نشریه پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی

Journal homepage: http://jair.gonbad.ac.ir

وزارت علوم، تحقیقات و فناوری
دانشگاه گنبد کاووس

مقایسه ژنتیکی ماهی سه‌خاره *Gasterosteus aculeatus* Linnaeus, 1758 با استفاده از توالی‌یابی ژن سیتوکروم اکسیداز (COI) در خلیج گرگان (سواحل جنوبی دریای خزر) و تالاب کامارگ (سواحل شمالی دریای مدیترانه)

سیده آیناز شیرنگی

استادیار گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه و فنی مهندسی، دانشگاه گنبدکاووس، گنبدکاووس، ایران

نوع مقاله:
پژوهشی اصیل

تاریخچه مقاله:

دریافت: ۹۹/۰۸/۲۹
پذیرش: ۹۹/۱۱/۰۳

نویسنده مسئول مکاتبه:
سیده آیناز شیرنگی، استادیار گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه و فنی مهندسی، دانشگاه گنبد-کاووس، گنبدکاووس، ایران

ایمیل: ainazshirangi@gmail.com

چکیده

ماهی سه‌خاره (*G. aculeatus*) یکی از مهمترین گونه‌های مدل است که به سادگی در شرایط آزمایشگاهی پرورش می‌یابد. باتوجه به غیربومی بودن این گونه در دریای خزر و نامشخص بودن منشأ ورود آن و همچنین مجزا بودن جمعیت ماهیان سه‌خاره جنوب فرانسه در دلتای رودخانه Rhone (تالاب کامارگ) از سایر جمعیت-های اروپا و به‌ویژه مدیترانه، در این تحقیق به مقایسه ژنتیکی ماهیان سه‌خاره بین خلیج گرگان (سواحل ایران) با تالاب کامارگ (سواحل جنوب فرانسه) با استفاده از توالی‌یابی ژن COI پرداخته شد. بدین منظور، تعداد ۱۰ قطعه ماهی از هر منطقه نمونه‌برداری شد و تا زمان انجام آزمایش در الکل اتانول ۹۶٪ نگهداری شد. پس از استخراج DNA و انجام واکنش PCR با استفاده از یک جفت آغازگر سیتوکروم اکسیداز ۱ (COI)، نتایج حاصل از تعیین توالی نشان داد که قطعه تکثیر شده، ۶۸۰ جفت باز طول دارد. تعداد اندک هاپلوتایپ‌ها و تنوع اندک هاپلوتایپ-ها در هر دو منطقه مورد مطالعه نشان‌دهنده تنوع ژنتیکی پایین در آنها بود. میزان F_{ST} به‌عنوان شاخص تمایز ژنتیکی جمعیت‌ها ۰/۳۳۳ به‌دست آمد که نشان‌دهنده تمایز بالای دو جمعیت بود. با وجود فاصله ژنتیکی پایین (۰/۰۰۲) بین نمونه‌های دو منطقه براساس روش دو پارامتر کیمورا (K2P)، ترسیم درخت فیلوژنی نشان داد جمعیت ماهیان سه‌خاره خلیج گرگان و تالاب کامارگ یک زیر کلید مجزایی را تشکیل دادند. حتی گمان می‌رود این دو جمعیت دارای نیای مشترک باشند، اما به‌دلیل درجه حمایت پایین (بوت استرپ)، روابط بین کلیدها حل نشد و منشأ جمعیت ماهیان خلیج گرگان هم به درستی شناسایی نشد.

واژه‌های کلیدی:

***G. aculeatus*، دریای خزر، تالاب کامارگ، سیتوکروم اکسیداز، گونه غیربومی**

۱ | مقدمه

ماهی سه‌خاره (*G. aculateus*) یک گونه دریایی است که وارد زیستگاه‌های آب شیرین شده است و در بین جمعیت‌های مختلف ماهیان، دارای بیشترین دامنه پراکنش است. این گونه در اروپا، شمال امریکا و آسیا ساکن زیستگاه‌های اقیانوسی، ساحلی و آب شیرین می-باشد (Östlund-Nilsson, 2006). به‌طورکلی، جمعیت‌های ماهیان سه‌خاره آب شیرین از جمعیت‌های یوری هالین مهاجر مشتق شده‌اند که طی ذوب آخرین یخبندان در دریاچه‌های آب شیرین به دام انداخته شده‌اند و برخلاف اجداد دریایی خود (که نسبتاً یک شکل هستند) تنوع گسترده‌ای از مورفولوژی و رفتار ماهیان در آنها مشاهده می‌شود که طی مدت زمان بسیار کوتاه به-وجود آمده است (Bell, 1988; Sal'nikov, 1995).

آخرین عصر یخبندان بر ترکیب ژنتیکی و الگوی پراکنش ماهی سه-خاره در اروپا نیز تأثیر گذاشت و سرانجام ماهی سه‌خاره طی دوره پلیستوسن (حدود ۲/۶ میلیون سال پیش و ۱۰ هزار سال قبل از میلاد) در اروپا به‌وجود آمد (Bell and Foster, 1994; Mcphail, 1993). طی این مدت آب‌های قاره ای سراسر اروپا از جمعیت‌های دریایی مکررا و به‌طور مستقل کلونیزه شدند که باعث جداسازی جمعیت‌های متفاوت گردید. این کلونیزه شدن آب‌های قاره‌ای در جنوب اروپا و در آب‌های دریایی مدیترانه نیز اتفاق افتاده است. همچنین باعث به‌وجود آمدن پراکنش فیزیوجغرافیایی مجزایی از این گونه می‌شود که مرز بین دریای مدیترانه و دریای سیاه است. دریای مدیترانه پناهگاهی برای ماهیان سه‌خاره در دوره پالئوآرکتیک بوده است (Fishbase, 2010). مطالعات فیلوژنی و مدل‌های اقلیمی، جنوب دریای خزر را به‌عنوان پناهگاهی طی آخرین عصر یخبندان شناسایی کرده است (Parvizi *et al.*, 2018; Leroy and Arpe, 2007). ازطرف دیگر، این‌گونه یکی از گونه‌های غیربومی حوضه جنـوبی دریای خزر نیز می‌باشد. منشأ ورود آن

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-14]

[DOI: 10.22034/jair.8.4.36]

© ۱۳۹۹ | دانشگاه گنبدکاووس

E-proof

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-14]

[DOI: 10.22034/jair.8.4.36]

شناخته شده نیست، اما وجود ردیف کامل صفحات جانبی احتمال منشا دریایی را تقویت می‌کند (Bell, 2001).

اولین حضور این‌گونه در خزر جنوبی مربوط به سال ۱۹۹۱ است که در منطقه بهشهر مشاهده گردید. گزارشات نشان داد که این گونه از سواحل جنوب شرق تا جنوب غرب دریای خزر (سواحل بهشهر، رودخانه تجن، قسمت پایین‌دست گرگان‌رود و خلیج گرگان، قره سو، بندرترکمن، تالاب گمیشان، پایین‌دست بابل‌رود، هراز، چالوس، تنکابن، لنگرود، تالار، شیرود، شفارود، تالاب انزلی و ساحل آستارا) یافت می‌شود. تعداد زیادی از این ماهیان دریای خزر را ترک کرده، به رودخانه اترک در ترکمنستان می‌روند (Abdoli, 1993a,b).

ماهیان سه‌خاره، سازگاری قابل‌توجه مورفولوژیک، فیزیولوژیک و رفتاری زیادی در مدت‌زمان کوتاه دارند و تنوع بالایی در رنگ، فرم بدن، تعداد خارها و تعداد صفحات جانبی در این ماهیان دیده می‌شود (Barrett *et al.*, 2011). این تنوع به نحوه‌ی زندگی، تغذیه، زیستگاه و تولیدمثل بستگی دارد. برخی از این تغییرات به‌دلیل عوامل محیطی می‌باشند درحالی‌که برخی دیگر براساس عوامل ژنتیکی می‌باشند (Coad, 2015). در بسیاری از مطالعات فیلوجغرافیایی، mtDNA به‌دلیل سرعت جهش بالا و عدم وجود نوترکیبی در آن به‌عنوان نشانگر منتخب به‌کار می‌رود (Mäkinen and Merilä, 2008). اکثر محققین اعتقاد دارند از میان ژن‌های مختلف میتوکندریایی، ژن سیتوکروم اکسیداز۱ (COI) یک ژن محافظت شده است و برای مطالعات تاکسونومیکی وفیلوژنتیکی به‌طور گسترده مورد استفاده قرار می‌گیرد (Gharibkhani *et al.*, 2010). توالی COI، علاوه بر تفکیک گونه‌های نزدیک، می‌تواند گروه‌های زیر سطح گونه را نیزجدا کند (Hebert *et al.*, 2003).

تاکنون مطالعات متعددی بر روی ماهیان سه‌خاره در جنوب دریای خزر انجام شده است اما بیشتر آنها به بررسی ویژگی‌های مورفولوژیک و دوشکلی جنسی آنها معطوف شده است (Ghasemzadeh, 2006; Alali, 2006; Patimar *et al.*, 2010). تنها مطالعه مولکولی بر روی این گونه در حوزه جنوبی دریای خزر توسط ایزدی (Izadi, 2020) انجام شده است که علاوه بر مطالعه رشد و صفات مورفولوژیکی ماهی سه‌خاره به بررسی آن به روش توالی‌یابی ژن سیتوکروم b نیز پرداخته است. برخلاف مطالعات بسیار اندک مولکولی بر جمعیت ماهیان سه‌خاره در سواحل ایران، مطالعات مولکولی بسیار جامعی بر این گونه ماهیان در کل آب‌های دنیا انجام شده است (Watanabe *et al.*, 2003; Mäkinen *et al.*, 2006; Mäkinen and Merilä, 2008, Araguas *et al.*, 2012, Drevecky *et al.*, 2013; Lescak *et al.*, 2015; Rezansoff *et al.*, 2015; Fang *et al.*, 2018). از طرف دیگر، مطالعات پیشین بر روی جمعیت ماهیان سه‌خاره در جنوب فرانسه، بالادست رودخانه Rhone (سواحل شمالی دریای مدیترانه) نشان داده است که آنها در فاصله ژنتیکی زیادی از سایر جمعیت‌های مدیترانه قرار دارند و با سایر جمعیت‌های اروپا بسیار متمایز هستند (Mäkinen *et al.*, 2006; Mäkinen and Merilä, 2008; Fang *et al.*, 2018). بیشتر مطالعات انجام شده بر روی تکامل سریع ماهی سه‌خاره و سازگاری به آب شیرین به جمعیت‌های شمالی معطوف شده است درحالی‌که هیچ مطالعه جالب توجهی در جمعیت‌های جنوب اروپا به‌ویژه دریای مدیترانه که محدوده جنوبی دامنه پراکنش ماهی سه‌خاره را در پالئوآرکتیک غربی تشکیل می‌دهد انجام شده است، همچنین در جنوب دریای مدیترانه جمعیت‌های ماهی سه خاره با شیب تندی کاهش یافته است.

پراکنش جغرافیایی گسترده، میزان بالای تنوع مورفولوژیک، فیزیولوژیک و رفتاری و دسترسی منابع ژنومی وسیع ماهی سه‌خاره را به یک گونه کاندید ایده‌آل برای آنالیزهای بیوجغرافیایی، زیست شناسی تکامل، فیزیولوژی، ژنتیک جمعیت و مطالعات ژنومیک مقایسه‌ای تبدل کرده است (Orti 1994; Mckinnon and Rundle, 2002; Gibson, 2005; Fang *et al.*, 2018). علی‌رغم اهمیت‌های فوق در مورد این گونه، تاریخچه کلونیزه شدن آنها در آب‌های مختلف باید به‌طور کامل حل شود. باتوجه به اینکه پیشنهاد شده است ماهی سه‌خاره ازآب‌های اروپا وارد آب‌های ایران شده است (Fishbase, 2010). از طرفی، شناسایی منشأ یک گونه مهاجم یا معرفی شده از اولویت‌های بسیار مهم در زمینه زیست‌شناسی حفاظت است و به‌منظور مدیریت مؤثر گونه‌های معرفی شده باید مکانیسم کلونیزه شدن آنها را بشناسیم. همچنین لازم است از پایه ژنتیکی سازگاری بسیار سریع این گونه در آب‌های شیرین به‌ویژه در جنوب اروپا گره گشایی شود. بنابراین، تحقیق حاضر به‌منظور مقایسه ژنتیکی جمعیت با ماهیان سه‌خاره جنوب دریای خزر با جمعیت اروپا انجام شد.

۲ | مواد و روش‌ها

در بهمن‌ماه و اسفندماه ۱۳۹۷ تعداد ۱۰ قطعه ماهی سه‌خاره از خلیج گرگان در جنوب شرق دریای خزر (سواحل شمال ایران) و ۱۰ نمونه از تالاب کامارگ در شمال دریای مدیترانه (سواحل جنوب فرانسه) با استفاده از تور دستی صید (شکل۱) و در اتانول مطلق تثبیت شدند. سپس، جهت انجام کارهای آزمایشگاهی به آزمایشگاه اکولوژی ماهیان دانشگاه گنبدکاووس انتقال یافتند. خلیج گرگان دارای میانگین عمق ۱/۵ متر و حداکثر عمق ۳/۶ متر می‌باشد. شوری آب حدود ppt ۵/۱۳-۱۲ می‌باشد. درجه حرارت در ماه بهمن ۱۰-۸، فروردین ۱۴-۱۲ و آبان ۱۶-۱۵ درجه سانتی‌گراد است (Sharbati and Shabani, 2015) (شکل۱). تالاب کامارگ در دلتای رودخانه رون در سواحل دریای مدیترانه در فرانسه واقع شده است. در زمستان عمق آب این تالاب به ۲۰ سانتی متر تا ۱ متر می‌رسد حداکثر عمق آن حدود ۲ متر اما میانگین آن کمتر از ۱متر است (Verhoeven, 1980). شوری آب به‌طورکلی کمتر از ppt ۵ است اما ممکن است در هنگام خشکی به‌طور قابل توجهی بالاتر رود. سطح آب تالاب کامارگ در طول سال نسبتاً ثابت است. میانگین دمای هوا در ماه‌های دی و بهمن که سردترین ماه سال است ۶ درجه سانتی‌گراد، در مرداد، گرم‌ترین ماه سال حدود ۲۳ درجه سانتی‌گراد است و یخبندان در این منطقه به‌ندرت رخ می‌دهد (Aguesse, 1958) (شکل۱).

استخراج DNA به روش فنل کلروفرم با تغییرات و بهینه‌سازی انجام

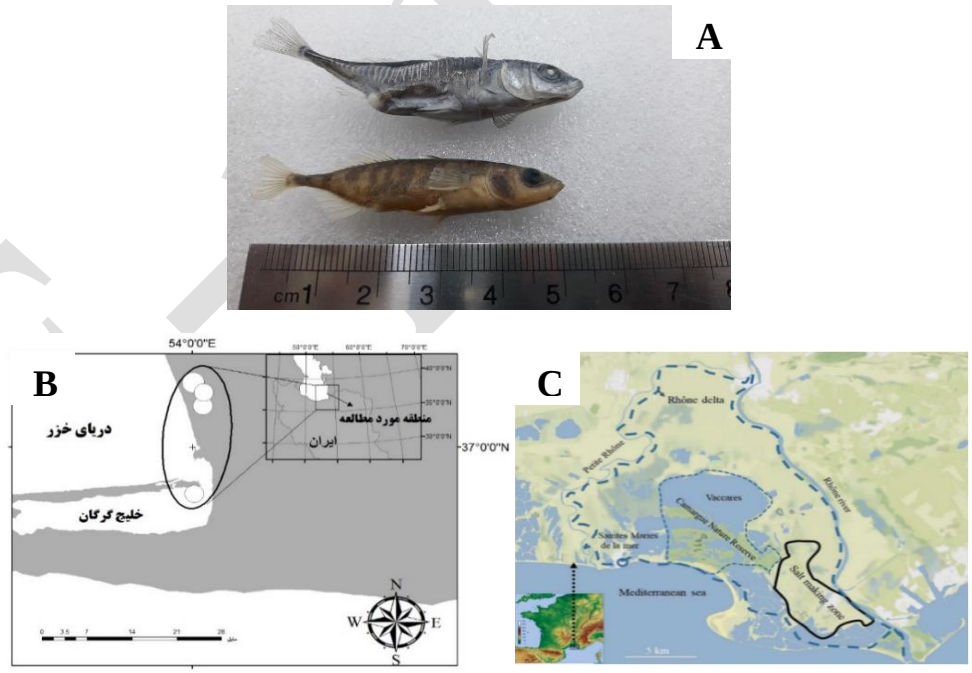
[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-14]

[DOI: 10.22034/jair.8.4.36]

Proof

شد (Taggart, 1992). بررسی کیفیت DNA استخراج شده با روش الکتروفورز افقی (شرکت پایا پژوهش طوس) روی ژل آگارز ۱ درصد انجام شد. غلظت DNA با استفاده از جذب نوری در طول موج ۲۶۰ تا ۲۸۰ نانومتر با استفاده از دستگاه پیکودراپ (Pico200، انگستان) اندازه‌گیری شد.

به‌منظور تکثیر ژن COI، از یک جفت آغازگر رفت و برگشت (TelF1: 5´-TCAACCAACCACAAAGACATTGGCAC - 3´ و TelR1: 3´-TAGACTTCTGGGTGGCCAAAGAATCA-5´) استفاده شد (Hubert *et al*., 2008). واکنش چند زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) در یک میکروتیوب ۲۰۰ میکرولیتری با حجم ۳۰ µl با شرایط آزمایشگاهی شامل ۱/۲ µl از هر آغازگر با غلظت ۱۰ pM، ۱۵ µl محلول Taq 2X Mastermix red، مقدار ۱/۵ µl از DNA الگو و ۱۱/۱ µl آب مقطر دیونیزه شده در دستگاه ترموسایکلر (BIORAD) انجام شد. شرایط دمایی واکنش PCR شامل یک چرخه ۳ دقیقه‌ای واسرشته‌سازی اولیه در دمای ۹۵ °C، ۳۵ چرخه (۳۰ ثانیه در دمای ۹۵ °C برای واسرشته سازی، ۴۰ ثانیه در دمای ۵۶ °C برای هم سرشته سازی و اتصال آغازگر و ۱ دقیقه در دمای ۷۲ °C برای بسط) و در نهایت یک چرخه ۵ دقیقه‌ای در دمای ۷۲ °C به‌منظور بسط نهایی انجام شد. به‌منظور اطمینان از تکثیر ناحیه مورد نظر، ۳ µl از محصول PCR روی ژل آگارز یک درصد الکتروفورز و توسط اتیدیوم بروماید رنگ‌آمیزی گردید، سپس برای مشاهده باندهای حاصل از تکثیر قطعه مورد نظر، درمعرض تابش UV قرار داده شد. به‌منظور توالی‌یابی قطعه موردنظر، تعداد حداقل ۶ نمونه از هر جمعیت و مقدار ۲۰ میکرولیتر از محصول PCR به شرکت ژنتیک کدون ارسال گردید. پیک‌های مربوط به توالی‌یابی به‌کمک نرم‌افزار Chromas ویرایش شد. به‌منظور یافتن توالی‌های مشابه برای استفاده در ترسیم درخت تبارشناسی، توالی ویرایش شده به‌کمک ابزار اینترنتی BLAST در بانک ژن NCBI با سایر توالی‌های موجود مقایسه شد و تعداد ۳۳ توالی از گونه *G. aculeatus* از بانک ژن انتخاب گردید (جدول ۱). درخت تبارشناسی حاصل از روش حداکثر تشابه برای ژن COI، شامل جمعیت های خزر و کامارگ و هاپلوتایپ‌های استخراج شده از بانک ژنی با پشتوانه تکرار ۱۰۰۰ (Bootstarp) به روش پیوند همجواری (Neighbor joining) و روش جفت گروه غیر وزنی از روش میانگین حسابی (UPGMA) ترسیم شد (شکل ۲). همچنین، از توالی ژن COI گونه *Pungitius pungitius* با شماره دسترسی MG423235 به‌عنوان برون گروه استفاده شد (جدول ۱). ویژگی‌های آماری و اطلاعات مربوط به توالی‌ها با استفاده از نرم‌افزار DnaSP-5 (Librado and Rozas, 2009) استخراج گردید. همچنین فواصل درون‌گونه و بین‌گونه برحسب جفت باز و فاصله دوعامله کیمورا (K2P) با استفاده از نرم‌افزار Mega-6.06 محاسبه گردید.



شکل ۱- (A، بالا): ماهی سه خاره (*G. aculeatus*) صید شده از خلیج گرگان، (A، پایین): ماهی صید شده از تالاب کامارگ، (B): موقعیت مکانی خلیج گرگان، (C): موقعیت مکانی تالاب کامارگ

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-14]

[DOI: 10.22034/jair.8.4.36]

جدول ۱- شماره دسترسی بانک ژن و موقعیت مکانی توالی‌های دانلود شده از بانک ژن

شماره	موقعیت مکانی	شماره دسترسی	شماره	موقعیت مکانی	شماره دسترسی
۱	NorthSea. German Bight	KJ204893	۹	USA. Alaska	KP823154
۲	NorthSea. Netherlands	KJ204898 KR862755 KR862756	۱۰	Canada. Alberta	KP823155 KP823160 KP823161
۳	Denmark. Baltic Sea	KR862757	۱۱	Canada. Little Campbell River	KP823170 KP823200 KP823201 KP823202
۴	Poland. Baltic Sea	KR862758 KR862759 KR862762	۱۲	Canada. PaqLake	KP823212 KP823213 KP823214
۵	Lithuania. Minija	KR862748 KR862749	۱۳	Canada. Qubec	EU524631
۶	Japan	GU440325	۱۴	Canada. NewBrunswick	KC015397 KC015395
۷	France. Lower Normandy	KR862750. KR862766	۱۵	Sweden	KJ128495 KJ128494
۸	Germany Bavaria. Swabia	HM902127 HM902131	۱۶	Norway	KP823142 KP823143

۳ | نتایج

نتایج حاصل از تعیین توالی ژن COI طول قطعات به‌دست آمده برای ۱۰ نمونه توالی‌یابی شده از دریای خزر و مدیترانه پس از تصحیح و هم ردیف‌سازی، ۶۸۰ جفت باز بود. تعداد هاپلوتایپ‌ها در خلیج گرگان، ۱ عدد و در تالاب کامارگ ۲ عدد به‌دست آمد. تنوع هاپلوتایپی در تالاب کامارگ ۰/۶۶۶۶۷ و برای خلیج گرگان صفر و تنوع هاپلوتایپی کل ۰/۴۲۸۵۷ به‌دست آمد. تنوع نوکلئوتیدی برای جمعیت خلیج گرگان صفر، جمعیت کامارگ ۰/۰۰۳۶۹ و تنوع نوکلئوتیدی کل ۰/۰۰۲۳۶ محاسبه شد (جدول ۲). میانگین ترکیب بازی به‌ترتیب، برای (A): ۲۳/۸۵، (T): ۳۰/۳، (C): ۲۸/۵۵ و (G): ۱۷/۲۵محاسبه شد. محتوای C+G نیز ۴۵/۸ به‌دست آمد (جدول ۳). تمایز ژنتیکی (F_{st}) و جریان ژنی (N_m) (Hudson *et al*., 1992) بین نمونه‌های خلیج گرگان و تالاب کامارگ و به‌ترتیب، ۰/۳۳۳ و ۰/۵ محاسبه شد. برآورد حداکثر احتمال ماتریس جایگزینی بازهای ژن COI در جدول ۴ نشان داده شده است. بیش‌ترین احتمال جایگزینی روی درترمینان ماتریس برای جایگزینی باز A/G و کم‌ترین احتمال جایگزینی برای C/G T/G بود.

فاصله ژنتیکی بر حسب تعداد نوکلئوتید و فاصله دو پارامتر کیمورا بین جمعیت خلیج گرگان با تالاب کامارگ دارای کمترین فاصله (۰/۰۰۲) و با کانادا دارای بیشترین فاصله (۰/۰۰۶) محاسبه شد و اما فاصله ژنتیکی دریای خزر با شمال آمریکا و ژاپن (۰/۰۰۲)، با آلمان (۰/۰۰۷) محاسبه شد (جدول ۵).

جدول ۲- اطلاعات ژنتیکی نمونه‌های ماهی سه خاره (*G. aculeatus*)، در بین نمونه‌های خلیج گرگان و تالاب کامارگ

اطلاعات ژنتیکی	خلیج گرگان	تالاب کامارگ	کل
شمار جایگاه‌های نوکلئوتیدی	۶۶۴	۶۳۴	۶۴۹
تعداد جایگاه‌های متغیر	۰	۳	۳
ضریب k	۰	۲	۱/۲۸۵۷۱
تعداد هاپلوتایپ	۱	۲	۲
تنوع هاپلوتایپی	۰	۰/۶۶۶۶۷	۰/۴۲۸۵۷
تنوع نوکلئوتیدی	۰	۰/۰۰۳۶۹	۰/۰۰۲۳۶

جدول ۳- درصد نوکلئوتیدهای مختلف برای ژن COI در بین نمونه‌های ماهی سه خاره (*G. aculeatus*) خلیج گرگان و تالاب کامارگ

باز آلی	خلیج گرگان	تالاب کامارگ	کل
A	۲۴/۱	۲۳/۶	۲۳/۸۵
T	۳۰/۳	۳۰/۳	۳۰/۳
C	۲۸/۳	۲۸/۸	۲۸/۵۵
G	۱۷/۲	۱۷/۳	۱۷/۲۵
C+G	۴۵/۵	۴۶/۱	۴۵/۸

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-14]

[DOI: 10.22034/jair.8.4.36]

Proof

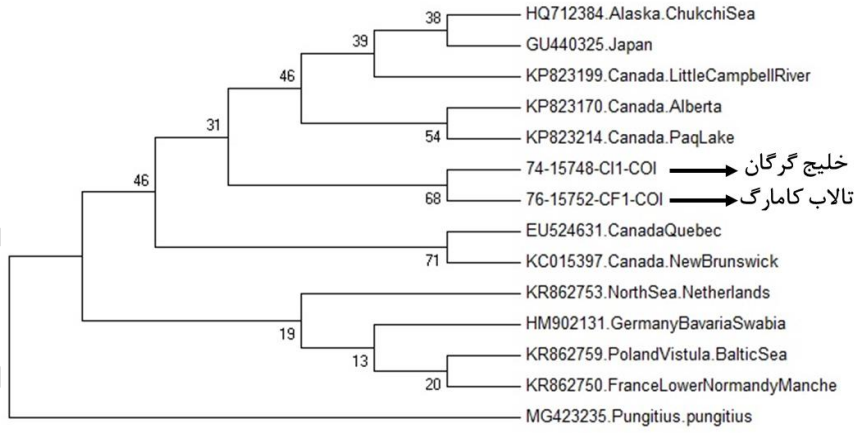
جدول ۴- محاسبه نرخ جایگزینی Transition / Transversion در توالی ژن COI در بین نمونه‌های ماهی سه خاره (*G. aculeatus*) خلیج گرگان و تالاب کامارگ

نرخ جایگزینی	A	T	C	G
A	-	۳/۸۹۱	۳/۷۹۴	۱۶/۲۲۳
T	۲/۸۰۴	-	۱۸/۲۱۱	۲/۰۹۵
C	۲/۸۰۴	۱۸/۶۸۱	-	۲/۰۹۵
G	۲۱/۷۱۴	۳/۸۹۱	۳/۷۹۴	-

جدول۵- میانگین فاصله ژنتیکی K2P در بین جمعیت‌های مورد مطالعه ماهی سه خاره (*G. aculeatus*) بر اساس درصد تمایز توالی ژن COI

موقعیت مکانی	خلیج گرگان	تالاب کامارگ	کانادا	دریای شمال	امریکای شمالی (آلاسکا)	دریای بالتیک	اروپا (آلمان)	ژاپن
خلیج گرگان		۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۳	۰/۰۰۲	۰/۰۰۳	۰/۰۰۴	۰/۰۰۲
تالاب کامارگ	۰/۰۰۳		۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۱	۰/۰۰۲	۰/۰۰۳	۰/۰۰۲
کانادا	۰/۰۰۵	۰/۰۰۶		۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۳	۰/۰۰۱
دریای شمال	۰/۰۰۵	۰/۰۰۴	۰/۰۰۵		۰/۰۰۲	۰/۰۰۰	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲
امریکای شمالی (آلاسکا)	۰/۰۰۲	۰/۰۰۳	۰/۰۰۲	۰/۰۰۳		۰/۰۰۰۲	۰/۰۰۳	۰/۰۰۰
دریای بالتیک	۰/۰۰۵	۰/۰۰۳	۰/۰۰۵	۰/۰۰۱	۰/۰۰۲		۰/۰۰۲	۰/۰۰۲
اروپا (آلمان)	۰/۰۰۷	۰/۰۰۵	۰/۰۰۷	۰/۰۰۳	۰/۰۰۴	۰/۰۰۲		۰/۰۰۳
ژاپن	۰/۰۰۲	۰/۰۰۳	۰/۰۰۲	۰/۰۰۳	۰/۰۰۰	۰/۰۰۲	۰/۰۰۴	

طی ترسیم درخت تبارشناسی، به‌دلیل تشابه توالی‌های هر جمعیت، تنها یک تا دو عدد از آنها برای آنالیزها مورد استفاده قرار گرفت. براساس این نتایج، توالی‌یابی ژن COI، ماهیان سه‌خاره را به دو کلید تقسیم کرد: یک کلید مربوط به نمونه‌های شمال اروپا (شامل دریای شمال، دریای بالتیک و شمال فرانسه) و دیگری کلید شامل سایر نمونه‌های باقی مانده. البته به‌دلیل درجه حمایت پایین کلیدهای به‌دست آمده نتیجه می‌شود این ژن نتوانسته است به‌خوبی روابط بین جمعیت‌ها را حل کند و آنها را به‌خوبی از هم تفکیک کند. جمعیت‌های ماهیان خلیج گرگان و تالاب کامارگ در یک زیر کلید جداگانه قرار گرفتند و با جمعیت‌های کبک و نیوبرانسویک کانادا در فاصله بیشتری قرار داشتند (شکل ۲).



شکل ۲- درخت تبارشناسی به روش پیوند همجواری (NJ) ماهی سه خاره (*G. aculeatus*) با برون گونه *Pungitius pungitius*

۴ | بحث و نتیجه‌گیری

برطبق نتایج به‌دست آمده، تعداد و تنوع هاپلوتایپ‌ها در دو منطقه مورد مطالعه به‌ویژه درخلیج گرگان بسیار اندک بود که نشان‌دهنده تنوع ژنتیکی پایین جمعیت‌های ماهیان سه‌خاره در خلیج گرگان و تالاب کامارگ می‌باشد. به‌طور مشابه، هر دو روش میکروساتلایت و توالی‌یابی ژن‌های mtDNA میزان تنوع ژنتیکی پایینی را در جمعیت ماهیان سه‌خاره آلبرتای کانادا که همانند جمعیت سه‌خاره در خزر جنوبی از ماهیان غیربومی با منشأ ناشناخته می‌باشند نیز نشان داد که می‌تواند به‌دلیل اثر Founder باشد که به معرفی جدید این گونه در آلبرتا مربوط باشد یا به پدیده گردن بطری (bottleneck) دوره‌ای مرتبط با مرگ زمستانه برمی گردد (Rezansoff *et al.*, 2015). از طرف دیگر، در تحقیقی افزایش تنوع ژنتیکی قابل توجهی در دودمان اروپایی نسبت به دودمان اجدادی آنها مشاهده شد و به‌نظر می‌رسد تنوع ژنتیکی مشاهده شده در اروپا طی چندین زمان به‌وجود آمده باشد که احتمالاً به‌دلیل افزایش اندازه جمعیت در اثر گسترش جغرافیایی جمعیت آنها در اواخر پلیوستوسن یا اوایل هولوسن می‌باشد (Fang *et al.*, 2018).

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-14]
[DOI: 10.22034/jair.8.4.36]

درصد نوکلئوتیدهای مختلف برای هر دو جمعیت خلیج‌گرگان و تالاب کامارگ مشابه بود. میانگین درصد C+G برای جمعیت ماهیان سه‌خاره دو منطقه مورد مطالعه ۴۵/۸ به‌دست آمد. اثبات شده است هرچه نسبت CG در یک گونه بیشتر باشد آن گونه اجدادی‌تر است و قدمت بیشتری دارد که نتایج مطالعه حاضر نیز با آن مطابقت دارد (Rodriguez *et al.*, 2000). باتوجه به اینکه شاخص F_{ST} بیانگر میزان تمایز ژنتیکی جمعیت‌ها در سطوح مختلف است و درصورتی که میزان آن بالاتر از ۰/۱۵ باشد نشان‌دهنده تمایز ژنتیکی بالا بین جمعیت‌ها است (Wright, 1978) در نتیجه، F_{ST} برابر با ۰/۳۳۳ بین دو جمعیت ماهیان سه‌خاره خلیج‌گرگان و تالاب کامارگ بیانگر تمایز بالای ژنتیکی بین آنها است که می‌تواند به‌دلیل فاصله جغرافیایی زیاد و عدم مهاجرت بین دو منطقه مورد مطالعه باشد.

در مطالعه حاضر، نتایج فاصله ژنتیکی بین جمعیت‌های مختلف و همچنین درخت تبارشناسی نشان داد که جمعیت‌های ایران (خلیج گرگان) و جنوب فرانسه (تالاب کامارگ) تا حد زیادی نزدیک هم هستند و کم‌ترین فاصله بین آنها دیده شده است. درحالی‌که این جمعیت‌ها با جمعیت شمال اروپا تفاوت بسیار بارزی دارند. موافق با نتایج تحقیق حاضر، بر مبنای نتایج به‌دست آمده از توالی‌یابی ژن cyt b، نمونه‌های خزر و کامارگ با نمونه‌های غرب آسیا (دریای آزوف) و شمال آمریکا (کانادا و آلاسکا)، بیشتر شبیه به‌هم هستند (Izadi, 2020). علاوه بر روش مولکولی، صفات مرفولوژیکی و منحنی‌های رشد نیز بیانگر وجود مشابهت در جمعیت ماهی سه‌خاره در دریای جنوب شرق خزر و شمال مدیترانه می‌باشد. همچنین منحنی طول و سن نیز تفاوت معنی‌داری برای دو جمعیت خلیج گرگان و تالاب کامارگ بود (Izadi, 2020).

تاریخچه جمعیت‌های ماهیان سه‌خاره در اروپا به درستی شناسایی نشده بود، تا اینکه مطالعه ای در سال ۲۰۰۶ با روش میکروساتلایت تفاوت ژنتیکی مهمی را بین جمعیت‌های مختلف اروپا نشان داد (Mäkinen *et al.*, 2006). طی آنالیز mtDNA ۱۷۲ ماهی سه‌خاره نمونه‌برداری شده از پراکنش اروپایی این ماهی، سه دودمان (Lineage) اصلی Ttans-Atlantic، اروپایی و دریای سیاه شناسایی شد که نواحی جغرافیایی نسبتاً وسیعی را به‌خود اختصاص دادند و احتمالاً آنها طی دوره پلیوستوسن از هم متفاوت شده‌اند (۱۷۰-۱۳۰ هزار سال پیش). البته علاوه بر آنها، چند جمعیت آب شیرین در بعضی مناطق مدیترانه مشاهده شد که دارای هاپلوتایپ‌های مجزایی بودند (Mäkinen and Merilä, 2008). در این مطالعه تأیید شد که منطقه مدیترانه به‌عنوان پناهگاه یخبندان برای ماهیان سه‌خاره آب شیرین می‌باشد. احتمالاً منشأ کلونیزه شدن جمعیت‌های آب شیرین در اسکاندیناوی، غرب، مرکز و شرق اروپا که جزو دودمان اروپایی محسوب می‌شوند به دوران پس از یخبندان (postglacial) برمی گردد، درحالی‌که منشا کلونیزه شدن جمعیت‌های آب شیرین مدیترانه به دوره پلیوستوسن برمی‌گردد. وجود این جمعیت‌های آب شیرین مجزا در مناطق مدیترانه نشان-دهنده این است که دودمان آب شیرین قبل از آخرین یخبندان متمایز شده‌اند و احتمالاً جمعیت‌های آب شیرین منشأ مستقلی دارند (Mäkinen and Merilä, 2008). حتی آنالیزهای بیوجغرافیایی نشان می‌دهند که کلونیزه شدن شمال اروپا و غرب اطلس به‌دنبال انتهای آخرین یخبندان احتمالاً از پناهگاه‌های جنوب اروپا هستند. در تحقیقی دیگر، به مطالعه روابط فیلوژنی ماهیان سه‌خاره در تمام آب‌های دنیا و همچنین پراکنش جغرافیایی آنها با استفاده از نشانگرهای SNP پرداخته شد. نتایج نشان داد که منشأ جمعیت‌های امروزی شامل تمام جمعیت‌های اطلس غربی، اطلس شرقی، شمال و جنوب اروپا از اقیانوس آرام شرقی می‌باشد که مربوط به اواخر دوره پلیوستوسن است و طی ۶۰ هزار سال اخیر به-وجود آمده‌اند (Mäkinen and Merilä, 2008). علاوه بر کلید آرام، یک کلید مونوفیلتیک وجود داشت خود به دو زیرکلید اصلی تقسیم می‌شود که یکی جنوب اروپا است که قدمت بیشتری دارد و شامل جمعیت‌های Pensinsula، مدیترانه و دریای سیاه است و دیگری، Trans-Atlantic است که شامل جمعیت‌های جوان‌تر می‌باشد و از دریای سفید، بالتیک، دریای شمال، دریای Barents و اطلس غربی تشکیل شده است. در مطالعه‌ای دیگر که با استفاده از توالی‌یابی mtDNA انجام شده است تأیید شد که جمعیت اطلس جدیدتر بوده و از جمعیت‌های اقیانوس آرام به‌وجود آمده است (۲۶۰-۹۰ هزار سال پیش) (Orti *et al.*, 1994). نتایج تحقیق حاضر و همچنین ایزدی (Izadi, 2020) نیز با نتایج فوق مطابقت دارد و نمونه‌های تالاب کامارگ همراه با نمونه‌های خلیج گرگان که در یک کلید قرار دارند و قدمت تقریباً زیادی هم دارند در فاصله ژنتیکی بیشتری نسبت به نمونه ماهیان سه‌خاره دریای شمال، سفید و اطلس (کلید Trans-Atlantic) قرار دارند. در مطالعه فانگ و همکاران (Fang *et al.*, 2018)، جمعیت‌های جنوب اروپا خود به سه کلید فرانسوی، ایبری و مدیترانه تقسیم می‌شوند که تنها یک جمعیت در رودخانه Rhone خود به تنهایی کلید فرانسوی تشکیل می‌دهد که از سایر جمعیت‌های اروپا در حدود ۲۳/۴ تا ۴۲/۶ هزار سال پیش شروع به متمایزشدن کرده است. به‌طوری‌که تحقیقات پیشین نیز اثبات کرده‌اند، بالادست رودخانه Rhone در فاصله ژنتیکی زیادی از سایر گروه‌ها قرار می‌گیرد و پناهگاه یخبندان آب شیرین برای ماهیان سه‌خاره است (Mäkinen *et al.*, 2006; Mäkinen and Merilä, 2008). از طرف دیگر، مطالعات فیلوجغرافیایی در شمال کوه‌های البرز پیچیدگی‌های بیوجغرافیایی و اکولوژیکی زیستگاه‌ها را مورد بحث قرار می‌دهد و ایجاد دودمان‌های متفاوت در جنوب دریای خزر را گزارش می‌دهد. همچنین، تأیید شده است جنوب دریای خزر به‌عنوان پناهگاهی طی آخرین دوره یخبندان بوده است (Ahmadzadeh *et al.*, 2013; Katouzian, 2016; Parvizi *et al.*, 2018).

در نتیجه، جمعیت ماهیان سه‌خاره خلیج‌گرگان و تالاب کامارگ یک زیر کلید مجزایی را هرچند با درجه حمایت پایین تشکیل دادند و ارتباط نزدیکی با جمعیت‌های آب‌های کانادا داشتند و از جمعیت‌های شمال اروپا متمایز بودند و حتی گمان می‌رود که این دو جمعیت در این دو منطقه دارای نیای مشترک باشند. تنوع ژنتیکی پایین در هر دو جمعیت می‌تواند به‌دلیل جریان ژنی محدود آنها و یا کوچک شدن اندازه

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-14]
[DOI: 10.22034/jair.8.4.36]
In Proof

مؤثر جمعیت آنها به‌دلیل از بین رفتن زیستگاه‌ها باشد (Clavero *et al.*, 2009; Araguas *et al.*, 2012) چه بسا اینکه این گونه در آب‌های ایران گونه‌ای مهاجم است که خود دلیل محکمی بر وجود تنوع ژنتیکی پایین در یک محیط آبی می‌باشد. حتی پیش بینی می‌شود گونه‌هایی که به‌طور موفقیت آمیزی به محیط جدید کلونیزه می‌شوند از منبع اصلی خود از نظر ژنتیکی متمایز می‌شوند. به‌عنوان مثال گوپی‌های (*Poecilia reticulata*) غیربومی در استرالیا علی‌رغم تنوع ژنتیکی پایین به محیط جدید خود سازگاری خوبی پیدا کرده‌اند (Lee, 2002; Price and Sol, 2008). علاوه بر موانع رفتاری، تغییرات آب و هوایی و وقایع زمین‌شناسی می‌تواند بر الگوی پراکنش جمعیت‌ها تأثیر گذارد (Avise *et al.*, 2009; Hewitt, 2000). در پاسخ به تغییرات آب و هوایی، موجودات زنده در جستجوی شرایط مساعدتر در پناهگاه‌ها پراکنش خود را به آن سمت تغییر می‌دهند (Parvizi *et al.*, 2018).

بنابراین می‌توان گفت در مطالعه بررسی منشأ جمعیت‌های ماهیان سه‌خاره خلیج گرگان به روش توالی‌یابی COI روابط بین کلیدها حل نشد و منشأ جمعیت ماهیان خلیج گرگان هم به درستی شناسایی نشد. به‌طور مشابه، جمعیت آلبرتا کانادا در فاصله بسیار نزدیکی با جمعیت سواحل غربی امریکای شمالی قرار داشت اما به‌دلیل میزان حمایت پایین درخت فیلوژنی منشا اصلی آن شناخته نشد (Rezansoff *et al.*, 2015). در مورد جمعیت ماهیان فوق، این فرضیه که جمعیت ماهیان سه‌خاره آلبرتا طی کلونیزه شدن طبیعی در طول آخرین دوره یخبندان به‌وجود آمده‌اند نباید رد شود و می‌توان گفت ممکن است کلونیزه شدن پس از یخبندان در رودخانه‌های آلبرتا اتفاق افتاده باشد (Rezansoff *et al.*, 2015). با وجود اینکه نشانگرهای mtDNA برای مطالعات فیلوژنیک گونه‌ها به‌کار می‌روند اما به‌دلیل اینکه یک لوکوس منفرد غیرقابل نوترکیب می‌باشد که وراثت مادری دارد و هر درختی که رسم می‌شود تنها دودمان‌های جمعیت‌های ماده را نشان می‌دهد در نتیجه ممکن است mtDNA تاریخچه فیلوژنی غالب یک جمعیت را به درستی نشان ندهد (Leache *et al.*, 2016; Fang *et al.*, 2018) و به‌همین دلیل روابط بین کلیدها در این تحقیق نامشخص باقی ماند. بنابراین، نیاز است ماهیان سه‌خاره خلیج گرگان و تالاب کامارگ با استفاده از سایر نشانگرهای ژنتیکی مورد سنجش قرار گیرند و حتی نمونه‌برداری گسترده‌تر از شرق تا غرب خزر جنوبی و مقایسه مستقیم آنها با ماهیان سه‌خاره از آب‌های دیگر کشورها می‌تواند به روشن‌تر شدن روابط فیلوژنی ماهیان سه‌خاره دریای خزر با کل آب‌های دنیا کمک کند.

پست الکترونیک نویسنده

سیده آیناز شیرنگی: ainazshirangi@gmail.com

REFERENCES

Alali A. 2007. Morphometric and meristic investigation of Three-spined Stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) in Southwest of Caspian Sea basin. M.Sc. Thesis. Shahid Beheshti University, Tehran. (In Persian)

Abdoli A. 1993a. Threespine stickleback in the Caspian Sea. Abzeeyan, 3(10&11):45-45. (In Persian).

Abdoli A. 1993b. Three-spined stickleback in southern basins of the Caspian Sea. Abzeeyan, 4(5): 10-13. (In Persian).

Ahmadzadeh F., Flecks M., Carretero M. A., Mozaffari O., Bohme W., Harris D.J., Rodder D. 2013. Cryptic speciation patterns in Iranian rock lizards uncovered by integrative taxonomy. PLoS ONE, 8, e80563. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0080563.

Araguas R.M., Vidal O., Pla C., Sanz N. 2012. High genetic diversity of the endangered Iberian three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) at the Mediterranean edge of its range. Freshwater Biology, 57: 143–154.

Aguesse P., Pruja J.P. 1958. Odonates récoltés par M. Ch. Rungs au Maroc, au Sahara, en Mauritanie et au Sénégal. Comptes Rendus de la Société des Sciences Naturelles et Physiques du Maroc, 24: 103-106. (In French).

Avise J.C. 2009. Phylogeography: Retrospect and prospect. Journal of Biogeography, 36: 3–15.

Bell M.A. 1988. Stickleback fishes: bridging the gap between population biology and paleobiology. Trends in Ecology & Evolution, 3(12): 320-324.

Bell M.A. 2001. Lateral plate evolution in the threespine stickleback: getting nowhere fast. In: Hendry AP, Kinnison MT (Eds.). Microevolution Rate, Pattern, Process. Springer, Dordrecht, pp. 445-461.

Bell M.A., Foster S.A. 1994. The evolutionary biology of the threespine stickleback. Journal of Animal Ecology, 64(3): 1-27.

Barrett R.D.H., Paccard A., Healy T.M., Bergek S., Schulte P.M., Schluter D., Rogers S.M., 2011. Rapid evolution of cold tolerance in stickleback. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences, 278, pp: 233–238.

Clavero M., Pou Rovira Q., Zamora L. 2009. Biology and habitat use of three- spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) in intermittent Mediterranean streams. Ecology of Freshwater Fish, 18(4): 550-559.

Coad B.W. 2015. Review of the Spiny Eels of Iran (Family Mastacembelidae). Iranian Journal of Ichthyology, 2(1): 1-12.

Drevecky C.J., Falco R., Aguirre W.E. 2013. Genetic divergence of a sympatric lake-resident–anadromous three-spined stickleback *Gasterosteus aculeatus* species pair. Journal of Fish Biology, 83: 111–132.

Fang B., Merilä J., Ribeiro F., Alexandrec C.M., Momigliano P. 2018. Worldwide phylogeny of three-spined sticklebacks. Molecular Phylogenetics and Evolution, 127: 613-625.

Fishbase. 2010. www.Fishbase.org:Gasterosteidae.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-14]

[DOI: 10.22034/jair.8.4.36]

Gibson G., 2005. The synthesis and evolution of a supermodel. Science, 307: 1890–1891.

Gharibkhani M. 2014. Genetic analysis of pike-perch, Sander lucioperca L., populations revealed by microsatellite DNA markers in Iran. Caspian Journal of Environmental Sciences, 12(1): 99-108.

Ghasemzadeh M. 2006. Morphometric, meristic investgation and Karyotype of Three-spined Stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) in southeast of Caspian Sea coasts. M.Sc. Thesis. Shahid beheshti University, Tehran.

Hebert P.D., Cywinska A., Ball S.L., Waard J.R. 2003. Biological identifications through DNA barcodes Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences, 270 (1512): 313- 321.

Hewitt G. 2000. The genetic legacy of the Quaternary ice ages. Nature, 405: 907-913.

Hubert N., Hanner R., Holm E., Mandrak N.E., Taylor E., Burridge M., Watkinson D., Dumont P., Curry A., Bentzen P., Zhang J., April J., Bernatchez L. 2008. Identifying Canadian Freshwater Fishes through DNA Barcodes. Plos One, 3(6): 1-8.

Hudson R.R., Slatkin M., Maddison W.P. 1992. Estimation of levels of gene flow from DNA sequence data. Genetics, 132(2): 583-9.

Izadi S. 2020. Separation of Three-spined Stickleback (*Gasterosteus aculateus* Linnaeus, 1758) by using Growth rates, Mortality, Molecular and Morphological methods in South Coasts of the Caspian Sea and North Coasts of the Mediterranean Sea. M.Sc. Thesis. University of Gonbad Kavous. (In Persian).

Katouzian A.R., Sari A., Macher J.N., Weiss M., Saboori A., Leese F., Weigand A.M. 2016. Drastic underestimation of amphipod biodiversity in the endangered Irano-Anatolian and Caucasus biodiversity hotspots. Scientific Reports, 6, 22507.

Lee C.E. 2002. Evolutionary genetics of invasive species. Trends in Ecology & Evolution, 17: 386–391.

Lescak E.A., Marcotte R.W., Kenney L.A., von Hippel F.A., Cresko W.A., Sherbick M.L., Colgren J.J., Andrés López, J., Riddle B. 2015. Admixture of ancient mitochondrial lineages in three-spined stickleback populations from the North Pacific. Journl of Biogeography, 42: 532–539.

Leache A.D., Banbury B.L., Linkem C.W., de Oca A.N.M. 2016. Phylogenomics of a rapid radiation: is chromosomal evolution linked to increased diversification in North American spiny lizards (Genus *Sceloporus*)?. BMC Evolutionary Biology, 63: 1-16.

Leroy S.A., Arpe K. 2007. Glacial refugia for summer-green trees in Europe and south-west Asia as proposed by ECHAM3 time-slice atmospheric model simulations. Journal of Biogeography, 34: 2115-2128.

Librado P., Rozas J. 2009. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. Genetics and Population Analysis, 25(11): 1451-1452.

Mäkinen H.S., Cano J.M., Merilä J. 2006. Genetic relationships among marine and freshwater populations of the European three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) revealed by microsatellites. Molecular Ecology, 15: 1519–1534.

Mäkinen H.S., Merilä J. 2008. Mitochondrial DNA phylogeography of the three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) in Europe-evidence for multiple glacial refugia. Molecular Phylogenetics and Evolution, 46, 167–182.

McKinnon J.S., Rundle H.D. 2002. Speciation in nature: the threespine stickleback model systems. Trends in Ecology & Evolution, 17: 480–488.

McPhail J.D. 1993. Speciation and the evolution of reproductive isolation in the sticklebacks (Gasterosteus) of south-western British Columbia. In: Bell M, Foster S (Eds.). The evolutionary biology of the threespine stickleback. Oxford University Press, UK, pp: 400-437.

Orti G., Bell M.A., Reimchen T.E., Meyer A. 1994. Global survey of mitochondrial DNA sequences in the threespine stickleback: evidence for recent migrations. Evolution, 48: 608–622.

Parvizi E., Naderloo R., Keikhosravi A.R., Solhjouy-Fard S., Schubart C.D. 2018. Multiple Pleistocene refugia and repeated phylogeographic breaks in the southern Caspian Sea region: Insights from the freshwater crab Potamon ibericum. Journal of Biogeography, 45(6): 1234-1245.

Patimar R., Najafabadi M.H., Souraki M. G. 2010. Life history features of the nonindigenous three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus* Linnaeus, 1758) in the Gomishan wetland (southeast Caspian Sea, Iran). Turkish Journal of Zoology, 34: 461–470.

Price T.D., Sol D. 2008. Genetics of colonizing species. American Naturalist, 172(S1): S1–S3.

Östlund-Nilsson S. 2006. Reproductive behaviour in the three-spined stickleback. In: Östlund-Nilsson S, Mayer I, Huntingford FA (Eds.). Biology of the Three-Spined Stickleback. Boca Raton: CRC Press, pp: 157–177.

Rezansoff A.M., Crispo E., Blair C., Cruz E., Kitano J., Vamosi S.M., Rogers S.M. 2015. Toward the genetic origins of a potentially non-native population of threespine stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) in Alberta. Conservation Genetics, 16: 859–873.

Rodriguez C.R., Cho E.J, Keogh M.C., Moore C.L., Greenleaf A.L., and Buratowski S. 2000. Kin28, the TFIIH-associated carboxy-terminal domain kinase, facilitates the recruitment of mRNA processing machinery to RNA polymerase II. Molecular and Cellular Biology, 20(1): 104-12

Sal'nikov V.B. 1995. Possible changes in the composition of the ichthyofauna after completion of the Karakum Canal in Turkmenistan. Journal of Ichthyology, 35(7): 108-121.

Sharbati S., Shabani A. 2015. The Effects of Khozeini Canal Reopening on the General Current Pattern in the Gorgan Bay. Joournal of Water and Soil Conservation, 22(3): 241-248.

Taggart J. B., Hynes R. A., Prodoehl P. A., Ferguson A. 1992. A simplified protocol for routine total DNA isolation from Salmonid fishes. Journal of Fish Bio-

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-14]

[DOI: 10.22034/jair.8.4.36]

Proof

logy, 40: 619-633.
Verhoeven J.T.A. 1980. The ecology of Ruppia-dominated communities in Western Europe, III. Aspects of production, consumption and decomposition. Aquatic Botany, 8: 209-53.
Watanabe K., Seiichi M., Mutsumi N. 2003. Genetic relationships and origin of two geographic groups of the freshwater threespine stickleback, 'Hariyo'. Zoological science, 20(2): 265-274.
Wright S. 1987. Evolution and the genetics of populations, vol. 4: variability within and among natural populations. University of Chicago, Press Chicago. 584 P.

نحوه استناد به این مقاله:

شیرنگی س.آ. مقایسه ژنتیکی ماهی سه‌خاره (*Gasterosteus aculeatus*) با استفاده از توالی‌یابی ژن سیتوکروم اکسیداز (COI) در خلیج گرگان (سواحل جنوبی دریای خزر) و تالاب کامارگ (سواحل شمالی دریای مدیترانه). نشریه پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی دانشگاه گنبدکاووس. ۱۳۹۹، ۴۵-۳۶ :(۴)۸ .

Shirangi S.A. Genetic comparison of Three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) by using sequencing of Cytochrome Oxidase 1 (COI) gene in Gorgan bay (Southern Caspian Sea shores) and Camargue wetland (Northern Mediterranean Sea shores). Journal of Applied Ichthyological Research, University of Gonbad Kavous. 2021, 8(4): 36-45.

E-proof

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-14]

[DOI: 10.22034/jair.8.4.36]

Genetic comparison of Three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) by using sequencing of Cytochrome Oxidase 1 (COI) gene in Gorgan bay (Southern Caspian Sea shores) and Camargue wetland (Northern Mediterranean Sea shores)

Shirangi S.A
Assistant prof, Dept. of Biology, Faculty of Sciences and engineering, University of Gonbad Kavous, Gonbad Kavous, Iran

Type:

Original Research Paper

Paper History:

Received: 19-11-2020
Accepted: 22-01- 2021

Corresponding author:

Shirangi S.A. Assistant prof, Dept. of Biology, Faculty of Sciences and engineering, University of Gonbad Kavous, Gonbad Kavous, Iran

Email: ainazshirangi@gmail.com

Abstract

Three-spined stickleback (*G. aculeatus*) is one the main model species which can be easily cultured in laboratory condition. Since it is invasive species in the Caspian Sea and the origin of its entrance is not clear. Furthermore, the three-spined population in South of France in Delta of Rhone River (Camargue wetland) is distinctive from other European populations especially Mediterranean population, therefore, Genetic comparison of three-spined stickleback between Gorgan bay (Iranian Coasts) and Camargue Wetland (South France Coasts) was studied by COI sequencing in this study. For this reason, 10 individual fish were sampled from each studied region and kept in Ethanol 96% until the time of experimental performance. After DNA extraction and PCR Reaction by one pair of Cytochrome Oxidase 1 (COI), Results of sequencing showed that the amplified sequence has 680 bp. The low number of haplotype and low haplotype diversity in both studied region dedicated the low genetic diversity of those populations. Level of F_{ST} as a Genetic distinction was 0.333 which is indicated high Genetic distinction of both populations. Inspite of low Genetic distance (0.002) between two groups based on Kimura 2 Parameters method (K2P), phylogeny tree showed that the fish population of Gorgan bay and Camargue wetland formed a distinctive sub-clade. Even it is hypothesized that these two populations have mutual origin but due to low supportive degree (bootstrap) the relationship between clades was not solved and the origin of three-spined sticklebacks of Gorgan bay was not properly evaluated.

Keywords: *G. aculeatus*, Caspian Sea, Camargue Wetland, Cytochrome oxidase 1, invasive species

E-P

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-14]

[DOI: 10.22034/jair.8.4.36]