مجله علوم و فنون شیلات
دوره ۱۲ شماره ۳، تابستان ۱۴۰۲، صفحه ۲۹۷ تا ۳۰۵

بررسی و تعیین شناسه (Barcode) ماهی کپورمعمولی *Cyprinus carpio* درسواحل جنوبی دریای خزر

محمد لاریجانی*[۱]، رویا بختیار[۲]، مهرنوش نوروزی[۳]، رها فدایی راینی [٤]

۱)مرکزتحقیقات ذخایر آبزیان آبهای داخلی ، گرگان

۲) گروه علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج

۳)دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن

۴)گروه مهندسی شیلات، دانشکده منابع طبیعی دانشگاه جیرفت .کرمان

چکـــیده

این مطالعه به منظور تعیین شناسه(Barcoding) با استفاده از ژن سیتوکروم اکسیداز ماهی کپورمعمولی، بین سه استان گلستان، مازندران و گیلان (به ترتیب در مناطق گمیشان، تجن و کیاشهر) در سال۱۳۹۰ انجام شده است. نتایج حاصل از تعیین توالی۳۰ نمونه باله دمی گونه کپور دریایی سواحل جنوبی خزر نشان داد که تمامی نمونه‌ها از یک گونه بوده و فاصله ژنتیکی آنها حداقل به ۲ درصد نمی‌رسد. بنابراین همه نمونه‌های کپور سه استان از یک گونه می‌باشند و از یک نوع بارکد برخوردار می‌باشند. در بررسی فاصله نوکلئوتیدی و هاپلوتیپی، منطقه گمیشان به ترتیب، ۱۰/۷۵۰۰۰ ، ۱ و منطقه کیاشهر به ترتیب، ۳/۲۰۰۰ و ۰/۹۳۳۳ بدست آمد. در بررسی تنوع نوکلئوتیدی بین دو منطقه ۰/۰۱۹۷۸ و میانگین اختلاف نوکلئوتیدی ۱۲/۱۸۷ بدست آمد. تنوع هاپلوتیپی در منطقه گمیشان ۳۸/۰۹۵ و در منطقه کیاشهر ۲۳/۸۰۹ درصد محاسبه شد. از مجموع ۱۳ هاپلوتیپ، منطقه گمیشان با ۸هاپلوتیپ (۶۱/۵۳ درصد) و منطقه کیاشهر با ۵ هاپلوتیپ (۳۸/۴۶ درصد) از کمترین مقدار هاپلوتیپ برخوردار بودند. نتایج این بررسی نشان می‌دهد که بین نمونه‌های کپور دریایی دو منطقه گمیشان و کیاشهر از نظر تنوع نوکلئوتیدی و هاپلوتیپی اختلاف معنی داری وجود دارد($p<0.05$).

کـــلید واژه‌ها: بارکد، کپورمعمولی، تنوع نوکلئوتیدی و هاپلوتیپی، دریای خزر

نوع مقـاله

مقاله پژوهشی اصیل

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۴/۰۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۵/۱۷

تاریخ چاپ الکترونیکی: ۱۴۰۲/۰۶/۰۷

*نویسنده مسئول:
mohamadlarijani@gmail.com

مقدمه

کپورماهیان بزرگترین خانواده ماهیان آب شیرین هستند و در ناحیه مصبی و آب‌های لب شور نیز دیده می‌شوند و جزء ماهیان گرمابی بوده‌اند و در مناطق نیمه‌گرم و گرمسیری که دمای بین ۲۰ –۱۵الی۴۰ –۳۵ درجه سانتی‌گراد باشد پرورش می‌یابند[1]. اطلاعات ژنتیکی مولکولی به عنوان یکی از شاخص‌های وضعیت اکولوژیک اکوسیستم‌های آبی به کار می‌رود و برای مناطق مختلف جهت کاربرد علمی و مدیریتی به عنوان یک ابزار منحصر به فرد و توانمند به کار می‌رود [2] از روش‌های مختلفی شامل روش‌های ریخت سنجی و روش‌های ژنتیکی جهت شناسایی تنوع ماهیان و جمعیت‌های آنها می‌توان استفاده کرد. ویژگی‌های ریختی ماهیان می‌تواند تاحدی تحت تأثیر عوامل محیطی قرار گرفته و بررسی‌ها را با خطا مواجه کند. امروزه با توسعه روش‌های ژنتیکی می‌توان روابط زیستی و شجره شناسی موجودات را به دور از اثرات و خطاهای محیطی به صورت

۱- نویسنده :mohamadlarijani@gmail.com

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-28]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1402.12.3.7.5]

واقعی‌تر سنجید. برای مثال می‌توان با استفاده از نشانگرهای جمعیتی مثل ریزماهواره‌ها، به بررسی ساختار جمعیت‌ها، روابط مهاجرتی، سیستم‌های تولید مثلی، اندازه مؤثر جمعیت‌ها، واحدهای مهم مدیریتی و بسیاری از سوالات مرتبط با بوم‌شناسی موجودات پاسخ داد. همچنین برای بررسی روابط رده‌بندی و بحث‌های تکاملی و شناسایی واحدهای مهم تکاملی می‌توان از نشانگرهایی مثل ژن‌های میتوکندریایی از قبیل *Cyt b* ، *COI* برای هر دو گروه موجودات دیپلوئید و پلی‌پلوئید و یا ژن‌های هسته‌ای بیشتر برای گروه‌های مختلف رده‌بندی موجودات دیپلوئید استفاده کرد [3,4] بارکدگذاری به وسیله ژن *COI* تعیین هویت گونه‌های ماهی را امکان‌پذیر می‌کند. با افزایش کاربرد بارکدگذاری DNA گونه‌های ناشناخته ماهی آشکار خواهد شد. توالی ژن *COI* میتوکندریایی به طور گسترده در مطالعات تبارشناسی مورد استفاده قرار می‌گیرد، زیرا تغییرات آن نسبت به DNAهسته بسیار سریعتر بوده و در نتیجه توانایی بیشتری در بیان اختلافات بین گونه‌های نزدیک دارد[5]. در مطالعه‌ای به بررسی توزیع و فراوانی هاپلوتیپ‌های حاصل از هضم آنزیمی محصو ل PCR، در ژن سیتوکروم اکسیداز کپور معمولی در سه ناحیه از سواحل جنوبی دریای خزر(استان گلستان، مازندران، گیلان) در سال۱۳۹۰پرداخته شده‌است. نتایج حاکی ازآن بوده است که بین نمونه های کپور دریایی استان گلستان و مازندران از نظر فراوانی هاپلوتیپ‌ها هیچ گونه اختلاف معنی‌داری مشاهده نکرده‌اند[2]. این تحقیق با هدف بررسی تنوع نوکلئوتیدی و اختلاف نوکلئوتیدی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) بین سه استان حوزه جنوبی دریای خزر انجام شده‌است.

مواد و روش‌ها

در این بررسی، در فصل صید با سرکشی به تعاونی‌های صیادی مستقر در نوار ساحلی و به طور کاملا تصادفی از هر شرکت به تعداد ۲ قطعه و در مجموع ۱۰ قطعه از هر استان انتخاب و مناطق نمونه‌برداری شامل بندرکیاشهردر استان گیلان، منطقه تجن در استان مازندران و منطقه گمیشان در استان گلستان بود. از قسمت باله دمی قطعه‌ای به اندازه ۳ سانتی‌متر جدا نموده و در الکل ۹۶ درصد تثبین نموده و جهت آزمایشات ژنتیکی به پژوهشکده اکولوژی دریای خزر منتقل نموده تا بررسی‌های مربوط به بارکدینگ انجام شود. ازهر نمونه ۱ گرم جدا نموده و در داخل تیوب خرد نموده و استخراج DNA با استفاده از روش فنل کلروفرم انجام شد [6]. سپس، DNA استخراج شده با استفاده از ژل آگارز از نظر کمی و کیفی بررسی شده و مراحل PCR انجام شد. جهت تکثیر توالی، ژنوم میتوکندری کپور معمولی به کار برده شد، از طریق شبکه اینترنتی NCBI بدست آمد.

ترادف ژنی پرایمر مورد نظر عبارتست از :

پرایمرجلوبر $5'$ - TAGACTTCTGGGTGGCCAAAGAATCA $3'$

پرایمر معکوس: $5'$- ACTTCAGGGTGACCGAAGAATCAGAA $3'$

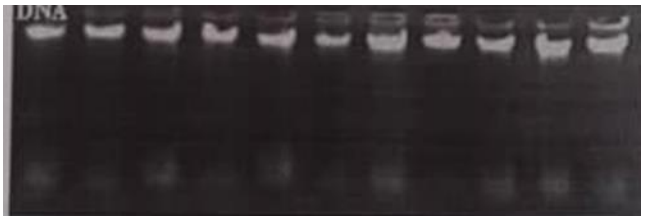
چهت تکثیر قطعه ژن هدف، ۱ تا ۲ میکرولیتر DNA استخراجی، ۵ میکرولیتر بافرPCR ، ۱/۶ میکرولیتر MgCl2، ۰/۵ میکرولیتر dNTP،۲ میکرولیتر از آغازگرها، ۰/۵ میکرولیتر Taq استفاده شد که در نهایت حجم آن با آب مقطر به ۵۰ میکرولیتر رسانده شد غلظت مواد مورداستفاده در جدول ۱ آمده است [2]. سیکل حرارت مراحل PCRدر جدول ۲ آمده‌است. پس از بررسی کمی وکیفی محصول PCR، نمونه‌ها جهت تعیین توالی توسط شرکت تکاپوزیست به کشور فرانسه فرستاده شد. در نهایت داده‌های بدست آمده از تعیین توالی قطعه bp۶۵۰ با استفاده از نرم افزارهای Bio Edit و MEGA4 مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج

DNA استخراج شده با استفاده از ژل آگارز از نظر کمی و کیفی بررسی شد و کلیه نمونه‌ها از کمیت و کیفیت خوبی برخوردار بودند و محصول PCR نیز از نظر کمی وکیفی با استفاده از ژل آگارز بررسی و نتایج بررسی نشان داد که کلیه محصول حاصل به جز نمونه‌های شماره ۲۱و ۱۸ بقیه نمونه‌ها مطابق شکل ازکمیت و کیفیت خوبی بر خوردار بودند (شکل ۱).

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-28]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1402.12.3.7.5]



شکل ۱. کیفیت DNA استخراج شده بر روی ژل آگارز ۱٪

اختلاف‌هاپلوتیپی

در بررسی اختلاف هاپلوتیپی، از میان مناطق نمونه‌برداری بیشترین اختلاف هاپلوتیپی در منطقه گمیشان با مقدار ۱ و کمترین اختلاف هاپلوتیپی در منطقه تجن و کیاشهر با ۰/۹۳۳۳ می‌باشد. بیشترین درصد فراوانی هاپلوتیپ در تجن و گمیشان با ۳۸/۰۹۵ درصد می‌باشد و کمترین درصد فراوانی هاپلوتیپ در استان گیلان با ۲۳/۸۰۹ می‌باشد. نتایج حاصل از تعیین توالی نشان می‌دهد که به دلیل اینکه تمام نمونه‌ها سه منطقه فاصله ژنتیکی آنها کمتر از ۲ درصد می‌باشد، در نتیجه تمام نمونه‌ها از یک گونه می‌باشند. نتایج آنالیز حاصل از توالی‌یابی مناطق سه‌گانه یک نوع بارکد را نشان دادند که حاکی از آن بود که همه آنها در محدوده ۶۵۰ جفت باز قرار داشتند زیرا توالی‌ها از نظر ژنتیکی با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نداشتند و همگی در یک شاخه از نظر نمودار درختی قرار داشتند(شکل۲).

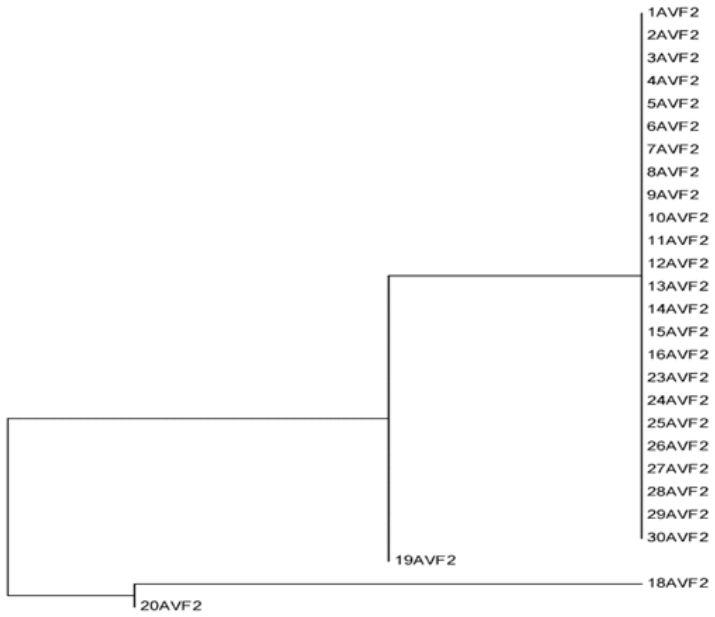
CCGGTGGATCTGTATTTGGTGCCTGAGCCGGATAGTAGGAACCGCCTTAAGCCTCCTCATTCGGGCCGAACTTAGCCAACCCGGGTCGCTTCTAGGTGATGACCAAATTTAT
AACGTTATCGTCACTGCCCACGCCTTTGTAATAATTTTCTTTATAGTATGCCTATCCTTATTGGAGGATTTGGAAACTGACTTGTACCACTAATAATCGGAGCCCCAGACAT
AGCATTCCCACGAATAAATAACATAAGCTTCTGACTACTACCCCCATCATTCCTTCTACTCCTAGCTTCTTCTGGTGTTGAAGCTGGAGCCGGAACAGGATGAACCGTATAC
CCACCTCTTGCAGGGAACTTAGCCCACGCAGGAGCATCAGTAGACCTAACAATTTTCTCACTTCACCTAGCAGGTGTTTCATCAATTCTAGGGGCAATCAACTTTATTACTA
CAACCATCAACATGAAACCCCCAGCCATCTCTCAATACCAAACACCCCTGTTCGTCTGATCCGTGCTTGTAACCGCCGTATTGCTCCTTCTATCATTACCTGTTTTAGCCGCA
GGAATTACAATGCTCCTAACAGACCGAAACCTTAATACCACATTCTTTGACCCGGCAGGAGGAGGAGACCCAATCCTTTATCAACACTTATTCTGATTCTTTGGCCTGCAAA
AAAATCTCTAA

شکل۲. بارکد کپور معمولی دریایی گونه carpio

مطابق شکل ۳ تمام نمونه‌ها به جز نمونه‌های ۱۸ و ۱۹ و۲۰ متعلق به منطقه کیاشهر ناخالص بودند که به دلیل تعداد جفت باز سه نوکلوتید کمتر از دیگر نمونه‌ها (کمتراز ۴۰۰ باز) می‌باشد. بقیه نمونه‌ها در یک شاخه قرار گرفتند زیرا میانگین فاصله ژنتیکی آنها کمتر از ۰/۰۱ درصد می‌باشد.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-28]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1402.12.3.7.5]



شکل ۳. نمودارد‌رختی جنس کپور گونه carpio

بحث و نتیجه‌گیری

اعمال مدیریت صحیح بر ذخایر آبزیان و توسعه آبزی پروری زمانی با موفقیت همراه خواهد بود که شناسایی ذخایر ژنتیکی گونه ها و جمعیت‌های بومی هرمنطقه مطالعه شود [7]. این استراتژی در صورتی که بر پایه روش‌های دقیق و قوی مثل داده‌های مولکولی باشد می‌تواند علاوه برحفظ تنوع زیستی، میزان برداشت و بهره برداری را به حد پایدار و حداکثر برساند. تکنیک DNA بارکدگذاری یکی از نوین‌ترین روش‌های شناسایی موجودات است که از DNA میتوکندریایی، برای شناسایی دقیق و سریع گونه‌ها استفاده می‌نماید[5] . Hebert و همکاران (2003) [9] برای اولین بار تکنیک بارکدگذاری DNA را با استفاده از DNA میتوکندریایی، بر پایه ژن سیتوکروم اکسیداز زیر واحد۱(Co) به عنوان یک سیستم شناسایی زیستی جهانی برای تمایز همه یا حداقل اکثریت گونه‌های جانوری پیشنهاد کردند. محققین بسیاری در تمام دنیا روش بارکدینگ را برای شناسایی ماهیان مورد بررسی قرار داده و نتایج آنها بیانگر مناسب بودن این روش برای شناسایی DNA ماهیان است. از جمله Aquilino)[10] (et al, 2011اعلام نمودند که بارکدهای DNA ژن COI برای تعیین هویت دقیق و سریع ماهی‌ها و همچنین برای شناسایی قطعی گونه‌هایی که نیاز به بررسی طبقه‌بندی در آینده دارند موثر است. همچنین (Fas macco, 2011)[11] ژن COI به عنوان نشانه‌ای برای تعیین هویت انواع ماهی‌های مصرفی در ژاپن مورد مطالعه قرار دادند نتایج آنها نشان داد که روش بارکدگذاری DNA به صورت بالقوه‌ای به عنوان ابزاری برای تایید طبقه بندی کامل گونه ماهیان در بازار ژاپن مفید واقع شده است. اطلاعات ژنتیکی مولکولی با استفاده از روش‌های مختلف از جمله DNAمیتوکندری برای روشن شدن حد و مرز گونه‌ها بسیار سودمند میباشد. بنابراین از توان قابل ملاحظه‌ای جهت حل دشواری‌های رده‌بندی کپور معمولی برخوردار است [12, 13]. ماهی‌کپور معمولی یکی از گونه‌های مهم تجاری در کشور است و بیش از۷۰ درصد صید استان گلستان را به خود اختصاص میدهد. [14]. از این رو تعیین بارکد ماهی کپور معمولی در آبهای دریای خزر جنوبی از اهمیت خاصی برخوردار است. نتایج این پژوهش نشان داد، که بین نمونه‌های کپور دریایی مناطق گمیشان و تجن از نظر فراوانی هاپلوتیپ‌ها هیچ گونه اختلاف معنی‌داری وجود ندارد($p>0.05$) ولی با نمونه‌های منطقه کیاشهر اختلاف معنی‌داری دارند($P<0.05$). بالا بودن فراوانی هاپلوتیپ در نمونه‌های تالاب گمیشان

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-28]
[DOR: 20.1001.1.23225513.1402.12.3.7.5]

و منطقه تجن نسبت به منطقه کیاشهر به دلیل بالابودن جریان ژنی در این مناطق می‌باشد که نتایج مشابه آن توسط (Laloii et al,2006) [15] گزارش شده است. به نظر می‌رسد بالابودن تنوع هاپلوتیپ در نمونه‌های تالاب گمیشان و منطقه تجن نسبت به منطقه کیاشهر نشان دهنده تنوع پذیری بالای mtDNA این دو منطقه نسبت به بندر کیاشهر باشد. مطابق مطالعات (Ghelichpoor et al. [16]2010)بالا بودن هاپلوتیپی در این مناطق را گویای جریان ژنی بالا در این منطقه دانسته که تأثیرات منفی تکثیر مصنوعی بر تنوع ژنتیکی را خنثی می‌کند و با مطالعات ما مطابقت دارد. تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از ارزیابی دو ژن ND-3/4 و ND-5/6 کپور معمولی نشان داد که نمونه‌های سواحل استان گیلان با تالاب انزلی، سواحل استان گلستان و رودخانه تجن با گرگانرود از لحاظ فراوانی هاپلوتیپ دارای اختلاف معنی‌دار بوده است($p<0.05$). با توجه به نتایج بدست آمده اذعان داشتند که جمعیت یکسانی از کپور معمولی در مناطق مورد بررسی وجود نداشته و بطور کلی سه گروه ژنتیکی از این گونه شناسایی شدند[17]. میان مناطق نمونه‌برداری بیشترین درصد اختلاف نوکلئوتیدی در نمونه‌های منطقه گمیشان با مقدار۷۵۰۰۰/ ۱۰ و کمترین درصد اختلاف نوکلئوتیدی در نمونه های منطقه تجن با ۲/۴۸۸۸۹دیده شد. مقدار و درصد اختلاف نوکلئوتیدی در نمونه‌های کیاشهر ۳/۲۰۰۰ می‌باشد و مطابق با مطالعات(Laloii et al,2006) [15] و(Ghelichpoor et al,2010) [16] بالابودن اختلاف نوکلئوتیدی به دلیل بالابودن جریان ژن در این مناطق می‌باشد و گونه‌ها به دلیل بالابودن تنوع نوکلئوتیدی با انجام آمیزش اختلافات نوکلئوتیدی مختلفی ایجاد می‌کنند. بیشترین میزان تنوع نوکلئوتیدی بین مناطق تجن–گمیشان با ۰/۱۱۷۸ و کمترین میزان تنوع نوکلئوتیدی بین مناطق کیاشهر–تجن با ۰/۰۰۹۹۵ و بین مناطق گمیشان– کیاشهر ۰/۰۱۹۷۸ می‌باشد. از نظر میانگین اختلاف نوکلئوتیدی بیشترین میزان بین مناطق گمیشان– کیاشهر ۱۲/۱۸۷ و کمترین میزان بین مناطق کیاشهر– تجن می‌باشد و بیشترین اختلاف نوکلئوتیدی بین مناطق گمیشان– کیاشهر می‌باشد. بالابودن اختلاف نوکلئوتیدی مطابق با مطالعات و (Ghelichpoor et al, 2010) [16] از یک طرف به دلیل بالا بودن جریان ژنی و از طرف دیگر به دلیل این است که زیستگاه اصلی گونه کپور در سواحل شرق استان گلستان می‌باشد که از بیشترین میزان صید برخوردار می‌باشد بنابراین تبادل جریان ژنی و آمیزش در این مناطق زیاد می‌باشد و این امر باعث تنوع و اختلافات ژنتیکی زیادی می‌گردد. اما نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که میزان فراوانی و تنوع هاپلوتیپ‌ها در مناطق مختلف نمونه‌برداری یکسان نبوده است. وجود هاپلوتیپ‌های مختلف نشان می‌دهد که تنوع در mtDNA (DNA میتوکندریایی) ماهی کپور معمولی وجود دارد. میانگین فاصله ژنتیکی بین نمونه‌های مناطق کیاشهر، تجن و گمیشان به ترتیب ۰/۰۲ و ۰/۰۰۴۴ و۰/۰۳ می‌باشد و منطقه گمیشان با ۰/۰۳ مقدار از بیشترین میزان فاصله ژنتیکی و منطقه تجن با ۰/۰۰۴۴ مقدار از کمترین میزان فاصله ژنتیکی برخوردار بودند. بالابودن فاصله ژنتیکی بین نمونه‌های منطقه گمیشان مطابق مطالعات (Laloii et al, 2006 و [15] (Ghelichpoor et al. 2010) [16] به دلیل بالا بودن جریان ژنی بین نمونه‌های منطقه گمیشان می‌باشد. نتایج این بررسی بیانگر یکسان بودن بارکد در مناطق نمونه‌برداری است. در تفسیر آن چنین می‌توان بیان کرد که دریاچه خزر مساحتی محدود دارد و به اصطلاح یک دریاچه بسته می‌باشد و ارتباطی با آب‌های آزاد جهان ندارد بنابراین احتمال جدا شدن گونه‌های مختلف از آن بسیار ناچیز می‌شود که نتایج این بررسی نشان دهنده یکسان بودن بارکدها در مناطق نمونه‌برداری است. نتایج دیگر محققان در سایر کشورها در زمینه بارکدینگ گونه کپور نشان می‌دهد. در هر مطالعه، تعداد نمونه‌ها با نتایج بدست آمده ارتباط دارد به طوریکه هر چه تعداد نمونه بیشتر باشد، ارتباط بیشتری با نتایج دارد. از نظر(Hebert et al, 2003) [9] حداقل بین۱۰–۵ عدد نمونه از هر گونه می‌توان به نتایج مورد نظر رسید. در این بررسی تعداد نمونه مورد بررسی در هر منطقه نمونه برداری ۱۰ عدد می‌باشد که با توجه نتایج آماری و معنی‌داربودن آن قابل قبول به نظر می‌رسد و تعداد نمونه جمع آوری شده متناسب با تعداد پیشنهادی برای بررسی‌های ژنتیکی(بارکدینگ) بوده است. در این پژوهش، نمودار درختی (NJ) به منظور شناسایی گونه‌ها به جفت در نظر گرفته شده است. بیست نژاد یا جمعیت از کپور معمولی ویتنام را با استفاده از نا حیه Dloop و ترکیبی از توالی‌یابی مستقیم mtDNA و تجزیه و تحلیل sscp مورد بررسی قرار داد، آنان یک قطعه ۷۴۵ جفت بازی از ناحیه Dloopمر بوط به ۱۱۱ عدد ماهی را مورد مطالعه قرار داده که در مجموع ۱۹ هاپلوتیپ شناسایی گردید. جمعیت‌های کپور ویتنام دارای تنوع هاپلوتیپ بالا میانگین ۰/۰۲±۰/۹۲ ولی با تنوع نوکلئوتیدی پایین (میا نگین صفر ± ۰/۱) می‌باشند بر اساس این و مطالعات متعدد دیگر در خصوص ماهی کپور معمولی مناطق مختلف انجام‌شده

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-28]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1402.12.3.7.5]

است که نتایج تقریبا مشابهی به دست آمده است[20]. تحقیقات انجام‌شده نشان می‌دهد که کپور اروپایی منشاء آسیایی داشته و خصوصیات قابل توجه نمونه‌ها کپور اروپایی این است که فاقد تنوع ژنتیکی می‌باشند. در مجموع مقایسه الگوی ژنوتیپی هاپلوتیپی در مناطق مختلف بیانگر آن است که توزیع نمونه‌ها در نواحی مختلف تحت تاثیر عوامل فیزیکی و اکولوژیکی می‌باشد که احتمالا تغییرات تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های گوناگون را تحت تاثیر قرار داده است. که در برخی موارد میان جمعیت‌هایی که از لحاظ خصوصیات ظاهری تولیدمثلی زیستگاه و... مجزا هستند فاصله تکاملی اندک وجود دارد [21]. بارکد تمام نمونه‌های کپور گونه کارپیو از یک نوع می‌باشد زیرا تمام نمونه‌های کپور سه استان در نمودار درختی در یک شاخه قرار گرفتند. تفاوت فاصله ژنتیکی‌شان کمتر از ۰/۰۱ می‌باشد. یک گونه درصورتی به عنوان یک گونه جدید معرفی می‌گردد که تفاوت فاصله ژنتیکی‌شان با یکدیگر به ۲ درصد برسد و در طبیعت برای ایجاد حداقل ۱ درصد تغییرات احتیاج به یک میلیون سال زمان نیاز می‌باشد و برای ۲ درصد به اندازه ۲ میلیون سال زمان لازم می‌باشد. بنابراین همه نمونه‌های سه استان از یک گونه می‌باشند و از یک نوع بارکد برخوردار می‌باشند. تمام نمونه‌ها به غیر از شماره ۱۸ و ۱۹و۲۰ که متعلق به استان گیلان و ناخالص می‌باشند به دلیل اینکه تعداد جفت باز سه نمونه کمتر از جفت باز دیگر نمونه‌ها (کمتراز ۴۰۰باز) می‌باشد. بقیه نمونه‌ها در یک شاخه قرار گرفتند چون میانگین فاصله ژنتیکی‌شان کمتر از ۰/۰۱ درصد می‌باشد. برای ایجاد تغییرات ژنتیکی حداقل چندین میلیون سال زمان لازم می‌باشد. و از طرفی دریای خزر باقیمانده از اقیانوس بزرگ تیتیس می‌باشد. بنابراین همگی از یک خانواده و یک گونه می‌باشند پس درنتیجه از یک نوع بارکد برخوردار می‌باشند.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از تعیین توالی ۳۰ نمونه باله دمی گونه کپور دریایی سواحل جنوبی خزر نشان داد که تمامی نمونه‌ها از یک گونه تشکیل شده‌اند چون فاصله ژنتیکی آنها حداقل به ۲ درصد نمی‌رسد. زمانی یک نمونه به عنوان یک گونه جدید معرفی می‌شود که تفاوت فاصله ژنتیکی‌اش به حداقل ۲ یا بیش از ۲ درصد برسد. بنابراین همه نمونه‌های کپور سه استان از یک گونه می‌باشند و از یک نوع بارکد برخوردار می‌باشند.

منابع

1-Sengbusch v. Sengbusch und Meske Busch, Lühr, Meske und Szablewski. Bei fast ausschließlicher Tro.ckenfutterernährung1966).
2-Larijani M, Norouzi M, Enayat Gholampour T, Sedaghat S, Distribution and frequency of haplotypes resulting from enzymatic digestion of PCR product in common carp of the southern Caspian coast using cytochrome oxidase gene. Quarterly Journal of Reproductive Sciences and Aquaculture.2013.1(2).77-89
3-Hallerman E.M. Population genetics: principles and applications for fisheries scientists. 1st edition. American Fisheries Society Publications. 2003. 475 p.
4-Levin B.A, Freyhof J, Lajbner Z, Perea S, Abdoli A, Gaffaroğlu M, Özuluğ M, Rubenyan H.R, Salnikov V.B, Doadrio, IPhylogenetic relationships of the algae scraping cyprinid genus Capoeta (Teleostei: Cyprinidae). Molecular Phylogenetics and Evolution. 2012. 62: 542-549.
5-Ward D, Zemlak S, Innes H, Last R. and Hebert D, 2005. DNA barcoding Australia's fish species. Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Biological Sciences, 360 (1462)
6-Paabo, S, poinar H, scrrc D, et al. Genetic analyses from ancient DNA, Annu Rev Genet .2004. 38:645-679.
7-Alizade, M. 2019. Sustainable management and exploitation of genetic stock biodiversity in warmwater and freshwater native fish. The first international and fourth national conference on natural resources and environment conservation. (in persian)
8-Costa F.O, Carvalho G.R. The Barcode of Life Initiative: synopsis and prospective societal impacts of DNA Barcoding of fish". Life Sciences Society and Policy. 2007. 3(2): 29
9-Hebert et al. Biological identifications through DNA barcodes. Proc. R. Soc. London B, 2003.270 (1512): 313-321.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-28]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1402.12.3.7.5]

10-Aquilino sv, Tango Jm, fontanilla, Ik, pagulayan Rc, Basia zu , ong ps , Quilang Jp . DNA Barcoding of the ichthyofauna of Taal Lake, philippines. Mol Ecol Resoure .2011.11(4) :612-9. EPUb
11-Fas, macco., ltd,Atsgi-sh,kanagawa. APPlicability of DNA barcode for identification of fish Species .2011. 52(3):205-10 Shokuhin Eiseigaku Zasshi.Futo.
12-AvisJc. Phyloge ography. The History and formation of species. Harvard university press. 2000. USA.447pp
13-Zhou J.f ,wu ca J.je ,J.Z ,Tong ,J.G.Genetic variation analysis within and among six varietics of common carp (cyprinus carpio L)In china using microsatellite,Russ.J.Gent . 2004.1144-1148.
14-Abdoolmaleki SH, Kor D, Bandani GH, Stock assessment of the bony fishes in Iranian coastal waters of the Caspian Sea (2005-2007). Tehran Fisheries Research Institute. 2009.(in persian)
15-Laloii F, Rezvan gil kolaii S, Fatemi M, Taghavi M. Genetic study population of common carp (Cyprinus carpio) using the Southern Caspian Sea (PCR-RFLP mtDNA). Asian Fisheries Science. 2006. (2). P 110-89.
16-Ghelichpoor. M, Shabani.A, Shabanpoor. B. Genetic diversity in the population of common carp (Cyprinus carpio) in Gharehsou and Anzali regions using eight microsatellite markers. Taxonomy and Biosystematics (Journal of university of isfahan), 2010. Winter; 2 (5): 39-48.
17-Laloii F, Rezvan gil kolaii S, Fatemi M, Taghavi M .Investigation of population genetic structure of common carp (Cyprinus carpio) in the south Caspian Sea using mtDNA Method (PCR-RFLP) . Iranian Scientific Fisheries Journal. 2008.17(2). (in Persian)
18- Ferguson A. Molecular genetics in fisheries: current and future perspectives. Reviews in Fish Biology and Fisheries. 1994. 4, 379-383.
19-MaghsoodlouA, Parniyan S, Saeid poor B, Jafarinejad M, Jahanbakhsh M, Khanipoor M. Study Caspian seals .Planning Department of Golestan province. EPA enforcement Golestan Province-Gorgan. 2008. 43p.
20-Zhou J.V.W.u , Q.s,j.ye, y.Z,Tong,J.G. Genetic divergence between cyprinus carpio haemato pterus as ssessed by Mitochodrial DNA analysis, with eMphasis on origin of European domestic carpio. Genetica1. 2003.19,93-97
21-Hajirostamlou. M., (2004). Explore the Artemia species and population structure by molecular genetics in Iran. Biology doctoral dissertation proper task of promoting Islamic Azad Science and Research. 111Pp

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-28]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1402.12.3.7.5]

Journal of Fisheries Science and Technology
Volume12, Issue 3, Summer 2023
Pages: 298_306

Investigation and identification of barcode of common carp *Cyprinus carpio* in the southern coast of the Caspian Sea

Mohamad larijani*, Roya Bakhtiar,Mehrnosh Norozi, Raha Fadaei Rayeni
1) Inland Aquatic Resources Research Center, Gorgan
2) Department of Animal Sciences, Campus of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj
3) Islamic Azad University, Tonekabon Branch
4) Department of Fisheries Engineering, Faculty of Natural Resources, Jiroft University, Kerman

A B S T R A C T

This study was performed to determine the identification (barcoding) using cytochrome oxidase gene of common carp, between three provinces of Golestan, Mazandaran and Gilan (respectively in Gomishan, Tajan and Kiashahr) in 2011. The results of sequencing showed that all samples from the three regions had a genetic distance less than 2%, so all samples were from the same species. The results of sequencing 30 tail samples of carp species on the southern shores of the Caspian Sea showed that all samples are of the same species and their genetic distance does not reach at least 2%. Therefore, all carp samples of the three provinces are of the same species and have the same type of barcode. In the study of nucleotide and haplotypic distance, Gomishan region was 10.75000, 1 and Kiashahr region were 3.200 and 0.9333, respectively. In the study of nucleotide diversity between the two regions, 0.01978 and the average nucleotide difference was 12.187. Haplotypic diversity in Gomishan region was 38.095 and in Kiashahr region was 23.809%. Out of 13 haplotypes, Gomishan region with 8 haplotypes (61.53%) and Kiashahr region with 5 haplotypes (38.46%) had the lowest haplotypes.The results of this study show that there is a significant difference between carp samples in Gomishan and Kiashahr regions in terms of nucleotide and haplotypic diversity (P <0.05).

KEYWORDS: Barcode, Common carp, Nucleotide and haplotype diversity, Caspian Sea

ARTICLE TYPE

Original Research

ARTICLE HISTORY

Received: 22 June 2023
Accepted: 23 July 2023
ePublished: 23 Aug 2023

* Corresponding Author:
Email address: mohamadlarijani@gmail.com
Tel: +(98) 9117547942
© Published by Tarbiat Modares University
ISSN: 2322-5513

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-28]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1402.12.3.7.5]