونه‌ها و توالی‌های استفاده شده از بانک ژن باشد.

مطالعات ریختی، فهرست‌ها و نقشه‌های پراکنش مرتبط با ماهیان آب‌های شیرین و لب‌شور قبلی در ایران (e. g. Saadati, 1977; Armantrout, 1980; Abdoli, 2000; Patimar *et al.*, 2005; Abdoli and Naderi, 2009; Mousavi-Sabet *et al.*, 2015 a, b; Mohammadian-Kalat *et al.*, 2017; Esmaeili *et al.*, 2018; Sattari *et al.*, 2019; Pourshabanan *et al.*, 2019; Coad, 2020) نیز نشان می‌دهد که اعضای این زیرخانواده بیشترین تنوع گونه‌ای و پراکنش را در حوضه آبریز خزر دارند. در این خصوص در این حوضه آبریز، جنس‌های *Blicca*, *Acanthobrama*, *Abramis*, *Chondrostoma*, *Leuciscus*, *Leucaspilus*, *Squalius* و *Vimba* (هرکدام یک گونه)، *Rutilus* (دو گونه)، *Alburnus* (سه گونه) و *Alburnoides* (پنج گونه) دارای پراکنش نسبتاً وسیعی داشته که *Alburnoides parhami* A. و *Alburnoides tabarestanensis* تنها گونه‌های بومزاد زیرخانواده قنات ماهیان می‌باشند. این درحالی است که حضور جنس‌ها و گونه‌های گزارش شده شامل *Ballerus sapa* و *Pelecus cultratus* در ایران، نیاز به گرفتن نمونه و شناسایی ریختی و مولکولی دارد؛ لذا جهت حفظ تنوع گونه‌ای این زیرخانواده در ایران به‌ویژه حوضه آبریز خزر، نیاز به بررسی دقیق‌تر ریختی و مولکولی اعضای این زیرخانواده و همچنین حفاظت از گونه‌های در معرض خطر و حفظ ذخایر ژنتیکی آن‌ها می‌باشد.

## ۵ | تشکر و قدردانی

هزینه‌های مطالعه حاضر با حمایت مالی دانشگاه فردوسی مشهد (شماره ۳/۴۲۷۴۷) تأمین گردید. همچنین نویسندگان از جناب آقای دکتر کیوان عباسی و آقای محسن تشکری جهت مساعدت و همکاری در نمونه برداری، مراتب کمال تشکر و قدردانی را اعلام می‌دارند.

## پست الکترونیک نویسنده مسئول:

yazdani@um.ac.ir

فائزه یزدانی مقدم:

## REFERENCES

- Abdoli A. 2000. The inland water fishes of Iran. Iranian Museum of Nature and Wildlife. 378 p.
- Abdoli A., Naderi M. 2009. Biodiversity of fishes of the southern basin of the Caspian Sea. Abzian Scientific Publication. 242 p. (In Persian).
- Aljanabi S.M., Martinez I. 1997. Universal and rapid salt-extraction of high-quality genomic DNA for PCR-based techniques. *Nucleic Acids Research*, 25: 4692-4693.
- Armantrout N.B. 1980. The freshwater fishes of Iran. Ph. D. Thesis, Oregon State University, Corvallis, Oregon, USA.

در مطالعه حاضر روابط تبارشناختی جنس‌ها و گونه‌های گزارش شده از زیرخانواده قنات ماهیان در حوضه آبریز خزر به‌منظور تأیید سنخیت و اعتبار آن‌ها و همچنین تعیین گونه‌های بومزاد، مورد بررسی قرار گرفت. در این راستا حضور جنس‌های *Acanthobrama*, *Abramis*, *Leuciscus*, *Leucaspilus*, *Blicca*, *Alburnus*, *Alburnoides*، *Squalius*، *Scardinius*، *Rutilus* و *Vimba* که عمدتاً با رویکرد ریختی گزارش و توصیف شده‌اند، و همچنین تنها حضور دو گونه بومزاد *Alburnoides tabarestanensis* و *Alburnoides samiii* از این حوضه مورد بررسی و تأیید قرار گرفت.

جنس‌های تک سنخی در درخت تبارشناختی مطالعه حاضر شامل *Leucaspilus*، *Blicca bjoerkna*، *Abramis brama*، *Alburnoides delineatus*، *Scardinius erythrophthalmus* و *Vimba persa* می‌باشد. همچنین روابط تبارشناختی این جنس‌ها با گونه‌های گزارش شده جنس‌های چند سنخی شامل *Acanthobrama microlepis*، *Alburnoides Alburnoides holciki*، *Alburnoides eichwaldii*، *Alburnus hohenackeri*، *Alburnoides tabarestanensis*، *samiii*، *Squalius Rutilus frisii*، *Rutilus lacustris*، *Leuciscus aspius turcicus* با توجه به اطلاعات بانک ژن مورد بررسی قرار گرفت. در این خصوص استفاده از توالی‌های بانک ژن مرتبط با گونه‌های جنس‌های *Ballerus sapa*، *Alburnus filippii*، *Alburnus chalcoides*، *Chondrostoma cyri* و *Pelecus cultratus* (به دلیل عدم یافت و صید گونه و یا عدم تهیه توالی ژن *COXI* در مطالعه حاضر)، روابط تبارشناختی اعضای این زیرخانواده را در این حوضه دقیق‌تر نشان داد (شکل ۱).

در برخی مطالعات قبلی به بررسی روابط تبارشناختی اعضای تعدادی جنس‌ها از قبیل *Alburnus* (Mohammadian-Kalat *et al.*, 2017)، *Alburnoides* (Seifali *et al.*, 2012; Jouladeh-Roudbar *et al.*, 2016)، *Squalius* (Khaefi *et al.*, 2016) و *Leuciscus* (Pourshabanan *et al.*, 2021) در ایران پرداخته شده است. اگرچه نتایج این مطالعات نیز حضور گونه‌های *Alburnoides eichwaldii*، *Alburnoides tabarestanensis*، *Alburnoides samiii*، *aspilus* و *Squalius turcicus* را در حوضه خزر تأیید می‌کند، با این وجود بررسی وضعیت ارائه شناختی جنس‌های *Alburnus* و *Alburnoides* هنوز کاملاً مشخص نشده است. در این راستا اعتبار ریخت گونه‌های *Alburnus filippii*، *Alburnus chalcoides* و همچنین گونه بوم زاد *Alburnoides parhami* در این حوضه نیاز به تأیید مولکولی دارد.

همانند مطالعه حاضر، نتایج (Teimori *et al.* 2015) در ارتباط با روابط تبارشناختی تعدادی از اعضای این زیرخانواده در ایران نشان می‌دهد که جنس‌های *Abramis*، *Acanthobrama* و *Blicca* در یک کلاد مشترک قرار دارند و گونه‌های *Acanthobrama microlepis* از حوضه خزر و *Acanthobrama persidis* از حوضه رودخانه گُر دودمان‌های مجزایی را تشکیل می‌دهند. همچنین نتایج مطالعات Perea

- Coad B.W. 2020. Freshwater fishes of Iran. [http://www.briancoad.com/Species Accounts/Contents new. htm](http://www.briancoad.com/Species%20Accounts/Contents%20new.htm) (downloaded on 22 March 2020).
- Darriba D., Taboada G.L., Doallo R., Posada D. 2014. JModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods*, 9: 67-72.
- Esmaili H.R., Sayyadzadeh G., Eagderi S., Abbasi K. 2018. Checklist of freshwater fishes of Iran. *FishTaxa*, 3(3):1-95.
- Fricke R., Eschmeyer W.N., Van der Laan R. 2021. Eschmeyer's Catalog of Fishes: Genera, Species, References. <http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp>. Downloaded on 1 March 2021.
- Huelsenbeck J.P., Ronquist F.R. 2001. MrBayes: Bayesian inference of phylogeny. *Bioinformatics*, 17: 754-755.
- Jouladeh-Roudbar A., Eagderi S., Esmaili H R., Coad B.W., Bogutskaya N. 2016. A molecular approach to the genus *Alburnoides* using COI sequences data set and the description of a new species, *A. damghani*, from the Damghan River system (the Dasht-e Kavir basin, Iran) (Actinopterygii, Cyprinidae). *ZooKeys*, 579: 157-161.
- Khaefi R., Esmaili H.R., Sayyadzadeh G., Geiger M.F., Freyhof J. 2016. *Squalius namak*, a new chub from Lake Namak basin in Iran (Teleostei: Cyprinidae). *Zootaxa*, 4169: 145-159.
- Keivany Y., Nasri M., Abbasi K., Abdoli A. 2016. Atlas of inland water fishes of Iran. Iran Department of Environment Press, Tehran, Iran. 218 p. (In Persian).
- Kottelat M., Freyhof J. 2007. Handbook of European freshwater fishes. Cornol (Switzerland) & Berlin: Kottelat.
- Mohammadian-kalat T., Aliabadian M., Esmaili H.R., Abdolmalaki S., Nejhad R.Z., Vatandoust S. 2015. Species list and distribution map of the genus *Alburnus* Rafinesque, 1820 (Cyprinidae: Leuciscinae) in Iran. *Check List*, 11 (5): 1-5.
- Mohammadian-Kalat T., Esmaili H.R., Aliabadian M., Freyhof J. 2017. Re-description of *Alburnus doriae*, with comments on the taxonomic status of *A. amirkabiri*, *A. mossulensis*, *A. sellal* and *Petroleuciscus esfahani* (Teleostei: Cyprinidae). *Zootaxa*, 4323:487-502.
- Mousavi-Sabet H., Anvari Far H., Azizi S. 2015a. *Alburnoides tabarestanensis*, a new species of riffle minnow from the southern Caspian Sea basin in Iran (Actinopterygii: Cyprinidae). *Aqua*, 21: 144-152.
- Mousavi-Sabet H., Vatandoust S., Doadrio I. 2015b. Review of the genus *Alburnoides* Jettelles, 1861 (Actinopterygii, Cyprinidae) from Iran with description of three new species from the Caspian Sea and Kavir basins. *Caspian Journal of Environmental Sciences*, 13: 293-331.
- Nelson J.S., Grande T.C., Wilson M.V. 2016. *Fishes of the World*. John Wiley & Sons, Hoboken, New Jersey, USA. 752p.
- Myers N. 1990. The biodiversity challenge: expanded hot-spots analysis. *Environmentalist*, 10 (4): 243-256.
- Patimar R., Kiabi B., Salnikov N., Kamali A.G. 2005. Univariate and multivariate analysis of the morphological variability among roach populations (*Rutilus rutilus caspicus*) from Gomishan, Adji-Gol and AlmaGol wetlands. *Journal of Agriculture and Natural Resources Sciences*, 11:163-174. (In Persian).
- Perea S., Böhme M., Zupančič P., Freyhof J., Šanda R., Özüluğ M., Abdoli A., Doadrio I. 2010. Phylogenetic relationships and biogeographical patterns in Circum-Mediterranean subfamily Leuciscinae (Teleostei, Cyprinidae) inferred from both mitochondrial and nuclear data. *BMC evolutionary biology*, 10(1): 1-27.
- Pourshabanan A., Yazdani-Moghaddam F., Ghassemzadeh F., Mousavi-Sabet H., Rossi G., Aliabadian M. 2019. An updated geographical distribution of minnows (Teleostei: Leuciscidae: Leuciscinae) in Iran. *Progress in Biological Sciences*. In press.
- Pourshabanan A., Yazdani-Moghaddam F., Ghassemzadeh F., Mousavi-Sabet H., Rossi G., Aliabadian M. 2021. Morpho-species of the genus *Leuciscus* Cuvier, 1816 (Teleostei: Leuciscinae) from Iran revisited using molecular approaches. *Zoology in the Middle East*, 67(3). 1-7.
- Rambaut A. 2018. FigTree v 1.4.4. <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree> (accessed: 25 November 2018).
- Saadati M. 1977. Taxonomy and distribution of the freshwater fishes of Iran. Fort Collins (U.S.A.): Colorado State University, M.Sc. Thesis.
- Sattari M., Namin J.I., Bibak M., Vajargah M.F., Hedayati A., Khosravi A., Mazareiy M.H. 2019. Morphological comparison of western and eastern populations of Caspian kutum, *Rutilus kutum* (Kamensky, 1901) (Cyprinidae) in the southern Caspian Sea. *International Journal of Aquatic Biology*, 6: 242-247.
- Seifali M., Arshad A., Yazdani-Moghaddam F., Esmaili H.R., Hasanzadeh Kiabi B., Daud S.K., Aliabadian M. 2012. Mitochondrial genetic differentiation of *Spiralin* (Actinopterygii: Cyprinidae) in the south Caspian Sea basin of Iran. *Evolutionary Bioinformatics* 8, EBO-S9207.
- Schönhuth S., Vukić J., Šanda R., Yang L., Mayden R.L. 2018. Phylogenetic relationships and classification of the Holarctic family Leuciscidae (Cypriniformes: Cyprinoidei). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 127: 781-799.
- Teimori A., Esmaili H.R., Sayyadzadeh G., Zarei N., Gholamhosseini A. 2015. Molecular systematics and distribution review of the endemic cyprinid species, Persian chub, *Acanthobrama persidis* (Coad, 1981) in Southern Iran (Teleostei: Cyprinidae). *Molecular Biology Research Communications*, 4 (4): 189-206.

#### نحوه استناد به این مقاله:

پورشبانان آ، یزدانی‌مقدم ف، علی‌آبادیان م، قاسم‌زاده ف، موسوی‌ثابت ح. بررسی تنوع گونه‌ای زیرخانواده قنات‌ماهیان (Cypriniformes: Leuciscinae) در حوضه آبریز دریای خزر، ایران با رویکرد مولکولی. نشریه پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی دانشگاه گنبدکاووس. ۱۳۹۹، ۱۲۵-۱۲۰: ۸(۵).

Pourshabanan A., Yazdani-Moghaddam F., Aliabadian M., Ghassemzadeh F., Mousavi-Sabet H. Investigation of species diversity of the Minnows (Cypriniformes: Leuciscinae) in the Caspian Sea basin, Iran using molecular approach. *Journal of Applied Ichthyological Research*, University of Gonbad Kavous. 2021, 8(5): 120-125.

## Investigation of species diversity of the Minnows (Cypriniformes: Leuciscinae) in the Caspian Sea basin, Iran using molecular approach

Pourshabanan A<sup>1</sup>, Yazdani-Moghaddam F\*<sup>2</sup>, Aliabadian M<sup>3</sup>, Ghasemzadeh F<sup>3</sup>, Mousavi-Sabet H<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>Ph.D. Student, Dept. of Biology, Faculty of Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

<sup>2</sup>Assistant prof., Dept. of Biology, Faculty of Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

<sup>3</sup>Prof., Dept. of Biology, Faculty of Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

<sup>4</sup>Associate Prof., Dept. of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Guilan, Sowmeih Sara, Iran.

### Type:

Original Research Paper

DOI: 10.22034/jair.8.5.16

### Paper History:

Received: 15-12-2021

Accepted: 30-01- 2022

### Corresponding author:

Yazdani-Moghaddam F. Assistant prof., Dept. of Biology, Faculty of Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

Email: yazdani@um.ac.ir

### Abstract

The Caspian Sea basin is one of the most important ecosystems in Iran with a high diversity of different aquatic species, so that the issue of determining the taxonomy its fishes has always been considered. Up to now, a total of 297 species of freshwater and brackish fish have been reported from Iran where the subfamily Leuciscinae (minnows) has a high diversity of species in the Caspian Sea basin. In the present study, during the years 2017-2019, sampling of reported species of the subfamily was performed in this basin. In addition to morphological studies, Bayesian Inference (BI) analyzes were carried out using the mitochondrial gene cytochrome *c* oxidase subunit I (*COXI*) to investigate the phylogenetic relationships between members of this subfamily. According to result, the following genera were caught and identified: *Abramis*, *Acanthobrama*, *Alburnus*, *Alburnoides*, *Blicca*, *Chondrostoma*, *Leucaspius*, *Leuciscus*, *Rutilus*, *Scardinius*, *Squalius* and *Vimba*, where *Alburnoides parhami*, *A. samiii* and *A. tabarestanensis* are endemic species. Therefore, to maintain the diversity of Leuciscinae subfamily species in Iran, especially in the Caspian Sea basin, it is necessary to protect endangered species and preserve their genetic resources.

**Keywords:** Biodiversity, Endemic species, Phylogeny, Mitochondrial gene.