



مجموعه مقالات

چهارمین همایش ملی کاربرد فناوری هسته‌ای در علوم کشاورزی و منابع طبیعی
(۲۹-۳۰ اردیبهشت، ۱۳۹۴، پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای)

The 4th National Congress on Nuclear Technology Application in Agricultural & Natural Resource Sciences (19-20 May, 2015, Nuclear Agriculture Research School)

استفاده از پرتو گاما در القای ماده‌زایی میوزی در تاسماهی شیپ *Acipenser nudiventris*

غلامرضا شاه حسینی^۱، محمد پورکاظمی^۲، محمد حسن زاده صابر^{۳*}، مهدی سلطانی^۴، شهرزاد برادران نویری^۳، علیرضا نیسی^۱،
رضافر جی^۱

پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای - پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای^۱، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور^۲، موسسه تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر^۳، دانشکده دامپزشکی - دانشگاه تهران^۴

*saber_meraj@yahoo.com

چکیده: در این تحقیق جهت تخریب DNA اسپرم تاسماهی ایرانی بعنوان اسپرم هترولوگ برای ماده‌زایی در تاسماهی شیپ، این اسپرم در معرض پرتو دهی با اشعه گاما با دوزهای ۴۵۰، ۶۰۰، ۷۵۰، ۹۰۰ و ۱۰۵۰ گری قرار گرفت. اسپرم پرتو داده شده با تخمک تاسماهی شیپ لقاح داده شده و نتاج هاپلوئید تحت تاثیر شوک سرمایی ۲/۵ درجه سانتیگراد دیپلوئید سازی شدند. مارکرهای میکروستلایت برای اثبات نتاج ماده‌زایی شده بکار گرفته شد که نشان‌دهنده عدم وراثت پذیری ژنوم پدری در فرزندان و ارث پذیری کامل ژنوم مادری در آنها می‌باشد.

واژگان کلیدی: ماهی شیپ، ماده‌زایی، پرتو گاما، وراثت پذیری

The use of gamma irradiation to mitotic gynogenesis induction in ship sturgeon

Acipenser nudiventris

G. Shahhosseini¹, M. Pourkazemi², M. Hassanzadeh Saber^{3*}, M. Soltani⁴, SH. Baradaran Noveiri³, A. Neissi¹, R. Faraji¹

Nuclear Agriculture Research School – Nuclear Science and Technology Research Institute¹, Iranian Fisheries Research Organization², International Sturgeon Research Institute³, Faculty of Veterinary Medicine - University of Tehran⁴

*saber_meraj@yahoo.com

Abstract: In order to study Persian sturgeon sperm DNA damage as a heterologous sperm to induce gynogenesis in ship sturgeon, Persian sturgeon sperm DNA damage was affected by gamma rays with different doses containing 450, 600, 750, 900 and 1050 Gy. Then ship sturgeon eggs are fertilized with the sperm and haploid offspring were diploid affected by cold shock (2.5 °C). Microsatellite markers were used to prove that a lack of heritability gynogen progeny genome paternal inheritance of the children and their mother in the whole genome.

Keywords: ship sturgeon, gynogenesis, gamma irradiation, heritability

مقدمه

ارزش اقتصادی ماهیان خاویاری علاوه بر نقش موثر آن در تنوع زیستی و تکامل، بدلیل داشتن گوشت بدون استخوان و خوش طعم و دارا بودن خاویار سیاه می‌باشد. کاهش خاویار استحصال شده از منابع دریایی خزر [۲] با تقاضای ایجاد بازار مستعد برای خاویار پرورشی روبرو گردیده است. به همین دلیل تولید و پرورش جنس ماده در ماهیان خاویاری دارای ارزش بالاتری از جنس نر و یا پرورش آنها بصورت مختلط می‌باشد [۳]. جهت تولید جمعیت‌های تمام ماده در تاسماهیان می‌بایست کنترل جنسیت مورد توجه ویژه‌ای قرار گیرد [۴]. تکنولوژی اخیر در تولید ماهیان تمام ماده با استفاده از ماده‌زایی بوسیله اسپرم هترولوگ، گامی موثر در جهت احیای ذخایر منقرض شده در طبیعت می‌باشد [۵]. ژاینوزیز یک روش تولید مثل



مجموعه مقالات

چهارمین همایش ملی کاربرد فناوری هسته‌ای در علوم کشاورزی و منابع طبیعی (۲۹-۳۰ اردیبهشت، ۱۳۹۴، پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای)

The 4th National Congress on Nuclear Technology Application in Agricultural & Natural Resource Sciences (19-20 May, 2015, Nuclear Agriculture Research School)

است که در آن فرزندان منحصرًا از اطلاعات ژنتیکی مادر شکل می‌گیرند [۶]. این روش در واقع یک نوع تکثیر پارتنوژن (Parthenogenesis) محسوب می‌شود و فعال کردن روند تکاملی سلول تخم از طریق اسپرمی که از لحاظ ژنتیکی غیرفعال شده است صورت می‌گیرد. برای غیرفعال کردن اسپرم از روشهای مختلف پرتو ایکس، گاما (پرتوهای یونیزه) و یا پرتو ماورای بنفش (UV) استفاده می‌گردد [۷]. بعلا نتایج بسیار متفاوت در بازماندگی ژینوژن که در مطالعات اولیه مشاهده گردید محققین مبادرت به استاندارد کردن روشهای پرتو دهی نمودند. در این راستا لازم است که یک سری آزمایش و خطا در تاباندن پرتو مورد نظر بر روی اسپرم گونه خاص صورت پذیرد تا مدت زمان و فاصله منبع پرتو تا نمونه اسپرم به دقت محاسبه، تنظیم و استاندارد گردد [1]. هدف از انجام این مطالعه استفاده از پرتو گاما و اپتیمایز نمودن آن در تخریب DNA اسپرم تاسماهی ایرانی بعنوان اسپرم هترولوگ برای القای ژینوژنیز در تاسماهی شیب می باشد تا با توجه به قدرت تخریب بالای پرتو گاما در DNA اسپرم، بتوان درصد بالاتری از ماهیان ژینوژن را تولید کرد.

مواد و روش کار

تهیه و آماده سازی اسپرم

عملیات نمونه گیری اسپرم از ۳ مولد تاسماهی ایرانی انجام و نمونه ها بلافاصله به آزمایشگاه انجام اسپرم موسسه تحقیقات بین المللی تاسماهیان دریای خزر (رشت) منتقل شده و کیفیت آنها مورد ارزیابی قرار گرفت [8]. پس از بررسی‌های انجام شده یک نمونه اسپرم تاسماهی ایرانی به شرح جدول شماره ۱ برای مراحل بعدی کار انتخاب شد. در مرحله بعد برای رقیق سازی (۱۰٪)، نمونه اسپرم در ۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ و مایع سمینال جدا سازی گردید [۹].

جدول ۱: مشخصات اسپرم انتخاب شده تاسماهی ایرانی

گونه	تراکم ($sp \times 10^9/ml$)	تحرك (%)	زمان تحرك (ثانیه)	حجم استحصالی (ml)
تاسماهی ایرانی	۰/۸۷	> ۸۰	۲۰۵	۳۴۰



مجموعه مقالات

چهارمین همایش ملی کاربرد فناوری هسته‌ای در علوم کشاورزی و منابع طبیعی
(۲۹-۳۰ اردیبهشت، ۱۳۹۴، پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای)

The 4th National Congress on Nuclear Technology Application in Agricultural & Natural Resource Sciences (19-20 May, 2015, Nuclear Agriculture Research School)

پرتو دهی نمونه‌ها

نمونه‌های اولیه اسپرم و مایع سمینال تهیه شده همگی با قرار دادن در مخلوط آب و یخ (۴-۰/۵ درجه سانتی گراد) به محل پرتو دهی (سازمان انرژی اتمی ایران، تهران) منتقل و پس از رقیق سازی (۱۰٪) با پرتو گاما (چشمه کبالت) با دزهای ۴۵۰، ۶۰۰، ۷۵۰، ۹۰۰ و ۱۰۵۰ Gray مورد پرتو دهی قرار گرفت که مشخصات نمونه‌های پرتو دیده بشرح جدول ۲ بود.

جدول ۲: مشخصات تحرک اسپرم تاسماهی ایرانی پس از پرتو گیری و انتقال به موسسه

مشخصات نمونه	تحرک (%)	زمان تحرک (ثانیه)
نمونه شاهد	۷۰	۸۰
۴۵۰ Gr	۱۵	۵۰
۶۰۰ Gr	۱۰	۵۰
۷۵۰ Gr	۰	۰
۹۰۰ Gr	۶۰	۹۰
۱۰۵۰ Gr	۰	۰

عملیات شوک حرارتی و لقاح

قبل از انجام آزمایشات لقاح، اثر گذشت زمان بر اسپرمها مورد ارزیابی قرار گرفت. برای این کار ابتدا تحرک اسپرمهای اولیه برگشتی با آب مرکز تکثیر موسسه، ثبت شد. مولدین شیپ ماده چند بار مورد بازبینی قرار گرفتند. از یک مولد شیپ ماده به میزان ۲/۷ کیلو گرم تخمک گرفته شد و مقدار ۵۰۰ گرم آن جهت آزمایش (۹ تیمار ۵۰ گرمی) مورد استفاده قرار گرفت. شوکهای القا شده جهت آزمایشات به شرح جدول ۳ انجام گردید. تنظیم دمای آب با استفاده از یخ فشرده در کلیه مراحل صورت گرفت [۷]. سپس مراحل شوک دهی با استفاده از آب سرد، پس از لقاح اسپرم با تخمک انجام شد. تخمهای لقاح داده شده پس از شستشوی و رفع چسبندگی با گل رس به انکوباتورهای بخش آبری پروری انتقال داده شد.



مجموعه مقالات

چهارمین همایش ملی کاربرد فناوری هسته‌ای در علوم کشاورزی و منابع طبیعی
(۲۹-۳۰ اردیبهشت، ۱۳۹۴، پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای)

The 4th National Congress on Nuclear Technology Application in Agricultural & Natural Resource Sciences (19-20 May, 2015, Nuclear Agriculture Research School)

جدول ۳: شرح تیمار های انجام شده هیبرید، تریپلوئید، هاپلوئید و لقاح با اسپرمهای پرتو داده شده

تیمار	مدت زمان شوک دهی (min)	زمان شروع شوک دهی (min)	دمای شوک (°C)
هیبرید شاهد	-	-	-
هیبرید تریپلوئید	۳۰	۸	۲/۵
شیپ شاهد	-	-	-
هاپلوئید	-	-	-
ژاینوزن ۴۵۰	۳۰	۸	۲/۵
ژاینوزن ۶۰۰	۳۰	۸	۲/۵
ژاینوزن ۷۵۰	۳۰	۸	۲/۵
ژاینوزن ۹۰۰	۳۰	۸	۲/۵
ژاینوزن ۱۰۵۰	۳۰	۸	۲/۵

نمونه گیری و استخراج DNA

نمونه برداری بافت باله دمی از یک مولد نر تاس ماهی ایرانی، یک مولد نر تاس ماهی شیپ و یک مولد ماده تاس ماهی شیپ انجام گرفت. همچنین از هر تیمار، DNA تعداد ۱۰ عدد لارو که قبلا در الکل اتانول خالص و در میکروتیوب های ۱/۵ میلی لیتری نگهداری می گردیدند استخراج گردید که این DNA به روش استات آمونیوم که توسط Pourkazemi (1996) برای ماهیان خاویاری تغییر یافته بود استفاده شد [۱۰]. برای تعیین کمیت DNA نمونه ها از دستگاه اسپکتروفوتومتر نانودراپ مدل ND-1000 در طول موج های ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر استفاده شد (نسبت جذب طول موج ۲۶۰ به ۲۸۰ نانومتر به عنوان شاخص کمیت می باشد). پس از بررسی مطالعات انجام شده روی گونه های تاسماهیان به روش میکروستلایت و مشاهده الگوی باند دهی آنها در مطالعات مختلف، تعداد ۲ جفت پرایمر انتخاب گردید (جدول ۴) و برنامه PCR هر ۲ جفت پرایمر بر روی مولدین (گونه تاسماهی شیپ ماده و تاسماهی ایرانی نر) و فرزندان ژاینوزن در تیمارهای مختلف انجام شد (جدول ۵). سپس محصول PCR بر روی ژل پلی اکریلامید ۶٪ برده شد و با نیترات نقره رنگ آمیزی گردید. با استفاده از دستگاه مستند سازی ژل (Gel documentation) ساخت شرکت Vilber lourmant همراه با برنامه نرم افزاری Biocapt تصویر ژل های تهیه شده توسط دستگاه مستند سازی ژل تهیه گردید.



مجموعه مقالات

چهارمین همایش ملی کاربرد فناوری هسته‌ای در علوم کشاورزی و منابع طبیعی
(۲۹-۳۰ اردیبهشت، ۱۳۹۴، پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای)

The 4th National Congress on Nuclear Technology Application in Agricultural & Natural Resource Sciences (19-20 May, 2015, Nuclear Agriculture Research School)

جدول ۴- لوکوس، شماره دستیابی در بانک ژن، موتیف تکراری، توالی آغازگرهای مورد استفاده و اندازه توالی (Welsh *et al.*, 2003) Afug

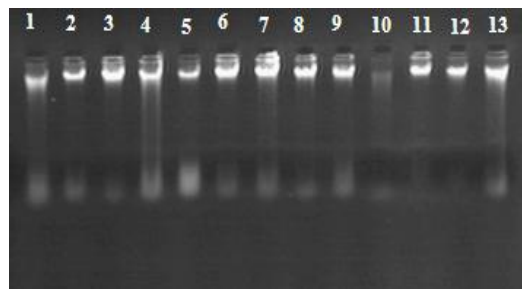
	Locus	Gene Bank Accession no	Repeat motif	Primer sequence (5'-3')	Sequenced clone size (bp)
۱	AfuG-9	AF529447	(GATA)14(GA)2GATA(GA)2(GATA)6	F: CATAATGTAAAGCAAAAGT R: ACCTGAAATGTATGTTATG	152
۲	Afu-68	AF529480	(AAAC)6	F: AATGGCTTATCTTTTATCTTGACT R: AGCTTTTCTGGACTGTGTATGTT	210

جدول ۵- برنامه چرخه های واکنش PCR

مراحل	درجه حرارت (سانتی گراد)	زمان (min)	تعداد چرخه (سیکل)
واسرشته سازی اولیه	۹۴	۳	۱
واسرشته سازی	۹۴	۰/۵	۲۰-۳۵
الحاق	۵۷-۶۴	۰/۵	
بسط	۷۲	۰/۵	
بسط نهایی	۷۲	۵	۱

نتایج

مشخصات کمی و کیفی نمونه اسپرم انتخاب شده برای عملیات پرتو دهی بشرح جدول ۱ بود. در این مرحله هیچگونه تحرکی در اسپرمها مشاهده نشد. اسپرم پس از اضافه نمودن آب متحرک و مشخصات تحرک آن در جدول شماره ۲ آمده است. پس از استخراج DNA از نمونه های لارو و باله بچه ماهیان و بررسی کمیت آنها با دستگاه اسپکتروفتومتر نانودراپ، برای نمونه هایی که فاقد جذب یا دارای جذب پایین بودند، مجدداً استخراج DNA صورت گرفت.



شکل ۱- DNA استخراج شده از لاروهای حاصل از تیمارهای متفاوت (ستونهای ۱-۱۱) و باله مولدین تاسماهی ایرانی نر (ستون ۱۲) و تاسماهی شیپ ماده (ستون ۱۳) به روش استات آمونیوم

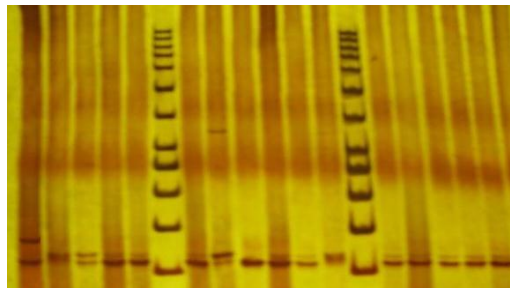
در پرایمر Afug-9 که الگوی باندها حالت دیسومیک را نشان می دادند (شکل ۲) در تاسماهی شیپ (مولد مادری) با نتاج ژاینورژن دارای الگوی مشابه بودند (شکل ۲)



مجموعه مقالات

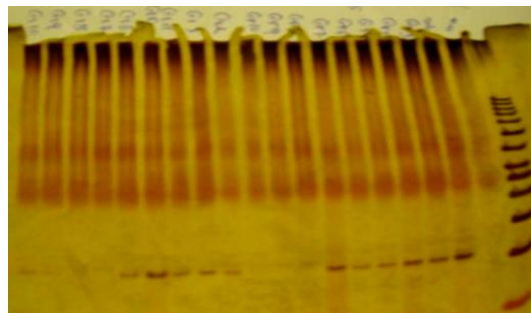
چهارمین همایش ملی کاربرد فناوری هسته‌ای در علوم کشاورزی و منابع طبیعی
(۲۹-۳۰ اردیبهشت، ۱۳۹۴، پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای)

The 4th National Congress on Nuclear Technology Application in Agricultural & Natural Resource Sciences (19-20 May, 2015, Nuclear Agriculture Research School)



شکل ۲- الگوی بانندی منومورفیک در نتاج ژاینوژن (تیمارهای G1 ستونهای ۳، ۴ و ۵ از چپ، ستونهای ۷-۱۲ تیمار G3 در وسط و ستونهای ۱۴-۱۸ تیمار G5 در سمت راست) و مولد مادری (Ship) ستون دوم از چپ و مقایسه آن با ژنوم پدری (تاسماهی ایرانی) ستون اول از چپ با استفاده از مارکر میکروستلایت Afug-9

در پرایمر Afu68 فرزندان ژاینوژن دارای الگوی بانندی مشابه با مولد مادری بودند و مشارکت ژنتیکی از ژنوم پدری در نتاج ژاینوژن وجود نداشت (شکل ۳).



شکل ۳- الگوی بانندی منومورفیک در نتاج ژاینوژن (تیمارهای G1 ستونهای ۱-۹ از چپ، ستونهای ۱۰-۱۷ تیمار G3 در وسط) و مولد مادری (Ship) ستون سوم از راست و مقایسه آن با ژنوم پدری (تاسماهی ایرانی) ستون دوم از راست با استفاده از مارکر میکروستلایت Afug-68

بحث

القای ژاینوژنیز در دو مرحله صورت می‌گیرد: ابتدا القای ژاینوژنیز بر روی تخمهایی صورت می‌گیرد که با اسپرم غیر فعال ژنتیکی تحریک شوند [۱۱]، سپس احتباس جسم دوم قطبی (ژاینوژن میوزی یا میوژنیز) یا جلوگیری از اولین تقسیم سلولی در جنین با اعمال شوک خارجی اتفاق می‌افتد. [11, 12]. در بعضی از مطالعات اسپرمهای هترولوگ گونه دیگر، بدون شوک یا شوک داده شده برای شروع ژاینوژنیز در تخمها استفاده می‌شود [۱۳]. در این بررسی از اسپرم هترولوگ گونه تاسماهی ایرانی استفاده گردید. استفاده از اسپرم هترولوگ در القای ژاینوژنیز نسبت به اسپرم هومولوگ، این مزیت را دارد که اگر DNA اسپرم در اثر تابش پرتو تخریب نگردد، در هنگام لقاح یا دوره ای تشکیل نمی‌گردد. میزان تحرک اسپرم به پارامترهای مختلفی از جمله کیفیت مولدین نر، رسیدگی جنسی از لحاظ فیزیولوژی و همچنین شرایط حمل، نگهداری و ... بستگی دارد (پورکاظمی و همکاران، ۱۳۸۹). عدم بروز اختلاف در کیفیت نمونه اسپرم، نشان دهنده شرایط انتقال و حمل مناسب نمونه بوده است.



مجموعه مقالات

چهارمین همایش ملی کاربرد فناوری هسته‌ای در علوم کشاورزی و منابع طبیعی
(۲۹-۳۰ اردیبهشت، ۱۳۹۴، پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای)

The 4th National Congress on Nuclear Technology Application in Agricultural & Natural Resource Sciences (19-20 May, 2015, Nuclear Agriculture Research School)

با بررسی الگوی باندهای تشکیل شده، مشخص می‌شود که پرایمر میکروستلایت Afug-9 الگوی باندها حالت دیسومیک را نشان می‌دهند (شکل ۲). در تاسماهی شیپ (مولد مادری) با نتاج ژاینوزن دارای الگوی مشابه بودند که نشاندهنده وراثت پذیری ژنومیک مشابه فرزندان با والد مادری می‌باشد ولی در ژنوم پدری الگوی باندهای متفاوتی ظاهر گشت که نشاندهنده عدم وراثت پذیری ژنومیک فرزندان از والد پدری (تاسماهی ایرانی) می‌باشد. میکروستلایتها بعنوان مارکرهای ژنتیکی در بسیاری از گونه‌ها استفاده می‌شوند زیرا تفاوتها در تعداد تکرارها به آسانی از طریق PCR مشخص می‌شود [۱۴]. اولین بار محققان توانستند با استفاده از مارکرهای RAPD، ژاینوزنیز را در تاسماهی سفید (*A. transmantanus*) اثبات نمایند [۴]. با توجه به معایب روش RAPD، در این تحقیق از روش میکروستلایت استفاده گردید. مارکرهای میکروستلایت در اثبات ژاینوزنیز در بعضی از گونه‌های تاسماهیان نظیر تاسماهی کوتاه پوزه *Acipenser brevirostrum*، پارو پوزه ماهی آمریکایی *Polyodon spathula* موفقیت آمیز بود [۱۵، ۱۶]. در این بررسی از مارکرهای میکروستلایت تاسماهی دریاچه ای *Acipenser fluviensis* استفاده شد [۱۷]. همچنانکه Fopp-Bayat و همکاران (2007) بعضی از مارکرهای میکروستلایت تاسماهی دریاچه ای را برای تشخیص نتاج ژاینوزن در ماهی استرلیاد *Acipenser ruthenus* استفاده نمودند [۱۸]. در بررسی آنها لکوس Afu-68 نشان داد که جایگاه ژنی مولد پدری که دارای اسپرم هترولوگ (دورگه بستر) بود، متفاوت از جایگاه ژنی مولد مادری و نتاج ژاینوزن بود. پژوهشگران با استفاده از دیگر مارکرهای میکروستلایت طراحی شده از تاسماهی دریاچه ای توانستند نتاج ژاینوزن را در تاسماهی ازون برون تایید نمایند [۷]. آنها توانستند با استفاده از دو لکوس، به متمایز بودن جایگاه ژنی در مولد پدری و مادری پی برده و ژنوم نتاج ژاینوزن را مشابه با ژنوم والد مادری عنوان نمایند و نیز با استفاده از مارکرهای تاسماهی دریاچه ای توانست ژاینوزنیز را در تاسماهی سیبری اثبات نمایند [۱۹]. در این بررسی با لکوس Afu-68 نتایج مشابهی حاصل شد. سایر مارکرهای استفاده شده در این بررسی (Afug-9) توانستند تفاوت بودن لکوسهای فرزندان و والد مادری را با والد پدری نشان دهند و با موفقیت ژاینوزنیز را در گونه مورد مطالعه اثبات نمودند. در مارکرهای فوق الگوی باندها در ماهی شیپ (مولد مادری) و فرزندان ژاینوزن حالت دیسومیک را نشان داد ولی در مولد پدری این حالت تتراسومیک بود. کروموزوم تاسماهی ایرانی با الگوی $2N=246\pm 10$ بصورت تتراپلوئید بوده و بهمین دلیل الگوی باندهای آن بصورت تتراسومیک می‌باشد اما تاسماهی شیپ با $2N=116\pm 4$ کروموزوم بصورت دیپلوئید بوده و الگوی باندهای آن دیسومیک می‌باشد [۲۱]. مارکرهای میکروستلایت مورد استفاده در این بررسی نشان داد که DNA والد پدری کاملاً تخریب شده و مشارکتی در فرزندان ژاینوزن ندارد و لاین خالص شبه مادری در تاسماهی شیپ بدست آمده است.

منابع

۱. پور کاظمی، م.؛ محسنی، م.؛ علیپور، ع. ر.؛ نوروز فشخامی، م. ر.؛ حسن زاده صابر، م.؛ برادران نویری، ش.؛ بهمنی، م. و رضوانی گیل کلایی، س. (۱۳۸۹). ژاینوزنیز در تاسماهی ایرانی (*Acipenser*



مجموعه مقالات

چهارمین همایش ملی کاربرد فناوری هسته‌ای در علوم کشاورزی و منابع طبیعی
(۲۹-۳۰ اردیبهشت، ۱۳۹۴، پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای)

The 4th National Congress on Nuclear Technology Application in Agricultural & Natural Resource Sciences (19-20 May, 2015, Nuclear Agriculture Research School)

persicus و فیل ماهی (*Huso huso*). گزارش نهایی پروژه تحقیقاتی مصوب موسسه تحقیقات شیلات ایران. ۷۰ ص.

2. Birstein VJ. Sturgeons & paddlefishes: threatened fishes in need of conservation. Conservation Biology. 1993 7:773-87.
3. Mims SD, Shelton WL. Induced meiotic gynogenesis in shovelnose sturgeon. Aquac Int. 1998 6:323-9.
4. Van Eenennaam AL, Van Eenennaam JP, Medrano JF, Doroshov SI. Rapid verification of meiotic gynogenesis and polyploidy in white sturgeon (*Acipenser transmontanus* Richardson). Aquaculture. 1996 147:177-89.
5. Omoto N, Maebayashi M, Adachi S, Arai K, Yamauchi K. Sex ratios of triploids and gynogenetic diploids induced in the hybrid sturgeon, the bester (*Huso huso* female × *Acipenser ruthenus* male). Aquaculture. 2005 245:39-47.
6. Arai K. Genetic improvement of aquaculture finfish species by chromosome manipulation techniques in Japan. Aquaculture 2001 197:205-28.
7. Hassanzadeh Saber M, Noveiri SB, Pourkazemi M, Yarmohammadi M. Induction of gynogenesis in stellate sturgeon (*Acipenser stellatus* Pallas, 1771) and its verification using microsatellite markers. Aquaculture Research. 2008 39:1483-7.
8. Noveiri SB, Alipour A, Pourkazemi M. Sperm morphometry, density and spermatocrit study in Persian sturgeon (*Acipenser persicus*). Journal of Applied Ichthyology. 2006 22:380-3.
9. Saber MH, Noveiri SB, Pourkazemi M, Yazdani M, Ghoroghi A, Bahmani M, et al. Induction of meiotic gynogenesis in ship sturgeon *Acipenser nudiventris* using UV-irradiated heterologous sperm. Journal of applied genetics. 2014 55:223-9.
10. Pourkazemi M. Molecular and biochemical genetic analysis of sturgeon stocks from the South Caspian Sea: University of Wales Swansea; 1996.
11. Piferrer F. Endocrine sex control strategies for the feminization of teleost fish. Aquaculture. 2001 197:229-81.
12. Pandian T, Koteeswaran R. Ploidy induction and sex control in fish. Hydrobiologia. 1998 384:167-243.
13. Luckenbach JA, Godwin J, Daniels HV, Beasley JM, Sullivan CV, Borski RJ. Induction of diploid gynogenesis in southern flounder (*Paralichthys lethostigma*) with homologous and heterologous sperm. Aquaculture. 2004 237:499-516.
14. Moore S, Sargeant L, King T, Mattick J, Georges M, Hetzel D. The conservation of dinucleotide microsatellites among mammalian genomes allows the use of heterologous PCR primer pairs in closely related species. Genomics. 1991 10:654-60.
15. Zou Y, Wei Q, Pan G. Induction of meiotic gynogenesis in paddlefish (*Polyodon spathula*) and its confirmation using microsatellite markers. Journal of Applied Ichthyology. 2011 27:496-500.
16. Flynn S, Matsuoka M, Reith M, Martin-Robichaud D, Benfey T. Gynogenesis and sex determination in shortnose sturgeon, *Acipenser brevirostrum* Lesuere. Aquaculture. 2006 253:721-7.
17. Welsh AB, Blumberg M, May B. Identification of microsatellite loci in lake sturgeon, *Acipenser fulvescens*, and their variability in green sturgeon, *A. medirostris*. Molecular Ecology Notes. 2003 3:47-55.
18. Fopp-Bayat D, Kolman R, Woznicki P. Induction of meiotic gynogenesis in sterlet (*Acipenser ruthenus*) using UV-irradiated bester sperm. Aquaculture. 2007 264:54-8.
19. Fopp-Bayat D. Meiotic gynogenesis revealed not homogametic female sex determination system in Siberian sturgeon (*Acipenser baeri* Brandt). Aquaculture. 2010 305:174-7.



مجموعه مقالات

چهارمین همایش ملی کاربرد فناوری هسته‌ای در علوم کشاورزی و منابع طبیعی
(۲۹-۳۰ اردیبهشت، ۱۳۹۴، پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای)

The 4th National Congress on Nuclear Technology Application in Agricultural & Natural Resource Sciences (19-20 May, 2015, Nuclear Agriculture Research School)

20. Nowruzfashkhami M, Pourkazemi M, Baradarannoveiri S. Chromosome Study of Persian Sturgeon *Acipenser persicus* B. *Cytologia*. 2000 65:197-202.
21. Nowruzfashkhami M, Safaiian S, Bahmani M, Chubian F. Karyotype analysis in ship sturgeon *Acipenser nudiventris* in the south Caspian Sea using leukocyte culture. *Journal of Applied Ichthyology*. 2006 22:97-8.