

وزارت جهاد كشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج كشاورزی
مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی كشور

عنوان :

ارزیابی ژنوم جهت شناسایی
گله های برتر قزل آلاي رنگین کمان
(*Onchorhynchus mykiss*)

مجری:

محمد پور کاظمی

شماره ثبت

۵۷۹۵۱

وزارت جهاد کشاورزی

سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی

مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، مرکز تحقیقات ماهیان سردآبی تنکابن، مرکز تحقیقات ژنتیک و اصلاح نژاد ماهیان سردآبی شهید مطهری یاسوج

عنوان پروژه: ارزیابی ژنوم جهت شناسایی گله های برتر قزل آلائی رنگین کمان (*Onchorhynchus mykiss*)

شماره مصوب: ۹۴۰۰۲۱-۹۴۰۰۵-۹۴۰۱-۱۲-۰۱۰-۱۲-۱۲-۱۴۸

نام و نام خانوادگی نگارنده/ نگارندگان: محمد پور کاظمی

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

نام و نام خانوادگی مجری / مجریان: محمد پور کاظمی

نام و نام خانوادگی همکاران: سجاد نظری، سلطنت نجار لشگری، سهراب رضوانی گیل کلائی، مصطفی

قادری زفره ای

نام و نام خانوادگی مشاوران: -

نام و نام خانوادگی ناظر: -

محل اجرا: استان های تهران، تنکابن و یاسوج

تاریخ شروع: ۱۳۹۴/۱۰/۱

مدت اجرا: ۳ سال ۶ ماه

ناشر: مؤسسه 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»

پروژه : ارزیابی ژنوم جهت شناسایی گله های برتر قزل آلا

رنگین کمان (*Onchorhynchus mykiss*)

کد مصوب : ۹۴۰۰۲۱-۹۴۰۰۵-۹۴۰۱-۹۴۰۱۰-۱۲-۱۲-۱۴۸

شماره ثبت (فروست) : ۵۷۹۵۱ تاریخ : ۱۳۹۹/۵/۱۹

با مسئولیت اجرایی جناب آقای دکتر محمد پورکاظمی دارای

مدرک تحصیلی دکتری تخصصی در رشته شیلات-ژنتیک آبریان

می باشد.

پروژه توسط داوران منتخب بخش زیست فناوری و فرآوری آبریان

در تاریخ ۱۳۹۹/۲/۲۸ مورد ارزیابی و با رتبه خوب تأیید گردید.

در زمان اجرای طرح یا پروژه، مجری در :

ستاد ■ پژوهشکده □ مرکز □ ایستگاه □

با سمت رئیس مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور مشغول بوده

است.

عنوان	«فهرست مندرجات»	صفحه
چکیده.....		۱
۱-مقدمه.....		۲
۱-۱- قزل آلاى رنگين کمان.....		۲
۱-۲- اهميت مطالعات ژنوم و لزوم بررسى آنها.....		۵
۱-۳- نشانگرهاى مولکولى.....		۶
۱-۳-۱- نشانگرهاى DNA.....		۶
۱-۴- انواع ژنوم.....		۸
۱-۵- ارزشيابى تنوع ژنتيکى.....		۹
۱-۵-۱- فراوانى ژنى در جمعيت ها.....		۹
۱-۵-۲- تنوع نوکلئوتيدى.....		۱۰
۱-۶- برنامه اصلاح نژاد و بهبود ژنتيکى.....		۱۰
۱-۷- ژنتيک صفات كمى اقتصادى.....		۱۱
۱-۸- انتخاب به کمک ژنوم (Genome Sequancing).....		۱۲
۱-۹- فن آورى هاى ژنومى.....		۱۳
۱-۹-۱- روش هاى ژنومى.....		۱۶
۱-۱۰- ژنوم ماهى قزل آلاى رنگين کمان.....		۱۸
۱-۱۱- بيان مسئله.....		۱۹
۱-۱۲- اهميت اقتصادى و اجتماعى.....		۲۱
۱-۱۳- سوابق تحقيق در داخل و خارج از کشور با تاکيد بر نتايج آنها.....		۲۳
۱-۱۴- اهداف.....		۲۵
۱-۱۴-۱- فرضيات تحقيق.....		۲۵
۱-۱۴-۲- اهداف تحقيق.....		۲۶
۲- مواد و روش ها.....		۲۷
۲-۱- جمع آورى نمونه ها.....		۲۷
۲-۲- شناسنامه دار کردن و ثبت ذخاير مولدين قزل آلاى رنگين کمان.....		۲۷
۲-۳- استقرار شرايط آزمایشگاهى.....		۲۸
۲-۳-۱- استخراج DNA به روش فنل-کلروفرم.....		۲۸

۲۹	۲-۳-۲-مراحل استخراج DNA به روش فنل-کلروفرم.....
۲۹	۲-۳-۳-ارزیابی کیفیت DNA با روش الکتروفورز ژل آگارز.....
۳۱	۲-۶-آنالیز آماری.....
۳۱	۲-۶-۱-ویرایش داده‌های خام.....
۳۲	۲-۶-۲-تجزیه و تحلیل توالی.....
۳۳	۲-۶-۳-آنالیز رونویسی (بیان).....
۳۳	۲-۷-ارزیابی راهبردها و روالهای پیشنهادی.....
۳۴	۳-نتایج.....
۳۴	۳-۱-نتایج بررسی کمیت و کیفیت DNA استخراج شده.....
۳۴	۳-۱-۱-روش الکتروفورز.....
۳۴	۳-۱-۲-روش اسپکتوفتومتری.....
۳۵	۳-۲-آنالیز ژنوم.....
۴۴	۴-بحث و نتیجه گیری.....
۴۸	پیشنهادها.....
۴۹	منابع.....
۵۶	چکیده انگلیسی.....

چکیده

پروژه حاضر با انجام روش های نوین ارزیابی ژنومی بخشی از طرح "ارزیابی ژنتیکی ماهی قزل آرای رنگین کمان پرورشی (*Onchorhynchus mykiss*) جهت تولید ماهیان عاری از بیماریهای خاص^۱ (SPF) " بوده و به گزینش ماهیان سریع الرشد و تولید ماهیان عاری از بیماری های خاص این گونه مهم اقتصادی کمک قابل توجهی می نماید. در این پروژه ابتدا هفت گروه از ماهیان قزل آرای 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 انتخاب شدند. پس از بیهوشی ماهیان با استفاده از پودر گل میخک، داده های صفات کمی از قبیل طول کل، طول استاندارد و وزن ثبت شده و همزمان از بافت باله دمی مولدین نمونه برداری صورت پذیرفت. نمونه های بافت ماهیان جهت استخراج DNA در الکل ۹۶ درصد نگهداری و به منظور آزمایشات مولکولی به آزمایشگاه ژنتیک منتقل شدند. استخراج DNA ژنوم از تمامی نمونه ها با کیت انجام و در ادامه کیفیت و کمیت DNA با استفاده از روش های الکتروفورز ژل آگارز و اسپکتروفتومتری ارزیابی گردید. به منظور بررسی ژنوم از هر گله قزل آرای رنگین کمان پرورشی با استفاده از روش توالی یابی نسل جدید (Next Generation Sequencing)، تعداد ۶ نمونه DNA (نگهداری در یخ خشک °C ۷۰-) به شرکت یوروفین (Eurofins) کشور آلمان ارسال گردید. پس از دریافت توالی داده ها توسط برنامه BWA با ژنگان مرجع همردیف شدند. چندشکلی های تک نوکلئوتیدی و حذف و اضافه های کوچک ژنگان با برنامه GATK شناسایی شدند. نتایج آنالیز ژنوم قزل آرای رنگین کمان از گله های مختلف در مزارع پرورشی، تعداد نوکلئوتید و توالی های متعددی را نشان داد. به طوریکه تعداد باز های خام در نمونه های مختلف مزارع از ۶۸۵۰۹۳۲۴۹ باز در مزرعه ملکی تبار تا ۳۴۹۴۶۸۷۲۵ باز در مزرعه فخاری متغیر بود. همچنین تعداد بازها پس از ویرایش از ۳.۲۴ E +۰۸ در مزرعه یاسوج تا ۰.۸ E +۶.۸۵ در مزرعه ملکی تبار متغیر بود. میزان توالی هایی با طول ۵۰ جفت باز ۷۴۵۵۶۱۹۱ عدد و توالی هایی با طول ۹۰ جفت باز حدود ۲۱۴۹۸۳ عدد بدست آمد. از شمار کل چندشکلی های تک نوکلئوتیدی ۰.۷۴، ۲۷.۲۸، ۵۶.۴۵ درصد به ترتیب در ناحیه بین ژنی، اینترون و اگزون قرار گرفتند. یافته های این پروژه بیان می کند که احتمالاً اختلاط بالای جمعیت ها با یکدیگر و عواملی همچون به گزینی و سیاست های جاری در هر مزرعه منجر به از دست رفتن تنوع و تمایز بین جمعیت ها شده است. نتایج این مطالعه می تواند در راستای مدیریت ذخایر پرورشی و برنامه های اصلاح نژادی این گونه ی مهم تجاری در ایران مورد استفاده قرار گیرد. همچنین یافته های این تحقیق از طریق شناسایی چندشکلی های تک نوکلئوتیدی در ژنوم گله های قزل آرای رنگین کمان پرورشی به عنوان یک پانل نشانگر با تراکم بالا، می تواند نقش موثری برای شناسایی ذخایر و بهبود ژنتیکی و گنجاندن آنها در اهداف اصلاح نژادی ایفاء نماید.

کلمات کلیدی: انتخاب ژنومی، قزل آرای رنگین کمان، توالی یابی نسل جدید (NGS)، صفات کمی

¹ Specific Pathogen Free