وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور– مرکز تحقیقات ماهیان سردآبی

عنوان:

ارزیابی تنوع ژنتیکی و رابطه خویشاوندی پیش مولدین ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) با استفاده از روش های مولکولی

مجری:
سلطنت نجار لشگری

شماره ثبت
۵۹۰۰۲

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور– مرکز تحقیقات ماهیان سردآبی

عنوان طرح/ پروژه: ارزیابی تنوع ژنتیکی و رابطه خویشاوندی پیش مولدین ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) با استفاده از روش های مولکولی
کد مصوب: ۹۴۰۰۲۲-۹۴۰۰۵-۹۴۰۱-۰۱۱-۱۲-۹۵-۱۲۸
نام و نام خانوادگی نگارنده/ نگارندگان: سلطنت نجار لشگری
نام و نام خانوادگی مجری مسئول (اختصاص به پروژه ها و طرح های ملی و مشترک دارد): -
نام و نام خانوادگی مجری: سلطنت نجار لشگری
نام و نام خانوادگی همکار(ان): محمد پورکاظمی، سهراب رضوانی گیل کلائی، ابوالفضل سپهداری، سجاد نظری، رقیه محمودی، شهروز برادران نویری، حمزه پورغلام، الهام مقصودلو، محمد اسماعیل راست روان، محدث قاسمی، علی نکوئی فرد، صادق امیدوار، صابر شیری، محمود محسنی، فرامرز لالوئی، محمد جواد تقوی، فریبا اسماعیلی، نورالله خداپرست، فرشید احمدی جیلدانی
نام و نام خانوادگی مشاور(ان): -
نام و نام خانوادگی ناظر(ان): -
محل اجرا: استان مازندران
تاریخ شروع: ۱۳۹۴/۱۰/۰۱
مدت اجرا: ۲ سال و ۶ ماه
ناشر : مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور
تاریخ انتشار: ۱۳۹۹
حق چاپ برای مؤلف محفوظ است. نقل مطالب، تصاویر، جداول، منحنی ها و نمودارها با ذکر مأخذ بلامانع است.

«سوابق پروژه و مجری مسئول / مجری»

پروژه: ارزیابی تنوع ژنتیکی و رابطه خویشاوندی پیش مولدین ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) با استفاده از روش‌های مولکولی

کد مصوب: ۹۴۰۰۲۲-۹۴۰۰۵-۹۴۰۱-۰۱۱-۱۲-۹۵-۱۲۸

شماره ثبت (فروست): ۵۹۰۰۲ تاریخ: ۱۳۹۹/۱۱/۲۱

با مسئولیت اجرایی سرکار خانم سلطنت نجار لشگری دارای مدرک تحصیلی دکتری تخصصی در رشته شیلات می‌باشد.

پروژه توسط داوران منتخب بخش زیست فناوری و فرآوری آبزیان در تاریخ ۱۳۹۹/۱۰/۲۱ مورد ارزیابی و با رتبه عالی تأیید گردید.

در زمان اجرای پروژه، مجری در :

ستاد □ پژوهشکده □ مرکز ■ ایستگاه □

با سمت مسئول گروه ژنتیک و اصلاح نژاد در مرکز تحقیقات ماهیان سردآبی مشغول بوده است.

عنوان	«فهرست مندرجات»	صفحه

چکیده ۱
۱- مقدمه ۲
۲- مواد و روشها ۵
۲-۱- جمع‌آوری نمونه‌ها ۵
۲-۲- استخراج DNA ۷
۲-۲-۱- مواد مورد استفاده ۷
۲-۲-۲- تجهیزات مورد استفاده ۷
۲-۲-۳- مراحل استخراج ۸
۲-۳- ارزیابی کمیت DNAهای استخراج شده ۱۲
۲-۳-۱- مواد مورد استفاده ۱۲
۲-۳-۲- تجهیزات مورد استفاده ۱۲
۲-۳-۳- روش ارزیابی ۱۳
۲-۴- ارزیابی کیفیت DNAهای استخراج شده با استفاده از الکتروفورز افقی ژل آگارز ۱٪ ۱۳
۲-۴-۱- مواد مورد استفاده ۱۳
۲-۴-۲- تجهیزات مورد استفاده ۱۳
۲-۴-۳- روش ارزیابی ۱۴
۲- ۵- طراحی و آماده سازی آغازگرها ۱۶
۲-۶- بهینهسازی واکنش زنجیرهای پلیمراز و پروفایل حرارتی آن ۱۷
۲-۷- انجام واکنش زنجیرهای پلیمراز و تکثیر قطعه ژن هدف ۱۷
۲-۷-۱- مواد مورد استفاده ۱۷
۲-۷-۲- تجهیزات مورد استفاده ۱۷
۲-۷-۳- روش ارزیابی ۱۸
۲-۸- ارزیابی کیفی محصولات PCR ۱۹
۲-۸-۱- مواد مورد استفاده ۱۹
۲-۸-۲- تجهیزات مورد استفاده ۱۹
۲-۸-۳- روش ارزیابی ۲۰

۲-۹- رنگ آمیزی ژل پلی‌اکریل آمید ۶٪ با استفاده از روش نیترات نقره ۲۱
۲-۹-۱- مواد مورد استفاده ۲۱
۲-۹-۲- تجهیزات مورد استفاده ۲۲
۲-۹-۳- روش رنگ آمیزی ۲۲
۲-۱۰- سنجش وزن مولکولی محصولات PCR و امتیازدهی باندها ۲۲
۲-۱۱- پردازش دادهها ۲۳
۳- نتایج ۲۴
۳-۱- ارزیابی کیفیت DNAهای استخراج شده ۲۴
۳-۲- ارزیابی کمیت DNAهای استخراج شده ۲۴
۳-۳- ارزیابی کیفیت محصولات PCR ۲۴
۳-۴- تعداد آلل واقعی و مؤثر ۲۵
۳-۵- میزان هتروزایگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار ۲۵
۳-۶- فاصله و شباهت ژنتیکی ۲۷
۳-۷- تمایز ژنتیکی ۲۸
۳-۸- تنوع ژنتیکی بین جمعیت‌ها، بین افراد داخل جمعیت‌ها و داخل افراد جمعیت‌ها ۲۸
۳-۹- آنالیز تجزیه به مؤلفه‌های اصلی ۲۸
۴- بحث ۲۹
۵- نتیجه گیری کلی ۳۲
پیشنهادها ۳۳
منابع ۳۴
چکیده انگلیسی ۳۷

چکیده

مدیریت تنوع ژنتیکی در موجودات نیازمند ارزیابی ساختار ژنتیکی و تفکیک ذخایر گونه مورد نظر می‌باشد. مطالعه حاضر به منظور ارزیابی تنوع ژنتیکی و رابطه خویشاوندی پیش‌مولدین ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) مرکز تولید ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان عاری از عوامل بیماری‌زای خاص در کشور (SPF) با استفاده از روش‌های مولکولی انجام شد. بدین منظور ۷ گروه ژنتیکی از ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان مزارع و مرکز منتخب سازمان دامپزشکی کشور و سازمان شیلات ایران در استان‌های مازندران، آذربایجان غربی و کهگیلویه و بویراحمد به سالن پیش‌قرنطینه در مرکز تحقیقات ماهیان سردآبی کشور- تنکابن منتقل شدند. پس از سپری نمودن دوره سازگاری، پلاک‌گذاری و اندازه‌گیری وزن و طول ماهیان در تابستان سال ۱۳۹۶ و زمستان سال ۱۳۹۷ انجام شد. سپس حدود ۵-۳ گرم از بافت نرم و تازه انتهای باله مولدین ماده و نر هر مزرعه در الکل اتانول ۹۶° تثبیت و به آزمایشگاه ژنتیک مرکز تحقیقات ماهیان سردآبی- تنکابن منتقل شد. استخراج DNA ژنومی با استفاده از روش استات آمونیوم و واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با استفاده از ۷ جفت آغازگر ریزماهواره انجام شد. برای مشاهده آلل‌ها و تعیین اندازه آنها از الکتروفورز عمودی ژل پلی اکریل‌آمید ۶٪ و رنگ‌آمیزی نیترات نقره استفاده شد. تصاویر ژل توسط دستگاه مستندساز ژل ثبت و باندها با استفاده از نرم افزار INTAS GEL DOC Ver. 0.2.14.0 امتیازدهی شدند. بر اساس نتایج، بیشترین تعداد آلل واقعی (۱۰/۷۱) و میزان هتروزایگوسیتی مشاهده شده (۰/۱۱±۰/۴۹) در ماهیان مزرعه فخاری و کمترین تعداد آلل واقعی (۰/۰۱±۵/۲۹) و میزان هتروزایگوسیتی مشاهده شده (۰/۰۸±۰/۳۴) در ماهیان مزرعه معروفی مشاهده شد. بیشترین میزان فاصله ژنتیکی (۰/۰۹) و کمترین میزان شباهت ژنتیکی (۰/۹۱) بین ماهیان مزارع (فخاری و قربانی) و کمترین میزان فاصله ژنتیکی (۰/۰۲) و بیشترین میزان شباهت ژنتیکی (۰/۹۸) بین ماهیان مزارع (ملکی‌تبار و سرشار) و ماهیان مزارع (معروفی و حدیدی) محاسبه شد. بیشترین میزان تمایز ژنتیکی (۰/۰۸۴) بین ماهیان مزارع (قربانی و فخاری) و کمترین میزان تمایز ژنتیکی (۰/۰۱۴) بین ماهیان مزارع (معروفی و سرشار) محاسبه شد. همچنین، نتایج آنالیز واریانس مولکولی نشان داد که اختلاف تنوع ژنتیکی بین جمعیت‌ها معنی‌دار است ($P<0.001$). نتایج این مطالعه می‌تواند در مدیریت ذخایر پرورشی و برنامه‌های به‌گزینی و اصلاح‌نژاد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در ایران مورد استفاده قرار گیرد.

کلمات کلیدی: تنوع ژنتیکی، رابطه خویشاوندی، قزل‌آلای رنگین‌کمان، روش‌های مولکولی