



<https://tbj.ui.ac.ir/?lang=en>

Taxonomy and Biosystematics

E-ISSN: 2322-2190

Document Type: Research Paper

Vol. 15, Issue 3, No.56, (2023), P: 29-40

Received: 26/11/2023

Accepted: 24/02/2024

Phylogeny of the members of the genus *Acanthobrama* Heckel, 1843 (Leuciscidae) in the inland waters of Iran using osteological characteristics

Soheil Eagderi * 

Associate Professor, Department of Fisheries, College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran
soheil.eagderi@ut.ac.ir

Fatemeh Nosrati

MS. Graduated of Fisheries, College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran
nosratif1992@yahoo.com

Paria Jalili

Ph. D. Graduated of Fisheries, College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran
pariya.jalili@yahoo.com

Abstract

This study was conducted to reconstruct the phylogenetic tree of the members of the genus *Acanthobrama* using osteological traits. For this purpose, four species, including *A. urmianus* (from the Urmia basin, ShahrChay River), *A. marmid* (from the Tigris basin), *A. persidis* (from the Kor River basin), and *A. microlepis* (from the Caspian Sea basin, Bijar River) were collected using electrofishing device and then fixed into 10% buffered formalin after anesthesia. For osteological examination, five specimens of each species were cleared and stained. Out-group taxa for phylogenetic analyses was selected *Abramis brama*. After extracting osteological data of the studied taxa, the data matrix was prepared and was inserted into the TNT and PAUP software to reconstruct phylogenetic tree. Based on the results, a total of 10 osteological characteristics were identified for members of *Acanthobrama* genus. The studied taxa were divided into two clads, including *A. microlepis* + *A. urmianus* and *A. marmid* + *A. persidis*. The most important of characteristics was related to the neurocranium, which accounted more than half of the diversity. The important characteristics of this part were related to the diversity in the ethmoid region, including the supra and lateral ethmoid and vomer, as well as basioccipital segment located in the occipital portion. The other features were related to the different parts of the jaw, opercular series and fins.

Keyword: Taxonomy, Systematic, Osteology, Cladogram, Outgroup

Introduction

The members the genus *Acanthobrama*, belongs to the family of Leuciscidae, have four species of *A. urmianus*, *A. marmid*, *A. persidis* and *A. microlepis* in the inland waters of Iran (Eagderi et al., 2022). This genus is characterised by having two rows of pharyngeal teeth, a large number of vertebrae and no barbels (Pourshaban et al., 2021). There are many disagreements in taxonomic status of the members of this genus in Iran due to their morphological similarities (Coad, 2016). Several features are used in the taxonomy of fish e.g. morphometric and meristic characters, color pattern and molecular traits. Considering the lack of reliable morphological features to distinguish the members of the genus *Acanthobrama*, this work aimed to investigate the phylogenetic relationship of this genus in the inland waters of Iran based on osteological characteristics. The results of this study can help to provide valuable taxonomic characteristics to identify the members of this taxa.

Materials and Methods

*Corresponding author

Eagderi, S., Nosrati, F., & Jalili, P. (2024). Phylogeny of the members of the genus *Acanthobrama* Heckel, 1843 (Leuciscidae) in the inland waters of Iran using osteological characteristics. *Taxonomy and Biosystematics*, 15(3), 29-40.



2322-2190 © The Author(s). Published by University of Isfahan

This is an open access article under the CC BY-NC 4.0 License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>).



<http://dx.doi.org/10.22108/TBJ.2024.139834.1246>

For this research, *Acanthobrama* species including *A. marmid* from Dinevar River, *A. persidis* from Kor River, *A. microlepis* from Bijar River and *A. urmianus* from Shahr Chai River as in-group, and *Abramis brama* as an out-group were collected. After sampling, the specimens were anesthetized using 1% clove solution and fixed into 10% buffered formalin. For osteological examination, five specimens of each species were cleared and stained using modified method of Taylor and Van Dyke (1985) using alizarin red and alcian blue for bone and cartilage staining, respectively. The skeletal segments were scanned with a Scanner (Epson v700) and examined under a stereomicroscope. The data matrix was prepared using ten extracted characters. Phylogenetic reconstruction was performed based on maximum parsimony criterion and Neighbor Joining respectively using PAUP (Swofford, 1998) and TNT (Goloboff Pablo et al., 2008) and cluster analysis using PAST (Hammer et al., 2001) softwares.

Research Findings

The data matrix for four in-groups and one out-groups is presented in Table 1. Character states: 1- the pre-ethmoid is (0) cartilaginous, (1) semi-ossified, and (2) ossified; 2 - the posterior part of vomer is (0) long and passes the middle part of the both lateral-ethmoid, and (1) short and extends to the middle part of the both lateral ethmoids; 3- masticatory plate of the basioccipital (0) has an oval shape with two laterally developed processes, and (1) is circular with two undeveloped processes; 4- the two anterior processes of basioccipital are (0) developed, and (1) undeveloped; 5- anterior margin of the lateral-ethmoid has (0) three depressions, and (1) one median depression; 6- operculum (0) has two developed projections, and (1) has two undeveloped projection or without projections; 7- palatine (0) with a pointed middle process, and (1) without process; 8- the number of branched rays of the anal fin are (0) 26, (1)14-15, and (2) 9-10; 9- the third unbranched ray is (0) thin, and (1) thick; 10- The pharyngeal teeth counts in the outer row is (0) 5, and (1) 4. The results of the parsimony analysis based on data matrix had most parsimony trees with a length of 12, consistency index (CI) of 1 and retention index (RI) of 1. The consensus majority tree was selected based on values obtained from 1000 replicates (Fig. 1).

Table 1: Data matrix for five studied taxa including four in-group and one out-group (0=Plesimorphic, 1,2=Apomorph)

کاراکتر / آرایه	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰
<i>A. brama</i>	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
<i>A. microlepis</i>	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
<i>A. urmianus</i>	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
<i>A. marmid</i>	۰	۲	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
<i>A. persidis</i>	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰

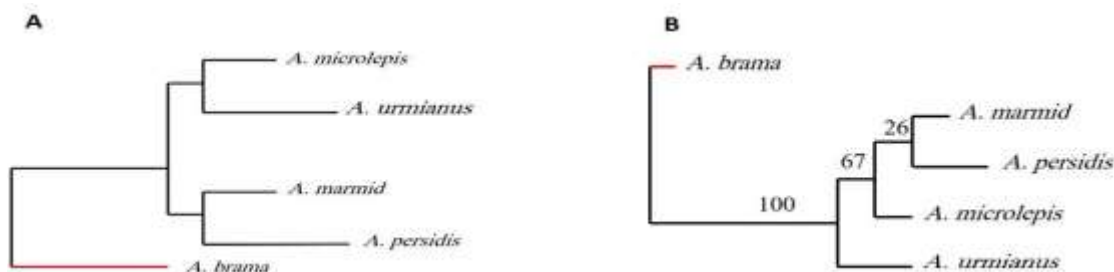


Figure 1: Phylogenetic tree resulting from NJ (A) and Parsimony (B) analysis for studied taxa of *Acanthobrama* using osteological characteristics.


Discussion of Results and Conclusions

The classification of *Acanthobrama* species based on skeletal characters confirms previous studies on the classification of these taxa based on molecular data (Teimori et al., 2015). The parsimony analysis divided the Iranian member of this genus into two main clades of *A. microlepis* + (*A. marmid* + *A. persidis*) and *A. urmianus*. *Acanthobrama persidis* and *A. marmid* were clustered in the same clade by having two synapomorphy traits, including semi-ossified pre-ethmoid and 4 pharyngeal teeth, which overlapped with the results of Neighbor Joining analysis. Timuri et al. (2015) based on the mitochondrial gene of *Cytb* reported *A. microlepis* as a group from the clade of *A. persidis* + *A. marmid*. Based on neighbor joining and cluster analysis, the members of this genus were categorized into two subclades, including *A. marmid* + *A. persidis* and *A. microlepis* + *A. urmianus*. The two species *A. urmianus* and *A. microlepis* were clustered in the same group by having five pharyngeal teeth in the outer row, the thickness of the third unbranched ray in the dorsal fin and the number of branched rays of the anal fin. Based on the results, the most differences between in-groups were related to the skeletal elements of the neurocranium.

Acknowledgement

This research is part of a MSc thesis and the authors would like to express their sincere gratitude to the University of Tehran for financial support of the project.

تبارزایی اعضای جنس مرواریدماهی (*Acanthobrama Heckel, 1843 (Leuciscidae)* در آب‌های داخلی ایران براساس ویژگی‌های استخوان‌شناسی

سهیل ایگدری* ، دانشیار گروه شیلات، دانشکده‌گان کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، البرز، ایران.

soheil.eagderi@ut.ac.ir

فاطمه نصرتی، فارغ‌التحصیل کارشناسی ارشد شیلات، دانشکده‌گان کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، البرز، ایران.

nosratif1992@yahoo.com

پریا جلیلی، فارغ‌التحصیل دکترای شیلات، دانشکده‌گان کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، البرز، ایران.

pariya.jalili@yahoo.com

چکیده

این مطالعه به منظور بازسازی درخت تبارزایی اعضای جنس مروارید ماهی *Acanthobrama* با استفاده از ویژگی‌های استخوانی انجام شد. برای این منظور ۴ گونه از این جنس از حوضه‌های آب‌های داخلی ایران شامل *A. marmid* از حوضه تیگریس، *A. persidis* از حوضه رودخانه کر، *A. microlepis* از حوضه دریای خزر، رودخانه بیجار و *A. urmianus* از رودخانه شهرچای حوضه ارومیه نمونه‌برداری شد. ماهیان پس از صید توسط دستگاه الکتروشوک با گل میخک یک درصد، بیهوش و سپس در فرمالین بافری ۱۰ درصد تثبیت شدند. به منظور مطالعه استخوانی تعداد ۵ نمونه از هر گونه شفاف‌سازی و رنگ آمیزی شدند. گونه *Abramis brama* نیز به عنوان برون‌گروه انتخاب شد. پس از استخراج تفاوت‌های استخوانی گونه‌های مطالعه‌شده، ماتریکس داده‌ها، تهیه و برای ترسیم درخت تبارزایی در نرم‌افزارهای تبارزایی TNT و PAUP قرار داده شدند. براساس نتایج در مجموع ۱۰ صفت استخوانی برای بررسی اعضای متعلق به جنس *Acanthobrama* شناسایی شدند. اعضای این جنس به دو زیر کلاد شامل *A. marmid* + *A. persidis* و *A. urmianus* + *A. microlepis* تقسیم شد. مهم‌ترین صفات جداکننده استخوانی مربوط به ساختار اسکلتی مجموعه عصبی بود که بیش از نیمی از تنوع را به خود اختصاص داد. کاراکترهای مهم این بخش مربوط به تنوع در ساختارهای بخش اتموئید شامل اتموئید فوقانی، جانبی و ومر و همچنین استخوان قاعده‌ای پس سری واقع در بخش پس سری بود. ویژگی‌های دیگر مربوط به بخش‌های مختلف فک، سرپوش آبششی و باله‌ها بود.

واژه‌های کلیدی: رده‌بندی، سیستماتیک، استخوان‌شناسی، کلادوگرام، برون‌گروه

* مسئول مکاتبات

ایگدری، سهیل، نصرتی، فاطمه، جلیلی، پریا. (۱۴۰۲). تبارزایی اعضای جنس مرواریدماهی (*Acanthobrama Heckel, 1843 (Leuciscidae)* در آب‌های داخلی ایران براساس ویژگی‌های استخوان‌شناسی. *تاکسونومی و بیوسستماتیک*، ۱۵ (۵۶)، ۲۹-۴۰.



2322-2190 © The Author(s). Published by University of Isfahan

This is an open access article under the CC BY-NC 4.0 License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>).



<http://dx.doi.org/10.22108/TBJ.2024.139834.1246>

مقدمه

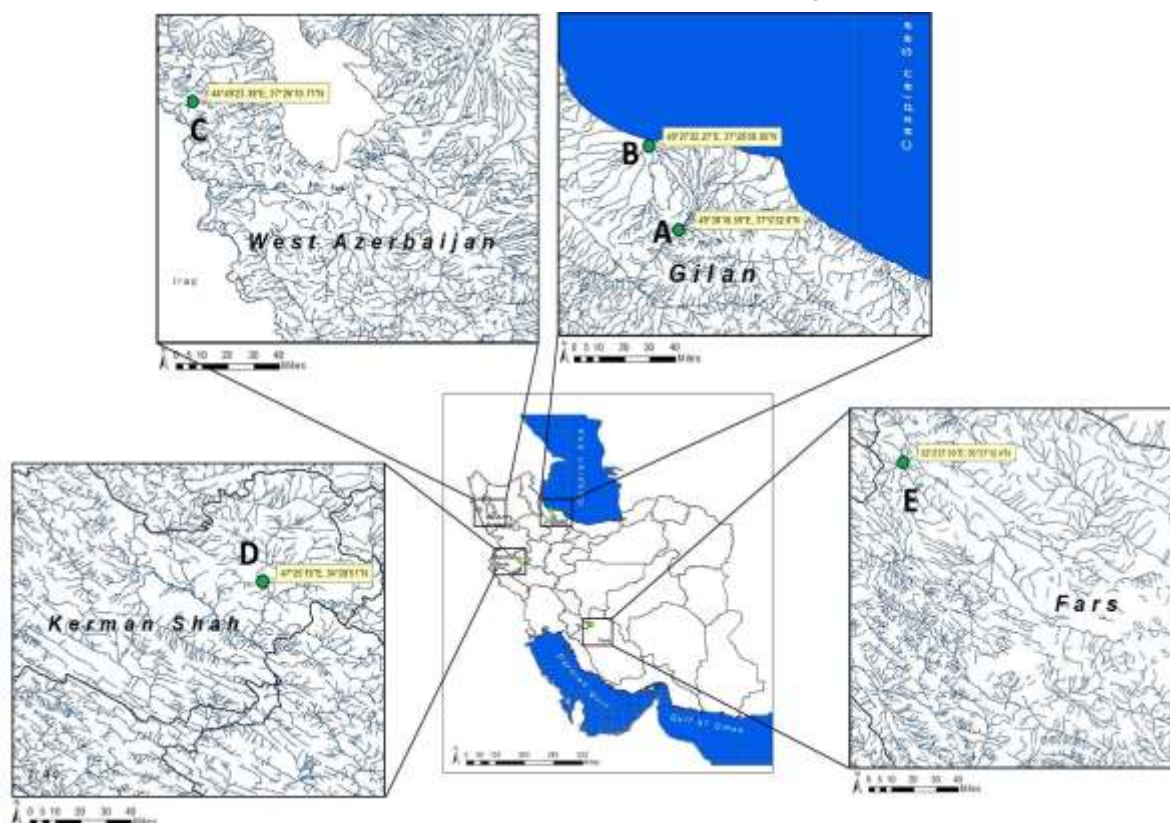
کشور ایران در منطقه تبادلات عمده جغرافیای جانوری قرار گرفته و دارای فون ماهیان متنوعی است (Coad, 1996) که از دیدگاه بوم‌شناختی و تنوع زیستی از اهمیت فراوانی برخوردار بوده و توجه بسیاری از محققان را به خود معطوف داشته است. در بین ماهیان آب شیرین ایران، راسته کپورماهی شکلان، به‌عنوان بزرگ‌ترین گروه هم‌تبار ماهیان آب شیرین، بیشترین تنوع را دارد. این راسته از جنبه‌های پرورشی، اقتصادی و علمی بسیار حائز اهمیت است (Nelson, 2006). آرایه‌شناسی این گروه از ماهیان همواره شایان بحث بوده و دارای ابهامات بسیاری است (Kucuk et al., 2014). در مطالعات اخیر روابط بین زیرخانواده‌های کپور ماهیان (Cyprinidae) به‌عنوان یک گروه هم‌تبار، دچار تغییرات متعددی شده است و شماری از زیرخانواده‌های آن از جمله زیرخانواده Leuciscinae به رتبه خانواده ارتقا داده شده‌اند (Stout et al., 2016; Çiçek et al., 2023; Saad et al., 2023). در بین مرواریدماهیان (قنات ماهیان) اعضای جنس مروارید ماهی *Acanthobrama* دارای چهار گونه مروارید ماهی ارومیه *A. urmianus*، مروارید ماهی مارمید *A. marmid*، مروارید ماهی پارسی *A. persidis* و مروارید ماهی لب نازک *A. microlepis* در آب‌های داخلی ایران است (Eagderi et al., 2022). این جنس متعلق به خانواده Leuciscidae بوده که از لحاظ ظاهری فاقد سیلک و دارای دو ردیف دندان حلقی و تعداد مهره‌های زیاد است (Pourshabanan et al., 2021) و شامل ۱۲ جنس است که ۴۲ گونه از آن در ایران گزارش شده‌اند (Eagderi et al., 2020). اختلاف نظرهای فراوانی درباره جایگاه آرایه‌شناختی اعضای این جنس در ایران به دلیل شباهت‌های ریختی وجود دارد (Coad, 2016)؛ برای مثال، در گونه مروارید ماهی ارومیه *A. urmianus* خارهای آبخشی کوتاه است و به‌واسطه نوک گرد و برآمده خود از ماهیان دیگر این جنس تشخیص داده می‌شود؛ ولی این ویژگی به گونه مروارید ماهی لب نازک *A. microlepis* بسیار نزدیک است که در حوضه دریای خزر یافت می‌شود.

ویژگی‌های متعددی نظیر صفات ریخت‌سنجی، شمارشی، الگوهای رنگی و مولکولی برای رده‌بندی ماهیان استفاده می‌شود که هر کدام از آنها به تنهایی یا به‌صورت ترکیبی در شناسایی و رده‌بندی ماهیان کارایی بالایی خود را نشان داده‌اند. با این حال، نتایج ریخت‌شناسی گاهی اوقات با مطالعات مولکولی در تضاد است (Zardoya and Doadrio, 1999)؛ زیرا برخی از خصوصیات ریختی مستعد هموپلازی (تشابه ساختاری) و انعطاف‌پذیری ریختی هستند (Perea et al., 2010). در این بین، مطالعه استخوان‌شناسی در مطالعات آرایه‌شناسی و شناخت ارتباط ماهیان اهمیت بالایی دارد و در اکثر موارد نتایج این نوع داده‌ها با نتایج مولکولی تطابق دارند (Dean et al., 2004). روش‌های مختلفی برای بازسازی تبارزایی وجود دارد که از جمله آنها می‌توان به روش‌های فنتیکی و کلادیستیکی اشاره کرد. پذیرفته‌ترین روش در مطالعات تبارزایی براساس صفات ریختی روش کلادیستیک است. رده‌بندی اعضای جنس *Acanthobrama* در ایران براساس مطالعات ریختی و مولکولی صورت گرفته است که از جمله آن می‌توان به مطالعه (Teimori et al., 2015) و (Abbasi-Ranjbar et al., 2019) اشاره کرد. تاکنون مطالعه تبارزایی اعضای این آرایه در ایران براساس ساختار استخوانی مطالعه نشده است. این پژوهش با هدف بازنگری وضعیت تبارزایی و آرایه‌شناسی اعضای این جنس در

آب‌های داخلی ایران براساس ویژگی‌های استخوان‌شناسی انجام شد. با توجه به شباهت‌های ریخت‌ظاهری اعضای این جنس و فقدان صفات تفکیکی ریختی معتبر، نتایج مطالعه آرایه‌شناسی اعضای این جنس براساس صفات استخوان‌شناسی می‌توانند به فراهم آوردن صفات ریختی آرایه‌شناختی آنها کمک کنند.

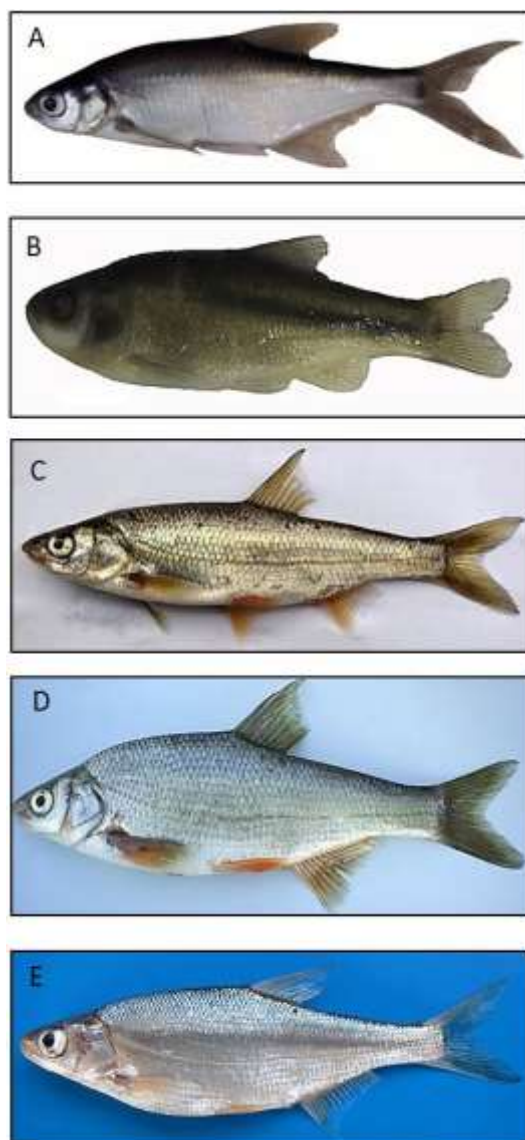
روش کار

گونه‌های جنس *Acanthobrama* شامل *A. marmid* (از رودخانه دینه‌ور - حوضه تیگریس)، *A. persidis* (از تنگه براق - رودخانه کر)، *A. microlepis* (از رودخانه بیجار - سرشاخه شهر بیجار) و *A. urmianus* (رودخانه شهرچای ارومیه) از منابع آبی حوضه‌های آب‌های داخلی ایران (شکل ۱) و در مجموع به تعدادی حدود ۱۰ عدد از هر گونه نمونه‌برداری شدند. همچنین، ویژگی‌های محل صید نمونه‌ها نیز ثبت شدند. گونه سیم معمولی *Abramis brama* نیز در این مطالعه به‌عنوان برون‌گروه برای مطالعه تبارزایی اعضای جنس *Acanthobrama* در ایران انتخاب شد. نمای جانبی گونه‌های مطالعه‌شده در شکل ۲ آمده است.



شکل ۱: موقعیت محل جمع‌آوری نمونه‌های مطالعه‌شده از رودخانه بیجار (A) و تالاب انزلی (B) در استان گیلان، رودخانه شهرچای (C) در استان آذربایجان غربی، رودخانه دینه‌ور (D) در استان کرمانشاه و رودخانه کر (E) در استان فارس.

Figure 1: The location of collection of the studied species from Bijar River (A) and Anzali lagoon (B) in Gilan province, Shahr chai River (C) in west Azerbaijan province, Dinevar River (D) in Kermanshah province and Kor River (E) in Fars province.



شکل ۲: نمای جانبی گونه (A) *Abramis brama* به عنوان برون گروه و (B) *A. persidis*، (C) *A. urmianus*، (D) *A. marmid* و (E) *A. microlepis* به عنوان درون گروه

Figure 2: The lateral view of *Abramis brama* (A) as out-group and *A. persidis* (B), *A. urmianus* (C), *A. marmid* (D) and *A. microlepis* (E) as in-group.

ماهیان پس از صید در محلول گل میخک ۱ درصد، بیهوش و در فرمالین بافری ۱۰ درصد تثبیت شدند. فرمالین با توجه به اینکه خاصیت اسیدی دارد و در مدت طولانی باعث از بین رفتن فلس و استخوانها می شود، برای جلوگیری از این مشکل با افزودن ۱۰ گرم سدیم مونوفسفات به یک لیتر فرمالین ۱۰ درصد، محلول فرمالین بافری تهیه شد. نمونه‌ها سپس به آزمایشگاه تکوین و بیوسستماتیک دانشکده منابع طبیعی تهران منتقل شدند. محلول تثبیت کننده نمونه‌ها بعد از ۴۸ ساعت تعویض شدند و پس از گذشت یک هفته نمونه‌ها به الکل ۷۲ درصد انتقال یافتند. به منظور مطالعات استخوان‌شناسی از هر گونه پنج نمونه براساس روش اصلاح شده (Taylor and Van Dyke (1985 شفاف‌سازی و رنگ‌آمیزی شدند. پس از شفاف‌سازی، ساختارهای اسکلتی نمونه‌های مدنظر توسط یک اسکنر Epson v700 مجهز به

حمام گلیسیرین اسکن شدند (شکل ۳). سپس ساختارهای اسکلتی جدا شده توسط یک دستگاه استریو میکروسکوپ Leica (MS5) بررسی و توصیف شدند.



شکل ۳: نمونه شفاف‌سازی و رنگ‌آمیزی شده مروارید ماهی پارسی *Acanthobrama persidis*

Figure 3: cleared and stained Persian pearl fish *Acanthobrama persidis*.

با بررسی و مقایسه نمونه‌ها، ویژگی‌های استخوانی دارای اطلاعات^۱ یا صفات استخوانی پس‌ریخت آرایه‌های بررسی شده، انتخاب و به صورت وضعیت صفات توصیف شدند. قطبیت صفات نیز براساس روش **Watrous and Wheeler (1981)** تعیین شد. تعداد ۱۰ صفت استخوانی در آنالیز تبارزایی برای بررسی مدل تکاملی نمونه‌ها استفاده شدند. ماتریکس داده‌ها براساس صفات استخوانی مستخرج از مقایسه ۴ آرایه به‌عنوان درون‌گروه و یک آرایه *A. brama* به‌عنوان برون‌گروه تهیه شد و داده‌های نامشخص ماتریکس با علامت سؤال (؟) مشخص شدند. آنالیزهای تبارزایی براساس معیارهای بیشینه پارسیمونی (Maximum parsimony criterion) و Neighbour joining به ترتیب با استفاده از نرم‌افزارهای فیلوژنی **PAUP (Swofford, 1998)** و **TNT (Goloboff Pablo et al., 2008)** و **Cluster analysis** با استفاده از نرم‌افزار **PAST (Hammer et al., 2001)** انجام شدند و درخت شجره‌شناسی براساس هر کدام از روش‌ها براساس Permutation با هزار بار تکرار تهیه شد. آمارهای توصیفی به دست آمده برای این مطالعه برای نشان دادن مقدار هموپلاسی کلادوگرام شامل طول درخت، شاخص تغییرپذیری (CI) و شاخص بازدارنگی (RI) بود که براساس روابط ۱ و ۲ محاسبه شدند (**Lipscomb, 1998**).

CI = (کل تغییرات حالت صفت مورد انتظار مجموعه داده‌های ارائه شده / تعداد واقعی مراحل روی درخت) × ۱۰۰
(رابطه ۱)

CI = ((تعداد تغییرات حالت صفت روی درخت - حداکثر تعداد مراحل روی درخت) / (تعداد تغییرات حالت در داده - حداکثر تعداد مراحل روی درخت)) × ۱۰۰ (رابطه ۲)

¹ Informative

² Apomorph

نتایج

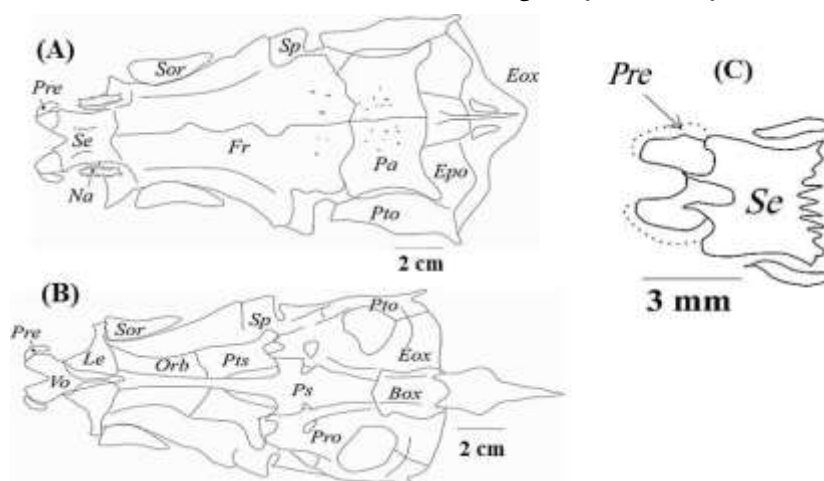
پس از استخراج حالات صفات استخوانی در گونه‌های مطالعه شده جنس *Acanthobrama* ماتریکس داده‌ها برای ۴ درون گروه و ۱ برون گروه (*Abramis brama*) مطابق جدول ۱ تهیه شد. صفات استخراج شده به شرح زیر بودند: جدول ۱: ماتریکس داده‌ها برای پنج آرایه مطالعه شده شامل ۴ درون گروه و ۱ برون گروه (=۰ حالت کهن ریخت یا Plesimorphic، ۱، ۲= حالت مشتق شده یا پس ریخت).

Table 1: Data matrix for five studied taxa including four in-group and one out-group (0=Plesimorphic, 1,2=Apomorph)

کاراکتر / آرایه	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰
<i>A. brama</i>	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
<i>A. microlepis</i>	۱	۱	۰	۱	۱	۱	۱	۱	۰	۰
<i>A. urmianus</i>	۲	۰	۰	۱	۱	۱	۱	۱	۰	۰
<i>A. marmid</i>	۰	?	۰	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱
<i>A. persidis</i>	۰	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۲	۰	۱

صفت ۱: پیش اتموئید (۰) غضروفی است، (۱) نیمه استخوانی است، (۲) کاملاً استخوانی است. در گونه *A. microlepis* و *A. urmianus* (شکل ۴ A و B) این صفت به ترتیب دارای حالت‌های ۱ و ۲ است. سایر گونه‌های متعلق به این جنس و گونه برون گروه دارای حالت اجدادی هستند (شکل ۴ C).

صفت ۲: بخش خلفی استخوان و مر (۰) بلند بوده و از بخش میانی دو استخوان اتموئید جانبی عبور کرده است، (۱) کوتاه بوده است و تا انتهای بخش میانی دو استخوان اتموئید جانبی امتداد دارد و از آن عبور نمی‌کند. علاوه بر برون گروه، گونه *A. urmianus* (شکل ۴ B) نیز دارای حالت اجدادی این صفت است. در سایر گونه‌های مطالعه شده بخش خلفی استخوان و مر کوتاه بوده است و تا انتهای خط فاصل دو استخوان اتموئید جانبی امتداد دارد و از آن عبور نمی‌کند. در گونه *A. marmid* هر دو حالت برای این صفت مشاهده شد.



شکل ۴: نمای پشتی (A) و شکمی (B) جمجمه عصبی گونه *A. urmianus* و نمای پشتی استخوان‌های اتموئید فوقانی و پیش اتموئید (C) گونه *A. brama*.

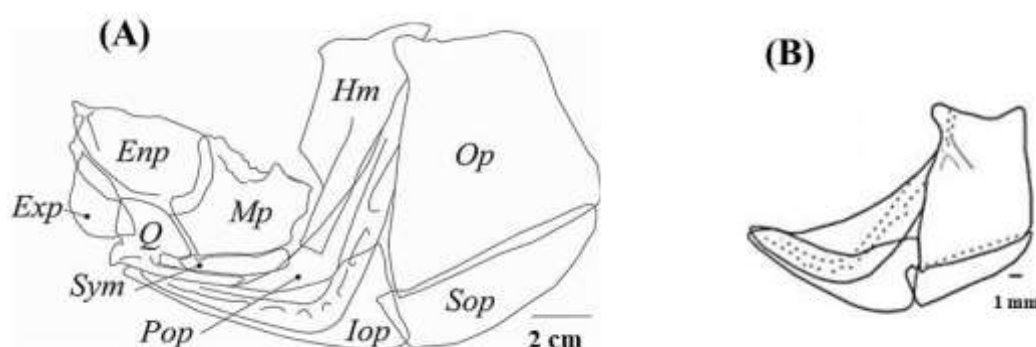
Figure 4: Dorsal (A) and ventral (B) view of neurocranium in *A. urmianus* and dorsal view of supra-ethmoid and pre-ethmoid of *A. brama*

صفت ۳: صفحه خردکننده شکمی در استخوان قاعده‌ای پس سری (۰) بیضی شکل و دارای دو زائده جانبی تکامل یافته است، (۱) دایره‌ای شکل و دارای دو زائده تکامل نیافته است. همه گونه‌ها به جز گونه *A. persidis* دارای حالت اجدادی هستند (شکل ۴ B).

صفت ۴: استخوان قاعده‌ای پس سری (۰) دارای دو برآمدگی توسعه یافته در بخش قدامی است، (۱) دارای دو برآمدگی توسعه نیافته یا فاقد آن است. در گونه‌های متعلق به جنس *Acanthobrama* حالت انشقاق یافته (شکل ۴ B) و در برون گروه حالت اجدادی مشاهده شد.

صفت ۵: حاشیه قدامی استخوان اتموئید فوقانی (۰) دارای سه فرورفتگی بوده است، (۱) دارای یک فرورفتگی میانی است (شکل ۴ A). حالت اجدادی این صفت تنها در برون گروه مشاهده شد (شکل ۴ C).

صفت ۶: استخوان سرپوس آبششی (۰) تقریباً مستطیل شکل بوده و بخش پشتی و شکمی دارای طول برابر است، (۱) حاشیه شکمی پهن تر از حاشیه پشتی است. همه گونه‌های مطالعه شده جنس *Acanthobrama* دارای حالت انشقاق یافته هستند (شکل ۵ A). حالت اجدادی تنها در برون گروه مشاهده شد (شکل ۵ B).



شکل ۵: مجموعه استخوان‌های سرپوش آبششی گونه (A) *A. urmianus* و (B) *A. brama*.

Figure 5: Opercular series of *A. urmianus* (A) and *A. brama* (B).

صفت ۷: استخوان کامی (۰) دارای یک زائده میانی نوک تیز است، (۱) فاقد زائده است. حالت اجدادی این صفت فقط در برون گروه مشاهده می‌شود (شکل ۶ A). در سایر گونه‌ها حالت انشقاق یافته مشاهده شد (شکل ۶ A).



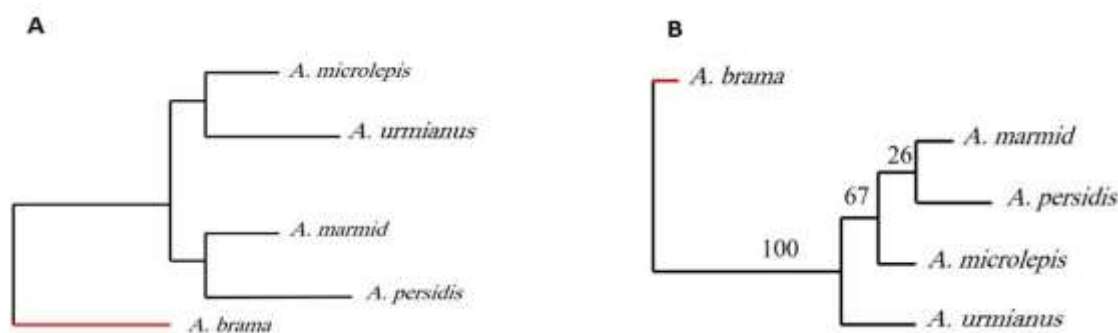
شکل ۶: موقعیت استخوان کامی در بین مجموعه استخوان‌های فک آویز گونه (A) *A. brama* و استخوان کامی گونه (B) *A. urmianus*.

Figure 6: the situation of palatine between suspensorium in *A. brama* (A) and palatine segment in *A. urmianus* (B).

صفت ۸: تعداد شعاع‌های منشعب باله مخرجی (۰) ۲۶، (۱) ۱۴-۱۵، (۲) ۱۰-۹ است. تنها در گونه *A. persidis* تعداد شعاع منشعب در باله مخرجی وجود دارد.

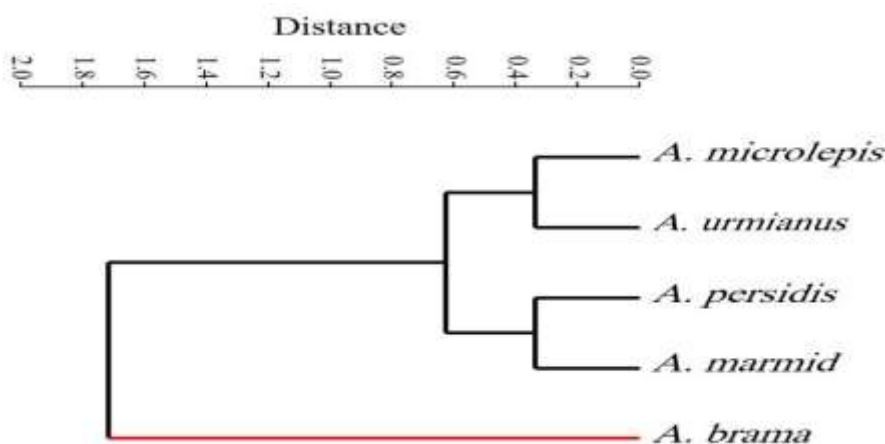
صفت ۹: سومین شعاع غیر منشعب باله پشتی (۰) نازک بوده است، (۱) ضخیم است. تنها در گونه *A. marmid* این شعاع ضخیم بود.

صفت ۱۰: تعداد دندان‌های حلقی در ردیف خارجی (۰) ۵، (۱) ۴ عدد است. در دو گونه *A. marmid* و *A. persidis* تعداد دندان‌های حلقی ۴ عدد بوده و در سایر گونه‌های مطالعه شده مانند برون گروه تعداد آنها ۵ عدد بوده است. آنالیز پارسیمونی (parsimony) بر اساس ماتریکس داده‌ها، درخت پارسیمونی با یک طول درخت ۱۲، شاخص ثبات (CI) ۱ و یک شاخص بقا (RI) ۱ بود. درخت Majority consensus بر اساس مقادیر به دست آمده از ۱۰۰۰ تکرار، انتخاب و در شکل ۷ الف نشان داده شده است. نتایج آنالیز الحاق همسایگان (Neighbor joining) نیز برای بررسی آرایه‌های مطالعه شده با ۱۰۰۰ تکرار BootN بر اساس ۱۰ صفت استخوانی تعریف شده در شکل ۷ ب آورده شده‌اند. نتایج آنالیز خوشه‌ای (Cluster Analysis) در شکل ۸ آمده‌اند. نتایج آنالیز خوشه‌ای با نتایج آنالیزهای پارسیمونی و الحاق همسایگان تا حدی منطبق بوده و تفاوت‌هایی نیز داشته‌اند که در ادامه به طور مفصل بررسی شده‌اند.



شکل ۷: درخت تبارزایی حاصل از آنالیزهای الحاق همسایگان (A) و پارسیمونی (B) برای آرایه‌های مطالعه شده جنس مروارید ماهی *Acanthobrama* با استفاده از صفات استخوانی.

Figure 7: Phylogenetic tree resulting from NJ (A) and Parsimony (B) analysis for studied taxa of *Acanthobrama* using osteological characteristics.



شکل ۸: آنالیز خوشه‌ای صفات استخوانی برای آرایه‌های مطالعه شده جنس مروارید ماهی *Acanthobrama*

Figure 8: Cluster analysis of osteological characteristics for studied taxa of *Acanthobrama*

بحث

طبقه‌بندی گونه‌های جنس *Acanthobrama* بر اساس صفات استخوانی، تأییدکننده مطالعات قبلی در زمینه طبقه‌بندی اعضای این خانواده بر اساس صفات مولکولی است (Teimori et al., 2015). نتایج آنالیز پارسیمونی (شکل ۶ B)، این جنس را به دو کلاد اصلی تقسیم کرد: کلاد اول شامل (*A. marmid* + *A. persidis*) + *A. microlepis* بود که آنها را از گونه *A. urmianus* جدا کرد. تفاوت بارز گونه *A. urmianus* مربوط به صفت فرم استخوان و مر است که در گونه مطالعه شده نسبت به گونه‌های *A. marmid*، *A. persidis* و *A. microlepis* طولی تر است. همچنین، پیش اتموئید در *A. urmianus* برخلاف سایر آرایه‌های مطالعه شده کاملاً استخوانی است.

بر اساس نتایج این مطالعه، دو گونه *A. marmid* و *A. persidis* نیز به دلیل داشتن دو صفت پس‌ریخت استخوانی شامل (۱:۰) نیمه‌استخوانی بودن پیش اتموئید و (۱۰:۱) تعداد ۴ عدد دندان حلقی در یک گروه قرار گرفتند که با نتایج آنالیز الحاق همسایگان همپوشانی داشت. در مطالعه تیموری و همکاران (۲۰۱۵) نیز بر اساس ژن میتوکندریایی *Cyt b* آرایه *A. microlepis* به عنوان یک گروه مجزا در کنار کلاد *A. marmid*+*A. persidis* قرار گرفت.

بر اساس آنالیز الحاق همسایگان (شکل ۶ A) و خوشه‌ای (شکل ۷) اعضای این جنس به دو زیر کلاد شامل *A. marmid* + *A. persidis* و *A. microlepis* + *A. urmianus* طبقه‌بندی شد. بدین صورت که دو گونه *A. urmianus* و *A. microlepis* به واسطه صفت (۱۰:۰) داشتن تعداد ۵ عدد دندان در ردیف خارجی ساختار دندان حلقی در یک گروه قرار داده شدند. از جمله شباهت‌های استخوانی دیگر، به سومین شعاع غیر منشعب باله پشتی می‌توان اشاره کرد که از لحاظ ضخامت در دو گونه *A. urmianus* و *A. microlepis* مشابه است و با دو گونه دیگر تفاوت دارد؛ تعداد شعاع‌های منشعب باله مخرجی آنها نیز برابر ۲۶ عدد است. بر اساس طبقه‌بندی صورت گرفته توسط (Abbasi-Ranjbar et al., 2019) این دو گونه بر اساس صفات اندازشی نیز در یک گروه قرار گرفتند و در گذشته به اشتباه به جای هم شناسایی می‌شدند (Coad, 2016).

نتایج مطالعه ساختار استخوانی گونه‌های مطالعه شده، تفاوت‌هایی را در بخش‌های مختلف ساختار اسکلت نشان دادند که در این میان بیشتر تفاوت‌ها مربوط به مجموعه عصبی بود. از جمله صفاتی که اعضای جنس *Acanthobrama* را از برون‌گروه در این مطالعه جدا کرد، شامل (۴:۱)، (۵:۱)، (۶:۱) و (۷:۱) است که به ترتیب مربوط به فرم استخوان‌های قاعده‌ای پس‌سری، اتموئید فوقانی، سرپوس آبششی و کامی بود. علاوه بر این صفات، ویژگی‌های دیگری از جمله شکل استخوان‌های فک آویز تو سط (Jalili (2015) گزارش شده‌اند. حاشیه قدامی استخوان فکی لامی در جنس مطالعه شده همچون جنس‌های *Barbus* و *Capoeta* گرد بوده است؛ در حالی که در جنس *Abramis* دارای حاشیه قدامی مثلثی شکل است. همچنین، لبه پشتی خلفی این استخوان در گونه‌های مطالعه شده مانند گونه‌های *Squalius*، *Cabdio morar*، *Alburnoides qanati*، *orientalis* و *Barilius mesopotamicus* دارای یک فرورفتگی عمیق است؛ اما در برون‌گروه کوچک و کم‌عمق است. شکل استخوان رجلی خارجی در اعضای متعلق به جنس *Acanthobrama* همچون گونه‌های

¹ Suspensorium

² Hyomandibular

³ Ectopterygoid

Chondrostoma و *Barilius mesopotamicus* *Alburnoides qanati* *Alburnus mossulensis*، *Cobitis faridpaki* *regium* کشیده است؛ در حالی که در گونه *Abramis* پهن است. همچنین، حاشیه قدامی بخش افقی این استخوان دارای اشکال متفاوتی است، در آرایه برون گروه همچون *Gobio lepidolaemus* *Alburnoides qanati* و *Cyprinion watsoni* (Jalili, 2015) دارای یک فرورفتگی کوچک است؛ اما در اعضای جنس *Acanthobrama* مطالعه شده صاف است.

بر اساس مطالعات پیشین صفات مربوط به فرم استخوان قاعده‌ای پس سری و فرم صفحه خردکننده شکمی، فرم استخوان فکی لامی، پیش سرپوش آبششی و استخوان دملامی و همچنین ویژگی‌های مربوط به شکل و ساختار استخوان پیش و مر، فوق پس سری، فک پایین، پیش فکی، فرم استخوان رجلی خارجی، استخوان‌های قاعده‌ای آبششی، دملامی، کمر بند سینه‌ای و استخوان لگنی نیز به عنوان کاراکترهای استخوانی مناسب معرفی شدند (Chen et al., 2001; Zhang, 2005; Jalili, 2015) که در بین آرایه‌های مطالعه شده ما نیز این ساختارها دارای تنوع بوده‌اند و به عنوان صفات مناسب برای تفکیک استفاده شدند. به طور کلی درباره گونه‌های مطالعه شده، مهم ترین صفات جداکننده استخوانی مربوط به مجموعه عصبی بود که بیش از نیمی از تنوع را به خود اختصاص داد. کاراکترهای مهم این بخش مربوط به تنوع در ساختارهای بخش اتموئید شامل اتموئید فوقانی، جانبی و مر و همچنین استخوان قاعده‌ای پس سری واقع در بخش پس سری بود. ویژگی‌های مهم بعدی مربوط به بخش‌های مختلف فک، سرپوش آبششی و باله‌ها بود.

سپاسگزاری

این مقاله بخشی از پایان نامه ارشد بوده است و نویسندگان بر خود لازم می‌دانند مراتب تشکر خود را از دانشگاه تهران برای حمایت‌های مالی اعلام کنند.

References

- Abbasi-Ranjbar, K., Mouludi-Saleh, A., Eagderi, S. & Sarpanah, A. (2019). Distinguishing Meristic and Morphometric Traits in Three Species of the Genus *Acanthobrama* from Iranian Inland Waters. *Taxonomy and biosystematics*. 10(36): 49-58. [10.22108/TBJ.2019.117054.1087](https://doi.org/10.22108/TBJ.2019.117054.1087) [In Persian]
- Çiçek, E., Jawad, L., Eagderi, S., Esmaeili, H. R., Mouludi-Saleh, A. T. T. A., Sungur, S. & Fricke, R. (2023). Freshwater fishes of Iraq: a revised and updated annotated checklist. *Zootaxa*, 5357(1): 1-49. [10.11646/zootaxa.5357.1.1](https://doi.org/10.11646/zootaxa.5357.1.1)
- Coad, B.W. (1996 a). Zoogeography of the fishes of the Tigris-Euphrates Basin. *Zoology in the Middle East*, 13:51-70. <https://doi.org/10.1080/09397140.1996.10637706>
- Coad, B.W. (2016 b). <http://www.briancoad.com>
- Chen, Z. & Chen, Y. (2001). Phylogeny of the specialized schizothoracine fishes (Teleostei: Cypriniformes: Cyprinidae). *Zoological Studies*, 40: 147-157. <https://zoolstud.sinica.edu.tw/Journals/40.2/147.pdf>
- Dean, C.A., Rholf F.J. & Dennis, E.S. (2004). Geometric morphometrics: Ten years of progress following the revolution. *Italian Journal of Zoology*, 71: 5-16. <https://doi.org/10.1080/11250000409356545>
- Eagderi, S., Mouludi-Saleh, A., Esmaeli, H.R., Sayyadzadeh, G. & Nasri, M. (2022). Freshwater lamprey and fishes of Iran; a revised and updated annotated checklist-2022. *Turkish Journal of Zoology*, 46(6), Article 6. <https://doi.org/10.55730/1300-0179.3104>
- Eagderi, S., Mouludi-Saleh, A. & Çiçek, E. (2020). Length-weight relationship of ten species of Leuciscinae sub-family (Cyprinidae) from Iranian inland waters. *Int Aquat Res*, 12: 133-136. [https://doi.org/10.22034/IAR\(20\).2020.1891648.1004](https://doi.org/10.22034/IAR(20).2020.1891648.1004)
- Goloboff Pablo, A., Farris, J. S. & Nixon Kevin, C. (2008). TNT, a free program for phylogenetic

- analysis. *Cladistics*, 24(5): 774-786. <https://doi.org/10.1111/j.1096-0031.2008.00217.x>
- Hammer, Ø., Harper, D.A.T. & Ryan, P.D. (2001). PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontologia Electronica*. 4 (1): 1-9. https://palaeo-electronica.org/2001_1/past/past.pdf
- Jalili, P. (2015). Phylogeny of the cyprinid family using osteological characters. Master thesis. Collage of agriculture and natural resources of Karaj, university of Tehran. [In Persian]
- Kucuk, F., Bektas, Y., Guclu, S.S. & Kaya, C. (2014). The systematic position of *Acanthalburnus microlepis* (De Filippi, 1863) and contributions to the genus *Acanthobrama* (Cyprinidae: Leuciscinae) in Turkey. *Iranian Society of Ichthyology*, 1(2): 96-105. <https://doi.org/10.22034/iji.v1i2.44>
- Lipscomb, D. (1998). Basics of Cladistic Analysis. George Washington University. <https://www2.gwu.edu/~clade/faculty/lipscomb/Cladistics.pdf>
- Nelson, J. S. (2006). Fishes of the world. Fourth Edition. John Wiley and Sons, New York. [10.31610/zsr/2006.15.2.342](https://doi.org/10.31610/zsr/2006.15.2.342)
- Pourshabanan, A., Yazdani-Moghaddam, F., Aliabadian, M., Ghasemzadeh, F. & Mousavi-Sabet, H. (2021). 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*, 8(5): 120-125. <http://dx.doi.org/10.22034/jair.8.5.1> [In Persian]
- Perea, S., Böhme, M., Zupančič, P., Freyhof, J., Šanda, R., Özuluğ, 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: 265. <http://www.biomedcentral.com/1471-2148/10/265>
- Saad, A., Çiçek, E., Esmaili, H. R., Fricke, R., Sungur, S., & Eagderi, S. (2023). Freshwater fishes of Syria: a revised and updated annotated checklist-2023. *Zootaxa*, 5350(1): 1-62. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.5350.1.1>
- Stout, C. C., Tan, M., Lemmon, A. R., Lemmon, E. M., & Armbruster, J. W. (2016). Resolving Cypriniformes relationships using an anchored enrichment approach. *BMC Evolutionary Biology*, 16: 1-13. [10.1186/s12862-016-0819-5](https://doi.org/10.1186/s12862-016-0819-5)
- Swofford, D. L. (1998). PAUP*. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and Other Methods). Version 4. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts. <https://www.ucl.ac.uk/cecd/downloads/PAUP%20command%20reference%20manual.pdf>
- Taylor, W.R. & Van Dyke, G. C. (1985). Revised procedures for staining and clearing small fishes and other vertebrates for bone and cartilage study. *Cybium*, 9: 107-119. <https://doi.org/10.26028/cybium/1985-92-001>
- Teimori, A., Esmaili, H.R., Sayyadzadeh, G., Zarei, N. & Gholamhosseini, A. (2015). Molecular systematics and distribution review of the endemic cypriid species Persian chub *Acanthobrama persidis* (Coad, 1981) in Southern Iran (Teleostei: Cprinidae). *Molecular Biology Research Communications*, 4(4): 189-206. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5019211/pdf/mbrc-4-189.pdf>
- Watrous, L.E. & Wheeler, Q.D. (1981). The Out-Group Comparison Method of Character Analysis. *Systematic Zoology*, 30(1): 1-11. <http://links.jstor.org/sici?sici=00397989%28198103%3A1%3C1%3A%20OCMOC%3E2.0.CO%3B2-8>
- Zardoya R, Doadrio I. 1999. Phylogenetic relationships of Iberian cyprinids: systematic and biogeographical implications. *Proc Biol Sci*, 22; 265(1403): 1365-72. doi: 10.1098/rspb.1998.0443. [10.1098/rspb.1998.0443](https://doi.org/10.1098/rspb.1998.0443)
- Zhang, E. (2005). Phylogenetic relationships of labeonine cyprinids of the disc-bearing group (Pisces: Teleostei). *Zoological Studies*, 44(1): 130-143. <https://citeseerx.ist.psu.edu/document?repid=rep1&type=pdf&doi=cc606d4e8adfdf32c0dbe58ddd557fe42813b451>