ضرورت ایجاد بانک های ژن آبزیان، بانک ژن میگو

سعید تمدنی جهرمی[1*] ، حجت الله فروغی فرد[1] ، سجاد پورمظفر[2]، حسین رامشی[2]، شهرام صید مرادی[2]
1-پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان ، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور ،سازمان تحقیقات ، ترویج و آموزش کشاورزی ، بندر عباس
2-ایستگاه تحقیقاتی نرمتنان، پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندرلنگه، ایران.
Stamadoni@gmail.com

چکیده:

ایجاد بانک ژن می‌تواند رهنمودهایی برای بهبود تنوع و شناسایی ساختار جمعیت ، صید قاچاق ، تشخیص میزان هم خونی و طبقه بندی ژنتیکی جانوران ارائه نماید. بر اساس تعریف دبیرخانه کنوانسیون تنوع زیستی، تنوع زیستی به معنای تمایز بین ارگانیسم های زنده از هر منبع شامل اکوسیستم های زمینی، دریایی و اکوسیستم های آبزی می باشد. تنوع زیستی از سه مفهوم مرتبط به هم تشکیل شده است: تنوع ژن ، تنوع گونه و تنوع زیست بوم (اکوسیستم). نگهداری مطلوب از ذخایر ژنتیکی جانوری و گیاهی و حفظ تنوع زیستی به عنوان سرمایه‌های ملی با استفاده از تکنیک‌های زیست فناوری از مهمترین اهداف ایجاد بانک ژن است. نگهداری بلند مدت آن، ثبت ژنتیکی گونه های در معرض تهدید و در حال انقراض و استفاده از تکنیک های زیست فناوری برای حفظ، بقا و مدیریت گونه های جانوری و گیاهی از جمله دیگر وظایف بانک ژن می باشد. میگوهای جنس پنائوس(Penaeus) یکی از مهمترین و ذخایر آبزیان اقتصادی در دریای عمان و خلیج‌فارس می‌باشند که نقش مهمی در صنعت صید و صیادی در کشور دارند. هدف از این تحقیق تهیه بانک ژن از میگو های بومی منطقه خلیج فارس با استفاده از تهیه ماده ژنتیکی کل (Total DNA) و نگهداری آنها میباشد.

کلمات کلیدی:
ژنتیک ، تنوع زیستی ، بانک ژن ، میگو ، خلیج فارس ، COI

1-مقدمه:

وضعیت پر تلاطم و بحرانی زیستگاه هاعمدتاً حاصل دخالتهای مخرب انسانی که هم اینک گریبانگیر محدوده آبهای خلیج فارس و دریای عمان شده است و تغییرات شدید آب و هوایی سالیان اخیر و همچنین آلودگی های نفتی پیامد جنگ در خلیج فارس و عبور و مرور کشتی های نفتکش که مقادیر بسیار زیادی نفت را به عنوان آب توازن به درون خلیج فارس میریزند و همچنین وجود نیروگا های برق و آب شیرین کن ها و پساب مزارع پرورش میگو و سایر ابزیان سرعت افول و انقراض ارگانیسمهای زنده را بسیاربالا برده به گونه ای که هر روز تعداد فراوانی از موجودات از میکرو ارگانیسمها گرفته تاجانوران و گیاهان پر سلولی در این منطقه مورد تهدید قرار گرفته و گونه ای مهم را در خطر انقراض قرار داده است. لذا ایجاد بانکهای بزرگ بافت و DNA ژنومی از موجودات زنده دربسیاری از کشورهای جهان از جمله منطقه خلیج فارس و دریای عمان درراستای نگه داری نسخه هایی از ژنوم ذخایر ارزشمند ژنتیکی مهم میباشد . متاسفانه در وضعیت موجود ساماندهی ساختار و تمرکز مدیریت بر منابع ژنتیکی آبزیان حوزه خلیج فارس و دریای عمان از طریق ایجاد یک شبکه منسجم ذخایر ژنتیکی آبزیان این منطقه وجود ندارد و شناسنامه ای از ذخایر ژنتیکی و گونه های در معزض خطر گیاهی و جانوری در این منطقه ایجاد نشده است..یکی از بهترین تکنیک ها پس از مطالعه، حفاظت از زیستگاه و تهیه بانک ژنی آبزیان منطقه میباشد که با حفظ آنها از انقراض گونه‌های در معـــرض خطر و بسیاری از گونه‌های دیگر نیز جلوگیری می‌گردد. هدف از این تحقیق تهیه بانک ژن از چهار گونه از میگو های بومی منطقه خلیج فارس میباشد.

مواد و روشها :

نمونه برداری از مناطق جاسـک ، گواتر و هرمز از گونه های میگوی موزی ، ببری سبز ، مونودون و سفید هندی انجام و استخراج DNA به روش فنل – کلروفورم انجام شد(Taggart et al.,1990) آغازگر مورد استفاده در این تحقیق شامل در PCR ژن COI :(Palumbi and Benzi 1991 (Tong et al., 2000), Palumbi et al. (1991).

توالی نوکلئوتیدی آغازگر	نام آغازگر
5’-AGGAAATGTTGAGGGAAG AAATAA-3’	COIP4
5’-TAA CCTGCAGGAGGAGGAG AYCC-3’	COIf

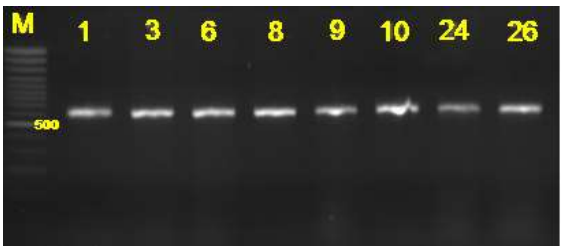
برنامه اجرایی دستگاه ترموسایکلر برای تکثیر ژن COI

مراحل PCR	دما (درجه سانتیگراد)	زمان	تعداد چرخه
واسرشته سازی اولیه	95	3 دقیقه	1
واسرشته سازی	95	30 ثانیه	30
الحاق	56	45 ثانیه	
بسط	72	60 ثانیه	
بسط نهایی	72	5 دقیقه	1

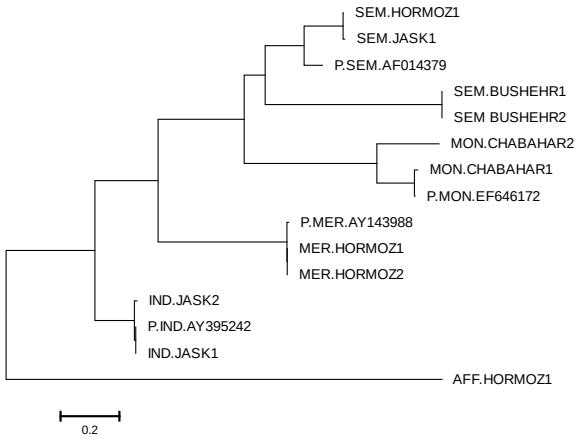
پس از دریافت توالی ها، بازنگری توالی های مشابه با نرم افزار Chromas 2.23 انجام شد. به منظور شناسایی اختلاف میان توالی ها، نمونه های توالی یابی شده با نرم افزار Clustal W هم ردیف و آنالیز و رسم درخت فایلوژنی و میزان فاصله ژنتیکی گونه های مورد نظر با استفاده از نرم افزار MEGA 5 محاسبه شدند (Thompson 1997).

3-نتایج و بحث:

بهینه سازی واکنش PCR جهت تکثیر ژن COI با استفاده از گرادیانت دمایی60- 48 درجه سانتیگراد نشان اد که مناسب‌ترین دما برای اتصال آغازگر، دمای 56 درجه سانتیگراد است. آغازگرهای COfI و COI P4امکان تکثیر بخشی از ژنCOI به طول تقریبی 580 جفت باز را فراهم نمودند.



الگوی باندی محصول PCR ژن COI روی ژل آگارز یک درصد



درخت تکاملی ژن COI میگوهای مورد مطالعه به روش Neighbor-Joining

بحث و نتیجه گیری :

زیستگاه همچنان در اثر فعالیت های انسانی غیر قابل تحمل نابود میشوند، . یک دلیل برای حفاظت از تنوع ژنتیکی آبزیان تهیه بانک ژن است .گام نخست درتشکیل بانک ژن زنده آبزیان آگاهی و شناخت کامل از وضعیت ساختار ژنتیکی آنها است تا بتوان بر اساس مارکرهای ژنتیکی هریک از جمعیت ها را شناسایی و برای آن خزانه ژنی مجزا و تفکیک شده ای تشکیل داد در غیراینصورت تشکیل خزانه ژنی از آبزیان متعدد بی هویت ژنتیکی ایجاد خواهد گردید. ارتقاء بازده اقتصادی در سیستم های آبزی پروری ،عمیقاً به برنامه های اصلاح نژاد و آمیزش های هدفمند بین مولدین وابسته است. به همین دلیل امروزه اغلب مراکز بزرگ تکثیر مخصوصا میگو این برنامه ها را با هدف بهبود صفات رشد،بازماندگی و یا مقاومت در مقابل بیماری راه اندازی نموده اند.با اینحال این خطر همواره وجود دارد که در دراز مدت ،عدم شناسایی و ضعف مدیریت صحیح بر ذخایر ژنتیکی موجب افزایش ضریب همخونی در جمعیت های والدی در کارگاه های تکثیر گردد.افزایش ضریب همخونی باعث کاهش تنوع ژنتیکی میگردد که به نوبه خود توان پاسخ به انتخاب را در نسلهای آتی کاهش داده و در نهایت منجر به کاهش رشد ،بازماندگی و خصوصیات تولید مثلی خواهد شد.با توجه به زادآوری بالا در میگوها، در برنامه های آمیزش انتخابی، نیاز به تعداد اندکی مولد در لاین والدی وجود دارد که همین امر احتمال قرابت ژنتیکی والدین انتخاب شده از بین جمعیت پرتعداد پیش مولد را افزایش میدهد. بنا براین با اطلاع از ذخایر ژنتیکی و تولید بانک ژن از منابع ژنتیکی آبزیان مخصوصا میگو میتوان به افزایش تولید کمک کرد. ذخیره مناسب و پایای نمونه های انسانی و جانوری ضامن تامین نمونه های تحقیقاتی مورد نیاز در این زمینه است. به این منظور از رو شهای مختلفی برای حفظ نمونه ها از جمله نگهداری در دمای -70°C وهمچنین نگهداری در ازت مایع استفاده می شود. که با توجه به امکانات مرکز در تهیه بانک ژنی میگو ، ماده ژنتیکی کل (Total DNA) بسته بندی و در فریزر منهای 70 نگهداری میگردد. تجزیه و تحلیل DNA میتوکندری وضوح خوب واگرایی ژنتیکی میان گونه های مختلف مورد اقدام برای تهیه بانک ژن را نشان داد.. این نوع تحلیل را می توان به عنوان یک ابزار مهم برای در انتخاب مولدین در برنامه های اصلاحی و همچنین باز سازی ذخایر این کونه ها استفاده کرد. با این حال، اگر داده ها در حال حاضر به دست آمده انعکاس واقعی از ترکیب ژنتیکی گونه های مورد استفاده در تهیه بانک ژن باشد میتوان استنتاج کرد که ترکیب ژنی گونه های مورد بررسی بسیار نزدیک به هم میباشد و ما بجر اختلاف زیادی که در گونه ببری سبز مشاهده کردیم در گونه های دیگر مشاهده نشدو هیچ سابقه قبلی از انتقال مولدین بین مناطق مختلف وجود ندارد. بنابراین، محتمل ترین توضیح برای این مشاهده انست که توزیع ژنی گونه های مختلف میگوهای پناییده یکسان است و بیشتر از یک منشا ژنی واحد طبعیت میکنند .

4-منابع:

Taggart, J. B., hynes, R. A., Prodohal, P. A. and Ferguson, A. 1992. A simplified protocol for routine total DNA isolation from salmonid fishes. *Journal of Fish Biology*, 40: 963-965.

Palumbi, S. R., Martin, A., Pomano, S., McMillan, W. O., Stice, L. and Grabowski, G. (1991). The Simple Fool's Guide to PCR, Version 2 : Zoology Department, University of Hawaii, Honolulu, USA.

Palumbi, S. R. and Benzie, J. (1991). Large mitochondrial DNA differences between morphologically similar Penaeid shrimp. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 1: 27-34.

Thompson, J. D., Higgins, D. G. and Gibson, T. J. (1994). ClustalW: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, positions-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research*, 22: 4673-4680.

Necessaries on Creation of marine gene banks, Shrimp gene bank

Saeid Tamadoni Jahrmoi[1*] , Hojatolah Foroughifard[1], Sajjad pour Mozafar[2], Hosein Rameshi[2], Shahram Seyd Moradi[2]

1-Persian Gulf and Oman Sea Ecology Research Center, Iranian Fisheries Sciences Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO),Bandar Abbas, Iran

2-Persian Gulf Mollusks Research station , Iranian Fisheries Sciences Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO),Bandar Lengeh, Iran

Abstract:
Genetic knowledge and Gene bank preparation can help to protect biodiversity and detect species identify, fishing offenses, genetic classification and also identification the failure cross hybridizations of marine animals. Biodiversity consists of three related concepts: gene diversity, diversity of species and diversity of ecosystems. The optimal maintenance of animal and plant genetic resources and the conservation of biodiversity as national capital using biotechnology is one of the most important goals of creating a gene bank. Long-term maintenance, genetic record of threatened and endangered species, and the use of biotechnology techniques for conservation, survival and management of animal and plant species are the other functions of the gene bank. Genus of Penaeus is one of the most important and economical shrimp stocks in the Persian Gulf and Oman Sea, which plays an important role in the fishing industry in the country. The purpose of this research is to provide the gene bank of the endemic shrimps species of Persian Gulf and Oman Sea .

Key words: Genetic, Biodiversity, Gene Bank, Shrimp, Persian Gulf