

## Phylogenetic Relationships of the Genus *Turcinoemacheilus* in Iran using Osteological Characteristics

Nasrin Nikmehr<sup>1</sup>, Soheil Eagderi<sup>2\*</sup>, Hadi Poorbagher<sup>3</sup>, Hamid Farahmand<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Ph. D. Student of Aquatic Ecology of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Iran

<sup>2</sup> Associate Professor, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Iran

<sup>3</sup> Assistant Professor, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Iran

<sup>4</sup> Professor, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Iran

### Abstract

This study was conducted to examine the phylogenetic relationship of the genus *Turcinoemacheilus* in Iran based on osteological characteristics. A total of 25 fish specimens of four species belonging to the genus *Turcinoemacheilus* from Tigris and Isfahan basins were considered as in-group and *Cobitis linea* as out-group. The skeletal elements were examined after clearing and staining. A total of 19 character-states were described that showed differences between the studied taxa. Phylogenetic analysis was performed using osteological characters with the maximum parsimony method. Based on the results, the most parsimonious tree with a length of 29, the consistency index of 1, and a retention index of 1 was obtained. *Turcinoemacheilus hafezi* and *T. bahaii* with 76% support were in a sister group and the two species of *T. kosswigi* and *T. saadii* with 97% support were in another clad. The presence of the lateral fontanel in *T. hafezi*, the overlap of the internal lateral-wall of autoplantini with posterior lateral-wall of the ethmoid, symmetry of the posterior part of the autoplantini and divergence of the hemal spine's process in *T. kosswigi*, ratio of the ascending process to the horizontal process of the maxillary, and beginning of the first dorsal-fin petriophore to vertebra 17 in *T. bahaii* were distinguishing osteological characters of the studied species.

**Key words:** Tigris, Phylogenetic Relationships, Osteological Traits, *Turcinoemacheilus*.

\* soheil.eagderi@ut.ac.ir

## بررسی روابط تبارزایی جنس *Turcinoemacheilus* در ایران براساس صفات استخوان‌شناسی

نسرین نیک مهر<sup>۱</sup>، سهیل ایگدری<sup>۲\*</sup>، هادی پورباقر<sup>۳</sup>، حمید فرحمند<sup>۴</sup>

<sup>۱</sup> دانشجوی دکتری بوم‌شناسی آبزیان شیلاتی، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

<sup>۲</sup> دانشیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

<sup>۳</sup> دانشیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

<sup>۴</sup> استاد گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

### چکیده

این پژوهش به منظور بررسی تبارزایی اعضای جنس *Turcinoemacheilus* براساس صفات استخوان‌شناسی در ایران انجام شد. در مجموع ۲۵ قطعه ماهی از چهار گونه جنس *Turcinoemacheilus* در دو حوضه تیگریس و اصفهان در جایگاه درون‌گروه و گونه *Cobitis linea* در جایگاه برون‌گروه در نظر گرفته شد. اجزای اسکلتی نمونه‌ها پس از شفاف‌سازی و رنگ‌آمیزی بررسی شد. در مجموع ۱۹ حالت صفت نشان‌دهنده تغییرات درون‌آرایه‌های مطالعه شده، توصیف شد. آنالیز تبارزایی با استفاده از صفات استخوانی برپایه روش بیشینه پارسیمونی انجام شد. طبق نتایج، پارسیمونی‌ترین درخت با طول درخت معادل ۲۹، شاخص ثبات یک (CI=۱) و شاخص بقای یک (RI=۱) به دست آمد. گونه‌های *T. bahaii* و *T. hafezi* با پشتیبانی ۷۶ درصد در یک گروه خواری و دو گونه *T. saadii* و *T. kosswigi* با پشتیبانی ۹۷ درصد در کلاد دیگر قرار گرفتند. وجود ملاحظه‌جانبی در *T. hafezi*، هم‌پوشانی دیواره جانبی داخلی خودکامی با دیواره جانبی خلفی استخوان و مر، تقارن در بخش خلفی استخوان خودکامی و واگرایی زائده‌های عصبی خونی نسبت به هم در *T. kosswigi*، نسبت برابر طول زائده بالارونده به زائده افقی در استخوان پیش‌فکی و رسیدن اولین پتریگیوفور باله پستی به مهره ۱۷ در *T. bahaii* از جمله صفات استخوانی متمایزکننده در بین گونه‌های مطالعه شده است.

**واژه‌های کلیدی:** تیگریس، روابط تبارزایی، صفات استخوان‌شناسی، *Turcinoemacheilus*.

### مقدمه

جلویی مخرج نسبت به منشأ باله پستی تشخیص داده

می‌شوند (Bânârescu and Nalbant, 1964; Freyhof)

در (et al., 2011, Golzarianpour et al., 2009)

حالی که به مدت ۴۷ سال جنس *Turcinoemacheilus*

جویبارماهیان جنس *Turcinoemacheilus*، ماهیانی

کوچک و کف‌زی از خانواده Nemacheilidae هستند

که از سایر اعضای این خانواده به علت داشتن موقعیت

\* soheil.eagderi@ut.ac.ir

Copyright©2019, University of Isfahan. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0>), which permits others to download this work and share it with others as long as they credit it, but they cannot change it in any way or use it commercially.

Doi: [10.22108/tbj.2020.124047.1118](https://doi.org/10.22108/tbj.2020.124047.1118)

پنج نمونه از هر چهار گونه جنس *Turcinoemacheilus* شامل *T. kosswigi* با طول استاندارد ۵۵ تا ۷۲ میلی‌متر از حوضه تیگریس (رودخانه گاوهرود)، *T. bahaii* با طول استاندارد ۵۱ تا ۷۴ میلی‌متر از حوضه اصفهان (رودخانه زاینده‌رود)، *T. hafezi* با طول استاندارد ۶۱ تا ۷۰ میلی‌متر از حوضه تیگریس (رودخانه جونقان) و *T. saadii* با طول استاندارد ۴۸ تا ۷۴ میلی‌متر از حوضه تیگریس (رودخانه دینورآب) با استفاده از دستگاه الکتروشوکر، مدل MP ۷۲۵، شرکت SAMUS، لهستان، صید و پس از بیهوشی با محلول پودر گل میخک یک درصد در فرمالین بافر چهار درصد تثبیت شدند؛ سپس به‌منظور مطالعه استخوان‌شناسی براساس روش Van Taylor و Dyke (۱۹۸۵)، با استفاده از آلسیان بلو و آلزارین قرمز شفاف‌سازی و رنگ آمیزی شدند. ساختارهای اسکلتی هر نمونه پس از بررسی و جداسازی، زیر دستگاه استریومیکروسکوپ، مدل MS5، شرکت LEICA، آلمان، به وسیله اسکنر، مدل ۷۶۰۰، شرکت EPSON، ژاپن و مجهز به حمام گلیسرین با تفکیک پذیری ۱۲۰۰ مگاپیکسل اسکن شدند. برای ترسیم عکس ساختارهای اسکلتی از نرم‌افزار Corel Draw X6 استفاده و مقیاس تمامی عکس‌ها در ترسیم، یک میلی‌متر در نظر گرفته شد. شناسایی و نام‌گذاری قطعات مختلف اسکلت ماهی براساس Prokofie (۲۰۰۹) و Rojo (۱۹۹۱) انجام شد.

برای آنالیز فیلوژنی، چهار گونه جویبارماهی *Turcinoemacheilus* در جایگاه درون‌گروه و گونه *Cobitis linea* در جایگاه برون‌گروه در نظر گرفته شدند. فرضیه روابط فیلوژنی بین گونه‌ها براساس روش پارسیمونی در نرم‌افزار PAUP نسخه ۴ تحلیل شد.

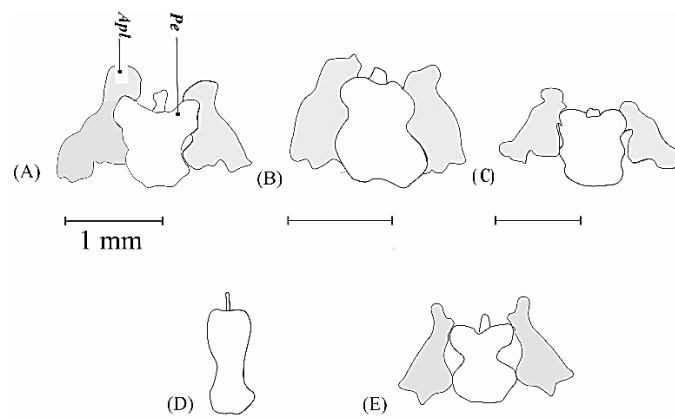
به صورت تک‌گونه بود، در سال‌های اخیر علاوه بر گونه *T. kosswigi* سه گونه دیگر از این جنس شامل گونه *T. bahaii* از حوضه اصفهان و گونه‌های *T. saadii* و *T. hafezi* از حوضه تیگریس ایران توصیف شده‌اند (Conway et al., 2011; Esmaeili et al., 2014). آنجایی که هنوز شناسایی اعضای این جنس به دلیل سختی تشخیص صفات ریخت‌ظاهری مشکل است، ماهی‌شناسان در تلاشند وضعیت آرایه‌شناسی آنها را براساس سایر صفات مشخص کنند (Prokofiev, 2009, 2010; Nikmehr et al., 2020). مطالعه Nikmehr و همکاران (۱۳۹۹) روی وضعیت آرایه‌شناختی جمعیت جنس *Turcinoemacheilus* رودخانه گاوهرود از حوضه تیگریس، شناسایی آنها با استفاده از ویژگی‌های ریختی امکان‌پذیر نبود و در نتیجه براساس ژن میتوکندریایی زیرواحد ۱ سیتوکروم اکسیداز (COI)، گونه *T. kosswigi* با فاصله ژنتیکی ۰/۶۱ درصد از سایر جمعیت‌های *T. kosswigi* تشخیص داده شد؛ همچنین Nikmehr و همکاران (۲۰۱۶)، ساختار استخوانی گونه *T. hafezi* را به‌طور کامل توصیف کردند؛ از این رو استفاده از یک ساختار زیستی مطمئن همچون صفات استخوانی، ابزار مناسبی برای تفکیک گونه‌ها، آرایه‌ها و جمعیت‌ها است (Gregory, 1933; Lepiksaar, 1944) و در رده‌بندی و روابط تبارزایی ماهی‌ها کاربرد دارد (Coad, 2014; Nasri et al., 2013; Eagderi, 2010 a, b). پژوهش حاضر با هدف مطالعه روابط تبارزایی جنس *Turcinoemacheilus* در ایران با استفاده از صفات استخوان‌شناسی انجام شد.

## مواد و روش‌ها

## نتایج

در مجموع ۱۹ حالت صفت که تغییرات درون آرایه‌های مطالعه شده را نشان می‌دادند به شرح زیر شناسایی و توصیف شدند:

۱- بخش قدامی استخوان پیش و مر (Prevomer): (۰) صاف، (۱) به شدت مقعر و (۲) نیمه مقعر است. بخش قدامی استخوان پیش و مر در *C. linea* صاف، در *T. saadii* و *T. kosswigi* نیمه مقعر و در *T. hafezi* و *T. bahaii* مقعر است (شکل ۱).



شکل ۱- نمای شکمی پیش و مر

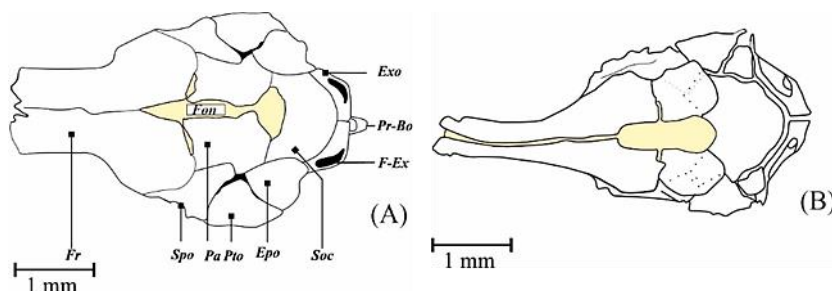
(A) *T. hafezi*, (B) *T. kosswigi*, (C) *T. saadii*, (D) *C. linea*, (E) *T. bahaii*  
(Pe: prevomer; Apl: autopalatine)

*T. hafezi* و *kosswigi* و *T. saadii* وجود ندارد، در *T. hafezi* حالت ۱ و در *C. linea* حالت ۰ است (شکل ۲).  
۳- انتهای زائده قاعده‌ای پس سری (Basioccipital): (۰) دوشاخه یا (۱) مدور است. این استخوان در *C. linea* دوشاخه و در سایر آرایه‌ها مدور است (شکل ۲).

پارسیمونی‌ترین درخت براساس تعداد ۱۹ صفت استخوانی استخراج شده، محاسبه شد. ماتریکس داده‌ها با استفاده از الگوریتم Branch and band آنالیز شد و هیچ داده‌ای، داده افزودنی (additive) در نظر گرفته نشد. پراکنش حالت صفات توصیف شده با استفاده از Transformation optimization در PAUP آزمون شد. برای بررسی پشتیبانی گره‌ها، آنالیز بوت‌استرپ با تکرار ۱۰۰۰، با استفاده از Heuristic search options در نرم‌افزار PAUP انجام شد و همچنین شاخص‌های بقا و ثبات (consistency and retention indices) نیز در این نرم افزار محاسبه شدند.

۲- ملاج جانبی (Lateral fontanel): (۰) وجود دارد و استخوان‌های آهیانه (Parietal) و بالای گوشه (Pterotic) و فوق گوشه موجب تشکیل ملاج جانبی می‌شوند، (۱) وجود دارد و استخوان‌های آهیانه، بالای گوشه، پروانه‌ای (Sphenotic) و فوق گوشه (Epiotic) ملاج جانبی را تشکیل می‌دهند و (۲) وجود ندارد. ملاج جانبی در آرایه‌های *T. bahaii*، *T.*

استخوان در *C. linea* وجود ندارد؛ ولی در هر چهار آرایه درون گروه وجود دارد. *T. kosswigi* در بخش خلفی دارای تقارن است؛ ولی در سه گونه *T. saadii*، *T. bahaii* و *T. hafezi* این تقارن وجود ندارد (شکل ۲).



شکل ۲- نمای جانبی جمجمه عصبی

(A) *T. hafezi*, (B) *C. linea*

(Epo: epiotic; Fon: fontanel; Fr: frontal; Pa: parietal; Pto: pterotic; Soc: supraoccipital; Sp: sphenotic; Pr-Bo: basioccipital process; F-Exo: foramen exoccipital; Exo: exoccipital)

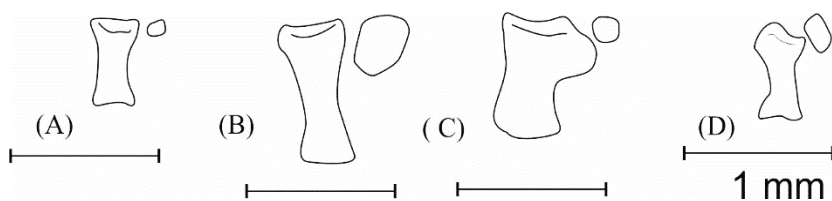
درون گروه یافت می شود که در *T. kosswigi* و *T. saadii* گرد و واضح است و در *T. hafezi* و *T. bahaii* کوچک و ریز است (شکل ۳).

۷- نسبت طول استخوان سزاموئید به طول پیش اتموئید II: (۰) استخوان سزاموئید وجود ندارد، (۱) کمتر از ۴۰ درصد است و (۲) بیشتر از ۴۰ درصد است. این استخوان در *C. linea* وجود ندارد، در *T. saadii* ۴۱ درصد، در *T. kosswigi* نسبت آن بیش از ۴۳ درصد، در *T. bahaii* ۲۴ درصد و در *T. hafezi* ۲۱ درصد است (شکل ۳).

۴- استخوان خودکامی (Autoplatinii): (۰) وجود ندارد، (۱) وجود دارد و در بخش خلفی دارای دو فرورفتگی است که به سه قسمت مساوی با تقارن تقسیم می شود و (۲) وجود دارد و در بخش خلفی دارای یک فرورفتگی است که چپ و راست آن تقارن ندارد. این

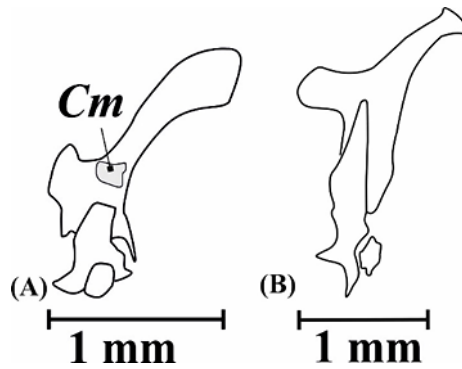
۵- هم پوشانی دیواره جانبی داخلی خودکامی با دیواره جانبی خلفی استخوان ومر: (۰) خودکامی وجود ندارد، (۱) وجود دارد، (۲) وجود دارد و تماس است. این زائده در *T. hafezi* و *C. lineae* توسعه یافته است؛ ولی با زائده پیشانی (Frontal) هم پوشانی ندارد و در *T. kosswigi* و *T. bahaii* با زائده توسعه یافته پیشانی هم پوشانی دارد.

۶- استخوان سزاموئید (Sesamoid ossifications): (۰) وجود ندارد، (۱) وجود دارد و گرد و واضح است و (۲) وجود دارد و کوچک و ریز است. این استخوان در *C. linea* وجود ندارد؛ ولی در هر چهار آرایه



شکل ۳- نسبت طول استخوان سزاموئید (Sesamoid ossifications) به طول پیش اتموئید II

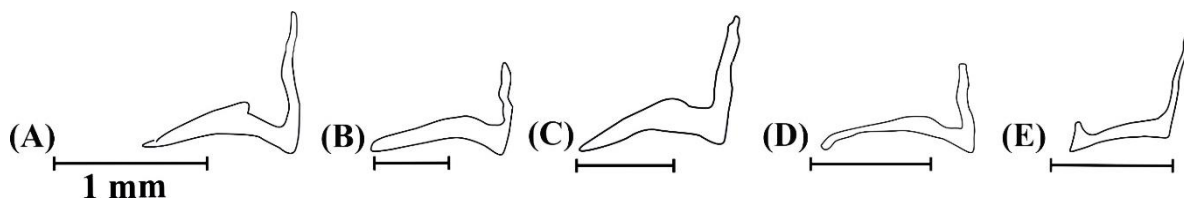
۸- غضروف کروئومکلین (Coronomeckelian): *linea* وجود ندارد؛ ولی در هر چهار درون گروه آرایه *Turcinoemacheilus* وجود دارد (شکل ۴).  
 (۰) وجود ندارد و (۱) وجود دارد. این استخوان در *C.*  
 ((A) *T. hafezi*, (B) *T. bahai*, (C) *T. kosswigi*, (D) *T. sadii*)



شکل ۴- استخوان فک پایین

((A) *T. hafezi*, (B) *C. linea*) (Cm: coronomeckelian)

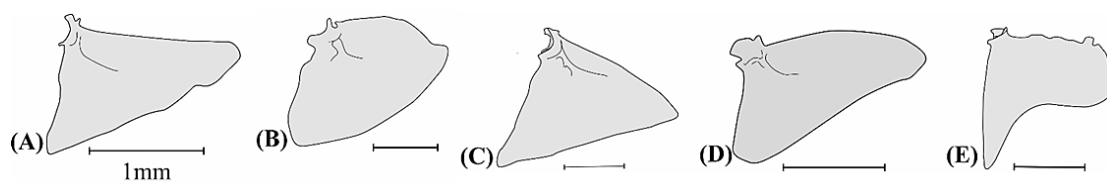
۹- نسبت طول زائده بالارونده در استخوان پیش‌فکی (Premaxillary) به زائده افقی: (۰) بیشتر از ۸۰ درصد است، (۱) کمتر از ۸۰ درصد است و (۲) در *T. saadii* ۶۴، در *T. hafezi* ۹۰، در *T. kosswigi* ۷۳، در *C. linea* ۹۲ و در *T. bahaii* نزدیک به ۱۰۰ درصد است (شکل ۵).



شکل ۵- استخوان پیش‌فکی

((A) *T. hafezi*, (B) *T. kosswigi*, (C) *T. bahaii*, (D) *T. sadii*, (E) *C. linea*)

۱۰- حاشیه خلفی استخوان سرپوش آبششی (Opercle): (۰) گرد و برآمده و (۱) صاف است. حاشیه خلفی استخوان سرپوش آبششی در *T. saadii* و *C. lineae* برآمده و در *T. hafezi* و *T. bahaii* صاف است (شکل ۶).



شکل ۶- استخوان سرپوش آبششی

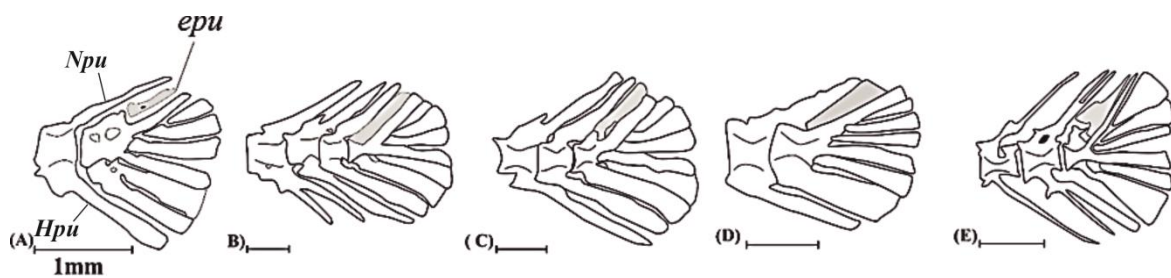
((A) *T. hafezi*, (B) *T. kosswigi*, (C) *T. bahaii*, (D) *T. sadii*, (E) *C. linea*)



۱۷- جوش خوردگی استخوان اپیورال به زائده عصبی: (۰) وجود ندارد و (۱) وجود دارد. این جوش خوردگی در *T. saadii* و *T. kosswigi* مشاهده می شود و در سایر آرایه های مطالعه شده وجود ندارد.

با زاویه ۶۶/۸ درجه، نسبت به یکدیگر همگرا هستند (شکل ۹).

۱۶- تقارن در استخوان اپیورال (Epural): (۰) وجود ندارد و (۱) وجود دارد. استخوان اپیورال در *T. saadii* و *T. bahaii* فاقد تقارن و در *T. kosswigi* دارای تقارن است.



شکل ۹- اسکلت باله دمی

(A) *T. hafezi*, (B) *T. kosswigi*, (C) *T. bahaii*, (D) *T. saadii*, (E) *C. linea* (epu: epural, Npu: neural processes, Hpu: hemal processes)

با منافذ ریز جانبی و در *T. saadii* و *T. kosswigi* بدون منفذ است.

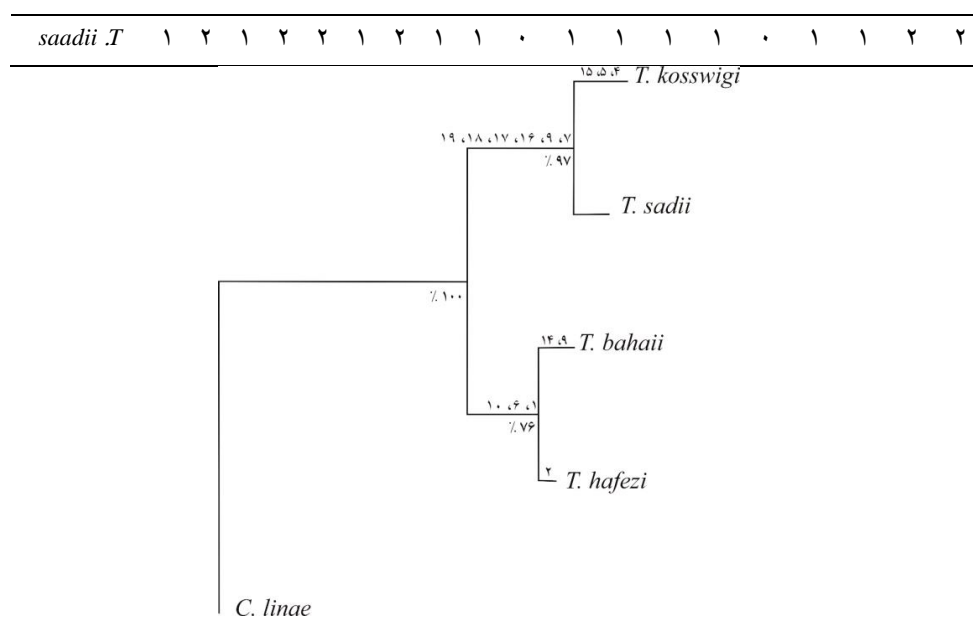
۱۸- شکل کپسول شنا (Swim bladder capsule): (۰) کروی، (۱) مستطیلی و (۲) ذوزنقه ای است. کپسول شنا در *C. linea* کروی، در *T. bahaii* و *T. hafezi* مستطیلی و در *T. saadii* و *T. kosswigi* ذوزنقه ای است.

حالات تعداد ۱۹ صفت استخوان شناسی شامل یک برون گروه (*C. linea*) و چهار درون گروه گونه های جنس *Turcinoemacheilus* در جدول ۱ آورده شده است. براساس نتایج، تنها یک درخت با طول ۲۹ مرحله و شاخص ثبات (Consistency index) یک و شاخص بقای (Retention index) یک حاصل شد (شکل ۱۰). تحلیل داده ها نشان داد از بین صفات مطالعه شده، تعداد ۹ صفت، متمایز کننده (Informative) بودند.

۱۹- مشبک بودن کپسول شنا: (۰) مشبک با منافذ چهار گوش، (۱) مشبک با منافذ ریز در سطح جانبی و (۲) فاقد منفذ است. کپسول شنا در *C. linea* مشبک با منافذ چهار گوش، در *T. bahaii* و *T. hafezi* مشبک

جدول ۱- ماتریکس حالت صفات استخوانی چهار گونه جنس *Turcinoemacheilus*

صفت/گونه	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱
<i>C. linea</i>	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
<i>T. kosswigi</i>	۱	۲	۱	۱	۱	۱	۲	۱	۱	۰	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۲
<i>T. bahaii</i>	۲	۲	۱	۲	۲	۲	۱	۱	۲	۱	۱	۱	۱	۲	۰	۰	۰	۱
<i>T. hafezi</i>	۲	۱	۱	۲	۲	۲	۱	۱	۰	۱	۱	۱	۱	۱	۰	۰	۰	۱



شکل ۱۰- پارسیمونی ترین درخت براساس آنالیز ماتریکس صفات استخوانی گونه‌های جنس *Turcinoemacheilus* با پشتوانه ۱۰۰۰ تکرار (درصد پشتیبانی در قاعده هر شاخه مشخص شده است).

در کنار مطالعات مولکولی در بررسی رده‌بندی بسیاری از ماهی‌ها به منظور تفکیک گونه‌ای را به عنوان یک رویه را قبول دارند (Coad, 2015). شناخت ساختار اسکلتی، علاوه بر مطالعات آرایه‌شناسی، در مطالعات زیست‌شناسی ماهیان از جمله تغذیه، تنفس و شنا نیز دارای اهمیت بسیاری است؛ بنابراین برای شناخت زیست‌شناسی یک گونه و تشخیص و طبقه‌بندی ماهیان در سطح گونه و بیشتر، شناخت کامل ساختار استخوانی ضروری است (Helfman, 2009; Mafakheri *et al.*, 2015).

طبق کلید شناسایی که Esmaili و همکاران (۲۰۱۴) ارائه داده‌اند، این چهار گونه براساس صفات ریختی زیر از یکدیگر متمایز شدند: گونه *T. kosswigi* به واسطه داشتن موقعیت مخرج در جلوی بخش میانی فاصله منشأ باله شکمی و باله مخرجی، ردیف مشخصی از لکه‌های قهوه‌ای تیره در امتداد خط میانی که به طور معمول به نواری جانبی متصل می‌شوند، طول استاندارد

براساس این فیلوگرام، گونه‌های مطالعه‌شده جنس *Turcinoemacheilus* به دو کلاد تقسیم شدند: گروه خواهری *T. saadii* و *T. kosswigi* با بوت‌استرپ ۹۷ درصد پشتیبانی شامل ۶ صفت هم‌پس‌ریخت، نسبت طول استخوان سزاموئید به طول پیش‌اتموئید II بیش از ۴۰ درصد (۷:۲)، نسبت طول زائده بالارونده در استخوان پیش‌فکی به زائده افقی کمتر از ۸۰ درصد (۹:۱)، تقارن در استخوان ایپورال (۱۶:۱)، جوش-خوردگی استخوان ایپورال به زائده عصبی (۱۷:۱)، کپسول شنای دوزنقه‌ای شکل (۱۸:۱) و کپسول شنای فاقد منفذ (۱۹:۲) و گروه خواهری *T. bahaii* و *T. hafezi* نیز با بوت‌استرپ ۷۶ درصد پشتیبانی و شامل ۳ صفت هم‌پس‌ریخت، شامل تقعر در بخش قدامی پیش‌ومر (۱:۲)، استخوان سزاموئید کوچک و ریز (۶:۲) و حاشیه خلفی سرپوش آبششی صاف (۱۰:۱).

## بحث

کارشناسان رده‌بندی، ویژگی‌های استخوان‌شناسی

سازگاری بسیاری با محیط‌های زیست خود از لحاظ ویژگی‌های ریخت‌سنجی و الگوی رنگی دارند. علاوه بر شرایط فیزیکی زیستگاه، عواملی از قبیل رژیم غذایی و حتی اندازه‌ی غذای در دسترس نیز سبب بروز تفاوت‌های ریختی بین گونه‌ای و بین جمعیتی ماهیان می‌شود (Ruehl and DeWitt, 2005; Ahmadvand *et al.*, 2013)؛ بر این اساس این طور برداشت می‌شود که تفاوت‌های ریختی بین گونه‌های مختلف جنس *Turcinoemacheilus* بیشتر متأثر از شرایط اکولوژیکی زیستگاه آنها است؛ از این رو صفات مولکولی و استخوان‌شناسی در شناسایی آنها کاربرد بهتری دارد.

براساس نتایج، دو گونه *T. saadii* و *T. kosswigi* از سایر گونه‌ها به دلیل داشتن نسبت طول استخوان سزاموئید به طول پیش‌اتموئید II بیش از ۴۰ درصد، نسبت طول زائده بالارونده در استخوان پیش‌فکی به زائده افقی کمتر از ۸۰ درصد، تقارن استخوان ایپورال، جوش خوردگی استخوان ایپورال به زائده عصبی، کپسول‌شنای ذوزنقه‌ای شکل و کپسول‌شنای فاقد منفذ تشخیص‌پذیر هستند؛ همچنین گونه *T. kosswigi* با داشتن هم‌پوشانی دیواره جانبی داخلی خودکامی با دیواره جانبی خلفی استخوان و مر، تقارن در بخش خلفی استخوان خودکامی و واگرایی زائده‌های عصبی خونی نسبت به هم از بقیه گونه‌ها تشخیص داده می‌شود؛ به علاوه دو گونه *T. bahaii* و *T. hafezi* به علت تقعر در بخش قدامی پیش‌ومر، استخوان سزاموئید کوچک و ریز و حاشیه خلفی سرپوش آبخشی صاف از سایر گونه‌ها تشخیص داده می‌شوند و در نهایت، گونه *T. bahaii* براساس نسبت برابر طول زائده بالارونده به زائده افقی در استخوان پیش‌فکی و

۵۳ میلی‌متر و عمق ساقه دمی ۱/۹ تا ۲/۲ برابر طول ساقه دمی شناسایی می‌شود. در گونه *T. bahaii* موقعیت مخرج در بخش عقبی میانه منشأ باله‌های مخرجی و شکمی، وجود یک لکه سیاه نامنظم دراز در هر دو طرف پایه باله مخرجی و قرار گرفتن منشأ باله مخرجی در خط عمودی از نوک باله پشتی هنگامی که روی بدن فشار داده شده است، صفات تشخیصی هستند. گونه *T. hafezi* با داشتن موقعیت مخرج در بخش عقبی میانه منشأ باله‌های مخرجی و شکمی، فقدان لکه سیاه در دو طرف باله مخرجی و قرار گرفتن منشأ باله مخرجی پشت خط عمودی از نوک باله پشتی هنگامی که روی بدن فشار داده شده است، شناسایی می‌شود. گونه *T. saadii* نیز با داشتن موقعیت مخرج در جلوی بخش میانی منشأ باله شکمی و منشأ باله مخرجی، فقدان ردیفی از لکه‌ها در امتداد خط میانی جانبی و تعداد ۷ تا ۹ لکه تیره زین‌مانند روی بدن تفکیک می‌شود. وجود این تفاوت‌های بیان‌شده به دلیل پاسخ‌های انعطاف‌پذیری ریختی به ویژگی‌های محیطی در محدوده پراکنش آنها است. اعضای این جنس در بسترهای ماسه‌ای با شدت جریان زیاد، زیست می‌کنند و بدن کشیده، پوزه دراز و ارتفاع کم بدن آنها کمک می‌کند تا از فضای خالی بین شیارها برای پناه گرفتن در جریان‌های سریع آبی استفاده کنند (Miyazaki *et al.*, 2007; Golzarianpour *et al.*, 2013). تغییرات ریختی در پاسخ به فشارهای محیطی، سریع‌تر از تغییرات ژنتیکی بروز می‌کند تا شانس بقای موجود افزایش یابد و این تغییرات در جایگاه سازگاری منطقه‌ای، باعث بروز ریخت‌های متنوع در سطح جمعیت‌ها می‌شود (Karakousis *et al.*, 1991)؛ به عبارت دیگر به نظر می‌رسد که گونه‌های این جنس

اینکه اولین پتریگوفور باله پشته به مهره ۱۷ می‌رسد و گونه *T. hafezi* به دلیل داشتن ملاج جانبی از سایر گونه‌ها متمایز می‌شوند.

براساس یافته‌های Sawda (۱۹۸۲) وجود استخوان سزاموئید، صفتی مهم در تشخیص فوق خانواده *Cobitis* است که در تمام نمونه‌های بررسی شده این پژوهش نیز مشاهده شد. در بررسی Prokofiev (۲۰۱۰)، وجود داشتن استخوان ایپورال از صفات مهم در بررسی روابط تبارزایی لوچ ماهیان است که در هر چهار گونه مطالعه شده یافت شد. این استخوان در گونه‌های *T. saadii* و *T. kosswigi* تقارن دارد و به زائده عصبی جوش خورده است. یکی دیگر از صفات مهم در بسیاری از جنس‌های لوچ ماهیان، داشتن ملاج جانبی است که در بخش شنوایی مجموعه عصبی قرار دارد و شامل بخش استخوانی نشده بین استخوان بالی گوش، پروانه‌ای، فوق گوش و آهیانه است. از نظر

Prokofiev (۲۰۱۰) وجود ملاج جانبی یک مرحله میانی تکاملی در بخش شنوایی مجموعه لوچ ماهیان است. ملاج جانبی بین گونه‌های جنس *Turcinoemacheilus* تنها در *T. hafezi* مشاهده شد. نتایج همچنین نشان داد که درخت پارسیمونی حاصل از حالت صفات استخوانی در پژوهش حاضر، نتایج روابط تبارزایی جنس *Turcinoemacheilus* براساس ژن COI توسط Esmaeili و همکاران (۲۰۱۴) را تأیید می‌کند؛ همچنین براساس موقعیت گونه‌ها در این درخت، *T. bahaii* از حوضه اصفهان و *T. hafezi* از حوضه تیگریس از نظر فاصله جغرافیایی و تبارشناختی به هم نزدیک‌تر هستند. دو گونه *T. saadii* و *T. kosswigi* نیز که در حوضه تیگریس حضور دارند احتمالاً به دلیل ظهور رشته کوه‌های زاگرس از گونه‌های اجدادی جدا شدند.

## منابع

- Ahmadvand, S., Eagderi, S. & Imanpour, M. R. (2013). The Skeletal Deformity in Response of Dietary Phosphorus and Calcium Level in the Caspian Roach (*Rutilus Rutilus Caspicus*) Larvae. *International Journal of Aquatic Biology*, 1(3), 93-99.
- Bănărescu, P. & Nalbant, T. T. (1964). Süßwasserfische der Türkei. 2. Teil Cobitidae. *Mitteilungen aus dem hamburgischen Zoologischen Museum und Institut*, 61(2), 159-201.
- Coad, B. (2015). *Fresh Water Fishes of Iran*. Retrieved from <http://www.briancoad.com>.
- Conway, K. W., Edds, D. R., Shrestha, J., & Mayden, R. L. (2011). A New Species of Gravel- Dwelling Loach (Ostariophysi: Nemacheilidae) from the Nepalese Himalayan foothills. *Journal of Fish Biology*, 79(7), 1746-1759.
- Eagderi, S. & Adriaens, D. (2010a). Head Morphology of the Duckbill Eel, *Hoplunnis Punctata* (Regan, 1915; Nettastomatidae: Anguilliformes) in relation to Jaw Elongation. *Zoology*, 113(3), 148-157.
- Eagderi, S. & Adriaens, D. (2010b). Cephalic Morphology of *Pythonichthys Macrurus* (Heterenchelyidae: Anguilliformes): Specializations for Head-First Burrowing. *Journal of Morphology*, 271(9), 1053- 1065.

- Esmaeili, H. R., Sayyadzadeh, G., Özuluğ, M., Geiger, M., & Freyhof, J. (2014). Three New Species of *Turcinoemacheilus* from Iran and Turkey (Teleostei: Nemacheilidae). *Ichthyological Exploration of Freshwaters*, 24(3), 257-273.
- Freyhof, J., Erk'akan, F., Ozeren, C. & Perdices, A. J. (2011). An Overview of the Western Palaearctic Loach Genus *Oxyemacheilus* (Teleostei: Nemacheilidae). *Ichthyological Exploration of Freshwaters*, 22(4), 301–312.
- Golzarianpour, K., Abdoli, A., Kiabi, B.H. & Freyhof, J. (2009). The First Record of the Freshwater Loach, *Turcinoemacheilus Kosswigi* (Bănărescu and Nalbant, 1964) from Iran (Karoun Drainage). *Zoology in the Middle East*, 47(1), 57–62.
- Golzarianpour, K., Abdoli, A., Patimar, R., & Freyhof, J. (2013). *Turcinoemacheilus hafezi*, A New Loach from Karoun River Drainage, Iran (Teleostei: Nemacheilidae). *Ichthyological Exploration of Freshwaters*, 24(1), 41-48.
- Gregory, W. K. (1933). *Fish Skulls: A Study of the Evolution of Natural Mechanisms*. Krieger Publishing Company.
- Helfman, G. S., Collette, B. B., Facey, D. E. & Bowen, B. W. (2009). *The Diversity of Fishes: Biology, Evolution, and Ecology*. Blackwell Publishing. UK, Oxford.
- Karakousis, Y., Triandafyllidis, C. & Economidis, P. S. (1991). Morphological Variability among Seven Greek Populations of Brown Trout (*Salmo Trutta*). *Journal of Fish Biology*, 38(6), 807-817.
- Lepiksaar, J. (1994). Introduction to Osteology of Fishes for Paleozoologists. *J. Lepiksaar.–Göteborg*, 71-79.
- Mafakheri, P., Eagderi, S., Farahmand, H. & Mousavii Sabet, S. (2015). The Descriptive Osteology of Persian Loach (*Oxyemacheilus Persa*). *Taxonomy and Biosystematics*, 7(24), 1-16.
- Miyazaki, J. I., Nakao, K., Mihara, M., Sakai, T., Gunji, Y., Tojo, K., Muraoka K. & Hosoya, K. (2007). Incongruence between mtDNA phylogeny and morphological and ecological characters in loaches of the genus *Leufu* (Balitoridae, Cypriniformes). *Zoological Science* 24(7), 666-675.
- Nasri, M., Keivany, Y. & Dorafshan, S. (2013). A Comparative Osteology of Lotaks, *Cyprinion kais* and *C. macrostomum* (Cypriniformes, Cyprinidae), from Godarkhosh River, Western Iran. *Journal of Ichthyology*, 53(6), 455-463.
- Nikmehr, N., Eagderi, S., Poorbagher, H., & Farahmand, H. (2016). The Complete Description of the Skeletal Structure of Hafez Loach, *Turcinoemacheilus Hafezi* (Cypriniformes, Nemacheilidae). *International Journal of Aquatic Biology*, 4(2), 117-124.
- Nikmehr, N., Eagderi, S., Poorbagher, H., & Farahmand, H. (2020). The Status of the *Turcinoemacheilus* populations (Nemacheilidae) of the Gaveh River using the COI gene. *Wetland Ecobiology*, 12(2) (in Press).
- 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.
- Prokofiev, A. M. (2010). Morphological Classification of Loaches (Nemacheilinae). *Journal of Ichthyology*, 50(10), 827–913.
- Rojo, A. L. (1991). *Dictionary of Evolutionary Fish Osteology*. CRC Press.

- Ruehl, C. B. & DeWitt, T. J. (2005). Trophic Plasticity and Fine-Grained Resource Variation in Populations of Western Mosquitofish, *Gambusia Affinis*. *Evolutionary Ecology Research*, 7(6), 801-819.
- Sawada, Y. (1982). Phylogeny and Zoogeography of the Superfamily Cobitoidea (Cyprinoidei, Cypriniformes). *Memoirs of the Faculty of Fisheries Hokkaido University*, 28(2), 65-223.
- Taylor W. R. & Van Dyke, G. C. (1985). Revised Procedures for Staining and Clearing Small Fishes and other Vertebrates for Bone and Cartilage Study. *Cybiurn*, 9(2), 107-119.