

(OPEN ACCESS)

Phylogenetic relationships of *Oxynoemacheilus* species inferred from the cytochrome *b* gene in Western Iran

Edris Ghaderi¹, Hadiseh Kashiri^{*2}, Soheil Eagderi³, Barzan Bahrami Kamangar⁴, Rasoul Ghorbani⁵

1. Dept. of Aquatics Production and Exploitation, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: ed.ghaderi@gmail.com
2. Corresponding Author, Dept. of Aquatics Production and Exploitation, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: hadiskashiri@gmail.com
3. Dept. of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran. E-mail: Soheil.eagderi@ut.ac.ir
4. Dept. of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran. E-mail: bbkamangar@uok.ac.ir
5. Dept. of Aquatics Production and Exploitation, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: rasulghorbani@gmail.com

Article Info

Article type:
Full Length Research Paper

Article history:
Received: 05.14.2025
Revised: 06.25.2025
Accepted: 08.28.2025

Keywords:
DNA sequence,
Geographical separation,
Phylogenetic analysis,
Stone loaches

ABSTRACT

Background and Objectives: The family *Nemacheilidae* exhibits considerable species diversity in Iran, providing an appropriate framework for investigating evolutionary and phylogenetic patterns in freshwater fishes. The genus *Oxynoemacheilus*, distributed from southeastern Europe to Iran and the Caucasus region, includes 16 recognized species in Iran. The present study aims to assess the genetic diversity and clarify the phylogenetic relationships among *Oxynoemacheilus* species in western Iran using mitochondrial cytochrome *b* gene sequences.

Materials and Methods: Mitochondrial cytochrome *b* sequences were analyzed to assess genetic variation and to infer phylogenetic relationships among selected species of *Oxynoemacheilus*. Phylogenetic reconstructions were performed using Bayesian Inference (BI) and Maximum Likelihood (ML) approaches. The resulting topologies were examined to identify major lineages and patterns of divergence within the genus.

Results: The analyses recovered three main evolutionary lineages among the studied taxa. *Oxynoemacheilus elsae* was resolved as a distinct lineage (Clade A), whereas *O. bergianus*, *O. euphraticus*, *O. longipinnis*, and *O. parvinae* formed Clade B (bergianus group). The remaining species, including *O. chomanicus*, *O. frenatus*, *O. karunensis*, *O. kiabii*, *O. kurdistanicus*, *O. persa*, *O. zagrosensis*, and *O. zarzianus*, were grouped within Clade C. The phylogenetic pattern suggests a degree of genetic differentiation likely influenced by geographic separation. In addition, robust body forms were observed only in the Persian Gulf basin, whereas slender forms were distributed across all examined basins.

Conclusion: The results of this study contribute to the understanding of phylogenetic relationships and patterns of diversification within

Oxynoemacheilus species in Iran. The observed lineage structure and morphological variation highlight the potential role of geographic factors in shaping evolutionary differentiation within the genus.

Cite this article: Ghaderi, Edris, Kashiri, Hadiseh, Eagderi, Soheil, Bahrami Kamangar, Barzan, Ghorbani, Rasoul. 2026. Phylogenetic relationships of *Oxynoemacheilus* species inferred from the cytochrome *b* gene in Western Iran. *Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics*, 15 (1), 143-153.



© The Author(s).

Doi: 10.22069/japu.2025.23660.1953

Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

بررسی روابط تکاملی گونه‌های جنس *Oxynoemacheilus* در غرب ایران بر اساس توالی سیتوکروم *b*

ادریس قادری^۱، حدیثه کشیری^{۲*}، سهیل ایگدري^۳، برزان بهرامی کمانگر^۴، رسول قربانی^۵

۱. گروه تولید و بهره‌برداری آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: ed.ghaderi@gmail.com
۲. نویسنده مسئول، گروه تولید و بهره‌برداری آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: hadiskashiri@gmail.com
۳. گروه شیلات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران. رایانامه: soheil.eagderi@ut.ac.ir
۴. گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران. رایانامه: bbkamangar@uok.ac.ir
۵. گروه تولید و بهره‌برداری آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: rasulghorbani@gmail.com

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله کامل علمی- پژوهشی	سابقه و هدف: خانواده لوچ‌ماهیان سنگی، <i>Nemacheilidae</i> ، در ایران از تنوع گونه‌ای بسیار بالایی برخوردار است و به‌عنوان یکی از گروه‌های مناسب برای مطالعه الگوهای تکاملی شناخته می‌شود. جنس <i>Oxynoemacheilus</i> یکی از جنس‌های این خانواده است که از آلبانی تا ایران و قفقاز پراکنش دارد و تاکنون ۱۶ گونه از آن در ایران گزارش شده است. هدف از این مطالعه، بررسی تنوع ژنتیکی و روابط فیلوژنتیکی گونه‌های <i>Oxynoemacheilus</i> در غرب ایران با استفاده از توالی ژن میتوکندریایی سیتوکروم <i>b</i> است.
تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۲/۲۴ تاریخ ویرایش: ۱۴۰۴/۰۴/۰۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۶/۰۶	
واژه‌های کلیدی: آنالیز فیلوژنتیکی، توالی DNA، جدایی جغرافیایی، لوچ ماهیان سنگی	مواد و روش‌ها: نمونه‌برداری از تابستان ۱۴۰۱ تا پاییز ۱۴۰۲ در استان‌های آذربایجان غربی، ایلام، خوزستان، فارس، کردستان، کرمانشاه و همدان انجام شد. به‌منظور بررسی روابط فیلوژنتیکی، توالی‌های ژن سیتوکروم <i>b</i> مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. بازسازی تبارشناسی با استفاده از روش‌های استنباط بیزی (BI) و بیشینه درست‌نمایی (ML) انجام شد.
	یافته‌ها: نتایج این مطالعه نشان داد که گونه‌های مورد بررسی در سه شاخه تکاملی مجزا قرار می‌گیرند. به‌طوری‌که گونه <i>O. elsae</i> در شاخه A، گونه‌های <i>O. bergianus</i> ، <i>O. euphraticus</i> ، <i>O. longipinnis</i> و <i>O. parvinae</i> در شاخه B و گونه‌های <i>O. chomanicus</i> ، <i>O. frenatus</i> ، <i>O. karunensis</i> ، <i>O. kiabii</i> ، <i>O. kurdistanicus</i> ، <i>O. persa</i> ، <i>O. zagrosensis</i> و <i>O. zarzianus</i>

در شاخه C قرار گرفتند. هم‌چنین نتایج نشان داد که گونه *O. elsaе* احتمالاً در نتیجه جدایی جغرافیایی به صورت مستقل از سایر گونه‌های مورد بررسی تکامل یافته است. از نظر ریخت‌شناسی، فرم‌های بدنی قطور تنها در حوضه خلیج فارس مشاهده شدند، در حالی که فرم‌های باریک و کشیده در هر سه حوضه مورد بررسی پراکنش دارند.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه به درک روابط فیلوژنتیکی و الگوهای تمایز در گونه‌های *Oxynoemacheilus* در ایران کمک می‌کند و نشان می‌دهد که عوامل جغرافیایی می‌توانند نقش مهمی در شکل‌گیری ساختارهای تکاملی و پراکنش گونه‌ها داشته باشند.

استناد: قادری، ادریس، کشیری، حدیثه، ایگدری، سهیل، بهرامی کمانگر، برزان، قربانی، رسول (۱۴۰۵). بررسی روابط تکاملی گونه‌های جنس *Oxynoemacheilus* در غرب ایران براساس توالی سیتوکروم *b* نسریره بهره‌برداری و پرورش آبزیان، ۱۵ (۱)، ۱۵۳-۱۴۳.

Doi: 10.22069/japu.2025.23660.1953



© نویسنندگان.

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

مقدمه

خانواده لوچ ماهیان سنگی، *Nemacheilidae*، در ایران از تنوع بسیار بالایی برخوردار است و با داشتن ۶ جنس و ۵۱ گونه پس از خانواده کپور ماهیان، *Cyprinidae*، بیشترین تنوع را در میان خانواده‌های ماهیان آب شیرین ایران دارد. این تنوع بالا، ایران به یکی از کانون‌های مهم زیستی این خانواده تبدیل کرده است. جنس *Oxynoemacheilus* یکی از جنس‌های این خانواده است که از آلبانی تا ایران و قفقاز گزارش شده است (۱). در آخرین فهرست منتشر شده برای ماهیان آب شیرین ایران ۱۶ گونه از این جنس در ایران گزارش شده است (۲).

از آن‌جا که گونه‌های این خانواده اغلب اندازه کوچکی دارند و از لحاظ اقتصادی اهمیت آن‌چنانی نداشتند چندان مورد مطالعه قرار نگرفته‌اند، اما در سال‌های اخیر توجه به مطالعه آن‌ها افزایش یافته است و دلیل آن از یک سو شناخت اهمیت اکولوژیکی این گونه‌ها در اکوسیستم‌های آبی است و از سوی دیگر، پیشرفت‌های فناوری مولکولی شناسایی و طبقه‌بندی آن‌ها را تسهیل کرده است. با این‌حال، شباهت‌های بین‌گونه‌ای و تفاوت‌های درون‌گونه‌ای در این خانواده شناسایی و طبقه‌بندی این خانواده را هم‌چنان با چالش‌هایی همراه کرده است (۳).

گونه‌های جنس *Oxynoemacheilus* در ایران در حوضه‌های جنوب دریای خزر، دریاچه نمک، دریاچه ارومیه و دجله گزارش شده و به نظر می‌رسد که این گونه‌ها در نیمه غربی ایران توزیع گسترده‌تری دارند. در چک لیست سال ۲۰۱۰ ماهیان آب‌های داخلی ایران ۸ گونه برای جنس *Oxynoemacheilus* گزارش شد (۴). در مطالعه‌ای که روی رودخانه چومان (دجله) انجام گرفت سه گونه جدید از این جنس توصیف شد و گونه‌های *O. hamwii* و *O. argyrogramma* نیز در این حوضه گزارش شد (۵). جولاده-رودبار و همکاران

(۲۰۱۵) برای ایران ۱۲ گونه *Oxynoemacheilus* گزارش کرده‌اند (۶). هم‌چنین در سال ۲۰۱۶ دو گونه *O. freyhofi* (۷) و *O. karunesis* (۸) توصیف شد که معتبر بودن گونه *O. freyhofi* به چالش کشیده شده است (۹) هم‌چنین در قسمتی از حوضه دجله و در خاک عراق و هم مرز با ایران گونه‌های *O. gydens* و *O. hanae* گزارش شده است (۱۰) اما تاکنون این گونه‌ها در قسمت ایرانی این حوضه گزارش نشده‌اند. آخرین گونه‌هایی که از این جنس در ایران توصیف شده‌اند شامل گونه *O. parvinae* در حوضه تیگریس بر اساس صفات مورفولوژی و مولکولی (۱۱) و گونه *O. marunensis* (۱۲) است.

این یافته‌ها نشان‌دهنده پیچیدگی تنوع‌زیستی این جنس در منطقه است و ضرورت مطالعه دقیق‌تر این جنس را آشکار می‌سازد به همین دلیل در این مطالعه سعی گردید با بررسی نمونه‌هایی که از غرب ایران صید شده‌اند یک نمای از گونه‌های این جنس در غرب ایران ترسیم شود. بنابراین هدف اصلی از انجام این مطالعه، ارائه دیدگاهی جامع از تنوع ژنتیکی و روابط فیلوژنتیکی گونه‌های *Oxynoemacheilus* در غرب ایران است که می‌تواند مبنایی برای مطالعات آتی قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری از تابستان ۱۴۰۱ تا پاییز ۱۴۰۲ در رودخانه‌های استان‌های آذربایجان غربی، ایلام، خوزستان، فارس، کردستان، کرمانشاه و همدان با استفاده از الکتروشوکر و ساچوک انجام شد. مشخصات ایستگاه‌ها در جدول ۱ و محل نمونه‌برداری هر گونه در شکل ۱ مشخص شده است. برای شناسایی دقیق گونه‌های این جنس از دو منبع معتبر در ارتباط با جنس *Oxynoemacheilus* به عنوان کلید شناسایی استفاده

کروماتوگرام‌های حاصل از توالی‌یابی با استفاده از نرم‌افزار BioEdit ver. 7.0.5.3 ویرایش شده و در نهایت با استفاده از نرم‌افزار Clustal X ver. 2.1 هم‌ردیف شدند. برای انجام آنالیز تبارشناسی بر اساس روش Bayesian (BI) و Maximum Likelihood (ML) از نرم‌افزار jModelTest 2.1.10 براساس معیار اطلاعاتی (AIC) (Akaike Information Criterion)، مدل‌های تکاملی برای داده‌های موردنظر انتخاب شدند. در مرحله بعد با استفاده از نرم‌افزار MrBayes ver. 3.2.7a آنالیز فایلوژنتیک BI انجام شد. برای هر ماتریس، چهار اجرای جداگانه به منظور دستیابی به نمونه‌های خوبی از توزیع احتمال پسین (Posterior Probability) برای ۲۰ میلیون نسل اجرا شد و هر ۱۰۰۰ نسل یک درخت نمونه‌برداری شد که منجر به ایجاد ۲۰۰۰۰ درخت شد. در نهایت ۲۵ درصد از درخت‌های جمع‌آوری شده سوزانده شد و باقی‌مانده آن‌ها به صورت درخت اجمالی ۵۰ درصد همراه با مقادیر مربوط به حمایت شاخه‌ای در بخش نتایج ارائه شدند. همگرایی اجرای آنالیزها توسط نرم‌افزار Tracer ver. 1.7.1 ارزیابی شد. برای رسم درخت ML از نرم‌افزار RaxmlGUI ver. 2.0 و روش ML+ thorough bootstrap و مدل GTR+GAMMA و با ۱۰۰۰۰ جایگزینی استفاده شد. در انتها با استفاده از FigTree ver1.4.4 و اصلاح جزئیات با استفاده از Corel Draw ver. 2019 انجام گرفت.

گردید (به‌عنوان مثال ۱ و ۱۳). به‌منظور استخراج DNA برشی از بافت عضله ساقه دمی جدا گردیده و در ظرف‌های در بسته حاوی الکل مطلق قرار داده شد. استخراج DNA به روش استخراج نمکی استفاده گردید (۱۴). برای بسط قطعه ۱۱۴۰ bp ژن cytochrome *b* لوچ ماهیان از یک جفت پرایمر که برای همین مطالعه طراحی شده بود استفاده گردید که شامل CybFE: 5'-AGTGACTTGAAGAACCACCGT-3' و CybRE: 5'-CTTCGGATTACAAGACCGATGC-3' می‌باشد. واکنش PCR با چرخه‌های حرارتی مورد استفاده برای بسط قطعه مورد نیاز شامل ۵ دقیقه واسرشته‌سازی در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد و به‌دنبال آن ۳۵ چرخه شامل، واسرشته‌سازی در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۵ ثانیه، اتصال پرایمر در دمای مناسب (۵۷-۵۲ درجه سانتی‌گراد) به مدت ۴۵ ثانیه و بسط ناحیه موردنظر در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه انجام گرفت. این چرخه‌های حرارتی با ۵ دقیقه بسط تکمیلی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد پایان پذیرفت (۱۵). در واکنش PCR از آنزیم تگ پلی‌مراز ۰/۲ μl (۵ U/μl)، کلرید منزیم ۲-۲/۴ μl (۲۵ mM)، ۲ μl بافر 10X PCR، پرایمرها ۰/۲۵-۰/۳ μl (۱۰ μM)، مخلوط dNTP ۲ μl (۲ mM) و DNA نمونه استفاده گردید. قطعه موردنظر جهت توالی‌یابی به شرکت BMG Biotechnologies کشور چین ارسال و قطعه تکثیر شده از هر دو جهت توالی‌یابی شد.

جدول ۱- مشخصات جغرافیایی گونه‌های جنس *Oxynoemachielus* همراه با اطلاعات توالی‌های ثبت شده در بانک ژن.

Table 1. Geographical characteristics of species of *Oxynoemachielus* with sequence accession number in the GenBank.

نام گونه Species Name	محل نمونه‌برداری Sampling Location	مشخصات جغرافیایی Geographic Information		کد بانک ژن GenBank Accession Number
		عرض جغرافیایی Latitude	طول جغرافیایی Longitude	
<i>O. bergianus</i>	کردستان، بیجار، قم‌چقایی Kurdistan, Bijar, Ghamchoghai	36° 10' 05"	47° 42' 05"	PV581993 PV581994
<i>O. chomanicus</i>	کردستان، بانه، جملی Kurdistan, Baneh, Jemli	35° 57' 58"	46° 42' 40"	PV581995 PV581996
<i>O. elsae</i>	کردستان، سقز، قشلاق ونوشه Kurdistan, Saqqez, Qeshlagh Vanosha	36° 14' 03"	46° 06' 30"	PV581997 PV581998
<i>O. euphraticus</i>	کرمانشاه، بیستون Kermanshah, Biston	34° 32' 15"	47° 23' 12"	PV581999 PV582000
<i>O. frenatus</i>	آذربایجان غربی، سردشت، بان‌آباد W. Azarbaijan, Sardasht, Banabad	36° 14' 19"	45° 30' 37"	PV582001
<i>O. karunensis</i>	خوزستان، بهبهان، قدمگاه Khuzestan, Behbahan, Ghadamgah	30° 40' 11"	50° 18' 48"	PV582002 PV582003
<i>O. kiabii</i>	کرمانشاه، بیستون Kermanshah, Biston	34° 32' 15"	47° 23' 12"	PV582004 PV582005
<i>O. kurdistanicus</i>	کردستان، بانه، جملی Kurdistan, Baneh, Jemli	35° 57' 58"	46° 42' 40"	PV582006 PV582007
<i>O. longipinnis</i>	ایلام، دهلران، تم‌تم Illam, Dehloran, Tamtam	32° 45' 40"	47° 09' 03"	PV582008 PV582009
<i>O. parvinae</i>	کردستان، سنندج، کومائین Kurdistan, Sanandaj, Kumaiin	34° 56' 06"	47° 12' 41"	PV582010 PV582011
<i>O. persa</i>	فارس، دشتک، بیزجان Fars, Dashtak, Bizjan	30° 11' 30"	52° 27' 47"	PV582012 PV582013
<i>O. zagrosensis</i>	کردستان، بانه، جملی Kurdistan, Baneh, Jemli	35° 57' 58"	46° 42' 40"	PV582014 PV582015
<i>O. zarzianus</i>	کردستان، مریوان، گاران Kurdistan, Marivan, Garan	35° 35' 06"	46° 18' 54"	PV582016 PV582017
<i>P. hircanica</i> (Out Group)	گلستان، مینودشت Golestan, Minodasht	37° 11' 33"	55° 25' 51"	PV582021
<i>T. babaii</i> (Out Group)	اصفهان، چادگان Esfahan, Chadegan	32° 41' 38"	50° 28' 57"	PV582044



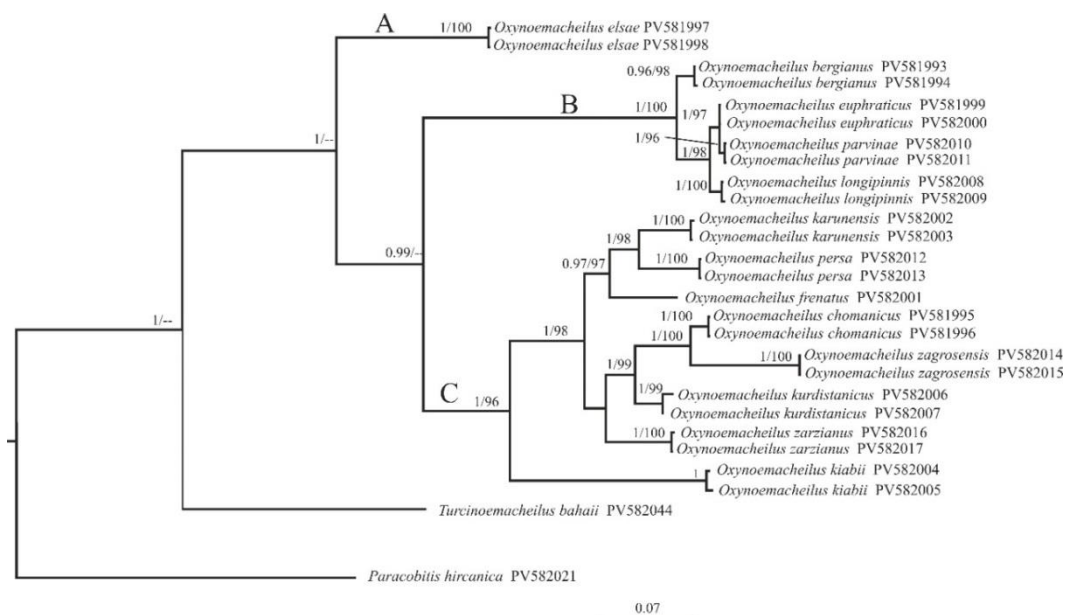
شکل ۱- محل نمونه‌برداری گونه‌های جنس *Oxyneomacheilus* در ایران بر اساس حوضه‌های آبریز داخلی که به صورت اختصاری LU (حوضه دریاچه ارومیه)، CS (حوضه دریای خزر)، PGO (حوضه خلیج فارس و دریای عمان)، CIP (حوضه فلات مرکزی ایران)، EI (حوضه‌های شرق ایران) و HR (حوضه هریرود) نشان داده شده است.

Figure 1. Sampling localities of species of the genus *Oxyneomacheilus* in Iran based on inland drainage basins, indicated by the abbreviations CS (Caspian Sea Basin), LU (Lake Urmia Basin), PGO (Persian Gulf and Oman Sea Basin), CIP (Central Iranian Plateau Basin), EI (East Iran Basins), and HR (Harirud Basin).

بوت‌استرپ ۱۰۰ شامل گونه‌های *O. bergianus*، *O. parvinae* و *O. longipinnis*، *O. euphraticus* می‌شود که تحت عنوان گروه *bergianus* شناخته می‌شود. شاخه C که متنوع‌ترین شاخه این جنس ایران می‌باشد و شامل ۸ گونه می‌باشد. این شاخه دارای احتمال پسین ۱ و حمایت بوت‌استرپ ۹۶ بوده و شامل گونه‌های *O. frenatus*، *O. chomanicus*، *O. kurdistanicus*، *O. kiabii*، *O. karunensis*، *O. persa*، *O. zarzianus* و *O. zagrosensis* می‌باشد.

نتایج و بحث

آنالیز فیلوژنتیکی داده‌های توالی ژن سیتوکروم b، با استفاده از روش‌های Bayesian Inference (BI) و Maximum Likelihood (ML)، روابط تکاملی بین ۱۳ گونه مختلف از جنس *Oxyneomacheilus* در غرب ایران را نشان می‌دهد (شکل ۲). در درخت فیلوژنتیکی حاصل از آنالیز داده‌ها یک گروه مونوفایلیک نشان می‌دهد و دارای ۳ شاخه اصلی بوده که با حروف A، B و C مشخص شده است. شاخه A که گونه *O. elsae* با احتمال پسین ۱ و حمایت بوت‌استرپ ۱۰۰ که از سایر گونه‌های این جنس جدا می‌شود. شاخه B نیز با احتمال پسین ۱ و حمایت



شکل ۲- درخت فیلوژنتیکی به دست آمده، با استفاده از روش‌های Maximum Likelihood (ML) و Bayesian Inference (BI) روابط تکاملی بین ۱۳ گونه مختلف از جنس *Oxynoemacheilus* در غرب ایران. دو توالی *Turcinoemacheilus bahaii* (PV582044) و *Paracobitis hircanica* (PV582021) به عنوان برون‌گروه (Out Group) استفاده شده است. اعداد روی شاخه‌ها به ترتیب نشان‌دهنده احتمال پسین و مقدار بوت استرپ (۱۰۰۰۰ تکرار) هستند.

Figure 2. Bayesian Inference (BI) and Maximum Likelihood (ML) phylogenetic trees of the *Oxynoemacheilus* Bănărescu & Nalbant, 1966 and two out group, *Turcinoemacheilus bahaii* (PV582044) and *Paracobitis hircanica* (PV582021). Numbers on branches represent the posterior probabilities for BI and Maximum Likelihood (ML) (10000 replicates).

یک رویداد واگرایی قدیمی‌تر و مستقل برای گونه *O. elsae* است. موقعیت جغرافیایی حوضه دریاچه ارومیه، که یک حوضه داخلی و از نظر هیدروگرافی مجزاست، به شدت این فرضیه تکاملی را حمایت می‌کند که این گونه در نتیجه جدایی جغرافیایی (Allopatric speciation) به وجود آمده است. در شاخه B که تحت عنوان گروه *bergianus* شناخته می‌شود شامل گونه *O. bergianus* از حوضه دریای خزر و سه گونه از حوضه خلیج فارس می‌باشد که در مطالعه‌ای که بر روی توالی ژن ستوکروم اکسیداز انجام شده نیز نتایج به دست آمده نشان داده است که گونه‌های *O. parvinae* و *O. longipinnis* در گروه *bergianus* قرار می‌گیرند (۱۶). در این شاخه که یک گونه از حوضه دریای خزر و سه گونه از حوضه خلیج فارس وجود دارد، بیانگر رویدادهای پراکنش یا

جنس *Oxynoemacheilus* Bănărescu & Nalbant, 1966 با ۱۶ گونه در ایران و ۷ گونه اندمیک یکی از متنوع‌ترین گروه‌های ماهیان آب شیرین در ایران است این جنس در غرب ایران پراکنش داشته و بیش‌ترین آن‌ها در حوضه خلیج فارس پراکنش دارند. به طوری که از ۱۳ گونه مورد بررسی در این مطالعه ۱۰ گونه آن‌ها در این حوضه حضور داشتند (شکل ۱) و حوضه‌های دریای خزر، دریاچه ارومیه و ایران مرکزی هر کدام دارای یک گونه بودند. نتایج درخت فیلوژنی (شکل ۲) نشان می‌دهد که گونه *O. elsae* که در حوضه دریاچه ارومیه حضور دارد در یک کلاد جداگانه بوده (شاخه A) و به نظر می‌رسد این گونه در نتیجه جدایی جغرافیایی مستقل از سایر گونه‌هایی که در این مطالعه بررسی شده‌اند تکامل یافته است و این جدایی عمیق فیلوژنتیکی نشان‌دهنده

بوده است. از طرف دیگر گونه‌هایی که کمانگر و همکاران (۲۰۱۴) تحت عنوان گونه‌های *O. hamwii* و *O. argyrogramma* گزارش کرده‌اند بر اساس صفات بررسی شده و همچنین انطباق نقاط جغرافیایی اشاره شده در مطالعه آن‌ها با محل نمونه‌برداری در این مطالعه نشان می‌دهد که گونه *O. hamwii* مورد اشاره در مطالعه آن‌ها ممکن است گونه *O. parvinae* و گونه *O. argyrogramma* که در آن مطالعه به آن اشاره شده ممکن است که همان گونه *O. euphraticus* بوده باشد.

نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که استفاده از توالی DNA برای اهداف تکاملی می‌تواند بیش‌ترین جدیدی را در ارتباط با تکامل ماهیان آب شیرین ایجاد نماید به طوری که نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که حوضه خلیج فارس به عنوان کانون تنوع زیستی این جنس بوده و ارتباط ریخت‌شناسی با فیلوژنتیک می‌تواند در مطالعات آبی در ارتباط با این جنس بسیار مفید باشد به طوری که این نتایج می‌تواند به درک بهتر روابط تکاملی گونه‌ها کمک نماید همچنین مطالعات فیلوژنتیک ماهیان می‌تواند رابطه اثرات محیطی بر روی تکامل ریختی ماهیان را به خوبی آشکار سازد و به بسیاری از سوالاتی که در ارتباط با رابطه اکولوژی و ریخت موجودات به خصوص ماهیان آب شیرین وجود دارد پاسخ دهد. لازم به ذکر است که پرایمرهای مورد استفاده در این مطالعه برای لوچ ماهیان طراحی شده و منجر به ایجاد محصولات با کیفیتی از واکنش زنجیره‌ای پلیمرز گردید و از آنجایی که این پرایمرها برای چند گونه از راسته کپورماهی شکلان نیز استفاده گردید برای به دست آوردن ژن سیتوکروم *b* در لوچ ماهیان این جفت پرایمر توصیه می‌گردد.

تغییرات جغرافیایی دیرینه‌ای می‌باشد که ارتباط بین این حوضه‌های به ظاهر مجزا را در گذشته امکان‌پذیر ساخته است. از طرف دیگر شاخه C شامل یک گونه *(O. persa)* از حوضه مرکزی ایران و ۷ گونه از حوضه خلیج فارس *O. persa* می‌باشد و نشان‌دهنده پیچیدگی بیش‌تر الگوهای پراکنش و تکامل در این گروه است.

نکته دیگر در ارتباط با جنس *Oxynoemacheilus* ریخت و شکل ظاهری آن‌ها می‌باشد به طوری که دو نوع مروف در این جنس دیده می‌شود که شامل شکل باریک و کشیده و شکل قطور می‌باشد (۵). در گونه‌هایی که در این مطالعه مورد بررسی قرار گرفتند هر دو ریخت دیده شد به طوری که گونه‌های *O. elsaie*، *O. longipinnis*، *O. euphraticus*، *O. bergianus*، *O. kurdistanicus*، *O. karunensis*، *O. parvinae* و *O. persa* دارای شکل باریک و کشیده بوده و گونه‌های *O. kiabi*، *O. frenatus*، *O. chomanicus*، *O. zagrosensis* و *O. zarzianus* دارای فرم قطور می‌باشند. بر اساس نتایج به دست آمده گونه‌های با فرم قطور فقط در حوضه خلیج فارسی دیده می‌شوند در حالی که فرم باریک و کشیده در هر سه حوضه مشاهده شده است که این الگوها می‌تواند نشان‌دهنده سازگاری‌های محیطی باشد.

در این مطالعه برای نمونه‌برداری از گونه‌هایی که در مرزهای غربی ایران با کشور عراق تلاش فراوانی انجام شد و همه گونه‌هایی که در این منطقه گزارش شده بود نیز صید و توالی‌یابی گردید اما دو گونه *O. hanae* و *O. gydens* صید نگردید و به نظر می‌رسد این گونه‌ها در ایران حضور نداشته و آن‌ها را فقط در کشور عراق می‌توان یافت (۱۷). در ارتباط با گونه *O. freyhofii* همان‌طور که فریهوف و اوزولاگ (۲۰۱۷) اشاره کردند به نظر می‌رسد این گونه غیرمعتبر بوده و نمونه‌های آن‌ها همان گونه *O. euphraticus*

منابع

1. Freyhof, J., Erk'akan, F., Özeren, C., & Perdices., A. (2011). An overview of the western Palaearctic loach genus *Oxynoemacheilus* (Teleostei: Nemacheilidae). *Ichthyological Exploration of Freshwaters*, 22(4), 289-384.
2. Çiçek, E., Esmaeili, H. R., Sayyadzadeh, G., Saad, A., Sungur, S., Jawad, L., Eagderi, S., Çapar, O. B., Coad, B. W., & Fricke, R. (2024). Freshwater lampreys and fishes in the Middle East. *Taxa*. 4, ad24401, 1-428.
3. Prokofiev, A. M. (2009). Problems of the classification and phylogeny of Nemacheiline loaches of the group lacking the preethmoid I (Cypriniformes: Balitoridae: Nemacheilinae). *Journal of Ichthyology*. 49(10), 874-898.
4. Esmaeili, H. R., Coad, B. W., Gholamifard, A., Nazari, N., & Teimory, A. (2010). Annotated checklist of the freshwater fishes of Iran. *Zoosystematica Rossica*, 19 (2), 361-386.
5. Bahrami Kamangar, B., Prokofiev, A. M., Ghaderi, E., & Nalbant, T. T. (2014). Stone loaches of Choman River system, Kurdistan, Iran (Teleostei: Cyprini- formes: Nemacheilidae). *Zootaxa*, 3755(1), 33-61.
6. Jouladeh-Roudbar, A., Vatandoust, S., Eagderi, S., Jafari- Kenari, S., & Mousavi-Sabet, H. (2015). Freshwater fishes of Iran; an updated checklist. *Aquaculture, Aquarium, Conservation and Legislation, International Journal of the Bioflux*, 8 (6), 855-909.
7. Jouladeh-Roudbar, A., Eagderi, S., & Hosseinpour, T. (2016). *Oxynoemacheilus freyhofi*, a new nemacheilid species (Teleostei, Nemacheilidae) from the Tigris basin, Iran. *FishTaxa*, 1(2), 94-107.
8. Freyhof, J. (2016). *Oxynoemacheilus karunensis*, a new species from the Persian Gulf basin (Teleostei: Nemacheilidae). *Zootaxa*, 4175(1), 94-100.
9. Freyhof, J., & Özuluğ, M. (2017). *Oxynoemacheilus hazarensis*, a new species from Lake Hazar in Turkey, with remarks on *O. euphraticus* (Teleostei: Nemacheilidae). *Zootaxa*, 4247(4), 378-390.
10. Freyhof, J., & Abdullah, Y. S. (2017) Two new species of *Oxynoemacheilus* from the Tigris drainage in Iraqi Kurdistan (Teleostei: Nemacheilidae). *Zootaxa*, 4238(1), 73-87.
11. Sayyadzadeh, G., Eagderi, S., & Esmaeili, H. R. (2016). A new loach of the genus *Oxynoemacheilus* from the Tigris River drainage and its phylogenetic relationships among the nemacheilid fishes (Teleostei: Nemacheilidae) in the Middle East based on mtDNA COI. *Iranian Journal of Ichthyology*, 3(4), 236-250.
12. Sayyadzadeh, G., & Esmaeili, H. R. (2020) *Oxynoemacheilus marunensis*, a new loach species from the Persian Gulf basin with remarks on *O. frenatus* (Teleostei: Nemacheilidae). *Zootaxa*, 4885(2), 189-206.
13. Keivany, Y., Nasri, M., Abbasi, K., & Abdoli, A. (2016). Atlas of inland water fishes of Iran. Iran Department of Environment Press, Tehran, 218 p. [In Persian]
14. Zilberman, N., Reikhav, S., Hulata, G., & Ron, M. (2005). High-throughput genomic DNA extraction protocol from tilapia's fin tissue. *Aquaculture*, 255, 597-599.
15. Tang, Q., Liu, H., Mayden, R., & Xiong, B. 2006. Comparison of evolutionary rate in the mitochondrial DNA cytochrome b gene and control region and their implications for phylogeny of the Cobitoidea (Teleostei: Cypriniformes). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 39(2), 347-357.
16. Freyhof, J., Kaya, C., & Geiger, M. F. (2022). A practical approach to revise the *Oxynoemacheilus bergianus* species group (Teleostei: Nemacheilidae). *Zootaxa*, 5128(2), 151-194.
17. Freyhof, J., & Abdullah, Y. (2017). Two new species of *Oxynoemacheilus* from the Tigris drainage in Iraqi Kurdistan (Teleostei: Nemacheilidae). *Zootaxa*, 4238(1), 73-87.

