






## Male-related genomic investigation of Persian sturgeon (*Acipenser persicus* Borodin, 1897) in the south of the Caspian Sea basin

Omid Jafari<sup>1✉</sup>, Naser Karami-Rad<sup>2</sup>, Maryam Nasrolahpournmoghadam<sup>3</sup> Esmail Abdollahzadeh<sup>4</sup>, Mehrshad Zeinalabedini<sup>5</sup>, Mohammad Hassanzade-Saber<sup>6</sup>, Mohammad Reza Ghaffari<sup>7</sup>, Mahdi Golshan<sup>8</sup>

1. Corresponding author, International Sturgeon Research Institute, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Rasht, Iran. [jaafari.omid@yahoo.com](mailto:jaafari.omid@yahoo.com)
2. Iran Fisheries Organization (IFO), Tehran, Iran. Email: [naser276us@yahoo.com](mailto:naser276us@yahoo.com)
3. Iran Fisheries Organization (IFO), Tehran, Iran. Email: [pournmoghadamm@yahoo.com](mailto:pournmoghadamm@yahoo.com)
4. International Sturgeon Research Institute, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Rasht, Iran. Email: [abdollahzadeh@rocketmail.com](mailto:abdollahzadeh@rocketmail.com)
5. Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran (ABRII), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran. Email: [mzeinalabedini@abrii.ac.ir](mailto:mzeinalabedini@abrii.ac.ir)
6. Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran (ABRII), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran. Email: [saber.meraj@gmail.com](mailto:saber.meraj@gmail.com)
7. Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran (ABRII), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran. Email: [ghaffari@abrii.ac.ir](mailto:ghaffari@abrii.ac.ir)
8. Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Tehran, Iran. [mahdigolshan@yahoo.com](mailto:mahdigolshan@yahoo.com)

### Article Info

#### Article type:

Research Article

#### Article history:

Received 1 April 2026

Received 15 May 2026

Accepted 21 May 2026

#### Keywords:

Effective population size,

Functional genomics,

Genetic diversity,

Molecular marker,

Restocking.

### ABSTRACT

Sexual ratio skew and effective population size reduction are well-known phenomena in species under the threat of extinction. In the present study, for the first time, whole-genome sequencing of 10 wild males of *Acipenser persicus* was used to investigate the genetic diversity of this species. Fin tissues of males *A. persicus* were sampled from Beheshti (Guilan) and Rajaei (Mazandaran) restocking centers. WGS yielded 115,241,304 reads at an average depth of 2.7X. Genomic-based investigation using 1397 SNPs obtained  $H_o$  and  $F_{is}$  of 0.21, 0.20, 0.19 and 0.21 in Guilan and Mazandaran, respectively. Among the two investigated broodstocks, the Beheshti center harbored more private alleles (412) than the Rajaei (360), indicating better genepool enrichment of male *A. persicus* in the south-west of the Caspian Sea.  $F_{st}$  as an index of population segregation obtained 0.09 between Guilan and Mazandaran, which can be an implication for the moderate level of population divergence in males of *A. persicus* between Guilan and Mazandaran provinces. Based on current results, it seems that despite the limited or lack of natural breeding of *A. persicus* over the past decade in the southern Caspian Sea, two genetic groups of this species still inhabit the southern Caspian Sea, with low genetic diversity due to a small effective population size. Hence, increasing the nucleus size in restocking programs and using breeding programs such as factorial breeding can be effective for allelic enrichment and improving genetic diversity.

**Cite this article:** Jafari, O., Karami-Rad, N., Nasrolahpournmoghadam, M., Abdollahzadeh, E., Zeinalabedini, M., Hassanzade-Saber, M., & Ghaffari, M. (2026). Male-related genomic investigation of Persian sturgeon (*Acipenser persicus* Borodin, 1897) in the south of the Caspian Sea basin. *Journal of Aquaculture Sciences*, 14(1), 20-33.



## EXTENDED ABSTRACT

### Introduction

*Acipenser persicus* is one of the five sturgeon species native to the Caspian Sea, more common in the southern Caspian Sea basin. According to the IUCN Red List, this species is critically endangered due to a severe decline in its wild population. Several factors have been cited for the sharp decline in sturgeon populations, such as overfishing, poaching, water pollution, climate change, dam construction, and freshwater loss in riverine systems. Sexual ratio skew and effective population size reduction are well-known phenomena in species under the threat of extinction, all of which can be the main cause for loss of genetic diversity. Genetic tools have been widely used in biological and fisheries sciences for the past four decades with different goals, including quantifying genetic diversity and identifying population structures. Genetic diversity plays a fundamental role in the biodiversity hierarchy, such that the presence of genetic diversity within a species increases its genetic fitness in the face of environmental fluctuations and stresses, leading to higher functional potential during biological bottlenecks. Hence, in the present study, to the best of our knowledge, we used genome sequencing for the first time to investigate the level of genetic diversity and population genomics of male *A. persicus* broodstock in the south of the Caspian Sea.

### Material and Methods

To do this, caudal fin tissues from 10 male *A. persicus* were sampled at the Beheshti and Rajaei sturgeon restocking centers located along the southern coasts of the Caspian Sea. Genomic DNA extraction was done using the phenol-chloroform protocol with some modifications. Quality and quantity assessments of the DNA samples were performed using agarose electrophoresis and a Nanodrop instrument (ND-1000). Paired-end sequencing of whole-genome libraries with 300 cycles was performed on the Illumina NovaSeq X-Plus. Quality control of the raw data was performed using FastQC (<https://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/FastQC>), and after trimming the raw data, the reads were mapped to the available genome reference of *Acipenser ruthenus* using BWA. SNP calling was performed using the samtools pipeline, and the output was filtered for LD pruning and a MAF of 0.05. The Population's package was used to quantify genetic diversity and the inbreeding coefficient, and to estimate the number of private alleles in each investigated group of *A. persicus*. Between-individual genetic distances were estimated using Nei's method and visualized in R using the ggplot2 package. A clustering based on co-ancestry relationships was done using Fineradstructure to illustrate the number of genetic clades in males of *A. persicus* using SNP markers.

### Results

Sequencing generated 115,241,314 reads, with an average of 11M reads per sample. The mean coverage depth and mapping rate of the reads were 2.7x and 92.56 percent, respectively. LD and HWE filtering resulted in 1397 polymorphic SNP markers in the final dataset. Male broodstock of *Acipenser persicus* contained 412 and 360 private alleles in Guilan and Mazandaran provinces, respectively. There were no significant differences between Guilan ( $H_o = 0.21$ ,  $P_i = 0.31$ ) and Mazandaran ( $H_o = 0.20$ ,  $P_i = 0.29$ ) in observed heterozygosity and nucleotide diversity, indices of genetic variation. PCA identified 9 components as major variables accounting for variation among males *A. persicus*, and visualization of genetic diversity using the two first components showed overlap among individuals. Structure-based analyses revealed an admixture structure in male broodstocks of *A. persicus*, with the possibility of classification into two genetic groups. The mean  $F_{st}$ , based on 1397 SNP loci, was 0.09 among male broodstocks of *A. persicus* investigated in the southern Caspian Sea basin.

### **Discussion**

Population identification and the maintenance of genetic diversity are crucial for the long-term persistence of fish populations and species. In the present study, we used 1397 polymorphic SNP markers to investigate the genetic population structure of male *Acipenser persicus* broodstock across the southern Caspian Sea. According to the results of the current study, a small level of genetic diversity was observed in male broodstock of *A. persicus*. Generally speaking, wild populations of sturgeons are experiencing severe declines, leading to a small effective population size, a sex-ratio skew, and, consequently, a loss of genetic diversity. Hence, investigating sex-based genetic diversity seems to be a priority in fishes under the edge of extinction such as sturgeons. The  $F_{st}$  value, as an index of population segregation, indicated that the two investigated males of *A. persicus* are at a moderate level of isolation. Accordingly, an admixture structure was recognized in males of *A. persicus* in the current study. Loss of genetic variability and population breakdown are well-known phenomena in species under restocking without pre-monitoring based on genetic information. Hence, it is highly recommended to monitor the sex-specific genetic population dynamics of *A. persicus* to increase the resilience of this species across the southern Caspian Sea.

### **Acknowledgment**

We hereby express our appreciation to the Iranian Fisheries Science Research Institute and the Iranian Fisheries Organization for their financial support and for providing the laboratory equipment required to conduct the current project.



## ارزیابی ژنومی مولدین جنس نر تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus* Borodin, 1897)

### در حوضه جنوبی دریای کاسپین

امید جعفری<sup>✉</sup>، ناصر کرمی راد<sup>۲</sup>، مریم نصراله پورمقدم<sup>۳</sup>، اسماعیل عبدالله زاده<sup>۴</sup>، مهرشاد زین العابدینی<sup>۵</sup>، محمد حسن زاده صابر<sup>۶</sup>، محمدرضا غفاری<sup>۷</sup>، مهدی گلشن<sup>۸</sup>

۱. نویسنده مسئول، انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران. رایانامه: [jaafari.omid@yahoo.com](mailto:jaafari.omid@yahoo.com)
۲. سازمان شیلات ایران، تهران، ایران. رایانامه: [naser276us@yahoo.com](mailto:naser276us@yahoo.com)
۳. سازمان شیلات ایران، تهران، ایران. رایانامه: [pourmoghaddamm@yahoo.com](mailto:pourmoghaddamm@yahoo.com)
۴. انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران. رایانامه: [abdollahzadeh@rocketmail.com](mailto:abdollahzadeh@rocketmail.com)
۵. پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی ایران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران. رایانامه: [mzeinalabedini@abrii.ac.ir](mailto:mzeinalabedini@abrii.ac.ir)
۶. انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران. رایانامه: [saber.meraj@gmail.com](mailto:saber.meraj@gmail.com)
۷. پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی ایران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران. رایانامه: [ghaffari@abrii.ac.ir](mailto:ghaffari@abrii.ac.ir)
۸. مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران. رایانامه: [mahdigolshan@yahoo.com](mailto:mahdigolshan@yahoo.com)

## اطلاعات مقاله

## چکیده

### نوع مقاله:

مقاله پژوهشی،

### تاریخچه مقاله:

تاریخ دریافت: ۱۴۰۵/۰۱/۱۲

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۵/۰۲/۲۵

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۲/۳۱

### کلیدواژه‌ها:

اندازه جمعیت مؤثر،

بازسازی ذخایر،

تنوع ژنتیکی،

ژنومیکس کاربردی،

نشانگر مولکولی.

تغییر نسبت جنسی و کوچک شدن جمعیت مؤثر از مهم‌ترین نشانه‌ها در گونه‌های در معرض خطر انقراض می‌باشد. در مطالعه حاضر برای اولین بار توالی کل ژنوم ۱۰ نمونه مولد نر وحشی تاسماهی ایرانی برای ارزیابی تنوع ژنتیکی این گونه در حوضه جنوبی دریای کاسپین مورد بررسی قرار گرفت. بافت باله از مولدین تاسماهی ایرانی در دو مرکز بازسازی ذخایر بهشتی (گیلان) و رجایی (مازندران) نمونه‌برداری گردید. توالی‌یابی منجر به تولید ۱۱۵۲۴۱۳۰۴ خوانش با عمق ۲/۷x شد. ارزیابی‌های ژنومی مبتنی بر ۱۳۹۷ نشانگر SNP نشان داد که میزان تنوع ژنتیکی مشاهده شده و درون‌آمیزی در گیلان و مازندران به ترتیب ۰/۲۱، ۰/۲، ۰/۱۹ و ۰/۲۱ می‌باشد. ذخیره ژنتیکی موجود در منطقه گیلان دارای تعداد بیشتری آلل اختصاصی (۴۱۲) نسبت به مرکز بازسازی ذخایر رجایی (۳۶۰) بود که می‌تواند بیانگر خزانه ژنی غنی‌تر تاسماهی نر ایرانی در منطقه جنوب غربی دریای کاسپین است. شاخص  $F_{ST}$  بین دو منطقه ۰/۰۹ بود که بیانگر تمایز ژنتیکی متوسط تاسماهی نر ایرانی بین گیلان و مازندران می‌باشد. به نظر می‌رسد علی‌رغم کمبود و یا عدم تکثیر طبیعی در تاسماهی ایرانی در حوضه جنوبی دریای کاسپین طی یک دهه گذشته، همچنان دو ذخیره ژنتیکی از جنس نر تاسماهی ایرانی در حوضه جنوبی پراکنش داشته ولی از تنوع ژنتیکی پایینی به دلیل جمعیت مؤثر کوچک برخوردارند. از این رو افزایش جمعیت مؤثر در برنامه‌های بازسازی ذخایر و استفاده از برنامه‌هایی مانند تکثیر فاکتوریل می‌تواند در حفظ غنای آلی و بهبود میزان تنوع ژنتیکی مؤثر باشد.

**استناد:** جعفری، امید؛ کرمی راد، ناصر؛ نصراله پورمقدم، مریم؛ عبدالله زاده، ابراهیم؛ زین العابدینی، مهرشاد؛ حسن زاده صابر، محمد؛ و غفاری، محمدرضا (۱۴۰۵). ارزیابی ژنومی مولدین جنس نر تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus* Borodin, 1897) در حوضه جنوبی دریای کاسپین. علوم آبی پروری، ۱۴(۱)، ۳۳-۲۰.



## مقدمه

ماهیان خاویاری به‌عنوان یکی از ارزشمندترین گونه‌های ماهیان پهنه‌های آبی در دنیا مطرح می‌باشند. این ماهیان نه تنها به‌لحاظ تولید خاویار که از ارزش بسیار بالایی برخوردار است، بلکه به‌دلیل تولید گوشت، چرم، کرم‌های آرایشی و سایر محصولات فرعی به‌شدت مورد توجه قرار گرفته‌اند (Bronzi et al., 2019). این ماهیان که به‌عنوان فسیل زنده مطرح بوده، دارای قدمتی بیش از ۲۰۰ میلیون سال می‌باشند و توانسته‌اند طی دوران تکاملی خود را حفظ کرده و به شرایط محیطی جدید سازگاری یابند. سابقه تکاملی بالای ماهیان خاویاری می‌تواند ناشی از قابلیت انطباق‌پذیری بالای این ماهیان باشد که طی تطابق‌های ریخت‌شناختی، فیزیولوژیکی و مولکولی صورت پذیرفته است (Williot et al., 2011). راسته تاسماهی‌شکلان متشکل از دو خانواده Acipenseridae و Polyodontidae بوده که ۲۷ گونه از این ماهیان را در خود جای داده است (Zhang et al., 2013). دریای کاسپین به‌عنوان بزرگ‌ترین دریاچه جهان ۵ گونه از این ماهیان را به نام‌های تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*)، تاسماهی روسی (*Acipenser guldenstaedtii*)، فیلماهی (*Huso huso*)، شیپ (*Acipenser nudiventris*) و ازون‌برون (*Acipenser stellatus*) به‌صورت بومی در خود جای داده و بر اساس لیست قرمز IUCN هر پنج گونه در طبقه به‌شدت در معرض خطر انقراض قرار گرفته‌اند (Gessner et al., 2022). دلایل مختلفی برای افت شدید ذخایر وحشی ماهیان خاویاری در دریای کاسپین و سایر نقاط دنیا مطرح گردیده که از آن جمله می‌توان به موارد زیر اشاره کرد (Moghim et al., 2009; Beridze et al., 2022): صید بیش از حد این ماهیان برای مصارف اقتصادی ناشی از خاویار و گوشت، از بین رفتن مناطق نوزادگاهی و مناسب جهت تخم‌ریزی این ماهیان، کاهش ورودی آب شیرین از رودخانه‌ها و خشک شدن رودخانه‌ها، برداشتهای بی‌رویه شن و ماسه و دست‌ورزی بستر رودخانه‌ها و ورود آلاینده‌های آلی و معدنی که باعث اثرات سوء خود در بلندمدت بر ساختار ژنتیکی و عملکردی این ماهیان شده‌اند. از آنجا که فعالیت تولیدمثلی این ماهیان در طبیعت در سنین بالا (عمدتاً بالای ۱۰ سال) صورت می‌گیرد، بنابراین صید بیش از حد و ورود انواع استرس‌های محیطی اندازه جمعیت مؤثر این ماهیان را با افت شدید مواجه ساخته است.

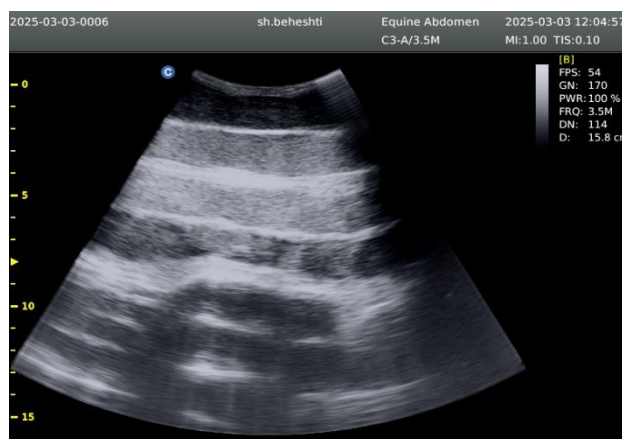
به‌منظور جبران افت شدید ذخایر وحشی ماهیان خاویاری، سازمان شیلات ایران اقدام به اجرای تکثیر نیمه‌طبیعی این ماهیان و رهاسازی بچه‌ماهیان حاصل به رودخانه‌های مورد نظر کرد و در تعامل با کشورهای حاشیه دریای کاسپین صید این ماهیان در دریای کاسپین طی یک دهه گذشته ممنوع اعلام گردید. علی‌رغم برنامه‌های عملی صورت گرفته همچنان روند افزایشی در میزان ذخایر طبیعی این ماهیان مشاهده نشده و روند کاهشی آن حفظ گردیده است. هرچند که عدم مشاهده پیشرفت در ذخایر می‌تواند به دلایلی مانند صید قاچاق این ماهیان مربوط باشد، وجود اطلاعات ژنتیکی از روند تاریخی برنامه‌های بازسازی ذخایر و نیز گله بچه‌ماهیان قبل از رهاسازی می‌تواند تأییدکننده اثر بخشی علمی فعالیت‌های بازسازی ذخایر باشد. اجرای برنامه‌های بازسازی ذخایر نیازمند اطلاعات کافی از همه جوانب زیستی و زیست‌محیطی است. با وجود اینکه چندین سال از اجرای برنامه بازسازی ذخایر ماهیان خاویاری در ایران گذشته است، فقدان اطلاعات ژنتیکی بچه‌ماهیان پیش از رهاسازی به رودخانه و دریا باعث شده که مسائل موجود در رابطه با ارتقای عملکرد بازسازی ذخایر این ماهیان همچنان پیچیده باقی بماند. یکی از مهم‌ترین چالش‌های موجود، عدم وزن‌گیری مناسب بچه‌ماهیان قبل از رهاسازی به رودخانه‌ها می‌باشد. فنوتیپ ماهیان نیز مانند سایر موجودات تحت تأثیر عوامل محیطی و همچنین عوامل ژنتیکی است و کنش این دو عامل برآیند فنوتیپی ماهی را موجب می‌شوند (Prescott et al., 2024). بنابراین اطلاع از معماری ژنتیکی این ماهیان به‌عنوان یکی از عوامل مؤثر می‌تواند باعث اتخاذ تصمیم‌های مدیریتی جدیدی در راستای اجرای هرچه بهتر و دقیق‌تر بازسازی ذخایر ماهیان خاویاری در حوضه جنوبی دریای کاسپین گردد.

ابزارهای ژنتیکی از ۴ دهه گذشته تا به امروز به‌طور گسترده در علوم زیستی و شیلاتی و با اهداف متفاوتی از جمله کمی‌سازی تنوع ژنتیکی و شناسایی ساختارهای جمعیتی مورد استفاده قرار گرفته‌اند (Jafari et al., 2022). تنوع ژنتیکی به‌عنوان پایه‌ای‌ترین اصل در سلسله‌مراتب تنوع زیستی نقش ایفا کرده به‌طوری که وجود تنوع ژنتیکی در یک گونه باعث برآزش ژنتیکی آن موجود در تقابل با نوسانات محیطی و استرس‌های وارده شده و در نتیجه در تنگناهای زیستی از پتانسیل عملکردی بالاتری برخوردار خواهد بود. بنابراین برآورد، کمی‌سازی و برنامه‌ریزی جهت بهبود میزان تنوع ژنتیکی در ذخایر ماهیان خاویاری می‌تواند یکی از مهم‌ترین پارامترهای کلیدی و تأثیرگذار در راستای جلوگیری از انقراض این ماهیان ارزشمند باشد. از آنجا که کوچک‌شدن جمعیت مؤثر و

تغییر نسبت جنسیت پیامدهای ثابت شده به دلیل فشار صید بیش از حد در جمعیت‌های در معرض خطر انقراض هستند، در مطالعه حاضر برای اولین بار با استفاده از داده‌های ژنوم گستر نسبت به تعیین خصوصیات ژنتیکی تاسماهی نر ایرانی در حوضه جنوبی دریای کاسپین اقدام گردید.

## مواد و روش‌ها

**نمونه‌برداری:** به‌طور کلی ۱۰ قطعه مولد نر تاسماهی ایرانی در زمستان ۱۴۰۲ نمونه‌برداری و توالی‌یابی ژنومی شدند. برای جمع‌آوری و ثبت مشخصات هر نمونه، کلیه مولدین نمونه‌گیری شده تگ‌گذاری میکرو (Passive Integrated Transponder) گردیدند. نمونه‌های باله از مولدین دریایی تاسماهی ایرانی موجود در مراکز بازسازی ذخایر بهشتی (گیلان) و رجایی (مازندران) تهیه شد. شایان ذکر است مطالعات فیزیولوژیکی با استفاده از سونوگرافی بیانگر مرحله ۴ رسیدگی جنسی در مولدین مورد بررسی بود (شکل ۱). نمونه‌های بافت باله پس از برداشت در اتانول مطلق تثبیت و جهت انجام مطالعات مولکولی به آزمایشگاه ژنتیک انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاوباری انتقال یافتند.



شکل ۱. بررسی مقطع طولی گناد تاسماهی ایرانی (*A. persicus*) در مطالعه حاضر

**استخراج DNA و بررسی کمی و کیفی DNAهای استخراجی:** به‌منظور استخراج DNA ژنومیک از روش فنول-کلرفرم استفاده شد. به‌طور خلاصه ابتدا به میزان کمتر از ۲۵ میلی‌گرم بافت باله پودر شده و مقدار ۶۳۰ میکرولیتر بافر STE، ۲۰ میکرولیتر بافر SDS و ۵ میکرولیتر آنزیم پروتئیناز K به آن اضافه گردید. سپس میکروتیوب حاوی محلول با استفاده از دستگاه ورتکس به‌خوبی همگن شده و داخل دستگاه بن‌ماری با دمای ۵۵ درجه سلسیوس تا زمان لیز شدن کامل قرار گرفتند. پس از مرحله لیز شدن سلول‌ها، هم حجم محلول، فنول-کلرفرم اضافه شد و محلول پس از همگن شدن با دور ۱۳۰۰۰rpm به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید. سپس فاز رویی جدا شده و با اتانول مطلق سرد DNA ترسیب داده شد و در آب مقطر دوبار تقطیر حل گردید. به‌منظور بررسی کمی و کیفیت DNAهای استخراجی ابتدا با استفاده از دستگاه نانودراپ ND1000 غلظت و چگونگی DNA از نظر آلودگی بررسی گردید. سپس جهت بررسی کیفیت DNA از نظر شدت یکپارچگی و عدم شکستگی از ژل آگارز یک درصد استفاده شد (Pourmoghadam et al., 2019).

**توالی‌یابی و آنالیز داده‌های ژنومی:** پس از استخراج DNA، نمونه‌های DNA به داخل میکروتیوب‌های استریل منتقل و پس از کدگذاری جهت انجام توالی‌یابی ژنومی دو سویه با طول ۱۵۰ جفت باز با استفاده از دستگاه Illumina Novaseq 6000 به خارج از کشور ارسال شدند. خوانش‌های منتج از توالی‌یابی پس از دریافت، با استفاده از بسته FastQC از نظر کیفی مورد بررسی

قرار گرفتند (<https://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/FastQC>). پس از بررسی کیفی و ویرایش بازها بر مبنای کیفیت بالای ۲۰، توالی‌ها به ژنوم مرجع گونه استرالیاد (*Acipenser ruthenus*) در محیط BWA هم‌ردیف شده (Li *et al.*, 2009) و پس از انجام سورتینگ، فراخوانی SNPها بر روی Stacks انجام پذیرفت. از بین نشانگرهای فراخوانی شده، تنها نشانگرهای SNP و براساس فیلترهایی همچون LD و تعادل هاردی واینبرگ حفظ گردید. از بسته نرم‌افزاری Populations به منظور استخراج آماره‌های ژنتیکی از جمله تنوع نوکلئوتیدی، میزان درون‌آمیزی، تنوع ژنتیکی و تعداد آلل‌های تخصصی استفاده شد (Catchen *et al.*, 2013). آنالیز تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (PCA) بر روی نشانگرهای SNP به منظور بررسی پراکنش مولدین تاسماهی ایرانی با استفاده از دو مؤلفه اول (PC1 و PC2) در نرم‌افزار R و بسته ggplot2 به اجرا درآمد (Team, 2019). فواصل ژنتیکی بین مولدین مختلف براساس شاخص Nei با استفاده از VCF2Dis (Xu *et al.*, 2025) و شاخص جدایی جمعیتی بین دو منطقه ( $F_{st}$ ) نیز در نرم‌افزار Genepop (Rousset, 2008) محاسبه گردید. همچنین به منظور مصورسازی تنوع ژنتیکی و بررسی تعداد بهینه خوشه‌های ژنتیکی براساس روابط تباری از Finestructure استفاده گردید (Malinsky *et al.*, 2018).

## نتایج

بررسی کیفیت خوانش‌های به‌دست‌آمده از هر نمونه پس از توالی‌یابی بیانگر کیفیت بالای آنها براساس مقیاس Phred بود و به‌طور میانگین ۹۵/۴ درصد خوانش‌ها کیفیت Q30 داشتند (جدول ۱). در مجموع ۳۴Gb داده DNA به‌دست آمده از کتابخانه‌های ژنومی به‌طور میانگین حاوی ۴۰/۷ درصد بازهای گوانین (G) و سیتوزین (C) در قره‌برون بودند (جدول ۱). تعداد کل خوانش تولید شده در مرحله توالی‌یابی ۱۱۵۲۴۱۳۰۴ با میانگین عمق ۲/۷x بود که به‌طور متوسط ۹۲/۵۶ درصد به ژنوم مرجع هم‌ردیف شدند. میانگین تعداد خوانش برای ژنوم هر مولد تاسماهی ایرانی مورد بررسی ۱۱۵۲۴۱۳۰ ± ۲۲۰۹۷۹/۶۲ به‌دست آمد.

جدول ۱- خصوصیات خوانش‌های خام به‌دست آمده از توالی‌یابی کتابخانه‌های ژنومی در تاسماهی ایرانی

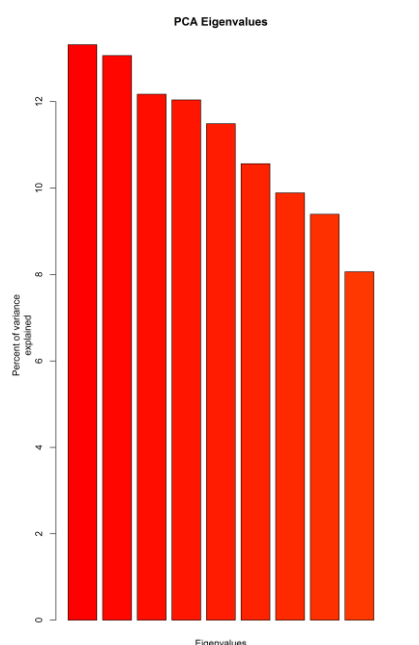
| Sample     | Q30 (%) | GC (%) | Base number (b) | Read number |
|------------|---------|--------|-----------------|-------------|
| Rajaei-1   | ۹۵/۳۳   | ۴۰/۹۱  | ۳۷۲۱۸۵۹۷۹۱      | ۱۲۵۹۲۸۰۲    |
| Rajaei-2   | ۹۴/۸۹   | ۴۲/۲۲  | ۳۱۹۸۳۷۵۸۴۴      | ۱۰۸۳۷۰۰۱    |
| Rajaei-3   | ۹۵/۲۶   | ۴۰/۷۲  | ۳۳۴۹۲۶۱۲۲۵      | ۱۰۹۹۸۳۰۶    |
| Rajaei-4   | ۹۵/۳۷   | ۴۰/۴۰  | ۲۹۸۶۰۵۷۵۸۰      | ۱۰۰۷۹۶۱۸    |
| Rajaei-5   | ۹۵/۲۹   | ۴۰/۵۳  | ۳۴۷۱۴۰۷۷۰۰      | ۱۱۷۳۴۶۳۳    |
| Beheshti-1 | ۹۵/۳۰   | ۴۰/۹۷  | ۳۴۰۰۳۰۱۵۴۲      | ۱۱۴۹۴۹۹۳    |
| Beheshti-2 | ۹۵/۴۰   | ۴۰/۳۳  | ۳۴۱۰۵۹۲۷۲۰      | ۱۱۵۰۷۲۸۱    |
| Beheshti-3 | ۹۵/۵۰   | ۴۰/۳۸  | ۳۶۶۹۲۰۴۹۷۲      | ۱۲۳۰۱۳۹۲    |
| Beheshti-4 | ۹۵/۸۶   | ۴۰/۴۸  | ۳۵۶۰۶۵۶۳۲۹      | ۱۲۰۰۰۹۲۱    |
| Beheshti-5 | ۹۵/۷۳   | ۴۰/۲۸  | ۳۴۸۰۸۶۹۷۲۳      | ۱۱۶۹۴۳۵۷    |

پس از انجام فیلترهای LD و HWE، در نهایت ۱۳۹۷ نشانگر SNP حاوی اطلاعات چندشکلی از ژنوم تاسماهی ایرانی فراخوانی شد. ذخیره مولدین جنس نر تاسماهی ایرانی در دو منطقه گیلان و مازندران به‌ترتیب دارای ۴۱۲ و ۳۶۰ آلل تخصصی بود. نتایج به‌دست آمده از نشانگرهای فراخوانی شده نشان داد که در ماهی قره‌برون بین دو منطقه مورد بررسی تفاوت چشمگیری از نظر میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده وجود نداشته و میزان تنوع ژنتیکی در منطقه گیلان ۰/۲۱ و در منطقه مازندران ۰/۲۰ به‌دست آمد. همچنین آماره تنوع نوکلئوتیدی به‌عنوانی شاخصی از تنوع ژنتیکی در منطقه گیلان و مازندران به‌ترتیب ۰/۳۱ و ۰/۲۹ محاسبه گردید. میزان ضریب  $F_{is}$  در ذخیره مولدین مورد استفاده در منطقه گیلان ۰/۱۹ و در مازندران ۰/۲۱ به‌دست آمد (جدول ۲).

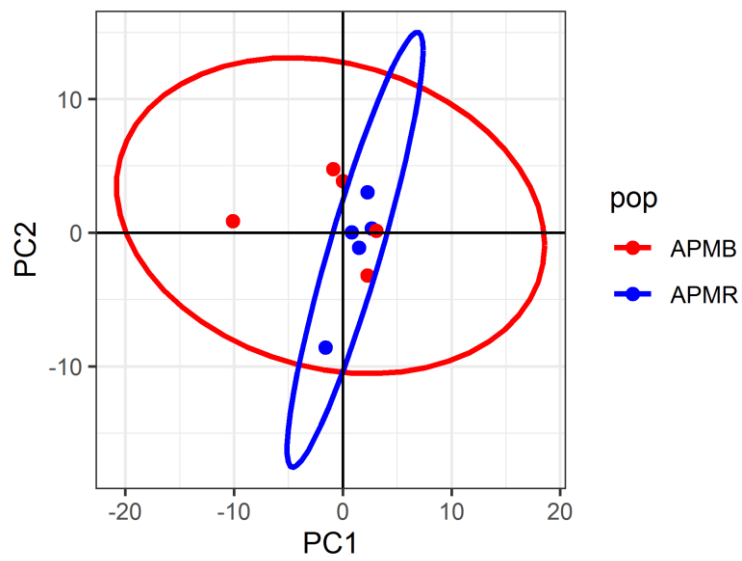
جدول ۲- نتایج حاصل از بررسی برخی آماره‌های ژنتیکی به‌دست آمده از داده‌های GBS در ذخیره مولدین تاسماهی ایرانی

| مازندران  | گیلان     |                          |
|-----------|-----------|--------------------------|
| ۳۶۰       | ۴۱۲       | تعداد آل‌های تخصصی       |
| ۰/۲۰      | ۰/۲۱      | هتروزیگوسیتی مشاهده شده  |
| ۰/۸۰      | ۰/۷۹      | هموزیگوسیتی مشاهده شده   |
| ۰/۲۵      | ۰/۳۷      | هتروزیگوسیتی مورد انتظار |
| ۰/۷۵      | ۰/۷۳      | هموزیگوسیتی مورد انتظار  |
| ۰/۲۹      | ۰/۳۱      | تنوع نوکلئوتیدی          |
| ۰/۲۱±۰/۰۲ | ۰/۱۹±۰/۰۲ | شاخص درون‌آمیزی          |

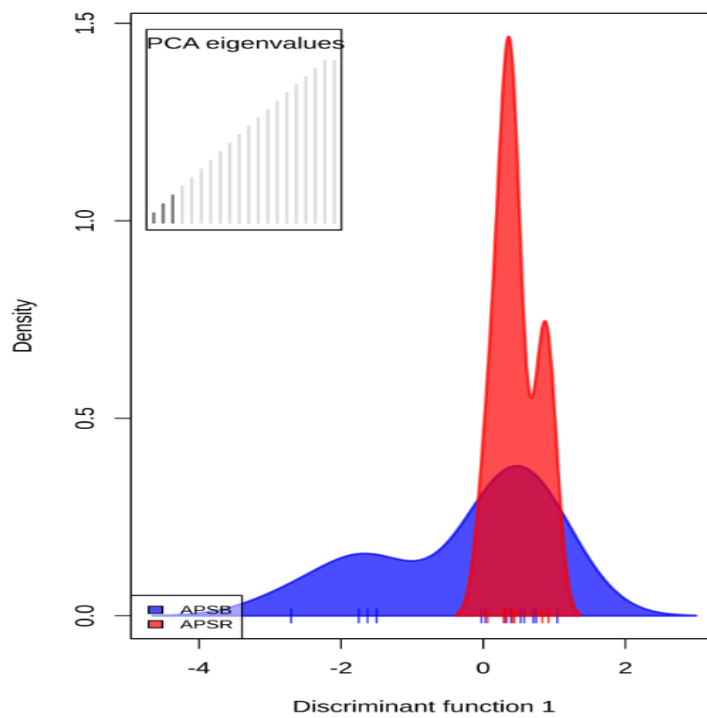
نتایج به‌دست آمده از آنالیز تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (PCA)، ۹ مؤلفه را به‌عنوان اصلی‌ترین عوامل در شناسایی جمعیت‌ها از یکدیگر در ماهی قره‌برون تشخیص داد (شکل ۲). نمودار PCA براساس دو مؤلفه اصلی اول که حاوی ۲۶/۳۷ درصد تغییرات بود، ترسیم گردید (شکل ۳). براساس آنالیز PCA، مشخص گردید که مولدین جنس نر تاسماهی ایرانی از همگنی نسبتاً بالایی برخوردار بوده و تعداد کمی از مولدین به‌عنوان هتروژن نیز شناسایی شدند. همچنین آنالیز DAPC نیز بر مبنای ۱۳۹۷ نشانگر SNP نشان داد که بین دو منطقه در مولدین نر تاسماهی ایرانی همپوشانی نسبی وجود دارد (شکل ۴). میزان فواصل ژنتیکی بین همه مولدین نر تاسماهی ایرانی و براساس شاخص Nei با استفاده از نمودار Heatmap در شکل ۵ نشان داده شده است. همان‌طور که در شکل مشخص است مولدین نر تاسماهی ایرانی در گروه ژنتیکی از یکدیگر قابل بررسی می‌باشند هرچند اختلاف معنی‌داری بین فواصل ژنتیکی ملاحظه نگردید ( $P > 0.05$ ). نتایج حاصل از آزمون admixture نیز به‌خوبی بیانگر ساختار مختلط در ذخیره مولدین جنس نر تاسماهی ایرانی بود و بیشترین سهم توزیع ژنومی را مولدین موجود در مرکز رجایی مازندران از خود نشان دادند (شکل ۶). همچنین میزان شاخص تمایز جدایی جمعیتی ( $F_{st}$ ) بین دو منطقه ۰/۰۹ به‌دست آمد.



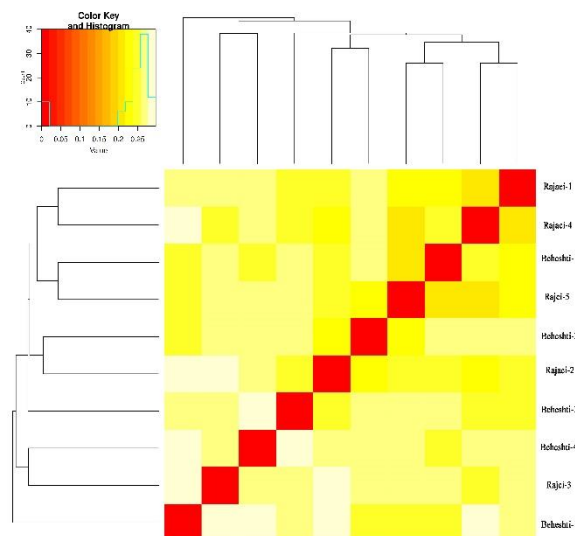
شکل ۲- نمودار حاصل از آنالیز تجزیه به مؤلفه‌های اصلی نشانگرهای SNP به‌دست آمده از توالی‌یابی ژنومی در مولدین نر تاسماهی ایرانی



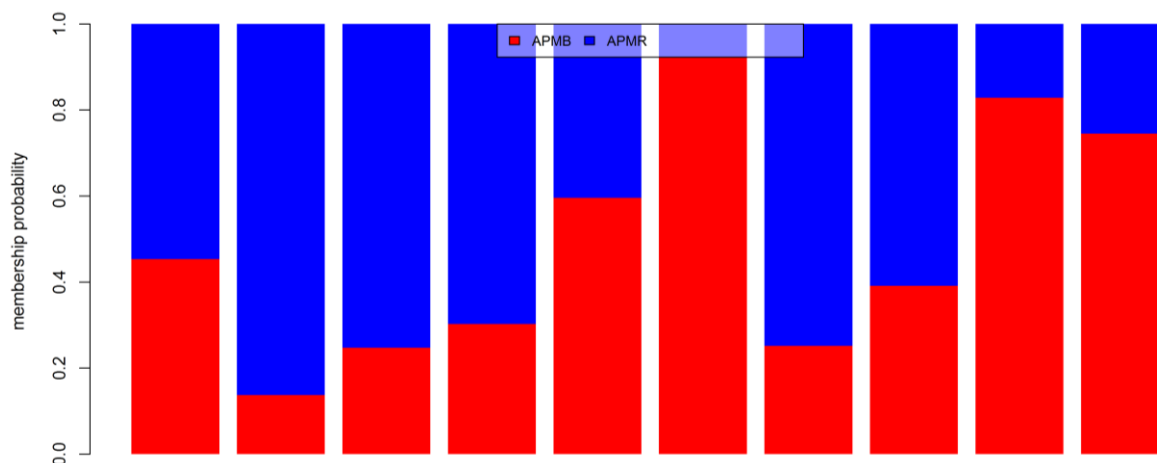
شکل ۳- نمودار پراکنش مولدین نر *Acipenser persicus* مورد مطالعه براساس دو مؤلفه اول PCA



شکل ۴- نمودار پراکنش جمعیت‌های تاسماهی ایرانی *Acipenser persicus* براساس آنالیز DAPC



شکل ۵- ماتریکس فاصله ژنتیکی در مولدین نر تاسماهی ایرانی در حوضه جنوبی دریای کاسپین



شکل ۶- بررسی تنوع ژنتیکی در ذخیره مولدین نر تاسماهی ایرانی در حوضه جنوبی دریای کاسپین

## بحث

شناسایی و حفظ جمعیت‌ها و تداوم تنوع ژنتیکی به‌عنوان مهم‌ترین عوامل کلیدی در تاب‌آوری زیستی گونه‌ها و جمعیت‌ها مطرح می‌باشد. مطالعه حاضر به‌عنوان اولین بررسی تنوع ژنتیکی مبتنی بر جنسیت با استفاده از روش‌های نوین ژنومی (WGS) در تاسماهی ایرانی بوده که با فراخوانی ۱۳۹۷ نشانگر SNP در ژنوم مولدین جنس نر تاسماهی ایرانی دریای کاسپین در دو استان گیلان و مازندران به‌اجرا درآمد. براساس نتایج به‌دست آمده از ۱۳۹۷ نشانگر SNP دارای چندشکلی در ژنوم مولدین نر تاسماهی ایرانی میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده در گله مولدین مراکز بازسازی ذخایر گیلان و مازندران به‌ترتیب ۰/۲۱ و ۰/۲۰ به‌دست آمد. به‌طور کلی جمعیت‌های وحشی گونه‌های مختلف ماهیان خاویاری با افت چشمگیری روبه‌رو هستند که این مهم باعث کوچک شدن جمعیت مؤثر این ماهیان گردیده است (Hu et al., 2023). کوچک شدن جمعیت مؤثر به‌همراه صید قاچاق این ماهیان می‌تواند باعث اریب شدن نسبت جنسی در ذخیره وحشی این ماهیان گردد از این‌رو ارزیابی‌های ژنومی مبتنی بر جنسیت به‌ویژه در ماهیان در معرض خطر انقراض مانند ماهیان خاویاری از اهمیت بالایی برخوردار است. تنوع ژنتیکی حاوی اطلاعاتی در خصوص تعداد و نوع آلل‌های موجود در جایگاه‌های ژنومی بوده و از طریق آن پتانسیل لازم برای بقا، رشد و مواجهه با بیماری‌ها ایجاد

می‌گردد به طوری که تنوع ژنتیکی بالاتر می‌تواند به طور مؤثرتری احتمالاً سازش‌پذیری گونه‌ها و جمعیت‌ها و در نتیجه بقا را بالا ببرد. ماهیان خاویاری ماهیانی پلی‌پلوئیدی بوده که دارای بیش از دو نسخه از ژن‌ها و کروموزوم‌ها در ژنوم خود هستند. آنالیز ژنتیک جمعیت گونه‌های پلی‌پلوئید مانند ماهیان خاویاری با دشواری‌های ویژه خود برای تعیین مکان دقیق نسخه‌های ژنی همراه بوده و همین امر نیاز به توسعه روش‌های نوین کشف نشانگرها را در ماهیان خاویاری روشن ساخت. در مطالعه‌ای که بر روی گونه تتراپلوئید تاسماهی سبز (*Acipenser medirostris*) صورت گرفت، پنلی شامل ۷۴ آرایه SNP برای شناسایی ذخایر ژنتیکی و تگ‌گذاری انفرادی مولکولی تاسماهی سبز کشف و معرفی گردید (Anderson et al., 2017). در مطالعه دیگری که بر روی تاسماهی *Acipenser dabryanus* انجام گردید، ۴۷ آرایه دو آللی SNP کشف و برای اهداف مدیریت ذخایر و تشکیل نقشه لینکاژی ژنتیکی در این گونه معرفی گردید (Chen et al., 2020). تنوع ژنتیکی مشاهده شده در جمعیت‌ها می‌تواند تحت تأثیر عوامل متعددی از جمله عوامل جغرافیایی، مهاجرت، رانش ژنتیکی، انتخاب طبیعی، اختلاط ذخایر و آمیزش خویشاوندی قرار گیرد. در تاسماهی سفید (*A. transmontanus*) ویژگی پلی‌پلوئیدی به عنوان یک خاصیت بافری در جهت حفظ تنوع ژنتیکی در مقابله با افت‌های زمانی ایجاد شده در میزان بازگشت شیلاتی در این گونه شناخته شد (Willis et al., 2022). بنابراین، به عنوان یک گونه پلی‌پلوئید هر مولد می‌تواند نسبت بیشتری از واریته‌های آللی را در ژنوم خود حمل کند، این موضوع باعث کم کردن نرخ رانش ژنتیکی و حفظ میزان بیشتری از تنوع ژنتیکی در افراد کمتر در مقایسه با جمعیت‌های دیپلوئید می‌گردد (Moody et al., 1993; Soltis et al., 2016). در بررسی حاضر بر روی مولدین نر تاسماهی ایرانی میزان پایینی از تنوع ژنتیکی و میزان بالاتری از آمیزش خویشاوندی در هر دو ذخیره مورد بررسی برآورد گردید. مقدار پایین تنوع ژنتیکی مشاهده شده در تاسماهی ایرانی می‌تواند تحت تأثیر تعداد نمونه مورد بررسی به عنوان یک عامل باشد اما به لحاظ تکاملی و ژنتیک حفاظت به نظر می‌رسد عدم تکثیر طبیعی و کوچک بودن جمعیت مؤثر در هنگام فعالیت بازسازی ذخایر می‌تواند یکی از مهم‌ترین عوامل در کم بودن میزان تنوع ژنتیکی مشاهده شده باشد. علی‌رغم نبود اختلاف بین هتروزیگوسیتی مشاهده شده در دو ذخیره مورد بررسی، ذخیره مولدین نر تاسماهی ایرانی در منطقه گیلان از تنوع آللی بالاتری نسبت به منطقه مازندران برخوردار بود. تنوع آللی و حفظ آلل‌های نادر از اهمیت بالایی در حفظ تنوع ژنتیکی گونه‌ها برخوردار هستند به طوری که آلل‌های نادر به دلیل فراوانی پایین (کمتر از ۰/۰۱) در صورت حذف از خزانه ژنی ممکن است قابل ردیابی نبوده و اثر خود را بر روی شاخص هتروزیگوسیتی مشاهده شده نگذارد؛ از همین رو بررسی همزمان تنوع آللی و هتروزیگوسیتی مشاهده شده از اهمیت بالایی در ژنتیک حفاظت ماهیان برخوردار است. همچنین وجود آلل‌های اختصاصی بیشتر می‌تواند حاوی اطلاعات ژنتیکی مفید در تمایز مولکولی جمعیت‌ها و ردیابی آنها باشد. در حالی که تا حدودی ساختار مختلط در دو گروه مورد بررسی از تاسماهی نر ایرانی در حوضه جنوبی دریای کاسپین مشاهده گردید، میزان شاخص جدایی جمعیتی بین دو منطقه گیلان و مازندران ۰/۰۹ به دست آمد که بیانگر جدایی متوسط بین دو جمعیت مورد بررسی بود در صورتی که در مطالعات پیشین سطح پایینی از تمایز ژنتیکی با استفاده از ۱۰ جفت نشانگر ریزماهواره در تاسماهی ایرانی گزارش شده بود (Moghim et al., 2013). وجود جدایی متوسط جمعیت‌های مورد بررسی از تاسماهی نر ایرانی در حضور برنامه‌های بازسازی ذخایر و عدم تکثیر طبیعی این گونه در حوضه جنوبی می‌تواند بیانگر جدایی ژنتیکی مرتبط با فواصل جغرافیایی در این گونه در گذشته باشد و در حال حاضر اختلاط‌های ناشی از صید مولدین در دریا و نه در رودخانه منجر به اختلاط‌های ژنومی در این گونه شده باشد. در بررسی‌های ژنومی صورت گرفته بر روی تاسماهی سفید نیز درجاتی از جدایی ژنتیکی ناشی از فواصل جغرافیایی مشاهده گردید و در فواصل نزدیک جدایی ژنتیکی معنی‌داری مشاهده نگردید (Willis et al., 2022). هرچند که در برنامه‌های بازسازی ذخایر حفظ تنوع ژنتیکی از طریق آمیزش افراد غیر خویشاوند از اهمیت بالایی برخوردار است، با این حال کیفیت ژنتیکی نیز که در ارتباط با ساختار ژنتیکی پیچیده سازگاری است از اهمیت بالایی برخوردار است؛ از این رو در برنامه‌های بازسازی ذخایر باید هم از برون‌آمیزی و هم از درون‌آمیزی شدید جلوگیری نمود تا علاوه بر حفظ تنوع ژنتیکی، کیفیت ژنتیکی لازم برای عملکرد بهینه ماهیان در بازسازی ذخایر ماهیان خاویاری صورت پذیرد (Neff et al., 2011).

براساس اطلاعات ژنومی به‌دست آمده از ذخیره نر تاسماهی ایرانی در حوضه جنوبی دریای کاسپین به‌نظر می‌رسد که همچنان دو ذخیره ژنتیکی از تاسماهی ایرانی در حوضه جنوبی پراکنش داشته باشند ولی میزان تنوع ژنتیکی پایین و وجود درون‌آمیزی بیانگر نیاز به افزایش جمعیت مؤثر در برنامه‌های تکثیر و بازسازی ذخایر می‌باشد. براساس آماره‌های مربوط به غنای آلی نیز می‌توان بیان داشت که منطقه گیلان از اهمیت بالایی در جهت حفظ تنوع ژنتیکی تاسماهی ایرانی داشته و با توجه به جدایی متوسط ژنتیکی نسبت به منطقه مازندران، این موضوع باید در مدیریت ژنتیکی ذخایر تاسماهی ایرانی در جهت شناسایی تگ‌های ژنتیکی مد نظر قرار گیرد. براساس اطلاعات ژنومی به‌دست آمده از ژنوم تاسماهی ایرانی می‌توان بیان داشت که برنامه‌های بازسازی ذخایر در ایران به‌طور مؤثری در جهت حفظ ذخایر ژنتیکی فعال بوده‌اند ولی به‌منظور افزایش میزان تنوع ژنتیکی و حفظ جمعیت‌ها نیاز بوده تا علاوه بر افزایش تعداد مولدین در برنامه‌های تکثیر، با همکاری سایر سازمان‌ها نیز شرایط برای مهاجرت و تکثیر طبیعی در برخی رودخانه‌های منتخب در سواحل جنوبی دریای کاسپین انجام پذیرد. بنابراین احیای رودخانه‌ها و مناطق تخم‌ریزی می‌تواند کمک قابل توجهی در بازسازی ذخایر طبیعی تاسماهی ایرانی در دریای کاسپین باشد.

## ملاحظات اخلاقی

### حامی مالی

مقاله حاضر با حمایت مالی و معنوی معاونت پژوهشی مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور و سازمان شیلات ایران انجام شد.

نویسندگان اصول اخلاقی را در انجام و انتشار این پژوهش علمی رعایت نموده‌اند و این موضوع مورد تأیید آنهاست.

### بیانیه دسترسی به داده‌ها

داده‌هایی پژوهش حاضر از طریق درخواست از نویسندگان قابل دسترسی است.

### سپاسگزاری

بدین‌وسیله، از مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور و سازمان شیلات ایران برای حمایت مالی و معنوی جهت انجام پروژه حاضر و نیز از کلیه همکاران حاضر در مراکز بازسازی ذخایر برای کمک در نمونه‌برداری از مولدین وحشی تاسماهی ایرانی تشکر و قدردانی می‌گردد.

## References

- Anderson E.C., Ng T.C., Crandall E.D., Garza J.C. 2017. Genetic and individual assignment of tetraploid green sturgeon with SNP assay data. *Conservation Genetics* 18(5), 1119-1130. DOI: 10.1007/s10592-017-0963-5
- Beridze T., Boscari E., Scheele F., Edisherashvili T., Anderson C., Congiu L. 2022. Interspecific Hybridization in Natural Sturgeon Populations of the Eastern Black Sea: The Consequence of Drastic Population Decline?. *Conservation Genetics* 23, 211-216. DOI: 10.1007/s10592-021-01413-7.
- Bronzi P., Chebanov M., Michaels J.T., Wei Q., Rosenthal H., Gessner J. 2019. Sturgeon meat and caviar production: global update 2017. *Journal of Applied Ichthyology* 35, 257-266. DOI: 10.1111/jai.13870
- Catchen J., Hohenlohe P.A., Bassham S., Amores A., Cresko W. A. 2013. Stacks: an analysis tool set for population genomics. *Molecular Ecology* 22(11), 3124-3140. DOI: doi: 10.1111/mec.12354
- Chakmehdouz Ghasemi F., Pourkazemi M., Yarmohammadi M., Hasanzadeh Saber M., Ghoroghi A., Azizzadeh Pormehr L. 2014. Population genetic structure of Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) between South Caspian Sea and Sefidrud River using DNA sequencing method. *Iranian Scientific Fisheries Journal* 23(2), 11-20. DOI: 10.22092/ISFJ.2014.103686

- Chen Y., Liu Y., Du J., Song M., Lai J., Gong Q. 2020.** Isolation and characterization of 47 SNP markers in the critically endangered *Acipenser dabryanus*. *Conservation Genetic Resources* 12, 9-12. DOI: 10.1007/s12686-018-1052-x
- Gessner J., Freyhof J., Kottelat M. 2022.** The IUCN Red List of Threatened Species 2022: e.T235A135063465. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2022-1.RLTS.T235A135063465.en>. Accessed on 19 December 2025.
- Hu G., Chen F., Zhang Y., Luan P., Luo Z., Niu J., Zheng P., Wang S., Zhang T., Shu Y., Ji F. 2023.** Estimates of the Effective Population Size and Genetic Structure of the Critically Endangered Ship Sturgeon (*Acipenser nudiventris*) in the Chinese Section of the Ili River. *Fishes* 8, 354. DOI: 10.3390/fishes807035
- Jafari O., Zeinalabedini M., Robledo D., Fernandes J.M., Hedayati A.A., Arefnezhad B. 2022.** Genotyping-by-Sequencing reveals the impact of restocking on wild common carp populations of the Southern Caspian Basin. *Frontiers in Ecology and Evolution* 10, p.872176. DOI: 10.3389/fevo.2022.872176
- Li H., Durbin R. 2009.** Fast and accurate short read alignment with Burrows-Wheeler transform. *Bioinformatics* 25(14), 1754-1760. DOI: 10.1093/bioinformatics/btp324
- Malinsky M., Trucchi E., Lawson D.J., Falush D. 2018.** RADPAINTER and Fineradstructure: population inference from Radseq data. *Molecular Biology and Evolution* 35(5), 1284-1290. DOI: 10.1093/molbev/msy023
- Moghim M., Tan S.G., Javanmard A., Pourkazemi M., Panandam J. 2012.** Inheritance of Microsatellite Loci and Their Application for Pedigree Analysis of the Polyploid Persian Sturgeon *Acipenser persicus* (Acipenseridae). *Zoological Studies* 51(8), 1507-1514.
- Moghim M., Javanmard A., Pourkazemi M., Tan S.G., Panandam J.M., Kor D., Laloei F. 2013.** Application of microsatellite markers for genetic conservation and management of Persian sturgeon (*Acipenser persicus* Borodin, 1897) in the Caspian Sea. *Journal of Applied Ichthyology* 29(4), 696-703. DOI: 10.1111/jai.12195
- Moody M. E., Mueller, L.D., Soltis, D.E. 1993.** Genetic variation and random drift in autotetraploid populations. *Genetics* 134(2), 649-657. DOI: 10.1093/genetics/134.2.649
- Neff B.D., Garner S.R., Pitcher T.E.D. 2011.** Conservation and enhancement of wild fish populations: preserving genetic quality versus genetic diversity. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 68(6), 1139-1154. DOI: 10.1139/F2011-029
- Pourmoghadam M.N., Poorbagher H., Fernandes J.M.O., Jafari O. 2019.** Diazinon negatively affects the integrity of environmental DNA stability: a case study with common carp (*Cyprinus carpio*). *Environmental monitoring and assessment* 191(11), 672. DOI: 10.1007/s10661-019-7816-2
- Prescott L.A., Scholtens M.R., Walker S.P., Clarke S.M., Dodds K.G., Miller M.R., Semmens J.M., Carter C.G., Symonds J.E. 2024.** Genetic parameters and genotype-by-environment interaction estimates for growth and feed efficiency related traits in Chinook salmon, *Oncorhynchus tshawytscha*, reared under low and moderate flow regimes. *Genetics Selection Evolution* 56, 1-12. DOI: 10.1186/s12711-024-00929-z
- Rousset F. 2008.** genepop'007: a complete re-implementation of the genepop software for Windows and Linux. *Molecular Ecology Resources* 8(1), 103-106. DOI: 10.1111/j.1471-8286.2007.01931.x
- Soltis D.E., Visger C.J., Marchant D. B., Soltis P.S. 2016.** Polyploidy: Pitfalls and paths to a paradigm. *American Journal of Botany* 103(7), 1146-1166. DOI: 10.3732/ajb.1500501
- Team R.C. 2019.** R: A Language and Environment for Statistical Computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing.
- Williot P., Rochard E., Desse-Berset N., Kirschbaum F., Gessner J. 2011.** Biology and Conservation of the European Sturgeon *Acipenser sturio* L. 1758: The Reunion of the European and Atlantic Sturgeons. First ed. *Springer Science & Business Media*, Heidelberg. 668p. DOI: 10.1007/978-3-642-20611-5
- Willis S.C., Parker B., Schreier A.D., Beamesderfer R., Miller D., Young S., Narum S.R. 2022.** Population Structure of White Sturgeon (*Acipenser transmontanus*) in the Columbia River Inferred from Single-Nucleotide Polymorphisms. *Diversity* 14 (12), 1045. DOI: 10.3390/d14121045

**Zhang X., Wu W., Li L., Ma X., Chen J. 2013.** Genetic variation and relationships of seven sturgeon species and ten interspecific hybrids. *Genetics Selection Evolution* 45(1), 1-10. DOI: 10.1186/1297-9686-45-21.