زیست‌شناسی جانوری، سال چهاردهم، شماره سوم، بهار ۱۴۰۱، صفحات ۲۳۴- ۲۲۱

مقاله پژوهشی

بررسی روابط فیلوژنی گونه گیش دم زرد (*Atule mate*) در مناطق شمالی خلیج فارس و دریای عمان با استفاده از ژن سیتوکروم اکسیداز I

مهزاد شکوری[۱]، پرگل قوام مصطفوی[۱*]، محمد پورکاظمی[۲]، سید محمد رضا فاطمی[۱]

۱- گروه علوم دریایی، دانشکده منابع طبیعی و محیط زیست، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- عضو وابسته دانشگاه گیلان، پژوهشکده حوضه آبی دریای خزر، رشت، ایران

*مسئول مکاتبات: mostafavi_pa@srbiau.ac.ir

DOI: 10.22034/ascij.2022.1937520.1284

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۵/۱۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۶/۲۰

چکیده

آنالیز ژنتیکی جمعیت‌های مختلف ماهیان جهت حفظ تنوع زیستی و افزایش اطلاعات در مورد بقای گونه ها و یافتن عوامل تهدید کننده و یا کمک کننده در حفظ جمعیت‌ها مهم و ضروری می‌باشد. لذا هدف از این مطالعه تعیین روابط فیلوژنتیکی و خویشاوندی گونه گیش دم زرد (*Atule mate*) (Cuvier, 1833) در مناطق شمالی خلیج فارس و دریای عمان به وسیله توالی-یابی ژن سیتوکروم اکسیداز I (COI) میتوکندریایی می‌باشد. ۹۰ قطعه ماهی گیش دم زرد، از مناطق صیادی بندر بوشهر، بندر عباس و بندر چابهار، جمع آوری گردید و جهت انجام مطالعات مولکولی، DNA ژنومی به روش استات آمونیم استخراج شده و کمیت و کیفیت DNA بوسیله روش اسپکتروفوتومتری و الکتروفورز ژل اگارز ۱ درصد تعیین شد. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) با استفاده از یک جفت پرایمر ژن سیتوکروم اکسیداز I انجام گردید. پس از الکتروفورز محصول PCR روی ژل آگارز ۱/۵درصد، قطعه ۶۵۰bp ناحیه کنترل میتوکندریایی تعیین توالی شد. جهت بررسی روابط فیلوژنی با استفاده از نرم افزار CLUSTAL W، توالی‌های ژن COI میتوکندریایی هم ردیف و پس از مقایسه آنها با توالی‌های منتخب بانک ژن، ترسیم درخت فیلوژنی با روشهای متفاوت (Maximum Likelihood، Maximum Parsimony و Bayesian) در مقابل برون گونه (*Esox Lucius*) انجام شد. نتایج نشان داد که تمامی نمونه‌های بندر عباس و بندر بوشهر و ۳ نمونه از بندر چابهار همگی در یک شاخه قرار گرفته و مابقی نمونه های بندر چابهار با دارا بودن فاصله ژنتیکی قدری بیشتر، بر روی شاخه مجزایی قرار داشته و با بوت استراپ بالا رابطه خواهری با هم نشان دادند و این دو شاخه با فاصله تکاملی زیاد از برون گونه قرار گرفتند. می‌توان نتیجه گرفت که توالی‌یابی ژن سیتوکروم اکسیداز I روشی مناسب و قابل اعتماد در بررسی روابط فیلوژنتیکی گونه گیش دم زرد بوده و اطلاعات مفیدی جهت مدیریت و حفاظت این گونه با ارزش فراهم می‌نماید.

کلمات کلیدی: فیلوژنی، گیش دم زرد، COI، واکنش زنجیره ای پلیمراز، خلیج فارس و دریای عمان.

مقدمه

گیش‌ماهیان (Carangidae) خانواده بزرگی از ماهیان (Perciformes) تعلق دارند (۶). این خانواده، شامل ۴ استخوانی می‌باشند و به راسته سوف ماهی شکلان زیر خانواده، ۳۲ جنس و ۱۴۸ گونه بوده و اغلب در

آب‌های مناطق حاره‌ای و نیمه حاره‌ای و همچنین به صورت پراکنده در آب‌های لب شور یافت می‌شوند (۷، ۲۸). بیشترین تنوع گونه‌ای را در سطح آب‌های خلیج فارس و دریای عمان به خود اختصاص داده‌اند. شامل ۲۱ جنس و ۵۰ گونه در خلیج فارس و دریای عمان می‌باشند (٤٤). گیش دم زرد (*Atule mate*) گونه‌ای متعلق به خانواده گیش ماهیان با نام علمی (*Atule mate*)، تنها گونه این جنس بوده و یکی از مهمترین ماهیان خلیج فارس و دریای عمان می‌باشد (۳۸). این گونه به صورت گسترده در سرتاسر مناطق اقیانوس هند غربی و همچنین تا شرق جزایر هاوایی به صورت گله‌ای وجود داشته و تا عمق حدودا ۸۰ متر پیش می‌رود. یک ماهی سطح زی – میان‌زی می‌باشد و بر اساس اندازه جثه تشکیل گله می‌دهد و در نزدیکی صخره‌ها و مناطق ساحلی زندگی و تولیدمثل می‌نماید (۱۱).

DNA میتوکندریایی (mtDNA) در اکثر مطالعات فیلوژنتیک و تاکسونومیک به عنوان یک نشانگر مناسب ژنتیکی شناخته شده است. زیرا میزان جهش در آن زیاد است و نوترکیبی نیز در آن اتفاق نمی‌افتد (۲۷). همچنین به منظور تعیین سطوح تنوع بین و درون گونه‌ای بسیار مناسب می‌باشد. میزان نرخ سریع تکامل DNA، تقریبا ۵-۱۰ برابر ژن‌های هسته می‌باشد و به ارث رسیدن آن به همراه رشته مادری، mtDNA را به یک سیستم ژنتیکی بسیار کارآمد به منظور مطالعات گونه‌ها تبدیل کرده است (١٤). همچنین دارای توان بسیار بالا در جهت حل تناقض‌های رده بندی در موجودات آبزی می‌باشد (۵).

با شناسایی تفاوت‌های ژنتیکی در توالی ژن‌های موجود در ژنوم میتوکندری، بهتر می‌توان ارتباطات فیلوژنی را نشان داد. همچنین، رسم درخت فیلوژنی ملاکی در جهت جداسازی جمعیت‌های خاص، شناسایی گونه‌های در معرض خطر انقراض و مطالعه فرایند اهلی‌سازی می‌باشد. بیشتر تحقیقات انجام شده از میان ژن‌های گوناگون میتوکندریایی، نشان داده که ژن COI میتوکندریایی حفاظت شده می‌باشد و به عنوان ژنی استاندارد در مطالعات فیلوژنی و تاکسونومی ماهیان در سرتاسر دنیا شناخته شده است (٤، ۸، ۱۳). این ژن دارای توان تفکیک گونه‌های نزدیک و گروه‌های زیر سطح گونه می‌باشد (۱۵). تجزیه و تحلیل‌های فیلوژنتیکی بر اساس ترسیم درخت فیلوژنی ملاکی در جهت جداسازی جمعیت‌های گوناگون و شناخت گونه‌های نیازمند به حفاظت می‌باشد (٤٦).

شناسایی گونه‌ها و جمعیت‌های ماهیان به منظور حفاظت از تنوع زیستی و مطالعات مربوط به ویژگی‌های زیستی آنها، مثل رشد، مرگ و میر، هم‌آوری، روابط تغذیه‌ای و چرخه حیات ضروری است (۱۷).

با توجه به اینکه تاکنون هیچ گزارشی در زمینه بررسی روابط فیلوژنتیکی گونه گیش دم زرد در ایران ارائه نشده است، هدف از این مطالعه بررسی ارتباطات خویشاوندی و فیلوژنتیکی گونه گیش دم زرد (*Atule mate*) مورد مطالعه در مناطق شمالی خلیج فارس و دریای عمان با سایر مناطق دنیا بر اساس توالی ژن COI میتوکندریایی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در مطالعه حاضر در بهمن ماه سال ۱۳۹۷، ۹۰ قطعه ماهی گیش دم زرد (۳۰ عدد از هر منطقه)، از مناطق شمالی خلیج فارس و دریای عمان، (شامل بنادر صیدگاهی بندر بوشهر، بندر عباس و بندر چابهار) (شکل۱)، با طول و عرض جغرافیایی مشخص شده در (جدول۱)، توسط تور گوشگیر و روش‌های صیادی سنتی جمع آوری گردید. صفات مریستیک و مورفومتریک، با استفاده از کلید شناسایی ماهیان منطقه ۱۱ ماهیگیری (۱۰)، ارزیابی گردید و نمونه‌های گیش

دم زرد فریز شده، به آزمایشگاه زیست‌شناسی دریا واقع در دانشگاه آزاد واحد علوم و تحقیقات تهران منتقل شدند.

استخراج DNA، واکنش زنجیره‌ای پلیمراز و توالی-یابی: استخراج DNA به روش استات آمونیم (۲۵) انجام و کیفیت و کمیت DNA استخراج شده به وسیله ژل آگارز ۱ درصد و دستگاه اسپکتروفوتومتر مدل (Eppendorf, Rs232C) ساخت کشور آلمان، در طول موج‌های ۲۶۰ تا ۲۸۰ نانومتر تعیین شد. برای تکثیر ژن COI میتوکندریایی، از یک جفت پرایمر اختصاصی FishF1 پرایمر رفت:

5′TCAACCAACCACAAAGACATTGGCAC3′

و FishF2 پرایمر برگشت:

5′TAGACTTCTGGGTGGCCAAAGAATCA3′

(۲۴، ۴۵)، که توسط شرکت GENERAY چین سنتز شدند، استفاده شده و واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) با استفاده از مسترمیکس PCR آماده (۱۰ میلی‌مولار)، ساخت شرکت Amplicon دانمارک، شامل (Buffer PCR، dNTPs، $MgCl_2$، *Taq* DNA Polymerase) و آغازگر رفت (۱ ماکرولیتر) و آب مقطر تزریقی انجام شد. تیوبهای حاوی این مواد داخل دستگاه ترموسایکلر مدل (BIO-RAD) ساخت کشور آمریکا قرار داده شدند و واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با ۳۵ چرخه و با برنامه حرارتی، شامل مرحله جداسازی اولیه ۹۴ درجه سانتیگراد، ۵ دقیقه، مرحله جداسازی ۹۴ درجه سانتیگراد ۳۰ ثانیه، مرحله اتصال آغازگرها به هدف در دمای ۵۷/۷ درجه سانتیگراد ۱ دقیقه، مرحله بسط آغازگرها در دمای ۷۲ درجه سانتیگراد، ۱ دقیقه و بسط نهایی ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۵ دقیقه بهینه‌سازی گردید. سپس مقدار ۵ میکرولیتر از محصولات PCR برای اطمینان از عدم وجود آلودگی و تشکیل باند به همراه یک ویال کنترل منفی (محتوی تمامی مواد به جزء نمونه DNA) روی ژل آگارز ۱/۵ درصد الکتروفورز گردید. سپس ۲۵ میکرولیتر از محصولات PCR، در تیوپ‌های ۱/۵ میلی‌لیتری ریخته و به همراه ۳۰ ماکرولیتر پرایمر رفت، با غلظت ۱۰ ماکرو مول در تیوپ‌های جداگانه به منظور تعیین توالی به بخش مولکولی شرکت BIONEER واقع در کره جنوبی ارسال و به روش Sanger توالی یابی صورت گرفت (۳۶، ۱).

آنالیز داده‌ها: نتایج بدست آمده از توالی‌یابی با استفاده از نرم‌افزار Choromas 2.23 ، ویرایش و بازنگری و با استفاده از نرم افزار CLUSTAL W (۴۱) هم ردیف شدند. در پایگاه NCBI با روش BLASTn (۳۷)، مقایسه میزان همپوشانی توالی‌های به دست آمده با توالی‌های دیگر گیش دم زرد موجود در GenBank (جدول۲) انجام و آنالیز فیلوژنی بعد از تشکیل ماتریس دادها، با استفاده از روشهای بیشترین صرفه جوئی (Maximum parsimony) توسط نرم افزار PAUP نسخه 4b10، (۳۹) بیشترین شباهت (Maximum likelihood) توسط نرم‌افزار MEGA7 (۲۰) و روش Bayesian توسط نرم افزار MrBayes V3.12 صورت گرفت (۳۴، ۹).

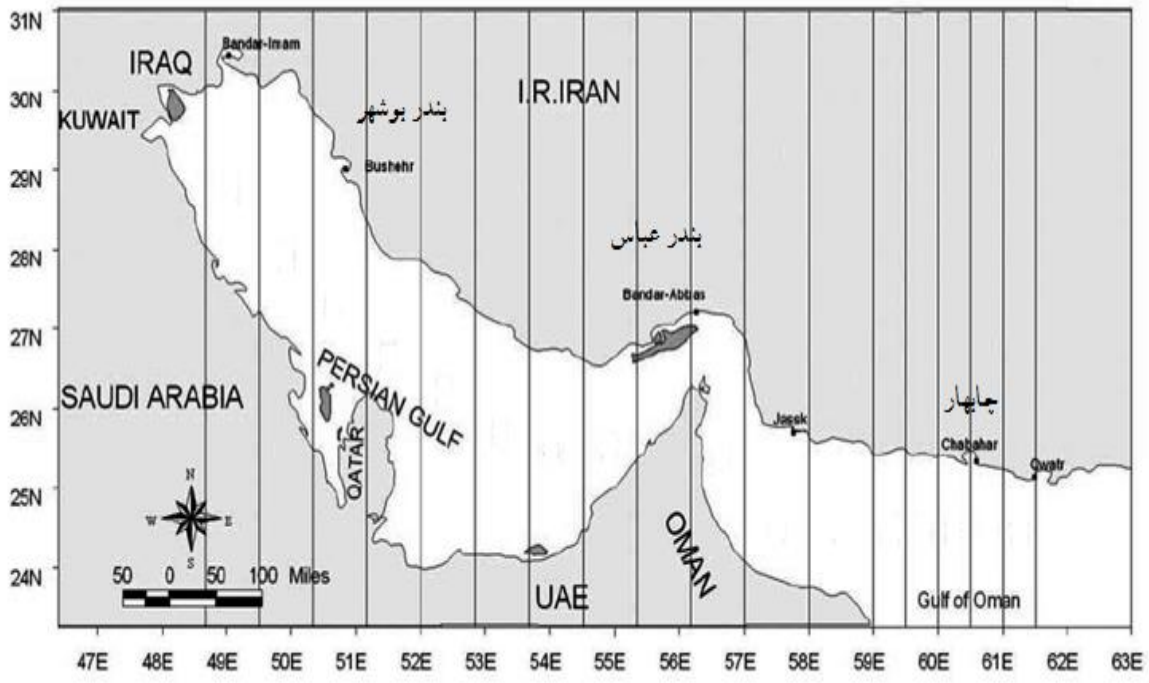
مدل (HKY+G+I=Hasegawa-Kishino-Yano) به عنوان مناسبترین مدل توسط نرم‌افزار v2 MrModeltest (۲۹)، بر اساس معیار اطلاعاتی (AKAIKE) به منظور رسم درخت فیلوژنی برای توالی‌های COI انتخاب شده و بوسیله نرم‌افزار MEGA7 و MrBayes V3.12 برای محاسبه و ترسیم درخت فیلوژنی استفاده شد. درخت‌ها حاصل از آنالیزهای فیلوژنی با استفاده از نرم افزار Tree view (۳۰) قابل مشاهده می‌باشند. تعداد هاپلوتایپ‌ها نیز توسط نرم‌افزار Dnasp v6 (۳۵) تعیین و برای نشان دادن ارتباط هاپلوتایپ‌ها آنالیز شبکه‌ای توسط نرم-افزار Network 10.2 انجام شد

جدول۱-طول و عرض جغرافیایی مناطق نمونه برداری

منطقه	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی
بندر عباس	56° 17′ 28.90″ E	27°10′8 32″ N
بندر بوشهر	50° 46′ 53.60" E	28° 54′ 43.25" N
بندر چابهار (رمین)	60° 45′ 04.13″ E	25° 16′ 02.74″ N

جدول۲-موقعیت مکانی توالی‌های گیش دم زرد و دریافت شده از بانک ژن و شماره دسترسی آنها در بانک ژن (NCBI)

موقعیت مکانی	شماره دسترسی	موقعیت مکانی	شماره دسترسی	موقعیت مکانی	شماره دسترسی	موقعیت مکانی	شماره دسترسی
Philippine-Pangasin	KC970372	Nayband-Iran	HQ149801	Indo-Malay	JX261557	Philippine Palawan	KC970450
Indo-Malay	HQ561022	Indo-Malay	JX261635	Malaysia-Perak	HQ560963	Malaysia-Pahangia	JX261012
Indo-Malay	HQ560990	Nayband-Iran	HQ149797	Malaysia-Sarawak	JX261548	Malaysia-Sarawa	JX261612
Nayband-Iran	HQ149800	South China	FJ237967	Malaysia-Pahang	HQ561014	Indo-Malay	HQ561006
Nayband-Iran	HQ149799	South China	FJ237968	Malaysia-Pahang	HQ561018	Indo-Malay	HQ560976
				Philippine-Pangasinan	KC970371	Indo-Malay	HQ560955



شکل۱- موقعیت جغرافیایی ایستگاه‌های نمونه‌برداری

نتایج

در نتایج حاصل از تعیین توالی ژن COI میتوکندریایی با روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز، طول قطعات حاصل از نمونه‌های مناطق مورد مطالعه پس از ویرایش و هم ردیف سازی ۶۵۰ جفت باز مشاهده شد. با استفاده از ابزار (BLASTn)، با مقایسه توالی‌های ژن سیتوکروم اکسیداز I گیش دم زرد مناطق مورد بررسی با توالی‌های گیش دم زرد منتخب پایگاه NCBI (جدول۲)، مشخص شد که اکثر توالی‌ها در سطح بالایی بیشترین شباهت را با نمونه گیش دم زرد مورد مطالعه داشته‌اند که نشاندهنده این می‌باشد که ناحیه سیتوکروم اکسیداز I یک ناحیه حفاظت شده بوده و بنابراین تغییرات نوکلئوتیدی در آن به ندرت رخ می‌دهد.

به منظور مقایسه میزان فراوانی نوکلئوتیدی ژن سیتوکروم اکسیداز I در ماهی گیش دم زرد، در مناطق مورد بررسی، به وسیله نرم افزارMEGA7 فراوانی نوکلئوتیدی محاسبه و بیشترین میزان درصد فراوانی نوکلئوتیدی مربوط به نوکلئوتید تیمین و کمترین میزان آن مربوط به نوکلئوتید گوانین و در بندر چابهار مشاهده شد. همچنین میزان درصد AT در تمامی مناطق بالاتر از میزان درصد GC گزارش شد (جدول۳).

طبق نتایج حاصل از درصد جایگزینی‌های متقاطع و انتقالی در نوکلئوتیدهای ژن COI گیش دم زرد مورد مطالعه، بیشترین میزان جانشینی مربوط به جانشینی نوع اول و مربوط به بازهای پیریمیدینی بوده به طوریکه این مقدار برای تبدیل سیتوزین به تیمین ۲۱/۸۴ درصد و برای تبدیل تیمین به سیتوزین ۱۷/۱۵ درصد مشاهده شد. این مقادیر برای بازهای پورینی کمتر و برای تبدیل گوانین به آدنین ۱۴/۳ و آدنین به گوانین ۱۰/۱۷ درصد می‌باشد (جدول۴).

در نتیجه در این مطالعه، جانشینی انتقالی نسبت به جانشینی متقاطع بیشتر می‌باشد.

در مطالعه حاضر درخت‌ها تبارشناسی ترسیم شده با هر سه روش Maximum Likelihood، Maximum Parsimony و Bayesian تقریبا یکسان می‌باشند. توالی ژن سیتوکروم اکسیداز I ماهی (*Esox Lucius*) از خانواده Esocidae با شماره دسترسی KM286646.1 در بانک ژن به عنوان گروه خارجی جهت تایید اختلاف ژنتیکی بالای آن با گونه گیش دم زرد در نظر گرفته شد و جدایی مناسبی را روی درخت فیلوژنی حاصل با گونه گیش دم زرد نشان داد.

نتایج به دست آمده از آزمون فیلوژنتیکی بر اساس تشابه حداکثر با بوت استرپ ۱۰۰۰ بر اساس مدل (HKY+G+I) با مقدار آماره G برابر با ۰/۸۶ به عنوان بهترین مدل تکاملی به وسیله نرم‌افزار Mr Modeltest 2 شناخته شد.

در درخت‌ها فیلوژنی رسم شده، گونه گیش دم زرد از سه منطقه مورد بررسی و توالی‌های گیش دم زرد دریافت شده از بانک ژن، کاملا از سایر گونه‌های گیش ماهیان تفکیک گردیدند.

در ترسیم درخت فیلوژنی به روش‌های Maximum Likelihood، Maximum Parsimony و Bayesian (شکل۲)، مشخص شد که نمونه های بندرعباس، بندر بوشهر و ۳ نمونه از بندر چابهار به ترتیب با بوت استراپ ۸۸، ۸۶ و ۹۳ درصد در یک شاخه یا کلاد مشترک (A) و ۷ نمونه از بندر چابهار به ترتیب با بوت استراپ ۹۵، ۸۷ و ۹۷ درصد با یک نمونه از بانک ژن شاخه مجزا (B) را تشکیل داده‌اند و با شاخه (A) در فاصله کمی بیشتر قرار دارند و این دو شاخه نیز با بوت استراپ بسیار بالا، به ترتیب ۱۰۰،۱۰۰ و ۹۹ درصد با هم رابطه خواهری نشان دادند.

جهت بررسی وضعیت و فراوانی هاپلوتایپ‌ها، به وسیله نرم افزار NETWORK 10.2 شبکه هاپلوتایپی با روش اتصال میانه (Median joining) رسم گردید (شکل۳).

تعداد دایره‌ها در این نمودار ۱۳ عدد مشاهده شد که نشان دهنده تعداد هاپلوتایپ‌ها می‌باشد. هاپلوتایپ ٦ هاپلوتایپ مرکزی و با بیشترین فراوانی و در تمام مناطق مورد بررسی مشاهده و دارای چندین خط ارتباطی با بقیه هاپلوتایپ‌ها می‌باشد پس به احتمال زیاد قدیمی تر است. از هاپلوتایپ ۹ تعداد دو عدد، هاپلوتایپ ۱۱ سه عدد و هاپلوتایپ‌های ۱۰ و ۱۲ یک عدد و فقط در بندر چابهار مشاهده شده و تا حدودی از بقیه مناطق جدا شده‌اند.

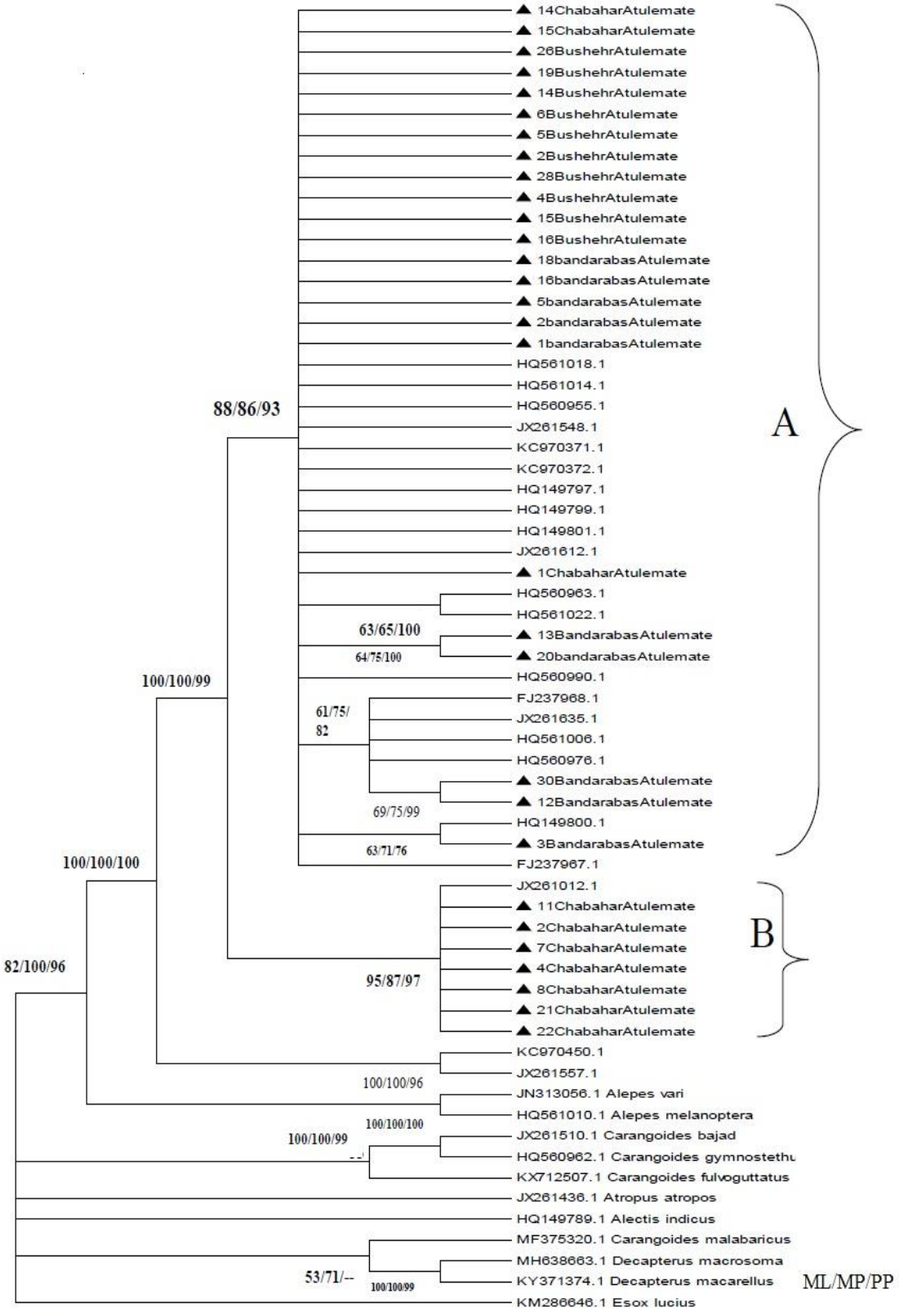
به دلیل وجود جریان ژنی بالا بین منطقه بندر عباس و بندر بوشهر هاپلوتایپ‌های این مناطق از هم جدا نشده‌اند. هاپلوتایپ‌های ۱، ۲، ۳، ٤ و۵ از هر کدام یک عدد و فقط در منطقه بندرعباس، از هاپلوتایپ ۷ یک عدد، هاپلوتایپ ۸ دو عدد و فقط در منطقه بندر بوشهر مشاهده شد. که اختصاصی این مناطق می-باشند. که احتمالاً یا در گذشته جزء هاپلوتیپ‌های غالب بوده‌اند و به مرور زمان از جمعیت آنها کاسته شده است، یا هاپلوتیپ های جدید هستند که در جمعیت ایجاد شده و ممکن است شرایط زیستی منجر به افزایش تعداد آنها در آینده شود و از وضعیت نادر خارج شوند و یا در اثر بروز جهش و یا نوترکیبی احتمالی ایجاد شده باشند.

جدول۳–درصد فراوانی نوکلئوتیدهای ژن COI میتوکندریایی ماهی گیش دم زرد در ۳ منطقه مورد مطالعه

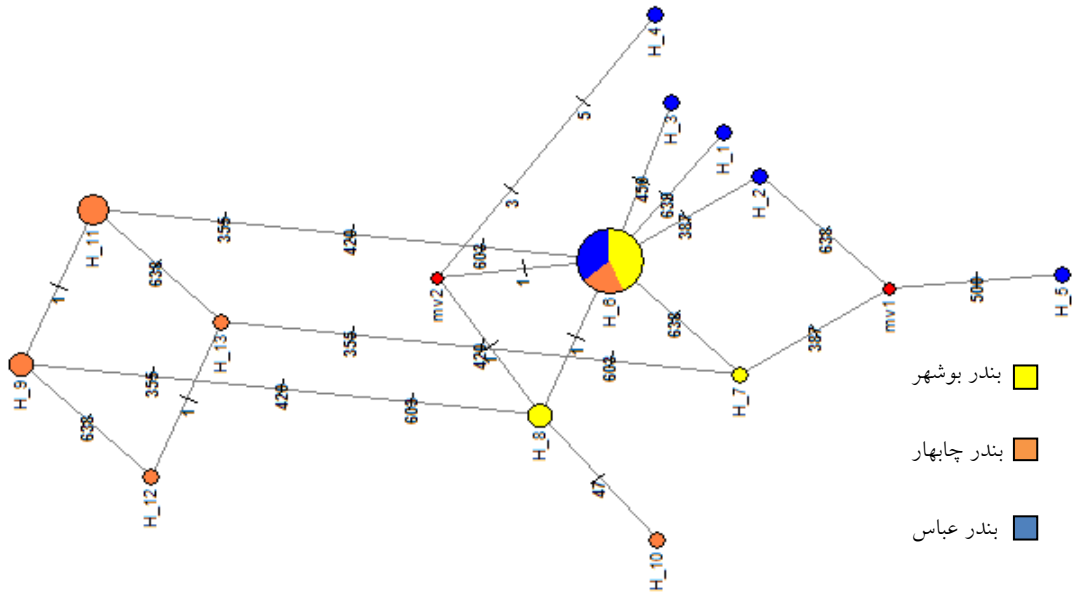
Atule mate	T%	C%	A%	G%	AT%	GC%
بندر عباس	۳۲/٤٤	۲۵/٤٦	۲٤/۵۱	۱۷/۵۸	۵٦/۹۵	٤۳/۰٤
بوشهر	۳۲/٤۱	۲۵/۵۰	۲٤/۵۷	۱۷/۵۳	۵٦/۹۸	٤۳/۰۳
چابهار	۳۲/٤۸	۲۵/۲۹	۲٤/۷۱	۱۷/۵۲	۵۷/۱۹	٤۲/۸۱

جدول ٤- تخمین میزان حداکثر درست نمایی مرکب الگوی جانشینی نوکلئوتیدی نوع اول و دوم توالی‌های ماهی گیش دم زرد

	A	T	C	G
A	_	۵/۹۲	٤/٦۵	**۱۰/۱۷**
T	٤/۵	_	**۱۷/۱۵**	۳/۲
C	٤/۵	**۲۱/۸٤**	_	۳/۲
G	**۱٤/۳**	۵/۹۲	٤/٦۵	_



شکل۲-درخت فیلوژنی گیش دم زرد (*Atule mate*) مناطق مورد مطالعه (بندر بوشهر، بندر عباس و بندر چابهار) و مناطق دیگر از بانک ژن. ترسیم به روش Maximum likelihood. اعداد روی شاخه‌ها به ترتیب نشان دهنده بوت استراپ بیشترین تشابه، بیشترین صرفه جوئی و احتمال پسین می باشند. ▲ = نمونه‌های گیش دم زرد ایران.



شکل۳-شبکه هاپلوتایپی اتصال میانه ناحیه سیتوکروم اکسیداز I نمونه های گیش دم زرد سه منطقه مورد مطالعه با استفاده از نرم افزار Network 10.2، (mv=median vector)

بحث

در این مطالعه برای اولین بار روابط فیلوژنتیکی ماهی گیش دم زرد بر اساس روش توالی یابی در مناطق شمالی خلیج فارس و دریای عمان، به وسیله ژن COI میتوکندریایی انجام گرفت. نتایج به دست آمده بیانگر این است که ژن COI میتوکندریایی در بررسی روابط خویشاوندی گونه گیش دم زرد از کارایی بالایی برخوردار است. در توالی‌های مورد نظر درصد پایین نوکلئوتید G و ترکیب تقریبا یکسان نوکلئوتیدهای A و C و درصد بالاتر در نوکلئوتید T مشاهده شد. در این بررسی، درصد AT بالاتر از GC گزارش شده است. نتایج مشابهی نیز توسط Li و همکاران (۲۰۱۶)، با مطالعه روی ژنوم کامل میتوکندریایی ماهی گیش دم زرد و توسط Jamaludin و همکاران (۲۰۲۰)، با مطالعه گونه (*Decapterus maruadsi*) از خانواده گیش ماهیان بدست آمد. در مطالعه Allam و همکاران (۲۰۲۱) و Lakra و همکاران، (۲۰۱۱) روی خانواده گیش‌ماهیان بر خلاف مطالعه حاضر نسبت درصد GC بالاتر از AT گزارش شد. در مطالعه حاضر، نسبت درصد GC در بندر چابهار از بندر عباس و بندر بوشهر کمتر می‌باشد. هر چه نسبت GC یک گونه بیشتر باشد آن گونه اجدادی‌تر و قدیمی‌تر است (۳۲، ۳۳). در مطالعه حاضر میزان جانشینی انتقالی به جانشینی متقاطع بیشتر می‌باشد. بیشتر بودن میزان جانشینی انتقالی نسبت به جانشینی متقاطع توسط پژوهشگران دیگر نیز گزارش شده است (۳، ۲۶) که به احتمال زیاد در نتیجه متیلاسیون سیتوزین رخ می‌دهد (۳۱).

در درخت‌ها فیلوژنی بدست آمده از آنالیز داده ها با روش‌های Maximum Likelihood، Maximum Parsimony و Bayesian (شکل۲) دو شاخه اصلی A و B مشاهده شد. شاخه A به ترتیب با بوت استراپ ۸۸، ۸۶، ۹۳ درصد، شامل ۲۰ گونه گیش دم زرد ایرانی

از مناطق بندرعباس و بندر بوشهر و ۳ نمونه از بندر چابهار به همراه ۱۹ گونه گیش دم زرد منتخب بانک ژن از مناطق دیگر دنیا قرار گرفتند که نشان دهنده جریان ژنی و شباهت ژنتیکی بیشتر آنها با یکدیگر و تساوی نرخ بین شجره هایشان است. بنابراین نمی-توان جمعیت‌های مجزایی برای مناطق بندر عباس و بندر بوشهر مشاهده نمود. شاخه B شامل ۷ گونه گیش دم زرد ایرانی از بندر چابهار به همراه یک گونه گیش دم زرد از منطقه مالزی (Pahang) با شماره دسترسی (JX261012) و بوت استراپ ۹۵، ۸۷ و۹۷ بوده و از اعضای بخش شاخه A متمایز شده‌اند و این دو شاخه به ترتیب با بوت استراپ بسیار بالای ۱۰۰،۱۰۰ و ۹۹ درصد رابطه خواهری با یکدیگر نشان دادند. در کل نمونه های گیش دم زرد مورد مطالعه به خوبی از گونه‌های دیگر خانواده گیش ماهیان بانک ژن تفکیک شده‌اند. نمونه های ۲۰ و ۱۳ منطقه بندر عباس به ترتیب با بوت استراپ ٦۹، ۷۵ و ۹۹ درصد در یک زیر شاخه قرار گرفته‌اند و با بقیه نمونه‌های گیش دم زرد رابطه خواهری دارند. نمونه های ۱۲ و ۳۰ بندر عباس نیز به ترتیب با بوت استراپ ٦٤، ۷۵ و ۱۰۰ درصد در یک زیر شاخه دیگر قرار گرفته و با ٤ نمونه از بانک ژن با بوت استراپ ٦۱، ۷۵ و۸۲ درصد رابطه خواهری نشان دادند. نمونه ۳ بندرعباس با نمونه HQ149800 (نایبند در ایران)، نیز به ترتیب با بوت استراپ ٦۳، ۷۱ و ۷٦ درصد گروه خواهری تشکیل داده‌اند. بر اساس درخت فیلوژنی رسم شده، ماهی گیش دم زرد مورد مطالعه بیشترین قرابت را با بوت استراپ ۱۰۰ درصد در تمامی درخت‌ها فیلوژنی با گونه های (*Alepes vari*) و (*Alepesmelanoptera*) از خانواده گیش ماهیان دارند. نتایج حاصل نشان دهنده وجود جریان ژنی مفید در جمعیت ماهیان گیش دم زرد (*Atule mate*) در مناطق مورد بررسی می‌باشد که از کاهش تنوع زیستی این گونه جلوگیری می‌نماید. در مطالعه Torres و همکاران (۲۰۱۹)، بر روی ۵ گونه از گیش ماهیان، با استفاده از ژن COI تمامی جنس‌های *Caranx* با بوت استراپ بالا در درخت فیلوژنی در یک شاخه قرار گرفتند. در مطالعه حاضر۱۳ هاپلوتایپ شناسایی شده که کمترین فراوانی هاپلوتایپی در بندر بوشهر و بیشترین فراوانی هاپلوتایپ‌ها در بندر عباس و بندر چابهار مشاهده گردید. هاپلوتایپ ٦ در سه منطقه مورد مطالعه مشترک و با بیشترین درصد فراوانی مشاهده شده، که به عنوان هاپلوتایپ مرکزی این شبکه در نظر گرفته شده است و دیگر جمعیت‌ها از آن مشتق شده اند این هاپلوتایپ دارای چند خط ارتباطی با دیگر هاپلوتایپ‌ها می‌باشد. در نتیجه احتمالا قدیمی تر می-باشد. با توجه به فاصله تقریبا مساوی هاپلوتایپ‌های بندر بوشهر و بندر عباس از هاپلوتایپ مرکزی می توان نتیجه گرفت که احتمالا مسیر جریان ژنی به درون جمعیت‌ها از جمعیت یا جمعیت‌هایی در خارج از مناطق مورد مطالعه می‌باشد. هاپلوتایپ‌های مربوط به منطقه بندر چابهار تا حدودی از دیگر مناطق جدا شده‌اند. به دلیل وجود جریان ژنی بالا بین مناطق بندر عباس و بندر بوشهر هاپلوتایپ‌های این دو منطقه از هم جدا نشده‌اند. بررسی شبکه هاپلوتایپی جمعیت‌های سه منطقه و ارتباط هاپلوتایپ‌ها در مناطق وجود جریان ژنی بین سه منطقه را تایید می‌کند که نتیجه آن عدم واگرایی کامل ژنتیکی جمعیت سه منطقه از هم می‌باشد. چنین نتیجه‌ای در درخت‌ها فیلوژنی رسم شده نیز تایید می‌شود. Hernandez و همکاران (۲۰۱۸)، با استفاده از ژن COI، گونه (*Caranx hippos*) از خانواده گیش ماهیان در دریای کارائیب را مورد بررسی قرار دادند و ۲۱ هاپلوتایپ شناسایی کردند. Jamaludin (۲۰۲۰)، روابط فیلوژنتیکی گونه (*Decapterus maruadsi*) از خانواده گیش ماهیان را در آب‌های Sundaland در جنوب

شرقی آسیا بررسی و نشان داد که ژن COI به خوبی این گونه را شناسایی و از مناطق دیگر مورد بررسی تفکیک کرده است. Jaafar و همکاران (۲۰۱۷)، تعدادی از گونه‌های خانواده گیش ماهیان را در مجمع الجزایر اندونزی- مالزی با استفاده از ژن COI میتوکندریایی مورد بررسی قرار داده و نشان دادند که ژن COI میتوکندریایی ابزار مناسب و کارآمدی در شناسایی گونه‌های گیش ماهیان در این مناطق می-باشد. اخیرا مطالعات زیادی به منظور شناسایی روابط فیلوژنتیکی جنس و گونه های گیش ماهیان با مارکرهای گوناگون انجام شده است (۷،۲۳، ۴۲، ۴۰). همچنین با توجه به نتایج پژوهش حاضر، درجه حمایت بالا (بوت استراپ) شاخه‌های درخت‌ها فیلوژنی بدست آمده در این مطالعه، نشان دهنده آن است که قطعه ژنی COI، نشانگری مطلوب جهت ارزیابی و حل فرضیه های تکاملی می‌باشد (۱۲).

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج درخت‌ها تبارزایشی و شبکه هاپلوتایپی، جمعیت‌های بندرعباس و بندر بوشهر با وجود فاصله مکانی با هم همپوشانی نشان داده و احتمالا از یک جمعیت یکسان می‌باشند. بیشتر نمونه های بندر چابهار با فاصله بیشتری از نمونه های مناطق بندر عباس و بندر بوشهر قرار گرفته اند. وجود هاپلوتایپ مشترک در شبکه هاپلوتایپی نیز بیانگر وجود نیای مشترک در سه منطقه مورد مطالعه می-باشد. برخلاف وجود شرایط اکولوژیکی متفاوت در مناطق مورد بررسی به نظر می‌رسد به علت قدرت بالای این ماهیان در حرکت، محیط قادر به تفکیک این جمعیت‌ها نبوده و سبب ایجاد اختلاط جمعیتی بین آنها شده است. در مجموع نتایج حاصل نشان دهنده کارایی بالای ژن COI میتوکندریایی در مطالعات مربوط به روابط فیلوژنتیک گونه گیش دم زرد می‌باشد.

منابع

1.Adams, J. 2008. DNA sequencing technologies. *Nature Education*. 1(1):10-18.

2.Allam M., Marie Z.A., 2021. Phylogenetic and genetic diversity of some carangid species from the Egyptian Red Sea using divergent domain D11 of 28S rRNA gene. *Egyptian Journal of Aquatic Biology & Fisheries*, 25(1):61–73.

3.Bakker F.T., Culham A., Gomez Martinez R., Carvalho J., Compton J., Dawtrey R., Gibby M., 2000. Patterns of nucleotide substitution in angiosperm cpDNA *trnL* (UAA)–*trnF* (GAA) regions. *Molecular biology and Evolution*, 17(8):1146-1155.

4.Bingpeng X., Heshan L., Zhilan Z., Chunguang W., Yanguo, W., Jianjun, W., 2018. DNA barcoding for identification of fish species in the Taiwan Strait. *PLoS ONE*, 13(6):1-16.

5.Briolay J., Galtier R.M., Brito M., Bouvet Y., 1998. Molecular phylogeny of Cyprinidae inferred from Cytochrome b DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 9(1):100–108.

6.Carpenter K.E., Harrison P., Hodgs G., Alsaffar A., Ahazeem S.H., 1997b. The corals and reef Fishes of Kuwait, 1nd Edition, Institute for Scientific research, Kuwait,166p.

7. Damerau M., Freese M., Hanel R., 2018. Multi-gene Phylogeny of Jacks and Pompanos (Carangidae), Including Placement of Monotypic Vadigo Campogramma glaycos. *Journal of Fish Biology*, 92(1):190–202.

8. Dettai A., Adamowizc S.J., Allcock L., Arango C.P., Barnes D.K.A., Barratt I., Chenuil A., Couloux A., Cruaud C., David B., Denis F., Denys G., Díaz A., Eléaume M., Féral J.P., Froger A., 2011. DNA barcoding and molecular systematics of the

benthic and demersal organisms of the CEAMARC survey. *Polar Science*, 5(2): 298–312.

9. Douzery E.J.P., Pridgeon A.M., Kores P., Linder H.P., Kurzwell H., Chase M.W. 1999. Molecular Phylogenetics of disease (Orchidaceae) a contribution from Nuclear Ribosomal ITS Sequences. *American Journal of Botany*, 86(6): 887–899.

10. FAO, 1981. Conservation of the Genetic Resource of fish. Problem and Recommendations. FAO Fisheries Technical Paper, Rome, 50 p.

11. Fischer W., Bianchi G., 1984. FAO species identification sheets for fishery purposes. Western Indian Ocean; (Fishing Area 51). Prepared and printed with the support of the Danish International Development Agency, Rome, 304 pp.

12. Frey M., Vermeij G.J., 2008. Molecular phylogenies and historical biogeography of a circumtropical group of gastropods implications for regional diversity patterns in the marine tropics. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 48(3):1067-1086.

13. 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.

14. Habib M., Lakra W.S., Mohindra V., Khare P., Barman A.S., Singh A., Khan A.A., 2011. Evaluation of Cytochrome b mtDNA sequences in genetic diversity studies of *Channa marulius* (Channidae: Perciformes). *Molecular Biology Reports*, 38(1): 841-846.

15. 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.

16. Hernández I., Narváez-Barandica I., Acero-Pizarro., Acero-Pzarro A., 2018. Genetic variation and genetic structure of *Caranx hippos* (Teleostei: Carangidae) in the Colombian Caribbean. *Revista de Biologia Tropical*, 66(1):122-135.

17. Ibanez A.L., Cowx I.G., O'Higgins P. 2007. Geometric morphometric analysis of fish scales for identifying genera, species and local populations within the Mugilidae. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 64:1091-1100.

18. Jaafar T.N.A., Taylor M.I., Mohd Nor S.A., de Bruyn M., Carvalho GR., 2017. DNA Barcoding Reveals Cryptic Diversity within Commercially Exploited IndoMalay Carangidae (Teleosteii: Perciformes). *PLoS ONE*, 7(11): 1-16.

19. Jamaludin N., Mohd-Arshad W., Zainal Abidin D. 2020. Phylogeography of the Japanese scad, *Decapterus maruadsi* (Teleostei; Carangidae) across the Central Indo-West Pacific: evidence of strong regional structure and cryptic diversity, *Mitochondrial DNA Part A*, 31(7): 298-310.

20. Kumar S., Stecher G., Tamura K. 2016. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. *Molecular Biology and Evolution*, 33(7): 1870–1874.

21. Lakra W.S., Verma M.S., Goswami M.,Lal K., Mohindra V., Punia P. 2011. DNA barcoding Indian marine fishes, *Molecular Ecology Resource*, 11(2):60-71.

22. Li M., Li Y., Chen Z., 2016. Description of the mitochondrial genome of yellowtail scad *Atule mate* (Perciformes: Carangidae). *DNA Mapping Sequencing, and Analysis*, 27(3): 2186-7.

23. Li Z., Li M., Xu., S., Liu L., Chen Z., Zou K. 2020. Complete Mitogenomes of Three Carangidae (Perciformes) Fishes: Genome Description and Phylogenetic Considerations. *International Journal of Molecular Science*, 21(13): 2-16.

24. Lin H. 2009. Evolution of the suborder Blennioidei: phylogeny and phylogeography of shallow water fish clade

33. Rodriguez F., Oliver J.L., Marin A., Medina JR. 2009. The general stochastic model of nucleotide substitution, *Journal of Theoretical Biology*, 142(4): 485-501.

34. Ronquist F., Huelsenbeck J.P. 2009. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics*, 19(12): 1572-1574.

35. Rozas J., Ferrer-Mata A., Sánchez-DelBarrio J.C., Guirao-Rico S., Librado P., Ramos-Onsins S.E., Sánchez-Gracia A. 2017. DnaSP 6: DNA Sequence Polymorphism Analysis of Large Datasets. *Molecular Biology and Evolution*, 34(12): 3299-3302.

36. Sanger F., Nicklen N., Coulson A.R., 1977. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Biochemistry*, 74(12): 5463-5467.

37. Sayers EW., Barrett T., Benson DA., 2011. Database resources of the national center for biotechnology information. *Nucleic Acids Research*, 39(2): 38-51.

38. Sedigh zadeh Z., Vousoghi GH., Valinasab T., Fatemi M., 1386. A review of the Morphology of Otoliths in Some Commercial Pelagic Fish of the Persian Gulf. *Journal of Veterinary Medicine*, 3(1): 1-10.

39. Swofford D., 2003. PAUP*: phylogenetic analysis using parsimony (* and other methods). Laboratory of Molecular Systematics Smithsonian Institution, Sinauer Associates, Sunderland, 130 pp.

40. Templonuevo R. M. Alcantara S., Juanico C. S. Yambot A., 2018. DNA barcoding of two commercially important fish families (Carangidae and Lutjanidae) collected from Cuyo, Palawan, Philippines. *International Journal of Agricultural Technology*, 14(7): 2051-2066.

41. Thompson J.D., Higgins D.G., Gibson T. J., 1997. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, Electronic Theses and Dissertations, San Diego, 186 pp.

25. Lucentini L., Caporali, S., Palomba A., Lancioni H., Panara F. 2006. A comparison of conservative DNA extract ion methods from fins and scales of freshwater fish: A useful tool for conservation genetics. *Conservation Genetics*,7(6):592-613.

26. Mayr E., Ashlock P.D., 1990. Principle of Systematic Zoology, 2nd Edition McGraw-Hill College press. New York, 428p.

27. Na-Nakorn U., Sukmanomon M., Nakajima N., Taniguchi W., Kamonrat S., Poompuang T., Nguyen., 2006. MtDNA diversity of the critically endangered Mekong giant catfish (*Pangasianodon gigas* Chevey, 1913) and closely related species: implications for conservation, *Animal Conservation*, 9(4): 483–494.

28. Nelson J.S., 2006. Fishes of the world. John and Sons Inc. 4th Edition, New Jersey, 601 pp.

29. Nylander J., 2004. MrModeltest v2. Program distributed by the author. Evolutionary Biology Centre, Uppsala University, 3pp.

30. Page RD. TreeView: an application to display phylogenetic trees on personal computers., 2001. *Computer Applications in the Biosciences*, 12(4): 357-358.

31. Picoult-Newberg L., Ideker TE., Pohl MG., Taylor SL., Donaldson MA., Nickerson DA., Boyce-Jacino M., 1999. Mining SNPs from EST databases. *Genome Research*, 9(2):167-174.

32. Rodriguez C.R., Cho E.J, Keogh M.C., Moore C.L., Greenleaf A.L., Buratowski S., 2000. 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.

position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic acids research*, 11(22): 4673-4680.

42. Thu P.T., Linh N.M., Quan N.V. Chien, P.V., Ly D.H. Hiep L.B.H. 2019. DNA barcoding for identification of some fish species (Carangidae) in Vietnam coastal area. *Journal of Marine Science and Technology*, 19(4): 527-536.

43. Torres S.K.M., Santos B.S. 2019. Species Identification Among Morphologically-Similar *Caranx* species. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 20(2): 159-169.

44. Valinassab T. 2013. List of fishes of the Persian Gulf, Oman Sea and Caspian Sea. 1th Edition, Mowj-e-sabz Publisher, Tehran, 280 pp.

45. Ward R.D., Zemlak T., Innes B.H., Last P.R., Hebert P. 2005. DNA barcoding Australia's fish species. *Philosophical Transcations of the royal society*, 360(1462): 1847-1857.

46. Zhang D.X., Hewitt G.M., 2003. Nuclear DNA analyses in genetic studies of populations: Practice, problems and prospects. *Molecular Ecology*, 12(3):563-584.

Phylogenetic Relationship of Yellowtail Scad (*Atule mate*) in the Persian Gulf and Oman Sea Using Cytochrome Oxidase I Gene

Mahzad Shakouri [1], Pargol Ghavam Mostafavi*[1], Mohammad Pourkazemi[2], Seyyed Mohammadreza Fatemi [1]

1 .Department of Marine Science ,Faculty Of Natural Resources and Environment , Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran

2 .Affiliated member of University of Guilan, the Caspian Sea Water Basin Institute, Rasht, Iran

Abstract

Genetic analysis of fish populations is essential for conserving biodiversity and increasing knowledge about the survival of species, and finding the factors threatening or contributing to the survival of these populations. The present study is aimed at investigating phylogenetic relationship of Yellowtail Scad in the northern Persian Gulf and Oman Sea by sequencing mitochondrial Cytochrome Oxidase I gene. Ninety yellow tail Scad have been collected from Bandar Abbas, Bushehr, and Chabahar port. Genomic DNA was extracted using Ammonium acetate method. After electrophoresis on 1% agarose gel, Cytochrome Oxidase I (COI) gene was amplified by Polymerase Chain Reaction (PCR), using pair of primers. After sequencing of PCR product, the phylogenetic tree was drawn by MEGA7 software with different methods (Maximum Likelihood, Maximum Parsimony, and Bayesian) using (*Esox lucius*) as an extraspecific group. All samples from Bandar Abbas, Bushehr, and three samples from Chabahar port were located in the same clade. Chabahar sample with a little more distance was located in separate clade and due to high supportive degree (bootstrap) showed sister group relationship. Moreover, these two clades were located with more evolutionary distance from extraspecific group. Consequently, COI gene sequencing was an appropriate and reliable method for phylogenetic relationship of Yellowtail Scad, providing useful information about protection and management of this valuable species.

Keyword: Phylogeny, Yellowtail Scad, COI, Polymerase Chain Reaction, Persian Gulf and Oman Sea