

**Research Article**

## Investigation of the Existence of Two Different Genotypes of Russian Sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii*) Based on the Mitochondrial Control Region (D-loop) in Samples from the Southern Caspian Sea Basin

*Shirin Jamshidi* \*

International Sturgeon Research Institute, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Rasht, Iran

**Key Words**

Russian sturgeon  
(*Acipenser gueldenstaedtii*)  
Southern Caspian Sea Basin  
Mitochondrion  
Genotype

**Abstract**

**Introduction:** In this study, the potential existence of two distinct types of Russian sturgeon was evaluated based on the sequence of the control region (D-loop) in samples obtained from the southern Caspian Sea basin. The aim of this research was to assess the presence or absence of two mitochondrial D-loop genotypes in Russian sturgeon of the southern Caspian basin and to determine the frequency of each genotype.

**Materials & Methods:** Specific primers were designed in such a way as to enable the identification of two different genotypes at the mitochondrial DNA level, if present. Samples were collected from various geographical regions along the southern Caspian coasts countries during the years 2002 to 2021. Using multiplex polymerase chain reaction (PCR) with extracted DNA and a mixture of primers capable of amplifying the bands of both genotypes in Russian sturgeon.

**Results:** it was demonstrated that Russian sturgeons of the southern Caspian basin possess two mitochondrial genotypes. These were defined as the “typical Russian sturgeon genotype,” with a frequency of 66%, and the “Siberian-like genotype,” with a frequency of 28%. The Siberian-like genotype occurred less frequently among the examined samples.

**Conclusion:** This identification method allows for the rapid detection of the two genotypes of Russian sturgeon and can be effectively applied in identity determination and population studies of this species.

**Article info**

\* Corresponding Author's email:  
[jamshidi99@yahoo.com](mailto:jamshidi99@yahoo.com)

Received: 2 October 2024  
Reviewed: 3 November 2024  
Revised: 4 January 2025  
Accepted: 7 February 2025

## مقاله علمی - پژوهشی

# بررسی وجود دو ژنوتیپ متفاوت تاس‌ماهی روسی (*Acipenser gueldenstaedtii*) بر اساس ناحیه کنترل (دی‌لوب) میتوکندریالی در نمونه‌های تاس‌ماهیان روسی حوضه جنوبی دریای خزر

\*شیرین جمشیدی\*

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

### چکیده

### کلمات کلیدی

**مقدمه:** در این تحقیق، امکان وجود داشتن دو تیپ متفاوت از تاس‌ماهی روسی براساس توالی ناحیه کنترل (دی‌لوب) در نمونه‌های به دست آمده جغرافیایی حوضه جنوبی دریای خزر، مورد ارزیابی قرار گرفت. هدف از انجام این تحقیق، ارزیابی وجود یا عدم وجود دو ژنوتیپ مختلف براساس نواحی دی‌لوب میتوکندریالی در تاس‌ماهیان روسی حوضه جنوبی خزر و دستیابی به درصد وجودی هر کدام از این ژنوتیپ‌ها می‌باشد.

**مواد و روش‌ها:** آغازگرهای اختصاصی به شکلی انتخاب شدند تا در صورت امکان بتوان دو ژنوتیپ متفاوت در سطح مولکول DNA میتوکندری شناسایی کرد. نمونه‌ها از مناطق مختلف جغرافیایی سواحل جنوبی دریای خزر در خلال سال‌های ۱۳۸۱ تا ۱۴۰۰ جمع‌آوری شده بودند. از روش تکثیر واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرازی چندگانه و DNA استخراج شده و اختلاط آغازگرهایی که باندهای هر دو نوع ژنوتیپ را در تاس‌ماهی روسی تکثیر می‌کنند، استفاده شد.

**نتایج:** نشان داده شد که تاس‌ماهیان روسی حوضه جنوبی دریای خزر دارای دونوع ژنوتیپ می‌باشد که به صورت ژنوتیپ تاس‌ماهی روسی معمولی با پراکنش ۶۶ درصد و ژنوتیپ شبه تاس‌ماهی سبیری به میزان ۲۸ درصد تعریف می‌شوند که ژنوتیپ شبه تاس‌ماهی سبیری از پراکنش کمتری در بین نمونه‌های مورد بررسی برخوردار بود.

**بحث و نتیجه‌گیری:** در این روش شناسایی، می‌توان کار بررسی دو ژنوتیپ مختلف تاس‌ماهی روسی را در مدت زمان کوتاهی انجام داد که در مطالعات تعیین هویتی و بررسی جمعیتی برای تاس‌ماهی روسی کاربرد خواهد داشت.

تاس‌ماهی روسی  
(*Acipenser gueldenstaedtii*)

حوضه جنوبی دریای خزر  
میتوکندری  
دی‌لوب  
ژنوتیپ

\*پست الکترونیکی نویسنده مسئول:  
jamshidi99@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۱ مهر ۱۴۰۳  
تاریخ داوری: ۱۳ آبان ۱۴۰۳  
تاریخ اصلاح: ۱۵ دی ۱۴۰۳  
تاریخ پذیرش: ۱۹ بهمن ۱۴۰۳

**مقدمه**

ژن سیتوکروم اکسیداز، زیر واحد یک (*COI*) برای شناسایی گونه‌ها به کار می‌رود ولی علاوه بر پر هزینه بودن و وقت‌گیر بودن توالی‌یابی، تمایز این ۳ گونه در مواردی با استفاده از ژن *COI* امکان‌پذیر نمی‌باشد لذا براساس مطالعات *Mugue* و همکاران، استفاده از تکثیر قسمتی از ناحیه D-loop برای شناسایی گونه‌های تاس‌ماهیان امکان‌پذیر می‌باشد که در مطالعات آن‌ها و هم‌چنین تحقیقات دیگران نشان داده شد که تاس‌ماهیان روسی دریایی خزر دو نوع ژنتوتیپ می‌باشند (۶). در این تحقیق به منظور شناسایی مولکولی تاس‌ماهیان روسی حوضه جنوبی دریایی خزر روشی پایه‌بینی شد و درصد دو نوع ژنتوتیپ معمولی و شبیه تاس‌ماهی سیبری را در جمعیتی که طی چندین سال، نمونه‌های آن جمع‌آوری شده است و مربوط به نواحی وسیعی از نواحی مختلف جنوب دریایی خزر می‌باشد؛ مشخص شد.

**مواد و روش‌ها**

استخراج DNA از بافت باله تاس‌ماهی روسی حوضه جنوبی دریایی خزر؛ تعداد ۵۰ عدد از گونه‌های تاس‌ماهی روسی دریایی خزر مناطق جغرافیایی مختلف واقع در نواحی مختلف جنوب دریایی خزر در فاصله سال‌های ۱۳۸۱ تا ۱۴۰۰ جمع‌آوری شده بودند و در کل ۹۶ درجه سانتی گراد ذخیره‌سازی شدند؛ مورد آزمون قرار گرفت. هم‌چنین ۲۰ عدد تاس‌ماهی ایرانی جمع‌آوری شده از سال‌های ۱۳۸۱ تا ۱۴۰۰ از نواحی مختلف شیلاتی جنوب دریایی خزر و موسسه تحقیقات بین‌المللی تاس‌ماهیان دریایی خزر نیز در این تحقیق مورد بررسی مولکولی قرار گرفت. مشخصات محل‌های جغرافیایی نمونه‌های گونه‌های تاس‌ماهیان دریایی خزر در جدول ۱ آمده است. استخراج DNA با اندکی تغییرات انجام شد. بدین منظور حدود ۱۰۰ میلی‌گرم از بافت باله یا عضله ماهی با استفاده از نیتروژن مایع به صورت پودر آمده و بقیه مراحل استخراج DNA درست به مانند روش استخراج از بافت مطابق دستور کیت انجام شد.

گونه‌های تاس‌ماهی روسی (*Acipenser gueldenstaedtii*), تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) و تاس‌ماهی سیبری (*Acipenser baerii*) گونه‌هایی نزدیک بهم می‌باشند که از نظر عدد کروموزومی هم تعداد کروموزوم یکسانی دارند (۱۲). در حال حاضر هیچ فصل مشترک جغرافیایی بین این تاس‌ماهی سیبری و دو گونه دیگر مشترک نمی‌باشد و از نظر ریختی هم تاس‌ماهی سیبری کاملاً متفاوت از تاس‌ماهی روسی می‌باشد اما طبق بررسی‌های مولکولی حدود ۳۰ درصد از ژنوم میتوکندری تاس‌ماهی روسی دریایی خزر و حدود ۲ درصد از ژنوم میتوکندری تاس‌ماهی روسی دریایی آزوغ شبیه تاس‌ماهی سیبری می‌باشد که احتمالاً به علت اختلاط آمیزش (Introgression) این دو گونه به دوره پلیستوسن مربوط می‌باشد (۴، ۹). این دو فرم از ژنتوتیپ میتوکندری تاس‌ماهی روسی در ژنوم میتوکندری تاس‌ماهی ایرانی دیده نشده است (۶). براساس تحقیق *Mugue* و همکاران، تاس‌ماهی روسی و تاس‌ماهی ایرانی گونه‌های نسبتاً جوانی هستند و هاپلوتیپ‌های میتوکندریایی مشترک دارند (قرابت زنگنه‌ای بالایی دارند) و این موضوع مانع از شناسایی آن‌ها از به تنهایی از طریق تجزیه و تحلیل DNA میتوکندریایی می‌شود (۶)؛ بنابراین تاس‌ماهی ایرانی به عنوان گونه مورد بررسی در این تحقیق نیز به منظور مقایسه با تاس‌ماهی روسی، آورده شده است. براساس اطلاعات مجمع بین‌المللی گونه‌های در معرض خطر انفراض (International Convention on CITES) تمامی گونه‌های خانواده تاس‌ماهیان (Trade in Endangered Species) حوضه دریایی خزر جز گونه‌های حفاظت شده می‌باشند و بسیاری از گونه‌ها در معرض خطر انفراض می‌باشند. براساس گزارش‌هایی که وجود دارد قسمت عمده‌ای از خاویار در بازار جهانی از تاس‌ماهی روسی (چالاش) *Acipenser gueldenstaedtii* و تاس‌ماهی سیبری (*A. baerii*) تولید می‌گردد (۷، ۱). برای تعیین گونه مورد نظر در محصولات خاویار، گوشت ماهی و هم‌چنین محصولات ناشی از آن‌ها مثل کرم‌های آرایشی و بهداشتی بهترین راه پیشنهادی، استفاده از روشی به کار می‌رود. با وجود این که بیشتر از ناحیه بارکد (Barcode region) (Barcoding region) می‌باشد.

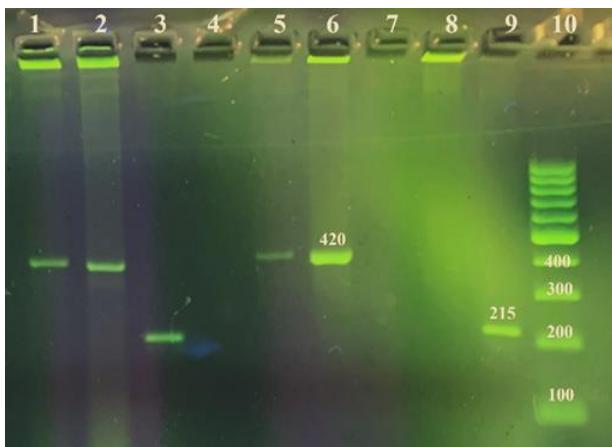
جدول ۱: مشخصات و تعداد نمونه‌های مورد استفاده در تحقیق و مکان جغرافیایی برداشتن نمونه‌ها

Table 1: The characteristics and number of samples used in the research and the geographical location of sample collection

Species	تعداد نمونه‌ها	محل جغرافیایی گرفتن نمونه‌ها	تکثیر موفق در روش PCR	تعداد نمونه‌هایی که با روش PCR ژنتوتیپ آن‌ها مشخص شده است
<i>Acipenser gueldenstaedtii</i>	۵۰ عدد	بخش تکثیر و پرورش موسسه تحقیقات بین‌المللی تاس‌ماهیان دریایی خزر (پرورشی) و نواحی شیلاتی جنوب دریایی خزر	موفق	۴۶ عدد
<i>Acipenser persicus</i>	۲۰ عدد	بخش تکثیر و پرورش موسسه تحقیقات بین‌المللی تاس‌ماهیان دریایی خزر (پرورشی) و نواحی مختلف شیلاتی چنوب دریایی خزر	ناموفق	تکثیر نشد

## نتایج

ارزیابی کیفیت محصول PCR با استفاده از الکتروفوروز ژل آگارز؛ براساس نتایج کمی به دست آمده برای غلظت DNA با استفاده از نانو دراپ، همگی دارای نسبت جذب  $260/280$  نانومتر مناسب در دامنه  $1/8\text{--}2$  و مقدار هر کدام از نمونه‌ها بین  $200$  تا  $800$  نانوگرم در میکرولیتر بوده است. بررسی multiplex PCR روی ژل آگارز  $2$  درصد نشان داد که جمعیت تاس‌ماهیان روسی حوضه جنوبی دریای خزر که نمونه‌های آن از مناطق جغرافیایی مختلف جنوب دریای خزر به دست آمده حاوی دو ژنوتیپ تاس‌ماهی روسی معمولی و شبه تاس‌ماهی سبیری می‌باشد. از بین  $50$  عدد تاس‌ماهی روسی  $33$  عدد (درصد) آن‌ها دارای ژنوتیپ تاس‌ماهی روسی معمولی و  $14$  عدد (درصد) دارای ژنوتیپ تاس‌ماهی روسی شبه تاس‌ماهی سبیری بودند.  $4$  عدد از تاس‌ماهیان روسی حوضه جنوبی دریای خزر با استفاده از این روش هیچ باندی را تکثیر نکردند.



شکل ۱: دو باند به دست آمده با اندازه متفاوت در نمونه‌های مورد بررسی تاس‌ماهیان حوضه جنوبی دریای خزر نشان‌دهنده دو ژنوتیپ مختلف در جایگاه D-loop در تاس‌ماهیان روسی حوضه جنوبی خزر می‌باشد. شماره  $1, 2, 5$  و  $6$  باند به دست آمده در تاس‌ماهی روسی با ژنوتیپ معمولی و شماره  $3$  و  $9$  تاس‌ماهی روسی شبه تاس‌ماهی سبیری می‌باشند. شماره  $4, 7$  و  $8$  محصول multiplex PCR حاصل از تاس‌ماهی ایرانی با آغازگرهای دو ژنوتیپ تاس‌ماهی روسی می‌باشد که هیچ باندی در روی ژل باندی را تکثیر نکردند.

**Figure 1:** Two bands obtained with different sizes in the studied samples of southern Caspian Sea sturgeon indicate two different genotypes at the D-loop locus in Russian sturgeon of Southern Caspian Sea Basin. Bands  $1, 2, 5, 6$  are obtained in Russian sturgeon with normal genotype and bands  $3$  and  $9$  are Russian sturgeon with Siberian sturgeon-like genotype. Numbers  $7, 4$ , and  $8$  are multiplex PCR products from Persian sturgeon with primers from two Russian tapeworm genotypes that did not amplify any bands on the gel.

### ارزیابی کمیت و کیفیت DNA استخراج شده از بافت باله تاس‌ماهیان

انتخاب آغازگر برای ناحیه کنترل ژنوم میتوکندری و واکنش نجیره پلی مراز برای آن: در این تحقیق از آغازگرهای مورد استفاده از تحقیقات Muge و همکاران، استفاده شد (۶). به جهت این که در تحقیق آن‌ها مشخص شدکه  $30$  درصد از تاس‌ماهیان روسی در دریای خزر دارای ژنوتیپ شبه‌سیبری در جایگاه ژنوم میتوکندری خود می‌باشدند (۲، ۷)، برای مشخص نمودن نوع ژنوتیپ تاس‌ماهی روسی از روش multiplex PCR استفاده شد تا در صورت وجود هر ژنوتیپ، نوع آن در تاس‌ماهی روسی مشخص شود. برای آغازگر ویژه گونه تاس‌ماهی روسی دریای خزر، کار مناسب سازی درجه حرارت با استفاده از روش PCR gradient صورت پذیرفت (هر ژنوتیپ به صورت single PCR) و در همان دمای مناسب تمامی نمونه‌ها تکثیر شده و روی ژل آگارز  $2$  درصد برده شدند. برای تاس‌ماهی روسی روش AGF، ABF، ABRAM با استفاده از آغازگرهای multiplex PCR و آغازگر AHR استفاده شد. چون تاس‌ماهی ایرانی قرابت ژنتیکی بالایی با تاس‌ماهی روسی دارد. روش multiplex PCR برای تاس‌ماهیان ایرانی نیز به کار برده شد. قطعات مورد نظر تکثیر شده برای ژنوتیپ معمولی تاس‌ماهی روسی  $420$  جفت باز و برای ژنوتیپ تاس‌ماهی روسی شبه تاس‌ماهی سبیری  $215$  جفت باز می‌باشد. به طور اختصار PCR چندگانه شامل نسبت ABRAM:ABF:AGF:1/۲،  $2, 1$  بوده و برنامه حرارتی شامل واسترشنتماسازی در  $95$  درجه سانتی گراد  $5$  دقیقه،  $35$  سیکل شامل واسترشنتماسازی در  $95$  درجه سانتی گراد  $20$  ثانیه، الحق در دمای  $57$  درجه سانتی گراد  $30$  ثانیه، تکثیر در دمای  $72$  درجه سانتی گراد  $30$  ثانیه و تکثیر نهایی در  $72$  درجه سانتی گراد به مدت  $5$  دقیقه انجام شد.

جدول ۲: توالی نوکلئوتیدی آغازگرهای مورد استفاده در روش multiplex PCR برای دو ژنوتیپ مختلف تاس‌ماهی روسی

Table 2: Nucleotide sequences of primers used in multiplex PCR method for two different Russian sturgeon genotypes

نام آغازگر	توالی نوکلئوتیدی
AHR	TATACACCATTATCTCTATGT (reverse)
AGF	GCACAGACTATGTGGTATCCAGAA (forward)
ABF	CAGATGCCAGTAACAGGGCTGA (forward)
ABRAM	TGTCTGTCTAGAACATG (forward)

## بحث

تکثیر نکرند. Vodolazhskii و همکاران، نیز روی ساختار ناحیه کنترل D-loop تاس ماهیان روسی تحقیق کرده و به این نتیجه رسیدند که این ناحیه در تاس ماهیان روسی بسیار پر تغییر می باشد و در افراد متغایر تغییرات طول با تکرار یا حذف نواحی تکرار پذیر ۸۲ تایی (تکرار ۲، ۳ و تایی) مشاهده کردند و به این نتیجه رسیدند در جمعیت های مختلف، گروه ها و نژادهای فصلی این تغییرات می تواند به عنوان نشانگر مطرح باشد (۱۲). نتایج مشابه در مورد تاس ماهیان روسی در نتایج Mugue و همکاران نیز دیده شد که اعلام شد دو درصد از نمونه ها قابل شناسایی با آغازگرهای مورد استفاده نبودند (۶). به نظر می رسد عدم تکثیر ژن در نمونه های مورد بررسی در این تحقیق نیز به پر تغییر بودن محل چسبیدن آغازگرهای مربوط می باشد. براساس نتایج Jenneckens و Bristein و همکاران (۲) در تاس ماهیان روسی، مشخص شد که ۳۰ درصد از تاس ماهیان روسی ژنوم میتوکندریالی مشابه با ژنوم تاس ماهیان سیبری دارند؛ در تحقیق حاضر هم با استفاده از آغازگرهای هر دو ژنوتیپ، این دو نوع ژنوتیپ در جمعیت تاس ماهیان خزر شناسایی شد. به کار بردن آغازگرهای تاس ماهی روسی هیچ باندی را برای تاس ماهی ایرانی (قره برون) تکثیر نکرد که همین نتیجه برای تاس ماهی ایرانی در تحقیق Mugue و همکاران نیز به دست آمده است (۶). Rastorguev و همکاران با استفاده از بررسی جمعیتی تاس ماهی روسی، تاس ماهی ایرانی در منابع آبی دریای خزر، دریاچه آзов، رودخانه های یورال و ولگا و بررسی تاس ماهی سیبری در دو رودخانه منطقه سیبری با استفاده از بررسی ژنوتیپ چندشکلی تک نوکلئوتید (Single nucleotide polymorphism SNP) پرداختند و به این نتیجه رسیدند که جمعیت های تاس ماهی روسی در دو رودخانه ولگا و یورال از هم قابل تفکیک نبوده اما از تاس ماهی ایرانی و تاس ماهی سیبری و جمعیت تاس ماهی روسی دریاچه آзов قابل تشخیص می باشند و حداقل هشت نشانگر برای جداسازی این سه گونه معرفی کردند. نشانگرهای ژنوم میتوکندری وراثت مادری دارند و علی رغم این که می توانند نشان دهنده خوبی برای تفکیک گونه باشند اما به جهت هیبریداسیون و اختلاط گونه های تاس ماهیان که در گذشته بین گونه ها رخداده است هم ممکن است

یکی از چالش های موجود در بخش تحقیقات مولکولی تاس ماهیان شناسایی ژنوتیپ های متفاوت در جمعیت های آن ها می باشد. پیدا کردن سیستمی برای تشخیص سریع گونه ها و زیر گونه ها از هم با فن آوری جدید زیستی مثل بررسی ژن هایی که در شناسایی گونه (Specific diagnostic) نقش دارند، با ردبایی و صحة گذاری روی محصولات ارزشمندی که از تاس ماهیان به دست می آید امکان پذیر است. از آن جایی که گونه تاس ماهی روسی یکی از گونه های اصلی می باشد که برای تولید خاویار در دنیا استفاده می شود و به جهت توجه به برنامه های حفاظتی تاس ماهیان در دنیا و تجارت خاویار، اثبات وجود دو نوع ژنوتیپ یکی از راه های تشخیصی می باشد که از بقیه تاس ماهیان دیگر و هم چنین از تاس ماهیان ایرانی می تواند به کار گرفته شود. بررسی توالی ژنی در صورت موجود بودن امکانات توالی یابی از چند روز تا چند هفته قابلیت جواب دهی به مقاضی بررسی نمونه را دارد. با این وجود، در این میان به روشنی که نیاز به امکانات کمتر داشته و در مدت زمان کوتاه تر بتوان به نتیجه برسد نیز از اهمیت ویژه ای در تحقیقات مولکولی آبزیان، برخوردار است. روش بررسی ژنوتیپ های گونه تاس ماهیان روسی براساس تفاوت اندازه باند مشاهده شده روی ژل آگارز که در تحقیق حاضر به انجام رسیده است برتری هایی چون قابلیت انجام راحت و ساده بودن داشته و با ابزارهایی که در همه آزمایشگاه های مولکولی موجود می باشد در چند ساعت قابل انجام است. کار تشخیصی تاس ماهیان روسی حوضه اروپا با استفاده از بررسی ژن D-loop توسط Mugue و همکاران نتایج می بین آن بود که این روش قابلیت تشخیص مولکولی تاس ماهیان حوضه Ponto-Caspian را در مدت زمان کوتاه دو تا سه ساعته دارا می باشد (۶). بنابراین آغازگرهای مورد استفاده در این مطالعه بر اساس Mugue و همکاران (۶) انتخاب شدند. در این تحقیق ۵۰ نمونه از تاس ماهیان روسی حوضه جنوب خزر و تاس ماهیان ایرانی حوضه جنوب مورد بررسی قرار گرفت که از این میان هیچ نمونه ای از تاس ماهیان ایرانی، باندی را با استفاده از آغازگرهای تاس ماهیان روسی تکثیر نکرند و چهار نمونه از تاس ماهیان روسی هم باندی را

- Russian Sturgeon, *Acipenser gueldenstaedtii*, Caught in the River Volga. *Ecology Letters.* 3(6): 503-508. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2000.00179.x>
5. Ludwig, A., Congiu, L., Pitra, C., Fickel, J., Gessner, J., Fontana, F., Patarnello, T. and Zane L., 2003. Nonconcordant evolutionary history of maternal and paternal lineages in Adriatic sturgeon. *Molecular Ecology.* 12(12): 3253-3264. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294X.2003.01999.x>
6. Mugue, N.S., Barmintseva, A.E., Rastorguev, S.M., Mugue, V.N. and Barmintsev, V.A., 2008. Polymorphism of the Mitochondrial DNA Control Region in Eight Sturgeon Species and Development of a System for DNA-Based Species Identification. *Russian Journal of Genetics.* 44(7): 793-799. <https://doi.org/10.1134/S1022795408070065>.
7. Pappalardo, A.M., Federico, C., Sabella, G., Saccone, S. and Ferrito, V., 2015. A COI nonsynonymous mutation as diagnostic tool for intraspecific discrimination in the European Anchovy *Engraulis encrasicolus* (Linnaeus). *PLoS ONE.* 10: e0143297. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0143297>.
8. Rastorguev, M., Nedoluzhko, A.V., Mazur, A.M., Gruzdeva, N.M. Volkov, A.A. Barmintseva, A.E., Mugue, N.S. and Prokhortchou, E.B., 2013. High throughput SNP-genotyping analysis of the relationships among Ponto-Caspian sturgeon species. *Ecology and evolution.* 3(8): 2612-2618.
9. Timoshkina, N.N. and Barmintseva, A.E. and Usatov, A.V., 2009. Intraspecific genetic polymorphism of Russian sturgeon *Acipenser gueldenstaedtii*, Russian Journal of Genetics. 45(9): 1098-1106. <https://doi.org/10.1002/ece3.659>.
10. Tranah, G., Campton, D.E. and May, B., 2004. Genetic evidence for hybridization of pallid and shovelnose sturgeon. *Journal of Heredity.* 95: 474-480. <https://doi.org/10.1093/jhered/esh077>.
11. Vlasenko, A.D., Pavlov, A.V. and Vasilev, V.P., 1989. *Acipenser persicus* Borodin, 1897. 345-366. In: Holcik, A.

تشخیص گونه‌های خالص از هیبریدها را دچار اختلال کند چون وراثت مادری دارند (۵، ۱۰). در مطالعات براساس ژنوم میتوکندری وضعیت ژنتیکی والد نر (گونه والد نر) مشخص نخواهد بود چون میتوکندری وراثت مادری دارد. بنابراین در صورت امکان لازم است تا بررسی ژنوم کل تاس ماهیان روسی حوضه جنوب خزر هم در ارزیابی گونه‌ها استفاده شود.

**نتیجه گیری:** به عنوان نتیجه گیری نهایی این تحقیق می‌توان گفت که تاس ماهی روسی حوضه جنوبی دریای خزر دارای دو ژنوتیپ متفاوت بر اساس بررسی ژنوم میتوکندریایی می‌باشد که ژنوتیپ معمولی پراکنش بیشتری از ژنوتیپ شبه‌سیبری در تعداد نمونه‌هایی که در این تحقیق مورد بررسی قرار گرفت؛ از خود نشان داد. این نتایج با نتایج به دست آمده برای تاس ماهیان روسی نواحی شمالی حوضه آبی خزر مطابقت دارد اما تفکیک ژنوتیپ تاس ماهی روسی از تاس ماهی ایرانی تنها با عدم تکثیر دو باند ۴۲۰ و ۲۱۵ نوکلتوئیدی امکان‌پذیر نمی‌باشد و نیازمند تحقیقات بیشتری در زمینه یافتن شانگرهای مختص گونه‌ای چه در سطح میتوکندریایی و چه ژنوم هسته‌ای می‌باشد.

## منابع

1. Bronzi, P., Rosenthal, H. and Gessner, J., 2011. Global sturgeon aquaculture production: an overview. *Journal of Applied Ichthyology.* 27(2): 169-175. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2011.01757.x>
2. Birstein, V.J., Doukakis, P. and DeSalle, R., 2000.. Polyphyly of mtDNA lineages in the Russian sturgeon, *Acipenser gueldenstaedtii*: forensic and evolutionary implications. *Conservation Genetics.* 1: 81-88. <https://doi.org/10.1023/A:1010141906100>
3. DeSalle, R. and Birstein, V.J., 1996. PCR identification of black caviar. *Nature.* 381: 197-198. doi: 10.1038/381197a0.
4. Jenneckens, I., Meyer, J.N., Debus, L., Pitra, C. and Ludwig, A., 2008. Evidence of Mitochondrial DNA Clones of Siberian Sturgeon, *Acipenser baerii*, within

J., (ed.) The Freshwater Fishes of Europe. 1(II), General Introduction to Fishes, Acipenseriformes, AULA-Verlag, Wiesbaden.

- 12.** **Vodolazhskii, D.L., Komienko I.V. and Voinova, N.V., 2008.** Hypervariability of the D-loop Region in Mitochondrial DNA of Russian Sturgeon *Acipenser gueldenstaedtii* (Acipenseriformes, Acipenseridae), *Journal of Ichthyology*. 48(2): 188-197. <https://doi.org/10.1134/S0032945208020057>.