

## بررسی ملکولی و DNA بارکدینگ ماهی زمین‌کن دم‌نوازی (*Platycephalus indicus* (Linnaeus, 1758) در سواحل خلیج فارس

سجاد پورمظفر<sup>۱</sup>، سعید تمدنی جهرمی<sup>۲\*</sup>، محسن گذری<sup>۲</sup>، حجت‌الله فروغی فرد<sup>۲</sup>، رقیه آمیز<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> استادیار، ایستگاه تحقیقاتی نرمتنان خلیج فارس، پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، ترویج و آموزش کشاورزی، بندر لنگه، ایران

<sup>۲</sup> استادیار، پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، ترویج و آموزش کشاورزی، بندرعباس، ایران  
<sup>۳</sup> دانش‌آموخته کارشناسی ارشد ژنتیک، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه زابل، زابل، ایران

### چکیده

این مطالعه با هدف استفاده از روش بارکدینگ DNA میتوکندریایی برای حل بهتر مشکلات طبقه‌بندی گونه ماهی زمین‌کن دم‌نوازی (*Platycephalus indicus*) و ارتباط ژنتیکی با دیگر نمونه‌های گزارش شده از نقاط مختلف دنیا و نیز برای مدیریت در بهره‌برداری بهینه از گونه‌های بومی و نیز حفظ تنوع زیستی و حفاظت و بهره‌برداری پایدار از این گونه انجام گردید. نمونه‌برداری از آب‌های ساحلی استان هرمزگان به وسیله صید مشتتا انجام گرفت. استخراج DNA با استفاده از کیت و از باله پستی انجام گردید. روابط فیلوژنتیک (*P. indicus*) به وسیله نرم‌افزار مگا و با استفاده از مقایسه با نمونه‌های موجود در بانک ژن نشان داد که نمونه به‌دست آمده از سواحل خلیج فارس در منطقه هرمز در یک کلاید مونوفیلیک و در کلاستر اول در کنار نمونه‌هایی از چین و عربستان سعودی خود را نشان می‌دهد. همچنین در این مطالعه مشخص گردید که نمونه مورد مطالعه و دیگر نمونه‌های گزارش شده از دیگر نقاط دنیا را می‌توان با فاصله ژنتیکی بین ۰/۰۰۲ تا ۰/۰۹۵ به ترتیب با نمونه عربستان سعودی و چین از یکدیگر تمیز داد که این خود مؤید تأثیر مؤثر استفاده از این ژنوم در بارکدینگ و تعیین فاصله ژنتیکی با توجه به تفرق جغرافیایی و همچنین خصوصیات مورفولوژیک می‌باشد. رسم شبکه هاپلوتایپی گونه‌های مورد مطالعه نیز بیانگر تفرق هاپلوتایپی نمونه مورد مطالعه نسبت به هاپلوتایپ‌های دیگر مناطق بود. همچنین با توجه به داده‌های به‌دست آمده می‌توان استنباط کرد که پراکنش این گونه می‌تواند تحت تأثیر مهاجرت احتمالی این گونه نیز قرار گیرد.

### واژه‌های کلیدی:

*Platycephalus indicus*، بارکدینگ، ژن سیتوکرم اکسیداز

### نوع مقاله:

پژوهشی اصلی

### تاریخچه مقاله:

دریافت: ۹۸/۱۱/۱۶

پذیرش: ۹۸/۱۲/۳

### نویسنده مسئول مکاتبه:

سعید تمدنی جهرمی، پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، ترویج و آموزش کشاورزی، بندرعباس، ایران

ایمیل: [stamadoni@gmail.com](mailto:stamadoni@gmail.com)

### ۱ | مقدمه

به بالا هدایت شده است. بدن خود را زیر گل و شن مدفون می‌کند (Froese and Pauly 2007). رنگ پشت بدن پوشیده از بلورهای کوچک قهوه‌ای و گاهی متمایل به خاکستری و در سطح شکمی سفید است. دارای دو باله پشتی که به خوبی از هم جدا شده، باله لگنی در موقعیت پشت سینه‌ای و باله شکمی که دارای لکه‌های کوچک قهوه‌ایی بر روی اشعه‌ها هستند. باله دم‌ای ۲ تا ۳ نوار تاریک افقی با خال‌های زرد برجسته در وسط و از بالا و پایین سفید است. صید این ماهی در آب‌های ساحلی کم‌عمق توسط تورهای ماهیگیری دستی و مشتتا در آب‌های تا عمق ۳۰ متر و در اعماق بیشتر توسط تورهای

ماهی Flathead از جنس *Platycephalus*، خانواده *Platycephalidae*، به‌طور گسترده در مناطق گرمسیری و معتدل اقیانوس هند و اقیانوس آرام دریای مدیترانه، جنوب شرق اقیانوس اطلس پراکنده شده‌اند (Knapp, 1999; Shao and Chen, 1987; Cheng *et al.*, 2019). این ماهیان در آب‌های خیلی کم‌عمق، مصب‌ها، دهانه رودخانه‌ها تا عمق ۱۰۰ متر زیست می‌کند. به‌صورت بومی در سراسر خلیج فارس و دریای عمان پراکنش وسیعی دارند. بعضی از گونه‌ها در مناطق صخره‌ایی مرجانی و سنگی نیز یافت می‌شوند دارای بدنی کشیده، دهان بزرگ و فک پایینی طولانی‌تر از فک فوقانی، چشم‌ها تا حدی رو



## Archive of SID

نمونه‌ها با استفاده از کیت مخصوص مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده استخراج گردید. کیفیت DNA استخراج شده از طریق الکتروفورز افقی با ژل آگارز ۱ درصد مورد ارزیابی قرار گرفت. همچنین کمیت DNA با خوانش میزان جذب نوری نمونه‌ها در طول موج‌های ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر در دستگاه بایوفتومتر (Eppendorf, Germany) تعیین گردید (King *et al.*, 2001). نمونه‌های DNA تا زمان انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمرز در دمای ۲۰°C نگهداری شدند.

واکنش زنجیره‌ای پلیمرز با استفاده از ترکیبی حدود ۱۰۰ نانوگرم از DNA استخراج شده در یک واکنش به میزان ۲۵ ماکرولیتر حاوی ۰.۶ ماکرولیتر از آغازگرهای (پیشرو و معکوس) 5'-TCGACTAATCATAAAGATATCGGCAC-3 Reverse و 3'-CTTCAGGGTGACCGAAGAATCAGAA-3' (Ivanova *et al.*, 2007)، ۲۵ میلی‌مولار MgCl<sub>2</sub>، ۱۰ میلی‌مولار dNTP (Promega USA)، 5X PCR buffer (Promega) و ۵ واحد از Taq DNA polymerase (Promega) استفاده گردید. جهت بهینه کردن عملیات PCR، در مرحله اول با دادن دامنه حرارتی، بهترین دمای اتصال (Annealing Temperature) هر کدام از آغازگرها به رشته الگو به دست آمد و در مرحله بعد جهت اخذ بهترین و شفاف‌ترین باندها و حذف باندهای ناخواسته، اقدام به بهینه کردن محصول PCR از طریق تغییر غلظت‌های DNA، MgCl<sub>2</sub>، ژنومی و dNTP گردید. سیکل حرارتی استفاده شده شامل سیکل اولیه ۹۴ درجه به مدت ۴ دقیقه و ۳۰ ثانیه، به دنبال آن ۴۰ سیکل شامل دماهای واسرشته‌سازی (denaturation) ۹۴ درجه ۳۰ ثانیه، اتصال (annealing) ۵۴ درجه ۴۵ ثانیه، بسط و تکثیر (Extension) ۷۲ درجه به مدت ۱ دقیقه و در آخر دمای تکثیر نهایی ۷۲ درجه به مدت ۵ دقیقه بود. پنج میکرولیتر از محصول PCR تمامی نمونه‌ها به همراه مارکر مولکولی ۱۰۰ جفت باز (Fermentas GmbH, Germany) در ژل آگارز دو درصد الکتروفورز و بقیه آن به همراه ۵۰ میکرولیتر از پرایمر مورد استفاده با غلظت ۱۰ پیکومول به منظور تعیین توالی پس از ارسال به بخش مولکولی شرکت ماکروژن، خالص‌سازی و به عنوان DNA الگو برای توالی‌یابی استفاده شدند. واکنش‌های توالی‌یابی DNA به همراه آغازگر forward با بسته BigDye (BigDye kit-3.1, Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) و توسط دستگاه DNA analyzer مدل XL3730 (Applied Biosystems, USA) انجام شد. پس از توالی‌یابی با استفاده از نرم‌افزار BioEdit و ابزار قدرتمند Blast و رویه Blastern در پایگاه NCBI میزان همولوژی توالی‌های به دست آمده سنجیده شد. پس از دریافت توالی‌ها، بازنگری توالی‌های مشابه با نرم‌افزار Chromas-2.23 انجام شد. به منظور شناسایی اختلاف میان توالی‌ها، نمونه‌های توالی‌یابی شده با نرم‌افزار Clustal W هم‌ردیف شدند (Thompson 1994). درخت تکاملی به روش نزدیک‌ترین همجواری (Neighbor-Joining) براساس مدل Kimura 2-parameter، با استفاده از نرم‌افزار MEGA-4 رسم گردید (Kimura 1980). تنوع هاپلوטיפی با استفاده از نرم‌افزارهای DnaSp (Rozas *et al.*, 2003) و Median-joining haplotype network محاسبه شد.

ترال صورت می‌گیرد (Mohammadi Kia *et al.*, 2012). دارای گوشت بسیار لذیذی ماهی زمین‌کن دارای ارزش اقتصادی بسیار بالایی است طوری‌که در ژاپن سومین صید تجاری آن کشور محسوب می‌شود (Masuda *et al.*, 2000).

در محیط‌های دریایی، فیلوژنوگرافی موجودات ممکن است در اثر برهم‌کنش‌های پیچیده بیرونی شکل بگیرد مانند عوامل محیطی (تغییرات آب و هوایی، دمای آب، جریان‌های اقیانوس، تأثیرات انسانی و ویژگی‌های ذاتی (ظرفیت پراکندگی، مدت زمان لاروی در فاز پلاژیک، و غیره) (Klimova *et al.*, 2014, Bayha *et al.*, 2015).

طبقه‌بندی این جنس دارای سابقه طولانی است. تقریباً ۱۵۰ گونه ارائه شده است، اما فقط ۷۷ مورد به صورت معتبر در نظر گرفته شده‌اند (Puckridge *et al.*, 2013; Imamura, 2015).

استفاده از صفات مورفولوژیکی برای حل کردن مشکلات تاکسونومی در مواردی به درستی نمی‌تواند در طبقه‌بندی سنتی آبریان مؤثر باشد. استفاده از تفرق ژنتیکی در جهت شناسایی گونه‌ها و زیرگونه‌ها با استفاده از ژن سیتوکروم اکسیداز (COI) که اغلب در بین گونه‌ها تفاوت قابل توجهی را نشان می‌دهد، می‌تواند در توزیع سیستماتیک و درک بهتر از اختلافات ژنتیکی موجودات مؤثر باشد. بنابراین در این ارتباط استفاده از قطعه‌ای از ژن سیتو کرم اکسیداز (COI)، جهت بارکد کردن DNA بسیار اثبات شده است (Hebert *et al.*, 2003) و در افتراق گونه‌ها (Domingues *et al.*, 2013)، کشف گونه‌های جدید ثبت شده (Gao *et al.*, 2011)، کشف گونه‌های رمزنگاری شده (Hajibabaei *et al.*, 2007; Zemlak *et al.*, 2009) شناسایی اکتیوپلانکتون (Bian *et al.*, 2008) به اثبات رسیده است.

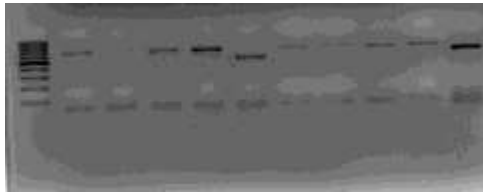
در همین ارتباط اخیراً گونه ماهی زمین‌کن دم‌نواری تحت وارته‌های *Platycephalus Sp.1* در چین و *Platycephalus Sp.2* در ژاپن براساس خصوصیات مورفولوژیکی و بارکد گذاری DNA ثبت شد و اعتبار این گونه‌ها را در سطح ژنتیکی اثبات کرد (Qin *et al.*, 2002, Nakabo *et al.*, 2013). همچنین در مطالعات اخیر توسط cheng و همکاران (Cheng *et al.*, 2019) سه جایگاه ژنی میتوکندریایی برای روشن شدن تاریخ فیلوژنی و فیلوژوگرافی این گونه در اقیانوس آرام غربی توالی‌یابی شدند.

مطالعه حاضر با استفاده از روش بارکدینگ DNA میتوکندری برای حل بهتر مشکلات طبقه‌بندی *Platycephalus indicus* و ارتباط ژنتیکی گونه نمونه‌برداری شده از منطقه ساحلی ایران (هرمزگان) و مقایسه اختلاف ژنتیکی نمونه مورد بررسی با دیگر نمونه‌های گزارش شده از نقاط مختلف دنیا و نیز برای مدیریت در بهره‌برداری بهینه از گونه‌های بومی و نیز حفظ تنوع زیستی و حفاظت و بهره‌برداری پایدار از این گونه انجام گردید.

## ۲ | مواد و روش‌ها

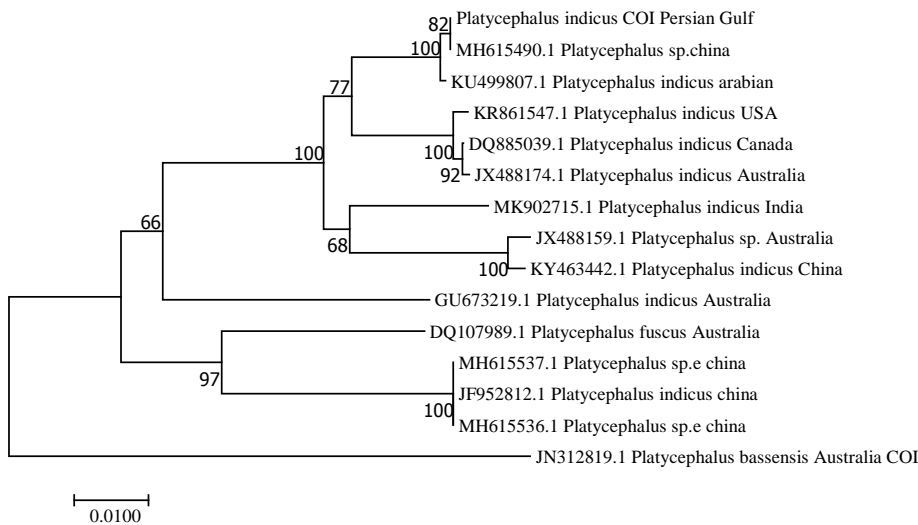
نمونه‌ها از آب‌های ساحلی استان هرمزگان به وسیله صید مشتتا انجام گرفت، باله پشتی جداسازی و در الکل به آزمایشگاه منتقل شد. DNA

COI به طول تقریبی ۶۴۵ جفت باز را فراهم نمودند. الگوی بانندی محصول PCR روی ژل آگارز دو درصد در شکل زیر نمایش داده شده است.



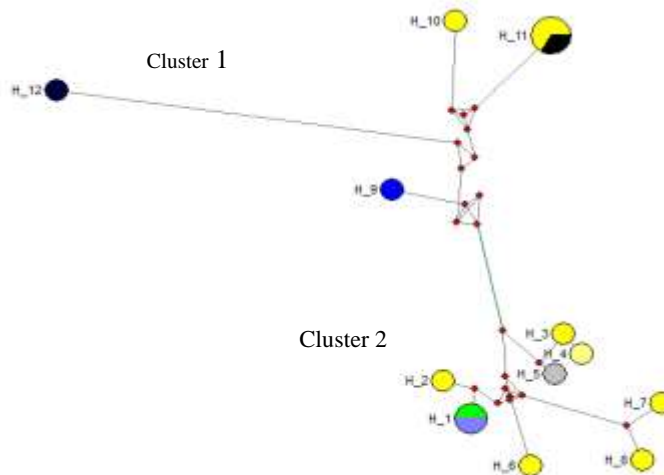
بهبودسازی واکنش PCR جهت تکثیر ژن COI با استفاده از گرادیانت دمایی ۶۰-۴۸ درجه سانتی‌گراد نشان داد که مناسبترین دما برای اتصال آغازگر، دمای ۴۸ درجه سانتی‌گراد است. آغازگرهای امکان تکثیر بخشی از ژن

شکل ۱- الگوی بانندی محصول PCR ژن COI روی ژل آگارز دو درصد



شکل ۲- درخت فیلوژنی ژن COI نمونه برداری شده از ماهی زمین کن دمنواری (*Platycephalus indicus*) در منطقه خلیج فارس در مقایسه با نمونه‌های گزارش شده از مناطق دیگر به روش Neighbor-Joining

روابط فیلوژنتیک گونه ماهی زمین کن دمنواری (*Platycephalus indicus*) با استفاده از مقایسه با نمونه‌های موجود بانک ژن نشان می‌دهد که نمونه به دست آمده از سواحل خلیج فارس در یک کلاید مونوفیلیک و در کلاستر اول در کنار نمونه‌هایی از چین و عربستان سعودی خود قرار گرفته اند.



شکل ۳- ارتباط هاپلوتایپی توالی‌های مورد بررسی براساس Median-joining haplotype network (Bandelt et al., 1999) ژن COI (mtDNA) ماهی زمین کن دمنواری (*Platycephalus indicus*) در منطقه خلیج فارس در مقایسه با نمونه‌های گزارش شده از مناطق دیگر به ترتیب در کلاستر شماره ۱ به ترتیب هاپلوتایپ‌های ۱۰ و ۹ (استرالیا)، ۱۱، ۱۲، ۱۳ (چین). و در کلاستر شماره ۲ هاپلوتایپ‌های ۱ و ۲ (چین، خلیج فارس و عربستان)، ۳، ۴ و ۵ (آمریکا، کانادا و استرالیا)، ۶ (هند)، ۷ و ۸ (استرالیا و چین) مشاهده می‌شوند. هاپلوتایپ شماره ۱۲ به عنوان Out Group در نظر گرفته شده است.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
<i>P. indicus</i> _Persian_Gulf															
KU499807.1_P. indicus_arabian	0.002														
MH615490.1_Platy_sp.china	0.000	0.002													
DQ885039.1_P. indicus_Canada	0.027	0.028	0.028												
JX488174.1_P. indicus_Australia	0.028	0.029	0.029	0.001											
KR861547.1_P. indicus_USA	0.029	0.029	0.029	0.003	0.004										
MK902715.1_P. indicus_India	0.037	0.037	0.037	0.044	0.045	0.042									
JX488159.1_Platy. sp.Australia	0.046	0.045	0.045	0.046	0.045	0.048	0.041								
KY463442.1_P. indicus_China	0.046	0.046	0.046	0.043	0.042	0.044	0.044	0.005							
GU673219.1_P. indicus_Australia	0.075	0.072	0.075	0.076	0.077	0.077	0.077	0.089	0.090						
DQ107989.1_P. indicus Australia	0.087	0.085	0.087	0.085	0.087	0.084	0.092	0.100	0.097	0.077					
MH615537.1_Platy. sp.e_china	0.092	0.090	0.093	0.092	0.094	0.092	0.094	0.095	0.094	0.081	0.058				
JF952812.1_P. indicus_china	0.092	0.090	0.093	0.092	0.094	0.092	0.094	0.095	0.094	0.081	0.058	0.000			
MH615536.1_Platy. Sp. china	0.092	0.090	0.093	0.092	0.094	0.092	0.094	0.095	0.094	0.081	0.058	0.000	0.000		
JN312819.1_P. bassensis_Australia	0.131	0.129	0.132	0.129	0.131	0.131	0.138	0.132	0.131	0.132	0.125	0.131	0.131	0.131	0.131

کمترین فاصله ژنتیکی نمونه را با نمونه گزارش شده از عربستان سعودی با دو هزارم درصد و بیشترین فاصله ژنتیکی بین نمونه جدا شده از خلیج فارس و نمونه‌هایی از کشور چین تقریباً با ۹ درصد ثبت گردید.



شکل ۴- هم‌ردیفی توالی‌های ژن COI گونه ماهی زمین‌کن دم‌نوری (*Platycephalus indicus*) در منطقه خلیج فارس در مقایسه با نمونه‌های گزارش شده از مناطق دیگر



ادامه شکل ۴- هم‌ردیفی توالی‌های ژن COI گونه ماهی زمین‌کن دم‌نوری (*Platycephalus indicus*) در منطقه خلیج فارس در مقایسه با نمونه‌های گزارش شده از مناطق دیگر

ژنتیکی زیاد بین مناطق مورد بررسی افزایش فاصله جغرافیایی است که علت آن کاهش جریان ژنی در اثر وجود موانع فیزیکی و یا طبیعی می باشد (Beacham et al., 2004). اصولاً اختلاف ژنتیکی بین جمعیت‌های یک گونه در نتیجه تجمع افراد در یک منطقه خاص به وجود می‌آید و جمعیت‌های یک گونه به واسطه آمیزش درونی با یکدیگر یک مخزن ژنی منحصر به همان جمعیت را ایجاد می‌کنند (Pinera et al., 2007). که در این مطالعه میتوان به حضور هاپلوتایپ‌هایی از چین و استرالیا در یک کلاید جدا نسبت به نمونه‌های کانادا و آمریکا اشاره کرد. در همین ارتباط رسم شبکه هاپلوتایپی گونه‌های مورد مطالعه نیز بیانگر تفرق هاپلوتایپی نمونه مورد مطالعه نسبت به هاپلوتایپ‌های دیگر مناطق است (شکل ۳). یکی از علل اصلی وجود تفاوت‌های ژنتیکی در جمعیت‌های جانداران دریایی، توانایی گسترش و پراکندگی آنها است. لذا در صورتی که یکی از مراحل زندگی موجودات دریایی حالت پلانکتونی داشته باشد، گسترش آنها ممکن است در فواصل مختلف اتفاق بیفتد. همچنین شرایط هیدرولوژیک مناطق و همچنین توانایی گسترش و پراکندگی آنها بر میزان جریان ژنی تأثیرگذار هستند (Garcia and Reset, 1981). علاوه بر این، در تحقیق حاضر نتیجه ترسیم درخت تکاملی دارای یک نکته قابل توجه بود و آن اینکه در بین نمونه‌های عربستان و ایران که در دو گروه خواهری در یک کلاید قرار گرفته‌اند، نمونه‌ای از منطقه چین در کنار نمونه منطقه خلیج فارس مشاهده گردید. باتوجه به گزارشات متعددی بر حضور گونه‌های مختلف ماهی Flathead از جنس *Platycephalus* به‌طور گسترده در آب‌های ساحلی چین (Chen, 1982; Zhang et al., 1994; Chang et al., 1980) می‌توان استنباط کرد که پراکنش این گونه می‌تواند تحت تأثیر مهاجرت احتمالی این گونه نیز قرار گیرد. در این حال جمع‌آوری نمونه‌های بیشتر از منطقه خلیج فارس و دریای عمان و نیز اقیانوس هند به‌منظور تعیین محدوده جغرافیایی حضور این گونه ضروری است. شناسایی دقیق گونه‌های بومی با توجه به پراکنش ذخایر ژنتیکی این گونه به‌منظور اعمال مدیریت بهینه صید و پایداری طولانی مدت ذخایر این گونه کمک می‌کند و منجر به حفاظت از اکوسیستم منطقه می‌شود (Ward et al., 2005; Xiao et al., 2005). در این حال ارائه هرگونه توصیه‌نهایی در ارتباط با برداشت از این ذخایر، نیاز به تجزیه و تحلیل دقیق مورفولوژیکی دارد. با توجه به ارتباط شدید واگرایی و تفرق ژنتیکی توالی‌های میتوکندریایی در ارتباط با روند گونه‌زایی، بارکدینگ و کدگذاری DNA و تجزیه و تحلیل مورفولوژیکی باید همزمان و با در نظر گرفتن این موارد انجام گیرد. تجزیه و تحلیل توالی COI نشان داد که نمونه جمع‌آوری شده از آب‌های ساحلی خلیج فارس با گونه *P. indicus* هم‌پوشانی داشته و می‌تواند آنها را از سایر گونه‌های *Platycephalus* جدا کند. داده‌های ارائه شده در اینجا به اطلاعات بیشتر و طبقه‌بندی صریح گونه کمک کرده و نیز به محققین در شناسایی پراکنش این گونه کمک می‌نماید. امید است که این مطالعه نه تنها در بهره‌برداری پایدار، حفاظت از تنوع زیستی و مدیریت شیلاتی

ژنوم COI به‌عنوان یکی از مؤثرترین و قابل اعتمادترین روش‌ها برای شناسایی و ثبت ژنوم گونه‌ها شناخته شده است. در این مطالعه روابط فیلوژنتیک گونه ماهی زمین کن دمنواری (*Platycephalus indicus*) با استفاده از مقایسه با نمونه‌های موجود در بانک ژن نشان می‌دهد که نمونه به‌دست آمده از سواحل خلیج فارس در یک کلاید مونوفیلیک و در کلاستر اول در کنار نمونه‌هایی از چین و عربستان سعودی خود را نشان می‌دهد (شکل ۲). در این تحقیق کمترین فاصله ژنتیکی نمونه را با نمونه گزارش شده از عربستان سعودی خود را نشان داد که دور از انتظار نبود. با توجه به انتقال مادرزادی ژنوم‌های میتوکندری (از جمله ژن COI)، در گزارشی توسط وارد و همکاران (Ward et al., 2009) به انجام روابط فیلوژنی با توجه به این نظریه پرداخته و براساس بارکدینگ بیش از هزار گونه از ماهیان با استفاده از ژن COI توسط این محقق اظهار می‌دارد که میزان اختلاف ژنتیکی بیش از دو درصد و یا بالاتر بیشتر مادرزادی بوده و کمتر تحت تأثیر عوامل اکتسابی است. بنابراین اختلاف ژنتیکی کم بین نمونه گزارش شده در این مطالعه نسبت به نمونه گزارش شده از عربستان سعودی توجیه‌پذیر می‌باشد. همچنین در این مطالعه مشخص گردید که نمونه مورد مطالعه و دیگر نمونه‌های گزارش شده از دیگر نقاط دنیا را می‌توان با فاصله ژنتیکی بین ۰/۰۰۲ تا ۰/۰۹۵ به‌ترتیب با نمونه عربستان سعودی و چین از یکدیگر تمیز داد که این خود مؤید تأثیر مؤثر استفاده از این ژنوم در بارکدینگ و تعیین فاصله ژنتیکی باتوجه به تفرق جغرافیایی و همچنین خصوصیات مورفولوژیک می‌باشد. (جدول ۱).

تجزیه و تحلیل فیلوژنتیک جنس *Platycephalus* به‌وسیله بارکد COI توسط پاکریدج و همکاران (Puckridge et al., 2013) سطح بالایی از تنوع ژنتیکی *P. indicus* را نشان داد که نشان‌دهنده هشت لاین جدا شده در سطح وسیعی از اقیانوس آرام غربی و مدیترانه غربی می‌باشد. در مطالعات اخیر چنگ و همکاران (Cheng et al., 2019) به مطالعه جمعیت این گونه در آب‌های شمال غربی اقیانوس آرام پرداختند و در کل ۴۱۱ نمونه از ۲۲ سایت مختلف در اکثر نواحی پراکنش این گونه نمونه‌برداری شدند. برای این منظور سه جایگاه ژنی میتوکندریایی برای روشن شدن تاریخ فیلوژنی و فیلوژوگرافی ماهی‌ها توالی شدند. نتایج نشان داد تمایز معنی‌داری از چهار گونه *Platycephalus* در شمال غربی اقیانوس آرام به نسبت نمونه‌های گزارش شده *Platycephalus* sp.1 و *Platycephalus* sp.2 گزارش شده از چین و ژاپن وجود داشت درحالی که رابطه ژنتیکی آنها با *P. indicus* بیشتر بود.

جدایی جغرافیایی مهم‌ترین عامل شکل‌گیری ساختار ژنتیکی جمعیت‌ها است. بخشی از تنوع به‌وجود آمده بین جمعیت‌ها به‌علت فاصله مکانی بین جمعیت‌ها است. همچنین فاصله جغرافیایی زیاد بین جمعیت‌ها تأثیر مهمی روی ساختار ژنتیکی و جریان ژنی دارد (Wang et al., 2008). از آنجا که بین مناطق مورد بررسی در تحقیق حاضر فاصله جغرافیایی زیادی وجود دارد احتمالاً از دلایل اصلی اختلاف و فاصله

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

Hajibabaei M., Singer G.A.C., Hebert P.D.N., Hickey D.A. 2007. DNA barcoding: how it complements taxonomy, molecular phylogenetics and population genetics. Trends Genet, 23: 167-172.

Ivanova N.V., Zemlak T.S., Hanner R.H., Hebert P.D. 2007. Universal primer cocktails for fish DNA barcoding. Molecular Ecology Notes, 7: 544-548.

Imamura H. 2015: Taxonomic revision of the flathead fish genus *Platycephalus* Bloch, 1785 (Teleostei: Platycephalidae) from Australia, with description of a new species. Zootaxa, 3904 (2): 151-207.

Klimova A., Phillips C.D., Fietz K., Olsen M.T., Harwood J., Amos W., Hoffman J.I. 2014. Global population structure and demographic history of the grey seal. Molecular Ecology, 23:3999-4017.

Knapp L.W. 1999. Platycephalidae. In: FAO species identification guide for fishery purposes. The living marine resources of the Western Central Pacific (eds. K.E. Carpenter and V.H. Niem), Volume 4. Bony Fishes Part 2 (Mugilidae to Carangidae), FAO, Rome, Italy. pp: 2385-2421.

King E.O., Ward M.K., Raney D.E. 1954. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescin. Journal of Laboratory and Clinical Medicine, 44: 301-307.

Masuda Y., Ozawa T., Onoue O., Hamada T. 2000. Age and growth of the fathead, *Platycephalus indicus*, from the coastal waters of west Kyushu, Japan. Fisheries Research, 46: 113-121.

Nakabo T. 2002. Fishes of Japan with Pictorial Keys to the Species, English edition: Tokai University Press, Tokyo, Japan. 1749p.

Pinera J.A., Blanco G., Vázquez E., Sánchez J.A. 2007. Genetic diversity of black spot seabream (*Pagellus bogaraveo*) populations Spanish Coasts: a preliminary study. Marine Biology, 151:2153-2158.

Puckridge M., Andreakis N., Appleyard S.A., Ward R.D. 2013. Cryptic diversity in flathead fishes (Scorpaeniformes: Platycephalidae) across the Indo-West Pacific uncovered by DNA barcoding. Molecular Ecology Resources, 13:32-42.

Rozas J., Sanchez-DelBarrio J.C., Messeguer X., Rozas R. 2003. "DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods." Bioinformatics, 19(18):2496-2497

Qin Y., Song N., Zou J.W., Zhang Z.H., Cheng G.P., Gao T.X., Zhang X.M. 2013. A new record of a flathead fish (Teleostei: Platycephalidae) from China based on morphological characters and DNA barcoding. Chinese Journal of Oceanology and Limnology, 31(3):617-24.

Shao K.T., Chen J.P. 1987. Fishes of the family Platycephalidae (Teleostei: Platycephaloidei) of Taiwan with descriptions of two new species. Bulletin of the Institute of Zoology, Academia Sinica, 26: 77-94.

Thompson J.D. Higgins, D.G., Gibson T.J. 1994. Clustal W improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, positions

این گونه کمک کند، بلکه در آینده به شناسایی گونه‌های متعدد از این جنس نیز یاری رساند.

### پست الکترونیک نویسندگان

sajjad5550@gmail.com سجاد پورمظفر:  
 stamadoni@gmail.com سعید تمدنی جهرمی:  
 gozari2020@gmail.com محسن گذری:  
 fouroughifard@yahoo.com حجت‌الله فروغی فرد:  
 amiz.roghayeh@gmail.com رقیه آمیز:

### REFERENCES

- Mohammadi Kia D., Kamrani A., Taherizadeh M.R., Saghar N. 2012. A comparative study of some biological characteristics of tapeworm in the coastal waters of Bandar Abbas. Journal of Aquatic Ecology, 2 (3): 56-41.
- Bindle H., Forster P., Röhl A. 1999. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. Molecular Biology and Evolution, 16: 37-48.
- Beacham T.D., Lapointe M., Candy J.R., McIntosh B., MacConnachie C., Tabata A., Kaukinen K., Deng L., Miller K.M., Withler R.E. 2004. Stock identification of Fraser River sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) using microsatellites and major histocompatibility complex variation. Transactions of the American Fisheries Society, 133:1106-1126.
- Bian X.D., Zhang X.M., Gao T.X., Xiao Y.S. 2008. Morphological and genetic identification of Japanese halfbeak (*Hyporhamphus sajori*) eggs. Journal of Fishery Sciences of China, 32: 342-352.
- Chang H., Sha X., He G., Song L. 1980. Adscription of the morphological characters of the eggs and larvae of the flathead fish *Platycephalus indicus*. Journal of Oceanology and Limnology, 11: 161-171.
- Chen W. 1982. A report on the peculiarities of sexual maturation of flathead fish *Platycephalus indicus* Linnaeus. Trans. Journal of Oceanology and Limnology, 1: 36-40.
- Cheng J., Wang Z., Song N. 2019. Phylogeographic analysis of the genus *Platycephalus* along the coastline of the northwestern Pacific inferred by mitochondrial DNA. BMC Evolutionary Biology, 19(159): 2-16.
- Domingues R.R., Amorim A.F., Hilsdorf A.W.S. 2013. Genetic identification of *Carcharhinus* sharks from the southwest Atlantic Ocean (Chondrichthyes: Carcharhiniformes). Journal of applied Ichthyology, 29: 738-742.
- Froese R., Pauly D. 2007. Platycephalidae. Available in [www.FishBase.org](http://www.FishBase.org).
- Gao T.X., Ji D.P., Xiao Y.S., Xue T.Q., Yanagimoto T., Setoguma T. 2011. Description and DNA barcoding of a new Sillago species, *Sillago sinica* (Perciformes: Sillaginidae), from coastal waters of China. Zoological Studies, 50: 254-263.
- Garcia S., Reset L.L. 1981. Life cycles, dynamics, exploitation and management of coastal penaeid shrimp stock. FAO Fishery Technical Report, 203, 0215. Rome, Italy. 215p.

- specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research*, 22: 4673-4680.
- Ward R.D., Hanner R., Hebert P.D.N. 2009. The campaign to DNA barcode all fishes, FISH-BOL. *The Journal of Fish Biology*, 74: 329-356.
- Ward R.D., Zemlak T.S., Innes B.H., Last P.R., Herbert P.D.N. 2005. DNA barcoding Australia's fish species. *Philosophical Transactions of the Royal Society, London Series B: Biological Sciences*, 360(1462): 1847-1857.
- Wang H., Kesinger J.W., Zhou Q., Matrin G., Turner S., 2008. Identification and characterization of zebra fish ocular formation genes. *Genome*, 51(3):222-235.
- Xiao J.G., Song N., GAO T.X., McKay R.J. 2016. Redescription and DNA barcoding of *Sillago indica* (Perciformes: Sillaginidae) from the coast of Pakistan. *Pakistan Journal of Zoology*, 48: 317-323.
- Zemlak T.S., Ward R.D., Connell A.D., Holmes B.H., Hebert P.D.N. 2009. DNA barcoding reveals overlooked marine fishes. *Molecular Ecology Resources*, 9(Suppl-1): 237-242.
- Zhang C., Cheng Q., Zheng B., Li S., Zheng W., Wang W. 1994. *The fishes of the Yellow and Bohai Sea*. The Sueichan Press, Keelung, Taiwan. pp: 255-256.

#### نحوه استناد به این مقاله:

پورمظفر س، تمدنی جهرمی س، گذری م، فروغی فرد ح.ا، آمیز ر. بررسی ملکولی و DNA بارکدینگ ماهی زمین کن دمنواری *Platycephalus indicus* (Linnaeus, 1758) در سواحل خلیج فارس. نشریه پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی دانشگاه گنبدکاووس. ۱۳۹۹، ۲۶-۱۹: ۸(۳).

pourmozaffar S., Tamadoni Jahromi S., Gozari M., Foroughifard H.A., Amiz R. Molecular investigation and DNA Barcoding of Bartail flathead *Platycephalus indicus* (Linnaeus, 1758) collected from the Persian Gulf. *Journal of Applied Ichthyological Research, University of Gonbad Kavous*. 2020, 8(3): 19-26.



# Molecular investigation and DNA Barcoding of Bartail flathead *Platycephalus indicus* (Linnaeus, 1758) collected from the Persian Gulf

Pourmozaffar S<sup>1</sup>., Tamadoni Jahromi S<sup>\*2</sup>., Gozari M<sup>2</sup>., Foroughifard H.A.<sup>2</sup>, Amiz R<sup>3</sup>.

<sup>1</sup> Persian Gulf Mollusks Research Station, Persian Gulf and Oman Sea Ecology Research Center, Iranian Fisheries Sciences Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Bandar-e-Lengeh, Iran

<sup>2</sup> Persian Gulf and Oman Sea Ecology Research Center, Iranian Fisheries Sciences Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Bandar Abbas, Iran

<sup>3</sup> Faculty of Sciences, Dept. of Biology, Zabol University, Zabol, Iran

## Type:

Original Research Paper

## Paper History:

Received: 05-02-2020

Accepted: 22-02- 2020

## Corresponding author:

Tamadoni Jahromi S. Persian Gulf and Oman Sea Ecology Research Center, Iranian Fisheries Sciences Research Institute, Bandar Abbas, Iran.

Email: stamadoni@gmail.com

## Abstract

The present study aimed to solve the taxonomic problems of Bartail flathead (*Platycephalus indicus*) using mitochondrial DNA barcoding method. In addition, the genetic relationship of *P. indicus* with other reported Bartail flathead (*P. indicus*) from different parts of the world was investigated for better management and sustainable conservation. Sampling was performed from the coastal waters of the Hormozgan Province. DNA was extracted from dorsal fin using DNeasy Tissue Kit. For phylogenetic analyses of Bartail flathead (*P. indicus*) the data were compared with those found in the NCBI Gene bank. The results showed that the collected samples from the Persian Gulf had a monophyletic clade along with collected samples from China and Saudi Arabia. It was found that the Bartail flathead (*P. indicus*) collected from the Persian Gulf and other reported Bartail flathead (*P. indicus*) from other regions can be separated with the genetic distance of 0.002 to 0.095, which confirms the effective use of the COI genome in barcoding and genetic distance determination according to geographical dispersion as well as morphological characteristics. The haplotype network plot of the studied species also showed the haplotype distribution of the studied species compared to other haplotypes. Based on the obtained results, it can be assumed that the distribution of this species can be affected by the migration patterns of this species.

**Keywords:** *Platycephalus indicus*, Barcoding, Cytochrome Oxidase I gene