

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور - پژوهشکده آبی پروری آبهای داخلی

عنوان:

شناسایی مولکولی دوکفه ای بومی تالاب انزلی
(آنودونت) با استفاده از توالی یابی
ژن سیتوکروم اکسیداز (COI)

مجری:

تورج سهرابی لنگرودی

شماره ثبت

۵۸۱۷۳

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور- پژوهشکده آبی پروری آبهای داخلی

عنوان طرح/ پروژه: شناسایی مولکولی دوکفه‌ای بومی تالاب انزلی (آنودونت) با استفاده از توالی یابی ژن سیتوکروم اکسیداز (COI)

کد مصوب: ۹۶۰۳۹۹-۰۰۴-۱۲-۳۲-۲۴

نام و نام خانوادگی نگارنده/ نگارندگان: تورج سهرابی لنگرودی

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

نام و نام خانوادگی مجری: تورج سهرابی لنگرودی

نام و نام خانوادگی همکار(ان): محمد پورکازمی، شهرام بهمنش، محدث قاسمی، محمد صیاد بورانی، سهراب دژندیان، فریدون چکمه دوز قاسمی، قربانعلی محمدپور، حسین صابری کوچصفهانی، بهمن محمدی تبار، مهدی گلشن

نام و نام خانوادگی مشاور(ان): مهتاب یارمحمدی

نام و نام خانوادگی ناظر(ان): -

محل اجرا: استان گیلان

تاریخ شروع: ۱۳۹۶/۳/۱

مدت اجرا: یک سال

ناشر: موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور

تاریخ انتشار: سال ۱۳۹۹

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

«سوابق طرح یا پروژه و مجری مسئول / مجری»

طرح/پروژه: شناسایی مولکولی دوکفه‌ای بومی تالاب انزلی
(آنودونت) با استفاده از توالی یابی ژن سیتوکروم اکسیداز (COI)

کد مصوب: ۹۶۰۳۹۹-۰۰۴-۱۲-۳۲-۲۴

شماره ثبت (فروست): ۵۸۱۷۳ تاریخ: ۱۳۹۹/۶/۱۸

با مسئولیت اجرایی جناب آقای تورج سهرابی لنگرودی دارای
مدرک تحصیلی دکتری در رشته شیلات می‌باشد.

پروژه توسط داوران منتخب بخش زیست‌فناوری و فرآوری آبزیان
در تاریخ ۱۳۹۹/۵/۲۶ مورد ارزیابی و با رتبه خوب تأیید گردید.

در زمان اجرای پروژه، مجری در:

ستاد پژوهشکده مرکز ایستگاه

با سمت عضو هیئت علمی در پژوهشکده آبی‌پروری آبهای

داخلی مشغول بوده است.

عنوان	«فهرست مندرجات»	صفحه
چکیده		۴۸
۱-مقدمه		۴۹
۱-۱- موقعیت جغرافیائی تالاب انزلی		۵۰
۱-۲- اهمیت و ارزش تالاب انزلی		۵۱
۱-۳- بخش های مختلف تالاب انزلی		۵۴
۱-۴- آبهای سطحی یا جاری تالاب انزلی		۵۴
۱-۵- رودها و زهکش ها		۵۵
۱-۶- پوشش گیاهی تالاب انزلی		۵۶
۱-۷- پوشش جانوری تالاب انزلی		۵۷
۱-۸- مرگ زودرس تالاب ها		۵۸
۱-۸-۱- مرگ زودرس تالاب انزلی		۶۰
۱-۹- صدف آنودونت تالاب انزلی (<i>Anodonta cygnea</i>)		۶۲
۱-۹-۱- فیزیولوژی		۶۲
۱-۹-۲- طبقه بندی و محیط زیست		۶۳
۱-۹-۳- اهمیت وجود صدف آنودونت در منابع آبی		۶۶
۱-۱۰- اهمیت و ضرورت تکثیر و پرورش نرمتان		۶۷
۱-۱۱- وسایل و ادوات صید نرمتان		۶۷
۱-۱۲- سوابق تحقیق در داخل و خارج کشور		۶۸
۱-۱۳- نشانگرهای ژنتیکی		۷۰
۱-۱۴- تخمین تنوع ژنتیکی با استفاده از نشانگرها		۷۱
۱-۱۴-۱- انواع نشانگرها		۷۱
۱-۱۵- توالی یابی بخش یا کل ژنوم		۷۵
۱-۱۶- روشهای حفظ تنوع ژنتیکی		۷۹
۱-۱۶-۱- واکنش های زنجیره ای پلیمرز (PCR)		۷۹
۱-۱۶-۲- تعیین توالی بازهای آلی DNA		۸۱
۱-۱۷- آنالیز گوناگونی ژنتیکی		۸۲

۲- مواد و روش کار.....	۸۵
۲-۱- نمونه برداری.....	۸۵
۲-۲- استخراج DNA.....	۸۵
۲-۳- مواد مورد نیاز جهت استخراج DNA ، نحوه تهیه بافرها.....	۸۶
۲-۴- ارزیابی کمی و کیفی DNA های استخراج شده.....	۸۷
۲-۴-۱- ارزیابی کمی.....	۸۷
۲-۴-۲- ارزیابی کیفی.....	۸۷
۲-۵- آغازگر (Primer) ژن <i>Cytochrom c</i> میتوکندریایی.....	۸۹
۲-۶- واکنش های زنجیره ای پلیمرز (PCR).....	۸۹
۲-۷- الکتروفورز ژل آگارز.....	۹۱
۲-۷-۱- توالی یابی.....	۹۱
۲-۸- تجزیه و تحلیل داده ها.....	۹۲
۳- نتایج.....	۹۳
۳-۱- کمیت و کیفیت DNA های استخراج شده.....	۹۳
۳-۲- کمیت DNA های استخراج شده.....	۹۳
۳-۳- کیفیت DNA های استخراج شده.....	۹۳
۳-۴- PCR ژن سیتوکروم I صدف آنودنت.....	۹۳
۳-۵- ثبت ژن.....	۹۶
۳-۶- نتایج Blast توالی صدف آنودنت تالاب انزلی در بانک ژن جهانی.....	۹۷
۴- بحث و نتیجه گیری.....	۹۹
پیشنهادها.....	۱۰۲
منابع.....	۱۰۳
پیوست.....	۱۰۸
چکیده انگلیسی.....	۱۲۱

چکیده

هدف از مطالعه حاضر شناسایی دقیق گونه‌ای از صدف دو کفه‌ای بومی تالاب انزلی موسوم به *Anodonta cygnea* با استفاده از روش مولکولی توالی‌یابی و بر اساس بخشی از ژن COI (سیتوکروم اکسیداز وان) میتوکندریایی و ثبت آن در بانک ژن جهانی می‌باشد. بدین منظور پس از نمونه برداری صدف از تالاب انزلی، نمونه‌ها به آزمایشگاه ژنتیک منتقل شدند و استخراج DNA از بافت تازه آنها انجام شد. کیفیت و کمیت DNA های استخراج شده با استفاده از روش‌های الکتروفورز ژل آگارز ۱ درصد و اسپکتروفتومتری در طول موج‌های ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر ارزیابی شد. جهت انجام PCR ابتدا یک قطعه از ژن COI ناحیه میتوکندریایی از بانک ژن NCBI انتخاب و پس از طراحی یک قطعه با اندازه مناسب توسط نرم افزار GeneRunner سنتز گردید. پس از انجام PCR و اطمینان از تکثیر ژن مورد نظر، نمونه‌های تکثیر شده توالی‌یابی شدند. نمونه‌های توالی‌یابی شده با استفاده از نرم افزارهای ژنتیکی نظیر Mega6 و Chromas تجزیه تحلیل شده و پس از بلاست (Blast) بعنوان یک گونه بومی شناسایی شده تالاب انزلی در بانک ژن جهانی NCBI ثبت شدند. با توجه به نتایج بدست آمده از توالی‌های ژن COI و تطبیق نمونه‌های موجود با توالی‌های ثبت شده در بانک ژن مشخص گردید که تمامی نمونه‌ها متعلق به گونه *Anodonta anatine* بوده است در حالی که طی دهه‌های گذشته با توجه به شباهت بسیار زیاد صدف‌های دو کفه‌ای آنودونت به یکدیگر و فقدان روش‌های نوین ژنتیک مولکولی صدف دو کفه‌ای تالاب انزلی به اشتباه *Anodonta cygnea* اطلاق گردیده است.

کلمات کلیدی: صدف آنودونت، تالاب انزلی، سیتوکروم اکسیداز I