**Journal of Aquaculture Development**
**Vol. 20, No. 3, 2026, Pages: 55-70**
**DOI: 10.71901/jad-2026-1-903**

**RESEARCH PAPER** **OPEN ACCESS**

# Genetic structure of golden mullet (*Chelon auratus*, Risso 1810) stocks by 16SrRNA-mtDNA sequencing on the southwestern basin of the Caspian Sea (Guilan province)

**Mohammad Hassanzadeh Saber[1*], Ali Naghi Sarpanah[1], Omid Jafari[1], Shirin Jamshidi[1], Mahmoud Mohseni[1], Esmail Abdollahzadeh[1], Keyvan Abbasi[2], Siamak Bagheri[2], Maryam Forouzad[3], Mohammad Sayyad Bourani[2]**

1-International Sturgeon Research Institute, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran
2- Inland Waters Aquaculture Research Center, Iranian Fisheries Sciences Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Bandar Anzali, Iran
3-Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran

**Received: 1 July 2025** **Accepted: 28 August 2025**

**Extended Abstract:**

**Introduction:** The golden mullet (*Chelon auratus*) and kutum (*Rutilus frisii*) are among the valuable and economic species in the southern basin of the Caspian Sea bony fish stocks, accounting for over 85% of the total catch of these fish. A review of the reproduction and catch statistics of kutum and mullet over various years shows these stocks result from artificial reproduction and mass release of juveniles, and the share of natural reproduction in the restoration of stocks has decreased and reached its lowest point. This trend has side effects and will gradually cause the destruction of genetic stocks and the gradual destruction of the gene bank, which will cause a decrease in growth rate, a decrease in average length, a decrease in the percentage of spawning, and an increase in deformed larvae over 25 to 40 years. Therefore, knowledge of the genetic structure of these fish, obtained by examining population estimates and obtaining the level of genetic diversity and inbreeding and the adverse effects resulting from it, seems essential for the conservation and sustainable production of this economic species.

**Material and Methods:** In order to investigate the possibility of genetic differentiation and to compare the genetic structure of mullet population using DNA sequencing methods, 9 mullets from the eastern, middle and western regions of the Caspian Sea (coasts of Guilan province) using a purse seine in June 2021 were sampled from the mentioned areas. DNA from three samples of each area was extracted using the ammonium acetate method; their quantity and quality were determined using 1% agarose gel and a 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, mullet DNA were amplified by PCR. Then, the PCR product was run on a 1% agarose gel, and bands were produced between 500 and 600 bp. Evolutionary difference (maximum likelihood), neighbor-joining and phylogeny relationships were obtained using MEGA11 software.

[ Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05 ]

[ DOI: 10.71901/jad-2026-1-903 ]

**Results and Discussion:** The results show the mullet samples in the three areas have 96% similarity and 4% evolutionary differences with each other. The phylogeny tree of mullet samples was drawn using Maximum parsimony, maximum Likelihood and neighbor-joining methods. In order to compare among three methods in the golden mullet from the three areas, the samples of western and central areas are located together in one cluster and on the same branch, which indicates the slight distinction of these two populations according to the 16S rRNA gene. In the present study on golden mullet, the short geographical distance of sampling stations in the coastal waters of the Caspian Sea in Guilan Province and the absence of physical barriers such as heat, salinity, etc. (Rezvani *et al*., 2012) confirm the existence of gene flow in the three sampled areas, indicating little genetic differentiation in this species. The results obtained indicate that the inappropriate method of reproduction and release of larvae can be the main reason for the lack of differentiation, as well as the cause of the occurrence of a genetic bottleneck among the studied populations of golden mullet.

**Conclusion:** Providing the possibility of natural reproduction of the broodstock is the best way to prevent the continuation of this process. Considering the need for artificial reproduction, it is necessary to consider the separation of populations during artificial reproduction and release.

**Conflict of Interest:** The authors declare no competing interests.

**Acknowledgement:** The authors gratefully acknowledge the support and assistance of all individuals who contributed to this study.

**Key words:** Genetic distinct, Golden mullet population, Sothern west of the Caspian Sea, 16SrRNA

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

[ Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05 ]

[ DOI: 10.71901/jad-2026-1-903 ]

نشریه توسعه آبزی‌پروری، سال بیستم، شماره سوم، پاییز ۱۴۰۵، صفحه های ۷۰-۵۵
DOI: 10.71901/jad-2026-1-903

"مقاله پژوهشی"

# ساختار ژنتیکی کفال طلایی (*Chelon auratus*, Risso 1810) با استفاده از توالی‌یابی 16SrRNA-mtDNA در حوضه جنوب غربی دریای خزر (سواحل استان گیلان)

**محمد حسن‌زاده صابر[1]*، علی نقی سرپناه[1]، امیدجعفری[1]، شیرین جمشیدی[1]، محمود محسنی[1]، اسماعیل عبداله‌زاده[1]، کیوان عباسی[2]، سیامک باقری[2]، مریم فروزد[3]، محمد صیاد بورانی[2]**

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

۲-پژوهشکده آبزی‌پروری گیلان، 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، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۴/۱۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۶/۶

**چکیده**

به‌منظور بررسی امکان تمایز ژنتیکی و مقایسه ساختار ژنتیک جمعیت کفال طلایی با استفاده از روش‌های تعیین توالی DNA ( DNA sequencing)، تعداد ۹ عدد کفال طلایی از مناطق شرقی، مرکزی و غربی دریای خزر (سواحل استان گیلان) با استفاده از تور محاصره‌ای (چشمه ریز پره) در خرداد ۱۴۰۰ 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 کفال طلایی در مناطق صید شده دارای ۹۶ درصد شباهت بوده و ۴ درصد با یکدیگر اختلاف تکاملی دارند. درخت فیلوژنی نمونه‌های کفال با استفاده از روش‌های Maximum parsimony، Maximum Likelihood و Neighbor-Joining ترسیم گردید. در مقایسه بین سه روش بررسی روابط فیلوژنی کفال طلایی از سه منطقه نمونه‌برداری شده، در هر سه حالت ( Maximum Parsimony, Maximum Likelihood, Neighbor-Joining)، نمونه‌های مناطق غربی و مرکزی بصورت مشترک در یک کلاستر و روی یک شاخه قرار دارند که نشان‌دهنده تمایز اندک این دو جمعیت بر اساس ژن 16SrRNA می‌باشد.

**کلمات کلیدی:** تمایز ژنتیکی، جمعیت کفال طلایی، جنوب غربی دریای خزر، 16SrRNA

* عهده‌دار مکاتبات: saber.merag@gmail.com

[ Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05 ]

[ DOI: 10.71901/jad-2026-1-903 ]

**مقدمه**

ماهی کفال طلایی (*Chelon auratus*, Risso 1810) و ماهی سفید (*Rutilus frisii*) در بین ذخایر ماهیان استخوانی دریای خزر از گونه‌های با ارزش و اقتصادی در حوضه جنوبی می‌باشند که بیش از ۸۵ درصد کل صید این ماهیان را به‌خود اختصاص می‌دهند (Abdolmaleki and Ghaninezhad, 2007; Abdolmaleki and Ghaninezhad, 2015). مرور آمار تکثیر و صید ماهی سفید و کفال در سال‌های متمادی نشان می‌دهد که این ذخایر حاصل تکثیر مصنوعی و رهاکرد انبوه بچه ماهیان می‌باشد و سهم تکثیر طبیعی در بازسازی ذخایر کاهش یافته و به پایین‌ترین حد خود رسیده است (Abdolmaleki and Ghaninezhad, 2007; Abbasi Ranjbar, 2023). این روند تاثیرات سویی به‌دنبال داشته و به‌صورت تدریجی سبب تخریب ذخایر ژنتیکی و نابودی تدریجی بانک ژنی خواهد شد که نتیجه آن در دراز مدت سبب کاهش سرعت رشد، کاهش میانگین طول، کاهش درصد هم‌آوری و افزایش لاروهای بدشکل در یک دوره ۲۵ الی ۴۰ ساله خواهد شد (Pourkazemi, 2000). بنابراین آگاهی از ساختار ژنتیکی این ماهیان با بررسی برآورد جمعیتی و دستیابی به میزان تنوع ژنتیکی و میزان خویشاوندی و اثرات سوء ناشی از آن با حفظ و تولید پایدار این گونه اقتصادی ضروری به‌نظر می‌رسد.

کاهش ذخایر آبزیان در اکثر نقاط جهان سبب گردیده تا محققین جهت مدیریت ذخایر به مطالعه و تعیین ساختار ژنتیکی گونه‌های با ارزش به 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. 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. سپس برنامه مدیریتی را برای حفظ و بازسازی ذخایر آن تدوین و اعمال نمود (Rezvani *et al.*, 2001).

به‌منظور دستیابی به نشانگرهای ژنتیکی در گونه‌های جانوری از ژنوم میتوکندریایی استفاده می‌گردد (Ovenden and White, 1990). از ویژگی‌های ژنوم میتوکندری می‌توان به کوچک بودن آن (۵۰۰ ± ۱۶۵۰۰ جفت باز)، توارث از طریق مادری، سرعت جهش که پنج الی ده برابر ژنوم هسته‌ای است، به‌نحوی که در هر میلیون سال ۲ درصد تغییرات را متحمل می‌شود اشاره نمود (Berrebi, 1996). همچنین برخی از ژن‌های موجود در مولکول میتوکندری نظیر 16SrRNA، سیتوکروم b و c، سیتوکروم اکسیداز، نواحی D-loop و ND5/6 به‌منظور بررسی‌های درون گونه‌ای و ساختار جمعیتی آبزیان مورد استفاده قرارمی‌گیرند.

[ Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05 ]

[ DOI: 10.71901/jad-2026-1-903 ]

مطالعه برروی mtDNA به عنوان یک ابزار در تعیین جمعیت‌ها از دهه ۱۹۸۰ تاکنون استفاده می‌شود و در تعیین اختلاف بین جمعیت‌ها هنوز روشی قوی می‌باشد. سرعت جایگزینی نوکلئوتیدهای mtDNA در مهره داران عالی تقریبا ۱۰ – ۵ برابر سرعت تعویض در ژنوم هسته است که موجب افزایش قدرت تفکیک در سطح مطالعات جمعیتی می‌شود و حساسیت آن نسبت به کاهش تنوع ژنتیکی در تنگناهای ژنتیکی بیشتر است.

ماهی کفال طلایی، از ماهیان ارزشمندی است که در فصول سرد زمستان درحوزه جنوبی دریای خزر، درنواحی ساحلی ایران تجمع می‌یابد. این ماهی در تمام فصول سال از غذاهای مختلف تغذیه می‌کند، وابستگی خاصی به نوع غذا ندارد، از مواد غذایی بستر و همچنین مواد معلق در آب استفاده می‌کند. ماهی کفال طلایی دمای بین ۳ تا ۳۵ درجه سانتی‌گراد را تحمل می‌کند. همچنین این ماهی در دامنه شوری صفر (آب شیرین) تا ۳۵ در هزار نیز می‌تواند زندگی کند. امروزه صید و بهره‌برداری از ماهیان کفال در سطح وسیعی رونق گرفته است. میزان صید ماهی کفال در ایران در طی سال‌های ۱۹۵۶ – ۱۹۴۲ در دریای خزر بین ۵۲۴۳ – ۴۹ تن متغیر بوده است (Amini, 1989). کفال طلایی به همراه دو گونه دیگر از کفال ماهیان بین سال‌های ۱۹۳۰ تا ۱۹۳۴ توسط دانشمندان روسی به تعداد حدود ۳ میلیون بچه ماهی ۱ تا ۲ ساله از دریای سیاه به دریای کاسپین معرفی شد، که کمتر از ۱۰ سال در تمام نواحی دریا گسترش یافت (Razavi Sayyad, 1990). صید کفال ماهیان در ایران از سال ۱۹۴۲ آغاز شد. طی سال‌های ۱۳۶۲-۱۳۶۱ به علت صید بی‌رویه به میزان ۶۹۷۵ تن، کـه متوسط وزن ماهیان صید شده فقط ۲۱۰ گرم بود، لطمه شدیدی به ذخایر آنها وارد گردید (Razavi Sayyad, 1990).

Caldara و همکاران (۲۰۰۲) بررسی روی رابطه سیر تکاملی و فیلوژنی از هفت گونه از کفال ماهیان دریای مدیترانه بر پایه آنالیز توالی DNA از دو ژن میتوکندری (Cytochrome b, 12s rRNA) انجام دادند، که نشان‌دهنده واگرایی چشمگیر ژن‌ها در دو جنس کفال *Mugil curema*, و *Mugil cephalus* در مقایسه با سایر اعضای این خانواده بود. Semina و همکاران (۲۰۰۷) مطالعه‌ای روی سه گونه کفال ماهیان (*Liza haematocheila* ، *Mugil soiuy* و *Mugil cephalus* موجود در دریای ژاپن و *M. cephalus* و *L. aurata* موجود در دریای آزوف بر پایه آنالیز PCR- RFLP قطعات DNA میتوکندری شامل 12s/16s rRNA و ژن‌های ND4/ND4L/ND3 انجام دادند. با استفاده ازاین روش، گونه *M. cephalus* اختلاف ژنتیکی بارزی را با *L. aurata* نشان داد.

با وجود اهمیت کفال طلایی به عنوان یکی از گونه‌های ارزشمند اقتصادی، اطلاعات کافی درباره ساختار جمعیتی آن در دریای خزر وجود ندارد. Siadatian و همکاران (۲۰۰۷) با استفاده از توالی‌یابی مستقیم محصول PCR بخشی از ناحیه D-loop میتوکندریایی به بررسی فیلوژنیک کفال ماهیان گونه‌های *Liza aurata* و *Liza saliens* دریای خزر پرداخته و عنوان نمودند که با توجه به اختلافات مورفولوژیک بین این دو گونه، نتایج مولکولی نیز تایید کننده این اختلاف است. به‌طوری‌که هر کدام از این گونه‌ها در شاخه‌هایی جداگانه و با اختلافاتی نسبت به یکدیگر قرارگرفتند. Sheibani و همکاران (۲۰۰۷) با

[ Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05 ]

[ DOI: 10.71901/jad-2026-1-903 ]

استفاده از توالی‌یابی مستقیم محصول PCR بخشی از ناحیه D-loop میتوکندریایی به بررسی فیلوژنیک کفال ماهیان گونه‌های *Liza abu* و *Liza subviridis* شمال خلیج فارس پرداخته و با رسم درخت فیلوژنی، این دو گونه در دو شاخه مجزا از یکدیگر قرارگرفتند. هم‌چنین Nematzadeh و همکاران (۲۰۱۱)، ۶ گونه از کفال ماهیان ایران را با استفاده از روش PCR- sequencing و ژن 16SrRNA مورد مطالعه قرار دادند.آنها اعلام نمود که گونه *L. subviridis* با گونه *L. aurata* به روش آنالیز maximum parimony در یک شاخه قرارگرفته‌اند. اما به روش Neighbor joining گونه *L. subviridis* با *L. saliens* در یک شاخه قرارگرفتند.

در بررسی ساختار ژنتیکی کفال طلایی با استفاده از ریزماهواره‌ها، Ghodsi و همکاران (۲۰۱۳) جریان ژنی نسبتا بالایی را در بین جمعیت‌های بابلسر و چالوس مشاهده نمودند. آنها گزارش کردند که تنوع ژنتیکی معنی‌داری در دو جمعیت وجود ندارد. همچنین در بررسی تنوع ژنتیکی کفال طلایی در دو جمعیت گمیشان و میان‌کاله در استان گلستان جریان ژنی بالا و تنگنای ژنتیکی به دلیل تنوع ژنتیکی ضعیف مشاهده گردید (Ghodsi *et al*., 2011). مطالعات اولیه Behrouz و Norouzi در سال ۲۰۲۱ در دو جمعیت کفال طلایی در مناطق رامسر و فریدون‌کنار در استان مازندران، تمایز ژنتیکی را نشان دادند. همچنین Behrouz و همکاران (۲۰۱۶) تمایز ژنتیکی بالایی را در کفال طلایی در دو منطقه تالاب انزلی (استان گیلان) و گمیشان (استان گلستان) مشاهده نمودند، که می‌تواند ناشی از فاصله جغرافیایی دو منطقه باشد.

هدف از این تتحقیق، برآورد ساختار جمعیتی و تنوع ژنتیکی، فاصله ژنتیکی و میزان خویشاوندی ماهی کفال طلایی در حوضه جنوب غربی دریای خزر بود تا در آینده با نگرش علمی مبنی بر بازسازی ذخایر بومی هر منطقه اقدام گردد.

## مواد و روش‌ها

در این بررسی از بافت باله دمی ۹ قطعه ماهی کفال طلایی {در سه منطقه غربی (تالش)، مرکزی (انزلی) و شرقی (کیاشهر) استان گیلان} نمونه‌برداری گردید (شکل ۱، جدول ۱). برای این منظور مقدار ۲ – ۳ گرم از بافت نرم باله دمی با قیچی بریده و داخل تیوب‌های ۱/۵ میلی‌لیتر حاوی الکل ۹۶ درصد قرار داده شد (Pourkazemi, 1996). اطلاعات هر نمونه بر روی تیوب‌ها 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.

جهت استخراج DNA از روش استات آمونیوم (Chakmehdouz, 2004) 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 درصد استفاده گردید. جهت ساخت آغازگر ژن 16SrRNA میتوکندریایی از منبع Palumbi و همکاران (۱۹۹۱) استفاده گردید و توالی آن از طریق شرکت ژن فن‌آوران به شرح ذیل ساخته شد:

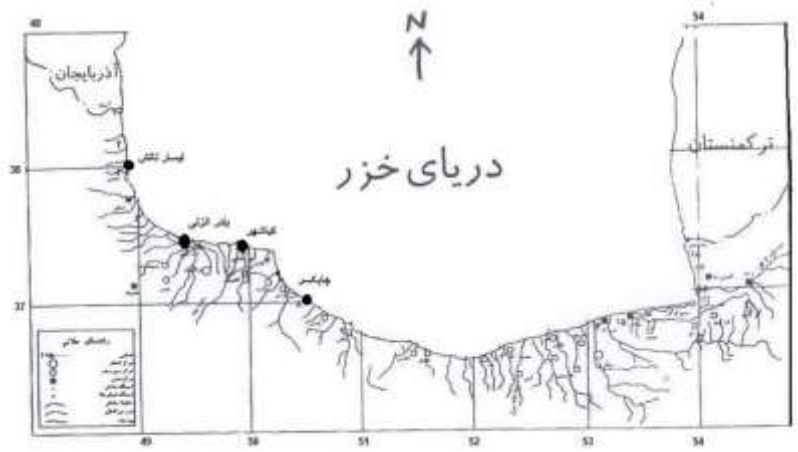
F: 5’CGCCTGTTTATCAAAAACAT3’

R: 5’CCGGTCTGAACTCAGATCACGT3’

[ Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05 ]

[ DOI: 10.71901/jad-2026-1-903 ]

به‌منظور تکثیر ژن 16SrRNA از مواد زیر توسط دستگاه PCR مدل EP-Gradiant ساخت شرکت Eppendorf آلمان استفاده گردید: آنزیم Taq DNA پلیمراز (سیناژن)، $MgCl_2$ 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 گرادینت دمایی ۶۳-۵۳ درجه سانتی‌گراد انجام شد. در نهایت بهترین شرایط PCR طبق جدول ۲ بدست آمد. برای مطالعه و ارزیابی هاپلوتیپ‌های موجود در جمعیت‌های مورد مطالعه از نرم‌افزار dnaSP5 (نسخه ۵.۱۰.۱) استفاده گردید. جهت تمایز ژنتیکی و بررسی روابط فیلوژنی توالی‌های ژن‌های 16SrRNA ماهی کفال طلایی از نرم‌افزار Mega 11 (نسخه ۱۱) استفاده گردید. 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. (Tamura *et al.*, 2021).




شکل ۱: ایستگاه‌های نمونه‌برداری کفال طلایی در سواحل استان گیلان (۱۴۰۰-۱۳۹۹)

Figur 1: Sampling stations of golden mullet on the Guilan province coast (2020 -2021)

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

Table 1: Geographic coordinates of sampling stations of golden mullet fry on the Guilan province coast (2020 -2021)

| Factor/Coast | Talesh Coast | Anzali Coast | Kiashahr Coast |
|---|---|---|---|
| **Latitude** | 38 11 03 | 37 29 01 | 37 28 03 |
| **Longitude** | 48 53 01 | 49 29 31 | 49 57 01 |

[ Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05 ]

[ DOI: 10.71901/jad-2026-1-903 ]

جدول ۲: چرخه‌های حرارتی PCR جهت تکثیر ژن 16srRNA ماهی کفال طلایی

Table 2: PCR thermal cycles for amplification of the 16srRNA gene of golden mullet

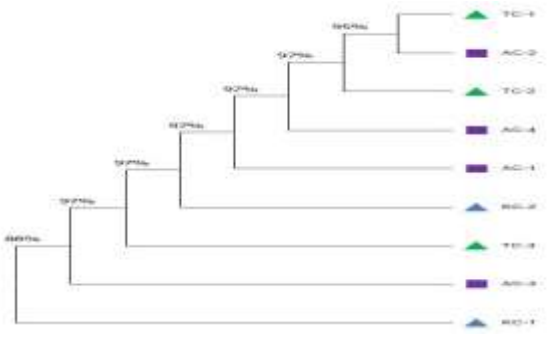
| Stages | Temprature (C) | Time (min) | Cycles number |
|---|---|---|---|
| Primary denaturation | 94 | 3 | 1 |
| Denaturation<br>Annealing Extension | 94<br>58<br>72 | 5<br>1<br>1 | 30 |
| Final extension | 72 | 5 | 1 |

## نتایج

براساس اختلاف تکاملی ( Maximum Composite Likelihood) بین توالی‌های ثبت شده نمونه کفال طلایی با استفاده از نرم‌افزار Mega 11 در نمونه ماهی کفال بین مناطق مرکزی و غربی دارای ۹۶ درصد شباهت بوده و ۴ درصد اختلاف تکاملی بود. هم‌چنین نمونه ماهی کفال بین مناطق غربی و شرقی دارای ۹۶ درصد شباهت بوده و ۴ درصد اختلاف تکاملی بدست آمد. براساس محاسبه Meyer ، از آنجایی‌که بین توالی سه منطقه بین ۴ درصد اختلاف وجود دارد بنابراین نمونه‌های ماهی کفال سه مناطق حدود ۱/۶ میلیون سال پیش از هم منشعب شده‌اند.

درجه خویشاوندی براساس تست Tajima بین نمونه‌های کفال طلایی سه منطقه با استفاده از نرم‌افزار Mega 11، مقدار P در محاسبه درجه خویشاوندی بیشتر از ۰/۰۵ بود (۰/۲۷۳۳۲) که این نشان‌دهنده تایید فرضیه صفر یعنی میزان برابری بین شجره‌ها می‌باشد.

نتایج دندروگرام بیشترین رابطه خویشاوندی نشان می‌دهد که نمونه‌ها از لحاظ رابطه خویشاوندی در ۸ کلاستر قرارگرفتند. ماهی کفال طلایی مناطق غربی (تالش) و مرکزی (انزلی) بر روی یک کلاستر و یک شاخه اما کفال طلایی منطقه کیاشهر در کلاسترها و شاخه‌های مجزا قرار گرفته است (شکل ۲).



شکل ۲ : دندروگرام رابطه خویشاوندی (Neighbor-Joining) براساس روش (Saitou and Nei, 1987) در ماهی کفال طلایی از سه منطقه نمونه‌برداری شده با ۱۰۰۰ بار تکرار

Fig. 2: Neighbor -Joining dendrogram based on the method (Saitou and Nei, 1987) in golden mullet from three sampled areas with 1000 replications

[ Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05 ]

[ DOI: 10.71901/jad-2026-1-903 ]

در مقایسه بین سه روش بررسی روابط فیلوژنی ماهی کفال طلایی از سه منطقه نمونه‌برداری شده، در هر سه حالت ( Maximum Parsimony, Maximum Likelihood, Neighbor-Joining) نمونه‌های مناطق غربی و مرکزی به‌صورت مشترک در یک کلاستر و روی یک شاخه قرار دارند که نشان‌دهنده تمایز اندک این دو جمعیت بر اساس ژن 16SrRNA می‌باشد.

از میان توالی‌های به‌دست آمده در ماهی کفال طلایی، در مجموع ۹ هاپلوتیپ مشاهده شد. از مجموع ۹ هاپلوتیپ مشاهده شده، ۴ هاپلوتیپ ($Ha_4$، $Ha_6$، $Ha_7$، $Ha_9$) در منطقه مرکزی، ۳ هاپلوتیپ ($Ha_1$، $Ha_5$، $Ha_8$) در منطقه غربی و ۲ هاپلوتیپ ( $Ha_2$،$Ha_3$) در منطقه شرقی سواحل استان گیلان مشاهده شد. از بین هاپلوتیپ‌های به‌دست آمده، منطقه مرکزی با دارا بودن ۴ هاپلوتیپ و منطقه غربی با ۳ هاپلوتیپ مجزا به‌ترتیب بیشترین تعداد هاپلوتیپ را دارند (جدول ۳). تنوع هاپلوتیپی در نمونه‌های ماهی کفال طلایی در تمامی مناطق مرکزی، غربی و شرقی سواحل استان گیلان ۱/۰۰۰ بود و تنوع نوکلئوتیدی جمعیت‌ها ۰/۱۵۵۳۷ برآورد گردید (جدول ۴).

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

Table 3: Haplotype distribution of the 16SrRNA gene of golden mullet 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 |
| $Ha_5$ | | | 1 | 1 |
| $Ha_6$ | 1 | | | 1 |
| $Ha_7$ | 1 | | | 1 |
| $Ha_8$ | | | 1 | 1 |
| $Ha_9$ | 1 | | | 1 |
| Total | 4 | 2 | 3 | 9 |

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

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

| Area | Samples number (n) | Haplotype number | Haplotypic diversity | Nucleotide Diversity |
|---|---|---|---|---|
| Center | 4 | 4 | 1.000 | - |
| East | 2 | 2 | 1.000 | - |
| West | 3 | 3 | 1.000 | - |
| Total samples | 9 | 9 | 1.000 | 0.15537 |

[ Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05 ]

[ DOI: 10.71901/jad-2026-1-903 ]

تنوع هاپلوتایپی ماهی کفال طلایی درهمه مناطق یکسان (۱/۰۰۰)، بود ولی سطح تنوع نوکلئوتیدی بین نواحی سواحل استان گیلان متوسط بود. جریان ژنی (Nm) به‌دست آمده براساس داده‌های هاپلوتیپی و مدل Nei, 1972 در سه منطقه ۲۷/۰۰ اعلام شد، که بیانگر عدم جدایی تولیدمثلی در سواحل استان گیلان می‌باشد. براساس نتایج آنالیز AMOVA بیشترین تنوع ژنتیکی در کل جمعیت‌ها ۰/۳ بود (جدول ۵).

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

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

| Population | S.D. | Percent |
|---|---|---|
| Between the populations of each area | 0.02 | -0.13 |
| Total populations | 0.04 | 0.3 |

## بحث

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 مولکولی و فیلوژنتیکی ماهی کلمه (*Rutilus rutilus*) در 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. Kolangi و همکاران (۲۰۱۵) تنوع ژنتیکی ماهی سفید دریای خزر به روش سیتوکروم b را با تعداد ۳ نمونه برای هر منطقه (۱۵ نمونه در ۵ منطقه) بررسی کردند. 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 قرارگرفت.

جهت استخراج DNA بافت، از روش نمکی استات آمونیوم استفاده گردید. Rajabi و همکاران (۲۰۱۶) 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 و صرف زمان کمتر، بهینه‌تر از سایر روش‌هاست. به‌طورکلی 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 استفاده گردید ( Chakmehdouz, 2004). DNA های استخراج شده از کمیت و کیفیت مناسبی برخوردار بودند.

[ Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05 ]

[ DOI: 10.71901/jad-2026-1-903 ]

در این بررسی شباهت ژنتیکی بین توالی‌های ژن 16SrRNA ماهی کفال طلایی در سه منطقه شرقی، مرکزی و غربی سواحل استان گیلان ۹۶ درصد شباهت و ۴ درصد اختلاف تکاملی وجود داشت. براساس محاسبات Ni و همکاران (۲۰۱۴) نرخ واگرایی برای ژن 16SrRNA به میزان ۱ درصد در هر میلیون سال است. بر اساس مطالعه Bae در سال ۲۰۱۴ در جمعیت‌های ماهی کفال سرصاف یا خاکستری (*Mugil cephalus*) در کشور کره بر اساس ژن 16SrRNA، نرخ واگرایی دو تبارشاخه این گونه به ۱-۱/۲ میلیون سال قبل بر می‌گردد.

در این بررسی، درجه خویشاوندی براساس تست Tajima (1993) در ماهی کفال طلایی بین سه منطقه شرق، مرکز و غرب استان گیلان میزان برابری بین شجره‌ها را تایید نمود. در مطالعه Bae در سال ۲۰۱۴ در هفت جمعیت کفال سرصاف کشور کره، با آنالیز توالی 16S، دو دودمان را جدا نمود. او اعلام کرد که تنها یک جمعیت در یک دودمان و شش جمعیت دیگر در دودمان دیگر قرار دارند. او علت تفاوت این دو دودمان و جمعیت‌ها را وجود موانع اقیانوسی یا زمینی و جریان ژنی بسیار محدود دانست. در مطالعه حاضر بر روی کفال طلایی، فاصله کم جغرافیایی ایستگاه‌های نمونه‌برداری در آب‌های ساحلی دریای خزر در استان گیلان و نبود موانع فیزیکی نظیر حرارت، شوری و ... (Rezvani *et al.*, 2012)، وجود جریان ژنی در سه منطقه نمونه‌برداری شده موید تمایز ژنتیکی اندک در این گونه می‌باشد که با نتایج Bae در سال ۲۰۱۴ با شش جمعیت قرارگرفته در یک دودمان هم‌خوانی دارد.

در مقایسه بین سه روش بررسی روابط فیلوژنی ماهی کفال طلایی از سه منطقه نمونه‌برداری شده، در هر سه حالت (Maximum Parsimony, Maximum Likelihood, Neighbor-Joining) نشان‌دهنده تمایز اندک این دو جمعیت بر اساس ژن 16SrRNA می‌باشد، که با نتایج Saeidi و همکاران (۲۰۱۶) روی ناحیه D-loop در جمعیت‌های گیلان و مازندران تفاوت دارد. آن‌ها بر اساس دندروگرام (NJ)، دو جمعیت متفاوت از کفال طلایی در سواحل جنوبی دریای خزر را گزارش کردند. به نظر می‌رسد قدرت بالای این ماهیان در مهاجرت و حرکت سبب گردیده تا محیط قادر به ایزوله کردن این جمعیت‌ها نباشد و این امر باعث بوجود آمدن اختلاط جمعیتی بین آن‌ها و ایجاد یک تاکسون واحد شده باشد (Kolangi *et al.*, 2015).

در مطالعه حاضر، تنوع هاپلوتایپی ماهی کفال طلایی با استفاده از ژن 16SrRNA درهمه مناطق یکسان و بالا ولی سطح تنوع نوکلئوتیدی بین نواحی سواحل استان گیلان متوسط بود. در مجموع ۹ هاپلوتیپ مشاهده شد. در بررسی تنوع ژنتیکی ماهی کفال پوزه باریک (*Liza saliens*) توسط Rezvani و همکاران (۲۰۱۲)، ژن میتوکندریایی 16SrRNA در سواحل گیلان و گلستان دارای ۷ هاپلوتایپ بود. تنوع هاپلوتایپی و نوکلئوتیدی بالاتری در استان گیلان نسبت به گلستان مشاهده شد، که با نتایج مطالعه حاضر در ماهی کفال طلایی در مناطق مورد بررسی در استان گیلان مطابقت دارد. یکی از دلایل وجود تنوع هاپلوتیپی و نوکلئوتیدی در قسمت ساحلی استان گیلان می‌تواند به دلیل شوری و حرارت کمتر نسبت به استان گلستان باشد. Saeidi و همکاران (۲۰۱۷) با بررسی ناحیه کنترل mtDNA کفال طلایی در سه استان گیلان، مازندران و گلستان، بالاترین سطح تنوع نوکلئوتیدی را

[ Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05 ]

[ DOI: 10.71901/jad-2026-1-903 ]

در گیلان و پایین ترین آن را در گلستان مشاهده کرد. او اظهار داشت که سطح تنوع هاپلوتیپی و نوکلئوتیدی کفال طلایی در سواحل جنوبی دریای خزر بالا می‌باشد که در مطالعه حاضر چنین می‌باشد.

طبق نظریه Grant و Bowen (۱۹۹۸)، تنوع هاپلوتیپی بالا و نوکلئوتیدی پایین نشان دهنده گسترش سریع جمعیت، پس از یک دوره کاهش اندازه موثر جمعیت می باشد.

براساس 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 بر اساس داده‌های هاپلوتیپی و مدل Nei (1972) در کفال طلایی سه منطقه ۲۷/۰۰ اعلام شد، که بیانگر عدم جدایی تولیدمثلی در سواحل استان گیلان می‌باشد. مشابه مطالعه حاضر، Rezvani و همکاران (۲۰۱۲) میزان جریان ژنی بالایی را در کفال پوزه باریک گیلان و گلستان گزارش کردند که در ارتباط با نبود موانع فیزیکی و مهاجرت آسان این گونه در دریای خزر می‌باشد. در تحقیق انجام شده توسط Ghane (2011) سطوح بالایی از جریان ژنی (۵/۰۵) در میان نمونه‌های کفال پوزه باریک مشاهده شد. هم‌چنین میزان جریان ژنی مشاهده شده توسط Ghodsi و همکاران (۲۰۱۱) در نمونه‌های کفال طلایی محدوده ۵/۱۳۵ تا ۳۹/۲۶۴ گزارش گردید. البته Saeidi و همکاران (۲۰۱۶) جریان ژنی پایینی را در مناطق گیلان و مازندران گزارش نمودند. آن‌ها دلیل خود را متفاوت بودن ۲-۳ درجه دما در مناطق غرب به شرق دریای خزر اعلام نموده و بیان کردند که علی‌رغم زندگی این دو جمعیت کفال طلایی در کنار هم، جدایی تولیدمثلی دارند که این امر در زمان تخم‌ریزی آن‌ها مشهود است. هرچه میزان جریان ژنی بین مناطق بیشتر باشد، اختلاف ژنتیکی کمتر است (Nei, 1972) . با توجه به یافته‌های Ghane (۲۰۱۱) و Ghodsi و همکاران (۲۰۱۱) مبنی بر وجود جریان ژنی بالا در مناطق مورد بررسی، اختلاف ژنتیکی کم و در نتیجه عدم تفکیک جمعیت‌ها از هم می‌تواند قابل اثبات باشد که با نتایج حاصل از این مطالعه مطابقت دارد.

با توجه به غیر بومی بودن این گونه و تاریخچه کوتاه مدت حضور کفال طلایی در دریای خزر، صید بالا و با توجه به داده‌های حاصل از این بررسی که مربوط به مناطق محدود در سواحل مربوط به استان گیلان می باشد، به نظر می‌رسد، این گونه در معرض تنگنای ژنتیکی در آبهای ساحلی استان قرار دارد، همچنان‌که Norouzi و Behrouz در سال ۲۰۱۶ تنگنای ژنتیکی را به دلیل کاهش تنوع ژنتیکی ناشی از آلودگی ها و صید بی‌رویه اعلام نمودند. از طرفی آنها تنگنای ژنتیکی در کفال طلایی را به احتمال آمیزش خویشاندی نسبت دادند. پایین بودن تنوع میان جمعیت‌ها ممکن است ناشی از تنوع ژنتیکی پایین در جمعیت کفال اولیه باشد که از دریای سیاه به دریای خزر پیوند داده شده‌اند. همچنین، ممکن است مولدین اولیه از یک یا دو منطقه نزدیک به هم در دریای سیاه انتخاب شده باشند و یا تنوع ژنتیکی این گونه در دریای سیاه پایین باشد، که متأسفانه اطلاعات کافی از محل برداشت کفال در دریای سیاه موجود نیست (Ghodsi *et al*., 2011). از طرفی ممکن است که نمونه‌برداری از افراد خویشاوند در یک ایستگاه صورت گرفته باشدکه Behrouz و Norouzi (۲۰۲۱)

[ Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05 ]

[ DOI: 10.71901/jad-2026-1-903 ]

نیز به آن اشاره داشته‌اند. با این وجود به نظر می‌رسد درون‌آمیزی اجباری این گونه در طی ۹۰ سال حضور در آب‌های بسته دریای خزر موجب کاهش شدید تنوع و وجود جریان ژنی بالا در بین جمعیت‌ها شده باشد. 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 توالی‌هایDNA، رابطه خویشاوندی بین آن‌ها افزایش می‌یابد. هم‌چنین کاهش شدید جمعیت‌های آبزیان می‌تواند به‌دلیل کاهش تنوع ژنتیکی در آن‌ها باشد (Glenn *et al.*, 1999).

## نتیجه‌گیری

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

## سپاسگزاری

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

## منابع

1. Abbasi Ranjbar, K., 2023. Study of the abundance and length and weight structure of fingerlings (non-adult) and determination of ecological population of kutum and grey mullet fishes in Guilan province shores. Publications of the Iranian Fisheries Sciences Research Institute. Tehran. 332 P. [In Persian]
2. Abdolmaleki, S., and Ghaninezhad, D., 2007. Stock Assessment of the Caspian kutum *Rutilus frisii kutum* in the Iranian Coastal Waters of Caspian Sea. *Iranian Scientific Fisheries Journal*, *16*(1), pp.113 -16. DOI: 10.22092/isfj.2007.114976 [In Persian]
3. Abdolmaleki, S., and Ghaninezhad, D., 2015. Bony fishes of the Caspian Sea (biology, distribution, fishing and fishery, stock recovery, weaknesses and strengths). Publications of the Iranian Fisheries Research Institute. Tehran. 409 P. [In Persian]
4. Amini, F., 1989. Investigation of mullet fish and their adaptation to fresh water. Dissertation for the degree of Doctor of Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran. [In Persian]
5. Bae, S.E., 2014. Morphological and genetic variation of geographic populations of the flathead mullet, *Mugil cephalus* (Teleostei: Mugilidae) in Korea. M.Sc. Thesis. Department of Marine Biology, The Graduate School, Pukyong National University. 126 P.
6. Behrouz, M., Norouzi, M., Amirjanati, A. and Samie, M.H., 2016. Genetic structure of golden mullet (*Liza aurata*) in Gomishan and Anzali wetlands using microsatellite molecular technique. *Journal of Marine Science and*

[ Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05 ]

[ DOI: 10.71901/jad-2026-1-903 ]

*Technology*, *15*(2), pp.29-39. DOI:10.22113/jmst.2016.8577. [In Persian]

7. Behrouz, M., and Norouzi, M. 2021. Genetic variability and differentiation of golden mullet (*Liza aurata*) in seashore of Mazandaran province using microsatellite molecular. *Journal of New Technologies in Aquaculture Development*, *15*(4), pp.15-24. [In Persian]
8. Berrebi, P., 1996. Speciation of the genus Barbus in the north Mediterranean basin: recent advances from biochemical genetics. *Journal of Biological Conservation*, *72*, pp.237-249. DOI: 10.1016/0006-3207(94)00086-6
9. Caldara, F., Bargelloni, L., Ostellari, L., Penzo, E., Colomb, L., and Patarnello, T., 2002. Molecular phylogeny of Grey Mullets based on mitochondrial DNA sequence analysis: Evidence of a differential rate of evolution at the intra family level. *Molecular Phylogenetics and Evolution, 6*(3), pp.416-424. DOI: 10.1006/mpev.1996.0090
10. Chakmehdouz, 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]
11. Ghane, R., 2011. Study of the genetic diversity of the leaping mullet (*Liza saliens*) on the southern coast of the Caspian Sea using mtDNA sequencing. Master's thesis, Islamic Azad University, Department of Sciences and Research. 98 P. [In Persian]
12. 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*, pp.277-282. DOI: 10.1007/s10641-008-9332-z
13. Ghodsi, Z., Shabani, A., and Shabanpour, B., 2011. Genetic diversity of *Liza aurata* (Risso, 1810) in the coastal regions of Golstan province, using microsatellite marker. *Taxonomy and Biosystematics*, *3*(6), pp.35-46[In Persian]
14. Ghodsi, Z., Shabani, A., and Shabanpour, B., 2013. Genetic diversity of *Liza aurata* (Risso,1810) in the coastal regions of Mazandaran province, using microsatellite markers. *Modern Genetics Journal, 8*(1), pp.29-36. [In Persian]
15. 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
16. 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
17. 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*, pp.415–426. DOI: 10.1093/jhered/89.5.415
18. 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
19. 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
20. Kolangi, H., Shabani, A., and Hojati, M., 2015. Investigating genetic

[ Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05 ]

[ DOI: 10.71901/jad-2026-1-903 ]

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]

21. 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
22. 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*, *296*(1-4), pp.211-219. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2007.04.017
23. 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.
24. 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.
25. Nei, M., 1972. Genetic distance between populations. *American Naturalist, 106*, pp.283-292.
26. Nematzadeh, M., Rezvani Gilkolaei, S., Khalesi, M.K., and Laluei, F., 2011. Study of genetic diversity of 6 species of mullets in Iranian waters by mtDNA-PCR sequencing using genome. Book of the First National Conference on Aquaculture of Iran, 158 p. DOI: 10.1111/j.1365-294X.2009.04331.x
27. Ni, G., Li, Q.I. Kong, L., and Yu, H., 2014. Comparative phylogeography in marginal seas of the northwestern Pacific. *Molecular Ecology*, *23*, pp.534–548.
28. Norouzi, M., and Behrouz M., 2016. Microsatellite DNA analyses of the genetic structure of golden mullet (*Liza aurata*). *Iranian Scientific Fisheries Journal*, *25*(2), pp.185-196. 10.22092/isfj.2017.110250. [In Persian]
29. Ovenden, J.K., and White, R.W.G., 1990. Mitochondrial and allozyme genetics of incipient speciation in a landlocked population of *Galaxias truttaceus* (pices: Galaxiidae). *Genetics*, *124*(3), pp.701-716. DOI: 10.1093/genetics/124.3.701
30. Pourkazemi, M., 1996. Molcular and biochemical genetic analysis of sturgeon stocks from the south Caspian Sea. Ph.D Thesis. 260p. School of Biological Sciences,University of Wales,SwanSea.
31. 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]
32. 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]
33. Razavi Sayyad, B., 1990. Economic bony fish stock management of the Caspian Sea. Proceedings of the National Conference on the Management of Aquatic Resources. Mazandaran Province Fisheries Organization, Babolsar. [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.
35. Rezvani Gilkolaie, S., Ghane, R., Fazli, H., Kamali, A., Lalouie, F., and Taghavi, M.J., 2012. Genetic diversity of *Liza saliens* in the coastal waters of Guilan and Golestan province using the

[ Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05 ]

[ DOI: 10.71901/jad-2026-1-903 ]

mitochondrial DNA sequencing (mtDNA). *Journal of Marine Biology*, *4*(2), pp.37-44. [In Persian]

36. 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]
37. Saeidi, Z., Rezvani Gilkolaei, S., and Soltani, M., 2017. Population genetic structure studies of *Liza aurata* based on mtDNA control region sequences analyses in the southern coasts of the Caspian Sea. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, *16*(4), pp.1341-1348. [In Persian]
38. Saitou, N., and Nei, M., 1987. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, 4, pp.406-425. DOI: 10.1093/oxfordjournals.molbev.a040454
39. Semina, A.V., Polyakova, N.E., Makhotkin, M.A., and Brykov, V.A., 2007. Mitochondrial DNA divergence and phylogenetic relationships in Mullets (Pisces: Mugilidae) of the Sea of Japan and Sea of Azov revealed by PCR-RFLP- analysis. *Russian Journal Marine Biology*, *33*, pp.187-192.
40. Sheibani, Z., Qureishi, A., Amini, F., Fatemi, M.R., Salehitabar, R., and Houshmand, M., 2007. Phylogenetic relationships of northern Persian Gulf mullet (*Liza abu* and *Liza subviridis* species) using regional nucleotide sequencing of mtDNA. Fifth National Biotechnology Conference of the Islamic Republic of Iran, 24-26 November. Tehran. [In Persian]
41. Siadatian, F., Qureishi, A., Amini, F., Fatemi, M.R., Salehitabar, R., and Houshmand, M., 2007. Phylogenetic investigation of mullet species *Liza aurata* and *Liza saliens* in the southern Caspian Sea basin using mtDNA partial sequencing method. Fifth National Biotechnology Conference of the Islamic Republic of Iran, 24-26 November. Tehran. [In Persian]
42. Tajima, F., 1993. Simple methods for testing molecular clock hypothesis. *Genetics*, *135*, pp.599-607. DOI:10.1093/genetics/135.2.59
43. Tamura, K., Stecher, G., and Kumar, S., 2021. MEGA 11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. *Molecular Biology and Evolution.38*(17), pp.3022–3027. DOI: org/10.1093/molbev/msab120

[ Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05 ]

[ DOI: 10.71901/jad-2026-1-903 ]