وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات و آموزش کشاورزی
مؤسسه تحقیقات شیلات ایران – انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان

دو رگه‌گیری بین فیلماهی *(Huso huso)* و تاسماهی ایرانی *(Acipenser persicus)* و مقایسه روند رشد آنها

مجری :
محمد پورکاظمی

شماره ثبت
۸۵/۱۰۹۲

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات و آموزش کشاورزی
مؤسسه تحقیقات شیلات ایران – انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان

عنوان پروژه / طرح : دو رگه گیری بین فیلماهی *(Huso huso)* و تاسماهی ایرانی *(Acipenser persicus)* و مقایسه روند رشد آنها

شماره مصوب : ۰۲-۰۷۱۰۱۴۱۰۰۰-۷۸

نام و نام خانوادگی نگارنده/ نگارنده گان : محمد پورکاظمی

نام و نام خانوادگی مجری مسئول (اختصاص به پروژه ها و طرحهای ملی و مشترک دارد) : -

نام و نام خانوادگی مجری / مجریان : محمد پورکاظمی

نام و نام خانوادگی همکاران : محمود محسنی – محمدرضا نوروز فشخامی – محمود بهمنی – علی طاهری – مهتاب یارمحمدی

نام و نام خانوادگی مشاور (ان) : -

محل اجرا : استان گیلان

تاریخ شروع : ۱۳۷۸

مدت اجرا : ۳ سال

ناشر : مؤسسه تحقیقات شیلات ایران

شمارگان (تیتراژ) : ۱۵ نسخه

تاریخ انتشار : سال ۱۳۸۶

حق چاپ برای مؤلف محفوظ است . نقل مطالب ، تصاویر ، جداول ، منحنی ها و نمودارها با ذکر مأخذ بلامانع است .

به نام خدا

عنوان	«فهرست مندرجات »	صفحه

چکیده ۱
۱- مقدمه ۲
۲- مواد و روشها ۱۵
۳- نتایج ۲۵
۴- بحث ۴۹
منابع ۵۵
چکیده انگلیسی ۵۸

MINISTRY OF JIHAD - E - AGRICULTURE

AGRICULTURE RESEARCH AND EDUCATION ORGANIZATION

IRANIAN FISHERIES RESEARCH ORGANIZATION- International Sturgeon Research Institute

Hybridization between Beluga (*Huso huso*) and Persian Sturgeon (*Acipenser persicus*) and their growth comparison

Executor :

Mohammad Pourkazemi

85.1092

Ministry of Jihad – e – Agriculture
Agriculture Research and Education Organization
IRANIAN FISHERIES RESEARCH ORGANIZATION – International Sturgeon Research Institute

---

Title : Hybridization between Beluga *(Huso huso)* and Persian Stugrgeon *(Acipenser persicus)* and their growth comparison

Approved Number :*78-0710141000-02*

Author: *Mohammad Pourkazemi*
Executor *:* *Mohammad Pourkazemi*
Collaborator *:* M. Mohseni; M.R. Nowruzfashkami; M. Bahmani; A. Taheri ; M. Yarmohammadi
Advisor : -

Location of execution : Guilan
Date of Beginning : 1999
Period of execution : *3 years*
Publisher : *Iranian Fisheries Research Organization*
Circulation : *15*
Date of publishing : *2007*

All Right Reserved . No Part of this Publication May be Reproduced or Transmitted without indicating the Original Reference

بسمه تعالی

طرح **دو رگه گیری بین فیلماهی *(Huso huso)* و تاسماهی ایرانی *(Acipenser persicus)* و مقایسه روند رشد آنها** با مسئولیت اجرایی **آقای محمد پورکاظمی**[1] در تاریخ **۱۳۸۵/۹/۲۱** در **کمیته تخصصی شیلات** با رتبه **خوب** تأیید شد .

موسسه تحقیقات شیلات ایران

۱- آقای محمد پورکاظمی متولد سال ۱۳۳۹ در شهرستان رامسر دارای مدرک تحصیلی دکترای تخصصی در رشته ژنتیک مولکولی و بیوشیمیایی بوده و در حال حاضر در انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری مشغول به فعالیت می‌باشد.

چکیده

بمنظور ارزیابی امکان تولید ماهی دورگه بین دو گونه از تاسماهیان، فیلماهی (*Huso huso*) و تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) تلاقی رفت و برگشت در ۳ تیمار و ۳ تکرار صورت گرفت.

نرماتیوهای تکثیر شامل تعداد تخم در گرم، درصد لقاح، درصد بازماندگی و همچنین ۳۲ پارامتر مورفولوژیک و مریستک ماهیان مولد، دورگه و شاهد مورد مقایسه قرار گرفت. بمنظور ارزیابی ژنتیکی ماهیان دورگه، دو روش سیتوژنتیک (تهیه گسترش کروموزومی) و روش مولکولی microsatellite مورد استفاده قرار گرفت و همچنین برای ارزیابی وضعیت جنسیت ماهیان شاهد و دورگه مطالعات بافت‌شناسی پیرامون ماهیان صورت گرفت. بمنظور مقایسه رشد ماهیان دورگه و شاهد، بچه ماهیان حاصله بمدت ۱۸ ماه در وانهای فایبرگلاس و با غذای دستی پرورش داده شدند و طی این مدت ۱۷ بار بیومتری شدند. میانگین، انحراف از معیار، آنالیز واریانس، آزمون دانکن، درصد هتروزیس با استفاده از برنامه کامپیوتری Quatro و SPSS محاسبه گردید.

نتایج نشان می‌دهد که از لحاظ تعداد تخم در گرم بین فیلماهی شاهد با دورگه (فیلماهی نر × تاسماهی ایرانی ماده) و بین تاسماهی ایرانی شاهد، با دورگه (فیلماهی ماده × تاسماهی ایرانی نر) اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($P\leq0.003$). ولی از لحاظ درصد لقاح در مرحله ۴ تایی و ۳۵ تایی، تعداد لاروهای حاصله، میزان تلفات تا زمان تغذیه فعال و تعداد لارو باقیمانده بین تیمارهای شاهد و دورگه اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید ($P\geq0.01$).

سرعت رشد ماهیان دورگه و شاهد متفاوت بوده و در پایان دوره پرورش بیشترین وزن به ترتیب فیلماهی شاهد (۱۰± ۹۷۵ گرم)، دورگه حاصل از فیلماهی ماده با تاسماهی ایرانی نر (۱۴۳±۸۴۰ گرم)، تاسماهی ایرانی ماده با فیلماهی نر (۲۸۱±۶۸۱/۸۵ گرم) و کندترین رشد مربوط به تاسماهی ایرانی شاهد با متوسط وزن (۱۳۱±۵۳۵/۱۵ گرم) بوده ولی سرعت رشد روزانه دورگه حاصله از تلاقی فیلماهی ماده با تاسماهی ایرانی نر در شش ماهه دوم و سوم پرورش حتی از فیلماهی شاهد بیشتر بود. درصد هتروزیس در اوایل دوره پرورش منفی (۱۸/۹۳-) ولی در پایان دوره پرورش برتری فرزندان نسبت به والدین مثبت بوده و به میزان ۰/۷۹ رسید.

در مقایسه پارامترهای مورفولوژی و مریستیک از بین ۳۲ پارامتر اندازه‌گیری شده ۲۳مورد بین فیلماهی شاهد با دورگه‌ها و در ۳۱ مورد بین تاسماهی ایرانی با دورگه‌ها اختلاف معنی‌دار ($P\leq0.05$) مشاهده شد.

تولید ماهیان دورگه هم به روش شمارش کروموزومها و هم به روش میکروستلایت و مبتنی بر DNA به اثبات رسید. تعداد کروموزمهای ماهیان دورگه در حد واسط والدین بوده ۹±۱۹۰=۲n بوده و همانند سایر تاسماهیان بیش از ۵۰٪ کروموزومها را "میکروکروموزوم" تشکیل می‌دهد. این تعداد کروموزوم معادل نصف تعداد کروموزوم والدین (تاسماهی ایرانی ۴±۲۵۸=۲n و فیلماهی ۳±۱۱۸=۲n) می‌باشد و از آنجائیکه تاسماهی ایرانی از لحاظ تعداد کروموزوم ۴n و فیلماهی ۲n می‌باشد ماهیان دورگه عملاً ۳n یا تری‌پلوئید هستند. باندهای DNA حاصل از PCR در والدین و فرزندان دقیقاً توارث ژنتیکی را براساس آرایش باندهای حاصله نشان می‌دهد.

بررسی بافت‌شناسی ماهیان شاهد و دورگه که پس از ۱۸ ماه پرورش نمونه‌برداری گردید نشان داد که در ماهیان دورگه هم سلولهای جنسی نر و هم سلولهای جنسی ماده دیده می‌شود که از مشخصه‌های بافت‌شناسی ماهیان عقیم می‌باشد. درحالیکه در ماهیان شاهد (تاسماهی ایرانی و فیلماهی) فقط یک نوع سلول جنسی مشاهده گردید.

نتایج این بررسی نشان داد که اولاً ماهیان دورگه تری‌پلوئیدی (3N) می‌باشند و از لحاظ بافت‌شناسی ماهیان عقیم هستند. ثانیاً ماهیان دورگه تولید شده دارای رشد خوبی هستند و با توجه به کمبود فیلماهی ماده و محدودیت تولید بچه ماهی این گونه در اکثر مراکز تکثیر و پرورش خاویاری، می‌تواند با تولید ماهیان دورگه نیاز کارگاههای پرورش گوشتی ماهیان خاویاری را از لحاظ تأمین بچه ماهی اقدام نمود و همچنین با توجه به عقیم بودن بچه ماهیان تولیدی می‌توان برای صادرات بچه ماهی خاویاری برای اهداف آکواریومی برنامه‌ریزی کرد.

از آنجائیکه دورگه تولیدی یک گونه جدید می‌باشد، نام گونه فوق از ترکیب اسم دو گونه Beluga و Persicus گرفته و بنام بلوپارس" Belupars" پیشنهاد و معرفی می‌گردد.

کلمات کلیدی: دورگه‌گیری، تاسماهی ایرانی، فیلماهی، دریای خزر، رشد

۱-مقدمه

تاریخچه ژنتیک آبزیان، حدود ۲۰۰۰ سال پیش با شروع آبزی‌پروری در چین آغاز شد، تقریباً همزمان با روم باستان (Romans) که نگهداری ماهی در حوض و استخر را یادگرفتند. اولین پرورش‌دهندگان ماهی کپور (*Cyprinus carpio*) چون تعداد محدودی از ماهی را از محیط زیست آنها انتخاب و در مخازن کوچکی نگه‌داری می‌کردند، بدون آنکه خود مطلع باشند فراوانی ژن را تغییر دادند. رفتار و اکولوژی ماهی را بنحوی تغییر دادند تا در شرایط پرورشی آداپته شود. وقتی پرورش‌دهندگان متوجه تفاوت و جهش‌هایی در رنگ، شکل ظاهری بدن، باله‌ها و سایرصفات جذاب و مورد نظر ماهیان پرورشی خود شدند، آنها را بعنوان مولد انتخاب کردند و این امر آغاز بهگزینی(Selection) بود. پرورش‌دهندگان و محققین که گونه‌های متفاوت و نزدیک به هم را از لحاظ استعداد پرورش بطور دقیق ارزیابی و مقایسه قرار می‌دادند، عملاً بطور ناخواسته «تحقیقات ژنتیکی» را آغاز نمودند.

سابقه‌ای از اجرای برنامه ژنتیکی و اصلاح نژاد آبزیان بطور وسیع و منظم گزارش نشده، تا زمانیکه ژاپنی‌ها پرورش ماهی کپور رنگی (*Koi carp*) خود را در دهه ۱۸۰۰ بطور متراکم آغاز نمودند و بتدریج در دهه ۱۹۰۰ برنامه‌های اصلاح‌نژاد ژنتیک ماهی با آگاهی و دانش علمی امروز و اصول مندل پایه‌ریزی شد. در ابتدا، از آنجائیکه تکنیک‌های تکثیر مصنوعی ماهیان شناخته نشده بود فقط به جمع‌آوری مولدین یا لارو از اکوسیستم‌های آبی اکتفا می‌شد. در واقع بومی نمودن و عادت دادن ماهیان مولد و بچه ماهیان به شرایط پرورشی، گامی نخست برای اجرای اصول و برنامه‌های ژنتیکی بود. از آنجائیکه نژاد و سویه‌های مختلف ماهی از ساختار ژنتیکی متفاوتی برخوردارند، بنابراین تلاقی نژاد و سویه‌های مختلف بصورت آمیخته‌گری (Cross breeding) یا تلاقی گونه، جنس و خانواده‌های مختلف یا دورگه‌گیری (Hybridization) می‌تواند در افزایش و راندمان عملکرد مؤثر باشد (Tave, 1993).

یکی از قدیمی‌ترین و آسان‌ترین دستکاریهای ژنتیکی در آبزیان که از گذشته‌های دور متداول بود، دورگه‌گیری(Hybridization) می‌باشد. دورگه‌گیری عمدتاً با تلاقی ۲ نوع موجود زنده اعم از حیوان، گیاه یا موجود آبزی متعلق به یک یا دو گونه، جنس یا خانواده صورت می‌گیرد. در صورت بارور بودن ماهیان هیبرید

نسل اول با یکی از والدین (تلاقی برگشتی Backcross) و یا گونه دیگر (Outcross) تلاقی داده می‌شود تا گونه جدید با هدف مورد نظر تولید شود.

دورگه‌گیری همیشه منجر به تولید ماهیان هیبرید و با کیفیت مطلوب نمی‌شود و نتیجه تلاقی به فاکتورهای متعددی بویژه ساختار ژنتیکی و بیولوژیک والدین (از لحاظ مورفومتریک، مریستیک، خصوصیات ژنی و کروموزومی، میزان هتروزیگوسیتی یا تنوع ژنتیکی و ...) بستگی دارد. به همین دلیل است که در اکثر منابعبه طور مشخص ذکر می‌گردد که نتیجه دورگه‌گیری را نمی‌توان از قبل پیش‌بینی نمود (Tave, 1993).

با توسعه علم و ابداع روشهای نوین در تکثیر مصنوعی آبزیان از سویی و کاهش ذخایر طبیعی آبزیان در دریاها و اقیانوسها و نیاز جامعه به پروتئین از سوی دیگر، موجب شد که از دورگه‌گیری فقط بمنظور تولید آبزیان با سرعت رشد مطلوب استفاده نشود. مطالعات متعددی برای تولید دورگه بمنظور آبزیان مقاوم به بیماری، مقاوم به شرایط نامساعد محیطی و پرورشی، ایجاد نژاد و سویه‌های جدید، جمعیت‌های تک‌جنس و عقیم، تولید ماهیان با اشکال ظاهری مناسب از لحاظ موقعیت و شکل باله‌ها، موقعیت چشم، رنگ بویژه در ماهیان آکواریومی و دهها مورد دیگر صورت پذیرفت (Lutz, 2001).

در گذشته، زمانی که اهمیت حفظ ذخایر ژنتیکی بدرستی شناخته نشده بود، دیدگاه دیگری مبنی بر رهاسازی ماهیان دورگه به اکوسیستم‌های طبیعی وجود داشت. بطوریکه یکی از اهداف تولید ماهی دورگه بستر (Bester) که از تلاقی بین فیلماهی (*Huso huso*) و ماهی استرلیاد (*Acipenser ruthenus*) بوجود آمد، رهاسازی به دریای آزوف بود (Nikoljukin, 1964) و هدف ازآن، زودرس کردن رسیدگی جنسی ماهی دورگه بمنظور تولید خاویار در سنین ۸-۵ سالگی بجای ۲۰-۱۵ سالگی در فیلماهی بود. دیدگاه فوق در دهه ۱۹۶۰ رایج بود ولی بتدریج با توجه به خطر از دست دادن تنوع ژنتیکی بویژه به دلیل زایا و بارور بودن ماهیان دورگه نسل اول ماهی بستر، از رهاسازی ماهیان دورگه تولیدی به اکوسیستم‌های طبیعی خودداری گردید (Burtsev, 1995).

۲-۱-انواع دورگه‌گیری و کاربردهای آن

بطور کلی، دورگه‌گیری می‌تواند به دو شکل طبیعی (یا بدون دخالت بشر) و مصنوعی صورت گیرد. در شکل طبیعی عمدتاً توسط آبزیانی صورت می‌گیرد که در یک اکوسیستم مشترک زیست می‌کنند یا برای تخم‌ریزی از شرایط زمانی و مکانی یکسانی برخوردارند. برای ماهیان رودکوچ (Anadromous) که برای تخم‌ریزی حتماً

باید به آب شیرین مهاجرت کنند، شرایط محدودتری وجود دارد و به طور عمده مولدین به رودخانه‌های خاص خود مهاجرت می‌نمایند. اگر در چنین رودخانه‌هایی بعلت توسعه صنعتی و مصارف کشاورزی، سدی احداث گردید عملاً سطح بستر کاهش یافته و احتمال دورگه‌گیری طبیعی برای گونه‌هایی را زیاد می‌کند که پوشش زمانی دارند. تاسماهیانی که برای تخم‌ریزی عمدتاً به رودخانه‌های پرآب از قبیل ولگا (در روسیه)، اورال (در قزاقستان)، کورا (آذربایجان)، سفیدرود (ایران)، مهاجرت می‌کنند، شانس دورگه‌شدن زیاد است.

Berg در سال ۱۹۴۸، ۹ حالت از دورگه‌های طبیعی در بین انواع تاسماهیان را گزارش نمود که عبارتند از:

1)	تاسماهی آمور[2]	×	کالوگا[1]
2)	فیلماهی [4]	×	شیپ [3]
3)	فیلماهی	×	چالباش [5]
4)	فیلماهی	×	ازون‌برون[6]
5)	شیپ	×	ازون‌برون
6)	چالباش	×	ازون‌برون
7)	چالباش	×	استرلیاد[7]
8)	ازون‌برون	×	استرلیاد
9)	تاسماهی سیبری[8]	×	استرلیاد

از میزان موفقیت در بازماندگی و رشد دورگه‌های طبیعی، در اکثر رودخانه‌ها اطلاعات دقیقی در دست نیست ولی براساس مطالعات انجام شده در رودخانه ولگا، تخمین زده می‌شود که کمتر یا حدود ۱درصد از دورگه‌های تولیدی این رودخانه بارور یا زایا باشد (Burtsev 1995).

1 . *Huso dauricus*
2 . *Acipenser schernckii*
3 . *Acipenser nudiventris*
4 . *Huso huso*
5 . *Acipenser gueldenstaedtii*
6 . *Acipenser stellatus*
7 . *Acipenser ruthenus*
8 . *Acipenser baerii*

تولید دورگه مصنوعی با اهداف و کاربردهای مختلف صورت می‌گیرد که به ۳ دسته دورگه‌گیری درون‌گونه‌ای (Intera-specific Hybridization)، دورگه‌گیری بین‌گونه‌ای (Inter-specific Hybridization) و دورگه‌گیری بین جنس‌های یک خانواده (Inter-generic Hybridization) تقسیم‌بندی می‌گردد.

هریک از اشکال دورگه‌گیری می‌تواند کاربرد و اهداف مختلفی داشته باشد که می‌توان به اختصار به شرح ذیل دسته‌بندی نمود (اقتباس از امینی ۱۳۷۴).

تولید ماهیان دورگه بمنظور:

۱- بالا بردن یا افزایش توان تولید

۲- ایجاد سویه‌ها یا نژادهای مختلف و مناسب برای آبزی‌پروری

۳- تولید جمعیت‌های تک جنس و عقیم

۴- تولید ماهیان همشکل برای تسهیل در فرآوری و کیفیت گوشت بالاتر

۵- تولید ماهیان مقاوم به بیماری و شرایط نامساعد محیطی

پس از انتخاب یا بهگزینی سویه‌ها و نژاد مختلف و تولید لاین‌ها خالص، می‌توان با تلاقی لاین‌های متفاوت (cross breeding) ،گونه‌های جدید مناسبی تولید نمود. چنین تلاقی‌هایی (بین سویه‌های مختلف) ممکن است میزان رشد و هتروزیس (Hetrosis) یا تفاوت و برتری فرزندان نسبت به والدین را افزایش دهد گرچه در تمامی موارد چنین امری تحقق نمی‌یابد.

افزایش میزان رشد گربه ماهی کانالی و قزل‌آلای رنگین‌کمان به ترتیب ۵۵ و ۲۲ درصد از طریق تلاقی بین‌نژادی بدست آمد (Dunham and Smitherman, 1983; Dunham, 1996b)، در حالیکه برای ماهی آزاد Chum با انجام تلاقی مشابه بین‌نژادی هیچگونه افزایش رشدی مشاهده نگردید (Dunham, 1996 b).

در کپورماهیان، تلاقی بین لاین‌های کپور ویتنامی با کپور مجاری صورت گرفت و بچه ماهیان تولیدی از سرعت رشد و درصد بازماندگی بالایی برخوردار بودند و تیلاپیای نیل حاصل از تلاقی سویه‌های مختلف در مقایسه با لاین‌های خالص در شرایط پرورشی در مزارع برنج از مزیت رشد بالاتری برخوردار بودند(Circa *et al*., 1994). نتایج مشابه‌ای در تلاقی سویه‌های مختلف گربه‌ماهیان (Krasznai, Marian 1985)، قزل‌آلای رنگین‌کمان (Kincaid 1981, Ayles and Baker 1983) گزارش شده است.

تلاقی بین گونه‌ای (Interspecific Hybridization) در آبزیان مختلف برای افزایش رشد، تغییر نسبت جنسیت تولید ماهیان عقیم، افزایش کیفیت گوشت، مقاومت به بیماری و شرایط نامساعد محیطی صورت گرفته (Bartley *et al* در دست چاپ) و بندرت ماهیان تولید نسل اول (F_1) بجز چند مورد استثنائی، برای آبزی‌پروری مناسب بودند.

هدف اصلی از این بررسی، امکان تولید ماهی دورگه از دو گونه فیلماهی و تاسماهی ایرانی متعلق به دو جنس متفاوت Huso و Acipenser است و در نظر دارد مشخص نماید آیا می‌توان چنین دورگه‌ای تولید نمود و در صورت مثبت بودن، روند رشد آن از مرحله لقاح تا وزن پرواری و بازاری چگونه است؟ آیا هیچگونه برتری ژنتیکی (هتروزیس) در فرزندان در مقایسه با والدین وجود دارد؟ و میزان آن چند درصد است؟ این بررسی همچنین در نظر دارد وراثت‌پذیری صفات مورفومتریک و مریستیک را مورد ارزیابی قرار دهد.

همچنین این طرح در نظر دارد از لحاظ سیتوژنتیک (تهیه گسترش کروموزومی) و مولکولی (برمبنای DNA) وضعیت دورگه‌ها را ارزیابی نماید. با توجه به اینکه تعداد کروموزومهای فیلماهی 2n=120 و تاسماهی ایرانی 2n=240 عدد می‌باشد و بچه ماهیان دورگه تولیدی احتمالاً 3n=180 خواهند بود. لذا گنادهای جنسی ماهیان دورگه مورد بررسی قرار خواهد گرفت. با توجه به بومی بودن تاسماهی ایرانی در دریای خزر و پراکنش اصلی آن در آبهای ایرانی سواحل جنوبی دریای خزر این بررسی برای اولین‌بار در ایران و جهان صورت می‌گیرد و تاکنون گزارش مشابه‌ای منتشر نشده است.

۳-۱-مروری بر دورگه‌گیری در آبزیان

مطالعات متعددی در خصوص انواع دورگه در آبزیان گزارش شده است که در این بخش به تعدادی از آبزیانی که یا مشابه گونه‌ای در کشور وجود دارد یا ارزش اقتصادی آنها بالاست، اشاره می‌گردد.

الف- کپورماهیان

تلاقی و آمیخته‌گری بین ماهی کپور عموماً میزان اندکی از هتروزیس را نشان داده است (Moav et al., 1964; Moav and Wohlfarth, 1974; Nagy et al., 1984; Wohlfarth, 1993; Hulata, 1995) اما آنهایی که هتروزیس مثبت نشان دادند در حال حاضر بعنوان مبنایی برای آبزی‌پروری کپور در بسیاری از کشورها در مجارستان، چین، اسرائیل و ویتنام قرار گرفته است.

تلاقی لاین‌های مختلف ماهی کپور در مؤسسه سارواش در مجارستان (Bakos and Gorda) مثال خوبی از موفقیت نسبی از آمیخته‌گری کپور است. طی ۳۵ سال گذشته، بیش از ۱۴۰ نوع تلاقی بین انواع کپور صورت گرفته است و آنهایی که انتخاب شدند حدود ۲۰درصد افزایش رشد و سایر صفات کیفی در مقایسه نسبت با والدین و لاین‌های کپور شاهد نشان دادند. در حال حاضر ۸۰درصد از کپور معمولی تولیدی از کپورهایی هستند که از طریق آمیخته‌گری در «سارواش» تولید شدند.

تولید لاین ماهی کپور ماده ژینوژنز و لاین ماهی نر تغییر جنسیت یافته از ماهی ژینوژنز و آمیخته‌گری بین آنها بهترین نوع تلاقی در برنامه اصلاح‌نژاد ماهی کپور مجارستان بوده است. درصد هتروزیس بالاتری از تلاقی بین لاین‌ها بدست آمد ولی میزان رشد دورگه‌های فوق در نسل F_1 فقط ۱۰ درصد بیشتر از ماهیان شاهد بوده است (Bakos and Gorda 1995).

Kirpichnikov (1981) توانست با موفقیت یک سویه جدید از ماهی کپور مقاوم به سرما به نام کپور«Ropsha» مناسب برای پرورش در مناطق سرد ناحیه شمال روسیه با استفاده از تلاقی ماهی کپور معمولی بومی مناطق شمالی روسیه با کپور معمولی بومی مناطق سیبری تولید نماید.

در جمهوری چک از تلاقی بین کپور منطقه «بوهمیان جنوبی» با کپور آئینه‌ای مناطق شمالی و همچنین تلاقی بین کپور مجاری با کپور آئینه‌ای مناطق شمالی لاین کپور جدیدی تولید نماید که از میزان رشد بالاتری برخوردار است (Linhart *et al*., 1998). همچنین در اسرائیل طی ۲۰ سال تلاقی بین سویه‌های مختلف کپور توانستند لاین جدید کپور اسرائیلی به نام «DOR-70» تولید نمایند (Wohlfarth *et al*., 1980). در حال حاضر لاین ماهی کپور«Nawice» سریعترین رشد را داراست و یکی از پرطرفدارترین لاین‌ها برای پرورش در اسرائیل بشمار می‌رود (Wohlfarth 1993).

در کشور اندونزی از طریق ژینوژنز مصنوعی با تغییر جنسیت تولید ۱۰ لاین ماهی کپور تولید کردند که بعدها از تلاقی بین لاین‌های فوق لاین جدیدی تولید کردند که برای پرورش استفاده می‌گردد (Sumanta dinata, 1995).

در ویتنام، ۸ واریته از کپور معمولی بهمراه سویه‌های مجارستانی، اکراینی، اندونزیایی و جمهوری چک، تلاقی‌هایی صورت گرفت که حاصل آن لاین کپوری با درصد هتروزیس بالا در نسل F_1 گردید و امروزه برای پرورش در سرتاسر ویتنام از آن استفاده می‌شود (Thien and Trong, 1995).

دورگه بین کپور نقره‌ای و کپور سرگنده در شوروی سابق توسط Vanogrodov and Erohina(۱۹۶۴)انجام گرفت و تکرار آن در مجارستان توسط Bakos(۱۹۷۳)انجام شد.

بین کپور معمولی با سایر کپور ماهیان تلاقی‌های متعددی در نقاط مختلف جهان صورت گرفته است که به تلاقی بین کپور معمولی ماده با کپور علفخوار نر، کپور معمولی با کپور سرگنده (*Aristichthys nobilis*)، کپور معمولی با کپور نقره‌ای (*Hypophthilmichthys molitrix*) می‌توان اشاره نمود (Krasznai, 1987).

دورگه بین کپور معمولی و کپور نقره‌ای انجام گرفت و ماهی دورگه تولید شده عقیم و با کیفیت گوشت خوب گزارش شده است (Bakos *et al*., 1978).

دورگه بین ماهی آمور ماده و کپور سرگنده با کپور نر معمولی انجام شد که درصد بازماندگی آن بسیار ناچیز بود (Bartholemen & Smitherman, 1984). براساس مطالعات Bakos و همکاران(۱۹۸۰) دورگه تولیدی از تلاقی بین ماهی آمور و ماهی کپور سرگنده ماهی تری‌پلوئیدی عقیم بوده و پیشنهاد گردید که از آن برای کنترل رویش گیاهی در شرایطی که تکثیر آمور موجب بهم زدن تعادل اکوسیستم آبی می‌گردد استفاده شود (نقل از میرزائی، ۱۳۶۷).

در ایران به رغم سابقه بیش از نیم قرن تجربه در زمینه تکثیر و پرورش کپورماهیان، از دورگه‌گیری فقط درحد چند آزمایش و تلاقی انجام گرفت و هیچگاه در قالب یک برنامه انجام نشد. اکثر تلاقی‌های درحد بررسی ماهیان F_1 و در مراحل پرورش اولیه و حداکثر ۲-۱ سال پس از تولید بوده است.

تلاقی دو طرفه بین ماهی سفید (*Rutilus frissi kutum*) با ماهی کلمه (*Rutilus rutilus*) و ماهی سیم (*Abramis brama*) با کلمه بصورت رفت و برگشت صورت گرفت (حسینی، ۱۳۷۲).

درصد لقاح تخم‌ها در چهار مرحله دورگه‌گیری درحد بالا و درصد تبدیل تخمها به لارو و درصد باقیماندگی لارو تا بچه ماهی بسیار خوب و کاملاً مناسب بوده است:

- بطوریکه در نتیجه تلاقی بین ماهی سفید ماده و ماهی کلمه نر تعداد ۱۵۰/۰۰۰ عدد لارو تولید شد و در پایان دوره پرورش ۹ ماهه تعداد آنها به ۲۰/۰۰۰ عدد رسید و میانگین وزنی و طولی بچه ماهیان از میانگین ۹ گرم و طولی ۱۷/۲ سانتیمتر به ۹۰ گرم و ۱۹ سانتیمتر رسید.

- نتیجه تلاقی بین ماهی کلمه ماده و ماهی سفید نر تعداد ۲۰۰۰ عدد لارو تولید شد که در پایان دوره پرورش ۹ ماهه تعداد آنها به ۶۰۰۰ عدد رسید و میانگین وزنی و طولی بچه ماهیان تولید شده به ترتیب ۹۰ گرم و ۱۹ سانتیمتر رسید.
- نتیجه تلاقی بین ماهی کلمه ماده و ماهی سیم سفید نر تعداد ۳۰/۰۰۰ عدد لارو تولید شد که در پایان دوره پرورش ۹ ماهه تعداد آنها به ۷۰۰۰ عدد رسید و میانگین وزنی و طولی بچه ماهیان تولید شده به ترتیب ۱۲۱/۴ گرم و ۲۱ سانتیمتر رسید.
- نتیجه تلاقی بین ماهی سیم ماده و ماهی کلمه نر تعداد ۱۰۰/۰۰۰ عدد لارو تولید شد و در پایان دوره پرورش ۹ ماهه تعداد آنها به ۱۵۰۰۰ عدد رسید و میانگین وزنی و طولی بچه ماهیان به میانگین ۸۸/۵ گرم و ۱۸/۷ سانتیمتر رسید.

با توجه به میانگین وزنی بوجود آمده در چهار دورگه‌گیری فوق مشخص شد که پرورش این دورگه‌ها توجیه اقتصادی ندارد و مقرون به صرفه نمی‌باشد.

همچنین در سال ۱۳۷۵ دورگه‌گیری بین ماهی سفید ماده و ماهی آمور نر انجام شد (حسینی، ۱۳۷۵) نتایج این دورگه‌گیری به شرح ذیل است:

۱- امکان دورگه‌گیری بین ماهی آمور نر و ماهی سفید ماده و تولید یک دورگه جدید با توجه به اینکه تعداد کروموزومهای ماهی سفید ۲n=۵۰ و ماهی آمور ۲n=۴۸ است وجود دارد و پرورش دورگه‌ها در مرحله اول تا مرحله انگشت‌قد انجام گرفت.

۲- دوره تکوین تخمهای دورگه در انکوباسیون همانند شاهد (ماهی سفید ماده با ماهی سفید نر) بوده ولی تشکیل جنین و تولید لاروها در شرایط یکسان با شاهد حدود ۲۴-۲۰ ساعت زودتر انجام می‌گیرد و لاروهای دورگه زودتر ظاهر می‌شدند.

۳- درصد ناقص‌الخلقه در دورگه بیش از شاهد بوده (۱۳-۱۰ درصد) در صورتیکه در شاهدها حدود ۳ درصد ناقص‌الخلقه مشاهده گردید.

۴- لاروها و بچه ماهیان دورگه از نظر رفتاری از نور گریزان بودند و به تاریکی پناه می‌بردند. این وضعیت رفتاری در موقع تغذیه دورگه‌ها بوضوح مشاهده گردید چون آنها بندرت روی سطح آب می‌آمدند در صورتیکه شاهدها چنین خصوصیاتی را نداشتند.

۵- در پرورش دورگه‌ها در شرایط مساوی با شاهد، رشد دورگه‌ها بیش از آنها بود به طوریکه پس از حدود ۴۵ روز پرورش، دورگه‌ها به میانگین وزن ۱/۵ گرم و طول ۴/۹۶ سانتی‌متر و شاهد به میانگین وزن ۰/۳۹۲ گرم و طول ۲/۹ سانتی‌متر رسیدند و طی چهارماه پرورش نیز دورگه‌ها به متوسط وزن ۶/۷ گرم و طول ۹/۱۷ سانتی‌متر و نمونه شاهد به متوسط وزن ۱/۰۳ گرم و طول۴/۹۷ سانتی‌متر رسیدند.

از سوی دیگر، بررسی‌های سیتوژنتیک در مورد ماهیان دورگه تولید شده (حسینی، ۱۳۷۵) که از تلاقی ماهی سفید ماده و ماهی آمور نر تولید شده بود، نشان داد که تعداد کروموزومها و کاریوتیپ ماهیان دورگه دقیقاً شبیه ماهی سفید می‌باشد. همچنین یک جفت کروموزوم آکروسانتریک بزرگ که خاص ماهی سفید می‌باشد در ماهیان دورگه مشاهده گردید (نوروز، فشخامی ۱۳۷۹). نتایج بررسی سیتوژنتیک نشان می‌دهد که ماهیان مورد آزمایش هیبرید نبوده و ماهی سفید می‌باشند که علت علمی آن را وقوع پدیده ماده‌زایی (Gynogenesis) گزارش شده است (نوروز فشخامی ۱۳۷۹).

دورگه‌گیری بین ماهی آمور ماده و کپور سرگنده نر و مطالعه دورگه نسل اول انجام و پارامترهای درصد لقاح، بازماندگی لارو و مورفومتریک و سیتوژنتیک مورد بررسی قرار گرفت (پناهی صاحبی، ۱۳۸۱).

متوسط درصد لقاح در ماهیان دورگه ۸۸ درصد و در صد تفریخ ۹۰درصد بدست آمد. بررسی رژیم غذایی ماهیان دورگه نشان داد که ۵ درصد محتویات روده بچه ماهیان در سن ۲۱ روزگی از مواد غذایی گیاهی ولی در سن ۴۸ روزگی (وزن ۱/۷ گرم) ۱۰۰درصد محتویات دستگاه گوارش از مواد گیاهی بوده است.

از لحاظ مورفولوژیک و تعداد فلس جانبی ماهیان دورگه شبیه آمور شباهت دارد. دندان حلقی دورگه شبیه کپور علفخوار بوده است. از لحاظ تعداد کروموزوم مشخص گردید که تعدادی از ماهیان تری‌پلوئید ۳n=۷۲ کروموزومی و مابقی دیپلوئید ۲n=۴۸ بوده است. ضریب رشد ماهیان دورگه خوب و کیفیت گوشت ماهیان دورگه مناسب تشخیص داده شد (پناهی صاحبی ۱۳۸۱).

ب- آزادماهیان

انواع دورگه از تلاقی بین نژادهای مختلف ماهی آزاد Coho (*Oncorhynchus kisutch*) که به چندین بیماری ویروسی آزادماهیان مقاوم است تولید گردد. نتایج نشان می‌دهد که ماهیان دورگه نسبت به بیماری ویروسی مقاوم هستند ولی درصد بازماندگی آنها پائین است (Dorson *et al*., 1991). ولی میزان درصد بازماندگی وقتی که ماهیان تری‌پلوئیدی از این دورگه‌ها تولید شده افزایش یافت. در بررسی دیگر نتایج نشان داد که هیبرید تری‌پلوئید از تلاقی بین ماهی قزل‌آلا رنگین‌کمان و ماهی آزاد Charp (*Salvelinus spp*) به تعدادی از بیماری‌های ویروسی آزادماهیان مقاوم بوده ولی میزان سرعت رشد آنها از ماهیان دی‌پلوئید کمتر می‌باشد و چنین وضعیتی از تلاقی بین ماهی قزل‌آلا رنگین کمان و ماهی Coho مشاهده گردید (Dorson *et al*., 1991). هیبرید تری‌پلوئید حاصل از تلاقی ماهی آزاد آتلانتیک (*Slamo salar*) و قزل‌آلای قهوه‌ای (*S. trutta*) دارای سرعت رشد بالاتر در مقایسه با ماهی آزاد آتلانتیک دیپلوئید نشان داده است و ماهی آزاد اقیانوس هیبرید تری‌پلوئید عادت‌پذیری خوبی برای معرفی به آب دریا داشته است (Seeb *et al*., 1993).

در بعضی از گونه‌های آزاد ماهیان از دورگه‌گیری برای اهداف دیگری غیر از سرعت رشد و یا مقاومت در مقابل بیماری استفاده شده است Danaldsont و همکاران(۱۹۵۷) پی بردند که ماهی دورگه قزل‌آلای قاتل (*Cut throat trout*) قابلیت صید بالاتری نسبت به سویه‌های والدین آن دارند. یا ماهی دورگه حاصل از تلاقی قزل‌آلای دریاچه‌ای با قزل‌آلای جوبیاری برای جایگزینی در آبگیرها استفاده شده‌اند (Tave, 1993).

در ایران تنها مطالعه انجام شده در آزادماهیان، دورگه تولیدی از تلاقی بین ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) می‌باشد (پورغلام و نوروزی مقدم، ۱۳۷۲). نتایج این بررسی نشان می‌دهد که ماهیان دورگه صفات حد واسط والدین را دارا بودند. گرچه در بررسی فوق مطالعات سیتوژنتیک و یا مولکولی انجام نشد ولی در جمعبندی دورگه تولیدی را برای پرورش در سیستم متراکم مناسب تشخیص داده شد.

تاکنون دورگه‌های متعددی در گونه‌های مختلف گربه‌ماهیان (Krasznai and Marian, 1985; Prarom, 1990; Ayles and Baker, 1983)در تیلاپیا (Rosentein and Hulata, 1994; Wohlfarth, 1994; Wolters and Demay, 1996; Lim et al., 1993)و همچنین سایر آبزیان در انواع صدف، میگو ...(Hedgecock *et al*., 1995) تولید شده است.

ج – دورگه‌گیری در تاسماهیان

نخستین هیبرید مصنوعی در تاسماهیان حدود ۱۳۴ سال پیش توسط Ovsyanniuv (1870) از تلاقی بین استرلیاد ماده (*A. ruthenus*) و اسپرم چالباش (*A. gueldenstaedtii*) و ازون‌برون (*A. stellatus*) تولید گردید. بیش از ۸۳ سال هیچ گزارشی از مطالعات بعدی منتشر نگردید تا اینکه در سال ۱۹۵۳، Timofeeva و Nikolyukin انواع دورگه از تلاقی بین تاسماهی روسی، فیلماهی، ازون‌برون و استرلیاد ایجاد نمودند که موفق‌ترین آنها تولید ماهی بستر (Bester) از تلاقی بین فیلماهی و ماهی استرلیاد بوده که امروزه نقش مهمی در آبزی‌پروری تاسماهیان ایفاء می‌نماید.

در سالهای اخیر با توجه به کاهش ذخایر طبیعی تاسماهیان دریای خزر و کاهش تولید جهانی گوشت و خاویار، پرورش ماهیان خاویاری از اهمیت خاصی برخوردار گردید بطوریکه انواع دورگه مصنوعی در بین تاسماهیان تولید شده که از جمله تلاقی بین تاسماهی سیبری (*A. baeri*) با تاسماهی اروپائی (*A. sturio*) و تاسماهی سیبری با تاسماهی آدریاتیک (*A. naccari*) (مکاتبه شخصی با Williot– ۲۰۰۴) و همچنین تلاقی بین تاسماهی سیبری با تاسماهی چینی (*A. cinesis*) (مکاتبه شخصی با پروفسور Chang آکادمی علوم چین) تلاقی بین تاسماهی سیبری و تاسماهی روسی (مکاتبه شخصی با پروفسور Chebanov)، تلاقی بین تاسماهی رودخانه آمور(*A. dabryanus*) و کالوگا (*Huso dauricus*) (Svirsky به نقل از Burtsev, 1995)، تلاقی بین تاسماهی آدریاتیک و تاسماهی سفید (*A. transmontanus*) به نقل از Congiu *et. a.*, (2001) صورت گرفته است.

در سواحل ایرانی دریای خزر و رودخانه‌های منتهی به آن به دلیل نوسانات و استفاده شدید آب رودخانه‌ها برای مصارف کشاورزی، مهاجرت تاسماهیان به رودخانه‌های اصلی از قبیل سفیدرود، تجن و گرگان‌رود به حداقل میزان خود رسیده و هیچ گزارشی از دورگه طبیعی تاسماهیان در ایران در دست نیست. مطالعات محدودی در تولید تاسماهیان دورگه بطور مصنوعی در کشور صورت گرفته است. امینی در سال ۱۳۷۱ دورگه مصنوعی بین فیلماهی و ازون‌برون بصورت تلاقی رفت و برگشت تولید نمود و موفق شد حداکثر ۴۸۰۰۰ لارو از این دورگه‌ها تولید نماید. از لحاظ پارامترهای مورفولوژی بچه ماهیان دورگه بیشتر حد واسط والدین بوده و از لحاظ رفتاری، همجنس خواری در مراحل پایانی لارو دورگه بچشم نمی‌خورد در حالیکه در فیلماهی این رفتار

را مشاهده نمود. از لحاظ رشد و مقایسه آن طی دوره پرورش، اختلاف معنی‌داری بین فیلماهیان شاهد و دورگه‌ها مشاهده نمود که کاهش وزن دورگه‌ها، بعلت بیماری و آسیب‌دیدگی آنها گزارش شده است.

قزل و امینی در سال ۱۳۷۷ دورگه بین فیلماهی با ماهی شیپ تولید نمود و روند رشد آن را با والدین مورد مقایسه قرار داد. در این بررسی در مجموع ۲۴۰۰۰ عدد لارو دورگه (فیلماهی ماده با شیپ نر) و تعداد ۱۰۵۰۰ لارو فیلماهی (شاهد) و ۶۸۷۰ عدد لارو دورگه (شیپ ماده با فیلماهی نر) حاصل گردید. درصد لقاح و تفریخ دورگه‌ها بمراتب کمتر از شاهد بود.

طی یک دوره پرورش یکساله، مشخص گردید که رشد طولی و وزنی فیلماهی و دورگه‌ها بهم نزدیک بود ولی اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید ($P\leq0.05$). از لحاظ پارامترهای مورفومتریک در ۴ فاکتور نسبت فاصله باله مخرجی و سینه‌ای به طول کلی و نیز نسبت فاصله از ابتدای پوزه تا قسمت عضروفی دهان، عرض پوزه در ناحیه دهان و عرض پوزه در ناحیه سبیلک به طول سر اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. هم‌جنس خواری در میان ماهیان دورگه مشاهده ولی در دورگه‌ها کمتر بود.

تحقیق دیگری در زمینه تولید دورگه بین فیلماهی با ماهی چالباش صورت گرفت(قزل، ۱۳۷۶) ولی گزارش نهایی پروژه آن یافت نگردید.

همچنین بین ماهی شیپ و ازون‌برون دورگه‌ای تولید شد و روند رشد بچه ماهیان تولیدی فقط با ماهی ازون‌برون مقایسه گردید (رستمیان، ۱۳۷۵). درصد لقاح دورگه‌ها بیشتر از شاهد ولی از درصد تفریخ کمتری برخوردار بود و ماندگاری بچه ماهیان دورگه پرورشی بیشتر بود. میزان رشد و افزایش وزن ماهیان هیبرید بیشتر از ماهیان شاهد بود ($P<0.01$) و از ۲۹ پارامتر مورفولوژیک بررسی شده در ۱۷ فاکتور اختلاف معنی‌داری $P\leq0.05$ مشاهده گردید.

۲- مواد وروشها

۲-۱-عملیات تکثیر

عملیات تکثیر فیلماهی وقره برون در مرکز تکثیر شهید مرجانی گرگان صورت گرفت. برای این منظور سه عدد مولد فیلماهی ماده و نر با سه عدد مولد قره برون نر و ماده تلاقی داده شدند. تکثیر ماهیان طبق روشهای متداول در مراکز تکثیر تاسماهیان صورت گرفت و به همه مولدین ماده در دو مرحله و ماهیان نر در یک مرحله عصاره هیپوفیز تزریق گردید (کهنه شهری، آذری تاکامی، ۱۳۵۳). میزان دوز تزریق برای مولدین ماده ۲۰۰ میلی‌گرم و برای مولدین نر ۱۲۰ میلی‌گرم تزریق نموده و سپس مقادیر توزین شده با دو قسمت از سرم فیزیولوژی انسانی ۱۹ درصد و ۱ قسمت آب مقطر مخلوط گردید و پس از آماده نمودن عصاره هیپوفیز به هر مولد ۲ میلی‌لیتر در داخل عضلات پشتی تزریق گردید.

با توجه به درجه حرارت آب پس از رسیدگی کامل ماهیان مولد از آنها تخمک و اسپرم گیری شد. در این بررسی مقدار ۳۵۰ گرم تخمک از هریک از ماهیان مولد ماده با ۳/۵ میلی لیتر اسپرم از هر مولد نر گرفته و طبق روش ذیل تلاقی داده شد. عملیات لقاح و شستشوی تخم ها با آب و گل رس طبق روشهای رایج در مراکز تکثیر خاویاری صورت گرفت.

برای این منظور پس از اضافه کردن اسپرم روی تخمک، مقداری آب (به ازای هر سانتی‌متر مکعب اسپرم ۱۰۰ میلی‌لیتر آب) به طشتکها افزوده شد که با اضافه کردن آب، اسپرم‌ها فعال شده و عمل لقاح صورت می‌گیرد. سپس به طشتکها مقداری آب افزوده تا آب اندکی از سطح تخمکها بالا بیاید. مخلوط اسپرم و تخمک بمدت ۵ دقیقه هم زده می‌شود تا عمل دخول اسپرم به تخمک بخوبی صورت پذیرد و سپس آب و اسپرم اضافی باقیمانده دور ریخته می‌شود.

برای رفع چسبندگی تخم‌های لقاح یافته از مخلوط ۱۰۰درصد خاک رس و آب استفاده شد. برای این منظور ابتدا به مدت ۱۵ دقیقه عمل شستشو تخمها با بهم زدن تخم‌های لقاح یافته در محلول گل رس غلیظ صورت می‌گیرد و سپس مقدار آب به داخل طشتک اضافه می‌شود تا محلول گل رس رقیق گردد و عمل شستشو در محل گل رس به مدت ۲۵ دقیقه صورت گرفته و محلول گل رس رقیق از طشتکها تخلیه شده و آب معمولی به

طشتک‌ها اضافه می‌شود و عمل شستشو چندین بار انجام می‌شود تا تخمهای لقاح یافته بخوبی از گل شستشو و سپس به داخل انکوباتورهای یوشچنکو ریخته می‌شود (کهنه‌شهری، آذری تاکامی، ۱۳۵۳).

گروه ۱

۱- فیلماهی شماره ۱ (نر) × فیلماهی شماره ۱ (ماده) ← شاهد فیلماهی

۲- فیلماهی شماره ۱ (نر) × قره برون شماره ۱ (ماده)

۳- فیلماهی شماره ۱ (ماده) × قره برون شماره ۱ (نر)

۴- قره برون شماره ۱ (ماده) × قره برون شماره ۱ (نر) ← شاهد قره برون

گروه ۲

۵- فیلماهی شماره ۲ (نر) × فیلماهی شماره ۲ (ماده) ← شاهد فیلماهی

۶- فیلماهی شماره ۲ (نر) × قره برون شماره ۲ (ماده)

۷- فیلماهی شماره ۲ (ماده) × قره برون شماره ۲ (نر)

۸- قره برون شماره ۲ (ماده) × قره برون شماره ۲ (نر) ← شاهد قره برون

گروه ۳

۹- فیلماهی شماره ۳ (نر) × فیلماهی شماره ۳ (ماده) ← شاهد فیلماهی

۱۰-فیلماهی شماره ۳ (نر) × قره برون شماره ۳ (ماده)

۱۱-فیلماهی شماره ۳ (ماده) × قره برون شماره ۳ (نر)

۱۲-قره برون شماره ۳ (ماده) × قره برون شماره ۳ (نر) ← شاهد قره برون

کلیه پارامترهای مورفولوژی ماهیان مولد نر و ماده فیلماهی و قره برون همچنین ماهیان دورگه حاصله، شامل طول فورک، طول کل، فاصله نوک پوزه تا سبیلک، عرض پوزه در محل سبیلک، عرض سبیلک، عرض پوزه در محل دهان، فاصله نوک پوزه تا دهان، فاصله باله سینه‌ای تا شکمی ، فاصله باله شکمی تا مخرجی، تعداد پلاکهای استخوانی، پشتی، جانبی، شکمی، وزن کل و مقدار تخمک استحصالی ثبت گردید که به شرح ذیل بوده است.

مشخصات پارامترهای مورفولوژی مولدین فیلماهی و تاسماهی ایرانی

ردیف	پارامترها	فیلماهی (ماده)	تاسماهی ایرانی (ماده)
۱	وزن (kg)	۱۴۰	۲۹
۲	طول فورک (cm)	۲۲۹	۱۶۳
۳	طول کل (cm)	۲۵۳	۱۷۷
۴	نوک پوزه تا سبیلک (cm)	۱۱	۴
۵	عرض پوزه در محل سبیلک (cm)	۹	۶
۶	عرض سبیلک (mm)	۹	۴
۷	عرض پوزه در محل دهان (cm)	۱۱	۱۲
۸	نوک پوزه تا دهان (cm)	۱۶	۱۳
۹	فاصله باله سینه‌ای تا شکمی (cm)	۸۷	۶۸
۱۰	فاصله باله شکمی تا مخرجی (cm)	۳۴	۲۸
۱۱	فاصله باله شکمی تا دمی (cm)	۵۸	۴۸
۱۲	تعداد پلاک جانبی سمت راست	۳۶	۳۳
۱۳	تعداد پلاک جانبی سمت چپ	۴۱	۳۴
۱۴	تعداد پلاک شکمی سمت راست	۸	۸
۱۵	تعداد پلاک پشتی	۱۳	۱۰

سایر فاکتورها از قبیل درجه حرارت آب، تعداد تخم در گرم ، درصد لقاح هر یک از تیمارها و شاهد ثبت گردید. پس از خروج لاروها، درصد تلفات همه تلاقیها ثبت و لاروها جهت پرورش به حوضچه های گرد ونیرو انتقال یافتند.

۲-۲- عملیات پرورش

کلیه لاروها پس از جذب کیسه زرده و در شروع تغذیه فعال برای همه تیمارها و شاهد با یک روش یکسان با استفاده از دافنی و آرتیما هر سه ساعت یکبار غذا دهی شدند. پس از ۳ روز تغذیه تعداد ۶۰۰-۳۰۰ عدد لارو از تیمار و شاهد برای ادامه بررسی به انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان انتقال یافتند. کلیه لاروها تا رسیدن به وزن متوسط ۳ گرم با غذای زنده تغذیه شدند.

برای ارزیابی سرعت رشد و مقایسه آن بین ماهیان شاهد و دورگه در دو گروه مجزا در وانهای فایبرگلاس ۲ تنی بمدت ۱۸ ماه پرورش داده شدند. برای این منظور ۴ تیمار و هریک با ۳ تکرار و هر تکرار با ۱۵ عدد ماهی

پرورش داده شدند بطوریکه تیمار ۱ شامل فیلماهی شاهد (فیلماهی ماده × فیلماهی نر)، تیمار ۲ از تلاقی فیلماهی ماده با تاسماهی ایرانی نر، تیمار شماره ۳ از تلاقی فیلماهی نر با تاسماهی ایرانی ماده و تیمار ۴ تاسماهی ایرانی شاهد (تاسماهی ایرانی نر × تاسماهی ایرانی ماده) بودند.

در طول دوره پرورش ماهیان، هریک از وانها به میزان ۵-۲ درصد بیوماس و ۵ بار در روز در ساعات ۷، ۱۱، ۱۵، ۱۹ و ۲۳ غذادهی شدند. جیره غذایی ماهیان یکسان و حاوی ۴۰ درصد پروتئین و ۱۲ درصد چربی بوده است. ماهیان بمدت ۱۸ ماه پرورش داده شدند و برای ارزیابی مقایسه رشد آنها تمامی ماهیان هر تیمار در هفت ماه اول پرورش بین ۳۰-۱۵ روز یکبار و سپس ۷۵-۳۰ روز یکبار وزن و طول کل آنها اندازه گیری شد.

۳-۲- ارزیابی پارامترهای مورفولوژیک و مریستیک

بمنظور ارزیابی خصوصیات مورفولوژی و مریستیک در بین ماهیان شاهد و دورگه تعداد ۲۰ عدد از ماهیان سه ساله ازهر تیمار انتخاب و ۳۲ پارامتر ذیل اندازه گیری شد.

طول کل، طول فورک، طول سر، طول پوزه، فاصله سوراخ بینی تا پوزه، عرض پوزه در محل سبیلک، فاصله چشم تا نوک پوزه، فاصله نوک پوزه تا ابتدای باله پشتی، طول سبیلک، ارتفاع سر در انتها، ارتفاع سر در محل چشم، فاصله نوک پوزه تا سبیلک، فاصله بین سبیلک تا دهان، قطر افقی چشم، فاصله بین دو چشم، تعداد شعاع باله پشتی، مخرجی، تعداد پلاک پشتی، جانبی، شکمی، طول باله سینه ای، پشتی، شکمی، ارتفاع باله پشتی، طول پایه باله مخرجی، ارتفاع باله مخرجی، کمترین ارتفاع بدن، ارتفاع بدن، فاصله بین باله سینه ای تا باله پشتی، طول ساقه دمی، پهنای دهان، وزن کل و تعداد شعاعهای آبششی آنها شمارش گردید.

با توجه به متغیر بودن صفات ظاهری طبق روشهای متداول، نسبت بعضی از پارامترها (بشرح ذیل) محاسبه گردید. نسبت طول پوزه به طول سر، نسبت طول سر به طول کل، فاصله نوک پوزه تا سبیلک به طول سر، فاصله سبیلک تا دهان به طول سر، فاصله چشم تا نوک پوزه به طول سر، طول سبیلک به طول سر، فاصله سوراخ بینی تا نوک پوزه به طول سر، عرض پوزه در محل سبیلک به عرض سر، فاصله ساقه دمی به طول کل، فاصله بین باله سینه‌ای تا باله پشتی به طول کل.

برای ۳۲ پارامتر اندازه گیری شده میانگین، انحراف از معیار، آنالیز واریانس برای تیمارها و شاهد اندازه‌گیری شده و برای ارزیابی آماری یکبار فیلماهی شاهد با دورگه‌ها و یکبار تاسماهی شاهد با دورگه‌ها مقایسه و مقادیر محاسبه گردید. برای مقایسه و اختلاف بین میانگین از آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵درصد استفاده گردید میزان درصد هتروزیس

طبق فرمول ۱۰۰× $\frac{\text{میانگین والدین} - \text{میانگین ماهیان دو رگه متقابل}}{\text{میانگین والدین}}$ = H محاسبه شد که می‌توان برای هر صفت مورد نظر میزان هتروزیس را اندازه‌گیری نمود که در این بررسی صفت رشد مطالعه گردید. در این بررسی تمام محاسبات آماری از برنامه های کامپیوتری Quatro و Spss استفاده شد.

٤-۲- بررسی مولکولی

برای ارزیابی مولکولی ماهیان دورگه و چگونگی توارث درنسل F_1 ، باله دمی هریک از والدین و ۱۰ عدد بچه ماهی از هر تلاقی در ماهیان شاهد و دورگه گرفته شد. استخراج DNA هسته به روش فنل کلروفورم بشرح ذیل انجام شد (Pourkazemi, 1996).

۱-٤-۲- روش استخراج DNA (اقتباس از Pourkazemi, 1996)

۱- پنج میلی گرم از بافت باله دمی در اپندرف ۱/۵ میلی لیتری قرار داده شد.

۲- مقدار µl ۶۰۰ از بافر STE بر روی نمونه ریخته و با قیچی بافت هموژنیزه گردید.

۳- مقدار µl ۲۰ بافر SDS ۲۰درصد بر روی نمونه ریخته و خوب هم زده شد.

۴- مقدار µl ۱۰ پروتئیناز K (10 mg/ ml) بر روی نمونه افزوده و بمدت ۱۰ ساعت در حرارت ۵۵ درجه قرار گرفت.

۵- مقدار µl ۵۰۰ فنل به کل نمونه افزوده و بمدت ۱۰ دقیقه بر روی شیکر هم زده شد. سپس بمدت ۱۰ دقیقه با rpm ۱۳۰۰۰ سانتریفوژ گردید.

۶- فاز بالایی را با میکروپیپت جدا کرده و دور ریخته شد.

۷- میزان µl ۳۰۰ فنل و µl ۳۰۰ کلروفورم بهمراه µl ۱۲ ایزوآمیل الکل به نمونه افزوده شد.

۸- ۱۰ دقیقه بر روی شیکر قرار داده و پس از سانتریفوژ در rpm ۱۳۰۰۰ محلول روئی دور ریخته شد.

۹- مقدار µl ۵۰۰ کلروفورم+ µl ۲۵ ایزوآمیل الکل به نمونه افزوده شد.

۱۰- مرحله ۸ دوباره تکرار گردید.

۱۱- میزان µl ۸۰۰ الکل اتیلیک ۱۰۰درصد بر روی نمونه ریخته و خوب هم زده شد.

۱۲- بمدت ۳ دقیقه نمونه ها را با rpm ۶۰۰۰ سانتریفوژ کرده محلول روئی دور ریخته شد.

۱۳- میزان µl ۱۵۰ الکل ۷۰درصد به نمونه افزوده و سپس به مدت ۲ دقیقه در rpm ۱۳۰۰۰ سانتریفوژ گردید.

۱۴- الکل دور ریخته شد وDNA را در انکوباتور ۳۷ درجه قرار داده تا خشک گردد.

۱۵- میزان µl ۵۰ آب مقطر استریل بر روی DNA ریخته شد تا خوب حل گردد.

برای ارزیابی کیفیت DNA همه نمونه با آگارز ۵ درصد الکتروفورز و سپس با اتیدیوم برماید رنگ آمیزی شدند. برای بررسی چگونگی توارث از روش PCR با استفاده از پرایمرهای Microsatellite استفاده گردید. در این بررسی ۸ عدد پرایمر (۴ جفت) که اختصاصاً برای تاسماهی دریاچه‌ای (*Acipenser fulveseens*) طراحی شده بود استفاده گردید (May *et al*., 1997).

محلول PCR به شرح ذیل تهیه گردید.

- DNA	(100ng)	2µl
- PCR	Bufferr (10X)	5µl
- dNTP	(200µM)	8µl
- $MgCl_2$	(25 µM)	1µl
- Primer	(50 µM)	1µl
- *Taq*		0.3µl
- dWater		31.6µl

جایگاه ژنی، که دستیابی در بانک ژن و توالی پرایمرهای استفاده شده بشرح ذیل می‌باشد (May, *et. al.* 1997).

ردیف	شماره پرایمر	توالی پرایمر	کد دستیابی در بانک ژن	جایگاه ژنی
۱	۸-۹	GCTTGGTTGCTAGTTTGC GTACAGATGAGACCAGAGGC	U72736	Ls-57
۲	۱۰-۱۱	GATCAGGAGGGCAGAGNAAC CCCTGGATTTGAATTAACAG	U72738	Ls-62
۳	۱۲-۱۳	TTATTGCATGGTGTAGCTAAAC AGCCCAACACAGACAATATC	U72739	Ls-68
۴	۱۴-۱۵	CATCTTAGCCGTCTGTGGTAC CAGGTCCCTAATACAATGGC	U72730	Ls-19

پس از تهیه مخلوطی از مواد فوق در اپندروف های ۰/۵ میلی لیتری ریخته و طبق شرایط ذیل PCR شدند.

Stage1:	Denaturation	94 °C	3 min
	Cycle		1
Stage2:	Denaturation	94 °C	1 min
	Annealing	50 °C	30 sec
	Extention	72 °C	30 sec
	Cycle	35	
Stage3:	Extention	72 °C	5 min
	Cycle	5	

پس از اتمام واکنش PCR مقدار ۱۰ µl از محصول PCR بر روی ژل پلی اکریل آمید ۶درصد با ولتاژ ۲۲۰ V رانده شد و پس از اتمام الکتروفورز ژلها با روش نیترات نقره بشرح ذیل رنگ آمیزی (Pourkazemi 1996) و آرایش باندها دقیقاً ثبت گردید.

۲-٤-۲-طرز تهیه ژل پلی اکریلامید ٦درصد

آب مقطر (۲۷/۵ میلی لیتر)، پلی اکریلامید ۳۰درصد (۷/۵ میلی لیتر) بافر TBE (۳/۵ میلی لیتر) را در ارلن مایر ریخته و بخوبی هم زده شد و سپس به مدت ۴ دقیقه گاززدایی صورت گرفت. سپس مقدار ۳۰۰ میکرولیتر آمونیوم پرسولفات ۱۰ درصد و ۳۲/۵ میکرولیتر TEMED به محلول افزوده شد. پس از هم زدن محلول آماده شده در قالب شیشه ای از قبل آماده شده ریخته شد.

برای رنگ آمیزی با روش نیترات نقره ابتدا سه بافر A ، B و C باید بشرح ذیل تهیه گردد.

بافر A حاوی اتانول ۱۰درصد و اسید استیک ۵ درصد در حجم ۳۶۰ میلی لیتر آب

بافرB حاوی نیترات نقره ۰/۱ درصد در حجم آبی ۲۰۰ میلی لیتر

بافر C حاوی سود ۴/۵ درصد، $NaBH_4$ ۰/۱ درصد و فرمالدئید ۰/۱۵ درصد در ۳۰۰ میلی لیتر آب

ابتدا ژل بمدت ۳ دقیقه در بافر A (۲ بار) شستشو شده و سپس بمدت ۱۰ دقیقه در بافرB و سپس در بافرC بمدت ۱۰ دقیقه شستشو گردیدند.

۲-۵- بررسی سیتوژنتیک

برای شمارش تعداد کروموزومهای ماهیان از ۲ عدد نمونه از ماهیان شاهد و ۸ عدد از ماهیان دورگه پس از رسیدن به سن دو سالگی از ساقه دمی آنها بمقدار ۴ میلی لیتر خونگیری شد و در محیط RPM I + CFS + PHA کشت داده شد (Nuroozfashkhami *et al.*, 2000) پس از گذشت ۵ روز به محیط کشت کلشی سین ۰/۰۰۱ میلی گرم اضافه شد. جمع آوری سلولها و هیپوتونیزه، رنگ آمیزی و شمارش کروموزومها طبق روش اشاره شده در نوروز فشخامی (۱۳۷۹) بشرح ذیل تهیه گردید.

- ماهیان را در ماده بیهوش کننده MS-222 به غلظت ۰/۰۲۵ ppt بیهوش نموده و میزان ۴ میلی لیتر از ساقه دمی آنها خونگیری بعمل آمد.

- نمونه ها سپس در انکوباتور ۲۰ درجه سانتیگراد بمدت ۵ روز نگهداری و در طی این مدت هر ۱۲-۶ ساعت یکبار هم زده شد.
- پس از اتمام دوره انکوباسیون میزان ۱ میلی لیتر کلشی سین ۰/۰۰۱ mg در میلی لیتر به محیط کشت اضافه شد.
- پس از ۵ ساعت محیط کشت حاوی سلول بمدت ۱۰ دقیقه در ۱۲۰۰rpm سانتریفوژ گردیدند.
- پس از تخلیه محلول روئی، میزان ۴ میلی لیتر محلول هیپوتونیک کلرید پتاسیم ۰/۰۵ مول اضافه شد.
- نمونه ها در ۱۲۰۰ rpm بمدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شدند.
- پس از تخلیه محلول روئی، میزان ۴ میلی لیتر فیکساتیو سرد (اسید استیک و الکل اتیلیک) بروی نمونه افزوده شد (۳ بار تکرار).
- سوسپانسیون سلولی تهیه گردید و پرتاب بر روی لام، خشک نمودن لامها در دمای اطاق انجام شد و سپس با محلول گیمسای ۵ درصد رنگ آمیزی وپلاکهای متافازی در زیر میکروسکوپ شمارش گردید.

۶-۲-ارزیابی گنادهای جنسی (ماهیان شاهد و دورگه) از طریق بافت شناسی

جهت ارزیابی گنادهای جنسی ماهیان شاهد و دورگه از ۵ عدد ماهی ۲ ساله شاهد و دورگه نمونه برداری شد. برای این منظور ماهیان مورد نظر از وانهای پرورشی صید، بیومتری و پس از کالبد شکافی، بخشی از گنادهای جنسی با قیچی نمونه برداری و در محلول فیکساتیو بوئن (ترکیبی از اسید پیکریک، اسیداستیک و فرمالین) گذاشته شد. مراحل آبگیری نمونه ها طی دستور العمل زیر صورت گرفت (کاظمی و بهمنی، ۱۳۷۶). پس از اتمام مراحل ، نمونه ها در قالب های انباشته شده از پارافین خالص و تمیز قرار داده و بر روی مکعب های چوبی (۲*۱ سانتی متر مربع) فیکس و با میکروتوم به ضخامت ۲۵- ۵ میکرون برش داده شد.

۱-۶-۲-مراحل آبگیری بافت گنادهای جنسی ماهیان شاهد و تیمار

۱- برداشت نمونه از ماده فیکس شده
۲- قرار دادن نمونه در آب مقطر
۳- قرار دادن نمونه در الکل ۵۰ درجه
۴- قرار دادن نمونه در الکل ۷۰ درجه
۵- قرار دادن نمونه در الکل ۸۰ درجه

۶- قرار دادن نمونه در الکل ۹۶ درجه

۷- قرار دادن نمونه در الکل ۹۶ درجه

۸- قرار دادن نمونه در ۱- بوتانل

۹- قرار دادن نمونه در ۱- بوتانل

۱۰- قرار دادن نمونه در مخلوط سلوئیدن با روغن کرچک

۱۱- قرار دادن نمونه در کلروفروم

۱۲- قرار دادن نمونه در کلروفروم

۱۳- قرار دادن نمونه در مخلوط کلروفروم و پارافین خالص به نسبت یک به یک در انکوباتور ۳۷ درجه سانتیگراد

۱۴- قرار دادن نمونه در پارافین خالص و تمیز در انکوباتور ۵۶ درجه سانتیگراد

۱۵- قرار دادن نمونه در پارافین خالص و تمیز در انکوباتور ۵۶ درجه سانتیگراد

برشهای تهیه شده را در داخل آب گرم ۴۵ درجه سانتیگراد قرار داده و نمونه را روی لام سوار نموده و به کمک چسب (مخلوط سفیده تخم مرغ، گلیسیرین و تیمول) بافت برش داده شده بر روی لام چسبانده شد.

۳-۶-۲-رنگ آمیزی بافت

در این بررسی برای رنگ آمیزی بافت گنادها از روش هموتوکسیلن و ائوزین (Haematoxylin & Eosin) که یکی از روشهای رنگ آمیزی رایج و متداول در آزمایشگاههای بافت شناسی می باشد استفاده گردید (کاظمی و بهمنی، ۱۳۷۶). مراحل رنگ آمیزی بشرح ذیل می باشد:

۱- عبور لام حاوی نمونه بافت از گزیلل به مدت ۲ دقیقه

۲- عبور لام حاوی نمونه بافت از گزیلل به مدت ۳ تا ۵ دقیقه

۳- عبور لام حاوی نمونه بافت از الکل ۱۰۰ درجه به مدت ۱۰ حرکت

۴- عبور لام حاوی نمونه بافت از الکل ۱۰۰ درجه به مدت ۳ تا ۵ دقیقه

۵- عبور لام حاوی نمونه بافت از الکل ۹۶ درجه به مدت ۱۰ حرکت

۶- عبور لام حاوی نمونه بافت از الکل ۸۰ درجه به مدت ۱۰ حرکت

۷- عبور لام حاوی نمونه بافت از الکل ۷۰ درجه به مدت ۱۰ حرکت

۸- شستشوی لام حاوی نمونه با آب روان به مدت ۱ تا ۲ دقیقه

۹- عبور لام حاوی نمونه بافت از رنگ هماتوکسیلن به مدت ۵ دقیقه

۱۰- شستشوی لام حاوی نمونه بافت با آب روان به مدت ۱ تا ۲ دقیقه

۱۱- عبور لام حاوی نمونه بافت از اسید کلریدریک ۱درصد به مدت یک حرکت سریع

۱۲- شستشوی لام حاوی نمونه بافت با آب روان به مدت ۱ تا ۲ دقیقه

۱۳- عبور لام حاوی نمونه بافت از کربنات لیتیم (یا یک محیط بازی دیگر) به مدت ۳ یا ۴ حرکت

۱۴- شستشوی لام حاوی نمونه بافت با آب روان به مدت ۱ تا ۲ دقیقه

۱۵- عبور لام حاوی نمونه بافت از ائوزین به مدت حداکثر ۱۰ ثانیه

۱۶- عبور لام حاوی نمونه بافت از الکل ۷۰ درجه به مدت حداکثر ۱۰ ثانیه

۱۷- عبور لام حاوی نمونه بافت از الکل ۸۰ درجه به مدت حداکثر ۱۰ ثانیه

۱۸- عبور لام حاوی نمونه بافت از الکل ۹۶ درجه به مدت حداکثر ۱۰ ثانیه

۱۹- عبور لام حاوی نمونه بافت از الکل ۱۰۰ درجه به مدت حداکثر ۱۰ ثانیه

۲۰- عبور لام حاوی نمونه بافت از گزیلل به مدت ۱ دقیقه

۲۱- عبور لام حاوی نمونه بافت از گزیلل به مدت ۵ دقیقه

۲۲- ریختن یک قطره چسب بالزام[1] روی لام حاوی نمونه بافت و قرار دادن لامل بر روی لام

لامهای تهیه شده در زیر میکروسکوپ نوری بررسی کرده و برای مناطق مورد نظر با بزرگنمایی ۱۰۰۰ عکس تهیه گردیدند.

در این بررسی تمام محاسبات آماری شامل میانگین، انحراف از معیار، آنالیز واریانس برای تیمارها و شاهد انجام شد و برای مقایسه و اختلاف بین میانگین از آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵درصد و از برنامه‌های کامپیوتری Quatro و SPSS استفاده شد.

[1]. Canada Balsam

۳-نتایج

۳-۱-مرحله انکوباسیون

تعداد تخم فیلماهی در واحد گرم حداقل ۳۴، حداکثر ۳۹ و متوسط ۳۶ عدد و برای ماهی قره‌برون حداقل ۴۹ و حداکثر ۵۲ و متوسط ۵۰/۶ عدد بوده است. متوسط درصد لقاح در فیلماهی شاهد در مرحله ۴ تایی و ۳۵ تایی تخم به ترتیب ۶۶/۳ درصد و ۵۸/۶ درصد و برای قره‌برون به ترتیب ۷۳/۶ و ۷۹/۳ درصد بوده است (جدول شماره ۱).

نتایج نشان می‌دهد که از لحاظ تعداد تخم در گرم بین فیلماهی شاهد با دورگه (فیلماهی نر× تاسماهی ایرانی ماده) و بین تاسماهی ایرانی شاهد با دورگه (فیلماهی ماده × تاسماهی ایرانی نر) اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($P\leq0.003$).

درجه حرارت آب در انکوباتورها حداقل ۱۴/۵۳ و حداکثر ۱۶/۱۵ درجه سانتی‌گراد ($\overline{X}=۱۵/۴۰$) و در مرحله پرورش لارو در ونیرو حداقل ۱۴/۲ و حداکثر ۱۵/۷۳ درجه سانتی‌گراد ($\overline{X}=۱۴/۹۰$) بوده است. باتوجه به یکسان بودن درجه حرارت در انکوباتور و وانهای پرورش در ماهیان شاهد و تیمارهای دورگه اختلاف معنی‌داری در درجه حرارت محیط‌های تکثیر و پرورش مشاهده نگردید ($P\geq0.01$).

متوسط درصد لقاح در مرحله ۴ تایی برای فیلماهی و تاسماهی ایرانی شاهد به ترتیب ۶۶/۳ و ۷۳/۷ و در مرحله ۳۵ تایی به ترتیب ۵۸/۶ و ۷۹/۳ درصد بود.

درصد لقاح در ماهیان دورگه متفاوت بوده بطوریکه در تلاقی فیلماهی نر با تاسماهی ایرانی ماده حداقل ۷۶ و حداکثر ۹۰ درصد (متوسط ۸۳/۸ درصد) ولی درماهیان دورگه با تلاقی برگشت (فیلماهی ماده× تاسماهی ایرانی نر) حداقل ۳۵ و حداکثر ۷۴ درصد (متوسط ۵۱/۳ درصد) بوده است و این روند در تخم لقاح یافته در مرحله ۳۵تایی هم مشاهده گردید (جدول شماره ۱).

ولی از لحاظ درصد لقاح در مرحله ۴ تایی و ۳۵ تایی، تعداد لاروهای حاصله، میزان تلفات تا زمان تغذیه فعال و تعداد لارو باقیمانده بین تیمارهای شاهد و دورگه اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید ($P\geq0.01$).

متوسط تعداد لارو حاصله از ماهیان شاهد قره‌برون ($\overline{X}=۶۲۳۸$) بیشتر از فیلماهی شاهد ($\overline{X}=۳۵۹۱$) بود ولی متوسط تعداد لارو در ماهیان دورگه متفاوت بوده بطوریکه در تلاقی فیلماهی ماده با تاسماهی ایرانی نر متوسط تعداد لارو حاصله ۱۸۳۳ عدد و در تلاقی برگشت تاسماهی ایرانی ماده با فیلماهی نر، متوسط تعداد لارو حاصله ۵۷۵۴ عدد بوده است. این تفاوت عمدتاً بخاطر زیاد بودن تعداد تخم در واحد گرم تاسماهی ایرانی نسبت به فیلماهی است که در

این بررسی ۱/۴ برابر فیلماهی بود. میزان تلفات لارو در مرحله تغذیه فعال متغیر بود و نوسانات آن هم در ماهیان شاهد و هم در ماهیان دورگه مشاهده گردید (جدول ۱). تعداد لارو باقیمانده برای مرحله پرورش فینگرلینگ در تیمارها متفاوت بود و بیشترین (۶۱۴۰ عدد) مربوط به تیمار شاهد تاسماهی ایرانی و کمترین تعداد مربوط به تلاقی فیلماهی ماده و تاسماهی ایرانی برابر با ۴۱۹ عدد بوده است (جدول شماره ۱).

بدون شک کیفیت مولدین نر و ماده نقش مؤثری در میزان بازماندگی لاروها داشته است. علاوه بر آن از آنجائیکه تاسماهی ایرانی و همچنین دورگه‌ها زودتر از زمان متداول و رایج تکثیر شده‌اند عامل درجه حرارت آب می‌تواند در کاهش بازماندگی نقش داشته باشد زیرا در مراکز تکثیر ماهیان خاویاری فیلماهی عمدتاً در درجه حرارت آب ۱۵-۱۲ درجه و تاسماهی با اندکی تأخیر در درجه حرارت ۲۰-۱۸ درجه تکثیر می‌یابد.

۲-۳- مقایسه میزان رشد ماهیان شاهد و دورگه

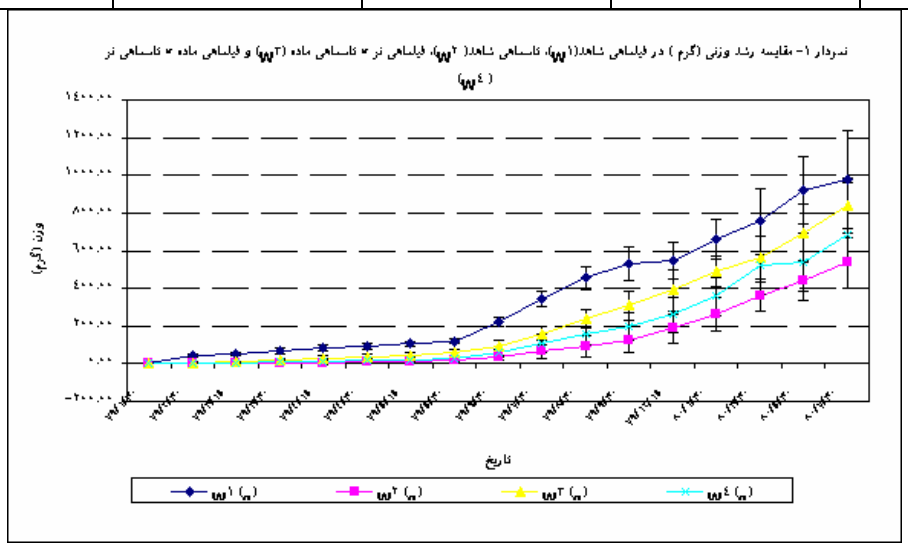
نتایج این بررسی نشان می‌دهد که سرعت رشد ماهیان شاهد و دورگه در سنین مختلف متفاوت می‌باشد. بطوریکه سرعت رشد تاسماهی ایرانی در مقایسه با فیلماهی شاهد و دورگه‌ها کمتر بوده و این روند علی‌الخصوص در ماههای اول پرورش بسیار مشهود است.

فیلماهی شاهد در طی سه ماهه اول پرورش از متوسط وزن ۰/۶۸ ± ۳/۹ گرم با متوسط افزایش وزن روزانه ۰/۹۴ گرم به وزنی معادل به ۱۵/۶± ۹۲/۷۲ گرم رسید در حالیکه این مقدار برای تاسماهی ایرانی شاهد از وزن اولیه ۰/۵۸ گرم به افزایش وزن روزانه معادل ۰/۱۳ گرم به وزنی معادل ۷± ۱۲/۹۸ رسید. روند رشد ماهیان دورگه حاصل از تلاقی فیلماهی ماده با تاسماهی ایرانی نر و سپس تلاقی برگشت آن بمراتب بهتر از ماهیان شاهد قره‌برون بود (جدول ۲ و نمودار ۱).

جدول شماره ۲- مقایسه وزن فیل ماهی و قره‌برون و دورگه‌های حاصله (در طی ۱۸ ماه)

W_4= قره‌برون نر × فیل ماهی ماده و W_3= قره برون شاهد، W_2 = فیل ماهی شاهد، W_1(= فیل ماهی نر × قره‌برون ماده)

ردیف	تاریخ نمونه برداری	W_1±Sd	W_2±Sd	W_3±Sd	W_4±Sd
۱	۷۹/۱/۳۰	۳/۹۱±۰/۶۸	۰/۵۸±۰/۳۵	۲/۱۰±۰/۸۸	۱/۵۴±۱/۱۳
۲	۷۹/۲/۳۰	۴۲/۰۶±۷/۲۷	۱/۳۵±۰/۶۴	۶/۶۴±۲/۷۸	۴/۷۵±۳/۵۴
۳	۷۹/۳/۱۵	۵۲/۰۶±۹	۲/۶۹±۱/۲۹	۱۰/۴۰±۴/۳۷	۶/۷۵±۳/۵۱
۴	۷۹/۳/۳۰	۶۶/۲۶±۱۴/۶۳	۴/۳۹±۴/۹۸	۲۲/۶۷±۷/۹۶	۱۰/۱۲±۷/۸۱
۵	۷۹/۴/۱۵	۸۵/۲۶±۱۵/۳۴	۵/۷۸±۶/۹۱	۳۰/۶۶±۹/۶۸	۱۳/۵۰±۹/۸۷
۶	۷۹/۴/۳۰	۹۲/۷۲±۱۵/۵۹	۱۲/۹۸±۷/۰۰	۳۷/۳۶±۱۳/۱۹	۱۵/۳۱±۱۰/۷۵
۷	۷۹/۵/۱۵	۱۰۶/۲۹±۱۴/۱۹	۱۳/۵۲±۵/۶۰	۴۴/۴۰±۱۵/۵۹	۲۲/۰۰±۱۲/۴۶
۸	۷۹/۵/۳۰	۱۱۹/۳۶±۱۲/۶۸	۲۰/۶۵±۷/۱۵	۵۷/۲۲±۱۷/۳۲	۲۸/۵۸±۱۸/۰۳
۹	۷۹/۶/۳۰	۲۲۱/۸۴±۲۲/۳۳	۳۳/۹۳±۱۲/۵۹	۹۵/۸۴±۲۵/۴۶	۵۶/۰۷±۲۱/۲۲
۱۰	۷۹/۷/۳۰	۳۴۰/۸۳±۴۰/۲۸	۶۴/۹۵±۳۵/۳۰	۱۶۰/۹۹±۳۵/۳۸	۱۰۷/۰۲±۴۷/۱۴
۱۱	۷۹/۸/۳۰	۴۵۴/۹۵±۶۲/۳۴	۹۳/۵۹±۵۵/۰۴	۲۳۹/۲۱±۴۹/۴۹	۱۵۹/۲۳±۵۶/۳۷
۱۲	۷۹/۹/۳۰	۵۳۰/۴۷±۸۷/۳۶	۱۲۶/۳۹±۶۷/۶۷	۳۰۸/۰۳±۷۷/۳۹	۱۹۸/۰۰±۷۵/۱۳
۱۳	۷۹/۱۲/۱۵	۵۴۸/۱۲±۹۷/۶۲	۱۸۶/۹۹±۷۷/۸۷	۳۸۹/۶۱±۱۰۹/۷۶	۲۵۹/۲۴±۹۰/۲۴
۱۴	۸۰/۱/۳۰	۶۶۰/۱۴±۱۰۷/۱۱	۲۶۲/۸۱±۹۰/۷۷	۴۹۰/۵۳±۸۳/۷۴	۳۵۸/۷۵±۱۰۱/۲۵
۱۵	۸۰/۳/۳۰	۷۵۵/۷±۱۷۶/۲۹	۳۵۶/۷۱±۷۷/۱۴	۵۶۲/۸۵±۱۱۷/۱۴	۵۲۳/۲۶±۱۵۲/۹۵
۱۶	۸۰/۵/۳۰	۹۲۳/۴۷±۱۷۸/۰۹	۴۴۳/۴۵±۱۰۶/۴۸	۶۹۵/۰۸±۱۵۶/۰۳	۵۳۹/۴۷±۱۵۳/۳۵
۱۷	۸۰/۷/۳۰	۹۷۵/۱۰±۲۶۰/۳۷	۵۳۵/۱۵±۱۳۱/۵۷	۸۴۰/۳۱±۱۴۳/۶۲	۶۸۱/۸۵±۲۸۱/۸۴



طی پرورش ۱۸ ماهه، نتایج نشان داد که متوسط وزن فیلماهی شاهد از ۰/۶۸ ± ۳/۹۱ به ۱۰ ± ۹۷۵ گرم رسید و سپس ماهی دورگه حاصل از تلاقی فیلماهی ماده با تاسماهی ایرانی نر از متوسط وزن ۰/۳۵ ±۲/۱۰ گرم به ۱۴۳/۶۲ ± ۸۴۰/۳۱ گرم و در مرتبه سوم دورگه ناشی از تلاقی تاسماهی ایرانی ماده با فیلماهی نر از متوسط وزن ۱/۱۳± ۱/۵۴ گرم به ۲۸۱/۸۴ ± ۶۸۱/۸۵ گرم رسید. کندترین رشد را تاسماهی ایرانی شاهد داشته که دوره مشابه از متوسط ۰/۳۵ ± ۰/۵۸ گرم به ۱۳۱/۵۷± ۵۳۵/۱۵ گرم رسید.

سرعت رشد روزانه ماهیان شاهد و دورگه در سنین مختلف متفاوت بود و نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که فیلماهی شاهد در شش ماه اول پرورش بیشترین سرعت رشد روزانه را دارا بود بطوریکه در سه ماهه اول پرورش با افزایش وزن معادل ۰/۹۴ گرم در روز به میزان ۷/۲ برابر تاسماهی ایرانی شاهد، ۲/۵ برابر سرعت رشد دورگه فیلماهی ماده و تاسماهی ایرانی نر و بمیزان ۶/۳ برابر سرعت رشد روزانه دورگه تاسماهی ایرانی ماده و فیلماهی نر را دارد. با توجه به رژیم غذایی فیلماهی این امر نشان می‌دهد که این گونه خیلی سریعتر نسبت به سایر گونه‌ها به غذای دستی روی آورده و براحتی می‌تواند غذای کنسانتره را در متابولیسم رشد خود بکارگیرد. ولی در ادامه پرورش سرعت رشد روزانه ماهیان روند مستمری نداشته بطوریکه در سه ماهه دوم، آهنگ رشد فیلماهی کاسته شده و ماهیان دورگه و تاسماهی ایرانی شاهد نسبت به سه ماهه اول پرورش بهتر رشد کردند. یکی از دلایل این امر علاوه بر رژیم غذایی و دستگاه گوارش ماهیان مورد بررسی درجه حرارت آب در سه ماهه دوم سال است که نسبتاً افزایش یافته و در این بررسی حتی به ۳۰ درجه سانتی‌گراد هم رسید. احتمال می‌رود که فیلماهی در درجه حرارت بالا (بیش از ۲۶-۲۴ درجه سانتی‌گراد) از سرعت رشد مناسبی برخوردار نباشد.

نکته جالب توجه اینکه سرعت رشد روزانه ماهیان دورگه بویژه دورگه حاصله از تلاقی فیلماهی ماده و تاسماهی ایرانی نر در شش ماهه دوم پرورش معادل ۱/۸۴ گرم در روز بوده ولی برای فیلماهی شاهد در طی همین مدت ۱/۷۸ گرم بود. در شش ماهه سوم پرورش علاوه بر دورگه فوق، سرعت رشد روزانه دورگه حاصل از تلاقی فیلماهی نر × تاسماهی ایرانی ماده هم از فیلماهی شاهد پیشی گرفته و مقادیر آن به ترتیب ۱/۷۴ و ۱/۷۰ گرم در روز رسید (جدول شماره ۳).

جدول شماره ۳- میزان متوسط رشد روزانه (گرم) در ماهیان شاهد دورگه (فیلماهی شاهد =W1، قره‌برون شاهد=W2، فیلماهی ماده × قره‌برون نر = W3 و فیلماهی نر × قره‌برون ماده = W4)

تیمارها / مدت پرورش	W1	W2	W3	W4
سه ماهه اول پرورش	۰/۹۴	۰/۱۳	۰/۳۸	۰/۱۵
سه ماهه دوم پرورش	۲/۶۷	۰/۵۶	۱/۳۳	۰/۹۹
شش ماهه دوم	۱/۷۸	۱/۱۱	۱/۸۴	۱/۴۱
شش ماهه سوم	۱/۷۰	۱/۴۷	۱/۸۹	۱/۷۴

در این بررسی درصد هتروزیس که یکی از شاخص‌های بسیار مهم در اندازه‌گیری میزان برتری فرزندان دورگه نسبت به والدین است مقادیر متفاوتی از خود نشان داده است. طی ۱۷ مرحله نمونه‌برداری، مقادیر درصد هتروزیس متغیر بود بطوریکه از ۱۸/۹۳- در اولین بیومتری تا ۰/۷۹ پس از ۱۸ ماه پرورش در آخرین مرحله نمونه‌برداری بوده است. میانگین کل درصد هتروزیس ۳۲/۶۹- = $\Sigma\overline{H}$ بوده است (جدول شماره ۴).

جدول شماره ٤- متوسط هتروزیس (H) در طی ۱۷ بار نمونه‌برداری

ردیف	$\frac{W_1+W_2}{2}=A$	$\frac{W_3+W_4}{2}=B$	$H=\frac{B_1-A_1}{B_1}\times 100$
۱	۲/۲۴۵	۱/۸۲	-۱۸/۹۳
۲	۲۱/۷۰۵	۵/۷۰	-۷۳/۷۶
۳	۲۷/۳۷۵	۸/۵۸	-۶۸/۶۸
۴	۳۵/۳۲۵	۱۶/۳۹	-۵۳/۵۹
۵	۴۵/۵۲	۲۲/۰۸	-۵۱/۴۹
۶	۵۲/۸۵	۲۶/۳۶	-۵۰/۱۷
۷	۵۹/۹۵	۳۳/۲۰	-۴۴/۵۸
۸	۷۰/۰۰	۴۲/۹۰	-۳۸/۷۲
۹	۱۲۷/۸۹	۷۵/۹۶	-۴۰/۶۰
۱۰	۲۰۲/۸۹	۱۳۴/۰۱	-۳۳/۹۵
۱۱	۲۷۴/۲۷	۱۹۹/۲۲	-۲۷/۳۶
۱۲	۳۲۸/۴۳	۲۵۳/۰۲	-۲۲/۹۶
۱۳	۳۶۷/۵۵	۳۲۴/۴۳	-۱۱/۷۳
۱۴	۴۶۱/۴۸	۴۲۴/۶۴	-۷/۹۸
۱۵	۵۵۶/۲۱	۵۴۳/۰۶	-۲/۳۶
۱۶	۶۸۳/۴۶	۶۱۷/۲۸	-۹/۶۸
۱۷	۷۵۵/۱۳	۷۶۱/۰۸	۰/۷۹

۳-۳-پارامترهای مورفولوژی و مریستیک

میانگین و انحراف از معیار ۳۲ پارامتر ماهیان شاهد و دورگه محاسبه گردید و برای مقایسه پارامترهای اندازه‌گیری شده یکبار آنالیز واریانس، انحراف از معیار و تست دانکن پارامترهای فیلماهی شاهد با دورگه‌ها و بار دوم تاسماهی شاهد با دورگه‌ها مقایسه گردید که نتایج حاصله بشرح ذیل است.

الف- مقایسه فیلماهی شاهد با دورگه‌ها

در مقایسه بین فیلماهی شاهد و ماهیان دورگه از ۳۲ پارامتر اندازه‌گیری شده ۲۳ پارامتر اختلاف معنی دار مشاهده گردید ($P\leq0.01$) و ۹ پارامتر شامل طول پوزه، فاصله نوک پوزه تا ابتدای باله پشتی، اندازه سر در محل چشم، قطر افقی چشم، فاصله بین دو چشم، تعداد پلاک‌های شکمی، طول باله سینه‌ای و پشتی، اندازه باله مخرجی و فاصله بین باله سینه‌ای تا باله پشتی اختلاف معنی‌دار نشان نداد ($P\geq0.01$) (جدول ۵).

ب- مقایسه بین تاسماهی ایرانی شاهد با دورگه‌ها

از ۳۲ پارامتر اندازه‌گیری شده فقط در یک پارامتر تعداد پلاک‌های شکمی در مقایسه بین تاسماهی شاهد و دورگه‌ها اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید و در ۳۱ پارامتر اختلاف معنی‌دار بوده است (جدول ۵).

در مقایسه بین آنالیز آماری گروه الف و ب مشخص می‌گردد که ماهیان دورگه بیشتر به فیلماهی شباهت دارند و فقط در یک پارامتر تعداد پلاک‌های شکمی با تاسماهی ایرانی شباهت داشته و اختلاف معنی‌دار مشاهده نگردید($P\geq0.01$).

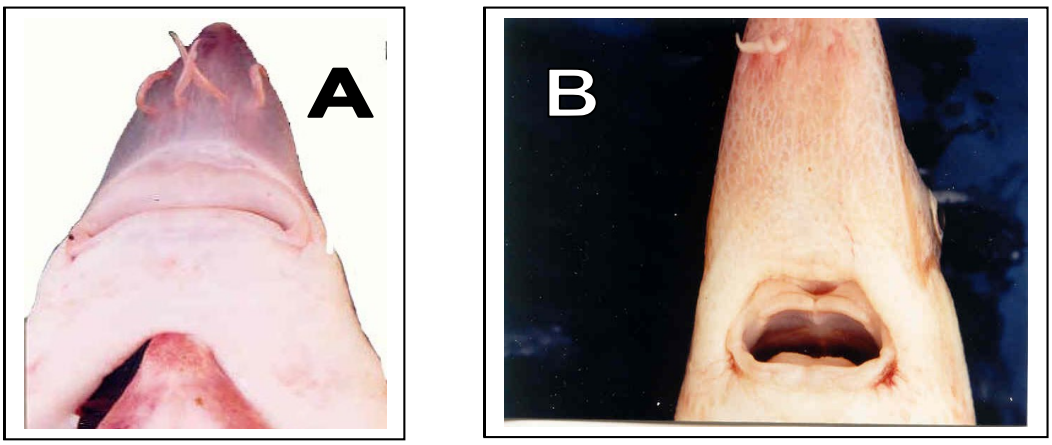
جدول ۵- مقایسه میانگین، انحراف معیار پارامترهای مورفومتریک و مریستیک فیلماهی شاهد با ماهیان دورگه

ردیف	پارامترها	فیلماهی شاهد	فیلماهی نر × قره‌برون ماده	فیلماهی ماده × قره‌برون نر	اختلاف معنی‌دار فیلماهی شاهد با دورگه‌ها	تاسماهی شاهد	اختلاف معنی‌دار بین تاسماهی شاهد با دورگه‌ها
۱	طول کل	۷۶۲/۵ ±۵۲/۲	۷۱۳/۲±۶۱/۷	۷۲۹±۳۰/۲	+	۶۴۵±۴۴/۸	+
۲	طول فورک	۶۵۸ ± ۶۶/۴	۶۱۰±۵۶/۸	۶۳۰/۵±۳۳/۹	+	۵۵۲/۲ ±۳۹/۰۸	+
۳	طول سر	۱۵۷/۵±۹/۹	۱۴۱±۱۰/۳	۱۴۷/۵ ±۵/۵	+	۱۲۲/۰±۸/۳	+
۴	طول پوزه	۶۹/۲ ±۳/۷	۶۷/۲±۵/۴	۶۸/۸ ±۳۰/۲	−	۵۸/۷±۳/۹	+
۵	فاصله سوراخ بینی تا پوزه	۵۶/۲±۴/۳	۴۶/۰۹±۵/۰۶	۴۸/۹±۴/۰۵	+	۳۵/۴±۵/۴	+
۶	عرض پوزه در محل سیلک	۴۰/۱ ±۲/۴	۳۱/۵ ±۲/۹	۳۲/۷±۲/۲	+	۲۷/۷±۲/۰۴	+
۷	فاصله چشم تا نوک پوزه	۶۳/۵ ±۴/۱	۵۶/۱±۵/۸	۵۷/۵±۳/۲	+	۴۶/۵±۵/۱	+
۸	فاصله نوک پوزه تا ابتدای باله پشتی	۴۴۱/۷±۳۴/۲	۴۲۴±۴۱/۰۲	۴۲۹/۷±۱۸/۴	−	۳۶۹/۱±۸۳/۱	+
۹	طول سیلک	۲۶/۹±۱/۹	۱۹/۹±۳/۵	۲۱/۸±۳/۰۷	+	۱۳/۵±۲/۶	+
۱۰	اندازه سر در انتها	۶۸/۶±۵/۲	۶۲/۵±۶/۲۵	۶۵/۳±۳/۳	+	۵۴/۵±۳/۵	+
۱۱	اندازه سر در محل چشم	۴۲/۰۳±۴/۱۱	۴۲/۳±۳/۶	۴۳/۸±۲/۸	−	۳۸/۵±۱/۹	+
۱۲	فاصله نوک پوزه تا سیلک	۳۳/۲ ± ۲/۷	۲۴/۱±۳	۲۳/۴±۲/۵	+	۱۵/۷±۳/۳	+
۱۳	فاصله بین سیلک تا دهان	۳۷/۷±۲/۹	۴۷/۴±۳/۸	۴۶/۵±۲/۵	+	۴۳/۱۸±۲/۸	+
۱۴	قطر افقی چشم	۱۲/۰۴±۰/۹	۱۱/۹۹±۰/۴۷	۱۲/۲±۰/۴۶	−	۱۱/۳±۰/۵	+
۱۵	فاصله بین دو چشم	۳۷/۸±۲/۳	۳۸/۷±۳/۸	۳۷/۸±۱/۸	−	۳۴/۳±۲/۴	+
۱۶	تعداد شعاع باله پشتی	۵۷/۳±۲/۲	۴۴/۱±۳/۷	۴۸/۹±۴/۴	+	۳۶/۵±۴/۶	+
۱۷	تعداد شعاع باله مخرجی	۳۱/۴±۱/۶	۲۸/۳±۱/۸	۳۰/۸±۱/۷	+	۲۹/۲±۱/۴	+
۱۸	تعداد پلاک‌های پشتی	۱۲/۹±۰/۷	۱۲/۱±۱/۱	۱۲/۶±۰/۸	+	۱۱/۱۵±۱/۱	+
۱۹	تعداد پلاک پهلوئی	۴۲±۲/۸	۳۲/۸±۲/۸	۳۶/۸±۲/۸	+	۳۲/۱±۲/۷	+
۲۰	تعداد پلاک‌های شکمی	۱۲±۱/۱	۱۱/۸±۱/۳	۱۱/۱±۱/۱	+	۱۱/۲±۰/۹	−
۲۱	طول باله سینه‌ای	۸۴/۷±۷/۵	۸۲±۷/۳	۸۳/۷±۶/۲	−	۷۳/۵±۵/۶	+
۲۲	طول باله پشتی	۶۴±۶/۴	۶۰/۲±۸/۶	۶۳/۷±۷/۰۴	−	۵۷±۶/۱	+
۲۳	اندازه باله پشتی	۴۴/۵±۴/۸	۳۹±۸/۲	۴۳/۷±۶/۰۴	+	۳۶/۲±۳/۹	+
۲۴	طول باله شکمی	۵۴/۲±۵/۴	۵۰/۲±۶/۳	۵۳/۲±۵/۱	+	۴۵/۵±۴/۸	+
۲۵	طول پایه باله مخرجی	۴۰/۲±۴/۷	۳۶/۲±۴/۸	۴۱/۵±۴/۸	+	۳۲±۳/۴	+
۲۶	اندازه باله مخرجی	۴۳±۵/۴	۴۱/۲±۶/۰۴	۴۳±۳/۷	−	۳۶/۵±۳/۶	+
۲۷	کمترین ارتفاع بدن	۲۷/۰±۲/۳	۲۲/۷±۲	۲۳/۱±۱/۷	+	۱۹/۷±۱/۵	+
۲۸	بیشترین ارتفاع بدن	۱۰۳/۰۶±۹/۸	۷۹/۰۹±۶/۵	۸۱/۶±۶/۱	+	۶۳/۶±۵/۷	+
۲۹	فاصله باله سینه‌ای تا باله پشتی	۲۶۴±۶۰/۳	۲۸۱/۵±۳۲	۲۷۳/۵±۱۶/۰۶	−	۲۵۵/۵±۲۰/۸	+
۳۰	طول ساقه دمی	۱۲۳/۲±۸/۹	۱۱۰±۱۱/۰۰۲	۱۱۸±۹/۴	+	۱۰/۲±۷/۱۵	+
۳۱	پهنای دهان	۵۴/۶±۳/۳	۳۸/۸±۳/۷	۴۱/۳±۲/۷	+	۳۴/۱±۳/۵	+
۳۲	وزن شکم پر	۲۰۷۲/۵±۴۹۸	۱۳۵۱/۵±۳۳۹	۱۴۸۷/۵±۲۳۹/۴	+	۸۴۲/۵±۱۶۶/۴	+

در مقایسه نسبت‌ها صفات مورفولوژی بین فیلماهی شاهد با دورگه حاصل از تلاقی تاسماهی ایرانی نر و فیلماهی ماده در ۷ مورد و همچنین مقایسه فیلماهی شاهد با (تاسماهی ایرانی ماده × فیلماهی نر) در ۸ مورد اختلاف معنی‌دار مشاهده گردید ($P\leq0.01$) (جدول ۶). همچنین در مقایسه بین صفات مورفومتریک تاسماهی ایرانی شاهد با دورگه‌ها در ۴ الی ۵ مورد اختلاف معنی‌دار مشاهده گردید ($P\leq0.01$) (جدول ۶).

از لحاظ مورفولوژی بین ماهیان شاهد (فیلماهی و تاسماهی ایرانی) و ماهیان دورگه تفاوت ظاهری کاملاً مشهود بوده و تفکیک آنها در مقایسه با والدین بخوبی امکان‌پذیر است.

بعنوان مثال لب فیلماهی بزرگ و تمام فاصله زیر سر را گرفته و لب تاسماهی ایرانی کوچکتر و در بخش زیر سر و در ناحیه میانی قرار دارد ولی در دورگه‌ها وضعیت حد واسط داشته و از لحاظ آماری هم با والدین اختلاف معنی‌داری را نشان می‌دهد $P\leq0.01$ (تصاویر ۱ و ۲).



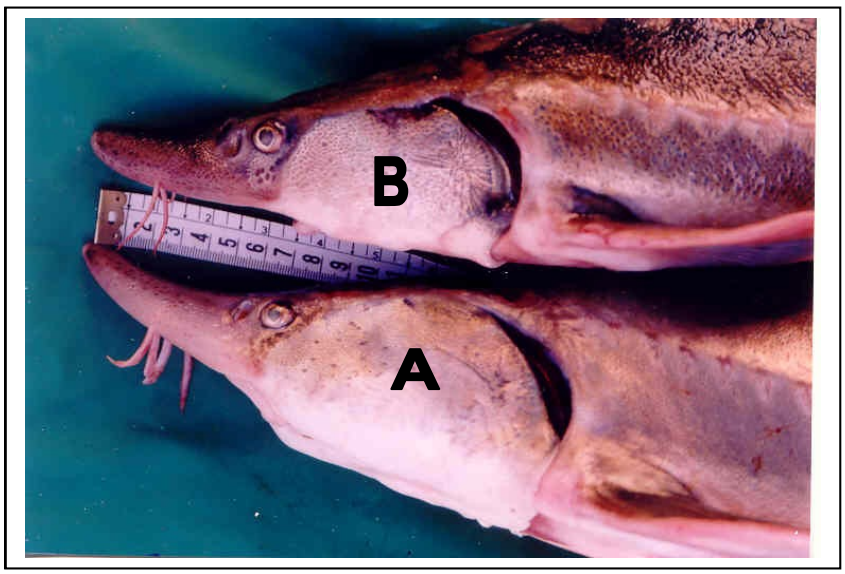
تصویر شماره ۱ – شکل و موقعیت لب در فیلماهی(A) و در تاسماهی ایرانی (B)

(فیلماهی شاهد)

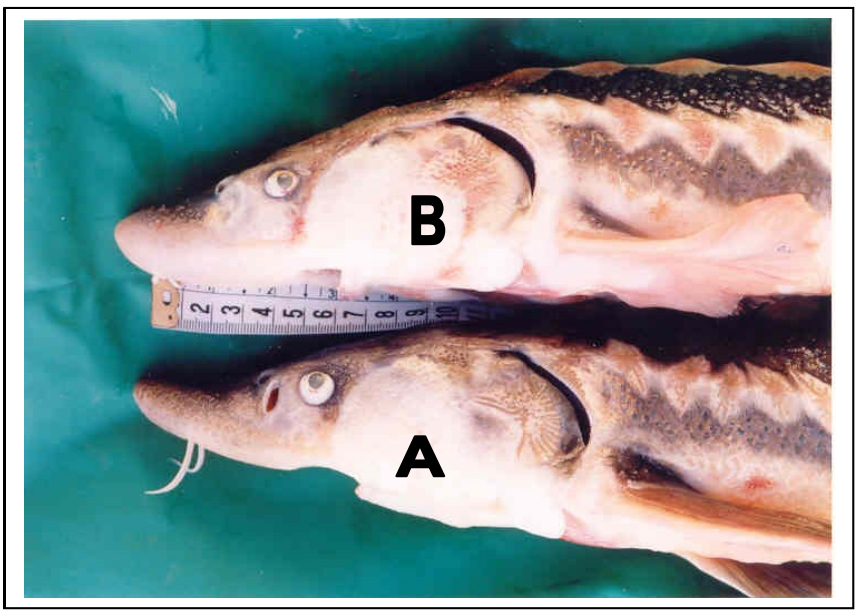
(تاسماهی ایرانی شاهد)

تصویر شماره ۲ – شکل و موقعیت لب در دورگه فیلماهی ماده × تاسماهی ایرانی نر (A) و فیلماهی نر × تاسماهی ایرانی ماده (B)

طول سر (فاصله بین نوک پوزه تا انتهای سرپوش آبششی) در ماهیان شاهد و دورگه متفاوت بوده و اختلاف معنی‌داری را نشان می‌دهد ($P\leq0.01$) و از لحاظ ظاهری کاملاً آشکار و قابل رویت است (تصاویر ۳ و ۴) .



تصویر شماره ۳- مقایسه طول سر بین فیل ماهی شاهد(A) و هیبرید حاصل از تلاقی فیلماهی نر × تاسماهی ایرانی ماده(B)



تصویر شماره ٤- مقایسه طول سر بین تاسماهی ایرانی شاهد(A) و دورگه حاصل از تلاقی فیلماهی ماده × تاسماهی ایرانی نر(B)

طول و عرض پوزه هم در ماهیان شاهد و دورگه‌ها کاملاً متفاوت بوده و بخوبی قابل تشخیص است. تعدادی از تصاویر گرفته شده از این مقایسه در ذیل ارائه گردیده است (تصاویر ۵، ۶ و ۷).

تصویر شماره ۵ – طول و عرض پوزه در فیلماهی شاهد (A) و مقایسه آن با دورگه حاصل از تلاقی فیلماهی ماده × تاسماهی ایرانی نر (B)

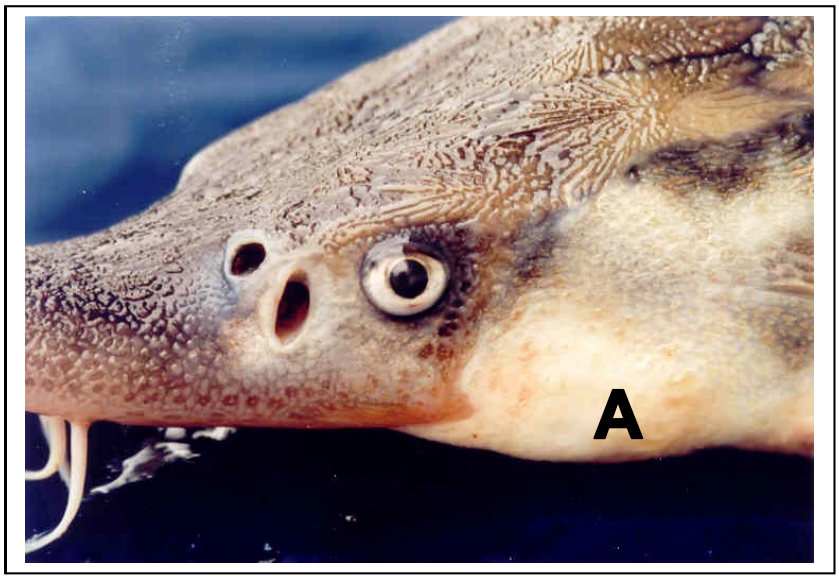
تصویر شماره ٦ – طول و عرض پوزه در تاسماهی ایرانی شاهد (A) و مقایسه آن با دورگه حاصل از تلاقی فیلماهی ماده × تاسماهی ایرانی نر (B)

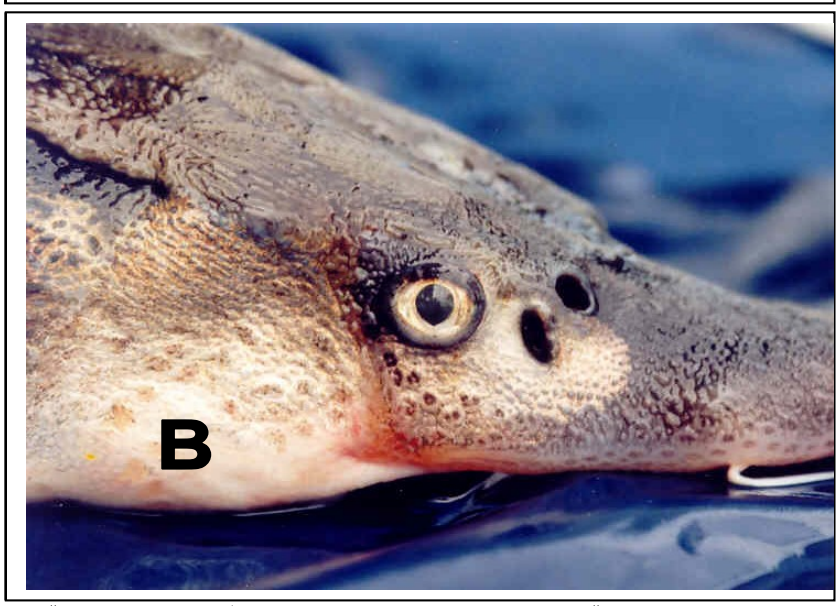
تصویر شماره ۷ – طول و عرض پوزه در تاسماهی ایرانی شاهد (A) و مقایسه آن با دورگه حاصل از تلاقی فیلماهی نر × تاسماهی ایرانی ماده (B)

فاصله سوراخ بینی تا نوک پوزه در ماهیان شاهد و دورگه اختلاف معنی داری مشاهده شد($P\leq0.01$). ، قطر چشم بین فیل ماهی و ماهیان دورگه اختلاف معنی داری مشاهده نگردید ولی در مقایسه بین ماهیان دورگه با تاسماهی ایرانی شاهد این اختلاف معنی دار بود($P\leq0.01$) (تصاویر ۸ و ۹).

تصویر شماره ۸ – موقعیت چشم و سوراخ بینی در تاسماهی ایرانی شاهد

تصویر شماره ۹ – موقعیت چشم و سوراخ بینی در فیلماهی شاهد





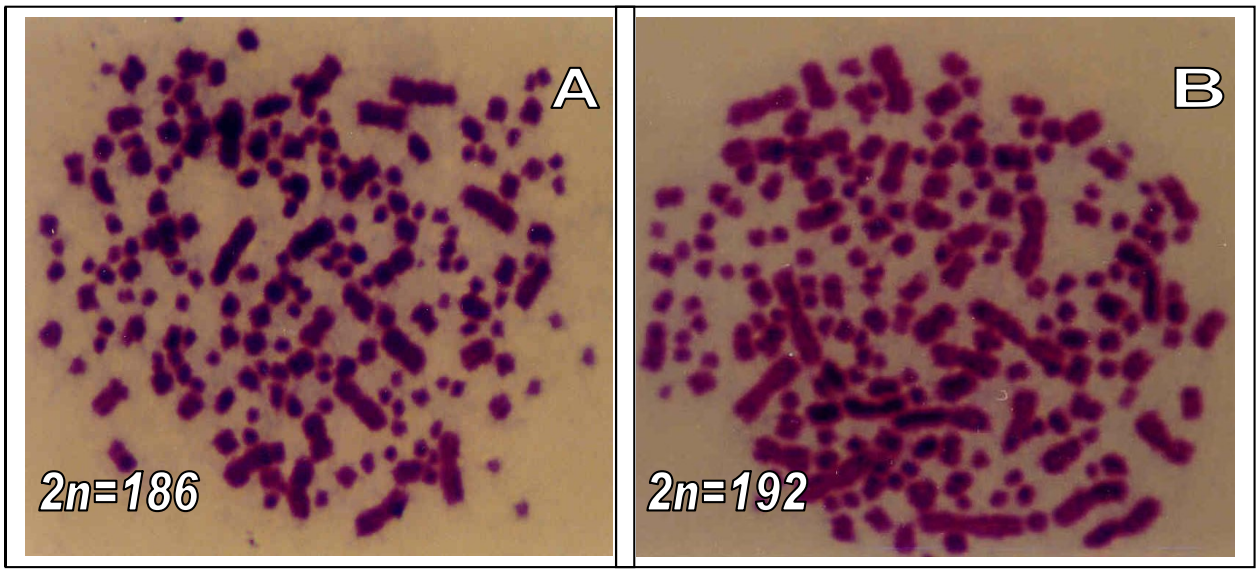
تصویر شماره ۱۰ – موقعیت چشم و سوراخ بینی در دورگه حاصل از تلاقی
تاسماهی ایرانی ماده × فیلماهی نر(A) و دورگه تولیدی از تلاقی تاسماهی ایرانی نر × فیلماهی ماده (B)

طول کل و وزن بدن ماهیان شاهد و دورگه در پایان دوره پرورش (۱۸ ماهه) بخوبی متمایز بوده بطوریکه اختلاف معنی داری در مقایسه دو پارامتر فوق در بین ماهیان شاهد و دورگه مشاهده گردید ($P\leq0.01$).

تصویر شماره ۱۱ – شکل ظاهری و مقایسه طول و ماهیان پس از ۱۸ ماه پرورش، به ترتیب عبارتند از : فیلماهی شاهد(A)، فیلماهی نر× تاسماهی ایرانی ماده(B)، فیلماهی ماده× تاسماهی ایرانی نر(C) وتاسماهی ایرانی شاهد(D)

٤-٣-بررسی سیتوژنتیک

براساس کروموزومهای شمارش شده از ۴۰ پلاک متافازی بدست آمده در این بررسی مشخص گردید که ماهیان دورگه دارای ۶± ۱۹۰=۲n کروموزوم هستند (تصویر شماره ۱۲) .



تصویر شماره ۱۲- گسترش کروموزومی ماهیان حاصل از دورگه‌گیری فیلماهی ماده × تاسماهی ایرانی نر (A) و دورگه حاصله از تلاقی تاسماهی ایرانی ماده و فیلماهی نر (B)

همانند کروموزومهای سایر تاسماهیان در ماهیان دورگه حدود $\frac{1}{2}$ تعداد کل کروموزمها را میکروکروموزوم‌ها، تشکیل می‌دهد. از آنجائیکه تعداد کروموزمهای فیلماهی ۳±۱۱۸=۲n (Vasiliev & Bristein, 1987) و تاسماهی ایرانی (۴± ۲۵۸=۲n) (Nowruzfashkhami *et al*., 2000) گزارش شده ماهیان دورگه حد واسط تعداد کروموزوم‌های والدین را باید بروز دهند که در این مطالعه معادل ۹±۱۹۰=2n بوده است.

$$\left[\frac{(118\pm3)+(258\pm4)}{2}\sim 190\pm9\right]$$

آمار حداقل و حداکثر تعداد کروموزوم‌ها در ۴۰ پلاک شمارش شده بشرح ذیل می‌باشد.

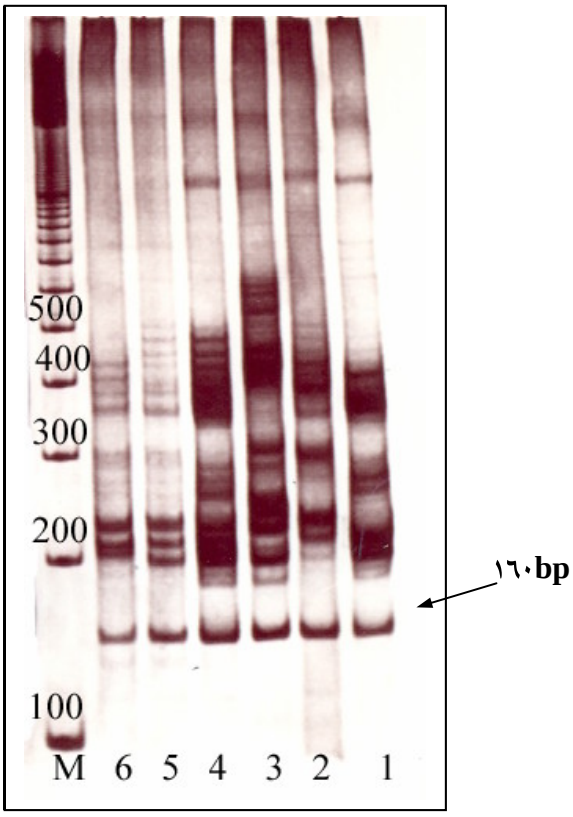
تعداد کروموزومها 2n (*ni*)	۱۷۳	۱۸۰	۱۸۲	۱۸٤	۱۸۸	۱۹۲	۱۹٤	۱۹۸	۲۰۰	۲۰۲	۲۰٤	۲۰٦
تعداد متافاز (*fi*)	۱	۷	۵	۳	۵	۲	۴	۲	۳	۵	۲	۱

۵-۳-ارزیابی مولکولی ماهیان شاهد و دورگه

برای ارزیابی مولکولی (برمبنای DNA) از روش microsatellite و با استفاده از ۴ جفت پرایمر مایکروستلایت اختصاصی تاسماهیان استفاده شد که متناسب با جایگاه هر لوکوس آرایش باندهای DNA پس از PCR با همدیگر متفاوت بوده است.

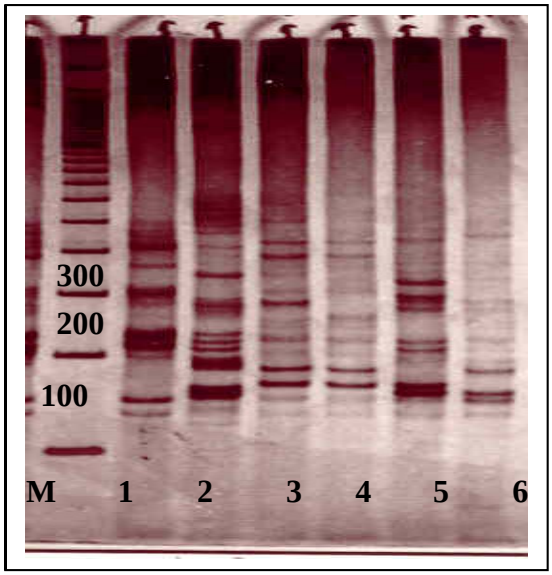
الف –جفت پرایمر شماره ۹ و ۸ (Ls-57)

نتایج PCR با جفت پرایمر Ls-57 در فیلماهی شاهد والدین و بچه ماهیان تفاوت قابل تمایزی نشان نداد و الل به اندازه حدود ۱۶۰ جفت باز در والدین و فرزندان مشاهده گردید که مشابه بوده است در لوکوس‌های دیگر تفاوتهایی در آرایش باندهای DNA و محصول PCR مشاهده گردید ولی بخوبی قابل تفکیک نبودند (تصویر شماره ۱۳).

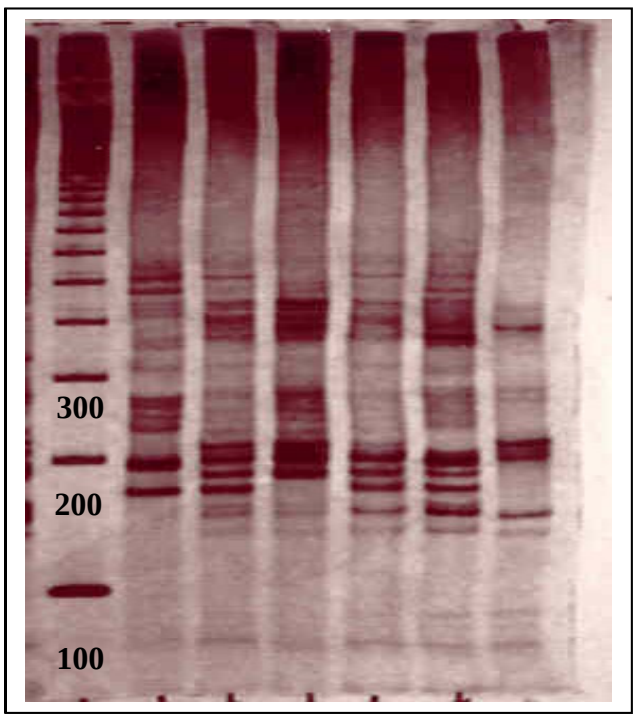


تصویر شماره ۱۳- محصول PCR با جفت پرایمر Ls- ۵۷ . ستون ۱ (فیلماهی ماده)، ستون ۲ (فیلماهی نر) و ستونهای ۳ الی ٦ بچه فیلماهی شاهد، M مارکر مولکولی ۱۰۰ bp

نتایج PCR در تلاقی فیلماهی نر × تاسماهی ایرانی ماده و بچه ماهیان حاصله و همچنین در سایر تلاقی‌ها از قبیل فیلماهی ماده × تاسماهی ایرانی نر و تاسماهی ایرانی شاهد (نر و ماده) و بچه ماهیان حاصله متفاوت بوده است که در تصاویر ۱۴ و ۱۵ نشان داده شده است.



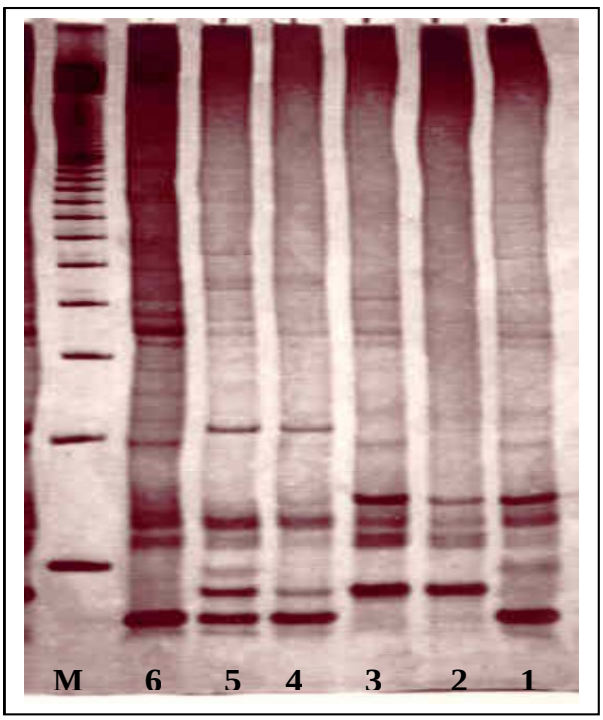
تصویر شماره۱٤- ستون ۱ فیلماهی نر، ستون ۲ تاسماهی ایرانی ماده
و ستونهای ۳ الی ٦ بچه ماهیان دورگه حاصله از تلاقی فوق: M مارکر مولکولی bp ۱۰۰



تصویر شماره ۱۵ - ستون۱ فیلماهی ماده و ستون ۲ تاسماهی ایرانی نر
و ستونهای۳ الی ٦ بچه ماهیان دورگه حاصله. M مارکر مولکولی bp ۱۰۰

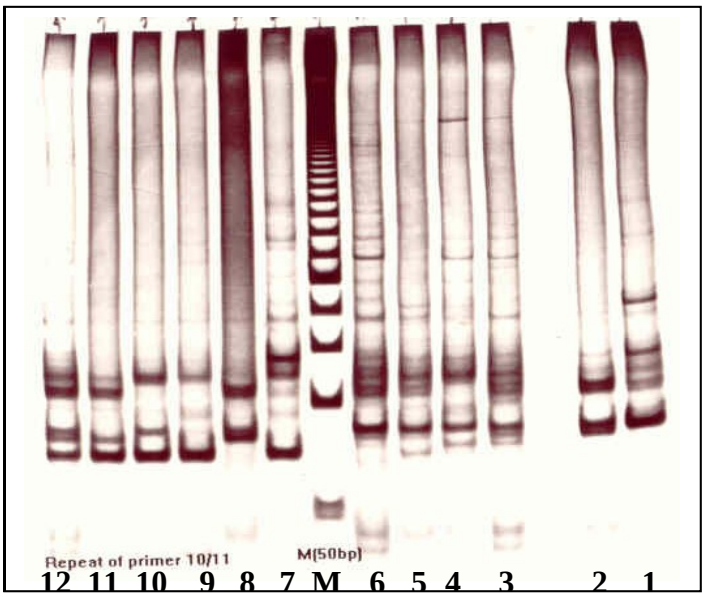
ب- جفت پرایمر ۱۱ و ۱۰ (Ls-62)

نتایج PCR با جفت پرایمرهای ۱۱ و ۱۰ در مولدین و بچه ماهیان حاصله در تصویرشماره ۱۶ نشان داده شده است. فیلماهی نر و ماده دارای لوکوس‌های متفاوتی هستند و بخوبی نحوه توارث آنها در فرزندان نمایان گردیده است. بطوریکه در بعضی از بچه ماهیان هم از الل مادری و پدری (ستون ۴ و ۵) و در بعضی از ستونها فقط از منشاء پدری (ستون ۳) و در بعضی از مادری (ستون ۶) به ارث برده است. آرایش تقریباً مشابه‌ای در لوکوس دوم هم مشاهده می‌شود.



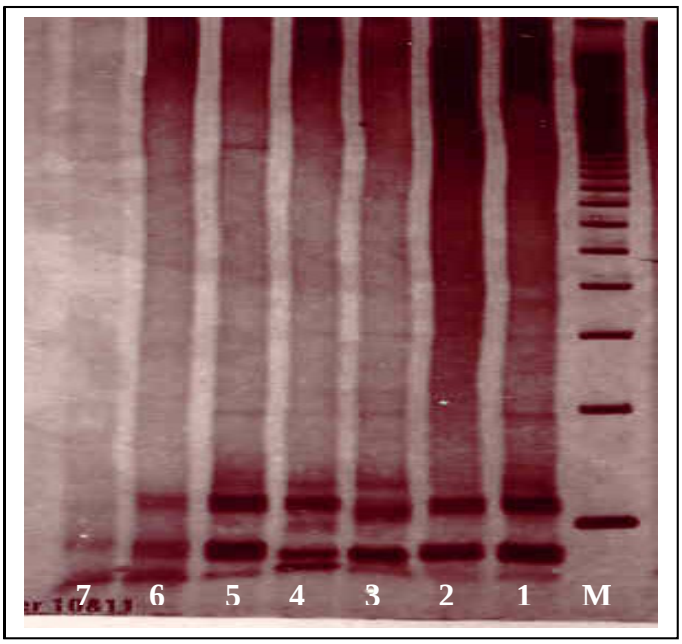
تصویر شماره۱٦- محصول PCR بر روی DNA استخراج شده از فیلماهی ماده (ستون ۱) فیلماهی نر (ستون ۲) و بچه ماهیان ستونهای ۳ الی ٦ و M مارکر مولکولی ۱۰۰ جفت بازی است

در تلاقی فیلماهی ماده و تاسماهی ایرانی نر و همچنین تلاقی برگشتی (فیلماهی نر و تاسماهی ایرانی ماده) تفاوتهایی در آرایش باندهای DNA در ۲ لوسای متفاوت دیده شد (تصاویر ۱۸ و ۱۷).



تصویر شماره۱۷- محصول PCR بر روی DNA استخراج شده از فیلماهی نر (ستون ۱) و تاسماهی ایرانی ماده (ستون۲) بچه ماهیان حاصله (ستونهای ۳ الی ٦)، فیلماهی ماده (ستون ۷) و تاسماهی ایرانی نر(ستون۸)، بچه ماهیان حاصله ستونهای ۹ الی ۱۲ و M مارکر مولکولی ۵۰ جفت بازی.

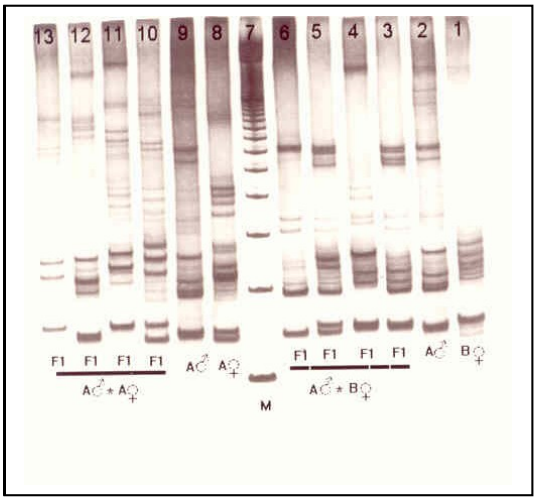
PCR تولید شده حاصل از والدین و بچه ماهیان تاسماهی ایرانی شاهد تفاوتی در آرایش باندها از خود نشان نداد.

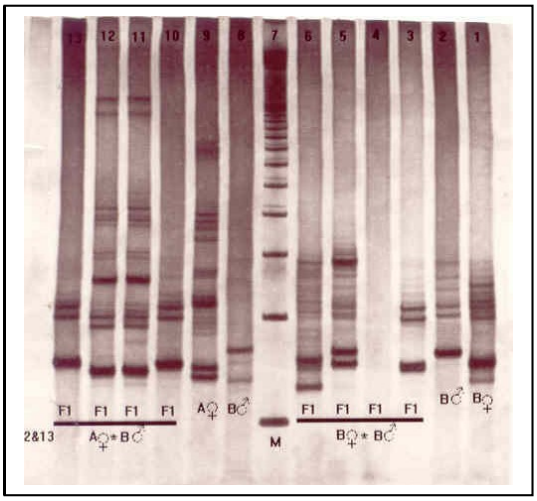


تصویر شماره ۱۸- محصول PCR با DNA استخراج شده از تاسماهی ایرانی نر (ستون ۱) و تاسماهی ایرانی ماده (ستون ۲) و بچه ماهیان حاصله (ستونهای ۳ الی ۷)، Mمارکر مولکولی ۱۰۰ جفت بازی.

پ- جفت پرایمر ۱۳ و ۱۲ (Ls-68)

نتایج PCR با استفاده از پرایمرهای ۱۳ و ۱۲ آرایش باند DNA بسیار خوبی هم در والدین و هم در فرزندان در تلاقی‌های مختلف نشان داد که بخوبی می‌توان موفقیت تولید دورگه از طریق مولکولی و مبتنی بر DNA اثبات نمود. پرایمرهای فوق در تلاقی‌های ماهیان شاهد و دورگه ۲ لوسای متفاوت را نشان دادند که لوکوس سریع آنها از وضوح بهتری برخوردار است (تصویر۱۹).

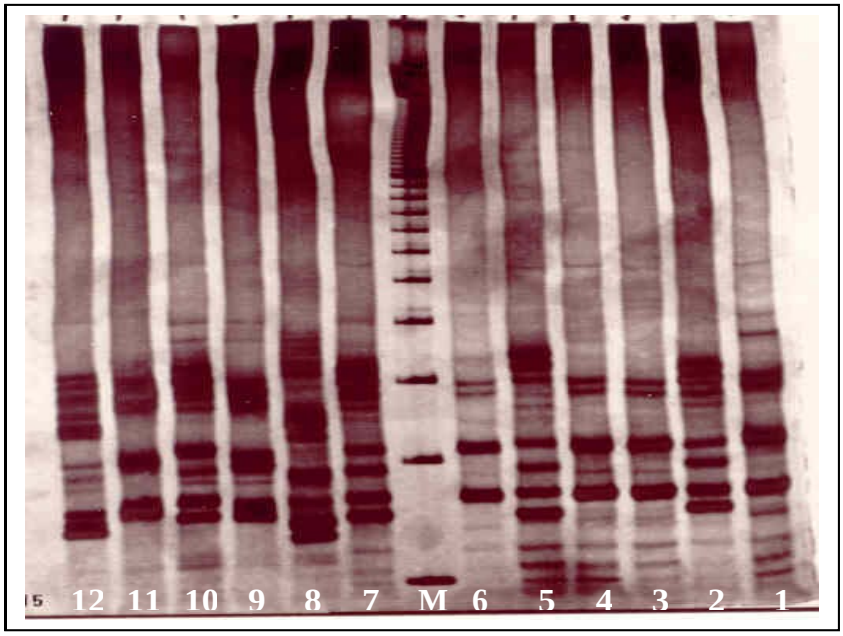




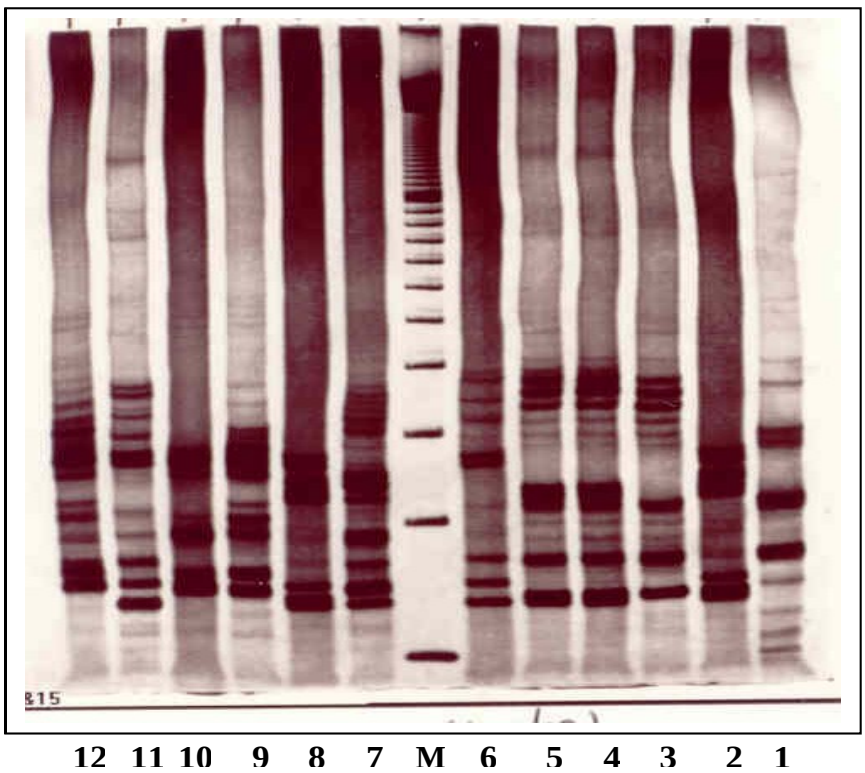
تصویر شماره ۱۹- محصول PCR با استفاده از جفت پرایمر ۱۳ و ۱۲، که در آن B♀ (فیلماهی ماده) ، (A♂) تاسماهی ایرانی نر و A♀ (تاسماهی ایرانی ماده) ، فیلماهی نر B♂ و F1 بچه ماهیان حاصله از تلاقی جفت مولدین می‌باشد.

ت – جفت پرایمر ۱۵ و ۱٤ (Ls-19)

PCR تولیدی با استفاده از جفت پرایمر ۱۵ و ۱۴ سه لوسای مختلف کدگذاری کرده و باند DNA بسیار قوی از والدین و فرزندان نشان داد ولی در مقایسه با جفت پرایمرهای قبلی تعداد باندهای DNA تولیدی بیشتر بوده است. آرایش باندهای DNA در محصول PCR در ماهیان مولد و بچه ماهیان در تصاویر ۲۱ و ۲۰ نشان داده شده است.



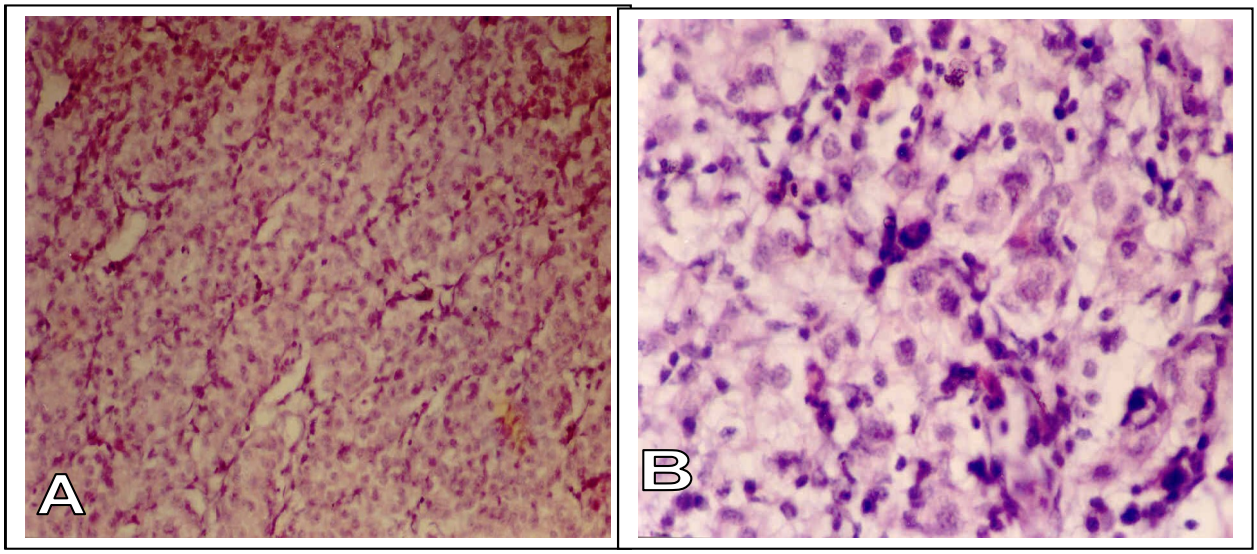
تصویرشماره ۲۰ – محصول PCR در ستون ۱ (فیلماهی ماده) ستون ۲ (فیلماهی نر)، ستونهای ۳ الی ٦ بچه ماهیان حاصله M (مارکر مولکولی (۱۰۰bp)، ستون ۷ (فیلماهی نر)، ستون ۸ (تاسماهی ایرانی ماده)و ستونهای ۹ الی ۱۲ بچه ماهیان حاصله.



تصویر شماره ۲۱- محصول PCR در فیلماهی ماده (ستون ۱)، تاسماهی ایرانی نر (ستون ۲) و ستونهای ۳ الی ٦ بچه ماهیان دورگه حاصله، M مارکر مولکولی (bp ۱۰۰) و ستون شماره ۷ (تاسماهی ایرانی ماده) و ستون شماره ۸ (تاسماهی ایرانی نر) و ستونهای ۹ الی۱۲ بچه ماهیان حاصله از تلاقی تاسماهی ایرانی نر وماده

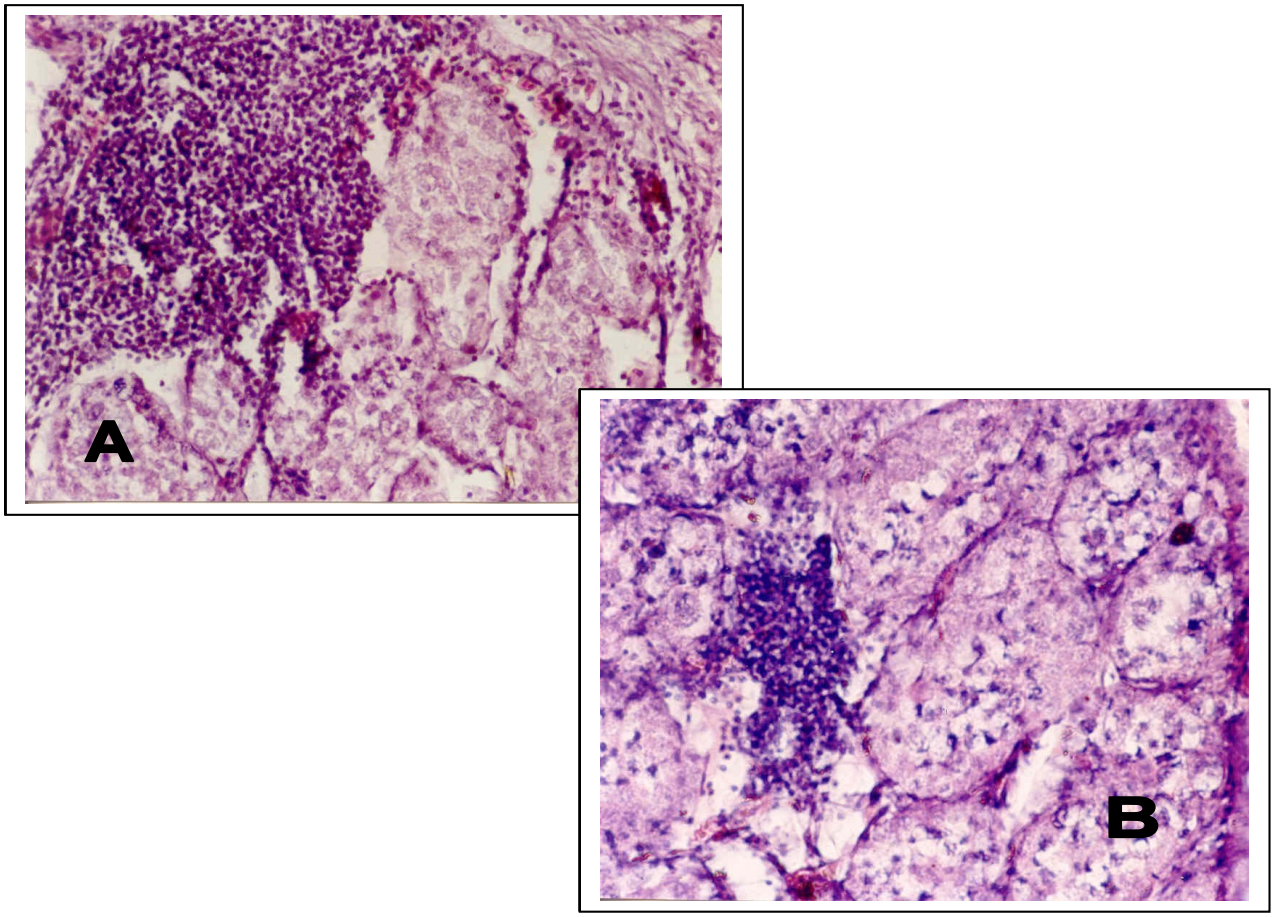
٦-٣-بررسی بافت‌شناسی

مطالعات بافت‌شناسی ماهیان شاهد (فیلماهی و تاسماهی ایرانی) و دورگه (تلاقی رفت و برگشت) که بمدت ۱۸ ماه در وانهای فایبرگلاس پرورش یافتند تفاوتهایی را نشان داد. در ماهیان شاهد فیلماهی و تاسماهی ایرانی جنسیت نمونه‌های بررسی شده نشان داده که همه نمونه‌ها از جنس ماده هستند و سلولهای جنسی ماده در آنها قابل رویت است (تصویر شماره ۲۲).



تصویر شماره ۲۲- نمایی از مقطع بافتی گناد در فیلماهی شاهد (A) و تاسماهی ایرانی شاهد (B)

در حالیکه در تمامی بچه ماهیان دورگه، اعم از بچه ماهیان حاصل از تلاقی فیلماهی ماده × تاسماهی ایرانی نر و همچنین بچه ماهیان تولیدیی از فیلماهی نر × تاسماهی ایرانی ماده علاوه برسولهای جنسی ماده سلولهای جنسی نر مشاهده گردید. این امر بیانگر وجود سلولهای جنسی نر و ماده در یک گناد است که یکی از شاخصه‌های مهم شناسایی ماهیان عقیم می‌باشد (تصویر شماره ۲۳).



تصویر شماره ۲۳- مقطع بافت‌شناسی از بچه ماهیان دورگه حاصله از تلاقی فیلماهی ماده × تاسماهی ایرانی نر (A) و بچه ماهیان تولیدی از تلاقی فیلماهی نر × تاسماهی ایرانی ماده (B)

٤-بحث و نتیجه گیری

براساس مطالعات انجام شده در آبزیان، دورگه‌گیری با هدف افزایش سرعت رشد توان تولید، مقاومت در برابر بیماری، پرواربندی، ایجاد نژاد و سویه‌های جدید، جمعیت‌های تک جنس و عقیم صورت می‌گیرد (Tave و1993). کیفیت مولدین ماده و نر در فیلماهی و تاسماهی ایرانی نقش تعیین‌کننده‌ای در درصد لقاح و بازماندگی‌ها لاروها دارد و علاوه بر آن، درجه حرارت آب و همچنین تکثیر مصنوعی زودهنگام تاسماهی ایرانی نسبت به زمان رایج خود می‌تواند در این امر مؤثر باشد.

دورگه بین گونه‌ای در انواع ماهیان و آبزیان صورت گرفته است و نتایج متفاوتی را بهمراه داشته است. در گربه‌ماهی کانالی از بین ۲۸ هیبرید بررسی شده فقط تلاقی بین گربه ماهی کانالی ماده با گربه ماهی آبی نر (*I. furcatus*) بوده است که منجر به تولید گربه ماهی کانالی – آبی Channel-blue گردیده و از سرعت رشد بالا و یکنواخت، مقاوم به بیماری، تحمل کمبود اکسیژن، کاهش ضایعات بدن و قابلیت صید بهتر را بهمراه داشته است ولی مشکلات مربوط به تکثیر مصنوعی این دو گونه مانع از اهداف تجاری و تولید انبوه آن شده است. Smith در سال ۱۹۸۸ بین دو نوع bass (باس سفید × باس نواری) دورگه‌ای ایجاد نمود که نام آن را Sun shine نهاد. در بین کپور ماهیان انواع دورگه بین فیتوفاگ و بیگهد، بین کپور معمولی با کپور ماهیان هندی (Rohu، Mirga و Catla) دورگه‌هایی تولید گردید. در بین اویستر و انواع تیلاپیا دورگه‌های متعددی تولید شده که امروزه در آبزی‌پروری از آن استفاده می‌گردد (امینی، ۱۳۷۴).

نتایج مربوط به تولید ماهیان دورگه از تلاقی انواع تاسماهیان قابل پیش‌بینی نبوده بویژه اگر والدین از گونه‌های متعلق به دو جنس (genus) متفاوت باشد. در این بررسی گونه فیلماهی از جنس Huso و تاسماهی ایرانی از جنس Acipenser بطور مصنوعی آمیزش داده شدند تا دورگه جدیدی تولید گردد. دورگه‌های تولید شده نه تنها زنده باقیماندند بلکه از لحاظ رشد حتی قابل رقابت با گونه سریع‌الرشد مثل فیلماهی بودند.

در مقایسه رشد ماهیان شاهد و دورگه مشخص گردید که در شش ماه اول پرورش بیشترین رشد مربوط به فیلماهی شاهد بوده ولی در شش ماهه دوم و سوم پرورش، سرعت رشد ماهیان دورگه افزایش یافته و حتی از فیلماهی شاهد هم پیشی گرفت و درصد هتروزیس یا برتری فرزندان نسبت به والدین به میزان ۰/۷۹ در آخرین مرحله نمونه‌برداری رسید.

در بعضی از حالات، دورگه حاصله ممکن است هتروزیس برای صفت خاص نباشد ولی برای آبزی‌پروری از لحاظ صفات دیگر مورد اهمیت باشد. بعنوان مثال در تایلند، گونه اصلی پرورش گربه ماهی است که ازتلاقی بین گربه ماهی آفریقایی و گربه ماهی تایلندی بوجود می‌آید. گرچه سرعت رشد ماهی دورگه از سرعت رشد گربه ماهی آفریقایی کمتر است ولی گونه دورگه سرعت رشد را از گربه ماهی آفریقایی وکیفیت گوشت خوب را از گربه ماهی تایلندی به ارث برده و برای مصرف کنندگان یایلندی از مزیت و اهمیت بالاتری برخوردار است. همچنین در تلاقی کپورماهی هندی (rohu x catla) دورگه حاصله از سر کوچکتری برخوردار است که مصرف‌کننده این گونه را ترجیح می‌دهد و یا در bass خورشیدی صفت مطلوب‌تر آن از لحاظ تنظیم اسمزی است و در مقابل سرما و گرما مقاوم‌تر است که در گونه‌های والد خود فاقد آن هستند.

در بین ماهیان دورگه تولید شده در تاسماهیان، مناسب‌ترین هیبرید حاصل از تلاقی فیلماهی با ماهی استرلیاد بود که شرایط بسیار مناسب والدین مثل رشد سریع فیلماهی و رسیدگی به بلوغ جنسی از استرلیاد به ارث برده است (Nikoljukin 1953). بطوریکه رشد ماهیان دورگه بستر در پایان سال اول به ۵۰۰ گرم رسید ولی وزن ماهی استرلیاد در همین مدت زمانی بسیار اندک بوده است.

امینی ۱۳۷۱ در مقایسه میانگین وزن بین فیلماهی و ماهیان دورگه حاصله از تلاقی فیلماهی با ازون‌برون پس از ۲۰۶ روز پرورش اختلاف معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ مشاهده نکرد. رستمیان (۱۳۷۵) در طی یک دوره پرورش و در مقایسه درصد ماندگاری بین ماهیان دورگه حاصل از تلاقی ماهی شیپ و ازون‌برون مشاهده نمود که بچه ماهیان دورگه نسبت به شاهد از ماندگاری و رشد بیشتری برخوردارند و اختلاف رشد معنی‌دار بوده است ($P\leq0.01$).

مقایسه رشد بین ماهی استرلیاد (*A. ruthenus*) و هیبرید حاصله از تلاقی (استرلیاد × تاسماهی سیبری *A. baerii*) با استفاده از آب سیستم مدار بستهٔ ۲۴-۲۳ درجه سانتیگراد دانوب مجارستان صورت گرفت. برای این منظور ماهی استرلیاد و ماهیان دورگه در مخازن پلاستیکی ۳۰۰ لیتری در ۲ فاز مختلف (فاز اول ۱۳۰ عدد و در فاز دوم ۴۰ عدد در هر وان) پرورش داده شدند و ماهیان با غذاده اتوماتیک طی ۲۴ ساعت غذادهی شدند.

در فاز اول پرورش وزن متوسط ماهی استرلیاد که با غذای دستی و غذای زنده تولید شدند ۴/۶۶ ±۱۵/۹ گرم بودند در حالیکه وزن متوسط ماهیان هیبرید ۴/۸۹ ± ۲۶ گرم در سن ۷۳ روزگی بودند و در فاز دوم که ماهیان

بزرگتر بودند و با غذاهای مختلف تغذیه شدند سرعت رشد ماهیان دورگه بمیزان ۱۰درصد بیش از ماهیان استرلیاد بودند (Ronyai and Peteri 1990).

مبنای ژنتیک و فیزیولوژیک برتری دورگه‌ها یا هتروزیس حتی در گیاهان و حیوانات بسیار اندک شناخته شده است (Griffing 1990) و معمولاً سه احتمال ژنتیکی برای توصیف آن ارائه می‌دهند و عامل برتری ژنتیکی هیبرید نسبت به والدین را یا بر اثر غالبیت ژنها یا بر اثر غالبیت کامل ژنها یا بر اثر همکاری متقابل ژنها توصیف می‌کنند (Wright 1977). گرچه از لحاظ تئوری و مطالعات گزارش شده موفقیت دورگه‌گیری از گونه‌های متعلق به یک جنس بالاتر است ولی در تاسماهیان براساس نتایج این مطالعه و تولید دورگه بستر (Nikoljukin و1953) خلاف آن را نشان می‌دهد. در آزاد ماهیان هم، تولید ماهیان دورگه حاصل از تلاقی گونه‌های متعلق به جنس‌های مختلف به اندازه دورگه‌های تولیدی از گونه‌های درون یک جنس موفقیت‌آمیز نبود (Dorson و1991).

ماهیان دورگه در بعضی از پارامترهای مورفولوژی و مریستیک (۲۳ مورد با فیلماهی و ۳۱ مورد با تاسماهی ایرانی) با والدین خود تفاوت در حد معنی‌داری نشان دادند. چنین حالتی در سایر مطالعات بصورت حد واسط یا با اختلاف معنی‌دار بوده است (امینی ۱۳۷۱، رستمیان، ۱۳۷۵). علاوه بر تاسماهیان، شاخص حد وسط در سایر دورگه‌های تولید در بین کپورماهیان (ماهی آمور ماده × کپور سرگنده نر) هم مشاهده شده است (پناهی، ۱۳۸۱).

مطالعات ژنتیکی پیرامون ماهیان دورگه می‌تواند راهگشای بسیاری از ابهامات باشد و ارتباط مستقیمی بین تعداد کروموزوم و گنادهای جنسی ماهیان دورگه وجود دارد.برای مثال، در هیبرید تولید شده بین فیلماهی و استرلیاد که منجر به تولید ماهی بستر گردید. محققین روسی ابتداد تعداد کروموزومهای فیلماهی و استرلیاد را مطالعه کردند و یافتند که تعداد کروموزومهای آنها تقریباً یکسان (2n=118) عدد می‌باشد و یکی از دلایل زایا بودن ماهی بستر (Bester) به علت شباهت کاریوتیپ دوگونه فیلماهی و استرلیاد ذکر شده است (Burtsev, 1995). وی در مطالعات خود نوعی نبود تعادل ژنتیکی در نسل دوم ماهیان دورگه (F_2) مشاهده نمود (Burtsev & Serebryakova و1980) . براساس اطلاعات فوق در انتخاب و بهگزینی بچه ماهیان برای بهترین مولدین نسل بعدی بعنوان یک معیار از آن استفاده نمود در واقع معیار سیتوژنتیک بعنوان بنای بقاء بچه ماهیان در نظر گرفته شده است.

با استفاده از مطالعه کاریوتیپ ماهیان می‌توان پیش‌بینی لازم برای جنسیت ماهیان هیبرید نمود. برای مثال، هیبرید بین انواع کپور هندی، عمدتاً دورگه‌های زایا تولید می‌کند چون تعداد کروموزومهای آن ۲n=۵۰ عدد است.

ولی وقتی کپورهای هندی را با کپور معمولی که تعداد کروموزومهای آن ۲n=۱۰۲ عدد است تلاقی داده شود، هیبریدهای تولید عقیم و یا تری‌پلوئید خواهند بود.

نوعی از تری‌پلوئیدی طبیعی از تلاقی بین آمور × بیگهد بوجود می‌آید که امروزه برای کنترل علفهای هرز آبی و همچنین جهت جلوگیری از تکثیر طبیعی ماهی آمور از آنها استفاده می‌شوند ولی بعضی از بچه ماهیان این نوع دورگه بارور هستند.

براساس مطالعات قبلی مشخص شده بود که تعداد کروموزمهای تاسماهی ایرانی (۲n =۲۵۸ ±۴) (Nowruzfashkhami *et al*., 2000) و فیلماهی (۲n =۱۱۸ ±۳) (Vasiliev & Birstein 1987) می‌باشد و با توجه به دو برابر بودن تعداد کروموزمهای تاسماهی ایرانی نسبت به فیلماهی، می‌توان از قبل پیش‌بینی نمود که بچه ماهیان دورگه حد واسط بوده و تعداد کروموزمهای آن ۲n =۱۹۰ ±۹عدد می‌باشد. در صورتیکه تعداد کروموزمهای تاسماهی ایرانی را ۲۴۰ عدد و تعداد کروموزمهای فیلماهی را ۱۲۰ عدد فرض نمائیم، تعداد کروموزمهای ماهیان هیبرید ۳n=۱۸۰ عدد و یا تری‌پلوئید می‌باشد و گسترش کروموزمی ماهیان دورگه (۲n =۱۹۰ ±۹) این امر را اثبات نمود. در بچه ماهیان دورگه همانند سایر تاسماهیان تعداد زیادی میکروکروموزوم مشاهده گردید که بیش از ۵۰درصد تعداد کل کروموزومها را تشکیل می‌دهد و این پدیده در تمامی تاسماهیان گزارش شده است (Holehik و1989).

مطالعات مولکولی با استفاده از روش میکروستلایت نشان داد که اولاً روش مایکروستلایت، روشی مناسب و دقیق و در عین حال آسان برای تشخیص ماهیان مولد و دورگه‌ها است و مزیت آن نسبت به سایر روشهای فیزیولوژیک و سیتوژنتیک این است که نیاز به کشتن بچه ماهی نیست.

مارکرهای هم‌باز (codominant) همچون مارکرهای مایکروستلایت، کاربردهای متعددی از جمله برای تعیین ساختار ژنتیکی تاسماهیان با تعداد کروموزوم متفاوت، برای مطالعه ژنتیک جمعیت گونه‌ها و ارزیابی اثرات بازسازی ذخایر بر ساختار ژنتیکی گونه‌های بومی دارد که سایر روشها مثل آلوزایم و DNA میتوکندری و همچنین RAPD این کارآیی را ندارد. بویژه اینکه مارکرهای میکروستلایت دارای تعداد الل بیشتر در هر لوکوس نسبت به سایر روشهای مولکولی دارد و می‌تواند بخوبی آنالیز ساختار ژنتیکی والدین و چگونه انتقال آن به فرزندان را آشکار سازد.

نتایج مشابهی توسط May *el al.* و (1997) بدست آمد که با شناسایی ۱۱ لوسای تاسماهی دریاچه‌ای توانست برای شناسایی ۶ گونه دیگر از تاسماهیان آمریکای شمالی و دو گونه پاروپوزه‌ماهیان کاربرد داشته باشد و مارکرهای مولکولی برای شناسایی آنها بکار رود.

مطالعات بافت‌شناسی و تعیین مقاطع هیستولوژیک از گنادهای جنسی یکی دیگر از روش‌های ارزیابی وضعیت جنسیت ماهیان می‌باشد. در تاسماهیان بعلت زیاد بودن تعداد کروموزوم‌ها که در بعضی از گونه‌ها از قبیل فیلماهی، ازون‌برون و شیپ تعداد آن تقریباً ۲n=۱۲۰ عدد و در گروه دیگر ۲n=۲۴۰ (از قبیل تاسماهی ایرانی و تاسماهی روسی) می‌باشد که عملاً ۴-۲ برابر تعداد کروموزومهای سایر آبزیان می‌باشد که اغلب (۲n=۶۰) کروموزوم دارند. تاکنون کروموزومهای جنسی گزارش نشده است و هنوز مکانیزم تعیین جنسیت در تاسماهیان بخوبی شناسایی نشده است. با این وصف نمی‌توان مشخص نمود که آیا ماهیان خاویاری کروموزومهای جنسی دارند در این صورت یکی از دو جنس نر یا ماده (Homogametic) و دیگری (Heterogametic) می‌باشد نتایج این بررسی نشان داد که وجود سلولهای جنسی نر و ماده در گناد بچه ماهیان دورگه دلیل بر عقیم ماهیان می‌باشد و چنین وضعیتی منجر به حالات مختلف در روند گامتوژنزیز ماهیان دورگه خواهد داشت یا طی سالهای آتی، گنادها بخوبی رشد نخواهند کرد یا در صورت رشد، گنادها تولید سلولهای جنسی نر (اسپرم) یا ماده (تخمک) نخواهند کرد و برای اثبات این امر نیاز به گذشت زمان و نگهداری ماهیان دورگه برای سالهای آتی می‌باشد.

با توجه به نتایج فوق می‌توان جمعبندی نمود که:

۱) می‌توان از تلاقی بین فیلماهی و تاسماهی ایرانی دورگه تولید نمود.

۲) سرعت رشد دورگه‌ها در شش ماهه دوم و سوم حتی از فیلماهی بیشتر است.

۳) تعداد کروموزومهای ماهیان دورگه حد واسط کروموزومهای والدین بوده و ماهیان تری‌پلوئیدی می‌باشند.

۴) از لحاظ بافت‌شناسی ماهیان دورگه عقیم بوده و سلولهای جنسی نر و ماده در مقاطع بافتی گنادها مشاهده می‌گردد.

با توجه به سرعت رشد و قابلیت زنده ماندن ماهیان دورگه، همچنین با عنایت به کمبود مولد فبلماهی جهت بازسازی ذخایر توصیه می‌گردد از گونه فوق برای پرورش گوشتی و تولید بچه ماهی عقیم (برای صادرات) در دستور کار قرار می‌گیرد.

تشکر و قدردانی

انجام این تحقیق بدون حمایت مالی مؤسسه تحقیقات شیلات ایران و پشتیبانی لازم مراکز تکثیر و بازسازی ذخایر تاسماهیان امکان‌پذیر نبود. لازم می‌دانم از جناب آقای دکتر رضوانی (ریاست محترم وقت مؤسسه تحقیقات شیلات ایران)، آقای دکتر معصومیان معاون محترم وقت پژوهشی مؤسسه و رؤسای محترم بخشهای تکثیر و پرورش و بیوتکنولوژی آقایان دکتر متین‌فر و غرقی، رؤسای محترم مراکز تکثیر و پرورش ماهی شهید مرجانی گرگان و شهید بهشتی رشت و کارشناسان و تکنسین‌های محترم اعلام دارم.

منابع

۱- آذری تاکامی، ق.، کهنه شهری، م. ۱۳۵۳. تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری. انتشارات دانشگاه تهران. ۲۸۱ صفحه

۲- امینی، ف، ۱۳۷۴. مبانی ژنتیک و اصلاح نژاد ماهیان، تألیف داگلاس تاو؛ انتشارات وزارت فرهنگ و ارشاد اسلامی، ۳۴۴ صفحه.

۳- امینی، ک. ۱۳۷۱. دورگه بین فیلماهی و ازون‌برون و پرورش نسل حاصل در شرایط کنترل شده. گزارش نهایی پروژه مرکز تحقیقات شیلاتی استان مازندران. ۶۶ صفحه.

۴- پناهی صاحبی، ح .۱۳۸۱. امکان سنجی دورگه‌گیری ماهی آمور ماده و کپور سرگنده نر و مطالعه دورگه نسل اول. پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه تربیت مدرس نور. ۵۷ صفحه.

۵- پورغلام، ر. و نوروزی مقدم، ح.، ۱۳۷۴. دورگه‌گیری بین ماهی قزل‌آلای رنگین کمان و ماهی آزاد دریای خزر، انتشارات مرکز تحقیقات شیلاتی استان مازندران.

۶- حسینی، ا.، ۱۳۷۲. دورگه‌گیری بین ماهیان سفید × ماهی کلمه. انتشارات مرکز تحقیقات شیلاتی استان گیلان، ۳۴ صفحه.

۷- حسینی، ا.، ۱۳۷۵. دورگه‌گیری بین ماهیان سفید ماده و آمور نر. انتشارات مرکز تحقیقات شیلاتی استان گیلان.

۸- رستمیان، م. ۱۳۷۵. دورگه بین ماهی شیپ و ازون‌برون و مقایسه رشد نسل حاصل با یکی از والدین تا مرحله فینگرلینگ. پایان نامه مقطع کارشناسی. مرکز آموزش عالی علوم و صنایع شیلاتی میرزا کوچک‌خان. ۵۵ صفحه.

۹- قزل، ح. ۱۳۷۶. گزارش نهایی پروژه دورگه‌گیری بین فیلماهی و چالباش و پرورش نسل حاصل در شرایط کنترل شده. مرکز تحقیقات شیلات استان مازندران.

۱۰- قزل، ح.، امینی، ک . ۱۳۷۷. گزارش نهایی پروژه دورگه‌گیری بین فیلماهی و شیپ و پرورش نسل حاصل در شرایط کنترل شده. مرکز تحقیقات شیلات استان مازندران.

۱۱- کاظمی، ر. و بهمنی، م.، ۱۳۷۷. دستورالعمل رنگ آمیزی بافت ها برای مطالعات بافت شناسی. بخش فیزیولوژی و بیوشیمی انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری، ۱۴ صفحه.

۱۲- میرزائی بافتی، ۱.، ۱۳۶۷. ژنتیک و اصلاح نژاد ماهی، مرکز تحقیقات شیلاتی استان مازندران.

۱۳- نوروز فشخامی، م. ر، ۱۳۷۹. بررسی امکان تهیه کاریوتایپ ماهی دورگه حاصل از دورگه‌گیری ماهی سفید ماده و ماهی کپور علفخوار نر، پایان‌نامه کارشناسی ارشد بیولوژی ماهیان دریا، دانشگاه تربیت مدرس نور، ۴۳ صفحه.

14. Arlati, G., Hernando, J. A., Poliakova-Belysceva., L. A. and M. C. Soriguer 1999 Some meristic characteristics of hybrids between *Acipenser naccarii* and Acipenser baerii. J. of Appli. Ichthyol. 15, 54-56.
15. Ayles, G.B. & Baker, R.F. 1983. Genetic differences in growth and survival between strains and hybrids of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) stocked in aquaculture lakes in the Canadian prairies. Aquaculture, 33: 269-280.
16. Bakos, J. & Gorda, S. 1995. Genetic improvement of common carp strains using intraspecific hybridization. Aquaculture, 129: 183-186.
17. Berg, L. S., 1948. Freshwater fishes of the U.S.S.R and the neighboring countries. USSR. Academy of Science. 505 pp.
18. Burtsev, I. A. 1995. Bester in Aquaculture cited in sturgeon stocks and caviar Trade Workshop. Occasional paper of the IUCN Species Survival Commission No.17. Page 35-43.
19. Burtsev, I. A. and Serebryakova, E. V. 1980. Estimation of Bester spawners (hybrids between beluga and sterlet) according to the cytological characteristic and the varability of the progeny. In: Karyological variability, mutagenesis and gynogenesis in fishes. Leningrad, Nauka. pp. 63-69 (in Russia).
20. Congiu, L., Dupanloup, I., Patarnello, T., Fontana, F., Rossi, R., Arlati, G., and I., Zone, 2001. Identification of interspecific hybrids by amplified fragment length polymorphism: the case of sturgeon, Molecular Ecology, (10): 2355-2359.
21. Dorson, M., Chevassus, B. & Torhy, C. 1991. Comparative susceptibility of three species of char and rainbow trout x char triploid hybrids to several pathogenic salmonid viruses. Dis. Aquat. Org. 11: 217-224.
22. Griffing, B. 1990. Use of controlled- nutrient experiment to test heterosis hypotheses. Genetics, 126: 753-767.
23. Hedgecock, D., McGoldrick, D. J., and B. L. Bayne 1995. Hybrid vigor in pacific oysters: an experimental approach using crosses among inbred lines. Aquaculture 137: 285-298.
24. Holchik, J. (1989). The freshwater fishes of Europe, Vol I/ II, general introduction of fishes Acipenseriformes. AULA-Verlay Wiesbaden 468: 346-362.
25. Hulata, G. 1995. A review of genetic, improvement of the common carp (*Cyprinus carpio* L.) and other hybrids by crossbreeding, hybridization and selection. Aquaculture, 129: 143-155.
26. Kirpichnikov, V. S., 1981. Genetic basis of fish selection. Berlin, Springer verlag. 410p.
27. Krasznai, Z. & Marian, T. 1985. Improving genetic capacity of European catfish. Hal?szat, XXXI.(78) (in Hungarian).
28. Lim, C., Leamaster, B. & Brock, J. A. 1993. Riboflavin requirement of fingerling red hybrid tilapia grown in seawater. J. World Aquacult. Soc. 24: 451-458.
29. Lutz, C., G., 2001. Practical Genetic for Aquaculture Fishing News Books, P. 235.
30. May, B., Krueger, C., C., and Kincaid (1997). Genetic variation at microsatellite loci in sturgeon: Primer sequence homology in Acipenser and Scaphirhynchus. Can. J. Fish. Aquatic. Sci. 54: 1542_1547
31. Moav, R. & Wohlfarth, G. W. 1974. Carp breeding in Israel. In R. Moav, ed. Agriculture genetics, New York, John Wiley & Sons. Moav, R. & Wohlfarth, G. W. 1976. Two-way selection for growth rate in the common carp, (*Cyprinus carpio* L.). Genetics, 82: 83-101.

32. Nagy, A., Csanyi, V., Bakos, J. & Bercsenyl, M. 1984. Utilization of gynogenesis and sex - reversal in commercial carp breeding: growth of the first gynogenetic hybrids. Aquacult. Hung. 4:7-16.
33. Nelson, K. and Hedgecock, D. 1980. Enzyme polymorphism and adaptive strategy in the decapod Crustacea. Am. Nat. 116: 238-280.
34. Nikoljukin, N. I. 1964. Hybridization of fishes and its acclimatization. Transactions All Union Research Institute of Marine Fisheries and Oceanography, 55 (2).
35. Nikoljukin, N. I. 1971. Hybridization of Acipenseridae and its practical significance. On genetic selection and hybridization of cultured fishes. Page 328-334.
36. Nikoljukin, N. I. and Timofeeva, N. A. 1953. Hybridization of Beluga and Sterlet. Doklady AN SSSR, 93: 899-902 (in Russia).
37. Noy, R., Lavie, B. & Nevo, E. 1987. The niche-width variation hypothesis revisited: genetic diversity in the marine gastropods Littorina punctata and L neritoides. J. Exp. Mar. BioI. 109: 109-116.
38. Nuroozfashkhami, M. R., Pourkazemi, M. and Noveiri, S. (2000). Chromosomes study in Persian sturgeon (*Acipenser persicus*). Cytologia 65: 197-202.
39. Ovsyannikov, F. V., 1872. The first experiment on the artificial breeding of sterlet in the Sankt-Ptersburg region. Trudy Sankt-Ptersburg Kogo Obshchestva, Est.4. No. 2.
40. Pourkazemi, M 1996. Molecular and biochemical genetic analysis of sturgeon stocks from the south Caspian Sea. Ph.D. Thesis. University of Wales Swansea. 260pp.
41. Prarom, W. 1990. The effect of strain crossing of Gunther′s walking catfish (Clarias macrocephalus) on growth and diseases resistance. M. Sc. Thesis, Kasetsart University, Bangkok, Thailand.
42. Ronyai, A. and Peteri, A., (1990). Comparison growth rate of sterlet (*A. ruthenus*) and hybrid of sterlet x lena river′s sturgeon (*A. baerii*) raised in a water recycling system. Aquaculture Hungarica (Szarvas) vol. VI. pp. 185-192.
43. Rosenstein, S. and Hulata, G. 1993. Sex reversal in the genus Oreochromis: optimization of feminization protocol. Aquacult. Fish. Manage. 25: 329-339. Rye, M., Lillevik, K.M. & Gjerde, B. 1990. Survival in early life of Atlantic salmon and rainbow trout: estimates of heritabilities and genetic correlations. Aquaculture, 89: 209-216.
44. Tave, D. 1993. Genetics for Fish Hatchery Managers, 2nd ed. Van Nostrand Reinhold, New York, USA. 415 pp.
45. Wohlfarth, G. 1993. Heterosis for growth rate in common carp. Aquaculture, 113: 3146.
46. Wohlfarth, G. W. 1994. The unexploited potential of tilapia hybrids in aquaculture. Aquacult. Fish. Manage. 25: 781-788.
47. Wright, S., 1977. Evolution and the Genetic of Population. Vol. 3. Experimental results and Evolutionary Deductions. The University of Chicago press. Chicago, IL. 613 pp.
48. Yashouv, A. and Halevy, A., (1973). Observation on the Growth of Hybrid Fingerlings of tilapia Crosses, bamidgeh V 01 25 No. 3.
49. Yashouv, A., E.Berner - Samsonov and R. Hines , A hybrid of A FEMALE Mugil Cephalus AND Maleliza Ramada (M. Capito), Bamidgeh Vo121 no.4 (1969)

Abstract

In order to evaluate the possible production of hybrids using two species of sturgeon; beluga (*Huso huso*) and Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) a reciprocal crosses with three treatments and three replicates for each treatment was conducted.

Reproduction normatives including number of eggs per gram, fertilization rate, survival rate, and also 32 mophmetric and merestic parameters of parents, hybrids and control groups were compared. Genetic analysis of hybrid was conducted using two methods of cytogenetic (chromosome preparation) and molecular (microsatellite) techniques. Histological analysis was performed for sexual gonad development. The growth comparison between hybrids and control fish was conducted in fiberglass tanks for 18 months. Fish were fed using pellets and biometric measurements were carried out 17 times during the study period. Means, analysis of variance, standard deviation, Duncan's test and percentage of hetrosis were calculated using Quatro Pro and SPSS programs.

Significant differences were detected between beluga controls and hybrids (male beluga x female *A. persicus*) and between *A. persicus* controls and hybrids (male beluga x female *A. persicus*) regarding number of eggs per gram ($P \leq 0.003$). However no significant differences were detected between the control groups and hybrids regarding fertilization rate at the four celled and 35 celled stages, number of larvae produced, mortality rate up to the onset of exogenous feeding and the number of larvae surviving ($P \geq 0.01$).

Growth rates differed in hybrid fish and fish in the control groups and highest weight increase at the end of the rearing period belonged to beluga control (975 ± 10 g) followed by hybrids produced by crossing female beluga with male *A. persicus* (840 ± 143 g), hybrids produced by crossing female *A. persicus* with male beluga (681.85 ± 281 g) and lowest growth increases belonged to the *A. persicus* control group (535.15 ± 131 g). Specific growth rate in the second and third six months of rearing in hybrids produced by crossing female beluga with male *A. persicus* was higher than those recorded in the beluga control group. Percentage of hetrosis was negative during the early rearing period (-18.93), however at the end of the rearing period offspring were superior to parents and percentage of hetrosis was 0.79.

Comparison of 32 morphologic and merestic parameters showed significant differences between 23 parameters between beluga controls and hybrids and between 31 parameters between *A. persicus* controls and hybrids ($P \leq 0.05$).

The hybrids production was proved using the cytogenetic (chromosomal count) as well as microsatellite techniques. The number of chromosomes in hybrids was intermediate to the parents ($2n = 190 \pm 9$) and like all other sturgeon species, microchromosomes comprised more than 50% of the chromosomes. The chromosome number in hybrids was half the number of chromosomes in the parents (*A. persicus* $2n=258\pm4$ and beluga $2n=118\pm3$). With regard to the fact that the number of chromosomes in *A. persicus* is 4N and that in beluga is 2N the number of chromosomes in hybrids is 3N or triploid. DNA bands produced by PCR in parents and offspring showed genetic inheritance.

Histological analysis of control fish and hybrids after 18 months of rearing showed that male and female cells were observed in hybrids that is a characteristic feature of impotent or sterile fish. However only one type of sexual cells were observed in fishes in the control groups (*A. persicus* and beluga).

Results obtained from the present study show that the hybrids produced are triploid (3N) and histologically sterile. Also hybrids produced showed good growth. With regard to the scarcity of female beluga and the limitation in the production of beluga fingerlings, it is suggested that sturgeon hatcheries produce hybrids and thus meet the fingerling demands of sturgeon farms. Also considering that the hybrids produced are sterile they can be considered as a candidate for export for aquarium fish.

With regard to the fact that the hybrids produced are a new species it is suggested that this species is named 'Belupars' which is a taken from the names of the two parents 'Beluga' and 'Persicus'.

Key words: Hybridization, *Acipenser persicus*, *Huso huso*, Caspian Sea, Growth

جدول شماره ۱- تعداد تخم در گرم، درصد لقاح، میزان تلفات در مرحله لاروی و تعداد لاروهای حاصله از ماهیان شاهد و دورگه

(فیلماهی H=*Huso huso* و قره‌برون P=*Acipenser persicus*)

شماره تیمار / پارامترهای اندازه‌گیری شده	۱	۲	۳	٤	٥	٦	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲
نوع تلاقی	فیلماهی شاهد	H♂xP♀	H♀xP♂	قره‌برون شاهد	فیلماهی شاهد	H♂xP♀	H♀xP♂	قره‌برون شاهد	فیلماهی شاهد	H♂xP♀	H♀xP♂	قره‌برون شاهد
تعداد تخم در گرم	۳۵	۵۱	۳۵	۵۱	۳۴	۵۲	۳۴	۵۲	۳۹	۴۹	۳۹	۴۹
درصد لقاح در مرحله ۴ تایی	۷۲	۸۷	۴۲	۸۱	۸۹	۹۰	۷۴	۵۵	۳۸	۷۹	۳۷	۸۵
درصد لقاح در مرحله ۳۵ تایی	۸۵	۸۵	۵۸	۸۹	۵۰	۸۶	۶۲	۶۵	۴۱	۷۶	۳۵	۸۴
تعداد لارو حاصله	۶۵۳۰	۱۱۰۸۰	۲۷۶۴	۱۰۳۷۷	۱۹۲۶	۱۷۱۷	۱۸۸۶	۲۰۵۸	۲۳۱۸	۴۴۶۶	۸۵۱	۶۲۸۱
تلفات لارو تا زمان تغذیه فعال	۲۹۳۸	۷۳۳۴	۱۷۴۱	۳۸۱۴	۱۳۵۸	۱۱۲۵	۱۰۰۵	۱۰۱۲	۶۸۸	۲۹۰۶	۳۱۵	۱۳۳۴
تعداد لارو باقیمانده	۲۷۴۵	۳۲۹۶	۸۱۲	۶۱۴۰	۷۰۹	۵۷۰	۶۱۲	۸۷۳	۱۴۰۹	۱۴۱۵	۴۱۹	۴۵۲۶

جدول ٦- مقایسه نسبی صفات مورفومتریک بین ماهیان شاهد و دورگه‌ها

ردیف	پارامترها	فیل ماهی شاهد	تاسماهی ایرانی نر + فیلماهی ماده	تاسماهی ایرانی ماده + فیل ماهی نر	اختلاف معنی دار		تاسماهی ایرانی شاهد	اختلاف معنی دار		p-value
					فیل ماهی شاهد با (تاسماهی ایرانی نر + فیلماهی ماده)	فیل ماهی شاهد با (تاسماهی ایرانی ماده +فیل ماهی نر)		تاسماهی ایرانی شاهد با (تاسماهی ایرانی نر +فیلماهی ماده)	تاسماهی ایرانی شاهد با (تاسماهی ایرانی ماده +فیل ماهی نر)	
۱	طول سر/طول پوزه	۰/۴۴	۰/۴۷	۰/۴۸	+	+	۰/۴۷	–	–	۰/۰۰۰۰
۲	طول کل/طول سر	۰/۲۱	۰/۰۲	۰/۲۰	+	+	۰/۱۹	–	–	۰/۰۰۰۰
۳	طول سر/فاصله نوک پوزه تا سبیلک	۰/۲۴	۰/۱۷	۰/۱۸	+	+	۰/۱۱	+	+	۰/۰۰۰۰
۴	طول سر/فاصله سبیلک تا دهان	۰/۲۰	۰/۳۲	۰/۳۵	+	+	۰/۳۵	+	+	۰/۰۰۰۰
۵	طول سر/فاصله چشم تا نوک پوزه	۰/۴۰	۰/۳۷	۰/۴۰	–	–	۰/۳۶	–	+	۰/۰۰۵۱
۶	طول سر/طول سبیلک	۰/۱۷	۰/۱۵	۰/۱۶	+	+	۰/۱۰	+	+	۰/۰۰۰۰
۷	طول سر/فاصله سوراخ بینی تا پوزه	۰/۳۷	۰/۳۳	۰/۳۳	+	+	۰/۲۸	+	+	۰/۰۰۰۰
۸	طول سر/عرض پوزه در محل سبیلک	۰/۲۶	۰/۲۲	۰/۲۶	+	+	۰/۲۲	–	–	۰/۰۰۰۰
۹	طول کل/طول ساقه دمی	۰/۱۵	۰/۱۷	۰/۱۷	–	–	۰/۱۶	–	–	۰/۰۲۲۳
۱۰	طول کل /فاصله بین باله سینه ای تا باله پشتی	۰/۳۶	۰/۳۶	۰/۳۷	–	+	۰/۴۰	–	–	۰/۰۰۱۱

This document was created with Win2PDF available at http://www.daneprairie.com.
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.