

## بررسی ساختار ژنتیک جمعیت تاسماهی روسی (*Acipenser gueldenstaedtii*) شمال خزر (رودخانه ولگا) و خزر جنوبی (آبهای ایران و ترکمنستان) با استفاده از روش میکروستلایت

مجید رضا خوش خلق<sup>(۱)\*</sup>؛ محمد پورکاظمی<sup>(۲)</sup>؛ ابولقاسم کمالی<sup>(۳)</sup> و سهراب رضوانی<sup>(۴)</sup>

majidrezagu@yahoo.com

۱- دانشکده منابع طبیعی دانشگاه گیلان، صومعه سرا، صندوق پستی: ۱۱۲۴

۲- انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان، رشت صندوق پستی: ۳۴۶۴-۳۱۶۳۵

۳- دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی، گرگان صندوق پستی: ۴۵۱۶۵-۳۸۶

۴- موسسه تحقیقات شیلات ایران، تهران صندوق پستی: ۱۴۱۵۵-۶۱۱۶

تاریخ پذیرش: آبان ۱۳۸۶

تاریخ دریافت: آبان ۱۳۸۵

### چکیده

در این مطالعه ساختار ژنتیک جمعیت تاسماهی روسی دریای خزر با استفاده از روش میکروستلایت مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور تعداد ۲۸ نمونه از مولدین تاسماهی روسی از رودخانه ولگا (در جوار کارگاه تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری برتولسکی، آستراخان - روسیه) و ۴۲ نمونه از خزر جنوبی (آبهای ایران و ترکمنستان) جمع‌آوری و سپس ۲ گرم از باله دمی آنها در الکل اتیلیک ۹۶ درصد قرار داده شد و به آزمایشگاه ژنتیک مولکولی انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان (رشت) انتقال داده شد. DNA ژنومی با استفاده از روش فنل - کلروفرم استخراج گردید. کمیت و کیفیت DNA با استفاده از روش اسپکتروفتومتری و الکتروفورز ژل آگارز تعیین گردید. واکنش زنجیره پلیمرز (PCR) با استفاده از ۸ جفت آغازگر میکروستلایت صورت گرفت و محصول آن روی ژل پلی‌اکریل آمید ۶ درصد الکتروفورز و سپس با نیترات نقره رنگ‌آمیزی شد. پس از شمارش و اندازه‌گیری آلل‌ها، کلیه پارامترهای ژنتیک جمعیت با استفاده از برنامه GenAlex محاسبه و رابطه فیلوژنی بین نمونه‌ها با استفاده از نرم‌افزار TFGA رسم گردید. در این بررسی حداقل ۱۰ و حداکثر ۲۱ آلل در هر لوکوس مشاهده شد و میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده بین ۰/۵۰ تا ۰/۹۶ و مورد انتظار بین ۰/۷۴ تا ۰/۹۰ و بطور میانگین ۰/۶۸ بود. میزان تعادل هاردی واینبرگ در بین نمونه‌ها در جایگاه Ls-19, Ls-39 در تعادل و در سه جایگاه دیگر انحراف از تعادل را نشان دادند. شاخص Fst بین نمونه‌های ولگا و خزر جنوبی ۰/۰۳ و میزان شباهت بین نمونه‌ها در حد ۰/۶۶ و فاصله ژنتیکی در حد ۰/۴۱ بود. نتایج این بررسی نشان داد که بین نمونه‌های تاسماهی روسی مناطق مختلف خزر جنوبی اختلاف معنی‌داری وجود ندارد ( $P > 0.05$ ) ولی بین نمونه‌های تاسماهی روسی خزر جنوبی با تاسماهی روسی رودخانه ولگا اختلاف معنی‌داری وجود دارد ( $Rst = 0.06, P < 0.01$ ). با توجه به نتایج بدست آمده می‌توان اعلام نمود که احتمالاً جمعیت تاسماهی روسی رودخانه ولگا به مناطق جنوبی دریای خزر مهاجرت نکرده و تاسماهی روسی خزر جنوبی، جمعیت مستقل از تاسماهی روسی رودخانه ولگا را تشکیل می‌دهد.

کلمات کلیدی: میکروستلایت، تاسماهی روسی، *Acipenser gueldenstaedtii*، ژنتیک، دریای خزر، ایران

## مقدمه

ماهیان خاویاری، قدیمی‌ترین ماهیان غضروفی استخوانی می‌باشد که امروزه ذخایر آنها در دریای خزر، سیاه و اکثر اکوسیستم‌های آبی به جهت پاره‌ای از عوامل زیستی و انسانی از بین رفته و کلیه ماهیان خاویاری دریای خزر در فهرست ماهیان در معرض خطر اتحادیه بین‌المللی حفاظت از طبیعت IUCN (IUCN, 1996) و در لیست ضمانت کنوانسیون نظارت بر تجارت گونه‌های در حال انقراض (CITES) قرار گرفته‌اند. امروزه استفاده از نشانگرهای ملکولی DNA از جمله میکروستلایت‌ها یا ریز ماهواره‌ها که متاثر از عوامل محیطی نمی‌باشند در تخمین تنوع ژنتیکی رواج یافته است.

میکروستلایت‌ها، توالی‌های تکراری DNA به طول یک تا شش جفت باز می‌باشند (O'Reilly & Wright, 1995). Wright و O'Connell در سال ۲۰۰۵ مروری بر میکروستلایت‌ها ماهیان انجام دادند و در این مرور، روشهای قبلی و قدیمی را مورد مقایسه قرار داده و در پایان جمع بندی نمودند که روش میکروستلایت به جهت نشان دادن تنوع ژنتیکی بالاتر و جواب دقیق‌تر و همچنین تهیه نقشه ژنومی، کارآیی بالاتری را نسبت به سایر روش‌ها دارد. در بررسی انجام شده توسط Naish و Skibinski در سال ۱۹۹۸ خصوصیات لوسای ۴ نوکلئوتیدی میکروستلایت در ماهی کپور هندی مورد ارزیابی قرار گرفت.

در بررسی انجام شده توسط Dempson و Beacham در سال ۱۹۹۸ تنوع ژنتیکی در ۴ مکان ژنی میکروستلایت سه جمعیت ماهی آزاد اقیانوس اطلس در رودخانه Conne مورد بررسی قرار گرفت. Shaw و همکاران در سال ۱۹۹۹ از دو تکنیک RFLP و Microsatellite جهت ارزیابی جمعیت‌های شگ ماهی اقیانوس اطلس *Clupea harengus* استفاده کردند و نشان دادند که نشانگر Microsatellite برای تعیین جمعیت، بهتر از RFLP بوده ولی اطلاعات کمتری را در مورد سطح اختلاف جمعیت‌ها ارائه می‌دهد. Wolf و همکاران در سال ۱۹۹۹ در تمایز گونه‌های تاسماهی از روش PCR-RFLP استفاده نمودند و توانستند گونه‌های متعلق به جنس *Huso* و *Acipenser* را بخوبی از هم جدا کنند ولی در جداسازی تاسماهی روسی از ایرانی ناموفق بودند.

Ludwig و همکاران در سال ۲۰۰۰، در مقایسه تنوع ژنتیکی نمونه‌های *Acipenser sturio* در مناطق مختلف آلمان و نمونه‌های *A. oxyrinchus* مربوط به سواحل نیوجرسی اقیانوس اطلس با استفاده از توالی ناحیه D-Loop، در سه هاپلوטיפ

مختلف mtDNA هتروپلاسمی را در هیچ کدام از گونه‌ها پیدا نکردند. McQuown و همکاران در ۲۰۰۰ تعداد ۲۵۰ جفت آغازگر را در جنس *Acipenser* و *Scaphirhynchus* طراحی کردند. Zhao و همکاران در سال ۲۰۰۵ به مطالعه تغییرپذیری مولدین تخم‌ریز تاسماهی چینی (*Acipenser sinensis* Gray) طی ۳ سال نمونه‌برداری در رودخانه یانگ تسه در ۴ مکان ژنی میکروستلایتی پرداختند ولی تمایز ژنتیکی مشخصی در بین نمونه‌هایی که طی سالهای متفاوت جمع‌آوری شده بود، مشاهده نکردند.

اولین مطالعه مولکولی ساختار ژنتیکی تاسماهیان جنوب دریای خزر توسط Pourkazemi در سال ۱۹۹۶ انجام گرفت. مطالعات بعدی در زمینه ساختار ژنتیکی ماهیان خاویاری و نشانگرهای مولکولی برای شناسایی خاویار توسط Rezvani Gilkolai در سال ۱۹۹۷ صورت پذیرفت. ساختار ژنتیک جمعیت تاسماهی روسی در سواحل ایرانی جنوب دریای خزر با استفاده از ژن D-Loop میتوکندری و روش PCR-RFLP توسط Pourkazemi و همکاران در سال ۱۹۹۹ مورد مطالعه قرار گرفت و توانستند دو ژنوتیب A و B از تاسماهی روسی در آبهای ایران را شناسایی نمایند. عطایی در سال ۱۳۸۱ با استفاده از روش PCR-RFLP در مطالعه تنوع ژنتیکی تاسماهی ایرانی در رودخانه‌های سفید رود و مقایسه آن با نمونه‌های جنوب شرقی و غربی خزر، جمعیت همگنی را مشاهده کرد. قاسمی در سال ۱۳۸۲ به مقایسه تنوع ژنتیکی ماهی شیب در سواحل جنوب دریای خزر و رودخانه اورال با استفاده از روش PCR-RELP پرداخت و نشان داد که جمعیت ماهی شیب این دو منطقه با هم متفاوت می‌باشد. شعبانی در سال ۱۳۸۴ تنوع ژنتیکی مولدین ماهی ازون برون را در بخش شمالی رودخانه ولگا و بخش جنوبی دریای خزر با روش PCR-RELP با استفاده از دو ژن ND5/6 و D-Loop میتوکندری مورد بررسی قرار داد که در مجموع بترتیب ۳۰ و ۱۸ هاپلوטיפ مختلف در بین ۱۲۰ نمونه ماهی مشخص نمود و نشان داد که ذخایر ماهی ازون برون در دریای خزر از جمعیت‌های مختلفی تشکیل یافته است. صفری (۱۳۸۵) در مطالعه میکروستلایتی ماهی شیب (*Acipenser nudiventris*) در سواحل جنوبی دریای خزر و رودخانه اورال ضمن تفکیک جمعیت اورال و جنوب و مشاهده اختلاف بین سفید رود و سایر نواحی جنوب، تنوع ژنتیکی بالایی را در سواحل جنوبی دریای خزر مشاهده کرد.

DNA با استفاده از روشهای اسپکتروفتومتری و الکتروفورز ژل آگارز تعیین گردید. برای تعیین تنوع ژنتیکی در تاسماهی روسی از هشت آغازگر میکروستلایت استفاده شد. واکنش PCR در یک حجم ۲۵ میکرولیتری انجام گرفت (جدول ۱).

تکنیک جایگاهها در دستگاه ترموسایکلر (Ependorf gradient) با شرایط ۶۴ درجه سانتیگراد برای ۴ دقیقه واسرشت شدن اولیه، ۹۴ درجه سانتیگراد ۳۰ ثانیه، ۵۱ تا ۶۲ درجه سانتیگراد ۳۰ ثانیه، ۷۲ درجه سانتیگراد ۲۵ ثانیه با تعداد ۲۵ سیکل و یک بسط نهایی ۷۲ درجه سانتیگراد برای ۵ دقیقه انجام گرفت. قطعات تکثیر شده (محصول PCR) روی ژل پلی آکریل آمید ۶ درصد جدا سازی شده و پس از رنگ آمیزی با نیترات نقره با استفاده از نرم افزار Biocap طول قطعات محاسبه گردید.

آنالیز تنوع جمعیتها در جایگاههای میکروستلایتی شامل تعداد آللها در هر لوکوس، دامنه اندازه آللها، تعداد ژنوتیپها و میزان تنوع در هر جمعیت و لوکوس، فراوانی آللی، هتروزیگوتی مورد انتظار و مشاهده شده، تعادل هاردی واینبرگ و شباهت و فاصله ژنتیکی (Nei, 1972) با استفاده از نرم افزار GenAlex انجام گرفت. رابطه فیلوژنتیکی بین نمونهها (دندروگرام فاصله ژنتیکی) با استفاده از نرم افزار TFPGA رسم گردید.

با توجه به اینکه تاسماهی روسی دریای خزر از لحاظ ژنتیکی می تواند منشاء متفاوتی داشته باشد که این امر در برنامه ریزی، حفاظت و بهره برداری پایدار از ذخایر بسیار موثر است، لذا این تحقیق با هدف شناسایی ساختار ژنتیکی تاسماهی روسی از خزر جنوبی و رودخانه ولگا (روسیه) صورت گرفت تا در صورت امکان تمایز ژنتیکی و ارتباط فیلوژنی آنها را مشخص نماید.

## مواد و روش کار

نمونه برداری به میزان ۲ گرم از بافت باله ۷۰ نمونه تاسماهی روسی صید شده از رودخانه ولگا (۲۸ نمونه) و خزر جنوبی (شامل نواحی ۱ و ۲ و ۳ شیلاتی و آبهای ترکمنستان) (۴۲ نمونه) انجام گرفت و DNA ژنومی کل با استفاده از روش فنل و کلروفرم استخراج گردید (in Hillis & Mortiz, 1990 cited in Pourkazemi, 1996). در این روش حدود ۱۰۰ میلی گرم بافت باله در بافر STE (Sodium Chloride, Tris, EDTA) به همراه پروتئیناز K به مدت ۲۴ ساعت هضم گردید. خالص سازی با استفاده از فنل و کلروفرم انجام گرفت و پس از رسوب DNA با الکل، در بافر TE (Tris, EDTA) حل گردید. کمیت و کیفیت

جدول ۱: جایگاهها، کد دستیابی، توالی پرایمرهای مورد استفاده و دمای اتصال آغازگرها در آنالیز میکروستلایت تاسماهی روسی

جایگاه ژن	کد دستیابی در بانک ژن	غلظت مواد مصرفی	دمای اتصال (درجه سانتیگراد)
Ls-68	U72739	1mM MgCl <sub>2</sub> , 200μM dNTPs mix, 20pmol each primer and 1U <sub>Taq</sub> DNA polymerase	62
Ls-57	U72736	1.6mM MgCl <sub>2</sub> , 175μM dNTPs, 8pmol each primer and 1 U <sub>Taq</sub> DNA polymerase	61
Ls-19	U72730	1.3mM MgCl <sub>2</sub> , 150μM dNTPs, 10pmol each primer and 1.2U <sub>Taq</sub> DNA polymerase	60
Ls-39	U72734	1.5mM MgCl <sub>2</sub> , 150μM NTPs, 15pmol each primer and 0.75 U <sub>Taq</sub> DNA polymerase	57
Ls-54	U72735	1.5mM MgCl <sub>2</sub> , 220μM dNTPs, 20pmol each primer and 0.75 U <sub>Taq</sub> DNA polymerase	52
Ls-34	U72733	1mM MgCl <sub>2</sub> , 200μM dNTPs, 20pmol each primer and 1U <sub>Taq</sub> DNA polymerase	51
Ls-62	U72738	1.6mM MgCl <sub>2</sub> , 175μM dNTPs, 8pmol each primer and 1 U <sub>Taq</sub> DNA polymerase	60
Ls-69	U72740	1.3mM MgCl <sub>2</sub> , 150μM dNTPs, 10pmol each primer and 1.2U <sub>Taq</sub> DNA polymerase	60

## نتایج

ولگا به جز در جایگاههای Ls-19, Ls-39 انحراف از تعادل هاردی - واینبرگ را نشان دادند ( $P < 0.001$ ).

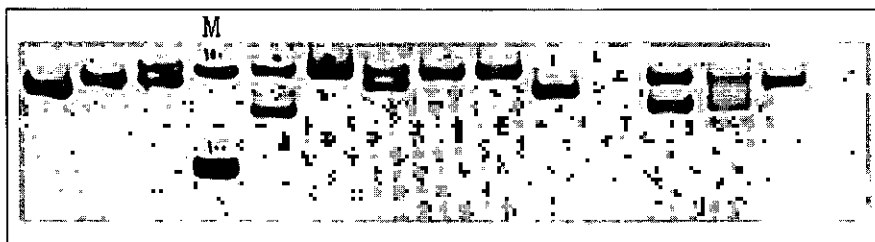
ماتریس فواصل و شباهت ژنتیکی با استفاده از معیار فاصله ژنتیکی (Nei, 1972)، کمترین شباهت میان نمونه‌های مناطق ولگا و خزر جنوبی ۰/۶۶ بود و به عبارت دیگر بیشترین فاصله ژنتیکی میان نمونه‌های مناطق ولگا و خزر جنوبی ۰/۴۱۴ مشاهده شد. برای تعیین احتمال اینکه دو نمونه مورد بررسی از یک جمعیت جمع آوری گردیده یا خیر، از تست Fst (F-statistic) استفاده شد. از آنجایی که اگر مقدار Fst بیشتر از ۰/۲۵ باشد نشان‌دهنده جدایی کامل جمعیتها از یکدیگر است و در هیچ یک از نتایج بدست آمده، Fst به عدد مذکور نمی‌رسد، لذا از عامل دیگری به نام Rst استفاده گردید که معنی‌دار بودن یا نبودن اختلافات را نشان می‌دهد. نتایج بدست آمده از Rst نشان می‌دهد که نمونه‌های منطقه ولگا با نمونه‌های خزر جنوبی در سطح ۹۹ درصد اختلاف معنی‌داری را نشان می‌دهد ( $P < 0.001$ ). میزان شباهت بین نمونه‌ها در حد ۰/۶۶ و فاصله ژنتیکی در حد ۰/۴۱ بود. میزان Fst محاسبه شده برای مناطق نمونه‌برداری ۰/۰۳۱ بوده است. میزان Rst محاسبه شده برای مناطق نمونه‌برداری اختلاف معنی‌داری را نشان داد ( $Rst = 0.06$ ,  $P < 0.01$ ). برای آنالیز ژنتیک جمعیت تاسماهی روسی در خزر جنوبی در سه حالت متفاوت، نمونه‌ها مورد ارزیابی آماری ژنتیکی قرار گرفتند که نتایج آن به شرح زیر بود:

حالت اول: نمونه‌های جمع‌آوری شده از هر یک از مناطق ناحیه ۱، ناحیه ۲ و ناحیه ۳ شیلاتی و همچنین منطقه آبهای ترکمنستان بعنوان نواحی مستقل در نظر گرفته شد (جدول ۴). نتایج نشان می‌دهد که از لحاظ Rst که شاخص تمایز جمعیت می‌باشد اختلاف معنی‌داری بین مناطق مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ).

کیفیت DNA استخراجی پس از بررسی تعیین مقادیر کمی و کیفی آن با روشهای مختلف، جهت انجام واکنش زنجیره ای پلیمرز مناسب بود. از بین ۸ جفت پرایمر استفاده شده در این تحقیق، ۴ جفت شامل آغازگر Ls-19, Ls-34, Ls-39 و Ls-68 ضمن تولید باند DNA، بصورت چندشکلی (پلی مورف) بودند که در این بین آغازگر Ls-68 در دو لوکوس متفاوت تولید باند نمود (شکل ۱).

در میان ۱۵ ترکیب جایگاه - منطقه بیشترین تعداد آلل مشاهده شده در لوکوس Ls-68 و مربوط به خزر جنوبی (۱۵ آلل) و کمترین مقدار آن در جایگاه Ls-34 مربوط به خزر جنوبی (۶ آلل) می‌باشد. بیشترین تعداد آلل موثر در لوکوس دوم جایگاه Ls-68 برای منطقه ولگا (۱۰/۷) و کمترین تعداد آلل موثر در جایگاه Ls-34 خزر جنوبی (۳/۹) می‌باشد. دامنه هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Ho) در بین ترکیبات جایگاه - منطقه ۰/۵۰ تا ۰/۹۶ می‌باشد که بیشترین مقدار آن (۰/۹۶) در جایگاه Ls-39 در منطقه ولگا و کمترین مقدار آن در لوکوس Ls-68 مربوط به خزر جنوبی (۰/۵۰) می‌باشد. دامنه هتروزیگوسیتی مورد انتظار (He) نیز ۰/۷۴ تا ۰/۹۰ است که بیشترین مقدار آن (۰/۹۰) در لوکوس Ls-68 منطقه ولگا و کمترین مقدار آن در جایگاه Ls-34 مربوط به خزر جنوبی (۰/۷۴) می‌باشد (جدول ۲).

مقادیر Ho و He در سطح جایگاه نیز محاسبه گردید. در این میان بیشترین و کمترین He بترتیب مربوط به Ls-19 و Ls-68 بوده و بیشترین و کمترین Ho بترتیب مربوط به Ls-39 و Ls-68 بود (جدول ۳). به منظور بررسی تعادل هاردی واینبرگ در تمامی ترکیبات مختلف جایگاه - جمعیت از آزمون  $\chi^2$  استفاده شد. همانگونه که در جدول ۲ ارائه شده است نمونه‌های خزر جنوبی و



شکل ۱: الگوی محصول PCR تاسماهی روسی با استفاده از جفت پرایمر Ls-68. ستون نشانگر M (برحسب جفت باز) و ستونهای ۱ تا ۱۳ نمونه‌های تاسماهی روسی منطقه ولگا

جدول ۲: مقایسه ساختار ژنتیکی ناسماهی روسی نمونه‌های ولگا با خزر جنوبی

مناطق مورد بررسی		جایگاه آلی
ولگا	خزر جنوبی	
لوکوس Ls-19		
۲۸	۴۲	تعداد نمونه
۸	۹	Na
۴/۹	۴/۹	Ne
۰/۶۴	۰/۸۸	Ho
۰/۷۹	۰/۸	He
۰/۲۳۲	۰/۴۸	Hw
لوکوس Ls-39		
۲۸	۴۲	تعداد نمونه
۱۲	۱۴	Na
۶/۹	۸/۷	Ne
۰/۹۶	۰/۹	Ho
۰/۸۵	۰/۸۸	He
۰/۸۳۲	۰/۸۲	Hw
لوکوس Ls-34		
۲۸	۴۲	تعداد نمونه
۱۰	۶	Na
۶/۳	۳/۹	Ne
۰/۶۷	۰/۵۲	Ho
۰/۸۴	۰/۷۴	He
۰/۰۰***	۰/۰۱۷*	Hw
لوکوس Ls-68		
۲۸	۴۲	تعداد نمونه
۷	۱۰	Na
۶/۱	۶/۷	Ne
۰/۵۹	۰/۵۲	Ho
۰/۸۳	۰/۸۵	He
۰/۰۰***	۰/۰۰***	Hw
لوکوس Ls-68		
۲۸	۴۲	تعداد نمونه
۱۳	۱۵	Na
۱۰/۷	۱۰/۳	Ne
۰/۶۶	۰/۵۰	Ho
۰/۹	۰/۹	He
۰/۰۰***	۰/۰۰***	Hw

مقادیر N: تعداد نمونه، Na: تعداد آلل، Ne: تعداد آلل موثر، He: هتروزیگوسیتی مورد انتظار، Ho: هتروزیگوسیتی مشاهده شده، Hw: احتمال در تعادل هاردی واینبرگ ترکیبات مختلف جایگاه- منطقه ( $P < ۰/۰۵$  و  $P < ۰/۰۰۱$  (\*\*\*)

جدول ۳: مقادیر هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Ho) و مورد انتظار (He) در سطح جایگاهها در کل منطقه مورد بررسی

کلیه مناطق	He	Ho
Ls-19	۰/۸۵۷	۰/۸۸۷
Ls-39	۰/۷۵۰	۰/۹۰۵
Ls-34	۰/۵۹۵	۰/۸۵۹
Ls-68	۰/۳۹۰	۰/۷۹۹
Ls-68	۰/۵۶۱	۰/۸۳۶

جدول ۴: مقادیر Rst برای نواحی ۲، ۱ و ۳ شیلاتی و آبهای ترکمنستان (اعداد بالای قطر P value و پایین قطر Rst را نشان می‌دهد)

نواحی	ناحیه ۱	ناحیه ۲	ناحیه ۳	ترکمنستان
ناحیه ۱		۰/۰۸	۰/۱۱	۰/۱۴
ناحیه ۲	۰/۱۳۵		۰/۳۶	۰/۱
ناحیه ۳	۰/۱	۰/۰۱		۰/۴۱
ترکمنستان	۰/۰۴۳	۰/۰۳	۰/۱	

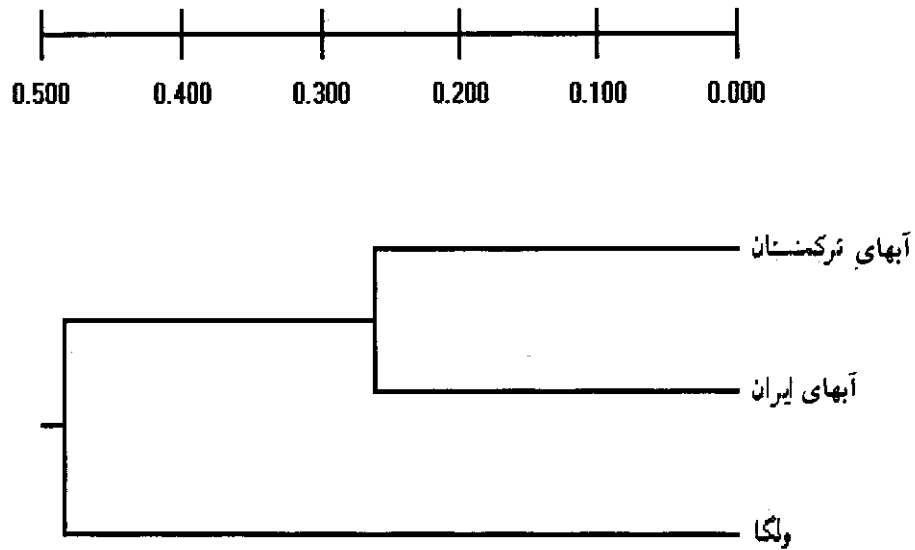
معنی‌داری وجود ندارد و می‌توان نتیجه‌گیری نمود که نمونه‌های بررسی شده تاسماهی روسی در آبهای ایران و ترکمنستان از یک جمعیت تشکیل شده‌اند.

مقایسه ژنتیکی شمال خزر (رودخانه ولگا) و خزر جنوبی (آبهای ایران و ترکمنستان):

نتایج بررسی نشان داد که بین نمونه‌های تاسماهی روسی خزر جنوبی با نمونه‌های تاسماهی روسی رودخانه ولگا اختلاف معنی‌داری وجود دارد ( $p < 0.01$  و  $Rst = 0.063$ ). طبق دندروگرام UPGMA نمونه‌های تاسماهی روسی جمع‌آوری شده در آبهای ترکمنستان و آبهای ایران در یک کلاستر و نمونه‌های ولگا در کلاستر مجزا قرار می‌گیرند (شکل ۲). با توجه به نتایج بدست آمده می‌توان گفت که تاسماهی روسی ولگا جمعیت مستقل از تاسماهی روسی خزر جنوبی را تشکیل می‌دهد.

حالت دوم: نمونه‌های جمع‌آوری شده از مناطق ناحیه ۱ و ۲ شیلاتی در یک گروه و ناحیه ۳ در گروه دوم و ترکمنستان بعنوان یک منطقه مستقل در نظر گرفته شد. بر این اساس میزان Rst بین ناحیه ۱ و ۲ و مقایسه آن با ناحیه ۳ معادل ۰/۲۷ و با منطقه ترکمنستان معادل ۰/۳۱ و میزان Rst بین ناحیه ۲ و ترکمنستان در حد ۰/۳۴ بود. در مقایسه و ارزیابی کلی نتایج نشان داد که از لحاظ Rst که شاخص تمایز جمعیت می‌باشد، اختلاف معنی‌داری بین مناطق مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ).

حالت سوم: نمونه‌های جمع‌آوری شده از نواحی ۱، ۲ و ۳ شیلاتی در یک گروه و نمونه‌های ترکمنستان در گروه جدا در نظر گرفته شدند که در آن میزان  $Rst = 0.085$  بود و اختلاف معنی‌داری بین مناطق مورد مقایسه مشاهده نگردید ( $P = 0.25$ ). با جمع‌بندی سه حالت مختلف بررسی شده می‌توان اعلام نمود که در کل نمونه‌های تاسماهی روسی خزر جنوبی اختلاف



شکل ۲: دندروگرام UPGMA مقایسه ژنتیکی نمونه تاسماهی روسی (براساس معیار Nei, 1972)

## بحث

و نشانگر Microsatellite استفاده کردند و اظهار داشتند هر دو روش سطح بالایی از تنوع ژنتیکی را در ماهیان سواحل اطلس نشان می‌دهد و در نمونه‌های کانادایی تنوع ژنتیکی وجود ندارد. همچنین موتاسیون و تغییرات تکاملی در جایگاههای Microsatellite بیشتر از mtDNA می‌باشد و هر دو آنالیز قادر است بطور واضح جمعیت‌ها را از هم جدا کند ولی آنالیز Microsatellite تفاوت جغرافیایی بین جمعیت‌های سواحل جنوبی آمریکا را به خوبی نشان می‌دهد.

Rodzen و May در سال ۲۰۰۲، تعداد ۹ آغازگر میکروستلایت را برای تاسماهی سفید طراحی و وراثت‌پذیری آنها را با توجه به پلوئیدی بودن این گونه بررسی کردند. Henderson و King در سال ۲۰۰۲ تعداد ۲۱ جفت پرایمر میکروستلایت را برای *Acipenser oxyrinchus* طراحی کردند که بین ۱۸ تا ۱۰۰ درصد تنوع را نشان داد. Zhu و همکاران در سال ۲۰۰۲ در مطالعه تنوع ژنتیکی تاسماهی چینی (*Acipenser sinensis*) ۲۵ پرایمر میکروستلایت تاسماهی دریاچه‌ای و تاسماهی پاروپوزه را استفاده نمودند که ده پرایمر بخوبی تنوع را نشان داد و چهار پرایمر از این تعداد میزان تنوع ژنتیکی بالایی در نمونه‌های

روشهای مطالعه ساختار ژنتیک جمعیت گونه‌های گیاهی و جانوری از دو دهه گذشته روند تکاملی خود را طی می‌کند بطوریکه از پارامترهای مورفومتریکی و مرستیک بتدریج بسوی مطالعات بیوشیمیایی و سپس مولکولی مبتنی بر DNA و mtDNA رشد نمود و امروزه روش میکروستلایت در زمره یکی از روشهای نوین برای مطالعات جمعیت گونه‌های مختلف جانوری و گیاهی از جمله آبزیان قرار می‌گیرد. در بررسی May و همکاران در سال ۱۹۹۷، ۱۱ لوسای میکروستلایت در DNA هسته تاسماهی دریاچه‌ای شناسایی شد و در مقابل با ۶ گونه از تاسماهیان آمریکایی شمالی و دو گونه از پاروپوزه‌ها مورد مقایسه قرار گرفت. در این بررسی ۴ تا ۶ نمونه از هر گونه استفاده شد که ۶ لوسای مشاهده شده بصورت یکسان در ۸ گونه مشاهده گردید و ۳ لوسای باقیمانده در ۲ و ۴ و ۷ گونه مشاهده شد. از ۸ لوسای شناسایی شده در تمامی گونه‌ها یک لوسای در تمامی گونه‌ها مونومورفیک بوده در حالیکه ۷ لوسای دیگر در ۳ گونه از ۸ گونه پلی مورفیک بودند. Wirgin و همکاران در سال ۲۰۰۲ به منظور بررسی جمعیت‌های زیر گونه‌های تاسماهی اطلس از دو تکنیک تعیین توالی mtDNA

اولین مطالعه مولکولی ساختار ژنتیکی تاسماهیان جنوب دریای خزر توسط Pourkazemi در سال ۱۹۹۶ انجام گرفت. ساختار ژنتیک جمعیت تاسماهی روسی در سواحل ایرانی جنوب دریای خزر با استفاده از ژن D-Loop میتوکندری و روش PCR-RFLP توسط Pourkazemi و همکاران در سال ۱۹۹۹ مورد مطالعه قرار گرفت و دو ژنوتیپ A و B از تاسماهی روسی در آبهای ایران شناسایی نمودند که نشاندهنده دو جمعیت مختلف در مناطق شرق و غرب ناحیه جنوبی دریای خزر است. مطالعات گونه‌های خاویاری دریای خزر توسط Rezvani Gilkolaei در سال ۱۹۹۷ انجام شد. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که تفاوت معنی‌داری در جایگاههای ژنی RAPD گروههای فیلهای متعلق به مناطق غرب و شرق دریای خزر وجود دارد. همچنین Rezvani Gilkolaei در سال ۲۰۰۰ با استفاده از ژن ND5/6 جمعیت چالباش را در منطقه بندر ترکمن و سفید رود از هم جدا کرد. قرائی در سال ۱۳۸۰ با استفاده از روش RAPD توانست دو گونه تاسماهی ایرانی و روسی را از هم تفکیک کند. در مطالعه دیگری ساختار ژنتیکی تاسماهی ایرانی در رودخانه سفیدرود با استفاده از روش RFLP مورد مطالعه قرار گرفت ولی اختلاف معنی‌داری با نمونه‌های جمع‌آوری شده در منطقه جنوب شرقی و جنوب غربی دریای خزر مشاهده نگردید. همچنین مقایسه تنوع ژنتیکی ماهی شیب در سواحل جنوبی دریای خزر و رودخانه اورال با استفاده از روش RFLP انجام شده است (قاسمی، ۱۳۸۲).

شعبانی در سال ۱۳۸۴ با انجام بررسی دو ناحیه D-Loop و ND5/6 در روی میتوکندری توانست ازون برون ولگا و حوضه جنوبی خزر را از هم جدا کند. صفری در سال ۱۳۸۵ در بررسی ساختار جمعیتی ماهی شیب سواحل جنوبی خزر و رودخانه اورال سطح بالایی از تنوع (۰/۷۵) با متوسط تعداد آللهای مشاهده شده ۱۰/۸ و موثر ۷/۶ و انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ در ۶ ترکیب از ۱۸ ترکیبات مختلف جایگاه - جمعیت  $P < 0.001$  را در ماهی شیب مشاهده کرد. در بررسی فوق نیز سطح بالایی از تنوع ژنتیکی ( $H_o = 0.85$ ) مشاهده گردید که تاییدی بر قابلیت بالای میکروستلایت می‌باشد. همچنین در بررسی فوق ساختار جمعیتی ماهی شیب سواحل جنوبی خزر و رودخانه اورال، جمعیت رودخانه اورال را از حوضه جنوبی جدا کرده و اعلام کرد که احتمالاً در حوضه جنوبی خزر نیز بیش از یک جمعیت وجود

بالغ رسیده و جوان تاسماهی چینی در رودخانه یانگ تسه را نشان داد. نتایج ژنوتیپ والدین و فرزندان نشان داد که هر چهار لوسای بصورت تترازومیک و تمام آللهای آن از فرزندان مجزا می‌باشد. Smith و همکاران در سال ۲۰۰۲ با استفاده از ۴ لوکوس میکروستلایتی و روش PCR-RFLP به مطالعه ساختار ژنتیکی تاسماهی سفید در شاخه اصلی رودخانه Fraser و یکی از انشعابات فرعی آن، رودخانه Nechko پرداختند. اطلاعات بدست آمده از وجود چهار منطقه جغرافیایی زیستی در رودخانه Fraser (بعلت وجود موانع مهاجرتی تاسماهی سفید) حکایت می‌کرد و مطالعه میتوکندری ۹ ترکیب هاپلوטיפی را نشان داد و تنها بین Nechko و منطقه بالایی Fraser، اختلاف نوکلئوتیدی وجود داشت. دو روش بکار رفته نتایج یکسانی را نشان دادند با این تفاوت که نشانگر میکروستلایت از تنوع بالاتری برخوردار بود. در بررسی که توسط Robles و همکاران در سال ۲۰۰۴ انجام شد خصوصیات ستلایت DNA در خانواده تاسماهیان مورد ارزیابی قرار گرفت و نتایج بررسی فوق نشان داد که در ۱۳ گونه متعلق به جنس تاسماهی و فیلهای و پاروپوزه که همگی متعلق به خانواده تاسماهیان می‌باشند این توالی DNA بصورت حفاظت شده و بدون تغییر مانده یعنی موتاسیونی در آنها صورت نگرفته است. در این بررسی میزان بسیار بالای مناطق حفاظت شده از DNA (بدون موتاسیون) میزان پایین تغییر در توالی و درجه اندک تکامل در میکروستلایت DNA تاسماهیان مشاهده شده است و این نتایج با چگونگی تکامل تاسماهیان مورد ارزیابی قرار گرفته است. Zhao و همکاران در سال ۲۰۰۵، تنوع ژنتیکی تاسماهی چینی (*Acipenser sinensis*) و هتروزیگوسیتی را ۰/۵۴ گزارش کرده و انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ را به وجود آللهای صفر (null) و تلاقی خویشاوندی (inbreeding) نسبت دادند. مطالعات مختلفی در خصوص ساختار ژنتیکی ماهیان خاویاری دریای خزر روی گونه‌های ازون برون و تاسماهی روسی (جمع‌آوری شده از آبهای ایران) با استفاده از روشهای مختلف mtDNA (Mitochondrial) و DNA هسته (Random Amplified Polymorphic DNA) RAPD انجام شده است (Rezvani Gilkolaei, 1997; Hillis & Moritz, 1990; Pourkazemi et al., 1999).



براساس نتایج بدست آمده در این تحقیق مشخص گردید که تاسماهی روسی رودخانه ولگا به مناطق جنوبی دریای خزر مهاجرت نکرده و جمعیت‌های ولگا و خزر جنوبی (شامل نواحی ۱، ۲ و ۳ شیلاتی و آبهای ترکمنستان) از یکدیگر جدا بوده و جمعیت مستقل را تشکیل می‌دهند. نتایج نشان داد از لحاظ ارزیابی روش مولکولی بکار رفته در این بررسی، روش میکروستلایت از توانایی بالایی برای نشان دادن میزان تنوع ژنتیکی در تاسماهی روسی برخوردارست و به رغم فشار صید و کاهش شدید ذخایر این گونه هنوز تنوع ژنتیکی در این ماهی وجود دارد و برای حفظ این تنوع باید برنامه‌ریزی لازم صورت پذیرد. با توجه به اهمیت حفظ ذخایر ژنتیکی این گونه در دریای خزر توصیه می‌گردد تا مطالعات جامع ژنتیکی برای نمونه‌های سایر رودخانه‌ها از قبیل اورال (قزاقستان) و کورا (آذربایجان) صورت گیرد تا با مشخص شدن جمعیت‌های متفاوت این گونه، برنامه جامع حفاظت ذخایر و مدیریت بهره‌برداری پایدار آن به شکل مطلوبی تدوین گردد.

### تشکر و قدردانی

این تحقیق با حمایت مالی موسسه تحقیقات شیلات ایران و دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام گرفت که کلیه مراحل آزمایشگاهی آن در انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان انجام شد. از کلیه افرادی که در اجرا و تکمیل این تحقیق ما را یاری نمودند تشکر و قدردانی می‌نمائیم.

### منابع

شعبانی، ع.، ۱۳۸۴. مقایسه جمعیت‌های مولدین ماهی ازون‌برون در بخش شمالی (رودخانه ولگا) و جنوبی دریای خزر با روشهای مولکولی (PCR-RFLP) و مورفولوژیکی و برخی از نرماتیب‌های تکثیر آن. پایان‌نامه دکتری شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. ۱۲۰ صفحه.

صفری، ر.، ۱۳۸۵. بررسی ساختار جمعیتی ماهی شیب در سواحل جنوبی دریای خزر و رودخانه اورال با استفاده از روش میکروساتلایت. پایان‌نامه کارشناسی ارشد شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. ۱۲۰ صفحه.

دارد و پدیده homing fidelity را در این امر دخیل دانست. طبق نتیجه حاصله از این بررسی نیز احتمالاً جمعیت‌های اورال و ولگا و حوضه جنوبی خزر از یکدیگر جدا می‌باشند و احتمالاً فاصله جغرافیایی در این میان نقش دارد.

در تحقیق حاضر آنالیز ژنتیک جمعیت تاسماهی روسی در خزر جنوبی در سه حالت متفاوت مورد ارزیابی قرار گرفت. در حالت اول ناحیه ۱، ناحیه ۲ و ناحیه ۳ شیلاتی و آبهای ترکمنستان هر کدام بعنوان گروه مستقل در نظر گرفته شد و مشاهده گردید که از لحاظ Rst که شاخص تمایز جمعیت می‌باشد اختلاف معنی‌داری بین مناطق وجود ندارد ( $P > 0.05$ ). در حالت دوم نواحی ۱ و ۲ شیلاتی در یک گروه و ناحیه ۳ در گروه دوم و ترکمنستان بعنوان یک گروه مستقل در نظر گرفته شد و مشاهده گردید که از لحاظ Rst که شاخص تمایز جمعیت می‌باشد اختلاف معنی‌داری بین مناطق وجود ندارد ( $P > 0.05$ ). در حالت سوم نواحی ۱، ۲ و ۳ شیلاتی در یک گروه و ترکمنستان در گروه دوم قرار گرفتند و مشاهده گردید که  $Rst = 0.08$  و  $P = 0.025$  می‌باشد. لذا با توجه به نتایج بدست آمده نتیجه‌گیری می‌شود که در نمونه‌های تاسماهی روسی خزر جنوبی (شامل نواحی ۱، ۲ و ۳ شیلاتی و آبهای ترکمنستان) اختلاف معنی‌داری وجود ندارد و از یک جمعیت تشکیل شده‌اند.

در ارزیابی ژنتیکی تاسماهی روسی دو منطقه مورد بررسی شمال خزر (رودخانه ولگا) و خزر جنوبی (شامل آبهای ایران و ترکمنستان) حداقل ۱۰ و حداکثر ۲۱ آلل در هر لوکوس شناسایی شد و میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده بین ۰/۵ تا ۰/۹۶ و مورد انتظار ۰/۹ تا ۰/۷۴ و بطور میانگین ۰/۶۸ بود. میزان تعادل هاردی - واینبرگ در بین نمونه‌ها در جایگاه LS-39 و LS-19 در تعادل و در سه جایگاه دیگر انحراف از تعادل را نشان داد. ماتریس فواصل و شباهت ژنتیکی با استفاده از معیار فاصله ژنتیکی (Nei, 1972) نشان داد که کمترین شباهت ژنتیکی میان دو منطقه مورد بررسی ۰/۶۶۱ بوده است. در این بررسی میزان Fst محاسبه شده برای دو منطقه مورد بررسی ۰/۳۱ بوده است و چون این مقدار به ۰/۲۵ نمی‌رسد لذا از عامل دیگری به نام Rst استفاده شد. نتایج بدست آمده از Rst نشان داد که نمونه‌های تاسماهی روسی رودخانه ولگا با نمونه‌های تاسماهی روسی خزر جنوبی در سطح ۹۹ درصد اختلاف معنی‌داری را نشان می‌دهند ( $P < 0.05$  و  $Rst = 0.063$ ).

- and *Acipenser*. Trans. Am. Fish. Soc. Vol.129, pp.1380-1388.
- Naish , K.A. and Skibinski, D.O.F. , 1998. Tetranucleotide microsatellite loci for Indian major carp. Journal of Fish Biology. Vol. 53, pp.886-889.
- Nei, M. , 1972. Genetic distance between population. Am. Naturalist. Vol. 106, pp.283-292.
- O'Connell, M. and Wright, J.M. , 2005. Microsatellite DNA in fishes. Reviews in fish Biology and Fisheries. Vol.7, pp.331-363.
- O'Reilly, P. and Wright, J.M. , 1995. The evolving technology of DNA fingerprinting and its application to fisheries and aquaculture. Journal of Fish Biology. Vol. 47 (suppl. A), pp.29-55.
- Pourkazemi, M. , 1996. Molcular and biochemical genetic analysis of sturgeon stock from the South Caspian Sea. Ph.D. thesis, School of Biochemical Sciences, University of Wales, Swan Sea. 260P.
- Pourkazemei, M.; Skibinski, D.O.F. and Beardmore, 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 App. Ichthy. Vol.15, pp.23-28.
- Rezvani Gilkolaei, S. , 1997. Molcular population genetic studies of sturgeon species in south Caspian Sea. School of biological Sciences, University of Wales, Swan Sea. 215P.
- Rezvani Gilkolaei, S. , 2000. Study of mtDNA variation of Russian sturgeon population from the south Caspian Sea using RFLP analysis of PCR amplified ND5/6 gene regions. Iranian Journal of Fisheries Sciences, Vol. 2, pp.13-36.
- قاسمی، ا. ، ۱۳۸۲. مقایسه تنوع ژنتیکی ماهی شیپ در سواحل جنوبی دریای خزر و رودخانه اورال با استفاده از روش PCR-RFLP. پایان نامه کارشناسی ارشد بیولوژی دریا، دانشکده علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس. ۷۴ صفحه.
- قرائی، ا. ، ۱۳۸۰. تشخیص مولکولی گونه تاسماهی ایران و تاسماهی روس با استفاده از روش RAPD. پایان نامه کارشناسی ارشد شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران. ۸۱ صفحه.
- Beacham, T.D. and Dempson, J.B. , 1998. Population structure of Atlantic salmon from the Loner River, New Found Land as determined from microsatellite DNA. Journal of Fish Biology. Vol. 52, pp.665-676.
- Henderson, A. and King, L. , 2002. Novel microsatellite markers for Atlantic sturgeon (*Acipenser oxyrichus*) population delineation and broodstock management. Molecular Ecology Notes. Vol.2, 437P.
- Hillis, D.M. and Moritz, C. , 1990. Molecular taxonomy. Massachusetts, USA. Sinauer Associates.
- IUCN, 1996. Red list categories. Gland. 21P.
- Ludwig, A.N.; Genneckens, I.; De bus, L.; Beeker, J. and Kirschbaum, F. , 2000. Genetic analysis archival specimens of the Atlantic sturgeon (*Acipenser sturio*). Bio. Lnst. Esp. Oceanogra. Vol. 16, pp.181-190.
- May, B.; Krueger, C. and Kincaid, H. , 1997. Genetic variation at microsatellite loci in sturgeon: Primer sequence homology in *Acipenser* and *Scaphirhynchus*. Can. J. Fish. Aquat. Sci. Vol. 24, pp.1542-1547.
- McQuown, E.; Sloss, B.L.; Sheehan, R.J. and May, B. , 2000. Microsatellite analysis of genetic variation in sturgeon (Acipenseridae): New primer sequence for *Scaphirhynchus*

- Robles, F.; Herran, R.; Ludwig, A.; Rejon, C.R.; Rejon, M.R. and Garrido-Ramos, M.A. , 2004. Evolution of ancient Satellite DNAs in Sturgeon genomes. Journal of Gene. Vol. 338, pp.133-142.
- Rodzen, J. and May, B. , 2002. Inheritance of microsatellite loci in White sturgeon Genome. Vol. 45, pp.1064-1076.
- Shaw, P.W.; Turan, C.; Wright, J.M.; O'Connell, M. and Carvalho, G.R. ,1999. Microsatellite DNA analysis of population structure in Atlantic herring with direct comparison at allozyme and mtDNA-RFLP analysis. Heredity. Vol. 83, pp.490-499.
- Smith, C.T. ; Nelson, R.J. ; Pollard, S. ; Rubidge, E. ; McKay, S.J. ; Rodzen, J. ; May, B. and Koop. B. , 2002. Population genetic analysis of white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) in the Fraser river. Journal of Appl. Ichthyol. Vol. 18. No. 4-6, pp.307-312.
- Wirgin, I.; Waldman, J.; Stabile, J.; Lubinski, B. and King, T. , 2002. Comparison mitochondrial DNA control region sequence and microsatellite DNA analyses in estimating population structure gene flow rates in Atlantic sturgeon *Acipenser oxyrinchus*. Journal of Appl. Ichthyol. Vol. 18. No. 4-6, pp.313-319.
- Wolf, C.; Hubner, P. and Luthy, J. , 1999. Differentiation of the sturgeon species by PCR-RFLP: Food Research International. Vol.32, pp.699-705.
- Zhao, N.; Ai, W.; Shao, Z.; Zhu, B.; Brosse, S. and Chang, J. , 2005. Microsatellite assessment of Chinese sturgeon (*Asipenser sinensis* Gray) genetic variability. Journal of Appl. Ichth. Vol. 21, No. 1, pp.7-13.
- Zhu. B.; Zhou, F.; Cao, H.; Shao, Z.; Zhao, N.; May, B. and Chang, J. , 2002. Analysis of genetic variation in the Chinese Sturgeon (*Acipenser sinensis*) estimating the contribution of artificially produced larvae in a wild population. Journal of Appl. Ichthyol. Vol.18, No. 4-6, pp.301-306.

**Investigation on genetic structure of Russian sturgeon  
(*Acipenser gueldenstaedtii*) populations of  
the north (Volga River) and south Caspian Sea  
(coasts of Iran and Turkmenistan)  
using microsatellite techniques**

**Khosh Kholgh, M.R.<sup>(1)\*</sup> ; Pourkazemi, M.<sup>(2)</sup> ; Kamali, A.<sup>(3)</sup>  
and Rezvani Gilkolaie, S.<sup>(4)</sup>**

majidrezagu@yahoo.com

- 1- Faculty of Natural Resources, University of Guilan, P.O.Box: 1144 Somehsara, Iran
- 2- International Sturgeon Research Institute, P.O.Box: 41635-3464 Rasht, Iran
- 3- Agriculture and Natural Resources University, P.O.Box: 45165-386 Gorgan, Iran
- 4- Iranian Fisheries Research Organization, P.O.Box: 14155-6116 Tehran, Iran

Received: October 2006

Accepted: October 2007

**Keywords:** Microsatellite, *Acipenser gueldenstaedtii*, Genetics, Caspian Sea, Iran

### **Abstract**

A total of 28 specimens of adult Russian sturgeon brood fish from the Volga River (Astrakhan, Russia) and 42 specimens from the south Caspian Sea (coastline of Iran and Turkmenistan) were collected. About 2g of fin tissue was stored in 96% ethyl alcohol and transferred to the genetic laboratory of the International Sturgeon Research Institute. Genomic DNA was extracted using phenol-chloroform method. The quality and quantity of DNA was assessed by Agarose gel electrophoresis and spectrophotometry. Polymerase Chain Reaction (PCR) was conducted using eight pairs of microsatellite primers and its products were electrophoresed using 6% polyacrylamid gel followed by silver nitrate staining. Allele sizes were measured in all populations, then genetic parameters were calculated using Gen Alex program and the phylogenetic relationship was determined and drawn using TFGA program. A minimum of 10 and a maximum of 21 alleles were identified per locus and the observed heterozygosity ranged between 0.50-0.96 and the expected heterozygosity was 0.74-0.90 with an average of 0.68. Hardy-Weinberg equilibrium was observed at Ls-19, Ls-39 loci, but showed disequilibrium in other loci. Fst index between Volga and South Caspian Sea samples was 0.031. The genetic similarity and distance was 0.661 and 0.414, respectively. Results of the present investigation indicate that there are no significant differences between the south Caspian Sea Russian sturgeon specimens. However, significant differences were observed between Russian sturgeon specimens from the north and south Caspian Sea ( $R_{st}=0.063$ ,  $P<0.01$ ). Based on the results, we conclude that the population of Russian sturgeon from the Volga River does not migrate to the south Caspian Sea and, therefore the southern Caspian Sea's Russian sturgeon population can be considered as an independent population from the Volga population.

---

\* Corresponding author