

دورگه ها در ماهیان و شناسایی آنها با نشانگرهای DNA ریزماهواره: یک مرور

محمد حسن زاده صابر^{*}^۱ و شهروز براذران نویری^۱

۱- بخش ژنتیک و بیوتکنولوژی، موسسه تحقیقات بین المللی تاسماهیان دریای خزر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران، صنوف

پستی: ۴۱۶۳۵-۳۴۶۴

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۲/۲۰

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۰/۲

چکیده

در میان مهره داران، تنها ماهیان هستند که اسپرم اکثر آنها فاقد آکروزوم بوده و از طریق میکروپل وارد تخنک می‌گردد. این حالت برای آنها امکان لفاح هترولوگ را فراهم کرده و موجب دورگه گیری و پلی پلوئیدی می‌شود. دورگه گیری هم در طبیعت و هم بطور مصنوعی در ماهیان انجام می‌شود. امروزه به واسطه رشد بهتر دورگه ها نسبت به والدین آنها در تعدادی از گونه های اقتصادی ماهیان، این شرایط فراهم گردیده که دورگه گیری مصنوعی در آنها انجام شود. به دلیل شباهت زیاد بعضی از دورگه ها به یکی از والدین شان، شناسایی و تایید آنها امکان پذیر نبوده که هم به آنالیز صفات مورفومتریک و مریستیک و هم به آنالیز مولکولی آنها در مقایسه با والدین نیاز دارد. در این حالت، مطمئن ترین و سریعترین روش، استفاده از نشانگرهای ژنتیکی مبتنی بر DNA خصوصاً نشانگرهای ریزماهواره است که می‌تواند در تشخیص قطعی دورگه ها نقش مهمی را ایفا کند.

کلمات کلیدی: ماهیان، دورگه، DNA، نشانگرهای ریزماهواره.

پروری ۳- گسترش زیستگاه ۴ - معرفی گونه جدید. وقوع دورگه در ماهیان، ۸۷ مورد به واسطه تاثیر انسانی می باشد. از این میان، آبزی پروری به تنهایی سبب بروز ۳۲ مورد، معرفی گونه جدید ۲۲ مورد، کاهش و تغییر زیستگاه ۲۱ مورد و گسترش زیستگاه تا ۳ مورد شده است. وقوع دورگه گیری در ۱۰ خانواده از ۱۹ خانواده Scribner *et al.*, (2001).

بمدت چندین قرن، شناسایی دورگه ها با اندازه گیری خصوصیات مورفولوژیک و مریستیک انجام می شد. توسعه روش‌های مولکولی به تقویت مطالعات سیستماتیک ماهیان کمک فراوانی کرده است. طی این مدت، روش‌های جدید برای سیستماتیک ماهیان صفات مناسب جدیدی را برای آنالیز روابط مابین گونه ها پیشنهاد کرد. روش‌های مولکولی، بسیاری از تقسیم بندی های مورفولوژیک را تایید می کند و در برخی موارد گروه بندی نادرست آن را نیز آشکار می کند. بطور کلی بررسی ها نشان می دهند که همخوانی بین نتایج روش‌های مولکولی و مورفولوژیک بالا است. اگرچه روش‌های مورفولوژیک در شناسایی جنس (genera) عملکرد خوبی دارد ولی با این روشها، شناسایی در حد گونه و روابط فیلوجنی مابین آنها با مشکل روبه رو است.

صفاتی که تحت شرایط محیطی به صورت متفاوت بروز می کنند، بازتاب تفاوت های موجود در ردیف های DNA هستند. این تفاوت ها می توانند به عنوان نشانگر یا مارکر به کار گرفته شود (نقوی، ۱۳۸۶). نشانگرهای DNA از نظر بسیاری از ویژگی ها مانند میزان پلی مورفیسم، غالیت و همباز بودن، تعداد جایگاه های تجزیه شده در هر آزمایش، توزیع در

مقدمه

ماهیان با حدود ۲۵ هزار گونه گروه بزرگی از مهره داران را تشکیل می دهند (Nelson, 1994). دورگه گیری پدیده گسترده ای در میان جانوران بوده و فرصتی را برای تنوع ژنتیکی جدید فراهم می کند (Seehausen, 2004). در میان مهره داران، تنها ماهیان هستند که اسپرم اکثر آنها فاقد آکروزوم بوده و از طریق میکروپیل وارد تخمک می گردد. این حالت برای آنها امکان لقاح هترولوگ را فراهم کرده (Pandian and Kirankumar, 2003)

دورگه گیری و پلی پلولئیدی می شود. تاکنون دورگه گیری در بیش از ۳۰۰ گونه از ماهیان رخ داده است (Scribner *et al.*, 2001). در ماهیان، دورگه گیری عمدتاً سبب عقیمی در نرها و تریپلولئیدی سبب عقیمی در ماده ها می شود. در بیش از ۱۶۰۵۰ دورگه ثبت شده جانوری، دورگه های حاصله در ماهیان سهم زیادی (۲۱ درصد) دارند (Schwenk *et al.*, 2008). وقوع دورگه گیری طبیعی دارای محدوده ۲ درصد در Clupeid ها، ۳۷ درصد در Cyprinid ها و ۳۹ درصد در Salmonid ها می باشد. در حال حاضر ۱۳۰ دورگه بارور طبیعی و ۱۵۰ دورگه مصنوعی تولید شده از نسل اول وجود دارد که از میان آنها ۴۷ دورگه Argue and Dunham, (1999) دورگه گیری در ماهیان به دلایل ذیل رخ می دهد: لقاح خارجی، فقدان آکروزوم در اسپرماتوزوا، مکانیزمهای ضعیف رفتاری، فراوانی نامتعادل جنسهای نر و ماده، رقابت برای مکان تخم‌ریزی و تغییر شرایط زیستگاهی (Pandian, 2011). Scribner و همکاران (2001) چهار دلیل مهم را موجب دورگه گیری می دانند: ۱- فقدان زیستگاه / تغییر زیستگاه ۲- آبزی

شیوه میزان پلی مورفیسم نیز محدود بود، که سبب محدود شدن استفاده آنها در تشخیص سطوح بالای نوع از قبیل روابط خویشاوندی و مطالعات جمعیت های کوچک می شد. علاوه بر موارد فوق، از آنجا که فوتویپ تحت تاثیر محیط است، تفسیر نتایج بررسی های ژنوتیپی چار مشکل می شد (Ward and Grewe, 1994). بعدها امکان آنالیز مستقیم نوع ژنوتیپی با ظهور آنزیمهای اندونوکلئازهای محدود کننده برای بررسی اختلاف های ژنومی ایجاد گردید. مطالعه جهش ها در DNA میتوکندری (mtDNA) یک ابزار مفید برای مطالعات سیستماتیک ماهی است. اشکال عمدۀ mtDNA برای بررسی روابط والدینی و مطالعات خویشاوندی عدم حضور و مشارکت DNA پدری است، بنابراین در این نوع مطالعات نصف اطلاعات پدری مورد بررسی قرار نمی گیرد.

انگشت نگاری DNA شامل هضم برشی DNA ژنومی (از یک گونه)، تفکیک روی ژل الکتروفورز، ساترن بلاط، و در آخر کاوش با پروب های خاص لوکوس مینی ستلایت برای نمایان کردن اندازه آلل ژن مورد نظر است. الگوی آلل های حاصل از چندین لوکوس، یک ترکیب منحصر به فرد برای هر گونه فراهم می کند. تکنیک انگشت نگاری که به سرعت در علوم قضایی و تست های والدینی و سپس در تحقیقات شیلاتی و آبزی پروری به کار گرفته شد، هم اکنون در تشخیص ذخایر، مطالعات خویشاوندی و نقشه های ژنتیکی آبزیان مورد استفاده قرار می گیرد.

با ابداع روش PCR مشکلات شماره گذاری آلل ها در ساترن بلاط برطرف شد ولی چون لوسای

سطح کروموزوم، نیاز یا عدم نیاز به توالی یابی DNA الگو و هزینه مورد نیاز با یکدیگر متفاوتند. انتخاب نشانگر به هدف مطالعه و سطح پلوئیدی موجود مورد مطالعه بستگی دارد (نقوی، ۱۳۸۶). ماهواره ها (satellite) بخش هایی عمدۀ ای از ژنوم هستند که هیچ گونه پروتئین خاصی را رمز نمی کنند و عمل و نقش آنها هنوز به درستی مشخص نشده است. از جمله این ردیفهای غیر عملکردی، ردیفهایی هستند که از چند باز تشکیل شده و به طور مکرر به دنبال هم تکرار می شوند و به توالی های تکراری معروفند. این ردیفها بر اساس اندازه خود به دو دسته مینی ستلایت ها و میکروستلایت ها تقسیم بندی می شوند. میکروستلایت ها یا ریزماهواره ها از ۶-۱۰ جفت باز تشکیل شده اند و در کل ژنوم پراکنده هستند. طول ریزماهواره ها معمولاً کمتر از ۱۰۰ جفت باز بوده ولی بیشتر از این هم گزارش شده است. هدف از انجام این مرور، سهولت استفاده از مارکرهای ریزماهواره در تشخیص دورگه های ماهیان می باشد که می تواند به همراه سایر روشهای تشخیصی در دورگه ها، تکمیل کننده باشد.

مطالعه مارکرهای مولکولی در آبزیان

اولین تکنیک مولکولی که در شناسایی آبزیان و تنوع گروه های خونی در گونه های مختلف ماهیان استفاده شد، در ماهی آزاد اطلس بود (Sick, 1961). پیشرفت در این زمینه منجر به استفاده از مارکرهای آلوزاپی در پروتئین ها شد و در حدود بیست سال گذشته در علوم شیلاتی مورد استفاده قرار گرفته است. با وجود استفاده گسترده، روش آلوزاپی ها با مشکلاتی از قبیل نیاز به مقدار زیاد نمونه و بافت تازه یا منجمد مواجه بود تا فعالیت آلوزاپی ها حفظ شود

2001; Cnaani *et al.*, 2003; Somorjai *et al.*, 2003) استفاده شد.

از کاربردهای ریزماهواره می‌توان به موارد زیادی از جمله مطالعات ساختار جمعیت (امیرجنتی و همکاران، ۱۳۹۲) و حفاظت گونه‌ای، همه‌گیری و آسیب‌شناسی مولکولی، نقشه‌های ژنتیکی و نقشه‌های لینکاژی، نقشه‌لوسای صفات کمی، انتخاب به کمک مارکر MAS، تیره‌های سلوالی، مطالعات فیلوزنی و شناسایی DNA گونه و والدین و روابط والدینی اشاره نمود. برای هر ریزماهواره، هر فرزند یک آلل را از پدر و یک آلل را از مادر به ارث می‌برد. مارکرهای ریزماهواره به راحتی می‌توانند نحوه ارث پذیری یک آلل را از والدین به فرزندان نشان دهند. همچنین ریزماهواره‌ها به دلیل همباز بودنشان برای شناسایی دورگه بین دو گونه می‌توانند روش مفیدی باشند. مطالعاتی از قبیل ماهیان دورگه (Fopp-Bayat and Woznicki, 2008)، اثبات تغییر جنسیت (Fopp-bayat *et al.*, 2007)، اثبات و تایید تاسماهیان گاینوزن (Hassanzadeh Saber *et al.*, 2008)، بررسی روابط والدینی و سهم والدین در تولید مثل گروهی (Munkres *et al.*, 2007)، تعداد موثر مولдин یک جمعیت و بررسی موقیت لقاح (McLean *et al.*, 2008)، تشخیص سیستمهای تولید مثلی گروهی (Awata *et al.*, 2005)، تشخیص فرزند و والدین (Herlin *et al.*, 2008) تاکنون با این شیوه به انجام رسیده است. در نگاه کلی ریزماهواره‌ها به علت کاربردهای فراوان مانند تعیین ساختار ژنتیکی ماهیانی با تعداد کروموزوم متفاوت (tasmaهیان)، مطالعه ژنتیک جمعیت گونه‌ها و ارزیابی اثرات بازسازی ذخایر بر ساختار ژنتیکی گونه‌های بومی بر سایر روشها مانند

PCR مینی ستلاتیت‌ها نسبتاً بزرگ بودند، محدودیت در استفاده برای قطعه بزرگ DNA (بیش از ۴kb) بود که به سادگی تکثیر نمی‌شد (O'Reilly and Wright, 1995). این مشکلات در روش‌های بررسی ریزماهواره Garcia (Wright and Bentzen, 1994) و همکاران de Leon (1995) از دو مارکر ریزماهواره برای تعیین نسبت والدینی باس دریایی استفاده کردند. در این بررسی ویژگی‌های فیزیکی نظیر وزن بدن، طول و ناهنجاری‌های درون و بین خانواده‌ها برای تعیین تاثیر والدین مقایسه شدند. با استفاده از این داده‌ها، مولدهای نازا و گونه‌هایی که صفات نامطلوب داشتند از جمعیت حذف شدند.

در ماهیان، ریزماهواره‌ها با لوسای جامع و نوع بالا خصوصاً در گونه‌های دریایی آبهای سرد به Rico *et al.*, 1996؛ میزان فراوان یافت می‌شوند (DeWoody and Avise, 2001). اندازه آلل‌ها در لوسای ریزماهواره عموماً کوچک هستند (< ۳۰۰ bp)، و به خاطر همین ویژگی شان برای انجام PCR بسیار مناسب است (Wright, 1993). میزان کمی از بافت برای ریزماهواره کافی است، آنالیز آسان لارو ماهی و حتی نمونه‌های موزه‌ای این مارکرها را بسیار کارآمد نشان داده است (O'Connell and Wright, 1997).

ریزماهواره‌ها برای نشان دادن روابط والدینی و خویشاوندی، بهبود تولید مثل از دید تجاری و تعیین نوع به کار می‌رود. با شناسایی لوسای ریزماهواره متصل به QTLs مهم، آبزی پروران می‌توانند با استفاده از این لوسای برای برنامه‌های اصلاح نژادی استفاده کنند. نقشه‌های لینکاژی در ماهیان برای شناسایی QTLs در صفاتی نظیر تحمل سرما، مقاومت به بیماری Sakamoto *et al.*, 1999؛ Ozaki *et al.*, 1999؛

مستقیم انسان صورت می‌گیرد به سه دسته دو رگه‌گیری درون گونه‌ای، دو رگه‌گیری بین گونه‌ای و دو رگه‌گیری بین جنس‌های یک خانواده تقسیم بندی می‌شوند. کاربردهای تولید آبزیان یا ماهیان دورگه عبارتند از: بالا بردن یا افزایش توان تولید، ایجاد نژادها و سویه‌های مختلف و مناسب برای آبزی پروری، تولید جمعیت‌های تک جنس و عقیم، تولید ماهیان هم‌شکل برای تسهیل در هم‌آوری و کیفیت گوشت بالاتر و تولید ماهیان مقاوم به بیماری و شرایط نامساعد محیطی (تیو، ۱۳۷۴).

دورگه‌گیری در آبزیان انواع متفاوتی دارد که رایج‌ترین آن دورگه‌گیری بین گونه‌ای می‌باشد (Schwartz, 1981). گونه‌های مرتبط در یک جنس می‌توانند در شرایط مختلفی دورگه شوند (Zhang and Tiersch, 1997). همچنین دورگه‌ها می‌توانند زایا باشند (Verspoor and Hammar, 1991) دورگه‌گیری بین گونه‌ای می‌تواند در ترکیب خصوصیات مختلف ژنتیکی، ایجاد خصوصیات جدید، تغییر رفتار، تنوع عادات غذایی، تولید دورگه‌های هتروزیس، جمعیت‌های عقیم، ازدیاد جمعیت‌های تک جنسی، القای پلی پلوئیدی، و ... مؤثر باشد (Krasznai, 1986). در بعضی موارد، تشخیص شکل ظاهری دورگه‌ها از والدینشان مشکل است. عنوان مثال، تشخیص مورفولوژیکی دورگه بین آزاد ماهی آتلانتیک (*Salmo trutta*) و قزل آلاج جویباری (*Salmo salar*) بخصوص در مراحل جوانی خیلی مشکل است (Abée-Lund, 1988). این دورگه‌ها می‌توانند با فنوتیپی شبیه آزاد ماهیان (Youngson, et al., 1992) یا شبیه به قزل آلا (Beal, et al., 1997) ظاهر شوند. در این حالت فقط مارکرهای ژنتیکی بیوشیمیایی

آلوزایم، DNA میتوکندری و RAPD برتری دارد چرا که اللهای بیشتری داشته و میتواند آنالیز ساختار ژنتیکی والدین و چگونگی انتقال آن به فرزندان را آشکار کند (پورکاظمی و همکاران، ۱۳۸۵). همچنین از دیگر مزایای مارکرهای DNA آن است که بررسی آن با یک نمونه خیلی کوچک از بافت برای تشخیص فرد بدون کشتن ماهی (عنوان مثال فلسها یا قسمت کوچکی از باله‌ها) انجام می‌گیرد که سایر روش‌های فیزیولوژیکی و سیتوژنتیکی چنین مزیتی ندارند (Perez et al. 1999).

سابقه دورگه‌گیری در ماهیان

دورگه‌گیری یکی از روش‌های متداول اصلاح نژاد است که عمدها به منظور افزایش تولید و یا تولید لاین‌های مناسب در آبزی پروری بکار می‌رود. هدف اصلی در دورگه‌گیری که عموماً از تلاقی بین دو گونه مختلف صورت می‌گیرد، دستیابی به صفت مناسب از طریق پدیده هتروزیس یا برتری دورگه‌ها برای افزایش راندمان تولید در آبزی پروری است که این فعالیت در بسیاری از گونه‌ها از قبیل تیلاپیا، گربه ماهی، باس دریابی گزارش شده است. به طور کلی دورگه‌گیری به دو صورت طبیعی و مصنوعی صورت می‌گیرد. دورگه‌گیری طبیعی معمولاً برای آبزیانی اتفاق می‌افتد که در یک محیط یا اکوسیستم مشترک زیست می‌کنند و یا برای تخریزی در شرایط یکسان و بستر مشترکی از نظر زمانی و مکانی قرار می‌گیرند. در طبیعت دورگه‌گیری بین گونه‌ای سبب انتقال ژن از یک گونه به گونه دیگر می‌شود و حتی ممکن است سبب انتراض گونه اصلی گردد (Epifanio and Philipp, 2000).

شده حاصل از تلاقی های انجام شده بین گونه های مختلف کپور ماهیان می توان به تلاقی های ماهی کپور علفخوار در کپور سر گنده (درافشان و کلباسی، ۱۳۸۶)، کپور سر گنده و کپور معمولی، کپور علفخوار و کپور معمولی و کپور نقره ای و کپور معمولی (Kraszani, 1986) اشاره نمود.

در ایران علیرغم سابقه بیش از نیم قرن تجربه در زمینه تکثیر و پرورش کپور فقط چند مورد دورگه گیری آزمایشی انجام گرفت که اکثر تلاقی ها در حد بررسی ماهیان نسل اول در مراحل اولیه یعنی حداقل ۱ تا ۲ سال پس از تولید بود. از جمله این دورگه گیری ها می توان به تلاقی کپور علفخوار و کپور سر گنده (تولید ماهیان دورگه عقیم) (پناهی صاحبی، ۱۳۸۱)، ماهی سفید و کپور علفخوار (رشد دورگه های تولید شده بیشتر از ماهیان شاهد) (حسینی، ۱۳۷۵)، ماهی سفید و ماهی کلمه (رشد دورگه های تولید شده کمتر از ماهیان شاهد) (حسینی، ۱۳۷۲)، ماهی کلمه و ماهی سیم (رشد ماهیان دورگه کمتر از ماهیان شاهد) (حسینی، ۱۳۷۲) و دورگه متقابل بین ماهی سفید دریای خزر و ماهی سیم (زمینی و همکاران، ۱۳۸۳) اشاره نمود.

دورگه گیری در آزاد ماهیان

در آزاد ماهی آتلانتیک (*Salmo salar*) و قزل آلای قهوه ای (*Salmo trutta*) که دارای کروموزومهای متفاوتی هستند، بین ۰/۱ تا ۱۳ درصد دورگه گیری بین گونه ای در طبیعت رخ می دهد (Garcia-Vazquez et al., 2001). این دورگه ها در آمیزش با والدین شان باروری دارند. در آمیزشها بین گونه ای، بین جنسی و ... دورگه های رفت و برگشت و

Elo et al., (Vuorinen and Piironen, 1984) (1997) می تواند در تشخیص دورگه ها مناسب باشد. بررسی دورگه ها برای مطالعات تکاملی بسیار مفید است زیرا متافاز آنها هر دو دسته هاپلوئید از مولдин را نشان می دهد (Perez et al., 1999).

دورگه گیری در کپور ماهیان

دورگه گیری طبیعی در ماهی لوج فلس بزرگ (*Paramisgurnus dabryanus*) و لوج استخری (*Misgurnus anguillicaudatus*) به دلیل خصوصیات مورفوژیکی مشابه و همزمانی رسیدگی جنسی اتفاق می افتد (You et al., 2007). دورگه های ماهیان لوج مذکور در نسل اول به دلیل اختلاف در تعداد کروموزومهای والدین، ماده عقیم هستند. تلاقی و آمیزش بین ماهی کپور عموماً میزان اندکی از هتروزیس را نشان داده است (Moav and Hulata, 1995; Wohlfarth, 1974). اما آنهایی که هتروزیس مثبت نشان دادند در حال حاظر به عنوان مبنای برای آبزی پروری کپور در کشورهای مختلفی مانند مجارستان، ویتنام و غیره قرار گرفته است. تلاقی لایهای مختلف ماهی کپور در موسسه سارواش در مجارستان (Bakos and Gorda, 1995) مثالی مناسب از موقوفیت نسبی از آمیخته گری کپور است چرا که دو رگه های تولیدی حدود ۲۰٪ افزایش رشد و سایر صفات کیفی را نسبت به والدین و لایهای کپور شاهد از خود نشان دادند. Kirpichnikov در سال ۱۹۸۱ توانست از تلاقی کپور معمولی بومی مناطق شمالی روسیه با کپور معمولی بومی مناطق سیبری یک سویه جدید از ماهی کپور مقاوم به سرما به نام کپور "Ropsha" را تولید کند. از سایر دورگه های تولید

دهد که دورگه ها حد واسط والدین خود می باشد
(Tranah *et al.*, 2004)

Berg در سال ۱۹۴۸ تعداد ۹ شکل از دورگه های طبیعی در بین تاسماهیان را گزارش کرد که عبارتند از: کالوگا و تاسماهی آمور، شیپ و فیلماهی، تاسماهی روسی و فیلماهی، ازوون برون و فیلماهی، ازوون برون و شیپ، ازوون برون و تاسماهی روسی، استرلیاد و تاسماهی روسی، استرلیاد و ازوون برون، استرلیاد و تاسماهی سیبری. البته از بازماندگی و رشد دورگه ها اطلاع دقیقی در دست نیست ولی با توجه به مطالعات انجام شده در رودخانه ولگا تخمین زدند که حدود ۰.۱٪ (یا کمتر) از دورگه های این رودخانه بارور و زایا باشد (Burtsev, 1995).

دو رگه گیری مصنوعی در تاسماهیان

نخستین دورگه گیری مصنوعی در تاسماهیان توسط Ovsyannikov در سال ۱۸۷۰ از تلاقی بین ماهی استرلیاد ماده و تاسماهی روسی و ماهی ازوون برون تولید شد. از آن زمان تاکنون انواع مختلف دورگه گیری مصنوعی در تاسماهیان مختلف انجام شده که نتایج مختلفی را در بر داشت. از دورگه گیری های مصنوعی انجام شده بین گونه های مختلف تاسماهیان می توان تلاقی فیلماهی (*Huso huso*) و ماهی استرلیاد (*Huso huso*) و تولید ماهی بستر (*Acipenser ruthenus*) و تلاقی ازوون (Nikiliokin and Timofiyova, 1953) برون (*A. ruthenus*) و استرلیاد (*A. stellatus*) تاسماهی سیبری (*A. baerii*) و تاسماهی آدریاتیک (*A. naccari*)، تلاقی تاسماهی سیبری و تاسماهی روسی (Bronzi and *A. gueldenstaedtii*) Rosenthal, 2014) و تلاقی تاسماهی رودخانه آمور

پسگرد ممکن است تفاوت معنی داری را در بقا یا باروری به دلیل ناهمانگی های سیتوژنتیکی داشته باشد (Garcia-Vazquez *et al.*, 2004).

از دیگر دورگه گیری های انجام شده در آزاد ماهیان می توان به قزلآلای رنگین کمان و سالمون (تولید دورگه های مقاوم به بیماری ویروسی)، قزلآلای رنگین کمان و ماهی آزاد (کاهش سرعت رشد نسبت به ماهیان دیپلویید علیرغم مقاوم بودن به تعدادی از بیماریهای ویروسی)، ماهی آزاد کوهو و سالمون (کاهش درصد بازماندگی ماهیان دورگه Dorson, 1991)، قزلآلای دریاچه ای و قزلآلای جویباری (به منظور معرفی دورگه ها به آبگیرهای داخلی انجام شد) (Tave, 1993). قزلآلای قهوه ای و ماهی آزاد آتلانتیک (سرعت رشد بالاتر و عادت پذیری مناسب برای معرفی به دریا) (Seeb *et al.*, 1993) و قزلآلای رنگین کمان و ماهی آزاد دریای خزر (برخورد داری از صفات حد واسط والدین و توصیه شده جهت پرورش) (پورغلام و نوروزی، ۱۳۷۴) اشاره نمود.

دو رگه گیری طبیعی تاسماهیان

یکی از دورگه های طبیعی در تاسماهیان، تلاقی بین (*Scaphirhynchus albus*) pallid sturgeon و (*Scaphirhynchus platorhynchus*) Shovelnose می باشد. صفات مورفومتریک و مریستیک این دو گونه با یکدیگر متفاوت بوده (Forbes and Richardson, 1905) و همچنین از نظر پراکنش جغرافیایی و تخریزی با یکدیگر تفاوت دارند (Kallemeijn, 1989). اطلاعات مورفولوژیک و ژنتیکی نشان می

است، در نتیجه تخمها بی که زودتر تفریخ می شوند گاینورژنیک و بعدی ها دورگه می شوند. در آمیزش بین کپور نقره ای و سرگنده، دورگه ها نه تنها گاینورژنیک هستند بلکه تریپلولوئید نیز می باشند (Mia et al., 2005).

روشهای متفاوتی برای تشخیص دورگه ها وجود دارد از جمله با روشهای مورفولوژیکی، سیتوژنتیکی می توان دورگه ها و صحت تولید آن را تا حدودی ثابت نمود. بهترین روش تشخیص دورگه ها، روشهای بیوشیمیایی و استفاده از مارکرهای DNA می باشد. در ارزیابی نوع ژنتیکی با استفاده از DNA، ریزماهواره ها شاخصهای حساسی برای بررسی نتایج هموزیگوستی در تلاقيهای خویشاوندی هستند و بدین علت برای تشخیص جزئیات تمایز جمعیتی مناسب هستند. بعضی از جایگاههای ژنی ریزماهواره، حاوی تعداد خیلی زیادی از الها در هر لکوس می باشند (>20) که این نوع از لکوسها کاربردهای بسیاری از جمله در تشخیص والدین - نوزادان در جمعیتهای مختلف دارند. در حالی که دیگر لکوسها دارای تعداد کمتری از الها هستند و بیشتر برای ژنتیک جمعیت و فیلوجنی مناسب می باشند (Estoup and Angers, 1998).

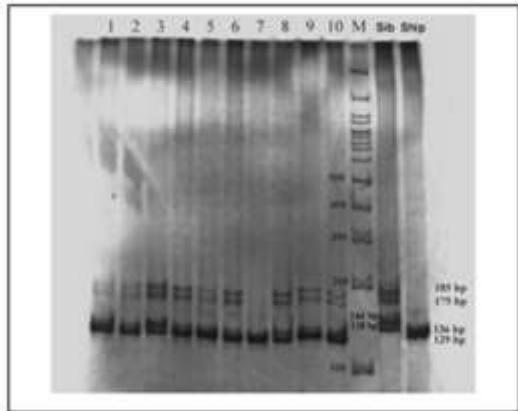
Dowling و همکاران (1989) از مارکرهای فنوتاپیک، آلوزايم و mtDNA جهت تشخیص دورگه ها استفاده کردند. در ماهی گوبی از مارکرهای آلوزايم Wallis and F2 استفاده شد (Beardmore, 1980). باید خاطر نشان کرد که هنوز مارکرهای فنوتابی رایج ترین مارکرها برای تشخیص دورگه ها هستند (45%). مارکرهای دیگر که غالیت mtDNA، nDNA (4%) و کاریولوژی (2%) می باشند. Imai و همکاران (2009) از یک لکوس آلوزايم و دو

(*Huso dauricus*) و کالوگا (*A. dabryanus*) (Shedko and Shedko, 2016) در ایران نیز انواع تلاقی مصنوعی بین تاسمهایان انجام شد که از جمله می توان به تلاقی فیلماهی و ازون برون (امینی، ۱۳۷۱)، فیلماهی و شیپ (قزل، ۱۳۷۶)، فیلماهی و تاسمهای روسی (قزل و امینی، ۱۳۷۷)، تاسمهای روسی و ازون برون (رستمیان، ۱۳۷۵)، شیپ و ازون برون (رستمیان، ۱۳۷۷)، فیلماهی و تاسمهای ایرانی (بلوپارس) (پور کاظمی و همکاران، ۱۳۸۵)، استرلیاد و فیلماهی (بستر نسل اول) (برادران نویری، ۱۳۸۸) اشاره نمود. تمام دورگه های تولید شده بجز دورگه بستر، آزمایشگاهی و تحقیقاتی بوده، به مرحله تولید تجاری و انبوه نرسیده اند.

شناسایی دورگه ها

دورگه های نسل اول ممکن است شکل بدن و رنگ حدودسط والدین شان را داشته باشند. هرچند این پدیده در بعضی از دورگه ها نظیر دورگه کپور × کاراس همیشه به آسانی قابل تشخیص نیستند زیرا صفات ظاهری مخلوطی از خصوصیات والدین را نشان می دهند (Taylor and Mahon, 1977). دورگه های F1 بین گربه ماهی کانال و گربه ماهی آبی به آسانی از نوزادان گربه ماهی کانال قابل تشخیص نیستند (Waldbieser and Bowsworth, 2008). در میان دورگه های حاصل از آمیزش قزل آلای جویباری و قزل آلای کله گاوی، بعضی از فرزندان دورگه خصوصیات قزل آلای کله گاوی و بعضی دیگر خصوصیات قزل آلای جویباری را نشان دادند (Leary et al., 1993). در آمیزش بین کپور نقره ای و کپور معمولی دو زمان متفاوت برای تفریخ مشاهده شده

گرفت و در آن مشخص گردید که دورگه ها هر دو الی را از والدین به ارث برده اند (شکل ۱).



شکل ۱- مقایسه دورگه های (ستون ۱۰-۱) بین تاسماهی شیپ ماده (ستون ۱۳) و تاسماهی سیری نر (ستون ۱۲) با استفاده از مارکر ریزماهواره

همچنین Saber و همکاران (۲۰۱۱) مارکرهای ریزماهواره را برای تشخیص دورگه های حاصله از ماهی سفید ماده دریای خزر با ماهی کپور علفخوار نر استفاده نمودند زیرا تشخیص فنوتبی دورگه ها بعلت تشابه شکل ظاهری و برخی از خصوصیات مریستیک دورگه با ماهی سفید ماده (خاراء، ۱۳۷۷ مشکل بود (شکل ۲). از طرفی Elo و همکاران (۱۹۹۷) مارکر DNA را یک مارکر مناسب برای تشخیص دورگه ها دانستند. در این بررسی از ۳ عدد بچه ماهی دورگه و دو لکوس ریزماهواره استفاده گردید، همچنانکه Mia و همکاران (۲۰۰۲) از سه لکوس ریزماهواره برای تشخیص دورگه های بین ماهی کپور نقره ای (*Hypophthalmichthys molitrix*) و ماهی کپور سرگنده (*Aristichthys nobilis*) استفاده کردند. آنها ۵ عدد بچه ماهی مشکوک به دورگه را آنالیز کرده که از این تعداد ۳ عدد از بچه ماهیان در هر

مارکر DNA هسته ای جهت تشخیص دورگه های استفاده نمودند. You و همکاران (۲۰۰۷) از کاریولوژی و یک مارکر ریزماهواره جهت تشخیص دورگه بین لوچ فلس بزرگ (2n=48) و لوچ استخری (2n=100) استفاده کردند. دورگه های آنها (2n=74) کروموزوم داشتند و ماده عقیم بودند. بر اساس آنالیز ریزماهواره ۴ باند در الگوی باندی لوچ استخری و ۳ باند در الگوی باندی دورگه تریپلوبیت مشاهده گردید. Saber و همکاران در سال ۲۰۱۴ برای شناسایی و تایید تاسماهی شیپ گاینورن از مارکرهای ریزماهواره استفاده نمودند. آنها ژنوم فرزندان گاینورن را با ژنوم والدین آنها مقایسه کرده و نحوه وراثت پذیری الی را مورد بررسی قرار دادند. با توجه به اینکه در مطالعه آنها از اسپرم گونه دیگر (هترولوگ) در القای گاینورنیز استفاده شده بود ولی مارکرهای ریزماهواره به خوبی توانستند عدم وراثت پذیری ژنوم پدری را در نتاج تمام ماده نشان دهند و موفقیت القای ماده زایی را اثبات نمایند.

در بعضی از گونه ها تشخیص مورفولوژیکی دورگه ها بسیار مشکل بوده و از مارکرهای DNA جهت تشخیص استفاده می گردد بعنوان مثال موقعیت جایگاه ژنی در آزاد ماهی آتلانتیک با قزل آلای جویباری کاملاً متفاوت بوده ولی دورگه ها هر دو جایگاه ژنی را از هر دو مولد به ارث برده اند (L'Abee-Lund, 1988) و همکاران در سال ۲۰۱۵ اقدام به شناسایی دورگه های بین تاسماهی شیپ ماده و تاسماهی سیری نر با استفاده از مارکرهای ریزماهواره نمودند. این بررسی به واسطه شباهت مورفولوژیک دورگه ها به تاسماهی سیری صورت

1993). در این رابطه Yarmohammadi و همکاران (۲۰۱۲) با روش AFLP اقدام به شناسایی دورگه‌های بستر نمود.

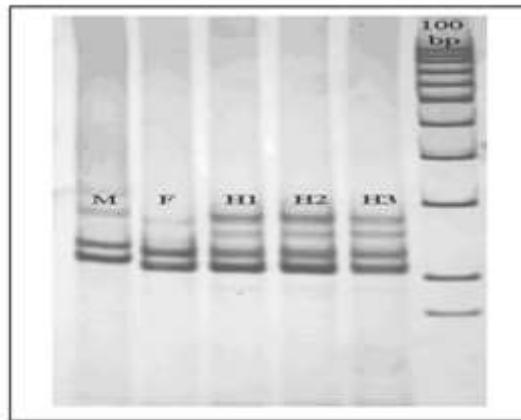
نتیجه گیری

بطور کلی، کاربردهای آنالیز ژنتیکی جهت مدیریت منابع ژنتیکی گونه‌های در معرض خطر و مدیریت ذخایر دارای اهمیت فراوانی است. مارکرهای مولکولی نیز ابزار با ارزشی برای استفاده در برنامه‌های اصلاح ژئوگرافی در تولید مصنوعی ماهیان هستند. تولید مثل مصنوعی که بر پایه تعداد کمی از مولدین بنا شده باشد سبب کاهش تنوع ژنی و افزایش هموژیگوستی می‌شود. مدیریت ذخایر (در حالتی که مولدها محدود باشند) با معرفی منظم گونه‌های جدید افت ناشی از آمیزش خویشاوندی را به حداقل می‌رساند. برای نظارت بر تنوع ژنی در ذخایر ماهیان مولد، می‌بایست مارکرهای مولکولی بکار گرفته شود. مارکرهای ریزماهواره روشنی مناسب برای این مورد است زیرا سطوح بالایی از تنوع ژنتیکی توزیع شده در سرتاسر ژنوم ماهیان را نشان می‌دهد. آنالیز ریزماهواره یک روش مطمئن برای بررسی خصوصیات ماهیان و دورگه‌های آنهاست زیرا اطلاعات مفیدی را برای مدیریت فعالیتهای حفاظتی و کنترل ذخایر فراهم می‌نماید.

منابع

- امیرجنتی، آ.، نوروزی، م.، ناظمی، ع.، ۱۳۹۲. بررسی ساختار ژنتیک جمعیت ماهی کپور معمولی *Cyprinus carpio* Linnaeus 1758 در تالاب انزلی و مصب گرگانرود به روش مولکولی

سه لکوس هتروزیگوت بوده و دورگه تشخیص داده شدند.



شکل ۲- مقایسه دورگه‌های (H1-H3) بین ماهی سفید ماده (F) و ماهی کپور علفخوار نر (M) با استفاده از مارکر میکروستلایت

مطالعه بر روی وراثت لکوسهای ریزماهواره در تاسماهیان هم بر روی تعدادی از گونه‌های خالص و هم بر روی تعدادی از دورگه‌ها صورت گرفته است. در مطالعات Woznicki و Fopp-Bayat (۲۰۰۸)، لکوس ریزماهواره با استفاده از لاروهای بستر آزمایش شدند. تمامی این دورگه‌ها وراثت دیسومیک و توزیع مندلی را در فنوتیپ نشان دادند. در دورگه‌های بین تاسماهی پاروپیوزه (Pallid) و Shovelnose که با مارکرهای ریزماهواره آنالیز شدند شباهت‌الی زیادی به گونه Shovelnose داشتند در حالیکه mtDNA شباهت دورگه‌ها را به Pallid نشان می‌داد. این موضوع شاید ناشی از آمیزش غیر برگشتی باشد. نتایج امکان مشارکت ماده‌ها در نسل اول دورگه‌ها را نشان می‌دهد و همچنین ممکن است که بعضی از دورگه‌ها نتیجه آمیزش پسگرد با Shovelnose باشند (Tranah et al., 2004). تشخیص مورفولوژیکی دورگه بستر بخصوص در مراحل اولیه رشد مشکل است (Kozlov,

- میکروستلات. نشریه توسعه آبزی پروری، ۷ (۳)، ۱-۱۰.
۲. امینی، ک.، ۱۳۷۱. دورگه بین فیلماهی و ازونبرون و پرورش نسل حاصل در شرایط کنترل شده. گزارش نهایی پروژه مرکز تحقیقات شیلاتی استان مازندران، ۶۶ صفحه.
۳. برادران نویری، ش.، بهمنی، م.، حسینی، م. ر.، عبدالحی، ح.، حاجیان، ع.، درویشی، ص.، فارابی، م. و.، چکمه دوز، ف.، ۱۳۸۸. گزارش نهایی پروژه تولید ماهی بستر (فیلماهی ماده × استریلاد نر) و مقایسه رشد آنها با رشد فیلماهی شاهد در شرایط ایران. موسسه تحقیقات شیلات ایران، ۴۷ صفحه.
۴. پناهی صاحبی، ح.، ۱۳۸۱. امکان سنجی دورگه‌گیری ماهی آمور ماده و کپور سرگنده نر و مطالعه دورگه نسل اول. پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، ۱۰۸ صفحه.
۵. پورغلام، ر.، نوروزی مقدم، ح.، ۱۳۷۴. گزارش نهایی پروژه دورگه‌گیری بین ماهی قزلآلای رنگین کمان و ماهی آزاد دریای خزر. انتشارات مرکز تحقیقات شیلاتی استان مازندران.
۶. پورکاظمی، م.، محسنی، م.، نوروز فشخامي، م. ر.، بهمنی، م.، طاهری، ع.، ۱۳۸۵. گزارش نهایی پروژه بررسی دورگه‌گیری بین فیلماهی (*Huso huso*) و تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) و مقایسه روند رشد آنها. انتشارات موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور. ۷۳ صفحه.
۷. پورکاظمی، م.، یارمحمدی، م.، نوروز فشخامي، م. ر.، نویری، ش.، ۱۳۸۵. گزارش نهایی پروژه
- دورگه‌گیری فیلماهی و تاسماهی ایرانی. موسسه تاسماهیان دریای خزر. ۶۰ صفحه.
۸. تیو، د.، ۱۳۷۴. مبانی ژنتیک و اصلاح نژاد ماهیان. ترجمه: امینی، ف.، انتشارات وزارت فرهنگ و ارشاد اسلامی، ۳۴۴ صفحه.
۹. حسینی، ا.، ۱۳۷۲. گزارش نهایی پروژه دورگه‌گیری بین ماهیان سفید و کلمه. انتشارات مرکز تحقیقات شیلاتی استان گیلان، ۳۴ صفحه.
۱۰. حسینی، ا.، ۱۳۷۵. گزارش نهایی پروژه دورگه‌گیری بین ماهیان سفید ماده و آمور نر. انتشارات مرکز تحقیقات شیلاتی استان گیلان.
۱۱. خارا، ح.، ۱۳۷۷. بررسی رژیم غذایی دورگه ماهی سفید ماده و ماهی آمور نر. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، ۲۰۸ صفحه.
۱۲. درافشان، س.، کلباسی، م. ر.، ۱۳۸۶. مطالعه کاریولوژیک نسل F₁ حاصل از هیبریداسیون آمیخته ماهیان کپور علفخوار ماده و کپور سرگنده × *Ctenopharyngodon idella* و *Hopophthalmichthys nobilis*. مجله زیست شناسی ایران، ۲۰ (۲)، ۲۷۷-۲۸۵.
۱۳. رستمیان، م.، ۱۳۷۵. دورگه بین ماهی شیپ و ازونبرون و مقایسه رشد نسل حاصل با یکی از والدین تا مرحله فینگرلینگ. پایان نامه مقطع کارشناسی، مرکز آموزش عالی علوم و صنایع شیلاتی میرزا کوچک خان، ۵۵ صفحه.
۱۴. رستمیان، م.، ۱۳۷۷. دورگه بین ماهی شیپ و ازونبرون و مقایسه رشد آن با ماهی ازونبرون. مجله علمی شیلات ایران، ۷ (۲)، ۴۸-۴۹.

23. Berg, L.S., 1948. Freshwater fishes of the U.S.S.R and the neighboring countries. USSR Academy of science. 505 pp.
24. Bronzi, P., Rosenthal, H., 2014. Present and future sturgeon and caviar production and marketing: A global market overview. *Journal of Applied Ichthyology*, 30, 1536–1546.
25. Burtsev, I.A., 1995. Bester in Aquaculture cited in sturgeon stocks and caviar Trade Workshop. Occasional paper of the IUCN Species Survival Commission, 17, 35-43.
26. Cnaani, A., Zilberman, N., Tinman, S., Hulata, G., Ron, M., 2004. Genome-scan analysis for quantitative trait loci in a F_2 tilapia hybrid. *Molecular Genetics and Genomics*, 272, 162–172.
27. DeWoody, J., Avise, J., 2001. Genetic perspective on the natural history of fish mating system. *Journal of Heredity*, 92, 167-172.
28. Dorson, M., Chevassus, B., Torhy, C., 1991. Comparative susceptibility of three species of char and of rainbow trout \times char triploid hybrids to several pathogenic salmonid viruses. *Diseases of Aquatic Organisms*, 11, 217–224.
29. Dowling, T.E., Smith, G.R., Brown, W.M., 1989. Reproductive isolation and introgression between *Notropis cornutus* and *Notropis chryscephalus* (Family Cyprinidae): comparison of morphology, allozymes and mitochondrial DNA. *Evolution*, 43, 620–634.
30. Elo, K., Ivanoff, S., Vuorinen, J.A., Piironen, J., 1997. Inheritance of RAPD markers and detection of interspecific hybridizations with brown trout and Atlantic salmon. *Aquaculture*, 152, 55- 65.
31. Epifanio, J., Philipp, D., 2000. Simulating the extinction of parental lineages from introgressive hybridization: the effects of fitness, initial proportions of parental taxa, and mate choice. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 10, 339–354.
32. Estoup, A., Angers, B., 1998. Microsatellites and minisatellites for molecular ecology: theoretical and empirical considerations. In: *Advances in Molecular Ecology*, Carvalho GR, ed.
15. زمینی، ع.ع.، احمدی، م.ر.، امینی، ف.، ۱۳۸۳. آمیزش متقابل ماهیان سفید و سیم و بررسی برخی از صفات ریخت سنجی در دورگه های حاصل. اولین همایش علمی-پژوهشی علوم شیلاتی، لاهیجان، ۲۷-۲۶ آذر ۱۳۸۳.
16. قزل، ح.، ۱۳۷۶. گزارش نهایی پروژه دورگه گیری بین فیلماهی و چالباش و پرورش نسل حاصل در شرایط کنترل شده. مرکز تحقیقات شیلات استان مازندران.
17. قزل، ح.، امینی، ک.، ۱۳۷۷. گزارش نهایی پروژه دورگه گیری بین فیلماهی و شیپ و پرورش نسل حاصل در شرایط کنترل شده. مرکز تحقیقات شیلات استان مازندران.
18. نقوی، م.، قره یاضی، ب.، حسینی سالکده، ق.، ۱۳۸۶. نشانگرهای مولکولی. انتشارات دانشگاه تهران، ۱۴۵-۱۲۳.
19. Argue, B.J., Dunham, R.A., 1999. Hybrid fertility, introgression and backcrossing in fish. *Reviews in Fisheries Science*, 7, 137–195.
20. Awata, S., Munehara, H., Kohda, M., 2005. Social system and reproduction of helpers in a cooperatively breeding cichlid fish *Julidochromis ornatus* in Lake Tanganyika: field observations and parentage analyses. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 58, 506-516.
21. Bakos, J., Gordá, S., 1995. Genetic improvement of common carp strains using intraspecific hybridization. *Aquaculture*, 129, 183–186.
22. Beall, E., Moran, P., Pendas, A.M., Izquierdo, J.I., Garcia-Vazquez, E., 1997. Hybridization in natural populations of salmonids in South-West Europe and in an experimental channel. *Bulletin Francais de la Peche et de la Pisciculture*, 344/345, 271-285.

- markers. *Aquaculture Research*, 39, 1483–1487.
41. Herlin, M., Delghandi, M., Wesmajervi, M., Taghhart, J.B., McAndrew, B.J., Penman, D.J., 2008. Analysis of the parental contribution to a group of fry from a single day of spawning from a commercial Atlantic cod *Gadus morhua* breeding tank. *Aquaculture*, 274, 218-224.
 42. Hulata, G., 1995. A review of genetic, improvement of the common carp *Cyprinus carpio* L. and other hybrids by crossbreeding, hybridization and selection. *Aquaculture*, 129, 143-155.
 43. Imai, H., Kashiwagi, F., Cheng, J.H., Chen, T.I., Tachihara, K., Yoshino, T., 2009. Genetic and morphological evidence of hybridization between *Nematalosa japonica* and *N. come* (Clupeiformes: Clupeidae) of Okinawa island, Ryukyu Archipelago, Japan. *Fisheries Sciences*, 75, 343–350.
 44. Kallemeyn, L.W., 1989. Status of the pallid sturgeon *Scaphirhynchus albus*. *Fisheries*, 8, 3–9.
 45. Kirpichnikov, V.S., 1981. Genetic basis of fish selection berlin, springer verlag.410 p.
 46. Kozlov, V. I., 1993. Sturgeon farming, VNIRO, Moscow, 64 p.
 47. Krasznai, Z.L., 1986. Interspecific hybridization of warm water fin fish. In: Proceeding of the World Symposium on Selection, Hybridization and Genetic Engineering in Aquaculture, 27-30 May, (Berlin, Germany), 27-30.
 48. L'Abee-Lund, J.H., 1988. Otolith shape discriminates between juvenile Atlantic salmon, *Salmo salar* L., and brown trout *Salmo trutta*. *Journal of Fish Biology*, 33, 899-903.
 49. Leary, R.F., Allendorf, F.W., Forbes, S.H., 1993. Conservation genetics of bull trout in the Columbia and Klamath river drainages. *Conservation Biology*, 7, 856–865.
 50. McLean, J.E., Seamons, T.R., Daur, M.B., Bentzen, P., Quinn, T.P., 2008. Variation in reproductive success and effective number of breeders in a hatchery population of steelhead trout *Oncorhynchus mykiss*: examination by (IOS Press: Amsterdam, Netherlands), pp: 55-86.
 33. Fopp-Bayat, D., Kolman, R., Woznicki, P., 2007. Induction of meiotic gynogenesis in sterlet *Acipenser ruthenus* using UV-irradiated bester sperm. *Aquaculture*, 264, 54-58.
 34. Fopp-Bayat, D., Woznicki, P., 2008. Test of Mendelian segregation among 10 microsatellite loci in the fourth generation of bester (*Huso huso* L. × *Acipenser ruthenus* L.). *Aquaculture Reasearch*, 277, 1-6.
 35. Forbes, S.A., Richardson, R.E., 1905. On a new shovelnose sturgeon from the Mississippi River. *Bulletin of the Illinois State Laboratory of Natural History*, 7, 37–44.
 36. Garcia de Leon, F.J., Dallas, J.F., Chatain, B., Canonne, M., Versini, J.J., Bonhomme, F., 1995. Development and use of microsatellite markers in sea bass *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758) (Perciformes: Serranidae). *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 4, 62-68.
 37. Garcia-Vazquez, E., Moran, P., Martinez, J.L., Perez, J., de Gaudemar, B., Beall, E., 2001. Alternative mating strategies in Atlantic salmon and brown trout. *Journal of Heredity*, 92, 146–149.
 38. Garcia-Vazquez, E., Perez, J., Ayllon, F., Martinez, J.L., Glise, G., Beall, E., 2004. Asymmetry of post-F1 interspecific reproductive barriers among brown trout *Salmo trutta* and Atlantic salmon *Salmo salar*. *Aquaculture*, 234, 77–84.
 39. Hassanzadeh Saber, M., Baradaran Noveiri, S., Pourkazemi, M., Nowruzfashkhami, M.R., Yarmohammadi, M., Kashani Sabet, A.R., 2011. DNA markers in hybrids of female Caspian kutum *Rutilus frisii kutum* and male grass carp *Ctenopharyngodon idella*: possible production of gynogenic progeny. *Progress in Biological Sciences*, 1 (1), 49-54.
 40. Hassanzadeh Saber, M., Noveiri, S.B., Pourkazemi, M., Yarmohammadi, M., 2008. Induction of gynogenesis in stellate sturgeon *Acipenser stellatus* Pallas 1771 and its verification using microsatellite

- sterlet in the saint-petersburg region. trudy saint-petersburg kogo obshchestva, 4 (2).
60. Ozaki, A., Sakamoto, T., Khoo, S., Nakamura, K., Coimbra, M.R., Akutsu, T., Okamoto, N., 2001. Quantitative trait loci (QTLs) associated with resistance/susceptibility to infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Molecular Genetics and Genomics, 265(1), 23-31.
61. Pandian, T.J., 2011. Sex determination in fish. CRC Press.
62. Pandian, T.J., Kirankumar, S., 2003. Androgenesis and conservation of fishes. Current Science, 85, 917–931.
63. Perez, J., Martinez, J.L., Moran, P., Beall, E., Garcia-Vazquez, E., 1999. Identification of Atlantic salmon *Salmo salar* × brown trout *Salmo trutta* hybrids with a nuclear marker useful for evolutionary studies. Journal of Fish Biology, 54, 460-464.
64. Rico, C., Rico, I., Hewitt, G., 1996. 470 million years of conservation of microsatellite loci among fish species. Proceedings of the Royal Society B Biological Sciences, 263, 549–557.
65. Saber, M.H., Noveiri, S.B., Pourkazemi, M., Yazdani, M.A., Ghoroghi, A., Bahmani, M., Pourdehghani, M., Chakmehdouz, F., Yarmohammadi, M., Nowruzfashkhami, M.R., 2014. Induction of meiotic gynogenesis in sturgeon *Acipenser nudiventris* using UV-irradiated heterologous sperm. Journal of Applied Genetics, 55, 223–229.
66. Saber, M.H., Noveiri, S.B., Pourkazemi, M., Nowruzfashkhami, M.R., Yarmohammadi, M., Salari Aliabadi, M.A., Zolgharnein, H., Ronagh, M.T., 2015. Confirmation of induced hybrid from female sturgeon *Acipenser nudiventris* Lovetsky, 1828 and male Siberian sturgeon *Acipenser baerii* Brandt, 1869 using microsatellite markers. Journal of Applied Ichthyology, 31, 1002–1005.
67. Sakamoto, T., Danzmann, R.G., Okamoto, N., Ferguson, M.M., Ihssen, P.E., 1999. Linkage analysis of quantitative trait loci associated with spawning time in rainbow microsatellite-based parentage analysis. Conservation Genetics, 9, 295-304.
51. Mia, M.Y., Taggart, J.B., Gilmour, A.E., Das, T.K., Sattar, M.A., Hussain, M.G., Mazid, M.A., McAndrew, B.U.J., Penman, D.J., 2002. Development of DNA microsatellite loci in Chinese carps and application to detection of hybridization in broodstock. In: Proceedings of a Workshop on Genetic Management and Improvement Strategies for Exotic Carps in Asia, Dhaka, Bangladesh, 51-57.
52. Mia, M.Y., Taggart, J.B., Gilmour, A.E., Gheyas, A.A., Das, T.K., Kohinoor, A.H.M., Rahman, M.A., Sattar, M.A., Hussain, M.G., Mazid, M.A., Penman, D.J., 2005. Detection of hybridization between Chinese carp species (*Hypophthalmichthys molitrix* × *Arishichthys nobilis*) in hatchery broodstock of Bangladesh using DNA microsatellite loci. Aquaculture, 247, 267–273.
53. Moav, R., Wohlfarth, G.W., 1973. Carp breeding in Israel. Agricultural Genetics, 295, 318.
54. Munkres, K.P., Bay, L.K., Jerry, D.R., McCormick, M.I., Herwerden, L.V., 2007. Development and characterization of microsatellite markers for parentage analyses of the coral reef damselfish *Pomacentrus amboinensis* (Pomacentridae). Conservation Genetics, 8, 987-990.
55. Nelson, J.M., 1994. Fishes of the World 3 Edition. John Wiley and Sons, Inc., New York.
56. Nikolyukin, N.I., Timofeeva, N.A., 1953. Hybridization of Beluga and Sterlet. Doklady Akademii Nauk SSSR, 93, 899-902 (in Russia).
57. O'Connell, M., Wright, J.M., 1997. Microsatellite DNA in fishes. Reviews in Fish Biology and Fisheries, 7, 331-363.
58. O'Reilly, P., Wright, J.M., 1995. The evolving technology of DNA fingerprinting and its application to fisheries and aquaculture. Journal of Fish Biology, 47 (A), 29-55.
59. Ovsyannikov, F.V., 1870. The first experiment on the artificial breeding of

- 78.Tranah, G., Campton, D.E., May, B., 2004. Genetic evidence for hybridization of pallid and shovelnose sturgeon. *Journal of Heredity*, 95, 474–480.
- 79.Verspoor, E., Hammart, J., 1991. Introgressive hybridization in fishes: the biochemical evidence. *Journal of Fish Biology*, 39 (A), 309-344.
- 80.Vuorinen, J., Piironen, J., 1984. Electrophoretic identification of Atlantic salmon (*Salmo salar*) and Brown trout (*S. trutta*), and their hybrids. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 41, 1834-1837.
- 81.Waldbieser, G.C., Bowsworth, B.G., 2008. Utilization of a rapid DNA based assay for molecular verification of channel catfish, blue catfish F₁ hybrids and backcross offspring at several life stages. *North American Journal of Aquaculture*, 70, 388–395.
- 82.Wallis, G.P., Beardmore, J.A., 1980. Genetic evidence for naturally occurring fertile hybrid between two goby species *Pomatoschistus minutus* and *P. lozanoi* (Pisces, Gobiidae). *Marine Ecology Progress Series*, 3, 309–315.
- 83.Ward, R.D., Grewe, P.M., 1995. Appraisal of molecular genetic techniques in fisheries, pp. 29–54 in *Molecular Genetics in Fisheries*, edited by G.R. Carvalho & T.J. Pitcher. Chapman & Hall, London, UK.
- 84.Wright, J.M., 1993. DNA fingerprinting of fishes. *Biochemistry and molecular biology of fishes*, 2, 57-91.
- 85.Wright, J.M. and Bentzen, P., 1995. Microsatellites: genetic markers for the future. In *Molecular genetics in fisheries* (pp. 117-121). Springer, Dordrecht.
- 86.Yarmohammadi, M., Shabani, A., Pourkazemi, M., Baradaran Noveiri, S., 2012. Identification of bester hybrids (female *Huso huso* Linnaeus, 1758 and male sterlet *Acipenser ruthenus* Linnaeus, 1758) using AFLP molecular technique. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 11(2), 415-423.
- 87.You, C., Yu, X., Tong, J., 2007. Detection of hybridization between two loach species (*Paramisgurnus dabryanus* and *Misgurnus* trout (*Oncorhynchus mykiss*)). *Aquaculture*, 173, 33–43.
- 68.Schwartz, F.J., 1981. World literature to fish hybrids with an analysis by family, species, and hybrid. Supplement 1. NOAA Tech Rep, NMFS-SSRF.
- 69.Schwenk, K., Breder, N., Streit, B., 2008. Introduction, extent, processes and evolutionary impact of interspecific hybridization in animals. *Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences*, 363B, 2805–2811.
- 70.Scribner, K.T., Page, K.S., Bartron, M.L., 2001. Hybridization in freshwater fishes: a review of case studies and cytonuclear methods of biological inference. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 10, 293–323.
- 71.Seeb, J.E., Thorgaard, G.H., Tynan, T., 1993. Triploid hybrids between chum salmon female × chinook salmon male have early sea-water tolerance. *Aquaculture*, 117, 37–45.
- 72.Seehausen, O., 2004. Hybridization and adaptive radiation. *Trends in Ecology & Evolution*, 19, 198–207.
- 73.Shedko, S.V., Shedko, M.B., 2016. Unidirectional hybridization of kaluga *Acipenser dauricus* Georgi 1775 and Amur sturgeon *Acipenser schrenckii* Brandt 1869 inferred from the mitochondrial DNA genotyping of their natural hybrids. *Russian Journal of Genetics*, 52 (3), 292–297.
- 74.Sick, K. 1961. Haemoglobin polymorphism in fishes. *Nature*, 192, 894-896.
- 75.Somorjai, I.M.L., Danzmann, R.G., Ferguson, M.M., 2003. Distribution of temperature tolerance quantitative trait loci in Arctic charr *Salvelinus alpinus* and inferred homologies in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Genetics*, 165, 1443–1456.
- 76.Tave, D., 1993. *Genetics for fish hatchery manager*, 2nd ed. Van nostrand reinhold, Newyork, USA. 415 pp.
- 77.Taylor, J., Mahon, R., 1977. Hybridization of *Cyprinus carpio* and *Carassius auratus*; the first two exotic species in the lower Laurentian Great Lakes. *Environmental Biology of Fishes*, 1, 205–208.

89. Zhang, Q., Tiersch, T.R., 1997. Chromosomal inheritance patterns of intergeneric hybrids of ictalurid catfishes: odd diploid numbers with equal parental contributions. *Journal of Fish Biology*, 51, 1073-1084.
- anguillicaudatus) in wild populations. *Environmental Biology of Fishes*, 86(1), 65. DOI 10.1007/s110641-0079282-X.
88. Youngston, A.F., Knox, D., Johnstone, R., 1992. Wild adult hybrids of *Salmo salar* L. and *Salmo trutta* L. *Journal of Fish Biology*, 40, 817-820.