

خط‌شناسه گذاری DNA و بررسی تنوع‌گونه‌ای کرم‌های کم‌تار رودخانه جاجرود

زرانگیس نهاوندی، اصغر عبدلی*، فراهم احمدزاده و محمد جاویدکار

ایران، تهران، دانشگاه شهید بهشتی، پژوهشکده علوم محیطی، گروه تنوع زیستی و مدیریت اکوسیستم‌ها

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۵/۱۴ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۶/۱۰

چکیده

کم‌تاران به طور کلی به عنوان یک گروه شناخته‌شده از بی‌مهرگان خاک با پراکنش جهانی، از دو نقطه نظر زیست‌محیطی و تاکسونومیک مورد توجه قرار گرفته‌اند. در این پژوهش تنوع‌گونه‌ای کرم‌های کم‌تار از هفت ایستگاه رودخانه‌ی جاجرود در فصول پاییز و زمستان مورد بررسی قرار گرفت. نمونه‌ها با استفاده از روش ضربه و با کمک الک با چشمی ریزسید (۵۰۰ میکرون) جمع‌آوری شدند. امروزه استفاده از روش‌های نوین از جمله نشانگرهای ژنتیکی، شناخت دقیق‌تری از گونه‌ها ارائه می‌دهند. به منظور ارزیابی تنوع و شناسایی گونه‌ها، از روش مولکولی خط‌شناسه گذاری DNA توسط ناحیه ژن میتوکندریایی سیتوکروم c اکسیداز زیر واحد یک (COI) و کلیدهای شناسایی مرفولوژیک استفاده شد. در طی مطالعه، پنج گونه از خانواده‌ی Lumbricidae و Naididae مربوط به سه جنس *Eiseniella*، *Eisenia* و *Tubifex* شناسایی شد. نمونه‌های شناسایی‌شده عبارتند از *Tubifex tubifex*، *Tubifex sp.*، *Eiseniella tetraedra*، *Eisenia fetida* و *Eisenia sp.* نتایج نشان داد گونه *E. tetraedra* فراوان‌ترین گونه است که چهار دودمان مجزا را شامل می‌شود.

واژه‌های کلیدی: خط‌شناسه گذاری DNA، تنوع‌گونه‌ای، کم‌تاران، رودخانه جاجرود

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۲۳۹۷۷۲۵۸، پست الکترونیکی: A_Abdoli@sbu.ac.ir

مقدمه

هستند (۱۴). چندین خانواده از کرم‌های کم‌تار موجود است که ساکن محیط‌های دریایی و یا آب شیرین هستند. کرم‌های آب شیرین در طیف وسیعی از زیستگاه‌ها مانند چشمه‌ها، آب‌های زیرزمینی، رودخانه‌ها، خورها، استخرهای کوچک موقتی تا اعماق زیاد دریاچه‌های بزرگ زندگی می‌کنند (۳۸). آن‌ها در ساختار رسوبات اکوسیستم آب شیرین و در چرخه‌ی غذایی نقش مهمی ایفا می‌کنند و انواع مختلف موجودات مانند باکتری‌ها، قارچ‌ها، گیاهان و حیوانات دیگر را در این چرخه به هم متصل می‌کنند (۳۶). فعالیت آن‌ها، افزایش معدنی کردن مواد آلی، فعالیت میکروبی و هوادهی رسوبات را به دنبال دارد (۳۲). همچنین جذب اکسیژن و نترات‌زدایی به هنگام فراوانی بالای این موجودات، افزایش می‌یابد (۴۲) و در نهایت نقش مهمی در حفظ کیفیت و حاصلخیزی خاک ایفا می‌کنند

در مناطق خشک و نیمه‌خشک ایران، رودخانه‌های آب شیرین از مهم‌ترین اکوسیستم‌های آبی هستند که از نظر تنوع زیستی و تأمین آب آشامیدنی مورد توجه قرار گرفته‌اند (۲ و ۲۱). رودخانه‌ی جاجرود یکی از رودخانه‌های مهم حوضه‌های آب شیرین کشور است که به علت وجود پارک‌های ملی سرخه‌حصار و خجیر در داخل منطقه حفاظت‌شده‌ی جاجرود از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (۳). این رودخانه با دارا بودن شیب زیاد، بستر سنگلاخی و انجام عمل خودپالایی کامل، اکوسیستمی مناسب برای موجودات آبی (۴) و یکی از منابع تأمین‌کننده‌ی بخش عمده‌ی آب شرب شهر تهران محسوب می‌شود که انواع متنوعی از آبزیان با ارزش را در خود جای داده است (۱). اغلب فراوان‌ترین کفزیان با توزیع جهانی در اکوسیستم‌های آب شیرین، کم‌تاران (*Oligochaeta*)

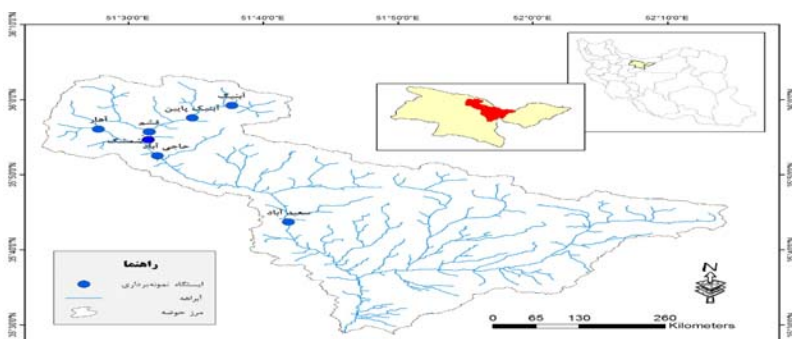
کار برده می‌شود و توانسته تا حدودی مشکلات تاکسونومی کلاسیک را برطرف کند (۱۶ و ۲۴). هدف از این مطالعه بررسی تنوع گونه‌ای و ژنتیکی کم‌تاران رودخانه‌ی جاجرود با استفاده از روش خط‌شناسه‌گذاری DNA است.

مواد و روشها

نمونه‌برداری در فصل‌های پاییز (آبان ماه) و زمستان (اسفند ماه) در هفت ایستگاه از حاشیه تا وسط بستر رودخانه‌ی جاجرود انجام شد (شکل ۱). نوع بستر در ایستگاه‌ها به طور غالب قلوه‌سنگی و عمق نمونه‌برداری بسته به رودخانه و ایستگاه از حدود ۳۰ تا ۱۰۰ سانتیمتر متفاوت بود. مختصات جغرافیایی ایستگاه‌های نمونه‌برداری به وسیله‌ی GPS (Garmin eTrex Legend) ثبت شد (جدول ۱).

(۵۰). بعضی از کفزیان برای ارزیابی کیفیت اکوسیستم‌های آبی کاربرد دارند که کم‌تاران آبی به‌عنوان شاخص‌های زیستی بسیار عالی از تغییرات محیطی محسوب می‌شوند (۱۰).

تقریباً ۱۱۰۰ گونه از گونه‌های شناخته‌شده زیررده‌ی کم-تاران (بیش از ۵۰۰۰ گونه)، در آب‌های شیرین زندگی می‌کنند (۳۰) که تاکنون تنها ۲۶ گونه‌ی آبی در آب‌های داخلی ایران فقط براساس ریخت‌شناختی ثبت شده‌اند (۵،۲۱،۲۲،۳۸). با توجه به ویژگی‌های جغرافیای کشور ایران مانند بزرگی منطقه، مناطق کوهستانی و همچنین ویژگی‌های منحصربه‌فرد شبکه هیدرولوژیکی، به احتمال زیاد گونه‌های بسیاری از ایران هنوز گزارش نشده‌اند (۲۲). امروزه خط‌شناسه‌گذاری DNA به‌عنوان یک روش مولکولی جهت شناسایی گونه‌ها و ارزیابی تنوع زیستی به



شکل ۱- نقشه ایستگاه‌های مورد مطالعه در رودخانه جاجرود با استفاده از نرم‌افزار ArcGIS (عبارتند از آبنیک، آبنیک پایین، شمشک، فشم، آهار، حاجی‌آباد، سعیدآباد)

جدول ۱- مشخصات ایستگاه‌های نمونه‌برداری از رودخانه جاجرود

ارتفاع (m)	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی	کد ایستگاه	نام ایستگاه
۲۴۰۴	۵۱° ۳۷/۶۹۷ شرقی	۳۵° ۵۹/۱۹۷ شمالی	J1	آبنیک (ABN)
۲۱۷۵	۵۱° ۳۴/۷۶۳ شرقی	۳۵° ۵۷/۵۷۳ شمالی	J2	آبنیک پایین (ABL)
۱۹۷۰	۵۱° ۳۱/۵۴۲ شرقی	۳۵° ۵۵/۶۸۱ شمالی	J3	شمشک (SHM)
۱۹۶۳	۵۱° ۳۱/۵۶۳ شرقی	۳۵° ۵۵/۶۷۵ شمالی	J4	فشم (FSH)
۲۰۹۷	۵۱° ۲۷/۸۰۸ شرقی	۳۵° ۵۶/۰۳۹ شمالی	J5	آهار (AHR)
۱۸۳۹	۵۱° ۳۲/۱۶۳ شرقی	۳۵° ۵۲/۵۱۱ شمالی	J6	حاجی‌آباد (HAJ)
۱۴۳۳	۵۱° ۴۱' ۵۲" شرقی	۳۵° ۴۳' ۴۰/۵" شمالی	J7	سعیدآباد-نزدیک ورودی پارک ملی خجیر (SAI)

از انجام استخراج در آزمایشگاه تنوع زیستی با استریومیکروسکوپ با بزرگنمایی ۵ (شرکت Nisho Optical، ژاپن) انجام شد.

برش کوچکی از قسمت انتهایی بدن نمونه‌ها تهیه و از پروتکل Gentra (شرکت Qiagen، آمریکا) برای استخراج DNA استفاده شد (۴۱). در این مطالعه از ژن میتوکندریایی سیتوکروم c اکسیداز زیرواحد یک (COI) استفاده شد. واکنش‌های زنجیره‌ای پلی‌مراس مطابق با جدول ۲، انجام شد (۲۱ و ۴۷). بعد از انجام PCR، محصولات هدف تکثیرشده (جدول ۳) برای توالی‌یابی به شرکت ماکروژن کره جنوبی فرستاده شدند (۲۹).

نمونه‌ها با استفاده از روش ضربه و با کمک الک با چشمی ریزصید (۵۰۰ میکرون) جمع‌آوری و در لوله‌های حاوی الک ۹۶٪ قرار داده شدند. الک هر نمونه جهت ماندگاری و کیفیت بهتر نمونه، ۳ تا ۴ بار در طول روز اول با همان درصد الک تعویض شد. سپس، نمونه‌ها به آزمایشگاه مولکولی دانشگاه شهید بهشتی منتقل و در دمای ۲۰°- سانتی‌گراد نگهداری شدند.

استخراج DNA و واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراس (PCR): نمونه‌ها براساس کلیدهای شناسایی برینکهرست (۱۹۸۶، ۱۹۷۱)، پیندر (۲۰۱۰) و جابلونسکا و پسیک (۲۰۱۴) شناخته و کدگذاری شدند (۱۲،۱۳،۲۵،۳۷). این مرحله قبل

جدول ۲- چرخه حرارتی PCR انجام شده برای کم‌تاران

مراحل PCR	دما (°C)	زمان
واسرشته‌سازی اولیه	۹۴	۳ دقیقه
واسرشته‌سازی	۹۴	۳۰ ثانیه
اتصال	۴۸ (متغیر)	۳۰ ثانیه
طویل سازی	۷۲	۱ دقیقه
طویل شدن نهایی	۷۲	۵ دقیقه
خنک شدن	۲۵	۲ دقیقه

(۲۴). مجموعه داده‌ها به طور میانگین ۶۳۳ جفت باز طول داشت. توالی‌ها سپس به صورت چشمی کنترل شدند تا از عدم خطاهای نرم‌افزاری در هم‌ردیف‌سازی اطمینان حاصل شود.

از یک گونه پرتار *Hermodice carunculata* (Pallas, 1766) برای ریشه‌دار کردن درخت‌های فیلوژنتیکی استفاده شد (Accession Number: KF878476.1). جهت تعیین بهترین مدل جایگزینی نوکلئوتیدی برای تفسیر و آنالیز داده‌ها از نرم‌افزار Modeltest v.3.7 استفاده شد (۳۹). طبق این آزمون، مدل نوکلئوتیدی TVM + G + I برای تحلیل‌های فیلوژنتیکی انتخاب شد.

آنالیز درخت بیشینه‌ی احتمال (Maximum Likelihood) با استفاده از نرم‌افزار IQ TREE v.1.6.1 با Bootstrap ۱۰۰۰ انجام شد (۳۳). برای ویرایش درخت‌های ژنتیکی از

جدول ۳- مشخصات مواد مورد نیاز برای انجام PCR

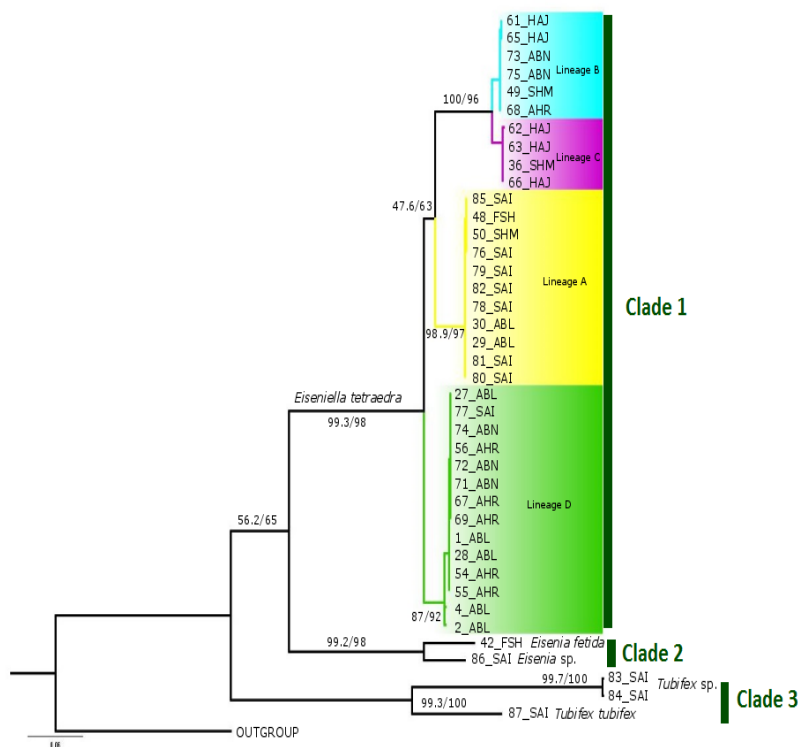
مواد	حجم (میکرولیتر)
مستر میکس RED	۱۲/۵
آب	۹/۵
آغازگر پیشرو (LCO1490)	۱
آغازگر معکوس (HCO2198)	۱
DNA	۱
حجم نهایی	۲۵

آنالیزهای ژنتیکی: در مجموع ۱۸۰ نمونه جمع‌آوری شد و ۴۰ توالی (از هرایستگاه ۲ تا ۱۲ فرد) انتخاب شد. توالی‌ها با نرم‌افزار Geneious v.11.1.4 (۲۵) ویرایش شدند و سپس با استفاده از الگوریتم Blastn مربوط به Genbank از همساختی و تعلق توالی‌ها به کرم‌های کم‌تار اطمینان حاصل شد. هم‌ردیف‌سازی با الگوریتم MAFFT انجام شد

نتایج

تنوع کم‌تاران در رودخانه جاجرود: براساس درخت بیشینه احتمال، میزان Bootstrap برای گره‌ها عمدتاً بالای ۹۰ درصد بود. پنج گونه از سه جنس *Eisenia*، *Eiseniella* و *Tubifex* شناسایی شد و سه کلاد مجزا از هم را تشکیل دادند. کلاد اول، *Eiseniella tetraedra* با تشکیل یک گروه هم‌نیا (BP=98) چهار دودمان (Lineage) مجزا را شامل شد که دودمان B و C با یکدیگر تشکیل رابطه‌ی خواهری (BP=96) دادند. کلاد دوم شامل *Eisenia fetida* و *Eisenia sp.* (BP=98) و کلاد سوم *Tubifex tubifex* و *Tubifex sp.* را شامل شد (BP=100) (شکل ۲).

نرم‌افزار FigTree v.1.4.3 استفاده شد (۴۳). برای آنالیز شبکه هاپلوتایپی و مشاهدات روابط هاپلوتایپی گونه‌های این مطالعه و همچنین توالی‌های گونه‌های موجود در بانک ژن از سایر نقاط جهان شامل آمریکا، فرانسه، آلمان، روسیه، انگلستان و نروژ (جدول ۴) برای ژن میتوکندریایی COI از نرم‌افزار haploviewer براساس Median joining استفاده شد (۴۶). فواصل ژنتیکی (P-distance) میان افراد مورد مطالعه در درون و بین گونه برای ژن میتوکندریایی COI با استفاده از نرم‌افزار v.10.0.1 MEGA-X محاسبه شد (۲۷). به منظور بررسی شاخص‌های تنوع ژنتیکی (تنوع هاپلوتایپ و تنوع نوکلئوتیدی) از نرم‌افزار DnaSP v.6.11 استفاده شد (۴۵).



شکل ۲- درخت بیشینه احتمال با استفاده از ژن میتوکندریایی COI. مناسب‌ترین مدل تکاملی نوکلئوتیدی برای این داده‌های ژنی TVM + G + I محاسبه شد. درخت با استفاده از گونه‌ی *Hermodice carunculata* (Pallas, 1766) ریشه‌دار شد. آزمون نسبت تقریبی احتمال برای هر شاخه و همچنین میزان Bootstrap برای هر گره به ترتیب روی هر شاخه با دو مقدار مشخص شده است (SH-aLRT support (%)/ultrafast) values (bootstrap support (%)). دودمان‌های *E. tetraedra* براساس رنگ خاص خود تفکیک شده‌اند (آبی: دودمان B، بنفش: دودمان C، زرد: دودمان A، سبز: دودمان D)

جدول ۴- مشخصات توالی مولکولی نمونه‌های کرم‌های کم تار رودخانه جاجرود و توالی‌های گرفته‌شده از بانک ژن (ENG: انگلستان، GER: آلمان، USA: آمریکا، FRC: فرانسه، RUS: روسیه، NWR: نروژ). توالی‌ها از ردیف ۱ تا ۴۰ متعلق به رودخانه‌ی جاجرود و از ردیف ۴۱ تا ۵۲ متعلق به سایر نقاط جهان است

ردیف	گونه	دودمان	خانواده	Accession GenBank number	ES number	مکان
۱	<i>Eiseniella tetraedra</i>	A	Lumbricidae	MT271113	61-ES2159	J6
۲	<i>Eiseniella tetraedra</i>	A	Lumbricidae	MT271114	65-ES2151	J6
۳	<i>Eiseniella tetraedra</i>	A	Lumbricidae	MT271115	73-ES2003	J1
۴	<i>Eiseniella tetraedra</i>	A	Lumbricidae	MT271116	75-ES2005	J1
۵	<i>Eiseniella tetraedra</i>	A	Lumbricidae	MT271112	49-ES2059	J3
۶	<i>Eiseniella tetraedra</i>	A	Lumbricidae	MT271117	68-ES2093	J5
۷	<i>Eiseniella tetraedra</i>	B	Lumbricidae	MT271102	66-ES2152	J6
۸	<i>Eiseniella tetraedra</i>	B	Lumbricidae	MT271099	36-ES2060	J3
۹	<i>Eiseniella tetraedra</i>	B	Lumbricidae	MT271101	62-ES2161	J6
۱۰	<i>Eiseniella tetraedra</i>	B	Lumbricidae	MT271100	63-ES2164	J6
۱۱	<i>Eiseniella tetraedra</i>	C	Lumbricidae	MT271054	76-ES2266	J7
۱۲	<i>Eiseniella tetraedra</i>	C	Lumbricidae	MT271055	85-ES2275	J7
۱۳	<i>Eiseniella tetraedra</i>	C	Lumbricidae	MT271056	48-ES2084	J4
۱۴	<i>Eiseniella tetraedra</i>	C	Lumbricidae	MT271065	50-ES2071	J3
۱۵	<i>Eiseniella tetraedra</i>	C	Lumbricidae	MT271060	79-ES2269	J7
۱۶	<i>Eiseniella tetraedra</i>	C	Lumbricidae	MT271064	82-ES2272	J7
۱۷	<i>Eiseniella tetraedra</i>	C	Lumbricidae	MT271063	78-ES2268	J7
۱۸	<i>Eiseniella tetraedra</i>	C	Lumbricidae	MT271061	30-ES2028	J2
۱۹	<i>Eiseniella tetraedra</i>	C	Lumbricidae	MT271062	29-ES2027	J2
۲۰	<i>Eiseniella tetraedra</i>	C	Lumbricidae	MT271059	81-ES2271	J7
۲۱	<i>Eiseniella tetraedra</i>	C	Lumbricidae	MT271058	80-ES2270	J7
۲۲	<i>Eiseniella tetraedra</i>	D	Lumbricidae	MT271083	71-ES2001	J1
۲۳	<i>Eiseniella tetraedra</i>	D	Lumbricidae	MT271087	67-ES2086	J5
۲۴	<i>Eiseniella tetraedra</i>	D	Lumbricidae	MT271082	69-ES2094	J5
۲۵	<i>Eiseniella tetraedra</i>	D	Lumbricidae	MT271086	27-ES2046	J2
۲۶	<i>Eiseniella tetraedra</i>	D	Lumbricidae	MT271074	77-ES2267	J7
۲۷	<i>Eiseniella tetraedra</i>	D	Lumbricidae	MT271077	74-ES2004	J1
۲۸	<i>Eiseniella tetraedra</i>	D	Lumbricidae	MT271079	56-ES2117	J5
۲۹	<i>Eiseniella tetraedra</i>	D	Lumbricidae	MT271078	72-ES2002	J1
۳۰	<i>Eiseniella tetraedra</i>	D	Lumbricidae	MT271084	1-ES2018	J2
۳۱	<i>Eiseniella tetraedra</i>	D	Lumbricidae	MT271076	28-ES2006	J2
۳۲	<i>Eiseniella tetraedra</i>	D	Lumbricidae	MT271081	54-ES2096	J5
۳۳	<i>Eiseniella tetraedra</i>	D	Lumbricidae	MT271080	55-ES2111	J5

۳۴	<i>Eiseniella tetraedra</i>	D	Lumbricidae	MT271089	4-ES2034	J2
۳۵	<i>Eiseniella tetraedra</i>	D	Lumbricidae	MT271088	ES2029-2	J2
۳۶	<i>Tubifex</i> sp.		Naididae	MT271128	ES2273-83	J7
۳۷	<i>Tubifex</i> sp.		Naididae	MT271129	ES2274-84	J7
۳۸	<i>Eisenia fetida</i>		Lumbricidae	MT271119	ES2083-42	J4
۳۹	<i>Eisenia</i> sp.		Lumbricidae	-	ES2276-86	J7
۴۰	<i>Tubifex tubifex</i>		Naididae	MT271130	ES2277-87	J7
۴۱	<i>Eiseniella tetraedra</i>	A	Lumbricidae	KY284189.1	-	ENG
۴۲	<i>Eiseniella tetraedra</i>	A	Lumbricidae	KY284336.1	-	GER
۴۳	<i>Eiseniella tetraedra</i>	A	Lumbricidae	KY284292.1	-	USA
۴۴	<i>Eiseniella tetraedra</i>	B	Lumbricidae	KY284226.1	-	FRC
۴۵	<i>Eiseniella tetraedra</i>	B	Lumbricidae	KY284232.1	-	USA
۴۶	<i>Eiseniella tetraedra</i>	R	Lumbricidae	KY284297.1	-	GER
۴۷	<i>Eiseniella tetraedra</i>	C	Lumbricidae	KY289303.1	-	RUS
۴۸	<i>Eiseniella tetraedra</i>	C	Lumbricidae	KY289302.1	-	USA
۴۹	<i>Eiseniella tetraedra</i>	C	Lumbricidae	KY284293.1	-	GER
۵۰	<i>Eiseniella tetraedra</i>	D	Lumbricidae	KY284324.1	-	ENG
۵۱	<i>Eiseniella tetraedra</i>	D	Lumbricidae	KY284309.1	-	USA
۵۲	<i>Eiseniella tetraedra</i>	D	Lumbricidae	KY284202.1	-	NWR

فاصله ژنتیکی: میانگین فاصله‌ی ژنتیکی بین گونه‌ای (دودمان‌های A، B، C و D) به صورت تقریبی بین ۲-۱۰٪ (p-distance) بین ۱۸/۲-۲۵/۱٪ است. تغییرات فاصله‌ی ژنتیکی درون گونه‌ای بین دودمان‌های *E. tetraedra*

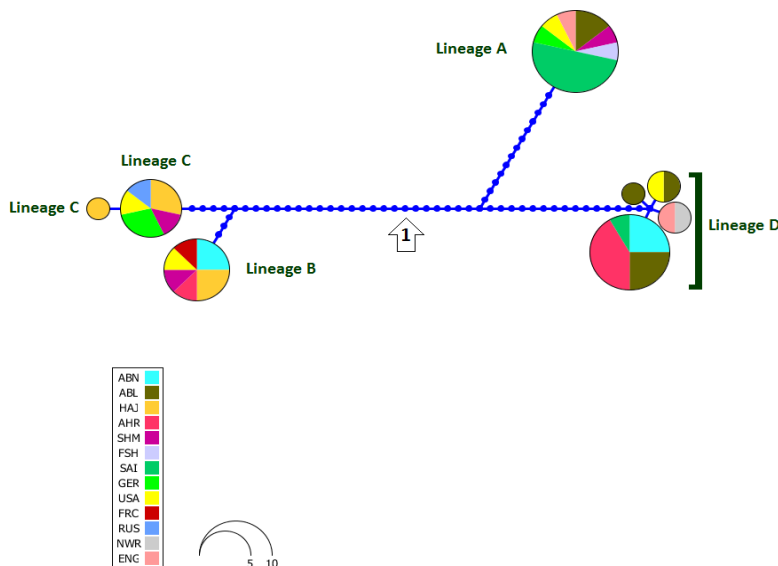
جدول ۵- فاصله ژنتیکی تصحیح‌نشده براساس ژن COI بین گروه‌های مختلف گونه‌ای کرم‌های کم‌تار رودخانه جاجرود (دودمان‌های A، B، C و D دودمان‌های گونه‌ی *E. tetraedra* هستند)

	<i>Tubifex tubifex</i>	<i>Tubifex</i> sp.	Lineage A	Lineage B	Lineage D	Lineage C	<i>Eisenia fetida</i>
<i>Tubifex tubifex</i>							
<i>Tubifex</i> sp.	۰/۱۸۲						
Lineage A	۰/۲۳۰	۰/۲۴۳					
Lineage B	۰/۲۴۱	۰/۲۴۷	۰/۰۲۲				
Lineage D	۰/۲۳۱	۰/۲۵۱	۰/۰۹۱	۰/۰۹۷			
Lineage C	۰/۲۳۲	۰/۲۴۸	۰/۰۸۴	۰/۰۸۶	۰/۰۶۳		
<i>Eisenia fetida</i>	۰/۲۴۱	۰/۲۴۳	۰/۲۱۰	۰/۲۰۸	۰/۲۱۷	۰/۱۹۵	
<i>Eisenia</i> sp.	۰/۲۲۴	۰/۲۴۳	۰/۲۱۷	۰/۲۲۱	۰/۲۱۱	۰/۲۰۴	۰/۰۸۰

شبکه هاپلوتایپی برای گونه‌ی *E. tetraedra* در ایران و نقاط مختلف جهان: شبکه هاپلوتایپی در مجموع هشت هاپلوتایپ را تشکیل داد که دودمان A یک هاپلوتایپ، دودمان B یک هاپلوتایپ، دودمان C دو هاپلوتایپ و دودمان D چهار هاپلوتایپ را شامل شد. دودمان D بیشترین فراوانی (۴۰ درصد) را نشان داد. هاپلوتایپ

انگلستان و نروژ تشکیل هاپلوتایپ‌های مشترک دادند (شکل ۳).

دودمان A با آمریکا، انگلستان و آلمان، هاپلوتایپ دودمان B با آمریکا و فرانسه، هاپلوتایپ‌های دودمان C با آمریکا، روسیه و آلمان و هاپلوتایپ‌های دودمان D با آمریکا،



شکل ۳- شبکه هاپلوتایپ ترسیم‌شده بین هاپلوتایپ‌های موجود دودمان‌های این مطالعه و توالی‌های گرفته‌شده از بانک ژن برای گونه‌ی *E. tetraedra* براساس ژن میتوکندریایی COI. گره‌های آبی جهش‌ها هستند که با عدد (1) نشان داده شد. هر ایستگاه و کشور بر اساس رنگ خاص خود تفکیک شده‌اند. (آبنیک: ABN، آبنیک پایین: ABL، حاجی‌آباد: HAJ، آهار: AHR، شمشک: SHM، فشم: FSH، سعیدآباد: SAI، آلمان: GER، آمریکا: USA، فرانسه: FRC، روسیه: RUS، نروژ: NWR، انگلستان: ENG)

سعیدآباد (به ترتیب ۰/۱۲ و ۰/۰۱۵) محاسبه شد. همچنین مقدار تنوع نوکلئوتیدی کم به دست آمد. به‌طور کلی مقدار تنوع هاپلوتایپی و نوکلئوتیدی دودمان‌های *E. tetraedra* در ایستگاه‌های بالادست و میان‌دست رودخانه بالاتر از پایین‌دست رودخانه محاسبه شد.

بررسی ساختار جمعیتی - تنوع ژنتیکی *E. tetraedra* مطابق جدول ۶، بیشترین تنوع هاپلوتایپی و بیشترین تنوع نوکلئوتیدی در ایستگاه شمشک (به ترتیب ۱ و ۰/۰۰۶۲) و کم‌ترین تنوع هاپلوتایپی در ایستگاه سعیدآباد (۰/۲۵) و کم‌ترین تنوع نوکلئوتیدی در ایستگاه‌های حاجی‌آباد و

جدول ۶- شاخص‌های تنوع هاپلوتایپ (h) و نوکلئوتید (π) گونه‌ی *E. tetraedra* در هر ایستگاه

	آبنیک	آبنیک پایین	شمشک	فشم	آهار	حاجی‌آباد	سعیدآباد
h	۰/۶	۰/۸۱	۱	-	۰/۳۳۳	۰/۸	۰/۲۵
π	۰/۰۵	۰/۰۳	۰/۰۶۲	-	۰/۰۲۸	۰/۰۱۲	۰/۰۱۵

محاسبه‌ی شاخص‌های تنوع برای ایستگاه فشم به علت داشتن تنها یک توالی مقدر نشد زیرا شرط محاسبه داشتن بیش از یک توالی است.

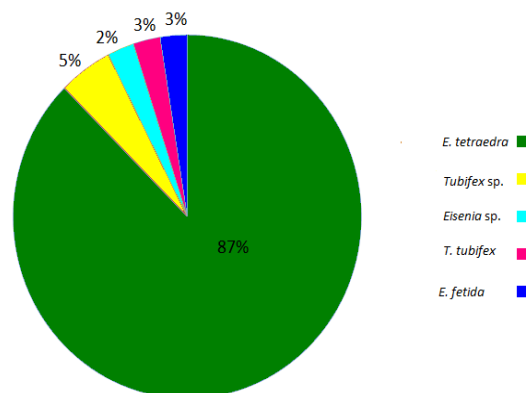
E. fetida, *Eisenia sp.*, *Tubifex sp.* و *T. tubifex* بین ۲-۵ درصد محاسبه شدند (شکل ۴).

فراوانی کم‌تاران در هر ایستگاه نمونه‌برداری: بیشترین درصد فراوانی گونه در تمامی ایستگاه‌ها برای *E. tetraedra* ثبت گردید (۸۷٪). فراوانی گونه‌های

ای جدید از کم‌تاران آبی نیز گزارش شد (۸). ده گونه از کم‌تاران طی مطالعه بی‌مهرگان رودخانه زربینه رود ثبت شدند که چهار گونه جدید *Limnodrilus udekemianus* و *Rhyacodrilus coccineus*، *Lumbriculus variegatus* را شامل شد (۵). برای کاهش میزان لجن زباله‌های زیستی تولیدشده در تأسیسات تصفیه فاضلاب در اهواز کرم‌های آبی به کار برده شدند که *Lumbriculus variegatus* شناسایی شد (۹).

براساس چک‌لیست به‌روز شده کم‌تاران آبی ایران در سال ۲۰۱۴، علاوه بر ۱۴ گونه شناسایی شده از مطالعات قبل، پنج گونه جدید *Dero dorsalis*، *Embolocephalus*، *Pristina breviseta*، *Haplotaxis gordioides*، *velutinus* و *Psammoryctides albicola* شناسایی و ثبت شدند (۲۲). این چک‌لیست با مطالعه نمونه‌ها در رسوبات کف و پوشش گیاهی آبی در تالاب بین‌المللی انزلی با ثبت هفت گونه جدید *Potamothrix*، *Limnodrilus claparedeianus*، *Nais pardalis*، *Potamothrix bedoti*، *hammoniensis* و *Slavina appendiculata*، *Dero digitata* و *Mesenchytraeus* sp. به‌روز شد (۳۵).

در مطالعه‌ی حاضر برای اولین بار از روش مولکولی جهت بررسی تنوع‌گونه‌ای کم‌تاران آبی استفاده شد. با توجه به شکل ۲، پنج گونه شناسایی شد. دو گونه آبی از خانواده Naididae، *T. tubifex* و *Tubifex* sp. ثبت شد. نتایج مطالعات چنگ و جیمز (۲۰۱۱) نشان می‌دهد که فاصله‌ی ژنتیکی کمتر از ۹ درصد گونه مشابه و بالاتر از ۱۵ درصد دو گونه را مجزا می‌کند (۱۴). *T. tubifex* و *Tubifex* sp. با میانگین فاصله‌ی ژنتیکی بالا (جدول ۵) و قرار گرفتن در کلاد مجزا با ساپورت بالا (شکل ۲) به احتمال زیاد، دو گونه مجزا از هم محسوب می‌شوند. فقط *T. tubifex* در مطالعات گذشته نیز گزارش شد (۵، ۱۸، ۳۴، ۴۰). از خانواده Lumbricidae، دو گونه احتمالاً خشکی‌زی *Eisenia* sp. و *E. fetida* و چهار دودمان مجزا از گونه نیمه‌آبی



شکل ۴- فراوانی کل گونه‌های کرم کم‌تار براساس درصد در ایستگاه‌های نمونه‌برداری در رودخانه جاجرود

بحث و نتیجه‌گیری

مطالعات اندکی در خصوص تنوع زیستی کرم‌های کم‌تار ایران صورت گرفته است و تحقیقات انجام‌گرفته تنها بر اساس ریخت‌شناختی گونه‌ها را شناسایی کرده است: اولین اطلاعات از کم‌تاران آب‌های داخلی ایران، در سال ۱۹۲۰ با ثبت چهارگونه *Chaetogaster diastrophus*، *Chaetogaster limnaei*، *Nais communis* و *Stylarialacustris* گزارش شد (۴۸). از سال ۱۹۹۶ پژوهش‌های بیشتری در رابطه با کم‌تاران آبی انجام شد. برای اندازه‌گیری فلزات سنگین در رسوبات سطحی در تالاب انزلی، بزرگ بی‌مهرگان کفزی را به عنوان شاخص زیستی مورد سنجش قرار دادند و *Tubifex tubifex* در این تالاب شناسایی شد (۴۰). در رودخانه‌های جاجرود و برغان نمونه‌هایی از بی‌مهرگان کفزی جمع‌آوری شدند که *Tubifex tubifex* و *Eiseniella* sp. شناسایی شدند (۱۸). با مطالعه تنوع زیستی گونه‌های بی‌مهره کفزی در رودخانه ارس، چهار گونه از کم‌تاران آبی ثبت شدند که شامل سه گونه جدید *Branchiura sowerbyi*، *Aulodrilus pigueti* و *Spirosperma ferox* شدند (۷). با بررسی بزرگ بی‌مهرگان تالاب زربینه در جنوب دریاچه، تنها *Branchiura sowerbyi* و *Limnodrilus hoffmeisteri* گزارش شدند (۶). در رودخانه جاجرود *Ophidonais serpentina* گونه-

E. tetraedra که منشأ اروپایی دارد، دودمان‌های آن در استرالیا به‌عنوان گونه‌ی غیربومی تنوع ژنتیکی درون‌گونه‌ای بالایی (بین ۰-۵٪/۵) داشت. این گونه با نمونه‌های دیگر از نقاط مختلف جهان (اروپا، آمریکای شمالی و مرکزی و آسیای شرق دور) هاپلوتایپ‌های مشترک تشکیل داد (۳۵). در مطالعه‌ی حاضر نیز دودمان‌های *E. tetraedra* هاپلوتایپ‌های مشترک با سایر نقاط جهان تشکیل دادند (شکل ۳) و تنوع درون‌گونه‌ای بین ۱۰-۲٪ را در طول رودخانه جاجرود نشان دادند (جدول ۵). جاویدکار و همکاران (۲۰۲۰) پژوهش مشابه و به‌طور هم‌زمان در رودخانه‌های کرج و جاجرود انجام دادند که نتایج یکسانی با مطالعه‌ی حاضر به دنبال داشت. *E. tetraedra* فراوان-ترین گونه با شش دودمان مجزا بود و دودمان‌های آن با سایر نقاط جهان، تشکیل هاپلوتایپ‌های مشترک دادند. همچنین عدم ساختار جمعیتی مشخص از احتمال معرفی شدن توسط انسان حمایت می‌کند و فراوانی گونه‌های بومی را تحت تأثیر قرار داده است (۲۳). عوامل مختلفی می‌تواند فراوانی این گونه را تحت تأثیر قرار دهد. یکی از علل گسترش *E. tetraedra* در اکثر مناطق جهان، تولیدمثل بکرزا (Parthenogenetic) آن است که قادر است تعداد زیادی پيله (Cocoon) تولید کند. نتایج دوسوسا و همکاران (۲۰۱۷) نشان داد که دودمان‌های این گونه تنوع ژنتیکی بالایی را در اسپانیا نشان دادند و ساختار جمعیتی مشخصی نداشتند که بیشترین تنوع دودمان‌ها در میان دست محاسبه شد (۱۷). در مطالعه حاضر نیز نتایج مشابه بود و در میان-دست و بالادست، بیشترین تنوع را داشتند. تنوع پایین محاسبه‌شده در پایین‌دست، تأثیر فعالیت‌های انسان و شرایط نامساعد بر تنوع ژنتیکی را نشان می‌دهد (جدول ۶). با توجه به فراوانی بالای *E. tetraedra* در رودخانه جاجرود ارزیابی اثرات و شناخت خطرات بالقوه اکولوژیک و تهدیدات آن بسیار ضروری است.

E. tetraedra ثبت شدند. گونه غیربومی *E. fetida* به صورت تصادفی در این مطالعه یافت شد که در سرتاسر جهان معرفی شده است. محدوده‌ی اصلی آن آسیای مرکزی است، درحالی‌که محدوده‌ی فعلی آن به اروپا، آمریکای شمالی، آمریکای جنوبی، آفریقا، آسیا و استرالیا گسترش یافته است (۱۵،۲۰،۲۸). *T. tubifex* sp. *T. tubifex* و *Eisenia* sp. تنها در ایستگاه سعیدآباد، *E. fetida* به صورت تصادفی فقط در ایستگاه فشم و دودمان‌های *E. tetraedra* در هر هفت ایستگاه مشاهده شدند (جدول ۴). با توجه به مطالعات یابلوسکا و پسیچ در سال ۲۰۱۴، کشور ایران با دارا بودن ویژگی‌های جغرافیایی و هیدرولوژیکی منحصربه‌فرد، تنوع‌گونه‌ای بالایی از کرم‌های کم‌تار در رودخانه انتظار می‌رفت (۲۲)، اما در مطالعه حاضر تنوع آن‌ها اندک بود. در این مطالعه فراوان‌ترین (۸۷٪) نمونه‌های به‌دست‌آمده متعلق به گونه *E. tetraedra* است (شکل ۴) که چهار دودمان مجزا را تشکیل داد (شکل ۲). *E. tetraedra* بومی مناطق غربی اروپا است که در حال حاضر عمدتاً در مناطق معتدل در هر دو نیمکره جهان گسترش یافته است و به اکثر نقاط جهان معرفی شده است (۱۱ و ۱۵). این گونه در مناطق غربی کالیفرنیا (۴۹)، ژاپن (۱۱)، استرالیا (۳۱) و نیوزلند (۲۶) به‌عنوان گونه غیربومی از خانواده Lumbricidae شناخته شده است. در ایران نیز در کوه‌های البرز مرکزی در طول رودخانه‌های هراز و چالوس، غرب استان مازندران، استان تهران، استان کهگیلویه و بویراحمد و همچنین در دو رودخانه‌ی حفاظت‌شده‌ی کوهستان‌های البرز جنوبی (کرج و جاجرود) به ثبت رسیده است که زیستگاه‌های مرطوب را ترجیح می‌دهد، بنابراین در مناطق البرز و غرب مازندران به علت رطوبت و بارندگی بیشتر، توزیع گسترده‌تری دارد (۱۹،۲۰،۲۳،۲۸). نتایج مطالعه مارتینسون و همکاران (۲۰۱۵) با نتایج مطالعه‌ی حاضر مطابقت دارد.

منابع

- ۱- آهنی، م.، عزیزی، ع. و رائی نظامی، س. (۱۳۹۵). ارزیابی سلامت رودخانه‌ها با استفاده از ماکروبتوزها و شاخص زیستی هیلسنهوف (مطالعه موردی: رودخانه جاجرود)، اولین کنفرانس بین‌المللی آب، محیط‌زیست و توسعه پایدار.
- ۲- خیرده، ر.، نجفی جیلانی، ع. و گهرنژاد، ح. (۱۳۹۴). کیفیت‌سنجی آب با استفاده از شاخص‌های زیستی مطالعه موردی رودخانه جاجرود. دومین کنفرانس بین‌المللی دستاوردهای نوین پژوهشی در عمران، معماری، مدیریت شهری.
- ۳- محمدی، س.، عبدلی، ا.، هاشمی، ح. و کامبوزیا، ج. (۱۳۹۲). استفاده از شاخص زیستی بزرگ بی‌مهرگان کفزی برای ارزیابی کیفیت آب مطالعه موردی رودخانه جاجرود (پایین‌دست سد لتیان). پایان‌نامه ارشد رشته مهندسی محیط زیست-آلودگی‌های محیط‌زیست. دانشگاه شهید بهشتی.
- ۴- موسوی ندوشن، ر. (۱۳۹۳). بررسی جمعیت کفزیان سرشاخه‌های رودخانه جاجرود استان تهران. پژوهش‌های علوم و فنون دریایی، شماره ۱، ۶۰-۷۲.
- 5- Ahmadi, R., Aliyev, A., Seidgar, M., Bayramov, A. and Ganji, S. (2012). Macroinvertebrate communities differences on riverine parts and reservoirs of Zarrineh River. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*, 7(1):71-75.
- 6- Ahmadi, R., Mohebbi, F., Hagigi, P., Esmailly, L., and Salmanzadeh, R. (2011). Macro-invertebrates in the Wetlands of the Zarrineh estuary at the south of Urmia Lake (Iran). *International Journal of Environmental Research*, 5(4), 1047-1052.
- 7- Aliyev, A. and Ahmadi, R. (2010). Biodiversity of benthic invertebrates in Aras River. *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 19(2): 131-142.
- 8- Ardalan, A. A., Mooraki, N. and Sadeghi, M. S. (2011). Occurrence of *Ophidonais serpentina* in Potamon persicum from Jajrood River, Iran. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 10 (1): 177-180.
- 9- Basim, Y., Farzadkia, M., Jaafarzadeh, N. and Hendrickx, T. (2012). Sludge reduction by *lumbriculus variegatus* in Ahvas wastewater treatment plant. *Iranian journal of environmental health science & engineering*, 9(1), 4.
- 10- Behrend, R. D. L., Takeda, A. M., Gomes, L. C. and Fernandes, S. E. P. (2012). Using oligochaeta assemblages as an indicator of environmental changes. *Brazilian Journal of Biology*, 72(4), 873-884.
- 11- Blakemore, R. J., Ito, M. T., and Kaneko, N. (2006b). Alien earthworms in the Asia/Pacific region with a checklist of species and the first records of *Eukerria saltensis* (Oligochaeta: Ocnoderilidae) and *Eiseniella tetraedra* (Lumbricidae) from Japan, and *Pontoscolex corethrurus* (Glossoscolecidae) from Okinawa. Assessment and control of biological invasion risks, 173-181.
- 12- Brinkhurst, R. O. (1971). A guide for the identification of British Aquatic Oligochaeta. Ambleside & Westmorland.
- 13- Brinkhurst, R. O. (1986). Guide to the freshwater aquatic microdrile oligochaetes of North America. *Canad. Spec. Pub. Fish. Aquat. Sci.* 84, Ottawa, Ont.
- 14- Chang, C.-H. & James, S.W. (2011) A critique of earthworm molecular phylogenetics. *Pedobiologia*, 54, Supplement, S3-S9.
- 15- Csuzdi, C., and Zicsi, A. (2003). Earthworms of Hungary (Annelida: Oligochaeta, Lumbricidae) (p. 271). Budapest: Hungarian Natural History Museum.
- 16- Decaëns, T., Porco, D., Rougerie, R., Brown, G. G. and James, S. W. (2013). Potential of DNA barcoding for earthworm research in taxonomy and ecology. *Applied Soil Ecology*, 65, 35-42.
- 17- de Sosa, I., Marchán, D. F., Novo, M., Almodóvar, A., and Cosín, D. D. (2017). Bless this phylogeographic mess—Comparative study of *Eiseniella tetraedra* (Annelida, Oligochaeta) between an Atlantic area and a continental Mediterranean area in Spain. *European journal of soil biology*, 78, 50-56.
- 18- Egglshaw, H. J. (1980). Benthic invertebrates of streams on the Alburz Mountain Range near Tehran, Iran. *Hydrobiologia*, 69, 49-55.
- 19- Ezzatpanah, S., Robabeh, L., Masoumeh, M. and Hasan, S. (2010). Earthworm fauna of the western Mazandaran province, Iran: (Oligochaeta: Lumbricidae, Megascolecidae). *Zoology in the Middle East*, 51(sup2), 67-74.
- 20- Farhadi, Z., Malek, M. and Elahi, E. (2013). Review of the earthworm fauna of Iran with emphasis on Kohgiluyeh & Boyer-Ahmad Province. *Zootaxa*, 3670(4), 440-448.
- 21- Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R. and Vrijenhoek R. (1994). DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Mol. Mol Mar Biol Biotechnol*, 3(5): 294-299.
- 22- Jabłońska, A. and Pešić, V. (2014). Five species of aquatic oligochaetes new to Iran with an updated checklist. *international journal of oceanography and hydrobiology*, 43 (1): 100-105.
- 23- Javidkar, M., Abdoli, A., Ahmadvadeh, F., Nahavandi, Z. and Yari, M. (2021). Molecular evidence reveals introduced populations of *Eiseniella tetraedra* (Savigny, 1826) (Annelida, Lumbricidae) with European origins from protected freshwater

- ecosystems of the southern Alborz Mountains. *Marine and Freshwater Research*, 72(1), 44-57.
- 24- Katoh, K., and Standley, D. M. (2013). MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. *Molecular biology and evolution*, 30(4), 772-780.
- 25- Kearse, M., Moir, R., Wilson, A., Stones-Havas, S., Cheung, M., Sturrock, S., Buxton, S., Cooper, A., Markowitz, S., Duran, C. and Thierer, T. (2012). Geneious basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics*, 28(12), 1647-1649.
- 26- Kim, Y. N., Dickinson, N., Bowie, M., Robinson, B. and Boyer, S. (2017). Molecular identification and distribution of native and exotic earthworms in New Zealand human-modified soils. *New Zealand Journal of Ecology*, 41(2), 218-225.
- 27- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., and Tamura, K. (2018). MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35(6), 1547-1549.
- 28- Latif, R., Ezzatpanah, S., Malek, M. and Parsa, H. (2009). Earthworms of the Central Elburz Mountains, Iran. *Iranian Journal of Animal Biosystematics*, 5 (2): 1-15.
- 29- Macrogen, k., <http://www.macrogen.co.kr>.
- 30- Martin, P., Martinez-Ansemil, E., Pinder, A., Timm, T. and Wetzel, M. J. (2007). Global diversity of oligochaetous clitellates ("Oligochaeta"; Clitellata) in freshwater. In *Freshwater Animal Diversity Assessment* (pp. 117-127). Springer, Dordrecht.
- 31- Martinsson, S., Cui, Y., Martin, P. J., Pinder, A., Quinlan, K., Wetzel, M. J., & Erséus, C. (2015). DNA-barcoding of invasive European earthworms (Clitellata: Lumbricidae) in south-western Australia. *Biological Invasions*, 17(9), 2527-2532.
- 32- Mermillod-Blondin, F., Nogaro, G., Datry, T., Malard, F. and Gibert, J. (2005). Do tubificid worms influence the fate of organic matter and pollutants in stormwater sediments?. *Environmental Pollution*, 134(1), 57-69.
- 33- Minh, B. Q., Trifunopoulos, J., Schrepf, D. and Schmidt, H. A. (2017). IQ-TREE version 1.6.0: Tutorials and Manual Phylogenomic software by maximum likelihood.
- 34- Mirmonsef, H., Malek, M. and Latif, R. (2011). The Earthworm Fauna of Tehran Province, Iran: an Ecological Characterization. *Iranian Journal of Animal Biosystematics*, (7), 2, 89-97.
- 35- Nazarhaghghi, F., Timm, T., Mousavi, R. N., Shabanipour, N., Fatemi, M. R. and Mashinchian, A. M. (2014). Oligochaetes (Annelida, Clitellata) in the Anzali International Wetland, north-western Iran. *Estonian Journal of Ecology*, 63(3): 130-144.
- 36- Payne, A. I. 1986. The ecology of tropical lakes and rivers. John Wiley, Chichester. 301p.
- 37- Pinder, A. (2010). Tools for identifying selected Australian aquatic oligochaetes (Clitellata: Annelida). *Museum Victoria Science Reports*, 13: 1-26.
- 38- Pinder, A. M. and Ohtaka, A. (2012). Annelida: Clitellata, Oligochaeta. *Freshwater Invertebrates of the Malaysian Region*, 162-174.
- 39- Posada, D. and Crandall, K. A. (1998). Modeltest: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics* (Oxford, England), 14(9), 817-818.
- 40- Pourang, N. (1996). Heavy metal concentrations in surficial sediments and benthic macroinvertebrates from Anzali wetland, Iran. *Hydrobiologia*, 331(1-3), 53-61.
- 41- Qiagen, (2014). *QIAprep puregene handbook*. Sample and Assay Technologies. (www.qiagen.com).
- 42- Ragonha, F., Chiamonte, J. B., Junior, H. M. F., Cunha, E. R. D., Benedito, E. and Takeda, M. (2013). Spatial distribution of aquatic Oligochaeta in Ilha Grande National Park, Brazil. *Maringá*, 35 (1): 63-70.
- 43- Rambaut, A., and Drummond, A.J. (2014). FigTree. Version 1.4.3 [computer program]. Available from <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree> [accessed 15 August 2017].
- 44- Richard, B., Decaëns, T., Rougerie, R., James, S. W., Porco, D. and Hebert, P. D. N. (2010). Re-integrating earthworm juveniles into soil biodiversity studies: species identification through DNA barcoding. *Molecular ecology resources*, 10(4), 606-614.
- 45- Rozas, J., Sánchez-DelBarrio, J. C., Messeguer, X. and Rozas, R. (2003). DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods. *Bioinformatics*, 19(18), 2496-2497.
- 46- Salzburger, W., Ewing, G. B., & Von Haeseler, A. (2011). The performance of phylogenetic algorithms in estimating haplotype genealogies with migration. *Molecular ecology*, 20(9), 1952-1963.
- 47- Shekhovtsov, S. V., Berman, D. I., Bazarova, N. E., Bulakhova, N. A., Porco, D. and Peltek, S. E. (2016). Cryptic genetic lineages in *Eisenia nordenskioldi pallida* (Oligochaeta, Lumbricidae). *European Journal of Soil Biology*, 75, 151-156.
- 48- Stephenson, J. (1920). On a collection of Oligochaeta from the lesser known parts of India and from eastern Persia. *Memoirs of the Indian Museum*, 7, 191-261
- 49- Wood, H. B., & James, S. W. (1993). Native and introduced earthworms from selected chaparral, woodland, and riparian zones in southern California. *Gen. Tech. Rep. PSW-142*. Albany, CA: US Department of Agriculture, Forest Service, Pacific Southwest Research Station. 20 p, 142.
- 50- Zicsi, A. (1975). Zootische Einflüsse auf die Streuzersetzung in Hainbuchen-Eichenwäldern Ungarns. *Pedobiologia*, 15(6), 432-438.

DNA Barcoding and Species Diversity of Oligochaeta in Jajrood River

Nahavandi Z., Abdoli A., Ahmadzadeh F. and Javidkar M.

Dept. of Biodiversity and Ecosystem Management, Environmental Sciences Research Institute, Shahid Beheshti University, G.C., Tehran, I.R. of Iran.

Abstract

Generally, oligochaetes as a well-known group of earthworm invertebrates with global distribution have been considered from two Ecological and taxonomical point of view. Species diversity of oligochaetes was investigated in Jajrood River, Caspian Southern basin, Iran. This research began in autumn and winter and specimens were collected from 7 collecting stations using a kick sampling approach across the river. Today, the use of modern methods, including genetic markers, provides a more accurate understanding of the species. To evaluate the diversity and facilitate identification of the oligochaete species, both DNA barcoding, using the mitochondrial gene cytochrome c oxidase subunit I (*COI*), and morphological identification keys were utilized. As a result, five species including *Tubifex tubifex*, *Tubifex* sp., *Eiseniella tetraedra*, *Eisenia fetida*, and *Eisenia* sp. belonging to the families Lumbricidae and Naididae were identified. The results showed *E. tetraedra* to be the most abundant species, which consists of four divergent lineages in this river system.

Key words: DNA barcoding, Species diversity, Oligochaeta, Jajrood River.