



شناسایی گونه ای برخی از ماهیان خلیج فارس بر اساس سیتوکروم اکسیداز یک (COI)

آذر هاشمی^۱، محمد سعید حیدر نژاد^{۲*}، ایرج هاشم زاده صفزلو^۳ و سید نرجس طباطبائی^۴

- ۱- کارشناسی ارشد بیوسیستماتیک جانوری، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران. azar123hashemi@gmail.com
- ۲- نویسنده مسئول: دانشیار بیوسیستماتیک جانوری (آبزیان)، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران. heidarnejad@sku.ac.ir
- ۳- دانشیار شیلات، دانشکده منابع طبیعی و علوم زمین، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران. ihashem@nres.sku.ac.ir
- ۴- دکترای شیلات، دانشکده منابع طبیعی و علوم زمین، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران. Sntabatabaeii@gmail.com

چکیده

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:

مقاله کامل علمی-پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۳/۱۰

تاریخ اصلاح: ۱۴۰۵/۲/۲۷

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۳/۲۵

واژگان کلیدی:

ماهیان آب شور، ژن میتوکندری (COI)، خلیج فارس

پیشینه و هدف: خلیج فارس یک دریای ساحلی نیمه محصور در حوضه دریاهای مجاور و شمال اقیانوس هند است. این مطالعه با هدف شناسایی گونه های ماهیان خاص از خانواده های Lutjanidae (سرخوماهیان) و Serranidae (هامورماهیان) در آب های ساحلی با استفاده از سیتوکروم اکسیداز یک (COI) انجام شد.

مواد و روش ها: ابتدا DNA نمونه های استفاده شده (۹۲ ماهی) در این مطالعه استخراج شدند. پس از تطبیق و همردیف سازی توالی ها با توالی های موجود در بانک ژن، درخت شجره شناسی الحاق همسایگی (NJ) با ۵۰۰ تکرار بوت استرپ ترسیم شدند.

نتایج و بحث: در بین ماهیان تهیه شده سه گونه از سرخوماهیان و هفت گونه از خانواده هامور ماهیان شناسایی گردیدند. در درخت شجره-شناسی الحاق همسایگی (NJ) ترسیم شده با استفاده از توالی های ژن سیتوکروم اکسیداز زیرواحد یک نمونه های توالی یابی شده در بین هامورماهیان در خوشه های شجره شناسی با ضریب حمایت بالا ($BS = 100$) قرار گرفتند. در بین هامورماهیان گونه *E. areolatus* در خوشه ای با ضریب حمایت ۱۰۰ در صد با گونه های *E. areolatus* و *E. coioides* قرار گرفت. این تحقیق نشان می دهد که COI امیدوارکننده ترین رویکرد برای شناسایی گونه های ماهی است.

Species Identification of Some Fish in the Persian Gulf Based on Cytochrome Oxidase one (COI)

A. Hashemi¹, M. S. Heydarnejadi^{2*}, I. Hashemzadeh Segherloo³, N. Tabatabaei⁴

1. Corresponding Author, Dept. of Zoology, Faculty of Basic Sciences, Shahrekord University, Iran. E-mail: heidarnejad@sku.ac.ir

Article type:

Full Length Research Paper

Article history:

Received: 31/5/2025

Revised: 17/5/2026

Accepted: 15/06/2026

Keywords

Marine fish; Mitochondrial gene (COI); Persian Gulf

Abstract

Background and Objectives: The Persian Gulf is a semi-enclosed coastal sea in the basin of the adjacent seas and the northern Indian Ocean. This study aimed to identify specific fish species from the families Lutjanidae (red snappers) and Serranidae (groupers) in the Persian Gulf (especially in the waters of Bushehr province) using cytochrome oxidase one (COI).

Materials and Methods: First, DNA samples (92 fish) used in this study were extracted. After matching and aligning the sequences with sequences available in the GenBank, Neighbor-Joining (NJ) phylogenetic trees were drawn with 500 bootstrap replicates.

Results and Discussion: Among the prepared fish, three species of redfish and seven species of grouper were identified. In the Neighbor-Joining (NJ) phylogenetic tree drawn using cytochrome oxidase subunit 1 gene sequences, the sequenced samples were placed in phylogenetic clusters among groupers with high support coefficient (BS = 100). Among groupers, *E. areolatus* was clustered with *E. areolatus* and *E. coioides* at 100% support. This study suggests that COI is the most promising approach for fish species identification.

۱- مقدمه

بسیار سریع تر بوده و در نتیجه توانایی بیشتری جدا سازی گونه-های نزدیک بهم دارد [۸]. در واقع ژنوم DNA میتوکندریایی که به عنوان زیر واحد I سیتوکروم اکسیداز (COI) شناخته می شود، به عنوان یک سیستم شناسایی زیستی جهانی برای اکثریت قریب به اتفاق گونه های جانوری انتخاب شده است. به همین دلیل در این مطالعه، داده های مولکولی، به ویژه COI، برای بررسی روابط خویشاوندی جمعیت ها و گونه های مختلف ماهی های دریایی مانند ماهی هامور و سرخ ماهی مورد استفاده قرار گرفت.

۲- مواد و روش

۲-۱- جمع آوری نمونه ها

طی سال های ۱۳۹۹-۱۴۰۲ تعداد ۹۲ ماهی از آب های سطحی استان بوشهر به کمک ماهی گیران محلی جمع آوری شد. نمونه ها در یخ قرار داده شد و به آزمایشگاه انتقال یافتند. بعد از کدگذاری و جدا کردن باله سینه ای، در فرمالین ۱۰ درصد تثبیت شدند. نمونه های باله سینه ای پس از قطع شدن در الکل اتانل ۹۵ درصد با کد مشابه نمونه ماهی نگه داری شده و پس از ۲۴ ساعت الکل آن ها تعویض گردید.

۲-۲- استخراج DNA

استخراج DNA با استفاده از کیت Qiagen Blood & Tissue و با استفاده از یک ربات (Eppendorf EpMotion® pipetting-robot) در موزه تاریخ طبیعی برلین انجام شد. پس از استخراج DNA، کیفیت DNA با الکتروفورز روی ژل آگارز ۱٪ بررسی شد [9-10] (شکل ۱).

۲-۳- تکثیر ژن COI

پس از بررسی کیفیت DNA استخراج شده، تکثیر زیر واحد شماره ۱ ژن سیتوکروم اکسیداز (COI) با استفاده از پرایمرهای عمومی انجام شد (جدول ۱) [11-14].

برای تکثیر ژن یاد شده از واکنش زنجیره پلیمرز با ترکیب H_2O ۱۸ میکرولیتر، محلول ۱۰ میکرومولار هر پرایمر ۰/۲ میکرولیتر، منیزیم ۱ میکرولیتر، dNTPs یا نوکلئوتیدهای آزاد ۰/۵ میکرولیتر، بافر ۲/۵ میکرولیتر و آنزیم پلیمرز ۰/۲ میکرولیتر به همراه ۲ میکرولیتر از DNA که ده برابر رقیق شده بود استفاده شد (حجم واکنش: ۲۵ میکرولیتر). برای تکثیر از چرخه دمایی ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۴ دقیقه به تعداد یک چرخه و سی چرخه ۹۴

بسیاری از گونه های گیاهی و جانوری خلیج فارس با خطر انقراض یا تهدید جدی اکولوژیکی مواجه هستند، زیرا این منطقه به عنوان زیستگاه مناسبی برای آن ها محسوب می شود. خلیج فارس به دلیل موقعیت جغرافیایی و عمق کم خود، برخی از سخت ترین شرایط محیطی را در سطح جهانی تجربه می کند [۱]. در چند سال گذشته آلاینده های مختلف آسیب قابل توجهی به محیط زیست طبیعی این خلیج وارد کرده اند. خلیج فارس از غنای زیستی بالا و تنوع گونه ای کم به ویژه در سواحل بوشهر برخوردار است که نشان می دهد هم نواحی ساحلی و هم دریای این منطقه با تنش قابل توجهی مواجه هستند [۲]. تکنیک های ژنتیکی، ریخت شناسی و سوابق فسیلی را می توان برای مطالعه تغییرات در تنوع گونه ها مورد استفاده قرار داد. با این حال، یکی از روش های مولکولی متداول برای تشخیص گونه های جانوری، به ویژه ماهی، در دهه های اخیر، تعیین توالی ژن های میتوکندری مانند سیتوکروم b و ژن COI است [۳].

ترتیب ژن COI اکنون در فرآیندی به نام بارکد DNA، که در آن محققین در سطح جهانی از آغازگرهای مشترک برای به دست آوردن بخشی از ژن با اندازه گیری تقریباً ۶۴۸ نوکلئوتید استفاده می کنند، به دست می آید. سپس این توالی در پایگاه های اطلاعاتی ژنتیکی مانند NCBI، پایگاه داده BOLD و سایر پایگاه های داده قابل مقایسه برای دسترسی بارگزاری می شود [۴]. این رویکرد در بیش از ۹۰ درصد گونه های جانوری برای شناسایی و جداسازی گونه ها موفق بوده است. در واقع در روش های مولکولی تنها با استفاده از یک بخش کوچک باله یا هر بافت دیگری می توان گونه ها را با اطمینان بالایی شناسایی کرد و هم چنین در صورت استفاده از نشانگرهای مناسب می توان جمعیت ها را شناسایی کرد [۵]. استفاده از روش های مولکولی همیشه به راحتی امکان پذیر نبوده است و نیاز به تجهیزات و هزینه های نسبتاً بالا را می توان موانعی در راه استفاده از این رویکرد دانست [۶].

امروزه شناسایی و توصیف ماهیان صرفاً براساس روش های ریخت شناسی صورت نمی گیرد بلکه از روش های مبتنی بر داده های مولکولی نیز انجام می شود. این سبب شده گاهی در برخی موارد جایگاه آرایه شناسی گونه ها دچار تغییر شود [۷]. توالی ژن COI میتوکندریایی به طور گسترده ای در مطالعات تبارشناسی مورد استفاده قرار می گیرد، زیرا تغییرات آن نسبت به ژنوم هسته ای

نام‌های ارائه‌شده برای توالی‌های مشابه در بانک ژن مطابقت داشت. با توجه به جستجوی BLAST که در بانک ژن انجام شد، اکثر این گونه‌ها یا اطلاعاتی که در بانک ژن بود، تشابه توالی بالایی داشتند، یعنی شباهت توالی بین ۹۸-۹۹ درصد و گاهی تا ۱۰۰ درصد با توالی‌های موجود در بانک ژن بود.

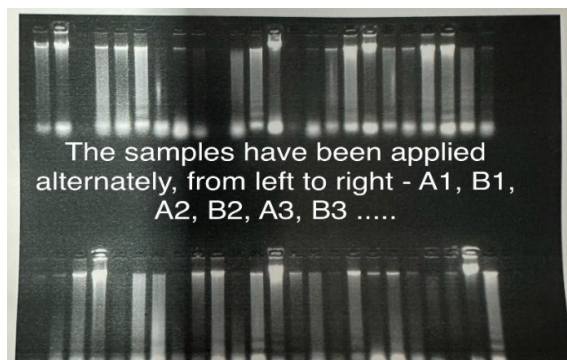


Figure 1- Electrophoresis of extracted DNA on a 1% agarose gel.

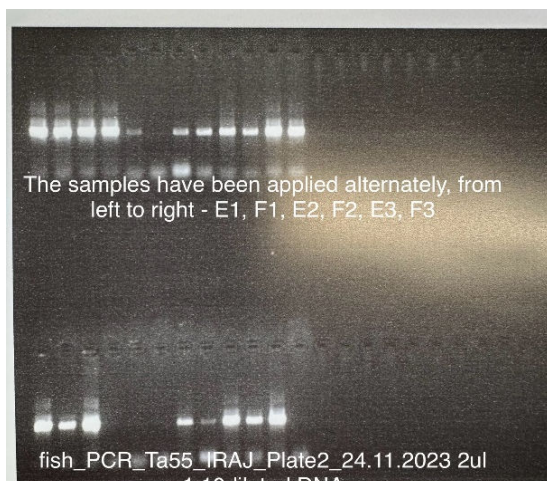


Figure 2- Electrophoresis of PCR product on 1.5% agarose gel

جدول ۱- پرایمرهای مورد استفاده برای تکثیر ژن سیتوکروم اکسیداز ۱ (۱۵-۱۸)

Table 1- Primers used for the amplification of female cytochrome oxidase 1 (15-18)

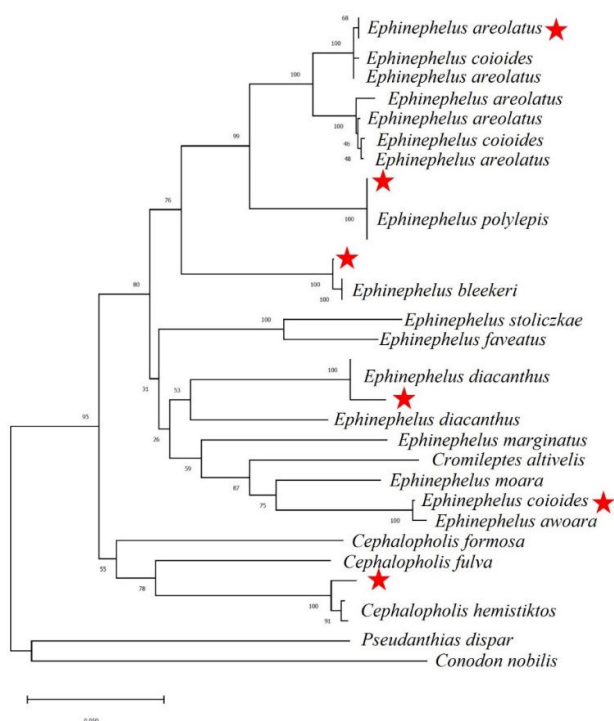
درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، ۵۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه، ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶۰ ثانیه و یک چرخه بسط نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۸ دقیقه استفاده شد. پس از تکثیر ژن سیتوکروم اکسیداز زیرواحد یک، محصول PCR با الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد بررسی شد (شکل ۲).

۲-۴- پردازش و تجزیه و تحلیل توالی‌ها

توالی‌های تولید شده بر اساس کیفیت کروماتوگرام اصلاح شده و با استفاده از نرم افزار seqtrace 0.9.0 با توالی‌های منتشر شده مقایسه شدند. برای اعتبارسنجی گونه‌های شناسایی شده از طریق مورفولوژی، توالی‌های مشابه یافت شده از طریق جستجوی BLAST در بانک ژن برای تأیید یا تصحیح طبقه‌بندی ماهی‌های مورد مطالعه بر اساس داده‌های بانک ژن مورد استفاده قرار گرفت. حداکثر آستانه برای تعریف گونه در ۲ درصد تفاوت توالی بارکد بین نمونه‌ها و داده‌های بانک ژن تعیین شد. اگر مقدار تشابه توالی‌ها با توالی‌های بانک ژن کمتر از ۹۸ درصد باشد، گونه شناسایی شده در بانک ژن در صورتی که توالی مورد بررسی بیش از ۹۸ درصد مشابه آن باشد، یکسان در نظر گرفته می‌شود. ژن به عنوان گونه ماهی تحت بررسی انتخاب شد و طبقه‌بندی بر اساس مورفولوژی یا تایید شد و یا در نتیجه تنظیم شد. پس از انجام جستجوی BLAST در بانک ژن برای بررسی ارتباطات تبارشناسی توالی‌های تهیه شده در این مطالعه، درخت شجره‌نامه با استفاده از روش همسایگی (NJ) در نرم افزار MEGA V 11.0.13 ساخته شد. ۵۰۰ تکرار بوت استرپ برای یک توالی مشترک ۵۵۲ نوکلئوتیدی پس از تطبیق و تراز کردن توالی‌ها با توالی‌های موجود در بانک ژن تولید شد. گونه‌های *Conodon nobilis* و *Pseudacanthias dispar* به عنوان گروه‌های برون‌گروهی برای ساخت درخت تبارشناسی مورد استفاده قرار گرفتند.

۳- نتایج

با توجه به اطلس ماهیان خلیج فارس و دریای عمان، در میان نمونه‌های جمع‌آوری سه گونه از خانواده (Lutjanidae) یا سرخوماهیان و هفت گونه از خانواده (Epinephelidae) یا هامور ماهیان شناسایی شدند. بر اساس بررسی و مقایسه توالی‌های ژنی زیرواحد یک سیتوکروم اکسیداز (COI)، شناسایی گونه‌ها با



شکل ۴- شجره نامه گونه‌های ماهی هامور. با استفاده از توالی‌هایی از ژن زیر واحد سیتوکروم اکسیداز یک و انجام ۵۰۰ تکرار بوت استرپ برای تعیین ضریب پشتیبانی برای هر خوشه. نمونه‌های تهیه شده در این مطالعه با ستاره‌های قرمز مشخص می‌شوند. اگر نام علمی شناسایی شده در این تحقیق دقیقاً با نام‌های موجود در بانک ژن مطابقت داشته باشد، نمونه‌ها با علامت ستاره مشخص می‌شوند. اما در صورت یافتن نام‌های مختلف در نمونه‌های بانک ژن، نام علمی شناسایی شده در این مطالعه نیز بر اساس مورفولوژی در کنار ستاره ارائه می‌شود.

Figure 4- Pedigree of grouper species. Using sequences from the cytochrome oxidase subunit 1 gene and performing 500 bootstrap replicates to determine the support coefficient for each cluster. The specimens prepared in this study are marked with red stars. If the scientific name identified in this study exactly matches the names in the gene bank, the specimens are marked with an asterisk. However, if different names are found in the gene bank specimens, the scientific name identified in this study based on morphology is also presented next to the star.

در درخت شجره نامه‌ای که برای نمونه‌های مورفولوژیکی در این مطالعه و توالی‌هایی از بانک ژن ایجاد شد، نمونه‌ها در سه گروه تبارشناسی *Lutjanus*، *Lutjanus rivulatus* و *L.*

منبع	ترادف	پراچمر
Ivanova et al., (19)	5'TGTAAAACGACGGCCAGTTCGACTAATCATAAAGATATCGGCAC3' 5'CAAGGAAA-CAGCTATGACACTTCAGGGTGACCCGAAAGATCAGAA3' 5'TGTAAAACGACGGCCAGTTCAC-CAACCACAAAGACATTTGGCAC3' 5'CAAGGAAACAGCTATGACACCTCAGGGTGTCC-GAARAAYCARAA3'	FishF2.tl FishR2.tl VF2.tl FR1d.tl

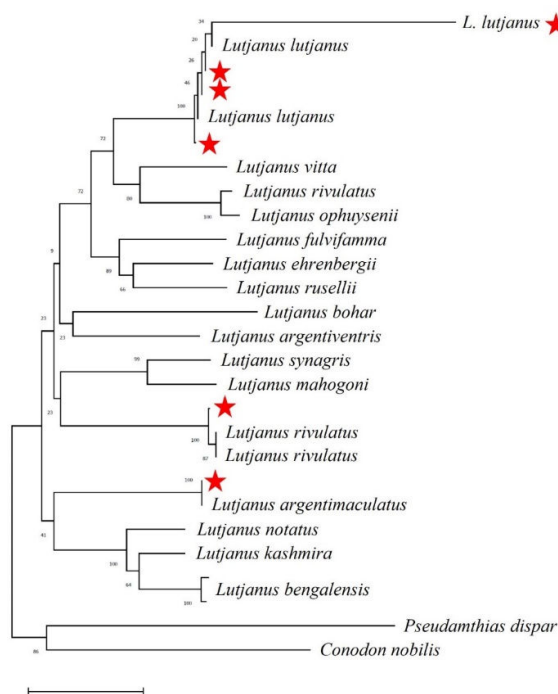
در درخت NJ با زیر واحد A سیتوکروم اکسیداز، توالی‌های ژنی از اختاپوس‌ها، خوشه‌های شجره نامه‌ای با پشتیبانی بالا (BS = 100) شامل *Epinephelus polylepis*، *Epinephelus areolatus* و *E. bleekeri*، *Cephalopholis hemistiktos* ذکر این نکته ضروری است که در پایگاه داده ژنتیکی، مواردی وجود داشت که داده‌ها شامل توالی‌هایی با نام‌های علمی متفاوت بود.

در زمان‌های اخیر به ابزاری رایج برای شناسایی گونه‌ها تبدیل شده است [۲۱-۲۳].

در مطالعه حاضر، توالی‌های بارکد COI را برای ۱۰ گونه ماهی از دو خانواده در آب‌های ساحلی بوشهر را تکثیر گردیدند و برخی از گونه‌های مورد مطالعه به همراه سایر گونه‌های شناسایی شده به صورت خوشه‌ای دسته‌بندی شدند. در هامور، گونه‌های *E. areolatus* با گونه‌های *E. coioides* و *E. areolatus* با حمایت ۱۰۰ درصد گروه‌بندی شدند، بنابراین، بارکدهای COI تمام ماهی‌های مورد مطالعه به طور دقیق شناسایی شدند. اگرچه سرخوماهیان الگوی خوشه‌بندی مشابهی با سایر گروه‌های مورد مطالعه نشان داد که این ممکن است به دلیل این باشد که نشان‌گرهای ژنتیکی انتخاب شده ممکن است به طور دقیق منعکس‌کننده روابط یا ویژگی‌های مورفولوژیکی خانواده نباشند، حتی اگر تجزیه و تحلیل کلی یک ساختار تکاملی کلی را نشان دهد [۲۰، ۲۴]. دلیل دیگر شناسایی و نام‌گذاری نادرست گونه‌ها به همراه مستندسازی آن‌ها در پایگاه ژنتیکی است که می‌تواند منجر به خطا در نامگذاری ارائه شده برای توالی‌های ژنتیکی در بانک ژن شود [۱۳]. در واقع داده‌های بارکدگذاری DNA ممکن است در مورد تنوع زیستی بسیار گمراه‌کننده باشند [۲۰، ۲۵، ۲۶] به‌طوری‌که برای مثال آلیسون و همکاران [۲۷] گزارش دادند که بارکدگذاری DNA در حال حاضر برای شناسایی بسیاری از گونه‌های خرچنگ دریایی غیرقابل اعتماد است.

هنگامی که یک توالی منتشر می‌شود، شناسایی به ندرت مورد تردید قرار می‌گیرد، مگر این‌که توالی دیگری از همان ژن و گونه مشخص شود که تفاوت اساسی دارد، یا توالی‌هایی از گونه‌های نامرتب بسیار مشابه باشند، به عنوان مثال، بالدوین و همکاران [۲۸]. از سوی دیگر، پدیده‌های زیستی مانند آمیختگی نیز می‌توانند در ایجاد این الگو نقش داشته باشند [۱۷-۱۸]. هاشم‌زاده و همکاران [۲۹] با مطالعه جمعیت‌ها و گونه‌های ماهیان *Rutilus* و *Abramis* در دریای خزر با استفاده از داده‌های SNP (ژنوم هسته‌ای) و توالی‌های ژن سیتوکروم اکسیداز (ژنوم میتوکندری) موارد هیبریداسیون و وجود ژنوم میتوکندری ماهی سیمی (*Abramis*) با ماهی *Rutilus* کاملاً مشابه با ماهی *Rutilus* را گزارش کردند. علاوه بر این، جفت‌گیری بین ماهی‌هایی با کروموزوم‌های بسیار سازگار، به‌ویژه در میان ماهی‌هایی که در محیط‌های آبی یافت می‌شوند، مکرر است. به

argentimaculatus دسته‌بندی شدند که هر کدام دارای ۱۰۰ درصد فاکتور حمایتی بودند (شکل ۴ و ۵). ذکر این نکته ضروری است که انواع مختلفی از گونه‌ها با هم در یک گروه در اطلاعات بانک ژن یافت می‌شوند.



شکل ۵ - درخت شجره نام‌های پیوند همولوگ با استفاده از توالی‌های ژنی زیر واحد سیتوکروم اکسیداز یک برای گونه‌های ماهی قرمز یا ۵۰۰ تکرار بوت استرپ برای محاسبه ضریب پشتیبانی هر خوشه ترسیم شده است. ستاره‌های قرمز نشان دهنده نمونه‌های تهیه شده در این مطالعه است.

Figure 5 - Homologous linkage phylogenetic tree drawn using cytochrome oxidase subunit 1 gene sequences for goldfish species or 500 bootstrap replicates to calculate the support coefficient for each cluster. Red stars indicate samples prepared in this study.

۴-بحث و نتیجه‌گیری

استفاده از توالی ژن COI به عنوان یک روش شناسایی معتبر در گونه‌های ماهی کاربرد گسترده‌ای دارد [۲۰]. اگر چه روش‌های متعددی برای شناسایی ماهیان وجود دارد اما یکی از مزایای اصلی استفاده از روش‌های تحلیلی مبتنی بر توالی ژنتیکی برای شناسایی ماهی این است که این رویکرد قابل دسترسی و امکان پذیر است. به همین دلیل ویژگی‌های متمایز توالی ژن سیتوکروم c اکسیداسیون (COI) که در میتوکندری هر گونه یافت می‌شود،



در نتیجه گیری کلی باید گفت، ژن COI برای بارکدگذاری DNA در خانواده سرخو ماهیان و هامور ماهیان از آب های ساحلی بوشهر فارس مناسب است به طوری که مترادف ژن های شناسایی شده برای مطالعات آینده در مورد فیلوژنی، مدیریت و حفاظت از منابع بسیار ارزشمند خواهد بود. در نتیجه، بارکدگذاری DNA و تجزیه و تحلیل فیلوژنتیک، تکنیک های اصلی برای شناسایی نمونه های ماهی هستند. علاوه بر این، با ارائه اطلاعات زیستی دیگر مثل داده های ریختی در مورد این گونه از جمعیت های ماهی به تنوع زیستی، حفاظت و مدیریت آب های بوشهر کمک قابل توجهی می شود.

۵-مراجع

- [1] Bayani, N. (2022). Ecology and Environmental Challenges of the Persian Gulf. Environment in Iran, 49: 1047 - 1063.
- [2] Naderloo, R. (2017). Atlas of Crabs of the Persian Gulf, 1st ed., Springer, United Kingdom, pp. 37-56.
- [3] Grmasha, R.A., Stenger-Kovac, C. & Bedeway, A. (2023). Ecological and human health risk assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in Tigris river near the oil refineries in Iraq. Environmental Research, 227: 11-25.
- [4] Fine, M., Cinar, M. & Voolstra, C.R. (2019). Coral reefs of the Red Sea—Challenges and potential solutions. Regional Studies in Marine Science, 25: 100-123.
- [5] Musembi, P., Fulanda, B.B. & Kairo, J. (2019). Species composition, abundance and fishing methods of small-scale fisheries in the seagrass meadows of Gazi Bay, Kenya. Journal of the Indian Ocean Region, 15: 139-156.
- [6] Webster, M. (2019). Morphological homeostasis in the fossil record. in Seminars in cell & developmental biology. 1st ed., Elsevier, United Kingdom, pp. 91-104.
- [7] Busst, G.M.A. (2017). Fish scales as ecological indicators: empirical approaches to improve their practical application to fish ecology. Doctoral Thesis, Bournemouth University, England.
- [8] Ward, D., Zemlak, S., Innes, H., Last, R. & Hebert, D. (2005). DNA barcoding Australia's fish species. Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Biological Sciences, 360 (1462): 1847-57.
- [9] Jouladeh-Roudbar, A., Eagderi, S., Esmaili, H.R., Coad, B.W. & Bogutskaya, N. (2015). A molecular approach to the genus *Alburnoides* using COI sequences data set and the description of a new species, *A. damghani*, from the Damghan River system (the Dasht-e Kavir Basin, Iran)

عنوان مثال، هامورهای خاص با الگوهای مقیاس قابل مقایسه، تغییراتی در رنگ و شکل نشان می دهند که احتمالاً ناشی از وقایعی مانند هیبریداسیون است. زیرا هیبریداسیون در هامورها به اشکال مخلوط و متمایز از گونه اصلی منجر می شود [۱۹-۲۱] گونه *L. argentimaculatus* تمایزات ژنتیکی را از دو گونه دیگر مورد مطالعه نشان می دهد. این یافته با تغییراتی که در فلس های گونه های ماهی مشاهده می شود مطابقت دارد [۵-۷]، زیرا دو گونه دیگر نیز برخی از هم پوشانی ها و اتصالات محدود را در درخت تکاملی نشان می دهند. در واقع شناسایی گونه های نزدیک به هم ممکن است به دلیل تفاوت های بین بارکدگذاری مورفولوژیکی و COI دشوار باشد، که می تواند ناشی از تکامل همگرا یا تنوع پنهان باشد. همین موضوع در تحقیق آشور و همکاران [۲۰] در رابطه با ماهیان *Oreochromis niloticus* و *Sarotherodon galilaeus* مشاهده شد.

- (Actinopterygii, Cyprinidae). ZooKeys, 579: 157-181.
- [10] Wu, T., Yang, C. & Pai, T. (2021). Identification of fish species through tRNA-Based primer design. BMC Bioinformatics, 23: 633-639.
- [11] Chakrabarty, P., Warren, M., Lawrence, M. & Baldwin, C. (2013). An updated nomenclature and ranking for genetic sequences from type and non-type sources. Zookeys, 346: 29-41.
- [12] Dorafshan, S. & Pourkhazee, F. (2015). Hybridization in fishes; reasons, applications and detection methods. Environmental Biology of Fishes, 98: 5-17.
- [13] David, C. C. & Jacobs, D. J. (2014). Principal component analysis: a method for determining the essential dynamics of proteins. Protein Dynamics, 42: 193-226.
- [14] Faugloire, E., Leujune, L., & Riveiri, M. (2022). Spatiotemporal influences on the recognition of two-dimensional vibrotactile patterns on the abdomen. Journal of Experimental Psychology Applied, 28: 606-628.
- [15] Al-Awadhi, A., Atawaneh, F., & Ziad, M. (2017). Nurses' attitude towards patients with mental illness in a general hospital in Kuwait. Saudi Journal of Medicine, 5: 31-37.
- [16] Shao, K., Ko, H., Chiu, Y., Huang, H., Chen, Y. & Chang, Y. (2025). Establishing a COI DNA barcoding reference database for Taiwanese coastal fish species from egg and larvae specimens. Zookeys, 1247: 207-216.
- [17] Jiang, C., Liu, F., Qin, J., Hubert, N., Kang, B., Huang, L. & Yan Y (2024). DNA barcode reference library of the fish larvae and eggs of the South China Sea: Taxonomic effectiveness and geographic structure. BMC Ecology and Evolution, 24(1): 132.

- [18] Ratnasingham, S., Wei, C., Chan, D. & et al. (2024). BOLD v4: A Centralized Bioinformatics Platform for DNA-Based Biodiversity Data. *Methods in Molecular Biology*, 2744: 403-441.
- [19] Ivanova, N. V., Zemlak, T.C., Hanner, R. H. & Herbert, P.D.N. (2007). Universal primer cocktails for fish DNA barcoding. *Molecular Ecology Notes*, 7(4): 544-548.
- [20] Ashour, E.M., Ahmad, R.A. & Abbas, N.A. (2025). DNA barcoding and phylogenetic analysis to characterize biodiversity of some freshwater fish species in Lake Nasser and River Nile. *Scientific Reports*, 15: 35237.
- [21] Langi, M. K., Hashemzadeh Saqlou, I., Tabatabai, S. N. & Abdoli, A. (2017). Geometric morphometric analysis of scales to identify different populations of *Garra rufa* Heckel, 1843. *New Findings in Biological Sciences*, 3: 319-326.
- [22] Yablon, C. M., Hammer, M.R. & Morag, Y. (2016). US of the peripheral nerves of the lower extremity: a landmark approach. *Radiographics*, 36: 464-487.
- [23] Ibáñez, A.L., Espino-Barr, E., & Gallardo-Cabello, M. (2012). Population connectivity among geographic variants within the Lutjanidae (Pisces) of the Mexican Pacific coast through fish scale shape recognition. *Scientia Marina*, 2: 667-675.
- [24] Afrand, M., Sourinejad, I., Shahzadeh, S.A. & Akbarzadeh, A. (2018). Identification of Engraulids (*Encrasicholina punctifer* and *E. pseudoheteroloba*) using the COI gene as a DNA barcoding marker. *Journal of Aquatic Ecology*, 7(3): 39-47.
- [25] Swartz, E. R., Mwale, M. & Hanner, R. (2008). A role for barcoding in the study of African fish diversity and conservation. *South Africa Journal of Science*, 104: 293-298.
- [26] Hebert, P.D., Cywinska, A. & Ball, S.L. (2003). Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*. 270(1512): 313-321.
- [27] Allison, P. F., Pickich, E. T., Barnett, Z. C. & Garrick, R. C. (2024). DNA barcoding is currently unreliable for species identification in most crayfishes. *Ecology and Evolution* 14: 70050.
- [28] Baldwin, C. C., Weigt, L. A, Smith, D. G. & Mounts, J. H. (2009). Reconciling genetic lineages with species in western Atlantic *Coryphopterus* (Teleostei: Gobiidae). *Contributions to the Marine Sciences*, 38: 111-138.
- [29] Hashemzadeh Segherloo, I. (2021). Population genomics of the southern Caspian Sea Vobla *Rutilus lacustris*. *Hydrobiologia*, 848: 345-361.

Cite this article as: Hashemi, A., Heydarnejadi, M.S., Hashemzadeh Segherloo, I., and Tabatabaeii, N. (2025). Species Identification of Some Fish in the Persian Gulf Based on Cytochrome Oxidase one (COI). *Marine Biological Sciences and Technologies*, 1(1), 23-30.