Journal of Aquaculture Development
Vol. 19, No. 2, 2025, Pages: 34-48
DOI: 10.71901/jad-2025-2-853

RESEARCH PAPER **OPEN ACCESS**

Investigation of genetic structure of Caspian kutum (*Rutilus frissi*) stocks on the southern basin of the Caspian Sea (Guilan province) by mtDNA sequencing

Hassanzadeh Saber, M.[1*], Jafari, O.[1], Jamshidi, Sh.[1], Mohseni, M.[1], Abbasi, K.[2], Bagheri, S.[2], Abdollahzadeh, E,[1], Forouzad, M.[1]

1- International Sturgeon Research Institute (ISRI), Iranian Fisheries Science Institute (IFSRI), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran

2- Inland Waters Aquaculture Research Center, Iranian Fisheries Science Research Institute (IFSRI), Agriculture Research Education and Extension Organization (AREEO), Bandar-e Anzali, Iran.

3- Iranian Fisheries Science Research Institute (IFSRI), Agriculture Research Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran.

Received: 15 October 2024 **Accepted: 18 December 2024**

Abstract:

Introduction: In order to investigate the possibility of genetic differentiation and to compare the genetic structure of Kutum population using DNA sequencing methods, ten Kutums from the eastern, middle and western regions of the Caspian Sea (coasts of Gilan province) were sampled from the mentioned areas.

Materials and Methods: DNA of three samples of each area and species was extracted using ammonium acetate method, their quantity and quality were determined using 1% agarose gel and Nanodrop device (ND1000), respectively. One pair of primers (Forward and Reverse) of 16SrRNA gene were designed and synthesized using GeneRuner software. In order to determine the sequence of the 16SrRNA gene, Kutum DNA were amplified by PCR. Then, PCR product was runned on 1% agarose gel and bands have been produced in the range of 500-600 bp.

Results and Discussion: Evolutionary difference (Maximum Likelihood), neighbor-joining and phylogeny relationships were obtained using MEGA11 software. The results show that the samples of Kutum in three areas have 97% similarity and 3- 5% evolutionary differences with each other. The

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06]

[DOI: 10.71901/jad-2025-2-853]

phylogeny tree of Kutum samples was drawn using Neighbor-Joining methods. In order to compare of phylogeny relationships of Kutum from three areas using Neighbor-Joining method, each western and eastern samples were placed in a separated cluster, which it could be a sign of population differences according to 16SrRNA gene. Due to the destruction of the rivers where they migrate, the pollution of the Caspian Sea and the lack of physical barriers in it, the kutum in these two regions still has genetic diversity.

Conclusion: So preserving the genetic structure of the kutum populations in the central, eastern and western regions on the coasts of Gilan province is important and essential.

Key words: Genetic structure, Kutum, Golden grey mullet, Caspian Sea, mtDNA.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06]

* *Corresponding Author: saber.merag@gmail.com*

[DOI: 10.71901/jad-2025-2-853]

نشریه توسعه آبزی‌پروری، سال نوزدهم، شماره دوم، تابستان ۱۴۰۴، صفحه های ۴۸-۳۴
DOI: 10.71901/jad-2025-2-853

"مقاله پژوهشی"

ساختار ژنتیکی ماهی سفید (*Rutilus frissi,* Nordmann, 1840) در حوضه جنوبی دریای خزر (استان گیلان) با استفاده از توالی یابی DNA میتوکندریایی

محمد حسن زاده صابر[۱*]، امیدجعفری[۱]، شیرین جمشیدی[۱]، محمود محسنی[۱]، کیوان عباسی[۲]، سیامک باقری[۲]، اسماعیل عبداله‌زاده[۱]، مریم فروزد[۳]

۱- انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج جهاد کشاورزی، رشت، ایران

۲- پژوهشکده آبزی پروری آبهای داخلی، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج جهاد کشاورزی، بندر انزلی، ایران

۳- موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج جهاد کشاورزی، رشت، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۷/۲۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۹/۲۸

چکیده

به‌منظور بررسی امکان تمایز ژنتیکی و مقایسه ساختار ژنتیک جمعیت ماهی سفید با استفاده از روش‌های تعیین توالی DNA (DNA sequencing) ، تعداد ده عدد ماهی سفید از مناطق شرقی، مرکزی و غربی دریای خزر (سواحل استان گیلان) صید گردید. DNA سه نمونه ماهیان از هر منطقه با استفاده از روش استات آمونیوم استخراج شد و کمیت و کیفیت آن‌ها با استفاده از ژل آگارز ۱ درصد و دستگاه نانودراپ (مدل ND1000) تعیین گردید. دو جفت پرایمر (Forward و Reverse) ژن 16SrRNA با استفاده از نرم افزار GeneRuner طراحی و سنتز شد. جهت تعیین توالی ژن 16SrRNA، پس از استخراج DNA و PCR، محصول PCR بر روی ژل آگارز ۱ درصد رانده شد و باندهایی در محدوده ۵۰۰ – ۶۰۰ جفت باز برای ژن 16SrRNA تولید نمود. اختلاف تکاملی، درجه خویشاوندی و روابط فیلوژنی با استفاده از نرم افزار MEGA11 به‌دست آمد. نتایج حاصله نشان داد که نمونه‌های ماهی سفید در سه منطقه صید شده دارای ۹۵-۹۷ درصد شباهت بوده و ۵-۳ درصد با یکدیگر اختلاف تکاملی دارند. درخت فیلوژنی نمونه‌های ماهی سفید با استفاده از روش Neighbor-Joining ترسیم گردید و نشان داد که نمونه‌های مناطق غربی و شرقی هر کدام بر روی یک کلاستر مجزا قرار دارند که این می‌تواند نشانه تمایز جمعیت‌ها بر اساس ژن 16SrRNA باشد. با توجه به تخریب رودخانه‌های محل مهاجرت، آلودگی دریای خزر و عدم وجود موانع فیزیکی در این پهنه آبی، ماهی سفید در این دو منطقه هنوز از تنوع ژنتیکی برخوردار می‌باشد. بنابراین حفظ ساختار ژنتیکی جمعیت‌های ماهی سفید مناطق مرکزی، شرقی و غربی در نوار ساحلی استان گیلان دارای اهمیت اساسی می‌باشد.

کلمات کلیدی: ساختار ژنتیکی، ماهی سفید، دریای خزر، DNA میتوکندری.

* عهده‌دار مکاتبات: saber.merag@gmail.com

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06]

[DOI: 10.71901/jad-2025-2-853]

مقدمه

ماهی سفید (*Rutilus frissi*, Nordmann, 1840) دریای خزر در بین ذخایر ماهیان استخوانی یکی از گونه‌های با ارزش و اقتصادی در حوزه جنوبی این دریا می‌باشد که با توجه به لذیذ بودن، ارزش غذایی بالا، کیفیت عالی گوشت بیش از ۷۰٪ کل صید این ماهیان را به‌خود اختصاص می‌دهد (Abdolmaleki and Ghaninezhad, 2007; Abbasi Ranjbar, 2023). ماهی سفید بومی دریای خزر بوده و از دهانه رود ولگا تا خلیج میانکاله، دریای سیاه و دریای آزوف و رودخانه‌های آن‌ها پراکنده‌اند (Rezavi, 1995). پراکنش اصلی این ماهی از قسمت جنوب غربی دریای خزر مجاور بندر انزلی و خلیج قزل چای می‌باشد. همچنین در سواحل شرقی در مناطق مصبی رودخانه اترک و آب‌های ایران نیز وجود دارد. کاهش سطح آب دریای خزر، ماهی‌گیری غیرمسئولانه، آلودگی‌های صنعتی و شهری، تغییرات زیست‌محیطی محل‌های مهاجرت طبیعی و کاهش دبی آب رودخانه در فصل مهاجرت تکثیر طبیعی از دلایل کاهش این ذخایر بوده است (Coad, 1980; Razavi Sayyad, 1999; Ghaninezhad *et al*., 2000; Abdolmaleki *et al*., 2004). به همین دلیل مولدین ناگزیر از مهاجرت در تمامی نوار ساحلی دریای خزر بوده و احتمال تکثیر آنها بدون اطلاع از ساختار ژنتیکی و جمعیتی آن‌ها می‌تواند سبب افزایش ضریب هم‌خونی در جمعیت‌های آن گردد. این روند در درازمدت می‌تواند تأثیرات سویی به دنبال داشته و به صورت تدریجی سبب تخریب ذخایر ژنتیکی و نابودی تدریجی خزانه ژنی جمعیت‌های ماهی سفید گردد که از عوارض آن کاهش سرعت رشد، کاهش میانگین طول، کاهش درصد هم‌آوری و افزایش لاروهایی که دارای ناهنجاری‌های ریختی می‌باشند در یک دوره ۲۰ الی ۷۵ ساله است (Pourkazemi, 2000). بطور کلی اطلاع از تنوع ژنتیکی آبزیان و حفظ آن هم برای جمعیت‌های وحشی و هم برای جمعیت‌های پرورشی ضروری می‌باشد زیرا تامین کننده طیف وسیعی از ژنوتیپ به‌عنوان پاسخی به سازش‌پذیری در شرایط متغییر محیطی است.

اعمال مدیریت صحیح ذخایر آبزیان و توسعه آبزی‌پروری زمانی با موفقیت همراه خواهد بود که ذخایر ژنتیکی گونه‌های بومی منطقه بطور دقیق و بر مبنای اصول ژنتیکی شناسایی گردد. همچنین آگاهی از میزان ذخایر توارثی و تنوع ژنتیکی بین افراد یک گونه از اهداف ارزشمند مدیریت ذخایر و اصلاح نژاد می‌باشد. بنابراین قبل از اجرای هر برنامه مدیریتی یا تولیدی ضرورت دارد جمعیت‌های مربوطه را شناسایی و با روش‌های مولکولی مورد ارزیابی قرار داد و سپس برنامه مدیریتی را برای حفظ و بازسازی ذخایر آن تدوین و اعمال نمود (Rezvani, 2001).

روش‌های مولکولی مانند توالی یابی ژنوم میتوکندریای یکی از کاربردی‌ترین روش‌ها برای تعیین رابطه فیلوژنتیکی بین جمعیت‌ها و گونه‌های نزدیک به هم محسوب می‌شود (Bruford *et al*., 2003; Saeidi *et al*., 2016; Sharifi *et al*., 2017). ژنوم میتوکندری (mtDNA) برای مطالعات ژنتیک جمعیت و تعیین گونه‌ها ارجحیت فراوانی دارد. کپی‌های بسیار متعدد از این اورگانل در هر سلول مطالعه آن را آسان نموده است. از طرف دیگر وراثت مادری (maternal)، عدم نوترکیبی (recombination) و سرعت بالای تغییرات ژنتیکی

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06]

[DOI: 10.71901/jad-2025-2-853]

(۵-۱۰ برابر ژنوم هسته)، کاربرد وسیعی از آن را درمطالعات فیلوژنی، یافتن اجداد، جریان ژنی، پراکنش آن‌ها، تشخیص مهاجرت‌ها، پراکندگی جغرافیایی گونه‌ها و جمعیت‌ها فراهم نموده است (Wilson *et al*.,1997). این خصوصیات باعث شده از mtDNA به‌عنوان یک مارکر مولکولی بسیار خوب برای تشخیص گونه‌ها، ترسیم رابطه فیلوژنتیکی و مطالعه ژنتیک جمعیت یاد شود. Chakmehdouz Ghasemi و همکاران (۲۰۱۴) در مقایسه جمعیت‌های ماهی سفید مهاجر به تالاب انزلی و رودخانه شیرود گزارش کردند که ماهی سفید تالاب انزلی و رودخانه شیرود هر یک جمعیت مستقلی می‌باشند. بنابراین حفظ تنوع ژنی و اجرای برنامه‌های مدیریتی شیلاتی مبنی بر ازدیاد ذخایر هر یک از این جمعیت‌ها بایستی مد نظر قرار گیرد. Rezaei و همکاران (۲۰۱۲) میزان تنوع ژنتیکی را در ماهی سفید جمعیت‌های مناطق تجن و تنکابن به روش ریزماهواره بررسی کردند و علیرغم بالا بودن هتروزیگوسیتی، فراوانی اللی پایینی مشاهده شد. مناطق مورد بررسی دارای تنگنای ژنتیکی بوده و جریان ژنی نسبتا بالایی مشاهده گردید. در بررسی دیگر انجام شده توسط Rezaei و همکاران (۲۰۱۰)، ماهی سفید دو جمعیت رودخانه‌های قره‌سو و گرگان‌رود در استان گلستان تنوع ژنتیکی بالایی را نشان دادند. Kolangi Miandareh و همکاران (۲۰۱۵) در بررسی ماهی سفید با استفاده از ژن mtDNACytb در رودخانه‌های قره‌سو، گرگان‌رود (استان گلستان)، گهرباران، تجن و سفیدرود (استان مازندران)، فاصله ژنتیکی بسیار پایینی را مشاهده کردند.

به طور کلی مدیریت تنوع ژنتیکی در موجودات، نیازمند ارزیابی ساختار ژنتیکی و تفکیک ذخایر گونه مورد نظر است (Pujolar *et al*., 2009)، بنابراین، آگاهی و بررسی دایمی وضعیت ژنتیکی گونه‌هایی که در معرض تکثیر مصنوعی قرار دارند، برای حفظ و مدیریت آنها ضروری است. به دلیل تکثیر مصنوعی در ماهی سفید در چند دهه گذشته ضریب رشد، میزان طول و وزن به ازای سن آن به تدریج کاهش یافته که این امر می‌تواند مربوط به برنامه بازسازی ذخایر سالانه این گونه باشد (Valipour and Khanipour, 2009). تاکنون اطلاعاتی در مورد تنوع ژنتیکی این گونه با استفاده از ژن 16SrRNA در میان مناطق مختلف منتشر نشده است، بنابراین، با توجه به اهمیت بالای این گونه و از آن‌جایی‌که داشتن اطلاعات در مورد ساختار ژنتیکی آن و تشخیص جمعیت‌های مختلف برای استفاده در برنامه‌های بازسازی ذخایر و حفظ تنوع ضروری است، هدف از این بررسی برآورد ساختار جمعیتی و تنوع ژنتیکی، فاصله ژنتیکی و میزان خویشاوندی ماهی سفید در حوضه جنوب غربی دریای خزر (استان گیلان) خواهد بود تا در آینده با نگرش علمی مبنی بر ازدیاد ذخایر بومی هر منطقه اقدام گردد.

مواد و روش‌ها

نمونه برداری از ماهی سفید صید شده، در سالهای ۱۴۰۰-۱۳۹۹ صورت پذیرفت. در این بررسی از بافت باله دمی ده ماهی سفید {در سه منطقه غربی، مرکزی (انزلی) و شرقی سواحل استان گیلان} نمونه‌برداری انجام گردید (جدول ۱). برای این منظور مقدار ۳ — ۲ گرم از بافت نرم باله دمی با قیچی بریده و داخل تیوب‌های ۱/۵ میلی‌لیتر حاوی الکل ۹۶٪ قرار داده شد (Pourkazemi, 1996). اطلاعات هر نمونه بر روی

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06]

[DOI: 10.71901/jad-2025-2-853]

تیوب ها و با استفاده از برچسب درج شده و برای انجام آزمایش مولکولی و استخراج DNA به آزمایشگاه ژنتیک مولکولی انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری، رشت منتقل گردید.

جدول ۱: مختصات جغرافیایی ایستگاه های نمونه برداری بچه ماهیان سفید و کفال سواحل گیلان (۱۴۰۰-۱۳۹۹)

Table 1: Geographic coordinates of sampling stations for White fish fry on the coast of the Guilan province (1399-1400)

Factor/Coast	Talesh coast	Anzali coast	Kiashahr coast	Rudsar coast
Latitude	38 11 03	37 29 01	37 28 03	37 01 02
Longitude	48 53 01	49 29 31	49 57 01	50 34 03

جهت استخراج DNA از روش استات آمونیوم (چکمه دوز، ۱۳۸۳) استفاده گردید. به‌منظور تعیین کمیت و کیفیت DNA های استخراج شده از روش‌های اسپکتروفتومتری در طول موج‌های ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر از دستگاه اسپکتروفتومتر نانودراپ مدل ND1000 و الکترو فورز ژل آگارز ۱٪ استفاده گردید. جهت ساخت آغازگر ژن 16SrRNA میتوکندریایی از منبع Palumbi و همکاران در سال ۱۹۹۱ استفاده گردید و توالی آن از طریق شرکت ژن فن‌آوران به شرح ذیل ساخته شد:

F: 5’CGCCTGTTTATCAAAAACAT3’
R: 5’CCGGTCTGAACTCAGATCACGT3’

به‌منظور تکثیر ژن 16SrRNA از مواد زیر توسط دستگاه PCR مدل EP-Gradiant ساخت شرکت Eppendorf آلمان استفاده گردید: آنزیم Taq DNA پلیمراز (سیناژن) ، MgCl2 ۵۰mM (سیناژن)، PCR Buffer در غلظت X ۱۰ (سیناژن)، dNTP Mix ۱۰ میلی‌مولار (سیناژن)، آب مقطر تزریقی ، DNA استخراج شده، پرایمر 16SrRNA.

به‌منظور بهینه کردن PCR و تکثیر قطعه تک باند مورد نظر ابتدا یک سری چرخه‌های حرارتی استاندارد با گرادیانت دمایی ۶۳-۵۳ انجام شد و در نهایت بهترین شرایط PCR طبق جدول ۲ بدست آمد.

برای مطالعه و ارزیابی هاپلوتیپ‌های موجود در جمعیت‌های مورد مطالعه از نرم‌افزارdnaSP5 (نسخه ۵.۱۰.۱) استفاده گردید. اختلاف تکاملی (Maximum Composite Likelihood)، تمایز ژنتیکی و بررسی روابط فیلوژنی توالی‌های ژن‌های 16SrRNA ماهی سفید با استفاده از نرم افزار (Tamura *et* MEGA11 *al*., 2021) محاسبه گردید. هم‌چنین درجه خویشاوندی بر اساس تست Tajima (1993) بین نمونه‌های ماهی سفید سه منطقه با استفاده از نرم‌افزار MEGA11 محاسبه گردید.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06]

[DOI: 10.71901/jad-2025-2-853]

جدول ۲: چرخه‌های حرارتی PCR جهت تکثیر ژن 16srRNA ماهی سفید
Table 2: PCR thermal cycles for amplification of the 16srRNA gene of White fish

Stages	Temprature (C)	Time (min)	Cycle number
Primary denaturation	94	3	1
denaturation	94	5	
Annealing	58	1	30
Extension	72	1	

نتایج

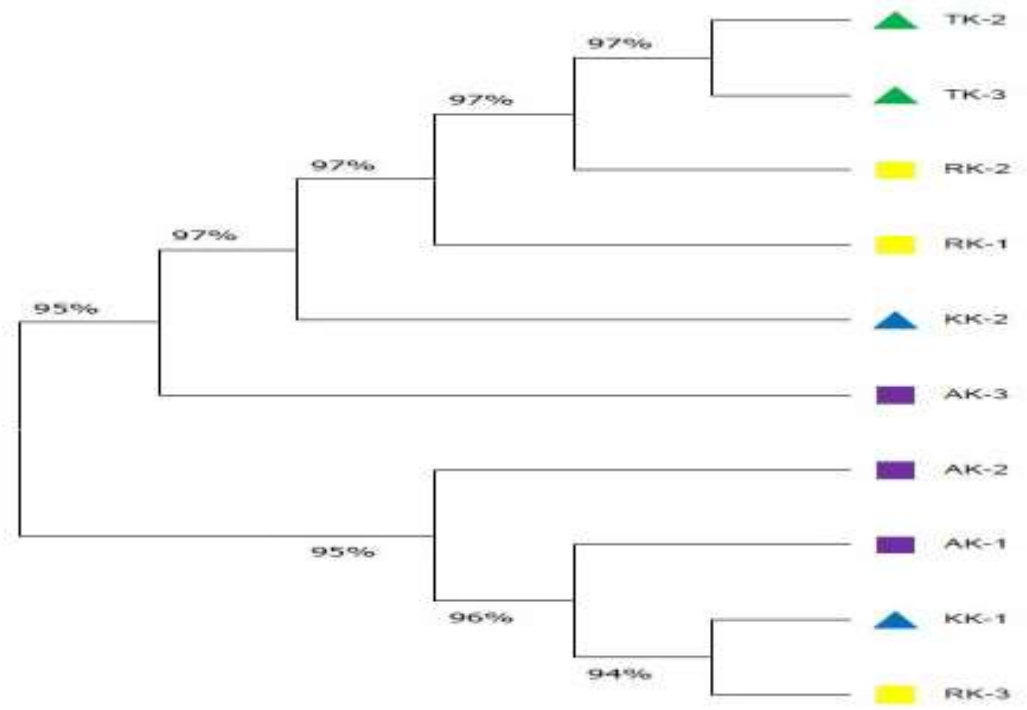
اختلاف تکاملی (Maximum Composite Likelihood) نمونه ماهی سفید بین مناطق مرکزی و شرقی دارای ۹۵٪ شباهت بوده و ۵٪ اختلاف تکاملی می‌باشند. هم‌چنین نمونه ماهی سفید بین مناطق مرکزی و شرقی دارای ۹۷٪ شباهت بوده و ۳٪ اختلاف تکاملی می‌باشند.

مقدار P در محاسبه درجه خویشاوندی بین نمونه‌های ماهی سفید سه منطقه بیشتر از ۰/۰۵ بود (۰/۰۸۳۲۶) که این نشان‌دهنده تایید فرضیه صفر یعنی میزان برابری بین شجره‌ها می‌باشد. اگر مقدار P-value کمتر از ۰/۰۵ باشد در این حالت فرضیه صفر مسئله رد شده و فرضیه اصلی مسئله مورد قبول واقع می‌شود.

نتایج دندروگرام بیشترین رابطه خویشاوندی (Neighbor-Joining) نشان می‌دهد که نمونه‌ها از لحاظ رابطه خویشاوندی در نه کلاستر قرار گرفتند. ماهی سفید منطقه غربی (تالش) بر روی یک کلاستر و یک شاخه و ماهی سفید منطقه شرقی (کیاشهر و رودسر) بر روی یک کلاستر و یک شاخه قرار گرفته‌اند. سایر نمونه‌های ماهی سفید بر روی کلاسترهای مجزا و شاخه‌های متفاوت قرار گرفته‌اند. این دندروگرام نشان می‌دهد که ماهی سفید مناطق شرقی و مرکزی از منطقه غربی متمایز هستند (شکل ۱). نکته حائز اهمیت در بررسی روابط فیلوژنی ماهی سفید از سه منطقه نمونه‌برداری شده این است که نمونه‌های مناطق غربی و شرقی هر کدام بر روی یک کلاستر مجزا قرار دارند.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06]

[DOI: 10.71901/jad-2025-2-853]



شکل۱: دندروگرام رابطه خویشاوندی (Neighbor-Joining) بر اساس روش (Saitou and Nei, 1987)
در ماهی سفید از سه منطقه نمونه‌برداری شده با ۱۰۰۰ بار تکرار

Figure 1: Neighbor-Joining dendrogram based on the method (Saitou and Nei, 1987) in White fish from three sampled areas with 1000 replications

از میان توالی‌های به‌دست آمده در ماهی سفید، در مجموع ۶ هاپلوتیپ مشاهده شد. از مجموع هاپلوتیپ‌های مشاهده شده، ۳ هاپلوتیپ (Ha_1، Ha_2، Ha_3) در منطقه مرکزی، ۳ هاپلوتیپ (Ha_4، Ha_5، Ha_6) در منطقه شرقی و یک هاپلوتیپ (Ha_5) در منطقه غربی سواحل استان گیلان مشاهده شد. از بین هاپلوتیپ‌های به‌دست آمده، هاپلوتیپ Ha_5 در دو منطقه شرقی و غربی مشترک بود. منطقه مرکزی با دارا بودن سه هاپلوتیپ منحصر به‌فرد و منطقه شرقی با دو هاپلوتیپ مجزا و یک هاپلوتیپ مشترک به‌ترتیب بیشترین تعداد هاپلوتیپ را دارند (جدول ۳). تنوع هاپلوتیپی در نمونه‌های ماهی سفید در مناطق مرکزی، غربی و شرقی سواحل استان گیلان به‌ترتیب ۱/۰، ۰/۰ و ۰/۸۳ بود (جدول ۴). تنوع نوکلئوتیدی جمعیت‌ها ۰/۳۱۸ برآورد گردید. تنوع هاپلوتایپی ماهی سفید در منطقه مرکزی (۱/۰۰۰) بیش از منطقه شرقی (۰/۸۳) بود، سطح تنوع نوکلئوتیدی بین نواحی سواحل استان گیلان متوسط بود. جریان ژنی (Nm) به‌دست آمده در سه منطقه بر اساس داده‌های هاپلوتیپی ۲/۴ اعلام شد که بیانگر عدم جدایی تولیدمثلی در سواحل استان گیلان می‌باشد. براساس نتایج آنالیز AMOVA بیشترین تنوع ژنتیکی در کل جمعیت‌ها ۰/۶۶ بود (جدول ۵). مقدار کل فاصله ژنتیکی (d) بین نمونه‌های مناطق ۰/۶۶ و شباهت ژنتیکی در مناطق ساحلی گیلان ۰/۳۴ می‌باشد، بنابراین اختلاف ژنتیکی بین مناطق وجود دارد.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06]
[DOI: 10.71901/jad-2025-2-853]

جدول ۳: توزیع هاپلوتیپی ژن 16SrRNA ماهی سفید در مناطق مرکزی، غربی و شرقی سواحل استان گیلان

Table 3: Haplotype distribution of the 16SrRNA gene of White fish in the central, western, and eastern coastal regions of the Guilan Province

Haplotype/Location	Center	East	West	Total
Ha_1	1			1
Ha_2	1			1
Ha_3	1			1
Ha_4		1		1
Ha_5		3	2	5
Ha_6		1		1
Total	3	5	2	10

جدول ۴: سطوح تنوع ژنتیکی ژن 16SrRNA ماهی سفید در مناطق مرکزی، غربی و شرقی سواحل استان گیلان

Table 4: Levels of genetic diversity of the 16SrRNA gene of White fish in the central, western, and eastern coastal regions of the Guilan Province

Area	Number	Haplotype number	Haplotypic Diversity	Nucleotide Diversity
Center	3	3	1.0	-
East	5	3	83	-
West	2	1	0	-
Total samples	10	6	7778	318

جدول ۵: آزمون واریانس یک‌طرفه بین مناطق نمونه‌برداری ماهی سفید درسواحل استان گیلان

Table 5: One-way variance test between whitefish sampling areas on the coasts of the Guilan Province

Population	S. D.	%
Between the populations of each region	1	-0.06
Total populations	8	66

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06]

[DOI: 10.71901/jad-2025-2-853]

بحث

کاهش ذخایر آبزیان در اکثر نقاط جهان سبب گردیده تا محققین جهت مدیریت ذخایر به مطالعه و تعیین ساختار ژنتیکی گونه‌های باارزش از طریق روش‌های مولکولی روی آورند که این امر در برنامه‌های بهره‌برداری از ذخایر آبزیان دریایی، آبزی‌پروری و اصلاح‌نژاد دارای اهمیت زیادی می‌باشد (Lin *et al.*, 2002). در اکثر موجودات از داده‌های مربوط به توالی DNA برای تعیین روابط تکاملی استفاده می‌شود و از آنجایی‌که چنین داده‌هایی کمتر تحت تاثیر انتخاب (Selection) قرار می‌گیرند، بهتر می‌توانند روابط فیلوژنی واقعی را نمایان سازند.

تکنیک توالی‌یابی به دلیل سادگی روش کار، کوتاهی مراحل و دقت بسیار بالا دارای جایگاه ویژه‌ای است. دقت فراوان این روش، تعداد نمونه‌های مورد نیاز برای مطالعه را کاهش می‌دهد و محققان را قادر ساخته که برای مطالعه رابطه فیلوژنتیکی، با استفاده از دو، سه یا حتی یک عدد از نمونه‌های ساکن در مناطق مختلف، اقدام کنند. Ketmaier و همکاران (۲۰۰۸)، در بررسی سیستماتیک ملکولی و فیلوژنتیکی ماهی کلمه (*Rutilus rutilus*) مناطق اطراف مدیترانه به سه نمونه از هر منطقه مورد بررسی بسنده کردند. Larmuseau و همکاران (۲۰۰۹)، در بررسی تبارشناسی فیلوژئوگرافیک و جمعیت شناسی ماهی کلمه در ۵۲ منطقه نمونه‌گیری در گستره اوراسیا، در نمونه‌برداری‌ها برای برخی مناطق، یک تا سه عدد نمونه را کافی دانستند. به نظر می‌رسد با توجه به انتخاب روش توالی‌یابی و سابقه تحقیقات معتبر، تعداد سه نمونه برای هر یک از مناطق مورد بررسی کافی بوده باشد، همچنان‌که در مطالعه حاضر از هر منطقه سه نمونه مورد توالی‌یابی و بررسی قرار گرفت.

جهت بررسی‌های ژنتیکی نیاز به یک منبع اولیه از DNA می باشد. جهت استخراج DNA از بافت روش‌های مختلفی وجود دارد ازجمله روش فنل کلروفرم (Pourkazami, 1996; Hillis and Moritz, 1990)، روش اتانول (Shaw *et al*., 1999) و کیت (McQuown *et al*., 2000). Rajabi و همکاران (۱۳۹۵) با مقایسه سه روش استات آمونیوم، فنل کلروفرم و CTAB در استخراج DNA از حلزون مخروطی *دریایی Conus coronatus* به این نتیجه رسیدند که روش استات آمونیوم علاوه بر نتایج مناسب، از نظر مواد به‌کار برده شده در این روش و صرف زمان کمتر، بهینه‌تر از سایر روش‌هاست. به‌طور کلی روش‌های نمک اشباع که استات آمونیوم هم یکی از آن‌هاست، روش‌هایی سریع و ساده می‌باشند که DNA استحصالی کیفیت مطلوبی داشته و در نتیجه در تجزیه و تحلیل ژنوتیپی در آزمایشگاه‌هایی که محدودیت منابع مالی و زمانی دارند روش مناسبی است. در بررسی حاضر هم از روش استات آمونیوم (Chakmehdouz Ghasemi, 2004) استفاده گردید. DNA های استخراج شده از کمیت و کیفیت مناسبی برخوردار بودند.

در این بررسی شباهت ژنتیکی بین توالی‌های ژن 16SrRNA ماهی سفید در سه منطقه شرقی، مرکزی و غربی سواحل استان گیلان، ۹۵-۹۷ درصد و اختلاف تکاملی ۳-۵ درصد بدست آمد. بر اساس محاسبه Meyer و همکاران (۱۹۹۰)، اگر فرض کنیم که در هر میلیون سال ۲/۵٪ تفاوت در توالی نوکلئوتیدی مولکول میتوکندری اتفاق بیافتد، از آنجایی‌که بین توالی سه

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06]

[DOI: 10.71901/jad-2025-2-853]

منطقه بین ۳-۵ درصد اختلاف وجود دارد بنابراین نمونه‌های ماهی سفید سه مناطق حدود ۱/۲-۲ میلیون سال پیش از هم منشعب شده‌اند.

در مطالعه کنونی، بررسی روابط فیلوژنی ماهی سفید در سه منطقه نمونه‌برداری شده بر اساس دندروگرام Neighbor-Joining، نمونه‌های مناطق غربی و شرقی هر کدام بر روی یک کلاستر مجزا قرار گرفتند که این می‌تواند نشانه تمایز جمعیت غربی از جمعیت شرقی بر اساس ژن 16SrRNA باشد که با مطالعه Kolangi Miandareh و همکاران (۲۰۱۵) بر اساس درخت فیلوژنی در ژن Cytb تفاوت دارد. در مطالعه آن‌ها، تمامی ماهیان سفید مورد آزمایش در یک شاخه قرار گرفته و تنها هاپلوتیپ‌های مشاهده شده در جمعیت‌های مورد مطالعه در زیرشاخه‌های دیگر قرار گرفته‌اند که نشان‌دهنده‌ی وجود جریان ژنی به علت مهاجرت مولدین ماهی سفید به این مناطق می‌باشد. این نتایج می‌تواند نشان‌دهنده‌ی وجود جریان ژنی مفید در جمعیت ماهیان سفید در استان‌های گلستان و مازندارن باشد که از کاهش تنوع زیستی این گونه جلوگیری می‌نماید. تفاوت این مطالعه با بررسی حاضر می‌تواند از محدود بودن منطقه جغرافیایی مورد مطالعه و یا ژن‌های مورد بررسی ناشی شده باشد.

در مطالعه حاضر در ماهی سفید مناطق مورد مطالعه با استفاده از ژن 16SrRNA، در مجموع ۶ هاپلوتیپ مشاهده شد. مناطق مرکزی و شرقی بیشترین تعداد هاپلوتایپ را نشان دادند. تنوع هاپلوتایپی در منطقه مرکزی بیش از منطقه شرقی بود و سطح تنوع نوکلئوتیدی بین نواحی سواحل استان گیلان اندک بود. همچنان‌که تنوع هاپلوتایپی در ماهی سفید دریاهای کاسپین و سیاه (Kotlik *et al*., 2008) با نتایج حاصله مطابقت دارد. در مطالعه Abdhamedani و همکاران (۲۰۱۳) در ماهی سفید رودخانه‌های لمیر، سفیدرود و شیرود سواحل جنوبی دریای خزر با ژن Cytb، ۴ هاپلوتایپ بدست آمد که ۱ هاپلوتایپ منحصر به فرد (unique) بود. در مطالعه آن‌ها متوسط بودن میزان تنوع هاپلوتایپی بین سه نمونه منطقه مورد مطالعه و ناچیز بودن میزان تنوع نوکلئوتیدی و اندک بودن نرخ موتاسیون با نتایج مطالعه حاضر مشابه بود. او میزان تنوع نوکلئوتیدی کم در سه منطقه مورد بررسی را نشان‌دهنده‌ی عدم وجود تنوع در جمعیت‌های ماهی سفید این سه رودخانه به‌دلیل وجود و ایجاد تنگناهای ژنتیکی در یک دوره زمان کوتاه مدت دانست. Grunwald و همکاران (۲۰۰۲) عقیده دارند که تنوع هاپلوتایپی ناحیه D-loop در ماهیان دریایی به‌خصوص تاس‌ماهیان از مقدار متوسط تا بالا و این مقدار برای تنوع نوکلئوتیدی از کم تا متوسط می‌باشد. طبق نظریه Grant و Bowen در سال ۱۹۹۸، تنوع هاپلوتیپی بالا و نوکلئوتیدی پایین نشان دهنده گسترش سریع جمعیت، پس از یک دوره کاهش اندازه موثر جمعیت بوده و رشد سریع جمعیت، جهش های جدید را در خود حفظ می کند.

بر اساس نظریه Li و همکاران (۲۰۰۷) هرگاه $Nm>1$ باشد، جریان ژنی اصلی‌ترین عامل در ایجاد تمایز ژنتیکی است و اگر $Nm<1$ باشد، رانش ژنی عامل اصلی ایجاد تمایز ژنتیکی می‌شود. در مطالعه کنونی، جریان ژنی (Nm) به‌دست آمده در ماهی سفید سه منطقه بر اساس داده‌های هاپلوتیپی ۲/۴ اعلام شد که بیانگر عدم جدایی تولیدمثلی در سواحل استان گیلان می‌باشد. میزان جریان ژنی به‌دست آمده در بین مناطق بیانگر انجام مهاجرت‌های زیاد می‌باشد. با توجه به

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06]
[DOI: 10.71901/jad-2025-2-853]

این‌که در دریا موانع فیزیکی و زیستی نبوده و تفاوت‌های نسبی محیطی نظیر دما، شوری بین مناطق مختلف دریای خزر بسیار اندک می‌باشد، مهاجرت به راحتی از منطقه به منطقه دیگر امکان‌پذیر می‌شود.

شناخت فاکتورهای قابل قبول برای یافتن علت تنوع ژنتیکی آسان نمی‌باشد، چون‌که گروهی از محققین صید بی‌رویه را عامل کاهش تنوع ژنتیکی می‌دانند (Hauser *et al*., 2002; Gomez-Uchida and Banks, 2006) و عده‌ای افزایش فعالیت‌های انسانی را سبب افزایش تنوع ژنتیکی اعلام کرده‌اند (Cheng *et al*., 2008). در مطالعاتی که هدف تنوع باشد، روابط فیلوژنی و اختلافات مولکولی پرسش‌های مربوط به روابط خویشاوندی در گونه‌های مختلف و تغییرات ناشی از عوامل طبیعی را پاسخ می‌دهد به‌طوری‌که با افزایش شباهت بین توالی‌های DNA، رابطه خویشاوندی بین آن‌ها افزایش می‌یابد هم‌چنین کاهش شدید جمعیت‌های آبزیان می‌تواند به‌دلیل کاهش تنوع ژنتیکی در آن‌ها باشد (Glenn *et al*., 1999).

دریای خزر از مکان‌های اصلی زیست ماهی سفید است که متاسفانه در دهه‌های اخیر بسیاری از رودخانه‌های محل مهاجرت آن در سواحل جنوبی دریای خزر تخریب شده و مولدین این گونه ناگزیر از مهاجرت در تمامی نوار ساحلی دریای خزر می‌باشند و احتمال تکثیر آنها بدون اطلاع از ساختار ژنتیکی و جمعیتی آن‌ها صورت می‌گیرد که می‌تواند سبب افزایش ضریب هم‌خونی در جمعیت‌های آن گردد. این روند در درازمدت می‌تواند سبب کاهش سرعت رشد، کاهش میانگین طول، کاهش درصد هم‌آوری و افزایش لاروهای ناقص‌الخلقه در یک دوره ۲۵ الی ۴۰ ساله گردد (Pourkazemi, 2000).

نتایج به دست آمده، نشان می‌دهد که شیوه‌ی تکثیر و رهاسازی نامناسب لاروها می‌تواند دلیل اصلی کم بودن تمایز، هم‌چنین عامل بروز تنگنای ژنتیکی میان جمعیت‌های مورد بررسی ماهی سفید باشد. بازسازی رودخانه‌های محل تخمریزی این گونه و فراهم آوردن امکان تکثیر طبیعی مولدین، بهترین شیوه برای جلوگیری از ادامه این فرآیند است. با توجه به ضرورت تکثیرمصنوعی، لازم است جدایی جمعیت‌های موجود در رودخانه‌های مختلف در هنگام تکثیر مصنوعی و رهاسازی مد نظرقرار گیرد.

با توجه به نتایج این تحقیق می‌توان بیان نمود که هرچند با توجه به تخریب رودخانه‌های محل مهاجرت، آلودگی دریای خزر و عدم وجود موانع فیزیکی در این پهنه آبی، ماهی سفید در این دو منطقه هنوز از تنوع ژنتیکی برخوردار می‌باشد بنابراین حفظ ساختار ژنتیکی جمعیت‌های ماهی سفید مناطق مرکزی، شرقی و غربی در نوار ساحلی استان گیلان دارای اهمیت اساسی می‌باشد. در آینده احتمال مهاجرت هر یک از جمعیت‌های ماهی سفید، اختلاط ژنتیکی آن‌ها را در پی داشته و بر همین اساس بررسی‌های همه جانبه بصورت پایش بایستی مد نظر قرار گیرد.

سپاسگزاری

نویسنده و همکاران از زحمات کلیه همکاران تحقیقاتی و ستادی دخیل در اجرای این پروژه، کمال تشکر را دارند.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06]

[DOI: 10.71901/jad-2025-2-853]

منابع

1. Abbasi Ranjbar, K., 2013. Study of the abundance and length and weight structure of juvenile fish and determination of ecological populations of mahisefid and golden mullet on the coasts of Guilan province. *Final Report of the Fisheries Science Research Institute,* 347 P. [In Persian]
2. Abdhamedani, H., Norouzi, M., Bahmanesh, S. and Chakmehdouz Ghasemi, F., 2013. Study of the genetic and population structure of mahisefid (*Rutilus frisii kutum*) on the southern coast of the Caspian Sea using DNA sequencing. *National Conference on Aquatic Animal Sciences, University of Guilan, Rasht*. 126 P. [In Persian]
3. Abdolmaleki, S., Ghaninejad, D., Borani, M., Pourgholami, A., Fazli, H. and Bandani, G., 2004. Assessment of the Caspian Sea bony fish stocks in 2004-2005. *Caspian Sea Bony Fish Research Center. Bandar Anzali*, 145 P. [In Persian]
4. Abdolmaleki, S. and Ghaninejad, D., 2007. Stock Assessment of the Caspian kutum *Rutilus frisii kutum i*n the Iranian Coastal Watersof Caspian Sea. *Iranian Scientific Fisheries Journal, 16*(1), pp.113-16. DOI: 10.22092/isfj.2007.114976. [In Persian]
5. Bruford, M., Bradley, D. and Luikart, G., 2003. DNA markers reveal the complexity of livestock domestication. *Journal of Nature Reviews Genetics, 3*, pp.900-910. DOI: 10.1038/nrg1203
6. Chakmehdouz Ghasemi, F., 2004. Comparison of DNA extraction methods in aquatic animals and its application guidelines. *Bachelor's thesis, Mirzakochak Khan Higher Education Center for Fisheries Sciences and Industries (Rasht)*. 53 P. [In Persian]
7. Chakmehdouz Ghasemi, F., Behmanesh, S., Yarmohammadi, M. and Hassanzadeh Saber, M., 2014. The study of molecular and population diversity of *Rutilus frisii kutum* in Anzali lagoon and Shirud river by using of molecular genetic method. *Journal of Animal Biology, 7*(1), pp.21-30. [In Persian]
8. Cheng, Q., Ma, C., Cheng, H. and Zhang, Q., 2008. Mitochondrial DNA diversity of *Coilia mysyus* (Clupeiformes: Engraulidae) in three Chinese estuaries. *Environmental Biology of Fishes, 83*(3), pp.277-282. DOI: 10.1007/s10641-008-9332-z
9. Coad, B.W., 1980. Environmental change and its impact on the freshwater fishes of Iran. *Biological Conservation, 19*(1), pp.51-80. DOI:10.1016/0006-3207(80)90015-4
10. Ghaninejad, D., Moqeem, M. and Abdolmaleki, S., 2000. Assessment of the Caspian Sea bony fish stocks in 2010-2011. *Guilan Fisheries Research Center, Bandar Anzali*. 149 P. [In Persian]
11. Glenn, T.C., Stephan, W. and Braun, M.J., 1999. Effects of a population bottleneck on whooping crane mitochondrial DNA variation. *Conservation Biology, 13*(5), pp.1097–1107. DOI: 10.1046/j.1523-1739.1999.97527.x
12. Gomez-Uchida, D. and Banks, M.A., 2006. Estimation of effective population size for the long-lived darkblotched rockfish *Sebastes crameri*. *Journal of Heredity, 97*(6), pp.603-606. DOI: 10.1093/jhered/esl042
13. Grant, W.A.S. and Bowen, B.W., 1998. Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: insights from sardines and anchovies and lessons for conservation. *Journal of Heredity, 89*(5), pp.415–426. DOI: 10.1093/jhered/89.5.415
14. Grunwald, C., Stabile, J., Waldman, J.R., Gross R. and Wirgin, I., 2002. Population genetics of shortnose sturgeon *Acipenser brevirostrum* based on mitochondrial DNA control region sequences. *Molecular Ecology, 11*(3), pp.1885-1898. DOI: 10.1046/j.1365-294x.2002.01575.x
15. Hauser, L., Adcock, G., Smith, P., Bernal Ramirez J. and Carvalho, G., 2002. Loss of microsatellite diversity and low effective population size in an overexploited population of New Zealand snapper. *Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS), 99*(18), pp.11742-11747. DOI: 10.1073/pnas.172242899.
16. Hillis, D.M. and Moritz, C., 1990.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06]
[DOI: 10.71901/jad-2025-2-853]

Molcular taxonomi sinauer associate, *Inc. Publishers. Massachusetts. U. S. A*. 120 P.

17. Ketmaier, V., Bianco, P.G. and Durand, J.D., 2008. Molecular systematic, phylogeny and biogeography of roaches (*Rutilus*, Teleostei, Cyprinidae). *Journal of Molecular Phylogenetics and Evolution, 49*(1), pp.362-367. DOI: 10.1016/j.ympev.2008.07.012
18. Kolangi Miandareh, H., Shabany, A. and Hojati, M., 2015. Investigating genetic diversity of *Rutilus kutum* (Kamenskii, 1901) in some rivers in southern of the Caspian Sea using Cytochrome b gene (mtDNA-Cytb) sequences. *Journal of Applied Ichthyology Research, 3*(2), pp.1-12. [In Persian]
19. Kotlik, P., Markova, S., Choleva, L., Bogutskaya, N.G., Guler Ekmekcis, F. and Ivanova, P.P., 2008. Divergence with gene flow between Ponto-Caspian refugia in an anadromous cyprinid *Rutilus frisii* revealed by multiple gene phylogeography. *Molecular Ecology, 17*(4), pp.1076-1088. DOI: 10.1111/j.1365-294X.2007.03638.x
20. Larmuseau, M.H., Raeymaekers, J.A., Ruddick, K.G., Van Houdt, J.K. and Volckaert, F.A., 2009. To see in different seas: spatial variation in the rhodopsin gene of the sand goby (*Pomatoschistus minutus*). *Molecular ecology, 18*(20), pp.4227-4239. DOI: 10.1111/j.1365-294X.2009.04331.x
21. Li, Q., Xu, K. and Yu, R., 2007. Genetic variation in Chinensis hatchery populations of the Japanese scallop (*Patinopecten yessoensis*) inferred from microsatellite data. *Aquaculture, 269*,(1-4) pp.211-219. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2007.04.017
22. Lin, Y.S., Poh, Y.P., Lin, S.M. and Tzeng, C.S., 2002. Molecular techniques to identify freshwater Eels. *Zoological Studies, 41*(4), pp.421-430.
23. Meyer, A., Kocher, T.D., Basasibwaki, P. and Wilson, A.C., 1990. Monophyletic origin of Lake Victoria cichlid fishes suggested by mitochondrial DNA sequences. *Nature 347*, pp.550-553. DOI: 10.1038/347550a0
24. McQuown, E.C., Sloss, B.L., Sheehan, R.J., Rodzen, J., Tranah, G. and May, B., 2000. Microsatellite analysis of genetic variation in sturgeon: new sturgeon primer sequences for Scaphirhynchus and Acipenser. *Transactions of the American Fisheries Society, 129*(6), pp.1380-1388. DOI: 10.1577/1548-8659(2000)129<1380:MAOGVI>2.0.CO;2
25. Palumbi, S.R., Martin, A., Romano, S., McMillan, W.O., Stice, L. and Grabowski, G., 1991. The Simple Fool's Guide to PCR, Version 2.0, privately published document compiled by S.Palumbi. *Dept. Zoology, Univ. Hawaii, Honolulu, HI, 96822*. 28 P.
26. Pourkazemi, M., 1996. Molcular and Biochemical Genetc Analysis of sturgeon stocks from the south Caspian Sea. *Ph.D Thesis. School of Biological Sciences, University of Wales, SwanSea.* 260 P.
27. Pourkazemi, M., 2000. Management and Restoration of Sustainable Stocks. Collection of Articles on Restoration of Stocks. Deputy of Aquaculture and Breeding, General Directorate of Education and Extension, Tehran. pp.30-17. [In Persian]
28. Pujolar, J.M., Ciccotti, E., De Leo, G.A. and Zane, L., 2009. Genetic composition of Atlantic and Mediterranean recruits of the European eel (*Anguilla anguilla*) based on EST-linked microsatellite. *Journal of Fish Biology, 74*(9), pp.2034–2046. DOI: 10.1111/j.1095-8649.2009.02267.x
29. Rajabi, H., Zolgharnein, H., Ronagh, M.T., Savari, A. and Ranjbar, M.S., 2016. Molecular Phylogeny of the cone snail *Conus frigidus* Reeve, 1848 from Persian Gulf coastal region (Larak and Qeshm) using DNA barcode. *Aquatic Physiology and Biotechnology, 4*(2), pp.75-97. [In Persian]
30. Razavi Sayyad, B.A., 1995. Mahisefid. Iranian Fisheries Research Institute, Tehran. 165 p. [In Persian]
31. Razavi Sayyad, B.A., 1999. Introduction to the Ecology of the Caspian Sea. Iranian Fisheries Research Institute. Tehran. 90 p. [In Persian]
32. Rezaei, M., Shabani, A., Shabanpour, B. and Kashiri, H., 2010. Genetic comparison

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06]

[DOI: 10.71901/jad-2025-2-853]

of Caspian Sea *Rutilus frisii kutum* (Kamenskii, 1901) in Gorganroud and Cheshmekile (Tonekabon) rivers using microsatellite markers. *Taxonomy and Biosystematics, 2*(2), pp.1-14. DOI: 20.1001.1.20088906.1389.2.2.2.1. [In Persian]

33. Rezaei, M., Shabani, A., Shabanpour, B. and Kashiri, H., 2012. Microsatellite diversity and population genetic structure of *Rutilus frisii kutum* in Mazandaran coasts. *Iranian Biology Journal, 25*(4), pp.548-558. [In Persian]
34. Rezvani, S., Babaei, A. and Pourkazemi, M. 2001. Molecular population study on *Penaeus semisulcatus* from the Persian Gulf and Oman Sea using Cytochrom Oxidase Subunit I (COI) gene by RFLP method. *Iranian Journal of Fisheries Science, 10*(2), pp.15-30. [In Persian]
35. Saeidi, Z., Rezvani Gilkolaei, S., Soltani, M., Laloei, F. and Taghavi, M.J., 2016. Population genetic structure studies of *Liza aurata* based on mtDNA control region sequence in the Guilan and Mazandaran coasts. *Journal of Aquaculture Development, 10*(1), pp.91-102. [In Persian]
36. Saitou, N. and Nei, M., 1987. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution, 4*(4), pp.406-425. DOI: 10.1093/oxfordjournals.molbev.a040454
37. Sharifi, M., Negatkhah Manavi, P., Chakmehdouz Ghasemi, F. and Behmanesh, S., 2017. Population genetic structure of Caspian roach (*Rutilus rutilus caspicus*) using DNA sequencing in South Caspian Sea and Aras Lake. *Journal of Aquaculture Development, 10*(4), pp.63-73. [In Persian]
38. Shaw, P.W., Turan, C., Wright, J.M., O'connell, M. and Carvalho, G.R., 1999. Microsatellite DNA analysis of population structure in Atlantic herring (*Clupea harengus*) with direct comparsion to allozyme and mtDNA RFLP analysis. *Heredity, 83*(4), pp.490-499. DOI: 10.1038/sj.hdy.6885860.
39. Tajima, F., 1993. Simple methods for testing molecular clock hypothesis. *Genetics, 135*(2), pp.599-607. DOI: 10.1093/genetics/135.2.599
40. Tamura, K., Stecher, G. and Kumar, S., 2021. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. *Molecular Biology and Evolution, 38*(7), pp.3022-3027. DOI: 10.1093/molbev/msab120
41. Valipour, A. and Khanipour, A.A., 2009. Whitefish, the Jewel of the Caspian Sea. *Fisheries Research Center Publications, Tehran*. 193 p. [In Persian]
42. Wilson, A.C., Cann, S.M., Goerge, M., Gyhensten, V.B., Helm, B.Y. and Chcowsh, K.M., 1997. Mitochondrial DNA and two perspectives on evolutionary genetics. *Biological Journal of the Linnean Society, 26*(4), pp.375-400. DOI: 10.1111/j.1095-8312.1985.tb02048.x

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06]

[DOI: 10.71901/jad-2025-2-853]