

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

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 (دی‌لوپ) میتوکندریایی 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

کلمات کلیدی

چکیده

تاس‌ماهی روسی

(Acipenser gueldenstaedtii)

حوضه جنوبی دریای خزر

میتوکندری

دی‌لوپ

ژنوتیپ

مقدمه: در این تحقیق، امکان وجود داشتن دو تیپ متفاوت از تاس‌ماهی روسی براساس توالی ناحیه کنترل (دی‌لوپ) در نمونه‌های به‌دست 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 دی‌لوپ میتوکندریایی 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 دو نوع ژنوتیپ می‌باشد که به‌صورت ژنوتیپ تاس‌ماهی روسی معمولی با پراکنش ۶۶ درصد و ژنوتیپ شبه تاس‌ماهی سبیری به‌میزان 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.

* 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، زیرواحد یک (COI) برای شناسایی گونه‌ها به کار می‌رود ولی علاوه بر پر هزینه بودن و وقت گیر بودن توالی‌یابی، تمایز این ۳ گونه در مواردی با استفاده از ژن COI امکان پذیر نمی‌باشد لذا براساس مطالعات Mugue و همکاران، استفاده از تکثیر قسمتی از ناحیه D-loop برای شناسایی گونه‌های تاس ماهیان امکان پذیر می‌باشد که در مطالعات آن‌ها و هم چنین تحقیقات دیگران نشان داده شد که تاس ماهیان روسی دریای خزر دارای دو نوع ژنوتیپ می‌باشند (۶). در این تحقیق به منظور شناسایی مولکولی تاس ماهیان روسی حوضه جنوبی دریای خزر روشی پایه‌ریزی شد و درصد دو نوع ژنوتیپ معمولی و شبه تاس ماهی سیبری را در جمعیتی که طی چندین سال، نمونه‌های آن جمع‌آوری شده است و مربوط به نواحی وسیعی از نواحی مختلف جنوب دریای خزر می‌باشد؛ مشخص شد.

مواد و روش‌ها

استخراج DNA از بافت باله تاس ماهی روسی حوضه جنوبی دریای خزر: تعداد ۵۰ عدد از گونه تاس ماهی روسی دریای خزر مناطق جغرافیایی مختلف واقع در نواحی مختلف جنوب دریای خزر در فاصله سال‌های ۱۳۸۱ تا ۱۴۰۰ جمع‌آوری شده بودند و در الکل ۹۶ درجه سانتی‌گراد ذخیره‌سازی شدند؛ مورد آزمون قرار گرفت. هم‌چنین ۲۰ عدد تاس ماهی ایرانی جمع‌آوری شده از سال‌های ۱۳۸۱ تا ۱۴۰۰ از نواحی مختلف شیلاتی جنوب دریای خزر و موسسه تحقیقات بین‌المللی تاس ماهیان دریای خزر نیز در این تحقیق مورد بررسی مولکولی قرار گرفت. مشخصات محل‌های جغرافیایی نمونه‌های گونه‌های تاس ماهیان دریای خزر در جدول ۱ آمده است. استخراج DNA توسط کیت DNeasy tissue kit (Qiagen, Hilden, Germany) با اندکی تغییرات انجام شد. بدین منظور حدود ۱۰۰ میلی گرم 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 تاس ماهی روسی (*Acipenser gueldenstaedtii*)، تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) و تاس ماهی سیبری (*Acipenser baerii*) گونه‌هایی نزدیک به هم می‌باشند که از نظر عدد کروموزومی هم تعداد کروموزوم یکسانی دارند (۱۲). در حال حاضر هیچ فصل مشترک جغرافیایی بین این تاس ماهی سیبری و دو گونه دیگر مشترک نمی‌باشد و از نظر ریختی هم تاس ماهی سیبری کاملاً متفاوت از تاس ماهی روسی می‌باشد اما طبق بررسی‌های مولکولی حدود ۳۰ درصد از ژنوم میتوکندری تاس ماهی روسی دریای خزر و حدود ۲ درصد از ژنوم میتوکندری تاس ماهی روسی دریای آزوف شبیه تاس ماهی سیبری می‌باشد که احتمالاً به علت اختلاط آمیزش (Introgression) این دو گونه به دوره پلیستوسن مربوط می‌باشد (۴، ۹). این دو فرم از ژنوتیپ میتوکندری تاس ماهی روسی در ژنوم میتوکندری تاس ماهی ایرانی دیده نشده است (۶). براساس تحقیق Mugue و همکاران، تاس ماهی روسی و تاس ماهی ایرانی گونه‌های نسبتاً جوانی هستند و هاپلو تیپ‌های میتوکندریایی مشترک دارند (قرابت ژنتیکی بالایی دارند) و این موضوع مانع از شناسایی آن‌ها از به تنهایی از طریق تجزیه و تحلیل DNA میتوکندریایی می‌شود (۶)؛ بنابراین تاس ماهی ایرانی به عنوان گونه مورد بررسی در این تحقیق نیز به منظور مقایسه با تاس ماهی روسی، آورده شده است. براساس اطلاعات مجمع بین‌المللی گونه‌های در معرض خطر انقراض (International Convention on: CITES Trade in Endangered Species) تمامی گونه‌های خانواده تاس ماهیان حوضه دریای خزر جز گونه‌های حفاظت شده می‌باشند و بسیاری از گونه‌ها در معرض خطر انقراض می‌باشند. براساس گزارش‌هایی که وجود دارد قسمت عمده‌ای از خاویار در بازار جهانی از تاس ماهی روسی (چالباش) *Acipenser gueldenstaedtii* و تاس ماهی 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 بیش تر از ناحیه بارکد (Barcoding region)

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

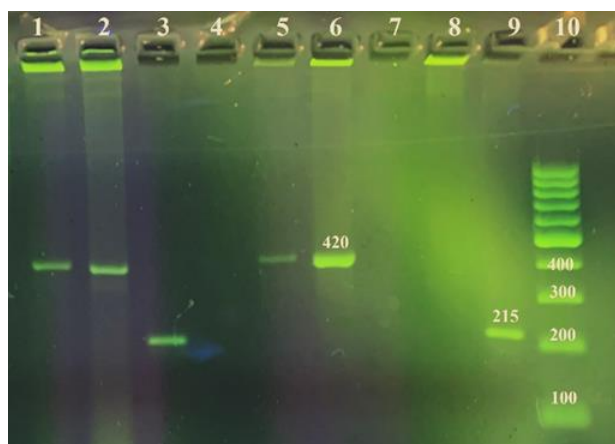
Table 1: The characteristics and number of samples used in the research and the geographical location of sample collection

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

نتایج

ارزیابی کیفیت محصول PCR با استفاده از الکتروفورز

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 $2-1/8$ 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 تاس ماهیان روسی حوضه جنوبی دریای خزر که نمونه‌های آن از مناطق جغرافیایی متفاوت جنوب دریای خزر به دست آمده حاوی دو ژنوتیپ تاس ماهی روسی معمولی و شبه تاس ماهی سیبری می‌باشد. از بین 50 عدد تاس ماهی روسی 33 عدد (66 درصد) آن‌ها دارای ژنوتیپ تاس ماهی روسی معمولی و 14 عدد (28 درصد) دارای ژنوتیپ تاس ماهی روسی شبه تاس ماهی سیبری بودند. 4 عدد از تاس ماهیان روسی حوضه جنوبی دریای خزر با استفاده از این روش هیچ باندهایی را تکثیر نکردند.



شکل ۱: دو باند به دست آمده با اندازه متفاوت در نمونه‌های مورد بررسی تاس ماهیان حوضه جنوبی دریای خزر نشان‌دهنده دو ژنوتیپ مختلف در جایگاه D-loop در تاس ماهیان روسی حوضه جنوبی خزر می‌باشد. شماره ۱، ۲، ۵ و ۶ باند به دست آمده در تاس ماهی روسی با ژنوتیپ معمولی و شماره ۳ و ۹ تاس ماهی روسی شبه تاس ماهی سیبری می‌باشند. شماره ۴، ۷ و ۸ محصول multiplex PCR حاصل از تاس ماهی ایرانی با آغازگرهای دو ژنوتیپ تاس ماهی روسی می‌باشد که هیچ باندهایی در روی ژل باندهایی 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 تاس ماهیان

انتخاب آغازگر برای ناحیه کنترل ژنوم میتوکندری و واکنش

زنجیره پلی مرز برای آن: در این تحقیق از آغازگرهای مورد استفاده از تحقیقات Mugue و همکاران، استفاده شد (۶). به جهت این که در تحقیق آن‌ها مشخص شد که 30 درصد از تاس ماهیان روسی در دریای خزر دارای ژنوتیپ شبه سیبری در جایگاه ژنوم میتوکندری خود می‌باشند (۲، ۷)؛ برای مشخص نمودن نوع ژنوتیپ تاس ماهی روسی از روش multiplex PCR استفاده شد تا در صورت وجود هر ژنوتیپ، نوع آن در تاس ماهی روسی مشخص شود. برای آغازگر ویژه گونه تاس ماهی 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 تاس ماهی روسی روش multiplex PCR با استفاده از آغازگرهای AGF, ABF, ABRAM و آغازگر AHR استفاده شد. چون تاس ماهی ایرانی قرابت ژنتیکی بالایی با تاس ماهی روسی دارد. روش multiplex PCR برای تاس ماهیان ایرانی نیز به کار برده شد. قطعات مورد نظر تکثیر شده برای ژنوتیپ معمولی تاس ماهی روسی 420 جفت باز و برای ژنوتیپ تاس ماهی روسی شبه تاس ماهی سیبری 215 جفت باز می‌باشد. به طور اختصار شرایط PCR چندگانه شامل نسبت AGF, ABF, ABRAM و AHR به صورت $1, 1/2, 2, 1$ بوده و برنامه حرارتی شامل واسترشته سازی در 95 درجه سانتی گراد 5 دقیقه، 35 سیکل شامل واسترشته سازی در 95 درجه سانتی گراد 20 ثانیه، الحاق 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 تاس ماهی روسی

Table 2: Nucleotide sequences of primers used in multiplex PCR method for two different Russian sturgeon genotypes	
نام آغازگر	توالی نوکلئوتیدی
AHR	TATACACATTATCTCTATGT (reverse)
AGF	GCACAGACTATGTGGTATCCAGAA (forward)
ABF	CAGATGCCAGTAACAGGCTGA (forward)
ABRAM	TGTCTGTCTAGAACATG (forward)

بحث

یکی از چالش‌های موجود در بخش تحقیقات مولکولی تاس ماهیان شناسایی ژنوتیپ‌های متفاوت در جمعیت‌های آن‌ها می‌باشد. پیدا کردن سیستمی برای تشخیص سریع گونه‌ها و زیرگونه‌ها از هم با فن‌آوری جدید زیستی مثل بررسی ژن‌هایی که در شناسایی گونه (Specific diagnostic) نقش دارند، با ردیابی و صحنه‌گذاری روی محصولات ارزشمندی که از تاس ماهیان به دست می‌آید امکان‌پذیر است. از آنجایی که گونه تاس ماهی روسی یکی از گونه‌های اصلی می‌باشد که برای تولید خاویار در دنیا استفاده می‌شود و به جهت توجه به برنامه‌های حفاظتی تاس ماهیان در دنیا و تجارت خاویار، اثبات وجود دو نوع ژنوتیپ یکی از راه‌های تشخیصی می‌باشد که از بقیه تاس ماهیان دیگر و هم‌چنین از تاس ماهیان ایرانی می‌تواند به کار گرفته شود. بررسی توالی ژنی در صورت موجود بودن امکانات توالی‌یابی از چند روز تا چند هفته قابلیت جواب‌دهی به متقاضی بررسی نمونه را دارد. با این وجود، در این میان به روشی که نیاز به امکانات کم‌تر داشته و در مدت زمان کوتاه‌تر بتوان به نتیجه برسد نیز از اهمیت ویژه‌ای در تحقیقات مولکولی آبیان، برخوردار است. روش بررسی ژنوتیپ‌های گونه تاس ماهیان روسی براساس تفاوت اندازه باند مشاهده شده روی ژل آگارز که در تحقیق حاضر به انجام رسیده است برتری‌هایی چون قابلیت انجام راحت و ساده بودن داشته و با ابزارهایی که در همه آزمایشگاه‌های مولکولی موجود می‌باشد در چند ساعت قابل انجام است. کار تشخیصی تاس ماهیان روسی حوضه اروپا با استفاده از بررسی ژن D-loop توسط Mugue و همکاران انجام شد و نتایج مبین آن بود که این روش قابلیت تشخیص مولکولی تاس ماهیان حوضه Ponto-Caspian را در مدت زمان کوتاه دو تا سه ساعته دارا می‌باشد (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 خزر مورد بررسی قرار گرفت که از این میان هیچ نمونه‌ای از تاس ماهیان ایرانی، باندی را با استفاده از آغازگرهای تاس ماهیان روسی تکثیر نکردند و چهار نمونه از تاس ماهیان روسی هم باندی را

تکثیر نکردند. 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 پرتغییر می‌باشد و در افراد متفاوت تغییرات طول با تکرار یا حذف نواحی تکرارپذیر ۸۲ تایی (تکرار ۲، ۳ و تایی) مشاهده کردند و به این نتیجه رسیدند در جمعیت‌های مختلف، گروه‌ها و نژادهای فصلی این تغییرات می‌تواند 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 نمونه‌ها قابل شناسایی با آغازگرهای مورد استفاده نبودند (۶). به نظر می‌رسد عدم تکثیر ژن در نمونه‌های مورد بررسی در این تحقیق نیز به پر تغییر بودن محل چسبیدن آغازگرها مربوط می‌باشد. براساس نتایج Bristein و همکاران (۲) و Jenneckens و همکاران (۴) در تاس ماهیان روسی، مشخص شد که ۳۰ درصد از تاس ماهیان روسی ژنوم میتوکندریایی 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 (قره‌برون) 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 آزوف، رودخانه‌های یورال و ولگا و بررسی تاس ماهی سیبری در دو رودخانه منطقه سیبری با استفاده از بررسی ژنوتیپ چندشکلی تک نوکلئوتید (Single nucleotide polymorphism) genotyping (SNP)) پرداختند و به این نتیجه رسیدند که جمعیت‌های 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 آزوف قابل تشخیص می‌باشند و حداقل هشت نشانگر برای جداسازی این سه گونه معرفی کردند. نشانگرهای ژنوم میتوکندری وراثت مادری دارند و علی‌رغم این که می‌توانند نشان دهنده خوبی برای تفکیک گونه باشند اما به جهت هیبریداسیون و اختلاط گونه‌های تاس ماهیان که در گذشته بین گونه‌ها رخ داده است هم ممکن است

- 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., Gessener, 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: Holčík,

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.

نتیجه‌گیری: به‌عنوان نتیجه‌گیری 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 نوکلئوتیدی امکان پذیر نمی‌باشد و نیازمند تحقیقات بیش‌تری در زمینه یافتن نشانگرهای 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>.