به نام خدا

مبانی ژنتیک آبزیان

مؤلف : دکتر مهدی یوسفیان

ویراستار فنی : دکتر سیروس امیری‌نیا

سرشناسه : یوسفیان، مهدی، ۱۳۳٤ -
عنوان و نام پدیدآور : مبانی ژنتیک آبزیان / مؤلف مهدی یوسفیان ؛ ویراستار فنی سیروس امیری‌نیا .
مشخصات نشر : تهران : موسسه تحقیقات شیلات ایران ،مدیریت اطلاعات علمی ، ۱۳۸۸.
مشخصات ظاهری : ۱۹۳ ص. : مصور، جدول، نمودار.
شابک : ۳۰۰۰۰ ریال : 978-964-5856-47-0
وضعیت فهرست نویسی : فیپا
یادداشت : کتابنامه : ص. ۱۸۵-۱۸٦.
یادداشت : واژه‌نامه.
موضوع : آبزیان -- ژنتیک
موضوع : آبزی‌پروری
شناسه افزوده : موسسه تحقیقات شیلات ایران . مدیریت اطلاعات علمی
رده‌بندی کنگره : ۱۳۸۸ ۲ م ۹ ی /QH ٤۳۲
رده‌بندی دیویی : ٥۹۱/۱٥
شماره کتابشناسی ملی : ۱۹۲۳۱٤۸

نام کتاب : مبانی ژنتیک آبزیان
مؤلف : دکتر مهدی یوسفیان
ویراستار فنی : دکتر سیروس امیری‌نیا
ویراستار ادبی : گل‌اندام آل‌علی
شمارگان : ٦۰۰ نسخه
چاپ اول : سال ۱۳۸۸
ناشر : موسسه تحقیقات شیلات ایران – مدیریت اطلاعات علمی
(خیابان فاطمی غربی – پلاک ۳۲٥- تلفن ٦٦۹۱۹۱۳۳ – www. IFRO. ir)
شابک : ۰-٤۷-٥۸٥٦-۹٦٤-۹۷۸ (ISBN : 978- 964-5856-47-0)
نشر : انتشارات علمی آبزیان – تلفن ۲۱- ۲۲۹۰٦۲۲۰
قیمت : ۳۰۰۰۰ ریال

پیشگفتار

دگرگونی‌های عظیمی که در سال های اخیر در علوم‌زیستی و دستاوردهای آن در جهان روی داده است، بازتابی از نیازهای روز افزون و متغیر جوامع امروزی است. گسترش علوم و تکنولوژی در تمام زمینه‌ها از سویی و تغییرات پی در پی در شیوه زندگی و روابط انسان ها از سوی دیگر، مسائل فراوانی را ببار آورده است.

از مطالعات اولیه انسان در خصوص وراثت بین افراد قرنها می‌گذرد. با کشف DNA به عنوان ماده ژنتیکی و شناخت ساختار مولکولی و ویژگی‌های این ماده حیاتی، نقطه عطفی در علم ژنتیک بوجود آمد. از آن پس هر روزه دامنه این مطالعات توسعه یافت و وسعت و عمق این شیوه تحقیقات بحدی رسیده است که محققین نیازمند تحقیق مستمرند تا تنها در یک شاخه از علم ژنتیک و از تازه‌های این علم باخبر باشند. در چنین شرایطی که رشد عظیم دانستنی‌ها بوجود آمده است، وجود معدود کتاب ژنتیک عمومی دامی یا گیاهی، نیاز دانشجویان، محققین و پژوهشگران را مرتفع نمی‌سازد. بنابراین، بر آن شدیم تا با توجه به تجارب سالها آموزش، تحقیق و مطالعه، کتابی را در زمینه علوم ژنتیک تدوین نمائیم تا بخش کوچکی از نیاز مربوط به این رشته را برطرف سازد.

در این کتاب سعی گردید تا مبانی علم ژنتیک با گرایش خاص برای دانشجویان رشته شیلات، پرداخته شود و خوانندگان محترم و علاقه‌مندان را برای مطالعات بیشتر به منابع اختصاصی ارجاع دهد.

مهدی یوسفیان
عضو هیئت علمی موسسه تحقیقات شیلات ایران

فهرست مطالب

پیشگفتار

مقدمه ۱

فصل ۱ : ژنتیک عمومی

مقدمه ٤

۱-۱- موجود زنده و سلول ٤

۱-۲ - DNA ٦

۱-۳- تقسیمات سلولی، میتوز و میوز ۱۳

۱-٤- کراسینگ‌اور و نقشه ژنی ۱۹

۱-٥- موتاسیون یا جهش ۲۱

۱-٦- کروموزوم‌ها ۲۸

۱-۷- تنظیم بیان ژن ۳٤

فصل ۲ : ژنتیک کیفی (اثر متقابل ژن‌ها بر یکدیگر)

مقدمه ۳۸

۲-۱- اثر یک ژن غیرجنسی ۳۸

۲-۲- وراثت دو صفتی ٤۳

۲-۳- ژن‌های وابسته به جنس ٥۲

۲-٤- ژن‌های چند آللی ٥٤

۲-٥- اثرات فرعی ژن‌ها ٥٥

فصل ۳ : ژنتیک کمّی

مقدمه ٥۷

۳-۱- شاخص‌های آماری ژنتیک کمّی ٥۷

۳-۲- تغییرپذیری (واریاسیون) در خصوصیات کمّی و کیفی ٥۹

۳-۳- وراثت‌پذیری ٦۲

۳-٤- پاسخ به بهگزینی ٦۲

۳-٥- واریانس غالبیت و کاربرد آن در افزایش تولید ٦۳

٦-٣- برنامه‌های اصلاحی (بهگزینی) ٦٩
فصل ۴ : ژنتیک جمعیت
مقدمه ٧٤
١-٤- فراوانی ژن و ژنوتیپ ٧٤
٢-٤- قانون هاردی – واینبرگ ٨٠
٣-٤- کاربردهای قانون هاردی – واینبرگ ٨٣
٤-٤- بررسی قانون هاردی – واینبرگ با روش تلاقی ژنوتیپ‌های متفاوت ٨٦
٥-٤- عوامل تغییر و محاسبه میزان آن در فراوانی ژن ٩٦
٦-٤- بهگزینی صفات کیفی ٩٧
٧-٤- تغییر فراوانی ژن در جوامع کوچک ١٠١
فصل ۵ : دستکاری ژنوم
مقدمه ١٠٣
١-٥- روشهای القای ماهیان تری‌پلوئید ١٠٣
٢-٥- روشهای تولید ماهیان تتراپلوئید ١٠٤
٣-٥- تولید انواع ماهیان پلی‌پلوئید ١٠٧
٤-٥- روشهای تولید ماهیان ژینوژنتیک ١٠٧
٥-٥- روشهای تولید ماهیان آندوژنزیز ١١١
٦-٥- روشهای تخریب ژنوم ١١٢
٧-٥- روشهای القای شوک ١١٢
٨-٥- اثبات القای دستکاری ژنوم ١١٣
٩-٥- کاربرد دستکاری کروموزومی ١١٣
فصل ۶ : تغییر جنیسیت از طریق کنترل هورمون‌های جنسی
مقدمه ١١٥
١-٦- جنسیت در ماهی ١١٦
٢-٦- مکانیزم جنسیت ١١٧
٣-٦- کنترل تمایز جنسیت ١٢١
٤-٦- استراتژی‌های مربوط به ماده نمودن ١٢٢
٥-٦- روشهای هورمون‌درمانی در ماهی ١٢٥

٦-٦- روشهای متفاوت تیمار ١٢٦
٦-٧- ماهیت استروئید ١٢٦
٦-٨- متغیرهای کمّی هورمونی ١٢٧
٦-٩- میزان مصرف استروئیدها و تأثیر آن در نسبت‌های جنسی و
ماهیت جنسی ثانویه ١٣٠
فصل ٧ : مهندسی ژنتیک
مقدمه ١٣١
٧-١- مراحل مهندسی ژنتیک ١٣١
٧-٢- کاربردهای فناوری زیستی در ژنتیک آبزیان ١٤٠
فصل ٨ : ژنتیک انجماد سلول
مقدمه ١٦٧
٨-١- انجماد سلول ١٦٨
٨-٢- انجماد اسپرم ١٦٩
٨-٣- انجماد تخمک ١٧٠
٨-٤- انجماد جنین ١٧١
منابع ١٧٣
واژه‌نامه ١٧٥

An Introduction to Aquatic Genetics

By : M. Yousefian

مقدمه

ژنتیک علمی است که از نحوه انتقال صفات و تاثیر عوامل محیطی و داخلی در صفات حیاتی از نسلی به نسل‌های بعدی و علل ایجاد تنوع و ثبوت انواع وچگونگی تکامل و انقراض موجودات زنده بحث و گفتگو می‌کند.

پیکر موجودات متاثر از وراثت و محیط است و هیچیک از این دو عامل ثابت و پایدار نیستند و تغییر در آنها سبب بروز صفات و خصوصیات جدید در فرد می‌گردد. اصل رایج انتخاب طبیعی در مورد تمام موجودات زنده صادق می باشد. این اصل به بیان ساده همان قانون بقای اصلاح است . انسان با اصلاح پیرامون خود، این توانایی را دارد که خود را سازگار تر کند و درباره حفظ، تغییر یا نابودی برخی اشکال موجودات زنده تصمیم گرفته و از علم ژنتیک جهت بهبود زندگی خود بهره گیری نماید.

اولین مطالعات ژنتیکی آمیزش گیاهان دورگه‌گیری بود که بطور منظم از سال ۱۷٦٦ -۱۷٦۱ توسط "کول‌روتر"[1] انجام گرفت.

تئوری سلولی، یکی از مهمترین وقایع تاریخ زیست شناسی در سال ۱۸۳۸ بوسیله "شوان و اشلیدن"[2] بیان گردید و نشان داده‌شد که سلول کوچکترین واحد تشکیل دهنده گیاهان و جانوران است و هر سلول بر اثر تقسیم سلول‌های قبلی بوجود می‌آید. بعدها معلوم شد که هر سلول دارای جسم مشخصی به نام هسته است و با تقسیم هر سلول، دو سلول دختر ایجاد می‌شود. هنگام تقسیم سلول، هسته نیز تقسیم می‌شود و تمام محتویات کروموزومی بطور مساوی بین سلول‌های خواهری تقسیم می‌گردد.

اولین کسی که توانست قوانین حاکم بر انتقال صفات ارثی را شناسائی کند "گرگور مندل" بود که در سال ۱۸٦٦ این قوانین را که حاصل آزمایش‌هایش روی گیاه نخود فرنگی بود، به انجمن علوم طبیعی برون در اتریش ارائه داد. این اطلاعات پس از ۳٤ سال توسط «کورنز»، «شرماک» و «دوریس»[3] تائید شد. آزمایشهای «گریگور مندل»، کشیش و گیاه شناس اتریشی، چگونگی انتقال صفات پایه و اساس

---

[1] - Kulreuter
[2] - T.Schwarn and M.W.Schleiden
[3] - Correns and Tschermack and Devries

علم ژنتیک مدرن را پی ریزی نمود. بر مبنای این آزمایش ها چنین نتیجه گیری شد که واحدهای وراثتی که مندل آنها را فاکتور یا عوامل وراثتی نامید، از نسلی به نسل دیگر منتقل می‌شوند.
در سال ۱۸۷۵،«اسکار هرتویک»[1] باروری در توتیای دریائی را مورد مطالعه قرار داد و متوجه شد که یک یاخته جنسی نر وارد تخمک می‌گردد و باروری رخ می‌دهد.

در سال ۱۹۰۳، تئوری کروموزومی وراثت،توسط «سوتون»[2] مطرح گردید.«سوتون» ثابت نمود که کروموزوم‌های هر فرد بصورت دیپلوئید بوده و در مرحله میوز یکی از اعضای هر جفت کروموزوم به هر گامت می‌رسد. در سال ۱۹۵۳، بررسی‌های «جیمس واتسن»، «فرانسیس کریک» و «ویلکنز»[3] به ساخت مدلی برای DNA منتهی شد.
در سال ۱۹۵٦، کشف «آرتورکرنبرک»[4] و همکارانش امکان ساخت DNA در شرایط آزمایشگاهی را با روش‌هایی آنزیمی میسر نمودند. با این کشف وی موفق به دریافت جایزه نوبل شد.
مطالعات علم ژنتیک مولکولی، چشم انداز جدیدی را در مقابل دانشمندان و پژوهشگران باز نمود و آینده‌ای روشن را درخصوص نحوه انتقال عوامل ژنتیکی از یک جاندار به جاندار دیگر نوید داد.
پس از این مطالعات و طی یک دو دهه اخیر، علم ژنتیک بسط و توسعه شگرفی داشته است و در حال حاضر، به شاخه ها و گرایش های مختلفی تقسیم شده است که می‌توان در این خصوص به موارد ذیل اشاره‌نمود:
سیتوژنتیک، ژنتیک مولکولی، ژنتیک گیاهی ، ژنتیک انسانی، ژنتیک حیوانی، ژنتیک کمی، ژنتیک کیفی، مهندسی ژنتیک و بیوتکنولوژی[5] و غیره.
در این کتاب شرح مختصری از موضوعات ژنتیکی مربوط به آبزیان ارائه شده است. در طبیعت هیچ دو موجودی یکسان نیستند. در بسیاری از موارد، از لحاظ فنوتیپی متفاوتند و در بعضی موارد، با وجود شکل ظاهری یکسان از لحاظ ژنوتیپ متفاوت هستند. ژنتیک علمی‌است که‌علتهای وجود تنوع

[1] - Hertwig
[2] - Suton
[3] - James Watson and Francis Crick and A.H.F.Wilkins
[4] - Arthur Kornberg
[5] - Cytogenetic; Molcular Genetic; Plant genetic; Human genetic; Animal genetic; Quantitative genetic; Qualitative genetic; Genetic engineering and Biotechnology

فنوتیپی و نیز راههای به ارث رسیدن تفاوت ها را بیان می‌کند. برای بهره برداری از حداکثر پتانسیل و توان یک ماهی لازم است تا همزمان با سایر موضوعات مربوط به محیط پرورش ماهی، به خصوصیات ژنتیکی آن نیز توجه شود زیرا بی‌توجهی به ژنتیک ماهی سبب کاهش باقیماندگی، کاهش مقاومت در برابر بیماری، کاهش میزان تخم ریزی، کاهش رشد و مواردی از این قبیل خواهد شد. تولید یک جمعیت ماهی زمانی به حد مطلوب خود می‌رسد که پتانسیل بیولوژی تک تک افراد آن جمعیت به حد مطلوب خود برسد.

برای پرداختن به مطالعات ژنتیکی دو شیوه کلی معمول است :

الف- ژنتیک کلاسیک یا ژنتیک مندلی که بر اساس شکل ظاهری موجود در خصوص ژنتیک آن بحث می‌کند و روش غیر مستقیمی است که خصوصیت موجود را بر اساس وراثت و تنوع مورد بررسی قرار می‌دهد.

ب- ژنتیک برگشتی[1] - در این شیوه موجود به اجزا تشکیل دهنده برگشت می‌نماید و روش مستقیمی است که مواد تشکیل دهنده ژنتیک موجود یعنی ژن و DNA را بررسی می‌نماید.

در بخش اول کتاب ابتدا خصوصیات کلی سلول ها و اجزای آن شرح داده شده و سپس به طریقه ساخت پروتئین و نقش و نحوه تشکیل RNA و DNA پرداخته خواهد شد.

معمولا نقطه آغازین برای متخصصین اصلاح نژاد شیوه اول و برای متخصصین بیوتکنولوژی، شیوه دوم می باشد.

[1] - Reverse Genetic

«فصل ۱»

ژنتیک[1] عمومی

مقدمه

در طبیعت مهمترین خصوصیت یک موجود زنده برنامه ژنتیکی آن است. اولین نشانه‌های حیات، مولکول‌های تکثیر کننده‌ای بودند که سه هزار میلیون سال پیش در دریاهای اولیه بوجود آمدند. پس از آن تکامل ادامه‌یافت و موجودات پیشرفته بوجود آمدند.

۱-۱- موجود زنده و سلول

همه موجودات زنده از یک سلول‌های ساده مثل باکتریها و پروتوزوئرها گرفته تا ساختارهای پیچیده‌ای همچون مهره داران از واحدهای بنیادی کوچکی به نام سلول تشکیل یافته‌اند که کوچکترین واحد زنده سلول است. همه سلول‌های پیکر یک جاندار یکسان نیستند، سلول‌های ماهیچه‌ای تفاوت آشکار با سلول عصبی دارند و سلول عصبی نیز از سلول‌های خونی متفاوت هستند.

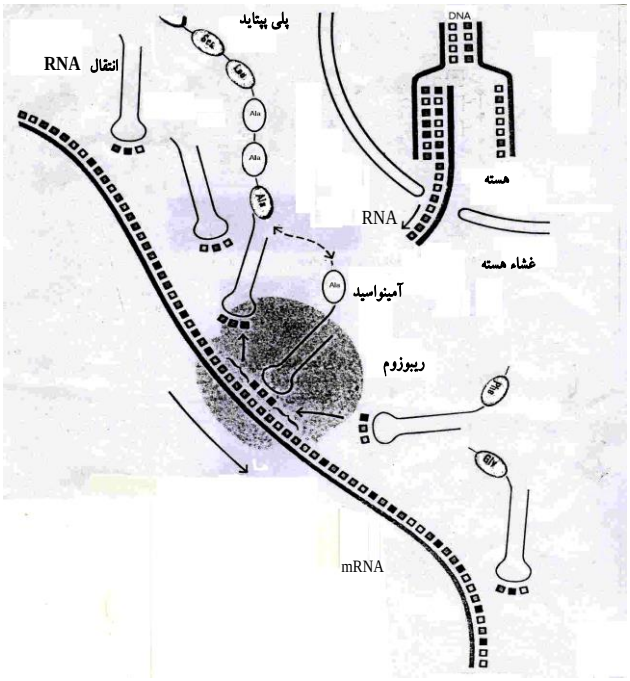
سلولها به دو دسته تقسیم می‌شوند: سلول‌های سوماتیک[2] (غیر جنسی) و سلول‌های جنسی. سلول‌های جنسی جهت انتقال صفات و تشکیل نسل بعد دخالت دارند در حالیکه سلول‌های بدنی در همان موجود فعالیت می‌کنند و به نسل بعدی منتقل نمی‌شود. در سلول، هسته به عنوان مرکز هدایت سلول و توارث مورد توجه است. هسته در یوکاریوتها[3] با یک جدار و لایه پوشیده شده که بصورت فعال با شبکه آندوپلاسمی و جدار سلولی در تماس است. در هسته رشته‌های تاری به نام کروماتین

---

[1] - Genetic
[2] - Somatic cell
[3] - Eukarute

وجود دارد که در طول تقسیم سلولی مشخص شده و کروموزوم نامیده می‌شوند (در رنگ آمیزی، کروموزوم بصورت تاریک و روشن دیده می‌شود. نقاط تاریک را هتروکروماتین[1] و نقاط روشن را یوکروماتین[2] گویند).

DNA در هسته سلول جایگزین شده و اطلاعات ژنتیکی باید از آنجا به سیتوپلاسم منتقل شده تا پروتئین‌های مورد نیاز بدن سنتز گردد. انتقال اطلاعات ژنتیکی DNA از هسته به سیتوپلاسم توسط RNA صورت می‌گیرد(تصویر ۱-۱).



تصویر ۱-۱- سنتز پروتئین از طریق فعالیت و همکاری tRNA, rRNA, mRNA

[1] - Heterochromatin
[2] - Euchromatin

برای اینکار لازم است که در میان RNAها و mRNA (RNA پیام آور) واسطه‌ای برای انتقال اطلاع ژنتیکی از هسته به سیتوپلاسم بکار روند. بعبارتی یک نسخه (کپی) از متن موجود در DNA، بصورت RNA پیک بوجود آمده و در سیتوپلاسم با همکاری سایر RNAها، پروتئین سازی انجام می‌گیرد. نسخه‌برداری از روی DNA، "رونویسی"[1] نامیده می‌شود (تصویر ۲-۱).

DNA -۱-۲

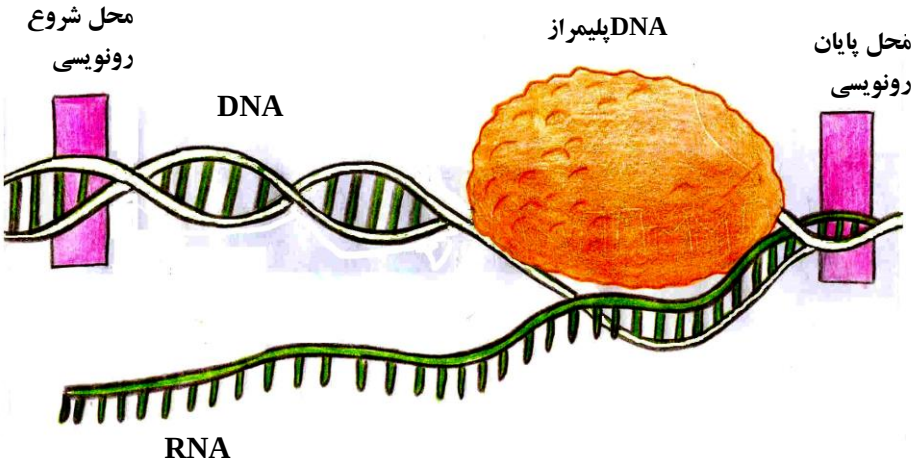
ساختمان کروموزوم‌های جانداران عالی از نوکلئوپروتئین تشکیل شده که شامل نوکلئیک اسیدها (اسیدهای آلی که بیشتر در هسته سلول هستند) و پروتئین ها (مانند هیستونها یا پروتامینها) می‌باشد. فقط نوکلئیک اسیدها شامل اطلاعات وراثتی هستند. هر واحد نوکلئوپروتئین (نوکلئوزوم) شامل یک استوانه کوتاه از پروتئین هیستون است که مولکول نوکلئیک اسید، ۱ و ¾ بار به دور آن پیچیده است (تصویر۳-۱). نوکلئیک اسیدی که اطلاعات وراثتی همه جانداران بجز بعضی از ویروسها را منتقل می‌کند، دزوکسی ریبونوکلئیک اسید(DNA) است.

نوکلئیک اسید برای خصوصیات مرفولوژی, فیزیولوژی، رفتاری و آناتومی کددار شده است. در سال ۱۹٤٤، دزوکسی ریبونوکلئیک اسید به عنوان حامل اطلاعات ارثی شناخته شد. ساختار مارپیچ این مولکول فوق العاده بلند، در شکل ۱-۱ نشان داده شده است. اسکلت این مارپیچ را دو زنجیره از مولکول‌های یک در میان قند (S) و فسفات (P) تشکیل می‌دهد. مولکول قند نوعی پنتوز (قند ۵ کربنی) به نام دزوکسی ریبوز است که در یک اتم اکسیژن کربن موقعیت شماره ۲ تفاوت دارد. جهت این اتصال‌ها، در یک زنجیره بصورت ۵-۳ و در زنجیره دیگر عکس آن، یعنی ۳-۵ است.

پله‌های نردبان، مارپیچ یا واحدهایی که یک رشته مولکول DNA را به رشته مکمل قطبی‌اش وصل می‌کنند، چهار نوع باز آلی جفت شده شامل آدنین و گوانین (از پورین‌ها) و تیمین و سیتوزین (از پیریمیدین‌ها) می‌باشند. نوع پیوندی که سبب اتصال نوکلئوتیدها به یکدیگر می‌شود از نوع کووالانسی است و به نام پیوند "فسفودی‌استر" خوانده می‌شود. پیوند فسفودی‌استر بین گروه فسفات یک نوکلوئید و گروه هیدروکسیل قند نوکلئوتید دیگر برقرار می‌شود. پورین‌ها فقط با پریمیدین ها جفت

[1] - Transcription

می‌شوند و برعکس که در نتیجه یک مارپیچ مضاعف متقارن بوجود می‌آید. یک مولکول باز آلی به اضافه قند متصل به آن نوکلئوزید نامیده می‌شود و یک نوکلئوزید به همراه گروه فسفات متصل به آن را نوکلئوتید می‌نامند



تصویر ۲-۱ نسخه برداری و رونویسی از DNA

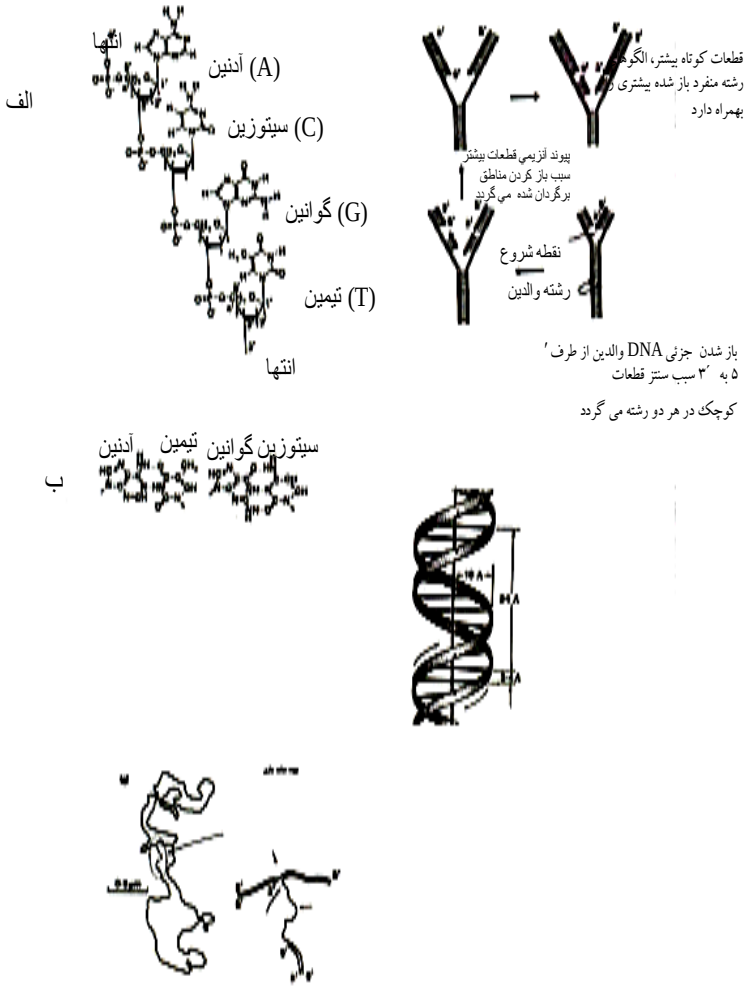
DNA دارای دو نوع فعالیت است: «همانند سازی» که فعالیتی اتوکاتالیتیک است و DNA مشابه خود را می‌سازد و «نسخه برداری» که فعالیتی هتروکاتالیتیک است و سبب تولید انواع RNA می‌شود که یک رشته‌ای است. ترجمه اطلاعات وراثتی به پروتئین از روی الگوی mRNA صورت می‌گیرد.

کنش اصلی RNA دخالت در سنتز پروتئین است. نوعی ازآن (mRNA) همانند پیک عمل می‌کند و اطلاعات را از دستورالعمل رمز شده در DNA به موقعیت ریبوزومی پروتئین‌ساز سلول می‌رساند. ریبوزومها RNA مخصوصی دارند که RNA ریبوزومی (rRNA) نامیده می‌شود و بخش اعظم RNA سلول را تشکیل می‌دهد.

۱-۲-۱- ساختمان DNA

مولکول DNA به شکل نردبانی است که حول محور عرضی و پیچ خورده‌ای است. پایه‌های نردبان را عوامل فسفات و قند دزوکسی‌ریبوز و پله‌های نردبان از چهار نوع باز آلی نیتروژن‌دار است. بین آدنین

و تیمین پله‌ها، دو پیوند هیدروژنی و بین گوانین و سیتوزین پله‌ها، سه پیوند هیدروژنی برقراراست. استحکام گوانین و سیتوزین به جهت سه پیوند هیدروژنی، بیشتر است.



تصویر ۳-۱- (الف): ساختار شیمیائی قسمتی از یک زنجیره DNA
(ب): ارتباط شیمیایی بین بازهااز طریق پیوند هیدروژنی (نقطه چین)
(ج): محل شروع همانندسازی (د): ساخت DNA با شیوه گسسته (ه): نمایش مارپیچ دو زنجیره ای DNA

همانطور که بیان گردید هر نوکلوئید DNA دارای سه عامل فسفات، قند و باز آلی میباشد. مولکول قند از سویی به فسفات و از سوی دیگر، به باز آلی متصل است. اسید فسفریک از طریق کربن(۵) قند دزوکسی ریبوز با مولکول نوکلئوزید پیوند برقرار می‌کند.

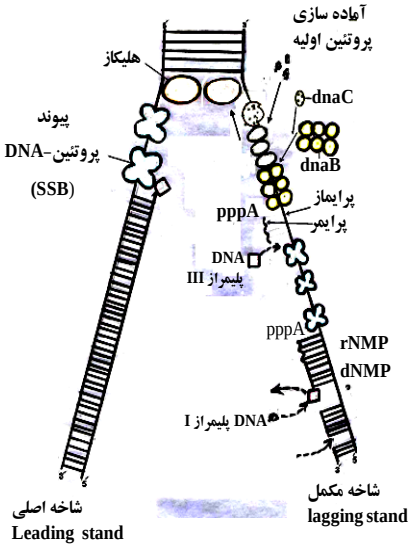
براساس طرح واتسون و کریک، مولکول DNA به شکل نردبانی پیچ خورده است. فاصله هر پیچ کامل ۳٤ آنگستروم است که ده جفت نوکلئوتید را شامل می‌شود. به عبارت دیگر، مولکول DNA، بعد از هر ده جفت نوکلئوتید، ۳٦ درجه می‌چرخد. همچنین براساس طرح واتسون و کریک (۱۹۵۳) DNA دو رشته ای در زمان همانند سازی هر یک مکمل خود را می‌سازند.

۲-۲-۱- همانند سازی DNA

در زمان همانند سازی، ابتدا آنزیم هلیکاز به مولکول DNA دو رشته ای متصل شده و با عمل خود موجب باز شدن دو رشته از یکدیگر می‌شود. همانطور که قبلاً اشاره شد، دو رشته DNA در جهت مخالف یکدیگر به گونه‌ای قرار دارند که انتهای پنج پریم (´۵) یک رشته مقابل انتهای سه پریم (´۳) رشته مکمل قرار دارد. در زمان همانند سازی آنزیم‌های DNA پلی‌مرازIII عمل سنتز را در جهت پنج پریم به سمت سه پریم انجام می‌دهد. این رشته به نام رشته راهنما[1] معروف است و در همانند سازی این رشته را متوالی می‌نامند. در جهت خلاف آن در مولکول DNA که ´۵ آزاد دارد، سنتز DNA طبق موارد مذکور درباره رشته رهنما، انجام نمی‌گیرد. در این رشته همانند سازی براساس روش ارائه شده توسط «اوکازاکی» صورت می‌گیرد. روش سنتز در طرح «اوکازاکی» پس از باز شدن دو رشته DNA ابتدا دو نوع پروتئین به نام‌های B-DNA و C-DNA یک مجموعه یا کمپلکس تشکیل می‌دهد. در زمان همانند سازی، آنزیم پریماز[2] در ساختن قطعه کوچک RNA پرایمر وارد عمل شده و نوکلئوتیدهائی از نوع اسید ریبونوکلئوتید را به یکدیگر متصل می‌کند و سپس RNA آغازگر[3] یا اولیه ای که براساس رشته الگوی سنتز شده است، در محل مجموعه پروتئینها با DNA پیوند ایجاد می‌نماید. این مولکول به کمک آنزیم DNA پلی‌مراز III، به عنوان آغاز کننده سنتز DNA مورد

[1] - Leading strand
[2] - Primease
[3] - Primer

استفاده قرار می‌گیرد و تولید DNA جدید شروع می‌شود. انتهای ´۳ این RNA کوچک که از روی الگوی DNA ساخته شده است، می‌تواند به آنزیم پلیمراز III امکان دهد تا دزوکسی ریبونوکلئوتیدها را به انتهای آن متصل کند. لذا در این رشته از مولکول قطعاتی از DNA سنتز می‌شوند که به نام قطعات "اوکازاکی"[1] مشهورند. ضمن تکرار و ارائه این فرآیند، در این مرحله آنزیم پلیمراز I وارد عمل شده و بترتیب یکی یکی ریبونوکلئوتیدها را در جهت ´۵ به ´۳ برداشته و به جای آن ها نوکلئوتید هائی از نوع دزوکسی جایگزین می‌کند فضای بین دو رشته اوکازاکی[2] توسط پلی‌نوکلئوتید لیگاز (آنزیم لیگاز) پیوند داده می‌شود. (تصویر٤-١)



تصویر٤-١ - همانند سازی و فعالیت برخی از پروتئین ها و آنزیم ها

[1] -Okazaki fragments
[2] - Nick or gap

۳-۲-۱- شکل گیری کروموزوم

در ماهیان به مانند سایر یوکاریوت ها تعدادی DNA دو رشته‌ای وجود دارد که بصورت خطی و به فرم کروموزوم در آمده‌اند. بین اندازه ژنوم[1] و تعداد کروموزوم همبستگی وجود ندارد. معمولاً یوکاریوتها ۴۰-۳۰ هزار ژن[2] مختلف دارند. بنابراین، معمولا تعداد ژنوم در یوکاریوت ها kb ۷-۱۰۶×۵ است. اندازه ژنوم در یوکاریوت ۵cm تا ۲m است. در حالیکه DNA تنها چند میکرون است لذا بسته‌بندی آن بسیار ظریف می‌باشد برای این منظور DNA طی مراحلی به شرح ذیل به فرم کروموزوم بسته بندی می‌شود (تصویر۵-۱).مونومرهای DNA به تعداد ۱٦٤bp و با دو پیچش به دور ۸ هیستون، نوکلئوزوم را شکل می‌دهند. شش نوکلئوزوم در یک چرخش سولونوئید را می‌سازد که حاوی ۱۲۰۰ bp است. هر۵۰ سولونوئید شامل ٦۰۰۰۰bp، لوپ را تشکیل می‌دهد.

هر ۱۸ لوپ با ۱ میلیون bp یک مینی فاسیکول را می‌سازد و مینی فاسیکول‌ها کروموزوم را شکل می‌دهند. این طریقه بسته بندی سبب گردیده که اندازه هسته تنها ۵ میکرومتر باشد در حالیکه اندازه ژنوم ۱۰۰ هزار برابر بیشتر از آن است.

٤-۲-۱-شکل گیری RNA

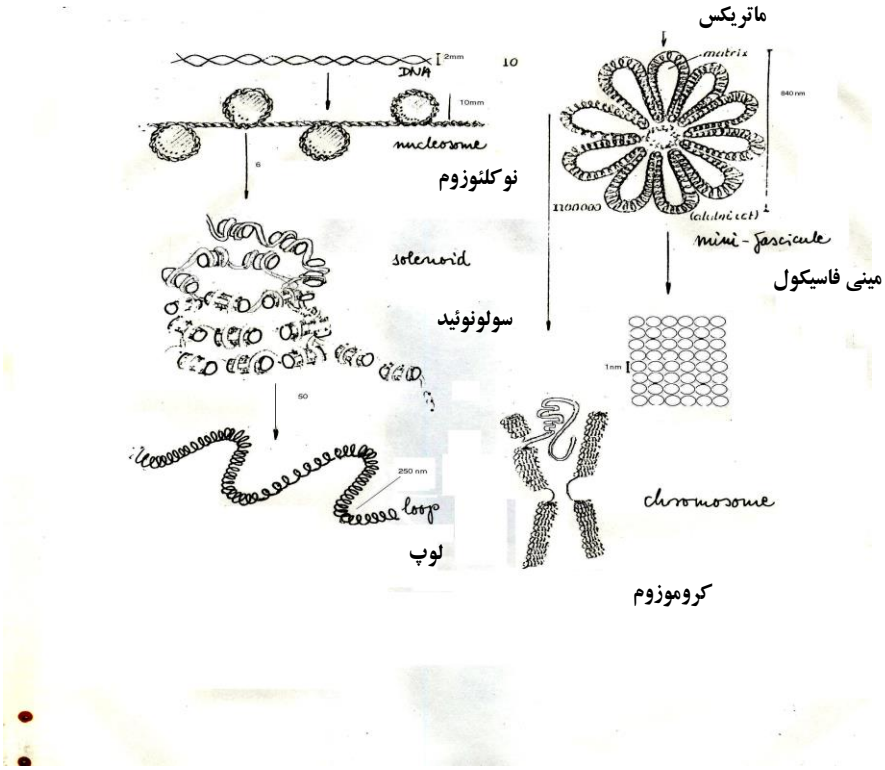
همانطورکه بیان شد موجودات عالی مانند ماهی حدود ۵ میلیارد زوج نوکلئوتید و حدود ۵۰ هزار ژن دارند. یک قطعه DNA که حاوی اطلاعات ژنتیکی است یک ژن نامیده می‌شود. تمام قسمت های DNA ژن نیست بلکه بخشی از DNA برای قسمت هایی که ژن نامیده می شوند، نقش حفاظتی دارد. ژن یا قسمت‌های کدبندی یا اساسی را اکسون[3] و قسمت غیر کدبندی یا غیر اساسی را اینترون[4] گویند.

منطقه‌های دوگانه یک ژن بصورت یک مولکول RNA پیوسته پیشگام استنساخ می‌شوند که به طول یک تا حدود سی ژن است. RNA پیشگام را نسخه اولیه یا RNA هسته‌ای نامتجانس[5] (hnRNA)

---

[1] - Genome
[2] - Gene
[3] - Exon
[4] - Intron
[5] - heteronucleus RNA

می‌نامند. hnRNA به قطعات مونوسیسترونی (یک ژنی) تجزیه می‌شود. آن قسمت از RNA کـه کپـی اینترونها ست بوسیله، نوکلئاز حذف می‌شود و قطعه‌های RNA کپی اکسونها، تحت تاثیر آنزیمها بهـم می‌پیوندد و زنجیره واحدی به منزله الگوی ترجمه، بوجود می‌آورند. پس از آنکـه mRNA بازسـازی شده دارای «کلاهک» و دنباله پلی – A شد، هسته را به مقصد سیتوپلاسم ترک می‌کند.



تصویر ۵-۱- مراحل شکل‌گیری کروموزوم

علامت‌های پایان دوگونه اند : (۱) یک رشته پایانی پلی – A که بوسیله خـود RNA پلیمـراز خوانـده می‌شود و (۲) یک سلسله پالیندروم (یعنی دو ردیف نوکلئوتید یکسان، یا تقریبا" یکسـان، شـامل دو

زنجیره DNA است که در جهت مخالف امتداد یافته اند) که به یک پروتئین پایانی به نـام عامـل رو[1] متصل است . مراحل شکل گیری mRNA که حـاوی اطلاعـات ژنتیکـی از طریـق DNA اسـت، در تصویر۶-۱ شرح داده شده است.

تصویر۶-۱- مراحل شکل‌گیری mRNA

نسخه‌برداری از روی DNA جهت همانندسازی یا تولید mRNA را «رونویسی»[2] و تولیـد پـروتئین از روی اطلاعات را "ترجمه"[3] گویند (تصویر ۷-۱).

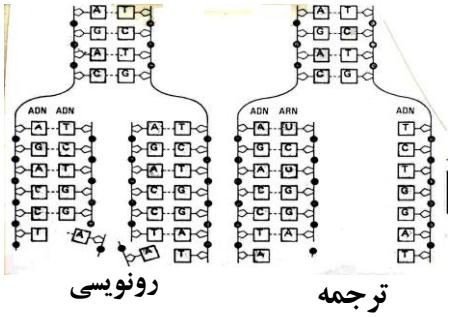
در حال حاضر، از طریق تجزیه پروتئین و تشخیص ردیف‌های آمینـو اسـید امکـان تولیـد RNA و از طریق RNA تولید DNA در شرایط آزمایشگاهی عملی است (تصویر۸-۱)

۳-۱- تقسیمات سلولی، میتوز و میوز

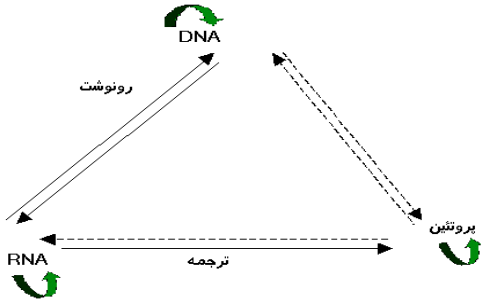
تئوری سلولی اولین بار توسط «اشلایدن» و «شوان»[4] در سال ۱۸۳۹ مطرح شد که سـلول کـوچکترین واحد تشکیل دهنده جانوران و گیاهان است و هر سلول بر اثر تقسیم سلول‌های قبلی بوجود می‌آید و

[1] - Rho factor
[2] - Transcription
[3] - Translation
[4] - Mathias Schleiden and Theodor Schwan

مشخص گردید که سلول دارای جسم مشخصی به نام هسته می‌باشد که هنگام تقسیم سلولی، هسته سلول نیز تقسیم می‌شود و تمام محتویات کروموزومی بطور مساوی بین دو سلول (سلول دختری) تقسیم می‌گردد. دو نوع تقسیم در سلول شکل می گیرد، میتوز یا تقسیم سلول های بدنی و میوز که تشکیل سلول‌های جنسی را در پی دارد (تصویر ۹-۱).



تصویر ۷-۱- همانند سازی و رونویسی DNA



تصویر ۸-۱- ارتباط سه گانه پروتئین DNA, RNA

۱-۳-۱- تقسیم میتوز

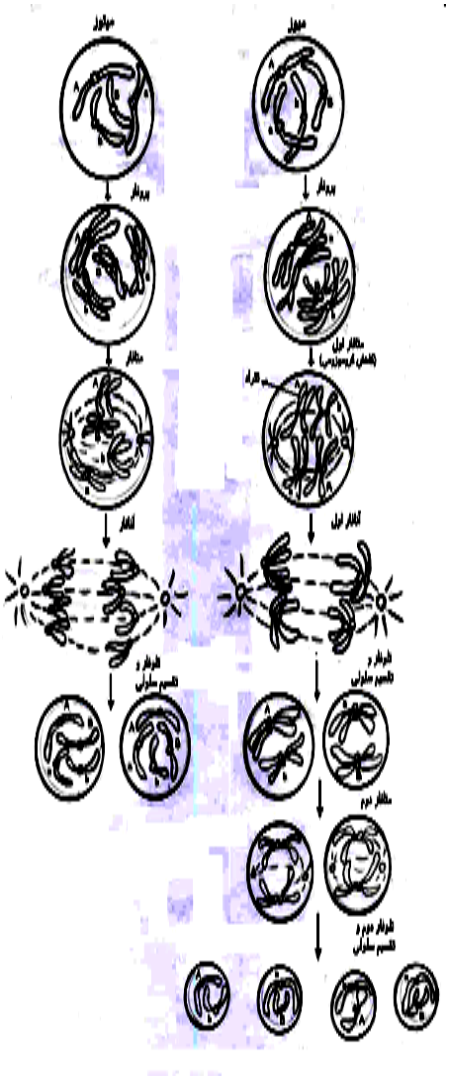
هسته هر ماهی دارای تعداد معینی کروموزوم است. تعداد کروموزوم در انواع ماهیان متفاوت است. قبل از تقسیم هر کروموزوم، ابتدا همانند سازی انجام گرفته و دو کروموزم یکسان بوجود می‌آید. در مرحله بعد با تقسیم سلول هر کروموزوم به یک سلول دختر منتقل می شود و دو سلول جدید با تعداد کروموزوم سلول اولیه بوجود می‌آید. کروموزوم در داخل سلول بصورت غیر متراکم است، پس از همانند سازی کروموزوم بصورت متراکم دیده می‌شود. این مرحله را متافاز می‌گویند که کروموزوم به صورت شکل ویژه‌ای در زیر میکروسکوپ قابل تشخیص است.

کروموزومها در مرحله متافاز روی رشته‌های دوک قرار دارند. با همانند سازی و تقسیم سانترومر، کروموزومها از طول به دو کروموزوم خواهری به نام کروماتید تقسیم می‌شود و هر کدام از آن ها به سمت یکی از دو قطب مخالف حرکت کرده و در یک سلول خواهری دختر (سلول‌های در حال شکل گیری) قرار می‌گیرند. عمل سانترومر شرکت در حرکت کروموزومها طی تقسیمات سلولی است. طی این روند، هر سلول دختر درست همان مقدار و همان نوع از کروموزوم‌های خواهری را دارا خواهد بود. این نوع تقسیم در همه سلول ها بجز سلول‌های جنسی اتفاق می‌افتد. سلول‌های جنسی از طریق تقسیم میوز تکثیر می‌یابند.

۲-۳-۱- تقسیم میوز

هر فرد یکسری از ژن‌های پدر و مادر را بطور تصادفی دریافت می‌کند. این توزیع تصادفی در جریان میوز، هنگام تشکیل سلول‌های جنسی پدر و مادر انجام می‌گیرد. سلول‌های جنسی اگرچه از سلول‌های دیپلوئید (۲n) کروموزومی بوجود می‌آیند ولی تنها دارای n کروموزوم یا منوپلوئید هستند. این امر به دلیل کاهش کروموزومی در تشکیل سلول‌های جنسی طی مراحل میوز انجام می‌گیرد. میوز دارای دو مرحله تقسیم متوالی است. در تقسیم اول کروموزم‌های مشابه از یکدیگر جدا شده و در تقسیم دوم که مشابه مراحل تقسیم میتوز است، کروماتیدهای خواهری از یکدیگر جدا می‌شوند. در حقیقت در میوز دو تقسیم سلولی و فقط یک تقسیم کروموزومی صورت می‌گیرد. این شکل از تقسیم را تقسیم کاهشی نیز می‌نامند. حاصل این تقسیم سلول هایی هستند که تعداد کروموزوم‌های آنها

نصف کروموزوم‌های سلول اصلی می‌باشد. این نوع تقسیم در سلول‌های جنسی ماهی، تخـم و اسـپرم اتفاق می‌افتد.



تصویر۹-۱- مقایسه میتوز و میوز در سلول جانوری

پروفاز میوز تفاوت ویژه‌ای با پروفاز میتوز دارد. در پروفاز تقسیم میوز همانطور که در شکل مشخص است در مرحله اول تقسیم، کروموزوم‌های مشابه به یکدیگر چسبیده و چون هر کرومـوزوم دارای دو

کروماتید است لذا، تشکیل یک تتراد (چهارتایی) را می‌دهد. هنگام جدا شدن کروموزمها، امکان جابجایی و تبادل بین قسمت‌هایی از کروماتیدها نیز وجود دارد که این عمل را «کراسینگ اور»[1] می‌نامند.

در آنافاز اول، کروموزوم‌های مشابهی که هر یک از آنها از کروماتیدهای خواهری تشکیل یافته‌اند، بطرف قطبین سلول می‌روند. بدین طریق تعداد کروموزوم ها کاهش می یابد. در پایان تلوفاز اول که با تقسیم سیتوپلاسم همراه است، دو سلول هاپلوئید شکل می‌گیرد. تقسیم بعدی که فاز دوم میوز است بلافاصله پس از شکل گیری سلول هاپلوئید شروع می‌شود. در این حالت، دوک تقسیم تشکیل شده و در متافاز دوم سانترومرها در سطح استوایی و چسبیده به تارهای دوک شکل می‌گیرد. در آنافاز دوم بعلت تقسیم سانترومرها، کروماتیدهای خواهری از یکدیگر جدا شده و بطرف قطب‌های دوک مهاجرت می‌کنند. با پایان یافتن تلوفاز دوم چهار سلول کروموزومی بوجود می‌آید که نتیجه تقسیم میوز است.

۳-۳-۱- تولید سلولهای جنسی در ماهی

سلول‌های جنسی توسط نوع خاصی از تقسیم سلولی به نام میوز ساخته می‌شود. این تقسیم فقط در اعضای تناسلی ماهی مانند بیضه ها و تخمدان ها انجام می‌شود. تغییراتی که سبب تشکیل سلول های جنسی[2] می‌شود، «گامتوژنز» گویند. در جانورانی مانند ماهیان همانند آنچه که در انسان است، در مراحلی از تکامل، سلول‌های رویشی یا بدنی تمایز یافته و سلول‌های جنسی زاینده را بوجود می‌آورد. در نتیجه این تمایز کسب توانائی انجام مراحل تقسیم میوزی است. زمان تشکیل گناد یا تولید سلول‌های جنسی با توجه به سن بلوغ ماهیان و شرایط زیستی آنها متفاوت است. مراحل گامتوژنز ماده و نر در شکل نشان داده شده است. در سلول‌های ماده (تخمک) پس از دو مرحله تقسیم میوز از چهار سلول تنها یک سلول با حجم غذای بمراتب بسیار زیادی باقی می‌ماند.

در جانوران نر، گامتوژنز را «اسپرماتوژنز» می‌نامند. سلول‌های اولیه مربوط به لایه زایشی (ژرمینال) ماهی در دوره جنسی با تقسیمات میتوزی افزایش می‌یابد و بافت اولیه بیضه را بوجود می‌آورد. این

[1] - Crossing over
[2] - Germ cell

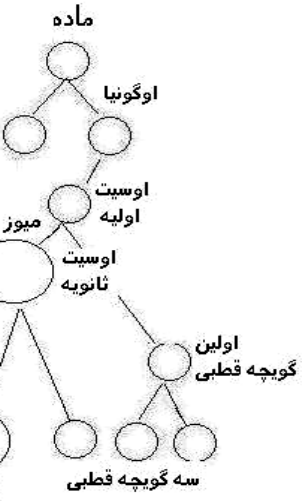
یاخته ها ابتدا به روش میتوز تقسیم شده و به یاخته‌های ۲n کروزومی به نام اسپرماتوسیت اولیه تبدیل می‌شوند. اسپرماتوسیت ها رشد یافته اسپرماتو گونیای ۲n کروموزومی می‌باشند. هر اسپرماتوسیت اولیه با تقسیم اول میوزی به دو اسپرماتوسیت ثانویه و هر اسپرماتوسیت ثانویه با تقسیم دوم میوزی به دو اسپرماتید n کروموزومی تبدیل می‌شود. تقریبا همه سیتوپلاسم یک اسپرماتید، در دوره رسیدگی آن بصورت دم شلاقی مانندی از آن بیرون می‌زند و این سلول به یک گامت نر رسیده به نام سلول اسپرم یا اسپرماتوزوئید تبدیل می‌شود.

در جانور ماده، گامتوژنز را «ائوژنز»[1] می‌نامند. ائوژنز پستانداران در اپیتلیوم گنادهای تناسلی ماده (تخمدانها) و از سلول‌های بنیادی دیپلوئید به نام ائوگونی منشا می‌گیرد. یک سلول ائوگونی در نتیجه نمو و اندوختن مقدار زیادی سیتوپلاسم یا زرده به ائوسیت اولیه تبدیل می‌شود که دیپلوئید است و قدرت تقسیم میوز دارد. نخستین تقسیم میوز تعداد کروموزوم‌های ائوسیت اول را نصف می‌کند و در نتیجه یک تقسیم نامساوی مرحله تقسیم سیتوپلاسمی۲ ، سیتوپلاسم آن بطور بسیار نابرابر در دو سلول حاصل توزیع می‌شود. سلول بزرگتری که بدین ترتیب بوجود می‌آید، ائوسیت دوم نامیده می‌شود و سلول کوچکتر نخستین جسم قطبی است. در بعضی از موارد ممکن است نخستین جسم قطبی تقسیم میوز دوم را انجام دهد و دومین جسم قطبی را بوجود آورد. اما همه اجسام قطبی تحلیل می روند و در لقاح نقشی ندارند. دومین تقسیم میوز ائوسیت نیز با یک سیتوکنزیس نامساوی همراه است که حاصل آن یک اووتید بزرگ زرده دار و دومین جسم قطبی است. اووتید بر اثر نمو کردن و متمایز شدن به یک گامت ماده رسید تبدیل می شود که آن را تخمک می نامند (تصویر ۱۰-۱)،.

طی مراحل گامتوژنز، بعضی مواقع دو کروموزوم از هم جدا نشده و در اصطلاح پدیده ناگسستن[3] رخ می دهد. بدین ترتیب که در نخستین تقسیم میوز دو کروموزوم همانند از یکجا به یکی از قطبین می روند و در نتیجه یکی از سلول‌های دختر هر دو کروموزوم را دارد و سلول دیگر فاقد کروموزوم می باشد. در تقسیم دوم میوز نیز گامت‌هایی بوجود می‌آید که دارای هر دو لنگه یک کروموزوم یا هیچ کروموزومی ندارند.

---

[1] - Oogenesis
[2] - Cytokinesis
[3]- non-disjunction



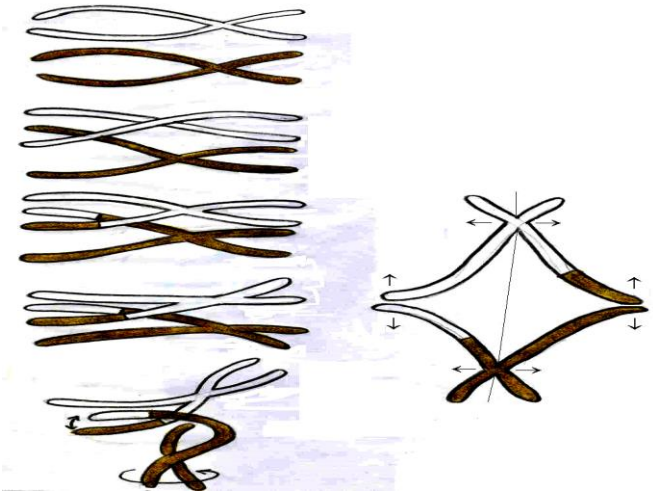
تصویر ۱۰-۱- کامتوژنز در ماهیان

٤-۱- کراسینگ‌اور و نقشه ژنی

ژن‌هایی که روی یک کروموزوم قرار دارند، ژن‌های پیوسته نامیده می‌شوند. طبق نظریه مورگان دو یا چند ژن پیوسته که روی یک کروموزوم مستقرند، در حالت طبیعی از یکدیگر جدا نشده و همگی باهم وارد سلول‌های جنسی می‌گردند. به عبارت دیگر، چنانچه فرد مورد مطالعه هتروزیگوت باشد، در تقسیم اول میوز که کروموزوم‌های «هم ساخت»[1] از هم جدا می‌گردند، فقط امکان تشکیل دو نوع یاخته جنسی وجود دارد، در صورتیکه فرد مزبور هموزیگوت باشد، فقط یک نوع یاخته جنسی شکل می‌گیرد. در این صورت هریک از والدین هموزیگوت فقط یک نوع یاخته جنسی تولید می‌کند. در صورتیکه فرد F1 به دلیل هتروزیگوت بودن، هر دو نوع گامت را تولید می‌کنند.

[1] - Homologe

همانطوریکه اشاره شد، بر اثر کراسینگ اور قطعاتی کاملا یکسان از یک جفت کروموزوم هم‌ساخت و مبادله قطعات شکسته شده با یکدیگر پیوستگی قبلی ژن ها را از بین برده و ترکیبات جدیدی پدید می‌آید که کروموزوم «نوترکیب» (تصویر ۱۱-۱) نامنده می شوند.

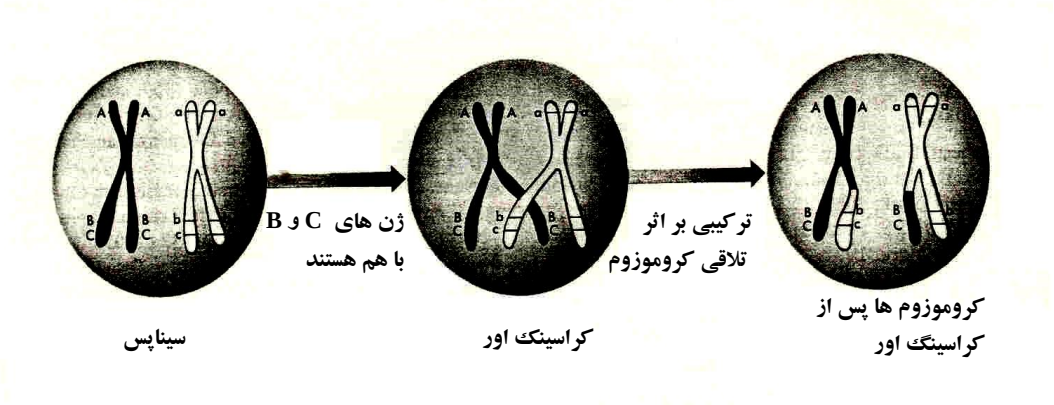


تصویر ۱۱-۱ – کراسینگ‌اور و امکان ایجاد کروموزوم جدید

تعداد افراد نوترکیب نسبت به تعداد کل نتاج، فراوانی افراد جدید را ارائه می‌دهد. بدیهی است هر چقدر ژن ها از هم فاصله داشته باشند، احتمال وقوع کراسینگ اور بین این ژنها بیشتراز ژنهائی است که بهم نزدیک‌ترند(تصویر ۱۲-۱).

در پیوستگی ژنها روی یک کروموزوم، ژنها بصورت پیوسته موقعیت خود را از نسلی به نسل دیگر حفظ می‌کنند. بعبارت دیگر، زمانی که دو یا چند ژن در یک کروموزوم واقع شده باشند، حالت پیوستگی دارند. پیوستگی ممکن است بین ژن‌های یک آکروزوم یا ژن‌های یک کروموزوم جنسی وجود داشته باشند.

فاصله بین ژنها را با واحد نقشه ژنی اندازه گیری می‌کنند و هر واحد نقشه ژنی را یک سانتی مورگـان می‌نامند و بعبارتی از هر یکصد گامتی که تولید می‌شود، یکی از آنهـا گـامتی بـا پدیـده کراسـینگ‌اور است. تعیین نقشه ژنی در ماهی کـاربرد فراوانـی دارد. زیـرا مـاهی بـرخلاف بسـیاری از موجـودات گامت‌های زیادی تولید و نوزاد فراوانی بوجود می‌آورد و بنابر این نقشه ژنی



تصویر ۱۲-۱ - کراسینگ اور و ایجاد کروموزوم جدید

ماهیان را بر اساس فنوتیپ‌های قابل تشخیص می‌توان ترسیم نمود. مطالعه نقشه ژنی در مـاهی سـابقه طولانی دارد. در این خصوص می‌توان به تحقیقات انجام شده توسـط «نـاگ» میتـوان بـه سـال ۱۹۷٦ اشاره نمود.

۵-۱- موتاسیون یا جهش

تغییر ثابت یا دائمی در موارد ژنتیکی را «جهش» می‌نامند و براسـاس تعـاریف جدیـد، جهـش تغییـر توالی یا ترتیب نوکلئوتید است. این تغییرات، گوناگونی و تنوع را در موجودات زنده فراهم مـی‌آورد. عوامل ایجاد کننده تغییرات در سطح ژن ممکن است عوامل فیزیکی یا شیمیایی باشند. تفـرق صـفات یا نوترکیبی جهش نیست اگر چه که سبب ارائه ژنوتیپ جدید شود. تغییرات مولکولی در سطح ژن را

موتاسیون نقطه‌ای[1] گویند. در این حالت تغییرات در سطح کوچکی از قطعه ژنی می‌باشد و تغییرات وسیع در سطح کروموزوم که قابل رویت با میکروسکوپ باشد را «جهش کروموزومی» می‌نامند. جهش ممکن است سبب تغییر در ژن در سلول، در اندام یا در یک فرد شود.

موتاسیون نقطه‌ای

- تغییر در نوع باز
  - انتقال[2]
  - متقاطع[3]
- تغییر در تعداد باز
  - اضافه شدن
  - حذف

انتقال، نوعی از موتاسیون است که جفت‌های نوکلئوتید پیریمیدین– پورین توسط یک جفت نوکلئوتید پیریمیدین- پورین دیگر جایگزین شود و متقاطع نوعی از موتاسیون است که یک جفت نوکلئوتید پیریمیدین– پورین توسط جفت نوکلئوتید پورین– پیریمیدین یا برعکس آن جایگزین شود.

[1] - Point mutation
[2] - Transition
[3] - Transvertion

اطلاعات ژنتیکی توسط رمزهای سه‌تایی تنظیم گردیده است. برای مثال، ممکن است که با حذف یک کلمه (نوکلئوتید) در یک پیام، معنی جمله از آن نقطه به بعد بی‌معنی گردد. گاهی اوقات نیز حذف هر سه حرف ممکن است معنی جمله را تا حدودی حفظ نماید.

جهش انواع متفاوتی دارد. جهش را موقعی «خودبخودی»[1] گویند که بوسیله پدیده‌های طبیعی همچون پرتوهای کیهانی ایجاد می شوند. معمولا" جهش خودبخودی در طبیعت نسبت به جهش هائی که عامل آن شناخته شده است، با فراوانی کم بوقوع می‌پیوندد و۷-۱۰-٦-۱۰ تا است. جهش‌های مصنوعی ابزاری بنیادی در برنامه های به نژادی بشمار می‌روند.

جهش مستقیم[2] ، تغییر از حالت بومی[3] یا آلل بارز به آلل نهفته است. جهش برگشتی[4] ، تغییر از جهش نهفته به حالت آلل بارز است.

۱-۵-۱- ژن‌های جهش‌کننده

در سطح DNA ژن‌هایی وجود دارند که قابلیت موتاسیون ژن‌های دیگر را بالا می‌برند. این گونه ژنها را «ژن‌های جهش کننده»[5] گویند در مقابل ژن‌های دیگری نیز وجود دارند که سبب کاهش یا عدم فعالیت ژن‌های موتاسیون کننده می‌شوند که به نام ژن‌های «کاهش دهنده جهش»[6] نامیده می‌شوند. مکانیسم مولکول ژن‌های افزایش دهنده یا کاهش دهنده جهش در موجودات پیشرفته مشخص نشده است. یکی از ژن‌های موتاسیون کننده عنصرIS[7] است. عنصر IS یک عنصر کوچک قابل ترانسپوز (انتقال) است که می‌تواند به داخل تعدادی محل در ژنوم باکتری وارد شود. ژن دیگر موتاسیون کننده عنصر کنترلی[8] است. عنصر کنترلی یک عنصر ژنتیکی است که وارد ژن می‌شود و آن را غیر ثابت می‌سازد و قابلیت جهش را در آن بالا می‌برد.

---

[1] - Spontaneous mutation
[2] - Forward mutation
[3] - Wild type
[4] - Back mutation
[5] - Mutator
[6] - Antimutator
[7] - IS-element=Insertion Sequence
[8] - Controling element

۲-۵-۱- تغییر در کروموزوم‌های ماهی

موتاسیون در سطح کروموزوم نیز به چند حالت ممکن است بروز نماید. موارد ذیل از شایعترین تغییرات در سطح کروموزوم می‌باشند. در مجموع دو نوع تغییردر کروموزوم‌های یک سلول مشاهده می‌گردد

تغییر در تعداد کروموزوم

علت تغییر در تعداد کروموزوم های ماهی به دلیل عواملی مثل جدا نشدن[۱]، اندومیتوز [۲]، لقاح غیر معمول یا جفت شدن سلول انجام می گیرد مثل:

الف- یوپلوئیدی[۳] که با افزایش یک دست کروموزوم (n) همراه است مانند هاپلوئیدی، تری‌پلوئیدی و تترا پلوئیدی

ب- آنوپلوئیدی[٤] که با افزایش یک، دو یا چند کروموزوم همراه است. در این نوع اختلال که بر اثر جدا نشدن کروموزوم صورت می‌گیرد، یکی از کروموزومها به همراه کروموزوم جفت خود به یک قطب هسته منتقل می‌شود و بنابر این سلول‌های دختر دارای تعدادکروموزوم های نا مساوی خواهند برد. برای مثال، ۲۵ عدد برای یکی و ۲۷ عدد برای دیگری خواهد بود. افزایش یک کروموزوم (2n+1) را تریزومی[٥]، افزایش دو کروموزوم (2n+2) را تریزومی دوگانه، کاهش یک کروموزوم کروموزوم (2n-1) را مونوزومی[٦] و کاهش دو کروموزوم (2n-2) را نولیزومی[۷] می‌نامند.

تغییر در ساختمان کروموزوم

شکستن کروموزوم و جابجائی آن در کروموزوم دیگر یا تغییراتی که از بروز شکستن کروموزوم و پیوند مجدد آن در یک کروموزوم دیگر دیده می‌شود، عوامل جهش کروموزومی هستند. از موارد تغییر در کروموزوم شامل جابجائی، واژگونی، حذف شدن و مضاعف شدن[۸] می باشد.

---

[1] - Non-disjunction
[2] - Endomitosis
[3] - Euploidy
[4] - Aneuploidy
[5]- trisomy
[6] - monosomy
[7] - nolysomy
[8] - Translocation; Inversion; Deletion; Duplication

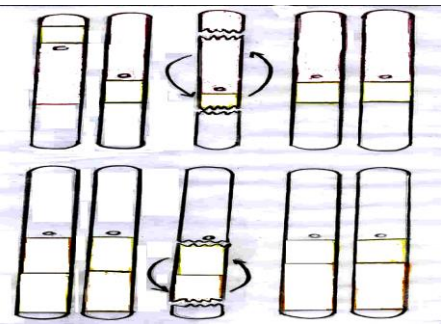
الف- جابجائی: گاهی اوقات طی تقسیم هسته ای، قسمتی از یک کروموزوم می‌شکند و به کروموزوم دیگری می‌چسبد که با کروموزوم اول همولوگ یا مشابه نیست.

ب- واژگونی[1] : گاهی اوقات قطعه ای از کروموزوم بر عکس می‌شود و ردیف ژنی در این کروموزوم بهم می‌خورد (تصویر ۱۳-۱).

ج- حذف شدن: در برخی از موارد نیز ممکن است قسمتی از کروموزوم جدا شود. اگر این قطعه بزرگ باشد، در فرآیند تکامل سلول ایجاد اشکال می‌کند.

د- مضاعف شدن: قطعه حذف شده از یک سلول ممکن است روی کروموزوم دیگر استقرار یافته و بطور همزمان ظاهر شود.

* این چهار حالت از متداولترین جهش در کروموزوم[2] می‌باشند. بعلاوه، حالت‌های دیگری نیز از جابجایی قطعات کروموزومی پدیدار می‌گردد که در تصویر ۱٤-۱ تعدادی از آنها ارائه شده است.



تصویر۱۳-۱- واژگونی بخش‌های کروموزومی

۳-۵-۱- عوامل موتاسیون

عوامل جهش ممکن است فیزیکی یا شیمیایی باشند

[1] - inversion
[2] - Chromosomal mutation

الف – عوامل فیزیکی: از عوامل فیزیکی می‌توان به تاثیر اشعه‌های یونیزه مانند اشعه گاما (γ-ray)، اشعه ایکس (x-ray)، اشعه ماورای بنفش (UV) و اثر ذرات بنیادی (نوترون، بتاپارتیکل و آلفاپارتیکل) اشاره نمود.

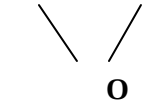
ب– عوامل شیمیائی: چندین گروه موجب این نوع جهش می‌شوند.

اولین گروه شامل بازهای آنالوگ یا شبیه هستند. آنها با DNA ترکیب شده و از تکثیر DNA جلوگیری می‌کنند. از این گروه می‌توان به ۵– برمواوراسیل[1] که آنالوگ تیمین است و به جای تیمین قرار می‌گیرد و آمینوپورین[2] که آنالوگ آدنین است، نام برد.

دومین گروه آنتی‌بیوتیکها هستند که دارای خاصیت شکستن کروموزوم هستند. برای مثال، می‌توان به آنتی‌بیوتیک‌های میتومایسین و اکتینومایسین اشاره نمود.

گروه سوم، گروه‌های الکیل (Alkylating agent) هستند و شامل عواملی‌اند که دارای یک یا چند گروه الکیل هستند. برای این گروه می‌توان به اپوکسید و نیتروژن موستارت اشاره نمود.

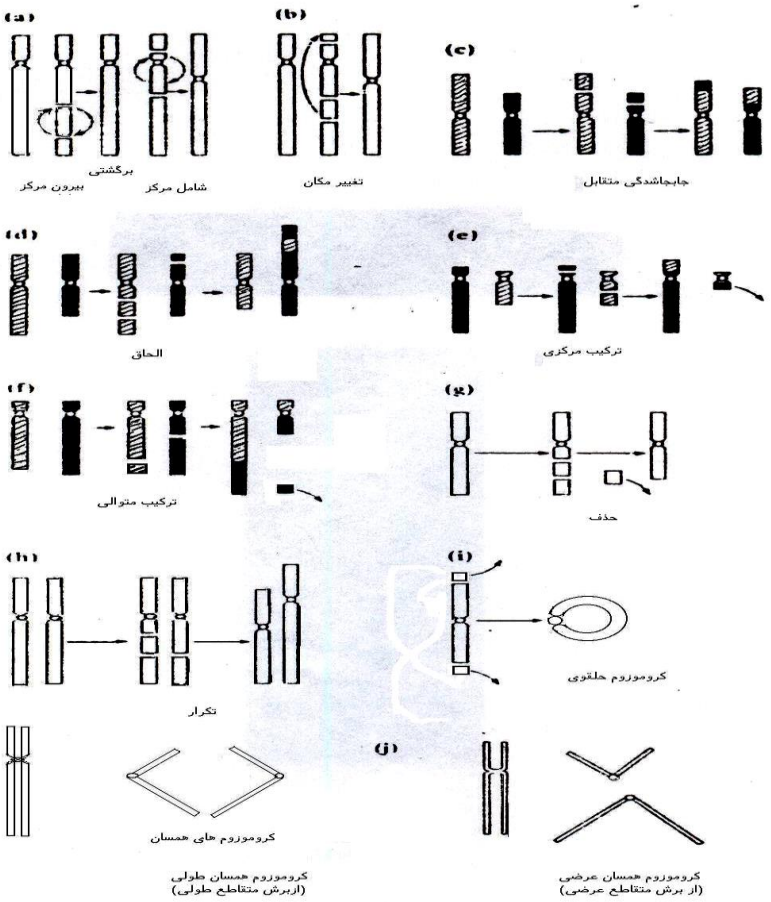
اپوکسید **-CH – CH_2**



نیتروژن موستارد[3] **> N- CH_2- CH_2 - Cl**

مواد شیمیایی دیگری هم مانند اکریدین ، نیتروز اسید ، هیدروکسیل آمین، وجود دارند که سبب جهش می‌شود. مواد شیمیائی مانند گلژسین و ویمبلاستین نیز که برای مطالعات سیتو ژنتیکی در ماهی استفاده می‌گردد نیز میتوانند سبب موتاسیون در ماهی شوند.

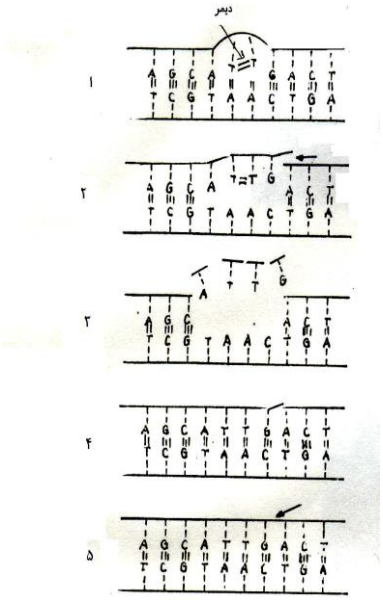
[1] - 5- bromouracil
[2] - amino purine
[3] - Nitrogen mustart



تصویر۱٤-۱- انواع ساختمان نابهنجار کروموزومی

[1] - Light repair

مراحل	شرح
۱	تشکیل دیمر توسط تابش اشعه UV بر DNA
۲	آنزیم اندونوکلئاز DNA محل دیمر[1] را برش می‌دهد
۳	اگزونوکلئاز نوکلئوتیدهای منفرد را جدا می‌سازد
٤	DNA پلیمراز محل خالی را پر می‌کند.
٥	آنزیم لیگاز نوکلئوتیدها را به هم پیوند می‌دهد



تصویر ۱۵-۱- اصلاح ساختار DNA توسط فعالیت آنزیمی در تاریکی

٦-۱- کروموزومها

۱-٦-۱- تعداد کروموزومها در ماهی

سلول‌های جنسی یا گامتها که هر یک شامل نصف تعداد کروموزوم‌های یک سلول پیکری است، سلول‌های هاپلوئید (n) نامیده می‌شوند. در ماهی مثل سایر موجودات عالی، هر سلول پیکری (تمام سلول‌های بدن غیر از سلول‌های جنسی) حاوی یک سری کروموزوم پدری(n) و به همان تعداد کروموزوم‌های مشابه مادری است. اینگونه سلولها را دیپلوئید نامیده و با 2n نشان می‌دهند. پسوند «پلوئید» به «سری» کروموزومها اشاره دارد. پیشوند آن درجه پلوئیدی کروموزومها را نشان می‌دهد.

[1] - dimer

تعداد کروموزوم‌های هریک از سلول‌های پیکری افراد یک گونه برابر است. برای مثال، در هر سلول پیکری آدمی٤٦، در گاو ٦٠ و در مگس سرکه ٨ کروموزوم وجود دارد در حالیکه در ماهی برخلاف بسیاری از موجودات تعداد کروموزوم در ماهیان مختلف متفاوت است. برای مثال، تمام ماهیان خاویاری 2n کروموزومی‌اند و با توجه به نوع ماهی خاویاری تعداد کروموزوم از ٢٤٠- ١٢٠عدد متفاوت است. این تعداد زیاد و این تنوع در تعداد کروموزوم در نتیجه تنوع در نواحی زندگی آنهاست. در ماهیان استخوانی، این تعداد معمولا ٥٢-٤٨ عدد است ولی کپور معمولی، سس ماهی وکاراس دارای ١٠٤-١٠٢ کروموزوم می باشند.

در آزاد ماهیان نیز این تفاوت دیده می‌شود برای مثال، در ماهی آزاد شار[1] ٨٤ عددکروموزوم، قزل آلای قهوه ای[2] ٨٠-٧٨ عدد و ماهی آزاد اقیانوس اطلس[3] ٦٠-٥٦ عدد می‌باشد. تعداد کروموزوم‌های یک گونه رابطه مستقیم با موقعیت آن گونه در رده بندی تکاملی ندارد.

٢-٦-١- ریخت‌شناسی کروموزومها

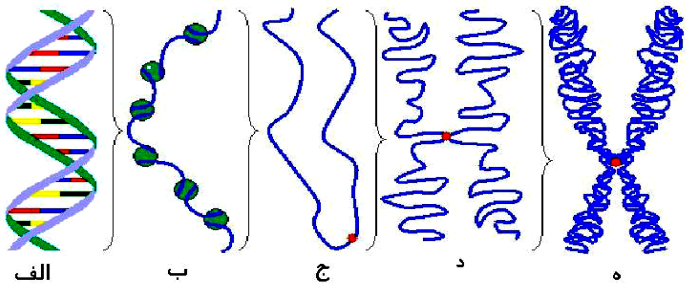
طی مراحل تقسیم هسته، کروموزوم اشکالی را بخود می‌گیرد (تصویر ١٦-١) ولی فقط هنگامی که در بعضی از مراحل تقسیم به دور خود تاب خورده و فشرده می‌شود، مشاهده ساختار آنها بسیار آسانتر می‌گردد.

معمولا" می‌توان هریک از کروموزوم‌های ژنوم را براساس چند معیار، از کروموزوم‌های دیگر تمیز داد. بعضی از این معیارها عبارتند از: طول نسبی کروموزوم، محل سانترومر آن که کروموزوم را به دو بازوی دارای طول‌های متفاوت تقسیم می‌کند، وجود موقعیت نواحی بزرگ شده‌ای که گره یا کرومومر[4] نامیده می‌شوند. کروموم‌رها بر اثر انقباض و تاپ‌خوردگی موضعی کروماتین در طول کروموزوم پدید می‌آیند. وجود این دانه ها و وضعیت قرار گرفتن آن ها روی کروموزوم‌های مختلف متفاوت است. اگر سانترومر، کرومزوم را به دو بازوی کاملاً مساوی تقسیم

---

[1] - *Salvelinus alpinus*
[2] - *Salmo trutta*
[3] - *Salmo salar*
[4] - Chromomere

کند، به آن کروموزوم متاسانتریک می‌گویند. طول بازوهای کروموزوم‌های ساب متاسانتریک یا اکروسانتریک، بطور واضح نابرابر است.



تصویر۱۶-۱- (الف): شاخه DNA (ب): کروماتین همراه هیستون ، (ج): کروماتین همراه سنترومر در مرحله اینترفاز (د): کروماتین در مرحله پروفاز (ه): کروموزوم در مرحله متافاز

اگر سانترومر کروموزوم در انتها یا نزدیک انتهای آن باشد، آن کروموزوم را تلوسانتریک می‌نامند (تصویر ۱۷-۱). هر یک از کروموزوم‌های ژنوم (به استثنای کروموزوم‌های جنسی) را به ترتیب طول شماره گذاری می‌کنند و شماره‌گذاری از بلندترین کروموزوم شروع می‌شود.

تصویر۱۷-۱- اشکال کروموزوم در زمان متافاز بر اساس موقعیت سانترومر

۳-٦-۱- تغییر در کروموزوم[1]

تغییر در تعداد یا شکل کروموزوم از حالت کاریوتایپ معمول آن در یک گونه را «نابهنجاری کروموزومی» گویند. بررسی کروموزوم را «کاریولوژی» گویند. معمولاً برای تهیه کاریولوژی از کروموزومها، گسترش تهیه کرده و از آن عکس می‌گیرند و سپس کروموزومها را براساس شکل و محل سانترومر و طول بازو مرتب کرده که به آن «کاریوتاپینگ»[2] گویند. کروموزوم‌های جفت به نام کروموزوم‌های هومولوگ در داخل هسته قرار دارند.

٤-٦-۱- ساختمان کروموزوم

سانترومر[3] – از تعیین توالی DNA مخصوصی با ترکیبی از پروتئین تشکیل شده است. سانترومر بین دو کروماتید خواهری ارتباط برقرار می کند و سبب حرکت کروموزوم می شود و محل اتصال اسپیندل[4] در میتوز است (تصویر ۱۸-۱).

تلومر[5] – در قسمت انتهای کروموزوم قرار دارد. طول کروموزوم را طی سنتز ثابت نگه می دارد تا از دست رفتن قسمت های مهم جلوگیری کند. این بخش دارای توالی تکرار شده (TTAGGG)n می باشد.

ناحیه سازمان دهنده هسته ای[6] (NOR)– محل مرفولوژیک که در اطراف آن در انتهای میتوز نوکلئولی رشد می کند. ناحیه ای که RNA فراوان است. تعداد RNA در یک ژنوم هاپلوئید ممکن است از ۳۰۰-۵۰ باشد. rRNA سبب انعکاس نقره در سلول می شود و لذا در محل ناحیه سازمان دهنده هسته ای ما انعکاس آنرا با نقره می بینیم.

یوکروماتین و هتروکروماتین[7] بخش‌هایی از کروموزوم است که در مرحله استراحت تقسیم سلولی به به طور عمده بصورت باز نشده باقی می‌مانند و هنگام رنگ آمیزی واکنش بازوفیلی از خود نشان

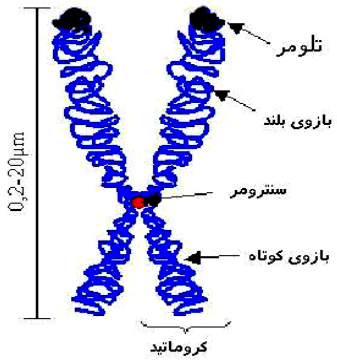
---

1 - Chromosomal abnormalities
2 - Karyotyping
3 - Centromere
4 - Spindle
5 - Telomere
6 - Nucleolar Organizer Region
7 - Euchromatin and Heterochromatin

می‌دهند و بنظر می‌رسد که از نظر ژنتیکی غیر فعال یا کم فعال هستند. ائوکروماتین طی اینترفاز باز می‌شود. در روش باندینگ، banding هتروکروماتین با C- باندینگ مشخص می‌شود.

۵-۶-۱- انواع باندینگ در ماهی

راههای دیگر رنگ آمیزی که به باندینگ مشهور است، سبب می‌شوند تا کروموزوم بر حسب موضوع رنگ آمیزی قابلیت تشخیص وتفاوت را نسبت به سایرکروموزومها بخود بگیرد



تصویر ۱۸-۱- شکل کروموزوم و اجزای آن

(تصویر ۱۹-۱). جهت بررسی کروموزوم پس از تعیین نمونه جهت توقف میتوز از کلشی‌سین استفاده می‌شود. پس از آن به منظور ایجاد تورم در سلول، از کلرید پتاسیم استفاده
می‌کنند و سپس برای فیکس کروموزومها از تثبیت کننده به نسبت ۳ به ۱ متانول خالص (۳) و اسید استیک (۱) استفاده می‌شود.

گیمزا باندینگ[1] (G-باندینگ): مشهورترین شیوه رنگ آمیزی و باندینگ کروموزوم، باندینگ گیمزا است. جهت رنگ آمیزی ساده کروموزوم از این شیوه استفاده می‌شود.

[1] - Gimza-bandin; Quinacrine-banding; Nor-banding; Revers-banding; Telomer- banding; Centromer- banding; Restriction enzyme- banding

کوئیناکرین باندینگ (Q- باندینگ): این ماده رنگی مانند مواد رنگی دیگر نظیر بیس بنزمیت[1] نـواحی ای را روشن نشان می‌دهد که میزان ارتباط A=T زیاد است.

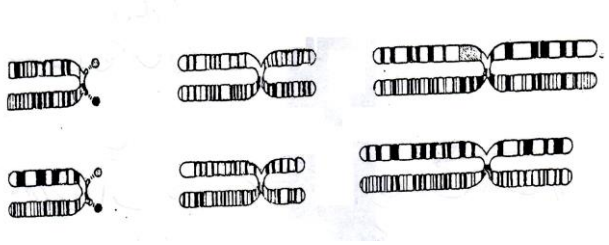
نور باندینگ(NOR- باندینگ): رنگ آمیزی نقره، برای مشخص شدن پروتئین‌های اسیدی اسـت کـه نواحی rDNA فعال را پوشانده اند.

باندینگ معکوس(R- باندینگ) تیمار حرارتی در محلول‌های نمکی خـاص کـه الگـوی مشـابهی در مقایسه با کیمزا را بوجود می‌آورد.

تلومر باندینگ(T- باندینگ): مانند بانـدینگ معکـوس، تیمـار حرارتـی در درجـه حـرارت خـاص، باندهای معمول روی کروموزوم ناپدید و فقط باندهای قسمت تلومر باقی می‌ماند.

سانترومر باندینگ(C-باندینگ): کروموزوم‌های دارای سانترومرهایی با اندازه متفاوت هستند. از ایـن خاصیت برای رنگ آمیزی و مقایسه کروموزومها استفاده شده است.

باندینگ آنزیم محدودالاثر(RE-باندینگ): استفاده از آنزیم‌هـای محـدود الاثـر شـیوه جدیـدی را در مطالعات کروموزومی در سطح DNA بوجود آورده است که امکـان مقایسـه موجـودات را بـا دقـت بسیار زیاد فراهم آورده است که در این کتاب در بخش مهندسی ژنتیک بیشتر بـه آن پرداختـه شـده است.



تصویر۱۹-۱- باندینگ کروموزوم بر اساس رنگ آمیزی گیمزا

[1] - bisbenzimide

۶-۶-۱- مقایسه کروموزوم‌های غیرجنسی با کروموزوم‌های جنسی

در تمام موجودات، وضعیت کروموزومی بر حسب جنس موجود تغییر می‌کند برای مثال، در جنس ماهی نر قزل‌آلا یک جفت کروموزوم غیر مشابه (هتروموروفیک) وجود دارد که آنها را با حروف x و y مشخص می‌کنند. عوامل ژنتیکی موجود روی کروموزوم y سبب ایجاد جنس نر می‌گردد. ماده‌های این گونه‌ها دو کروموزم جنسی x دارند که شکلشان یکسان است. دو عضو هر جفت کروموزوم همتا از نظر شکل غیرقابل تمیزند، اما معمولا" شکل آنها با کروموزوم‌های دیگر (کروموزوم‌های ناهمتا) تفاوت مشهود دارد. همه کروموزومها بجز کروموزوم‌های جنسی را «آتوزوم» می‌نامند.

۷-۱- تنظیم بیان ژن [1]

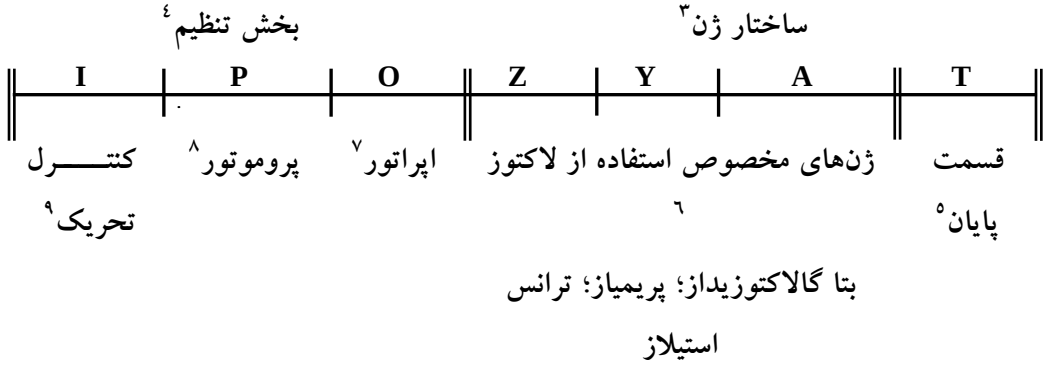
مثال کلاسیک تنظیم بیان ژن در پروکاریوتها کنترل ژن‌هایی است که در استفاده باکتری ایکلای از لاکتوز دخالت دارند. لاکتوز قندی است که ایکلای می‌تواند جهت رشد خود مورد استفاده قرار دهد، اما قندهای مناسبتر دیگری نیز مثل گلوکز برای رشد وجود دارند. اگر ایکلای در محیطی که دارای قندهای گلوکز و لاکتوز می‌باشد رشد داده شود، آنها شروع به استفاده از گلوکز می‌کنند و فقط هنگامیکه گلوکزی باقی نماند بیان ژن‌هایی شروع می شود که آنزیم‌های مربوط به استفاده از لاکتوز را کد می‌کنند و سپس رشد روی محیطی با این قند شروع می شود. به این ترتیب از اتلاف انرژی و ماده برای تولید آنزیم‌هایی که مورد استفاده نیستند، اجتناب می‌شود. ژن ایکلای برای متابولیز لاکتوز است که در ادامه ارائه شده است.

۱-۷-۱- تنظیم بیان ژن برای استفاده لاکتوز براساس مدل یاکوب

ژن لاکتوز (Lac) یک پروتئین بازدارنده[2] تولید می‌کند (پروتئین بازدارنده، پروتئینی است که به شروع کننده یا آغازگر[3] یک ژن متصل می‌شود و با این کار از رونویسی آن ژن جلوگیری می‌کند) که به توالی ژن آغازگر می‌چسبد و از سنتزmRNA لاکتوز جلوگیری می‌کند و به این طریق از سنتز آنزیم‌هایی جلوگیری می‌کند که متابولیز لاکتوز را به عهده دارند و توسط ژن‌های Z,Y,A کدگذاری

1 - Regulation of gene expression
2 - Repressor
3 - Operator

شده اند. وقتی که لاکتوز در محیط باشد، به عنوان تحریک کننده[۱] عمل می‌کند، بدین ترتیب پروتئین بازدارنده به آن متصل می‌شود و ترکیب جدید قادر به اتصال به توالی آغازگر و لذا سنتز آنزیم‌های لاکتوز شروع می‌شود[۲]. در صورت وجود یا فقدان گلوکز و لاکتوز چندین حالت بروز می‌کند که‌در ذیل به شرح هریک پرداخته شده است.



(I)، از بخش تنظیم ژن، مستقل از ژن اصلی عمل نموده و بیان می‌شود.

(P)، شامل دو بخش است که بخش اول محل اتصال (CAP)[۱۰] و(cAMP)[۱۱] است و بخش دوم محل اتصال RNA پلی مراز می‌باشد.

(O)، محل شروع نسخه برداری است.

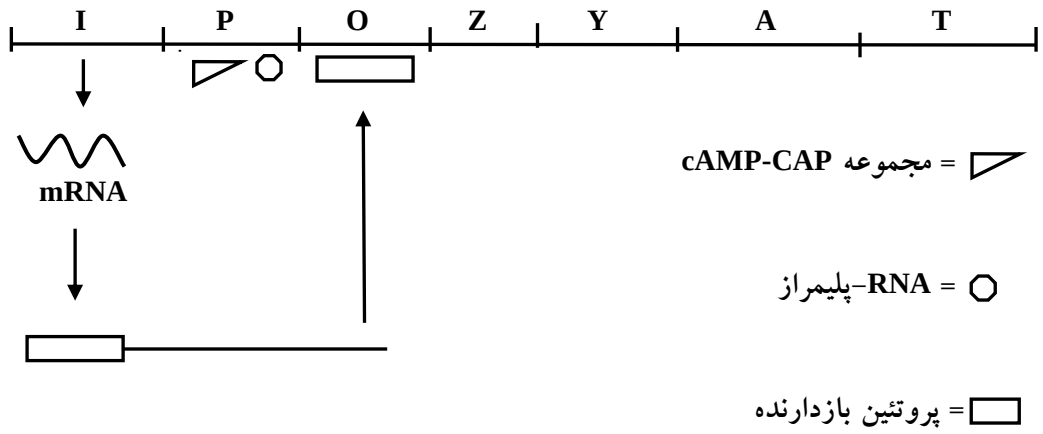
(Z, Y, A)، محل اصلی ژن کد گذاری آنزیم‌های لاکتوز

---

1 - Induce
2 - F.Jacob and Monod, J-Mol Biol.1961
3 - Stractural genes
4 - Regulatory sequences
5 - Terminator
6 - Transacetylase; Premease; B-Galactosidase;
7 - Operator
8 - Promotery
9 - Control of Inducibility
10 - Catabolic activator protein
11 - Cyclic Adenosine mono phosphate

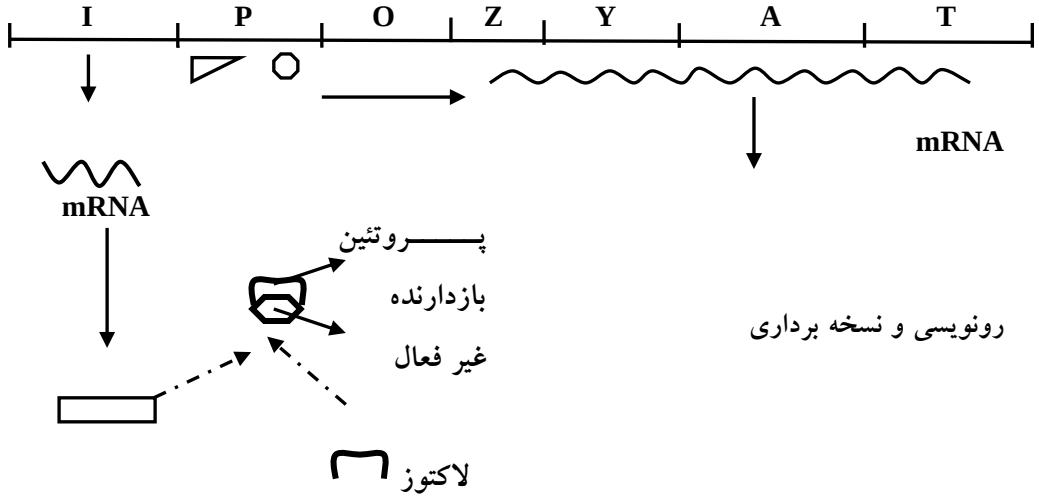
(T)، ناحیه انتهائی

حالت اول از تنظیم بیان ژن: وقتی که لاکتوز در محیط وجود نداشته باشد.



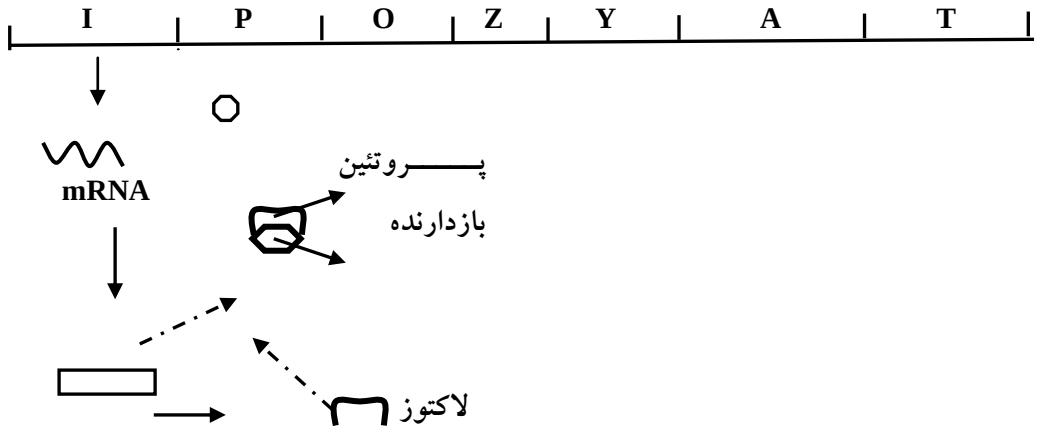
نتیجه: رپروسور به اپراتور متصل می‌شود. امکان شروع فعالیت RNA پلی مراز وجود ندارد. نسخه‌برداری صورت نمی‌گیرد.

حالت دوم : وقتی که لاکتوز وجود دارد.



نتیجه: لاکتوز به رپرسور متصل می‌شود و بنابر این رپرسور نمی‌تواند با اپراتور متصل گـردد در نتیجه RNA پلیمراز می‌تواند فعالیت خود را شروع نماید و نسخه برداری انجام می‌گیرد.

حالت سوم : وقتی که گلوکز و لاکتوزهر دو در محیط وجود دارند.



نتیجه: لاکتوز با رپرسور متصل می‌شود. بنابر این رپرسور نمی‌تواند با اپراتور متصل گردد. ولـی به دلیل نبودCAP-cAMP، هنوز RNA پلیمراز نمی‌تواند با پروموتور متصل شـود. عمـل نسـخه برداری انجام نمی‌شود و سلول از گلوکز به عنوان تامین انرژی استفاده می‌کند. میزان گلـوکز بـا cAMP نسبت عکس دارد، بعبارتی با کاهش گلوکز میزان cAMP افزایش یافته و سبب تحریـک ژن لاکتوز برای فعالیت می‌شود.

«فصل ۲»

ژنتیک کیفی[1] (اثر متقابل ژنها بر یکدیگر)

مقدمه

اگرچه متخصصین ژنتیک و اصلاح نژاد با تلاش و فعالیت سعی در دستکاری ژن ماهیان دارند نتیجه این تلاش بصورت غیر مستقل تنها می‌تواند از طریق فنوتیپ‌های ماهی دیده یا اندازه گیری شود، در نتیجه این فنوتیپ ماهی است که اندازه گیری و مطالعه می‌شود و تنوعی که برای هر فنوتیپ وجود دارد، از اهمیت خاصی برخوردار است. در این قسمت اثر ژنها از لحاظ کیفی بررسی و بحث می‌شود.

۱-۲- اثر یک ژن غیرجنسی[2]

۱-۱-۲- غالبیت کامل[3]

غالبیت کامل وقتی است که یک آلل بسیار قوی تر از دیگر آلل ها ظاهر شود، در این حالت غالبیت انجام می‌گیرد. آلل یا ژنی را که اثر بیشتر دارد بارز یا غالب[4] گویند و اثر آن بر فنوتیپ یک فرد ناخالص تظاهر می‌نماید و از بروز ژن مغلوب جلوگیری می‌کند. بعکس ژنی که اثرش بر همین فرد پوشیده مانده، در اصطلاح نهفته یا مغلوب[5] می‌نامند.

---

1 - Qualitative genetic
2 - Single autosomal gene
3 - Complet dominant
4 - Dominent
5 - Recessive

فنوتیپ آلل[1] غالب را فنوتیپ غالب و فنوتیپ حالت مغلوب را فنوتیپ مغلوب گویند. در حالت غالبیت کامل، تنها دو فنوتیپ ولی سه ژنوتیپ وجود دارد. غالبیت کامل در مثال ماهی آلبینوی گربه ماهی به شرح ذیل است.

ماهی ♂

گامت ها	A	a
A	AA	Aa
a	Aa	aa

ماهی ماده ♀

ژنوتیپ: ۱AA :۲Aa : ۱aa

فنوتیپ: آلبینو ۱: خاکستری ۳

ماهی حامل:

یک ماهی ناخالص اگرچه از نظر شکل ظاهری مشابه یک ماهی خالص بارز است ولی متاسفانه حامل ژن نامطلوبی است که اثر آن توسط ژن بارز مخفی مانده است. اکثر ژن‌های نامطلوبی که در جمعیت‌های ماهیان پرورشی سبب کاهش رشد و کمبود مقاومت به بیماری و سایر مسائلی از این قبیل هستند، در نزد این قبیل ماهیان به شکل مخفی وجود دارند.

آزمون فنوتیپ[2]

دو نوع تست برای تعیین سطح هموزیگوت و یا هتروزیگوت بدون موجود مطرح شده است:

الف- با خود باروری که در ماهی با روش ژینوژنزیز[3] انجام می‌گیرد و بدینوسیله به ژنتیک نهفته ماهی می‌توان پی برد.

ب- آزمون تلاقی[1] در این حالت موجود با والد مغلوب تلاقی داده می شود.

---

[1] - Allele
[2] - Testing phenotype
[3] - gynogenesis

در حقیقت، در تلاقی برای تعیین وضعیت ژنوتیپ موجود، عمل یک تلاقی – برگشتی[۲] انجام می‌شود (تلاقی بین فرزند هتروزیگوت با یکی از دو والد).

F1 × P-recessive

؟؟ × **aa**

والد مغلوب × نتاج مورد آزمون

♀ \ ♂	**a**	**a**
?	**Aa**	**Aa**
?	**aa**	**Aa**

نسبت فنوتیپی(P) ۱ : ۱

نسبت ژنوتیپی (G) ۱ : ۱

با بدست آمدن نسبت ۵۰ درصدی مشخص می‌شود که ماهی مورد آزمون هتروزیگوت است. اگر نتایج یا فرزندان مورد آزمایش دارای ژنوتیپ AA یا aa بودند. تمام فرزندان حاصل از تلاقی با والد مغلوب یک فنوتیپ داشتند و بدین طریق می‌توان به خصوصیات ژنتیکی موجود پی برد.

۲-۱-۲- غالبیت ناقص[۳]

غالبیت ناقص به مواردی اطلاق می‌شود که غالبیت کامل نیست ولی درجه تمایل فنوتیپی فرد هتروزیگوت به سمت آلل بارز بمراتب شدیدتر از آلل نهفته است. اما شدت آن به اندازه‌ای نیست که فنوتیپ مغلوب را کاملاً بپوشاند و لذا در این نوع فعالیت سه نوع فنوتیپ و سه نوع ژنوتیپ[۴] به شرح ذیل پدید می‌آید.

---

[1] - Test cross
[2] - back cross
[3] - Incomplete dominant gene Action
[4] -Genotype

مثال: تلاقی دو ماهی تیلاپیای برنزی هتروزیگوت Gg × Gg

ماهی ♂

ماهی ماده ♀	گامت ها	G	g
	G	GG	Gg
	g	Gg	gg

ژنوتیپ: ۱gg : ۲Gg :۱GG

فنوتیپ: طلائی ۱: برنز، ۲: سیاه ۱

۳-۱-۲- فعالیت ژنی افزایشی[1]

هیچکدام از آللها بر یکدیگر اثر غالبیت ندارند بلکه هر دو به میزان مساوی و با یک روش افزایشی پلکانی در تولید فنوتیپ حدواسط بین دو هموزیگوت نقش دارند.

مثال اثر تلاقی افزایشی: تلاقی دو ماهی قزل‌آلای هموزیگوت رنگ ابریش است

ماهی ♂

ماهی ماده ♀	گامت ها	G	G'
	G	GG	GG'
	G'	GG'	G'G'

ژنوتیپ: ۱ GG : ۲ GG' :۱ G'G'

فنوتیپ: طلائی ۱: ابریش ۲ : طبیعی ۱

[1] - Addetive gene action

٤-١-٢- همبارزی[1]

در خصوص ماهی مطالعات در این زمینه اندک است و لذا برای تکمیل بحث، مثال گروه‌های خونی در انسان ارائه شده است.

همبارزی نوعی فعالیت ژنی است که در آن بیش از یک آلل بارز دریک لوکوس خاصی وجود داشته باشد. در انسان گروه‌های خونی M و N تحت اثر ژنی است که آنرا با حرف L و آلل‌های مربوط به آنها را با علائم L^M و L^N نمایش می‌دهند. برای مشخص شدن فنوتیپ ها از دو آنتی سرم M و N استفاده می‌شود. برای نشان دادن نوع گروه خونی با اضافه نمودن سرم نوع خاصی به قطره خون تازه چنانچه آگلوتیناسیون یا لخته شدن خون صورت گرفت که آنرا با علامت مثبت (+) و اگر آگلوتیناسیون صورت نگرفت آنرا با علامت (–) نشان داده و تفسیر می‌گردد.

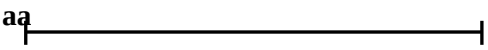
ژنوتیپ	واکنش با آنتی سرم M	واکنش با آنتی سرم N	ژنوتیپ
L^ML^M	+	+	M
L^ML^N	+	+	MN
L^NL^N	-	+	N

بدین ترتیب با افزودن دونوع آنتی سرم به دو قطره خون بصورت جداگانه، امکان تشخیص نوع گروه خونی براساس واکنش به آنتی‌سرم مشخص می‌شود.

نکته مهم :

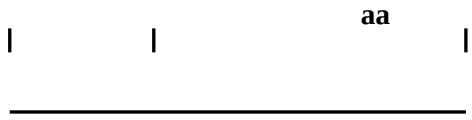
همانطور که اشاره گردید در حالت غالبیت کامل فنوتیپ یک ماهی هموزیگوت با هتروزیگوت یکسان بوده ولی در حالت غیر آن فنوتیپ هتروزیگوت حد واسط بین دو فنوتیپ والد خالص خود بوده است. بعبارت دیگر، هر کدام از دو آلل در مجاورت هم اثر خود را به درجات مختلفی مشهود ساختند. ارتباط بین ژن‌های همردیف در حالات مختلف در محور مختصات به شرح ذیل نمایش داده شده است.

[1] - Codominance



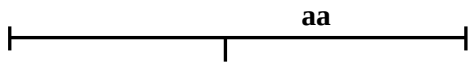
غالبیت کامل

Aa و AA



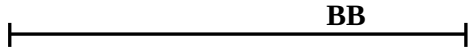
غالبیت ناقص

AA Aa



فعالیت ژنی افزایشی

AA Aa



همبارزی ژن

AA

۲-۲- وراثت دو صفتی

در این بخش وضعیت انتقال دو صفت مورد بررسی قرار گرفته است. صفت‌های مورد بررسی تحت تاثیر یک صفت ژن هم ردیف است که روی یک جفت آتوزوم مشابه قرار گرفته است و از صفات ژن‌های پیوسته استفاده نشده است. دو ژن که ممکن است بصورت مستقل یا توام عمل نمایند. همکاری ژنها با یکدیگر و تاثیر متقابل آنها را «اپیستازی» گویند.

مانند آنچه که در بخش اول بیان گردید، دو ژن در یک لوکوس ممکن است دارای اثر غالبیت کامل، غالبیت ناقص و اثر افزایشی باشند و ممکن است هر دو ژن دارای هر یک از خواص اشاره شده باشد که در این صورت مطالعه اثرات دو ژن بسیار پیچیده می‌گردد. در ادامه برای مثال به چند مورد از وراثت دو صفتی اشاره شده است.

۱-۲-۲- اثر متقابل دو صفت غیر اپیستازی[1]

۱-۱-۲-۲- اثرمتقابل ژن های مکمل[2]

در اثر مستقل دو ژن، یک ماهی دیپلوئید از نظر دو جفت لوکوس متفاوت مورد بررسی قرار می‌گیرد.بررسی اثر دو ژن مستقل اولین بار توسط مندل انجام گردید و به نام قانون دوم مندل یا اصل مستقل صفات نامیده شد. با توجه به اینکه در حالت هتروزیگوت، این موجود تولید چهار نوع سلول تناسلی مختلف به نسبت‌های مساوی می‌نماید لذا اثر همزمان هر دوی آنها یک فنوتیپ جدید با فنوتیپی کاملاً متفاوتی بوجود می‌آورد که تنها بر اثر ظهور همزمان دو ژن می‌تواند ظاهر شود. نسبت‌های نتاج در اینگونه تلاقی‌ها ۹:۳:۳:۱ می‌باشد و با ذکر مثالی از ماهی طلائی به شرح ذیل است: اگر ژنوتیپ والد، ماهی گلدفیش رنگ خاکستری با دم کشیده معمولی و به صورت SSRR و والد رنگ طلایی با دم کوتاه به صورت ssrr باشد، هر یک از دو والد، در مراحل تقسیم میوز فقط یک نوع یاخته جنسی تولید می‌کنند که به ترتیب عبارتند از SR و sr، ترکیب این دو نوع یاخته جنسی با یکدیگر سبب تشکیل افراد نسل اول با ژنوتیپ SsRr و فنوتیپ رنگ خاکستری با دم کشیده معمولی می‌شود.

مندل ثابت کرد که جداشدن ژن‌های متشکله هر جفت بطور مستقل از یکدیگر انجام می‌پذیرد. قانون دوم مندل استثنائاتی نیز دارد و آن زمانی است که ژن‌های انتخابی پیوسته باشند. به عبارتی، ژنها لوکوس شان (محل قرار گیری ژن) روی یک کروموزوم قرار داشته باشد و به اتفاق هم دسته‌بندی شوند. چون اصل دوم مندل براساس ژن‌های مستقل از هم فرض شده است بنابراین، می‌توان دی هیبرید را ترکیب دو منوهیبرید مستقل فرض کرد.

$$(۳ + ۱)^۲ = (۳S + ۱s)\ (۳R + ۱r) = ۹SR + ۳Sr + ۳Rs + ۱Sr$$

---

[1] - Non- epistatic interaction
[2] - Intraction of complementry genes

جدول ۱-۲- مربع پانت و نسبت فنوتیپی F2 برای تلاقی دو ماهی هتروزیگوت گلدفیش رنگ خاکستری و دم معمولی

SsRr ♂

گامتها	SR	Sr	sR	Sr
SR	SSRR خاکستری دم معمولی	SSRr خاکستری دم معمولی	SsRR خاکستری دم معمولی	SsRr خاکستری دم معمولی
Sr	SSRr خاکستری دم معمولی	SSrr خاکستری دم کمانی	SsRr خاکستری دم معمولی	Ssrr خاکستری دم کمانی
sR	SsRR خاکستری دم معمولی	SsRr خاکستری دم معمولی	ssRR طلایی دم معمولی	ssRr طلایی دم معمولی
sr	SsRr خاکستری دم معمولی	Ssrr خاکستری دم کمانی	ssRr طلایی دم معمولی	ssrr طلایی دم کمانی

SsRr ♀

نسبت فنوتیپی:

رنگ خاکستری و دم معمولی ۹ رنگ طلایی و دم معمولی ۳

رنگ خاکستری و دم کمانی ۳ رنگ طلایی و دم کمانی ۱

۲-۱-۲-۲- *وراثت دو صفتی افزایشی*[1]

وراثت دو صفتی افزایشی همانند حالت تک ژنی است در حالیکه در اینجا چون دو ژن یا بیشتر برهم اثر می‌گذارند لذا، فنوتیپ‌های بیشتری ممکن است دیده شوند. مثال مربوط به این نوع تاثیر متقابل ژنها، در مورد رنگ ملانیستیک بدن ماهی آکواریومی مولی گزارش شده است. تاثیر متقابل آلل‌های مختلف در یک لوکوس و فنوتیپ تولیدی ناشی از همکاری دو ژن در یک لوکوس در جدول ۱-۲ ارائه شده است.

[1] - Additive gene interactions

جدول ۲-۲- رنگ ملانیستیک در جمعیت ماهیان اهلی مولی

ژنوتیپ	تعداد آلل‌های یک رنگ	فنوتیپ		
		کلاسه رنگ	رنگ در زمان تولد	رنگ هنگام بلوغ
MM,NN	٤	IVb	مشکی، طرفین پائین بدن تیره، عنبیه تیره	کاملا سیاه، عنبیه تیره
MM,Nn,Mm,NN	۳	IVa	مشکی، طرفین پائین بدن روشنتر، عنبیه روشن	کاملا سیاه، عنبیه تیره
Mm,N,n	۲	IIIb	کمی خالدار، عنبیه روشن	بشدت خالدار، عنبیه روشن
MM,nn,mm,nn	۲	IIIa	خاکستری یکنواخت، بدون خال، عنبیه روشن	بشدت خالدار، عنبیه روشن
Mm,nn,mm,Nn	۱	II	خاکستری یکنواخت، بدون خال، عنبیه روشن	کمی خالدار، عنبیه روشن
mm,nn	۰	I	خاکستری یکنواخت، بدون خال، عنبیه روشن	خاکستری یکنواخت، بدون خال، عنبیه روشن

در تلاقی ماهی هتروزیگوت نر و ماده MmNn تمام انواع فنوتیپ رنگی ماهی مولی ایجاد می‌شود. نسبت فنوتیپ در این نوع تلاقی ۱: ٤ : ۲ : ٤ : ٤ : ۱ می‌باشد.

۲-۲-۲- اثر اپیستازی[1]

اپیستازی پدیده‌ای است که در آن تظاهرات فنوتیپی یک ژن توسط یک ژن دیگر پوشانیده[2] شده یا تغییر[3] داده می‌شود. ژن پوشانیده شده را «اپیستاتیک» و ژن پوشیده شده را «هیپوستاتیک» می‌نامند. اپیستازی نسبت‌های متفاوت فنوتیپی را ایجاد می‌نماید که در این بخش به دو نوع آن اشاره شده است.

[1] -Epistisis
[2] - Suppress
[3] - Modify

۱-۲-۲-۲- اپیستازی بارز[1]

اپیستازی بارز هنگامی رخ می‌دهد که یک آلل بارز در یک لوکوس صرف نظر از ژنوتیپ لوکوس دوم یک فنوتیپ مشخص را بوجود می‌آورد. ژن دوم فقط در صورتی اثرات فنوتیپی‌اش ظاهر می‌شود که لوکوس اول (لوکوس اپیستاتیک) در حالت هموزیگوت نهفته (خالص مغلوب) باشد. به این ترتیب بطور خلاصه افراد لوکوس اول دارای فنوتیپ یکسانی هستند. ولی در لوکوس دوم با توجه به ژنوتیپ، دو نوع فنوتیپ دیگر را بوجود می‌آورد و لذا در مجموع سه نوع فنوتیپ با نسبت ۱۲:۳:۱ ظهور می‌کند.

مثال اپیستازی بارز، آمیزش دو گلدفیش هتروزیگوت (با رنگ سیاه) و با ژنوتیپ MmSs می‌باشد. همانطور که در جدول مشخص است، هنگامیکه لوکوس M در حالت هموزیگوت مغلوب است (mm)، لوکوس (S) می‌تواند در ماهی گلدفیش رنگ روشن (SS,Ss) یا رنگ آلبینو (ss) تولید نماید.

در بین ماهیان پرورشی، الگوی فلس در ماهی کپور، بی گمان از مهمترین فنوتیپ‌هائی است که توسط پدیده اپیستازی کنترل می‌شود. الگوی فلس در ماهی کپور توسط دو ژن S و N کنترل می‌شود. ژن N در حالت بارز اپیستاتیک و کشنده است. ژن S الگوی فلس است و ژن N تغییر دهنده حالات آن می‌باشد. S در حالت بارز ، ماهی فلس‌دار کامل را تولید میکند و s تعداد فلس را کاهش داده و بزرگتر می‌نماید که به ماهی کپور آئینه‌ای مشهور است. هنگامیکه یک N منفرد در ژنوتیپ باشد، ماهی کپور فلس دار به کپور خطی و ماهی کپور آئینه ای به کپور چرمی تغییر فنوتیپ می‌دهد. آلل N در هموزیگوت غالب اثر کشندگی دارد در حالیکه آلل n هیچ گونه اثری بر الگوی فلس ندارد. الگوی فلس بر اساس ژنوتیپ و فنوتیپ به شرح ذیل است:

فنوتیپ	ژنوتیپ
کپور قلسدار	SSnn, Ssnn
کپور آئینه ای	ssnn
کپور خطی	SSNn, SsNn
کپور چرمی	ssNN
مرده	SSNN, SsNN, ssNN

[1] - Dominant Epistasis

جدول ۳-۲- مربع پانت و نسبت فنوتیپی F_2 برای تلاقی دو ماهی هتروزیگوت ماهی کپور(Ss, Nn)

گامتها	SN	Sn	sN	sn
SN	SSNN مرده	SSNn خطی	SsNN مرده	SsNn خطی
Sn	SSNn خطی	SSnn فلس دار	SsNn خطی	Ssnn فلس دار
sN	SsNN مرده	SsNn خطی	ssNN مرده	ssNn چرمی
sn	SsNn خطی	Ssnn فلس دار	ssNn چرمی	ssnn آئینه ای

نسبت‌های فنوتیپی: آئینه ای ۱: فلس دار ۳: چرمی ۲: خطی ٦: مرده ٤ را نشان می‌دهد.

چون آلل N در حالت هموزیگوت غالب است، تلف شدن لارو را بهمراه دارد لذا، سبب تغییر نسبت فنوتیپی ۱۲:۳:۱ می‌شود.

۲-۲-۲-۲- *اپیستازی نهفته*[1]

ژنوتیپ نهفته در یک لوکوس، بروز فنوتیپ لوکوس دیگر را سرکوب می‌کند. لوکوس دوم در صورتی قادر به بروز خواهد بود که یک آلل بارز در لوکوس اپیستاتیک وجود داشته باشد. در این خصوص رنگ چشم ماهی کاراسین[2] برای مثال شرح داده شده است.

[1] - Recessive Epistatic
[2] - Menician care characin

جدول ٤-٢- مربع پانت و نسبت فنوتیپی F_2 برای تلاقی دو ماهی هتروزیگوت کاراسین چشم مشکی (Aa, Bb)

		♂		
گامت	**AB**	**Ab**	**aB**	**Ab**
AB	**AABB** سیاه	**AABb** سیاه	**AaBB** سیاه	**AaBb** سیاه
Ab	**AABb** سیاه	**AAbb** قهوه‌ای	**AaBb** سیاه	**Aabb** قهوه ای
aB	**AaBB** سیاه	**AaBb** سیاه	**aaBB** صورتی	**aaBb** صورتی
ab	**AaBb** سیاه	**Aabb** قهوه‌ای	**aaBb** صورتی	**aabb** صورتی

♀

نسبت فنوتیپی: ٤ چشم صورتی. ٣ چشم قهوه ای . ٩ چشم مشکی

در حالی که آلل B رنگ مشکی و آلل b رنگ قهوه‌ای تولید می‌کند، ژنوتیپ خالص نهفته aa مانع فعالیت لوکوس B می‌گردد. در نتیجه ژن هیپوستاتیک B منحصراً در حضور ژن A اثر خود را ظاهر می‌سازد. نسبت‌های فتوتیپی در اپیستازی نهفته ٤:٣:٩ است.

٣-٢-٢- ژن‌های دوگانه

ژن هائی هستندکه در هر دو لوکوس و بطور مستقل فنوتیپ یکسان تولید می‌نمایند.

١-٣-٢-٢- *دو ژن با اثر افزایشی*[1]

زمانی اتفاق می‌افتد که هر یک از دو ژن فنوتیپ یکسانی داشته باشند.در این نوع همکاری ژنی، ژنوتیپ‌های مغلوب هموزیگوت دو لوکوس فاقد قدرت بوده و بعکس ژنوتیپ‌های حاوی آلل بارز

[1] - Duplicate genes with cummulative effect

در دو لوکوس بعلت اثر افزایشی، عموماً تعداد محصول ژن را به دو برابر افزایش می‌دهند. برای مثال، الگوی نوار روی بدن ماهی آکواریومی بارب ببری[1] شرح داده شده است.

جدول ۵-۲- مربع پانت و نسبت فنوتیپی F_2 برای تلاقی دو ماهی هتروزیگوت بارب با نوار کامل (Aa, Bb)

گامت	AB	Ab	aB	ab
AB	AABB کامل	AABb کامل	AaBB کامل	AaBb کامل
Ab	AABb کامل	AAbb ناقص	AaBb کامل	Aabb ناقص
aB	AaBB کامل	AaBb کامل	aaBB ناقص	aaBb ناقص
ab	AaBb کامل	Aabb ناقص	aaBb ناقص	Aabb نیم نوار

نسبت فنوتیپی: نوار کامل ۹. نوار ناقص ٦. نیمه نوار ۱

براساس جدول فوق، زمانی که تنها یکی از آکواریومها دارای آلل غالب باشند روی بدن ماهی یک نوار ناقص دیده می‌شود. ولی چنانچه هر دو لوکوس دارای آلل غالب باشد، محصول دو ژن تجمع یافته و یک نوار کامل را نشان می‌دهد که به آن افزایشی[2] گویند. فنوتیپ سوم در حالی رخ می‌دهد که هر دو لوکوس دارای ژنوتیپ هموزیگوت مغلوب باشند. ژن‌های دو گانه با اثرات جمع شونده از نسبت‌های فنوتیپی ۹:٦:۱ تبعیت می‌کند.

۲-۳-۲-۲- *اثرات دو ژن غالب*[3]

در این حالت آلل‌های غالب در هر دو لوکوس بطور مجزا یا بطور اجتماع فنوتیپ یکسان ایجاد می‌کنند ولی اثر آنها جمع شونده یا افزایشی نیست. تنها ژنوتیپی که اثر فنوتیپ متفاوت را می‌سازد

[1] - Sumatrian tiger barb
[2] - Comulative
[3] - Duplicate dominant gene interaction

حالت ژنوتیپ نهفته هموزیگوت است. نسبت‌های فنوتیپی در F2 به صورت ۱۵:۱ ظهور می‌کند. برای مثال، وراثت رنگ فلس ماهی گلدفیش مورد بررسی قرار گرفته است.

جدول ٦-۲- مربع پانت و نسبت فنوتیپی F_2 برای تلاقی دو ماهی هتروزیگوت گلدفیش فلس روشن (D_1d_1, D_2d_2)

♂

گامت	D_1D_2	D_1d_2	d_1D_2	d_1d_2
D_1D_2	$D_1D_1\ D_2D_2$ فلس روشن	$D_1D_1\ D_2d_2$ فلس روشن	$D_1d_1\ D_2D_2$ فلس روشن	$D_1d_1\ D_2d_2$ فلس روشن
D_1d_2	$D_1D_1\ D_2d_2$ فلس روشن	$D_1D_1\ d_2d_2$ فلس روشن	$D_1d_1\ D_2d_2$ فلس روشن	$D_1d_1\ d_2d_2$ فلس روشن
d_1D_2	$D_1d_1\ D_2D_2$ فلس روشن	$D_1d_1\ D_2d_2$ فلس روشن	$d_1d_1\ D_2D_2$ فلس روشن	$d_1d_1\ D_2d_2$ فلس روشن
d_1d_2	$D_1d_1\ D_2d_2$ فلس روشن	$D_1d_1\ d_2d_2$ فلس روشن	$d_1d_1\ D_2d_2$ فلس روشن	$d_1d_1\ d_2d_2$ فلس مات یا تیره

♀

نسبت فنوتیپی: ۱۵ فلس روشن; ۱ فلس تیره

۳-۳-۲-۲- *ژن‌های دو گانه با اثرات نهفته*[1]

در این حالت دو ژنوتیپ نهفته در هر لوکوس فنوتیپ یکسان را تولید می‌کنند و تنها اگر آلل غالب در هر دو لوکوس وجود داشته باشد، فنوتیپ دیگر را می‌سازد. مثالی که درخصوص همکاری و اثرات دو ژن به آن اشاره شده است مربوط به رنگ گوشت ماهی آزاد چینوک[2] می‌باشد.

در تمام مواردی که هموزیگوت مغلوب وجود دارد رنگ سفید ایجاد می‌شود. هنگامیکه الل‌های غالب A و B با هم در یک ژنوتیپ وجود داشتند، بعلت اثر تکمیلی سبب ایجاد فنوتیپ نوع دیگر (رنگ قرمز) گردیده است. نسبت در این نوع آمیزش ۹:۷ می باشد.

[1] - Duplicate recessive gene intraction
[2] - Chinook salmon

جدول ۷-۲- مربع پانت و نسبت فنوتیپی F_2 برای تلاقی دو ماهی هتروزیگوت ماهی آزاد چینوک با رنگ گوشت قرمز(Aa, Bb)

گامت	AB	Ab	aB	ab
AB	AABB قرمز	AABb قرمز	AaBB قرمز	AaBb قرمز
Ab	AABb قرمز	AAbb سفید	AaBb قرمز	Aabb سفید
aB	AaBB قرمز	AaBb قرمز	aaBB ناقص	aaBb سفید
ab	AaBb قرمز	Aabb قرمز	aaBb سفید	aabb سفید

نسبت فنوتیپی: ۹ ماهی با رنگ گوشت قرمز ؛ ۷ ماهی با رنگ گوشت سفید

۳-۲- ژن‌های وابسته به جنس[1]

در اصطلاح ژنی را وابسته به جنس گویند که روی کروموزومها جنسی واقع شده است. فنوتیپ‌های کیفی ممکن است توسط ژن‌های موجود روی یکی از کروموزوم‌های جنسی،کنترل شوند.

۱-۳-۲- صفات وابسته به Y [2]

این ژنها روی کروموزوم y قرار دارند و لذا تنها از پدر به فرزند پسر انتقال می‌یابند و در فرزند ماده وجود ندارند. **مثال ماهی گوپی**. نسبت ژنوتیپ و فنوتیپ در این نـوع وراثت ۱ : ۱ است.

فنوتیپ	ژنوتیپ
ماده خاکستری	xx
نر لکه‌دار	xy_{ma}
نر خاکستری	xy

[1] - Sex linked gene
[2] - Y- linked gene

در صورتیکه نر حامل ژن خاص باشد، تلاقی آن با ماده فرزندان نر آن جنسیت را بروز می‌دهند.

ماده	نر: x	نر: y_{ma}
x	xx	xy_{ma}
x	xx	xy_{ma}

۲-۳-۲- صفات وابسته به X[1]

ژن‌های وابسته جنس، می‌توانند روی کروموزوم X قرار داشته باشند. فنوتیپ وابسته به X با توجه به غالب یا مغلوب بودن آن در ماده بروز می‌کنند ولی در نر این صفت خود را بروز می‌دهد. ماهی نر با فنوتیپ غالب بچه ماهیانی ماده با فنوتیپ غالب بوجود می‌آورند ولی ماهی نر با فنوتیپ مغلوب تولید گامت‌های X نهفته می‌نماید که فنوتیپ بچه ماهیان ماده به ژنوتیپ حاصل از آمیزش او بستگی دارد.

فنوتیپ	ژنوتیپ
ماده با دم تیره	$x_{cp}\ x_{cp}$
ماده با دم تیره	$x_{cp}\ x_{cp}$
ماده با دم روشن	$x_{cp}\ x_{cp}$
نر با دم تیره	$x_{cp}\ y$
نر با دم روشن	$x_{cp}\ y$

	x_{cp}	y
$x_{cp}\ x_{cp}$	$x_{cp}\ x_{cp}$	$x_{cp}\ y$
$x_{cp}\ x_{cp}$	$x_{cp}\ x_{cp}$	$x_{cp}\ y$

دو ماده دم تیره، یک نر دم تیره و یک نر دم روشن

[1] - X – linked gene

۳-۳-۲- فنوتیپ‌های محدود به جنس[1]

بعضی از ژن‌های وابسته به X فقط وابسته به نوعی از جنس هستند و دو نوع دیگر بروز نمی‌کنند. برای مثال، ژنی که محدود به جنس نر است جهت بروز آن صفت نیاز به هورمون نرینه[2] دارد.

مثال مربوط به این امر فنوتیپ ببری در ماهی گوپی است که توسط آلل بارز وابسته به جنس x_{ti} کنترل می‌شود. در شرایط عادی وجود ژن x_{ti} در ماهیان ماده فنوتیپ ببری را ظاهر نمی‌سازد در حالیکه در ماهی نر همین ژن تولید فنوتیپ ببری می‌کند.

فنوتیپ	ژنوتیپ
ماده خاکستری	$x\ x$
ماده خاکستری	$x\ x_{ti}$
ماده خاکستری	$x_{ti}\ x_{ti}$
نر خاکستری	$x\ y$
نر ببری	$x_{ti}\ y$

٤-۲- ژن‌های چند آللی

آنچه که تاکنون اشاره شد برفرض آن بود که یک ژن تنها دو الل دارد، در حالیکه در یک جمعیت تعداد آللها برای یک ژن ممکن است از یک تا بیش از ده آلل باشد.

برای مثال، به ژن B در تشکیل رنگ ملانین در ماهی مدکا[3] اشاره می‌گردد. ژن B نسبت به 'B و b غالب و 'b نسبت به' B مغلوب است فنوتیپ این ماهی در مطالعه ژن‌های آتوزومی ۳ آللی به شرح ذیل است:

---

[1] - Sex – Limited

[2] - Ándrogen

[3] - Medeka

فنوتیپ	ژنوتیپ		
تولید کامل ملانین	Bb	BB '	BB
تولید ناکامل یا لکه لکه ملانین		B'b	B'B '
فقدان تولید ملانین			bb

ژنها می‌توانند دارای بیشتر از ۳ الل نیز باشند که برای مثال می‌توان به پلی‌مرفیزم یا چند شکلی ترانسفرین در ماهی کپور اشاره کرد که توسط روش الکتروفورز بین ۵ تا ۷ آلل متفاوت در ماهیان پرورشی شناخته شده است.

۵-۲- اثرات فرعی ژن‌ها

یک ژن تنها در تولید یک فنوتیپ بخصوص و تنها برای فرآیند خاص عمل نمی‌کند بلکه ضمن اثر بر یک صفت اصلی می‌تواند بر صفات دیگر نیز اثرات کلی و جانبی داشته باشد. چند نوع از اثرات فرعی ژن ها به شرح ذیل است:

الف- *اثر پلیوتروپی*

اثرات اضافی یا جانبی ژن بر تولید فنوتیپ ثانویه به نام اثر پلئوتروپی نامیده می‌شود یا در حالتیکه یک ژن بر بیش از یک صفت تاثیر دارد. اثرات پلئوتروپی در ماهی بخوبی مطالعه شده است و مشخص شده که ژن‌های رنگی e , d ,b,g اثرات پلئوتروپی فراوانی دارند[1]. برای مثال، مشخص گردیده است که ماهی با هر دو ژن bb که رنگ آبی تولید می‌کند و gg که رنگ زرد طلایی تولید می‌کند، دارای رشد کمتری نسبت به رنگ معمولی اند.

ب- *قدرت نفوذ ژن*[2]

قدرت نفوذ ژن به درصدی از حالات که آن صفت بروز می‌کند با فرض اینکه ژنوتیپ در همه افراد یکسان باشد. اگر در تمام موجودات فنوتیپ ظاهر شود، قدرت نفوذ ژن را صددرصد گویند.

---

[1] - Wohlfarth and Moav – 1970
[2] - Peneterance

ج- شدت بروز ژن[1]

تنوعی که در حالت مختلف ظاهر می‌شود، شدت بروزیک ژن می‌باشد. ژنها ممکن است دارای شدت بروز متغیر باشند به این معنی که در افراد مختلفی که دارای ژنوتیپ یکسانی هستند، صفت مربوطه به درجات مختلفی بروز کند. بعضی ژنها همیشه اثر یکسان دارند و بعضی در ماهی‌های متفاوت بصورت متفاوت بروز می‌کنند.

[1] - Expression

«فصل ۳»

ژنتیک کمّی[1]

مقدمه

صفات کمی شامل خصوصیاتی هستند که قابل اندازه‌گیری‌اند مانند طول بدن و تعداد فلس درحالیکه صفات کیفی توصیفی هستند و نمی توان آن ها را اندازه گیری نمود مانند رنگ بدن. صفات کمی و کیفی از نظر تعداد ژن‌هایی که آنها را بوجود می‌آورند و همچنین از نظر اثرات محیط بر آنها، متفاوت می‌باشند. صفات کمی عمدتاً پلی‌ژنیک می‌باشند ولی صفات کیفی عمدتاً توسط یک تا دو لوکوس کنترل می‌شوند. بعلاوه، قسمت اعظم تنوع فنوتیپی که در اکثر صفات کمی دیده می‌شود، مربوط به تغییرات شرایط محیطی می باشد. در ژنتیک کمی، تمایل و وضعیت کلی[2] و پراکنش در اطراف یک نقطه تعادل است که توسط شاخص‌های آماری بیان می‌گردد.

۱-۳- شاخص‌های آماری ژنتیک کمّی

در مطالعات مربوط به ماهی چون یک جمعیت بزرگ مورد مطالعه قرار می‌گیرد، اکثر خواص کمی دارای توزیع نرمال هستند. منحنی توزیع فراوانی نرمال از فراوانی کم شروع می شود و به یک حداکثر می رسد و پس از آن نزول می کند و دوباره به فراوانی کم ختم می شود. از منحنی نرمال جهت بررسی فراوانی اطلاعات دو جمعیت و یا یک جمعیت با جمعیت شاهد استفاده می‌گردد.

---

[1] - Quantitative genetic
[2] - General tendency

الف- محاسبه میانگین

متوسط فنوتیپی یک صفت که تابع منحنی نرمال باشد، بوسیله میانگین حسابی بیان می‌گردد و با علامت $\overline{X}$ نشان داده می‌شود.

$$\overline{X} = \frac{\sum_{N=1}^{w} n_i}{N} = \frac{X_1 + X_2 + ...X_N}{N}$$

ب- محاسبه دامنه

یکی از پارامترای مهم در ارائه صفات فنوتیپی کمی محسوب می شود.

$R=x_{min}-x_{man}$

ج- انحراف معیار

پارامتر مهم در بیان صفات کمی بشمار می‌رود.

انحراف معیار $S = \sqrt{\frac{(X-\overline{X})^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{\sum X^2 - \frac{(\sum X)^2}{N}}{N-1}}$

د- ضریب تغییرات

در یک مجموعه از داده ها انحراف معیار بعنوان شاخص تغییرات مفید است ولی در حالت مقایسه تغییرات دو مجموعه ممکن است نتیجه گیری درستی ارائه ندهد. از سوی دیگر، گاهی اوقات نیز بزرگی انحراف معیار به علت بزرگی مقدار اعداد مورد مطالعه می باشد، لذا به منظور استاندارد نمودن انحراف معیار، از ضریب تغییرات استفاده می‌گردد.

ضریب تغییرات $CV = (\frac{S}{X}) \times 100$

ه- واریانس

مجذور انحراف معیار را واریانس می‌گویند. $V=S^2$

۲-۳- تغییرپذیری (واریاسیون) در خصوصیات کمّی و کیفی

همیشه در بین موجودات اختلافاتی وجود دارد که این تنوع را می‌توان به تنوع ژنتیکی یاتنوع محیطی تقسیم نمود. در ادامه، درخصوص این دو منبع بحث می‌گردد:

۱-۲-۳- تنوع محیطی

منظور از محیط تمام شرایط و چیزهایی است که یک موجود در معرض آن قرار می‌گیرد. برای مثال: شرایط آبی یک استخر پرورش ماهی ازلحاظ اکسیژن ،pH ، شرایط تغذیه ای، وجود بیماریها، دشمنان ماهی و غیره.

۲-۲-۳- تنوع ژنتیکی

اگر درشرایط محیطی یکسان دو فنوتیپ قابل اندازه گیری باشند، در این صورت اختلافی که بین آنهاست بعلت وضعیت ژنتیکی آنهاست. بطور کلی، تنوع ژنتیکی را که تداخل قابل‌ملاحظه ای نیز بایکدیگر دارند، به اسم توارث کیفی و توارث کمی تقسیم می‌کنند.

توارث کیفی آنهایی هستند که فنوتیپ آنها بطور مشخص از یکدیگر جدا می‌شوند و در دسته یا گروه‌هایی قرار می‌گیرد که با یکدیگر تداخل نمی‌کنند. تقسیم‌بندی افراد با این خصوصیات بسیار آسان است و از تاثیر متقابل محیط با زنوتیپ تغییرات کمی بوجود می‌آید برای مثال، صفاتی که «مندل» برای آزمایشهای خود استفاده کرد، از این نوع صفات بوده است.

توارث کمی: در صفات کمی دسته‌های ممتاز و مشخص وجود ندارد و از دسته ای به دسته دیگر مقداری تداخل وجود دارد. لذا همانطوریکه اشاره شد، صفات کمی را توسط شاخص‌های آماری مشخص می‌کنند. درجه‌بندی صفات کمی بیشتر به دلیل آن است که کنترل ژنتیکی صفات کمی به دلیل پلی ژن بودن و اثر متقابل ژنها بیشتر است. بنابراین، چنانچه تعداد ژن‌های بیشتری در بروز یک صفت نقش داشته باشد، جدایی دسته ها کمتر و کمتر می‌شود و در نهایت به عنوان یک دسته از مقادیر پیوسته شکل می‌گیرد و در این صورت جمعیت مورد نظر بعلت کنترل ژنتیکی دارای توزیع نرمال می‌گردد. از آنجاییکه خصوصیات کمی دارای واریاسیون یا تغییرات دائمی هستند، تنها راه برای

مطالعه آنها آنالیز واریانس وتفکیک آن به عناصر تشکیل دهنده‌اش است. باتجزیه واریانس فنوتیپی یک صفت ژنتیک نژاد و قابلیت استفاده خواهد داشت :

$V_P=V_G+V_E+V_{G-E}$

V_P =واریانس فنوتیپی

V_G = واریانس ژنتیکی

V_E = واریانس محیطی

V_{G-E} = واریانس اثر متقابل ژنتیک و محیط

واریانس ژنتیکی برای ما بسیار حائز اهمیت است وخود از اجزای ذیل تشکیل گردیده است :

$V_G=V_A+V_D+V_I$

V_A = واریانس افزایشی

V_D = واریانس ژنتیکی غالبیت

V_I = واریانس اپیستازی

اختلاف بین واریانس افزایشیV_A ، واریانس ژنتیکی غالبیت V_D، واریانس اپیستازیV_I، چگونگی وراثت یافتن آنها و نیز مقادیر نسبی آنها مهمترین اطلاعات مورد نیاز برای مطالعات ژنتیکی یک گونه ماهی می‌باشد.

واریانس ژنتیکی غالبیت – واریانسی است که به تاثیر متقابل یا همکاری آلل‌های هر لوکوس مربوط می‌باشد و با توجه به اینکه یک لوکوس به فرزند انتقال نمی‌یابد بلکه تنها یک آلل از هر والدین به فرزند به ارث می‌رسد لذا، هیچگاه یک ماهی نمی‌تواند V_D را از هیچ یک از والدین خود به ارث ببرد لذا نتیجه گیری می‌شود که V_D از والدین به فرزندان منتقل نمی‌شود و هر نسل باید مجددا آن را بوجود آورد. .به عبارت دیگر، V_D ناشی از عملکرد ژنوتیپ می‌باشد (همکاری بین آللهاست و نه عملکرد آللها). والدین فقط گامت‌های هاپلوییید را به فرزندان انتقال می‌دهند ولی ژنوتیپ خود را به فرزندان منتقل نمی‌کنند.

واریانس اپیستاتیک – واریانسی است که به همکاری دو یا چند لوکوس مربوط می‌شود. طی تقسیمات میوز و قرار گرفتن ژنها باترتیب جدید سبب می شود که قسمت زیادی از V_I از والدین به فرزندان انتقال نیابد.

واریانس افزایشی – از پارامترهای مهم ژنتیکی محسوب می‌شود زیرا واریانس افزایشی، حاصل جمع اثر تمام آللها درتمام لوکوس‌هایی است که بصورت جداگانه بدست آمده‌اند. بعبارت دیگر، واریانس افزایشی، مجموع اثر آلل‌هایی است که به ایجاد یک نوع فنوتیپ منجر می‌شود. بنابر این واریانس افزایشی به افزایش آللها واثر متقابل یا همکاری بین آنها بستگی نداشته و طی میوز تغییر نمی‌یابد (مگر به دلیل کراسینگ اور و به مقدار جزیی) و لذا اثر آن اگرچه به تعاریفی که از V_A بیان شد که V_A عملکرد آلل است و ژنوتیپ درآن دخالت ندارد و تقسیم میوز نمی‌تواند آن را منقطع سازد، V_A را روشی قابل اعتماد و قابل پیش‌بینی ساخته و در بهگزینی از سه نوع واریانس فقط از آن می‌توان بهره‌برداری نمود.ماهیان برتر از نظر V_A می‌توانند اثر افزایشی خود را به فرزندان خود انتقال دهند و بر اساس میانگین مولدین انتخاب شده و با داشتن V_A میزان میانگین فنوتیپی در نسل بعد قابل پیش‌بینی است لذا به آن واریانس ارزشی ارثی[1] می‌گویند. .باتوجه به تعریف V_A و V_D می‌توان اینطور نتیجه‌گیری نمود که V_A و V_D پارامترهای متفاوت و متضاد واریانس ژنتیکی محسوب می‌شوند.

V_D نمی‌تواند وراثت یابد اما V_A به ارث می‌رسد– V_D در هر نسل مجددا شکل جدید می‌گیرد ولی V_A هرگز منقطع نمی‌گردد– V_D به همکاری و اثر متقابل آللها بستگی دارد در حالی که V_A اثر تمام آللها در لوکوس ها و اثر افزایشی ژنها را نشان می‌دهد.

بنا براین، در بهره برداری از این دو واریانس ژنتیکی، از V_A جهت جایگزینی مولدین از V_D در دورگه‌گیری استفاده می‌شود. با توجه به اینکه اغلب کارشناسان اصلاح نژاد نقش واریانس اپیستاتیک V_I را بسیار ناچیز و تقریبا معادل صفر می‌دانند. بنا براین، عملاً در واریانس V_A وV_D جهت نتایج بهتر مورد استفاده قرار می‌گیرد. در بخش‌های ذیل کاربرد هر یک از دو واریانس افزایشی وغالبیت بیشتر شرح داده می‌شود.

---

[1] - Variance of breeding value

۳-۳- وراثت پذیری

از لحاظ اصلاح نژاد واریانس افزایشی، V_A مهمترین پارامترهای اجزا تشکیل دهنده واریانس ژنتیکی می‌باشد زیرا بسیار حائز اهمیت است و بوسیله آن می‌توان میزان موثر بودن بهگزینی را پیش‌بینی نمود. وراثت پذیری درصد وراثتی فنوتیپی قابل انتقال را شرح می‌دهد. برای تعیین مقدار آن نسبت V_A به V_P تعیین و بصورت h^2 نشان داده می‌شود:

$$h^2 = \frac{V_A}{V_P}$$

با توجه به اینکه V_P مجموع وراثت ژنتیکی و محیطی است لذا وراثت پذیری را میتوان به صورت ذیل نیز نشان داد:

$$\mathbf{h^2 = \frac{V_A}{V_A+V_D+V_I+V_E+V_{G-E}}}$$

بنابراین، ممکن است وراثت پذیری بر اثر نوسانات محیطی تغییر کند. وراثت پذیری، مقدار نسبی V_A است، لذا هر عاملی که مخرج کسر میزان فوق را تغییر دهد میزان h^2 را نیز تغییر خواهد داد. میزان وراثت پذیزی بین صفر و یک متغیر است. هر چه وراثت پذیری یک صفت بیشتر باشد، بهگزینی آن صفت بیشتر است و بالعکس. معمولا اگر h^2 بزرگتر از ۰/۲۵ باشد، بهگزینی بصورت مطلوب انجام می‌گیرد. اگر درجه وراثت پذیری ۱ باشد، تمام تنوع به نسل بعد منتقل می‌شود واگر h^2 صفر باشد، فنوتیپ ماهی تنها وابسته به شرایط متغیر محیط است.

٤-۳-پاسخ به بهگزینی

چون وراثت پذیری درصد معین، دائمی وقابل انتقال به نسل بعد است و نسبت مشخص V_P را شامل می شود که بوسیله تقسیم میوز منقطع نمی‌شود لذا، با کمک آن می‌توان میزان تغییر نسبی در فنوتیپ کمی بهگزینی شده نسبت به متوسط جمعیت نسل بعد را تخمین زد.

این افزایش یا کاهش ناشی از بهگزینی را «پاسخ به بهگزینی» نامیده و با فرمول $R=Sh^2$ محاسبه می‌نمایند که در این فرمول R، افزایش یا کاهش در هر نسل میزان S، اختلاف بهگزینی و h^2 وراثت پذیری آن صفت می‌باشد. اگر h^2 برابر یک باشد در این صورت R=S یعنی تغییرات انجام شده تماما به نسل بعد انتقال می‌یابد و اگر h^2 برابر صفر باشد، یعنی بهگزینی هیچ گونه تاثیری در انتخاب مولد برتر در جهت صفت مورد دلخواه ندارد و تغییرات فنوتیپی صرفا به دلیل شرایط متفاوت محیط انجام می‌گیرد. در فرمول فوق مقدار S را می‌توان از رابطه ذیل محاسبه نمود:

$$S = \text{متوسط جمعیت} - \frac{\text{متوسط وزن ماهیان نر بهگزین شده} + \text{متوسط وزن ماهیان ماده بهگزین شده}}{۲}$$

در صورت اطلاع از میزان h^2 در آن گونه میزان R بدست می آید.

۵-۳- واریانس غالبیت و کاربرد آن در افزایش تولید

در مواردی که V_A صفر یا ناچیز باشد، بهگزینی سبب افزایش آن صفت نمی‌شود. در این موارد و برای افزایش تولید از روش دو رگه‌گیری استفاده می‌گردد. دو رگه‌گیری توان تولید را با استفاده از V_D افزایش می‌دهد البته در حالتی که V_A زیاد باشد نیز می‌توان از دو رگه‌گیری به منظور بهره‌برداری از V_D استفاده کرد. همانطور که قبلاً اشاره گردید، V_D قسمتی از واریانس ژنتیکی است که از همکاری آللها در هر لوکوس بوجود می‌آید. این شکل از واریانس به همکاری آللها بستگی دارد که در هر نسلی دو باره و با آرایش جدید و تصادفی آللها ایجاد می‌شود. در ایجاد دو رگه‌گیری نیز شناخت والدین و آمیزشی که شکل می‌گیرد بسیار حائز اهمیت است. در دو رگه‌گیری برعکس بهگزینی الزاما لازم نیست که مولدین برتری انتخاب شوند بلکه برعکس گاهی با دو والد معمولی یا حتی حذفی، ممکن است فرزندان ممتاز را بدست آورد زیرا ترکیب مناسب آللها توان تولید را افزایش خواهد داد. اهداف متفاوتی در دو رگه‌گیری مورد نظر است که برخی از آنها به شرح ذیل می‌باشد:

الف- تولید ماهیان پرواری وسریع الرشد با استفاده از خواص متفاوت والدین که برای مثال می‌توان از هیبرید کپور نقره ای (ماده) و کپور سرگنده (نر) نام برد که اولی فیتوپلانکتون خوار ودومی زئو پلانکتون خوار است و ماهی دورگه پتانسیل استفاده از هر دو نوع غذا را دارد.

ب- استفاده در آمیزش نهایی درلاین‌های تولیدی اصلاح نژاد.

ج- تولید نژادها یا سویه‌های جدید برای ایجاد تک جنس.

برای مثال، می‌توان به تلاقی دو نوع تیلاپیا نیلوتیکا[1] اشاره نمود که ماهیان ماده همو گامت و ماهی تیلاپیای هونوروم[2] که ماهی نر همو گامت است.

تیلاپیای هونوروم (zz) ♂ × (xx)♀تیلاپیا نیلو تیکا

گامت z گامت x

فرزندان همگی نر(xz)

د- برای تولید ماهیان همشکل (مثل ماهیان تری پلوئید وماهیان عقیم در برخی از تلاقیها)

ه- برای حفاظت از منابع آبی با تولید ماهیان دو رگه غیر بارور این نکته قابل توجه است که عموما ماهیان دورگه ماهیان مولد خوبی نیستند زیرا برتری ماهیان دورگه مربوط به V_D است که طی گامت‌سازی برای نسل بعدی منقطع می‌شود و هنگامی که ماهیان دو رگه تولید مثل می‌کند، فرزندان آنها طیف وسیعی از اثرات ناشی از همکاری ژنها را نشان می‌دهند.

۱-۵-۳-آمیزش خویشاوندی[3](همخونی)

آمیزش خویشاوندی یعنی آمیزش بین افراد خویشاوند است. آمیزش خویشاوندی سبب خلوص ژنتیکی می‌شود ماهیانی که با یکدیگر خویشاوند هستند، قسمتی از آلل‌های خود را از یک یا چند جد مشترک می‌گیرند. در صورتی که افراد خویشاوند با یکدیگر آمیزش داده شوند امکان جفت شدن

[1] - Tilapia nilotica
[2] - Tilapia honorom
[3] - Inbreeding

آلل‌هایی که بواسطه جد مشترک به آنها رسید وجود دارد و لذا در این حالت فرزندان ایجاد شده در یک یا بسیاری از لوکوسها خالص می‌گردند که در اصطلاح «همخون»[1] نامیده می‌شوند. حیوانات خویشاوند از نظر ژنتیکی نسبت به حیوانات غیرخویشاوند شباهت بیشتری دارند این امر به دلیل آلل‌های مشترک بیشتری است که فرزندان حاصل از آمیزش افراد خویشاوند دریافت داشته و لذا خلوص بیشتری نسبت به افراد غریبه دارند. اثر خویش‌آمیزی افزایش هموزیگوتی و کاهش هتروزیگوتی در جمعیت است ولی با خویش‌آمیزی، فراوانی آللها تغییر نمی‌کند بلکه از ژنوتیپ هتروزیگوت کم شده و به دو ژنوتیپ هموزیگوت افزوده می‌شود و با افزایش آمیزش خویشاوندی هتروزیگوتی به بی‌نهایت میل می‌کند و ضریب خویش آمیزی نشان دهنده درصد ژن‌های هموزیگوت در فرد است و آن را با FX نشان می‌دهند. در این گونه تلاقیها در هر نسل آمیزش Aa×Aa ,aa×aa و AA×AA انجام می‌گیرد. اثرات آمیزش خویشاوندی بر فراوانی ژنوتیپی و فراوانی‌های آللی در یک لوکوس خاص در جدول ۱-۳ نشان داده شده است.

جدول۱-۳- فراوانی ژن و ژنوتیپ در چند نسل متوالی

	تلاقی در هر نسل		AA×AA، Aa×Aa ,aa×aa		
	فراوانی آللی		فراوانی ژنوتیپی		
نسل P1	F(a)	F(A)	F(aa)	F(Aa)	F(AA)
F1	۰/۵	۰/۵	۰/۲۵	۰/۵	۰/۲۵
F2	۰/۵	۰/۵	۰/۳۷۵	۰/۲۵	۰/۳۷۵
F3	۰/۵	۰/۵	۰/٤۳۷	۰/۱۲۵	۰/٤۳۷
F~	۰/۵	۰/۵	۰/۵		۰/۵

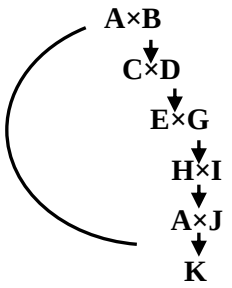
[1] - Inbred

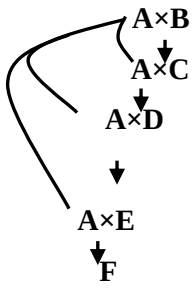
در هر نسل، آمیزش ماهیان هتروزیگوت (Aa×Aa) سبب کاهش ۵۰ درصد فراوانی ژنوتیپ F(Aa) و افزایش فراوانی ژنوتیپ هموزیگوت F(aa) و F(AA) هر یک به میزان ۲۵ درصد می‌شود. در پرورش ماهی معمولا آمیزش خویشاوندی سبب کاهش رشد ماهی می‌شود. ولی در دو مورد ذیل در برنامه‌های اصلاحی از آن استفاده می‌گردد.

۱-۱-۵-۳- آمیزش دودمانی[1]

آمیزش دودمانی به شیوه‌ای از آمیزش می‌گویند که یک فرد یا ماهی برجسته (نر یا ماده) با یکی از نتایج خود تلاقی داده شود. این امر برای استفاده مجدد از خزانه ژنی ماهی برجسته در نسل‌های بعدی صورت می‌گیرد. دو شیوه برای انجام این گونه آمیزشها اعمال می‌شود :

آمیزش خویشاوندی فشرده **آمیزش خویشاوندی معتدل**





کاربرد دیگر آمیزش خویشاوندی ایجاد دودمان همخون است. در عمل در مزارع اصلاح نژاد دو یا چند لاین یا دودمان را با روش‌های بهگزینی به منظور تثبیت آلل خاص ایجاد می‌نمایند. درصورت آمیزش لاین‌های همخون، ماهیان حاصل از آنها در لوکوس‌های مورد نظر یکسان می‌گردند ولذا فنوتیپ‌های یکسان تولید می‌شوند.

[1] - Line breeding

۲-۱-۵-۳- محاسبه همخونی

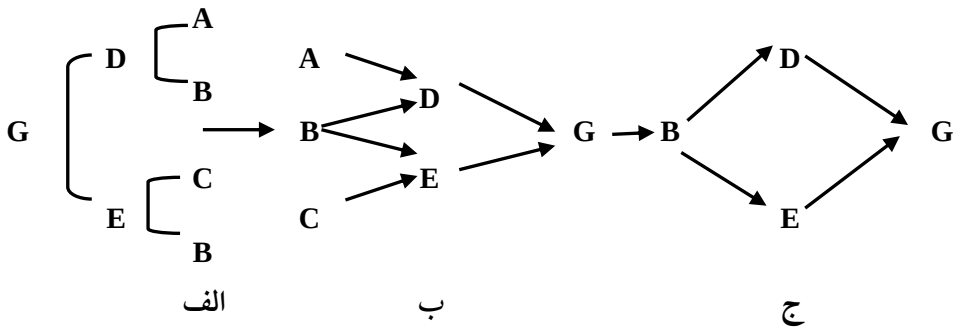
مقدار ضریب همخونی یا آمیزش خویشاوندی را با Fx نشان داده و با استفاده از فرمول ذیل تعیین می‌گردد:

$$Fx = \Sigma[(0.5)^N (1-F_{CA})]$$

تعداد افراد یک مسیر شجره‌ای، F_{CA} همخونی والدین یا جد مشترک و Fx همخونی فرد مورد مطالعه است. اگر ضریب همخونی جد مشترک صفر باشد لذا، فرمول تنها به محاسبه همخونی در یک حلقه یا چرخه مرتبط با فرزندان همخون محاسبه می‌شود.

برای محاسبه ضریب همخونی تعداد افرادی که در یک حلقه ارتباطی به فرد همخون ختم می‌شود و یا تعداد مسیرهای منتهی به فرد همخون را محاسبه می‌کنند. برای محاسبه به چند مثال ذیل توجه شود:

مثال ۱:

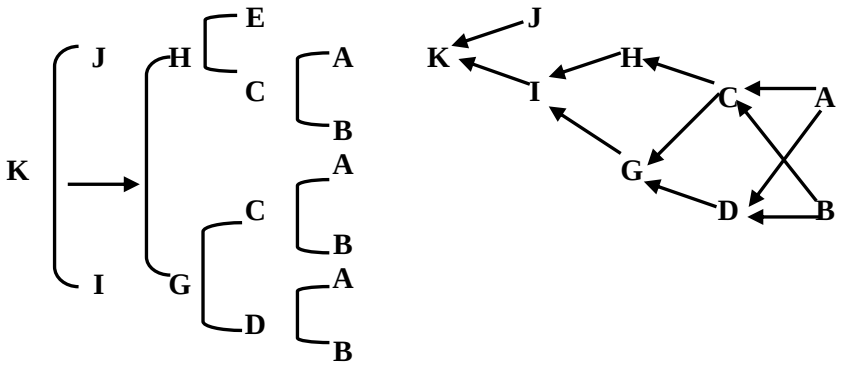


اگرG حالت الف براثر آمیزش خویشاوندی دو نسل پیاپی باشد، ابتدا حلقه تلاقی خویشاوندی را تشکیل داده (ب) و سپس مسیر تلاقی را با شروع یکی از والدین رسم می‌کنیم(ج).

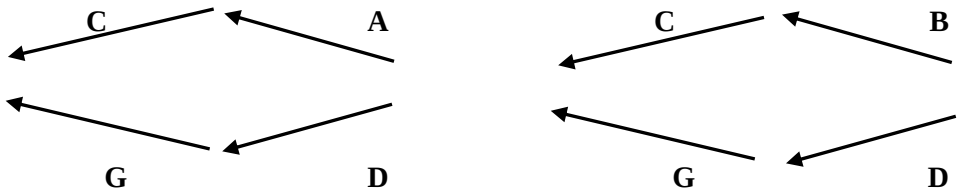
D → B → E → G
E → B → D → G

درهر دو حالت سه پیکان مسیر خویشاوندی را مشخص می‌کند که N=۳ می‌شود. با فرض اینکه جد مشترک FCA = 0 باشد لذا : **FG =(۰/۵)۳=۰/۱۲۵**

مثال ۲:



در مثال فوق افرادI وG همخون هستند زیرا هردو دارای اجداد مشترک هستند (هر دو در یک سیکل بسته قرار دارند). برای محاسبه FC مسیرهای Cو D از طریق جد مشترک را رسم می‌کنیم.

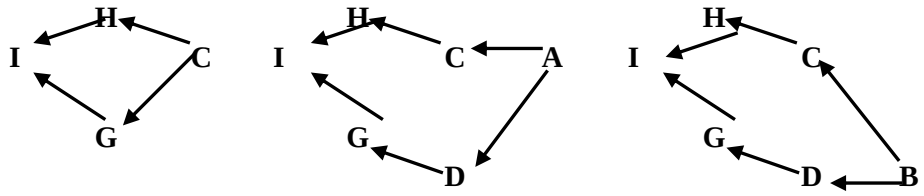


C→ A→ D→ G **C→ B→ D→ G**

برای هر دو مسیر N= ۳ می‌شود و چون A وB همخون نیستند لذا :

FG=(۰/۵)۳ +(۰/۵)۳=۰/۲۵

برای محاسبه FI ابتدا راه یا مسیر اجداد مشترک را رسم می‌کنیم. اجداد مشترک فرد I افراد A , C و B هستند لذا حلقه بسته آمیزش خویشاوندی بصورت‌های ذیل است:



مسیر I به C **مسیر I به A** **مسیر I به B**

H-C-G-I **H-C-A-D-G-I** **H-C-B-D-G-I**
N=٣ **N=٥** **N =٥**

FG=(٠/٥)٣ +(٠/٥)٥ +(٠/٥)٥=٠/١٨٧٥

٦-٣- برنامه‌های اصلاحی (بهگزینی)

قبلا تعریف شد که به منظور بهره برداری از یک صفت می‌توان با بهگزینی ماهیان میانگین یک صفت فنوتیپی دلخواه را افزایش داده و فرزندان بهترین را بدست آورد. روش‌های متعددی برای بهگزینی پیشنهاد شده است ولی عمدتا در موارد و تکثیر ماهی برای حفظ ذخایر ژنتیکی بهتر است از روش عدم بهگزینی استفاده شود. در پرورش ماهی بهگزینی جهت دار نسبت به سایر روشها از اهمیت بیشتری برخوردار است. اصولاً در خصوص روش‌های بهگزینی، برنامه‌های بهگزینی برای همه گروه‌های فنوتیپ‌های تولید ماهی می‌تواند طراحی شود، ولی مهمترین فنوتیپ، نرخ رشد است. بهبود نرخ رشد، زمان رشد ماهیان و رسیدن به بازار مصرف را کاهش می‌دهد و در نتیجه، یک پرورش‌دهنده می‌تواند فرآورده‌های بیشتری طی یک دوره پرورشی تولید نماید. در نتیجه، بهبود رشد

ماهی باعث افزایش کلی فرآورده‌های بازده تولید، تولید پروتئین بیشتر و نیز درآمد پرورش‌دهندگان خواهد شد. علاوه بر اینها، بهبود رشد ماهیان از راه انتخاب غیر مستقیم موجب بهبود سایر فنوتیپ‌های تولیدی می‌شود.

بسیاری از این برنامه ها قبلاً توسط کپچنکوف[1] ارائه شده است. علاوه بر آن، تقریبا تمام روش‌های بهگزینی در کتاب ژنتیک جهت مدیریت هچری توسط داگلاس تاو[2] شرح داده شده است. در این خصوص دو سیستم کلی بهگزینی وجود دارد. سیستم انفرادی و سیستم فردی فامیلی شرح مختصر انواع سیستم‌های بهگزینی به قرار ذیل است.

۱-٦-۳- بهگزینی انبوه یا بهگزینی فردی

بهگزینی انبوه[3] یا فردی[4] براساس لیاقت فردی است دراین روش هر ماهی بدون توجه به خانواده آن، با سایر ماهیان مقایسه شده و از بهترین آنها به عنوان ذخیره ماهیان مولد برای نسل بعد استفاده می‌شود. بهگزینی فردی، در صورتی دارای کارآیی است که مقدار وراثت‌پذیری h2 بزرگ باشد. برای مواردی که h2 کوچک باشد یا فنوتیپ مورد نظر با ارزش باشد، برای تغییر میانگین جمعیت، از بهگزینی خانوادگی استفاده می‌شود. در ذیل به شرح مختصری انواع آن پرداخته شده است.

۱-۱-٦-۳- بهگزینی جهت‌دار[5]

اگر تمایل به بهبود وضعیت تولید بر مبنی تغییر میانگین جمعیت باشد و در این راستا هدف طرح‌های مشخصی وجود داشته باشد، در این صورت برای پیشبرد جمعیت از بهگزینی جهت‌دار استفاده می‌گردد. در این حالت می‌توان میانگین فنوتیپ را متناسب با اهداف مورد نظر در این طرح سرعت رشد، افزایش داد. در بهگزینی جهت دار، معمولا یک صفت که بیش از همه برای پرورش دهنده مهم است، معیار اصلی انتخاب واقع می‌شود.

---

[1] - Kirpichnikovs, 1972
[2] - Tove, 1992
[3] - Mass selection
[4] - Individual selection
[5] - Direction al selection

۲-۱-٦-۳- بهگزینی متوالی[1]

برای تغییر دو ناحیه فنوتیپ که به دنبال هم انجام می‌گیرد، از این شیوه استفاده نمود. در این روش ابتدا در جهت بهگزینی یکی از فنوتیپها تا چند نسل اقدام نموده، تا زمانی که برای آن هدف به نتیجه برسیم سپس بهگزینی را برای فنوتیپ دوم شروع می‌کنیم تا نتیجه دلخواه بدست آید. این شیوه برای مواردی که دو فنوتیپ در یک جهت باشد مناسب می‌باشد ولی اگر دو صفت دارای همبستگی منفی باشد، افزایش میانگین یک صفت سبب کاهش میانگین دیگر شود یا حتی ممکن است هنگام بهگزینی برای فنوتیپ دوم ، تمام بهگزینی قبلی خنثی شود. لذا انتخاب صفات همسر در این شیوه بسیار حائز اهمیت است.

۳-۱-٦-۳- روش حذف مستقل[2]

زمانی از این شیوه بهگزینی استفاده می شود که بتوانیم همزمان نسبت به انتخاب دو یا چند صفت اقدام کنیم. در این حالت برای هر فنوتیپ مقادیر حداقل کارایی را اتخاذ نموده، در این صورت هر ماهی برای بهگزین شدن باید از تمام مقادیر، حداقل میزان را باید داشته باشد لذا اگر یک ماهی از یک صفت بسیار بالا باشد ولی در صفت دیگر از حد معمول پائین‌تر باشد، حذف می‌شود (تصویر۱-۳-الف). هر چند که برای رفع این مشکل راه حل‌هایی پیشنهاد شده است (تصویر ۱-۳- ب) معذالک این شیوه نیز دارای مشکلات مخصوص بخود است. برای مثال، در صورتیکه اهداف انتخاب را با دقت انجام دهیم، مدت زیادی طول می‌کشد تا تعداد بسیار اندکی ماهی بعنوان ماهی بهگزینی انتخاب شود.

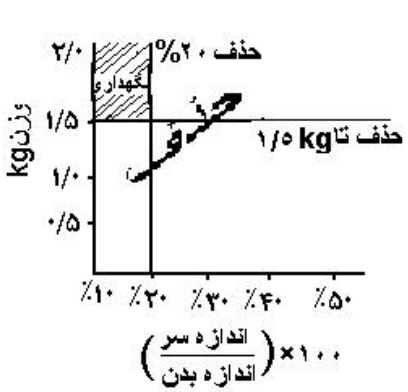
٤-۱-٦-۳- روش شاخص بهگزینی[3]

این روش کامل‌کننده‌تر از سیستم قبلی است ولی در این روش تعداد جمعیت‌های مورد توجه بمراتب بسیار بیشتر است. در این شییوه بهگزینی بطور همزمان چند فنوتیپ انتخاب می‌شود. در روش

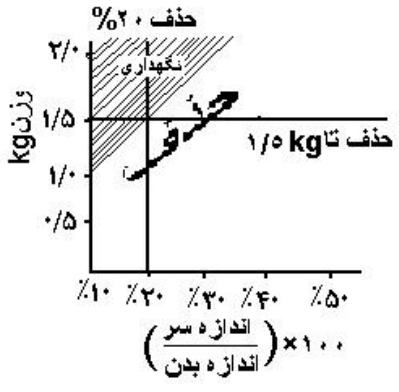
---

[1] - Tandom selection
[2] - Independent culling
[3] - Selection index

شاخص بهگزینی، هر صفت براساس یک معیار یا نمره سنجیده می‌شود و ماهیانی که بالاترین نمرات را دارند، انتخاب می‌شوند. برای این منظور برای هر صفت با توجه به اهمیت آن صفت، یک ضریب داده می‌شود و سپس ماهیان برای آن صفت و سایر صفت‌ها اندازه‌گیری و در یک فرمول قرار می‌گیرد و برای هر ماهی یک ارزش عددی کلی تعیین و سپس ماهیان با ارزش عددی کلی انتخاب می‌شوند. با وجود اینکه این نوع برنامه بهگزینی، کارآمدترین روش بهگزینی است، لیکن داده‌های اساسی مورد نیاز برای محاسبه ضرایب صفتی در مورد اکثر ماهیان پرورشی در دسترس نیست.



تصویر ۱-۳-الف- نمودار حذف مستقل



تصویر ۱-۳- ب- نمودار حذف مستقل

۲-۶-۳- بهگزینی خانوادگی[1]

بهگزینی خانوادگی نیز به مانند بهگزینی فردی زمانی امکان پذیر است که واریانس افزایش VA وجود داشته باشد، در غیر این صورت بهگزینی عملی نیست. در بهگزینی فامیلی، انتخاب براساس میانگین‌های فامیلی است و میانگین جمعیت به آن اندازه میانگین فامیلی اهمیت ندارد. در این فرم از برنامه‌های اصلاحی، میانگین فامیلی مقایسه می‌شود و لذا با تمام فامیل حذف یا انتخاب می‌گردد. انتخاب فامیلی به دو صورت ذیل است :

[1] - Familly selection

۱-۲-٦-۳- *انتخاب بین فامیلی*[1]

در این روش عملکرد محصول چند فامیل مورد مقایسه را بدست آورده و در بین این فامیل ها آنکه میانگین عملکرد بالاتری را دارد، انتخاب می‌شود و بقیه فامیل ها که دارای میانگین کمتری هستند، حذف می‌شوند.

۲-۱-٦-۳- *انتخاب داخل فامیل*[2]

در این روش نیز ابتدا عملکرد محصول چند فامیل مورد مقایسه را بدست آورده و در بین هر فامیل، ماهیان با بالاترین میانگین انتخاب می‌شوند. لذا در داخل فامیل ها، بهترین ها انتخاب می‌گردند و هیچ فامیلی مطلقا حذف نمی‌شود.

با توجه به مطالب مذکور، از انواع روش‌های بهگزینی،عموما دو شیوه بهگزینی انتخاب فردی و انتخاب فامیلی وجود دارد. در خصوص آزاد ماهیان عموما به دلیل وجود وراثت پذیری قابل توجه در بسیاری از صفات آزاد ماهیان، روش بهگزینی فردی پیشنهاد می‌گردد. در حالیکه در خصوص ماهی کپور معمولی روش انتخاب فامیلی مناسب‌تر است.

---

[1] - Between family selection
[2] - Within family

«فصل ۴»

ژنتیک جمعیت

مقدمه

یک جمعیت از ماهیان مانند یک گونه از ماهی یا یک نژاد از ماهی گروهی از ماهیان هستند که در منطقه و محدوده جغرافیایی معینی زیست و تولید مثل می‌کنند و دارای خانواده‌ای بزرگ است و بطریق جنسی تولید مثل می‌کند. تمام اطلاعات ژنتیکی افراد این جمعیت یک بانک ژنتیکی را تشکیل داده و هر فرد جدید براساس ژن‌های موجود در بانک ژنتیکی تشکیل می‌گردند.

۱-٤- فراوانی ژن و ژنوتیپ[1]

برای تعیین ساختار ژنتیکی یک جامعه باید تمام ژنوتیپ‌های موجود آن جامعه را دانست. اگر فرض کنیم آلل‌های A_1 و A_2 متعلق به لوگوس‌خاصی باشند این دو آلل سه ژنوتیپ A_1A_2، A_1A_1 و A_2A_2 تشکیل می‌دهند. فراوانی یک ژنوتیپ، نسبتی از افراد با آن ژنوتیپ به کل جامعه است.

	جمع	A_2A_2	A_1A_2	A_1A_1	ژنوتیپ
ماهی تیلاپیا	۱۰۰	۲۰	۵۰	۳۰	تعداد ماهی
	۲۰۰	۰	۵۰	٦۰	تعداد ژن‌های A_1
		٤۰	۵۰	۰	تعداد ژن‌های A_2

[1] - Frequency of genotyper and Genes

مجموع فراوانی‌های ژنتیکی و نیز مجموع ژنها ی یک جمعیت برابر یک می‌باشد. چون هر فرد دارای دو ژن است، بنابراین در یک جمعیت با یکصد ماهی در یک لوکوس ۲۰۰ ژن وجود دارد که در فرد A_1A_1 دو ژن A_1 و در فرد A_1A_2 یک ژن A_1 وجود دارد و در کل جمعیت ۱۱۰ ژن A_1 و ۹۰ ژن A_2 وجود دارد لذا فراوانی یا فرکانس ژن A_1 برابر ۵۵ درصد یا ۰/۵۵ (نسبت به ۱) و فراوانی ژن A_2 برابر ٤٥ درصد و بعبارتی ۰/٤٥ می‌شود. برای بیان قاعده کلی، شرح آن به صورت ذیل است. فرض کنید که فراوانی ژنها و ژنوتیپها بصورت ذیل باشد.

ژنوتیپها[1]			ژنها[2]		
	A_2A_2	A_1A_2	A_1A_1	A_2	A_1
فراوانی	Q	H	P	q	p
فراوانی	(A_2A_2)	(A_1A_2)	$F(A_1A_1)$	$F(A_2)$	$F(A_1)$

مجموع فراونی‌های همه حوادث ممکنه بایستی برابر یک باشد.

$$P+H+Q=1 \qquad F(A_1A_1)+F(A_1A_2)+F(A_2A_2)=1$$

$$p+q=1 \qquad F(A_1)+F(A_2)=1$$

فرمول ۱ $\qquad p=P+1/2H \qquad q=Q+1/2H$

از طریق فرمول ۱ و با استفاده از ژنوتیپ جمعیت فراوانی ژن‌های جمعیت محاسبه می‌شود.
زمانی که اطلاعات ژنوتیپی در مورد فعالیت ژنی غالبیت ناقص در اختیار باشد یا بعبارتی زمانی که هر سه حالت ژنوتیپA_2A_2 ،A_1A_2 ،A_1A_1 از روی فنوتیپ موجود قابل تشخیص باشد، در این حالت از فرمول ذیل نیز برای تعیین فراونی ژنها می‌توان استفاده نمود.

[1] - Genotypes
[2] - Genes

$$f(\text{آلل}) = \frac{(\text{تعداد ماهیانی که‌دارای فنوتیپ هتروزیگوت هستند}) + 2(\text{تعداد ماهیانی که‌دارای فنوتیپ هموزیگوت آلل‌مورد نظرند})}{2(\text{تعداد افراد جمعیت})}$$

مثال ۱: در یکصد ماهی تیلا پیای سیاه (۳۰ عدد)، برنز (۵۰ عدد) و طلایی (۲۰ عدد) می‌باشند. فراوانی ژنی و فنوتیپی را محاسبه نمائید.

A_1A_1	A_1A_2	A_2A_2
P	**H**	**Q**
۳۰	۵۰	۲۰
۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰

فراوانی فنوتیپی **P=0.3, H=0.5, Q=0.2**

روش اول برای تعیین فراوانی ژنی

$$F(p) = \frac{2(30)+50}{200} = 0/55 \qquad F(q) = \frac{2(20)+50}{200} = 0/45$$

روش دوم برای تعیین فراوانی ژنی

$$q = Q + 1/2H = 0/2 + 1/2(0/25) = 0/45$$

$$p = P + 1/2H = 0/30 + 0/25 = 0/55$$

فراوانی ژن در دو جمعیت متوالی ممکن است متفاوت باشد.

۱-۱-٤- عوامل تغییر جمعیت

عوالی فراوانی مانند مهاجرت، انتخاب و موتاسیون ممکن است سبب تغییر جمعیت از نسلی به نسل بعد شوند.

۱-۱-۱-٤- اندازه جمعیت

چون ژن‌هایی که به نسل بعدی منتقل می‌شوند از والدین هستند لذا، اگر اندازه نمونه‌ها کوچک باشد واریانس نمونه گیری زیاد است بنابراین، اندازه جمعیت باید به اندازه‌ای بزرگ باشد تا واریانس نمونه‌برداری آنقدر کوچک شود که قابل اغماض گردد. جمعیت بزرگ معمولاً به جمعیتی اتلاق می‌شود که افراد بالغ آن بیش از صدها فرد باشند. معذالک در کارگاه‌های تکثیر به دلیل مشکلات و هزینه نگهداری، تعداد مولدین را ۳۰ قطعه در نظر می‌گیرند و به همین دلیل در مراکز تکثیر، فراوانی ژنها تابع فراوانی ژن‌های ماهیان تکثیر شده می‌باشد.

۲-۱-۱-٤- تفاوت بین لقاح و درصد باقیماندگی

ژنوتیپ‌های مختلف والدین ممکن است باروری متفاوت داشته باشند که در این صورت مولدین بطور نامتساوی تشکیل خزانه در گامتها شرکت می‌نمایند، بعلاوه، ژنوتیپ تخم‌های تشکیل شده نیز ممکن است قدرت زیست مختلفی داشته باشند.

۳-۱-۱-٤- مهاجرت[1]

مهاجرت افراد از اجتماعی به اجتماع دیگر یا وجود افراد جدید به این اجتماع بسته، سبب تغییر فراوانی ژنها می‌شود.

[1] - Migration

٤-١-١-٤- موتاسیون[1]

سبب تغییر فراوانی ژنی و ژنوتیپی می‌شود مگر اینکه نسبت موتاسیون اتفاق افتاده مساوی موتاسیون نهایی برگشتی باشد.

٥-١-١-٤- سیستم آمیزشی[2]

سیستم آمیزشی ممکن است انتخابی یا بصورت تصادفی باشد.آمیزش تصادفی[3] عبارت است از یک سیستم آمیزشی است که در آن هر فرد دارای شانس مساوی برای آمیزش با فرد دیگر از جنس مخالف می‌باشد. اگر همه تلاقی‌های بین ماهیان به طور تصادفی اتفاق بیفتد، تعادل ژنتیکی در جمعیت حفظ خواهد شد. در بررسی فراوانی ژن و ژنوتیپ در دو جمعیت نوع سیستم آمیزشی نیز مورد بررسی قرار می‌گیرد. شایان ذکر است که تغییرات یک جمعیت طی دوره زمانی «تکامل» نامیده می‌شود. بعبارتی، کلید تکامل، وجود تغییرات است. تکامل همیشه جنبه مفید و مثبت برای موجود زنده ندارد. لذا اگر یک موجود زنده به عوامل محیط‌زیست خود بطور اختصاصی تکامل یافته باشد، ممکن است با کوچکترین تغییرات ایجاد شده از بین برود. در واقع، چهار فرآیند بوجود آورنده تکامل هستند که عبارتند از جهش، انتخاب طبیعی، رانش ژنتیکی و مهاجرت که بطور مختصر به شرح این موارد می‌پردازیم:

الف- جهش یا موتاسیون

جهش به تغییرات جدید و قابل توارث در مواد ژنتیکی اطلاق می‌شود. جهش زمانی رخ می‌دهد که هنگام تقسیم سلولی، در تولید مثل DNA اشتباهی پیش آید که بر اثر آن، در DNA تغییری حاصل شود و خصوصیات توارثی موجود تغییر یابد. جهش یا موتاسیون زمانی صورت می‌گیرد که تغییرات پایداری در سلول بوجود آید. این تغییرات ممکن است بوسیله پدیده‌های طبیعی مانند پرتوهای کیهانی ایجاد شود. سایر عوامل خارجی مانند ترکیبات سمی یا پرتوهای رادیو اکتیو مثل یا اشعه

---

[1] - Mutation
[2] - Mating system
[3] - panmetic

ایکس یا گاما در ساختار DNA تغییراتی ایجاد می‌کند. موادی که قابلیت تولید جهش را دارند «عوامل جهش‌زا» نامیده می‌شوند.

ب- انتخاب طبیعی

موتاسیون ممکن است سبب ایجاد نغییرات ژنتیکی و بوجود آورنده گونه متفاوت و جدید گردد اما سازگاری آن گونه با محیط ممکن است متفاوت باشند و بعضی افراد با محیط سازگاری بیشتری از خود نشان می‌دهند. اینگونه افرادی که ویژگی‌های زیستی آنها با محیط بهتر منطبق می‌شوند، بازدهی بهتری از لحاظ رشد، بقا و تولید مثل از خود نشان داده و نمایشگر انتخاب طبیعی می‌باشند. در واقع، انتخاب طبیعی فرآیندی است که طی آن، ژن‌های مضر و معیوب از ذخیره ژنی حذف شده و ژن‌های مفید باقی مانده و به نسل‌های آینده منتقل می‌شوند.

ج- رانش ژنتیکی

تغییراتی که به دلیل تصادفی در ژن‌های یک جمعیت رخ داده سبب بروز گروه کوچک در آن جمعیت گردیده که خصوصیات ژنتیکی متفاوتی را خواهند داشت. رانش ژنتیکی ممکن است افرادی از یک جمعیت کوچک را بوجود آورد که سازگاری بهتری با محیط نداشته باشند و در واقع سازگاری آنها کمتر از بقیه باشد.

د- مهاجرت

جابجائی‌های موقتی یا دائمی موجودات زنده در فواصل بلندمدت را مهاجرت می‌نامند. مهاجرت یک جمعیت به قلمرو جمعیت دیگر ممکن است منجر به تغییرات فراوانی ژن‌های آن جمعیت گردد. مهاجرت ممکن است به منظور بدست آوردن غذا و تولید مثل باشد یا ممکن است در پاسخگویی به تغییرات نامناسب محیطی صورت گیرد که معمولا ماهی محیط‌زیست خود را ترک کرده و هرگز به آن باز نمی‌گردد. مهاجرت ها ساختار جوامع را دگرگون و عاملی برای تکامل در صورت سازگاری یا انقراض کامل گونه می‌گردد. در حالت سازش معمولا گونه در قبال محیط و زیستگاه غیر عادی تخصصی و بصورت ویژه عمل می‌نماید که برای مثال می‌توان به سازگاری بسیاری از انواع ماهی

کپور در شرایط غیر متعارف اشاره نمود (کمبود اکسیژن، تحمل سرما در مناطق سردسیر شوروی و تحمل گرما در استوا). از سوی دیگر، انقراض هنگامی اتفاق می‌افتد که شرایط محیطی تغییر نماید و گونه نتواند شرایط جدید را تحمل نموده و خود را سازگار نماید. انقراض معمولا در گونه هائی اتفاق می‌افتد که دامنه بردباری اندکی نسبت به عوامل محیطی دارند.

۲-٤- قانون هاردی - واینبرگ[1]

در یک جمعیت بزرگ با آمیزش تصادفی در غیاب نیروهایی که فراوانی ژنها را تغییر می‌دهند (موتاسیون، مهاجرت و انتخاب)، فراوانی ژنها و ژنوتیپ‌ها از نسلی به نسل دیگر ثابت باقی می‌ماند. وقتی که فراوانی ژنها و ژنوتیپ‌ها ثابت باقی بماند، جمعیت را در حال تعادل[2] گویند. شرایط تعادل همانطور که اشاره شد زمانی است که جمعیت بزرگ باشد و آمیزش تصادفی بوده، انتخاب صورت نگیرد. شرط دیگر این است که ژنها در معرض تشکیل گامت و ایجاد نتایج بطور نرمال و طبیعی تفکیک شوند. عواملی که در این امر موثرند شامل:

الف- جدا شدن طبیعی ژنها

ب- باروری یکسان والدین

ج- قدرت باروری یکسان گامتها

د- فراوانی یکسان ژن در نر و ماده

ه- درصد بازماندگی یکسان

بین فراوانی ژنها و ژنوتیپها رابطه‌ای وجود دارد زیرا تحت شرایط قانون بین H.W ، ژنها بصورت تصادفی جفت می‌شوند. وقتی آمیزش افراد یک جامعه بزرگ بصورت تصادفی باشد، احتمال ترکیب هر گامت نر (A_1 یا A_2) با هر گامت ماده (A_1 یا A_2) مساوی است. فراوانی یا بعبارتی احتمال بیرون کشیدن فرد pp از یک جمعیت بطور تصادفی برابر F(pp) می‌باشد. همینطور احتمال بیرون کشیدن تصادفی یک گامت حامل ژن P از خزانه گامتها برابر F(p) می‌باشد. برابر بودن فراونیها و

[1] - Hardy-Weinberg
[2] - Equilibrium

احتمالات وقتی که می‌خواهیم شانس آمیزش بین دو فرد با ژنوتیپ مشخص را تعیین کنیم، این امکان را می‌دهد تا از طریق جدول ذیل پیش‌بینی احتمالی ترکیبات مختلف سلول‌های تناسلی انجام گیرد.

♂

♀ گامتها	p A_1	Q A_2
p A_1	p^2 A_1A_1	pq A_1A_2
q A_2	pq A_1A_2	q^2 A_2A_2

چون مجموع گامتها برابر ۱۰۰ است بنابراین p+q =۱ لذا در نسل بعد فراوانی ژنوتیها به شکل ذیل خلاصه می‌شود:

مجموع گامت‌های نر و ماده $(p+q)^2=p^2+2pq+q^2$

به این ترتیب p^2 فراوانی ژنوتیپی افرادی هستند که در نسل بعد بصورت خالص بارز دیده می‌شود. q^2 فراوانی ژنوتیپی افراد خالص نهفته و 2pq فراوانی ژنوتیپی افراد ناخالص یا حامل می‌باشند.

۱-۲-٤- اثبات قانون هاردی – واینبرگ

برای اثبات قانون هاردی- واینبرگ چهار مرحله را در نظر می‌گیریم که یک چرخه بسته از گامت به گامت را شامل می‌شود:

۱-۱-۲-٤- فراوانی ژن والدین به فراوانی ژن گامت ها

همانطور که قبلاً اشاره شد اگر فرض کنیم فراوانی ژن و ژنوتیپی بصورت (q,p) و (P,H,Q) باشد، چون جمعیت در لوکوس A تنها دارای دو گامت A_1 و A_2 است لذا افراد A_1A_1 فقط گامت A_1 را تولید می‌کنند و افراد A_2A_2 به شرط اینکه تفکیک ژنی عادی باشد به تعداد مساوی از گامت‌های A_1

و A_2 تولید می‌کند. لذا فراوانی ژنی A_1 جامعه برای نسل دوم P+1/2H می‌شود که معادل همان میزان فرمول۱ می‌شود که برای والدین قبلاً ارائه شده است.

۲-۱-۲-٤- فراوانی ژن گامتها به فراوانی‌های ژنوتیپی تخم‌ها (زیگوت)

در صورتی که فراوانی ژن را در دو نسل متوالی داشته باشیم ثابت ماندن فراوانی ژنها و ژنوتیپها را می‌توان به اسانی از نسلی به نسل دیگر نشان داد. آمیزش تصادفی بین افراد، مساوی اتحاد تصادفی بین گامت‌های آنهاست بنابراین، فراوانی ژنوتیپی در تخمها (زیگوت) محصول فراوانی‌های گامت‌هایی است که برای ایجاد آن با هم متحد شده‌اند.

فراوانی آلل A_1، در خزانه گامت‌های نر و ماده برابر است با p و آللA_2 برابر است با q، اتحاد این گامتها تصادفی می‌باشد. فراوانی زیگوت‌های حاصل از P (اتحاد دو گامت) برابر چهار نوع ترکیب به شرح ذیل می‌باشد.

اتحاد گامتها (p)	فراوانی گامتها		گامت	
	ماده	نر	ماده	نر
P^2	P	P	A_1	A_1
Pq	p	q	A_1	A_2
Pq	q	p	A_2	A_1
q^2	q	Q	A_2	A_2

بنابراین در نتایج $F(A_1 A_1)=p^2$، $F(A_1A_2) = pq+pq=2pq$ و $F(A_2 A_2)=q^2$ که میزان این فراوانیها مشابه میزان آن در جمعیت مادر است، فراوانی ژنها نیز مشابه می‌باشد.

$$F(A_1)=F(A_1 A_1)+ 1/2F(A_1A_2)=p^2+pq$$

اگر از p فاکتور بگیریم خواهیم داشت $p(p +q)$

نظر به اینکه $p+q=1$ پس: $f(A_1)=p$ و

$F(A_2)=F(A_1 A_2)+ 1/2F(A_2A_2)$

$F(A_2)= pq + q^2= q(p+q) = q$

در یک جمعیت در حال تعادل H.W، از رابطه بین فراوانی ژنها و ژنوتیپ‌ها می‌توان برای تخمین فراوانی ژنها استفاده کرد. فراوانی A_2 را می‌توان با استفاده از فرمول $\sqrt{F(A_2A_1)}$ تخمین زد و بنابراین فراوانی A_1 عبارت خواهد بود از $1\text{-}F(A_2)$.

۳-۱-۲-٤- تخم‌های ماهیان به بالغین

چون فرض نمودیم که زیگوت‌های تشکیل شده جدید دارای قدرت زیست یکسان می‌باشند لذا، فراوانی ژنوتیپی در زیگوتها، جمعیتی را بوجود می‌آورند که برای فراوانی‌های H.W است.

٤-۱-۲-٤- از فراوانی ژنوتیپی به فراوانی ژن در نتاج

اگر ژنوتیپ‌های مختلف در نسل دوم توانسته باشد مراحل فوق را طی نماید و بخوبی زنده بمانند و قانون H.W در مورد آن صادق باشد، در این زمان که خود مولد گشته‌اند در فرزندان آنان نیز فراوانی بصورت فوق خواهد بود. فراوانی ژن نتاج نیز از همان رابطه (۱) بدست می‌آید.

فراوانی A_1 برابر $p^2 + ½ (2pq)=p(p+q)=p$ می‌شود که مساوی نسل والدین است. این رابطه ثابت ماندن فراوانی ژن را از یک نسل به نسل دیگر ثابت می‌کند.

رابطه بین فراوانی ژن و ژنوتیپ در یک اجتماع در تعادل H.W در تصویر۱-۵ نشان داده شده است. منحنی فراوانی ژنوتیپی دو جنبه مهم را نشان می‌دهد: اول آنکه والدین حداکثر موقعی اتفاق می‌افتد که فراوانی ژنها مساوی $p=q=0/5$ باشد. دوم اینکه فراوانی یک آلل کم باشد در حالت هموزیگوت نیز میزان آن کم است ولی بیشتر درحالت هتروزیگوت بروز می‌کند.

۳-٤- کاربردهای قانون هاردی – واینبرگ

از قانون هاردی – واینبرگ می‌توان استفاده نمود و از طریق ژنوتیپ جمعیت به فراوانی ژنی جمعیت پی برد.

اگر فراوانی هر سه ژنوتیپ را داشته باشیم، از فرمول ۱ استفاده می‌شود ولی برای حالت غالبیت کامل همانطور که گفته شد با جذر فراوانی هموزیگوت مغلوب میزان q را بدست می‌آوریم و سپس p را محاسبه نمود.

مثال – در یک جمعیت از ماهیان تیلاپیا ٦٤ قطعه سیاه و ٣٦ قطعه زرد رنگ بودند. اگر جمعیت در حال تعادل باشد و نیز غالبیت کامل باشد میزان q را تخمین بزنید.

A_1A_2=٦٤ سیاه رنگ A_1A_1

=٣٦ زرد رنگ A_1A_2

$$q=\sqrt{F(A_2A_2)}=\sqrt{\frac{36}{10}}=0/36 \qquad p=1-q=1-0/6=0/4$$

همانطور که از شکل ۱ نتیجه‌گیری شد در صورتیکه جمعیت دارای ژن‌های مضر و نادر باشد، بروز آن را در هتروزیگوت‌ها که به آن حامل گویند، لازم است ردیابی نمود. در تعادل H.W فراوانی هتروزیگوت در جامعه از فرمول 2pq=2q(1-q) بدست می‌آید حال اگر بخواهیم میزان هتروزیگوت رادر جمعیت نرمال بدانیم، می‌باید میزان هتروزیگوت را به کل جامعه سالم و هتروزیگوت تقسیم کنیم که فرمول ذیل حاصل می‌شود:

$$H'=\frac{2q(1-q)}{(1-q)^2+2q(1-q)}=\frac{2q}{1=q}$$

مثال – فراوانی هموزیگوت رنگ مغلوب در ۵۰۰ ماهی برابر است با ۲×۱۰^{-۲}، میزان هتروزیگوت را در حالت و شرایط غالبیت کامل محاسبه نمائید.

$$q=\sqrt{2\times10^{-2}}=0/14 \qquad p=q=1$$

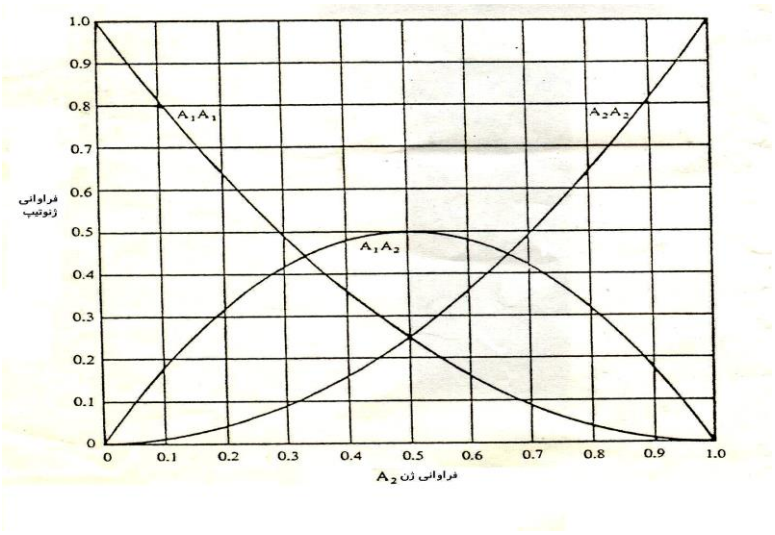
$$2pq=2(1-q)p=2(1-014)0/14=0/2408$$

تقریباً ۲۵ درصد افراد تروزیگوت حامل ژن مغلوب می‌باشند.

علت بیشتر بودن حالت نهفته هتروزیگوت از (تصویر ۱-٤) رابطه فراوانی ژنی و ژنوتیپ در یک جمعیت هاردی واینبرگ مشخص است.

در صورت در دسترس بودن ژنوتیپ‌های یک جمعیت، فراوانی ژنوتیپها را می‌توان برای توافق با یک اجتماع در تعادل H.W آزمایش کرد. در یک جمعیت در حال تعادل فراوانی ژن و ژنوتیپ در نتاج باید با والدین یکسان باشد.

مثال – فراوانی گروه خونی MN در جدول ذیل آورده شده است و می‌خواهیم بدانیم جمعیت در حالت تعادل است یا خیر؟



تصویر ۱-٤- رابطه بین فراوانی ژن و ژنوتیپ برای دو آلل در یک جمعیت در حال تعادل هاردی-واینبرگ

فرکانس‌های ژن			ژنوتیپها			
N	M	کل	NN	MN	MM	
		۳۷۷	۵۹	۱۸۵	۱۳۳	تعداد مشاهده شده
		۳۷۷	٦۹/۳۸	۱٦٦/۲٦	۲٤۲/۳٦	تعداد مورد انتظار

برای حل مسئله ابتدا از فرمول ۱ فراوانی ژنی را تعیین می‌کنیم و از آن ژنوتیپ نتاج را محاسبه می‌کنیم که تعداد مورد انتظار ما می باشد و سپس با تست کای (X^2) دو جمعیت را با هم مقایسه می‌کنیم. در حالتیکه جمعیت در حال تعادل نباشد، با X^2 می‌توان تفاوت را تشخیص داد ولی نمی‌توان به علت اختلاف پی برد. نکته دیگر اینکه اگر در نسل دوم شرایط H.W اجرا شود، جمعیت پس از یک آمیزش تصادفی به حالت تعادل می‌رسد.

مثال – در یک جمعیت از ماهیان تیلاپیا فراوانی ژنوتیپ رنگ طلایی مشاهده نشد. در حالیکه رنگ سیاه ۰/٦ و رنگ برنز ۰/٤ بوده است آیا جمعیت در حال تعادل است؟

p=p+۱/۲ H= ۰/٦+۰/۲=۰/۸

q=1-۰/۸=۰/۲

$q=A_2$=۰/۲ $p=A_1$=۰/۸

	A_1	A_2
A_1	۰/٦٤	۰/۱٦
A_2	۰/۱٦	۰/۰٤

P=۰/٦٤ H=۰/۳۲Q=۰/۰٤

با این ترتیب پس از یک تلاقی جمعیت به حال تعادل می‌رسد (چون فراوانی ژنی در اثر تلاقی تغییر کرد جمعیت در حال تعادل نبود ولی حالا با میزان فراوانی ژنوتیپ رنگ سیاه ۰/٦٤ورنگبرنز ۰/۳۲ جمعیت در حال تعادل است.)

p=p+۱/۲H=۰/٦٤+۰/۱٦=۰/۸

q=۰/۲

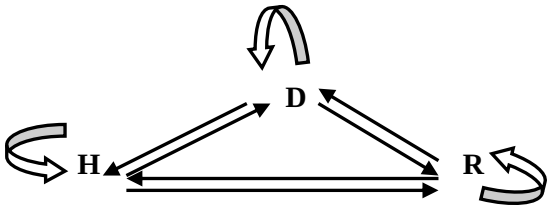
٤-٤- بررسی قانون هاردی – واینبرگ با روش تلاقی ژنوتیپ‌های متفاوت

در ابتدا فراوانی تمام امکان تلاقی را براساس ژنوتیپ بین والدین بدست می‌آوریم و سپس فراوانی ژنوتیپ‌ها را در بین فرزندان بدست می‌آوریم. در این بررسی یک لوکوس با دو آلل A_1 و A_2 و فراوانی ژن و ژنوتیپ والدین مانند قبل می باشد.

ژن	
A_1	A_2
p	q

ژنوتیپ		
$A_1 A_1$	$A_1 A_2$	$A_2 A_2$
D	H	R

درمجموع ۹حالت تلاقی امکان دارد اتفاق بیافتد.



با توجه به این که تلاقی‌ها تصادفی است، تمام حالات ممکن در جدول ذیل ارائه شده است.

ژنوتیپ ها و فراوانی والدین ماده

		♂ / ♀	$A_1 A_1$	A_1A_2	$A_2 A_2$
			D	H	R
ژنوتیپ و فراوانی والدین نر	$A_1 A_1$	D	D^2	DH	DR
	$A_1 A_2$	H	HD	H^2	HR
	$A_2 A_2$	R	RD	RH	R^2

تلاقی ماهیان مختلف شامل شش حالت تلاقی می‌باشد و با جمع فراوانی‌های تیپ‌های مشابه، فراوانی انواع تلاقی در جدول ۱-٤ خلاصه می‌شود.

جدول ۱-٤- تلاقی بین ژنوتیپ ها مختلف و نتایج آن در فرزندان

تلاقی			ژنوتیپ و فراوانی فرزندان		
نوع	فراوانی		A_1A_1	A_1A_2	A_2A_2
$A_1A_1 \times A_1A_1$	D^2		D^2		
$A_1A_1 \times A_1A_2$	2DH		DH	DH	
$A_1A_1 \times A_1A_2$	2DR			2DR	
$A_1A_1 \times A_1A_2$	H^2		$1/4H^2$	$1/4H^2$	$1/4H^2$
$A_1A_2 \times A_2A_2$	2HR			HR	HR
$A_2A_2 \times A_2A_2$	R^2				R^2
جمع			$(D+1/2H)^2$	$2(D+1/2H)(R+1/2H)$	$(D+1/2H)^2$

جمع ژنوتیپ‌های حاصل از تلاقی با توجه به رابطه ۱ مساوی با $p^2, 2pq, q^2$ می‌باشند که برابر فراوانی‌های معادله H.W می‌باشند و نشان داده شد که پس از یک نسل آمیزش تصادفی، صرف نظر از فراوانی ژنوتیپی والدین، جمعیت به حال تعادل می‌رسد.

۱-٤-٤- برآورد فراوانی ژن در وارثت دو صفتی

جهت تعیین فراوانی ژن برای دو صفت، هر صفت را جداگانه مورد توجه قرار می‌دهیم.

مثال برای وراثت دو صفتی:

در مجموعه‌ای از ماهیان یک مزرعه که فنوتیپ صفت رنگ خاکستری G، طلایی g، شکل دم ماهی طبیعی B و خمیده b براساس نسبت‌های مندلی: ۹:۳:۳:۱ شمارش شده به شرح زیر است.

دم Bb رنگ Gg	تعداد	فنوتیپ
ژن B طبیعی	۸۳۱٦	خاکستری با دم طبیعی
ژن b خمیدگی	۸٤	خاکستری با دم خمیده
ژن G رنگ خاکستری	۱۵۸٤	طلایی با دم طبیعی
ژن g رنگ طلائی	۱٦	طلایی با دم خمیده

ابتدا فراوانی ژن رنگ بدن ماهی محاسبه می‌گردد.

فنوتیپ رنگ خاکستری ۸۳۱۶+۸٤=۸٤۰۰

فنوتیپ رنگ طلایی ۱۵۸٤+۱٦=۱٦۰۰

با توجه به فراوانی ژنوتیپ مغلوب فراوانی ژن مغلوب را بدست آورده و سپس ژن دوم را از کل کسر محاسبه می‌نمائیم.

ژن رنگ خاکستری $q = \sqrt{q^2} = \sqrt{\frac{1600}{10000}} = 0/4$ **۱-۰/٤ = ۰/٦**

سپس فراوانی ژن شکل دم ماهی محاسبه می‌شود.

فنوتیپ مهره طبیعی ۸۳۱٦+۱۵۸٤=۹۹۰۰

فنوتیپ مهره خمیده ۸٤+۱٦=۱۰۰

ژن مهره طبیعی ۰/۹=۰/۱-۱ **ژن مهره خمیده** $q = \sqrt{q^2} = \sqrt{\frac{100}{10000}} = 0/1$

۲-٤-٤- برآورد فراوانی ژن در همکاری اپیستازی[1] برای وراثت

در یک گروه از ماهیان کپور پرورشی فنوتیپ‌های جدول ذیل مشاهده شد:

فلسدار	SSnn, Ssnn	۱۳۷۰
آینه‌ای	ssnn	۲۵۰
خطی	SSNn, SsNn	۳۱۰
چرمی	ssNn	۷۰

فراوانی هر یک از دو ژن S و N در مجموعه ماهیان فوق چقدر است؟

ابتدا فراوانی ژن S را محاسبه می‌کنیم.

[1] - Epistssis interaction

۱۶۸۰ = ۳۱۰ + ۱۳۷۰ مجموع فنوتیپ حاوی ژن S

۳۲۰ + ۷۰ + ۲۵۰ مجموع فنوتیپ ژن ss

$$F(s)=\sqrt{\frac{320}{20000}}$$ **F(s) = ۱ − ۰/٤ = ۰/٦**

چون ژن NN اثر کشنده دارد بنابراین در این جمعیت ژنوتیپ آنرا نداریم لذا، فراوانی ژن N از روی ژن مغلوب محاسبه می‌شود.

۱۶۲۰ = ۲۵۰ + ۱۳۷۰ = مجموع فنوتیپ ژن nn

$$F(n)=\sqrt{\frac{1620}{2000}}=0/9\Rightarrow F(N)=1-0/9=0/1$$

۳-٤-٤- برآورد فراوانی ژن در لوکوس چند آللی

همانطور که قبلاً اشاره شد در برخی از لوکوس ها ممکن است بیش از دو آلل وجود داشته باشد. برای بررسی قانون تعادل در اینگونه موارد، دو آلل آن لوکوس مورد بررسی قرار گرفته و سپس آلل سوم و چهارم ارزیابی می‌گردد. بعبارتی هر آلل به نوبه خود در مقابل جمع بقیه به عنوان آلل دوم مورد بررسی قرار می‌گیرد. تعیین فراوانی ژنی در حالت سه اللی در مثال ذیل آورده شده است.

مثال – گروه خونی در انسان توسط یک سری ژن‌های آللی تعیین می‌گردد که توسط ترکیب سه آلل B, O و A نشان داده می‌شوند. اگر فراوانی O, B, A را به ترتیب r,q,p در نظر بگیریم بطوریکه p+q+r=1 باشد در مثال جمعیت ذیل می‌خواهیم فراوانی هر یک از ژنها را محاسبه نمائیم.

گروه خونی	ژنوتیپ	فراوانی مورد انتظار	فراوانی مشاهده شده
A	**A +AO**	$\mathbf{p^2+2pr}$	۵۰
B	**BB+BO**	$\mathbf{q^2+qr}$	۱۳
O	**OO**	$\mathbf{r^2}$	۳۰
AB	**AB**	**2pq**	۷

برای حل مسئله ابتدا فراوانی ژن O را محاسبه می‌کنیم و سپس فراوانی ژن B و A را بدست می‌آوریم.

فراوانی ژن O:

$$\text{ژن } \mathbf{O} = \sqrt{O} = \sqrt{\frac{30}{100}} = 0.547$$

چون جمع فراوانی‌های گروه B و O برابر است با

$$q^2 + 2qr + r^2 = (q+r)^2 = (1-p)^2$$

بنابراین فراوانی ژن ۸ برابر است با: $p = 1 - \sqrt{(B+O)}$

(B و O فراوانی‌های گروه B و O هستند)

فراوانی ژن A:

$$p = 1 - \sqrt{\frac{13}{100} + \frac{30}{100}} = 1 - 0/65 = 0/345$$

فراوانی ژن B:

$$q = 1 - \sqrt{(A+O)}$$

$$q = 1 - \sqrt{\frac{50}{100} + \frac{30}{100}} = 1 - 0/894 = 0/106$$

مجموع فراوانی ژن‌های A ، B و O

$$A + B + O = 0/106 + 0/345 + 0/547 = 0/998$$

٤-٤-٤- برآورد فراوانی ژن‌های وابسته به جنس

سه حالت در این خصوص وجود دارد که به شرح ذیل مورد بررسی قرار گرفته است :

۱-٤-٤-٤- ژن‌های وابسته به X

در مورد ژن‌های وابسته به جنس ماده (x) فراوانی ژن و ژنوتیپ در جنس ماده (هموگامت) به مانند یک ژن اتوزومی است و می‌تواند سه نوع ژنوتیپ داشته باشد ولی در جنس نر (هتروگامت) فقط دو نوع ژنوتیپ دارد زیرا هر فرد ماهی نر در هر گامت فقط یک کروموزوم Y یا کروموزوم x را انتقال می‌دهد. لذا دو سوم ژن‌های وابسته به جنس در اجتماع توسط جنس هموگامت (ماده) و یک سوم توسط هتروگامت (نر) است. فراوانی ژن و ژنوتیپ در دو جنس به شرح ذیل است:

	F(ماده‌ها)		m (نرها)		
ژنوتیپ	$A_1 A_1$	$A_1 A_2$	$A_2 A_2$	A_1	A_2
فراوانی	P	H	Q	R	S

فراوانی A_1 در ماده‌ها $p_f=p+1/2H$

فرکانس A_1 در نرها $p_m=R$

فرکانس A_1 در جامعه $\overline{P} = 2/3p_f + 1/3p_m$

$$\overline{P} = 2/3(P + 1/2H) + 1/3R \Rightarrow \overline{P} = 1/3(2P + H + R)$$

اگر در فراوانی ژنها تغییر ایجاد نشود، جمعیت در حال تعادل باقی می‌ماند ولی در صورت تغییر، جمعیت سعی خواهد کرد خود را به حال تعادل برساند. همانطور که در بخش مربوط به ژن‌های اتوزو می‌دیدیم. در اینجا چون نرها، وابسته به جنسX خود را فقط از مادر می‌گیرند لذا P_m مساوی P_f نسل قبل است ولی ماده‌ها از هر دو والد دریافت می‌کنند لذا P_f آنها مساوی متوسط P_f و P_m والدین آنهاست. اگر فراوانی ژن والدین را با پریم نشان دهیم، خواهیم داشت:

$P'_m=Pf$

$P'_f=1/2(P_m+P_f)$

تفاوت فراوانی دو ژن

$$P'_f - P'_m = 1/2 (P_m + P_f) – P_f = 1/2 (P_f-P_m)$$

بعبارتی، نصف نسل والدین آنها ولی در جهت مخالف می‌شود. بنابراین تفاوت ژنها طی نسل‌های متوالی نصف شده و جمعیت به حالت تعادل می‌رسد.

در حالت ژن‌های وابسته به جنس مانند ژن‌های اتوزومی، تعیین فراوانی آللهای وابسته به جنس نیز در برنامه‌های اصلاح نژاد مهم هستند ولی محاسبه آن با صفات اتوزومی فرق می‌کند.

۲-٤-٤-٤- ژن‌های وابسته به Y

در مورد ژن‌های وابسته به جنس نر، فراوانی آلل را می‌توان از فرمول ذیل محاسبه کرد.

$$f\ (\text{آلل وابسته به } y) = \frac{\text{تعداد نرهای دارای صفت وابسته به } y}{\text{تعداد کل نرها}}$$

مثال – در یک نوع ماهی آکواریومی نتایج ذیل بدست آمده است. میزان فراوانی ژن وابسته به Y_{ma} را محاسبه فرمائید.

تعداد	ژنوتیپ	فنوتیپ
۱٦۵۰	XX	ماده خاکستری
۳٤۰	XY_{ma}	نر لکه‌دار
۵۱۰	XY	نر خاکستری

$$F(y_{ma}) = \frac{340}{850} = 4/0$$
$$F(y) = 1 - 0/4 = 0/6$$

۳-٤-٤-٤- ژن‌های وابسته به جنس ماده

در این حالت ۵ ژنوتیپ و ٤ فنوتیپ وجود دارد،لذا برای تعیین ژن‌های متفاوت X و Y از فرمول‌های ذیل استفاده می‌شود:

۱) f (آلل نهفته وابسته به X در نر) = تعداد نرهای دارای آلل وابسته به X / تعداد کل نر

۲) f (آلل بارز وابسته به X در نر) = تعداد نر دارای فنوتیپ بارز وابسته به X / تعداد کل نر

۳) f (آلل نهفته وابسته به X در ماده) = ماهیان ماده داریا صفات نهفته وابسته به X / تعداد کل ماهیان ماده

٤) f (آلل نهفته وابسته به X در ماده‌ها) 1-f = (آلل بارز وابسته به X در ماده)

۵) f (تعداد وابسته به X بصورت کلی) = [(آلل نر) f] + [(آلل ماده)f] (تعداد ماده) ۲ / تعداد نر + (تعداد ماده)۲

مثال – فنوتیپ یک گروه از ماهیان زینتی بر اساس جدول ذیل بوده است. فراوانی آلل‌های X و Xni را محاسبه فرمائید.

تعداد	ژنوتیپ	فنوتیپ
۲۰۰	$X_{hi}y$	نر دم سیاه
۳۰۰	XY	نر دم خاکستری
٥٤٦	$X_{hi}X_{hi}$	ماده دم سیاه
٥٤	XX	ماده خاکستری

۱) فراوانی آلل نهفته وابسته به X در جنس نر

♂ × نهفته $f(x)=\frac{300}{500}=0/6$

f (خاکستری) $=1-0/4=0/6$

۲) فراوانی آل بارز وابسته به X در جنس نر

$$X_{hi}\ ♂\ \ f(X_{hi}) = \frac{200}{500} = 0/1$$

۳) آلل نهفته وابسته به X در ماده

$$♀ \times \text{نهفته}\ \ f(X) = \sqrt{\frac{54}{600}} = 0/3$$

٤) آلل بارز وابسته به X در ماده

$$♀\ X_{hi}\ \text{بارز}\ \ f(X_{hi}) = 1 - 0/3 = 0/7$$

۵) فراوانی آلل X و Xhi در جمعیت

$$\text{فراوانی آلل X غالب}\ \ f(X_{hi}\ \text{کل}) = \frac{2\times 600(0/7) + 500(0/4)}{2\times 600 + 500} = 0/6118$$

$$\text{فراوانی آلل X غالب}\qquad f(X) = \frac{2\times 600(0/3) + 500(0/6)}{2\times 600 + 500} = 0/3882$$

فراوانی X در نر و ماده

	نر	ماده	کل
$F(X_{hi})$	۰/٤	۰/۷	۰/٦۱۱۸
F(X)	۰/٦	۰/۳	۰/۳۸۸۱
کل	۱	۱	۱

٥-٤- عوامل تغییر و محاسبه میزان آن در فراوانی ژن

همانطور که دیدیم مهاجرت، موتاسیون، انتخاب عواملی بودند که علاوه بر بزرگی جمعیت و تلاقی تصادفی در تعادل و ثبات خصوصیات ژنتیکی جامعه نقش داشتند که در ذیل به بررسی آنها می‌پردازیم.

١-٥-٤-مهاجرت

اگر یک اجتماع بزرگ از ماهیان در هر نسل به میزان m مهاجرت داشته باشد، از کل جامعه میـزان 1-m آن ماهیان بومی از جامعه خواهند بود. اگر فراوانی ژنی از ماهیان مهاجر qm و فرکـانس در ماهیـان بومی را $\mathbf{q_0}$ و فراوانی جمعیت در اجتماع کل را q1 به نامیم. میزان‌فراوانـی جمعیـت از فرمـول ذیـل محاسبه می‌شود.

$q_1 = mq_m + (1-m)\ \mathbf{q_0}$

$q_1 = m(q_m - q_0) + \mathbf{q_0}$

تغییر فراوانی ژن (Δq) حاصل یک نسل مهاجرت برابر تفاضل فراوانی قبل و بعد از مهاجرت خواهد بود.

$$\Delta q = q_1 - q_0$$
$$= m(q_m - q_0)$$

و بعبارتی میزان تغییرات ژن در یک اجتماع در معرض مهاجرت به میزان مهاجرت و تفاوت فراوانی ژن بین مهاجرین و ماهیان بومی بستگی دارد.

٢-٥-٤- جهش

در کل دو نوع جهش وجود دارد: جهش اتفاقی و جهش مکرر.در جهش اتفاقی که خیلی نادر بوقوع می‌پیوندد، اگر آن در یک جامعه بزرگ بسیار کم و قابل اغماض می‌باشد. در جهش مکرر ژن از حالت بومی به حالت موتاسیون یافته در حال تغییر است. اگر ژن A_1 به میزان u فراوانی در هر نسل به A_2 موتاسیون یافته یا جهش کند. لذا به میزان UP_0 (A_1 فراوانی P_0)از فراوانی A_1 کم شده به $\mathbf{q_0}$

اضافه می‌شود و اگر جهش در سطح ژن در هر دو جهت باشد و کاهش معادل $v\ \mathbf{q_0}$ بر اثر جهش در جهت مخالف داشته باشیم لذا، تغییر فرکانس ژن در یک نسل برابر $\Delta q = up_0 - vq_0$ می‌شود. در واقع، پس از مدتی فراوانی ژن به تعادل می‌رسد. نقطعه تعادل را با قرار دادن Δq برابر صفر می‌توان یافت لذا:

$$\Delta q = up_0 - vq_0 = 0 \Rightarrow q = \frac{u}{u+v}$$

همانطور که اشاره شد میزان جهش در یک جامعه بسیار کم است و لذا تغییرات خیلی کمی را در فراوانی ژن ایجاد می‌کند.

۳-۵-٤- انتخاب

در طبیعت یا در مزارع تکثیر ماهی ممکن است تمام افراد بطور مساوی شانس شرکت در نسل بعد را نداشته باشند. به فرض ممکن است افراد از نظر باروری با هم تفاوت داشته باشند یا افراد ضعیف با دخالت بشر از جمعیت حذف شوند. شرکت نسبی نتاج در نسل بعدی را «شایستگی»[1] فرد با ارزش سازگاری[2] با ارزش انتخابی[3] می‌گویند. در بحث انتخاب چون عموماً حذف یک ژن به نفع ژن دیگر تمام می‌شود لذا وضعیت دو ژن نسبت به هم حائز اهمیت است که متعاقباً نسبت به آن بحث خواهد شد.

٦-٤- بهگزینی صفات کیفی

اصلاح نژاد یکی از اهداف علم ژنتیک است. توسط بهگزینی، نژاد برتر را حفظ و تقویت نموده تا توان تولید را بالا ببریم. هدف از بهگزینی تغییر در فراوانی، تنها در جهت مطلوب است. تغییر فراوانی ژن به میزان و قدرت انتخاب بستگی دارد. قدرت انتخاب به صورت ضریب انتخاب[4] S بیان می‌شود و عبارت است از: کاهش نسبی یک ژنوتیپ خاص در مرحله گامتی در مقایسه با ژنوتیپ استاندارد یا مطلوب‌ترین ژنوتیپ. اگر A_2A_2 ژنوتیپ مغلوب باشد به میزان S ضریب بهگزینی بر ضد آن عمل

[1] - Fitness
[2] - Adaptive value
[3] - Selective value
[4] - Coefficient of selection

می‌کنیم. حاصلضرب فراوانی اولیه در شایستگی، فراوانی هر ژنوتیپ را نشان می‌دهد که به صورت شرکت گامتی نوشته شده تا عملکرد انتخاب در تمام دوران حیات در نظر گرفته شده باشد. شرکت ژنوتیپ مطلوب برابر ۱ و شرکت ژنوتیپی که انتخاب خلاف آن است، S-۱ در نظر گرفته می شود. این شایستگی یک ژنوتیپ را در مقایسه با ژنوتیپ دیگر بیان می‌کند.

۱-٦-٤- تغییر در فراوانی ژن بر اثر انتخاب

اگر A_2A_2 ژنوتیپ مغلوب و S ضریب انتخابی خلاف آن باشد، خواهیم داشت:

	ژنوتیپ			جمع
	A_1A_1	A_1A_2	A_2A_2	
فراوانی اولیه	P^2	2pq	q^2	1
ضریب انتخاب	0	0	S	
شایستگی	1	1	1-S	
شرکت گامتها	P^2	2pq	q^2(pq)	$1-sq^2$

با انتخاب خلاف هموزیگوت مغلوب، شاهد تغییر در فراوانی ژن تغییر یافته در نسل بعدی خواهیم بود میزان این تغییر با استفاده از جدول فوق و رابطه ۱-۱ بدست می‌آید.

$$q = Q + 1/2H$$

$$q_1 = \frac{q^2(1-s)+pq}{1-sq^2} \Rightarrow p = 1-q \Rightarrow q_1 = \frac{q-2q^2}{1-sq^2}$$

$$\Delta q = q_1 - q \Rightarrow \Delta q = \frac{-sq^2(1-q)}{1-sq^2}$$

بعبارتی اثر انتخاب بر فراوانی ژن، به شدت انتخاب (S) و به فراوانی اولیه ژن (q) بستگی دارد، میزان Δq ارائه شده در فرمول فوق مربوط به حالت غلبه کامل است، برای سایر حالات از جدول ۱-٤ می‌توان میزان رابطه فراوانی جدید ژن و تغییر ژن را بدست آورد.

تغییر فراوانی ژن و حذف ژن در طی یک مدت طولانی سبب کاهش جمعیت آن نسل خواهد شد. هر چند که تاثیر انتخاب ابتدا کنداست ولی پس از مدتی شدت می‌گیرد و مجدداً تاثیر آن کم می‌شود (تصویر ۲-٤) شدت انتخاب و میزان اولیه q بر شیب خط بسیار موثر است.

جدول ۱-٤- تغییر در فراوانی ژن از طریق یک نسل انتخاب برای شایستگی در شرایط مختلف از غالبیت که در ذیل مشخص گردیده است. فراوانی اولیه ژن A2 به میزان q است.

	فرکانسهای اولیه و شایستگی ژنوتیپها			فرکانس جدید	تغییر فرکانس ژن
	A_1A_1 p^2	A_1A_2 $2pq$	A_2A_2 q^2	q_1	$\Delta q = q_1 - q$
(1)	1	$1 - \frac{1}{2}s$	$1 - s$	$\frac{q - \frac{1}{2}sq - \frac{1}{2}sq^2}{1 - sq}$	$-\frac{\frac{1}{2}sq(1 - q)}{1 - sq}$
(2)	1	$1 - hs$	$1 - s$	$\frac{q - hspq - sq^2}{1 - 2hspq - sq^2}$	$-\frac{spq[q + h(p - q)]}{1 - 2hspq - sq^2}$
(3)	1	1	$1 - s$	$\frac{q - sq^2}{1 - sq^2}$	$-\frac{sq^2(1 - q)}{1 - sq^2}$
(4)	$1 - s$	$1 - s$	1	$\frac{q - sq + sq^2}{1 - s(1 - q^2)}$	$+\frac{sq^2(1 - q)}{1 - s(1 - q^2)}$
(5)	$1 - s_1$	1	$1 - s_2$	$\frac{q - s_2q^2}{1 - s_1p^2 - s_2q^2}$	$+\frac{pq(s_1p - s_2q)}{1 - s_1p^2 - s_2q^2}$

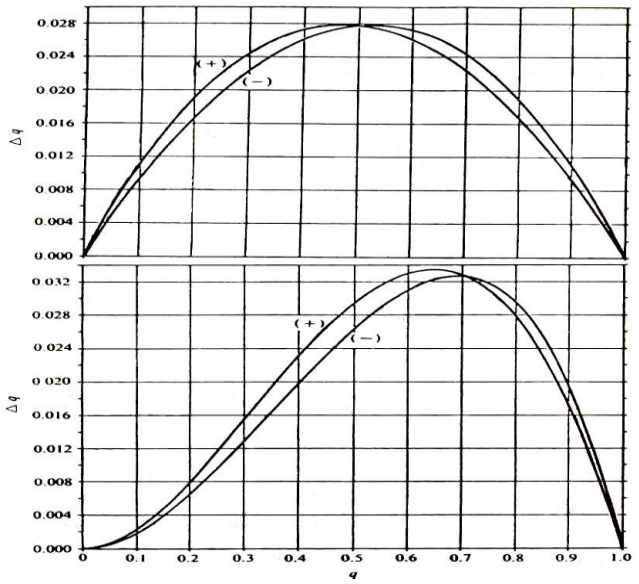
(۱) عدم غلبه؛ انتخاب علیه A_2

(۲) غلبه ناقص A_1؛ انتخاب علیه A_2

(۳) غلبه کامل A_1؛ انتخاب علیه A_2

(۴) غلبه کامل A_1؛ انتخاب علیه A_1

(۳) غلبه فوق، انتخاب علیه A_1A_1؛ A_2A_2 و هر درجه از غالبیت با شایستگی نسبی نسبت به A_1A_2



تصویر ۲-٤- تغییر فراوانی ژن Δq، با شدت انتخاب S=۰/۲، با مقادیر مختلف فراوانی اولیه ژن، q. شکل بالا: ژن بدون غلبه. شکل پائین: ژن با غلبه کامل. منحنی‌هایی که علامت (+) دارند مربوط به نفع ژن می باشد.

۲- ٦-٤- تعداد نسل مورد نیاز

در اصلاح نژاد و برنامه‌های پرورشی گاهی هدف رسیدن سریع به ژن مطلوب و حذف سریع ژن نامطلوب است. در این حالت انتخاب علیه مغلوب، با حذف کامل هموزیگوت نامطلوب و با محافظ نمودن ضریب انتخاب S=1 انجام می‌گیرد.

$$q_1 = \frac{q - sq^2}{1 - sq^2} \Rightarrow q_1 = \frac{q_0}{1 + q_0} \qquad q_2 = \frac{q_1}{1 + q_1} \Rightarrow q_1 = \frac{q_0}{1 + 2q_0}$$

$$q_t = \frac{q_0}{1 + tq_0} \Rightarrow t = \frac{q_0 - q_1}{q_0 q_1} = \frac{1}{q_1} - \frac{1}{q_0}$$

مثال – در یک جمعیت گربه ماهی آفریقایی (African cat fish) ۹ درصد ماهیان زال هستند اگر بخواهیم ماهیان زال را به ۰/٤ درصد برسانیم چند نسل را باید علیه ماهیان زال انتخاب انجام گیرد؟

$$f_{(aa)} = 0/09 \qquad q = \sqrt{q^2} \Rightarrow q_0 = \sqrt{q_0^2} \Rightarrow \sqrt{0/09} = 0/3$$

$$q_t = \sqrt{0/004} \Rightarrow q_t = 0/063$$

$$t = \frac{1}{0/063} - \frac{1}{0/3} = 15/8 \qquad 3/33 = 12/5 \cong 13$$

۱۳ نسل باید انتخاب انجام شود.

۷-٤- تغییر فراوانی ژن در جوامع کوچک

یکی از اصول اولیه هاردی-واینبرگ که سبب می‌گردید که فراوانی ژن از نسلی به نسل دیگر بدون تغییر باقی بماند، تلاقی در جامعه بزرگ بود ولی این قانون در جامعه کوچک عملی نیست. از اینرو فراوانی ژن از نسلی به نسل دیگر در معرض تغییر قرار می‌گیرد. است. تغییر اتفاقی فراوانی ژن را عمل پراکنش[1] گویند. چگونگی پراکنش ژن از نسلی به نسل دیگر دارای پیامدهایی است که باختصار به ذکر آن می‌پردازیم.

الف- تمایل اتفاقی[2]: فراوانی ژن که به صورت نامنظم از نسلی به نسل دیگر منتقل می‌شود و تمایلی نیز به بازگشت به مقدار اصلی خود ندارد را تمایل اتفاقی گویند یا بعبارتی تغییرات اتفاقی فراوانی ژن را تمایل اتفاقی گویند.

ب- ایجاد زیر جامعه : تمایل اتفاقی در جامعه و تغییر فراوانی ژن سبب ایجاد جامعه‌های کوچک متفاوت از هم می‌گردد. زیر جامعه‌های متشکله را در خانواده ماهیان بخوبی می‌توان تشخیص داد. ریز جامعه‌های تشکیل شده با توجه به اینکه در محیط یکسانی قرار دارند لذا، با آمیزش با یکدیگر سبب می‌شوند که تنوع ژنتیکی در این اجتماعات کم باشد.

---

[1] - Dispersive process
[2] - Random drift

ج- افزایش هموزیگوسیتی: همانطور که گفته شد با آمیزش نزدیک افراد یک زیر جامعه واریانس ژنها کم و امکان هموزیگوستی بالا می‌رود. برای بررسی عمل پراکنش و استخراج پیامدهای آن دو راه حل وجود دارد. اول اینکه آنرا به عنوان نحوه نمونه‌گیری بحساب آورد و بر حسب واریانس نمونه پراکنش را تعریف نمائیم و آنرا بیان کنیم. دوم اینکه به عنوان یک عمل همخونی در نظر گرفته شده و برحسب تغییرات ژنوتیپی حاصل از آمیزش‌های بین افراد خویشاوند بیان گردد.

با توجه به اینکه عوامل جغرافیایی و اکولوژیک با شرایط محیطی در هر حال بر جامعه اولیه اثر داشته و زیر جامعه را تشکیل می‌دهد لذا، برای حفظ فراوانی ژنی در جمعیت اولیه بایستی کنترل جامعه را در سطح زیر جامعه حفظ نمود. بعبارتی یک اجتماع کوچک را یک لاین در نظر گرفته شود.

«فصل ۵»

دستکاری ژنوم

مقدمه

یکی از ابزارهای مهم در اصلاح نژاد و مطالعات ژنتیکی ماهی، دستکاری ژنوم[1] است. تکنیک‌های دستکاری ژنوم از حدود ۴۰-۳۰ سال پیش کم کم به مزارع تکثیر و اصلاح نژاد ماهی راه یافت و اکنون کم و بیش توسط بسیاری از کشورها مورد استفاده قرار می‌گیرد. اگرچه انجام آزمایشهای مربوط به این تکنیک چندان مشکل نیست، اما جهت بکارگیری در مراکز پرورش ماهی ابتدا بایستی این تکنیک مورد آزمایش قرار گرفته و سپس بصورت یک دستورالعمل در آن مزرعه مورد استفاده قرارگیرد. تکنیک دستکاری ژنی اجرای روشی است که منجر به تولید تریپلوئید، تتراپلوئید، ماده زایی و نر زایی می‌گردد. در تصویر ۱-۵ تولید انواع حالات فوق‌ارائه شده است. آنچه که در شکل دیده می شود، زمان شوک برای تولید ماده زایی، نرزایی و تریپلوئیدی هر سه سبب قطع میکروتیوبول ها و بازگشت دو سلول هنگام جداسازی می شود. در ادامه روشهای دستکاری ژنوم یا دستکاری مجموعه کروموزومی شرح داده میشود.

۱-۵- روش‌های القای ماهیان تری‌پلوئید

تری پلوئیدی در ماهیان استخوانی از طریق ممانعت از خروج گویچه قطبی دوم بعد از بارورسازی با اسپرم‌های طبیعی و متعاقب آن القای شوک حرارتی یا فشار هیدروستاتیک (تصویر۲-۵) ایجاد می‌شود. مواد شیمیایی مانند سیتوکالازین B و سایر مواد در تری‌پلوئید نمودن ماهیان استخوانی،

[1] - Genome manipulation

مناسب نمی‌باشند. شرایط تیمار مناسب از قبیل میزان دما یا سطح فشار محیط آزمایش ، دوره و زمان مناسب شوک باید با انجام یک سری از آزمایش‌های پیاپی تعیین گردیده تا امکان تولید ۱۰۰ درصد تری پلوئید بدون کاهش میزان بقاء، میسر گردد. در خصوص ماهیان تری پلوئید مطالعات فراوانی انجام گرفته و مشخص شده است که ماهیان تری پلوئیدی تولید شده قبل از سن بلوغ دارای رشدی مشابه با ماهیان دیپلوئید می‌باشند ولی در طول مدت بلوغ نهایی، نسبت به دیپلوئید، دارای رشد، بقاء و کیفیت گوشت بهتری می‌باشند. این امر به دلیل ناباروری در ماهیان ماده با کاهش انرژی مصرفی برای تولید گناد میسر می‌گردد. در مقابل، ماهیان نر تری‌پلوئید نسبت به ماهیان مادهٔ خود، رشد غدد جنسی بیشتری داشته و همچنین خصوصیت‌های جنسی ثانویه را نشان می‌دهند. بنابراین، ماهیان نر، نیمه بارور بوده وافزایش رشدی را نشان نمی‌دهند.

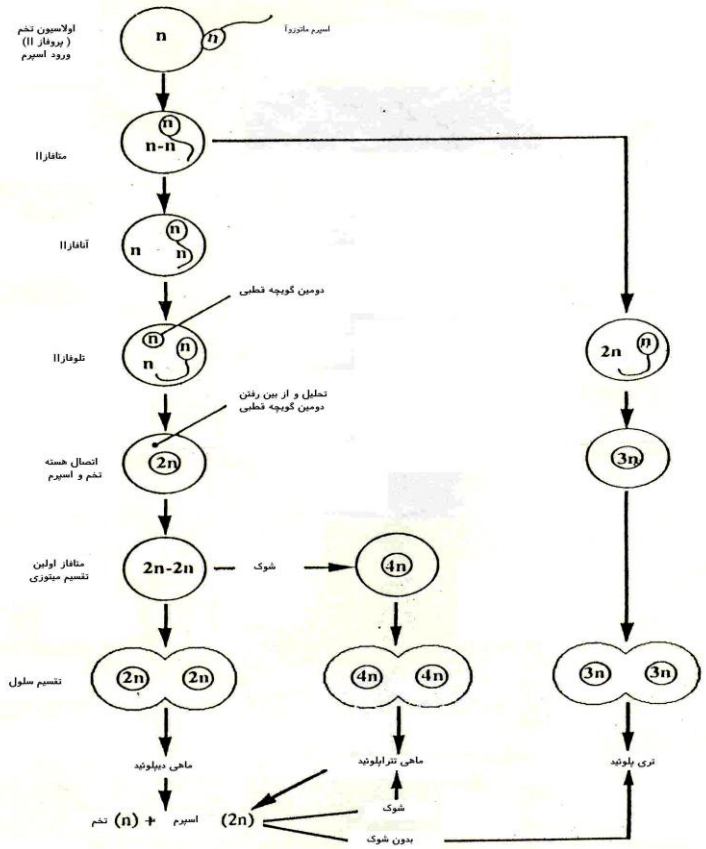
۲-۵- روش‌های تولید ماهیان تتراپلوئید

تولید ماهیان تتراپلوئید با جلوگیری از نخستین عمل تقسیم سلولی بعد از بارورسازی طبیعی تخم انجام می‌گیرد (تصویر۲-۵). در حال حاضر، تولید ماهیان زنده و فعال و همچنین مولدین رسیده و بارور تترا پلوئید صرفاً در ماهیان قزل‌آلا صورت گرفته است. با تلاقی بین مولدین ترا پلوئید بچه ماهیان ترا پلوئید(۱۰۰درصد) تولید می‌گردد. تحقیقات بیشتر در کاربرد ماهیان تتراپلوئید نشان داده است که تلاقی بین مولدین ترا پلوئید گاهی سبب تولید سلول‌های بینابینی (تراپلوئید و دیپلوئید) گردیده است. تولید فرزندان در تلاقی مادهٔ دیپلوئید× ماهی نر تتراپلوئید، نسبت به گونهٔ ماده تتراپلوئید × دی پلوئید بمراتب کمتر است که این تفاوت در نتیجهٔ نفوذ دشوار اسپرماتوزئید تتراپلوئید است که دارای سر بزرگتری نسبت به تخم دیپلوئید می‌باشد. از سوی دیگر، در این تلاقی ماهیان نر بیشتری نسبت به ماده (۳ ماده و ۱۳ نر) دیده می‌شود که به دلیل وجود کروموزوم‌های XY و YY، بیشتر از XX در اسپرماتوزوآی تتراپلوئیده می باشد.

در اکثر ماهیان، تولید تتراپلوئید با استفاده از جلوگیری از اولین تقسیم میتوزی مشکل است و این امر احتمالاً به دلیل مواردی از قبیل (الف)پیوستگی کروموزومی، (ب)آنوپلوئیدی، (پ) کاهش سطح سلولی، (ت) تغییرات نامناسب کروموزومی یا (ث) سطح هموزیگوسیتی بالا می‌باشد. در این بین ظاهرا" ماهی قزل آلا توانسته است تغییرات ژنومیکی را از وضعیت دیپلوئید به وضعیت تتراپلوئید،

تحمل کند. در صورت تولید ماهیان تتراپلوئیدی، نگهداری و مولد سازی از آنها با روش جفتگیری طبیعی امکان‌پذیر خواهد بود.

تصویر- ۱-۵- خلاصه ای از شیوه‌های دستکاری ژنوم در ماهی.
S.R- تغییر جنسیت، p.d- تجزیه پری نوکئی اسپرم، E.d - تجزیه پری نوکئی تخم، Mei- میوتیک ژینوژنزیز، Mit- میتوتیک ژینوژنزیز، Andro- آندروژنزیز



تصویر-۲-۵- القای پلی پلوئیدی در ماهی. با تیمار شوک حرارتی، شوک فشار یا شوک شیمیائی

لاین‌های تتراپلوئید بواسطهٔ تولید دو رگه‌های تری پلوئید عقیم که با تلاقی‌های بین آنها و دیپلوئیدها انجام می‌گیرد، بسیار مهم می‌باشند. تتراپلوئیدی چون اساسی برای تولید نمونه‌های دیگری از انواع پلی‌پلوئیدی از قبیل پنتا، هگزا، هپتا و همچنین اوکتاپلوئیدها محسوب می‌گردد نیز مهم است.

۳-۵- تولید انواع ماهیان پلی پلوئید

تولید انواع دیگر پلی پلوئید را می‌توان در ماهی لوچ[1] مشاهده نمود. ماهی لوچ ماهی کوچکی است و به عنوان یکی از غذاهای سنتی ژاپنیها مصرف می‌گردد. اینگونه از ماهی‌ها دارای اشکال پلی‌پلوئید می‌باشد. ماهیان دیپلوئید(۵۰= n ۲) شایع‌ترین نوع خود می‌باشد ولی تعداد کمی تری‌پلوئید طبیعی (۳n=۷۵) و تتراپلوئید (٤n=۱۰۰) نیز در نسل‌های وحشی مشاهده شده‌اند. تحقیقات بیشتر در این ماهی، امکان تولید انواع پلی‌پلوئیدهای بیشتری را از قبیل پنتاپلوئید، هگزاپلوئید و هپتاپلوئید را با استفاده از تتراپلوئیدهای نرمال فراهم نمود. طرح کلی این روش در تولید پلی‌پلوئیدهای بیشتر در تصویر۳-۵ نشان داده شده است.

تعداد کمی از ماهیان پنتاپلوئید با منع خروج دومین گویچه قطبی، بعد از آمیزش یک ماده تتراپلوئید و یک نر دیپلوئید بدست آمده است.

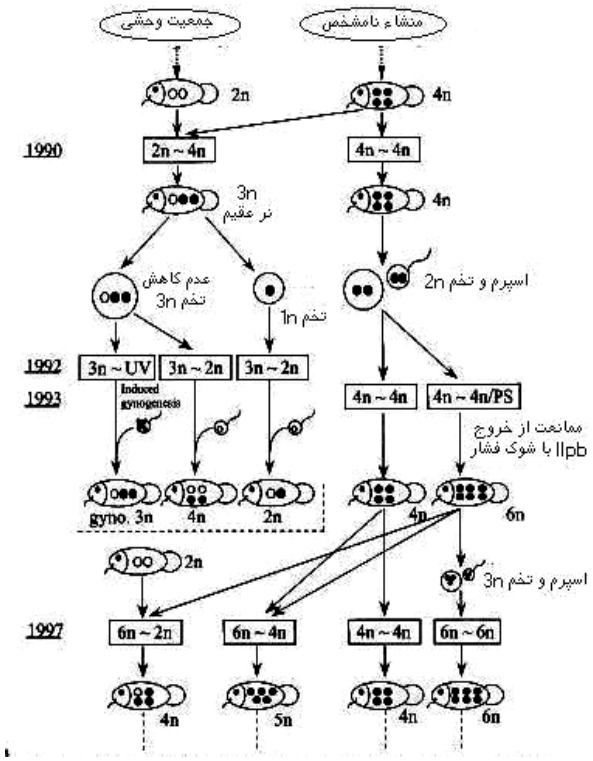
با استفاده از ماهیان تتراپلوئید، یک گونهٔ هگزاپلوئید نیز بطور موفقیت‌آمیزی از طریق منع خروج دومین گویچه قطبی، درست بعد از آمیزش میان تتراپلوئید ماده و نر تولید گشته است.

٤-۵- روش‌های تولید ماهیان ژینوژنتیک

ژینوژنی، شکلی از وراثت تمام ماده می‌باشد. به طور خلاصه، ژینوژنزیز یک روش ویژه بکرزائی می باشد که در آن یک تخم از طریق اسپرماتوزوئیدی تقسیم می‌گردد که از لحاظ ژنتیکی غیر فعال است. بدین ترتیب، رشد داخل جنینی بدون تاثیر ژنتیکی اسپرم، صورت می‌گیرد. برای غیر فعال ساختن ژنوم اسپرم، پرتودهی با اشعه فرابنفش (UV)، اشعه گاما و اشعه X انجام می‌گیرد. ماهی ژینوژنزیز

[1] - Loach, Misgurnus anguillicaudatus

که به این روش تولید می‌گردد، هاپلوئید بوده و بطورکلی تا پس از جذب کیسه زرده، بدلیل اختلالات مشخص از بین می‌روند که به «سندرم هاپلوئید» نیز تعبیر گشته است.

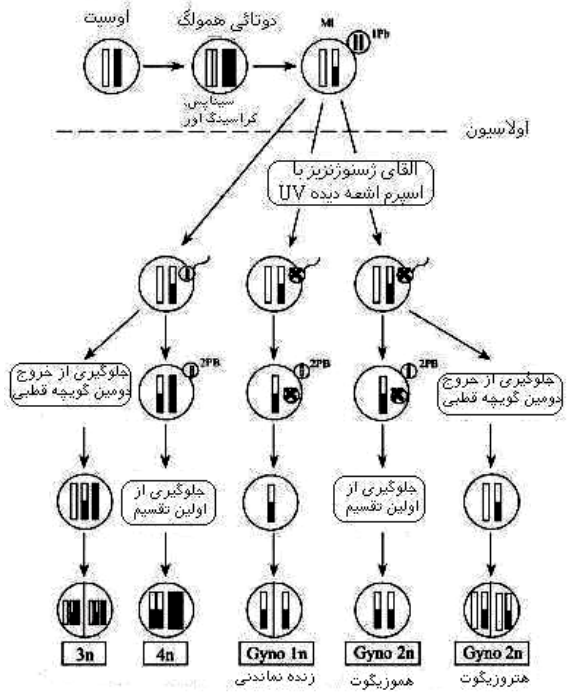


تصویر-۳-۵- نمای شجره ای القای پلی پلوئیدی در لوچ با استفاده از گامت‌های دیپلوئید ماهیان تتراپلوئید طبیعی یا تخم‌های تری پلوئید بدون کاهش کروموزومی

تولید ماهیان ژینوژنزیز دیپلوئید یا احیای دیپلوئیدی با شوک حرارتی یا شوک فشار در زمان تقسیم دوم میوز یا اولین تقسیم سلولی در زمان میتوز، انجام می‌شود (تصویر٤-٥). بنابراین و بطور کلی، دو شیوه ژینوژنزیز وجود دارد:

۱-٤-٥- میوتیک ژینوژنزیز[1]

یک روش تولید ماهی ژینوژنزیز لقاح تخمک با اسپرمی است که مواد ژنتیکی آن توسط اشعه X یا گاما یا اشعه ماوراء بنفش تخریب گردیده و زمان اندکی پس از لقاح تخم شوک داده می‌شود تا از خروج دومین گویچه قطبی جلوگیری شود. تخم در این مرحله حاوی دو هسته هاپلوئید است که یکی از هسته تخم و دیگری از دومین گویچه قطبی تامین گردیده است. این دو هسته برابر ۲n کروموزوم بوده که هر دو از مادر رسیده اند و به این ترتیب ماهی میوتیک ژینوژنزیز تولید می‌گردد.



تصویر-٤-٥- القای تری پلوئیدی و تترا پلوئیدی و انواع مختلف ژینوژنزیز

[1] - Meiotic Gynogenesis

این شیوه از ژینوژنزیز دیپلوئید به نامهای میوتیک ژینوژنتیک، ماده زاد میوزی، ژینوژن، روش برگشت گویچه قطبی یا میوژینوژن نیز نامیده شده است. ماهیان تولیدی با این شیوه هتروزیگوت و کاملا شبیه به مادر هستند.

۲-٤-٥- میتوتیک ژینوژنزیز[1]

دومین روش ژینوژنزیز مانند حالت اول است ولی در این مرحله شوک در زمان اولین تقسیم جنین انجام می‌پذیرد. هسته دو سلول هاپلوئید با هم جفت شده و موجود دیپلوئید را بوجود می‌آورد. در این صورت ماهی میتوتیک ژینوژنزیز تولید می‌گردد. این شیوه از ژینوژنزیز دیپلوئید به نامهای ژینوژنزیز میتوتیک، ماده زاد میتوزی، ژینوژن تقسیم یا میتوژینوژن نیز نامیده شده است. ماهیان تولیدی با این شیوه کاملا هموزیگوت و افزایش سطح همخونی را نشان می‌دهند. ژینوژنزیز همچنین ممکن است روشی سریع به منظور ایجاد لاین‌های ماهی مولد باشد. روش‌های کلاسیک ایجاد لاین مانند تلاقی برادر خواهرهای تنی چندین نسل بطول می‌انجامد. تولید ماهیان ژینوژنزیز همچنین ممکن است به دلیل تولید ماهیان هموزیگوت یا اثر عوامل تیمار در مراحل اولیه تکامل سبب افزایش تلفات گردد.

همانطور که بیان گردید، دیپلوئید ژینوژنزیز دارای مجموعه کروموزوم‌هایی بوده که تنها از مادر به ارث رسیده و از پدر هیچ کروموزومی را دارا نیستند، به شرط اینکه گونه ماده‌های مورد بررسی هموگامت باشند. ماهی ژینوژنزیز به علت توارث مادری، تمامی کروموزوم‌هایشان ماده می باشد. در گونه‌های دارای انواع مکانیزم دیگر تعیین جنسیت، مانند تفکیک جنسیت چند ژنی و محیطی، ژینوژنزیز نسبت‌های جنسی متفاوتی را در نتیجه تاثیر فاکتورهای غیرجنسی در تفکیک جنسیت چندژنی و همچنین تاثیر توانایی و قابلیت فاکتورهای محیطی در تفکیک جنسیت محیطی ارائه می‌دهند.

باز ماندگی لارو و بچه ماهی میتوتیک ژینوژنزیز به دلیل سطح بالای هموزیگوتی، بمراتب بسیار کمتر از میوتیک ژینوژنزیز است. از سوی دیگر، در این ماهیان کاهش شدید باروری و کیفیت بسیار ضعیف

[1] - Mitotic Gynogenesis

تخمها نیز دیده می‌شود. در انجام ماده زایی ممکن است به دلیل عدم تخریب ژنوم اسپرم، تعدادی ماهی دیپلوئید نرمال تولید شود. برای تشخیص این مورد می‌توان از فنوتیپ‌های متفاوت شناخته شده استفاده کرد یا از اسپرم ماهی دیگری که دورگه آن زنده نمی ماند، استفاده کرد. در ایران، در یک سری آزمایشها به منظور تولید ماهی ماده زا د میوزی کپور و ماهیان خاویاری ثابت گردید که لقاح تخم معمولی با اسپرم اشعه دیده (۱۰۰ کیلو راد) منتج به تولید ماهیان هاپلوئید می‌گردد که همگی قبل از تغذیه فعال می‌میرند. در انجام ماده‌زایی ممکن است تعدادی ماهی نرمال به عنوان ماده زاد خودبخودی باقی بمانند که نسبت آن بیش از ۰/۳ درصد نیست. بیشتر لاروهای حاصل از ماده زایی خیلی طولانی زنده نمی‌مانند و از بین می‌روند و این به دلیل ظهورآلل‌های مغلوب هموزیگوت است که سبب بروز لاروهای غیر نرمال یا لاروهای مرده می‌گردد.

۵-۵- روش‌های تولید ماهیان آندروژنزیز

آندروژنی، روشی در تولید گونه‌هایی از اسپرماتوزوآ بعنوان توارث کاملاً پدرانه تعریف گشته است. در این شیوه ابتدا با استفاده از اشعهٔ ایکس و گاما یا فرابنفش، نسبت به غیر فعال ساختن هستهٔ تخم (تخریب کروموزوم) اقدام نموده و سپس با بارورسازی این تخمها با اسپرماتوزوآی طبیعی و منع اولین تقسیم سبب، دوبرابر شدن کروموزوم‌های پدری و تولید ماهیان آندروژنزیز می‌گردند.

دیپلوئیدهای آندروژنی به مانند میتوتیک ژینوژنزیز میزان بقاء بسیار پائینی نشان داده است. تولید آندروژنزیز با بارورسازی تخم‌های از نظر ژنتیکی غیرفعال و با کمک اسپرماتوزوآی هم جوشیده[1] نیز حاصل گشته، اما تولید آن بسیار کم می باشد.

در تولید ماهیان آندروژنزیز در سیستم تعیین جنسیتی که ماهی نر هموگامت است ، ماده ها بصورت XX و نرها بصورت YY (نر برتر یا ابر نر[2]) می باشند. ابرنرها بخصوص برای تولید گونه‌های تماماً نر (XY) و با استفاده از روش تلاقی ماده‌های معمولی (XX) و ابر نرها (YY) کاربرد دارند .

[1] - Fused
[2] - super male

٦-٥- روش‌های تخریب ژنوم

یکی از روش ها تخریب ژنوم از طریق اشعه فرابنفش (UV) می‌باشد. برای این منظور معمولا از لامپ‌های UV مجهز به دستگاه دوزومتری استفاده می‌شود. در استفاده از اشعه فرابنفش باید دقت شود تا ضمن تابش اشعه، از گرم شدن اسپرم جلوگیری شود. طول مدت تابش اشعه در خصوص اشعهٔ ایکس و گاما کوتاه است و در مدت زمانی کوتاه حجم زیادی از اسپرم یا تخم را می‌توان اشعه تاباند. تصویر ٥-٥ دستگاه اشعه گاما را نشان میدهد که در تعدادی از آزمایشهای مربوط به تولید ماهیان ژینوژنزیز کپور معمولی و خاویاری در ایران استفاده شده است.

تصویر ٥-٥- تصویر دستگاه تامین اشعه گاما (در بیمارستان شهید رجائی بابلسر)

٧-٥- روش‌های القای شوک

تکنیک‌هایی که برای افزایش تعداد کروموزومها استفاده می‌شود شامل شوک‌های فیزیکی مانند تغییردرجه حرارت، فشار هیدرو استاتیک ، شوک‌های شیمیایی و شوک‌های الکتریکی است. محققین شوک حرارتی را به دلیل تاثیر در حجم نمونه بالا انتخاب می‌کنند. زمان و درجه حرارت دقیق شوک

اعم از شوک در زمان میوز یا میتوز در میزان موفقیت آزمایش بسیار حائز اهمیت است. در شوک حرارتی مدت زمانی کوتاه پس از لقاح (برای مثال در مورد کپور معمولی ۷-۳ دقیقه پس از لقاح برای میوز و حدود ٤٠ دقیقه پس از لقاح برای میتوز) شوک سرد (٤-٠ درجه سانتی گراد) یا شوک گرمایی (٤٢-۳۸ درجه سانتی گراد) اعمال می‌شود تا از خروج دومین گویچه قطبی در زمان میوز ممانعت شود یا برگشت یک دست کروموزوم در زمان تقسیم سلول انجام گیرد.

۸-۵- اثبات القای دستکاری ژنوم

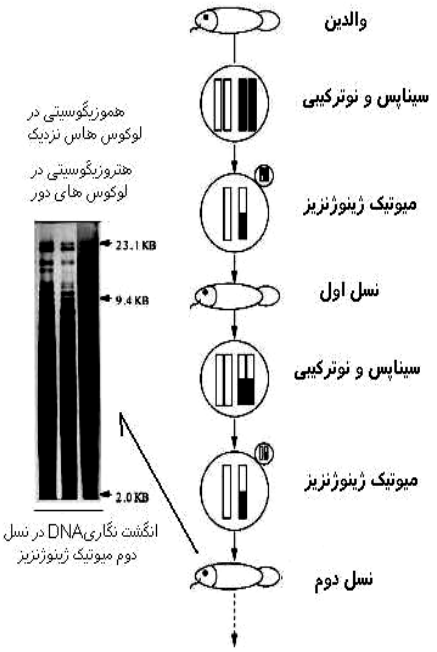
تعیین و تبیین تولید ماهی ماده زاد دیپلوئید یا تری پلوئید توسط چند روش عملی است. ۱- روش شمارش کروموزوم، ۲- روش آزمایش اندازه گلبول قرمز، ۳- روش اندازه گیری حجم هسته گلبول است، ٤- روش اندازه گیری میزان DNA موجود در هسته گلبول با فلوسیتومتری، ۵- روش رنگ آمیزی هستک ها، ٦- روش اندازه گیری غلظت سلول که با روش کالترکانتر انجام می‌گیرد، ۷- روش استفاده از تکنیک الکتروفورز، ۸- روش الگوی فلس، ۹- روش استفاده از فنوتیپ غالب، ۱۰- استفاده از اسپرم گونه‌های متفاوت نیز برای این منظور بکار می‌رود زیرا هر اسپرمی که پس از دریافت اشعه کروموزوم آن سالم بماند، دورگه‌های غیر زنده را تولید می‌نماید و جهت تأئید ژینوژنزیزها بکار گرفته شده‌اند.

۹-۵- کاربرد دستکاری کروموزومی

القای انواع پلوئیدی و کاربرد دستکاری کروموزوم در تصویر ۱-۵ توسط نگارنده ارائه شده است. دستکاری کروموزومی در تعداد کثیری از گونه ها به منظور تحقیقات کاربردی و استفاده در مزارع پرورش ماهی ایجاد گردیده است. هر یک از تکنیک‌های دستکاری ژنی برای امر خاصی بکار می رود. تکنیک ماده‌زاد بطور عمده دربرنامه‌های اصلاح نژاد تولید جمعیت ماده تک جنس و شناسایی سیستم تعیین جنسیت بکار می‌رود. چنین استفاده ای در شناسائی گونهٔ ماهیان مهم می‌باشد زیرا بسیاری از ماهیان از هیچ‌گونه کروموزوم جنسیتی از لحاظ ریخت شناسی قابل تشخیص برخوردار نمی‌باشند.

دستکاری کروموزومی، همچنین یک روش عملی در بهبود ژنتیکی سریع ماهیان پرورشی محسوب گردیده و بطور کلی برای محیط زیست نیز خطری را در بر ندارد. دستکاری کروموزومی همچنین

یک روش مؤثر برای برقراری لاین‌های تراریخته[1] (انتقال ژن) می‌باشد. بطوریکه خطر ماهیان تراریخته را به محیط طبیعی به حداقل می رسازند. این تکنیک همچنین برای مطالعه کاریوتایپ ماهی، نقشه‌کروموزومی و مطالعه موتاسیون، مطالعه سیستم ایمنی ماهیان استفاده شده است.



تصویر ٦-٥ -حفظ ژنوتیپ با تکرار در تولید ژینوژنزیز در ماهی لوچ.
در تصویر انگشت نگاری DNA در نسل دوم میوتیک ژینوژنزیز مشابه نسل اول است.

کاربرد کلون هموزیگوت در آبزی پروری یکی از اهداف دستکاری کروموزومی محسوب می‌گردد. ماهیت ژنتیکی یکسان کلون برای علوم بیولوژیک از قبیل ژنتیک، فیزیولوژی و همچنین ایمونولوژی، مهم تلقی می‌گردد. معمولا از میوتیک ژینوژنزیز برای حفظ کلون‌های ایجاد شده استفاده می‌گردد. تصویر ٦-٥ روش اثبات کلون و ژینوژنزیز هموزیگوت را از طریق DNA را نشان می دهد.

[1] - Transgenic

«فصل ۶»

تغییر جنسیت از طریق کنترل هورمون‌های جنسی

مقدمه

با تحقیقاتی که از تاثیر مصرف هورمون در گناد ماهی طی چند دهه اخیر بدست آمد، مشخص گردید که ظهور رفتار جنسی را از طریق مورفولوژی ، فیزیولوژیک و ماهی شناسی می‌توان افزایش داد و این تکنیک برای دست یابی به استراتژی خاصی در صنعت پرورش ماهی دارای مزیت‌های فراوانی می‌باشد که برای مثال می‌توان به موارد ذیل اشاره کرد:

الف) – کاهش تعداد مولد مورد نیاز برای دست یابی به میزان مشخص تخم ماهی

ب)- پرورش جنس خاص (نر یا ماده) که سرعت رشد بیشتری دارند.

ج) – جلوگیری از بلوغ جنسی پیش رس ماهیان نر

د) - جلوگیری از بلوغ جنسی در هر دو جنس نر یا ماده

ه) - تولید ماهیان عقیم برای رهاسازی به منابع طبیعی

و) - تولید ماهیان زینتی با جنسیت مطلوب

استراتژی کنترل جنسیت می‌تواند با علوم پیشرفته دیگری مانند بیوتکنولوژی همراه گردد که هدف آن افزایش تولید است. استفاده از هورمون استروژن برای تولید ماهیان تک جنس در آبزی پروری در سال‌های اخیر افزایش یافته است (جدول ۱-٦). در این بخش از کتاب ضمن مطالعه جنسیت در ماهیان به روش‌های تغییر جنسیت پرداخته شده است.

جدول ۱-٦- گونه‌های ماهیان استخوانی که به منظور کنترل تمایز جنسی تحت اثر هورمون با استروژن‌های طبیعی یا مصنوعی قرار گرفته است (۲۰۰۰-۱۹۳۷)

فامیل	گونه	اسم معمولی	استروژن ها	روش تیمار
Anguillidae	***Anguilla Anguilla***	**European eel**	**EE2, E2**	تغذیه
	A. Japonicus	**Japanese eel**	**DES, E2**	تغذیه
Cyprinidae	***Cyprinus carpio***	**Common carp**	**E1**	تزریقی
			DES, E1, E2	تغذیه
	Carassius auratus	**Goldfish**	**E1, E2**	تغذیه
	Pimephales promelas	**Fathead minow**	**DES**	تغذیه
			E2	غوطه وری
Gobitidae	***Misgurmus anguillicaudatus***	**Mud loach**	**E1**	؟
	M. mizolepis	**Mud loach**	**E2**	غوطه وری
Ictaluridae	***Ictalurus punctatus***	**Catfish**	**E2**	تغذیه
Clariidae	***Clarias lazera***	**Airbreathing catfish**	**E2**	تغذیه
Salmonidae	***Oncorhynchus mykiss***	**Rainbow trout**	**E1, E2**	غوطه وری
			DES, EE2, E1, E2, Hexestrol	تغذیه

۱-٦- جنسیت در ماهی

نمونه‌های تولید مثلی که ماهیان از خود بروز داده‌اند عبارتنداز: (۱) گونوکوریسم[1] یا وجود جنسیت‌های جداگانه، (۲) دو جنسی[1] (هردو جنسیت در یک ماهی وجود دارد) و (۳) تک جنسی[2] (Chourrout, 1988; Price, 1984; Piferrer, 2001).

[1] - gonochorism

۲-٦- مکانیزم جنسیت

تشریح نشانه جنسیتی به دو فرآیند بستگی دارد : تعیین جنسیت و تمایز آن.

تعیین جنسیت به نوع جنسیت یا ژنتیک ماهی (یا ژنوتیپ) مربوط می‌گردد در حالی که تمایز جنسیت به رشد گنادی مخصوص یعنی تخمدان یا بیضه (یا فنوتیپ) مربوط می‌باشد. بطور کلی، اینگونه فرآیندها وجود دو نوع فنوتیپ رفتاری و عملی و همچنین مورفولوژیک یا به عبارتی نر یا ماده را موجه می سازد. در برخی جانوران بخصوص در مهره داران مثل ماهیان تمایز جنسیتی ممکن است به گونه‌ای تحت تاثیر فاکتورهای محیطی تغییر یابد بطوریکه جنسیت فنوتیپی حاصله با جنسیت ژنتیکی متفاوت باشد.

۱-۲-٦- تعیین جنسیت

تعیین جنسیت شامل مجموع عناصر ژنتیکی است که مسئول بوجود آمدن گناد است یا بعبارتی تعیین جنسیت شامل مجموع ژن‌هایی می باشد که موجب تشکیل گناد است. ژن‌های تعیین‌کننده جنسیت مسبب ایجاد گناد، شکل و تمایز آن به تخمدان یا بیضه می‌گردد. در هر صورت جنسیت ژنتیکی هر گونه‌ای به مجموعه ژن‌های تعیین‌کننده جنسیت بستگی داشته که از هر دو والدین (پدر و مادر) به ارث می برند. بنابراین جنسیت ژنتیکی ماهیان نسل بعدی بستگی به کروموزومهایی دارد که به زیگوت می‌رسند. در واقع، سه الگو شرح داده در ذیل در تعیین جنسیت ماهیان مورد استفاده قرار می‌گیرد

۱-۱-۲-٦- توارث کروموزومی

توارث کروموزومی به وجود کروموزوم‌های جنسی بستگی داشته و معمولا یک جفت کروموزوم به نام هتروکروموزوم (کروموزوم‌های نابرابر) بسیاری از ژنها، مربوط به بروز خصوصیات جنسیتی را دربردارد[۳]. در بسیاری از ماهیان، جنس ماده دو کروموزوم جنسی همانند دارد که به دلیل شکلشان، کروموزوم X نامیده می‌شوند. بنابراین، جنس ماده XX است. جنس نر یک کروموزوم X و یک

---

[1] - hermaphroditism
[2] - unisexuality
[3] - Bull, 1983; Tave, 1992

کروموزوم کوتاهتر به نام Y دارد بنابراین، نرها XY هستند. تخمک‌ها تنها دارای کروموزوم X و اسپرم دارای کروموزوم‌های X و Y می‌باشند. اگر تخمک توسط اسپرمی که دارای کروموزوم X است، لقاح یابد فرزند ماده و اگر توسط اسپرم دارای کروموزوم Y بارور شود، فرزند نر خواهد بود. وجود ژن مجزا معروف به SRY که باعث رشد یک جنس و تمایز نرها در پستانداران می‌باشد، هنوز هم در ماهیان مشاهده نگردیده است[1]. ماهی برخلاف سایر موجودات عالی که تنها دارای یک جنسیت ثابت کروموزم‌های جنسی هستند، دارای انواع سیستم‌های جنسی است. تعیین جنسیت در تعداد معدودی از ماهیان شناخته شده معذالک سیستم تعیین جنسیت در بسیاری دیگر هنوز شناخته نشده است. برای مثال، گروه‌های ماهیان خاویاری در جنس نر و ماده هیچ تفاوتی را نشان نمی‌دهند. در این گونه موارد عمدتاً از طریق مطالعات مولکولی تفاوت بین نر و ماده مشخص می‌شود. در بین ماهیان مورد مطالعه تا کنون ۹ سیستم تعیین جنسیت شناخته شده است (جدول ۲-٦). اینگونه سیستم ها از سیستم‌های ساده مانند XX/XY یا WZ/ZZ که شایع‌ترین از نوع خود بوده، به سیستم‌های پیچیده‌تر که مستلزم بیش از یک جفت کروموزوم جنسی یا تعداد مختلفی از کروموزومهایی که به جنسیت بستگی داشت، متغیر می باشند.

سیستم جنسی که در آن هردو کروموزوم‌های جنسی مثل هم و یکسان بوده، هموگامتی نامیده شده (مثل ماده ها در سیستم کروموزوم XX/XY) و سیستم جنسی که درآن کروموزوم‌های جنسی متفاوت باشد، هتروگامت نامیده می‌شوند (مثل نرها در سیستم کروموزوم XX/XY).

۲-۱-۲-٦- *تعیین جنسیت چند ژنی (چند فاکتوری)*

سیستمی از تعیین جنسیت بوده که در آن ژن‌های تعیین کننده جنسیت در ماده و نر اپیستاتیک، در کروموزوم‌های دیگر (غیر جنسی) وجود داشته باشد. بدین ترتیب جنسیت جنین حاصله بر اساس ترکیب نسبی فاکتورهای مربوط به گونه‌های نر و ماده بوده که از مجموع کروموزوم‌های والدین به ارث می رسد.

[1] - Tave, 1992; Solari, 1994

جدول ۲-٦- مثالهائی از ۹ سیستم تعیین جنسیت (Tave , 1992)

Channel catfish	**XY**
Rainbow trout	**XY**
Lake trout	**XY**
Coho salmon	**XY**
Chinook salmon	**XY**
Sockeye salmon	**XY**
Tilapia nilotica	**XY**
Tilapia mossambica	**XY**
Common carp	**XY**
Silver carp	**XY**
Bighead carp	**XY**
Grass carp	**XY**
Goldfish	**XY**
Guppy	**XY**
Medaka	**XY**
Tilapia aurea	**WZ**
Tilapia honorum	**WZ**
Mosquitofish	**WZ**
Japanese eel	**WZ**
Congor eel	**WZ**
Platyfish	**WXY**
Dollar hatchefish	**XO**
Dwarf gourami	**ZO**
Catarina pupfish	$X_1X_1X_2X_2/ X_1X_2Y$
Filefish	$X_1X_1X_2X_2/ X_1X_2Y$
Freshwater gobi	$X_1X_1X_2X_2/ X_1X_2Y$
Virolito	ZZ/ZW_1W_2
Hoplias sp, from Aripuria River, Brazil	XY_1Y_2/XX
Swordtail	آتوزومی
Blue poecilia	آتوزومی

۳-۱-۲-٦- تعیین جنسیت محیطی[1] (ESD)

مستلزم کنش متقابل میان ژنوتیپ و محیط می‌باشد. نمونه هائی در میان ماهیان دیده شده است که تعیین جنسیت براساس کنترل محیطی، ژنتیکی و دمای انکوباسیون تخم و در طول یک مرحله مهم از رشد لاروی بوده است. بررسی‌های متعدد نیز نشان داده است که مسئله جنسیت در ماهیان ممکن است بر اساس نفوذ و تاثیر دمای محیطی باشد که در آن رشد می‌نمایند. بدین ترتیب احتمال کنترل جنسی از طریق کنترل محیطی فراهم می‌شود.

۲-۲-٦- تمایز جنسیت[2]

این مسئله به رویدادهایی مربوط می‌شود که در زمان رشد رخ داده و تشریح مسئله مربوط به جنسیت فنوتیپی مناسب را امکان پذیر می‌سازد. مسئله تمایز و افتراق جنسیتی تمامی اتفاقاتی را در بر گرفته که در غده جنسی آغازین از جمله مهاجرت سلول‌های زاینده اولیه[3] ، تولید برجستگی‌های مربوط به گناد و همچنین تمایز گناد به بیضه‌ها یا تخمدان رخ می‌دهد این موضوع در وهله نخست در ماده‌ها و بعد در نر شکل گرفته و برای اولین بار با استفاده از بررسی‌های هیستولوژیک انجام شده در مورد گناد بجای استفاده از تغییرات ظاهری مشاهده گردیده است. این پدیده در مورد فیل ماهیان پرورشی که با مطالعه گناد[4]، تکامل گناد انجام گرفت نیز مشاهده گردید. اولین نشانه‌های مربوط به تمایز جنسیتی در ماده ها، ورود اوگونیا[5] به مرحله میوز یا تکثیر سلول‌های سماتیک جهت تشکیل حفره تخمدان می‌باشد. در عوض مسئله تمایز جنسیتی در گونه‌های نر بعدها صورت گرفته و مشخصه آن نیز ظاهر شدن اسپرماتوگونیا، آرایش سلول‌های جنسی و سماتیک در لوبولها و همچنین تمایز سیستم عروقی بیضه از قبیل سیاهرگ بیضه، سرخرگ بیضه و مجراهای اسپرم می‌باشد. در برخی گونه‌ها مانند مداکا، عکس این قضیه صدق می‌نماید. یعنی تمایز و تشخیص سیتوژنتیک مقدم بر تمایز و افتراق آناتومی می باشد.

---

[1] - environmental-sex-determination
[2] - sex differentiation
[3] - primordial germ cells (PGCs)
[4] - Yousefian, 2005
[5] - Oogonia

مسئله تفکیک جنسیت در ماهیان ممکن است از دو روش متفاوت مطابعت نماید. در روش اول، در همان مراحل اولیه، گناد بلافاصله بصورت تخمدان یا بیضه تفکیک می‌گردد. در روش دوم، در کل جمعیت ماهیان، گناد به شکل تخمدان ظاهر شده و سپس گناد نیمی از ماهیان از شکل تخمدانی خارج شده و به شکل بیضه ظاهر می‌شود. گونه‌هایی که از این روش پیروی می‌نمایند به «گونه‌های تفکیک نشده» تعبیر می‌گردند. مثالها و نمونه‌های مربوط به گونه‌های تفکیک شده عبارتند از مداکا، کوهوسالمون، کپور معمولی. نمونه‌های مربوط به گونه‌های تفکیک نشده نیز عبارتند از گوپی، مار ماهی دمان گرد و مارماهی اروپایی. ویژگی محرک مربوط به تفکیک جنسیت از اهمیت بسیار مهمی برخوردار است و بسیاری از محققین معتقدند که استروئیدهای جنسی در واقع محرک‌های طبیعی جنسیتی محسوب گشته و میزان کمی از هورمون برای تغییر جنسیت لازم است و نیز بر اساس برخی شواهد مشخص گردید که همکاری گزینشی برخی از هورمون ها همراه با تکامل گناد ضروری است و نیز مواد دیگری بجز استروئیدها نیز می‌توانند بر مسیر عادی رشد گناد مؤثر باشند.

استروئیدها از طریق گیرنده‌های مخصوص در سلول‌های مقصد یا اصلی عمل می‌نمایند. گیرنده‌های آندروژن و استروژن با توجه به ویژگی‌های یکسان گیرنده‌های آندروژن و استروژن در مهره‌داران دیگر در ماهی مشخص گردیده‌اند. در طول تفکیک و افتراق جنسیتی، استروئیدهای مذکور اساساً بعنوان فاکتورهای مورفوژنی عمل می‌نمایند . با وجود، بعدها در چرخه زندگی و در طول بلوغ جنسی عمدتاً به عنوان فاکتور های فعال عمل می نمایند.

۳-٦- کنترل تمایز جنسیت

از آنجاییکه استروئیدهای جنسی درگیر فرآیند طبیعی و معمولی تمایز جنسیت می باشند، اساس کنترل این روند، مصرف استروئیدهای جنسی در ماهیانی است که از نظر جنسی تفکیک نشده می‌باشند. بنابراین، با استفاده از مصرف استروئید جنسی مناسب، تغییر مسیر طبیعی تمایز جنسیت به سمت فنوتیپ‌های مطلوب، امکان‌پذیر خواهد بود. گرچه، تاثیر استروئیدهای جنسی گاهی اوقات ناپایدار بنظر می‌رسد ولی اینگونه اثرات معمولا در تعداد زیادی از ماهیان استخوانی، دائمی است.

دستکاری مکانیزم‌هایی که تفکیک جنسیت را کنترل می‌نماید، با مصرف هورمون‌های استروئید در طول مدت رشد اولیه شروع می‌شود. تفکیک جنسیت نسبت به نر یا ماده بودن بترتیب به عنوان

پیامدی از تاثیر آندروژن یا استروژن بدست آمده است. این دو استروئید، مشابه با اثرات استروئیدهای درونی ماهی است و بنابراین رشد گناد را به سمت جنسیتی که هورمون آن خورانده شده، تغییر جهت می‌دهد. بنابراین، استروژنها برای ماده نمودن و آندروژنها نیز برای نرینه ساختن یا عقیم ساختن مورد استفاده قرار می‌گیرند که بستگی به میزان مصرف هورمون دارد. گرچه قرار گرفتن بیش از حد در معرض استروژنها ممکن است در برخی نمونه‌ها باعث عقیم شدن گردد ولی معمولا استروژن ها برای عقیم سازی مورد استفاده قرار نمی‌گیرند زیرا در صورت استفاده از دوزهای بالا یا دادن هورمون برای طولانی مدت اثرات زیان‌آوری را برای ماهی بهمراه دارد. القای مادگی (از نر به ماده) با هورمون های استروژن هایی مانند ۱۷-آلفا-اتینیل استرادیول[1] و بتا-استرادیول[2] و القای نرینگی (از ماده به نر) با هورمون‌های آندروژن مانند ۱۷آلفا-متیل تستوسترون[3] انجام می‌گیرد.

٤-٦- استراتژی‌های مربوط به ماده نمودن

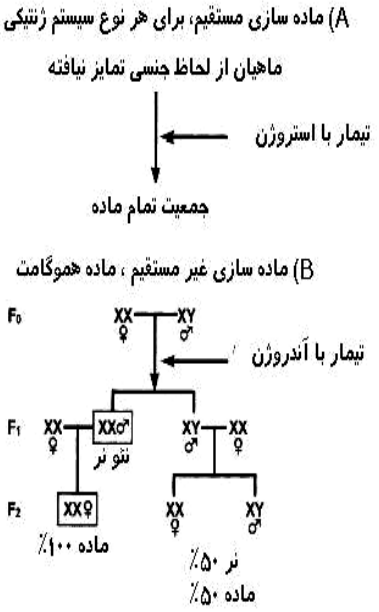
با استفاده از استروژنها می‌توان ماده سازی هورمونی را در برخی از ماهیان القا نمود. کنترل جنسیت هورمونی در روند تفکیک جنسیت و نه تعیین جنسیت مؤثر است. از اینرو مصرف استروئیدهای جنسی در گونه‌های دارای تعیین جنسیت کروموزومی مانند ماهی آزاد و قزل آلا، نر ساختن یا ماده نمودن ماهی را بدون تغییر ترکیب کروموزومی جنسی آنان (عدم تغییر ژنوم) ممکن می‌سازد و این در واقع مبنای روش‌های غیر مستقیم در ماده نمودن و نرینه ساختن تلقی می‌گردد.

١-٤-٦- روش ماده نمودن مستقیم

روشی است که در تمام گونه ماهیان و بدون در نظر گرفتن سیستم تعیین جنسیت و همچنین به رغم آنچه که جنسیت از نوع هموگامت یا هتروگامت باشد و با استفاده از استروژن در طول مراحل اولیه رشد انجام گیرد. در این شیوه از ماده سازی معمولا با استفاده از استروژن طبیعی یا مصنوعی، جنسیت گناد مطلوب را در همان نسلی که استروژن مصرف شد، تولید می‌نماید (تصویر١-٦). موفقیت و به

[1] - 17α – ethynylestradiol
[2] - B-estradiol
[3] - 17α –methyl testosteron

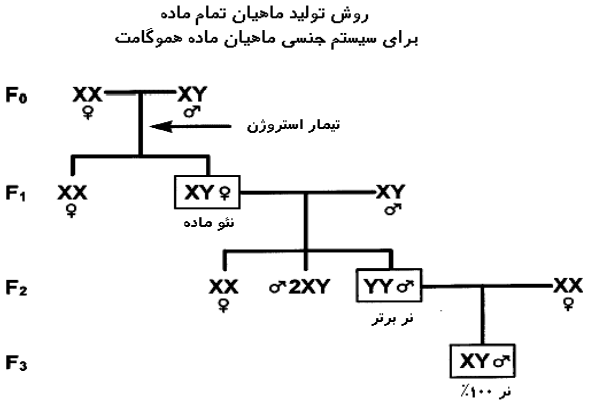
همراه آن سادگی این روش، مزیت‌های اصلی شیوه ماده نمودن مستقیم محسوب می‌گردد. علاوه بر این، هیچ نوع مرگ و میری ناشی از درمان در دوز مناسب وجود نداشته ولی در این روش همیشه موفقیت حاصل نمی‌گردد. بعلاوه، گاهی نیمی از ماده‌های تولید شده از نوع ژنوتیپ نر می‌باشند.



تصویر۱-٦- شیوه هورمونی برای تولید جمعیت تمام ماده. نمودار روش مستقیم ماده سازی را با استفاده از استروژن (A) مناسب هر سیستم تعیین جنسی و روش غیر مستقیم با استفاده از تیمار آندروژن، (B) مناسب برای آن دسته از ماهیان دارای ماده هموگامت را نشان می‌دهد.

۲-٤-٦- روش ماده نمودن غیرمستقیم

این شیوه در گونه‌هایی انجام می‌گیرد که در آن گناد ماده‌ها هموگامت است. در این روش، ابتدا نرینه ساختن ماده های ژنوتیپی (XX) از یک گروه ماهیان دارای جنسیت دوگانه (XY,XX) انجام گردیده و سپس بارورسازی تخمک‌های طبیعی (X) با استفاده از اسپرمی انجام می‌گیرد که از طریق این نرهای جدید تولید گشته و صرفا دارای کروموزوم X بوده است (تصویر۱-٦ و ۲-٦). برای تشخیص



تصویر۲-٦- شیوه هورمونی برای تولید جمعیت تمام نر. نمودار روش غیر مستقیم را با استفاده از تیمار استروژن برای تولید جمعیت نر برای آن دسته از ماهیان دارای ماده هموگامت را نشان می‌دهد.

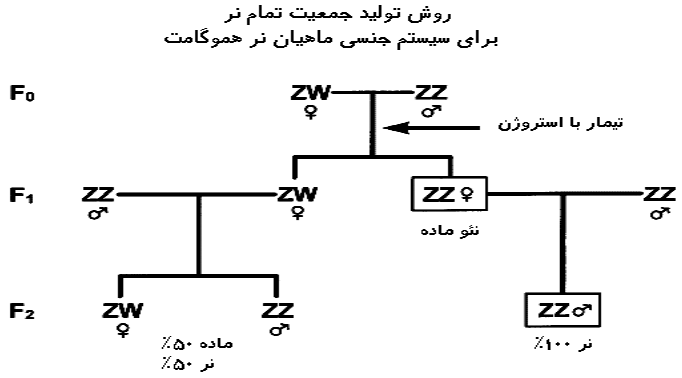
اینگونه نرها (نئونر)، آزمایش تست فرزندان[1] از آمیزش نرهایی جدید تولیدی و ماده‌های معمولی انجام می‌گیرد. تلاقی با نرهای جدید در نسل دوم (F2) منجر به تولید بچه ماهیان تماما ماده می‌گردد (ژنوتیپی و فنوتیپی) و این در حالیست که آمیزش‌هایی که با نرهای طبیعی انجام می‌گیرد، به مخلوطی از بچه ماهیان نر و ماده منتج می‌گردد. در استفاده از این شیوه، روش نرینه‌ساختن، بخودی خود هدف اصلی تلقی نمی‌گردد، بلکه گام مهم و ضروری در روش ماده‌سازی غیرمستقیم می‌باشد. روش غیرمستقیم دارای این مزیت است که بچه ماهی تولیدی هرگز با استروئیدها سروکار ندارند.

۳-٤-٦- استفاده‌های دیگر از استروژن‌ها

استروژنها در تولید گونه‌های تماما نردرماده‌های هموگامت مانند تیلاپیای نیلوتیکوس[2] و موزامبیک[3] (تصویر۲-٦) یا در نرهای هموگامت مانند تیلاپیای اورئوس[4] (تصویر۳-٦) استفاده می‌شوند. در نمونه

[1] - Progeny test
[2] - O. niloticus
[3] - O. mosambicus
[4]- O.aureus

اول ، لارو ماهیان قبل از تمایز جنسی برای تشکیل ماده‌های هتروگامت (xy)، با استروژنها درمان می‌شوند. از تلاقی این ماده‌های جدید (XY) با نرهای معمولی(XY)، نرهای دارای یاخته‌های جنسی هموگامت yy (ابرنرها) حاصل می‌گردد که در
آمیزش با ماده‌های معمولی فرزندان ۱۰۰ درصد نر تولید می‌شود (تصویر۳-٦). آمیزش بین ماهیان تغییر جنسیت یافته با ماهیان معمولی، در تشریح مکانیزم تعیین جنسیت بکار می‌رود.



تصویر۳-٦ - شیوه هورمونی برای تولید جمعیت تمام نر. نمودار روش غیر مستقیم نر سازی را با استفاده از تیمار استروژن برای تولید جمعیت تمام نر برای آن دسته از ماهیان دارای نر هموگامت را نشان می‌دهد.

٥-٦- روش‌های هورمون‌درمانی در ماهی

در حال حاضر، دو روش غوطه‌وری در آب و درمان غذایی جهت واگذاری هورمون‌های جنسی در تعداد زیادی از ماهیان انجام گرفته است. عمل غوطه‌وری در گونه‌هایی مناسب‌تر می‌باشد که در آنها، دوره زمانی تمایز جنسی در مرحله جنینی یا لاروی است و روش تغذیه برای گونه‌هایی که زمان تمایز جنسی در آنها با مرحله تغذیه خارجی ماهی منطبق است. استفاده از غذاهای زنده مانند آرتمیا

به عنوان ابزاری برای تامین استروئید در برخی از ماهیان مورد بررسی قرار گرفته است و روشی مناسب برای ماهیانی است که تمایز در آنها در مراحل اولیه لاروی رخ می دهد.

٦-٦- روشهای متفاوت تیمار

کنترل هورمونی جنسیت، شامل متغیرهای کمی و کیفی است. متغیرهای اصلی کمی، عمدتا تیمارهای مربوط به زمان است که برای مثال شامل سن ماهی (میزان رشد مربوط به گناد)، دوره درمان و همچنین مقدار دوز استروئید است. عوامل دیگری نیز بر میزان موفقیت مؤثرند که می توان به دمای آب، تراکم ماهیان، تعداد تیمارها و فاصله بین انتخاب تیمارها اشاره نمود. از سوی دیگر، متغیرهای کیفی بیشتر به نوع استروئیدهای تغییر جنسیت می‌پردازد. استروژن‌ها بخصوصE2، به عنوان هورمون‌های ماده‌ساز استفاده می‌شود ، در حالیکه آندوژن‌ها مانند تستوسترون ترکیب مصنوعی متیل تستوسترون (17α- MT)، به عنوان هورمون‌های نرساز مورد استفاده قرار می‌گیرد، مشروط بر اینکه در دوزهای پایین و برای یک دوره زمانی کوتاه مدت یا متوسط (ساعت‌ها یا هفته‌ها) مصرف گردد. عقیم‌سازی با استفاده از دوز بالا و طولانی مدت نسبت به دوزهای مورد نیاز برای ماده‌سازی انجام می‌گیرد. مواد غیر استروئیدی اندکی برای تغییر نسبت جنسیت در ماهی مورد استفاده قرار گرفته است که برای مثال می‌توان به‌استفاده از ان‌ان‌دی‌متیل‌فورمامید[1]، LH و LHRH، گونادوتروپین انسانی، نئوروپپتاید (NPY) اشاره نمود، ولی نتایج کم و اثر محدودی را نشان داده است. بنابر این، اگر هدف، ماده‌سازی هورمونی ماهی باشد، عمدتا استروژن‌های طبیعی یا مصنوعی باید مورد استفاده قرار بگیرند.

٦-٧- ماهیت استروئید

برخی استروژن‌های طبیعی و مصنوعی یا برخی مواد شیمیایی دارای ظرفیت استروژنی اثبات شده در ماده‌سازی ماهی ها می‌باشند (جدول۳-٦). از میان استروژن‌های طبیعی، E2، موثرترین می‌باشد استروژن مصنوعی اتینیل استرادیول (17α-EE2) و همچنین دی‌اتیل‌استیل بسترول (DES) در بسیاری از گونه ها مورد استفاده قرار گرفته و از مؤثرترین فاکتورهای ماده‌ساز با توجه به شرایطی می‌باشند که

[1] - N-N-dimethulformamide

مورد استفاده قرار گرفته‌اند. علاوه بر این، بنظر می‌رسد که E2، به عنوان یک هورمون ماده ساز، نسبت به MT به عنوان یک هورمون نرساز، موثرتر می‌باشد.

جدول۳-٦ - مواد شیمیائی طبیعی یا سنتتیک که برای ماده سازی ماهیان استخوانی استفاده شده است.

مواد شیمیائی	استروژن طبیعی
Diethylstilbestrol(DES) **Diethylstilbestrol diphosphate(DES-DP)** **Diethylstilbestrol Dipropionate(Euvestin)** **Dihydrodiethylstilbestrol(Hexestrol)** **17α-ethynyloestradiol(EE2)** **14,15-methylene oestradiol (ME2)** **Oestradiol benzoate (EB)** **Oestradiol butyryl acetate (EBA)** **Oestradiol propionate (EP)**	**Oestrone (E1)** **Oestradiol-17β(E2)** **Oestriol (E2)**
مقایسه پتانسیل متوسط **EE2(1)>DES(~1.5)>E2(~3)>E1(~12)>E3(~75)**	

۸-٦- متغیرهای کمّی هورمونی

متغیرهای اصلی کمی در کنترل هورمونی جنسیت عبارتند از: زمانبندی تیمارها، مقدار دوز و دوره درمان. ارزش موثر برای هر یک از این متغیرها در یک گونه به نوع استروژن، منشا آن (طبیعی یا مصنوعی) و اهداف تیمار بستگی خواهند داشت. جدول ٤-٦ تیمار مؤثر با استروژن طبیعی و مصنوعی برای تمایز جنسی به ماده را در برخی از ماهیان نشان می‌دهد. به طور کلی، ماهیانی که از نظر جنسی تمایز نیافته باشند در مقابل اثرات درمانی استروئید نسبت به گونه‌هایی که جنسیت آنها شکل گرفته، مناسبتر می باشند. در واقع تغییر جنسیت در دوره‌ای که هنوز گناد شکل نگرفته است یا در حال شکل‌گیری است، مؤثر است. این زمان را دوره مؤثر یا ناپایدار می نامند و در آن مقدار دوز استروئید و همچنین دوره درمانی کمتری نیاز است تا جنسیت دلخواه بدست آید .

دوره ناپایدار متاثر از حوادث نامشخص در گنادی است که هنوز شکل نگرفته و حتی از طریق بافت‌شناسی نیز قابل تشخیص نیست. بدین ترتیب، این دوره تمایز «جنسیت فیزیولوژیک» نامیده شده زیرا در این حالت هنوز گناد شکل نگرفته و فنوتیپ جنس متعاقباً در ماهی قابل تشخیص است. این دوره مؤثر برای گونه‌های مختلف متفاوت است. تحقیقات نشان داده است تغییر جنسیت در ماهی کپور از طریق تغذیه با هورمون از ۸۰-٤٤ روز پس از هچ و در تیلاپیا ۵۲-۱۰ روز پس از هچ انجام شده است.

صرف نظر از گونه ماهیان، نشان داد شده که دوره ناپایدار در استروژنها، زودتر از آندوژنها مشخص می‌گردد. برای مثال، در فیل ماهی پرورشی تفکیک جنسیت ماده‌ها قبل از نرها بروز نموده است[1].

میان دوره درمان و میزان دوز لازم برای رسیدن به تغییر جنسیت رابطه معکوس وجود دارد. بطورکلی، مقایسه مقدار دوز نسبی بدست آمده از مقالات به دلیل تغییرات فراوان موجود در پروتکل‌های پیشنهادی، مشکل می‌باشد اما آزمایشهای انجام شده دوز استروژن را بیشتر از ۵۰۰ میلیگرم بر کیلوگرم غذا نشان داده است. در روش درمان غذایی، دوز مصرف شده به جذب غذا بر اساس درصد وزن ماهی، دفعات تغذیه و میزان تغذیه بستگی دارد. تیمارهای کوتاه‌مدت (برای چند ساعت) معمولا به شکل غوطه‌ورسازی و درمان‌های طولانی‌مدتی که معمولا برای روزها یا حتی ماهها بطول می‌انجامد، به شکل درمان غذایی می‌باشد. میزان دوز مصرفی در خصوص ماهی کپور ۱۰۰m استروژن ۱۷آلفا- متیل تستوسترون در کیلوگرم غذای روزانه و برای ماهی تیلاپیا به میزان ۱۰۰ mg آندروژن ۱۷آلفا- اتینیل استرادیول و ۲۰۰-۵۰mg بتا- ایترادیول در کیلوگرم غذای روزانه بوده است.

[1] - Yousefian, 2005

جدول ٤-٦- تیمار مؤثر با استروژن طبیعی و مصنوعی برای تمایز جنسی به ماده

گونه	R	استروژن ها	دوز	زمان	دوره	ماده(درصد)
Anguilla Anguilla	D	EE_2	۱۰mg/kg	بچه مارماهی ٦-۸cm	٦ ماه	۹۱(<۵)
	D	E_2	۲۵mg/kg	۲-۷g	۹۱ روز	۷۸(۵۲)
A. Japonicus	D	E_2	۲۵-۷۵mg/kg	۹-۱۰Cm	۷۰-۸۵ روز	۹۵-۱۰۰(٦)
Cyprinus carpio	D	E_2	۲۰۰mg/kg	۱dph	۱۳۱ روز	(۵۱) غیربارور ٤۲+٤۳
	D	DES	۲۰۰mg/kg	۵dph	۳۰ روز	غیربارور۱۷+۲۳
Carassius auratus	D	$E_۱$	۱۰۰mg/kg	اولین تغذیه	٦۰ روز	۱۰۰
Misgurmus mizolepis	۱	E_2	۲۰۰µg/l	۱dph	۲۱ روز	۱۰۰(۵۲)
Ictalurus punctatus	D	E_2	٦۰mg/kg	جذب کیسه زرده	۲۱ روز	۱۰۰(٤۹)
Clarias lazera	D	E_2	۱۰۰mg/kg	۲dph	۹۰ روز	۱۰۰(٤۹)
Oncorhynchus mykiss	D	E_2	۲۰mg/kg	اولین تغذیه	۳۰ روز	۱۰۰(٤۷)
	D	Hexestrol	۰/۸mg/kg	شنای فعال لارو	۹۰ روز	۹۰(۵۰)
Salmo salar	D	E_2	۲۰mg/kg	٤۵-۱۵ روز پس از اولین تغذیه	۳۰ روز	۱۰۰(۵۰)
O. keta	۱	E_2	۱µg/l	۳٤-۱۰۰dph	٦٦ روز	۱۰۰(۵۳)
O. kisutch	۱	E_2	٤۰۰µg/l	٦dph و ٤	روزانه ۲ ساعت	۱۰۰(٤۹)
O. masou	۱	E_2	۰/۵µg/l	۵-۲۲dph	۱۷روز	۱۰۰(٤۹)
O. tshawytscha	۱	E_2	٤۰۰µg/l	۱dph	۸ ساعت	۱۰۰(۵۰)
Salvelinus namaycush	D	E_2	۱۲mg/kg	بچه ماهی	۱۲روز	۸۰
S. fontinalis	D	E_2	۲۰mg/kg	اولین تغذیه	٦۰ روز	۹۰(۵٤)
Mugil cephalus	D	E_2	۱-۱۵mg/kg ۸-۱۲۰mg/kg	٦ ماهگی	٤ماه + ٤	۱۰۰
Odontesthes bonariensis	D	E_2	۲۰mg/kg	۲۸dph	۷۷ روز	۹۰(۵۰)

۹-٦- میزان مصرف استروئیدها و تاثیر آن در نسبت‌های جنسی و ماهیت جنسی ثانویه

ارزیابی تاثیر درمان از نظر تغییر جنسیت، از طریق مرفولوژی یا بافت شناسی در بچه ماهی‌های نورس انجام می‌گیرد. در گونه‌هایی که در آن، نرها ماهیت‌های جنسی ثانویه از قبیل اصلاح تغییر باله‌های مخرجی، رنگ متفاوت و غیره از خود بروز می‌دهند، تغییر یا فقدان اینگونه ویژگیها می‌تواند نشانه مفیدی از اثرات درمانی استروژن محسوب گردد. وجود ماهیان هرمافرودیت یا دو جنسی که دارای تخمدان و بیضه در گناد هستند، در نتیجه اثر ناکامل و ناکافی تیمار می‌باشد که به دلیل میزان اشتباه یا میزان کم استروئید بوده است. در بعضی از موارد درمان ماهی با استروژن می‌توانند سبب ظهور یک القاء منطقه‌ای جزئی تخمدان در ژنوتیپ نرهایی شود که خصوصیت جنس ماده را نداشتند یا در تغییر جنسیت ماده به نر، کانال‌های اسپرم بر تکامل نیافته که بناچار اسپرم از طریق جراحی گناد بدست آید. برای کاهش استفاده از هورمون در آبزی پروری جهت تغییر جنسیت، در مواردی که مکانیزم تعیین جنسیت در گونه بر اساس سیستم (xx , xy – ماده هموزیگوت) است، روش غیرمستقیم ماده‌سازی (روش دستکاری کروموزومی) ترجیح دارد. در استفاده از شیوه مستقیم توصیه می‌شود که فقط از استروژن طبیعی E2 استفاده شده و نیز درمان در طول دوره ناپایدار که قبلا تاثیر آن ثابت شده، انجام گیرد. این دو مورد طول درمان و دوز را کاهش داده و بنابراین موجود کمتر در معرض استروئید قرار می‌گیرد.

«فصل ۷»

مهندسی ژنتیک

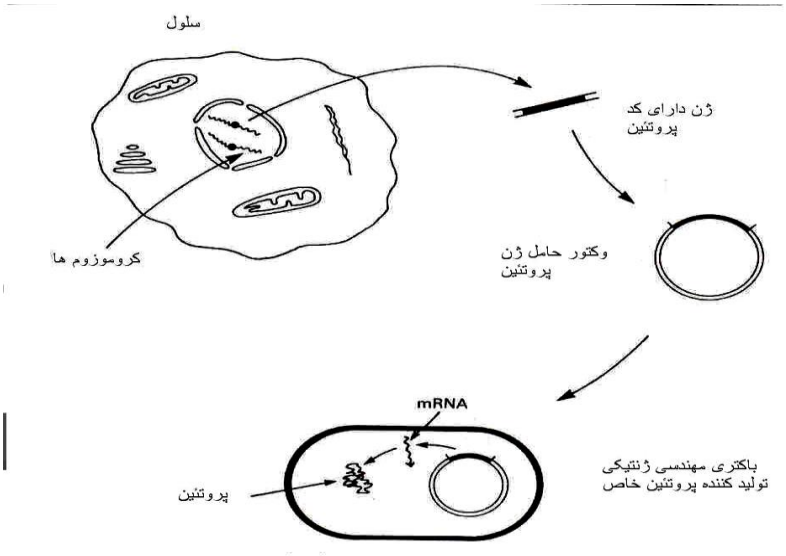
مقدمه

پس از کشف DNA، رشته های جدیدی در علم زیست شناسی بوجود آمد که زیست شناسی مولکول نام گرفت که به بررسی ساختمان و مکانیزم عمل ژن‌های می‌پردازد و متعاقب آن به مطالعه تغییرات ژنوم و بروز بیماری‌های ژنتیکی در موجود زنده پرداخته شد. ادغام این دو مبحث، رشته‌ای به نام مهندسی ژنتیک را بوجود آورد. پایه اصلی مهندسی ژنتیک بر این اصل استوار است که با انتقال ژنی به درون ذخیره ژنی یک ارگانیزم، آن ارگانیسم را وادار می‌کند که در شرایط محیطی مناسب برای بیان آن ژن به دستورات آن ژن عمل کند که می‌تواند بروز یک صنعت یا ساختار شدن یک ماده بیوشیمیایی و غیره باشد (تصویر ۱-۷). امروزه مهندسی ژنتیک خدمات شایان ذکری را به بشر ارائه کرده که در تصویر دیروز او نمی‌گنجید و امری محال بشمار می‌آمد.

از برجسته‌ترین خدمات این علم در رشته شیلات در حال حاضر می‌توان موارد ذیل را برشمرد. اصلاح نژاد ماهی که موجب بالا رفتن سطح کیفیت و کمیت تولید گردیده است، تهیه دارو و هورمون با درجه خلوص بالا و صرف هزینه پائین، تولید ماهیان مقاوم به سرما از دستاوردهای مهندسی ژنتیک محسوب می‌شود.

۱-۷- مراحل مهندسی ژنتیک

مهندسی ژنتیک شامل روش‌هایی مانند جداسازی، خالص‌سازی، وارد کردن و بیان یک ژن خاص در یک میزبان است که منجر به ایجاد یک صفت جدید یا تولید محصول موردنظر می‌شود.



تصویر ۱-۷- نمائی از امکان تولید پروتئین حیوانی توسط باکتری

۱-۱-۷- خالص سازی DNA

با شیوه‌های متفاوت می‌توان DNA را از تمام مولکول‌های همراه آن مثل پروتئین ها، قندها و چربی‌ها جدا نمود (تصویر ۲-۷). دستورالعمل‌های اجرائی جداسازی DNA در دستورالعمل‌های آزمایشگاهی مهندسی ژنتیک وجود دارد.

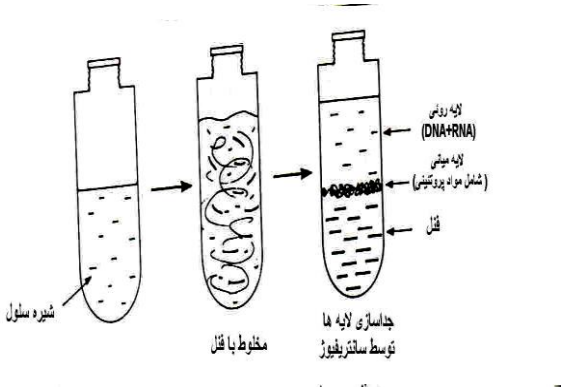
۲-۱-۷- جداسازی ژن

آنزیم‌های اندونوکلئاز[1] مولکول DNA را در نقاط خاصی به نام «محل شناسایی»[2] برش داده و به قطعات کوچکتری تقسیم می‌نماید. این آنزیم دارای چندین گروه یا کلاس هستند که کلاس دو این

[1] - Endonuclease
[2] - Recognition site

گروه، آنزیم‌های محدودکننده یا محدودالاثر یا محدودگر[1] توالی‌های مورد شناسایی‌شان را بطور نامتقارن می‌برند. در نتیجه در انتهای قطعات حاصله تک رشته‌های DNA با ٦ـ٤ نوکلئوتید بوجود می‌آید که بازهای آن با هم مترادف می‌باشند، به این انتهای تک‌رشته‌ای، انتهای چسبیده[2] می‌گویند. این آنزیمها معمولاً بر اساس باکتری‌هایی که از آن استخراج شده‌اند، نامگذاری گردیده‌اند.

حال اگر دو قطعه DNA (از DNA موردنظر) توسط یک انزیم محدودکننده یکسان برش داده شود، در شرایط مناسب انتهای چسبیده دو DNA که مکمل هم می‌باشند بهم متصل می‌شوند (تصویر۳-۷).

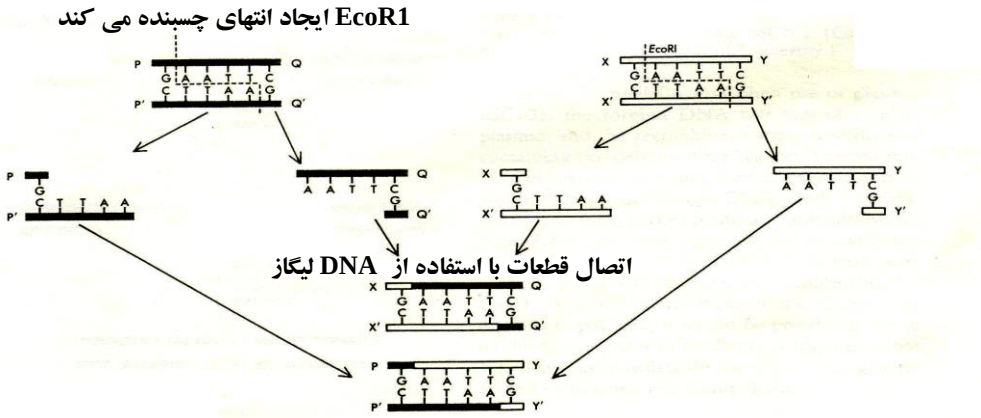


تصویر ۲-۷- خارج سازی پروتئین توسط فنل

جدول ۱-۷- نام باکتری ، نام آنزیم و محل تشخیص برش توسط آنزیم

منشاء	نام آنزیم	محل تشخیص 3/ ____/5
Escherichia coli	**EcoRI**	**G! AATTC**
Bacillus amyiolyticus	**BamHI**	**G! GATCC**
Haemophylus influenseRf	**HindIII**	**A! AGCTT**
Bacillus globigii	**Bgl/II**	**A!GATCT**
Proteus vulgaris	**PvuI**	**C!GATCG**
Proteus vulgaris	**PvuII**	**C! AGCTG**
Haemophylus influenseRf	**Hinff**	**G!ANTC**
Staphylococcus aureus	**Sau3A**	**G!ATC**
Thermus aquaticus	**TagI**	**T!CGA**
Nocardia otitidis-caviarum	**NotI**	**G!CGGCCGC**

[1] - Restriction enzyme
[2] - Sticky end



تصویر ۳-۷- آنزیم EcoR1 با روش متقارن DNA را بریده و دو انتهای چسبنده ایجاد می‌کند. دو انتهای چسبنده می‌توانند با دو انتهای چسبنده DNAی دیگر که توسط همین آنزیم بریده شده، متصل گردد.

سپس آنزیم لیگاز می‌تواند این رشته ها را به صورت کووالانسی بهم متصل کند. به منظور جلوگیری از اتصال یک انتهای چسبیده یک مولکول DNA به انتهای دیگر چسبنده خود، آنزیم محدود کننده فسفاتاز به محیط واکنش افزوده می‌شود و در نتیجه فسفات انتهای $5'$ مولکول DNA در هر دو طرف جدا می‌شود و امکان اتصال دو سر مولکول میزبان بدون DNA مورد نظر به یکدیگر از بین می‌رود.

۳-۱-۷- کلون کردن

ژنها زمانی می‌توانند تکثیر شوند که در سلول در قالب همانند سازی قرار داشته باشند. انتقال یک ژن مورد نظر به داخل یک حامل ساده و کوچک و تکثیر آن به مقادیر زیاد و خالص از آن ژن، «کلون کردن» نامیده می‌شود(تصویر ٤-٧).

بعد از تهیه DNA خالص، مرحله‌ی بعدی مرحله‌ی کلون کردن ژن بصورت مولکول DNA نوترکیب است . مراحل کلون کردن به شرح ذیل است:

الف ـ جداسازی قطعه DNA موردنظر توسط یک آنزیم محدود کننده

ب ـ اتصال DNA دلخواه به یک حامل کلون[1] در محل برش آنزیم محدودکننده یکسان با DNA دلخواه.

برای ایجاد کلون نوترکیب DNAی هدف و میزبان بایستی در مرحله‌های مخصوصی بریده شده و سپس به روش کنترل شده‌ای به یکدیگر متصل شوند. برش دادن و متصل کردن دو مثال از روش‌های دستکاری DNA می‌باشد و علاوه بر آن DNA می‌تواند کوتاه شود، طویل گردد یا به صورت مولکول‌های RNA یا DNAی خالص جدید کپی شود و از طریق افزودن یا حذف کردن نوکلئوتیدها یا گروه‌های شیمیایی خاصی تعدیل گردد. این دستکاریها را می‌توان در لوله آزمایش انجام داد. بر اساس این توانمندی‌ها، می‌توان ساختمان ژن و کنترل تظاهر ژن را تعیین نمود.

ج ـ انتقال نوترکیب فوق به باکتری یا فاژ مناسب

د ـ شناسایی و جداسازی باکتریها (یا میزبان موردنظر) که حامل کلون دارای ژن دلخواه (تصویر ۵-۷)

هـ ـ کشت باکتری به منظور استخرج DNAی زیاد با توجه به سرعت تکثیر فراوان باکتری

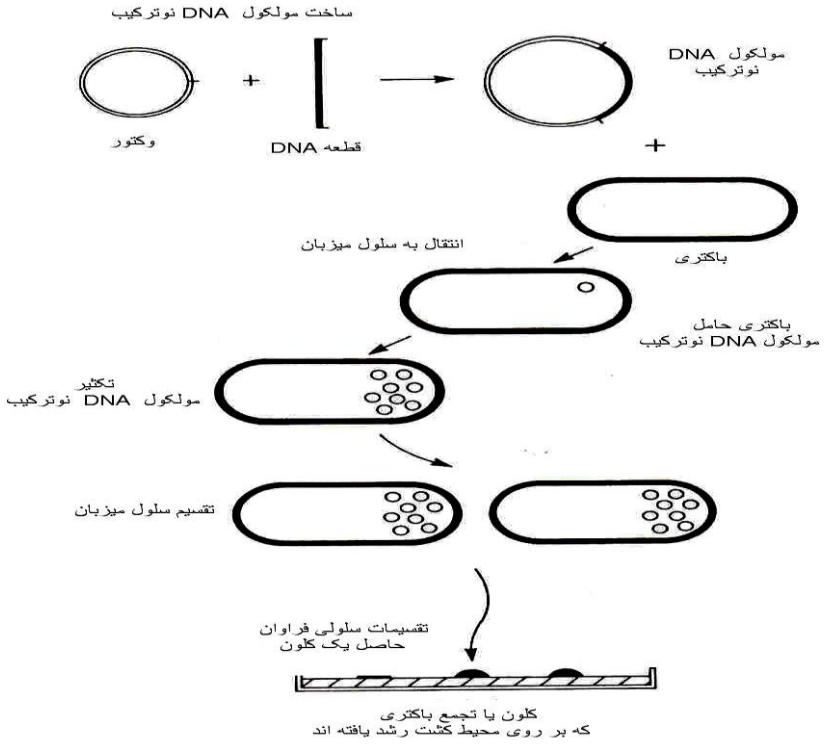
حامل‌های کلون معمولاً از خصوصیات بیولوژیک موجودات انتخاب می‌شوند که در این خصوص پلاسمیدها و فاژها متداولترین آنها هستند.

پلاسمید: مولکول‌های DNA دو رشته ای کوچک حلقوی هستند که در داخل باکتری خود و مستقل از کروموزوم باکتری قادر به همانند سازی و تکثیر می‌باشند. پلاسمیدهای پایه برای کلونینگ PBR 322 و PUC می‌باشد.

پلاسمیدها معمولاً حامل یک ژن می باشند که باکتری‌هایی که آنها را دربردارند، صفت مقاومت به آنتی بیوتیک می‌دهند، در حقیقت پلاسمیدها این توان را به باکتری می‌دهند که DNAهای غریبه وارد شده به باکتری را تخریب نماید. دارا بودن ژن‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک، شاخصه مفیدی است که جداسازی کلنی‌های حاوی پلاسمید را آسان‌تر می‌کند (تصویر ٦-۷).

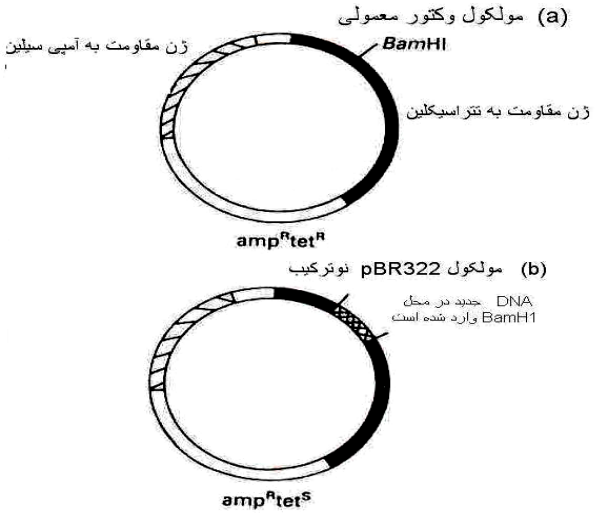
[1] - Cloning vector

فاژ: فاژها نیز مانند پلاسمید حامل‌های کلون مناسبی هستند زیرا سرعت تکثیر شـدیدی دارنـد. فاژهـا ویروس‌های باکتریها هستند و به آنها حمله می‌کنند و تکثیر می‌شوند. دو باکتریوفـاژ معـروف M13 و فاژ لامبدا[1] هستند.



تصویر ٤-٧- مراحل اصلی در کلون ژن

[1] - Lambda phage



تصویر ۵-۷- جداسازی باکتری‌های حامل کلون های حاوی ژن هدف

ویروسها دارای پروموتورهای خاصی هستند که بوسیله سلول‌های میزبان شناخته شده و عمل می‌کنند و این سبب بیان مناسب ژن‌های کلون شده می‌شود.

کازمیدها[1] و فاسمید ها[2] دو نوع دیگر از حامل‌های DNA نوترکیب هستند که در انتقال ژن بکار می‌روند.

کازمیدها: دو انتهای ژنوم باکتریوفاژ لامبدا که به دو انتهای ژنوم متصل می‌شود و وقتی وارد سلول ایکلای گردید، بصورت حلقوی مانند یک پلاسمید عمل می‌کند.

فاسمید: ترکیبی از ژنوم باکتریوفاژ و پلاسمید هستند. پلاسمید و فاژ دارای چندین محل تشخیص (RE) هستند.

[1] - Cosmids
[2] - Fasmid

٤-۱-۷- وارد کردن حامل‌های ژنی به داخل میزبان

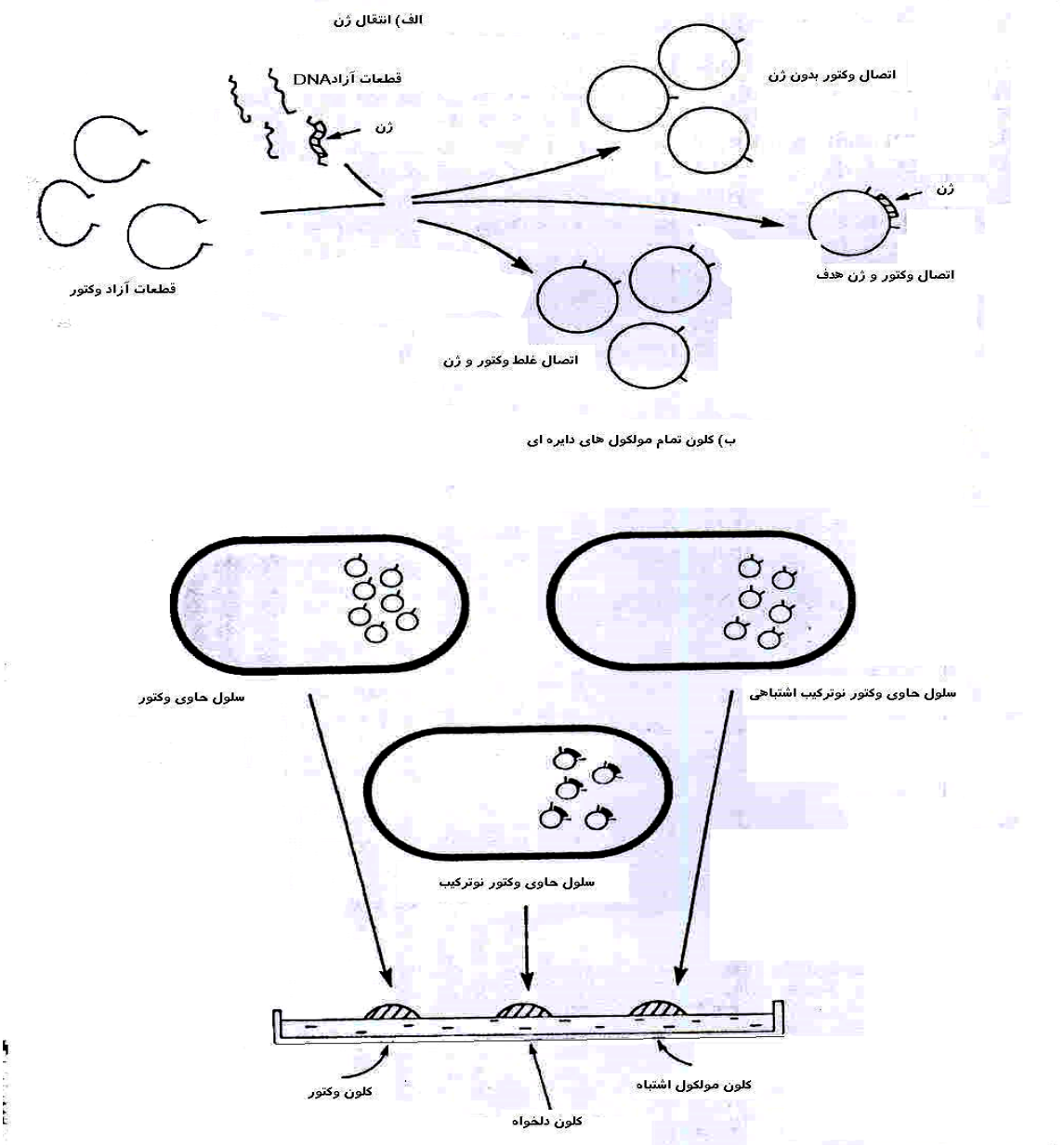
انتخاب میزبان مناسب اولین گام در این مرحله است. معمولاً از باکتری ایکلای به عنوان میزبان حامل استفاده می‌شود زیرا مطالعات فیزیولوژیک و زیستی آن انجام شده و ژنوم آن معلوم است و توانایی پذیرفتن DNA خارجی را دارد. انتقال مولکول نوترکیب همراه با پلاسمید (حامل) را به داخل سلول باکتری «ترانسفورماسیون»[1] و در مورد DNAی فاژ «ترانسفکسیون»[2] گویند. عمل انتقال در آزمایشگاه تحت شرایط ویژه (شوک های حرارتی گرمائی و سرمائی) و در حضور کلسیم و مواد شیمیایی دیگر صورت می‌گیرد.

٥-۱-۷- تعیین کلون[3]

پس از انتقال DNA نوترکیب در داخل باکتری، باید این باکتری‌ها شناسایی و خالص‌سازی شوند. معمولاً به همراه ژن موردنظر یک شاخص انتخابی (مارکر فنوتیپی) نیز در حامل وارد می‌گردد. این شاخص‌های انتخابی ممکن است مقاومت به آنتی‌بیوتیک یا نیازمندی متابولیز می‌باشد. همراه انتقال ژن نوترکیب به محل ژن کدگذاری می‌شود. برای مقاومت به آنتی‌بیوتیک (یا سایر خواص فنوتیپی)، معمولاً بوسیله آنزیمها و پروتئین‌های ویژه سبب غیرفعال شدن یا ممانعت اثر آنتی بیوتیک می‌شود. هر دو نوع مکانیزم فوق بوسیله ژن کنترل می‌شوند. این قطعات ژنی را می‌توان بهمراه ژن مورد نیاز در حامل‌ها وارد کرد و از آن به عنوان شاخص انتقال استفاده کرد. همین حالت بر اساس نیازهای متابولیز می‌تواند انجام گیرد. برای مثال، در صورتی که باکتری آنزیم شکستن مولکول لاکتوز و تبدیل آنرا به قند ساده‌تر نداشته باشد، در محیط لاکتوز رشد نمی‌کند ولی حامل حاوی ژن آنزیم شکستن لاکتوز، در این محیط رشد می‌کند و پس از انتخاب کلنی های حامل نوترکیب، آنها را کشت داده و سپس ژن تکثیر شده را برای بررسی‌های بعدی استخراج می‌کنند.

---

[1] - Transformation
[2] - Transfection
[3] -Cloning



تصویر ٦-٧ -پلاسمید دارای محل تشخیص آنزیم محدودالاثر و ژن‌های مقاومت به آنتی‌بیوتیک

۲-۷- کاربردهای فناوری زیستی در ژنتیک آبزیان

بیوتکنولوژی (فناوری زیستی)، به توانایی بکارگیری فرآیندهای زیستی در بعد صنعتی تعریف می‌شود و کاربردهای فراوانی در عرصه شیلات دارد. سابقه علم بیوتکنولوژی به هزاران سال قبل، در استفاده از میکروارگانیزمها برمی‌گردد. در دوره حاضر بیوتکنولوژی زمینه جدیدی را برای رشد پیدا نمود که بر اثر پیشرفت‌های حاصل از فن آوری، برش و اتصال مولکول DNA و تولید فراوان فرآورده‌های DNA دلخواه می‌باشد. برخی از توانمندی‌های بیولوژیک در علوم شیلاتی به شرح ذیل می بشد.

۱- ۲-۷- تولید ماهیان تراریخته

آنزیم‌های محدود کننده، این امکان را فراهم نمود که با وارد کردن ردیف‌های ژنی در DNA در سلول ماهیان دیگر (در مراحل اولیه تقسیمات سلولی)، ماهیان با ژن‌های مخلوط ایجاد گردد. اساس کلی انتقال ژن در ماهی بر این مبنا استوار است که ژن بطور مؤثر به سلول‌های مراحل اولیه تقسیم تخم لقاح یافته منتقل گردد. بدین طریق نمونه از دیواره تخم عبور کرده و در داخل هسته جای می‌گیرد، در جایی که امکان بیان ژن مقدور باشد. سیستم‌های انتقال ژن شامل روش‌های فیزیکی، روش‌های غیر ویروسی و روش‌های ویروسی است.

۱-۱- ۲-۷- روش‌های انتقال ژن فیزیکی

روش های انتقال فیزیکی ژن را می‌توان به شرح ذیل نام برد.

الف- تزریق بدون سوزن

ب- تزریق با سوزن[1]

ج- نفوذ الکتریکی[2]

د- تفنگ میکروسکوپی[3]

ه- سیستم های انتقال ژن غیر ویروسی

[1] - Microinjection
[2] - Electriporation
[3] - Microscopic gun

۲-۱-۲-۷- روش‌های انتقال ژن غیر ویروسی

کارایی انتقال ژن به روش غیرویروسی کمتر از روش ویروسی می‌باشد ولی این سیستم دارای مزیت‌هایی است که دلایل انعطاف‌پذیری نسبت به اندازه DNA منتقل شده، ارزانی روش و حفظ سلامتی بهتر برای موجود می‌باشد. روش‌های سیستم‌های‌انتقال‌ژن غیرویروسی شامل موارد ذیل است.

الف- DNA خالص

ب ـ DNA مخلوط با چربی که خود شامل

- لیپید آنیونی
- لیپید کاتیونی
- لیپوزوم‌های کاتیونی

ج ـ DNA ذرات متراکم شده با پلی مرهای کاتیونی

د ـ سیستم انتقال ژن وابسته به گیرنده

ه ـ وکتورهای قابل تکثیر خارج کروموزم

۳-۱-۲-۷- روش‌های انتقال ویروسی

ویروسها قادرند از دیواره تخم عبور نموده و در داخل هسته جای گیرند و در آنجا امکان بیان ژن ویروسی اتفاق می‌افتد. اساس انتقال ژن توسط ویروس بر مبنای تکنیک نوترکیبی است که سبب تولید وکتورهای ویروسی ضعیف شده می‌گردد و در این روش از خاصیت عفونت‌زدایی ویروسی‌برای انتقال ژن بهره گرفته می شود. ویروس‌های ذیل برای انتقال ژن استفاده می‌گردد.

- آدنوویروسها
- آنتی ویروسها
- رترو ویروسها
- ویروس‌های مجتمع با آدنو[1]
- هرپس ویروسها

[1] - adeno-associated

٤-١- ٢-٧- روش‌های روش‌های متداول در ماهی

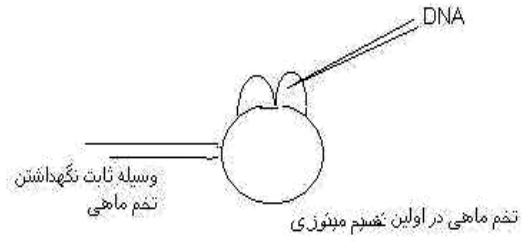
در بین سیستم‌های فوق روش‌های ذیل برای انتقال ژن به ماهی متداولتر هستند:

الف ـ ریزتزریقی[1]

ریزتزریقی یکی از روش‌های فیزیکی انتقال DNA است و ممکن است در داخل تخمک یا تخم لقاح یافته در داخل سیتوپلاسم یا هسته انجام گیرد. در این روش پس از برداشت پوسته روئی تخم، در زیر میکروسکوپ تخم ثابت نگهداشته و سپس با یک سرنگ بسیار ظریف، DNA به داخل سیتوپلاسم یا مستقیما به هسته تزریق می‌شود(تصویر ۷-۷).

ب ـ لیپوزوم[2]

در این روش ابتدا پلاسمید حامل ژن نوترکیب به روغن مخصوصی اضافه گردیده و تخم ماهی پس از لقاح در داخل آن قرار می‌گیرد. پلاسمیدها از ناحیه قطب حیوانی سلول وارد سلول گردیده و بیان ژن توسط شاخص‌های انتخابی، معرف موفقیت در انتقال ژن می‌باشد. درصد موفقیت پس از ۳ روز بعد از تفریخ ۹۰-۶۰ درصد و پس از سه هفته ۲۰ درصد گزارش گردیده است.



تصویر ۷-۷- ریز تزریقی در تخم ماهی

[1] - Microinjection
[2] - Liposome

ج- *نفوذ الکتریکی*[1]

در این روش قطعات DNA را در یک محیط دارای بار الکتریکی در مجاورت سلول قرار می‌دهند. بار الکتریکی سبب ایجاد منافذ ریز در غشاء سیتوپلاسمی می‌شود که خود موجب تسهیل ورود قطعات DNA به داخل سلول می‌گردد.

در روش دیگر، پلاسمید حامل به همراه اسپرم در یک میدان الکتریکی قرار گرفته (تصویر ۸-۸) و با برقراری جریان الکتریکی، پلاسمید بر اثر ولتاژ زیاد به سمت اسپرم پرتاب شده و به آن می‌چسبد یا در آن فرو می رود. سپس این مجموعه اسپرم با تخم‌های ماهی لقاح داده می‌شود. مزیت روش شوک الکتریکی آن است که در عرض مدت کوتاهی می‌توان نسبت به انتقال ژن

تصویر ۸-۷- القای نفوذ الکتریکی برای انتقال DNA به داخل سلول

به تعداد زیادی تخم ماهی اقدام نمود. موارد موفقیت این شیوه در خصوص ماهی تیلاپیا و ماهی زبرا گزارش شده است.

د ـ تفنگ میکروسکوپی

در این روش، تفنگی ظریف و میکروسکوپی، قطعات DNA را بصورت گلوله های این تفنگ، به داخل سلول شلیک می‌کند.

---

[1] - Electroporation

ه- انکوباسیون[1]

برای اینکار DNA نوترکیب را با سلول مجاور می‌کنند و با القای شوک‌های حرارتی و تغییر pH و افزودن برخی مواد، نفوذپذیری سلول را افزایش می‌دهند، به این طریق یا عمل ترانسفورماسیون، DNA ی نوترکیب وارد سلول می‌شود.

و- پیوند هسته[2]

در این روش، هسته سلول‌های زیگوت در مراحل اولیه تقسیم از ۲ تا ۸ تایی، سلول‌هایی هستند که به نام سلول‌های هم‌توان[3] مشهورند و به داخل تخم سلول تخم غیربارور منتقل می‌شود. مراحل انتقال سلول به شرح ذیل است:

۱ـ انتخاب یک تخم ماهی در حال تقسیم (برای مثال ماهی سفید معمولی)

۲- حذف پوسته بیرونی با استفاده از سوزنی نوک تیز یا آنزیم

۳ـ جداسازی سلولی با تکان‌های آرام ظروف محتوی تخم ماهی

٤ـ انتقال هر یک از سلول‌های تخم به تخم‌های ماهی فاقد هسته که در تیمارهای موازی بدست آمده است.

۵ـ در این مرحله تخم‌های پیوندی باید بدون حرکت باقی بمانند تا سلول‌های پیوندی از قطب گیاهی جدا نشوند که بعدها آنها کیسه زرده را تشکیل می‌دهند. ایجاد محیط استرسیل و دقت عمل، تضمین موفقیت این روش است. جهت بررسی کیسه زرده در ماهیان مختلف و نقش آن در تکامل ماهی در مراحل اولیه رشد می‌توان سلول را به تخم‌های فاقد سلول سایر گونه‌ها نیز پیوند زد. انجام اینگونه تحقیقات در مورد ماهی کپور، سس ماهی و تیلاپیا گزارش شده است. از مزایای این عمل کاهش فاصله نسل و استفاده از تعداد محدودی از حیوانات مناسب و در نتیجه پیشرفت ژنتیکی سریع در گله است.

---

[1] - Incubation
[2] - Nuclear transplantation
[3] - totipotent

ز- ویروس حامل

استفاده از ویروسی که بیماری زا نباشد و برای ماهی نیز مضر نباشند، وسیله مناسبی برای انتقال ژن می باشد. برای اجرای این روش بخصوص از رتروویروسها[1] استفاده میگردد.

۲-۲-۷- تعیین تنوع ژنتیکی

تعیین تنوع ژنتیکی از طریق فنوتیپ یک گونه که در روش‌های کمی و کیفی شرح داده شد به دلیل تأثیر عوامل محیطی، تفسیر صحیح و دقیقی را ارائه نمی دهند. استفاده از شیوه ژنتیکی یا کروموزومی نیز در بسیاری از ماهیان مانند ماهیان خاویاری به دلیل تنوع در تعداد و شکل کروموزم در افراد یک گونه، مشکلات فراوانی را بهمراه دارد. اما با استفاده از نشانگرهای مولکولی، تنوع در موجودات را نسبت به روش‌های قبلی بهتر می توان نشان داد. با استفاده از این شیوه، فراوانی آلل و ژنوتیپ یا تنوع درون جمعیت و فاصله ژنتیکی یا تنوع بین جمعیت قابل محاسبه می باشد. نشانگرهای مولکولی را در سطح پروتئین و DNA می توان انجام داد.

۱-۲-۲-۷- نشانگرهای پروتئینی

پروتئینها مولکوهای بارداری هستند که بر اساس وزن مولکولی و نقطه ایزوالکتریک در یک میدان الکتریکی قابل جداسازی هستند. نسبت بار الکتریکی به وزن مولکولی پروتئین‌های مختلف نیز یکسان نیست که موجب تفاوت نرخ حرکتی آنها در محیط قابل تفکیک (ژل ها) خواهد شد.

جداسازی این مولکول با روش‌های الکتروفورز و کروماتوگرافی صورت می‌گیرد که پس از رنگ‌آمیزی ژلها، سرعت مهاجرت و اندازه پروتئین روی ژل آشکار می‌گردد. با توجه به تنوعی که در پروتئین‌های ماهیان وجود دارد، این نشانگرها از خود تنوع نشان داده که از نظر ژنتیکی قابل تجزیه و تحلیل هستند. توسعه تکنیک‌های بیوشیمیائی بویژه در زمینه الکتروفورز پس از دهه ۸۰ توانست تفاوت‌های ژنتیکی و ساختار جمعیت و روابط تکاملی بسیاری از ماهیان را بطور مستقیم ارزیابی کند. یک ماهی در یک لوکوس، آلل‌های متفاوتی دارد که هر آللی بیان کننده یک پروتئین قابل تشخیص است. این پدیده به ما اجازه می دهد که ژنوتیپ یک موجود را بر اساس الگوی رنگ روی ژل (باند)

[1] - Retrovirous

تشخیص دهیم. این شیوه طی دو دهه گذشته بطور وسیع در مطالعات ژنتیکی ماهیان داخلی مورد استفاده قرار گرفته که برای مثال به مطالعات الکتروفورتیک ماهی کپور معمولی، کپور ماهیان چینی، گاو ماهی ، ماهی سفید، باربوس ماهیان، ماهی آزاد و بسیاری از ماهیان دیگر با استفاده از پروتئین کل یا ترانسفرین می‌توان اشاره کرد.

در بررسی آلل‌های پروتئین، وجود باندهای آلبومین و سه باند گلوبولین و زیر باندهای زیاد این چهار باند اصلی توسط ژل پلی اکریل آمید در کپور نقره ای، کپور معمولی، کپور سرگنده ، ماهی سفید آشکار گردید.در خصوص ترنسفرین نیز باند های C, B, A در ماهیان فوق دیده شد. در بررسی ماهی کپور دریائی و پرورشی، نمونه‌های صید شده از دریا بطور عمده با ژنوتیپ غالب BB بوده و نمونه‌های ماهیان پرورشی با ژنوتیپ های متنوع از جمله AA, AB, AC, BC, CC بوده‌اند.

آنزیم‌های موجود در یک ماهی نیز ممکن است متفاوت باشند، فرم‌های مولکولی متفاوت یک آنزیم در یک فرد را ایزوزایم می‌نامند، آلوزایم‌ها به زیرگروه ایزوزایم‌ها اطلاق می‌شوند که از آلل‌های مختلف در یک لوکوس معین ایجاد می‌شود. آنزیم‌ها مهمترین کاربرد را در تنوع درون‌گونه‌ای در آبزیان داشته و آنزیم‌هایی مانند استراز، LDH و MDH در تشخیص گروههای ماهیان دورگه و مطالعات سطوح تنوع ژنتیکی در گونه‌های آب شیرین و دریایی ایران استفاده گردیده است. در خصوص LDH، نمونه‌برداری از نقاط متفاوت بدن کپور ماهیان چینی و کپور معمولی انجام گرفت و ضمن تشخیص آلل‌های یکسان LDH-A و LDH-B در هر سه نوع ماهی، جایگاه لوکوس LDH در ماهیان متفاوت تفاوت داشت. همین حالت برای آنزیم MDH نیز وجود داشت. آنزیم استراز به مانند ترانسفرین، مارکر بسیار مهمی در تشخیص جامه‌های نمونه‌برداری و گونه‌های مختلف می‌باشد.

۲-۲-۲-۷- نشانگرهای مولکولی

علم ژنتیک مولکولی درآبزیان می‌کوشد با پرده‌برداری از سیما و ساختار ژنها، نقش دقیق آنها را در آبزیان شناسائی و چگونگی تغییراتشان را در سطح مولکولی بررسی نماید.

شناسایی طبیعت کنترل صفات، نه تنها دستاوردهای علمی عمده‌ای را درتشخیص و علل ایجاد جمعیتهای مختلف آبزیان بهمراه داشته بلکه در آبزی‌پروری برنامه‌های اصلاحی را به یک بازده مناسب هدایت خواهد نمود که این دیدگاه به عنوان انتخاب به کمک نشانگر کاربرد یافته است.

۱- ژنتیک مولکول و بیوشیمی شکاف و نقایص ژنتیک کمی را پر کرده و درک ما را از علل تغییرات کمی در سطح ژن بالا برده است.

در برنامه‌های اصلاح نژاد، مارکر یا نشانگر مولکولی عبارتست از تفاوت در توالی نوکلئوتیدهای DNA است. این قطعه ویژه متعلق به ژن یا ژن‌هایی است که بطور معنی‌داری در تنوع بین حیوانات سهیم هستند و در نتیجه ممکن است بین قطعه ویژه‌ای که نتاج از والدین دریافت می‌نمایند و عملکرد نتاج، یک ارتباط مشاهده شود، در نتیجه می‌توان نتایج را بر اساس قطعه کروموزومی دریافت‌کننده از والدین انتخاب کرد.

بنابراین، خود نشانگر معمولاً در عملکرد حیوان بی‌تأثیر است ولی با یک ژن تأثیرگذار در عملکرد حیوان یا توالی مجاور متصل به QTL آن را ارزشمند می‌کند.

ما با استفاده از نشانگر ژنتیکی مستقیماً روی تنوع ژنتیکی نگرش داشته و با شناسایی تنوع در سطح DNA، قادر خواهیم بود تفاوت صحیح ژنتیکی دو فرد را بررسی کنیم.

روش مناسب ترکیب اطلاعات حاصل از نشانگرهای ژنتیکی با روش‌های آماری می‌باشد و سبب افزایش دقت و کاهش فاصله نسل و در نهایت افزیش پاسخ به انتخاب می‌گردد. مزیت انتخاب به کمک نشانگر در یک صفت نسبت به روش‌های انتخاب بر اساس فنوتیپ، بستگی به وراثت‌پذیری صفت دارد.

نشانگرهای مولکولی DNA، بر مبنای توالی DNA و تناوب در سطح نوکلوئیدها (A.G.C.T) می‌باشند. از آنجاییکه این مطالعات در مورد DNA صورت می‌گیرد و به دلیل دقت و سهولت تعیین نشانگرهای DNA و امکان بکارگیری نشانگرها در تمام مراحل زندگی، فروانی آن و عدم تأثیر شرایط محیطی بر آن، کاربرد و میزان موفقیت آن بسیار زیاد است.

نشانگرهای مولکولی DNA یا در سطح ژنوم DNA یا DNA میتوکندری (mt DNA) انجام می‌شود و می‌تواند مبتنی بر PCR یا غیرمبتنی بر PCR باشد. جدول ذیل دسته‌بندی نشانگرهای DNA با استفاده از آغازگر تصادفی یا مشخص ارائه می‌دهد.

بسیاری از شیوه‌های فوق با کمی تغییر نسبت بهم انجام می‌گیرد ، بهرحال، در تمام این شیوه‌ها، تشخیص ترتیب نوکلئوتاید ها و تفاوت آنها و پیدا کردن این تفاوت مورد توجه است.

۱-۲-۲-۲-۷- تشخیص ترتیب نوکلئوتاید[1]

احتمالا مهمترین تکنیکی که بیولوژی مولکولی به آن دست یافته است، روشهائی برای بدست آوردن توالی بازها در یک رشته DNA است. دو روش برای این تکنیک پیشنهاد شده است که به صورت خلاصه در صفحه بعدی شرح داده شده است.

الف- روش سانگر و کولسون

روش سانگر و کولسون[2] به نام روش «پایان زنجیره»[3] نیز نامیده می‌شود. در اجرای این تکنیک، یک DNAی الگوی تک رشته‌ای مورد نیاز است که معمولا کلون آن در یک وکتور فاژ M۱۳ کلون شده است. در این روش آغازگر زنجیره ابتدائی به DNAی مورد نظر پیوند شده (تصویر ۹-۷) و امکان فعالیت در شاخه متقابل DNAی مورد بررسی را می‌دهد. شروع سنتز DNA با اضافه نمودن آنزیم و چهار نوع دزوکسی نوکلئوتید (dATP, dTtp, dGtp, dCtp) شروع می‌شود که معمولا dAtp توسط مواد رادیواکتیو (S-dAtp یا -P) نشاندار شده است. بعلاوه، به هر مخلوط یک نوع متفاوت از دی دزوکسی نوکلئوتید (dideoxy Gtp, dideoxy Ctp, dideoxy Atp, dideoxy Ttp) اضافه می‌گردد. اگر ddAtp به انتهای رشته سنتز DNA اضافه شود، قطعه DNAی در حال تشکیل، در ناحیه تیمیدین[4] رشته الگو متوقف می شود، اما توقف همیشه در اولین T صورت نمی‌گیرد چون dAtp نرمال هم در محیط است. لذا قبل از اینکه ddAtp سبب توقف سنتز DNA شود، قطعات متفاوتی بوجود آمده

[1] - DNA- sequencing
[2] - F.Sanger & A.R.Coulson
[3] - Chain termination
[4] - thymidine

است که تماما بر ddAtp ختم می شوند. شایان ذکر است که ddAtp آنالوگ dAtp است ولی چون فاقد گروه هیدروکسیل در محل ۳ پریم ترکیب قندی است، برای آنزیم DNA پلی‌مراز ادامه سنتز DNA عملی نیست. زیرا این ترکیب برای اتصال نوکلئوتیدی بعدی ضروری است. در سه واکنش دیگر که سایر ddNtp قرار دارند نیز همین حالت برقرار است. در پایان واکنش با آنزیم DNA پلی‌مراز، چهار مخلوط واکنش را در کنار هم روی ژل الکتروفورز قرار داده تا بدین ترتیب زنجیره بر اساس اندازه شان جدا گردند. این قطعات سپس با روش اتورادیوگرافی ظاهر می‌شوند. نحوه خواندن توالی بازها در شکل آورده شده است (تصویر ۱۰-۷).

نشانگرهای DNA بر اساس استفاده از تکنیک‌های غیر از PCR		
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism	
VNTR	Variable Number of Tandom Repeat	
RLGS	Restriction Landmark Genomic Scanning	
نشانگرهای DNA بر اساس استفاده از تکنیک PCR و آغازگر تصادفی		
RAPD	Random Amplification Polymorphism DNA	
DAF	DNA Amplification Fingerprinting	
AFLP	Amplification Fragment Length Polymorphism	
PBR	PCR-RFLP	
نشانگرهای DNA بر اساس استفاده از تکنیک PCR و آغازگر مشخص		
MicroS.	Microsatellit	
SSCP	Single Strand Conformation Polymorphism	
CAPS	Cleavable Amplifie Polymorphism Sequence	
SCAR	Sequence Characterized Amplified Region	
ALP	Amplified Length Polymorphism	
STS	Sequence Tagged Site	
ARMS	Amplification Refactory Mutation System	
ASP	Allel Specific PCR	

ب- روش ماکزام و گیلبرت (A.Maxam & W.Gilbert)

روش ماگزام و گیلبرت بر اساس تجزیه شیمیائی قرار دارد. در این روش از DNAی دو رشته‌ای استفاده می‌شود و برخلاف شیوه سانگر، در مرحله اول به فاژ M۱۳ نیازی نیست. آغازگر نیز مورد استفاده قرار نمی‌گیرد بلکه تعیین ترتیب نوکلئوتایدها بر اساس بریدن DNA

انجام می‌گیرد که توسط مواد شیمیائی صورت می‌گیرد که نوکلئوتاید را در نقطه خاصی می‌برد. در این روش DNA هر دو شاخه DNA در انتهای ۵ پریم با مواد رادیواکتیو فسفاته نشاندار گردیده و سپس در چهار لوله آزمایش DNA نشاندار شده ریخته و به آن دی متیل سولفوکساید اضافه می‌گردد و DNA تا ۹۰ درجه سانتیگراد حرارت داده شده تا دو رشته از هم جدا شوند. دو رشته را توسط ژل الکتروفورز از هم جدا می‌نمایند و توسط مواد شیمیائی که زنجیره DNA را در محل یک نوع نوکلئوتاید تجزیه می‌کند، DNA را قطع می‌کنند. با توجه به اینکه در هر شیشه آزمایش حاوی یک شاخه DNA است که از سویی ثابت و نشاندار شده و از سوی دیگر، در نقاط مختلف بریده شده است لذا مانند حالت قبل، پس از الکتروفورز DNA تک رشته‌ای، ردیف نوکلئوتاید قطعه DNA بدست می‌آید (تصویر ۱۱-۷).

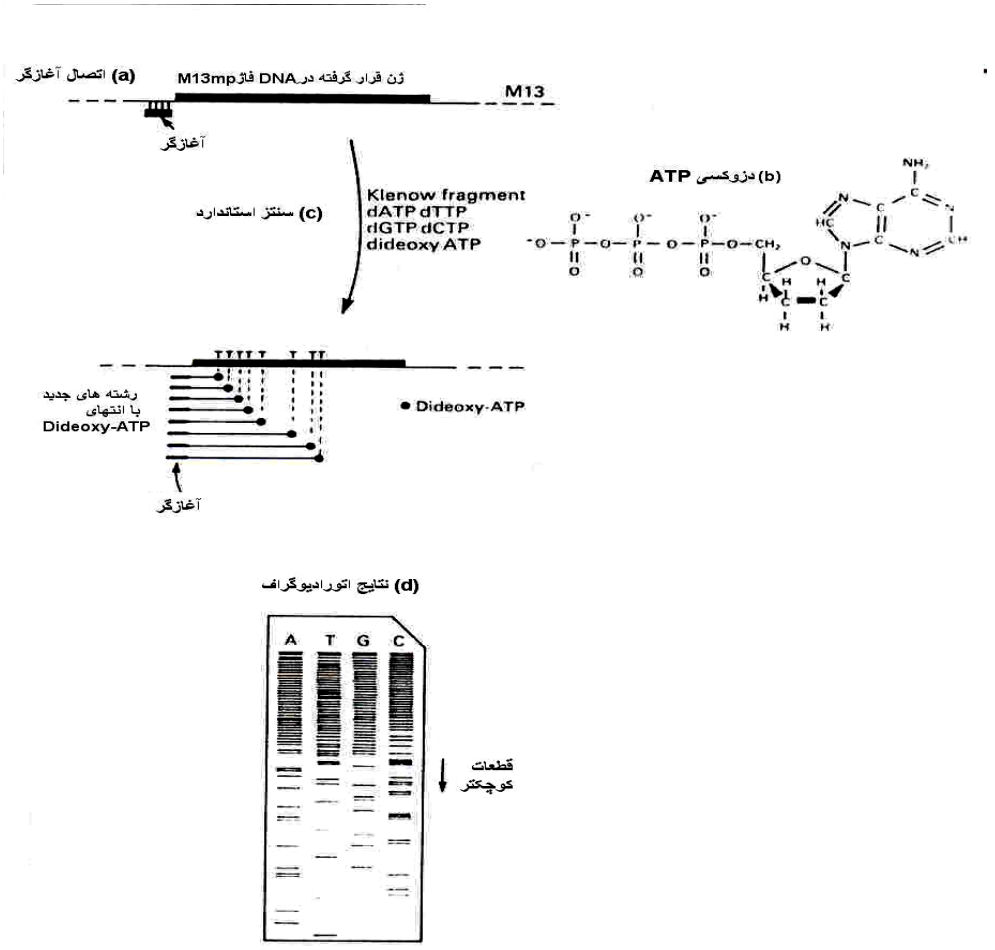
۲-۲-۲-۲-۷- چند شکلی -آنالیز RFLP[1]

با توجه به اینکه روش آنالیز توالی، روش گرانی است و از سوی دیگر، امکان توالی برای تمامی یک ژنوم عملی نیست و در بسیاری از موارد برای مثال، برای تشخیص یک تفاوت ساده نیز لازم نیست که تمامی یک ژنوم توالی شود، در این مواردمعمولا از روش RFLP استفاده می‌شود. تکنیک RFLP بر اساس توانایی آنزیم‌های محدودگر[2] در بریدن جایگاه‌های RFLP اختصاصی از توالی نوکلئوتید ها در DNA بوجود آمد.

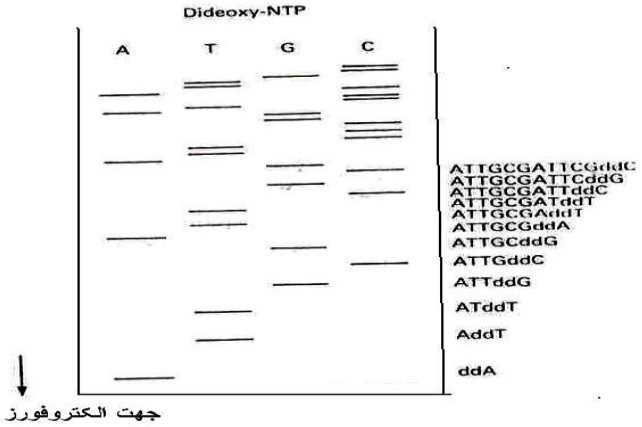
با استفاده از یک جفت آغازگر از DNA ژنوم یا mt DNA استفاده می‌شود و باند DNA به صورت تصادفی بریده شده و بر اساس ترتیب محل برش آنزیم و وزن مولکولی باندها تفاوت بین نمونه ها مشخص می‌گردد. اگر دو مولکول DNA اساسا دارای ساختمان یکسانی باشند ولی به علت تغییراتی

[1] - Restricted Fragment Length
[2] - Restriction enzyme

که احتمالا در سطح ژن رخ داده است، محل تشخیص آنزیم جهت برش در این دو DNA یکسان نیست، در این صورت سه امکان در تصویر ۱۲-۷ نشان داده شده است.



تصویر ۹-۷- توالی DNA با روش پایان زنجیره ای

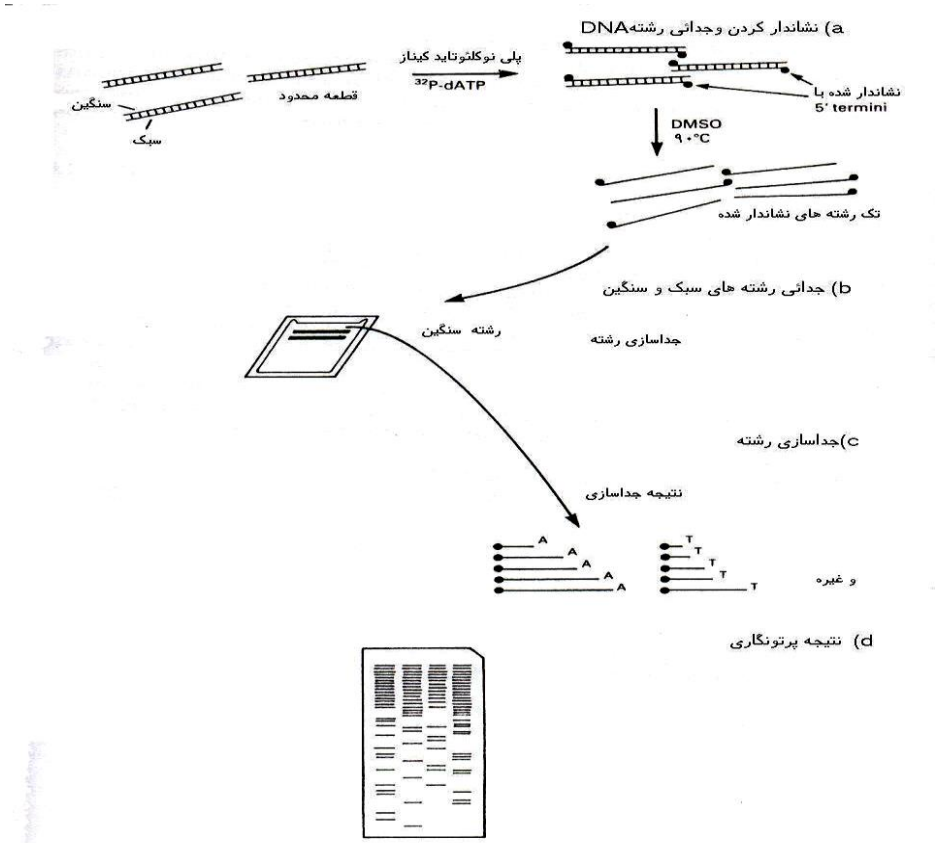


تصویر ۱۰-۷- پیش بینی توالی DNA بر اساس روش پایان زنجیره ای توسط اتورادیوگرافی

- حذف بخشی از DNA بین قطعات ۲و۳
- تغییرات در محل برش آنزیم محدود الاثر
- حذف قسمتی از DNA محل برش آنزیم محدود الاثر

با استفاده از آنزیم محدودالاثر و الکتروفورز هر یک از این تغییرات منتج به یک RFLP می شود. RFLP پتانسیل فراوانی در تعیین نقشه ژنی دارد. با استفاده از چندین آنزیم متفاوت که DNA را در مکمل‌های متناوب اما بسیار نزدیک می برند، هایلوتیپ‌هایی بوجود می آید که تفاوت ترتیب نوکلئوتیدی یا بعبارتی تغیرات در سطح ژن را می‌توان تشخیص داد. در استفاده از RFLP یک مشکل ممکن است بروز نماید و آن تعداد بسیار زیاد قطعات کوچک DNA پس از بریدن توسط یک آنزیم ویژه است. برای مثال، با برشDNA ژنوم انسان توسط آنزیم ایکلای، تعداد ۷۰۰۰۰۰ قطعه مختلف بدست می‌آید که روی ژل الکتروفورز تنها یک ناحیه رنگی حاصل می شود و اختلاف باندها مشخص نیست. در این موارد می‌توان ابتدا با تکنیک ساترن‌بلوت یک قطعه DNA خاص را که

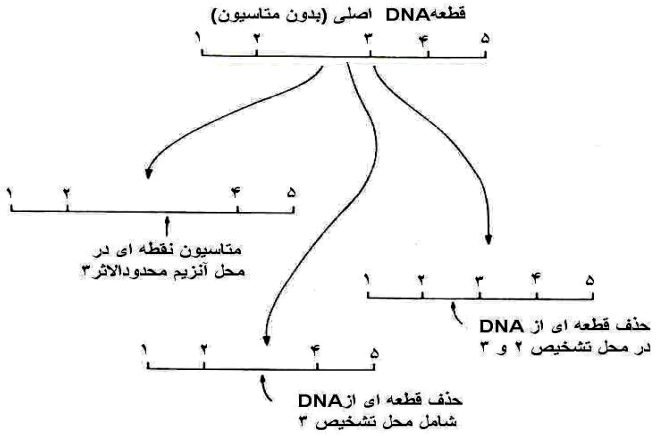
احتمال اختلاف را نشان می‌دهند، در دو نمونه جدا نموده و سپس با کمک آنزیم و از روش RFLP، تفاوت‌ها را مورد بررسی قرار داد.



تصویر ۱۱-۷- توالی DNA با روش شیمیائی

۳-۲-۲-۷- روش PBR (PCR-RFLP)

PBR روش دیگری از RFLP است که مبتنی بر قطعات تهیه شده با تکنیک PCR می‌باشد. جهت انجام آنالیز RFLP به DNA با کیفیت بالا نیاز است و صورتیکه کیفیت DNA



تصویر ۱۲-۷- سه متاسیون و اثر آن بر نقشه محل تشخیص مولکول DNA

مناسب نباشد، جواب حاصله غیرواقعی می‌باشد لذا، شیوه ترکیبی PCR-RFLP بعنوان یک تکنیک مطمئن برای مطالعات ژنتیک مولکولی توسعه یافته است. در روش PCR-RFLP ابتدا قطعه حاوی DNA جایگاه، چند شکلی[1] را با واکنش زنجیره ای پلی مراز (PCR) و با استفاده از دو آغازگر[2] اختصاصی تکثیر می‌کنند و سپس نسبت به هضم آنزیمی آن قطعه اقدام و سپس الکتروفورز می‌نمایند. در روش RFLP ساده، تنوع در داخل یک منطقه حدود ۳۰kb محصور مورد بررسی، تعیین می‌گردد. در روش PBR تنوع در منطقه محدود بین دو آغازگر و کمتر از ۳۰kb تعیین می‌گردد.

[1] - Polymorphiszm
[2] - Primer

معمولاً در این روش از ژن‌های میتوکندری (D-loop یا ND 5/6) توسط آغازگرهای اختصاصی و با استفاده از دستگاه PCR تکثیر می‌شود و سپس با آنزیم‌های محدودگر (RE) قطع و تفاوت باندها شمارش و بر اساس هاپلوتیپ تفاوت ها، بررسی می‌گردد. PBR مزایایی چون سرعت و تکرارپذیری بالا، سادگی و بی‌نیازی به مواد رادیواکتیو، اطمینان بیشتر و نتیجه‌گیری بهتر می‌باشد.

٤-٢-٢-٢-٧- تعداد متفاوت ردیف‌های تکراری

بر اساس قطعات یکسان و تکراری دو نشانگر از نشانگرهای مبتنی بر DNA در DNA ژنوم موجود مورد مقایسه قرار می‌گیرندکه به نام‌های مینی‌ساتلیت و میکروساتلیت تقسیم می‌شوند.

مینی ساتلیت روشی از مطالعه مولکولی بر توالی تکراری DNA است که تعداد نوکلوئیدها در ماهوارک‌ها بیش از ٦ نوکلوئید می‌باشد. روشی سریع و مبتنی بر DNAی هسته است لذا تعداد مولکول‌های آن زیاد و تفسیر ژنتیکی آن برای بررسی جمعیت مشکل است.

میکروساتلیت عبارت است از توالی کوتاهی از DNA بطول کمتر از ٦ عدد نوکلئوتید که به صورت پشت سر هم می‌باشد. میکروساتلیت در حال حاضر در مطالعات ژنتیکی جمعیت‌های بسیاری از گونه‌های ماهیان استفاده می‌شود. این شیوه از RFLP که مبنی آن بر اساس استفاده از آنزیم‌های قطع کننده (RE) فراوان است، ارزانتر است. از سوی دیگر، برخلاف DNA ی میتوکندری، رابطه والدین اعم از نر و ماده را می‌توان بخوبی نشان داد زیرا در میتوکندری وراثت از طریق مادری است و نقش پدری را نمی‌توان در فرزندان ردیابی کرد.

٥-٢-٢-٢-٧- انگشت‌نگاری ژنتیکی[1]

انگشت‌نگاری ژنتیکی شکلی از روش RFLP است که در آن مناطق بیشتری از DNA توسط آنزیم برش داده شده و قادر به ترسیم تصویربخش بزرگی از ژنوم یک موجود می‌باشد. برای این منظور از مخلوطی از چند پروپ بطور همزمان استفاده می‌گردد تا هر یک بخش ویژه‌ای از DNA را شناسایی کند. روش دیگر انگشت‌نگاری استفاده از قطعات تکراری است که هر یک ٤ تا ٦ نولکئوتید طول دارند و بصورت متوالی بدنبال یکدیگر قرار گرفته‌اند. این نواحی تکرارشونده ممکن است نواحی

[1] - Fingerprinting

تکرار شونده‌ای[1] یکسان یا مشابه باشند (...ACGTACGTACGT). در این حالت یک پروب قادر به شناسایی توالی است و می‌تواند برای تعیین تعدادی RFLP به طور همزمان بکار برده شود. در روش دیگر، نواحی تکرار شونده یکسان نیست بلکه بصورت واحدهای متغیر ولی با تعداد دفعات تکراری فراوان ACGAGGCGTAGTACGTTCGTGGAACGT) می‌باشند.

۳-۲-۷- روشهای جداسازی ژن و پروتئین

برای تکثیرو جداسازی ژن و پروتئین و آنزیم روشهایی پیشنهاد شده است که در ذیل به شرح برخی از آن می‌پردازیم.

۱-۳-۲-۷- شیوه PCR[2]

اصول اولیه تکنیک PCR در دهه ۷۰ توسط خورانا[3] و همکارانش پایه‌گذاری گردید ولی روشی اجرائی آن توسط مولیس[4] و همکارانش در سال آخر دهه ۸۰ ابداع و بهره‌برداری گردید. RCR یا واکنش زنجیره پلی‌مراز، تکنیکی است که در آن قطعه کوچکی از DNA بطور انتخابی به میزان دلخواه توسط آنزیم پلی‌مراز تکثیر تصویر یا کپی می‌شود(۱۳-۷).PCR از نظر علمی، تشابه زیادی به همانند سازی DNA دارد و در واقع برگرفته از آن است که در شرایط آزمایشگاهی[5] انجام می‌شود.

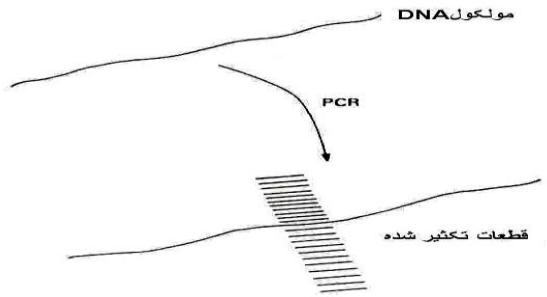
در این تکنیک تکثیر DNA به روش PCR با کمک دو اولیگونوکلئوتیدی است که در دو طرف DNA یی قرار می‌گیرند که باید تکثیر شود. دو قطعه اولیگونوکلئوتید کوتاه هر یک باید به یک رشته از مارپیچ دوتائی مولکول DNA متصل شوند (تصویر ۱٤-۷).

این اولیگونوکلئوتیدها که بعنوان آغازگر در واکنش‌های سنتز DNA عمل می‌کنند، منطقه‌ای را که باید تکثیر شود، محدود می‌کنند. تکثیر به کمک آنزیم DNA پلی مراز یک انجام می‌شود که از باکتری ترموس اکواتیکوس[6] بدست می‌آید که یک آنزیم محدودکننده را نیز تولید مقاومت آنزیم نسبت به

---

[1] - Tanden repeats
[2] - Polymerase chain Reaction
[3] - Khorana
[4]- Mullis
[5] - In vitro
[6] - Thermus aquaticus

حرارت در تکنیک PCR بسیار مهم است. زیرا در هر دور تکثیر DNA، لازم است دو رشته DNA از یکدیگر جدا شده تا آغازگر به آن متصل و دور جدید همانندسازی انجام گیرد. آنزیم تک‌پلی‌مراز برخلاف بیشتر انواع پلی‌مرازها با حرارت غیرفعال نمی‌گردد.



تصویر ۱۳-۷- تکثیر ناحیه ویژه ای از DNA توسط شیوه واکنش زنجیره ای پلیمراز (PCR)

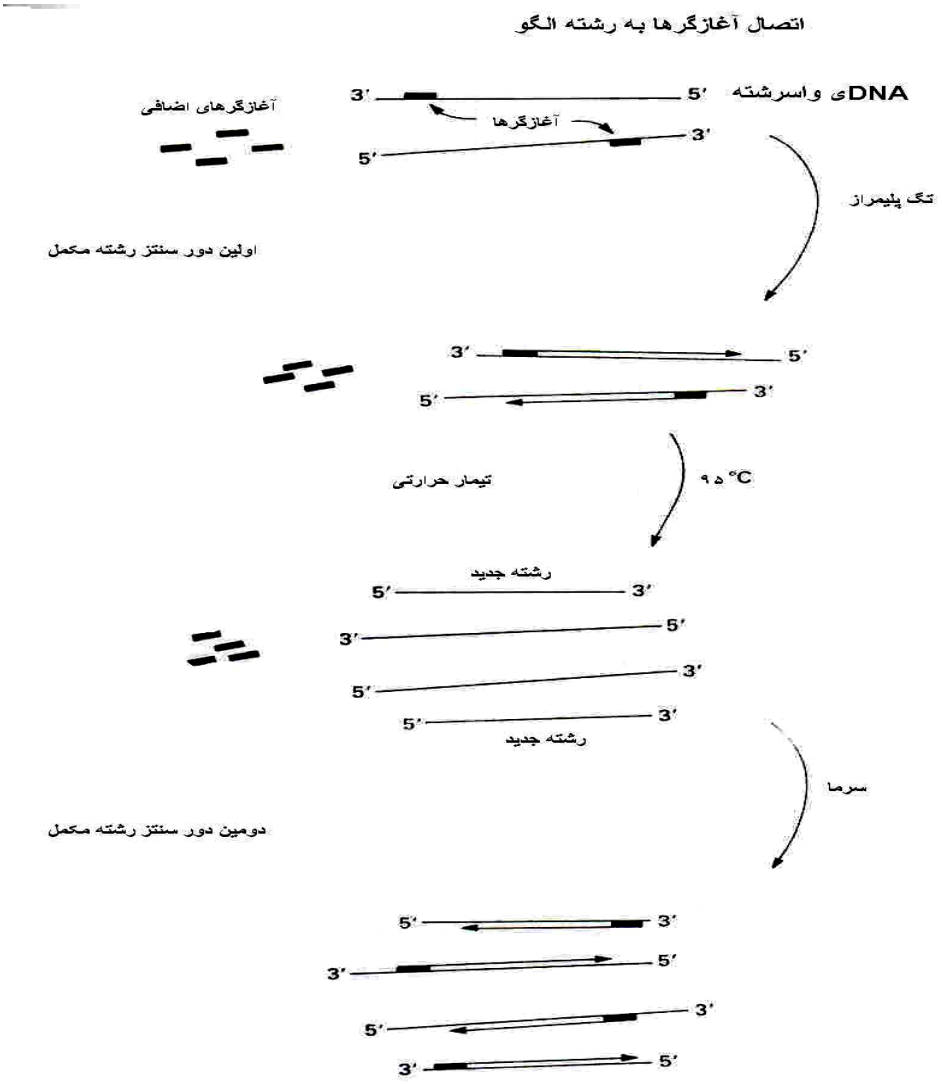
برای شروع تکثیر با روش PCR، آنزیم به DNA الگوی جفت شده با آغازگر اضافه می‌شود تا رشته‌های جدید مکمل بسازد.

واکنش زنجیره پلی‌مراز در سه مرحله به شرح ذیل انجام می‌گیرد.

الف- وارشته‌سازی[1] ـ در این مرحله دو رشته DNA در حرارت حدود ۹٤ درجه سانتیگراد از یکدیگر جدا می‌گردند.

ب- اتصال آغازگرها به رشته الگو[2] ـ در این مرحله دما کاسته می‌شود و به حدود ۵۳ درجه سانتیگراد می‌باشد. در این دما، آغازگرها که هر کدام ویژه و مکمل یکی از رشته ها هستند، در محل خود روی یکی از رشته ها قرار می‌گیرند.

[1] - Denaturation
[2] - Ainnealing



تصویر ١٤-٧- مراحل واکنش‌های زنجیره ای پلیمراز (PCR)

ج- بسط یا تکثیر[1] ـ ایجاد رشته‌های جدید وابسته به میزان فعالیت آنزیم پلی‌مراز است. این آنزیم در دمای ۷۲ درجه سانتیگراد بیشترین فعالیت را نشان می‌دهد. عواملی مثل کاتیون‌های دو ظرفیتی در فعالیت این آنزیم مؤثرند. آنزیم پلی‌مراز، ٤ نوکلئوتید Datp، Dgtp، Dttp، Dctp موجود در واکنش را طبق الگو پشت سر هم قرار می‌دهد و از آغازگرهای جفت‌شده به DNA به عنوان پایه و محل شروع استفاده می‌کند پس از یک دور کامل شامل سه مرحله فوق دو مولکول DNA ی جدید ایجاد می‌شود.

معمولاً چرخه جدا شدن دو زنجیره DNA، اتصال به پرایمر و سنتز DNA به میزان ۳۰-۲۵ بار تکرار می‌شود که این امر تولید چند صد میلیون نسخه از قطع تکثیر شده DNA را بهمراه دارد.

در انتهای آزمایش، نمونه‌ای از محصول PCR روی ژل آگاروز الکتروفورز می‌شود. در این حالت مقدار کافی DNA برای دیدن قطعه تکثیر شده به صورت یک نوار مجزا بعد از رنگ‌آمیزی با اتیدیوم بروماید وجود دارد.

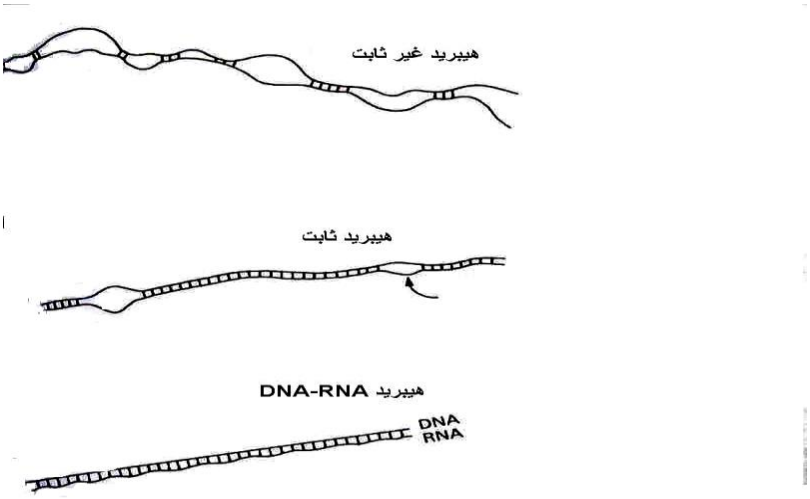
این روش به تنهایی می‌تواند اطلاعات مفیدی درباره قطعه تکیر شده در اختیار ما بگذارد. محصول PCR می‌تواند به پلاسمید یا باکتریوفاژ متصل شود و با روش‌های معمول، کلون گردد یا با استفاده از روش‌های استاندارد مانند تعیین توالی DNA، مورد بررسی قرار گیرد.

برای موفقیت در انجام PCR، انتخاب آغازگر مناسب و تنظیم دقیق دما در مراحل گرم و سردکردن چرخه واکنش مهم است. آغازگرها باید بنحوی طراحی گردند که با توالی‌های اطراف ناحیه هدف روی مولکول DNA الگو مطابقت داشته باشد. آغازگر انتخابی نباید زیاد کوچک باشد زیرا امکان دارد موجب تکثیر محصولات ناخواسته‌ای شود یا زیاد طویل باشد زیرا طول آغازگر در سرعت هیبرید شدن با DNA الگو تاثیر می‌گذارد و آغازگرهای طولانی‌تر با سرعت کمتری هیبرید می‌شوند و کارایی PCR را کاهش می‌دهند، معمولاً از آغازگرهای ۳۰ـ۱۸ باز استفاده می‌شود. طول DNA تکثیر شونده نیز نباید زیاد باشد معمولاً DNA کمتر از ۱kb با کارایی بهتری تکثیر می‌شوند ولی قطعات تا ۱۰kb را نیز می‌توان با روش‌های استاندارد PCR تکثیر نمود.

[1] - Extension

۲-۳-۲-۷- جفت‌شدن بازهای نوکلئوتاید[1]

هر دو تک رشته مولکول‌های نوکلئیک اسید، پتانسیل تشکیل بازهای جفتی را با هم دارند. با توجه به اینکه روی یک قطعه DNA تعداد زیادی از نوکلئوتایدها قرار دارند، اگر دو تک رشته متفاوت DNA در کنار هم قرار گیرند، ارتباط آنها ثابت و دائمی نخواهد بود زیرا تنها تعداد کمی از بازها جفت‌های خود را روی رشته دیگر پیدا نموده (تصویر ۱۵-۷) و پیوند ایجاد می‌نمایند.



تصویر ۱۵-۷- هیبرید نوکلئیک اسید. (a) هیبرید غیر ثابت از اتصال رشته های DNA غیرهمولگ، (b) هیبرید ثابت تشکیل شده بین دو رشته DNAی مکمل، (c) هیبرید DNA-RNA ازاتصال بین ژن و رشته نسخه برداری شده از آن

حال اگر دو رشته مکمل هم باشند، بنابر این بازهای فراوانی جفت شده و یک DNA دو رشته‌ای ثابت و محکم را تشکیل می‌دهند. علاوه بر دو رشته DNAی مکمل، بین یک DNA و یک رشته RNAی مکمل نیز پیوند محکم ایجاد می‌شود. از تکنیک فوق جهت تشخیص وجود یا فقدان یک

[1] - Hybridization

قطعه DNA در یک موجود استفاده می‌شود. در ذیل چند روش جفت شدن DNA به صورت خلاصه شرح داده شده است.

الف- لکه گذاری سادرن[1]

این تکنیک در سال ۱۹۷۵ توسط سوترن پیشنهاد شده است. در این روش ابتدا مولکول بزرگ DNA توسط چند آنزیم محدودالاثر به قطعات کوچکتر بریده می‌شود. قطعات DNA توسط ژل و بر حسب اندازه جدا می‌گردند. سپس ژل را روی فیلتر نیتروسلولز قرار می‌دهند. یک بافر مخصوص از طریق ژل به فیلتر هدایت شده که سبب می‌گردد که قطعات DNA تک‌رشته‌ای با فیلتر پیوند ایجاد کند. پس از آن فیلتر را در معرض پروب‌های اختصاصی از ژنی قرار می دهند که در مورد آن مطالعه می‌کنیم و بطور مصنوعی ممکن است از یک RNA خاص ، یک DNA که از یک RNA ساخته شده یا یک قطعه DNA باشد که در باکتری ایکلای Ecoli کلون شده است. این پروب‌ها قبلاً توسط رادیواکتیو نشاندار شده‌اند. پروب نشاندار توسط قطعه DNAی هدف جفت می‌شود که دارای ردیف نوکلئوتیدی مشابه باشد. بعبارتی، پروب نشاندار مکمل خود را پیدا می‌کند و DNAی دورشته ای را بوجود می‌آورد. پس از رادیو گرافی می‌توان موقعیت ژن‌های موردنظر را در ژل الکتروفورز بدست آورد (تصویر ۱۶-۷)

بطور خلاصه در روش لکه‌گذاری سادرن، در حقیقت انتقال غیر فعال قطعات DNA از یک ژن به فیلتر اتصال دهنده و هیبریداسیون با پروب اسیدنوکئیک تک‌رشته‌ای نشاندار شده با مواد رادیواکتیو انجام می‌گیرد و تشخیص هیبریداسیون معمولا با استفاده از اتورادیوگرافی می‌باشد. سایز و اندازه قطعه را می‌توان با قطعه الگو یا متاسیون نیافته مقایسه کرد و بنابراین وجود RFLP بدین طریق نیز قابل تشخیص است.

[1] - Southern blotting

ب- لکه‌گذاری نورترن[1]

این تکنیک مشابه شیوه سادرن است ولی در این روش از RNA استفاده می‌شود. ابتدا کل RNA به مانند شیوه قبلی به فیلتر نیتروسلولز پیوند شده و سپس آن را در معرض RNA ی نشاندار شده قرار می‌دهند و در انتها از فیلتر عکس گرفته و نسبت به بررسی RNAی موردنظر اقدام می‌شود.

در این شیوه ممکن است که پروب از cDNA یا mRNA مورد نظر تهیه گردد و سپس cDNA با میزان زیاد mRNA جفت گردد. در این حالت تنها RNAی مورد نظر با پروب cDNA پیوند می‌نماید (تصویر ۱۷-۷). همچنین اگر ردیف‌های آمینو اسید یک پروتئین ویژه در دسترس‌باشد، از توالی آمینواسید، mRNA مربوطه وسپس cDNA آنرا می‌توان تهیه نمود.

ج- وسترن ترانسفر[2]

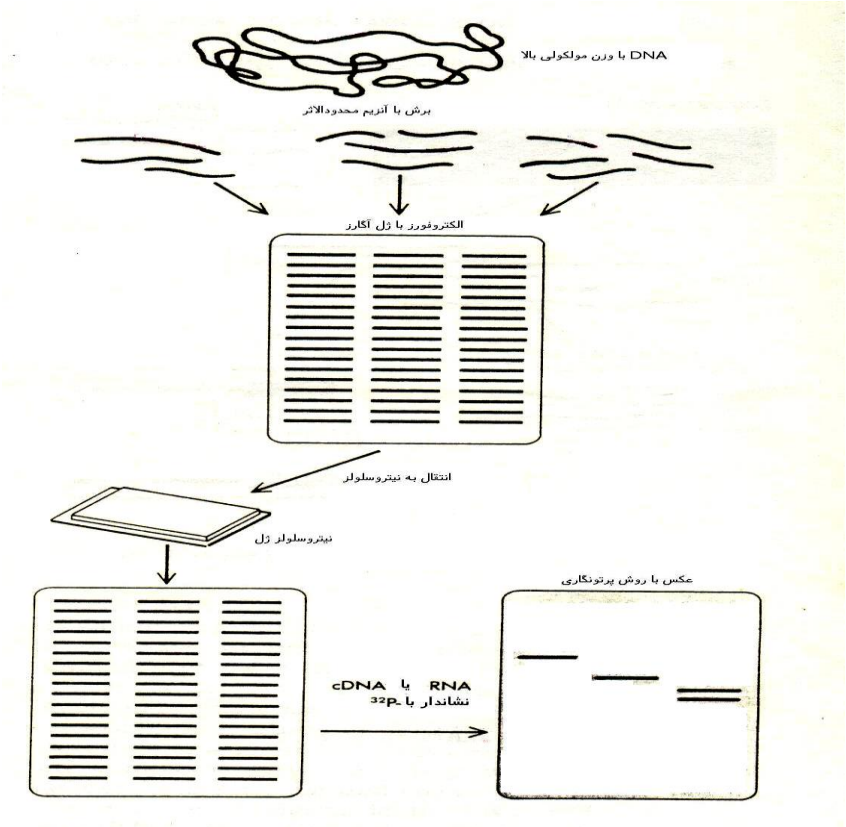
این تکنیک مشابه تکنیک ساترن می باشد ولی در این تکنیک، اساس بررسی بر مبنای استفاده از پروتئین می‌باشد. پروتئینها توسط الکتروفورز جدا شده و به فیلتر مخصوص و به گونه کووالانت پیوند می‌گردد و سپس در معرض پروب رادیواکتیو قرار می‌گیرند. برای مثال، برای آنتی ژن‌های پروتئینی از آنتی بادی‌های رادیو اکتیو شده استفاده می‌شود.

۳-۳-۲-۷- الکتروفورز

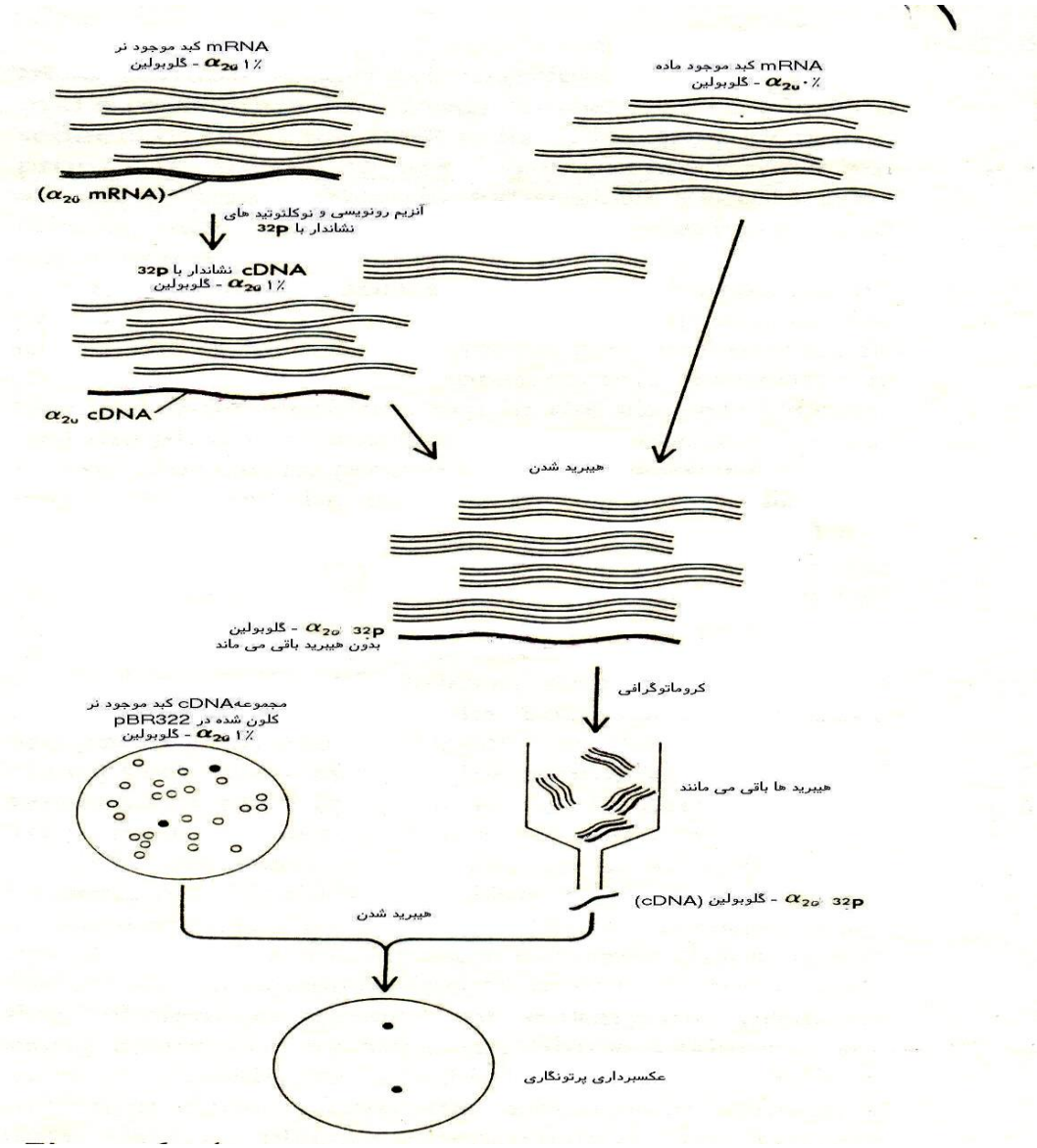
حرکت مولکولی با ذرات کلوئیدی در مایع یا ژل که تحت تأثیر میدان الکتریکی قرار گرفته باشد را «ژل الکترون‌بر» یا «الکتروفورز» گویند. الکتروفورز روشی است که درآن نمونه‌هایی که بارالکتریکی دارند، تحت تاثیر یک میدان الکتریکی از میان شبکه‌ای متخلخل حرکت می‌کنند و از یکدیگر جدا می‌شوند. سرعت حرکت مولکولها در این شرایط نه تنها تحت تاثیر بارالکتریکی است بلکه عوامل دیگری نظیر اندازه و شکل مولکول نیز در این امر دخیل هستند. به همین دلیل الکتروفورز روشی مناسب و کارآمد در جداسازی مولکول مورد استفاده قرار می‌گیرد. معمولا" الکتروفورز برای جداسازی مولکول‌های بزرگی چون پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک به کاربرده می‌شود، اما در مواردی

[1] - Northern blotting
[2] - Western transfer

نیز برای جداسازی مولکول‌های باردار کوچکتری نظیر قندها، اسیدهای آمینه، پپتیدها وحتی یون‌های ساده مورد استفاده قرار می‌گیرد. معمولا" برای الکتروفورز یک مخلوط مولکولی، لایه نازکی از آن، روی شبکه‌ای متخلخل قرارداده می‌شود که محلولی را درون خود محبوس کرده است. پس از برقراری میدان الکتریکی با اعمال اختلاف پتانسیل در دو سوی این شبکه، مولکول‌های موجود در نمونه با سرعتهای متفاوتی درون شبکه متخلخل شروع به حرکت می‌کنند. این اختلاف سرعت مبنای جداسازی در الکتروفورز است. در پایان، مولکول‌های پروتئینی مختلف به صورت باندهایی مجزا در قسمت‌های مختلف شبکه آشکار می‌شوند.



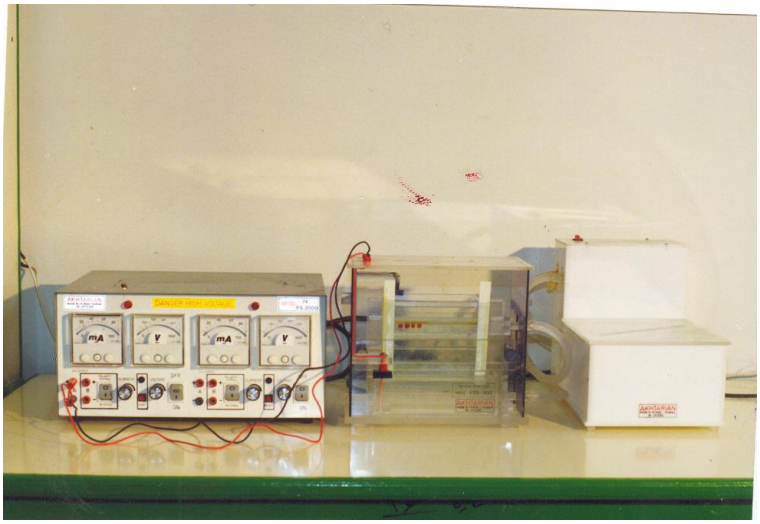
تصویر ۱۶- ۷ - مراحل روش لکه‌گذاری سادرن



تصویر ۱۷-۷- تهیه یک پروب برای جداسازی cDNA

جداسازی توسط اکتروفورز تحت تاثیرعوامل متعددی قرار دارد. ماهیت مولکول‌های نمونه نظیر بارالکتریکی، اندازه آنها، شدت جریان و میدان الکتریکی و سرانجام اثرات محیطی نظیر نوع و نحوه استفاده از بافرها و حرارت ایجاد شده در حین کار، عواملی هستند که بر جداسازی مولکول‌های نمونه مؤثرند.

سیر تکوین و تکامل این روش در جداسازی پروتئینها ارتباط تنگاتنگی با تلاش‌های انجام شده در بررسی پروتئین‌های سرم دارد.



تصویر۱۸-۷ – دستگاه الکتروفورز شامل تانک الکتروفورز، خنک کننده و دستگاه تامین جریان الکتریسیته با آمپر و ولتاژ مشخص

در سال ۱۹۰۷، دو تن از دانشمندان انگلیسی به نامهای فیلد و تاگ[1] زهر و پادزهر دیفتری را روی ژل آگار و از روی اختلاف در جابجا شدن آنها در اطاقک الکتریکی از هم جدا نمودند.

[1] - Field Teague and

از آن زمان تاکنون، انواع روشها و مواد برای الکتروفورز پروتئینها، آنزیم‌ها و DNA مورد بررسی و آزمایش قرار گرفت. در مطالعات انجام شده، الکتروفورز منطقه‌ای، اکثر مشکلات را با بکارگیری یک محیط غیرمایع برای جداسازی مولکولها حل نمود (تصویر ۱۸-۷). برای انجام الکتروفورز روی اجسام غیرمایع بترتیب الکتروفورز روی کاغذ (E.P) پنبه کوهی, آگار ژلاتین, پنبه, ژل سیلیس, ابریشم, نشاسته و صمغ‌های مصنوعی، استات سلولوز، پلی‌اکریل‌آمید آزمایش گردید و امروزه الکتروفورز را عمدتا روی ژل نشاسته، ژل آگار، ژل اکریل‌آمید و استات سلولز انجام می‌دهند و از آن بررسی‌ها در مطالعات مربوط به چند گونه از ماهیان استفاده شده است.

محیطهای مایعی که به عنوان بافر در الکتروفورز مورد استفاده قرار می‌گیرند، بایستی بدقت انتخاب شوند. چندین سیستم بافر برای الکتروفورز مناسب هستند که برای مثال تریس، گلایسین، تریس فسفات، تریس بورات بسیار مورد استفاده قرار می‌گیرند.

برای انجام الکتروفورز، نمونه‌های محلول و مایع نظیر سرم، پلاسما وعصاره‌های مایع سلولها و بافتها را می‌توان اغلب با کمترین دستکاری توسط الکتروفورز دو بعدی بررسی کرد.

آماده‌سازی نمونه و تعیین نسبت ژل برای هر نمونه و ماهی متفاوت است و برای انجام آزمایشهای مربوطه بایستی از پروتکلها یا دستورالعمل‌های آزمایشگاهی استفاده کرد.

«فصل ۸»

ژنتیک انجماد سلول

مقدمه

از بین رفتن محل‌های تکثیر ماهیان و صدمه به محیط و آلودگی‌های کشاورزی و صنعتی، صید بسیاری از ماهیان را کاهش داده و نسل بسیاری از ماهیان را نیز در معرض انقراض قرار داده است. برای جبران کمبود بعضی از ماهیان و بازسازی ذخایر بعضی دیگر، از آبزی‌پروری کمک گرفته می‌شود. قابلیت تولید افزون‌تر ماهیان پرورشی با حفاظت از گونه‌های در معرض انقراض می‌تواند بوسیله تکثیر و انجماد سلول، تخم و اسپرم و جنین بهبود یابد. انجماد اسپرم و جنین «طول عمر ژنتیکی» ماهیان را زیادتر کرده و ژنوم آنها را حتی پس از مرگ در زاد و ولد جمعیت دخالت می‌دهد. از سوی دیگر، مهمترین محدودیت در پرورش ماهی بی‌اطلاعی از عملکرد به ماهیانی است که به عنوان مولد استفاده می‌شوند. انجماد اسپرم وتخمک ماهی به مانند کاربرد این شیوه در دامپروری می‌تواند بر این مشکل فائق آید و با انتخاب مولدین مناسب, اسپرم و تخمک آنها در سطح وسیع و تا زمان مناسب نگهداری شوند. انجماد تخم و اسپرم ماهیان برای دورگه گیری و شرایطی که ماهی نر و ماده همزمان در اختیار نیست نیز کاربرد دارد.

انجماد جنین این امکان را بوجود می‌آورد که ژن‌های گونه‌های مختلف در حداقل فضا نگهداری شود. در انجماد اسپرم و جنین ژن ماهیان در معرض خطر تا مدتهای طولانی ذخیره شد و امکان احیای مجدد نسل آنها میسر می‌گردد.

انجماد تخم و اسپرم ماهیان برای دو رگه‌گیری و شرایطی که ماهی نر و ماده بطور همزمان در اختیار نیستند نیز بکار می‌رود.

از کاربردهای دیگر انجماد جنین در امور مطالعات ژنتیکی و پزشکی است. برخی از ماهیان مانند گورخر ماهی[1] مدل‌های مورد استفاده در شناسایی عملکرد ژن‌های انسان هستند با وجودیکه ژنوم این ماهی بمراتب بسیار کوچکتر از ژنوم انسان است ولی بترتیب ژن آن شباهت بسیاری به ترتیب ژن‌های انسان دارد لذا قابلیت استفاده از جنین امکان مطالعه و بررسی را در باره نقش برخی از ژن‌های منفرد در بیماری‌های انسان برای متخصصین پزشکی فراهم می‌سازد.

مدل‌های حیوانی مانند ماهی براحتی تکثیر می‌شوند و تجدید نسل آنها سریعتر از پستانداران است. بنابراین، جزئیات بیشتری درخصوص عملکرد ژن‌های آنها در زمان کوتاهتری قابل فهم است.

۱-۸- انجماد سلول

مطالعه فراوانی جهت تدوین شیوه‌ای موفق و قابل اعتماد برای نجماد سلول‌های مختلف بدن ماهی مورد بررسی قرار گرفته است. اساس اصلی انجماد سلول موفق مبنی بر منجمد نمودن آرام سلول و گرم شدن سریع سلول منجمد شدن می‌باشد. به عنوان یک راهنمای کلی سلول باید به آرامی در ۱- تا ۳- درجه سانتیگراد در هر دقیقه سرد شود و بسرعت در حمام آب گرم ۳۷ درجه سانتیگراد در عرض ۵-۳ دقیقه گرم شود.

علاوه بر این، نکات ذیل نیز برای انجماد سلول موفق لازم است مد نظر قرار گیرد.

۱- کشت سلول باید سالم و عاری از آلودگی‌های میکروبی باشد.

۲- نمونه‌برداری از سلولهای کشت داده شده باید در نقطه اوج باشد.

۳- غلظت سرم پروتئین بایستی بیشتر از ۲۰ درجه باشد. در بیشتر موارد نسبت سرم به پروتئین را بیشتر از ۹۰ درصد انتخاب می‌نمایند. در انجماد سلول باید از محافظت‌کنندهایی مانند دی‌متیل‌سولفوکساید[2] یا کلیسرول برای حفاظت سلول از تشکیل کریستال‌های یخ جلوگیری شود. متداولترین حفاظت کننده، دی‌متیل‌سولفوکساید با غلظت ۱۰ درصد است. البته دی‌متیل‌سولفوکساید

[1] - *Brachydanio rerio*
[2] - DMSO

برای تمام سلولها مناسب نیست و در این موارد نیز از کلیسرول استفاده می‌شود. هدف از انجماد سلول، امکان ذخیره‌سازی سلول برای تامین نیاز سلول ماهی حامل هسته سلول به منظور بانک ژنوم بخصوص در مواردی بسیار مورد توجه می‌باشد که گامت و جنین قابل دسترسی نیست. این شیوه در مواردی که امکان صید و دستیابی مولدین ماده بالغ در طبیعت میسر نیست یا در آبزی‌پروری زمانی که بلوغ ماهیان چندین سال طول می‌کشد و نیز در موارد بیماری‌های خطرناک بکار می‌رود. بدین صورت که ژنوم بسرعت قبل از بین‌بردن ماهیان جمع‌آوری می‌شود. استفاده از تکنیک کلونینگ و انجماد سلول‌های سماتیک برای تولید ماهیان دارای فنوتیپ و ژنوتیپ با ارزش نیز می‌تواند قابل توجه باشد. در مطالعات انجام شده، سلول‌های ماهی از باله ماهی، قسمت نرم سر و عضلات ماهی مورد بررسی قرار گرفته است. استفاده از باله دارای این خصوصیات است که بدون اینکه ماهی مورد آسیب قرار گیرد، نمونه‌برداری انجام می‌شود. از باله براحتی می‌توان نمونه برداری نمود و محل آن در ماهی بزودی ترمیم می‌شود. سلول‌های باله بخوبی در محیط کشت تکثیر می‌شوند.

انجماد سلول‌های کشت یافته برای بسیاری از ماهیان شرح داده شده که برای مثال می‌توان به ماهیان گربه‌ماهی‌کانال، ماهی طلائی، خورشید ماهی و ماهی خاویاری ترانسمونتانوس[1] اشاره نمود.

۲-۸- انجماد اسپرم

انجماد اسپرم بعنوان انتخابی برای حفظ تنوع زیستی تعریف گشته است. مطالعه و نگهداری اسپرم ماهیان در شرایط سرد از اوایل دهه قرن نوزدهم شروع گردید . اولین روش نگهداری اسپرم در خصوص ماهی آزاد و در سرم فیزیولوژی نمکی یا نگهداری در یخچال بوده است و تحقیقات کاملتر با هدف افزایش مدت نگهداری اسپرم بوسیله اضافه کردن محلول الکترولیز یا مایع حفره شکمی ماهیان ماده به اسپرم انجام شد. مطالعات نگهداری اسپرم با اضافه نمودن موادی نظیر لاکتوز، فروکتوز، لگنین، مانیتول، گلیسین و زرده تخم‌مرغ به محلول رقیق‌کننده[2] اسپرم و نیز استفاده از موادی نظیر اتیلن‌گلیکول، پیروپیلین‌گلیکول، گلیسرول، دی‌متیل سولفوکساید جهت جلوگیری از آسیب رسیدن

[1] - *Acipenser transmontanus*
[2] -Extender

اسپرم طی مراحل انجماد و برگشت آن به درجه‌حرارت طبیعی پیشرفت نمود. استفاده از ساکاروز و دی‌متیل‌سولفوکساید نیز برای نگهداری اسپرم مناسب نشان داد.

پس از اضافه‌نمودن محلول رقیق‌کننده به اسپرم، نمونه‌ها را به آرامی در یک ظرف حاوی ازت مایع فرو برده و در این شرایط نگهداری اسپرم برای مدت طولانی امکانپذیر است. معمولا نسبت‌های مواد نگهداری و رقیق‌کننده از گونه‌ای به گونه دیگر متفاوت است. برای انجماد اسپرم ماهی آزاد صورتی، از روش ذیل استفاده گردیده است.

اسپرم به نسبت ۳: ۱ با محلول رقیق کننده مخلوط می‌شود. محلول رقیق‌کننده شامل ٥/٤ درصد گلوکز سرد شده در یخ ، ۹ درصد دی‌متیل‌سولفوکساید و ۱۰ درصد زرده تازه تخم‌مرغ است. مخلوط در یک لوله پلاستیکی با قطر ۰/۱ میلیمتر پر می‌شود. نمونه در Co2 محلول منجمد و در مایع نیتروژن نگهداری می‌شود. نگهداری این اسپرم برای طولانی‌مدت قابل انجام می‌باشد. برای استفاده از اسپرم منجمد نمونه را از تانک ازت خارج نموده و برای مدت ۱۰ ثانیه در محلول فعال کننده شامل: M ۰/۰۲ گلایسین ، M ۰/۰۱ تریس، M ۰/۹ کلرور سدیم با pH=۹ در درجه حرارت ۱۰ درجه سانتی گراد قرار می‌دهند[1].

۳-۸- انجماد تخمک

تخمک ماهی نیز جهت انجماد مورد مطالعه قرار گرفته است. تخمک ماهی یا اووسیت، سلول‌های ماهی که تولید تخم می‌کنند و پس از لقاح با اسپرم فعال می‌شوند. اووسیت ماهی در داخل تخمدان بتدریج و تحت تاثیر هورمون‌های جنسی و محیط تکامل یافته و نسبت به مایع تخمدان نفوذپذیر است و لذا ممکن است این خاصیت راه حلی جهت انجماد تخمک می‌باشد.

اگر طی لقاح، کلسیم از تخم عبور کند، اووسیت قابل نفوذ می‌شود. تلاش‌های فراوانی برای انجماد تخمک لقاح نیافته ماهیان نیز صورت گرفته ولی تاکنون موفقیت بسیار کمی در این خصوص بدست آمده است. این امر به دلیل مشکل آبگیری از تخمک به دلیل اندازه نسبتاً بزرگ آن و تراوایی متفاوت غشای آن است.

[1] - Sheerer and Thorgaard , 1989

٤-٨- انجماد جنین

برخلاف انجماد اسپرم که کارائی آن در مورد بسیاری از ماهیان ثابت شده است، انجماد تخم و جنین در ماهی بسیار مشکل است. برخلاف ماهی، در بسیاری از موجودات منجمله دام، انجماد جنین موفقیت‌های فراوانی را بهمراه داشته است. نگهداری جنین در سرما روشی است که بطور گسترده در لقاح خارج از رحم و انتقال جنین در آزمایشگاههای انسانی و در مراکز دامپروری استفاده می‌شود. اولین گزارش از انجماد جنین در خصوص یک گاو آبستن از جنین منجمد به دو دهه قبل باز می‌گردد. انجماد جنین مانند انجماد اسپرم می‌تواند کمک بسیار مهمی در حفاظت ماهیان بومی محسوب گردد ولی تاکنون موفقیت کمی در این خصوص بدست آمده است زیرا وجود مواد زرده زیاد و نفوذپذیری کم کیسه زرده که حذف آب را محدود و نفوذ مواد حفاظت کننده انجماد[1] را غیرعملی ساخته است و از سوی دیگر، اندازه بزرگ اووسیت و جنین در مراحل اولیه که دارای یک سیستم چند قسمتی و پیچیده و با مرزهای سلولی قابل تشخیص هستند، از ورود مواد حفاظت کننده انجماد جلوگیری و سبب تشکیل کریستال‌های تخم در طول انجماد می‌شود.

در بررسی‌های اثر مواد متفاوت بر جنین مشخص گردیده که مدتی پس از تکامل جنین، اجزاء آن نسبت به یک ماده منجمد کننده به نام دی‌متیل‌سولفوکسید تراوا هستند ولی کل جنین تراوا نمی‌باشد. این امر احتمالاً به دلیل آن است که غشاء کیسه زرده به عنوان ناقلی برای ورود دی‌متیل‌سولفوکسید باشد. در انجماد جنین اگر بتوان با ایجاد منافذی میزان نفوذپذیری مواد محافظت کنند، جنین در مقابل انجماد را افزایش داده انجماد جنین تحقق خواهد یافت.

در بررسی قابلیت نفوذ جنین ماهیان استخوانی نسبت و مواد محافظت کننده از جنین مشخص گردیده است که یک لایه[2] پس از زرده و بلاستودرم ایجاد می‌شود که بطور قابل ملاحظه‌ای مانع ورود مواد محافظت کننده از انجماد به داخل زرده می‌شود و احتمالاً این لایه عامل شکست انجماد جنین می‌باشد.

برای موفقیت در انجماد تخم و جنین لازم است که مواد محافظت‌کننده قبل از انجماد وارد جنین و تخم شود. برای موفقیت در انجماد تخم و جنین استفاده از شیوه‌های ذیل پیشنهاد شده است.

---

1 -cryoprotective
2 -Syncytical layer

۱- استفاده از محیط مناسب و تیمارهای مافوق صوت[1] جهت افزایش نفوذپذیری دیواره غشائی جنین

۲- تغییرات مستقیم در توده زرده توسط دستکاری‌های خیلی ریز

۳- استفاده از طیف نما[2] برای افزایش نفوذ پذیری دیواره جنین

٤- استفاده از مواد حفاظت‌کننده غیر سمی

در خصوص استفاده از مواد حفاظت کننده غیرسمی مطالعاتی پیرامون تخم ماهی زبرا انجام گرفته است و غلظت های متفاوت محلول HBSS[3] با سطوح متفاوت یون کلسیم امتحان گردید و مشخص گردید که نسبت‌های متفاوت HBSS در نفوذ پذیری جنین بخصوص در مراحل پیشرفته‌تر جنین مؤثر است.

در بررسی‌های دیگر سعی شده است که مواد منجمد کننده مستقیماً بوسیله ریز تزریقی به داخل زرده تزریق شود.

در مجموع، فاکتور مهم و ضروری برای انجماد جنین در ماهی استفاده از ماده منجمد کننده، غلظت ماده منجمد کننده و دمای نگهداری است که لازم است در کلیه تحقیقات مورد توجه قرار گیرد و با وجود تحقیقات فراوانی که در انجماد سلول، تخم و جنین ماهیان انجام گرفته، نیاز به مطالعه بیشتر و تعیین روش استاندارد وجود دارد.

---

[1] - ultra-sound
[2] - spectroscopy
[3] - Hanks Balanced Salt Solution

منابع

- خاوری، هوشنگ.، شریعتی، منوچهر. ۱۳٦۳. توارث عمومی. مؤسسه انتشارات آسیا. صفحه ۸–۱۸.
- فاطمی، سید جمال الدین. ۱۳۷۱. مبانی ژنتیک کمی. تالیف: داگلاس–اسکات–فالکنر. مؤسسه انتشارات بهینه. صفحه ۱–٤۰.
- سیدنا، سید یوسف. ۱۳۷٤. مبانی ژنتیک (رشته زیست شناسی). دانشگاه پیام نور. صفحه ۲۰۲–۲۰٦. شجاع ساداتی، سید عباس.، مطلبی، مصطفی. ۱۳۷۲. آشنائی بامهندسی ژنتیک. تالیف: جی، سی، مورل و ال، ام، رابرت. انتشارات فردابه. صفحه ۷۵–۷۸.
- یوسفیان مهدی . ۱۳۸۲. مقایسه بیوشیمیائی ماهیان مولد فیتوفاگ و بیگ هد وهیبرید آنها. گزارش نهائی طرح تحقیقاتی. مؤسسه تحقیقات شیلات ایران. ۹۹ صفحه.
- یوسفیان مهدی . ۱۳۸۳. مقایسه خصوصیات مرفومتریک و الکتروفورتیک ماهی کپور معمولی (Cyprinus carpio L.). مجله علمی شیلات ایران. صفحه ۱۷۹–۱۹۸.
- یوسفیان مهدی . ۱۳۸٤. تولید ماهی ماده زاد میوزی کپور معمولی(Cyprinus carpio L.) به وسیله اشعه گاما. مجله علمی شیلات ایران. صفحه ۱۸۳–۱۹۸.
- یوسفیان مهدی . ۱۳۸۲. بررسی اصلاح نژاد ماهی کپور از طریق تکنیک دستکاری ژنی. گزارش نهائی طرح تحقیقاتی. مؤسسه تحقیقات شیلات ایران. ۵۷ صفحه.
- یوسفیان, م.. نظری. ر.م.. ۱۳۷۷ بررسی اثر اشعه گاما برروی اسپرم ماهیان خاویاری و ایجاد ماهی ژینوژنزیز در تاسماهیان . اولین سمپوزیوم ماهیان خاویاری. رشت. (٦٦ ص). ص۲٦ .
- یوسفیان، م. ۱۳۷٦. دستورالعمل تهیه ژل پلی آکریل آمید جهت بررسی پروتئین خون. مرکز تحقیقات شیلاتی‌استان مازندران.
- یوسفیان مهدی.، فیروزکندیان، شراره. ۱۳۸۵. دستوالعمل الکتروفورز پروتئین و آنزیم. پژوهشکده اکولوژی دریای خزر. ۲۱ صفحه.

1- Strickberger, M. W. 1990. Genetics. Macmillan Publishing Company. New York 10022. P. 842.

2- Darnell, G., Lodish, H., Baltimore, D. 1986. Molecular Cell Biology. Scientific American Books. New York. P. 1192.
3- Sheerer, P.D. Thorgard G.H. 1989. Improved fertilization by cryopreserved rainbow trout semen treated with theophyline. Progressive Fish Culturist 51 (11), 170-182.
4- Brown, T.A. Gene cloning, An introduction. Champman and Hall, University and Professional Division New York, 1990. P 286.
5- Watson, J. D. , T0ooze, J. Kurtz, D. T. 1983. Recombinant DNA. Scientific American Books. New York. P. 260.
6- Tave, D. 1992. Genetic for fish hatchery management. Chapman and Hall, London, SEI 8HN, England. P. 415.
7- Yousefian M. 1996. Mitotic gynogenesis in Common Carp (Cyprinus carpio L.) Ph.D. Tthesis. University of Godollo, Hungary.
8- Yousefian M. 2005. The sex differentiation by gonadogenesis and sex steroid hormones in cultured great sturgeon (Huso huso). 5th Internationa Symposium on Sturgeon. Ramsar. Iran.

واژه‌نامه

ارزش سازگاری **Adaptive value**

فعالیت ژنی افزایشی **Additive gene interaction**

فعالیت ژنی که در آن هردو آلل یک لوکوس دارای اثر مساوی و یکسان بر فنوتیپ باشد.

آلل **Allele**

شکل های مختلف یک ژن

ژنهای کاهش‌دهنده جهش **Antimutator**

ژنهایی که سبب کاهش یا توقف فعالیت ژنهای متاسیون‌کننده می‌شوند .

تلاقی برگشتی **Back cross**

تلاقی بین فرزند هتروزیگوت با یکی از دو والد

جهش برگشتی **Back mutation**

تغییر از حالت نهفته به حالت آلل بارز

ارزش ارثی **Breeding value**

ارزش ژنتیکی یک ماهی یا یک جمعیت بر حسب پتانسیل آن ماهی در انتقال صفات مطلوب به سل بعد می باشد.

جهش کروموزومی **Chromosomal mutation**

تغییرات وسیع در سطح کروموزوم که با میکروسکوپ قابل رویت باشد .

همبارزی **Codominance**

فعالیت ژنی هنکامیکه بیش از یک آلل بارز در یک لوکوس وجود داشته باشد.

کلونینگ **Cloning**

تکثیر قطعه، ژنی یا ردیفهای شناخته شده‌ای از DNA

غالبیت کامل **Complet dominant**

فعالیت ژنی که در آن یک آلل بارز در یک لوکوس بر آلل دیگر کاملا غلبه دارد.

Cosmids کازمیدها

دو انتهای ژنوم باکتریوفاژ لامبدا که به دو انتهای ژنوم متصل می‌شود و وقتی وارد سلول ایکلای گردید، بصورت حلقوی مانند یک پلاسمید عمل می کند.

Crossing-over کراسینگ اور -

جابجائی یا تبادل قسمتی از دو بازوی کروموزوم همتا طی مراحل تقسیم میوز

Deletion حذف شدن -

جدا شدن و حذف قسمتی از کروموزوم

Dimer دیمر

از اتصال دو نوکلئوتید به یکدیگر دی‌نوکلئوتید ساخته می‌شود.

Directional selection بهگزینی جهت‌دار -

تمایل به بهبود وضعیت تولید بر مبنی تغییر میانگین جمعیت

DNA sequencing توالی ژنها -

روشی است که توسط آن ردیف‌های ژنی شناسایی می‌گردد. از این روش می‌توان برای تعیین توالی ژنهایی که بیان ژنتیکی آنها مشخص است یا برای تعیین تغییرات و متاسیون در یک ژن، استفاده کرد.

Dominant Allele غالب، بارز -

آللی که در هر دو حالت لوکوس هموزیگوس و هتروزیگوس فنوتیپ مربوط به آن بروز نماید.

Duplication مضاعف شدن -

استقرار قطعه حذف شده از یک کروموزوم روی کروموزوم دیگر

Electroporation نفوذ الکتریکی -

در این روش قطعات **DNA** را در یک محیط دارای بار الکتریکی در مجاورت سلول قرار می‌دهند. بار الکتریکی سبب ایجاد منافذ ریز در غشاء سیتوپلاسمی می‌شود و این امر تسهیل ورود قطعات **DNA** به داخل سلول می‌گردد.

Epistasis اثراپیستازی اثر متقابل یک ژن با ژن دیگر برای ایجاد یک فنوتیپ

Exon ژن یا قسمتهای کدبندی یا اساسی ژن

Expression شدت بروز ژن -

تنوعی در ظهور حالت مختلف یک صفت

Fasmid فاسمید - ترکیبی از ژنوم باکتریوفاژ و پلاسمید

Familly selection بهگزینی خانوادگی -

در بهگزینی فامیلی انتخاب براساس میانگین‌های فامیلی است و میانگین جمعیت به اندازه میانگین فامیلی اهمیت ندارد.

Forward mutation جهش مستقیم –

تغییر از حالت آلل بارز به آلل نهفته

Gene ژن –

عوامل تعیین‌کننده صفاتی که از طریق توارث منتقل می‌شوند. ژن همچنین قسمتی از **DNA** است که قابل نسخه‌برداری است و دارای تمام قطعات عملیاتی می‌باشد همچنین ژن قسمتهای ساختمانی و عملیاتی برای نسخه‌برداری از **DNA** است. بنابراین، یک ژن با یک پروتئین برابر نیست. ژن از واحدهای متفاوتی تشکیل یافته است. ژن شامل تمام اطلاعات برای تنظیم و بیان یک خصوصیت می‌باشد.

Genetic ژنتیک – علمی است که برنامه زیست را شرح می‌دهد .

Genome ژنوم –

ساختار ژنتیکی یک ماهی و عبارت از یک دست کروموزوم منطبق با یک دست هاپلوئیدی یک ماهی است .

Genotype ژنوتیپ –

مجموعه ژنهای یک موجود، ژنوتیپ آن را می‌سازد. ژنوتیپ از مجموعه نشانه‌های قابل مشاهده فردی که فنوتیپ نامیده می‌شود، مشخص می‌گردد. بعبارتی، ژنوتیپ به تمامی ساختار ژنتیکی هر فرد و فنوتیپ به تظاهرات خارجی این ساختار ژنتیکی اطلاق می‌شود. ژنوتیپ در زمان تشکیل تخم در ماهی مشخص می‌گردد و در تمام طول زندگی ثابت باقی می‌ماند ولی فنوتیپ ممکن است از زمان جنینی تا بزرگسالی تغییر کند.

Gonochorism ماهیان گونوکوریسم – ماهیان دارای جنسیت‌های جداگانه

Hermaphroditism ماهیان دوجنسیتی –

ماهیانی که هردو جنسیت در یک ماهی وجود دارد.

Hybridization هیبریداسیون – جفت شدن بازهای نوکلئوتاید

Inbreeding آمیزش خویشاوندی -

آمیزش بین افراد خویشاوند که سبب افزایش همخونی می‌شود.

Independent culling روش حذف مستقل -

شیوه بهگزینی که همزمان نسبت به انتخاب دو یا چند صفت اقدام کردد.

Individual selection بهگزینی فردی - انتخاب براساس لیاقت فردی است.

Intron قسمت غیر کدبندی یا غیر اساسی ژن

Inversion واژگونی -

برعکس‌شدن قطعه‌ای از کروموزوم و بر هم خوردن ردیف ژنی

Sex- Limited فنوتیپهای محدود به جنس -

بعضی از ژنهای وابسته به **X** فقط وابسته به نوعی از جنس هستند و در نوع دیگر بروز نمی‌کنند.

Liposome لیپوزوم -

روشی در انتقال ژن به تخم ماهی است که پلاسمید حامل ژن نوترکیب به روغن مخصوصی اضافه گردیده و تخم ماهی پس از لقاح در داخل آن قرار می‌گیرد.

Mass selection بهگزینی انبوه - انتخاب براساس لیاقت فردی است .

Meiotic Gynogenesis میوتیکژینوژنزیز-

ماده زاد میوزی‌شکلی از وراثت تمام ماده، تولیدی با این روش به ماهیان شبیه به ماهی مولد ماده منجر می‌شود.

Microinjection ریز تزریقی -

ریزتزریقی یکی از روشهای فیزیکی انتقال **DNA** است و ممکن است در داخل تخمک یا تخم لقاح یافته در داخل سیتوپلاسم یا هسته انجام گیرد.

Microscopic gun تفنگ میکروسکوپی -

روشی در انتقال ژن به تخم ماهی است که قطعات **DNA** توسط تفنگی ظریف و میکروسکوپی به داخل سلول شلیک می‌شوند.

Mitotic Gynogenesis میتوتیک ژینوژنزیز -

ژینوژنی، شکلی از وراثت تمام ماده تولیدی با این شیوه کاملا هموزیگوت

Monosomy مونوزومی - کاهش یک کروموزوم از حالت دیپلوئید **(2n-1)**

Mutator ژنهای جهش‌کننده –

در سطح **DNA** ژنهایی وجود دارند که قابلیت موتاسیون ژنهای دیگر را بالا می‌برند.

Nolysomy نولیزومی – کاهش دو کروموزوم از حالت دیپلوئید **(2n-2)**

Non-disjunction پدیده ناگسستن –

طی مراحل گامتوژنز گاهی دو کروموزوم از هم جدا نمی‌شوند.

Nuclear transplantation پیوند هسته –

انتقال سلول‌های زیگوت هسته در مراحل اولیه تقسیم، از ۲ تا ۸ تایی به داخل تخم دیگر فاقد سلول بارور

Peneterance قدرت نفوذ ژن –

به درصدی از حالتهایی می‌گویند که آن صفت بروز می‌کند با فرض اینکه ژنوتیپ در همه افراد یکسان باشد .

Point mutation متاسیون نقطه ای – تغییرات مولکولی در سطح ژن

Recessive Allele مغلوب، نهفته –

آللی که در حالت لوکوس هتروزیگوس، فنوتیپ مربوط به آن نهفته باشد.

Restriction enzyme آنریمهای محدودکننده یا محدودالاثر–

آنریمهایی که می توانند **DNA** را منحصراً در ردیف های خاصی قطع کنند. بنابراین، **DNA** به قطعات خاصی که محل برش آن آنزیم است، تقسیم می‌شود.

Regulatory sequences بخش تنظیم –

قسمت کنترلی ژن برای شروع و میزان فعالیت ژن

Reverse Genetic ژنتیک برگشتی –

روش مستقیمی که مواد تشکیل‌دهنده ژنتیک موجود یعنی ژن و **DNA** را بررسی می‌نماید.

Selection index روش شاخص بهگزینی

Selective value ارزش انتخابی –

روشی در بهگزینی که بطور همزمان چند فنوتیپ انتخاب می‌شود . در این روش هر صفت براساس یک معیار یا نمره سنجیده می‌شود و ماهیانی انتخاب میشوند که بالاترین نمرات را دارند.

Sex differentiation تمایز جنسیت -

رویدادهایی که در زمان رشد رخ داده و تشریح مسئله مربوط به جنسیت فنوتیپی مناسب را امکان‌پذیر می‌سازد.

Sex linked gene ژنهای وابسته به جنس -

در اصطلاح ژنی را وابسته به جنس گویند که روی کروموزومها جنسی واقع شده است.

Somatic cell سلولهای سوماتیک یا پیکری

Stractural genes ساختار ژن -

قسمت اصلی ژن برای تولید پروتئین یا آنزیم

Tandom selection بهگزینی متوالی -

برای تغییر دو ناحیه فنوتیپ که بدنبال هم انجام می‌گیرد.

Telomere تلومر - قسمت انتهای کروموزوم

Test cross آزمون تلاقی -

در این حالت موجود با والد مغلوب تلاقی داده می‌شود .

Testing phenotype آزمون فنوتیپ -

آزمونی جهت تعیین سطح هموزیگوت یا هتروزیگوت ماهیان

Transcription رونویسی -

نسخه‌برداری از روی **DNA** جهت همانندسازی یا تولید **mRNA**

Transfection ترانسفکسیون -

انتقال مولکول نوترکیب **DNA** فاژ به داخل سلول باکتری

Transformation ترانسفورماسیون -

انتقال مولکول نوترکیب همراه با پلاسمید (حامل) به داخل سلول باکتری

Translation ترجمه – به تولید پروتئین از روی اطلاعات **mRNA** گویند.

جابجائی - **Translocation**

شکستن قسمتی از یک کروموزوم طی تقسیم هسته و اتصال آن به کروموزوم دیگری که با کروموزوم اول همولوگ یا مشابه نیست .

تریزومی - افزایش یک کروموزوم از حالت دیپلوئید **Trisomy**

(2n+1)

ماهیان تک جنسیتی - **Unisexuality**

ماهیانی که معمولا ابتدا ماده هستند و متعاقبا تعدادی نر ظهور می‌کند.

واریانس ارزشی ارثی **Variance of breeding value**