وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور - مرکز تحقیقات ژنتیک و اصلاح نژاد ماهیان سردابی
شهید مطهری یاسوج

عنوان:

بهگزینی گله های پیش مولدین ماهی قزل آلای رنگین کمان و معرفی خانواده های برتر با استفاده از شاخص های ژنتیکی رشد

مجری:
سجاد نظری

شماره ثبت
۵۷۳۲۵

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور- مرکز تحقیقات ژنتیک و اصلاح نژاد ماهیان سردابی شهید مطهری یاسوج

عنوان طرح/پروژه: بهگزینی گله های پیش مولدین ماهی قزل آلای رنگین کمان و معرفی خانواده های برتر با استفاده از شاخص های ژنتیکی رشد
کد مصوب: ۹٤۰۰۲۳-۹٤۰۰۵-۹٤۰۱-۰۱۲-۱۲-۱۲-۱٤۸
نام و نام خانوادگی نگارنده/ نگارندگان: سجاد نظری
نام و نام خانوادگی مجری مسئول (اختصاص به پروژه ها و طرحهای ملی و مشترک دارد) : -
نام و نام خانوادگی مجری: سجاد نظری
نام و نام خانوادگی همکار(ان): محمد پورکاظمی، مصطفی قادری زفره‌ای، سلطنت نجار لشگری، خدیجه آقایی، رقیه محمودی
نام و نام خانوادگی مشاور(ان): سهراب رضوانی گیل کلائی
نام و نام خانوادگی ناظر(ان): -
محل اجرا: استان کهگیلویه و بویراحمد
تاریخ شروع: ۱۳۹٤/۱۰/۰۱
مدت اجرا: ۲ سال و ٦ ماه
ناشر: موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور
تاریخ انتشار: سال ۱۳۹۹
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 : بهگزینی گله‌های پیش مولدین ماهی قزل آلای رنگین کمان و معرفی خانواده های برتر با استفاده از شاخص های ژنتیکی رشد

کد مصوب : ۹٤۰۰۲۳-۹٤۰۰۵-۹٤۰۱-۰۱۲-۱۲-۱۲-۱٤۸

شماره ثبت (فروست) : ۵۷۳۲۵ تاریخ : ۱۳۹۹/۲/۷

با مسئولیت اجرایی جناب آقای سجاد نظری دارای مدرک تحصیلی دکتری در رشته شیلات (ژنتیک آبزیان) می‌باشد.

پروژه توسط داوران منتخب بخش زیست‌فناوری و فرآوری آبزیان در تاریخ ۱۳۹۸/۱۲/۴ 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 ژنتیک و اصلاح نژاد ماهیان سردابی شهید مطهری یاسوج مشغول بوده است.

عنوان	«فهرست مندرجات»	صفحه

چکیده ۱
۱-مقدمه ۲
۱-۱-ژنتیک مولکولی و برنامه اصلاح نژاد ۵
۱-۱-۱-ایجاد جمعیت پایه ۵
۱-۱-۲- بهبود ژنتیکی ۶
۱-۲-استراتژیهای بهبود ژنتیکی ۷
۱-۲-۱- بهگزینی فردی ۷
۱-۲-۲- بهگزینی خانوادگی ۷
۱-۲-۳-اثر ژنوتیپ و محیط ۸
۱-۳- ژنتیک صفات کمی ۸
۱-۳-۱-لوکوسهای صفات کمی (QTL) ۹
۱-۴- بیان مسئله ۱۰
۱-۵- صفت رشد ۱۱
۱-۶-اهمیت اقتصادی و اجتماعی ۱۲
۱-۷-انتخاب به کمک نشانگر (MAS) ۱۳
۱-۷-۱- ژنهای کاندیدا ۱۳
۱-۷-۲- تنوع اللی در ژنهای کاندیدا ۱۴
۱-۷-۳- ژنهای مرتبط با رشد ۱۵
۱-۷-۴-کنترل در سطح بافت ماهیچه (عوامل رشد تبدیل کننده) ۱۵
۱-۸- روشهای ژنومی ۱۶
۱-۸-۱- روش‌های توالی‌یابی ۱۶
۱-۹- منابع ژنومی ماهی قزل آلای رنگین کمان ۱۶
۱-۱۰- سوابق تحقیق در داخل و خارج از کشور با تاکید بر نتایج آنها ۱۷
۱-۱۱-اهداف ۲۲
۱-۱۱-۱-فرضیات تحقیق ۲۲
۱-۱۱-۲- اهداف تحقیق ۲۲
۲- مواد و روش ها ۲۳
۲-۱- جمع آوری نمونه ها ۲۳

۲-۲- شناسنامه دار کردن و ثبت ذخایر مولدین قزل آلای رنگین کمان ۲۳
۲-۳- استقرار شرایط آزمایشگاهی و واکنش تکثیر زنجیرهای پلیمراز (PCR)..... ۲۴
۲-۳-۱- استخراج DNA به روش فنل-کلروفرم..... ۲۴
۲-۳-۲-مراحل استخراج DNA به روش فنل-کلروفرم ۲۴
۲-۳-۳- ارزیابی کیفیت DNA با روش الکتروفورز ژل آگارز..... ۲۵
۲-۴- انتخاب پرایمر مناسب..... ۲۶
۲-۴-۱- بهینه کردن شرایط PCR..... ۲۶
۲-۵- تفاوت فرم فضایی رشته های منفرد (SSCP)..... ۲۸
۲-۵-۱- الکتروفورز محصول هضم شده، با استفاده از ژل پلی‌اکریل‌آمید ۲۸
۲-۵-۲-واسرشته سازی محصول PCR..... ۳۰
۲-۵-۳- رنگ‌آمیزی ژل پلی‌اکریل‌آمید با نیترات نقره..... ۳۰
۲-۶-آنالیز آماری..... ۳۱
۲-۶-۱- آنالیز توالی..... ۳۱
۲-۶-۲- آنالیز صفت کمی..... ۳۲
۳- نتایج..... ۳۳
۳-۱- نتایج بررسی کمیت و کیفیت DNA استخراج شده..... ۳۳
۳-۱-۱- روش الکتروفورز..... ۳۳
۳-۱-۲- روش اسپکتوفتومتری..... ۳۳
۳-۲- نتایج الکتروفورز محصول PCR..... ۳۴
۳-۲-آنالیز داده ها..... ۳۸
۳-۳-نشانگرهای مولکولی..... ۴۲
۳-۴- نتایج ارتباط ژن با صفات رشد..... ۴۲
۳-۵- تنوع نوکلئوتیدی..... ۴۲
۴- بحث و نتیجه گیری..... ۴۴
پیشنهادها..... ۵۰
منابع..... ۵۱
چکیده انگلیسی ۵۷

چکیده

با توجه به پیشرفتهای اخیر فن آوریهای ژنومی بخصوص شناسایی نشانگرهای مولکولی در قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) ، می توان به کاربرد بیشتر این نشانگرها در انتخاب جمعیتهای مختلف این گونه در برنامه های اصلاح نژادی در کشور جهت افزایش راندمان تولید بهره گرفت. امروزه از نشانگرهای مولکولی و به ویژه نشانگرهای مبتنی بر DNA به طور گسترده ای در بسیاری زمینه ها از قبیل بررسی تنوع ژنتیکی یا روابط ژنتیکی، نقشه یابی و ردیابی ژن ها،شناسایی ژنهای موثر بر صفات کمی و انتخاب به کمک نشانگرها[1] استفاده می شود. پروژه حاضر بخشی از طرح "ارزیابی ژنتیکی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان پرورشی جهت تولید ماهیان عاری از بیماریهای خاص[2] (SPF) " با هدف انجام روش‌های ژنتیک مولکولی صفات کمی ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان پرورشی اجرا گردید. پس از انتقال ۷ گروه از ماهیان قزل آلای رنگین کمان مراکز منتخب مورد تایید سازمان دامپزشکی کشور و سازمان شیلات ایران در استان های مازندران، آذربایجان غربی و کهگیلویه و بویر احمد به سالن پیش قرنطینه در مرکز تحقیقات ماهیان سردآبی کشور، ثبت داده های بیومتری در فصول تابستان و زمستان سال ۱۳۹۶، از بافت باله مولدین نمونه برداری صورت پذیرفت. استخراج ژنوم از تمامی نمونه ها نیز بر اساس روش فنل- کلروفرم انجام و در ادامه کیفیت و کمیت DNA بااستفاده از روش اسپکتروفتومتری و ژل آگارز ارزیابی گردید. جهت تکثیر جایگاه ژن پذیرنده هورمون رشد GHR، از نواحی مختلف اینترون و اگزون ژن تعداد ۱۲ جفت آغازگر و روش PCR-SSCP استفاده شد. بررسی محصول PCR ژن هورمون رشد قزل‌آلای رنگین‌کمان، بر روی ژل آگارز ۰/۸٪، نشان دهنده تکثیر قطعات واحدی به طول حدود ، ۲۴۶ ، ۱۸۵، ۲۲۰ ، ۱۶۳ ، جفت بازی (bp) برای آغازگرهای RH1، RH 2، RH 3 و RH 5 ژن هورمون رشد بود. نتایج بررسی ارتباط بین صفات کمی وزن و طول مولدین قزل آلای رنگین‌کمان در مزارع پرورشی مختلف از استانهای مازندران، کهگیلویه و بویراحمد، آذربایجان غربی با دو جفت چندشکلی تک نوکلئوتیدی (SNP) شناسایی شده در ژن هورمون رشد GHR ارتباط معنی داری را نشان نداد ($P>0.05$) . نتایج حاصل از این تحقیق و چندشکلی های تک نوکلئوتیدی مشاهده شده در ژن پذیرنده هورمون رشد GHR را می توان در مطالعات آینده و فاز دوم طرح کلان SPF در دوره رشد کامل ماهیان قزل آلای رنگین‌کمان استفاده نمود.

کلمات کلیدی: قزل‌آلای رنگین‌کمان، نشانگرهای مولکولی، صفات کمی، ژن هورمون رشد

[1] Marker-Assisted Selection
[2] Specific Pathogen Free