

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور - مرکز تحقیقات ماهیان سردآبی

عنوان:

بررسی تنوع ژنتیکی مولدین ماهی آزاد دریای خزر
(*Salmo trutta caspius*) مرکز بازسازی ذخایر کلاردشت به منظور تهیه
شناسنامه ژنتیکی و ایجاد بانک ژن زنده مولدین ماهی آزاد

مجری:

سلطنت نجار لشگری

شماره ثبت

۶۲۱۳۴

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور - مرکز تحقیقات ماهیان سردآبی

عنوان طرح/پروژه: بررسی تنوع ژنتیکی مولدین ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) مرکز
بازسازی ذخایر کلاردشت به منظور تهیه شناسنامه ژنتیکی و ایجاد بانک ژن زنده مولدین ماهی آزاد
کد مصوب: ۹۵۱۲۰-۱۲-۱۲-۴

نام و نام خانوادگی نگارنده/ نگارندگان: سلطنت نجار لشگری

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

نام و نام خانوادگی مجری: سلطنت نجار لشگری

نام و نام خانوادگی همکار(ان): حمزه پورغلام، مصطفی رضوانی گیل کلائی، محمد جواد تقوی رستمی،
فرامرزی لالویی، حسینعلی عبدالجی

نام و نام خانوادگی مشاور(ان): محمد پور کاظمی

نام و نام خانوادگی ناظر(ان): -

محل اجرا: استان مازندران

تاریخ شروع: ۱۳۹۵/۰۱/۰۱

مدت اجرا: ۱ سال و ۶ ماه

ناشر: موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور

تاریخ انتشار: سال ۱۴۰۱

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

«سوابق طرح یا پروژه و مجری مسئول / مجری»

طرح/پروژه: بررسی تنوع ژنتیکی مولدین ماهی آزاد دریای خزر
(*Salmo trutta caspius*) مرکز بازسازی ذخایر کلاردشت به منظور
تهیه شناسنامه ژنتیکی و ایجاد بانک ژن زنده مولدین ماهی آزاد
کد مصوب: ۹۵۱۲۰-۱۲-۱۲-۴

شماره ثبت (فروست): ۶۲۱۳۴ تاریخ: ۱۴۰۱/۶/۱۳

با مسئولیت اجرایی سرکار خانم سلطنت نجارلشگری دارای
مدرک تحصیلی دکتری تخصصی در رشته شیلات می باشد.

پروژه توسط داوران منتخب بخش زیست فناوری و فرآوری آبزیان
در تاریخ ۱۴۰۱/۵/۲۴ مورد ارزیابی و با رتبه عالی تأیید گردید.

در زمان اجرای پروژه، مجری در:

ستاد پژوهشکده مرکز ایستگاه

با سمت عضو هیئت علمی در مرکز تحقیقات ماهیان سردآبی
مشغول بوده است.

عنوان	«فهرست مندرجات»	صفحه
چکیده	۱
۱- مقدمه	۲
۲- مواد و روش کار	۷
۱-۲- نمونه برداری	۷
۲-۲- استخراج DNA	۷
۱-۲-۲- مواد مورد استفاده برای استخراج DNA	۷
۲-۲-۲- تجهیزات مورد استفاده برای استخراج DNA	۸
۳-۲-۲- مراحل استخراج DNA	۸
۳-۲- ارزیابی کمیت DNA های استخراج شده	۱۱
۱-۳-۲- مواد مورد استفاده برای ارزیابی کمیت DNA های استخراج شده	۱۱
۲-۳-۲- تجهیزات مورد استفاده برای ارزیابی کمیت DNA های استخراج شده	۱۱
۳-۳-۲- روش ارزیابی کمیت DNA های استخراج شده	۱۱
۴-۲- ارزیابی کیفیت DNA های استخراج شده	۱۱
۱-۴-۲- مواد مورد استفاده برای ارزیابی کیفیت DNA های استخراج شده	۱۲
۲-۴-۲- تجهیزات مورد استفاده برای ارزیابی کیفیت DNA های استخراج شده	۱۲
۳-۴-۲- روش ارزیابی کیفیت DNA های استخراج شده	۱۲
۵-۲- طراحی و آماده سازی آغازگرها	۱۳
۶-۲- بهینه سازی واکنش زنجیره ای پلیمرز و پروفایل حرارتی آن	۱۴
۷-۲- انجام واکنش زنجیره ای پلیمرز و تکثیر قطعه ژن هدف	۱۴
۱-۷-۲- مواد مورد استفاده برای انجام واکنش زنجیره ای پلیمرز	۱۴
۲-۷-۲- تجهیزات مورد استفاده برای انجام واکنش زنجیره ای پلیمرز	۱۴
۳-۷-۲- روش انجام واکنش زنجیره ای پلیمرز	۱۵
۸-۲- توالی یابی محصولات PCR ناحیه D- Loop مولکول mtDNA	۱۶
۹-۲- پردازش داده ها	۱۶
۳- نتایج	۱۷
۱-۳- ارزیابی کیفیت DNA های استخراج شده	۱۷
۲-۳- ارزیابی کمیت DNA های استخراج شده	۱۷

۱۷	۳-۳- ارزیابی کیفیت محصولات PCR.....
۱۸	۳-۴- تعداد جایگاههای چند شکلی، فراوانی و فاصله اتصال بین هاپلوتایپها
۱۸	۳-۵- نسبت نوکلئوتیدها
۱۸	۳-۶- جانشینی نوکلئوتیدی
۱۹	۳-۷- تنوع نوکلئوتیدی و هاپلوتایپی
۱۹	۳-۸- فاصله ژنتیکی و درجه خویشاوندی
	۳-۹- شرح درخت فیلوژنی رسم شده به روشهای Maximum Parsimony و Neighbor Joining با استفاده
۱۹	از آنالیز خود راه انداز
۲۲	۴- بحث
۲۶	۵- نتیجهگیری و پیشنهادها
۲۷	منابع
۳۱	پیوست
۳۶	چکیده انگلیسی

چکیده

جهت بررسی تنوع ژنتیکی مولدین ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) مرکز بازسازی ذخایر کلاردشت به منظور تهیه شناسنامه ژنتیکی و ایجاد بانک ژن زنده مولدین ماهی آزاد، حدود ۵-۳ گرم از بافت نرم و تازه انتهای باله ۳۰ عدد مولد ماده و نر در الکل اتانول ۹۶° تثبیت شد. DNA ژنومی به روش استات آمونیوم استخراج و کمیت و کیفیت DNA های استخراج شده با استفاده از روشهای اسپکتروفتومتری و الکتروفورز افقی ژل آگارز ۱٪ تعیین شد. واکنش زنجیره ای پلیمرز با استفاده از یک جفت آغازگر توالی یابی (D-Loop) انجام شد. محصولات PCR پس از ارزیابی کیفی با ژل آگارز ۱/۵٪، خالص سازی و برای توالی یابی به شرکت Bioneer کره جنوبی ارسال شدند. توالی یابی به روش خاتمه یابی زنجیره و تجزیه و تحلیل آماری داده ها با استفاده از نرم افزارهای Bio-Edit، Mega، Arlequin و DNA SP انجام شد و ۱۹ هاپلوتایپ مختلف شناسایی و ۱۰۳ عدد جایگاه پلی مورفیک مشاهده شد. میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار به ترتیب 0.44 ± 0.124 و 0.252 ± 0.175 ، میانگین تنوع نوکلئوتیدی و هاپلوتایپی به ترتیب 0.003 ± 1 و 0.28 ± 0.37 ، میزان فاصله ژنتیکی و میانگین درجه خویشاوندی به ترتیب 0.35 و 0.65 ± 0.672 به دست آمد. به طور کلی نتایج نشان داد که مولدین ماهی آزاد دریای خزر بررسی شده در مرکز بازسازی ذخایر کلاردشت از یک گونه هستند و با توجه به متفاوت بودن هاپلوتایپ و نابرابری نرخ تکامل بین شجره هایشان، همه افراد جمعیت دارای تنوع ژنتیکی می باشند.

کلمات کلیدی: تنوع ژنتیکی، ماهی آزاد دریای خزر، کلاردشت، شناسنامه ژنتیکی، بانک ژن