"مقاله مروری"

مروری بر ماده‌زایی (گاینوژنزیز) مصنوعی در تاس‌ماهیان دریای کاسپین

محمد حسن‌زاده صابر[1]*

۱- بخش ژنتیک و بیوتکنولوژی انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۴/۱۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۷/۱۰

چکیده

در ماهیان خاویاری، پرورش تک جنس ماده، اقتصادی بوده و یکی از روش‌ها برای دستیابی به آن، القای گاینوژنزیز (ماده‌زایی) می‌باشد. گاینوژنزیز مرحله‌ای است که یک تخمک، بدون تاثیر ژنتیکی جنس نر تکامل می‌یابد یا به عبارتی یک روش تولید مثل است که در آن فرزندان، منحصرا از اطلاعات ژنتیکی مادر شکل می‌گیرند. در این تکنیک، می‌بایست اسپرم مورد استفاده غیرفعال ژنتیکی شود که برای غیرفعال کردن اسپرم از روش‌های مختلف اشعه ایکس، گاما (اشعه‌های یونیزه) و یا اشعه ماوراء بنفش (UV) استفاده می‌گردد. فعال سازی تکامل جنینی با اسپرم غیرفعال ژنتیکی منجر به تولید تخم هاپلوئید شده که به منظور دیپلوئید سازی بایستی در زمان تقسیم میوزی دوم یا اولین تقسیم میتوزی، از شوک‌های فیزیکی استفاده کرد. در این صورت تمامی فرزندان ایجاد شده دارای وراثت مادری بوده که بسته به نوع سیستم تعیین جنسیت، میزان تولید نتاج ماده مشخص می‌شود. در تاس‌ماهیان تعیین جنسیت به عهده مادر می‌باشد بنابراین با القای گاینوژنزیز، هر دو جنس نر (نسبت کمتر) و ماده (نسبت بیشتر) تولید می‌شود که علاوه بر نقش آن در پرورش و تولید خاویار، می‌تواند در جلوگیری از انقراض این گونه‌های با ارزش نقش مهمی را یفا کند.

کلمات کلیدی: تاس‌ماهیان، جنس ماده، گاینوژنزیز، اسپرم غیرفعال ژنتیکی، دیپلوئیدسازی.

* عهده‌دار مکاتبات: saber.merag@gmail.com

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1402.17.2.3.4]
[DOI: 10.61186/aqudev.17.2.29]

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1402.17.2.3.4]
[DOI: 10.61186/aqudev.17.2.29]

مقدمه

ارزش اقتصادی ماهیان خاویاری علاوه بر نقش موثر آن در تنوع زیستی و تکامل، به دلیل داشتن گوشت بدون استخوان و خوش‌طعم و دارا بودن خاویار سیاه می‌باشد. به دلیل کاهش جمعیت طبیعی تاس‌ماهیان لازم است که آنها از طریق توسعه آبزی پروری تولید شوند. تولید آنها در شرایط کنترل شده در دهه‌های اخیر افزایش یافته است و به سمت تجاری شدن (Wei *et al.*, 2011; Bronzi *et al.*, 2011) و به خصوص با اهداف حفاظتی پیش می‌رود (Takahashi and Officer, 2010; Williot *et al.*, 2002). ماهیان خاویاری در شرایط کنترل شده رشد سریع نشان داده و به نسبت محیط طبیعی سریع‌تر به بلوغ جنسی می‌رسند (Chebanov and Billard, 2001). کاهش خاویار استحصال شده از منابع دریایی در دریای کاسپین (Birstein, 1993) با تقاضای شدید بین‌المللی برای خاویار و ایجاد بازار مستعد برای خاویار پرورشی روبرو گردیده است. پرورش تاس‌ماهیان می‌تواند فشار صید از منابع طبیعی را کاهش دهد و پرورش تمام ماده ماهیان خاویاری، تولید خاویار را افزایش داده و پاسخگوی تقاضای مصرف کننده می‌باشد، به همین دلیل تولید و پرورش ماهیان ماده دارای ارزش بالاتری از تولید و پرورش نرها و یا پرورش آنها بصورت مختلط در ماهیان خاویاری می‌باشد (Mims and Shelton, 1998). جهت تولید جمعیت‌های تمام ماده در تاس‌ماهیان می‌بایست کنترل جنسیت مورد توجه ویژه‌ای قرارگیرد (VanEenennaam *et al.*, 1996). دستکاری‌های ژنتیکی به خصوص گاینوژنزیز میتواند به منظور تغییر نسبت جنسی نتاج در تاس‌ماهیان استفاده شود. بسیاری از مطالعات اظهار کرده‌اند که جنسیت در تاس‌ماهیان اساسا به طور ژنتیکی تعیین می‌شود بنابراین نسبت جنسی آنها در حالت طبیعی اکثرا ۱:۱ مشاهده می‌شود و علائمی از تعیین جنسیت محیطی رویت نمی‌شود (Wuertz *et al.*, 2018; Hurvitz *et al.*, 2007; Doroshov *et al.*, 1997). تولید ماهیان تمام ماده یا ماهیان ماده با تعداد بالاتر نسبت به نرها می‌توانند با دستکاری‌های ژنتیکی (گاینوژنزیز) (Lebeda *et al.*, 2014) یا تغییرات هورمونی امکان‌پذیر باشد. از آنجائی‌که سیستم تعیین جنسیت هتروگامتی ماده در تاس‌ماهیان، تاکنون به عنوان الگوی رایجی معرفی شده است (Fopp-Bayat *et al.*, 2018) لذا گاینوژنزیز به وسیله اسپرم غیرهمسان، می‌تواند گامی موثر در جهت احیای هر دو جنس نر و ماده از ذخایر منقرض‌شده در طبیعت باشد (Omoto *et al.*, 2005; Hassanzadeh Saber *et al.*, 2014; Nowosad *et al.*, 2015).

گاینوژنزیز مرحله‌ای است که یک تخمک، بدون تاثیر ژنتیکی جنس نر تکامل می‌یابد یا به عبارتی یک روش تولید مثل است که در آن فرزندان، منحصرا از اطلاعات ژنتیکی مادر شکل می‌گیرند (Arai, 2001; Donaldson and Devlin, 1996). این‌حالت بطور طبیعی در تعداد کمی از گونه‌های ماهیان رخ داده و می‌توانند در ماهیان پرورشی به منظور آمیزش خویشاوندی سریع القا شود (Purdom, 1969; Thorgaard, 1983). این روش در واقع یک نوع تکثیر بکرزایی (Parthenogenesis) محسوب می‌شود و فعال کردن روند تکاملی سلول تخم از طریق اسپرمی که از لحاظ ژنتیکی غیرفعال شده است صورت می‌گیرد. گاینوژنزیز زمانی آغاز می‌شود که باروری تخمک‌ها با اسپرم همسان غیر فعال شده با اشعه UV تکامل یابد. تکامل تخمک شاید با لقاح اسپرم غیرهمسان متعلق به

گونه دیگر همراه باشد. استفاده از اسپرم غیرهمسان در القای گاینوژنزیز این مزیت را دارد که اگر اشعه کافی به اسپرم نرسد، در هنگام لقاح یا دورگه‌ای تشکیل نمی‌گردد (Peruzzi *et al.*, 1993) و یا در صورت تشکیل دورگه، فنوتیپ آن‌ها با گونه خالص مادری و یا گونه خالص پدری متفاوت است همچنان‌که Yamazaki در سال ۱۹۸۳ اعلام کرد که استفاده از اسپرم غیرهمسان در القای گاینوژنزیز می‌تواند نشان دهد که در صورت تولید هیبرید، نتاج حاصله از لحاظ ریخت شناسی قابل تشخیص هستند. در هر دو حالت اسپرم اشعه دیده قدرت تحریک و بارورسازی تخم و فعال نمودن مراحل تکاملی را دارد ولی اطلاعات ژنتیکی پدر در آن مشارکت نمی‌کند.

گاینوژنزیز طبیعی

چندین گونه از ماهیان دارای روش تولید مثلی هستند که در آمیزش نرمال آن‌ها فرزندان گاینوژنتیک تولید می‌گردد. ماهی مولی آمازون (Girard, 1860 *Poecilia formosa*) یک گونه گاینوژن است (Hubbs and Hubbs, 1932; Schultz, 1971) که در شکل طبیعی با دورگه بین *P. mexicana* و *P. latipina* (Monaco *et al.*, 1984) ایجاد می‌شود. نتاج این ماهی تمام ماده هستند و از تخمدان دیپلوئید تک جنسی با توقف در نوترکیبی اول یا تقسیم میوزی اول به دست آمده‌اند (Rasch *et al.*, 1982). لقاح تخم‌های مولی آمازون از طریق اسپرم جنس مرتبط با Poecilia فعال شده ولی اطلاعات ژنتیکی پدر هیچ‌گونه مشارکتی در جنین ندارد. ممکن است که اسپرم آن‌ها با محیط سیتوپلاسمی تخم مولی آمازون ناسازگار باشد و در نتیجه فاقد کروموزوم‌های پدری شوند همچنان‌که در دورگه دیگر گونه‌ها شرح داده شده است (Yuzhen *et al.*, 1989). بدین ترتیب نوزادان مولی آمازون به‌طور ژنتیکی در لکوسهای تعیین کننده جنسیت با مادرشان مطابقت داشته و گونه تکثیر شده تمام ماده است.

جمعیت‌های مشخصی از ماهی طلایی (*Carassius auratus* Linnaeus, 1758) نیز می‌توانند از طریق گاینوژنزیز تولید مثل نمایند (Cherfas *et al.*, 1994; Dong *et al.*, 1996). برای زیر گونه *C. auratus gibelio* هر دو حالت دیپلوئید دوجنسی و تریپلوئید تمام ماده تشخیص داده شد (Boron, 1994). گزارش شده که تخمدان تریپلوئیدها دوکی شکل سه قطبی تکامل نیافته در مرحله میوز I ناشی از یک تقسیم غیرکاهشی میوزی می‌باشد (Cherfas, 1966). فعالیت تخم با اسپرم سایر کپورماهیانی که در همان منطقه زیست می‌کنند آغاز می‌شود ولی عدم ظهور نرها در جمعیت‌های گاینوژنتیک نشان‌دهنده عدم دخالت ژن‌های پدری می‌باشد (Ding *et al.*, 1992; Rokicki and Kulikowski, 1994). در بعضی دیگر از گونه‌های کپور ماهیان نظیر کپور ماهی قنات شکم قرمز شمالی (*Phoxinus eos*) و کپور ماهی قنات فلس‌دار شمالی (*Phoxinus neogaeus*) دورگه‌های دیپلوئید تمام ماده هستند و بطور کلونی در حالت گاینوژنز تولید مثل می‌کنند (Goddard and Dawley, 1990). در جنس *Cobitis* (رفتگر ماهی)، اشکال هیبرید دیپلوئید، تریپلوئید و تتراپلوئید تشخیص داده شده اند که شکل دیپلوئید تمام ماده است و به‌صورت گاینوژنزیز تولید مثل می‌کند (از طریق تخمدان به‌وجود آمده از یک تقسیم غیرکاهشی میوزی در تریپلوئید (Vasilyev *et al.*, 1991).

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1402.17.2.3.4]
[DOI: 10.61186/aqudev.17.2.29]

گاینوژنزیز القایی (مصنوعی)

گاینوژنز القایی یا مصنوعی را می‌توان از تلاقی سلول تخمک هاپلوئید با اسپرمی که از لحاظ ژنتیکی غیرفعال شده است تولید کرد. برای غیرفعال کردن اسپرم از روش‌های مختلف اشعه ایکس، گاما (اشعه‌های یونیزه) و یا اشعه ماوراء بنفش (UV) استفاده می‌گردد. اشعه‌های یونیزه و UV موتاژن‌های فیزیکی قوی هستند که به عنوان عوامل سرطان‌زا ، به‌ترتیب قابلیت شکست کروموزوم و DNA را دارند (Pandian, 2011). اشعه یونیزه ممکن است که DNA کروموزومی را با ایجاد شکستگی‌های دو رشته (DSB) تخریب کند که کشنده‌ترین شکل آسیب‌های DNA است. اشعه UV موجب آسیب‌هایی روی DNA می‌شود که ممکن است موجب DSB شود (Piferrer *et al.*, 2004). هر چند هر دوی آن‌ها برای غیرفعال سازی DNA هسته‌ای در گامت‌های ماهیان برای القای گاینوژنزیز و ایجاد افرادی با DNA هسته‌ای مادری مفید هستند (Pandian, 2011). اشعه‌های ایکس و گاما به علت انرژی بسیار زیاد و بالا بودن قدرت نفوذپذیری آن سبب تخریب کامل ژنوم اسپرم و حتی در حد شکستن اسپرم مؤثراست (Chourrout, 1988). اگرچه اشعه گاما و ایکس دارای نفوذ پذیری قوی است ولی از معایب آن می‌توان به احتمال شکستن قطعه‌ای از کروموزوم اسپرم و نفوذ آن به داخل تخم اشاره نمود. میزان نفوذ اشعه UV به‌مراتب کمتر از اشعه‌های یونیزه است ولی به‌علت قابلیت حمل و نقل ساده و کم‌خطر بودن بیش‌تر ترجیح داده می‌شود. به‌علت نتایج بسیار متفاوت در بازماندگی گاینوژنتیک‌ها که در مطالعات اولیه مشاهده گردید، محققین مبادرت به استاندارد کردن روش‌های اشعه‌دهی نمودند. در این راستا لازم است که یک سری آزمایش و خطا در تاباندن اشعه مورد نظر برروی اسپرم گونه خاص صورت پذیرد تا مدت زمان و فاصله منبع اشعه تا نمونه اسپرم به دقت محاسبه، تنظیم و استاندارد گردد (پورکاظمی و همکاران، ۱۳۸۹). اشعه UV سبب تخریب و شکسته شدن پیوند هیدروژنی بین بازهای آلی در زنجیره DNA اسپرم می‌گردد و موجب تشکیل پیوند دایمر بین بازهای آلی می‌شود.

تاباندن اشعه برای اولین بار در سال ۱۹۱۱ توسط Hertwig انجام شد. او تخم‌های قورباغه را لقاح داد و شدت‌های متفاوتی از اشعه X را بر روی اسپرم تابانیدکه دارای نتایجی به شرح ذیل بود:

استفاده از شدت‌های پایین، تعداد جنین‌های غیر طبیعی را افزایش می‌دهد. افزایش شدت‌های حاصله در افزایش میزان غیرنرمالی و کاهش تعداد نرمالی جنین‌های تکامل یافته نقش دارد. در یک شدت معین، هیچ نتاجی مشاهده نشد و این همان شدتی بود که ۱۰۰٪ کشندگی را سبب می‌گردید. در بالای شدت کشندگی، جنین‌های حاصله مجددا فعال شده ولی اکثر آنها بدشکل و بعضی از آنها سالم بودند. Hertwig احتمال داد که این افراد گاینوژنتیک هستند. دلایل اثرات هرتویگ برای دانشمندان معاصر شناخته شده است: در شدت ۱۰۰ درصد کشندگی، DNA تا سطح غیرقابل عملکرد طبیعی تخریب می‌شود هرچند آن تکامل و رشد را مختل می‌کند تا جایی که به توقف کامل برسد. یک اشعه با دوز بالاتر سبب تخریب DNA حاصله با فقدان کامل عملکرد می‌شود هرچند پروتئین‌های هسته‌ای لازم برای شروع تقسیم سالم مانده و بدین ترتیب می‌تواند تقسیم سلولی را کامل کند. روند گاینوژنزیز به همین صورت می‌باشد (Cabrita *et al.*, 2008). لاروهای گاینوژنتیک دیپلوئید را می‌توان

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1402.17.2.3.4]
[DOI: 10.61186/aqudev.17.2.29]

از دو طریق در طی تقسیم میوز یا میتوز ایجاد کرد (Onozato, 1984):

جلوگیری از تقسیم دوم میوز (احتباس دومین گویچه قطبی) که اصطلاحا به آن دیپلوئیدهای گاینوژنتیک میوزی (یا گاینوژن‌های دیپلوئید، یا گاینوژنوت‌های دیپلوئید و یا گاینوژنتیک‌های دیپلوئید) می‌گویند (Arai and Fujimoto, 2018) ولی بعضی از محققین از عبارت میوژن‌ها (Meiogene) یا گاینوژن‌های جسم قطبی استفاده می‌کنند (Arai, 2001; Pandian, 2011). جلوگیری از اولین تقسیم میتوزی که به فرزندان حاصله میتوژن می‌گویند.

۱-جلوگیری از تقسیم میوز دوم

گاینوژن‌های میوزی با شوک‌های رایجی که احتباس گویچه دوم قطبی را القا می‌کند بعد از تقسیم دوم میوزی تشکیل می‌شود. گویچه دوم قطبی در تخم با پیش هسته مادری در زیگوت بمنظور تشکیل هسته دیپلوئید آمیخته می‌شود. گویچه قطبی حاوی یک دسته کروموزوم مادری است که طی تقسیم غیر کاهشی میوز تشکیل می‌شود ولی به‌طور ژنتیکی با هسته تخم هاپلوئید منطبق نیست که ناشی از تاثیر نوترکیبی (تبادل کروموزومی) بین لکوس ژن و سانترومر می‌باشد که می‌تواند اطلاعات ژنتیکی را در میان جفت‌های کروموزومی معاوضه کند. بدین ترتیب بعضی از لکوسها در ژنوم گاینوژن‌های میوزی هموزیگوس (خالص) نیست (Devlin and Nagahama, 2002). جلوگیری از تقسیم میوز دوم رایج‌ترین روش برای تولید بچه ماهیان گاینوژنتیک می‌باشد و علت اصلی آن تکنیک ساده و سهولت در انجام آن می‌باشد (Nagy *et al.*, 1978; Chourrout and Tiews, 1987). اساس کار با این روش تخریب و شکستن تقسیم سلولی در تقسیم میوزی با استفاده از شوک‌های فیزیکی که به تخم وارد می‌شود، می‌باشد. شوک‌های فیزیکی می‌تواند بصورت شوک‌های حرارتی (سرما یا گرما) و یا شوک فشار باشد که در هر دو حالت میکروتوبول‌هایی که دوک‌های تقسیم سلولی میوزی را تشکیل می‌دهند شکسته می‌شود. به عبارتی، در زمان القای دیپلوئید گاینوژنتیک میوزی یا تریپلوئیدی، کروموزوم‌ها در تخم، نیمی از تتراد را دارند که تتراد معنی دوظرفیتی دارد. همه نیم تترادها از یک ماده دیپلوئید هتروزیگوت، فرزندان هموزیگوت تولید خواهند نمود مشروط بر آن که آن‌ها غیر نوترکیب باشند، در واقع نوترکیبی تولید ژنوتیپ‌های هتروزیگوت می‌کند (Arai and Fujimoto, 2018).

گاینوژنزیز یک وسیله پرقدرت برای سیستم تعیین جنسیت ژنتیکی در گونه‌های دوجنسی است. آن می‌تواند در ماده‌های هوموگامتی (XX) تولید ۱۰۰٪ نتاج ماده را نماید اما در یک گونه با سیستم جنسیتی هتروگامتی ماده، گاینوژنزیز به نسبت‌های متفاوتی نرهای ZZ، ماده‌های ZW و ماده‌های برتر WW را ایجاد می‌نماید که بستگی به تبادل کروموزومی بین عامل تعیین جنسیت و سانترومر دارد. اگر تبادل کروموزومی بین عامل تعیین جنسیت و سانترومر به وقوع نپیوندد هیچ نتاج هتروزیگوتی تولید نمی‌شود. زمانی که عامل تعیین جنسیت به طور مستقل از سانترومر دسته بندی می‌شود، حدود ۶۷٪ نتاج هتروزیگوت ممکن است تولید شود و این مقدار ممکن است به بالای ۸۸ درصد با زایا بودن ماده‌های برتر WW برسد (Van Eenennaam, 1999). Pandian در سال ۲۰۱۱ اظهار کرده که نسبت جنسی در ماهیان

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1402.17.2.3.4]
[DOI: 10.61186/aqudev.17.2.29]

هتروگامتی اثبات شده با گاینوژنزیز، دسته بندی مستقل عامل تعیین جنسیت از سانترومر را نشان می‌دهد یعنی به ازای هر نر، دو ماده وجود دارد. در تعریف کامل‌تری از Devlin و Nagahama (۲۰۰۲) عنوان شده که اگر لکوس تعیین جنسیت پیوستگی شدیدی با سانترومر نداشته باشد، نوترکیبی ممکن است موجب معاوضه لکوس‌های تعیین جنسیت بین سانترومرها با کروماتیدهای هتروزیگوت ZW روی هر کروموزوم گردد. در این‌صورت نسبت‌های جنسی نتاج بشرح ذیل خواهد گردید: ۱- در حالت نوترکیبی خیلی پایین ۵۰٪ ماده WW تولید می‌شود، ۲- اگر نوترکیبی اتفاقی باشد ۶۷٪ ماده ایجاد می‌شود که نتاج متشکل از افراد ZZ و WW با تعداد مساوی است و باقیمانده ZW است و ۳- ۱۰۰٪ ماده ZW تولید می‌شود (در حالتی که معاوضه اجباری با دخالت شدید سانترومر و لکوس تعیین جنسیت وجود داشته باشد).

۲-جلوگیری از اولین تقسیم میتوزی

در گاینوژنزیز میتوزی هسته مادری بطور طبیعی در طی اولین چرخه سلولی جنین دو برابر می‌شود تا تشکیل دو دسته کروموزوم هاپلوئید منطبق با هم را بدهد. شوک‌های فیزیکی (معمولا حرارت یا فشار) بکار رفته در این زمان می‌تواند این دو دسته کروموزوم را القا کند تا سلول دیپلوئید با همان هسته‌ها تشکیل شود. در این مرحله هر کروموزوم دارای ۲ کروماتید مشابه خواهری هستند که در اولین تقسیم سلولی از همدیگر جدا می‌شوند. از آنجائی‌که دو دسته کروموزوم در یک گاینوژن میتوزی از یک هسته هاپلوئید دو برابر شده بدست آمده است لذا این سلول‌ها در تمام لکوس‌ها هموزیگوت (خالص) می‌باشند (Devlin and Nagahama, 2002). به‌عبارتی ژنوتیپ فرزندان کاملاً شبیه ژنوتیپ مادری است و فرزندان از لحاظ ژنتیکی بسیار مشابه هستند. القای گاینوژنزیز میتوزی می‌تواند در ماده‌های هوموگامتی (XX) تولید ۱۰۰٪ نتاج ماده را نماید اما در ماده‌های هتروگامتی (ZW) در طی گاینوژنزیز میتوزی، هستک هاپلوئید، یک کروموزوم Z یا W دارد که بعد از شوک دو برابر می‌شود. اگر کروموزوم W در شرایط هموزیگوت کشنده نباشد تعداد مساوی نر ZZ و ماده WW تولید می‌شود. در غیر این صورت فقط نرهای ZZ تولید می‌گردد.

همانند استاندارد کردن اشعه‌دهی به اسپرم، برای شوک‌های فیزیکی (گرما، سرما و فشار) ضروری است یک سری آزمایش برای تنظیم بهترین زمان شوک‌دهی (چند دقیقه پس از لقاح) مدت زمان شوک‌دهی (طول دوره زمانی یا مدت شوک‌دهی) و شدت میزان شوک برای گونه مورد نظر باید صورت پذیرد تا نتایج مطلوب از آزمایش مربوطه بدست آید (پورکاظمی و همکاران، ۱۳۸۹) ولی می‌توان با استفاده از بررسی‌های سیتولوژیکی در مراحل اولیه تکامل جنین، زمان بکار گیری شوک میتوزی را بدست آورد (Peruzzi and Chatain , 2003).

Pandian در سال ۲۰۱۱ سه هدف اصلی را برای ایجاد ماهیان گاینوژنتیک متصور شده است:

۱- تشخیص مکانیزم سیستم تعیین جنسیت (هوموگامتی یا هتروگامتی بودن ماهیان ماده)

۲- تولید سریع لاین‌های ایزوژنیک یا کلونی برای اصلاح ذخایر مولدین

۳- تولید نتاج تمام ماده در گونه‌هایی نظیر تاس‌ماهیان جهت دستیابی به خاویار

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1402.17.2.3.4]
[DOI: 10.61186/aqudev.17.2.29]

با استفاده از گاینوژنزیز می‌توان مکانیسم و فاکتورهای تعیین‌کننده جنسیت در ماهی را توصیف کرد. اگر ماهیان نر هوموگامت باشند، با القای گاینوژنزیز، نسبت‌های جنسی متفاوت ایجاد می‌شود که عمدتا ۲ ماده به ازای یک نر می‌باشد. اگر ماهی نر هتروگامت باشد، گاینوژنزیز می تواند ۱۰۰٪ نتاج تمام ماده XX تولید نماید (Van Eenennaam *et al.*, 1999; Felip *et al.*, 2001; Devlin and Nagahama, 2002; Omoto *et al.*, 2005; Flynn *et al.*, 2006; Fopp- Bayat, 2010; Zhang *et al.*, 2011).

از اهداف اصلی دیگرتولید ماهی گاینوژنتیک، تولید لاین همخون است (Hussain *et al.*, 1998). براساس روش کلاسیک تلاقی تنی حداقل ۱۵-۱۰ نسل نیاز است تا لاین خالص تولیدگردد و این کار برای گونه‌هایی مثل کپور که حداقل ۱/۵ سال برای رسیدن به سن بلوغ نیاز دارند بین ۱۵-۱۰ سال به‌طول می‌انجامد ولی با استفاده از تکنیک گاینوژنزیز و تغییر جنسیت حداکثر پس از ۵-۴ نسل یعنی ۷/۵-۶ سال می‌توان لاین خالص کپور معمولی را تولید نمود. این زمان برای گونه‌هایی که زمان رسیدگی جنسی و بلوغ آن کوتاه‌تر است کوتاه و برای گونه‌هایی مثل تاس‌ماهیان که طولانی‌تر است بیشتر خواهد بود (پورکاظمی و همکاران، ۱۳۸۹). از دیگر کاربردهای گاینوژنزیز بررسی ژن‌های جهش یافته و اثر ژن‌های مغلوب در حالت هموزیگوت است (Hussain *et al.*, 1998). با استفاده از تکنیک‌های گاینوژنزیز و آندروژنزیز لاین‌های کاملاً خالص در انواع ماهیان از قبیل ماهی زبرا (*Brachydanio rerio*)، کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)، تیلاپیا رودخانه نیل (*Tilapia nilotica*) و قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Onchorynchus mykiss*) تولید گردید (Komen *et al.*, 1991; Sarder *et al.*, 1999). این لاین‌ها در تمام ژنوم خود دارای ژنوتیپ مشابه و یکسانی هستند. ماهیانی که بیش از حد هموزیگوت باشند توانایی خود را در پاسخ به عوامل محیطی از دست می‌دهند و حتی اختلافات بسیار جزئی محیطی اثرات متفاوتی بر افراد مختلف می‌گذارد (Komen *et al.*, 1991). میزان خویشاوندی از طریق گاینوژنزیز دقیقاً معادل یا مساوی با یک نسل از تلاقی تنی می‌باشد. گاینوژن میتوزی تماماً بصورت هموزیگوت هستند اما اکثر بچه ماهیان بعلت فراوانی بالای ژنوتیپ‌های کشنده که ۱۰۰٪ در افراد هموزیگوت یافت می‌شود در طی تکامل جنینی تلف می‌شوند.

هدف دیگر تولید ماهی گاینوژنتیک در آبزی‌پروری تولید جمعیت‌های تک جنس ماده می‌باشد (Thorgaard, 1983; Price, 1984; Ihssen *et al.*, 1990). در بعضی از گونه‌ها رسیدن ماهی به بلوغ جنسی در سیستم پرورشی پلی‌کالچر سبب تکثیر طبیعی ماهی می‌گردد. بعنوان مثال بعضی از گونه‌های ماهی تیلاپیا درسنین پائین‌تر از یکسال به بلوغ جنسی می‌رسند و در استخرهای پرورشی در اثر زادآوری سریع، بچه ماهیان زیادی تولید می‌شود که از یک طرف نظم بیولوژیکی استخر از حالت تعادل خارج می‌گردد و از طرف دیگر پرورش‌دهنده به‌جای تولید ماهیان با وزن بازاری، با تعداد بیش از حد بچه ماهی در استخر مواجه خواهد شد (Ezaz *et al.*, 2004). ثانیاً وقتی جنس ماده دیرتر به سن بلوغ برسد با تولید ماهی تمام ماده، پرورش دهنده می‌تواند ماهیان بزرگتر از وزن معمولی تولید و به بازار عرضه دارد (Piferrer, 2001). ثالثاً در بعضی از گونه‌ها نظیر ماهیان خاویاری جنس ماده به‌علت تولید

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1402.17.2.3.4]
[DOI: 10.61186/aqudev.17.2.29]

خاویار و ارزش اقتصادی از اهمیت بالاتری نسبت به جنس نر برخوردار است و اکثر پرورش‌دهندگان ماهیان خاویاری تمایل دارند ماهی جنس ماده را پرورش دهند (Fopp-Bayat *et al.*, 2007).

هدف دیگر از القای گاینوژنزیز، حفاظت از گونه های در حال انقراض است که می‌تواند از بقیه اهداف مهم‌تر باشد.

دلایل استفاده از اسپرم غیرهمسان

در اکثر مطالعات گاینوژنزیز، هم اسپرم همسان و هم اسپرم غیرهمسان برای تکامل تخم استفاده می‌شود (Meng *et al.*, 2016). درصد لاروهای زایای گاینوژنتیک القا شده با اسپرم همسان، بطور واضح بالاتر از اسپرم غیرهمسان می‌باشد ولی ممانعت از ورود اسپرم‌هایی که بطور ناقص غیرفعال شده‌اند سخت می‌باشد و بدین ترتیب تشخیص دیپلوئید گاینوژنتیک از دیپلوئید نرمال به آسانی انجام‌پذیر نیست (Pan *et al.*, 2017). مارکرهای مولکولی چند شکلی نظیر AFLP و SSR می توانند این مشکل را با تشخیص خصوصیات ژنتیکی مادری (Dan *et al.*, 2013) حل کنند. اسپرم غیرهمسان به خصوص با تعداد کروموزوم متفاوت، نمی تواند تخم‌ها را لقاح دهد تا تولید دورگه‌های بین گونه‌ای با فاصله دور نماید و می‌توان با اطمینان لاروهای باقیمانده را گاینوژن‌های واقعی نامید، چون که دورگه‌ها علائم ظاهری را نشان داده و یا به طور کامل کشنده هستند. البته میزان لقاح و القای دیپلوئیدی در اسپرم غیرهمسان کمتر از اسپرم همسان می‌باشد (Chen *et al.*, 2012; Ji *et al.*, 2010). در القای گاینوژنزیز یا به‌دلیل راحت بودن و یا به‌دلیل ناتوانی در دورگه‌های زایا و یا هر دوی آن‌ها از اسپرم غیرهمسان استفاده می گردد (Morgan *et al.*, 2006). در مواردی که هم کیفیت و کمیت اسپرم همسان پایین باشد، می‌توان از اسپرم غیرهمسان استفاده نمود (Meng *et al.*, 2016).

استفاده از اسپرم غیرهمسان در آزمایشات القای گاینوژنزیز ممکن است آلودگی جزیی مربوط به استفاده از اسپرم همسان اشعه دیده را نداشته باشد (Varadaraj, 1990) و یا برای دوری از مشکلات ناشی از فعالیت مجدد در نور مفید باشد (Ijiri and Egami, 1980). از طرفی اشعه UV نفوذپذیری کمتری نسبت به اشعه‌های یونیزه دارد. بر این اساس، در مطالعات انجام شده مربوط به ماده زایی مشخص گردید که میزان آلودگی ناشی از حضور ژنوم پدری در فرزندان گاینوژنتیک در اسپرم UV داده شده معادل ۰/۰۳ درصد می‌باشد (Quillet, 1994). در صورتی‌که این میزان با استفاده از اشعه گاما برابر با ۰/۰۰۶ درصد ارزیابی گردید (Thorgaard, 1986). بنابراین استفاده از اسپرم غیرهمسان UV داده شده این امکان را فراهم می سازد که اگر اشعه به میزان کافی در اسپرم‌های مورد تیمار نفوذ ننماید، یا دورگه‌ای تشکیل نمی‌شود (Peruzzi *et al.*, 1993) و یا در صورت تولید دورگه، فنوتیپ آنها با گونه مادری و پدری متفاوت است. همچنان‌که Yamazaki در سال ۱۹۸۳ اعلام کرد که استفاده از اسپرم غیرهمسان می‌تواند تفاوت مورفولوژیک دورگه‌ها را از والدین نشان دهد. در مجموع چهار حالت در لقاح تخمک با اسپرم غیرهمسان در ماهیان با شوک دهی ایجاد می‌شود: ۱- ماده زایی/نرزایی ۲- تولید دورگه ۳- دورگه تریپلوئید و ۴- مرگ (Pandian and Koteeswaran, 1998).

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1402.17.2.3.4]
[DOI: 10.61186/aqudev.17.2.29]

چگونگی تشخیص ماهیان دیپلوئید گاینوژنتیک

چندین روش برای تشخیص ماهیان گاینوژنتیک وجود دارد:

۱- در بعضی از گونه‌ها، ماهیان ماده از طریق صفات ظاهری مثل رنگ (Naruse *et al.*, 1985)، باله‌ها، فلس (Gomelsky *et al.*, 1992) و سایر اندام‌های ریختی تشخیص داده می‌شوند زیرا با جنس نر تفاوت دارند (مثل بسیاری از ماهیان آکواریومی و کپور ماهیان) (Komen *et al.*, 1991). هم‌چنین در ماهیان زال (Fopp-Bayat and Ocalewicz, 2015) می‌توان به‌خوبی فرزندان حاصله از لحاظ منشاء مادری (هموزیگوت یا هتروزیگوت) را از منشاء پدری تفکیک نمود.

۲- اندازه‌گیری و مقایسه سطوح هورمون‌های جنسی در گروه‌های دیپلوئید شاهد و گاینوژنتیک

۳- بررسی کروموزوم‌های جنسی در گونه‌هایی که دارای کروموزوم جنسی مشخص هستند نظیر قزل‌آلای رنگین‌کمان (Chourrout, 1984)

۴- با استفاده از بافت شناسی غدد جنسی (Zhang *et al.*, 2011)

۵-استفاده از مارکرهای بیوشیمیایی در صورتی‌که الل به‌صورت هموزیگوت در مادر کدگذاری شده باشد (Taniguchi *et al.*, 1994; پورکاظمی و همکاران، ۱۳۸۹).

۶- استفاده از مارکرهای مولکولی نظیر میکروستلایت (Hassanzadeh Saber *et al.*, 2008; Zhang *et al.* 2011; Ma *et al.*, 2018)، AFLP (Chen *et al.*, 2007; Ma *et al.*, 2018) و یا با استفاده از روش RAPD اثبات نمود (VanEenennaam *et al.*, 1996).

طریقه تشخیص ماهیان گاینوژنتیک تلاقی یافته با اسپرم UV داده شده غیرهمسان بسیار ساده‌تر از ماهیان گاینوژنتیک تلاقی یافته با اسپرم UV داده شده همسان است (Xiao *et al.*, 2011) که به شرح ذیل می باشد:

۱-استفاده از خصوصیات فنوتیپی که در مادر با پدر (از گونه دیگر) متفاوت است و فرزندان گاینوژنتیک خصوصیات ظاهری مادر را دارند.

۲-بررسی تعداد و شکل کروموزوم‌ها که اگر به‌دلیلی اشعه به اسپرم نرسد در تلاقی بین اسپرم غیرهمسان با تخمک دورگه تشکیل می‌شود که در دورگه‌ها، تعداد وشکل کروموزوم‌ها با تعداد و شکل کروموزوم‌های والد مادر مشابه نخواهد بود (Chen *et al.*, 2012).

۳-میزان تکامل گناد که در فرزندان گاینوژنتیک با فرزندان دورگه متفاوت است.

۴-استفاده از نشانگرهای بیو شیمیایی

۵-استفاده از نشانگرهای مولکولی که نشان دهنده جایگاه ژنی متفاوت در پدر غیرهمسان با مادر و فرزندان او می‌باشد.

مزایای ماهیان دیپلوئید گاینوژنتیک

۱- خصوصیات نامطلوب که توسط ژن‌های نهفته کنترل می‌گردند با آمیزش خویشاوندی ظاهر گشته و می‌توان ماهیان دارای این خصوصیات را به راحتی از گله حذف نمود.

۲-در بعضی از گونه‌ها که ژن‌های آن‌ها در حالت نهفته کشنده می‌باشد، با مرگ ماهیان، این ژن از

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1402.17.2.3.4]
[DOI: 10.61186/aqudev.17.2.29]

جمعیت خارج می‌شود، مانند ژن کنترل کننده الگوی فلس در کپور معمولی.

۳-تحمل بیشتر نسبت به بیماری‌ها در ماهیان گاینوژن (Liu *et al.*, 2007; Xiao *et al.*, 2009).

۴-بروز صفات مطلوب در فرزندان گاینوژن که بیشتر در نتاج اللوگاینوژنزیز به‌علت حضور مقدار کمی از DNA پدری از اسپرم غیر فعال شده با UV مشاهده می‌گردد (Liu *et al.*, 2004) .

۵-شوک حرارتی جنین‌های ضعیف را از بین برده و ماهیان گاینوژنتیک باقی‌مانده دارای زیست‌پذیری بالاتر و تحمل بیش‌تر به بیماری هستند (Xiao *et al.*, 2011).

۶-تولید لاین ایزوژنیک با استفاده از گاینوژنزیز میوزی و تولید لاین کلونی (هموزیگوس) با استفاده از گاینوژنزیز میتوزی (Wu *et al.*, 1981; Nagy and Csanyi, 1984;)

۷-تهیه نقشه ژنتیکی (Danzmann and Gharbi, 2007)

۸-تعیین مکانیزم جنسیت (Yuandong *et al.*, 2006, 2007; Xiao *et al.*, 2009)

۹-تولید بالاتر در بعضی از گونه‌ها (Pandian and Koteeswaran, 1998)

۱۰-احیای گونه‌های در حال انقراض با استفاده از گاینوژنزیز میوزی که در آن، نوترکیبی می‌تواند در سیستم هتروگامتی ماده هر دو نتاج نر و ماده را با نسبت متفاوت تولید نماید نظیر تاس‌ماهیان (Grunina *et al.*, 2011).

روش‌های ارزیابی کیفی اسپرم با DNA غیرفعال شده توسط اشعه UV

هدف نهایی اسپرماتوزوا رهاسازی مواد ژنتیکی جهت مشارکت در تکامل جنینی است. فشردگی بالای کروماتین با پروتئین‌ها و آنتی‌اکسیدان‌ها در مایع سمینالی پلاسما، DNA را از آسیب‌ها حفاظت نموده تا به تخمک برسند. هر چند تخم‌ها مکانیزم مولکولی خودشان را جهت احیای تغییرات احتمالی در ساختار کروماتینی اسپرم تا درجه معینی دارند. با این‌حال بعضی از عوامل مختلف در شکست مراحل اسپرماتوژنزیز و تاثیر استرسورهای محیطی بر روی سلول‌های اکسپوزشده، می‌تواند اکسیداسیون پایه یا شکست‌های رشته‌ای را در DNA گسترش دهد (Cabrita *et al.*, 2008).

اگرچه روش‌های متفاوتی برای غیرفعال‌سازی اسپرم وجود دارد اما به طور مرسوم از نور UV برای تخریب شدید DNA استفاده می‌شود. لامپ‌های رایج UV-C طول موج کوتاه را برای این‌منظور تولید می‌کند (Lebeda *et al.*, 2014).

ارزیابی کامل اسپرم می‌بایست شامل تست یک‌پارچگی DNA به‌منظور ارزیابی پتانسیل لقاح اسپرم باشد تا سلامت اسپرم حفظ شود (Ciereszko *et al.*, 2005) ولی این موضوع به‌ندرت در ارزیابی کیفی اسپرم آبزیان مورد توجه قرار می‌گیرد. کاربرد آنالیز کروماتین در آبزی پروری می‌تواند در ارتباط با تشخیص مشکلات ویژه تکثیر نظیر مشارکت کم بعضی از نرها در باروری ماده‌ها در یک مخزن مشترک باشد ولی اختصاصا به‌منظور ارزیابی آسیب وارد شده به‌وسیله عوامل مختلف نظیر عوامل سمی، اشعه UV یا انجماد سلول‌ها به‌کار می‌رود. گاهی اوقات هدف از

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1402.17.2.3.4]
[DOI: 10.61186/aqudev.17.2.29]

غیرفعال‌سازی DNA در اسپرماتوزوای متحرک، استفاده از آن در القای گاینوژنزیز است.

روش‌های متفاوتی برای ارزیابی آسیب به کروماتین اسپرم وجود دارد که شامل تانل و سنجش دنباله یا تخریب تک‌سلولی بر روی ژل الکتروفورز می‌باشد که هر دوی آن‌ها شکستگی‌های رشته‌ای ساده یا دوبل رشته DNA را شناسایی می‌کند (Cabrita *et al.*, 2014). سنجش دنباله روشی تطبیق‌پذیر، حساس و کم‌هزینه برای ارزیابی شکست رشته‌ای در سلول‌های افراد می‌باشد (Collins, 2004; Simon and Carrell, 2013). سنجش دنباله فقط به سلول‌های کمی نیاز دارد. آن در ارزیابی میزان ناباروری در نرها ثابت شده (Lewis and Agbaje, 2008) و ارتباط آن با ارتقای تولیدمثل توسط Simon و همکاران (۲۰۱۱) پایه گذاری شد. در این روش برای آنالیز آسیب ایجاد شده بر DNA توسط رادیکال‌های آزاد، اشعه UV، ذخیره‌سازی کوتاه‌مدت و بلندمدت (انجماد) اسپرم تازه در باس دریایی، سیم دریایی، لامپری دریایی، قزل‌آلای رنگین‌کمان و تاس‌ماهی استرلیاد استفاده شده است (Labbé *et al.*, 2001; Zilli *et al.*, 2003; Cabrita *et al.*, 2005; Ciereszko *et al.*, 2005; Dietrich *et al.*, 2005; Pérez-Cerezales *et al.*, 2009; Lebeda *et al.*, 2014b). بعضی از کاربردها (به عنوان مثال گاینوژنزیز) به اسپرماتوزوای زایا و متحرک با هسته غیرفعال نیاز دارد. غیرفعال‌سازی معمولا با اشعه انجام می‌شود و کامت اسای می‌تواند به‌منظور نظارت بر تاثیر این روش استفاده شود. تلفیق کامت اسای و آنالیز تحرک اسپرم برای بهینه نمودن پروسه‌های گاینوژنتیک در ماهیان پیشنهاد شده است (Dietrich *et al.*, 2005). اشعه UV بکار رفته در گاینوژنزیز به‌منظور غیرفعال‌سازی ژنوم اسپرم بر روی دایمرهای سیکلوبوتان- پریمیدین (CPDs) یا فراورده‌های نوری ۶-۴ (6-4 PPs) تاثیر می‌گذارد (Rastogi *et al.*, 2010).

تحرک اسپرم مهمترین مقیاس در ارزیابی کیفی اسپرم می‌باشد. تحرک می‌تواند وسیع‌ترین بیومارکر استفاده شده برای کیفیت اسپرم باشد و در حالات متفاوت برای آنالیز اسپرم بکار گرفته شده است. ارتباط بین تحرک و ظرفیت لقاح توسط چندین نویسنده (Billard *et al.*, 1993; Ohta *et al.*, 1995; Linhart *et al.*, 2000) گزارش شده است ولی تعدادی از محققین دیگر مخالف ارتباط بین تحرک و باروری هستند (Cognie *et al.*, 1989; Herráez *et al.*, 1993). تست تحرک شامل درصد اسپرماتوزوای متحرک (Levandusky and Cloud, 1988) و مدت کلی تحرک (Duplinsky, 1982) می‌باشد.

عامل دیگر در ارزیابی کیفی اسپرم، میزان لقاح اسپرم در بدو ورود به تخم می‌باشد. البته این ارزیابی به عوامل دیگری از جمله قابلیت دسترسی و کیفیت تخم یا روش‌های لقاح و انکوباسیون تخم بستگی دارد. عامل دیگر در کیفیت اسپرم توانایی لقاح و تفریخ تخم می‌باشد که رایج‌تر است زیرا تکامل اولیه می‌تواند حتی با اسپرماتوزوای غیرنرمال نیز پیش برود. در اکثر گونه‌های دریایی این بررسی تا تفریخ لارو نیز می‌تواند انجام شود چون زمان تکامل جنینی خیلی کوتاه است ولی در گونه‌هایی که زمان تکامل جنینی خیلی طولانی دارند می‌توان بعد از مرحله گاسترولاسیون این ارزیابی را انجام داد (Cabrita *et al.*, 2008).

به‌نظر می‌رسد بهترین شاخص در بحث کیفیت اسپرم برای موفقیت تولید مثل، یکپارچگی DNA باشد (Li *et al.*, 2008) تا جایی که طبق نظر بعضی از

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1402.17.2.3.4]
[DOI: 10.61186/aqudev.17.2.29]

پژوهشگران این عامل نسبت به سایر پارامترهای اسپرمی نظیر تحرک، نشانگر بهتری برای عملکرد اسپرم بوده (Tuncer *et al.*, 2010) و امروزه به عنوان یکی از شاخص‌های مهم کیفیت مایع سمینال در ارزیابی توان باروری جنس نر شناخته می‌شود. DNA اسپرم به شدت فشرده است تا حجم اسپرماتوزوا را به منظور به حداقل رساندن آسیب توسط عوامل خارجی کاهش دهد و بدین ترتیب رونویسی ژنوم را غیرفعال کند (Singh *et al.*, 2003). حفاظت مازاد از DNA اسپرم با آنتی‌اکسیدان‌های پلاسمای سمینال اعمال می‌شود (Ciereszko *et al.*, 1999). با وجود همه این سیستمهای دفاعی، تخریب DNA اسپرم رخ می‌دهد و بدین ترتیب نرها نابارور می‌شوند (Irvine *et al.*, 2000). از طرف دیگر فقدان مکانیزم‌های احیا در اسپرم، آسیب به DNA اسپرم را برگشت ناپذیر می‌کند. اسپرم برخلاف اکثر سلول‌های سوماتیک، سیستم مؤثری برای ترمیم آسیب DNA ندارد (Genesca *et al.*, 1992). در گذشته ارزیابی آسیب DNA اسپرم به علت فشردگی شدید کروماتین هسته آن دشوار بود (Lopez-Fernandez *et al.*, 2008) ولی در سال‌های اخیر ورود زیست‌فناوری به عرصه آبزی‌پروری و استفاده از روش‌های تخصصی جدید جهت ارزیابی کیفیت مایع سمینال در سطح مولکولی، امکان شناسایی انواع مختلف آسیب به DNA را فراهم آورده و سبب پیشرفت و افزایش کارائی بررسی اسپرم به کمک DNA گردیده است (Cabrita *et al.*, 2010). از مهم‌ترین روش‌های تعیین آسیب DNA می‌توان به سنجش دنباله (SCGE) اشاره نمود که بر مبنای اندازه‌گیری شکستگی‌های رشته DNA در سلول می‌باشد (Cabrita *et al.*, 2010) و استفاده از آن در مطالعات مربوط به تاثیر اشعه‌های یونیزه و غیریونیزه نظیر UV در اسپرم ماهیان به چند سال اخیر محدود می‌شود (Dietrich *et al.*, 2005).

در بررسی‌های انجام شده در القای گاینوژنزیز، از سنجش دنباله فقط برای تعیین درصد تخریب DNA بر اسپرم تاس‌ماهی سیبری استفاده شده است (حسن‌زاده صابر و همکاران، ۱۴۰۰). سنجش دنباله می‌تواند در ارزیابی شکست DNA اسپرم ماهی در هنگام تابش اشعه UV به‌کار گرفته شود. القای موثر گاینوژنزیز نیاز به غیرفعال کردن ژنوم اسپرم و توانایی باروری بالا به‌طور همزمان دارد. بنابراین موفقیت در گاینوژنزیز منوط به تعیین دوز مناسب UV جهت غیرفعال‌سازی ژنوم اسپرم است. دوزهای پایین جهت غیرفعال نمودن ژنوم اسپرم با موفقیت همراه نیست زیرا امکان الحاق جزیی DNA پدری به زیگوت وجود دارد. از طرف دیگر دوزهای بالاتر UV، مورفولوژی اسپرم را تغییر داده و تحرک آن را به منظور تکامل جنینی کاهش می‌دهد (Ciereszko *et al.*, 2005; Dietrich *et al.*, 2005). شکست رشته DNA می‌تواند در مونیتورینگ تاثیر اشعه UV بر غیر فعال شدن DNA اسپرم ماهی باشد. بنابراین، سنجش دنباله به همراه آنالیز تحرک اسپرم می‌تواند در بهینه کردن پروتکل‌های گاینوژنزیز در ماهیان استفاده شود (Dietrich *et al.*, 2005).

مروری بر القای گاینوژنزیز مصنوعی در تاس‌ماهیان

اولین تحقیق برای تولید تاس‌ماهی گاینوژنتیک از طریق مصنوعی توسط Romashov و همکاران در سال ۱۹۶۳ گزارش شده است. وی برای اشعه‌دهی اسپرم از اشعه ایکس و برای القای دیپلوئیدی از شوک سرمایی

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1402.17.2.3.4]
[DOI: 10.61186/aqudev.17.2.29]

بـــر روی تاس‌مـــاهی روســـی (*Acipenser gueldenstaedti*) اسـتفاده کـرد. حداکثرمـدت زنـده ماندن لارو تولیدی در تحقیق فوق ۱۹۲ روز بوده و پس از آن تمام لاروهای تولیدی تلف شدند.

Kowtal در ســال ۱۹۸۷ گزارشـی در خصـوص مطالعـات اولیـه القـای پلـی‌پلوئیـدی، گـاینوژنزیز و آنـدروژنزیز در تاس‌مـاهی سـفید (*Acipenser transmontanus*) ارائـه نمـود. او بـرای تولیـد مـاهی گاینوژن از اشعه UV برای تخریب DNA اسپرم استفاده کرد. برای این‌کـار اسـپرم بـا ضـخامت ۱ میلی‌لیتـری را به‌مدت ۱۵ دقیقه و در فاصـله ۱۵ سـانتیمتری در معـرض اشعه UV قرار داد و برای احتباس دومین گویچه قطبی از شوک گرمایی در دامنه‌هـای مختلـف ۳۷-۳۰ درجـه سانتیگراد استفاده کرد. او تعـداد بی‌شـماری جنـین‌هـای غیرطبیعی مشاهده کرد و تمامی تخم‌های لقاح یافته قبل از هچ شدن لارو تلف شدند.

VanEenennaam و همکـاران در سـال ۱۹۹۶ مطالعـات کـاملی در خصـوص تولیـد تاس‌مـاهی سـفید گاینوژنتیک و تریپلوئید با موفقیـت انجـام دادنـد. بـرای تولید ماهی گاینوژنتیک، جهت تخریـب سـاختار DNA اسپرم از اشعه UV استفاده شد و برای این منظور پس از جداسازی مایع سمینال و رقیق کردن اسپرم، به ضخامت ۱ میلی‌متر در پتری دیش و با استفاده از اشعه UV (μW ۱۲۰۰ بر هر سانتی‌متر مربع) برای دوره زمانی ۱۸۰، ۱۹۵ و ۲۷۰ ثانیه اشعه‌دهی گردید. بـرای اثبـات گاینوژنتیـک از تکنیـک RAPD اسـتفاده شـد و بـرای این‌کـار ۱۰۸ لاروتولید شده از ۴ آزمـایش مختلـف را مـورد بررسـی قرار گرفت که از ایـن تعـداد ۲ عـدد لارو گاینوژنتیـک واقعی نبودند.

Mims و همکـــاران در ســـال ۱۹۹۷ توانســـتند گاینوژنزیز میوزی را در تاس‌ماهی پـاروپوزه آمریکـایی (*Polyodon spathula*) بـا اسـتفاده از اسـپرم UV داده شده پاروپوزه (*Scaphirhynchus platorynchus*) القا نمایند. بالاترین بازده آنها ۱۶٪ ماهیان گاینوژنتیک بـود. در تیمار شاهد دورگه آن‌ها، هیچ دورگه‌ای تولیـد نشـد و آن‌ها به این نتیجه رسیدند که تمامی ماهیان موجود در تیمار گاینوژنتیک وراثت‌پذیری مادری دارند. هم‌چنـین این کار تنهـا مطالعـه‌ای در تاس‌ماهیـان بـود کـه سیسـتم تعیـین جنسـیت را در تاس‌مـاهی مـذکور بـه صـورت هوموگامتی مـاده عنـوان کـرد. ۱۵ سـال بعـد در تحقیـق دیگـــری از القـــای گـــاینوژنزیز در مـــاهی پـــاروپوزه (*Polyodon spathula*) مشـخص گردیـد کـه سیسـتم تعیین جنسیت در این تاس‌ماهی نه تنها هوموگامتی مـاده نبوده بلکه هتروگامتی ماده می‌باشـد کـه بـر ایـن اسـاس نویسندگان تحقیـق اولیـه خـود را مـردود اعـلام کردنـد (Shelton and Mims, 2012).

VanEenennaam و همکاران در سال ۱۹۹۹ نسبت جنسی نتاج تولید شده از القای گاینوژنزیز میـوزی را در تاسماهی سفید ۸۲٪ ماده و ۱۸ ٪ نر اظهار داشتند.

Omoto و همکـاران در سـال ۲۰۰۵ توانسـتند بـا استفاده از اسپرم UV داده شده هومولـوگ مـاهی بسـتر (دورگـه فیل‌مـاهی مـاده بـا تاس‌مـاهی اسـترلیاد نـر)، گـاینوژنزیز میـوزی را در گونـه هم‌نـوع ایجـاد نماینـد. آن‌هـا بـا اسـتفاده از فلوسـیتومتری وانـدازه‌گیری حجـم DNA گلبول‌هـای قرمـز خـون ماهیـان گاینوژنتیـک و بافت شناسی غدد جنسی آن‌ها به این نتیجه رسـیدند کـه ۸۰-۷۰ درصـد از ماهیـان گاینوژنتیـک مـاده و ۲۰-۳۰ درصد آن‌ها نر می‌باشد. آن‌ها اعلام کردنـد کـه سیسـتم

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1402.17.2.3.4]
[DOI: 10.61186/aqudev.17.2.29]

تعیین جنسیت در این دورگه بصورت هتروگامتی ماده می‌باشد.

Flynn و همکاران در سال ۲۰۰۶ با استفاده از القای گاینوژنزیز میوزی به بررسی سیستم تعیین جنسیت در تاس‌ماهی کوتاه‌پوزه (*Acipenser brevirostrum*) پرداختند. آن‌ها به ۶۵٪ نتاج ماده و ۳۵٪ نتاج نر دست یافتند و تعیین جنسیت را در این گونه ZW معرفی کردند.

Fopp-Bayat و همکاران در سال ۲۰۰۷ گاینوژنزیز میوزی را در استرلیاد (*Acipenser ruthenus*) با استفاده از اسپرم هترولوگ دورگه بستر با موفقیت القا کردند. آنها برای اثبات فرزندان گاینوژنتیک از مارکرهای میکروستلایت و بررسی تعداد کروموزوم‌ها استفاده کردند.

Saber Hassanzadeh و همکاران در سال ۲۰۰۸ توانستند گاینوژنزیز میوزی را در ازون برون(*Acipenser stellatus*) ایجاد کنند. مارکرهای میکروستلایت روش اثبات گاینوژنزیز در تحقیق آن‌ها بود.

Fopp-Bayat در سال ۲۰۱۰ گاینوژن‌های تاس‌ماهی سیبری (*Acipense baerii*) لقاح یافته با اسپرم UV داده شده هیبرید تاس‌ماهی سیبری در تاس‌ماهی روسی ایجاد و اعلام داشت که مکانیسم سیستم تعیین جنسیت تاس‌ماهی سیبری بصورت هتروگامتی ماده می‌باشند. او به ۸۰٪ نتاج ماده و ۲۰٪ نتاج نر دست یافت.

القای موفق گاینوژنزیز میوزی در ماهی پاروپوزه با استفاده از اسپرم تاس‌ماهی آمور تحقیق دیگری در تاس‌ماهیان می‌باشد (Zou *et al.*, 2011).

Saber و Hallajian (۲۰۱۴) سیستم تعیین جنسیت هتروگامتی ماده را در تاس‌ماهی شیپ (*Acipenser nudiventris*) با نسبت ۷۳٪ نتاج ماده و ۲۷ ٪ نتاج نر اعلام نمودند.

Fopp- Bayat و همکاران (۲۰۱۸) اظهار نموده که تاس‌ماهی استرلیاد نیز دارای سیستم تعیین جنسیت هتروگامتی ماده می‌باشد. در تیمار گاینوژنتیک تاس‌ماهی استرلیاد، ۸۶٪ نتاج ماده، ۷٪ نتاج نر و بقیه ناشناخته ظاهر شدند.

در ایران ماده‌زایی در تاس‌ماهیان با بررسی اثر اشعه گاما بر روی اسپرم تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*)، تاس‌ماهی روسی (*Acipenser gueldenstadti*) و ماهی ازون‌برون (*Acipenser stellatus*) و هم‌چنین امکان تولید ماهی گاینوژن گزارش (یوسفیان و نظری، ۱۳۸۲) گردید. مناسب‌ترین مقدار اشعه گاما برای تاس‌ماهی ایرانی و روسی ۹۵ کیلو راد بود در حالیکه برای ماهی ازون‌برون ۱۰۰ کیلوراد از موفقیت بیش‌تری برخوردار بود. تولید ۱۰۰ درصد ماهیان هاپلوئید (N کروموزومی) با استفاده از اسپرم‌های اشعه دیده فوق، مؤثر بودن شدت اشعه در غیرفعال ساختن ژنوم اسپرم را تأیید کرد. برای تولید تاس‌ماهی ایرانی گاینوژنتیک، از شوک گرمایی ۳۸، ۴۰ و ۴۲ درجه سانتیگراد برای ۲ دقیقه و شوک سرمایی ۴ درجه سانتیگراد برای ۴۵ دقیقه استفاده گردید و زمان شوک‌دهی ۳ دقیقه پس از لقاح بوده است. برای تشخیص و اثبات گاینوژنزیز از مارکر بیوشیمیایی ترانسفرین و از طریق الکتروفورز سرم خون استفاده شد و طبق گزارش فوق چون ماهی مولد ماده هموزیگوت و ماهی نر هتروزیگوت بودند، از آنجائیکه از ۳۰ عدد لارو بررسی شده نمونه هتروزیگوت مشاهده نگردید

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1402.17.2.3.4]
[DOI: 10.61186/aqudev.17.2.29]

لذا نویسندگان نتیجه‌گیری نمودند که لاروهای تولید شده همگی منشاء ژنوم مادری دارند و گاینوژنتیک هستند.

همچنین پورکاظمی و همکاران (۱۳۸۹) موفق به القای گاینوژنزیز و تریپلوئیدی در فیل‌ماهی و تاس‌ماهی ایرانی گردیدند. آنها از اشعه UV برای تخریب ژنوم اسپرم فیل‌ماهی و تاس‌ماهی ایرانی بمدت ۱۰۵ تا ۱۱۰ ثانیه استفاده کردند. به‌منظور احتباس دومین گویچه قطبی از شوک گرمایی ۳۲-۳۷ درجه سانتیگراد و شوک سرمایی ۰-۱ درجه سانتیگراد استفاده گردید. زمان شروع شوک‌دهی ۱۲-۱۸ دقیقه بعد از فعال شدن تخم با اسپرم UV داده شده و مدت شوک‌دهی در گرما و در سرما بترتیب ۲/۵ و ۶۰ دقیقه بود. در فیل‌ماهی شوک سرمایی با بازماندگی ۳۰-۳۵ درصد در مقایسه با شوک گرمایی توانست گاینوژنزیز را در فیل‌ماهی القا نماید. هم‌چنین در تاس‌ماهی ایرانی شوک سرمایی کارآیی بالاتری نسبت به شوک گرمایی داشت. آن‌ها توانستند با مارکرهای میکروستلایت و شمارش تعداد کروموزوم‌ها به نحوه وراثت پذیری ژنوم فرزندان گاینوژن در مقایسه با والدین شان پی ببرند.

تحقیقات در زمینه ماده‌زایی با اسپرم هترولوگ موفقیت دیگری در زمینه تولید ماهیان تمام ماده است. در تاس‌ماهیان، *Scaphirhynchus platorynchus* با اسپرم *Polyodon spathula* (Mims and Shelton, 1998)، تاس‌ماهی استرلیاد با اسپرم دورگه بستر (Fopp-Bayat *et al.*, 2007)، تاس‌ماهی سیبری با اسپرم دورگه تاس‌ماهی سیبری × تاس‌ماهی روسی (Fopp-Bayat, 2010)، ماهی پاروپوزه (*Polyodon spathula*) با اسپرم تاس‌ماهی آمور (*A. schrenckii*) (Zou *et al.*, 2011)، تاس‌ماهی سیبری با اسپرم فیل‌ماهی (Grunina *et al.*, 2011)، ماهی پاروپوزه با اسپرم (*Scaphirhynchus platorynchus*) (Shelton and Mims, 2012)، تاس‌ماهی شیپ با اسپرم تاس‌ماهی سیبری (Saber *et al.*, 2014)، تاس‌ماهی سیبری با اسپرم استرلیاد (Lebeda *et al.*, 2018)، اشاره کرد.

حسن‌زاده صابر و همکاران (۱۳۹۱) با استفاده از اسپرم غیرفعال ژنتیکی تاس‌ماهی سیبری، موفق به القای گاینوژنزیز در تاس‌ماهی شیپ گردید. با توجه به قرارگیری تاس‌ماهی شیپ در وضعیت به‌شدت در معرض خطر انقراض (CR) در فهرست قرمز IUCN، القای گاینوژنزیز با اسپرم هترولوگ غیرفعال شده ژنتیکی می‌تواند در تولید هر دو جنس نر و ماده شیپ و حفاظت از آن‌ها تاثیر داشته باشد.

حسن‌زاده صابر (۱۳۹۸) توانست با استفاده از گاینوژنزیز در تاس‌ماهی استرلیاد به عنوان یک گونه مدل آسیب پذیر (VU)، جبران کمبود جنس نر این گونه را نماید. با توجه به سیستم تعیین جنسیت هتروگامتی ماده، هر دو جنس نر و ماده در این گونه ایجاد شد که نسبت آن ۷۶/۶ درصد ماده و ۲۳/۴ درصد نر بودند.

همچنین حسن‌زاده صابر و همکاران (۱۴۰۱) توانست به‌منظور توسعه آبزی‌پروری و تولید نتاج ماده در تاس‌ماهی سیبری که دومین گونه پرورشی ماهیان خاویاری در ایران است را با ماده‌زایی و اسپرم هترولوگ غیرفعال تاس‌ماهی ایرانی تولید کند. او با استفاده از مارکرهای مولکولی میکروستلایت توانست وراثت‌پذیری اللی مادری را در فرزندان نسل اول ثابت کند.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1402.17.2.3.4]
[DOI: 10.61186/aqudev.17.2.29]

القای گاینوژنزیز در تاس‌ماهیان

۱-رسیدگی جنسی مولدین تاس‌ماهیان

پس از انتخاب مولدین مناسب از لحاظ میزان رسیدگی جنسی و نگهداری آن‌ها به مدت چند روز در استخرهای آرامش، جهت رسیدگی جنسی مولدین از هورمون‌های متعددی استفاده می‌گردد. به‌منظور القای رسیدگی جنسی در مولدین فیل‌ماهی و تاس‌ماهی ایرانی با توجه به درجه حرارت آب، تزریق عصاره هیپوفیز طبق روش‌های متداول در مراکز تکثیر و پرورش تاس‌ماهیان صورت می‌گیرد (کهنه شهری و آذری تاکامی، ۱۳۵۳). ابتدا ۲۰۰ میلی‌گرم عصاره پودر هیپوفیز (برای مولدین ماده) و ۱۲۰ میلی‌گرم (برای مولدین نر) را با سرم فیزیولوژی ۰/۹ درصد مخلوط کرده و با ۱ قسمت آب بصورت کاملاً محلول درآورده و به ازای هر مولد ۲ میلی‌لیتر محلول هیپوفیز در داخل عضله پشتی ماهی تزریق می‌گردد. زمان رسیدگی جنسی ماهیان مولد متناسب با درجه حرارت آب متفاوت بوده و معمولاً پس از ۲۰ ساعت از تزریق اول مولد ماده، تزریق مولد نر (که یک بار صورت می‌گیرد) انجام می پذیرد.

در سال‌های اخیر برای رسیدگی جنسی در مولدین ماده در ازون‌برون (Hassanzadeh Saber *et al.*, 2008)، تاس‌ماهی شیپ (Hassanzadeh Saber *et al.*, 2014)، استرلیاد (حسن‌زاده صابر و همکاران، ۱۳۹۸) و تاس‌ماهی سیبری (حسن‌زاده صابر و همکاران، ۱۴۰۱) با توجه به درجه حرارت آب از هورمون GnRH ساخته شده در شرکت ثامن به میزان ۱۰ میکروگرم/کیلوگرم در دو مرحله که در مرحله اول ۲۰٪ و بعد از ۶ ساعت، باقی‌مانده هورمون به مولد ماده در داخل عضله پشتی تزریق می‌گردد. برای مولدین نر غیرهمسان شامل تاس‌ماهی سیبری و تاس‌ماهی ایرانی، تزریق GnRH در یک مرحله (همزمان با تزریق دوم مولد ماده) به میزان ۲۰ میکروگرم/کیلوگرم صورت می‌گیرد. مولدین آماده استحصال اسپرم و تخمک را در محلول‌های گیاهی (پودر گل میخک) یا سنتتیک (MS-222) بیهوش نموده و سپس اسپرم و تخمک به‌ترتیب از مولد نر و ماده استحصال می‌گردد (پوردهقانی و همکاران، ۱۳۸۹).

۲- تهیه مایع سمینال و رقیق‌سازی اسپرم

معمولا میزان اسپرم استحصالی از تاس‌ماهیان نسبت به ماهیان استخوانی کوچک به مراتب بیش‌تر است لذا بسته به میزان تخمک مورد استفاده برای لقاح و القای ماده‌زایی، به میزان ۴ یا ۵ برابر میزان اسپرم استوک، مایع سمینال جداسازی می‌گردد. بسته به وزن تخمک مورد استفاده در دستکاری کروموزومی، مقداری از اسپرم دریافت شده، در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری و از مازاد اسپرم، مایع سمینال، با استفاده از سانتریفوژ با دور ۵۰۰۰ در دقیقه به‌مدت ۵ دقیقه جدا می‌گردد. از مایع سمینال جهت رقیق سازی اسپرم استفاده می‌شود، زیرا اسپرم‌ها در مایع سمینال هیچ‌گونه تحرکی ندارند و در طی مدت تاباندن اشعه بدون تحرک باقی می‌مانند. از آن‌جائی که غلظت اسپرم دریافتی از تاس‌ماهیان بسیار زیاد است (به عنوان مثال در تاس‌ماهی سیبری $۱/۵۶ \times ۱۰^{۹}$ اسپرم در میلی لیتر مکعب)، برای تاباندن اشعه نیاز به اسپرم رقیق شده است بنابراین به میزان ۰/۹ میلی لیتر از مایع سمینال با ۰/۱ میلی لیتر از اسپرم استوک (با غلظت ۱۰٪) در داخل پتری دیش به عمق ۱ میلی متر ریخته می‌شود. ضخامت کم محلول اسپرم و رقت آن سبب می‌گردد تا تاثیر اشعه UV بر روی آن بیش‌تر باشد. به‌منظور جلوگیری

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1402.17.2.3.4]
[DOI: 10.61186/aqudev.17.2.29]

از کم شدن تحرک ناشی از گرمای حاصل از تابش اشعه به اسپرم، ظرف (پتری دیش) حاوی اسپرم بر روی محلول آب سرد شده قرار می‌گیرد. همچنین به‌منظور جلوگیری از فعالیت مجدد اسپرم اشعه دیده در نور، بلافاصله اسپرم‌های UV داده‌شده و استوک در ظروف تیره ریخته می‌شود و در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری می‌گردد.

۳-تخریب DNA اسپرم با تابش اشعه UV

به‌علت سهل الوصول بودن دستگاه تابش اشعه UV، در غالب مطالعات از لامپ UV مدل UVG-54 با طول موج کوتاه ۲۵۴ نانومتر ساخت شرکت UVP آمریکا (CA-91786-Upland) استفاد گردید. در هنگام اشعه‌دهی، منبع نوری و پتری‌دیش حاوی اسپرم بر روی یک شیکر اوربیتالی با دور ۹۰ در دقیقه حرکت داده شده تا تابش اشعه به‌طور تقریبا یکسان بر تمامی اسپرم باشد. شدت موثر UV، بر اساس روش Hassanzadeh Saber و همکاران (۲۰۰۸) تعیین شد. سپس یک نمونه اسپرم اشعه داده‌شده با یک نمونه اسپرم شاهد جهت ارزیابی میزان تحرک اسپرم به طور هم‌زمان در زیر میکروسکوپ مورد بررسی قرار می‌گیرد و منحنی کاهش تحرک اسپرم‌های اشعه‌دیده در مقایسه با اسپرم‌های شاهد رسم می‌گردد. به‌منظور تست باروری و میزان تفریخ تخم، اسپرم‌های اشعه‌دیده و بدون اشعه با مقداری از تخمک ترکیب و میزان لقاح در مراحل جنینی و تعداد لارو تفریخ شده (بازماندگی) مورد ارزیابی قرار می‌گیرد و با تیمار شاهد مقایسه می‌شود.

دوز اشعه UV که متشکل از شدت تابش اشعه در مدت زمان تابش می‌باشد در گونه‌های مختلف تاس‌ماهیان و بسته به شرایط و کیفیت مولد متفاوت است. در شدت ثابت ۴۷۳ میکروواط/ سانتی‌متر مربع (اندازه‌گیری شده در سازمان انرژی اتمی ایران، ۱۳۸۴)، دوز مناسب تابش اشعه UV بر روی اسپرم ازون‌برون ۲۸۳۸ ژول/ مترمربع (Hassanzadeh Saber *et al.*, 2008)، تاس‌ماهی سیبری ۲۸۳۸ تا ۴۲۵۷ ژول/ مترمربع (Hassanzadeh Saber *et al.*, 2014) و تاسماهی ایرانی ۸۵۱۴ ژول/ مترمربع (حسن‌زاده صابر و همکاران، ۱۴۰۱) بهترین کیفیت را برای القای گاینوژنزیز داشته‌اند. هم‌چنین بهترین دوز اشعه UV بر روی اسپرم فیل‌ماهی ۳۸۱۱ تا ۳۹۹۳ ژول/ مترمربع تعیین گردید (پورکاظمی و همکاران، ۱۳۸۹).

۴-بررسی میزان تحرک اسپرم

برای بررسی میزان تحرک اسپرم، ۱۰ میکرولیتر از اسپرم را با ۵۰۰ میکرولیتر محلول فعال کننده (آب)، مخلوط (Aramli *et al.*, 2015) و میزان درصد تحرک اسپرم در زیر میکروسکوپ مورد بررسی قرار می‌گیرد.

۵-عملیات لقاح و شوک فیزیکی

پس از استحصال تخمک از تاس‌ماهیان، اسپرم اشعه داده‌شده با ۹۰ درصد حجم خود از آب سالن تکثیر ترکیب و بلافاصله به تخمک اضافه می‌گردد. اگر از اسپرم همسان استفاده گردد تیمارها شامل ۱- گاینوژنتیک (اسپرم اشعه‌دیده همسان و لقاح با تخمک سالم تاس‌ماهی به‌همراه شوک حرارتی به‌منظور دیپلوئید سازی)، ۲- تریپلوئید (اسپرم سالم همسان تاس‌ماهی و لقاح با تخمک سالم تاس‌ماهی به‌همراه شوک حرارتی) ۳- هاپلوئید (اسپرم اشعه دیده همسان تاس‌ماهی و لقاح با تخمک سالم تاس‌ماهی بدون شوک حرارتی) و ۴- شاهد {(اسپرم و تخمک سالم تاس‌ماهی) می‌باشد ولی در صورت استفاده از اسپرم غیرهمسان (که از لحاظ ژنتیکی غیرفعال شده)، تیمارها شامل ۱- گاینوژنتیک (اسپرم اشعه‌دیده غیرهمسان و

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1402.17.2.3.4]
[DOI: 10.61186/aqudev.17.2.29]

لقاح با تخمک سالم تاس‌ماهی به‌همراه شوک حرارتی به‌منظور دیپلوئید سازی)، ۲- هیبرید تریپلوئید (اسپرم سالم غیرهمسان تاس‌ماهی و لقاح با تخمک سالم تاس‌ماهی به‌همراه شوک حرارتی) ۳- هاپلوئید (اسپرم اشعه‌دیده غیرهمسان تاس‌ماهی و لقاح با تخمک سالم تاس‌ماهی بدون شوک حرارتی) و ۴- هیبرید دیپلوئید (اسپرم سالم غیرهمسان و تخمک سالم تاس‌ماهی) می باشد.

بمنظور احتباس جسم دوم قطبی در زمان تقسیم دوم میوز در تاس‌ماهی سیبری و تاس‌ماهی شیپ، از ۱۰ دقیقه بعد از عمل لقاح (افزودن آب به مخلوط تخمک و اسپرم) از شوک سرمایی ۲-۲/۵ درجه سانتیگراد به‌مدت ۳۰ دقیقه استفاده شد. در ازون‌برون همین شرایط ولی به‌مدت ۶۰ دقیقه القای گاینوژنزیز صورت پذیرفت. در تاس‌ماهی استرلیاد از شوک گرمایی ۳۴ درجه سانتیگراد از ۱۵ دقیقه بعد از لقاح به‌مدت ۲/۵ دقیقه استفاده {با اندکی تغییر در روش(2007) *et al.*, Fopp-Bayat} اما در فیل‌ماهی و تاس‌ماهی ایرانی از هر دو شوک گرمایی (۳۲، ۳۴ و ۳۷ درجه سانتیگراد از ۱۲، ۱۵ و ۱۸ دقیقه بعد از لقاح به‌مدت ۲-۴ دقیقه) و شوک سرمایی (صفر درجه سانتیگراد از ۵، ۱۲، ۱۵ و ۱۸ دقیقه بعد از لقاح به‌مدت ۵۵- ۶۰ دقیقه) استفاده شد. برای سهولت در انجام شوک‌های حرارتی سبدهای ویژه‌ای از جنس PVC تهیه شده که یک طرف آن توری با چشمه ریز قرار دارد و عمل هم زدن تخم‌ها بر حسب زمان شوک‌دهی، در داخل سبدهای فوق و در داخل وان‌های مخصوص صورت می‌گیرد. سپس تخم‌ها بعد از شستشو (کهنه شهری و آذری تاکامی، ۱۳۵۳) به انکوباتورهای ویس به‌منظور گذراندن مراحل جنینی انتقال می‌یابند. در تمام این مدت دمای آب سالن انکوباسیون اندازه‌گیری شده و بر این اساس درصد لقاح و درصد تفریخ محاسبه می‌گردد.

۶- ارزیابی ژنتیکی

به‌منظور استخراج DNA در هر تیمار حداقل به‌میزان ۳۰ عدد لارو و بچه ماهی به‌طور تصادفی انتخاب و از روش Hillis and Moritz (1990) و با کمی تغییر توسط Pourkazemi (1996) برای ماهیان خاویاری صورت می‌گیرد. برای تایید گاینوژنزیز در تاس‌ماهیان نظیر فیل‌ماهی و تاس‌ماهی ایرانی (پورکاظمی و همکاران، ۱۳۸۹)، ازون‌برون (Hassanzadeh Saber *et al.*, 2008)، تاس‌ماهی شیپ (Hassanzadeh Saber *et al.*, 2014)، تاس‌ماهی استرلیاد (حسن‌زاده صابر و همکاران، ۱۳۹۸) و تاس‌ماهی سیبری (حسن‌زاده صابر و همکاران، ۱۴۰۱) از نشانگرهای مولکولی میکروستلایت طراحی شده برای تاس‌ماهی دریاچه‌ای (May *et al.*, 1997; Welsh *et al.*, 2003) استفاده شد.

برای تشخیص سطوح پلوئیدی و تعداد کروموزوم‌ها از طریق تهیه گسترش کروموزومی (نوروزفشخامی و خسروشاهی، ۱۳۷۴) در فیل‌ماهی و برای تشخیص تریپلوئیدهای فیل‌ماهی از روش اندازه‌گیری مساحت، حجم، هسته و سلول (Pandian and Koteeswaran, 1998) استفاده گردید.

اثبات ماهیان گاینوژن از طریق اندازه‌گیری قطر بزرگ، کوچک و یا مساحت سلول و حجم گلبول‌های قرمز خون تقریباً غیرممکن است زیرا بسیار بعید به‌نظر می‌رسد که بین ماهیان شاهد (۲n) با گاینوژن (۲n) تفاوتی مشاهده گردد. این واقعیت برای بررسی های کروموزومی هم صدق می‌کند زیرا عدد کروموزومی ماهیان شاهد و گاینوژن تقریباً یکسان است و از طرف

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1402.17.2.3.4]
[DOI: 10.61186/aqudev.17.2.29]

دیگر به‌علت این‌که تاکنون کروموزوم‌های جنسی در ماهیان خاویاری گزارش نشده و بیش از نیمی از آن‌ها را میکروکروموزوم تشکیل می‌دهد اثبات ماهیان گاینوژن از روش‌های فوق تقریباً غیرممکن است. با توجه به موارد فوق دو راه برای اثبات ماده‌زایی تاس‌ماهیان و تفکیک آن‌ها از ماهیان نر وجود دارد که یکی پرورش طولانی‌تر بچه ماهیان تولید شده (حداقل ۲/۵-۲ سال) است تا اندام‌های تناسلی به اندازه مطلوب رشد نماید و از طریق تهیه مقاطع بافتی سلول‌های جنسی نر و ماده می‌توان آن‌ها را از همدیگر تفکیک نمود و سپس با تعیین نسبت ماهیان نر و ماده و مشاهده تفاوت نسبت و درصد ماده‌ها نسبت به نرها، میزان موفقیت گاینوژنزیز را تعیین کرد. راه دیگر، مارکرهای تعیین جنسیت که اخیرا در تاس‌ماهیان گزارش شده و می‌تواند نر و ماده را در مراحل اولیه زندگی جداسازی نماید (Kuhl *et al.*, 2021).

۷- مقایسه مشخصات ظاهری تاس‌ماهیان گاینوژنتیک در مقایسه با دورگه‌های تنی

در مواردی که از اسپرم غیرهمسان غیرفعال شده ژنتیکی برای القای گاینوژنزیز استفاده می‌گردد، بایستی در آزمایشات تیمار شاهد دورگه درنظر گرفته شود تا شکل ظاهری تاس‌ماهیان گاینوژنتیک و دورگه آن‌ها مورد مقایسه قرار گیرد. هدف از انتخاب این تیمار وجود یا عدم وجود مارکر فنوتیپی در درون نتاج گاینوژنتیک می‌باشد. یعنی اگر در نتاج گاینوژنتیک، به هر دلیلی اسپرم تحت تابش اشعه UV قرار نگیرد و با تخمک لقاح یابد، مشخص می‌گردد که فرزندان تولید شده دورگه هستند یا گاینوژنتیک. در مطالعات ماده‌زایی تاس‌ماهیان انجام شده در کشور، تاس‌ماهی شیپ، تاس‌ماهی سیبری و استرلیاد دارای تیمار شاهد دورگه بودند چون که اسپرم مورد استفاده در القای ماده‌زایی غیرهمسان بود.

۸- ارزیابی گناد تاس‌ماهیان گاینوژنتیک به روش بافت شناسی

نمونه‌برداری از گناد ماهیان از روش بیوپسی (بهمنی و کاظمی، ۱۳۷۷) صورت می‌گیرد. در این روش ابتدا ماهیان مورد مطالعه بیهوش می‌گردند. سپس در ناحیه بین چهارمین و پنجمین صفحه استخوانی شکمی از سمت دم به طرف سر، شکافی به طول ۳ تا ۴ سانتی متر ایجاد و قطعه کوچکی از بافت گناد (به ضخامت چند میلی‌متر و به وسعت کم‌تر از یک سانتی‌متر) از حفره شکمی خارج می‌شود. آزمایش تعیین جنسیت در ماهیان گاینوژنتیک با استفاده از بیوپسی در سن ۲-۳ سالگی انجام می‌شود. برای تعیین جنسیت و مراحل رسیدگی جنسی اقدام به بافت شناسی گناد و رنگ آمیزی هماتوکسیلین – ائوزین می‌گردد.

۹- بازماندگی و رشد تاس‌ماهیان گاینوژنتیک

در اکثر مطالعات گاینوژنزیز انجام شده در تاس‌ماهیان، مقایسه رشد بین شاهدین و ماهیان گاینوژن تا مرحله بلوغ انجام نگرفته که می‌تواند ناشی از بازماندگی پایین‌تر آن‌ها نسبت به شاهد باشد. در تاس‌ماهی سیبری این مقایسه بین ماهیان گاینوژن و شاهدین دورگه صورت گرفته که در آینده نتایج آن منتشر می گردد (نقل قول از نویسنده).

۱۰- سیستم تعیین جنسیت و نسبت‌های جنسی در تاس‌ماهیان گاینوژنتیک

همچنان‌که در مقدمه توضیح داده شد، یکی از کاربردهای گاینوژنزیز، بررسی مکانیزم تعیین جنسیت می‌باشد. بر این اساس جنسیت‌های هوموگامت و هتروگامت مشخص می‌گردد. در آزادماهیان و

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1402.17.2.3.4]
[DOI: 10.61186/aqudev.17.2.29]

کپورماهیان، نرها هتروگامت (XY) می‌باشند یعنی مولد نر تعیین کننده جنسیت فرزندان خود می‌باشند. در این سیستم تعیین جنسیت با القای گاینوژنزیز می‌توان در نسل اول ۱۰۰ درصد نتاج ماده تولید نمود. اگر کروموزوم جنسی در گونه‌ای از آبزیان، مورد مطالعه قرار نگرفته باشد می‌توان با القای گاینوژنزیز مشخص کرد که تعیین کننده جنسیت فرزندان بر عهده مولد مادری است یا پدری. تعداد کروموزوم‌ها در تاس‌ماهیان بسیار زیاد بوده و هم‌چنین مقدار زیادی میکروکروموزوم دارند و دوشکلی جنسی در کروموزوم‌های این ماهیان وجود ندارد (Fopp-Bayat, 2018). با مطالعات گاینوژنزیز انجام شده تا کنون در تاس‌ماهیان مشخص گردید که مولد مادری هتروگامت (ZW) و تعیین کننده جنسیت فرزندان خود می‌باشند که می‌توان به تاس‌ماهی سفید (VanEenennaam *et al.*, 1999)، دورگه بستر (Omoto *et al.*, 2005)، تاس‌ماهی کوتاه‌پوزه (*Acipenser brevirostrum*) (Flynn *et al.*, 2006)، تاس‌ماهی سیبری (*Acipense baerii*) (Fopp-Bayat, 2010)، ماهی پاروپوزه (*Polyodon spathula*) (Shelton and Mims, 2012)، تاس‌ماهی شیپ (Hasanzadeh Saber and Hallajian, 2014) و تاس‌ماهی استرلیاد (Fopp-Bayat *et al.*, 2018) اشاره کرد.

گونه‌هایی با سیستم تعیین جنسیت هتروگامتی ماده که در منطقه جغرافیایی خاصی منقرض (RE)[۲] شده باشند، امکان احیای آن‌ها با گاینوژنزیز (Grunina *et al.*, 2011) و اسپرم غیرفعال ژنتیکی غیرهمسان فراهم گردیده است (Hassanzadeh Saber, 2022; حسن‌زاده صابر و همکاران، ۱۳۹۸). چون در این حالت هر دو جنس نر خالص و ماده خالص آن گونه ولی با نسبت‌های متمایل به ماده ایجاد می‌گردد. در ماده‌های هتروگامتی، القای گاینوژنزیز به نسبت‌های متفاوت نرهای ZZ، ماده‌های ZW و ماده‌های برتر WW را ایجاد می‌کند که بستگی به تبادل کروموزومی (تاثیر نوترکیبی) بین ژن تعیین جنسیت و سانترومر در طی تقسیم میوز دارد (Arai and Fujimoto, 2018). اگر تبادل کروموزومی بین ژن تعیین جنسیت و سانترومر به‌وقوع نپیوندد، هیچ فرزند هتروزیگوتی تولید نمی‌شود. زمانی که ژن تعیین جنسیت به طور مستقل از سانترومر دسته‌بندی می‌شود، حدود ۶۷ درصد از نتاج به‌صورت هتروزیگوت خواهند شد که این مقدار ممکن است به بالای ۸۸ درصد با زایا بودن ماده‌های برتر برسد (VanEenennaam *et al.*, 1999). به‌هر صورت در اکثر مطالعات انجام گرفته مشخص شده که در ماهیانی با سیستم تعیین جنسیت هتروگامتی ماده، غالبا دو ماده برای یک نر وجود دارد و اظهار می‌شود که ژن تعیین جنسیت به طور مستقل از سانترومر دسته‌بندی می‌شود (Pandian, 2011; Glennon *et al.*, 2012).

نشانگرهای مولکولی نظیر AFLP و میکروستلایت توانایی تشخیص هتروزیگوسیتی و به دنبال آن سیستم تعیین جنسیت را دارند (Chen *et al.*, 2009; Molina-Luzon *et al.*, 2015; Arai and Fujimoto, 2018; Ma *et al.*, 2018). نشانگرهای میکروستلایت بکار رفته در استرلیاد به صورت هتروزیگوت بوده که بعضی از نتاج گاینوژنتیک در این لکوس‌ها یک الل و بعضی دیگر هر دو الل مادری را دارند. این موضوع اذعان دارد که دو نوع تخمک در تاس‌ماهی استرلیاد وجود دارد و سیستم تعیین جنسیت این گونه به صورت هتروگامتی ماده است (حسن‌زاده صابر، ۱۳۹۷).

[۲] Regionally Extinct

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1402.17.2.3.4]
[DOI: 10.61186/aqudev.17.2.29]

Molina-Luzon و همکاران (۲۰۱۵) گزارش کردند بسته به این که والد ماده هوموزیگوت یا هتروزیگوت باشد، به‌ترتیب یک یا دو الل در نتاج گاینوژنتیک به ارث می‌رسد. در مطالعه Grunina و همکاران (۲۰۱۱) بر روی تاس‌ماهی سیبری، نشانگرهای میکروستلایت نشان دادند که نتاج گاینوژنتیک، وراثت اللی مادری را با اشکال مختلف داشتند. Ma و همکاران (۲۰۱۸) در هالیبوت نقطه ای با نشانگرهای میکروستلایت توانستند میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده در نتاج گاینوژنتیک را به فراوانی بالای نوترکیبی نسبت دهند.

نظریه‌ای که Fopp-Bayat و همکاران (۲۰۱۸) به آن اعتقاد دارند این است که میزان فراوانی تبادل کروموزومی ZZ در نرهای گاینوژن با فراوانی نتاج ماده‌های خالص WW برابر است. بر اساس این نظریه، در مطالعات گاینوژنزیز در تاس‌ماهیان، به‌همان مقدار که لاین نر هوموگامت ایجاد می‌شود، لاین ماده هوموگامت (ماده‌های برتر) هم ایجاد می‌شود که این مهم می‌تواند در تولید انبوه نتاج تمام ماده ZW در نسل دوم از طریق آمیزش نرهای ZZ طبیعی با ماده‌های خالص WW نتیجه بدهد اگرچه تشخیص آن نیاز به آزمایشات بیش‌تری دارد.

دورنمای تاس‌ماهیان گاینوژنتیک

با دستیابی به دانش فنی غیرفعال‌سازی ژنوم اسپرم تعدادی از گونه‌های تاس‌ماهیان نظیر تاس‌ماهی سیبری و تاس‌ماهی ایرانی در مطالعات القای ماده‌زایی بین‌گونه‌ای یا بین جنسی، می‌توان نسبت به حفاظت گونه‌هایی که تنها دارای تعداد انگشت شماری از آن‌ها در طبیعت وجود دارد حتی بدون جنس نر همسان اقدام نمود.

گاینوژنزیز راهی موثر برای تولید تاس‌ماهیان تک جنس می‌باشد زیرا پرورش ماده‌ها در این گونه‌ها دارای ارزش بالاتری نسبت به پرورش هر دو جنس می‌باشد چرا که نگهداری هر دو جنس تا زمان تشخیص جنسیت، هزینه‌های زیادی را تحمیل پرورش‌دهنده کرده و صرفه اقتصادی پرورش تاس‌ماهیان را کاهش می دهد. گاینوژنزیز و تغییرجنسیت هورمونی می‌توانند در کنار هم، تاس‌ماهیان تمام ماده را در نسل دوم ایجاد نمایند.

تکنولوژی تولید لاین تاس‌ماهیان با گاینوژنزیز و اسپرم غیرفعال شده غیر همسان امکان پذیر است زیرا آن‌ها با داشتن سیستم تعیین جنسیت هتروگامتی ماده، قادر به ایجاد هر دو جنس ماده و نر خالص اما با تمایل بیش‌تر به ماده خواهند بود.

گاینوژنزیز، ژن‌های نهفته مغلوب مفید و مضر را بیان می‌کند لذا با حذف ژن‌های مضر از جمعیت، می‌توان صفات مطلوب را در جمعیت تاس‌ماهیان پرورشی افزایش داد.

با تولید هموزیگوت‌ها می‌توان پارامترهای ژنتیکی یک فرد یا جمعیت را در توسعه نقشه‌ها و نشانگرهای ژنتیکی تعیین کرد و هتروزیگوسیتی را برآورد نمود.

سپاسگزاری

در اینجا بر خود لازم می‌دانیم که از زحمات تمام کسانی که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند سپاسگزاری نمایم.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1402.17.2.3.4]
[DOI: 10.61186/aqudev.17.2.29]

منابع

۱. بهمنی، م.، کاظمی، ر.، ۱۳۷۷. مطالعه بافت شناسی غدد جنسی در تاس‌ماهیان جوان پرورشی. مجله علمی شیلات ایران، ۷ (۱)، ۱۶-۱.

۲. پوردهقانی، م.، کاظمی، ر.، پورکاظمی، م.، ۱۳۸۹. تکثیر و پرورش ماهی خاویاری استرلیاد به عنوان ماهی زینتی در ایران. مجموعه مقالات نخستین همایش ماهیان زینتی ایران، ۳۰ تا ۳۱ تیر، تهران.

۳. پورکاظمی، م.، محسنی، م.، علیپور، ع. ر.، نوروز فشخامی، م. ر.، حسن‌زاده صابر، م.، برادران نویری، ش.، بهمنی، م.، رضوانی گیل‌کلایی، س.، ۱۳۸۹. گزارش نهایی پروژه تحقیقاتی ژینوژنزیز در تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) و فیل‌ماهی (*Huso huso*). موسسه تحقیقات شیلات ایران. ۷۰ ص.

۴. حسن‌زاده صابر، م.، ۱۳۹۷. استفاده از اسپرم تخریب شده و القای گاینوژنزیز به‌منظور جلوگیری از خطر انقراض گونه آسیب‌پذیر (VU) تاس‌ماهی استرلیاد (*Acipenser ruthenus*). رساله دکتری، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران. ۱۲۱ ص.

۵. حسن‌زاده صابر، م.، برادران نویری، ش.، پورکاظمی، م.، یارمحمدی، م.، یگانه راسته‌کناری، ه.، جلیل‌پور، ج.، ۱۴۰۱. القای ماده‌زایی بین گونه‌ای در تاس‌ماهی سیبری (*Acipenser baerii*) با استفاده از اسپرم غیرهمسان. نشریه فیزیولوژی و بیوتکنولوژی آبزیان، ۱۰(۳)، ۲۳-۴۸.

۶. حسن‌زاده صابر، م.، پورکاظمی، م.، بهمنی، م.، برادران نویری، ش. ، نوروزفشخامی، م.ر.، کاظمی، ر.، چکمه‌دوز قاسمی، ف.، یارمحمدی، م.، محمدی پرشکوهی، ح. ، یزدانی، م.ع.، پوردهقانی، م.، غرقی، ا.، یگانه ه.، ۱۳۹۱. امکان تولید تاس‌ماهی شیپ نر ماده‌زاد با استفاده از تغییر جنسیت (Sex Reversal) و القای ماده‌زایی (Gynogenesis). گزارش نهایی پروژه تحقیقاتی مصوب موسسه تحقیقات شیلات ایران. ۹۳ ص.

۷. حسن‌زاده صابر، م.، ذوالقرنین، ح.، سالاری علی‌آبادی، م.ع.، یزدانی ساداتی، م.ع. و یارمحمدی، م. ۱۳۹۸. ایجاد جنس نر تاس‌ماهی استرلیاد (*Acipenser ruthenus*) با به‌کارگیری اسپرم هترولوگ غیرفعال در القای گاینوژنز. فیزیولوژی و بیوتکنولوژی آبزیان، ۷ (۴)، ۱۰۵-۱۳۵.

۸. حسن‌زاده صابر،م.، ذوالقرنین، ح.، سالاری علی آبادی، م.ع.، یزدانی ساداتی، م.ع.، یارمحمدی، م.، ۱۴۰۰. بهینه‌سازی روش اشعه‌دهی UV جهت تخریب DNA اسپرماتوزوای تاس‌ماهی سیبری (*Acipenser baerii*) در مطالعات گاینوژنزیز: سنجش کامت. نشریه علمی توسعه آبزی پروری، ۱۵ (۱)، ۱۸-۱.

۹. کهنه شهری، م.، آذری تاکامی، ق.، ۱۳۵۳. تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری. انتشارات دانشگاه تهران. ۲۸۱ ص.

۱۰. نوروزفشخامی، م.ر.، خسروشاهی، م.، ۱۳۷۴. پروژه کاریولوژی (مطالعه کروموزومی) تاس‌ماهیان بوسیله کشت گلبولهای سفید خون. مجله علمی شیلات ایران، ۴ (۲)، ۶۳-۷۱.

۱۱. یوسفیان، م.، نظری، ر. م. ، ۱۳۸۲. بررسی اثر اشعه گاما بر روی اسپرم ماهیان خاویاری و ایجاد ماهی ژینوژنز در تاس‌ماهیان. مجله علمی شیلات

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1402.17.2.3.4]
[DOI: 10.61186/aqudev.17.2.29]

ایـران، ویـژه نامـه اولـین سـمپوزیوم ملـی ماهیـان خاویاری، ۱۸۹ -۱۸۱.

12. Arai, K., 2001., Genetic improvement of aquaculture finfish species by chromosome manipulation techniques in Japan. Aquaculture, 197, 205-228.
13. Arai, K., Fujimoto, T., 2018. Chromosome manipulation techniques and applications to aquaculture. In: Wang, H.P., Piferrer, F., Chen, S.L., Shen, Z.G., (Eds.). Sex Control in Aquaculture, Volume I, First Edition. John Wiley & Sons Ltd, UK, pp. 137-162.
14. Aramli, M.S., Azarin, H., Farsi, P., 2015. Motility parameters, adenosine triphosphate content and oxidative stress indices of sterlet (*Acipenser ruthenus*) sperm after 6 days of storage. Aquaculture Research, 48, 719-724.
15. Billard, R., Cosson, J., Crim, L.W., 1993. Motility of fresh and aged halibut sperm. Aquatic Living Resources, 6(1), 67-75.
16. Birstein, V.J., 1993. Sturgeons & paddlefishes: threatened fishes in need of conservation. Conservation Biology, 7, 773–787.
17. Boron, A., 1994. Karyotypes of diploid and triploid silver crucian carp Carassius auratus gibelio (Bloch). Cytobios, 80, 117–124.
18. Bronzi, P., Rosenthal, H., Gessner, J., 2011. Global sturgeon aquaculture production: an overview. Journal of Applied Ichthyology, 27, 169–175.
19. Cabrita, E., Robles, V., Rebordinos, L., Sarasquete, C., Herráez, M.P. 2005. Evaluation of DNA damage in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and gilthead sea bream (Sparus aurata) cryopreserved sperm. Cryobiology, 50(2), 144–153.
20. Cabrita, E., Robles, V., Herráez, P., 2008. Methods in reproductive aquaculture: marine and freshwater species. CRC Press.
21. Cabrita, E., Sarasquete, C., Martínez-Páramo, S., Robles, V., Beirão, J., Pérez-Cerezales, S., Herráezm, M., 2010. Cryopreservation of fish sperm: applications and perspectives. Journal of Applied Ichthyology, 26, 623-635.
22. Cabrita, E., Martínez-Páramo, S., Gavaia, P.J., Riesco, M.F., Valcarce, D.G., Sarasquete, C., Herráez, M.P., Robles, V., 2014. Factors enhancing fish sperm quality and emerging tools for sperm analysis. Aquaculture, 432, 389-401.
23. Chebanov, M., Billard, R., 2001. The culture of sturgeons in Russia: production of juveniles for stocking and meat for human consumption. Aquatic Living Resources, 14, 375–381.
24. Chen, S.L., Li, J., Deng, S.P., Tian, Y.S., Wang, Q.Y., Zhuang, Z.M., Sha, Z.X., Xu, J.Y., 2007. Isolation of female specific AFLP markers and molecular identification of genetic sex in half smooth tongue sole (*Cynoglossus semilaevis*). Marine Biotechnology, 9, 273–280.
25. Chen, S., Ji, X., Shao, C., Li, W., Yang, J., Liang, Z., Liao, X., Xu, G., Xu, Y., Song, W., 2012.induction of mitogynogenetic diploids and identification of WW super-female using sex-specific SSR markers in half-smooth tongue sole (*Cynoglossus semilaevis*). Marine Biotechnology, 14, 120–128.
26. Chen, S.L., Tian, Y.S., Yang, J.F., Shao, C.W., Ji, X.S., Zhai, J.M., Liao, X.L., Zhuang, Z.M., Su, P.Z., Xu, J.Y., Sha, Z.X., Wu, P.F., Wang, N., 2009. Artificial gynogenesis and sex determination in the half-smooth tongue sole (Cynoglossus semilaevis). Marine Biotechnology, 11, 243–251.
27. Cherfas, N.B., 1966. Natural triploidy in the female of the unisexual variety of the goldfish (*Carassius auratus gibelio*). Soviet genetic (Genetika), 2 (5), 9-13.
28. Cherfas, N.B., Gomelsky, B., Ben-Dom, N., Hulata, G., 1994. Assessment of triploid common crap (*Cyprinus carpio* L.) for culture. Aquaculture, 127, 11-18. Chourrout, D., Tiews, K., 1987. Genetic manipulations in fish: review of methods.
29. Chourrout, D., 1984. Pressure induced retention of 2nd polar body and suppression of 1st cleavage in rainbow trout production of all triploids all tetraploids and heterozygous and homozygous diploid gynogenetics. Aquaculture, 36, 111-126.
30. Chourrout, D., 1988. Revue sur le de´terminisme ge´ne´tique du sexe des poissons te´leoste´ens. Bulletin de la

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1402.17.2.3.4]
[DOI: 10.61186/aqudev.17.2.29]

Société zoologique de France, 113, 123–144.
31. Ciereszko, A., Dabrowski, K., Lin, F., Liu, L., 1999. Protective role of ascorbic acid against damage to male germ cells in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 56, 178–183.
32. Ciereszko, A., Wolfe, T.D., Dabrowski, K., 2005. Analysis of DNA damage in sea lamprey (*Petromyzon marinus*) spermatozoa by UV, hydrogen peroxide, and the toxicant bisazir. Aquatic Toxicology, 73, 128–138.
33. Cognie, F., Billard, R., Chao, N., 1989. La criopreservation de la laitance de la carpe, *Cyprinus carpio*, Journal of Applied Ichtyology, 5, 165-176.
34. Collins, A.R., 2004. The Comet Assay for DNA Damage and Repair, Molecular Biotechnology, 26 (3), 249-261.
35. Dan, C., Mei, J., Wang, D., Gui, J.F., 2013. Genetic differentiation and efficient sex-specific marker development of a pair of Y- and X-linked markers in yellow catfish. International Journal of Biological Sciences, 9 (10), 1043–1049.
36. Danzmann, R.G, Gharbi, K., 2007. Linkage mapping in aquaculture species. In: Liu, Z., (Ed.). Aquaculture Genome Technologies. Blackwell Publishing, Ames, Iowa, pp. 139–167.
37. Devlin, R.H., Nagahama, Y., 2002. Sex determination and sex differentiation in fish: an overview of genetic, physiological, and environmental influences. Aquaculture, 208, 191–364.
38. Dietrich, G.J., Szpyrka, A., Wojtczak, M., Dobosz, S., Goryczko, K., Zakowski, Ł., Ciereszko, A., 2005. Effects of UV irradiation and hydrogen peroxide on DNA fragmentation, motility and fertilizing ability of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) spermatozoa. Theriogenology, 64, 1809–1822.
39. Ding, j., Shan, S.X., Ge, W., Jiang, Y.G., 1992. Study on the mode of primary control in the egg of gynogenetic crucian carp for inhibiting the development of 2 types of sperm nuclei. Science in China (Scientia Sinica) Series B, 35(7), 802-810.
40. Donaldson, E.M, Devlin, R.H., 1996. Uses of biotechnology to enhance production. In: Pennell W, Barton B (Eds.). Principles of Salmonid Culture. Elsevier, pp. 969–1020.
41. Dong, S., Taniguchi, N., Tsuji, S., 1996. Identification of clones of ginbuna Carassius langsdorfi by DNA fingerprinting and isozyme pattern. Nippon Suisan Gakkaishi, 62, 747– 753.
42. Doroshov, S.I., Moberg, G.P., VanEenennaam, J.P., 1997. Observations on the reproductive cycle of cultured White sturgeon, *Acipenser transmontanus*. Environmental Biology of Fishes, 48, 265–278.
43. Duplinsky, P.D., 1982. Sperm motility of northern pike and chain pickerel at various pH values. Transactions of the American Fisheries Society, 111(6), 768-771.
44. Ezaz, M.T., Myers, J.M., Powell, S.F., McAndrew, B.J., Penman, D.J., 2004. Sex ratios in the progeny of androgenetic and gynogenetic YY male Nile tilapia, Oreochromis niloticus L. Aquaculture, 232, 205–214.
45. Felip, A., Zanuy, S., Carrilo, M., Piferrer, F., 2001. Induction of triploidy and gynogenesis in teleost fish with emphasis on marine species. Genetica, 111, 175– 195.
46. Flynn, S.R., Matsuoka, M., Reith, M., Martin-Robichaud, D.J., Benfey, T.J., 2006. Gynogenesis and sex determination in shortnose sturgeon (*Acipenser brevirostrum* Lesuere). Aquaculture, 253, 721–727.
47. Fopp-Bayat, D., 2010. Meiotic gynogenesis revealed not homogametic female sex determination system in Siberian sturgeon (*Acipenser baeri* Brandt). Aquaculture, 305, 174–177.
48. Fopp-Bayat, D., 2018. Genome manipulation and sex control in the Siberian sturgeon: An updated synthesis with regard to objectives, constraints and findings. In The Siberian Sturgeon (*Acipenser baerii*, Brandt, 1869) Volume 2-Farming (pp. 327-336). Springer, Cham.
49. Fopp-Bayat, D., Kolman, R., Woznicki, P., 2007. Induction of meiotic gynogenesis in sterlet (*Acipenser ruthenus*). Aquaculture, 264, 54–58.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1402.17.2.3.4]
[DOI: 10.61186/aqudev.17.2.29]

meiotic gynogenesis. Aquaculture International, 22, 273–279.
59. Hassanzadeh Saber, M., Noveiri, S.B., Pourkazemi, M., Yazdani, M., Ghoroghi, A., Bahmani, M., Pourdehghani, M., Chakmehdouz, F., Yarmohammadi, M., Nowruzfashkhami, M.R., 2014. Induction of meiotic gynogenesis in ship sturgeon (*Acipenser nudiventris*) using UV-irradiated heterologous sperm. Journal of Applied Genetics, 55, 223–229.
60. Hassanzadeh Saber, M., 2022. Conservation of vulnerable sterlet sturgeon, *Acipenser ruthenus* using artificial gynogenesis. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 23(1), 1-11.
61. Herráez, M.P., Carral, J., Alvarez, R., Sáez-Royuela, M., de Paz, P., 1993. Efecto de distintos diluyentes y crioprotectores sobre la fertilidad del semen de la trucha común y la trucha arcoiris. In: Cerviño, A., Landin, A., de Coo, A., Guerra, A., Torre, M., (Eds.). Proc Fourth National Congress on Aquaculture, Villanova de Arosa, September 1993, 1.
62. Hertwig, O., 1911. Die radium krankheit tierischer keim zellen, Archiv für mikroskopische Anatomie, 77, 1-97.
63. Hillis, D.M, Moritz, C.. 1990. Molcular taxonomi. Sinauer associate, Inc. Publishers. Massachusetts.
64. Hubbs, C.L., Hubbs, L.C., 1932. Apparent parthenogenesis in nature, in a form of fish of hybrid origin. Science, 76, 628–630.
65. Hurvitz, A., Jackson, K., Degani, G., Levavi-Sivan, B., 2007. Use of endoscopy for gender and ovarian stage determinations in Russian sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii*) grown in aquaculture. Aquaculture, 270, 158–166.
66. Hussain, M.G., Penman, D.J., McAndrew, B.J., 1998. Production of heterozygous and homozygous clones in Nile tilapia. Aquaculture International, 6, 197–205.
67. Ihssen, P.E., McKay, L.R., McMillan, I., Phillips, R.B., 1990. Ploidy manipulation and gynogenesis in fishes: cytogenetic and fisheries applications. Transactions of the American Fisheries Society, 119, 698–717.
68. Ijiri, K., Egami, N., 1980. Hertwig effect causes by UV irradiation of sperm of
50. Fopp-Bayat, D., Okalewicz, K., 2015. Activation of the albino Sterlet (*Acipenser ruthenus*) eggs by UV-irradiated bester hybrid spermatozoa to provide gynogenetic progeny. Reproduction in Domestic Animals, 50, 554-559.
51. Fopp-Bayat, D., Hliwa, P., Ocalewicz, K., 2018. Presence of gynogenetic males suggests a female heterogamety in sterlet (*Acipenser ruthenus* L.). Animal Reproduction Science, 189, 110-118.
52. Genesca, A., Caballin, M., Miro, R., Benet, J., Germa, J., Egozcue, J., 1992. Repair of human sperm chromosome aberrations in the hamster egg. Human genetics, 89, 181-186.
53. Glennon, R.P., Gomelsky, B., Schneider, K.J., Kelly, A.M., Haukenes, A., 2012. Evidence of female heterogamety in largemouth bass, based on sex ratio of gynogenetic progeny. North American Journal of Aquaculture, 74, 537-540.
54. Goddard, K.A., Dawley, R.M., 1990. Clonal inheritance of a diploid nuclear genome by a hybrid freshwater minnow (*Phoxinus eos-neogaeus*, Pisces: Cyprinidae). Evolution, 44, 1052– 1065.
55. Gomelsky, B.I., Emelyanova, O.V., Recoubratsky, A.V., 1992. Application of the scale cover gene (N) to identification of type of gynogenesis and determination of ploidy in common carp. Aquaculture, 106, 233–237.
56. Grunina, A.S., Skoblina, M.N., Recoubratsky, A.V., Kovalev, K.V., Barmintseva, A.E., Goncharov, B.F., 2011. Obtaining gynogenetic progeny of Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) using eggs matured and ovulated in vitro. Journal of Applied Ichthyology, 27, 701–705.
57. Hassanzadeh Saber, M., Baradaran Noveiri, S., Pourkazemi, M., Yarmohammadi, M., 2008. Induction of gynogenesis in stellate sturgeon (*Acipenser stellatus* Pallas 1771) and its verification using microsatellite markers. Aquaculture Research, 39, 1183-1787.
58. Hassanzadeh Saber, M., Hallajian, A., 2014. Study of sex determination system in ship sturgeon (*Acipenser nudiventris*) using

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1402.17.2.3.4]
[DOI: 10.61186/aqudev.17.2.29]

75. Lebeda, I., Dzyuba, B., Rodina, M., Flajshans, M., 2014. Optimization of sperm irradiation protocol for induced gynogenesis in Siberian sturgeon, *Acipenser baerii*. Aquaculture International, 22, 485-495.
76. Lebeda, I., Gazo, I., Flajshans, M., 2014. Chemical induction of haploid gynogenesis in sterlet Acipenser ruthenus. Czech Journal of Animal Science, 59 (7), 310–318.
77. Lebeda, I., Steinbach, Ch., Flajshans, M., 2018. Flow cytometry for assessing the efficacy of interspecific gynogenesis induction in sturgeon. Journal of Fish Biology, 92(6), 1819-1831.
78. Levandusky, M.J., Cloud, J.G., 1988. Rainbow trout (*Salmo gairdneri*) semen: effect of non-motile sperm on fertility. Aquaculture, 75 (1-2), 171-179.
79. Lewis, S.E., Agbaje, I.M., 2008. Using the alkaline comet assay in prognostic tests for male infertility and assisted reproductive technology outcomes. Mutagenesis, 23, 163–170.
80. Li, P., Wei, Q., Liu, L., 2008. DNA integrity of Polyodon spathula cryopreserved sperm. Journal of Applied Ichthyology, 24, 121–125.
81. Linhart, O., Mims, S.D., Gomelsky, B., Hiott, A.E., Shelton, W.L., Cosson, J., Rodina, M., Gela, D., 2000. Spermiation of paddlefish (*Polyodon spathula*) stimulated with injection of LHRH analogue and carp pituitary extract. Aquatic Living Resources, 13(6), 455-460
82. Liu, S.J., Sun, Y.D., Zhang, C., Luo, K.K., Liu, Y., 2004. Production of gynogenetic progeny from allotetraploid hybrids red crucian carp × *C. carpio*. Aquaculture, 236, 193–200.
83. Liu, S.J., Duan, W., Tao, M., Zhang, C., Sun, Y.D., Shen, J.M., Wang, J., Luo, K.K., Liu, Y., 2007. Establishment of the diploid gynogenetic hybrid clonal line of red crucian carp × *C. carpio*. Science in China. Series C, 50, 186–193.
84. Lopez-Fernandez, C., Gage, M., Arroyo, F., Gosalbez, A., Larran, A., Fernandez, J., Gosalvez, J., 2008. Rapid rates of sperm DNA damage after activation in tench (*Tinca tinca*: Teleostei, Cyprinidae) *Oryzias latipes* (Teleost) and its photoreactivation. Mutation Research, 69, 241–248.
69. Irvine, D., Twigg, J.P., Gordon, E.L., Fulton, N., Milne, P.A., Aitken, R.J., 2000. DNA integrity in human spermatozoa: relationships with semen quality. Journal of Andrology, 21, 33–44.
70. Ji, X.S., Tian, Y.S., Yang, J.F., Wu, P.F., Jiang, Y.L., Chen, S.L., 2010. Artificial gynogenesis in *Cynoglossus semilaevis* with homologous sperm and its verification using microsatellite markers. Aquaculture Research, 41, 913–920.
71. Komen, J., Bongers, A.B.J., Richter, C.J.J., Van Muiswinkel, W.B.B., Hiusman, E.A., 1991. Gynogenesis in common carp (*Cyprinus carpio*) II: the production of homozygous clones and F1 hybrids. Aquaculture, 92, 127-142.
72. Kowtal, G.V., 1987. Preliminary experiments in induction of polyploids, gynogenesis and androgenesis in the white sturgeon (*Acipenser transmontanus* Richardson). In: Tiwes, K., (Ed.). Proceeding of World Symposium on Selection, Hybridization and Genetic Engineering in Aquaculture. Heenemmann verlagsgesellschaft, Berlin, pp. 317-324.
73. Kuhl, H., Guiguen, Y., Höhne, C., Kreuz, E., Du, K., Klopp, C., Lopez-Roques, C., Yebra-Pimentel, E.S., Ciorpac, M., Gessner, J., Holostenco, D., Kleiner, W., Kohlmann, K., Lamatsch, D.K., Prokopov, D., Bestin, A., Bonpunt, E., Debeuf, B., Haffray, P., Morvezen, R., Patrice, P., Suciu, R., Dirks, R., Wuertz, S., Kloas, W., Schartl, M., Stöck, M., 2021. A 180 Myr-old female-specific genome region in sturgeon reveals the oldest known vertebrate sex determining system with undifferentiated sex chromosomes. Philosophical Transactions of the Royal Society B, 376(1832), 20200089.
74. Labbé, C., Martoriati, A., Devaux, A., Maisse, G., 2001. Effect of sperm cryopreservation on sperm DNA stability and progeny development in rainbow trout. Molecular Reproduction and Development, 60, 397–404.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1402.17.2.3.4]
[DOI: 10.61186/aqudev.17.2.29]

(*Centropristis striata*) sperm. Aquaculture, 259, 290–299.
93. Nagy, A., Csanyi, V., 1984. A new breeding system using gynogenesis and sex reversal for fast inbreeding in carps. Theoretical and Applied Genetics, 67, 485-490.
94. Nagy, K., Rajki, L., Horvath, L., Csany, V., 1978. Investigation on carp (Cyprinus carpio L.) gynogenesis. Journal of Fish Biology,13, 215-224.
95. Naruse, K., Ijiri, K., Shima, A., Egami, N., 1985. The production of cloned fish in the mdaka *(Oryzias laptipes*). Journal of Experimental Zoology, 236, 335-342.
96. Nowosad, J., Kucharczyk, D., Targon´ska, K., Kujawa, R., 2015. Comparison of temperature shock timing to induced artificial mitotic gynogenesis and androgenesis in common tench. Aquaculture International, 23, 45–53.
97. Ohta, H., Shimma, H., Hirose, K., 1995. Relationship between fertility and motility of cryopreserved spermatozoa of the amago salmon *Oncorhynchus masou* ishikawae, Fisheries Science, 61 (5), 886-887.
98. Omoto, N., Maebayashi, M., Adachi, S., Arai, K., Yamauchi, K., 2005. Sex ratios of triploids and gynogenetic diploids induced in the hybrid sturgeon, the bester (*Huso huso* female×*Acipenser ruthenus* male). Aquaculture, 245, 39–47.
99. Onozato, H., 1984. Diploidization of gynogenetically activated salmonid eggs using hydrostatic pressure. Aquaculture, 43, 91– 97.
100. Pan, Z.J., Zhu, C.K., Wang, H., Chang, G.L., Ding, H.Y., Qiang, X.G., Yu, X.S., 2017. Induction of meiotic gynogenesis in bagrid catfish (*Pseudobagrus ussuriensis*) with homologous sperm and its confirmation for female homogamety. Aquaculture Research, 48(11), 5659-5665.
101. Pandian, T.J., Koteeswaran, R., 1998. Ploidy induction and sex control in fish. Hydrobiologia, 384, 167-243.
102. Pandian, T.J., 2011. Sex determination in fish. CRC Press.
103. Pérez-Cerezales, S., Martınez-Páramo, S., Cabrita, E., Martínez-Pastor, F., de Paz, P., Herráez, M.P., 2009. Evaluation of measured using a sperm chromatin dispersion test. Reproduction, 138, 257.
85. Ma, H.Y., Chen, S.L., Ji, X.S., 2018. Sex-specific markers, gynogenesis, and sex control in spotted halibut. In: Wang, H.P, Piferrer, F., Chen, S.L, Shen, Z.G., (Eds.). Sex Control in Aquaculture, Volume I, First Edition. John Wiley & Sons Ltd, UK, pp. 631643.
86. May, B., Charles, C., Krueger, C., Kincaid, L., 1997. Genetic variation at Microsatellite loci in sturgeon. Primer sequence homology in *Acipenser* and *Scaphirhynchus*. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science, 54, 1542-1547.
87. Meng, Z., Liu, X., Liu, B., Hu, P., Ji, Y., Yang, Z., Zhang, H., Liu, X., Lei, J., 2016. Induction of mitotic gynogenesis in turbot *Scophthalmus maximus*. Aquaculture, 451, 429-435.
88. Mims, S.D., Shelton, W.L., Linhart, O., Wang, C., 1997. Induced meiotic gynogenesis of paddlefish (*Polyodon spathula*). Journal of the World Aquaculture Society, 28, 334–343.
89. Mims, S.D., Shelton, W.L., 1998. Induced meiotic gynogenesis in shovelnose sturgeon. Aquaculture International, 6, 323–329.
90. Molina-Luzón, M.J., López, J.R., Robles, F., Navajas-Pérez, R., Ruiz-Rejón, C., De la Herrán, R., Navas, J.I., 2015. Chromosomal manipulation in Senegalese sole (*Solea senegalensis* Kaup, 1858): induction of triploidy and gynogenesis. Journal of Applied Genetics, 56, 77–84.
91. Monaco, P.J, Rasch, E.M, Balsano, J.S., 1984. Apomictic reproduction in the Amazon Molly, Poecilia formosa, and its triploid hybrids. In: Turner, B.J., (Ed.). Evolutionary Genetics of Fishes. Monographs in Evolutionary Biology. Springer, Boston, MA. pp. 311-328.
92. Morgan, A.J., Murashige, R., Woolridge, C.A., Luckenbach, J.A., Watanabe, W.O., Borski, R.J., Godwin, J., Daniels, H.V., 2006. Effective UV dose and pressure shock for induction of meiotic gynogenesis in southern flounder (*Paralichthys lethostigma*) using black sea bass

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1402.17.2.3.4]
[DOI: 10.61186/aqudev.17.2.29]

oxidative DNA damage promoted by storage in sperm from sex-reversed rainbow trout. Theriogenology, 71, 605-613.
104. Peruzzi, S., Chatain, B., 2003. Induction of tetraploid gynogenesis in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). Genetica, 119, 225–228.
105. Peruzzi, S., Scott, A.G., Domaniewski, J.C.J., Warner, G.F., 1993. Initiation of gynogenesis in *Oreochromis niloticus* following heterologous fertilisation. Journal of Fish Biology, 43, 585–591.
106. Piferrer, F., 2001. Endocrine sex control for the feminization of teleost fish. Aquaculture, 197, 229–281.
107. Piferrer, F., Cal, R.M., Gomezb, C., Alvarez-Blazquez, B., Castroc, J., Martınezc, P., 2004. Induction of gynogenesis in the turbot (*Scophthalmus maximus*): effects of UV irradiation on sperm motility, the Hertwig effect and viability during the first 6 months of age. Aquaculture, 238, 403–419.
108. Pourkazemi, M., 1996. Molecular and biochemical genetic analysis of sturgeon stocks from the south Caspian Sea. Ph.D. Thesis. University of Wales, Swansea.
109. Price, D.J., 1984. Genetics of sex determination in fishes. A brief review. In: Potts, G.W., Wootton, R.J., (Eds.). Fish Reproduction, Strategies and Tactics. Academic Press, London, pp. 75–80.
110. Purdom, C.E., 1969. Radiation induced gynogenesis and androgenesis in fish. Heredity, 24, 431-444.
111. Quillet, E., 1994. Survival, growth and reproductive traits of mitotic gynogenetic rainbow trout females. Aquaculture, 123, 223–236.
112. Rasch, E., Monaco, P., Balsano, J., 1982. Cytophotometric and autoradiographic evidence for functional apomixes in a gynogenetic fish, Poecilia formosa and its related, triploid unisexuals. Histochemistry, 73, 515–533.
113. Rastogi, R.P., Richa, K.A., Tyagi, M.B., Sinha, R.P., 2010. Molecular mechanisms of ultraviolet radiation-induced DNA damage and repair. Journal of Nucleic Acids, 2010, 1-32.
114. Rokicki, J., Kulikowski, M., 1994. Occurrence of male *Carassius auratus gibelio* (Bloch, 1783) in Poland. Przeglad Zoologiczny, 38, 89–92.
115. Romashov, D.D., Nikolyukin, N.I., Blyaeva, V.N., Timofeeva, N.A., 1963. Possibilities of producing diploid radiation-induced gynogenesis in sturgeons. Radiobiology, 3, 145-154. (Translated from Radiobiologiya, 3, 104-109).
116. Sarder, M.R,I,, Penman, D.J., Myers, J.M., McAndrew, B.J., 1999. Production and propagation of fully inbred clonal lines in the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) Journal of Experimental Zoology, 284, 675-685.
117. Schultz, R.J., 1971. Special adaptive problems associated with unisexual fish. American Zoologist, 11, 351– 360.
118. Shelton, W.L., Mims, S.D., 2012. Evidence for female heterogametic sex determination in paddlefish (*Polyodon spathula*) based on gynogenesis. Aquaculture, 356-357, 116-118.
119. Simon, L., Castillo, J., Oliva, R., Lewis, S.E., 2011. Relationships between human sperm protamines, DNA damage and assisted reproduction outcomes. Reproductive BioMedicine Online, 23, 724–734.
120. Simon, L., Carrell, D.T., 2013. Sperm DNA damage measured by comet assay. In: Carrell DT, Aston KI (Eds.). Spermatogenesis: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology, Springer Science+Business Media, LLC 2013, 927, 137-146.
121. Singh, N.P., Muller, C.H., Berger, R.E., 2003. Effects of age on DNA double-strand breaks and apoptosis in human sperm. Fertility and sterility, 80(6), 1420-1430.
122. Takahashi, S., Officer, F., 2010. Sturgeon conservation and the role of Japan. The State of Wildlife Trade in Japan, 10, 42–47.
123. Taniguchi, N., Han, H.S., Tsujimura, A., 1994. Variation in some quantitative traits of clones produced by chromosome manipulation in ayu, Plecogiossus altivelis. Aquaculture, 120, 53–60.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1402.17.2.3.4]
[DOI: 10.61186/aqudev.17.2.29]

medirostris) .Molecular Ecology Notes, 3, 47–55.

133. Williot, P., Arlati, G., Chebanov, M., Gulyas, T., Kasimov, R., Kirschbaum, F., Patriche, N., Pavlovskaya, L., Poliakova, L., Pourkazemi, M., Kim, Y., Zhuang, P., Zholdasova, I.M., 2002. Status and management of Eurasian sturgeon: an overview. International Review of Hydrobiology, 87, 483–506.

134. Wu, Q.J., Ye, Y.Z., Cheng, D.R., 1981. Investigation on the carp gynogenesis with reference to establishing a pure line. Acta Genetica Sinica, 8, 50–55.

135. Wuertz, S., Güralp, H., Pšenička, M., Chebanov, M., 2018. Sex determination in sturgeon. In: Wang, H.P., Piferrer, F., Chen, S.L., Shen, Z.G., (Eds.). Sex Control in Aquaculture, Volume I, First Edition. John Wiley & Sons Ltd, UK, pp.645-668.

136. Xiao, J., Peng, D.J., Liu, S.J., Sun, Y.D., Long, Y., Shen, J.M., Zhang, C., Tao, M., Liu, Y., 2009. Induction of gynogenesis in goldfish using spermatozoa of M. amblycephala. Acta Hydrobiologica Sinica, 1, 76–81.

137. Xiao, J., Zou, T.M., Chen, L., Liu, S.J., Xiao, J., Zhang, H., Long, Y., Yan, J.P., Zhao, R.R., Tao, M., Zhang, C., You, C.P., Liu, Y., 2011. Microsatellite analysis of different ploidy offspring of artificial gynogenesis in *Cyprinus carpio*. Journal of Fish Biology, 78, 150–165.

138. Yamasaki, F., 1983. Sex control and manipulation in fish. Aquaculture, 33, 329–354.

139. Yuan-Dong, S., Zhang, C., Shao-Jun, L., Min, T., Chen, Z., Yun, L., 2006. Induction of gynogenesis in Japanese crucian carp (*Carassius cuvieri*). Acta Genetica Sinica, 33(5), 405-412.

140. Yuandong, S., Min, T., Shaojun, L., Chun, Z., Wei, D., Jiamin, S., Jing, W., Chen, Z., Yu, L., Yun, L., 2007. Induction of gynogenesis in red crucian carp using spermatozoa of blunt snout bream. Progress in natural science, 17(2), 163-167.

141. Yuzhen, Y., Qingjiang, W., Rongde, C., 1989. Studies on cytology or crosses between grass carp and carp-asynchronization between nucleus and

124. Thorgaard, G.H., 1983. Chromosome set manipulation and sex control in fish. In: Hoar, W.S, Randall, D.J., Donaldson, E.M., (Eds.). Fish Physiology. Academic Press, New York, NY, pp.405-434.

125. Thorgaard, G.H., 1986. Ploidy manipulation and performance. Aquaculture, 57, 57–64.

126. Tuncer, P., Bucak, M., Büyükleblebici, S., SarIözkan, S., Yeni, D., Eken, A., AkalIn, P., Kinet, H., Avdatek, F., Fidan, A., 2010. The effect of cysteine and glutathione on sperm and oxidative stress parameters of post-thawed bull semen. Cryobiology, 61, 303–307.

127. Van Eenennaam, A.L., Van Eenennaam, J.P.V., Medrano, J.F., Dorshov, S.I., 1996. Rapid verification of meiotic gynogenesis and polploidy in with sturgeon (*Acipenser transmontanus* Richardson). Aquaculture, 147, 177-189.

128. Van Eenennaam, A.L., Van Eenennaam, J.P., Medrano, J.F., Doroshov, S.I., 1999. Evidence of female heterogametic genetic sex determination in white sturgeon. Journal of Heredity, 90, 231–233.

129. Varadaraj, K., 1990. Production of diploid Oreachromis mossambicus gynogenes using heterologous sperm of (*Cyprinus carpio*). Indian Journal of Experimental Biology, 28, 701-705.

130. Vasil'yev, V.I., Vasil'yeva, E.D., Osinov, A.G., 1991. The problem of reticulate species formation in vertebrates of the diploid– triploid– tetraploid complex in the genus *Cobitis* (Cotibidae): 4. Tetraploid form. Journal of Ichthyology, 31, 21– 35.

131. Wei, Q.W., Zou, Y., Li, P., Li, L., 2011. Sturgeon aquaculture in China: progress, strategies and prospects assessed on the basis of nation-wide surveys (2007–2009). Journal of Applied Ichthyology, 27, 162–168.

132. Welsh, A.B., Blumberg, M., May, B,. 2003. Identification of microsatellite loci in lake sturgeon (*Acipenser fulvescens*), and their variability in green sturgeon *(A.*

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1402.17.2.3.4]
[DOI: 10.61186/aqudev.17.2.29]

cytoplasm in distant hybridization of fishes. Acta Hydrobiologica Sinica (China).

142. Zhang, H., Liu, S.J., Zhang, C., Tao, M., Peng, L.Y., You, C.P., Xiao, J., Zhou, Y., Zhou, G.J., Luo, K.K., Liu, Y., 2011. Induced gynogenesis in grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) using irradiated sperm of allotetraploid hybrids. Marine Biotechnology, 13, 1017–1026

143. Zilli, L., Schiavone, R., Zonno, V., Storelli, C., Vilella, S., 2003. Evaluation of DNA damage in *Dicentrarchus labrax* sperm following cryopreservation. Cryobiology, 47, 227–235.

144. Zou, Y.C., Wei, Q.W., Pan, G.B., 2011. Induction of meiotic gynogenesis in paddlefish (*Polyodon spathula*) and its confirmation using microsatellite markers. Journal of Applied Ichthyology, 27, 496–500.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1402.17.2.3.4]

[DOI: 10.61186/aqudev.17.2.29]