

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

محمد حسن زاده صابر*^۱ و شهروز برادران نویری^۱

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

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 میکروپیل وارد تخمک می گردد. این حالت برای آنها امکان لقاح هترولوگ را فراهم کرده و موجب دورگه گیری و پلی پلوئیدی می شود. دورگه گیری هم در طبیعت و هم بطور مصنوعی در ماهیان انجام می شود. 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 خصوصا نشانگرهای ریزماهواره است که می تواند در تشخیص قطعی دورگه ها نقش مهمی را ایفا کند.

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

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) و موجب دورگه گیری و پلی پلوئیدی 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 تریپلوئیدی 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 بارور، بین جنسی می باشند (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 تخمیزی و تغییر شرایط زیستگاهی (Pandian, 2011). Scribner و همکاران (۲۰۰۱) چهار دلیل مهم را موجب دورگه گیری می دانند: ۱- فقدان زیستگاه / تغییر زیستگاه ۲- آبی

پروری ۳- گسترش زیستگاه ۴- معرفی گونه جدید. وقوع دورگه در ماهیان، ۸۷ مورد به واسطه تاثیر انسانی می باشد. از این میان، آبی 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 با معرفی گونه جدید همراه است (Scribner et al., 2001).

بمدت چندین قرن، شناسایی دورگه ها با اندازه گیری خصوصیات مورفولوژیک و مرستیکی 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 فیلوژنی 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، غالبیت و همباز بودن، تعداد جایگاه های تجزیه شده در هر آزمایش، توزیع در

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 پلئیدی موجود مورد مطالعه بستگی دارد (نقوی، ۱۳۸۶). ماهواره ها (satellite) بخش هایی عمده 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 ۱-۶ 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 آلوزایمی در پروتئین ها شد و در حدود بیست سال گذشته در علوم شیلاتی مورد استفاده قرار گرفته است. با وجود استفاده گسترده، روش آلوزایم ها با مشکلاتی از قبیل نیاز به مقدار زیاد نمونه و بافت تازه یا منجمد مواجه بود تا فعالیت آلوزایم ها حفظ شود

(Ward and Grewe, 1994). از طرف دیگر در این شیوه میزان پلی مورفیسم نیز محدود بود، که سبب محدود شدن استفاده آنها در تشخیص سطوح بالای تنوع از قبیل روابط خویشاوندی و مطالعات جمعیت های کوچک می شد. علاوه بر موارد فوق، از آنجا که فوتیپ تحت تاثیر محیط است، تفسیر نتایج بررسی های ژنوتیپی دچار مشکل می شد (Ward and Grewe, 1994). بعدها امکان آنالیز مستقیم تنوع ژنوتیپی با ظهور آنزیمهای اندونوکلازهای 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 عمده 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 بلات، 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 آبی 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 بلات برطرف شد ولی چون لوسای

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

از کاربرد های ریزماهواره می توان به موارد زیادی از جمله مطالعات ساختار جمعیت (امیرجنتی و همکاران، ۱۳۹۲) و حفاظت گونه ای، همه گیری و آسیب شناسی مولکولی، نقشه های ژنتیکی و نقشه های لینکاژی، نقشه لوسای صفات کمی، انتخاب به کمک مارکر MAS، تیره های سلولی، مطالعات فیلوژنی 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 می برد. مارکرهای ریزماهواره به راحتی می توانند نحوه ارث پذیری یک الل را از والدین به فرزندان نشان دهند. همچنین ریزماهواره ها به دلیل همباز بودنشان برای شناسایی دورگه بین دو گونه می توانند روش مفیدی باشند. مطالعاتی از قییل ماهیان دورگه (Fopp-Bayat and Woznicki, 2008)، اثبات تغییر جنسیت (Fopp-bayat *et al.*, 2007)، اثبات و تایید تاسماهیان گاینوژن (Hassanzadeh Saber *et al.*, 2008)، بررسی روابط والدینی و سهم والدین در تولید مثل گروهی (Munkres *et al.*, 2007)، تعداد موثر مولدین یک جمعیت و بررسی موفقیت 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 ریزماهواره ها به علت کاربردهای فراوان مانند تعیین ساختار ژنتیکی ماهیانی با تعداد کروموزوم متفاوت (تاسماهیان)، مطالعه ژنتیک جمعیت گونه ها و ارزیابی اثرات بازسازی ذخایر بر ساختار ژنتیکی گونه های بومی بر سایر روشها مانند

مینی ستلایت ها نسبتا بزرگ بودند، محدودیت PCR در استفاده برای قطعه بزرگ DNA (بیش از ۴kb) بود که به سادگی تکثیر نمی شد (O'Reilly and Wright, 1995). این مشکلات در روش های بررسی ریزماهواره برطرف شد (Wright and Bentzen, 1994). Garcia de Leon و همکاران (1995) از دو مارکر ریزماهواره برای تعیین نسبت والدینی باس دریایی استفاده کردند. در این بررسی ویژگی های فیزیکی نظیر وزن بدن، طول و ناهنجاری های درون و بین خانواده ها برای تعیین تاثیر والدین مقایسه شدند. با استفاده از این داده ها، مولدین نازا و گونه هایی که صفات نامطلوب داشتند از جمعیت حذف شدند.

در ماهیان، ریزماهواره ها با لوسای جامع و تنوع بالا خصوصا در گونه های دریایی آبهای سرد به میزان فراوان یافت می شوند (Rico *et al.*, 1996; DeWoody and Avise, 2001). اندازه آلل ها در لوسای ریزماهواره عموما 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 نمونه های موزه ای این مارکرها را بسیار کارآمد نشان داده است (O'Connell and Wright, 1997).

ریزماهواره ها برای نشان دادن روابط والدینی و خویشاوندی، بهبود تولید مثل از دید تجاری و تعیین تنوع به کار می رود. با شناسایی لوسای ریزماهواره متصل به QTLs مهم، آبی پروران می توانند با استفاده از این لوسای برای برنامه های اصلاح نژادی استفاده کنند. نقشه های لینکاژی در ماهیان برای شناسایی QTLs در صفاتی نظیر تحمل سرما، مقاومت به بیماری و نرخ رشد (Sakamoto *et al.*, 1999; Ozaki *et al.*, 1999) و

آلوزایم، DNA میتو کندری و RAPD برتری دارد چرا که اللهای بیشتری داشته و میتواند آنالیز ساختار ژنتیکی والدین و چگونگی انتقال آن به فرزندان را آشکار کند (پور کاظمی 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 (بعنوان مثال فلسها یا قسمت کوچکی از باله ها) انجام می گیرد که سایر روشهای فیزیولوژیکی و سیتوژنتیکی چنین مزیتی ندارند (Perez et al. 1999).

سابقه دورگه گیری در ماهیان

دو رگه گیری یکی از روش های متداول اصلاح نژاد است که عمدتاً به منظور افزایش تولید و یا تولید لاین های مناسب در آبرزی پروری بکار می رود. هدف اصلی در دو رگه گیری که عموماً از تلاقی بین دو گونه مختلف صورت می گیرد، دستیابی به صفت مناسب از طریق پدیده هتروزیس یا برتری دو رگه ها برای افزایش راندمان تولید در آبرزی پروری است که این فعالیت در بسیاری از گونه ها از قبیل تیلپیا، گربه ماهی، باس دریایی گزارش شده است. به طور کلی دورگه گیری به دو صورت طبیعی و مصنوعی صورت می گیرد. دو رگه گیری طبیعی معمولاً برای آبرزیانی اتفاق می افتد که در یک محیط یا اکوسیستم مشترک زیست می کنند و یا برای تخمیزی در شرایط یکسان و بستر مشترکی از نظر زمانی و مکانی قرار می گیرند. در طبیعت دورگه گیری بین گونه ای سبب انتقال ژن از یک گونه به گونه دیگر می شود و حتی ممکن است سبب انتقراض گونه اصلی گردد (Epifanio and Philipp, 2000). دو رگه های مصنوعی که با دستکاری

مستقیم انسان صورت می گیرد به سه دسته دو رگه گیری درون گونه ای، دو رگه گیری بین گونه ای و دو رگه گیری بین جنس های یک خانواده تقسیم بندی می شوند. کاربردهای تولید آبرزیان یا ماهیان دو رگه عبارتند از: بالا بردن یا افزایش توان تولید، ایجاد نژادها و سویه های مختلف و مناسب برای آبرزی پروری، تولید جمعیت های تک جنس و عقیم، تولید ماهیان هم شکل برای تسهیل در هم آوری و کیفیت گوشت بالاتر و تولید ماهیان مقاوم به بیماری و شرایط نامساعد محیطی (تیو، ۱۳۷۴).

دورگه گیری در آبرزیان انواع متفاوتی دارد که رایج ترین آن دورگه گیری بین گونه ای می باشد (Schwartz, 1981). گونه های مرتبط در یک جنس می توانند در شرایط مختلفی دورگه شوند (Zhang and Tiersch, 1997). همچنین دورگه ها می توانند زایا باشند (Verspoor and Hammar, 1991). دورگه گیری بین گونه ای می تواند در ترکیب خصوصیات مختلف ژنتیکی، ایجاد خصوصیات جدید، تغییر رفتار، تنوع عادات غذایی، تولید دورگه های هتروزیس، جمعیت های عقیم، ازدیاد جمعیت های تک جنسی، القای پلی پلوئیدی، و ... مؤثر باشد (Krasznai, 1986). در بعضی موارد، تشخیص شکل ظاهری دورگه ها از والدینشان مشکل است. بعنوان مثال، تشخیص مورفولوژیکی دورگه بین آزاد ماهی آتلانتیک (*Salmo salar*) و قزل آلا ی جویاری (*Salmo trutta*) بخصوص در مراحل جوانی خیلی مشکل است (L'Abée-Lund, 1988). این دورگه ها می توانند با فوتیپی 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

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

دو رگه گیری در کپور ماهیان

دوره گیری طبیعی در ماهی لوچ فلس بزرگ (*Paramisgurnus dabryanus*) و لوچ استخری (*Misgurnus anguillicaudatus*) به دلیل خصوصیات مورفولوژیکی مشابه و همزمانی رسیدگی جنسی اتفاق می افتد (You et al., 2007). دوره های ماهیان لوچ 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 Wohlfarth, 1974; Hulata, 1995). اما آنهایی که هتروزیس مثبت نشان دادند در حال حاضر به عنوان مبنایی برای آبی پروری کپور در کشورهای مختلفی مانند مجارستان، ویتنام و غیره قرار گرفته است. تلاقی لاینهای مختلف ماهی کپور در موسسه سارواش در مجارستان (Bakos and Gorda, 1995) مثالی مناسب از موفقیت 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 لاینهای کپور شاهد از خود نشان دادند. Kirpichnikov در سال ۱۹۸۱ توانست از تلاقی کپور معمولی بومی مناطق شمالی روسیه با کپور معمولی بومی مناطق سیریری یک سویه جدید از ماهی کپور مقاوم به سرما به نام کپور "Ropsha" را تولید کند. از سایر دو رگه های تولید

شده حاصل از تلاقی های انجام شده بین گونه های مختلف کپور ماهیان می توان به تلاقی های ماهی کپور علفخوار در کپور سرگنده (درافشان و کلباسی، ۱۳۸۶)، کپور سرگنده 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 دو رگه گیری آزمایشی انجام گرفت که اکثر تلاقی ها در حد بررسی ماهیان نسل اول در مراحل اولیه یعنی حداکثر ۱ تا ۲ سال پس از تولید بود. از جمله این دو رگه گیری ها می توان به تلاقی کپور علفخوار و کپور سرگنده (تولید ماهیان دو رگه عقیم) (پناهی صاحبی، ۱۳۸۱)، ماهی سفید و کپور علفخوار (رشد دو رگه های تولید شده بیشتر از ماهیان شاهد) (حسینی، ۱۳۷۵)، ماهی سفید و ماهی کلمه (رشد دو رگه های تولید شده کمتر از ماهیان شاهد) (حسینی، ۱۳۷۲)، ماهی کلمه و ماهی سیم (رشد ماهیان دو رگه کمتر از ماهیان شاهد) (حسینی، ۱۳۷۲) و دوره متقابل بین ماهی سفید دریای خزر و ماهی سیم (زمینی و همکاران، ۱۳۸۳) اشاره نمود.

دو رگه گیری در آزاد ماهیان

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

دهد که دورگه ها حدواسط والدین خود می باشند (Tranah et al., 2004).

Berg در سال ۱۹۴۸ تعداد ۹ شکل از دو رگه های طبیعی در بین تاسماهیان را گزارش کرد که عبارتند از: کالوگا و تاسماهی آمور، شیپ و فیلماهی، تاسماهی روسی و فیلماهی، ازون برون و فیلماهی، ازون برون و شیپ، ازون برون و تاسماهی روسی، استرلیاد و تاسماهی روسی، استرلیاد و ازون برون، استرلیاد و تاسماهی سیری. البته از بازماندگی و رشد دو رگه ها اطلاع دقیقی در دست نیست ولی با توجه به مطالعات انجام شده در رودخانه ولگا تخمین زدند که حدود ۱٪ (یا کمتر) از دو رگه های این رودخانه بارور و زایا باشند (Burtsev, 1995).

دو رگه گیری مصنوعی در تاسماهیان

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

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

از دیگر دورگه گیری های انجام شده در آزاد ماهیان می توان به قزل آلاهی رنگین کمان و سالمون (تولید دو رگه های مقاوم به بیماری ویروسی)، قزل آلاهی رنگین کمان و ماهی آزاد (کاهش سرعت رشد نسبت به ماهیان دیپلوئید علیرغم مقاوم بودن به تعدادی از بیماری های ویروسی)، ماهی آزاد کوهو و سالمون (کاهش درصد بازماندگی ماهیان دو رگه علیرغم مقاوم بودن به بیماری ویروسی) (Dorson, 1991)، قزل آلاهی دریاچه ای و قزل آلاهی جویباری (به منظور معرفی دو رگه ها به آبگیرهای داخلی انجام شد) (Tave, 1993). قزل آلاهی قهوه ای و ماهی آزاد آتلانتیک (سرعت رشد بالاتر و عادت پذیری مناسب برای معرفی به دریا) (Seeb et al., 1993) و قزل آلاهی رنگین کمان و ماهی آزاد دریای خزر (برخورداری 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 *pallid sturgeon* (*Scaphirhynchus albus*) و *Shovelnose* (*Scaphirhynchus platyrhynchus*) می باشد. صفات مورفومتریک و مریستیک این دو گونه با یکدیگر متفاوت بوده (Forbes and Richardson, 1905) و همچنین از نظر پراکنش جغرافیایی و تخمیزی با یکدیگر تفاوت دارند (Kallemeyn, 1989). اطلاعات مورفولوژیک و ژنتیکی نشان می

(*A. dabryanus*) و کالوگا (*Huso dauricus*) (Shedko and Shedko, 2016) را نام برد.

در ایران نیز انواع تلاقی مصنوعی بین تاسماهیان انجام شد که از جمله می توان به تلاقی فیلماهی و ازون برون (امینی، ۱۳۷۱)، فیلماهی و شیپ (قزل، ۱۳۷۶)، فیلماهی و تاسماهی روسی (قزل و امینی، ۱۳۷۷)، تاسماهی روسی و ازون برون (رستمیان، ۱۳۷۵)، شیپ و ازون برون (رستمیان، ۱۳۷۷)، فیلماهی و تاسماهی ایرانی (بلوپارس) (پورکاظمی و همکاران، ۱۳۸۵)، استرلیاد و فیلماهی (بستر نسل اول) (برادران نویری، ۱۳۸۸) اشاره نمود. تمام دو رگه های تولید شده بجز دورگه بستر، آزمایشگاهی و تحقیقاتی بوده، به مرحله تولید تجاری و انبوه نرسیده اند.

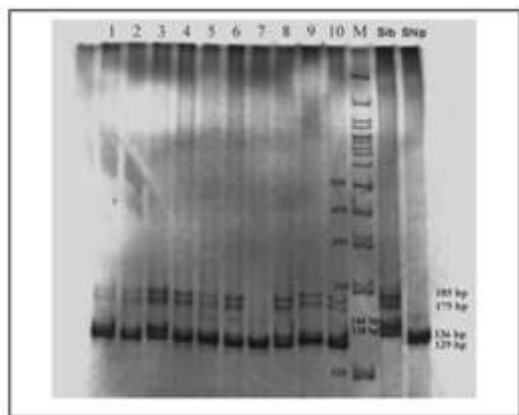
شناسایی دورگه ها

دورگه های نسل اول ممکن است شکل بدن و رنگ حدوسط 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 آلالی جویباری و قزل آلالی کله گاوی، بعضی از فرزندان دورگه خصوصیات قزل آلالی کله گاوی و بعضی دیگر خصوصیات قزل آلالی جویباری را نشان دادند (Leary et al., 1993). در آمیزش بین کپور نقره ای و کپور معمولی دو زمان متفاوت برای تفریح مشاهده شده

است، در نتیجه تخمهایی که زودتر تفریح می شوند گاینوژنیک و بعدی ها دورگه می شوند. در آمیزش بین کپور نقره ای و سرگنده، دورگه ها نه تنها گاینوژنیک هستند بلکه تریپلوئید 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 اثبات نمود. بهترین روش تشخیص دورگه ها، روشهای بیوشیمیایی و استفاده از مارکرهای DNA می باشد. در ارزیابی تنوع ژنتیکی با استفاده از DNA، ریزماهواره ها شاخصهای حساسی برای بررسی نتایج هموزیگوسیتی در تلاقیهای خویشاوندی هستند و بدین علت برای تشخیص جزییات تمایز جمعیتی مناسب هستند. بعضی از جایگاههای ژنی ریزماهواره، حاوی تعداد خیلی زیادی از الیها در هر لکوس می باشند (>۲۰) که این نوع از لکوسها کاربردهای بسیاری از جمله در تشخیص والدین - نوزادان در جمعیتهای مختلط دارند. در حالی که دیگر لکوسها دارای تعداد کمتری از الیها هستند و بیشتر برای ژنتیک جمعیت و فیلوژنی مناسب می باشند (Estoup and Angers, 1998).

Dowling و همکاران (۱۹۸۹) از مارکرهای فنوتایپیک، آلوزایم و mtDNA جهت تشخیص دورگه ها استفاده کردند. در ماهی گوبی از مارکرهای آلوزایم در دورگه های F1 و F2 استفاده شد (Wallis and Beardmore, 1980). باید خاطر نشان کرد که هنوز مارکرهای فنوتیپی رایج ترین مارکرها برای تشخیص دورگه ها هستند (۴۵٪). مارکرهای دیگر که غالبیت کمتری دارند شامل آلوزایم ها (۳۵٪)، mtDNA (۱۲٪)، nDNA (۴٪) و کاریولوژی (۲٪) می باشند. Imai و همکاران (۲۰۰۹) از یک لکوس آلوزایم و دو

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



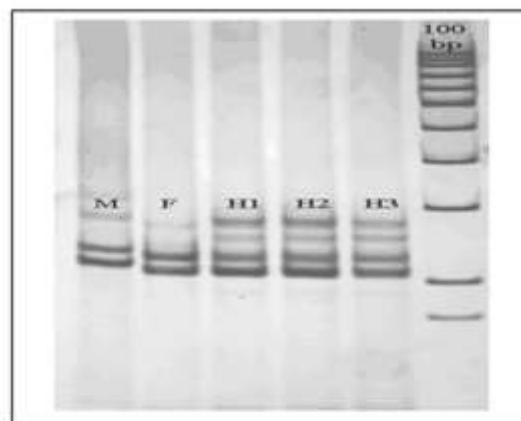
شکل ۱- مقایسه دورگه های (ستون ۱-۱۰) بین تاسماهی شیپ ماده (ستون ۱۳) و تاسماهی سبیری نر (ستون ۱۲) با استفاده از مارکر ریزماهواره

همچنین Saber Hassanzadeh 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 فنوتیپی دورگه ها بعلت تشابه شکل ظاهری و برخی از خصوصیات مریستیک دورگه با ماهی سفید ماده (خارا، 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 *N. come* و *Nematolosa japonica* 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 بانندی لوچ استخری و ۳ باند در الگوی بانندی دورگه تریلوئید مشاهده گردید. Saber و همکاران در سال ۲۰۱۴ برای شناسایی و تایید تاسماهی شیپ گاینوژن از مارکرهای ریزماهواره استفاده نمودند. آنها ژنوم فرزندان گاینوژن 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 گاینوژنیز 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 آلا ی جویباری کاملاً متفاوت بوده ولی دورگه ها هر دو جایگاه ژنی را از هر دو مولد به ارث برده اند (Saber, L'Abée-Lund, 1988) و همکاران در سال ۲۰۱۵ اقدام به شناسایی دورگه های بین تاسماهی شیپ ماده و تاسماهی سبیری نر با استفاده از مارکرهای ریزماهواره نمودند. این بررسی به واسطه شباهت مورفولوژیک دورگه ها به تاسماهی سبیری صورت

سه لکوس هتروزیگوت بوده و دورگه تشخیص داده شدند.



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

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

نتیجه گیری

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

منابع

۱. 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

مطالعه بر روی وراثت لکوسهای ریزماهواره در تاسماهیان هم بر روی تعدادی از گونه های خالص و هم بر روی تعدادی از دورگه ها صورت گرفته است. در مطالعات Fopp-Bayat و Woznicki (۲۰۰۸)، ۱۰ لکوس ریزماهواره با استفاده از لاروهای بستر آزمایش شدند. تمامی این دورگه ها وراثت دیسومیک و توزیع مندلی را در فنوتیپ نشان دادند. در دورگه های بین تاسماهی پاروپوزه (Pallid) و Shovelnose که با مارکرهای ریزماهواره آنالیز شدند شباهت اللی زیادی به گونه Shovelnose داشتند در حالیکه mtDNA شباهت دورگه ها را به Pallid نشان می داد. این موضوع شاید ناشی از آمیزش غیر برگشتی باشد. نتایج امکان مشارکت ماده ها در نسل اول دورگه ها را نشان می دهد و همچنین ممکن است که بعضی از دورگه ها نتیجه آمیزش پسگرد با Shovelnose باشند (Tranah et al., 2004). تشخیص مورفولوژیکی دورگه بستر بخصوص در مراحل اولیه رشد مشکل است (Kozlov,

- ۱-۱۰. میکروستلایت. نشریه توسعه آبزی پروری، ۷ (۳)، ۱۰-۱.
۲. امینی، ک.، ۱۳۷۱. دورگه بین فیلماهی و ازون برون 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.، حلاجیان، ع.، درویشی، ص.، فارابی، م. و.، چکمه دوز، ف.، ۱۳۸۸. گزارش نهایی پروژه تولید ماهی بستر (فیلماهی ماده × استرلیاد 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 دورگه گیری ماهی آمور ماده و کپور سرگنده نر و مطالعه دورگه نسل اول. پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه تربیت مدرس نور، ۵۷ صفحه.
۵. پورغلام، ر.، نوروزی مقدم، ح.، ۱۳۷۴. گزارش نهایی پروژه دورگه گیری بین ماهی قزل آلاي رنگین کمان و ماهی آزاد دریای خزر. انتشارات مرکز تحقیقات شیلاتی استان مازندران.
۶. پورکاظمی، م.، محسنی، م.، نوروزفشخامی، م. ر.، بهمنی، م.، طاهری، ع.، ۱۳۸۵. گزارش نهایی پروژه بررسی دورگه گیری 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.، نوروزفشخامی، م. ر.، نویری، ش.، ۱۳۸۵. گزارش نهایی پروژه دورگه گیری 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 دورگه گیری بین ماهیان سفید و کلمه. انتشارات مرکز تحقیقات شیلاتی استان گیلان، ۳۴ صفحه.
۱۰. حسینی، ا.، ۱۳۷۵. گزارش نهایی پروژه دورگه گیری 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، ۱۰۸ صفحه.
۱۲. درافشان، س.، کلباسی، م. ر.، ۱۳۸۶. مطالعه کاربولوژیک نسل F_1 حاصل از هیبریداسیون آمیخته ماهیان کپور علفخوار ماده و کپور سرگنده نر *Ctenopharyngodon idella* × *Hypophthalmichthys nobilis*. مجله زیست شناسی ایران، ۲۰ (۲)، ۲۸۵-۲۷۷.
۱۳. رستمیان، م.، ۱۳۷۵. دورگه بین ماهی شپ و ازون برون 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 شپ و ازون برون و مقایسه رشد آن با ماهی ازون برون. مجله علمی شیلات ایران، ۷ (۲)، ۴۸-۳۹.

23. Berg, L.S., 1948. Freshwater fishes of the U.S.S.R and the neighboring countries. USER 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 *F2* 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 chrysocephalus* (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.
۱۵. 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، ۲۶-۲۷ آذر ۱۳۸۳.
۱۶. 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.
۱۷. قزل، ح.، امینی، ک.، ۱۳۷۷. گزارش نهایی پروژه دورگه گیری بین فیلماهی و شیب و پرورش نسل حاصل در شرایط کنترل شده. مرکز تحقیقات شیلات استان مازندران.
۱۸. 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 Sociobiology, 58, 506-516.
21. Bakos, J., Gorda, 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., Tagghart, 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 *Nematolosa japonica* and *N. come* (Clupeiformes: Clupeidae) of Okinawa island, Ryuku 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'Abée-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 Research*, 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 sankt-ptersburg region. trudy sankt-ptersburg kogo obshchesteva, 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 ship sturgeon *Acipenser nudiiventris* 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 ship sturgeon *Acipenser nudiiventris* 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. Ovsyanniu, 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.
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.
- anguillicaudatus*) in wild populations. *Environmental Biology of Fishes*, 36(1), 65. DOI 10. 1007/s 110641-0079282-X.