بررسی کاربرد توالی‌یابی ناحیه کنترلی DNA (D loop) میتوکندریایی در مطالعه تنوع ژنتیکی جمعیت‌های تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus* Borodin, 1897) دریای خزر

سجاد نظری*[۱]، محمد پورکاظمی[۲]، مجیدرضا خوش خلق[۳]

s.nazary@areeo.ac.ir

۱- مرکز تحقیقات ژنتیک و اصلاح نژاد ماهیان سردآبی شهید مطهری یاسوج، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، یاسوج، ایران
۲- موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران
۳- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دانشگاه گیلان، گیلان، ایران، صندوق پستی ۱۱۴۴

تاریخ دریافت: اسفند ۱۳۹۷ تاریخ پذیرش: دی ۱۳۹۸

چکیده

هدف از تحقیق حاضر بررسی تعیین ساختار ژنتیک جمعیت تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) دریای خزر با روش توالی‌یابی قطعه ناحیه کنترلی DNA میتوکندریایی بود. برای این منظور، تعداد ۴۵ نمونه باله تاسماهی ایرانی از آب‌های ساحلی مناطق مختلف دریای خزر جمع‌آوری گردید. ناحیه کنترلی با استفاده از روش PCR تکثیر و توالی‌یابی با استفاده از روش استاندارد انجام پذیرفت. تعداد ۱۲هاپلوتیپ متفاوت در بین نمونه‌های بررسی شده، مشاهده گردید. تنوع هاپلوتایپی و نوکلئوتیدی در نمونه‌ها به‌ترتیب برابر با ۰/۰۳۷ ± ۰/۷۹۵ و ۰/۰۰۴۶ ± ۰/۰۰۶۲ بدست آمد. بیشترین تعداد هاپلوتایپ (۷ عدد) در بین نمونه‌های رودخانه سفیدرود بود که از این تعداد ۳ هاپلوتایپ A، B و E اختصاصی بوده و در سایر مناطق مشاهده نشدند. نتایج تجزیه و تحلیل شاخص تثبیت (F_{ST}) بر اساس روش دوپارامتری و آنالیز واریانس مولکولی (AMOVA) نشان داد که نمونه‌های رودخانه سفیدرود با نمونه‌های مناطق روسیه و آذربایجان اختلاف معنی‌داری دارند ($P < ۰/۰۰۱$) و در نهایت وجود سه جمعیت شناسایی گردید. با توجه به تنوع بالای موجود در ناحیه کنترلی، توالی این ناحیه می‌تواند به عنوان یک نشانگر مناسب برای شناسایی و تعیین واحدهای حفاظتی و مدیریتی ذخایر جمعیت‌های احتمالی تاسماهی ایرانی به کار گرفته شود و همچنین می تواند اطلاعات ارزشمندی از کاربرد روش‌های مولکولی را به منظور ژنتیک حفاظت این گونه ارائه نماید.

لغات کلیدی: تاسماهی ایرانی، *Acipenser persicus*، توالی یابی، DNA میتوکندریایی، دریای خزر

*نویسنده مسئول

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-22]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1399.29.1.1.9]

مقدمه

تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) یکی از گونه-های با ارزش تاسماهیان می‌باشد که عمدتا در بخش جنوبی دریای خزر پراکنش داشته و در گذشته در رودخانه‌های سفیدرود، ولگا، اورال و کورا به صورت طبیعی تخم‌ریزی می‌نمود (Billard and Lecointre, 2001). گزارش‌های متعدد نشان داده است که ذخایر این گونه در بخش‌های شمالی و مرکزی دریای خزر بشدت کاهش یافته است (توکلی و همکاران، ۱۳۸۹). در حال حاضر، با توجه به ذخایر مشترک تاسماهی ایرانی و اهمیت حفظ ذخایر ژنتیکی نژاد بومی ایران و همچنین موضوع تجارت بین‌المللی خاویار زیر نظر کنوانسیون نظارت بر تجارت گونه‌های در حال انقراض[1]، ضروری است تا نشانگر مولکولی تفکیک جمعیت‌های احتمالی این گونه با ارزش برای هر یک از رودخانه‌های مهم حاشیه خزر بویژه در سفیدرود و نمونه‌های محدوده آب‌های روسیه، آذربایجان و قزاقستان مورد بررسی قرار گیرد (Vecsei and Artyukhin, 2001).

نشانگرهای mtDNA به دلایل متعددی از جمله کوچک بودن اندازه، ژن‌های حفاظت شده و جهش بالا به طور گسترده‌ای در مطالعات ژنتیکی جمعیت جانوران بکار برده می‌شوند. همچنین به دلیل اینکه mtDNA هاپلوئید بوده و از یک والد به ارث می‌رسد، اندازه جمعیت آن یک چهارم DNA هسته‌ای می‌باشد (Johnson *et al.*, 2018; Khoshkholgh and Nazari, 2019). امروزه مطالعات گسترده‌ای با استفاده از منطقه کنترلی (D mtDNA loop) در تاسماهیان مختلف منتشر شده و نشان داده‌اند، ساختارهای شجره‌شناسی جغرافیایی (فیلوژنتیک) گونه‌های نزدیک به یکدیگر و همچنین ساختار ژنتیکی جمعیت‌های مختلف ماهیان را می‌توان به کمک توالی یابی منطقه کنترلی تعیین نمود (Roques *et al.*, 2018; Waldman *et al.*, 2019).

تاکنون چندین مطالعه در خصوص ساختار ژنتیک جمعیت تاسماهی ایرانی دریای خزر با استفاده از روشهای مختلف فیزیولوژیک و شاخص‌های سرم خون (پروانه، ۱۳۷۳؛ بیک دوردی، ۱۳۷۶) و همچنین روش‌های ژنتیک مولکولی نظیر mtDNA-RFLP (عطائی،۱۳۸۱؛ Rezvani Gilkolaei and Skibinski, 1999)، توالی‌یابی (چکمه دوز قاسمی و همکاران، ۱۳۹۳) و ریزماهواره[2] انجام پذیرفته است (خوش خلق، ۱۳۸۵، پورکاظمی، ۱۳۸۷؛ Khoshkholgh *et al.*, 2013; Moghim *et al.*, 2012). برای مثال، عطائی (۱۳۸۱) ساختار ژنتیکی جمعیت‌های تاسماهی ایرانی سواحل جنوبی دریای خزر را با استفاده از روش‌های PCR-RFLP و مورفولوژیک مورد مطالعه قرار داد و به رغم تنوع مشاهده شده، اختلاف معنی‌داری در نمونه‌های مناطق جنوب شرقی و غربی دریای خزر مشاهده نگردید. خوش خلق (۱۳۸۵) و پورکاظمی (۱۳۸۷) در بررسی ساختار ژنتیکی تاسماهی ایرانی با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره نشان دادند، تاسماهی ایرانی دارای سه جمعیت رودخانه سفیدرود، ناحیه سه شیلاتی و ترکمنستان می‌باشد. همچنین چکمه دوز قاسمی و همکاران (۱۳۹۳) جمعیت‌های تاسماهی ایرانی را در مناطق جنوب دریای خزر با روش توالی‌یابی منطقه کنترلی بررسی و جمعیت رودخانه سفیدرود را مجزا از سایر مناطق جنوبی عنوان نمود. هدف از تحقیق حاضر استفاده از روش توالی‌یابی بخشی از منطقه کنترلی (۵۰۰ جفت باز) DNA میتوکندریایی تاسماهی ایرانی، به منظور تعیین ساختار ژنتیک جمعیت و تنوع ژنتیکی این گونه در کل مناطق مختلف جنوبی، مرکزی و شمالی دریای خزر می‌باشد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری

بافت نرم باله دمی و پشتی (۲-۳ گرم) ۴۵ تاسماهی ایرانی از مناطق مختلف جنوبی، میانی و شمالی خزر (۸۷-۱۳۸۲)

[1] Convention of International Trade Endangered Species Fauna and Flora (CITES)

[2] Microsatellite

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-22]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1399.29.1.1.9]

استفاده شده است. نمونه‌های بافت باله تاسماهیان بالغ صید شده در بخش جنوبی خزر از صیدگاههای شیلات استان گلستان (ناحیه چهار، ۵ نمونه)، استان مازندران (نواحی سه و پنج، ۵ نمونه)، استان گیلان (ناحیه یک، ۶ نمونه و رودخانه سفیدرود؛ ۷ نمونه) جمع‌آوری و سپس نمونه‌ها در الکل ۹۶٪ فیکس شده و به آزمایشگاه ژنتیک مولکولی موسسه تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر منتقل شدند. نمونه‌های مناطق آذربایجان (۶ نمونه)، قزاقستان (۵ نمونه) و آبهای روسیه (۶ نمونه) نیز در آزمایشگاه ژنتیک مولکولی موسسه موجود بودند و در روش توالی‌یابی منطقه کنترلی میتوکندریایی استفاده گردید.

استخراج DNA

در این بررسی روش استات آمونیوم برای استخراج DNA ژنومی طبق روش استاندارد استفاده گردید (Pourkazemi *et al.*, 2012). کیفیت DNA استخراج شده با روش الکتروفورز افقی (Sambrook *at al.*, 1989) بر ژل آگارز (۰/۹ درصد) و میزان فلورسانس ترکیب اتیدیوم بروماید (Ethidium bromide) جذب شده بوسیله DNA تعیین شد. کیفیت DNA نمونه‌ها با ایجاد باند قوی وضوح بالا و همچنین باندهای بدون اسمیر، آلودگی و شکستگی انجام پذیرفت. برای تعیین کمیت DNA نمونه‌ها پس از کالیبره کردن دستگاه اسپکتروفتومتری (مدل ND1000) با آب مقطر استریل، مقدار جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر و نسبت ۲۸۰/۲۶۰ A به کمک برنامه Nanodrop اندازه‌گیری و ثبت گردید.

شرایط PCR

برای بهینه کردن واکنش ابتدا PCR طبق مراحل ذیل انجام گرفت و سپس با توجه به ارزیابی محصول PCR اقدام به تغییر شرایط گردید. در مرحله اول با مشخص نمودن دامنه حرارتی، بهترین دمای اتصال (Annealing) آغازگرها به رشته الگو بدست آمد و در مرحله بعد جهت تظاهر خوب باندها و حذف باندهای اضافی، غلظت مناسب $MgCl_2$، DNA ژنومی، آغازگر و dNTPs (تهیه شده از شرکت ژن فناوران) بکار گرفته شد. پرایمرهای اختصاصی به کمک نرم‌افزار Gene Runner نسخه ۴.۵.۴۳ از توالی ثبت شده ناحیه کنترلی DNA میتوکندریایی تاسماهی ایرانی در بانک ژن NCBI (Pourkazemi, 1996) طراحی گردید. توالی‌های مربوط به پرایمرهای طراحی شده قطعه حلقه D به شرح ذیل ارائه شده است:

پرایمر ۱: 5'-CCATTAGATGATATACACCA-3' (GC%= 35; T_m= 55 ˚C)

پرایمر ۲: 5'-ATGTCGATGACAAACG-3' (GC%= 43, T_m= 59 ˚C)

ت انجام مراحل PCR و تکثیر قطعه مورد نظر، مقدار ۱۰۰ نانوگرم از DNA استخراج شده، ۱/۲ میکرولیتر از آغازگرها (۲۰پیکومول)، ۰/۷۵ میکرولیتر dNTPs (۱۰ میلی مولار)، به همراه ۰/۲میکرولیتر آنزیم تک DNA پلیمراز (۵U/µ)، ۲/۵ میکرولیتر بافر PCR (۱۰X) و ۱/۵ میکرولیتر $MgCl_2$ (۵۰ میلی مولار) استفاده و در نهایت حجم آن به ۲۵ میکرولیتر رسانده شد. برنامه PCR (دستگاه ترمال سایکلر[1] ساخت شرکت Eppendorf آلمان) به این صورت تعیین شد که واسرشته سازی[2] اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، اتصال در دمای ۵۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه و بسط نهائی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه انجام پذیرفت. محصول PCR در ژل آگارز ۰/۸ درصد با نقطه جوش پایین خالص‌سازی شد و به شرکت ژن‌فناوران و

[1] Thermal cycler
[2] Denaturation

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-22]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1399.29.1.1.9]

تکاپوزیست برای تعیین توالی ارسال گردیدند (تعیین توالی توسط نماینده شرکت ABI در آلمان صورت پذیرفت). به این ترتیب DNA به طور مستقیم در تکه‌های ذوب شده طبق روش استاندارد (Kretz and o'Brein, 1993) با ^{35}S و با استفاده از کیت توالی‌یابی cyclist Taq DNA و پرایمر ۱ به عنوان پرایمر توالی‌یابی در دمای الحاق ۵۵ درجه سانتی‌گراد بکار گرفته شد.

آنالیز آماری

توالی‌های قطعه ناحیه کنترلی DNA میتوکندریایی نمونه‌ها با استفاده از برنامه Clustal W 1.8 همتراز[1] شدند. هاپلوتایپ‌های مربوط به قطعه D DNA میتوکندریایی با استفاده از نرم‌افزارهای آماری مشخص گردیدند. تنوع هاپلوتایپی جمعیت‌ها با استفاده از شاخص Nei و Tajima (۱۹۸۱) اندازه‌گیری شد. شاخص تثبیت F_{ST} (Weir and Cockerham, 1984) و فواصل ژنتیکی بین هاپلوتایپ‌ها (Nei, 1972) بر اساس روش دوپارمتری Kimura (PHYLIP 3.56C; Felsenstein 1995) محاسبه گردید. برنامه آماری MEGA version 4.1 (Kumar *et al.*, 2008)، برای ایجاد ماتریس فاصله انشعاب توالی بین هاپلوتایپ‌ها بکار گرفته شد و همچنین برای ایجاد درخت فیلوژنی به‌روش UPGMA از مدل جانشینی نوکلئوتیدی Jukes-Cantor استفاده گردید. میزان کل نسبت جایگزینی انتقالی/متقاطع[2] (R) بر اساس روش Kumar و همکاران (۲۰۰۸) با استفاده از فرمول ذیل بدست آمد:

$$R = [A*G*k_1 + T*C*k_2]/[(A+G)*(T+C)]$$

k_1: میزان احتمال جانشینی باز پورین و k_2: میزان احتمال جانشینی باز پیریمیدین

الگوی ساختار جغرافیایی با استفاده از AMOVA (آنالیز واریانس مولکولی) برآورد گردید (Excoffier *et al.*, 1992). ساختار جمعیت به وسیله درخت فیلوژنی UPGMA و آزمون مربع کای[3] طبق روش Mont-Carlo با ۱۰۰۰ بار تکرار مورد آنالیز قرار گرفت.

نتایج

در این بررسی محصول PCR قطعه ناحیه کنترلی DNA میتوکندریایی تاسماهی ایرانی، بر ژل آگارز ۰/۸٪ به همراه نشانگرهای ۵۰ جفت بازی، نشان‌دهنده تکثیر قطعه واحدی به طول حدود ۵۰۰ bp بود. محصول PCR که برای توالی‌یابی مورد استفاده قرار گرفت، دارای باندهای قوی و بدون باندهای غیر اختصاصی، دایمر[4] و اسمیر[5] بودند. از مجموع ۵۰۰ جفت نوکلئوتید همتراز شده نمونه‌های مناطق مختلف، ۴۴ جایگاه متغیر در همه توالی‌ها مشاهده گردید. همه جانشینی بازها از نوع انتقالی بودند و هیچگونه حذف یا الحاق[6] مشاهده نشد. ۱۲ ترکیب ترکیب هاپلوتایپ در بین نمونه‌های تاسماهی ایرانی مناطق مختلف دریای خزر مشاهده گردید. تمامی هاپلوتایپ‌ها که بخشی از توالی قطعه ناحیه کنترلی تاسماهی ایرانی بودند، در بانک اطلاعاتی NCBI (FJ364156–FJ364162) ثبت گردیدند.

در بین نمونه‌های مناطق جنوبی دریای خزر و رودخانه سفیدرود ۶ هاپلوتایپ مشخص گردید. تعداد ۵ هاپلوتایپ در نمونه‌های رودخانه سفیدرود مشاهده شدند که از بین آنها سه هاپلوتایپ A، B و E در دیگر مناطق جنوبی دریای خزر مشاهده نشدند. در بین نمونه‌های سه منطقه مرکزی و شمالی دریای خزر نیز تعداد ۶ هاپوتایپ مشاهده شدند که از این تعداد ۵ هاپلوتایپ تنها در نمونه‌های مناطق روسیه، آذربایجان و قزاقستان مشاهده شد که از بین آنها هاپلوتایپ J بین مناطق مذکور مشترک بود و بیشترین فراوانی (۱۱/۱ درصد) را در مناطق خزر میانی و شمالی داشت (جدول ۱).

[1] Align
[2] Transition/transversion
[3] Chi-square analysis
[4] Dimer
[5] Smear
[6] Insertion/Deletion

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-22]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1399.29.1.1.9]

جدول ۱: توزیع هاپلوتایپ‌های قطعه ناحیه کنترلی نمونه‌های تاسماهی ایرانی در دریای خزر

Table 1: Distribution of mitochondrial haplotypes in the Persian sturgeon collections analyzed.

شماره	مناطق/ هاپلوتایپ	قزاقستان	روسیه	آذربایجان	ناحیه ۵	ناحیه ۴	ناحیه ۳	سفیدرود	آستارا	مجموع
۱	A							۱		۱
۲	B							۳		۳
۳	C					۱				۱
۴	D				۳	۲	۳	۱	۲	۱۱
۵	E							۱		۱
۶	F				۲	۲		۱	۳	۸
۷	G			۱			۲		۱	۴
۸	H			۱						۱
۹	I		۱	۳						۴
۱۰	J	۳	۱	۱						۵
۱۱	K	۲	۱							۳
۱۲	L		۳							۳
مجموع		**۵**	**۶**	**۶**	**۵**	**۵**	**۵**	**۷**	**۶**	**۴۵**

آنالیز ساختار ژنتیکی جمعیت

نتایج نشان دادند که بیشترین تنوع هاپلوتایپی مربوط به رودخانه سفیدرود ۰/۰۷۷ ± ۰/۹۴۴ و ناحیه روسیه ۰/۰۴۷ ± ۰/۹۳۶ بودند (جدول ۲). فراوانی هاپلوتایپی نمونه‌های تاسماهی ایرانی رودخانه سفید رود با سایر نمونه‌ها از نظر آماری، اختلاف معنی‌داری دارد ($P <$ ۰/۰۰۰۱). آنالیز مربع کای با روش Mont-Carlo و اختلاف فراوانی هاپلوتایپ‌های ناحیه کنترلی mtDNA نیز این مسئله را تایید می‌نماید. بیشترین اختلاف فراوانی هاپلوتایپی نمونه‌های رودخانه سفید رود در ناحیه جنوبی دریای خزر با ناحیه ۳ (ایزده) بود که از نظر آماری اختلاف معنی‌داری داشت (χ^2 = ۴۲/۸۶ ، $P<$ ۰/۰۰۰۱) (جدول ۳). نتایج همچنین نشان دادند که نمونه‌های منطقه روسیه نیز اختلاف فراوانی هاپلوتایپی زیادی با سایر نمونه‌های سایر مناطق دارد و این اختلاف نیز از نظر آماری معنی‌دار بود ($P<$ ۰/۰۰۰۱) که بیانگر این است که نمونه‌های این منطقه نیز همانند رودخانه سفیدرود از جمعیت‌های متمایز یافته تاسماهی ایرانی هستند و آنالیز مربع کای این مسئله را تایید می‌کند.

نتایج بررسی شاخص تثبیت (F_{ST}) بر اساس روش دوپارمتری Kimura (Felsenstein, 1995) نشان داد بین نمونه‌های تاسماهی ایرانی از ۸ منطقه مختلف دریای خزر تنوع ژنتیکی قابل قبولی وجود دارد و اختلاف معنی‌داری در برخی مناطق مشاهده گردید ($P<$ ۰/۰۰۱). بعد از انجام تست ضریب تصحیح Bonferroni ($P=$ ۰/۰۰۳) نیز برخی از اختلافات موجود بین مناطق نیز معنی‌دار نبودند ولی اختلاف بین نمونه‌های مناطق رودخانه سفیدرود، روسیه، آذربایجان معنی‌دار باقی ماند ($P<$۰/۰۵). بین سایر مناطق، قبل و بعد از تست Bonferroni هیچگونه اختلافی مشاهده نگردید (جدول ۳).

آنالیز واریانس مولکولی (AMOVA) نشان داد که اختلاف معنی‌داری در تاسماهی ایرانی در بعضی از مناطق دریای خزر وجود دارد ($P <$ ۰/۰۰۱) بطوریکه ۶۵/۳۹ ٪ از درصد واریانس در بین نمونه‌های مناطق مختلف بود ($P <$ ۰/۰۰۱) در حالیکه واریانس بین نمونه‌ها و درون جمعیت‌ها ۱۰/۳۸٪ ($P =$ ۰/۰۴۳۲) و ۲۴/۲۳ ٪ نیز در بین جمعیت‌ها بود ($P <$ ۰/۰۰۱).

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-22]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1399.29.1.1.9]

جدول ۲: سطوح تنوع ژنتیکی نمونه‌های تاسماهی ایرانی (تنوع هاپلوتایپی $h \pm S.D$ و تنوع نوکلئوتیدی $\pi \pm S.D$).

Table 2: Levels of genetic diversity within the samples of the Persian sturgeon (h, haplotype diversity; π, nucleotide diversity. Data shown as mean ± standard error.

مناطق	تعداد	تعداد	π	h
آستارا	۶	۳	۰/۰۰۵۹ ± ۰/۰۰۴۴	۰/۷۲۳ ± ۰/۰۲۷
سفیدرود	۷	۵	۰/۰۱۰۲ ± ۰/۰۰۵۱	۰/۹۴۴ ± ۰/۰۷۷
ناحیه ۳ (ایزده)	۵	۲	۰/۰۰۵۲ ± ۰/۰۰۴۸	۰/۶۹۶ ± ۰/۰۲۵
ناحیه ۴ (بندرترکمن)	۵	۳	۰/۰۰۶۲ ± ۰/۰۰۵۶	۰/۷۸۹ ± ۰/۰۳۴
ناحیه ۵ (شیرود)	۵	۲	۰/۰۰۵۷ ± ۰/۰۰۴۶	۰/۷۰۴ ± ۰/۰۲۷
آذربایجان	۶	۴	۰/۰۰۹۲ ± ۰/۰۰۴۳	۰/۸۷۴ ± ۰/۰۳۹
روسیه	۶	۴	۰/۰۰۹۸ ± ۰/۰۰۴۹	۰/۹۳۶ ± ۰/۰۴۷
قزاقستان	۵	۲	۰/۰۰۵۱ ± ۰/۰۰۳۵	۰/۷۰۱ ± ۰/۰۲۷

جدول ۳: مقایسه شاخص F_{ST} (مثلث بالا) سطح معنی‌داری مربع کای (مثلث پایین) در فراوانی هاپلوتایپ‌های ناحیه کنترلی mtDNA در تاسماهی ایرانی

Table 3: Comparison of pairwise F_{ST} values (above diagonal) and pairwise chi-square values (below diagonal) between collections of *A. persicus* examined. Significant numbers were shown with an asterisk.

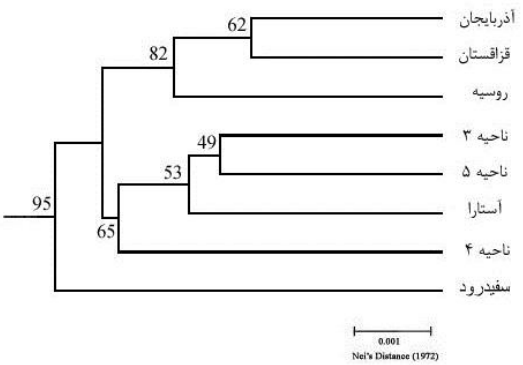
منطقه	آستارا	سفیدرود	ناحیه ۳	ناحیه ۴	ناحیه ۵	آذربایجان	روسیه	قزاقستان
آستارا	-	۰/۲۵۱	۰/۰۹۷	۰/۰۵۴	۰/۰۳۵	۰/۱۷۱	۰/۲۵۱	۰/۱۸۲
سفیدرود	۳۵/۶۰*	-	۰/۲۹۵	۰/۲۱۲	۰/۱۹۲	۰/۲۶۸	۰/۳۱۱	۰/۳۴۲
ناحیه ۳	۸/۳۴ (۰/۱۰۷۳)	۴۲/۸۶*	-	۰/۰۱۲	۰/۰۰۹	۰/۱۳۵	۰/۲۲۸	۰/۱۱۷
ناحیه ۴	۷/۲۱ (۰/۱۱۵۶)	۱۹/۶۵*	۲/۸۶ (۰/۱۶۲۴)	-	۰/۰۲۱	۰/۱۷۸	۰/۲۲۳	۰/۱۱۳
ناحیه ۵	۵/۳۶ (۰/۱۴۵۶)	۲۵/۱۰*	۷/۶۵ (۰/۱۲۲۰)	۴/۱۲ (۰/۱۵۸۹)	-	۰/۱۸۰	۰/۲۴۳	۰/۰۹۱
آذربایجان	۱۴/۲۴ (۰/۰۴۳۱)	۳۸/۱۵*	۲۵/۱۰*	۲۱/۱۸*	۱۲/۶۸ (۰/۰۵۱۰)	-	۰/۱۶۹	۰/۱۱۴
روسیه	۳۴/۴۱*	۵۵/۱۴*	۳۷/۲۰*	۲۹/۱۱*	۳۳/۱۳*	۲۴/۱۵*	-	۰/۱۴۱
قزاقستان	۱۴/۱۱ (۰/۰۶۱۰)	۶۷/۳۳*	۱۲/۱۴ (۰/۰۵۱۴)	۹/۹۸ (۰/۰۹۰۹)	۱۱/۲۱ (۰/۰۶۸۶)	۹/۸۴ (۰/۰۹۹۴)	۱۸/۱۹ (۰/۰۰۰۶)	-

اعداد معنی دار با علامت (*) مشخص شده است.

همچنین ساختار جمعیت به‌وسیله درخت UPGMA، با ۱۰۰۰ بار مورد آنالیز قرار گرفت که نتایج بدست آمده از AMOVA را تایید می‌نماید (شکل ۱). با توجه به درخت فیلوژنتیک مشخص می‌شود که نمونه‌های رودخانه سفید رود در ناحیه جنوبی دریای خزر در یک خوشه جداگانه قرار گرفته است. منطقه آذربایجان، قزاقستان و روسیه در یک خوشه و نمونه‌های مناطق شیلاتی جنوبی دریای خزر نیز در خوشه جداگانه ولی جزء زیر خوشه نمونه‌های سفیدرود قرار گرفتند (شکل ۱).

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-22]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1399.29.1.1.9]



شکل ۱: دندروگرام UPGMA بر اساس فاصله ژنتیکی (Nei,1972) منطقه کنترلی mtDNA در نمونه‌های تاسماهی ایرانی.

Figure 1: An UPGMA tree of the population genetic distances (Nei, 1972) for the mtDNA control region sequence data from Persian sturgeon.

بحث

نتایج بررسی توالی‌یابی ناحیه کنترلی mtDNA تاسماهی ایرانی وجود تنوع نوکلئوتیدی بالایی را در قسمت توالی‌های محافظت شده[1] (CSBs) و همچنین نواحی با جهش‌های نوکلئوتیدی بالا[2] (HVS1 وHVS2) نشان داد. محققین دیگری نیز برای شناسایی جمعیت‌های احتمالی ماهیان خاویاری استفاده از این نواحی را در قطعه ناحیه کنترلی پیشنهاد نمودند (Shedko, 2019; Wirgin *et al.*, 2018). بررسی حاضر وجود ۴۴ جایگاه متغیر و چندشکلی را مشخص نمود و تاکنون نتایج مطالعات ژنتیک جمعیت تاسماهیان نیز مقادیر بالایی از تعداد جایگاههای چندشکلی را در ژنوم mtDNA به اثبات رسانده‌اند (جدول ۴). همچنین با مقایسه نتایج مطالعات مختلف نشان داده می‌شود که هر چه طول توالی قطعه منطقه کنترلی بیشتر باشد، میزان نوکلئوتیدهای پلی‌مورفیک نیز بیشتر است.

در این بررسی هیچگونه حذف یا الحاق در توالی‌های ناحیه کنترلی مشاهده نگردید و انتقال بازهای پورین و پیریمیدین به یکدیگر به صورت A - T ↔ G - C بود. این مسئله می‌تواند نشان‌دهنده خصوصیات ساختاری-عملکردی ناحیه کنترلی ژنوم میتوکندریایی باشد (Cathryn *et al.*, 2005; Barshad *et al.*, 2018). یافته‌های این بررسی نشان داد که فراوانی هاپلوتایپ‌های بدست آمده در مناطق مختلف اختلاف دارند که می‌تواند نشان‌دهنده وجود جمعیت‌های مختلف اکولوژیک این گونه باشد. نتایج آنالیز الکتروفورز سرم خون تاسماهی ایرانی (پروانه، ۱۳۷۳؛ بیک دوردی،۱۳۷۶) و همچنین مطالعات DNA هسته‌ای (پورکاظمی، ۱۳۸۷؛ Khoshkholgh *et al.*, 2013; Moghim *et al.*, 2012) نیز وجود این اختلافات را تایید می‌نمایند. یافته‌های این مطالعه موافق با مطالعات چرخه زیستی این گونه بوده که در بررسی‌های محققین در نمونه‌های شمال دریای خزر نیز (Putilina, and Artyukhin 1985; Lagunova, 2001) به لحاظ مورفولوژیک و پارامترهای مختلف چرخه زیستی نظیر سن رسیدگی بلوغ، اندازه ماهیان مولد و زمان مهاجرت به رودخانه به منظور تخم‌ریزی (لالوئی، ۱۳۷۵) ممکن است از لحاظ ژنتیکی، جمعیت‌های مختلفی از تاسماهی ایرانی در شمال دریای خزر وجود داشته باشد.

[1] Conserved Sequence Blocks
[2] Hypervariable segment

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-22]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1399.29.1.1.9]

جدول ۴: مطالعات جمعیتی انجام شده تاسماهیان با استفاده از قطعه D loop

Table 4: Population genetic studies of sturgeons using mtDNA D loop region.

گونه	نوع روش	تعداد نمونه	اندازه جفت باز	منبع
Acipenser brevirostrum	توالی‌یابی	۲۷۵	۴۴۰	Grunwald *et al.*, 2002
A. brevirostrum	توالی‌یابی	۶۹۱	۵۵۰	Wirgin *et al.*, 2009
A.gueldenstadtii	RFLP	۱۴۵	۱۰۰۴	Pourkazemi *et al.*, 1999
A.oxyrinchus	توالی‌یابی	۲۳	۲۰۳	Ong *et al.*, 1996
A. oxyrinchus	توالی‌یابی /	۱۶۵	۲۲۰	Stabile *et al.*, 1996
A. oxyrinchus	توالی‌یابی	۴۷۷	۲۴۵	Waldman *et al.*, 2002
A.oxyrinchus	توالی‌یابی	۷۳۹	۵۸۰	Grunwald *et al.*, 2008
A. sinensis	توالی‌یابی	۱۰۶	۴۱۹	Zhang *et al.*, 2003
A. schrenckii	توالی‌یابی	۱۱۲	۷۹۶	Shedko *et al.*, 2015
A ruthenus.	توالی‌یابی	۳۲	۲۵۷	Cvijanovic *et al.*, 2015
A. schrenckii	توالی‌یابی	۷۸	۸۱۲	Shedko, 2019
A. persicus	توالی‌یابی	۱۸	۳۱۵	چکمه دوز قاسمی و همکاران،
A. persicus	توالی‌یابی	۴۵	۵۰۰	بررسی حاضر

بررسی توالی نوکلئوتیدی ناحیه کنترلی در نمونه‌های مورد مطالعه ۱۲ هاپلوتایپ را بر اساس تنوع نوکلئوتیدی مشخص نمود. چکمه دوز قاسمی و همکاران (۱۳۹۳) در مطالعه‌ای وجود ۱۳ هاپلوتایپ با میزان تنوع ۰/۹۶۱ را در ۱۸ نمونه تاسماهی ایرانی مشخص نمود. تحقیق حاضر تعداد جایگاههای با تنوع[1] بیشتری را در ناحیه کنترلی تاسماهی ایرانی نسبت به مطالعه چکمه دوز قاسمی و همکاران (۱۳۹۳) مشاهده گردید. همچنین اندازه بزرگتر نمونه‌های بکار گرفته شده در بررسی حاضر می‌تواند بر تنوع نوکلئوتیدی و هاپلوتایپی تاثیرگذار باشد. این مسئله می‌تواند به دلیل اختلاف در اندازه توالی بکار گرفته شده و همچنین جایگاهی از ناحیه کنترلی مورد استفاده برای مطالعه جمعیتی باشد.

مقایسه دو به دویی شاخص F_{ST}، آنالیز واریانس مولکولی و همچنین دندروگرام UPGMA بر اساس فاصله ژنتیکی (شکل ۱)، نمونه‌های تاسماهی ایرانی مناطق رودخانه سفیدرود، روسیه و آذربایجان با سایر مناطق جنوب دریای خزر نشان‌دهنده وجود سه جمعیت مستقل از گونه مزبور در دریای خزر می‌باشد. در نمونه‌های تاسماهی ایرانی در نواحی جنوبی دریای خزر بعد از انجام تست ضریب تصحیح Bonferroni نیز تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد که می‌تواند به دلیل استفاده از نمونه‌های کمتر و یا وجود جریان ژنی به دلیل شرایط یکنواخت سواحل جنوبی دریای خزر از نظر ساختار فیزیکی (Pourkazemi *et al.*, 1999) باشد. یافته‌های سایر محققین مشخص نمود که توالی‌یابی برآورد دقیق‌تری برای مشخص نمودن تغییرات احتمالی بین نوکلئوتیدهای ناحیه کنترلی می‌باشد. همچنین با نشان دادن چندشکلی‌های موجود در این ناحیه با استفاده از توالی‌یابی منطقه کنترلی mtDNA مشخص می‌گردد که روش بکار گرفته شده در بررسی حاضر، روشی قوی برای بررسی ساختار جمعیتی در سطوح درون‌گونه ای تاسماهی ایرانی می‌باشد و نتایج سایر محققین نیز یافته‌های این بررسی را برای تاسماهیان تایید می‌نماید (Wirgin *et al.*, 2009; Waldman *et al.*, 2019).

در مطالعه هضم آنزیمی قطعه D loop (عطائی ،۱۳۸۱) میزان F_{ST} در ۳ جمعیت از تاسماهیان ایرانی جنوب دریای خزر، ۰/۰۸۳۷ بدست آمد که در مقایسه با بررسی حاضر تمایز ژنتیکی کمتری وجود داشت و نشان‌دهنده سطح بالای تمایز ژنتیکی ناحیه کنترلی در روش

[1] Variable sites

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-22]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1399.29.1.1.9]

توالی‌یابی می باشد. اگرچه برآورد میزان تمایز ژنتیکی بین نشانگرهای مولکولی متفاوت است ولی این مطالعه مشخص می‌سازد که تنوع موجود در بین نمونه‌های تاسماهی ایرانی باید مورد توجه قرار گیرد. این مطالعه و همچنین نتایج حاصل از PCR-RFLP و توالی‌یابی ناحیه کنترلی (عطائی ،۱۳۸۱؛ چکمه دوز قاسمی و همکاران، ۱۳۹۳) مشخص می‌سازد که حفاظت ژنتیکی جمیت تاسماهی رودخانه سفیدرود به رغم دخالت‌های انسانی که بر این رودخانه اعمال شده است، لازم می‌باشد. همچنین وجود ساختار جمعیتی بدست آمده در این بررسی در نمونه‌های مناطق آذربایجان و روسیه باید در مدیریت شیلاتی تاسماهی ایرانی مد نظر قرار گیرد و با توجه به اینکه جمعیت‌های مناطق خزر شمالی و مرکزی این گونه بشدت کاهش یافته است، باید در مطالعات آینده منشاء این جمعیت‌ها مشخص گردد.

یافته‌های این بررسی بر ضرورت تعیین منشاء ژنتیکی نمونه‌های تاسماهی ایرانی از مناطق دریای خزر در مطالعات آینده با استفاده از ترکیبی از روش‌های توالی‌یابی نسل جدید[1] (NGS) و شناسایی نشانگرهای چندشکلی تک نوکلئوتیدی[2] (SNP) تاکید می‌نماید. علاوه بر این، پیشنهاد می‌گردد که به منظور تفکیک بهتر جمعیت‌های تاسماهی ایرانی دریای خزر نمونه‌برداری از هر یک از رودخانه‌های کشورهای حاشیه دریای خزر انجام شود و با توجه به اهمیت گونه در معرض خطر تاسماهی ایرانی، مطالعات مشترک با کشورهای حاشیه دریای خزر صورت پذیرد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از موسسه تحقیقات بین‌المللی تاس‌ماهیان دریای خزر و دانشگاه گیلان به جهت حمایت‌های علمی، اجرایی و مالی این تحقیق تشکر و قدردانی نمایند. همچنین از مدیریت محترم بخش ژنتیک مولکولی جناب آقای دکتر نوروز فشخامی و کارشناسان محترم آن بخش به دلیل حمایت‌های ارزنده‌شان در طول انجام این تحقیق قدردانی می‌شود.

منابع

بیک دوردی، پ.، ۱۳۷۶. شناسایی پروتئین های سرم خون ماهی قره برون و تعیین درصد آلبومین و گلوبولین های آن با استفاده از روش الکتروفورز با استات سلولز. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه تربیت مدرس. دانشکده علوم دریایی نور، ۱۰۶ صفحه.

پروانه، ا.، ۱۳۷۳. تعیین نژادهای مختلف تاسماهی ایرانی با استفاده از الکتروفورز سرم خون. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه آزاد اسلامی واحد شمال تهران، ۱۱۴ صفحه.

پورکاظمی، م.، ۱۳۸۷. طرح جامع ارزیابی ساختار ژنتیکی تاسماهیان دریای خزر. گزارش نهایی پروژه موسسه تحقیقات شیلات ایران. انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان، ۳۵۴ صفحه.

توکلی، م.، پرافکنده حقیقی، ف.، خوشقلب، م.، کیمرام، ف. و تقوی، ا.، ۱۳۸۹. ارزیابی ذخایر تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) در حوضه جنوبی دریای خزر طی سالهای ۸۸-۸۷. مجله علمی شیلات ایران، ۱(۱۹): ۸-۱. DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110278

چکمه دوز قاسمی، ف.، پورکاظمی، م.، یارمحمدی، م.، حسن زاده صابر، م.، غرقی، ا. و عزیززاده، ل.، ۱۳۹۳. ساختار ژنتیکی و جمعیتی تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) سواحل جنوبی دریای خزر و رودخانه سفیدرود با استفاده از روش توالی یابی DNA. مجله علمی شیلات ایران، ۲۳ (۲): ۲۱-۱۱. DOI: 10.22092/ISFJ.2014.103686

خوش خلق، م. ۱۳۸۵. بررسی تنوع ژنتیکی تاسماهی ایرانی و روسی (*Acipenser persicus* و *Acipenser guldenstaedti*) دریای خزر با استفاده از روش مایکروستلایت. پایان نامه دکترای تخصصی شیلات. دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. ۱۵۰ صفحه.

[1] Next Generation Sequencing
[2] Single Nucleotide Polymorphism

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-22]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1399.29.1.1.9]

عطایی، ف. ۱۳۸۱. بررسی تنوع ژنتیکی تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) در رودخانه سفیدرود با استفاده از روش مولکولی PCR-RFLP روی mtDNA و اطلاعات مورفولوژیکی. پایان نامه کارشناسی ارشد علوم جانوری، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهید بهشتی، ۱۵۷ صفحه.

لالویی، ف. ۱۳۷۵. بررسی چگونگی مهاجرت ماهیان خاویاری به رودخانه های تجن و گرگانرود. مجله علمی شیلات ایران، ۴ (۵): ۳۰-۱۷. DOI:10.22092/ISFJ.1996.116083

Barshad, G., Marom, S., Cohen, T. and Mishmar, D., 2018. Mitochondrial DNA transcription and its regulation: an evolutionary perspective. *Trends in Genetics*, 34:682–692. DOI: 10.1016/j.tig.2018.05.009.

Billard, R., and Lecointre, G., 2001. Biology and conservation of sturgeon and paddlefish. Reviews in Fish Biology and Fisheries, 10: 355–392. Kluwer Academic Publishers, Netherlands.

C**vijanovic, G., Adnadevic, T.B., Lenhardt, M.B. and Maric, S., 2015.** New data on sterlet (*Acipenser ruthenus*) genetic diversity in the Middle and Lower Danube sections, based on mithocondrial DNA analyses. *Genetika*, 47: 1051-1062. DOI: 10.2298/GENSR1503051C.

Excoffier, L., Smouse P.E. and Quattro, J.M., 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics,* 131: 479-49l. DOI: 10.1371/journal.pone.0226326.

Felsenstein, J., 1995. PHYLIP, Phylogeny inference package, version 3.57c. Department of Genetics, SK-50, University of Washington, Seattle.

Grunwald, C., Maceda, L, Waldman, J.R., Stabile, J. and Wirgin, I., 2008. Conservation of Atlantic sturgeon *Acipenser oxyrinchus* oxyrinchus: delineation of stock structure and distinct population segments. *Conservation Genetics*, 9:1111–1124. DOI: 10.1007/s10592-007-9420-1.

Johnson, B., Kemp, B. and Thorgaard, G., 2018. Increased mitochondrial DNA diversity in ancient Columbia River basin Chinook salmon *Oncorhynchus tshawytscha*. *PLoS ONE*, 13: e0190059. DOI: 10.1371/journal.pone.0190059

Khoshkholgh, M., Nazari, S. and Pourkazemi, M., 2013. Population structure of Persian sturgeon (*Acipenser persicus* Borodin, 1897) populations in the southern part of Caspian Sea. *Iranian Journal of Animal Biosystematics*, 9(1): 29-39. DOI:10.22067/ijab.v9i1.33304.

Khoshkholgh, M. and Nazari, S., 2019. The genetic diversity and differentiation of narrow-clawed crayfish *Pontastacus leptodactylus* (Eschscholtz, 1823) (Decapoda: Astacidea: Astacidae) in the Caspian Sea Basin, Iran as determined with mitochondrial and microsatellite DNA markers. *Journal of Crustacean Biology*, 39 (2): 112–120. DOI: 10.1093/jcbiol/ruy113.

Kretz, K.A., and O'Brien. J.S., 1993. Direct sequencing of polymerase chain reaction products from low melting temperature agarose. *Methods in Enzymology*, 218:72–79. DOI: 10.1016/0076-6879(93)18009-2.

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-22]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1399.29.1.1.9]

Kumar, S., Tamura, K. and Nei M., 2008. MEGA3: integrated software for molecular evolutionary genetics analysis and sequence alignment. *Brief Bioinformatics*, 5: 150–163. DOI: 10.1093/bib/5.2.150.

Lagunova, V.S., 2001. Natural reproduction of the Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) in the lower Volga river. In: "Problems of research and sustainable use of marine natural resources". Astrakhan. P.118-124.

Moghim, M., Heist, E.J., Tan, S.G., Pourkazemi, M., Siraj, S.S., Panandam, J.M., Pourgholam, R., Kor, D., Laloei, F. and Taghavi, M.J., 2012. Isolation and characterization of microsatellite loci in the Persian sturgeon (*Acipenser persicus*, Borodin, 1897) and cross-species amplification in four commercial sturgeons from the Caspian Sea. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*,11(3): 548-558.

Nei, M., 1972. Genetic distance between population. *American Naturalist*s, Pp: 283-242.

Nei, M. and Tajima, F., 1981. DNA polymorphism detectable by restriction endonucleases. *Genetic*, 97: 145-163.

Ong, T.L., Stabile, J., Waldman, J.R. and Wirgin, I., 1996. Genetic divergence of Atlantic and Gulf of Mexico sturgeon based on sequence analysis of the mtDNA control region. *Copeia*, 1996: 464–469. DOI: 10.2307/1446867.

Pourkazemi, M. 1996. Molecular and biochemical genetic analysis of sturgeon stocks from the south Caspean sea. Ph. D. thesis. University of Wales. Swansea, UK

Pourkazemi, M., Nazari, S., Khoshkholgh, M.R. and Azizzadeh, L., 2012. Genetic Relationships among Populations of the Persian sturgeon, *Acipenser percicus*, in the south Caspian Sea Detected by Mitochondrial DNA–Restriction Fragment Length Polymorphisms. *Caspian Journal of Environmental Sciences*, 10(2): 215-226.

Pourkazemi, M., Skibinski, D. O and Bearmore, A., 1999. Application of mtDNA D-Loop region for the study of Russian sturgeon population structure from Iranian coastline of the Caspian Sea. *Journal of Applied Ichthyology*, 15: 23-28. DOI: 10.1111/j.1439-0426.1999.tb00199.

Putilina, L.A. and Artyukhin, E.N., 1985. Some features of Persian sturgeon migration in the lower Volga River. *Ibid*, pp. 32-34.

Rezvani Gilkolaei, S. and Skibinski, D.O.F., 1999. Polymerase chain reaction (PCR) and direct sequencing of mtDNA from the ND5/6 gene region in Persian sturgeon *Acipenser persicus* from the southern Caspian Sea. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 1: 23-34. DOI: 10.22092/IJFS.2018.114874.

Roques, S., Berrebi, P., Rochard, E., and Accolas, M., 2018. Genetic monitoring for the successful restocking of species with low diversity: The case of the critically endangered European sturgeon, *Acipenser*

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-22]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1399.29.1.1.9]

sturio. *Biological Conservation*, 221: 91–102. DOI: 10.1002/ece3.5268.

Sambrook, J., Fritsch, E. F. and Maniatis, T., 1989. *Molecular Cloning: a Laboratory Manual*, 2nd edn. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory.

Shedko, S. V., 2019. Causes of the Excess of Frequency of SCH34 Mitotype in Population of Amur Sturgeon *Acipenser schrenckii* (Acipenseridae) Based on the Analysis of Complete Mitochondrial Genomes. *Russian Journal of Genetics*, 55(7): 922–926. DOI: 10.1134/S102279541502012X.

Shedko, S.V., Miroshnichenko, I.L. and Nemkova, G.A., 2015. Mitochondrial DNA sequence variation, demographic history, and population structure of Amur sturgeon *Acipenser schrenckii* Brandt, 1869. *Russian Journal of Genetics*, 51(2): 169–183.

Vecsei P. and Artyukhin E., 2001. Threatened fishes of the world: *Acipenser persicus* Borodin, 1897 (Acipenseridae) *Environmental Biology of Fishes*, 61: 160. DOI: 10.1023/A:1011046303819.

Waldman, J., Alter, S.E. and Peterson, D., 2019. Contemporary and historical effective population sizes of Atlantic sturgeon *Acipenser oxyrinchus oxyrinchus*. *Conservation Genetics*, 20: 167–184. DOI: 10.1007/s10592-018-1121-4.

Weir, B.S. and Cockerham, C.C., 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, 38: 1358–1370. DOI: 10.2307/2408641.

Wirgin, I., Grunwald, C., Stabile, J., and Waldman, J., 2009. Delineation of discrete population segments of shortnose sturgeon *Acipenser brevirostrum* based on mitochondrial DNA control region sequence analysis. *Conservation Genetics*, 11:1011–1024. DOI: 10.10072Fs10592-009-9840-1.

Wirgin, I., Roy, N.K., Maceda, L., and Mattson, M., 2018. DPS and population origin of sub-adult Atlantic sturgeon in the Hudson River. *Fisheries Research*, 207:165–170. DOI: 10.1016/j.fishres.2018.06.004.

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-22]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1399.29.1.1.9]

Application of mitochondrial DNA sequences of the control region in genetic variability of Persian sturgeon (*Acipenser percicus*) Populations from the Caspian Sea

Nazari S.[1*]; Pourkazem M.[2]; Khoshkholgh M.R.[3]

***s.nazary@areeo.ac.ir**

1- Shahid Motahary Cold-water Fishes Genetic and Breeding Research Center, Iranian Fisheries Sciences Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization, Yasouj, Iran
2- Iranian Fisheries Sciences Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization, Tehran, Iran
3- Department of Fisheries, School of Natural Resources, University of Guilan, P.O. Box 1144 Sowmehsara, Iran

Abstract

Direct mitochondrial DNA (mtDNA) control region sequencing analysis was used to investigate population genetic structure of Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) in the Caspian Sea. A total of 45 specimens were collected from different locations of the Caspian Sea. mtDNA control region was amplified using PCR. Direct sequencing was performed according to a standard method. The results showed that 12 haplotypes were observed among 45 samples in the method. The highest numbers of haplotypes were observed in the Sefidrud River in which 3 haplotypes A, B and E among them were specific for the river and were not observed in the other locations. The average haplotype diversity (*h*) and nucleotide diversity (π) were 0.795±0.037 and 0.0062±0.0046, for control region sequencing, respectively. The results of F_{st} based on kimura- 2 parameters method and analysis of molecular variance (AMOVA) demonstrated that most variations occurred among the samples, and between samples of the Sefidrud and Russia and Azerbaijan are statistically significant ($P<0.0001$). Therefore, three distinct populations including Sefidrud, Russia and Azerbaijan were identified. As mtDNA control region is a highly variable segment, it may be used as a potential marker for identifying populations and for determining their management and conservation units, leading to the useful application of molecular markers in investigating conservation genetics of the Persian sturgeon.

Keywords: *Acipenser persicus*; mitochondrial DNA; genetic variation, Caspian Sea

[*]Corresponding author

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-22]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1399.29.1.1.9]