نشریه پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی
Journal homepage: http://jair.gonbad.ac.ir
وزارت علوم، تحقیقات و فناوری
دانشگاه گنبد کاووس

بررسی وضعیت آرایه‌شناسی جمعیت گاوماهیان (Teleost: Gobiidae) در شش رودخانه حوضه جنوبی دریای خزر براساس ژن سیتوکروم اکسیداز COI

نسرین نیک‌مهر[1]، سهیل ایگدری*[2]، هادی پورباقر[2]، آرمین یوسفی[3]

[1] دانشجوی دکتری شیلات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی کرج، دانشکدهء منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران
[2] دانشیار گروه شیلات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی کرج، دانشکدهء منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران
[3] کارشناس ارشد شیلات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی کرج، دانشکدهء منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

نوع مقاله:
پژوهشی اصیل

تاریخچه مقاله:
دریافت: ۹۷/۱۰/۰۶
پذیرش: ۹۸/۰۱/۱۸

نویسنده مسئول مکاتبه:
سهیل ایگدری، دانشیار گروه شیلات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی کرج، دانشکدهء منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران
ایمیل: soheil.eagderi@ut.ac.ir

چکیده

به‌دلیل شباهت ریختی بالا بین جمعیت و گونه‌های جنس *Ponticola* در سواحل جنوبی دریای خزر، شناسایی آن‌ها از لحاظ ریخت‌شناسی براساس کلیدهای شناسایی دشوار است. امروزه نشانگرهای مولکولی به‌عنوان روش‌های مکمل در شناخت بهتر وضعیت آرایه‌شناختی ماهیان مورد استفاده قرار می‌گیرد. در تحقیق حاضر بررسی وضعیت آرایه‌شناسی گاوماهیان در شش رودخانه (سیاهرود، زرین‌گل، بابلرود، تجن، سفیدرود (دو جمعیت بیجار و کیسوم)، کسلیان) در حوضه جنوبی دریای خزر براساس روش شناسه‌گذاری (بارکدینگ) DNA با استفاده از ژن COI میتوکندریایی با ترسیم درخت شجره‌شناسی با روش‌های Bayesian و Maximum Likelihood، بررسی شبکه هاپلوتایپی و ارتباط فاصله جغرافیایی و تمایز ژنتیکی انجام شد. نتایج نشان داد که میانگین فاصله ژنتیکی K2P بین جمعیت‌های مورد مطالعه ۱/۶۸-۰/۶۹ است که براساس معیارهای ژنتیکی برای تفکیک گونه‌ای اندک است. همچنین دارنگاره ترسیم شده و شبکه هاپلوتایپی تمامی جمعیت‌های مورد بررسی را هاپلوتایپ‌های گونه *P. gorlap* نشان داد.

واژه‌های کلیدی:

گاوماهیان، دریای خزر، ژن سیتوکروم اکسیداز، آرایه‌شناسی

۱ | مقدمه

گاوماهیان (Gobiidae) از بزرگترین خانواده‌های ماهیان با ۱۳۵۹ گونه در ۱۸۹جنس هستند که در آب‌های شیرین، لب‌شور و سیستم‌های دریایی به‌ویژه در مناطق گرمسیری حضور دارند (Nelson *et al.*, 2016). اعضای این خانواده معمولاً ارزش تجاری کمی دارند و دسترسی به نمونه‌های آن دشوار است، از این‌رو کمتر مورد مطالعه قرار گرفته‌اند (Bogutskaya *et al.*, 2013). این ماهیان نقش مهمی در اکوسیستم‌های آبی ایفا می‌کنند. به‌عنوان مثال، منابع غذایی و یا رقیب غذایی بسیاری از گونه‌های مهم اقتصادی هستند (Corkum *et al.*, 2004). اگرچه گونه‌های متنوعی از گاوماهیان در حوضه دریای خزر یافت می‌شوند، ولی اعتبار گونه‌ای بسیاری از آن‌ها هنوز براساس مطالعات مولکولی تأیید نشده است (Eagderi *et al.*, 2016). قدیمی‌ترین زیرخانواده گاوماهیان، Benthophilinae است که شامل گروه‌های Neogobiini، Benthophilini و Ponticolini می‌باشد (Nelson *et al.*, 2016). گونه‌های Ponticolini در منطقه پونتوکاسپین (PontoCaspian) شامل *Ponticola. bathybius*، *P. cephalargoides*، *P. constructor*، *P. cyrius*، *P. eurycephalus*، *P. geobelli*، *P. gorlap*، *P. iranicus*، *P. kessleri*، *P. platyrostris*، *P. rattan*، *P. rhodioni* و *P. syrman* است (Neilson and Stepien, 2009; Esmaeili *et al.*, 2018). تاکنون گونه‌های *P. bathybius*، *P. cyrius*، *P. geobelli*، *P. gorlap*، *P. iranicus* و *P. syrman* از جنس *Ponticola* در حوضه جنوبی دریای خزر گزارش شده است (Esmaeili *et al.*, 2018). اعضای این جنس از لحاظ ریختی بسیار

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-09]
[DOI: 10.29252/jair.8.2.17]

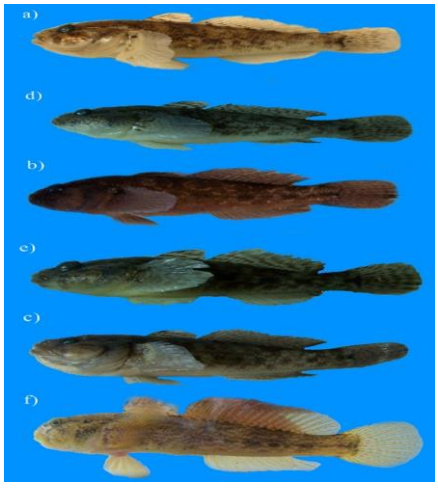
شبیه یکدیگر بوده، از این رو شناسایی آن‌ها براساس ویژگی‌های ریخت ظاهری دشوار است و این امر سبب شده برخی گونه‌های این جنس را به‌عنوان یک کمپلکس در نظر بگیرند (Eagderi *et al*., 2016).

برخی مطالعات آرایه‌شناسی روی گونه‌های جنس *Ponticola* در منطقه پونتوکاسپین انجام شده است (Neilson and Stepien, 2009)، از جمله در رودخانه‌های کوچک تالاب انزلی گونه *P. cyrius* گزارش شده است (Ahnelt and Holcik, 1996)، ولی عبدلی و رحمانی (Abdoli and Rahmani, 2001) جمعیت‌های ساکن رودخانه‌های حوضه جنوبی دریای خزر را گونه *Neogobius flaviatilis* بیان داشتند. به‌علاوه کریمیان (Karimian, 2013) جمعیت رودخانه‌های زرین‌گل و کبودوال را گونه *N. pallasi* معرفی کرده است. اخیراً وجود تنوع بالایی از جنس *Ponticola* در حوضه جنوبی دریای خزر گزارش و گونه *P. iranicus* از بخش غربی حوضه جنوبی دریای خزر توصیف شده است (Vasil'eva *et al*., 2015). گونه *P. gorlap* توسط کسلر (Kessler, 1874) از دریای خزر توصیف شد و بین جمعیت‌های دریای خزر و سیاه این گونه تفاوت‌هایی بین تعداد شعاع‌های باله سینه‌ای و فاصله نسبی پوزه تا مخرج و مخرج تا نوک باله دمی را گزارش نمودند. گونه *P. gorlap* به‌دلیل رنگ زرد بدن، نداشتن برآمدگی، سر تقریباً مثلثی شکل و نداشتن الگوی خال‌دار روی گونه و پایه باله سینه‌ای از گونه *P. kessleri* متمایز شناخته شد (Berg, 1949). به‌دلیل این تفاوت‌ها برگ (Berg, 1949) گونه *P. gorlap* را به‌عنوان زیر گونه *P. kessleri* در نظر گرفت. گونه *P. gorlap* کف‌زی بوده و در آب‌های شور، شیرین و نیمه‌شور دریای خزر ساکن است. در دریای خزر اعضای این گونه در سواحل روی بستر صخره‌ای یا شنی، از عمق ۱-۰/۵ متری تا عمق تقریبی ۲۰-۱۰ متری حضور دارند و تعداد کمی از آن‌ها نیز در دریای باز (آب‌های عمیق) یافت می‌شوند (Ragimov, 1965, 1968, 1976). در رودخانه سفیدرود این گونه در مناطق کوهستانی با آب‌های تقریباً تمیز ساکن هستند و در مناطق میانه و پائین‌دست رودخانه‌ها وجود ندارند (Derzhavin, 1926). در رودخانه‌های کوچک تالاب‌انزلی این گونه در نواحی پائین‌دست با جریانی آهسته و بستری رسی یافت می‌شود. همچنین در رودخانه سیاه‌درویشان که رودی با جریان شدید و جنس بستر قلوه سنگی است نیز گزارش شده است (Ahnelt and Holcik, 1996).

باتوجه به تنوع بالای ویژگی‌های ریختی اعضای جنس *Ponticola* در حوضه جنوبی دریای خزر، برای درک بهتر وضعیت آرایه‌شناختی جمعیت‌های گاوماهیان رودخانه‌های مختلف آن نیاز است که از سایر مارکرها از جمله تکنیک DNA barcoding استفاده شود. توالی ژن میتوکندریایی COI به‌عنوان یک مارکر قوی در شناسه‌گذاری (Barcoding) و آرایه‌شناسی اغلب ماهیان مورد استفاده قرار گرفته است. از این‌رو این مطالعه با هدف بررسی وضعیت آرایه‌شناختی گاوماهیان شش رودخانه حوضه جنوبی دریای خزر که ابهاماتی در وضعیت آرایه‌شناسی آن‌ها براساس مطالعات قبلی وجود دارد، براساس ژن سیتوکروم اکسیداز (COI) به اجرا درآمد.

۲ | مواد و روش‌ها

نمونه‌های گاوماهیان از رودخانه‌های کسلیان (قائم‌شهر)، بابلرود، سفیدرود (دو جمعیت شاخه فرعی رود بیجار و کیسوم)، سیاهرود (قائم‌شهر)، تجن (ساری) و زرین‌گل (علی‌آباد کتول) توسط دستگاه الکتروشوکر از هر رودخانه صید (شکل۱ و جدول ۱) و تعداد ۳ نمونه در اتانول ۹۶٪ تثبیت شد و سپس طی دو مرحله با فاصله زمانی ۱۲ ساعت عملیات تعویض اتانول انجام شد. به‌علاوه تعداد ۳۰-۱۰ نمونه از هر جمعیت برای شناسایی ریختی آن‌ها براساس کلیدهای شناسایی در فرمالین فسفاته بافری ۱۰٪ تثبیت شد.



شکل ۱- نمای جانبی برخی نمونه‌های مورد مطالعه گاوماهی‌های در رودخانه‌های (a) سیاهرود، (b) زرین گل، (c) بابلرود، (d) تجن، (e) کیسوم و (f) بیجار

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-09]

[DOI: 10.29252/jair.8.2.17]

جدول ۱ - مشخصات ایستگاه‌های نمونه‌برداری جمعیت‌های مختلف گونه *P. gorlap*

ردیف	ایستگاه	شناسه	عرض جغرافیایی	طول جغرافیایی	ارتفاع (m)
۱	زرین گل	علی‌آباد کتول	36°53′2.52″N	54°57′06.66″E	۲۷۶
۲	بابلرود	بابل	36°29′38.49″N	52°41′10.55″E	۰
۳	تجن	ساری	36°31′19.83″N	53°05′22.66″E	۶۵
۴	سفیدرود	بیجار	37°00′50.47″N	49°38′11.60″E	۸۸
۵	سفیدرود	کیسوم	37°07′16.96″N	49°44′08.14″E	۵۱
۶	سیاهرود	قائمشهر	36°26′35.09″N	52°53′47.99″ E	۳۹
۷	کلسیان	قائمشهر	36°12′19.1″N	53°00′56.0″E	۴۷۰

استخراج DNA با استفاده از روش بهینه‌شده فنل-کلروفروم صورت گرفت. در این روش قطعه باله سینه‌ای سمت راست در بافر استاندارد STE به‌همراه پروتئیناز K به‌مدت ۲۴ ساعت هضم و سپس خالص‌سازی با استفاده از فنل و کلروفرم انجام شد. پس از رسوب و شستشوی DNA با الکل، DNA در آب مقطر حل شد. کیفیت DNA استخراج شده توسط ژل آگارز ۱٪ و کمیت آن توسط دستگاه نانودراپ مورد سنجش قرار گرفت. به‌منظور تکثیر ژن COI از یک جفت پرایمر رفت و برگشت (FishF1: 5'TCAACCAACCACAAAGACAT TGGCAC3' و FishR1: 5'TAGACTTCTGGGTGGCCA AAGAATCA3') استفاده شد (Ward *et al*., 2005).

برای انجام واکنش PCR براساس دستورالعمل شرکت سازنده پرایمرها (Thermo Scientific) از ۵۰ µL محلول PCR شامل ۲۵ µL محلول Taq 2X Mastermix red، مقدار ۱ µL از هر پرایمر با غلظت ۱۰ pM، مقدار ۵ µL از DNA الگو و ۱۸ µL آب مقطر یونیزه شده درون میکروتیوپ ۲۰۰ µL استفاده شد. شرایط دمایی واکنش زنجیره‌ای پلیمراز شامل یک چرخه ۱۰ دقیقه‌ای واسرشته‌سازی اولیه در دمای ۹۴°C و ۳۰ چرخه یک دقیقه‌ای با دماهای ۹۴، ۵۸/۵ و ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌ترتیب برای واسرشته‌سازی، اتصال پرایمر و تکثیر و در نهایت یک چرخه‌ی ۵ دقیقه‌ای در دمای ۷۲°C به‌منظور بست نهایی انجام شد. به‌منظور اطمینان از تکثیر ناحیه مورد نظر ۵ میکرولیتر از محصول PCR روی ژل آگارز یک درصد الکتروفورز و توسط اتیدیوم بروماید رنگ‌آمیزی گردید و سپس برای مشاهده باندهای حاصل از تکثیر قطعه مورد نظر، در معرض تابش UV قرار داده شد.

به‌منظور توالی‌یابی قطعه مورد نظر، ابتدا محصول PCR توسط کیت خالص‌سازی بایونیر (Bioneer, Inc, Daejeon, Korea) خالص شد و سپس جهت توالی‌یابی به شرکت ماکروژن کره جنوبی (Macrogen, Inc, Daejeon, Korea) ارسال گردید. قطعات تکثیر شده از دو جهت مستقیم و معکوس توالی‌یابی شدند.

توالی‌ها با استفاده از نرم‌افزار Bioedit 7.1.3 ویرایش (Hall, 1999) و عملیات روی‌هم‌گذاری توالی‌های ژن COI با استفاده از نرم‌افزار ClustalX 1.83 انجام شد. به‌منظور یافتن توالی‌های مشابه برای استفاده در ترسیم درخت تبارزایی، توالی‌های به‌دست آمده با استفاده از جستجوی Blast در بانک ژن NCBI با سایر توالی‌های موجود مقایسه و توالی‌های دیگر این جنس از بانک ژن استخراج شد (جدول ۲). مدل تکاملی نیز با استفاده از نرم‌افزار IQ-TREE$_{1.6.0}$ انتخاب شد (Kalyaanamoorthy *et al*., 2017). برای بررسی روابط شجره‌شناسی به روش Bayesian Inference از نرم‌افزار MrBayes$_{3.1.2}$ با تکرار ۱۰ میلیون نسل (Ronquist *et al*., 2012) و برای ترسیم دارنگاره Maximum Likelihood از نرم‌افزار IQ-TREE$_{1.6.0}$ با ۱۰۰۰ تکرار استفاده شد (Hoang *et al*., 2018). برای تعیین فاصله ژنتیکی براساس K2P و نرم‌افزار MEGA$_6$ برای مقایسه بین آرایه‌ها استفاده شد (Kumar *et al*., 2008). همچنین برای ترسیم دارنگاره‌های ایجاد شده نیز از نرم‌افزار FigTree$_{1.4.2}$ استفاده گردید (Rambaut, 2015). تعیین برون‌گروه (Outgroup) براساس مطالعات پیشین (Neilson and Stepien, 2009)، گونه *Babka gymnotrachelus* با شماره دسترسی KM373669 انتخاب شد.

رابطه بین پراکنش جغرافیایی و تنوع ژنتیکی جمعیت‌های مورد مطالعه براساس آزمون مانتل (Mantel test) در نرم‌افزار Past براساس معیار Jukes-Cantor مورد بررسی قرار گرفت. به‌منظور رسم شبکه هاپلوتایپی و نمایش روابط هاپلوتایپ‌های به‌دست آمده از نرم افزار Network$_{5.0.0.3}$ براساس الگوریتم Median-Joining (MJ) استفاده شد. در واقع شبکه هاپلوتایپی نشان دهنده روابطی است که در درخت ML نشان داده می‌شود ولی در گراف شبکه جزئیات بیشتری را می‌توان دید.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-09]

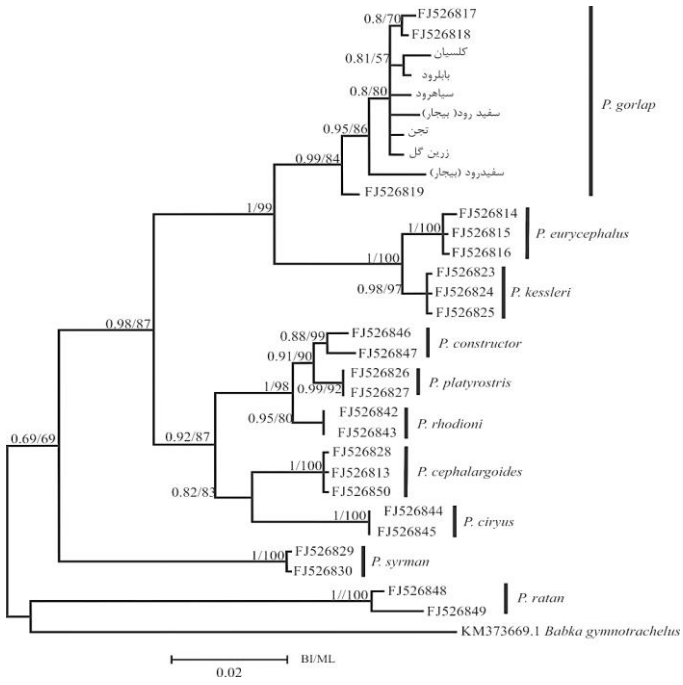
[DOI: 10.29252/jair.8.2.17]

جدول ۲ - نام علمی، شماره دسترسی بانک ژن و موقعیت مکانی توالی‌های دانلود شده از بانک ژن

شماره	گونه	شماره دسترسی	موقعیت مکانی	شماره	گونه	شماره دسترسی	موقعیت مکانی
۱	*P. cephalargoides*	FJ526828	تنگه کرچ، اوکراین	۱۳	*P. gorlap*	FJ526819	دریای خزر، لنکران، آذربایجان
۲	*P. cephalargoides*	FJ526813	خلیج رودخانه دنستر، اوکراین	۱۴	*P. kessleri*	FJ526823	رودخانه دنستر، اوکراین
۳	*P. cephalargoides*	FJ526850	خلیج رودخانه دنستر، اوکراین	۱۵	*P. kessleri*	FJ526824	سمفروپول، اوکراین
۴	*P. ciryus*	FJ526844	رودخانه آراگوی، گرجستان	۱۶	*P. kessleri*	FJ526825	رودخانه دانوب، سیبری
۵	*P. ciryus*	FJ526845	رودخانه پتسا، گرجستان	۱۷	*P. platyrostris*	FJ526826	کرچ، اوکراین
۶	*P. constructor*	FJ526846	رودخانه خوبی، گرجستان	۱۸	*P. platyrostris*	FJ526827	کرچ، اوکراین
۷	*P. constructor*	FJ526847	رودخانه اتپ، گرجستان	۱۹	*P. ratan*	FJ526848	دریای آزو، اوکراین
۸	*P. eurycephalus*	FJ526814	خلیج ادسا، اوکراین	۲۰	*P. ratan*	FJ526849	دریای آزو، اوکراین
۹	*P. eurycephalus*	FJ526815	خلیج سوخی، اوکراین	۲۱	*P. rhodioni*	FJ526842	بارانوکا، روسیه
۱۰	*P. eurycephalus*	FJ526816	خلیج ادسا، اوکراین	۲۲	*P. rhodioni*	FJ526843	رودخانه خروتا، روسیه
۱۱	*P. gorlap*	FJ526817	الیوکا، روسیه	۲۳	*P. syrman*	FJ526829	رودخانه دانوب، اوکراین
۱۲	*P. gorlap*	FJ526818	دریای خزر، نابران، آذربایجان	۲۴	*P. syrman*	FJ526830	رودخانه دانوب، اوکراین

۳ | نتایج

در این مطالعه توالی زیر واحد ژن سیتوکروم اکسیداز (COI) برای ۲۱ نمونه از ۷ جمعیت صیدشده از شش رودخانه متعلق به جنس *Ponticola* به‌طول ۶۳۸ جفت باز به‌دست آمد، که به‌دلیل تشابه توالی‌های هر جمعیت، تنها یکی از آن‌ها برای آنالیزها مورد استفاده قرار گرفت. نام گونه و شماره دسترسی گونه‌های جنس *Ponticola* موجود در حوضه پنتوکاسپین (شامل حوضه‌های دریای‌های سیاه، آزوف، خزر و آرال است) استخراج شده از ژن بانک در جدول ۱ آورده شده است. براساس نتایج، مدل تکاملی $TIM_2+F+I+G_4$ برای توالی‌های این تحقیق پیشنهاد شد و هر دو دارنگاره ترسیم‌شده با استفاده از روش‌های Maximum Likelihood و Bayesian Inference دارای توپولوژی یکسان بودند. به‌همین دلیل تنها دارنگاره Bayesian انتخاب و اعداد بوت‌استرپ ML و احتمال پیشین BI حاصل از هر دو درخت روی گره‌ها درج شد (شکل ۲). براساس دارنگاره‌های ترسیم شده، گونه‌های جنس *Ponticola* در شش کلاد خواهری شامل یک کلاد هاپلوتایپ‌های *P. gorlap*، قرار گرفتند و اعتبار گونه‌ای آن‌ها با عدد بوت استرپ بالا تأیید شد.



شکل ۲- دارنگار ترسیم شده به روش BI و ML. شماره دسترسی نمونه‌های بانک ژن در جلوی آنها نوشته شده است، اعداد بالای گره‌ها در سمت راست، عدد Bootstrap به‌دست آمده برای ML حدود ۱۰۰۰ تکرار و عدد سمت چپ احتمال پیشین برای BI ۱۰ میلیون نسل محاسبه شد.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-09]

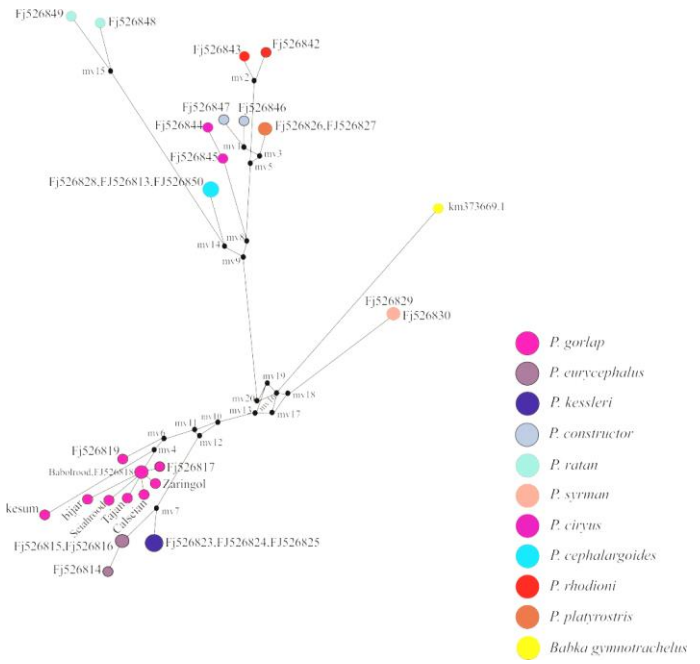
[DOI: 10.29252/jair.8.2.17]

براساس نتایج، میانگین فاصله ژنتیکی K_2P بین جمعیت‌های مورد مطالعه گونه *P. gorlap* در محدوده ۱/۶۸-۰/۶۹ درصد محاسبه شد (جدول ۳). نتایج آزمون مانتل (Mantel test) بین داده‌های مولکولی و جغرافیایی گونه‌های مورد مطالعه همبستگی معنی‌داری را نشان نداد (R=۰/۰۷۸۳ و P=۰/۱۸۷۲).

جدول ۳ - میانگین فاصله ژنتیکی K2P در بین گونه‌های مورد مطالعه بر اساس درصد تمایز توالی ژن COI

ردیف	آرایه‌ها	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹
۱	*P. ciryus*									
۲	*P. gorlap*	۷/۰۴								
۳	*P. syrman*	۹/۶۸	۸/۵							
۴	جمعیت رودخانه سیاهرود	۷/۷۶	۰/۹۰	۸/۶۶						
۵	جمعیت رودخانه سفیدرود (بیجار)	۷/۳۶	۱/۰۲	۸/۶۶	۰/۹۶					
۶	جمعیت رودخانه کلسیان	۷/۹۵	۱/۰۷	۸/۸۵	۰/۷۹	۱/۱۲				
۷	جمعیت رودخانه سفیدرود (کیسوم)	۷/۳۸	۱/۶۸	۸/۰۵	۱/۶۲	۱/۹۵	۱/۷۸			
۸	جمعیت رودخانه تجن	۷/۵۶	۰/۷۴	۸/۴۵	۰/۴۷	۰/۷۹	۰/۶۳	۱/۴۵		
۹	جمعیت رودخانه زرین‌گل	۷/۳۸	۰/۶۹	۸/۲۶	۰/۶۳	۰/۶۳	۰/۷۹	۱/۶۲	۰/۴۷	
۱۰	جمعیت رودخانه بابلرود	۷/۳۶	۰/۶۹	۸/۲۴	۰/۶۳	۰/۶۳	۰/۴۷	۱/۶۲	۰/۴۷	۰/۳۲

براساس نتایج، شبکه هاپلوتایپی ترسیم‌شده ۲۰ گره میانی را نشان داد و از مجموع ۷ جمعیت گاوماهی مورد مطالعه، تعداد ۶ هاپلوتایپ یافت شد (شکل ۳). در مجموع شاخص تنوع هاپلوتایپی (Hd) ۰/۹۷۹۸ محاسبه شد. هاپلوتایپ‌های رودخانه‌های کلسیان، بابلرود، سفیدرود (شامل دو جمعیت بیجار و کیسوم)، سیاهرود، تجن و زرین‌گل در کنار هاپلوتایپ‌های *P.gorlap* قرار گرفتند. جمعیت بابلرود و هاپلوتایپ *P. gorlap* (FJ526818) با یکدیگر و هر دو این هاپلوتایپ‌ها با اتصالات جهشی در کنار شش هاپلوتایپ دیگر (FJ526817)، کسلیان، سیاهرود، تجن، زرین‌گل، بیجار و کیسوم) قرار دارند. هاپلوتایپ‌هایی که اتصالات جهشی با بیش از یک هاپلوتایپ دارند و معمولاً اندازه دایره بزرگ‌تری (فراوانی زیاد) دارند، هاپلوتایپ اجدادی نمونه‌های بابلرود و نابران آذربایجان مشخص شدند (Posada and Crandall, 2001). جمعیت کیسوم رودخانه سفیدرود نسبت به مابقی جمعیت‌ها دیرتر جدا شده و به هاپلوتایپ *P. gorlap* (FJ526819) نزدیک‌تر می‌باشد.



شکل ۳- شبکه هاپلوتایپی ترسیم‌شده برای ژن COI نمونه‌های مورد بررسی. اندازه دایره‌ها نشان‌دهنده فراوانی هاپلوتایپ‌هاست. بردارهای میانی (mv) بیان‌کننده از دست رفتن یا عدم حضور هاپلوتایپ است که با نقاط سیاه کوچک نشان داده شده است.

۴ | بحث و نتیجه‌گیری

توالی ژن COI میتوکندریایی به‌طور گسترده در مطالعات آرایه‌شناسی ماهیان مورد استفاده قرار می‌گیرد، زیرا تغییرات آن نسبت به DNA هسته‌ای بسیار سریع‌تر بوده و در نتیجه توانایی بیشتری در بیان اختلافات بین گونه‌های نزدیک دارد (Ward *et al.*, 2005). به‌دلیل

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-09]
[DOI: 10.29252/jair.8.2.17]

شباهت ریختی بالای اعضای جنس *Ponticola* نه تنها شناسایی جمعیت‌های مختلف یک گونه، بلکه جدایی گونه‌های این جنس براساس کلیدهای شناسایی تعریف‌شده دشوار است (Vasil'eva *et al*., 1993; Miller and Vasil'eva *et al*., 2015; Eagderi *et al*., 2016). از طرفی بررسی وضعیت دقیق آرایه‌شناسی جمعیت‌ها و گونه-های مختلف گاوماهیان در رودخانه‌های حوضه جنوبی خزر تاکنون انجام نشده است.

براساس تحقیقات قبلی میزان تمایز ژنتیکی در بین راسته، جنس، گونه و حتی درون جمعیت‌های گونه‌های مختلف ماهیان متفاوت بوده و مقدار عدد ثابتی نیست. در مطالعات گذشته فاصله ژنتیکی بین گونه‌ای ۲-۰/۲۷ درصد گزارش شده است (Ward *et al*., 2005; Hubert *et al*., 2008; Geiger *et al*., 2014). در منطقه مدیترانه این مقدار حدود ۲٪ گزارش شده است (Geiger *et al*., 2014). نمونه‌های مورد مطالعه در تحقیق حاضر نیز جزء منطقه پنتوکاسپین می‌باشد چراکه براساس مطالعات رید و اورلوا (Reid and Orlova, 2002) دریاهای مدیترانه و سیاه، راه ارتباطی با دریای خزر داشته و همچنین فون ماهیان دریای خزر و سیاه شباهت‌های زیادی دارند، از این رو تصمیم-گیری بر پایه فاصله ژنتیکی ۲٪ (Geiger *et al*., 2014) برای جدایی گونه‌های حوضه جنوبی خزر قابل اعتمادتر است. براساس نتایج، حداکثر فاصله ژنتیکی مشاهده شده بین جمعیت‌های مورد مطالعه *P. gorlap*، ۱/۶۸ درصد بود. همچنین تمامی جمعیت‌های مورد بررسی در این تحقیق در کلاد خواهری گونه *P. gorlap* قرار گرفتند. از این رو تمامی جمعیت‌های مورد مطالعه در ۶ رودخانه مورد مطالعه گونه *P. gorlap* هستند.

گونه *P. gorlap* در ایران در گستره وسیعی از رودخانه‌ها از آستارا تا گرگان‌رود و احتمالاً تا اترک، مرداب و سواحل انزلی، خلیج گرگان، جنوب شرقی و غربی خزر و جنوب بخش‌های مرکزی خزر گزارش شده است (Eagderi *et al*., 2016) که همگی براساس صفات ریختی گزارش شده‌اند و نتایج این مطالعه تأیید کننده دامنه پراکنش بالای این گونه است. در سواحل مازندران (امیرآباد، ساری، جویبار، بابلسر، سرخ‌رود، نوشهر) گونه‌های غالب گاوماهیان این منطقه را *N. pallasi* و بعد از آن *P. gorlap* تشکیل می‌دهد (Yousefi *et al*., 2016). ولی نتایج این مطالعه، آرایه‌های ریختی رودخانه‌های مورد بررسی که قبلاً به‌عنوان *N. pallasi* گزارش شده بودند را از نظر ویژگی مولکولی براساس ژن COI میتوکندریایی تماماً متعلق به گونه *P. gorlap* نشان داد و حضور *N. pallasi* در رودخانه‌های مورد بررسی تأیید نشد.

بین هاپلوتایپ‌های ماهیان نمونه‌برداری شده از ماهیان حوضه جنوبی خزر و گونه *P. gorlap* متعلق به کشورهای آذربایجان و روسیه تفاوت اندکی وجود دارد. نتایج شبکه هاپلوتایپی نشان داد که منشاء بیشتر جمعیت مورد مطالعه این گونه (*P. gorlap*) یکسان بوده و احتمالاً جمعیت‌های دریایی این گونه پس از ورود به رودخانه‌های مختلف حوضه جنوبی دریای خزر هاپلوتایپ‌های متمایزی را به‌واسطه جدایی مکانی در طی دوره تکاملی شکل داده‌اند، ولی نتایج نشان داد که برخی از جمعیت‌ها از قبیل جمعیت رودخانه سفیدرود به‌واسطه وسعت زیستگاه‌های در دسترس سبب پیدایش چندین هاپلوتایپ متنوع در مقایسه با سایر رودخانه‌های کوچک‌تر شده‌اند.

۵ | تشکر و قدردانی

این تحقیق در قالب طرح تحقیقاتی مصوب به شماره ۹۷۰۱۴۴۷۰، با حمایت‌های صندوق حمایت از پژوهشگران و فناوران کشور و دانشگاه تهران انجام شد.

پست الکترونیک نویسندگان

نسرین نیک‌مهر: nasrin_nikmehr@yahoo.com
سهیل ایگدری: soheil.eagderi@ut.ac.ir
هادی پورباقر: poorbagher@ut.ac.ir
آرمین یوسفی: soheil.eagderi@yahoo.com

REFERENCES

Abdoli A., Rahmani H. 2001. Assay diet of two gobiidae species *Neogobius melanostomus*, *Neigibius fauviatilis* in Gardasht National Park, Madsaroo. Agricultural Sciences and Natural Resources, 1: 3-15. (In Persian).

Ahnelt H., Holcik J. 1996. Distribution of two species of the genus *Neogobius* (Pisces: Gobiidae) in the catchment area of the southern Caspian Sea. Acta Universitatis Carolinae Biologica, 40(1-2): 99-114.

Berg L.S. 1949. Freshwater Fishes of the USSR and Adjacent Countries. Vol. 3, Izdatel'vesto Akademii Nauk SSSR, Moscow, Russia. 510 P.

Bogutskaya N.G., Kiâško P.V., Naseka A.M., Orlova M.I. 2013. Identification keys for fish and invertebrates of the Caspian Sea. Vol. 1, Fishes and mollusks. Tovarišestvo naučnyh izdanij KMK, Sankt-Peterburg–Moskva, Russia…543.P.

Corkum L.D., Sapota M.R., Skora K.E. 2004. The round Goby, *Neogobius melanostomus*, a fish invader on both sides of Atlantic Ocean. Biological Invasions, 6: 173-181.

Derzhavin A.N. 1926. Fishes of the Karasuk River. Izvestiya Bakinskoi Ikhtiologicheskoi Laboratorii, 2(1):161-184. (In Russian).

Eagderi S., Nasri M., Jouladeh-Roudbar A. 2016. Gobiids of Iran and a key to them. Ava Viana Publication Co., Tehran, Iran. 74 P. (In Persian).

Esmaeili H.R., Sayyadzadeh G., Eagderi S., Abbasi K. 2018. Checklist of freshwater fishes of Iran. FishTaxa, 3(3): 1-95.

Geiger M.F., Herder F., Monaghan M.T., Almada V., Barbieri R., Bariche M., Denys G.P. 2014. Spatial heterogeneity in the Mediterranean Biodiversity Hotspot affects barcoding accuracy of its freshwater fishes. Molecular Ecology Resources, 14(6): 1210-1221.

Hall T.A. 1999. Bioedit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows95/98/NT. Nucleic Acids Symposium Series, 41: 95-98.

Hoang D.T., Chernomor O., Von Haeseler A., Minh B.Q., Vinh L.S. 2018. UFBoot2: Improving the ultrafast

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-09]

[DOI: 10.29252/jair.8.2.17]

bootstrap approximation. Molecular Biology and Evolution, 35(2): 518-522.

Hubert N., Hanner R., Holm E., Mandrak E., Taylor E., Burridge M., Watkinson D., Dumont P., Curry A., Bentzen P., Zhang J. 2008. Identifying Canadian freshwater fishes through DNA barcodes. PLoS One, 3(6): 1-8.

Kalyaanamoorthy S., Minh B.Q., Wong T.K.F., von Haeseler A., Jermiin L.S. 2017. ModelFinder: Fast Model Selection for Accurate Phylogenetic Estimates. Nature Methods, 14: 587-589.

Karimian E. 2013. Comparison of some morphometric and dynamical characteristics of sand gobies *Neogobius pallasi* (Berg, 1916) in the streams of Kaboodvall, Zarigel and Shiraz Golestan. Applied Ichthyological Research, 1(2): 11-26.

Kessler K.F. 1874. The description of fishes from families common on the Black and Caspian seas. Trudy Saint Petersburg Obshchestva, 5:191-324. (In Russian).

Kumar S.A., Lo P.H., Chen SH.M. 2008. Electrochemical selective determination of ascorbic acid at redox active polymer modified electrode derived from direct blue 71. Elsevier, 41: 518-523.

Miller P.J., Vasil′eva E.D. 2003. *Neogobius* Iljin, 1927. In: Miller PJ (Eds.). The freshwater fishes of Europe. Vol. 8/I. Mugilidae, Atherinidae, Atherinopsidae, Blenniidae, Odontobutidae, Gobiidae 1. AULA-Verlag, Wiebelsheim, Germany. pp:163-171

Neilson M.E., Stepien C.A. 2009. Escape from the Ponto–Caspian: Evolution and biogeography of an endemic goby species flock (Benthophilinae: Gobiidae: Teleostei). Molecular Phylogenetics and Evolution, 52(1): 84-102.

Nelson J.S., Grande T.C., Wilson M.V.H. 2016. Fishes of the World. 3rd ed. Wiley, New York, USA. 707 P.

Posada D., Crandall K.A. 2001. Intraspecific gene genealogies: trees grafting into networks. Trends in Ecology & Evolution, 16(1): 37-45.

Ragimov D.B. 1965. On the distribution of gobies at the west coast of the Middle and South Caspian. Doklady Akademii Nauk Azerbaijan SSR, 21(12): 47-50 (In Russian).

Ragimov D.B. 1968. The distribution of gobies at the west coasts of the Middle and South Caspian. Doklady Akademii Nauk Azerbaijan SSR, 4: 66-74 (In Russian).

Ragimov D. B. 1976. Materials on distribution and abundance of gobies at the east coasts of the Middle and South Caspian. Doklady Akademii Nauk Azerbaijan SSR, 2: 83-87 (In Russian).

Rambaut A. 2015. FigTree version1.4.0. Available at http://tree.bio.ed.ac.uk/ software/ figtree.

Reid D.F., Orlova M.I. 2002. Geological and evolutionary underpinnings for the success of Ponto-Caspian species invasions in the Baltic Sea and North American Great. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 59(7): 1144-1158.

Ronquist F., Teslenko M., van der Mark P., Ayres D.L., Darling A., Höhna S., Larget B., Liu L., Suchard M.A., Huelsenbeck J.P. 2012. MrBayes 3.2: Efficient bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. Bioanformatics, 61: 539-542.

Vasil'eva E.D., Mousavi-Sabet H., Vasil'ev V.P. 2015. *Ponticola iranicus* sp. nov. (Actinopterygii: Perciformes: Gobiidae) from the Caspian Sea basin. Acta Ichthyologica et Piscatoria, 45(2): 189-197.

Vasil′eva E.D., Vasil′ev V.P., Pinčuk V.I. [Pinchuk V.I.]. 1993. Kraniologičeskij analiz byčkov podroda Ponticola ljin, 1927. III. Sravnitel′no-morfologičeskoe issledovanie *Neogobius kessleri*, N. ratan i dopolnitelnye svedeniâ po N. syrman v svâzi s diagnostikoji ob′′ëmom podroda *Ponticola*.([Craniological analysis on gobies from the subgenus Ponticola Iljin, 1927. III. Comparative morphological investigation of *Neogobius kessleri*, N. ratan and additional data on N. syrman in relation with diagnostic and structure of the subgenus *Ponticola*). Voprosy Ikhtiologii, 33(5): 609-617. (In Russian).

Ward D., Zemlak S., Innes H., Last R., Hebert D. 2005. DNA barcoding Australia's fish species. Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Biological Sciences, 360(1462): 1847-57.

Yousefi M.R., Roushan R.H., Hosseinifard S.M. 2016. Parasitic fauna of Gobiidae in Mazandaran coastal zones, North of Iran 2011. Journal of Parasitic Diseases, 40(2): 273-276.

نحوه استناد به این مقاله:

نیک‌مهر ن.، ایگدری س.، پورباقر ه.، یوسفی آ. بررسی وضعیت آرایه‌شناسی جمعیت گاوماهیان (Teleost: Gobiidae) در شش رودخانه حوضه جنوبی دریای خزر براساس ژن سیتوکروم اکسیداز COI. نشریه پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی دانشگاه گنبدکاووس. ۱۳۹۹، ۳۴-۲۷ :(۲)۸ .

Nikmehr N., Eagderi S., Poorbagher H., Yousefi A. Taxonomic status of six populations of the Gobiids (Teleost, Gobiidae) in the southern Caspian Sea basin using COI gene. Journal of Applied Ichthyological Research, University of Gonbad Kavous. 2020, 8(2): 27-34.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-09]

[DOI: 10.29252/jair.8.2.17]

Taxonomic status of six populations of the Gobiids (Teleost, Gobiidae) in the southern Caspian Sea basin using COI gene

Nikmehr N[1]., Eagderi S[*2]., Poorbagher H[2]., Yousefi A[3].

[1]PhD student, Dept. of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran
[2]Associate Prof., Dept. of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran
[3] M.Sc. of Fisheries, Dept. of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

Type:

Original Research Paper

Paper History:

Received: 27-12-2018
Accepted: 07-04- 2019

Corresponding author:
Eagderi S. Dept. of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran.

Email: soheil.eagderi@ut.ac.ir

Abstract

Due to the high morphological similarities among populations and species of *Ponticola* genus in the southern Caspian Sea, it is difficult to identify them based on the provided keys. Molecular markers are used as a supplementary tool to a better understanding of the taxonomic status of fish species. This study was conducted to understand the taxonomic status of gobiids from six rivers (Siah, Zaringol, Babol, Tajan, Sefid vis. Bijar and Kisum populations, and Kelsian) in the southern Caspian Sea basin. The taxonomic status was studied based on DNA barcoding using mitochondrial COI gene by reconstructing phylogenetic tree based on ML and BI methods and drawing haplotype network and assessment of the geographic and genetic distances. The results showed a mean genetic distance (K2P) of 0.69-1.68 among the studied populations which is too low to consider them as distinct species based on the genetic criteria. Also, BI and ML cladograms and haplotype network showed that all populations are haplotypes of *P. gorlap.*

Keywords: Gobiidae, Caspian Sea, COI, Taxonomy

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-09]

[DOI: 10.29252/jair.8.2.17]