دانشگاه آزاد اسلامی‌واحد لاهیجان

دانشکده علوم پایه

گروه کارشناسی ارشد زیست فناوری دریا

جزوه درسی

آبزی پروری پیشرفته

Advanced Aquaculture

دکتر حسین خارا

عضو هیئت علمی گروه شیلات دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان

۱۳۹۳

منابع

۱- کاظمی ، ح . ۱۳۷۷ . اصول ژنتیک .انتشارات عمیدی . ۵۱۲ صفحه .

۲- نیکول، دسموند اس.تی. ۱۳۷۸ . پیش درآمدی برمهندسی ژنتیک . ترجمه امین لاری ، م . انتشارات دانشگاه شیراز.۲۱۳ صفحه .

۳- مدر، ک و جینکز ، ج .ال . ۱۳۷۹ . مقدمه ای برژنتیک بیومتریک . ترجمه طالعی ، ع . ر . ۲۴۹ صفحه .

۴- بروسال ، ژ و ویو ، پ . ۱۳۷۰ . مسائل وتمرینات ژنتیک . ترجمه خسروشاهی ، م . ؟ .انتشارات پیشتازعلم. ۲۲۷ صفحه .

۵- ویلیامز، جف . ۱۳۸۲ . مهندسی ژنتیک .ترجمه نصیری ، م . ر و ملامحمدقلی ، الف .م . ۱۸۹ صفحه .انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد.

۶- خواجه غیاثی ، پ . ۱۳۸۲. مبانی ژنتیک واصلاح نژادباتاکیدبرژنتیک کیفی وژنتیک جمعیت . ۳۵۹ صفحه .انتشارات عالم افروز.

۷- مجد ، الف . راهنمای عملی زیست شناسی سلولی ومولکولی. ۱۳۸۰ . انتشارات دانشگاه اراک . ۲۹۳ صفحه .

۸- مک فرسون ، ام . جی و مولر ، اس . جی . ؟ . PCR ، مبانی وکاربردهای آزمایشگاهی . ترجمه کریمی ، م و زینلی ، س . ۱۳۸۳ . انتشارات اندیشه ظهور. ۳۵۹ صفحه .

۹- هالرمن ، اریک . ۲۰۰۳ . اصول وروشهای مطالعات ژنتیکی ماهیان (جلد اول) . ترجمه هاشم زاده سقرلو ، ایرج . ۱۳۸۴ .انتشارات نقش مهر . ۴۴۸ صفحه .

۱۰- هالرمن ، اریک . ۲۰۰۳ . کاربرد ژنتیک جمعیت درشیلات (جلددوم) . ترجمه هاشم زاده سقرلو ، ایرج . ۱۳۸۴ .انتشارات نقش مهر . ۱۵۲ صفحه .

۱۱- تاو ، داگلاس . ؟ . مبانی ژنتیک واصلاح نژادماهیان . ترجمه امینی ، فرهاد .انتشارات شرکت سهامی شیلات ایران . ۳۴۴ صفحه.

۱۲- یوسفیان، مهدی. ۱۳۸۸. مبانی زنتیک آبزیان. انتشارات موسسه تحقیقات شیلات ایران. ۱۸۱ صفحه.

۱۳- یوسفیان، مهدی. ۱۳۸۹. ژنتیک ماهی، تعیین جنسیت، تفکیک جنسیت، تمایز جنسی و دستکاری جنسیت.انتشارات دانشگاه ازاد اسلامی واحد قائم شهر. ۲۳۰ صفحه.

14- Kirpichnikov, V.S. 1981 .Genetic bases of fish. Springer-Verlag. P412.

15 - Smith, P.J. 1994 . Genetic diversity of marine fisheries resources possible impact of fishing. FAO. P53.

16 -FAO.1992. Report of the exper consulation on utilization and conservation of Aquatic genetic resources grottaferrata, Italy, 9-13 November,1992. FAO.p58.

17 - Reddy, P.V.K. 1997 .Genetic improvement methods in Asian Carps. Central Institute of Freshwater Aquaculture. P42.
18 - Journal of animal breeding and genetic

تاریخچه آبزی پروری در جهان و ایران

بدون شک آبزی پروری برای اولین بار در خاور دور شروع شده است، ولی درمصر قدیم و اروپای مرکزی نیز تاریخچه ای طولانی دارد.

اولین نوشتار در مورد پرورش ماهی کتاب فن لی است که در سال ۴۷۵ قبل از میلاد نگارش یافته است. فن لی یک سیاستمدار چینی بود که بعدا کار سیاست را رها کرد و به کار پر درآمد پرورش ماهی پرداخت. نگارش چنین کتابی در حدود ۲۵۰۰ سال قبل حاکی از آن است که در آن زمان پرورش ماهی در چین رواج داشت و یکی از مشاغل پر درآمد بود. نسخه اصلی کتاب فن لی هم اکنون در موزه انگلیس در لندن نگهداری می شود. مصری ها حدود ۲۵۰۰سال قبل از میلاد مسیح (ع) ماهی تیلاپیا را در استخرهای خاکی پرورش می دادند.

بسیاری از مورخین بر این باورند که پرورش ماهی تیلاپیا در مصرزود تر از پرورش ماهی کپور در چین آغاز شده است.

چینی هاکم کم ماهی کپور را به چند کشور دیگر آسیایی از جمله آسیای دور، و در قرون وسطی آن را به کشورهای اروپایی بردند و در استخر های صومعه ها پرورش دادند. این ماهی بعدا از اروپا به سایر مناطق برده شد. از قرن ششم میلادی به بعد، ماهی کپور اهمیت پرورشی خود را از دست داد. گفته می شود که این امر به علت همنام بودن این ماهی با امپراتور لی از سلسله تنگ بود (در زبان چینی به ماهی کپور لی گفته می شود).مردم نام این امپراتور را مقدس می دانستند و جایز نبود که امپراتور را در استخر پرورش دهند . برای جبران عدم پرورش ماهی کپور، چینی ها اجبارا به گونه های دیگر قابل پرورش روی آوردند و به همین دلیل بود که کم کم پرورش انواع گونه های کپور چینی شامل: ماهی علف خوار(آمور) ، ماهی کپور نقره ای (فیتوفاگ)، ماهی سرگنده (بیگ هد) و ماهی کپور معمولی رایج شد.

در فرهنگ لغت فارسی، به آبزی پروری کشتاب ورزی گویند.تا همین اواخرپرورش انواع کپور ماهیان، در بیشتر مناطق رواج داشت، ولی با معرفی ماهی تیلاپیا ازآسیای جنوب شرقی، و نیز سهولت و امکانات پرورش صدف در بسیاری از سواحل دریاها، پرورش این ماهیان از حالت انحصاری بیرون آمد. هنگامی که چینی ها مشغول معرفی گونه های مختلف کپور چینی به کشورهای مختلف بودند، هندی ها در قسمت های شرقی هندوستان به کار پرورش انواع کپور هندی مشغول بودند و این به قرن ۱۱ میلادی بر می گردد.

همان گونه که ذکر شد، تاریخ پرورش ماهی در اروپا از قرون وسطی با معرفی ماهی کپور شروع شد. طولی نکشید که این ماهی در برخی ناطق غذای اصلی مردم در اعیاد مذهبی و ملی شد و پرورش آن به ویژه در اروپای شرقی به شدت متداول شد. اولین اقدام برای پرورش ماهی در آبهای شور، توسط اندونزی در جزیره جاوه، و در قرن ۱۵ میلادی انجام گرفت. در قرن ۱۸ میلادی در این کشور بالغ بر ۳۰۰۰ هکتار، زیر کشت ماهیان آب شور بود.اولین اقدام برای پرورش آبزیان در سواحل دریاها، پرورش صدف خوراکی بود. پرورش صدف نیز سابقه ای بسیار طولانی دارد و حدود ۲۰۰۰ سال قبل توسط رومیان، یونانیها و ژاپنی ها انجام می گرفت. ارسطو درباره پرورش صدف در یونان صحبت کرده است و پلی نی جزئیات پرورش آن را توسط رومی ها در ۱۰۰ سال قبل از میلاد مسیح (ع) شرح داده است. تکثیر و پرورش ماهی قزل آلا از فرانسه و توسط یک نفر کشیش به نام دون پین شو در قرن چهاردهم میلادی آغاز شد. طولی نکشید که پرورش ماهی قزل آلا در بسیاری از مناطق شیوع یافت و این به خصوص به علت صید ورزشی آن با قلاب بود.

پرورش گیاهان دریایی در مقایسه با آبزیان جانوری، سابقه ای طولانی ندارد. آغاز پرورش آن در عصر حاضر صورت گرفته شده است. قدیمی ترین کتاب موجود درباره پرورش گیاهان دریایی کتابی است که در سال ۱۹۵۲ در ژاپن چاپ گردیده است. در حال حاضر پرورش گیاهان دریایی در بسیاری از کشورها از جمله ژاپن، کره، تایوان و چین رواج گسترده دارد. رشد بیش از حد جمعیت در بیشتر کشورهای جهان به ویژه در کشورهای توسعه نیافته و یا در حال توسعه، لزوم افزایش سالانه تولید محصولات کشتاب ورزی را برای کشورهایی که دارای منابع آبی و امکانات مورد نیاز هستند، الزامی کرده است.

تاریخچه پرورش آبزیان در ایران

در اسطوره های ایرانی جمشید را نخستین انسانی پنداشتند که به پرورش ماهی پرداخت. ایرانیان محل پروش ماهی را ماهی خانه می نامیدند.

علی رغم داشتن بیش از ۲۷۰۰کیلومتر مرز آبی در شمال و جنوب کشور، و وجود منابع آبی فراوان در قسمتهای مختلف کشور، پرورش آبزیان در ایران تاریخچه ای بسیار کوتاه دارد. اگر چه اقداماتی در دهه دوم قرن اخیر برای تکثیر ماهیان خاویاری به صورت ابتدایی و توسط کارشناسان روسی انجام گرفته است، باوجود این احداث یک کارگاه مستقل تکثیر و پرورش ماهی، به سال ۱۳۴۱ بر می گردد.در این سال اولین کارگاه تکثیر و پرورش ماهی ایران در کرج احداث شد. این کارگاه از همان ابتدا، به کار پرورش ماهی قزل آلای رنگین کمان پرداخت. اولین کارگاه تکثیر و پرورش ماهیان گرم آبی (شامل انواع ماهیان کپور، علف خوار، کپور نقره ای و کپور سر گنده) در سال ۱۳۵۱ در جنوب رشت تاسیس شد. این کارگاه که متعلق به شرکت سهامی دامپروری سفید رود است، در حال حاضر بزرگترین واحد تکثیر و پرورش ماهی کشور است

و بالغ بر ۱۰۰۰ هکتار استخر پرورش ماهی دارد. اولین کارگاه تکثیر و پرورش ماهی وابسته به شیلات که به منظور افزایش ذخایر ماهیان خاویاری دریای مازندران احداث شد، کارگاه شهید بهشتی (سد سنگر سابق) است که احداث آن در سال ۱۳۴۸ شروع و در سال ۱۳۵۰بهره برداری از آن آغاز گردید. احداث کارگاه های تکثیر و پرورش ماهی هر ساله رو به ازدیاد است. به هر حال تا کنون تمامی کا رروی انواع کپور ماهیان چینی و ماهی قزل آلای پرورشی بوده و علی رغم وجود شرایط و امکانات فراوان، بر خلاف سایر کشورها، کار چشمگیری روی تکثیر و پرورش انواع ماهی های دریایی، میگوها (سخت پوستان) و صدف ها (نرم تنان) انجام نگرفته است. در سالهای اخیر اقدامات مناسبی برای پرورش انواع مناسب میگوی خلیج فارس، و یکی دو گونه انواع وارداتی صورت گرفته است و امید آن می رود که در آینده ای نه چندان دور، تکثیر و پرورش آبزیان دریایی هم رشد و توسعه چشمگیری پیدا کند. پرورش انواع صدف های مروارید ساز و هسته گذاری در آنها، به منظور تولید مروارید پرورشی، در چند سال اخیر آغاز گردیده است و در حال حاضر یکی دو بخش خصوصی و قسمت های تحقیقاتی و اجرائی شیلات در این زمینه فعالیت می کنند. این کار نیز آینده خوبی دارد و امید آن می رود که خلیج فارس یک بار دیگر عظمت دیرینه خود را برای تولید انواع مروارید باز یابد.

آبزی پروری ارگانیک

تولیدات شیلاتی در جهان در طی چند سال اخیر در حدود ۱۳۰ میلیون تن ثابت باقی مانده است. از دهه ۱۹۷۰ تولیدات آبزی پروری به طور متوسط سالانه ۹ درصد افزایش داشته که با رشد ۳/۱ درصدی صید و ۹/۲ درصدی تولید گوشت جانوران خشکی زی اختلاف قابل ملاحظه ای دارد . اما رشد آبزی پروری ارگانیک از نظر میزان تولید و سطح در مقایسه با سایر بخشهای کشاورزی بسیار ناچیز است)نمودار۱). در سال ۲۰۰۰ میلادی میزان تولید ات آبزی پروری ارگانیک تنها حدود ۵۰۰۰ تن و معادل ۰۱/۰ درصد کل محصولات آبزی پروری بود که جملگی در اروپا تولید شده است. مبانی نظری آبزی پروری ارگانیک همانطور که اشاره شد آبزی پروری ارگانیک همانند سایر بخشهای کشاورزی فرایندی را ترسیم می کند که ضمن رعایت اصول و مبانی آبزی پروری بر افزایش بهره وری نهاده ها و سلامت تمامی اجزا نظارت و تاکید می نماید.تاکنون تعدادی از مراجع بین المللی و ملی نسبت به تهیه دستورالعملهای اجرایی آبزی پروری ارگانیک اقدام نموده اند که بعضا در مواردی با هم اختلاف دارند لیکن کلیات و روح این دستورالعملها یکسان است . مبانی آبزی پروری ارگانیک به شرح زیر است(بر گرفته از استانداردهای پیشنهادی NOSB امریکا و IFOAM)

۱.نیازمندیهای کلی

– آبزی باید در شرایطی پرورش یابد که نیازمندیهای اساسی فیزیولوژیکی و رفتاری آن را تامین نماید.

– شیوه مدیریت تولید باید به نحوی باشد که سلامت آبزی را حفظ نموده و آسایش آن را تامین نماید.

– به منظور پرهیز از فرار آبزی پرورشی به طبیعت یا ورود آبزیان وحشی به داخل محیط پرورش باید چاره اندیشی های لازم صورت گیرد و از اقدامهای مخاطره آمیز پرهیز شود . لذا پرورش آبزی در قفس و محیط های محصور ممنوع است.

– در صورت معرفی آبزیان غیر بومی اعمال مراقبتهای ویژه به منظور جلوگیری از وارد آمدن آسیبهای دائمی به اکوسیستم الزامی است

۲.غذا

– مواد غذایی باید بر مبنای استاندارد های تولید خوراک ارگانیک دام تولید شود

– مواد اولیه گیاهی باید از سیستم های ارگانیک کشاورزی تامین شود

– در تولید غذا برای مصرف در آبزی پروری حداکثر ۲۰ درصد آرد ماهی بکار رفته باشد.

– استفاده از آرد ماهی در جیره غذایی آبزیانی که ماهیخوار نیستند ممنوع است.

– آرد ماهی و روغن ماهی می بایست از ضایعات کارخانجات و یا صید ضمنی ماهیان دریایی و یا ماهیان پرورشی در سیستم ارگانیک تولید شده باشد.

– استفاده از آرد ماهی و روغن ماهی حاصل از صید مستقیم ماهی برای تولید آرد ممنوع است.

– استفاده از رنگها، هم بندها و آستاگزانتین مصنوعی در تولید خوراک ممنوع است.

– استفاده از آنتی بیوتیک ها ، محرکهای رشد ، ترکیبات اشتها آور و آنتی اکسیدان در تولید خوراک ممنوع است.

– افزودن مواد مکمل در ساخت غذا به استثنا مواد معدنی ، ویتامین ها ،مخمرها و آنزیمهای با منشا گیاهی غیر مجاز است

– استفاده از مواد اولیه با منشا حیوانات خشکی زی ممنوع است

– غذادهی باید به نحوی انجام پذیرد که با رفتارهای طبیعی جانور منطبق باشد و غذای تهیه شده نیازمندیهای غذایی جانور برای رشد را فراهم آورد.

۳.محیط زیست

– مزرعه باید به نحوی مدیریت شود که حداکثر استفاده از مواد غذایی به عمل آید و کمترین ضایعات بر جاب بماند. این اصل با پرورش توام آبزیان و سیستم های گردش آب قابل حصول است.

– جانوران شکارچی بدون استفاده از روشهای مرگ آور باید کنترل شوند.

– تمامی تاسیسات آبرسانی و در تماس مستقیم با آب باید عاری از سرب ، مواد عقیم کننده و مضر به حال اهی ،انسان و محیط زیست باشد.

۴.تکثیر و منشا مولدین

– استفاده از مولدینی که دستکاری ژنتیکی شده اند و یا تحت تاثیر هورمون قرار گرفته اند ممنوع است.

– نوزاد آبزی باید از مزارع ارگانیک که دارای مجوز هستند تهیه شود . اگر مزارع ارگانیک وجود نداشته باشد از مزارع در حال گذار (Conversion) باید تامین گردند مشروط به آنکه شرط اول را دارا بوده و دو سوم از عمر مولدین در شرایط ارگانیک سپری شده باشد.

– تولید مثل باید حتی المقدور در شرایط طبیعی انجام شود .القای تولید مثلی مانند قطع پایه چشمی در تکثیر میگو ، غیر مجاز است

۵.مراقبتهای بهداشتی

– اصل اول در آبزی پروری ارگانیک پیشگیری است . رعایت نکات بهداشتی و ایمنی زیستی برای جلوگیری از انتقال بیماری به مزرعه و یا از مزرعه به محیط الزامی است.

– استفاده از مواد شیمیایی ،هورمونها و آنتی بیوتیکها ممنوع است . چنانچه در مواقع ضروری استفاده شود ،محصول نمی تواند به عنوان ارگانیک به بازار عرضه شود.

– استفاده از محرکهای طبیعی رشد و واکسنهای طبیعی مجاز است.

– برای کنترل عوامل انگلی استفاده از پر اکسید هیدروژن ، کلرید سدیم ، آهک و پرمنگنات پتاسیم آزاد است.

۶.برداشت محصول

– شتن آبزی باید حتی المقدور بدون وارد آمدن استرس به جانور باشد.

– استفاده از شوک الکتریکی ،دی اکسید کربن و... در صورت نیاز بلامانع است.

– قبل از کشتن جانور دمای آب به ۴ درجه سانتیگراد کاهش یابد.

– مراکز فرآوری آبزیان ارگانیک باید دارای استانداردهای بین المللی باشند.

۷.تبدیل مزارع پرورشی موجود (گذار)

– مزارع موجود برای تبدیل شدن به مراکز آبزی پروری ارگانیک باید مرحله ای را پشت سر گذارند که به آن گذار ((Conversion گفته می شود . طول مدت این مرحله در امریکا ۳ سال پیش بینی شده است.

موانع توسعه آبزی پروری ارگانیک

همانطور که اشاره شد در مقایسه با تولیدات ارگانیک در سایر بخشهای کشاورزی ،آبزی پروری ارگانیک از رشد اندکی برخوردار بوده است . اجرای مبانی آبزی پروری ارگانیک انبوهی از سوالات را در پیش روی مزرعه داران و سازمانهای تخصصی قرار می دهد :

•آیا تولید غذای ۱۰۰ %ارگانیک امکان پذیر است و در صورت تولید آیا این غذا مناسب خواهد بود؟
•در شرایط امروزی که در بسیاری از کشورها ،استفاده از آنتی بیوتیکها جز لاینفک آبزی پروری به حساب می آید آیا عدم استفاده از آنها مقدور است ؟
•چگونه می توان استرس و صدمات ناشی از آن را کاهش داد ؟
•چه تراکمی برای پرورش و بهترین شرایط زیست آبزی مناسب است و مانع از استرس جانور می شود؟
•مزارع موجود چگونه باید به مزارع ارگانیک تبدیل شوند ؟ منابع آبی چگونه تبدیل خواهند گردید ؟
•برای حفاظت از عوامل خارجی نظیر بیماری و آلودگی چه راه حلهایی باید بکار گرفته شود ؟ آیا باید وجود بیماری را پذیرفت ؟
•برای کنترل عوامل شکارچی چه اقداماتی را باید انجام داد ؟
•آیا استفاده از آرد ماهی ارگانیک اصلا مفهومی دارد ؟ این اصل چقدر قابل انعطاف است؟
•در مورد کود دهی چه روشهایی را باید به کار گرفت تا حداکثر استفاده از کود به عمل آید ؟ آیا سیستمهای جامع Integrated System تنها راه حل است ؟ و...در توجیه ابعاد سوالات فوق به ذکر چند مثال بسنده می کنیم : در حالی که در آبزی پروری ارگانیک کشتن جانوران شکارچی نظیر پرندگان ماهیخوار ممنوع است تنها در آمریکا سالانه بیش از ۵۰۰۰۰ قره غاز (باکلان) توسط پرورش دهندگان ماهی کشته می شود . سایر روشها نظیر استفاده از آلات و ادوات دور کننده کارایی لازم را ندارد .ابعاد و شکل مناسب برای نگهداری و پرورش برخی از آبزیان به خوبی شناخته شده است . مثلا در پرورش ماهی آزاد حوضچه مستطیل و نگهداری میگوی مولد استخرهای مدور بهترین شکل است اما این نکته بر ما معلوم نیست که این اشکال آسایش جانور را تامین خواهند نمود پرورش برخی آبزیان با انجام دستکاریهای

ژنتیکی توجیه پذیر است و در صورت رعایت اصول آبزی پروری ارگانیک پرورش آنها عملا مقدور نخواهد بود. برای مثال به نر زایی در ماهی تیلاپیا می توان اشاره نمود.مثالهایی از این دست بسیار زیادند که هر یک نکته ابهامی در توسعه آبزی پروری ارگانیک به شمار می روند .از نظر اجرایی نیز موانع مختلفی برای اجرای آبزی پروری ارگانیک وجود داشته و دارد که از بین آنها به موارد زیر می توان اشاره نمود:

۱ .تنوع آبزیان پرورشی

تا سال ۲۰۰۰ میلادی تعداد آبزیان پرورشی ۲۰۶ گونه بوده است که د ر مقایسه با دامپروری از تنوع قابل توجهی برخوردار است(جدول ۲) . نیازهای اکولوژیکی و شرایط پرورشی این گونه ها نیز اغلب متفاوت بوده و سوالات اساسی را پیش روی دست اندرکاران قرار می دهد.

۲ .عدم وجود آیین نامه های اجرایی بین المللی

اگرچه برخی سازمانهای بین المللی مانند FAO/WHO ، IFOAMشیوه نامه های کلی برای اجرای آبزی پروری ارگانیک را منتشر نموده اند اما هنوز اختلاف نظرهای اساسی در مبانی و کاربردی بودن این دستورالعملها وجود دارد . کشورهای مختلفی نظیر امریکا ،نیوزیلند و نیز کشورهای حوزه اروپا تهیه دستورالعملهای ملی را بر اساس آیین نامه های بین المللی در دستور کار خود قرار داده اند لیکن هنوز کمبودها ی محسوسی در این آیین نامه ها مشاهده می شود. برای مثال در امریکا تا سال ۲۰۰۱ میلادی چندین استاندارد ملی پیشنهاد گردید که هیچیک از آنها نهایی و به عنوان استاندارد ملی پذیرفته نشده است . در نیوزیلند ضوابط آبزی پروری ارگانیک از سال ۲۰۰۱ مورد عمل قرار می گیرد.

۳ . مراکز بازرسی و صدور گواهینامه ارگانیک

بیش از ۹۰ درصد ابزیان پرورشی در کشورهای در حال توسعه تولید می شود و میزان تولیدات این کشورها سالانه ۵/۱۲ درصد افزایش می یابد . ۱۰ درصد باقیمانده نیز در سایر مناطق جغرافیایی (امریکا و اروپا و اقیانوسیه (تولید می گردد . این در حالی است که تقریبا تمامی مراکز بازرسی و صدو ر گواهینامه در کشورهای توسعه یافته مستقر هستند (جدول ۳) . انتظار می رود با توسعه این مراکز و استقرار آنها در مراکز آبزی پروری روند افزایش مراکز آبزی پروری ارگانیک سرعت گیرد.

پیش بینی روند توسعه آبزی پروری ارگانیک

بر اساس ارزیابی انجام شده توسط فائو میزان تولید ات آبزی پروری از حدود ۴۵ میلیون تن در سال ۲۰۰۰ با ۴برابر افزایش به ۱۹۴ میلیون تن در سال ۲۰۳۰ خواهد رسید .سهم آبزی پروری ارگانیک نیز تا سال ۲۰۱۰ سالانه ۳۰ درصد و از سال ۲۰۱۱ تا ۲۰۲۰ سالانه ۲۰ درصد و از سال ۲۰۲۱ تا ۲۰۳۰ سالانه ۱۰ درصد افزایش خواهد یافت . به این ترتیب میزان تولید آبزی پروری ارگانیک با ۲۴۰ برابر افزایش از ۵۰۰۰ تن در سال ۲۰۰۰ به ۴/۱ میلیون تن خواهد رسید که معادل ۶/۰درصد کل محصولات آبزی پروری در سال ۲۰۳۰ است . این ارزیابی بر اساس توان فعلی تولید و در نظر گرفتن بازارهای اروپا ،امریکا ، استرالیا ، ژاپن ، نیوزیلند و سنگاپور انجام شده است .با پاسخ به سوالات اساسی پیش روی این بخش ، تدوین آیین نامه های اجرایی و گسترش مراکز بازرسی و صدور گواهینامه و ارتقای فرهنگ مصرف کنندگان و استقبال هر چه بیشتر بازار از محصولات ارگانیک انتظار می رود روند آبزی پروری ارگانیک نیز تسریع گردد.

آبزی پروری ارگانیک در ایران

دانش آبزی پروری در ایران از قدمت نسبتا کوتاهی برخوردار است و بخش عمده توسعه فعالیتهای تکثیر و پرورش ماهی در طی سالهای پس از پیروزی انقلاب اسلامی تحقق یافته است . بر اساس اطلاعات موجود میزان تولید سالانه آبزیان پرورشی در سال ۱۳۵۶ اندکی بیش از ۳۰۰۰ تن بوده است . در حال حاضر مجموع تولیدات زیر بخش آبزی پروری نزدیک به ۸۰۰۰۰ تن است . سابقه و تجربه نسبتا اندک پرورش آبزیان و نیز نبود تحقیقات کاربردی در زمینه آبزی پروری امکان تطبیق شرایط پرورش آبزیان را با استانداردهای آبزی پروری ارگانیک مشکل می نماید . سوالاتی که به صورت عمومی برای تحقق مبانی آبزی پروری ارگانیک مطرح گردید د ر مورد ایران با شدت بیشتری مطرح است و پاسخگویی به آنها مشکل تر خواهد بود .علاوه براین در شرایط کنونی بخش عمده آبزیان پرورشی ایران (بجز میگو) به بازارهای داخلی عرضه می شود . با توجه به وضعیت درآمد سرانه , عرضه گسترده محصولات ارگانیک که عموما از قیمت فروش بالاتری نسبت به محصولات عادی برخوردارند، در آینده نزدیک تحقق نخواهد یافت . بدیهی است با ارتقای فرهنگ عموم مصرف کنندگان به خصوص عده ای که از نظر درآمد در طبقه بالای جامعه قرار می گیرند ، زمینه عرضه داخلی محصولات ارگانیک از جمله آبزیان فراهم خواهد شد . از سوی دیگر شبه سنتی بودن آبزی پروری در ایران و استفاده از فن آوری نسبتا ساده در آبزی پروری این فرصت را بوجود می آورد که باانجام پاره ای تغییرات در شیوه مدیریت مزارع , تولید آبزیان ارگانیک و در مرحله بعد اجرای سامانه آبزی پروری ارگانیک در مزارع قابل حصول باشد .در مورد میگو که محصولی با

تقاضای نسبتا بالا در بازارهای جهانی (امریکا ، اروپا و ژاپن) می باشد ، دور نمای بازار برای فروش میگوی ارگانیک ایران بیش از سایر آبزیان مهیا است . با در نظر گرفتن این مطلب که شیوه عمومی مدیریت مزارع پرورش و بخش قابل توجهی از مراکز تکثیر میگو با ضوابط بین المللی همخوانی دارد چنانچه اصلاحاتی در بعضی مراحل فرایند تولید (نظیر ساخت غذا) انجام گیرد می توان امید وار بود که عرضه میگوی ایران به بازارهای جهانی با نشان " ارگانیک " انجام شود که این امر مزایای زیادی برای تولید کنندگان ایرانی به همراه خواهد داشت و قدرت رقابت ایشان در بازارهای بین المللی را افزایش می دهد .تولید میگوی ارگانیک رویکردی است که اخیرا و با توجه به افزایش تولید میگو و تعدد کشورهای پرورش دهنده با هدف افزایش قدرت رقابت در بازارهای مصرف, مورد توجه برخی تولید کنندگان قرار گرفته است. ویتنام از جمله این کشورها است که قصد دارد با توسعه آبزی پروری ارگانیک جایگاه خود را در بین سایر رقبا تثبیت نموده و در بحبوحه افت قیمت جهانی میگو بخشی از محصول خود را با قیمت به مراتب بالاتر عرضه می کند .استقبال مصرف کنندگان اروپایی از میگوی ارگانیک موفقیت نسبی این رویکرد را یادآوری می نماید.

ژنتیک

علم ژنتیک علمی است که به مطالعه وراثت و فعالیت ژن و همچنین به بررسی روشهایی که ژنها از یک نسل به نسل دیگر منتقل می شوند ، می پردازد. ژنتیک از کلمه generate گرفته شده که به معنای تولید شدن و هستی یافتن است. علم ژنتیک به شاخه های مختلفی تقسیم می گردد. که عبارتند از ژنتیک کلاسیک، سیتوژنتیک، ژنتیک مولکولی، ژنتیک جمعیت و ژنتیک کمی.

در ژنتیک مندلی یا کلاسیک به بررسی انتقال صفات مجزا از نسلی به نسل دیگر و نحوه بیان آنها بر اساس قوانین مندلی بررسی می شود.

علم سیتوژنتیک به مطالعه ساختمان، عمل وحیات سلولها می پردازد. از این رو علم سیتوژنتیک نیز علمی است که روشها و یافته های علوم سیتولوژی و ژنتیک را درهم می آمیزد. در علم سیتوژنتیک ساختمان، عمل و تکامل کروموزمها بررسی می شود.

ژنتیک مولکولی به مطالعه ساختمان، عمل و پویائی ژن ها در سطح مولکولی می پردازد.

ژنتیک جمعیت ترکیب ژنتیکی وتکامل جوامع مختلف مطالعه می شود. مطالعات در زمینه ژنتیک جمعیت با علوم دیگر چون سایر شاخه های علم ژنتیک، بوم شناسی ، رده بندی، تاریخ طبیعی و آمار همپوشانی دارد. مباحث ژنتیک جمعیت و فرایندهای مربوط به آن تحت عنوان جهش، مهاجرت، انتخاب، انحراف ژنتیکی، درون آمیزی و هم سازگاری مطرح می شود.

ژنتیک کمی به مطالعه صفاتی می پردازد که ریخت های حاصل از آنها دارای طبیعتی کمی بوده و توزیعشان پیوسته است.

تعاریف

۱- **ژن:** عامل وراثتی و تعیین کننده یک عمل بیولوژیکی، یک واحد توارث که در یک قسمت ثابت کروموزوم واقع شده است.

۲- **آلل**: فرم های مختلف یک ژن را گویند.

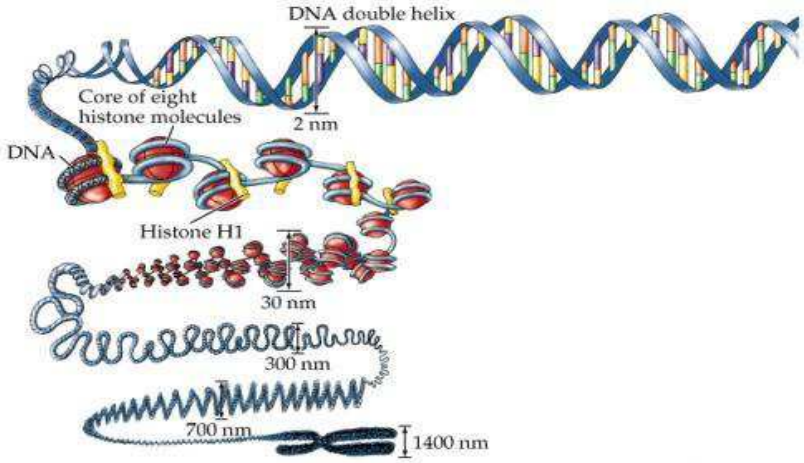
۳- **لوکوس**: جایگاه ژن در روی کروموزوم را لکوس گویند.

۴- **فنوتیپ**: اثرات قابل رویت یک ژن را گویند.

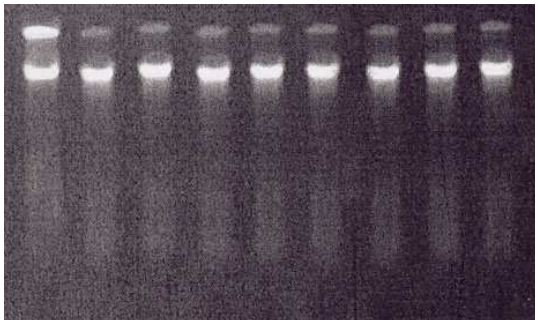
۵-**ژنوتیپ**: ساختار ژنتیکی یک ژن را گویند.

اسید های نوکلئیک(Nucleic acids):

اسیدهای نوکلئیک را می توان به عنوان مهمترین ترکیبات ماده زنده درنظر گرفت. در ساخت مولکولی این اسیدها عملاً تمام اطلاعات ژنتیکی یعنی تمام اجزای لازم برای ساخته شدن پروتئینها اختصاصی وجود دارند . انتخاب نامشان به این مناسبت است که نخستین بار بوسیله مشیر Micher از شیره هسته گویچه های سفید جدا شده اند. تمام سلولها دو نوع اسید نوکلئیک دارند. از سوی دیگر ثابت شده است که این دو نوع نوکلئیک RNA دارای قند ریبوز و اسید دزاکسی ریبونوکلئیک DNA دارای قند دزاکسی ریبوز است .



ساختمان ژنوم از DNA تا کروموزوم



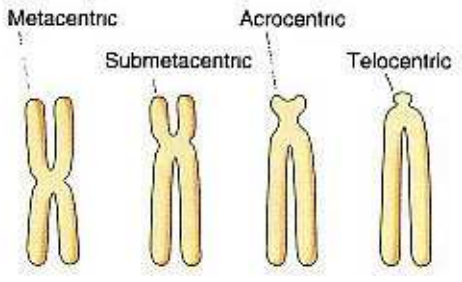
DNA استخراج شده از بافت باله دمی تاسماهی ایرانی (ژل آگارز ۱٪)

ساختمان کروموزوم

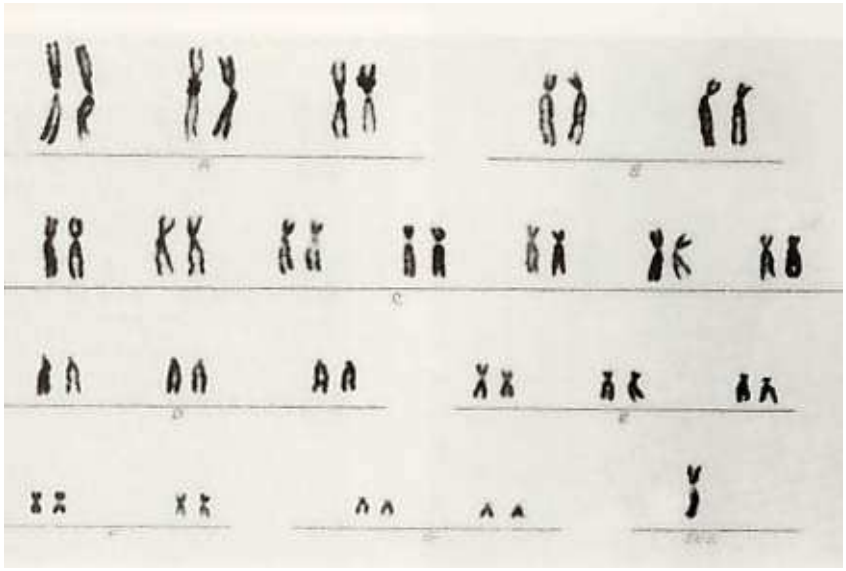
ماده ژنتیکی موجودات عالی در کروموزوم‌هایی، متشکل از DNA، پروتئین‌های هیستونی و پروتئین‌های غیرهیستونی قرار دارد. مولکول دو رشته‌ای DNA در تمام طول کروموزوم قرار گرفته و با پیچش به دور

ترکیبات هیستونی، رشته کروماتین اولیه به ضخامت ۱۱ نانومتر را ایجاد می‌کند. کروماتین نیز پیچ و تاب‌های فراوانی خورده، ساختار بسیار متراکم کروموزوم‌های مرحله متافاز را به ضخامت ۷۰۰ نانومتر ایجاد می‌کند. به علت آنکه کروموزوم‌ها در مرحله متافاز تقسیم میتوز بیشترین تراکم ساختمانی را دارند، در موجودات عالی در این مرحله مطالعه می‌شوند. در این مرحله کروموزوم‌ها مضاعف شده، دارای دو رشته می‌باشند که به نام کروماتیدهای خواهری نامیده شده و به وضوح قابل مشاهده‌اند.

در حالت معمول کروموزوم‌های مرحله متافاز در زیر میکروسکوپ نوری، به صورت دو کروماتید، که در محل سانترومر به هم متصلند، قابل مشاهده‌اند. شکل کروموزوم بواسطه محل قرار گرفتن سانترومر، تعیین می‌شود. معمولاً بسته به محل سانترومر در روی کروموزوم، کروموزوم به چهار دسته تقسیم می‌شوند. در کروموزوم‌های متاسنتریک (Metacentric) سانترومر تقریباً در وسط کروموزوم قرار داشته و بازوهای کروموزوم دارای طول برابر می‌باشند. سانترومر در کروموزوم‌های ساب‌متاسنتریک (Submetacentric) به سمت یک انتهای کروموزوم نزدیک تر شده، لذا طول بازوهای آن با هم برابر نمی‌باشد (این حالت به عنوان بازوهای دراز و کوتاه نامیده می‌شود). کروموزوم‌های داری یک بازوی بسیار کوتاه به نام کروموزوم‌های اکروسنتریک (Acrocentric) یا ساب تلوسنتریک (Subtelocentric) خوانده شده و آنهایی که تنها داری یک بازوی قابل رؤیت با سانترومری در انتها می‌باشند، به نام کروموزوم‌های تلوسنتریک (Telocentric) نامیده می‌شوند. از آنجائیکه احتمالاً بیشتر کروموزوم‌ها دارای یک بازوی بسیار کوتاه می‌باشند، حتی اگر این بازو به سختی هم قابل مشاهده باشد، برخی نویسندگان کروموزوم‌های تلوسنتریک و ساب تلوسنتریک را در یک گروه قرار داده اند کروموزوم‌های جنسی، کروموزوم‌هایی هستند که بین نرها و ماده‌ها با هم متفاوت می‌باشند، کروموزوم‌های دیگر به نام کروموزوم‌های غیرجنسی خوانده می‌شوند.



اشکال مختلف کروموزوم



ژنتیک کلاسیک

در ژنتیک علائم خاصی مورد استفاده قرار می‌گیرد و به عنوان زبانی هستند کـه مفـاهیم مهـم ژنتیـک را توضیح می دهند. به عنوان مثال حروف بزرگ به عنوان الل بارز و حروف کوچک به عنوان الل نهفتـه بکـار برده می شود. خواص جهش یافته معمولاً به وسیله آلل‌های نهفته کنترل می شوند زیرا بیشتر جهـش‌هـا بـه صورت نهفته است. آلل بارز تولید محصولات (آنزیم و یا پروتئین) کامل و قابل استفاده می‌کند. ژنهای نهفته زمانی بروز می کنند که الل‌های بارز در کنار آنها نباشند. در بعضی موارد مثلاً در گیاهان دورگه پا بلند، الـل ها با هم تفاوت دارند یکی ازآنها برای پایه بلندی و دیگری جهت پایه کوتاهی است. زمانی که یک جفـت ژن در موجودی با هم برابرند مثلاً DD موجود از نظر آن ژن هموزایگوس (Homozygous) و خود فرد هموزایگوت (Homozygote) است. در صورتی که آلل مختلف در مورد یک ژن وجود داشته باشد مـثلاً D، d موجـــود را از نظـــر آن هتروزیگـــوس (Heterozygous) و خـــود موجـــود را هتروزیگـــوت (Heterozygoute) می‌گویند.

دو اصلاح مهم دیگر در ژنتیک فتوتیپ (phenotype) و ژنوتیپ (Genotype) هستند. که اولـی اثـرات قابل رویت یک ژن مانند صفت البیو در قزل‌آلا و دومی ساختار ژنتیکی یک ژن را می‌گویند.

ژنهای آتوزومی

به طور کلی ژنها می‌توانند روی کروموزومهای جنسی و یا کروموزومهای آتوزومی قرار داشته باشند، بـه هنگام بررسـی نحـوه وراثـت یـک فنوتیـپ کیفـی، تعیـین اینکـه ژن یـا ژنهـای مسـبب آن فنوتیـپ روی کروموزومهای جنسی یا آتوزومی قرار دارند، حائز اهمیت اسـت. زیـرا چگـونگی بـه ارث رسـیدن ژنهـای آتوزومی با ژنهایی که در روی کروموزومهای جنسی قـرار دارنـد متفـاوت مـی‌باشـد. ژنهـایی کـه در روی

کروموزومهای جنسی قرار دارند نحوه وراثت آنها به نحوه تعیین جنسیت و تعداد کروموزومهای جنسی بستگی دارند.

۱- ژنهای غالب و مغلوب

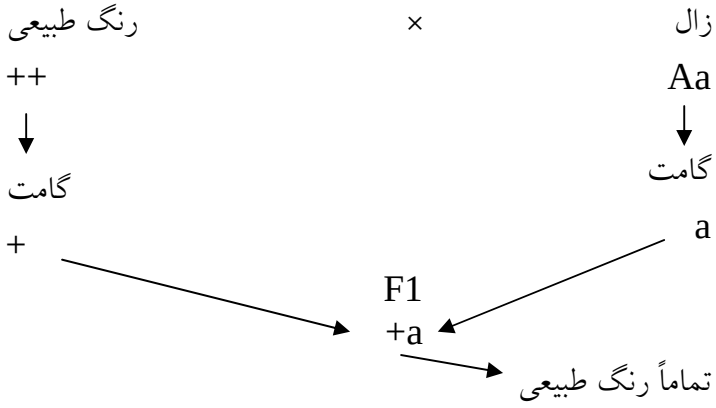
اصل اول ژنتیک مندلی: غالبیت هنگامی روی می‌دهد که یک الل، شدیدتر از سایرآللها بروز یابد. آللی که شدیدتر بروز پیدا می‌کند، الل بارز و دیگری الل نهفته (مغلوب) نامیده می‌شود. به فنوتیپی که به وسیله الل بارز کنترل می‌شود، فنوتیپ غالب (بارز) و به فنوتیپی که به وسیله الل نهفته کنترل می گردد فنوتیپ مغلوب (نهفته) گفته می‌شود. هنگامی که روش فعالیت ژنی، غالبیت کامل است، فقط دو فنوتیپ وجود دارد. علت این است که در حضور الل بارز در ژنوتیپ ناخالص فقط ژن غالب بروز می کند.

از نمونه ژنهای با غالبیت کامل، فعالیت ژن صفت زالی است. این ژن در تمامی موجودات وجود دارد یعنی در صورت وجود فنوتیپ زالی موجود کاملاً سفید می‌باشد. این صفت در گربه ماهی رو گامی است. زالی در گربه ماهی به وسیله ژن ساده a که یک ژن اتوزومی نهفته است کنترل می شود. علامت + برای مشخص کردن رنگ آمیزی ملانین‌دار طبیعی است.

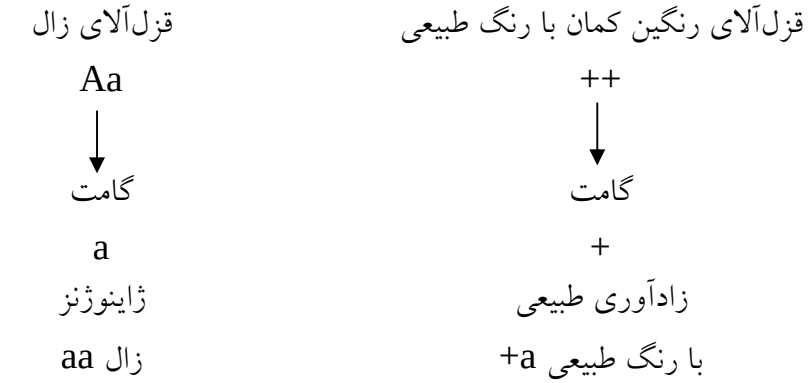
با توجه به اینکه الل + نسبت به الل a دارای غالبیت کامل می باشد سه نوع ژنوتیپ دراین لوکوس قرار دارد که فقط قادر به تولید دو فنوتیپ هستند.

ژنوتیپ	فنوتیپ
AA	رنگ طبیعی
Aa	رنگ طبیعی
Aa	زال

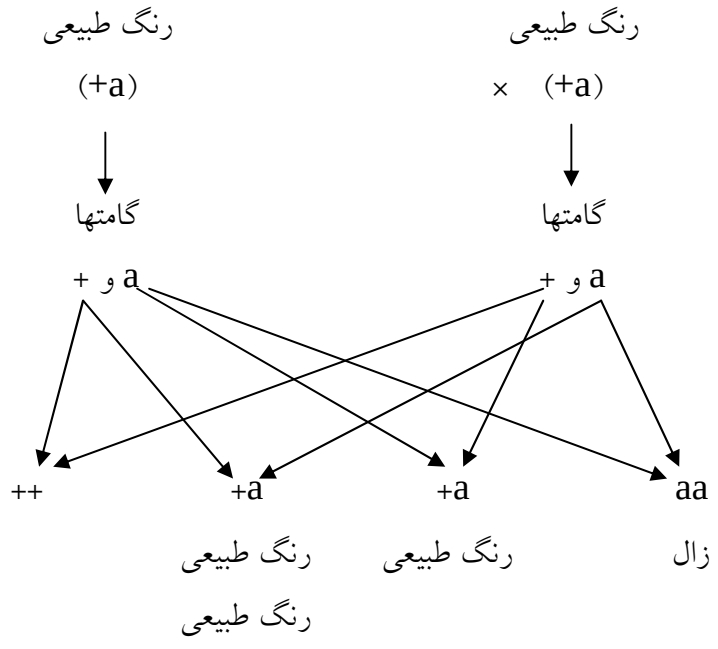
پس هنگامی که یک گربه ماهی با رنگ طبیعی خالص را با یک گربه ماهی زال آمیزش دهند، آمیزش حاصل به صورت زیر خواهد بود.



چنین صفتی در قزل آلای رنگین کمان هم وجود دارد که به همین صورت به ارث می‌رسد. از این صفت برای بررسی نتایج حاصل از ماده‌زائی استفاده می‌شود یعنی اگر یک ماده زال قزل‌آلا را با استفاده از اسپرم یک قزل‌آلای نر با رنگ طبیعی خالص آمیزش دهند در صورتی که ژاینوژنز صورت گرفته باشد نتایج حاصل تماماً زال می باشند.



تنها راه به وجود آمدن یک گربه ماهی زال اینست که یک اسپرم با ژن a با تخمک دارای الل a با هم آمیزش کنند که در دو صورت بوجود می‌آید اول اینکه هر دو والد زال باشد یا اینکه والدین به صورت هتروزایگوت بوده و دارای الل نهفته باشند در این صورت در آمیزش آنها $\frac{1}{4}$ نسل زال خواهند بود.



نسبت فنوتیپی و ژنوتیپی را می توان از طریق مربع پانت تعیین کرد. تمام گامت‌های ماهی نر در طول ستونهای بالا، و گامت‌های جنس ماده در صورت سمت چپ قرار می‌گیرد.

گامت نر			
گامت ماده		+	**A**
	+	++ طبیعی	+a طبیعی
	a	a+ طبیعی	aa زال

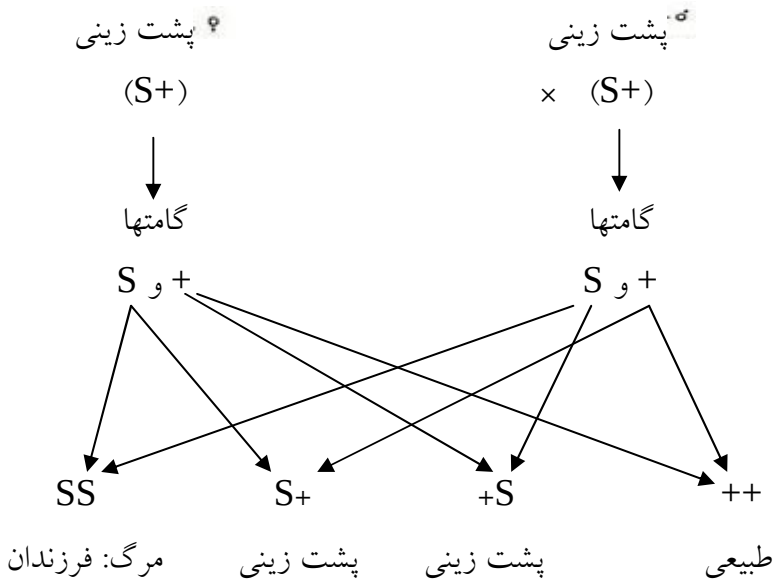
۲- ژن‌های با غالبیت ناقص

حالت دیگر از غالبیت است که الل بارز، شدیدتر از الل نهفته نمایان می‌شود اما شدت آن به اندازه‌ای نیست که فنوتیپ ناخالص با فنوتیپ خالص برابر باشد. ژنهایی که دارای فعالیت ژنی غالبیت ناقص هستند ۳ ژنوتیپ و ۳ فنوتیپ ایجاد می‌کنند.

در اینجا، ژن V در ماهی جنگجوی سیامی، برای توضیح این نوع فعالیت ژنی بکار رفته و چگونگی به ارث رسیدن این فنوتیپ را نشان می‌دهد. ژن V تعداد گوانوفورها (Guanophores) را تعیین می‌کند. و روی رنگ بدن تأثیر دارد. به این علت که غالبیت این الل به صورت کامل نمی‌باشد فنوتیپ حاصل از ژنوتیپ ناخالص به فنوتیپ غالب بیشتر تمایل است. ژنوتیپ‌ها و فنوتیپ‌های ژن V در ماهی جنگجوی سیامی به قرار زیر است.

فنوتیپ	ژنوتیپ
آبی فولادی	VV
آبی	Vv
سبز	vv

به این علت هر ژنوتیپ، فنوتیپ منحصر به فردی را ایجاد می‌کند بنابراین از فنوتیپ رنگ در ماهی جنگجو که به رنگ های آبی فولادی، آبی و سبز است، ژنوتیپ آن را می‌توانیم پی ببریم. تعدادی از ژنهای دارای غالبیت ناقص کشنده بارز هستند (Pominony lephalyenes) به این معنی که ژنوتیپ خالص غالب منجر به مرگ می‌شود. مثال این مورد ژن S در ماهی تیلاپیا اوره‌آ است.



۳- ژن‌های افزایشی ـ همبارز

در صورتی که هیچ یک از اللها غالب نباشد، هر ۲ الل به طور یکسان با یک روش افزایشی و همسو در ایجاد یک فنوتیپ شرکت می‌کنند و فنوتیپ ناخالص، در حد واسط ۲ فنوتیپ خالص، قرار دارد. تشخیص اینکه آن دسته از ژنهای اتوزومی دارای فعالیت افزایشی است یا غالب ناقص، این نکته که آیا فنوتیپ ناخالص در حد واسط ۲ فنوتیپ خالص قرار دارد یا به یکی از دو فنوتیپ خالص شباهت بیشتری دارد. ژن G در قزل‌آلای رنگین کمان نمونه‌ای از ژنهایی است که دارای فعالیت ژنی افزایشی می‌باشند. ژن G فنوتیپ‌های رنگ بدن شامل طلایی، ابرش و طبیعی را بوجود می‌آورد:

فنوتیپ	ژنوتیپ
طلایی	G´G´
آبرش	G´G
طبیعی	GG

ژنهایی که با روش افزایشی عمل می‌کنند همچون ژنهای با غالبیت ناقص نشان مـی‌دهنـد ۳ ژنوتیـپ و ۳ فنوتیپ دارند به همین دلیل هر ژنوتیپ یک فنوتیپ دارند و مشخص کردن ژنوتیپ از روی فنوتیـپ بسـیار آسان است.

۴- وراثت دو صفتی

هنگامی که ۲ یا چند ژن به طور مستقل به ارث برسند یعنی پیوسته نباشـند و هـر یـک از ژنهـا فنـوتیپی متفاوت را کنترل کنند چه فنوتیپ‌ها را بصورت مجزا در نظر گرفته شوند و چه به صورت توأم کار بـا آنهـا بسیار ساده است زیرا ژنوتیپ‌های این ژنها مجزای از هم به ارث می‌رسند، اصل دوم مندل اسـت (تفکیـک صفات Principle of segregation که ژنهای جدا مستقل از یک به ارث می‌رسند. مفهوم تقرق کـه بـه عنوان یکی از اصول مندل شناخته می‌شود. به این صورت خلاصه مـی‌شـود ژنهـای زوج (جفـت آللهـا) از یکدیگر جدا شده و به سلولهای جنسی انتقال می‌یابند. بنابراین فراوانیها و احتمالات مربوط به وقوع همزمان ترکیبهای خاص از فنوتیپی و ژنوتیپها بیشتر از حاصل ضرب فراوانی‌ها و احتمالات وقوع جداگانه هـر یـک از آن فنوتیپها و ژنوتیپ ها نخواهد بود.

به عنوان مثال رنگ طلایی بدن در ماهی گوپی توسط یک ژن نهفته اتوزومی غالب کنترل می‌گـردد. الـل بارز G باعث رنگ خاکستری و الل نهفته g باعث رنگ طلائی می‌شود. خمیدگی ستون مهره‌های بـدن نیـز بوسیله یک ژن نهفته اتوزومی ساده Cu کنترل می‌گردد. الل غالب بصورت Cu باعث حالـت طبیعـی و cu الل نهفته باعث خمیدگی می‌گردد.

	G	g
Cu	G_1Cu	g_1Cu
cu	G_1cu	g_1Cu

گامتها: $_1gCu$:$_1GCu$:$_1gcu$

گامت‌های حاصل در یک گوپی با حالت طبیعی ستون مهره و خاکستری اما ناخالص

در هر فرد ۴ نوع گامت با فراوانی ۱ تولید خواهد شد کـه ترسـیم مربـع پانـت آن نسـبت فنوتیـپ‌هـا و ژنوتیپ‌های حاصل از آمیزش یک گوپی ناخالص بصورت زیر است.

۱ طلایی و ستون مهره خمیده: ۳ طلایی و ستون مهره طبیعی: ۳ خاکستری و ستون مهره خمیده: ۹خاکستری و ستون مهره طبیعی: نسبت فنوتیپی

نسبت فنوتیپی ۹:۳:۳:۱ خواهیم داشت این در صورتی که هر دو ژن غالبیت داشته باشند.

۵- دو یا چند ژن اتوزومی

بسیاری از فنوتیپ‌ها به وسیله ترکیبی از ۲ یا چند ژن کنترل می‌شوند در این حالت یک ژن منفرد به تنهائی این فنوتیپ‌ها را ایجاد نخواهد کرد. هنگامی که ۲ یا چند ژن، یک فنوتیپ را کنترل نمایند یکی از دو روش ممکن برای همکاری ژنها یعنی همکاری افزایشی و یا همکاری اپیستاتیک عمل می‌نمایند.

همکاری افزایشی در ۲ یا چند لوکوس مشابه همان چیزی است که در مورد فعالیت افزایش یک لوکوس منفرد، مشاهده شد. لیکن به دلیل اینکه دو ژن وجود دارد تعداد فنوتیپ ها نیز بیشتر خواهد بود.

نمونه‌ای از این فنوتیپ‌ها که بوسیله ۲ ژن دارای همکاری ژنی افزایشی کنترل می‌شوند. رنگ ملانیتیک بدن در ذخایر اهلی شده ماهی مولی می‌باشد. رنگ بدن در این ماهیان از خاکستری یکنواخت با عینه‌های روشن تا سیاه تیره با عینه ملی سیاه تغییر می‌کند. این فنوتیپ،به وسیله ژنها M و N کنترل می‌شوند. رنگ در این گونه به تعداد اللهای غالب بستگی دارد.

اپیستازی (Epistasis)

واکنش ژنهای مختلف (غیر آلل) را اپیستازی گویند. هر ژنی که اثر ژن غیر آلل دیگر را بپوشاند نسبت به آن ژن اپیستاتیک است. اپیستازی را نبایستی با غالبیت اشتباه گرفت اپیستازی واکنش بین ژنهای مختلف (غیر آلل)، در صورتی که غالبیت واکنش بین آلل‌های مختلف یک ژن است.

۱- اپیستازی بارز: Dominont epistasis

اپیستازی بارز به حالتی گفته می‌شود که یک الل بارز در یک لوکوس (لوکوس استیاتیک) بدون توجه به ژنوتیپ موجود در لوکوس دوم فنوتیپ خود را بروز می‌دهد. ژن دوم هنگامی قادر خواهد بود که فنوتیپ خود را نمایان کند که لوکوس اول در حالت هموزایگوت در الل مغلوب باشد. در این صورت ژن دوم دو فنوتیپ تولید می‌کند. اپیستازی بارز منجر به ایجاد نسبت ۱۲:۳:۱ در نسل F_2 می‌شود.

صفت زالی در ماهی طلایی نمونه‌ای از فنوتیپ‌های است که بوسیله اپیستازی بارز کنترل می‌شوند. این صفت در ماهی طلایی، توسط ۲ ژن M و S کنترل می‌شود ژن M لوکوس اپیستاتیک است الل غالب M باعث تیره شدن ماهی طلایی می‌شود. هنگامی که لوکوس M، خالص نهفته باشد (mm)، لوکوس S می‌تواند ماهی طلائی روشن(SS , Ss) و یا زال (ss) را ایجاد کند بنابراین ماهیان زال فقط هنگامی ایجاد می‌شوند که هر ۲ لوکوس در حالت خالص نهفته باشند (mm,ss) مربع پانت برای آمیزش ۲ ماهی طلایی تیره ناخالص Ss،Mm و نسبت فنوتیپی نسل F_2 به صورت زیر است:

♀ تیره (Mm,Ss) × ♂ تیره (Mm,Ss)

گامتهای نر

گامتهای ماده	MS	Ms	mS	ms
MS	MM,SS تیره	MM,Ss تیره	Mm,SS تیره	Mm,Ss تیره
Ms	MM,sS تیره	MM,ss تیره	Mm,sS تیره	Mm,ss تیره
mS	mM,SS تیره	mM,Sn تیره	mm,SS روشن	mm,Ss روشن
ms	mM,sS تیره	mM,ss تیره	mm,sS روشن	mm,ss زال

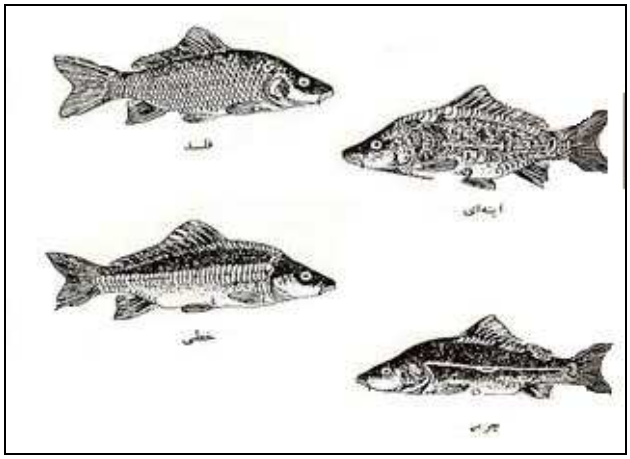
نسبت فنوتیپی : ۱۲ تیره : ۳ روشن: ۱ زال

مربع پانت برای آمیزش ۲ ماهی طلایی تیره ناخالص Ss،Mm و نسبت فنوتیپی نسل F_2

۲- اپیستازی کشنده

الگوی فلسی در کپور معمولی به وسیله ژنهای S،N کنترل می‌شود. این ژنها، فنوتیپها را از طریق نوعی اپیستازی بارز ایجاد می‌کنند. به طوری که ژن N، لوکوس اپیستاتیک است. ژن N یک ژن اسپتاتیک کشنده (Lethal epistatic gene) می‌باشد. یعنی از خود غالب ناقص، نشان داده و در حالت خالص کشنده است.

ژن S، داشتن فلس را کنترل می‌کند و ژن N الگوی آن را تغییر می‌دهد. الل S نسبت به s دارای غالبیت کامل دارد. فنوتیپ غالب که به وسیله الل S کنترل می‌شود همان الگوی فلس نوع وحشی یا معمولی است. در فنوتیپ مغلوب که با الل s کنترل می‌شود.



تصویرماهیان کپور معمولی فلسدار، آیینه ای، خطی و چرمی

فنوتیپ	ژنوتیپ
فلسدار	*SS,nn*
فلسدار	*Ss,nn*
آینه‌ای	*ss,nn*
خطی	*SS,Nn*
خطی	*Ss,Nn*
چرمی	*ss,Nn*
مرگ	*SS,NN*
مرگ	*Ss,NN*
مرگ	*ss,NN*

نتایج حاصل از آمیزش دو کپور معمولی فلسدار ناخالص

گامتهای نر

گامتهای ماده	SN	Sn	sN	sn
SN	SSNN مرگ	SSNn خطی	SsNN مرگ	SsNn خطی
Sn	SSnN خطی	SSnn فلدار	SsnN خطی	Ssnn فلدار
sN	sSNN مرگ	sSNn خطی	ssNN مرگ	ssNn جرمی
sn	sSnN خطی	sSnn فلدار	ssnN جرمی	ssnn آینه‌ای

۱ آینه‌ای : ۳ فلدار: ۲ جرمی: ۶ خطی : ۴ مرگ : نسبت فنوتیپی

۳- اپیستازی نهفته

اپیستازی نهفته، هنگامی روی می‌دهد که ژنوتیپ در یک لوکوس (لوکوس اپیستاتیک) باعث سرکوب بروز فنوتیپی لکوس دیگر شود. ژنوتیپ‌های لکوس دوم فقط هنگامی می‌توانند بروز یابند که حداقل یک الل بارز در لکوس اپیستاتیک موجود باشد. اپیستاتیک نهفته فنوتیپی ۹:۳:۴ را در نسل دوم F_2 ایجاد می‌کند. رنگ چشم در ماهی کاراسین غاری مکزیکی نمونه‌ای از فنوتیپ‌هایی است که به وسیله اپیستازی نهفته کنترل می‌شوند. در این ماهی: سیاه، قهوه‌ای و یا صورتی بودن رنگ چشم بوسیله ژنهای ab و bw کنترل می‌شود.

لوکوس ab، لوکوس اپیستاتیک می‌باشد که در آن ژنوتیپ abab بدون توجه به ژنوتیپ bw باعث تولید چشمهای صورتی رنگ می‌شود یک الل بارز ab(+) به ژنوتیپ bw اجازه تولید چشمهای قهوه‌ای و یا سیاه می‌دهد. مربع پانت و نسبت فنوتیپی برای آمیزش ۲ ماهی کاراسین غاری مکزیکی چشم سیاه ناخالص bw^+ و ab^+ به صورت زیر است.

♂ چشم سیاه × ♀ چشم سیاه
(ab+ bw+) (ab+ bw+)

گامتهای نر

گامتهای ماده	++	+bw	ab+	ab bw
++	++,++ چشم سیاه	++,+bw چشم سیاه	+ab,++ چشم سیاه	+ab,+bw چشم سیاه
+bw	++,bw+ چشم سیاه	++,bwbw چشم قهوه‌ای	+ab,bw+ چشم سیاه	+ab,bwbw چشم قهوه‌ای
ab+	ab+,++ چشم سیاه	ab+,+bw چشم سیاه	abab,++ چشم صورتی	abab,+bw چشم صورتی
abbw	ab+,bw+ چشم سیاه	ab+,bwbw چشم قهوه‌ای	abab,bw+ چشم صورتی	abab,bwbw چشم صورتی

۴ صورتی : ۳ قهوه‌ای : ۹ سیاه : نسبت فنوتیپی

مربع پانت و نسبت فنوتیپی برای آمیزش ۲ ماهی کاراسین غاری مکزیکی چشم سیاه ناخالص bw^+ و ab^+

ژنهای وابسته به جنس

توضیحاتی که تا کنون داده شد درباره ژنهای بود که در درون کروموزومهای اتوزومی قرار داشته‌اند. اما تعدادی از ژنها بر روی کروموزومهای جنسی قرار دارند. به این سری از فنوتیپهای حاصل از این ژنها، ژنهای وابسته به جنس گفته می‌شود. وراثت ژنهای جنسی با اتوزومی متفاوت می‌باشد زیرا یکی از دو جنس نر یا ماده برای ژن مذکور هموگامتیک و دیگری هتروگامتیک می‌باشند ژنها وابسته به جنس در تعداد کمی از انواع ماهیان شناخته شده‌اند. بیشتر این ژنها مربوط به دو گونه گوپی و ماهی پلاتی می‌باشد. فنوتیپ‌های وابسته به جنس که اکثراً مربوط به ژنهایی هستند که بر روی کروموزومهای X یا Y قرار دارند. اولین تحقیق در مورد ژنهای وابسته به جنس توسط مورگان (Morgan) انجام گرفت وی وقتی مگس سرکه نر چشم سفید را با مگس سالم چشم قرمز آمیزش داد در نسل F_1 همگی چشم قرمز بودند ولی در نسل F_2 تمام ماده‌ها چشم قرمز اما $\frac{1}{2}$ قرمز بودند. در این آزمایش الل نهفته در نرها فقط وجود داشته است.

۱- ژنهای وابسته به Y (Y Linked gene)

ژنهای مستقر در روی کروموزوم Y را هلندریک (Halandric) گویند. توارث این ژنها از پدر به پسر می‌باشد مگر در حالتی که کراسینگ اور رخ دهد. و هرگز در جنس ماده دیده نمی‌شوند.

مثال: ژن لکه داشتن (ماکولاتوس) در گوپی است که الگوی رنگی لکه‌دار (وجود لکه سیاه روی باله پشتی و لکه قرمز روی بدن را کنترل می‌کند. Ymg علامت لکه‌داشتن و Y علامت فنوتیپ وحشی یا بدون لکه است. پس آمیزش‌های حاصل ماده خاکستری X نر لکه‌دار است.

فنوتیپ	ژنوتیپ
ماده خاکستری	XX
نر لکه دار	XYmg
نر خاکستری	XY

آمیزش حاصل از ماده خاکستری با نر لکه دار

	گامت های نر لکه دار		
گامت ماده خاکستری		X	Ymg
	X	X X ماده خاکستری	X Ymg نر لکه دار

۲- ژنهای وابسته به X

ژنهای که وابسته به جنس می‌توانند روی کروموزوم X قرار گیرند. روش فعالیت این ژنها بـه دو صـورت غالب و مغلوب ساده می‌باشد.

مثال: رنگ آمیزی دم تیره و دم شفاف در ماهی گوپی است. این فنوتیپ، توسط الل بارز Xcp و الـل نهفتـه Xch ایجاد می‌شوند. یک الل منفرد Xcp در هر دو جنس نر و مـاده باعـث ایجـاد رنـگ‌آمیـزی دم تیـره می‌شود. دم شفاف در ماهیان ماده الل Xch باید در حالت خالص (Xch Xch) باشد. امـا در جـنس نـر، یک الل منفرد Xch، باعث ایجاد این فنوتیپ (Xch Y) می‌شود.

وراثت ژن‌ها وابسته به X از الگوی زیگزاکی پیروی می‌کند یعنی پدر فنوتیپ دختر و ماده فنوتیـپ پسـر را تعیین می‌کند. پدر با فنوتیپ غالب فقط دختران با X مغلوب دارد. مادر با فنوتیپ مغلـوب تمـام پسـران او فنوتیپ مغلوب دارند و اگر مادر فنوتیپ غالب داشته باشد آنگه بر حسب خالص و یـا ناخـالص بـودن او، نیمی از پسران او با فنوتیپ غالب خواهند بود.

مثال: نتایج حاصل از آمیزش ماهی نر دم تیره با ماهی ماده دم شفاف بصورت زیر است.

♂ دم تیره × ♀ دم شفاف

$(X_{ch}X_{ch})$ $(X_{Cp}Y)$

گامتهای نر

گامت ماده		X_{Cp}	Y
	X_{ch}	$X_{ch}X_{Cp}$ ماده دم تیره	$X_{ch}Y$ نر دم شفاف

نسبت ژنوتیپی: ۱ $X_{ch}X_{Cp}$: ۱ $X_{ch}Y$

نسبت فنوتیپی: ۱ نر دم شفاف : ۱ مادهٔ دم تیره

۳- فنوتیپ‌های محدود به جنس

اللهای وابسته به X از الگوهای ژنتیکی معینی پیروی می‌کنند اما فنوتیـپ‌هـا همـواره از نسـبت خاصـی پیروی نمی‌کنند زیرا بسیاری از فنوتیپها وابسته به X یا برخی از فنوتیپهای اتوزومی، محدود به جنس هستند به صورتی که آن ژن فقط در یک جنس بروز می‌کند.

مثال: فنوتیپ ببری (وجود چند خط روی بدن) گوپی توسط الل بارز وابسته به جنس XTi کنترل می‌شـود. در شرایط عادی فنوتیپ ببری، صرف نظر از ژنوتیپ ماهییان ماده، در آنها تظاهر نمی‌یابد:

بسیاری از فنوتیپهای محدود به جنس برای بروز نیاز به تستونسترون دارنـد. بسـیاری از ژنهـای وابسـته بـه جنس (X) در ماهی گوپی فنوتیپ های محدود به جنس ایجاد می‌کنند. افزودن متیل تستونسترون بـه آب و غذای ماهیان ماده امکان بروز این فنوتیپ‌ها را می‌دهند.

فنوتیپ	ژنوتیپ
ماده خاکستری	XX
ماده خاکستری	XX_{Ti}
ماده خاکستری	$X_{Ti}X_{Ti}$
نر خاکستری	XY
نر ببری	$X_{Ti}Y$

روشهای اصلاح نژاد در آبزیان

۱-تولید جمعیت تمام ماده[۱]

هدف از انجام آزمایشات مربوط به تولید ماهیان تمام ماده این است که مـاهی مـاده جـدا از کیفیـت یـا مرغوبیت بالای خود در بعضی از گونه ها از جمله **ماهیان خاویاری** نسبت به ماهیان نر ارزش بیشتری دارند و همچنین با استفاده از این تکنیک می توان ماهیان تمام ماده ای کـه از خصوصـیات ژنتیکـی بـالایی برخوردارند،برای اصلاح نژاد استفاده کرد.

بلوغ جنسی در بسیاری از ماهیان از جمله آزاد ماهیانی چون **قزل آلای رنگین کمان** باعث کاهش رشد بدن می شود،زیرا انرژی که باید صرف تولید گوشت شود،به مصرف توسـعه گنادهـا و بـروز صـفات ثانویه جنسی و رفتارهای تولید مثلی می رسد کاهش کیفیت گوشت و وضعیت ظاهری بر اثـر پدیـده بلـوغ جنسی نیز باعث کاهش ارزش محصول می شود. در قزل آلای رنگین کمان پدیده بلوغ جنسی در جنس نـر خیلی زودتر از جنس ماده به وقوع می پیوندد (در جنس نر از ۶ ماهگی تا یک سالگی ولی در جـنس مـاده حداقل در ۱۸ماهگی) و امکان بالغ شدن جنس نر طی عملیات پرورش بسیار بـالا مـی باشـد در حـالی کـه جنس ماده در این دوره به ندرت بالغ می شود.

---

(۱)Gynogesis

مزایای تولید جمعیت تمام ماده

استفاده از جمعیت های تمام ماده که به طرق مختلف تولید شده اند،می تواند باعث افزایش بازده تولید گردد(۴۲). یکی دیگر از مزایای تولید جمعیت های تمام ماده استفاده در آنها بعنوان گله مولد است.بویژه در مواردی که تعداد مولد ماده بیشتری نسبت به مولدین نسبت به مولدین نر نیاز باشد.

روشهای تولید جمعیت تمام ماده

تولید جمعیت تمام ماده با روشهای مختلف قابل انجام است.در گونه هایی مانند آزادماهیان که ماده ها هوموگامت (XX) هستند، برای تولید جمعیت تمام ماده از **ژینوژنز** استفاده می شود.اگرچه ماده زایی با این روش بر روی اکثر آزادماهیان با موفقیت انجام شده است ولی در ابعاد تجاری دارای مشکلاتی است که از جمله آن کاهش هتروزیگوتی (در نتیجه وراثت تک والدی) کاهش میزان لقاح و مشکلات خاص تیمار اسپرم می باشد. از دیگر راههای تولید جمعیت تمام ماده،استفاده از تیمار **هورمونی استروژن ها** قبل از تمایز جنسی است، اما ماهیان ماده ای که بوسیله تیمار هورمونی تولید می شوند از لحاظ قانونی در بسیاری از کشورها برای مصارف انسانی قابل استفاده نمی باشند و مصرف کنندگان نیز تمایلی به مصرف این محصولات ندارد. بنابراین یکی از بهترین راههای تولید جمعیت تمام ماده استفاده از تیمارغیرمستقیم هورمونی است.در این روش جمعیت های مورد استفاده برای مولد سازی در مراحل اولیه تکامل بوسیله هورمونهای آندروژنی تیمار می شوند و مولدینی که تولید می شوند از لحاظ عملکرد فنوتیپی مانند نرها هستند. اسپرم این ماهیان تنها حامل کروموزومهای X می باشد که در ترکیب با تخمک ماده های معمولی تولید جمعیت تمام ماده می نماید. به نرهایی که بدین طریق تولید شدهاند نرهای تغییر جنسیت یا **Neomal** گفته می شود.

مکانیزم تولید جمعیت تمام ماده

در ژینوژنزیس کروموزومهای جنسی نر دخالتی در تولید جنین ندارند و اسپرم نقش محرک برای ترکیب کروموزومهای سلول تخم با دومین گویچه قطبی را دارد تا سلول تخم ۲n تشکیل گردد.برای عقیم کردن اسپرم کروموزومهای آن را با تاباندن ۱۰۰۰۰۰ Rad اشعه کبالت ۶۰ تخریب می کنند با این عمل فقط کروموزومهای اسپرم تخریب می گردند ولی حرکت و سایرخصوصیات آن به قوت خود باقی است. با چنین اسپرمی می توان تخم را بارور نمود.در این صورت اسپرم نقش محرک را دارد.برای عمل ژینوژنز تخم ماهی ماده را با اسپرم فاقد کروموزوم در حرارت ۲۴-۲۲ درجه با کمی محلول لقاح مخلوط می کنند،اسپرم وارد

سلول تخم می شود ولی به علت نداشتن مواد وراثتی نمی تواند با هسته تخم ترکیب شود،اکنون با عمل شوک سرد از جدا شدن دومین گویچه قطبی از سلول تخم جلوگیری می کنند.برای این منظور۵ دقیقه پس از لقاح تخمها را به حرارت ۵ درجه سانتی گراد انتقال می دهند.در این صورت با شوک حاصله دومین گویچه قطبی ازتخم جدا نمی شود.تخمها را یک ساعت درهمان حرارت ۵ درجه نگه می دارند و در این مدت آنها را به هم می زنند تا چسبندگی تخمها بر طرف گردد. پس از یک ساعت درجه حرارت محلول لقاح با افزودن محلول لقاح معمولی به تدریج به ۲۴-۲۲ درجه سانتی گراد می رسد و پس از بر طرف شدن کامل چسبندگی تخمها را به انکوباتور منتقل می کنند.سلول تخم در آن حالت فقط کروموزوم های مادری را به همراه داردو مواد وراثتی نر در آن دیده نمی شود.سلول تخم اکنون۲n کروموزوم دارد که n کروموزوم متعلق به تخمک و n کروموزوم متعلق به گویچه قطبی است این جنین صد در صد ماده است و لاروهای حاصل از آن تا ۹۵ درصد صفات بارز مادری را دارا می باشند ،این عمل از نظر زمانی مساوی با هیبریداسیون ۱۴ نسل متوالی خواهر،برادر(نر وماده حاصل از یک جفت مولد) است.بنابراین با عمل ژینوژنزیس این راه را میان بر کردیم.در ادامه ما نیاز به ماهیان نرژینوژنز که صفات همین ماهی را به طور خالص داشته باشد داریم یعنی ما به ماهیان نری که کروموزومهای پدری ومادری داشته باشند نیاز نداریم.چون در آن صورت باز هم مواد وراثتی از یک ماهی دیگر وارد سیستم می شود.برای تولید ماهیان ژینوژنز نر بدین صورت عمل می کنیم.ابتدا ما از لاین مولد پدری یک ماهی ماده انتخاب می نماییم و با روش ژینوژنزیس لاروهای ماده ژینوژنز تولید می کنیم.وقتی که لاروهای حاصله پس از ۴۰-۳۰ روز به اندازه ۲cm رسیدند آنها را با هورمو متیل تستسترون به نسبت ۱mg در هر کیلو غذا به مدت ۶۰-۵۰ روز تغذیه می کنیم. ظرف این مدت ماهیان ماده تغییرجنسیت داده و به نر تبدیل می شود.این عمل را Sex reversal یا تغییر جنسیت بوسیله هورمون گویند.ماهیان نر بدست آمده از نظر وراثتی همه ماده هستند. ولی از نظر شکل ظاهر و فنوتیپ نر می باشند و اسپرم آنها برای باروری تخم ماده مناسب است.

۴-۱-۲- نحوه تشخیص ماهیان تمام ماده

برای اطمینان کامل از میزان موفقیت تولید ماهیان تمام ماده بایستی ماهیان را از لحاظ جنسیت مورد بررسی فیزیولوژیکی قرارداد و بررسی نمود که آیا گنادهای جنسی ماده در ماهی دستکاری شده توسعه وتکامل می یابد و در صورتی رشد و تکامل گنادهای جنسی یا تخمدان یا ماهی ماده مثل ماهیان طبیعی قابلیت باروری و تخم دهی دارد یا خیر.در بعضی از ماهیان مثل ماهیان آکواریومی ماهی ماده علامت یا مشخصه ای در سطح بدن داردمثل لکه سیاه در زیر باله پشتی ویا داشتن زایده خاص بر روی سطح بدن که خاص ماهی است.در این صورت به راحتی می توان جنسیت آن ماهی را تشخیص داده و درصد ماهیان تمام ماده را ارزیابی نمود. در ماهیانی که صفات ظاهری اختصاصی برای جنس ماده ندارند بایستی تا

رسیدن به بلوغ جنسی یا تمایز گنادها صبر نمود و سپس با استفاده از بیوپس یا تکه برداری از بافت جنسیت آنها را تشخیص داد. ویا با استفاده از روشهای مولکولی و یافتن مارکر یا شاخص خاص جنس ماده نسبت به تشخیص جنسیت آنها اقدام نمود.بنابراین برای کپورماهیان حداقل یک تا دو سال وبرای ماهیان خاویاری برای روش بیوپس حداقل ۲ تا ۳ سال پس از انجام آزمایشات ماده زایی می توان میزان موفقیت آن را اعلام نمود.

مثال:

۱- تولید جمعیت تمام ماده قزل آلای رنگین کمان[۲] با استفاده از نرهای تغییر جنسیت یافته و بررسی پارامترهای رشد در سال اول پرورش

هدف از انجام این تحقیق بررسی امکان تولید ماهیان تمام ماده قزل آلای رنگین کمان با استفاده از نرهای تغییر جنسیت یافته(Neomal) تولید شده درایران و ارزیابی روند افزایش رشد آنها در مقایسه با جمعیت مخلوط نر وماده در سال اول پرورش در کارگاه شهید باهنر کلاردشت بود(طلا، ۱۳۸۰).

۲- تولید یک جنس ماده گوپی YY از طریق تغییر جنسیت با ترشحات داخلی و آزمون نتایج

تعیین جنسیت قبل از زایمان بوقوع می پیوندد.مکانیسمش این است که ماده ها جور گامت(هموگامتXX) و نرها ناجور گامت (هتروگامتXY) هستند.اما امکان این موضوع به اثبات رسیده که با دادن جیره غذایی مکمل با استروژن و یا آندروژن به ماده های باردار قبل از زایمان،می توان تعداد کافی از ماده های هترو گامت و یا نرهای جور گامت تولید نمود.

یک تکنیک دیگر برای تولید تجاری جمعیت تمام نر،تولید جنسهای ماده YY می باشد.هدف از این تحقیق تولید ماده های YY می باشد وروشهایی را برای تولید تعداد کافی از بچه ماهی YY ارائه می نماید.

یک جنس ماده [۱] از طریق تغییر جنسیت با ترشحات داخلی ودر پی آن ،آزمون نتایج تولید شد.ماده های هتروگامتXY تولید شده با ترشحات داخلی با نرهای معمولی تلفیق داده شدند و متعاقباً با جیره محتوی استروژن بمدت ۱۰تا۵۰ روز قبل از بچه زایی تغذیه شدند تا ژنوتیپ آنها مشخص شود.یک ماهی دارای ژنوتیپ YY شناسایی گردید. و زمانیکه آن با نرهای تغییر جنس یافتهXX تلفیق داده شد،فقط جنس نر تولید نمود.

---

(۱)Oncorynchus mykiss

۲- تولید ماهیان تمام نر[۳]

مکانیزم انجام آندروژنزیس تقریباً مشابه ژینوژنزیس است با این تفاوت که به جای اشعه دادن اسپرم در این بررسی **تخمکها اشعه** می بینند.و ژنوم های مادری از بین می روند مشکل اصلی در این روش بزرگ بودن سلول تخمک،وجودلایه های مختلف در اطراف تخمک و همچنین وجود زرده در حد واصل بین هسته و دیواره سلول تخمک، می باشد.پس به ناچار بایستی بر روی تخمک عملیاتی صورت پذیرد تا میزان تأثیرپذیری اشعه بر روی DNA که در هسته سلول قرار دارد بیشتر باشد.

برای این کار معمولاً با استفاده از مواد شیمیایی و محلولهای مختلف لایه ها و یا کوریون تخمک را از بین می برند.تا بتوانند میزان نفوذپذیری اشعه را افزایش دهند. با توجه به دشواری کار تا کنون مطالعات کمتری برای تولید ماهیان تمام نر در مقایسه با تولید ماهیان تمام ماده صورت گرفته است.

۳- تریپلوئیدی

اگر به هر علتی در تعداد سری کروموزومها تغییری ایجاد گردد و موجودات زنده و از جمله غالب ماهیان که در حالت طبیعی دارای ۲سری کروموزوم (۲nواصطلاحاً دیپلوئید) می باشند،n کروموزوم دیگر اضافه شود به موجود حاصل ۳n کروموزوم یا اصطلاحاً تریپلوئید گفته می شود و اگر۲n کروموزوم اضافه شود موجود حاصل (۴n کروموزومی) یا اصطلاحاً تتراپلوئیدخواهد بود.

کلاً ایجاد تریپلوئیدی در ماهیان به دو روش القایی و غیر القایی امکان پذیر است.

۱- تریپلوئیدی غیر القایی (غیرمستقیم)

در این روش با آمیزش ماهیان تتراپلوئید ماده و دیپلوئید نر افراد تریپلوئیدایجاد می شود. مکانیزم آن بدین صورت است که چون اسپرم ماهیان نر تتراپلوئید نسبت به ماهیان دیپلوئید قدرت بارور کنندگی کمتری دارند و اندازه اسپرم آنها بزرگتر است. بنابراین در هنگام عبور اسپرم از روزنه میکروپیل ایجاداشکال خواهد نمود .بنابراین در هنگام لقاح از نر دیپلوئید با ماده تتراپلوئید استفاده می شود.

۴n♀×۲n♂ = ۳n (عقیم)

---

(۱)Anderogenesis

۲- تریپلوئیدی القایی (مستقیم)

این روش بر اساس احتباس دومین گویچه قطبی پس از لقاح با بکار بردن شوکهای محیطی استوار می باشد. واز آنجایی که انجام شوکهای محیطی بسیار راحت تر و متنوعتر از سایر روشها می باشد،روش تریپلوئیدی القایی مستقیم نسبت به تولید مولدین تتراپلوئید با توجه به مشکلات آن و بازماندگی کم ارجح تر است. و در صورت بازماندگی هزینه بالا برای تولید مولدین آن(نسبت به روش تریپلوئیدی القایی) چندان مرسوم نیست.

انواع شوکهای مورد استفاده در القاء تریپلوئیدی

۱- شوک فشار هیدروستاتیک

اساس کار در این روش،ایجاد فشار بر روی تخمها در درون دستگاه مخصوصی است که میزان موفقیت در میزان بازده تریپلوئیدی به مدت زمان شوک دهی و زمان پس از لقاح و میزان فشار ایجاد شده بستگی دارد. روش کار بدین صورت است که تخمها در زمان معینی پس از لقاح وارد دستگاه مخصوصی می شود.این دستگاه دارای محفظه ای است که تخمها را در داخل آن می ریزند. سپس طبق برنامه از قبل تعیین شده هوا را از داخل محفظه خارج کرده و فشارمورد نظر ایجاد می گردد. در اینحالت تخمها بمدت معینی در معرض شوک فشار قرار گرفته و سپس فشار را بتدریج کم کرده و بقیه مراحل شستشوی تخم طبق برنامه عادی ادامه می یابد. میزان فشار ایجاد شده بسته به نوع ماهیان متفاوت است از مزایای این روش یکنواختی میزان فشار که تقریباً در همه تخمها به طور یکسان است. همچنین سهولت و ارزانی روش از مزایای آن محسوب می شود.

۲- شوک های شیمیایی[۴]

---

(۱)Chemical shocks

(۲)Cytochalazin B

(۳)Colchicine

(۴)Polyethylen glycol

(۵)Nitros oxide

(۶)Formalin

از عوامل مؤثر در این روش غلظت مواد شیمیایی و زمان مناسب استفاده از آن پس از لقاح است.مکـانیزم کار بدین صورت است که در هنگام لقاح فضای پریوتیلن تخمهـای لقـاح یافتـه کـه بـین غشـاء وتـیلن و کوریون است از آب پر می شود.اگر به جای آب از مواد شیمیایی از قبیل سیتوکالازین B [۲]،

کلشی سین[۳]،پلی اتیلن گلیکول[۴]،اکسید نیتروژن[۵] وفرمالین[۶] و سایر فرآورده های مخصوص استفاده گردد آن مواد در فضای پریوتیلن باقی مانده و مانع از خروج جسـم دوم قطبـی مـی شـود**(۴۳و۴۰)**. چـون اکسید نیتروژن در حالت طبیعی بصورت گاز است، بنابراین با استفاده از دستگاه فشار گازرا متراکم نموده و سپس در معرض آن قرا ر می دهند.

۳- شوک های دمایی

در این روش اساس کار بر مبنای القاء تریپلوئیدی در اثر احتباس دومـین گویچـه قطبـی در مرحلـه دوم تقسیمات دوم میوز تخمهای لقاح یافته می باشد به همـین دلیـل زمـان پـس از لقـاح بسـیار حـائز اهمیـت است.اساسی ترین عامل در این روش عبارتند از زمان مناسب شوک دهی (پس از لقاح)،مدت زمـان شـوک دهی تخمها و همچنین میزان درجه حرارت مناسب. معمولاً در موردماهیـان هـر دو نـوع شـوک سـرمایی و گرمایی استفاده می شود ولی شوک های گرمایی برای ماهیـان سـردآبی و شـوکهای سـرمایی بـرای ماهیـان گرمابی تأکید شده است.

مکانیزم کار بدین صورت است که تخمهای لقاح یافته را در زمـان مناسـب و قبـل از خـروج جسـم دوم قطبی از سلول تخم وارد حمام شوک نموده و پس از مدت معین که از قبل تعیـین شـده،تخمها را از حمـام خارج کرده و طبق روشهای متداول،شستشوی تخم ادامه می یابد.

مشکلات روشهای استفاده از شوکهای دمایی عبارتنداز:

الف)عدم ثبات در نتایج حاصله از تخمهای ماهیان در مولدهای متفاوت به عبارتی اگر از چند مولـد سـری تخم استحصال گردد و تخمها در معرض یک نوع شوک دمایی قرار گیرند،نتایج یکسانی در میزان پلوئیـدی ایجاد نمی شود.

ب) کاهش میزان بازماندگی لاروها و ایجاد بد شکلی و ناقص الخلقه در آنها

ج) ایجاد نوسانات در دمای مورد استفاده در حین انجام کار (مشروط بر اینکه از سرد کننده یا گرم کننده یـا ترموستات دار استفاده شود.

د)امکان وقوع حالت هاپلوئیدی در نوزادان حاصله که می تواند عاملی در کاهش بازماندگی لاروها محسوب شود.

۴- شوک الکتریکی دمایی[۵]

این روش سابقه زیادی نداشته و فقط خلاصه گزارش از تسکردزیک Teskredzic و همکارانش ۱۹۹۳ موجود است وبیان شده که بهترین میزان تریپلوئیدی در ماهی آزاد کوهو با شوک الکتریکی با جریان متناوب بمدت ۱۰ دقیقه در ۲۶ درجه و ۴۰ دقیقه بعد از لقاح بدست می آید.

مکانیزم القاء تریپلوئیدی

سلول اسپرم یا اسپرماتوزوئید در طی مراحل و فرآیند اسپرماتوژنز که از سلولهای بیضه ها ساخته می شوند از یک طرف و سلول تخمک از طرف دیگر در ماهیان ساخته شده و در لقاح خارجی،امکان بسیار مناسبی را برای کلیه دستکاریهای کروموزومی فراهم می سازند.بطوریکه زمینه بسیار متنوعی از کارهای ژنتیکی به همین دلیل محقق شده است تخمکهای رسیده که به حفره تخمدان رها می شوند فقط اولین مرحله تقسیم میوز را طی کرده اند.دومین مرحله تقسیم میوز با وارد شدن اسپرماتوزوئید شروع و با جابجا شدن دومین گویچه قطبی خاتمه می یابد.اسپرماتوزوئیدی که از طریق سوراخ میکروپیل وارد سلول تخمک می شود موجب یک سلسله فعل و انفعالات از قبیل:

۱- جابجا شدن گویچه دوم قطبی ۲- تشکیل پیش هسته در تخمک که دارای n کروموزومی می باشد۳- بهم پیوستن پیش هسته تخمک با پیش هسته اسپرم که هر کدام دارای n کروموزوم می باشد و تشکیل اولین یاخته ماهی جدید با تعداد ۲n کروموزوم،در حالت طبیعی در اثر فعالیتهای حاصل از میوز II دومین گویچه قطبی که دارای یک هسته n کروموزومی است از سلول تخم خارج شده و سلول تخم خارج شده و سلول تخم حاصله دیپلوئیدی است یعنی n کروموزوم از مادر و n کروموزوم از پدر دریافت کرده است.

حال اگر در زمان مناسب پس از لقاح و قبل از خروج دومین گویچه قطبی شوک های دمایی و با فشار هیدروستاتیک و غیره بر روی تخمهای لقاح یافته در زمان شستشوی تمها صورت گیرد از خروج دومین گویچه قطبی که دارای n کروموزوم است جلوگیری شده و ما حصل کار سلول تخم ۲n کروموزومی است که n کروموزوم آن مربوط به سلول تخم و n کروموزوم دیگر آن مربوط به دومین گویچه قطبی می باشد و اگر همین تخم۲n کروموزومی با اسپرم n کروموزومی لقاح یابد سلول تخم جدید دارای ۳n کروموزوم بوده که به آن تریپلوئید اطلاق می گردد.

(۱)Heat_electro shock

مزایای تولید و پرورش ماهیان تریپلوئید

۱- عقیم بودن ماهی

۲- افزایش گوشت به جای اندام تناسلی

حالت اول:

امروزه ازروشهای متفاوت برای ایجاد جمعیتهای عقیم،تمام نروتمام ماده دو رگه استفاده می شود.امروزه بهترین روش بمنظور عقیم سازی در ماهیان،تریپلوئیدی درآنها می باشد.

برای تمام گونه هایی که بخواهیم به نحوی از تکثیر طبیعی آن در اکوسیستمهای آبی جلوگیری کنیم لازم است که ماهیان را تریپلوئید کرده و سپس مبادرت به رهاسازی در آبهای طبیعی نماییم (مثل ماهی کپور و تیلاپیا).

ماهیان تریپلوئید به دلیل افزایش یک دسته کروموزومی در تعداد کروموزومهای خود3n کروموزومی محسوب گردیده و بواسطه اختلال در تقسیم میوز به هنگام گامتوژنز عقیم تلقی می شوند(روشهای دیگری نیز برای عقیم سازی در ماهیان وجو دارد،از جمله برداشتن غددجنسی،استفاده از هورمونها و اشعه دان).

حالت دوم:

تولید ماهیان سریع الرشد و اعتقاد بر این است که ماهیان عقیم از سرعت رشد بالاتری برخوردار هستند.بعلاوه درصدی از انرژی ماهیان عقیم که بایستی صرف رش و تکامل ارگانهای تناسلی می شد تبدیل به پروتئین و رشد می گردد که در تعداد زیادی از ماهیان پرواری خود رقم قابل توجهی را شامل می شود. از همه مهمتر اینکه ماهیان تولید شده عقیم هستند شانس هیبرید شدن با گونه های بومی ندارند که از لحاظ جنبه زیست محیطی بسیار حائز اهمیت است. درآزادماهیان دریایی که در فصل تولیدمثل به آبهای شیرین مهاجرت می نمایند و پس از تخمریزی می میرند در صورت تریپلوئید شدن به علت عدم تخمریزی در فصل تولید مثل زنده مانده و به رشد خود اامه خواهند داد بنابراین برای پرورش دریایی مناسبتر بنظر می رسند.با استفاده از این تکنیک از مرگ ومیر بالا و کاهش مقدار رشد به ویژه در ماهیان نر در آب دریا جلوگیری می شود.

چگونگی اثبات تریپلوئیدی

از آنجایی که اصولاً تریپلوئیدی در شکل ظاهری ماهیان تأثیر چندانی تا مرحله قبل از بلوغ ندارد نمی توان از روی ظاهرماهیان و یا معیارهایی از قبیل درصدناهنجاری و تلفات و... به تعیین درصد تریپلوئیدی پرداخت.

روشهای بسیار گران و طولانی و همچنین روشهی ساده در کنار هم برای تششخیص تریپلوئیدی بکار می روندکه در اینجا به چند روش قابل اجرا و قابل دسترس که در شرایط مراکز آزمایشگاهی امکان پذیر است اشاره می شود و از سایر روشها بصورت خلاصه تر یاد می گردد.

۱- اندازه گیری مساحت و حجم سلولی و هسته ای گلبواهای قرمز

این روش یکی از از عمومی ترین شیوه های تعیین میزان سطوح تریپلوئیدی در ماهیان مورد آزمایش می باشدزیرا ازنظرعملی بین افزایش تعداد کروموزومها از ۲n به ۳n و افزایش حجم و مساحت سلول وهسته رابطه منطقی حاکم می باشد(۴۶) زیرا میزان مواد ژنتیکی،DNA و در نهایت تعداد کروموزومها در درون هسته سلول افزایش یافته است. اما از آنجایی که محدوده سنجش گلبولهای قرمز در ماهیان دیپلوئید و پلی پلوئید غالباً همپوشانی داشته و این امر موجب کاهش دقت در تعیین صحیح درصدپلوییدی می گردد به همین دلیل جهت استفاده از این روش می بایشت درصد دقت آن نیز به لحاظ آماری مشخص گردد.

۲-۶-۳-۲- بررسی تعداد کروموزومها

بررسی تعداد کروموزومها در تشخیص ماهیان تریپلوئیدی یکی از متداولترین و مطمئن ترین روشهای آزمایشگاهی است.جهت مشخص نمودن تعداد کروموزومها می بایست از ماهیان گسترش کروموزومی تهیه نماییم. که به روش زیر عمل می شود:

الف) روش مستقیم

الف۱- تهیه گسترشهای کروموزومی در مرحله جذب کیسه زرده و جنینی تخمها

الف۲- تهیه گسترشهای کروموزومی در مرحله انگشت قدی و ماهیان بزرگتر.

ب) روش غیر مستقیم

گسترش متافازی از طریق کشت لوکوسیتها

این روش دارای مزیت نسبی بالایی بوده زیرا به ماهی آسیب نمی رسد و در مورد نمونه های کمیاب و یا محدودیتهای تهیه نمونه بسیار مفید است. اما بر عکس روشهای قبلی برای رشد سلولهای خونی نیاز به مدت زمان طولانی ترمی باشد و از طرفی رشد نیاز به محیط کشت و یا کیتهای خاص گسترش کروموزومی می باشد.اساس کار کشت گلبولهای سفید برای مطالعات کروموزومی به شرح زیر است:

۱- تهیه محیط کشت ۲- استحصال خون ۳- کشت لوکوسیتها ۴- انکوباسیون ۵- افزایش کلشی سین و انجام سانتریفژ ۶- تهیه لام و رنگ آمیزی ۷- مشاهده اسلایدها.

مروری بر تاریخچه القاء تریپلوئیدی در ماهیان

اولین تولید آزمایشی ماهیان تریپلوئید به وسیله شوک سرمایی و روی کپور معمولی انجام شد. القاءتریپلوئیدی در قزل آلای رنگین کمان برای نخستین بار در سال ۱۹۶۴ توسط لایدر آلمانی و بوسیله کلشی سین انجام پذیرفت و نخستین شوک گرمایی بر روی این ماهی در سال ۱۹۸۰ توسط شاروت فرانسوی به انجام رسید.

در ایران اولین بار القاء تریپلوئیدی در ماهی آمور بوسیله شوک سرمایی توسط مرحوم پروانه در سال ۱۳۷۱ عملی شد. در سال ۱۳۷۶ القاء تریپلئیدی در ماهی کپورمعمولی از طریق شوکهای دمایی توسط خمیرانی انجام پذرفت.القای تریپلوئیدی در ماهی کپور علفخوار[۶] بوسیله شوکهای حرارتی در سال ۱۳۷۹ توسط حسن زاده صابر انجام گرفت.

۴- بهگزینی[۷]

بهگزینی نوعی برنامه اصلاح نژادی است که در آن افراد یا خانواده به منظور تغییر میانگین جمعیت در نسل بعد مورد انتخاب واقع می شوند.بهگزینی بر مقادیر حداقل کارآیی یا توان[۲] می باشد.بطوریکه ماهیانی که از حداقل کارآیی بالاتر باشند بهگزینی و نگهداری خواهند شد و از آنها به عنوان ذخیره ماهیان مولد استفاده می گردد. ماهیانی که پایین تر از مقادیر حداقل کارآیی قرار گیرند حذف خواهند گشت. بهگزینی در مورد فنوتیپهای کمی به علت تعدد ژنهای دخیل در آنها و نیز اثرات محیطی دشوارتر از فنوتیپهای کیفی است.

وراثت پذیری[۳]

دانستن مقدار نسبی V_A (واریانس ژنتیکی افزایشی) حائز اهمیت است. زیرا بوسیله آن می توان میزان مؤثر بودن بهگزینی را پیش بینی نمود. مقدار نسبی V_A برای هر فنوتیپ کمی از این نظر نیز اهمیت دارد که از ارزشمندترین پایه های اطلاعاتی قابل استقرار یک جمعیت است. مقدار نسبی V_P (واریانس فنوتیپی) که

---

(۱)Ctenopharyn godon idella

(۱)Selection
(۲)Performance
(۳)Hertability

بوسیله V_A کنترل می گردد،وراثت پذیری نامیده می شود.به عبارت دیگر در صدی از واریانس فنوتیپی کـه بوسیله واریانس ژنتیکی افزایشی کنترل می شود.

$h^2= V_A/ V_P$

از آنجایی که مقدار h^2 برای یک فنوتیپ کمی معین می باشد مـی تـوان بـا اسـتفاده از فرمـول زیـر پاسـخ بهگزینی را پیش بینی نمود. $R= sh^2$ که R عبارت است از پاسخ در هر نسل و s اختلاف بهگزینی.
اگر h^2 =۱باشد آنگاه R=s می شود و اگر h^2=۰ باشد آنگاه R=۰ خواهد بود. تغییر مقدار وراثت پـذیری بین ۲عدد صفر و یک امکان افزایش یا کاهش مقدار نسبی فاصله بهگزینی را ایجاد می کنـد. اگـر h^2=1 باشد در نتیجه صفت مورد نظر تماماً بوسیله عوامل ژنتیکی کنترل می شـود و محـیط هـیچ نقشـی نـدارد و اگر h^2=۰ باشد محیط عامل اصلی تعیین کننده در وراثت صفت است.
فنوتیپها دارای مقادیر وراثت پذیری ۰/۲۵ یا بیشتر از آن می توانند به وسیله بهگزینی به طور مؤثری تغییـر نمایند. از طرفی دیگر فنوتیپهای دارای مقادیر وراثت پذیری معادل ۰/۱۵ و یا کمتر از آن به سادگی بوسـیله بهگزینی تغییر نمی کند.عدد خاصی برای h^2 که بالاتر از آن بهگزینی مؤثر باشد وجود ندارد اما هر قـدر h^2 بزرگتر باشد تغییر میانگین جمعیت بوسیله بهگزینی آسانتر خواهد بود. علت دشوار بودن تغییر یک فنوتیـپ دارای h^2 کوچک توسط بهگزینی آن است که امکان دارد این کار قبلاً توسط طبیعت انجام شده باشـد بایـد توجه داشت که وراثت پذیری ها تغییرناپذیر نیستند و مقدار آنها می تواند به چندین علـت تغییـر کنـد کـه مهمترین آنها تغییر فراوانی ژنهاست.

برنامه های بهگزینی یا انتخاب

هنگامی که به منظور بهره برداری از V_A یک جمعیت جهت افزایش توان تولید تصمیم بـه اسـتفاده از یـک برنامه بهگزینی گرفته می شود باید مشخص گردد که کدام یک از برنامـه هـای بهگزینـی بهتـرین نتـایج را بدست خواهد داد تمام این روشها کاربردهای خاص خود را داشته و در تکامل طبیعی و یا اصلاح نژاد حایز اهمیت می باشد.

۱- عدم بهگزینی [۸]

هر گاه یک مدیرکارگاه تکثیر ماهیان خـود را دسـتکاری مـی نمایـد،بهگزینی غیرعمـدی روی خواهـد داد. مدیران کارگاههای تکثیر و کارگرانی که ماهیان را تکثیر می کنند به طور ناخود آگـاه ماهیـان درشـت تـر و

(۱)No selection

ماهیانی که در زمان تخم کشی آماده و بارور باشند و ماهیانی که خصوصیات ثانویه جنسی واضحی دارند را برمی گزینند.

برای جلوگیری از بهگزینی ناخواسته باید چند عمل انجام پذیرد:

۱- از ماهیان در تمام طول فصل تکثیر تخم کشی شود.

۲- از ماهیان با اندازه های مختلف تخم کشی به عمل آید .

۳- از هرتعداد ماهی که ممکن باشد تخم کشی شود بایدتوجه داشت که نیازی به نگه داشتن تمام تخمهای مربوط به تخم کشی نیست.

۴- ماهیان کم رشد یا ماهیانی که دارای صفات ثانوبه جنسی ضعیف و غیره باشند حذف نشوند.

۵- لازم نیست که از تمام ماهیان موجود در یک جمعیت تخم کشی شود بلکه یک نماینده از هر گروه از ماهیان کفایت می کند.

۲- بهگزینی جهت دار[۹]

اگر تمایل به بهبود وضعیت تولید یا تغییر میانگین جمعیت باشد در زمانی که هدف و نقشه کاملاً مشخص است در این حالت از این روش استفاده می شود. در این حالت می توان میانگین فنوتیپی را متناسب با اهداف مورد نظر افزایش یا کاهش داد. برای مثال ممکن است افزایش متوسط وزن ومتوسط طول مد نظر باشد و یا اینکه متوسط تبدیل غذا و یا متوسط درصد چربی بدن کاهش پیدا کند معمولاً از بهگزینی جهت دار برای تغییر فنوتیپهای جمعیت ماهیان در جهت مطلوب تولیدی استفاده می شود. شخص عامل باید اهداف مشخص خود را طوری اتخاذ نماید که بتواند آنچه سعی در به انجام رساندن آن را دارد از نظر کمی ارزیابی کنند.

اهداف یک برنامه بهگزینی شامل همه مواردی است که برای شخص عامل مطلوب می باشد به عنوان مثال برای یک پروش دهنده ماهیان ورزشی ممکن است ماهیان با قابلیت صید بیشتر یا ماهیان دارای قابلیت صید کمتر،باقی ماندگی رشد و ...مطلوب شمرده شود. در حالیکه یک پرورش دهنده ماهیان خوراکی ممکن است خواهان رشد بیشتر،مقاومت بیشتر در مقابل بیماریها،ضریب تبدیل غذایی کمترو...باشد.همچنین اهداف باید واقع بینانه باشد. بهگزینی برای فنوتیپهای ناشی از عمل کرد محیط یا مدیریت نیز بیهوده خواهد بود در این حالت اختلافات موجود بین افراد بیش از آنکه ناشی از عمل کرد V_A باشد ناشی از V_E (واریانس ژنتیکی محیط) است. برای مثال ببهگزینی برای افزایش میزان رشد در طی دوماه اول زندگی

---

(۱)Dirrectional selection

احتمالاً با شکست مواجه خواهد شد زیرا میزان رشد اولیه عمدتاً ناشی از عمل کرد V_E می باشد و از عمل کرد V_A منشأ نمی گیرد. هنگام اندازه گیری یک فنوتیپ سنجش صحیح آن صفت اهمیت زیادی دارد و اگر مدیران کارگاهها بخواهند فنوتیپهایی که اندازه گیری آنها ساده بوده و همبستگی زیادی با فنوتیپش مورد نظر دارند به سادگی به منظور خود برسند.

۳- بهگزینی متوالی[۱۰]

برای تغییر دادن ۲ یا چند فنوتیپ باید یکی از انواع برنامه های اصلاح نژاد مبتنی بر بهگزینی را انتخاب می کنیم. ساده ترین این برنامه ها بهگزینی متوالی می باشد در این بهگزینی ابتدا طی چند نسل در مورد یکی از فنوتیپها بهگزینی صورت می گیرد تا در مورد آن فنوتیپ نتیجه دلخواه بدست آید.

سپس بهگزینی را برای فنوتیپ دوم انجام داده تا در مورد این فنوتیپ نیز هدف مورد نظر حاصل گردد برای فنوتیپ سوم یا چهارم نیز می توان همین روش را ادامه داد متأسفانه کارآیی بهگزینی متوالی به دو علت بسیار کم است:

۱- این روش برای بهبود دو یا چند صفت به زمان زیادی نیازدارد.

۲- انجام بهگزینی برای یک صفت خودبخود باعث انجام بهگزینی برای سایر صفات نیز می شود مگر اینکه همبستگیهای بین این صفات صفر باشد.

اگر دو فنوتیپی که در صدد تغییر آنها هستیم با یکدیگر همبستگی منفی داشته باشند با افزایش میانگین یک فنوتیپ، میانگین فنوتیپ دیگر کاهش خواهد یافت.همچنین ممکن است درهنگام بهگزینی برای فنوتیپ دوم تمام بهگزینی قبلی خنثی شود برای مثال در تحقیقی ماهیان قزآلای رنگین کمانی را بهگزینی نموده اند که به جای ۳ یا ۴ سالگی در سن ۲ سالگی می شدند ولی پی بردند که به ماهیان بهگزیده دارای میزان رشد پایین تری بوده و نیز تعداد کمتری تولید می نمایند.

---

(۱)Tandom selection

۴- حذف مستقل[۱۱]

برنامه بهگزینی حذف مستقل هنگامی است که بخواهیم برای دو یا چند فنوتیپ به طـور همزمـان بهگزینـی انجام دهیم در این حالت برای هر فنوتیپ مقادیر حداقل کارآیی را اتخاذ نموده و هر مـاهی بـرای بهگـزین شدن باید از تمام این مقادیر حداقل بگذرد. کارآیی روش حذف مسـتقل از روش بهگزینـی متـوالی بیشـتر است اما دارای دو عیب نیز می باشد:

۱- اینکه در این روش یک ماهی برای بهگزین شدن باید در تمام فنوتیپها برجسته باشد،این به آن معنی است که یک ماهی از نظر یک فنوتیپ دارای مقدار بزرگ ولی از نظر فنوتیپ دیگر متوسـط باشـد حـذف خواهد گردید.این موضوع ممکن است باعث حذف برخی از آللهای ارزشمندشود.

۲- چنانچه بهگزینی برای چند فنوتیپ انجام شود و مقادیر حداقل در مورد هر یک از آنها به طور مستقل از بقیه تعیین شود امکان دارد که فقط مقدار کمی از ماهیان را بتوان نگه داشت.

۵-شاخص بهگزینی[۱۲]

هنگامی که بهگزینی به طور همزمان برای ۲یا چند فنوتیـپ انجـام شـود،روش شـاخص بهگزینـی کـار آمدترین برنامه بهگزینی می باشد.زیرا در این روش تمام فنوتیپها وارد فرمولی می شوند که برای هـر مـاهی یک ارزش عددی کلی را ایجاد خواهد کرد سپس ماهیان براساس نمرات آنهـا بهگزینـی مـی شـوند. ارزش عددی یک ماهی با فرمول زیر تعیین می شود:

$$I=b_1x_1+b_2x_2+b_3x_3+\ldots\ldots+b_nx_n$$

I= نمره یک فرد

b_1 تا b_n = ضرایب رگرسیون چندگانه

x_1 تا x_n = فنوتیپهای فرد

ضرایب b از روی مقادیر h^2 (توارث پذیری)ضرایب همبستگی و اهمیت اقتصادی فنوتیپها بدست مـی آید. یکی از اهداف نهایی هر برنامه اصلاح نژادی بکار گیری روش شاخص بهگزینی است،زیرا ایـن روش کارآمدترین راه برای افزایش توان تولید می باشد.

تمام این برنامه ها براساس لیاقت فردی هستند و به نام بهگزینی انبوه[۱۳] یا بهگزینی فردی[۱۴] نامیده می شوند. در این روش هر ماهی بدون توجه به خانواده آن با سایر ماهیان مقایسـه شـده و از بهتـرین آنهـا بـه

---

(۲)Independent calling interrats

(۱)Selection index

عنوان ذخیره ماهیان مولد برای نسل بعد استفاده می شوند. بهگزینی فردی در صورتی دارای کارآیی خواهد بود که مقدار h^2 بزرگ باشد. هنگامی که مقدار h^2 کوچک باشد بهگزینی فردی برای تغییر میانگین جمعیت روش کارآمدی نخواهدبود.هرگاه فنوتیپهای موردنظر به قدری ارزشمند باشد که بهبود آن اهمیت فوق العاده داشته باشد،برای تغییر میانگین جمعیت استفاده از بهگزینی خانوادگی[۱۵] می تواند کارآمدتر از بهگزینی فرد واقع شود.بهگزینی خانوادگی مشابه بهگزینی فردی است،با این تفوت که درآن بجای مقادیر فردی، میانگین های خانوادگی مقایسه می گردد و کل خانواده بهگزین یا حذف می شود. هنگامی که h^2 کوچک باشد بهگزینی خانوادگی کارآمدتر آز بهگزینی فردی است زیرا در بهگزینی خانوادگی با اندازه گیری فنوتیپ افراد یک خانواده اجزای غیر قابل بهره برداری واریانس کاهش می یابد.

بهگزینی خانوادگی فقط هنگامی به کار گرفته می شود که برای یک فنوتیپ خاص V_A وجود داشته باشد اما در صورتی که V_A وجود نداشته باشد هیچ یک از روشهای بهگزینی فردی و خانوادگی قادر به تغییر فنوتیپ مورد نظر نخواهد بود.

بهگزینی خانوادگی به چند صورت انجام می شود:

۱- بهگزینی خانواده ها[۱۶] بهترین خانواده ها انتخاب می شوند.

۲- بهگزینی داخل خانواده ها[۱۷] بهترین فرد خانواده ها انتخاب می شوند.

۳- ترکیبی[۱۸] ترکیب دو روش قبلی است.

۵-آمیخته گری[۱۹]

هنگامی که V_A وجود ندارد و یا در صورت وجود مقدار آن کم باشد بهبود کیفیت فنوتیپ توسط بهگزینی مشکل و یا غیرممکن است در این صورت برای افزایش توان تولید از روش دیگری از اصلاح نژاد بنام

---

(۲)Mass selection

(۳)Individual selection

(۱)Family selection

(۲)Between family selection

(۳)Within family selection

(۴)Combined

(۱)Out breeding

دورگه گیری[۲۰] یا آمیخته گری[۲۱] استفاده نمود. دورگه گیری توان تولید را با استفاده از V_D (واریانس غالبیت Dominance) افزایش می دهد.V_D درطی تقسیم میوز منقطع گردیده و نمی تواند از والد به فرزند منتقل گردد. ودرهر نسل دوباره و با آرایشی جدیدی بوجود می آید و اثرات آن اساساً مبنی بر تصادفی است. ماهیان برتر به دلیل آرایش تصادفی آللهای تصادفی آللهای خاص برتر هستند و متأسفانه این ماهیان نمی توانند برتری خویش را به فرزندان فرد انتقال دهند بنابراین هدف یک برنامه آمیخته گری شناختن آمیزش در بین والدین است که موجب ایجاد ترکیبی از آللها شود که همکاری آللی مطلوب را در فرزندان بوجود آورد. در نتیجه چنین آمیزشی توان تولید افزایش خواه یافت.V_A وv_D کاملاً مخالف یکدیگر هستند.بنابراین بهگزینی و آمیخته گری نیز کاملاً مخلف یکدیگر می باشند.در بهگزینی انتخاب ماهیان بر اساس لیاقت فردی یا خانوادگی به این امید انجام می شود که نسل بعد تقریباً نزدیک به افراد بهگزیده باشد. اما در آمیخته گری نسل بعد الزاماً نزدیک به مولدین نمی باشد و نتیجه یک آمیزش را بجز در مواردی که آن آمیزش قبلاً انجام شده باشد نمی توان پیش بینی نمود.

اهداف آمیخته گری

- بهره برداری از هتروزیس: در اثر آمیخته گری معمولاً نتاج از میانگین بالاتری نسبت به والدین برخوردارند. اما هتروزیس تولید شده ناپایدار است و در نسل بعد به دلیل تفرق ژنها از مقدارش کاسته می شود.به همین علت والدین آمیخته ها را از بین رگه های بشدت همخون انتخاب می کنند و از آمیخته های حاصل به منظور اهداف تجاری و اقتصادی استفاده می کنند.
- افزایش سازگاری و توان فرد: در اثرآمیخته گری و تنوع ژنوتیپی حاصل درجه شایستگی افزایش می یابد و در نتیجه تحمل فرد در برابر تنوع عوامل محیطی کاهش می یابد.
- بهبود صفات: به منظور اصلاح نژادهای بومی و بهبود صفات نژادی از آمیخته گری به همراه انتخاب بهره می برند. با اجرای یک سیستم دقیق آمیخته گری می توان از طریق وارد کردن ژنهای یک نژادمطلوب به نژادهای در حال اصلاح،صفات خاصی را بهبود بخشید.البته انتخابهای دقیق در آمیخته ها می بایست صورت گیرد،چون در این سیستم درصدد تغییر خصوصیات نژادی نیستیم بلکه هدف تنها یک یا چند صفت است.

---

(۲)Hybridization

(۳)Cross breeding

- تولید نژادهای جدید: در این مورد بر اساس هدف مورد نظروابسته به شرایط محیطی و اقتصادی موجود نژادهائی سنتز می شوند.بدین منظور تلاقی های کنترل شده بین دو یا چند نژاد صورت می گیرد و دورگه های حاصل نسبتهای متفاوتی از خصوصیات هر نژاد را بدست می آورند.آمیزشها همراه با انتخابهای دقیق و شدید می بایست انجام گیرد. پس از تکمیل برنامه های آمیخته گری به منظورتثبیت خصوصیات مورد نظر از آمیزشهای خویشاوندی استفاده می کنند.
- شکستن همبستگی بین دو صفت: اغلب دیده می شود که دو یا چند صفت همبستگی منفی دارند به منظور بهبود همزمان چنین صفاتی،انتخاب دشوار و پیچیده است.اما با آمیزش بین دو نژاد که از نظر صفات مورد نظر مطلوب هستند،می توانیم دورگه هائی که نسبت به هر والد برتری دارند تولید کنیم.در خصوص صفات کمی آمیزشها همراه با انتخاب انجام می شوند. بهبود دو صفت بطور همزمان چندین نسل طول می کشد.

طراحی برنامه آمیخته گری

کلاً آمیزش منجربه ماهیان برتر اساساً تصادفی است اما با طراحی منطقی می توان احتمال دستیابی به آن را افزایش داد. برای این کار باید به درخت تکامل نژادی ماهیان توجه نمود. اگر گونه های مورد نظر از یکدیگر فاصله داشته باشند بطوری که متعلق به خانواده و یا راسته های متفاوتی باشند احتمال موفقییت بسیار کم خواهد بود. برای مثال دورگه گیری از کپور معمولی و قزل آلای رنگین کمان منطقی نیست.اساساً دورگه گیری از گونه های یک خانواده مناسب تر بوده و احتمال موفقیت در دورگه گیری از گونه های مربوط به یک جنس بالاتری باشند.یکی از اطلاعات مهم و کوچکی که اغلب می توانند عمل بودن یک آمیزش را در بین دو گونه را مشخص نمایند.کاریوتیپ (تعداد کروموزوم ها و اندازه نسبی و مورفولوژی کروموزومها) گونه های مورد نظر است،آمیزش بین گونه هایی که تعداد کروموزومهای آن مساوی نیست به ندرت موفقیت آمیزشها می باشد.اگر یک گونه در اسفند و گونه دیگر در خرداد تخم ریزی نمایند در این حالت بوجود آمدن ماهیان دورگه مشکل خواهد بود. مگر اینکه بتوان گامت های ماهیان را با استفاده از سرما و انجماد نگهداری کرد.

طبقه بندی دورگه گیری

۱- بین جنسها: در سطوح بالاتر از گونه بین جنسها[۲۲] صورت می گیرد. به عنوان مثال دورگه گیری بین ماهی سیم از جنس [۲۳] و ماهی سفید از جنس[۲۴] و یا ماهی [۲۵] **و** با ماهی[۲۶].

---

(۱)Inter generic hybridization

۲- بین گونه ای: در سطح پایین تر بین گونه ها[۲۷] دورگه گیری دو ماهی سالمون با یکدیگر.

۳- درون گونه ای: حالت دیگر از دو رگه گیری[۲۸] می باشد. که خود می تواند در ۳ سطح انجام پذیرد:

- در سطح نژاد[۲۹]: کپور معمولی آسیایی و کپور معمولی
- در سطح سویه[۳۰]
- در سطح دودمان[۳۱]

عوامل تأثیر گذاردر میزان موفقیت دورگه گیری ها:

۱- قرابت فیلوژنیک[۳۲]

۲- قرابت بیولوژیک[۳۳]

۳- قرابت فیزیولوژیک[۳۴]

۴- قرابت کاریولوژیک[۳۵]

اگر یکی از گونه ها در آبهای جاری و دیگری در آبهای ساکن تخم ریزی نمایند گامت ها هرگز به یکدیگر برخورد نخواهن داشت دورگه گیری پایین تر از سطح گونه بیشترین احتمال موفقیت را در بر خواهد داشت.بسیاری می پندارند که در نتیجه دورگه گیری بین گونه ای (از دو گونه) ماهیان دورگه بهتری

---

(۲)Abramis

(۳)Rutilus

(۴)Huso huso

(۵)Acipenser

(۶) Inter specific h.

(۷)Intera specific h.

(۸)Breed

(۹)Strain

(۱۰)Line

(۱)Phylogenic

(۲)Biologic

(۳)Physiologic

(۴)Karylogic

نسبت به دورگه گیری داخل گونه ای (داخل یک گونه) ایجاد مـی شـود.در حـالی کـه چنـین نیسـت زیـرا چگونگی کیفیت ماهیان دورگه در حقیقت امری تصادفی است. در انجام آمیزش ها باید آمیزش های متقابل را نیز انجام داد.

آمیزش های متقابل عبارتند از:

آمیزش ممکن بین دو گروه از ماهیان مثلاً ماهی نر B با ماهی مادهA و در دفعه بعـد مـاهی نـرA بـا مـاهی مادهB .زیرا ماهیان دورگه حاصل به ندرت مشابه هم می باشند. برای مثال گربه ماهی دو رگه نر آبی با ماده روگاهی برتر از گربه ماهی متقابل خود می باشد.

کاربردهای دورگه گیری

دورگه گیری به یکی از چند روش زیر می تواند برای افزایش توان تولید مورد استفاده قرارگیرد:

۱- بهره برداری از از V_D مستقل ازV_A است.لذا مقدار h^2 یا توارث پذیری چه بزرگ باش و چـه کوچـک می توان از V_D برای افزایش توان تولید استفاده نمود و در صورت کوچک بودنh^2 دو رگه گیری غالباً تنها راه عملی برای افزایش توان تولید است زیرا بهگزینی در این حالت کارآیی کمتری دارد.

۲- استفاده از دورگه گیری به عنوان آمیزش نهایی جهت تولید ماهیان مناسب برای پرواربندی است. در این حالت ماهیان در دو لاین(Line) که قبلاً اثبات شده که ماهیان دورگه گیری به عمل می آید.

۳- ایجاد نژاد یا سویه های جدید

۴- تولید محصولات هم شکل. کارخانجات فرآوری و یـا مصـرف کننـدگان اغلـب خواسـتار محصـولات همشکل هستند.ناخالص هستند،اما یک شکل و یکدست می باشند. دورگه گیـری کارآمـدترین روش بـرای تولید ماهیان هم شکل می باشد.

۵- تولید جمعیتهای تک جنسی[۳۶] در تیلاپیا ژنهای اتوزومی مؤثر بـر جنسـیت وجـود دارد کـه اگـر حتـی کروموزومهای جنسی نباشند تحت تأثیر جنسیت عوض می شود.

۶- تولید ماهیان عقیم، بسیاری از ماهیان دورگه عقیم هستند.

بسیاری از ماهیان دورگه بارور هستند[۳۷] و بسیاری عقیم [۳۸] هستند که این عقیم ها به چند دسته تقسیم می شوند:

---

(۱)Mono sex

(۲)Fertile

(۳)Sterile

۱- عقیمی زیگوتی: یعنی گامت توسط دو والد تشکیل می شود،لقاح انجام می شود،زیگوت تولید می شود،اما موجود رشد نمی کند و زنده نمی ماند.
۲- عقیمی گامتی: گناد دارد،اما تولید زیگوت نمی کند.
۳- عقیمی گنادی: گناد تشکیل نمی شود و تحلیل رفته می باشند.
(دورگه ها می توانند تریپلوئید و عقیم می باشد.)

خلاصه ای از مطالعات صورت گرفته در رابطه با دورگه گیری

از ابتدای قرن نوزدهم دورگه گیری ماهیان نتایج عالی و جدیدی را در زمینه های تحقیقاتی و پرورشی آبزیان ارائه نمود. گسترش تکنیک تکثیر مصنوعی،دورگه گیری و تلاقی بین ماهیان را آسانتر کرده است. اطلاعات دقیقی در ارتباط با تعداد دورگه های طبیعی و مصنوعی وجود ندارد اما تعداد آنها با لغ بر حدود ۵ تا ۶ هزار تخمین زده می شود.

برخی از ماهیان تمایل دارند در شرایط طبیعی بصورت بین گونه ای یا حتی بین جنسی با همدیگر تلاقی یابند. تعداد زیادی دورگه گیری در خانواده کپورماهیان شناسایی شده است. شانزده دورگه طبیعی کپورماهیان را در آبهای یوگسلاوی شناسایی کرد.مؤلفین هیچ ناهنجاری را در گنادهای سیزده دورگه بررسی شده ملاحظه نکردند و این مسئله مؤید این مطلب است که دورگه ها می توانند بخوبی تولید مثل کنند.
دورگه های طبیعی در خانواده های کوتوله گربه ماهیان[۳۹] و کپورماهیان دندان دار زنده زا[۴۰] نیز شناسایی شده اند.

همچنین چندین دورگه طبیعی نظیر ماهی کلمه[۴۱] نیز شناسایی شده است.

مولدین تاسماهیان جهت تخمریزی طبیعی به رودخانه ها مهاجرت می کنند ودر بعضی از مناطق بعلت مشترک بودن بستر رودخانه های بزرگ (ولگا در روسیه و اورال در قزاقستان) همزمان در تخم ریزی مولدین دو گونه متفاوت صورت می گیرد و امکان تولید ماهیان دورگه بصورت طبیعی و بدون دخالت بشر وجود دارد. ۹ حالت از دورگه های طبیعی شامل:(کالوگا×تاسماهی آمور)،(فیلماهی×شیپ)،(فیلماهی×تاسماهی روسی)،(فیلماهی×ازون برون)،(شیپ×ازون برون)،(استرلیاد×تاسماهی روسی)،(تاسماهی روسی×ازون برون)،(استرلیاد×ازون برون)و(استرلیاد×تاسماهی سیبری) در بین انواع تاسماهیان گزارش شده است. بر اساس مطالعات انجام شده تخمین زده می شود که حدود ۱ درصد از دورگهای طبیعی تولیدی رودخانه ولگا بارور یا زایا باشند **(۶)**.

---

(۱)Ictaluridae

(۲)Pocilidae

(۳) Leucicus cephalus×Rutilus rutilus

نخستین هیبرید مصنوعی در تاسماهیان در سال ۱۸۶۹ توسط Ovsyannikov از تلاقی بین استرلیاد ماده[۴۲] و اسپرم ماهیان تاسماهی روسی [۴۳] و ازون برون[۴۴] تولید گردید(**۳۸**).

بیش از ۸۳ سال هیچ گزارشی از مطالعات بعدی منتشر نگردید تا اینکه در سال ۱۹۵۳،Nikolyukin وTimofeeva انواع دورگه از تلاقی بین تاسماهی روسی،فیلماهی،ازون برون و استرلیاد تولید نمودند که موفق ترین آنها تولید ماهی بستر[۴۵] از تلاقی بین فیلماهی ماده و ماهی استرلیاد نر بده که امروزه نقش مهمی در آبزی پروری تاسماهیان ایفا می نماید.

انواع دورگه مصنوعی دربین تاسماهیان تولید شده که ازجمله تلاقی بین تاسماهی سیبری[۴۶] باتاسماهی اروپائی[۴۷] وتاسماهی سیبری با تاسماهی چینی[۴۸]،تلاقی بین بین تاسماهی سیبری با تاسماهی روسی،تلاقی بین تاسماهی رودخانه آمور[۴۹] وکالوگا [۵۰] **(۲۳)**،تلاقی بین تاسماهی آدریاتیک و تاسماهی سفید[۵۱] صورت گرفته است.

تلاقی مصنوعی بین کپور معمولی با سایر کپورماهیان در بسیاری از کشورها انجام شده است. تلاقی های انجام شده نتایج مختلفی به دنبال خواهد داشت که به عنوان مثال می توان به دورگه های آلوتریپلوئید حاصل از دورگه گیری کپورمعمولی ماده× ماهی کپور علفخوار،کپور معمولی × کپورسرگنده،کپور معمولی × کپور نقره ای اشاره نمود.

---

(۴)A.ruthenus
(۵)A.gueldenstaedtii
(۶)A.stellatus
(۷)Bester
(۸)A.baeril

(۱)A.sturio
(۲)A.sinensis
(۳)A.dabryanus
(۴)Huso dauricus
(۵)A.transmontanus

مروری بر مطالات انجام شده در ایران

اولین دورگه گیری در تاسماهیان در ایران بین فیلماهی ماده و ازون برون نر و برعکس در مرکز تحقیقات شیلات مازندران توسط امینی در دو تیمار صورت گرفت.

در مورد کپورماهیان نیز تلاقی دوطرفه ماهی سفید×ماهی کلمه،تلاقی دوطرفه ماهی کلمه وماهی سیم انجام شد. با توجه به میانگین وزنی بوجود آمده در چهار دورگه گیری فوق مشخص گردید که پرورش این دورگه ها توجیه اقتصادی ندارد و مقرون به صرفه نیست.

همچنین در سال ۱۳۷۵ دورگه گیری بین ماهی سفید ماده و ماهی نر انجام شد.

قزل (۱۳۷۶) دورگه گیری بین فیلماهی با تاسماهی روسی و قزل و امینی در سال ۱۳۷۷ دورگه بین فیلماهی با ماهی شیپ تولید کردند. همچنین بین ماهی شیپ وازون برون دورگه ای تولید شد و روند رشد بچه ماهیان تولیدی فقط با ماهی ازون برون مقایسه گردید.درصد لقاح دورگه ها بیشتر از شاهد ولی از درصد تفریخ کمتری برخوردار بود و ماندگاری بچه ماهیان دورگه پرورشی بیشتر بود. میزان رشد و افزایش وزن ماهیان هیبرید بیشتر از ماهیان شاهد بود.

بین فیلماهی با تاسماهی ایرانی بصورت رفت و برگشت در ۴ تیمار و۳ تکرار تلاقی صورت گرفت. با توجه به نتایج با وجود رشد بیشتر دورگه های حاصل از تلاقی فیلماهی ماده با تاسماهی نر به علت کمبود فیلماهی ماده،دورگه حاصل از تلاقی فیلماهی نر با تاسماهی ایرانی ماده برای پرورش ماهیان خاویاری توصیه گردید.

۶- درون زایی

هر چند بهگزینی و دورگه گیری جزء طرحهای تولید مثلی هستند که معمولا در زمان اصلاح نژاد یک جمعیت مورد بررسی قرار می گیرند ، درون زایی نیز به عنوان سومین گزینه در این طرحها محسوب می گردد .که قرنهاست توسط پرورش دهندگان در جهت اصلاح حیوانات و گیاهان مورد استفاده قرار می گیرد می تواند اثرات شگرفی بر توان تولید داشته باشد از نظر ژنتیکی درون زایی فقط باعث خلوص ژنتیکی می شود ماهیانی که با یکدیگر خویشاوند هستند قسمتی از آلل های خود را از یک یا چند جد مشترک دریافت می کنند در صورتی که افراد خویشاوند با یکدیگر آمیزش نمایند آن دسته از آلل هایی که به واسطه جد مشترک به آنها رسیده اند امکان جفت شدن پیدا می کنند در این حالت فرزندان ایجاد شده در یک یا بسیاری از لوکوسها خالص می باشند که آنها را همخون می نامند . از لحاظ ژنتیکی درون زایی سبب افزایش هموزیگوتی در نوزادان می گردد (این بدان معناست که درون زایی هتروزیگوتی را نیز در نوزادان به میزان یکنواختی کاهش می دهد) .

اهمیت درون زایی در کشاورزی بسیار بیشتر از پرورش حیوانات است زیرا بسیاری از گیاهان توانـایی خودلقاحی داشته و توسط گرده افشانی مصنوعی بارور می شوند . درون زایی مـی توانـد در جهـت ایجـاد چهارپایان اهلی برتر و با رشد بیشتر استفاده شود و تکنولوژیهای جدید می تواند به تولید و استفاده از ماهی حاصل از درون زایی برای اصلاح جمعیت یا اهداف تحقیقاتی به کار آید .

مقدار درون زایی تولیدی در زمانی که خویشاوندان جفتگیری می کنند وابسته به نزدیکی والدین دارد . اقوام نزدیک (بطور مثال ، برادر و خواهر ، والدین و فرزندان) آلل های زیادی را که از نسلهای مشترک بـه ارث برده اند را تقسیم می کنند. بنابراین وقتی آنها جفتگیری می کنند ، آنها نسلهایی تولید می کننـد کـه سـطوح بالایی از درون زایی دارند .

از نظر روابط خویشاوندی دورتر ، افراد وابسطه (بطور مثال ، چهارمین و پنجمین فرزندان خاله ، عمو و عمه) نسبتا آلل های کمتری را از یک نیای مشترک تولید می کنند بنابراین وقتی آنها جفتگیری می کنند ، آنها نسلهایی را با درون زایی کمتر تولید می کنند. بدلیل اینکه درون زایـی خلـوص را افـزایش مـی دهـد ، فراوانیهای ژنوتیپی تغییر می یابد و درصد ژنوتیپ های خالص افزایش پیدا مـی کنـد در حـالی کـه درصـد ژنوتیپ های ناخالص کاهش می یابد. اگر سیستم منظم تولیدمثل خویشاوندی اجراء شود ، برنامه تولیدمثلی یک سری از خانواده های درون زاده شده را ایجاد می کند که دورگه نمی شود . این حالت جمعیـت را بـه دودمانهای مختلف تقسیم می کند که بعدا اختلاف ژنوتیپی را افزایش می دهند .

انتخاب ، جابجایی ژنتیکی ، مهاجرت و جهش ، به عنوان نیروهای موثر در تغییر فراوانـی ژن ارزیـابی می شوند که از طریق تولیدمثل رخ می دهد .درون زایی فراوانی ژنی را تغییر نمی دهد بلکه توسط تغییرات فراوانی ژنوتیپی ،درون زایی می تواند انتخاب را تسریع کند . در طی یک برنامه درون زایـی ، اگـر خـانواده های درون زاده شده به طور نسبی نگه داشته شوند فراوانیهای ژنوتیپی بشدت می تواند تغییر کند . اگر چـه درون زایی گونه ای یک روش با ارزش تولیدمثل است می توان آن را با موارد مشابه ترکیب کرد تا جانوران و گیاهان بازارپسند پرورش داده شود اما درون زایی بدون برنامه اغلب سبب ایجاد نوعی نقص درون زایـی گونه ای همراه با کاهش بقاء ، باروری و سرعت رشد می شود . مشکلاتی که بـا درون زایـی کنتـرل نشـده ایجاد می شود اغلب با ضایعات کلی ناشی از پیامد ژنتیکی همراه خواهد بود.

اگر یک پرورش دهنده از یک برنامه درون زایی استفاده کند مسلما ماهی ایجاد شده بر اثر درون زایی گونه ای ایجاد شده و سطوح درون زایی فامیلی با گذشت زمان افزایش می یابد. هنگـامی کـه یـک برنامـه درون زایی گونه ای برای اصلاح جمعیت یا تولید ماهیان اصلاح شـده ژنتیکـی وجـود نـدارد تنهـا اهـداف ژنتیکی باید به صورت زیر باشد :

جلوگیری یا به حداقل رساندن درون زایی ، جلوگیری از پیشامد ژنتیکی بـه واسـطه کـاهش اخـتلاف ژنتیکی ، به حداقل رساندن ضایعات آللی ، وقتی که از برنامـه اصـلاح نـژادی اسـتفاده مـی شـود تغییـرات

ژنتیکی را برنامه ریزی کرده و متناسب می سازند چون این امر نرخ رشد ماهی اصلاح شده را بهبود می بخشد . در صورتی که از هیچ برنامه اصلاح نژادی استفاده نشود تغییرات ژنتیکی برنامه ریزی شده نبوده و به صورت اتفاقی رخ می دهد که سبب کاهش جمعیت ماهیان می شود .

در نتیجه هنگامی که یک مدیر مرکز تکثیر از برنامه اصلاح نژادی استفاده نمی کند ، بهتر است سعی کند از سطوحی از درون زایی که باعث ایجاد نقص خواهد شد جلوگیری کند . و همچنین از ایجاد پیشامد ژنتیکی درنتیجه دستکاری جمعیت با پتانسیل با ارزش آللی جلوگیری کند .

از آنجایی که بیشتر پرورش دهندگان ماهیان را علامت گذاری نمی کنند باید اندازه موثر جمعیت (Ne) کنترل شود تا درون زایی گونه به حداقل برسد . کنترل Ne برای جلوگیری از مشکلات ناشی از نقص ژنتیکی و درون زایی است ، ثابت نگهداشتن Ne در یک اندازه مشخص بسیار مشکل است چون Ne ممکن است به علت بیماری ها و فصل بد تخمریزی و...کاهش یابد اگر Ne کاهش یابد ، جمعیت ماهی کاملا در یک تنگنا قرار می گیرد . این امر سبب افزایش انباشتگی نقص درون زایی و پیشامد ژنتیکی می شود . جلوگیری از این تنگناها ، مخصوصا در طول دوره تکامل جمعیت ماهیان ممکن است مهمترین جنبه از کنترل ذخیره اصلاح نژادی باشد .

علامت گذاری ماهیان و جلوگیری از درون زایی نسبی از نقص ژنتیکی جلوگیری نمی کند ، کنترل جمعیت ماهی برای به حداقل رساندن تاثیرات نقص ژنتیکی را می توان تنها به وسیله کنترل Ne انجام داد . هنگامی که ماهی علامتگذاری نشده باشد تنها روش جلوگیری از درون زایی ناخواسته در نتیجه انباشتگی و جلوگیری از از رواج نقص ژنتیکی ، کنترل میزان Ne می باشد . هنگامی که یک پرورش دهنده از یک برنامه اصلاح نژادی برای بهبود جمعیت ماهیان استفاده می کند کنترل Ne یکی از مهمترین بخشهای اطلاعاتی در ضمینه جمعیت ماهیان می باشد چون Ne عموما با نقص ژنتیکی و درون زایی در ارتباط است در نتیجه کنترل Ne یک جنبه اصلی در آمیزش ماهیان است.

ایجاد نسل جدید

درون زایی زمانی مورد استفاده قرار می گیرد که یک نسل ، نژاد یا واریته جدید کشف شده و در بسیاری موارد اجتناب ناپذیر است . گونه های جدید می توانند حاصل هیبرید شانسی بوده یا اینکه از والدین منحصر به فرد با با فنوتیپ های مطلوب بوجود آمده باشند.

وقتی نسل تازه بوجود آمده کوچک و جدیداند درون زایی حتمی الوقوع است . و زمانی که این گونه ها نسل اول هستند تعداد کمی از آنها نر می باشند . در اینصورت نر بوجود آمده برای باروری تعداد زیادی از ماده همان نسل و دو نسل بعد در راستای تولید یک جمعیت از جانوران مشابه خود پرورش داده می شود.

دور دوم درون زایی زمانی رخ می دهد که یک یا دو تا از فرزندان نر والد نر اولیه مورد استفاده قرار می گیرد . وقتی که اندازه نسل جدید افزایش یافت اهمیت درون زایی کم می شود.

استفاده از یک موجود نر برتر در گروه یا گله

این نوع درون زایی در واقع تغییر در دورگه گیری است . در این روش پرورش دهنده یک موجود نر برتر را انتخاب کرده و از آن به عنوان نر گله یا گروه استفاده می کنند . این تنها حیوان نر موجود در گروه است که برای آمیزش با تمام ماده های نسل خود و نسل بعدی استفاده می شود . این طرح برای بوجود آوردن یک جمعیت حیوانی با خصوصیات فنوتیپی برتر اجرا می شود. بسیاری از پرورش دهندگان با استفاده از این در جهت کاهش میزان درون زایی و در نتیجه به حداقل رساندن افت کیفیت درون زایی گام برمی دارد.

درون زایی برای بروز و جمع آوری آلل های زیان بار و مضر

درون زایی می تواند به عنوان یک نوع تست دودمانی برای آشکار شدن آلل های مضر استفاده شده و خانواده های حامل این بمب های ژنتیکی را حذف نماید. تست دودمانی یک برنامه تولید مثلی است که در آن یک ماهی با فنوتیپ های غالب با یک ماهی مورد آزمایش برای شناسایی و حذف ژنهای ناخالص و همچنین حفظ ژنهای خالص آمیزش داده می شود. یک پرورش دهنده با استفاده از آمیزش های خویشاوندی و گسترش خانواده های حاصل از درون زایی قادر می گردد تا بطور همزمان بسیاری از الل های مضر را شناسایی کرده و خانواده های حامل نقص های ژنتیکی نهفته را حذف نماید.

از آنجایی که بسیاری از حیوانات حامل چندین الل مضر به شکل هتروزیگوت نهفته می باشند این روش تولیدمثلی نوعی تست دودمانی مهم نیز تلقی می گردد و خانواده هایی که هیچ مشکلی از خود بروز نمی دهند از نظر ژنتیکی برتر می باشند . این طرح یک طرح تولید مثلی هزینه بر محسوب می گردد.

رابطه درون زایی با بهگزینی

درون زایی زمانی می تواند برای بهبود نتایج بهگزینی استفاده شود که $h2$ (قابلیت وراثت) یک تیره کم باشد . در این روند تفاوتهای ارثی با به حداقل رساندن اثرات محیطی (VE) زیر زره بین برده شود . وقتی میزان $h2$ کم باشد درون زایی می تواند برای ایجاد خانواده هایی استفاده شود که تفاوتهای ارثی را بارزتر نشان می دهند . در درون زایی تشخیص و ارزیابی تفاوتهای ارثی را با به حداقل رساندن بعضی منشاء های غیرارثی تسهیل می نمایند.

درون زایی مقدار مطلق واریانس افزایشی را تغییر نمی دهد بلکه منجر به تغییرات نسبی مقـدار آن مـی گردد و پرورش دهنده را قادر می سازد تا به واسطه واریانس افزایشی خانواده های برتر از نظـر ژنتیکـی را شناسایی و حفظ کنند که خود منجر به کارایی بیشتر بهگزینی در میان یک خانواده می شود.

رابطه درون زایی با دورگه گیری

درون زایی ، جفتگیری در بین حیواناتی است که رابطه نزدیـک تـر از حـد میـانگین در یـک جمعیـت نسبت به هم دارند . و دورگه گیری جفتگیری در بین یک جمعیت حیوانی بـا وابسـتگی و رابطـه دودمـانی کمتری می باشند.

حالت ژنتیکی هتروزیگوتی ، درون زایی و دورگه گیری را کنترل می کند . درون زایی می توانـد نسـل هایی را ایجاد کند که به تولید ماهیهای هیبرید با توان بالا کمک نماید . ایجـاد نسـل هـای حاصـل از درون زایی نتایج دورگه گیری را به وسیله بسط دادن فاصله ژنتیکی بین ماهیهای بوجود آمده بهبـود مـی بخشـد . درون زایی همچنین می تواند انواع حالت های هتروزیگوت را ایجاد نماید و این روند منجر به تولید دورگه هایی با سطح توانایی بالا می گردد . در کل ایجاد حیوانات حاصل از درون زایی به ثابت ماندن یـک یـا دو صفت کیفی در هر نسل کمک می کند.

- برای این نوع اهداف تولیدمثلی دو روش وجود دارد :

۱- نسل های درون زاد از دو تیره مختلف برای ایجاد دورگه های F1 انتخاب شوند .

۲- ایجاد نسلهای درون زاد در هر تیره و دورگه گیری از آنها .

روش دوم کارآمدترین روش رایج است . از آنجایی که ایجاد نسل F1 دورگه غیرقابل پیش بینی است نمی توان گفت که دورگه ای که ایجاد خواهد شد یـک دورگـه مطلـوب خواهـد بـود . در صـورت ایجـاد نسلهای درون زاد در دو تیره که آماده بوجود آمدن نسل F1 دورگه برتر باشـند احتمـال ایـن مـی رود کـه تعدادی از افراد F1 ، دورگه های برتر باشند . میزان باروری درون زایی ، متغایر با سایر روشهاست وقتی که میزان باروری کاهش یافت امکان ایجاد دورگه های F1 با رشد بالا به قدر کافی وجود ندارد.

- روش حل این مشکل :

چهار نسل درون زاد ایجاد کرده و ازحاصل آمیزش بین آنها دی هیبرید بوجود مـی آورنـد . ایـن نـوع تولید مثل سه مرحله دارد :

۱- ایجاد چهار نسل درون زاد

۲- ایجاد دو F1 دورگه از آمیزش آنها

۳- استفاده از دو F1 مرحله قبل و بوجود آوردن یک دی هیبرید بـا ایجـاد F1 میـزان F بـه صـفر درصـد رسیده و بنابراین میزان باروری به حد نرمال می رسد. این دورگه های F1 توسـط پـرورش دهنـده جهـت ایجاد حیواناتی با میزان رشد عالی استفاده می شوند . اگر هر نسل درون زاد برای ثبات یک یـا دو فنوتیـپ کیفی استفاده شود ، دی هیبرید ها حالت هتروزیس را بروز می دهند و همگی دارای چندین فنوتیپ کیفـی مطلوب خواهند بود.

قابلیت بهره برداری از درون زایی در بعضی از روشهای تولیدمثلی به توانایی پرورش دهنـده یـا مـدیر هچری ، جهت تولید سریع و کارآمد نسل درون زاد بستگی دارد . بهترین حالت در زمانی است که پرورش دهنده ها بدانند میزان درون زایی در مورد یک طرح تولید مثلی خاص چقدر اسـت. در واقـع میـزان درون زایی حاصل از یک طرح تولید مثلی درون زایی وابسطه به رابطه خویشاوندی دو ماهی آمیزش یافتـه بـاهم می باشد . و در کل دانستن میزان درون زایی در ایجاد نسل جدید مهم است . این اطلاعـات مـی توانـد در جهت ایجاد یک سیستم منظم ا زتولیدمثل درون زایی استفاده شود تا پرورش دهنده قادر به ایجـاد سـطوح درون زایی قابل پیش بینی در یک چهارچوب از پیش تعیین شده گردد.

کاربرد درون زایی

با توجه به کاهش توان تولید در اثر درون زایی در ماهیان باید دید کـه چگونـه مـی تـوان از آن بـرای پیشبرد یک جمعیت استفاده نمود . یکی از کاربردهای مهم درون زایی مربوط به یکی از برنامه های اصلاح نژاد به نام آمیزش دودمانی است . آمیزش دودمانی به حالتی گفته می شود که یک فـرد برجسـته (معمـولا یک ماهی نر) برای آمیزش با یکی از اخلاف خود به دودمان برگشت داده می شود معمولا علت انجام این کار این است که خصوصیات این حیوان به اندازه ای برجسته است که تصمیم گرفته می شود مشـارکت آن در ایجاد هر یک از اخلاف خود افزایش یابد و درنتیجه دخالت آن در خزانه ژنی بیشتر شود . دومین کاربرد درون زایی ایجاد دودمان هم خون است . که از آن برای تولید ماهیـان دورگ نسـل اول جهـت پرواربنـدی دورگه گیری به عمل می آید برای انجام این کار دو یا چند دودمان برگزیـده بـه منظـور تثبیـت الـل هـای خاصی همخون می شوند در صورتی که این دودمان های همخون بـا یکـدیگر آمیـزش داده شـوند ماهیـان دورگه حاصل از آنها در لوکوسهای مورد نظر با یکدیگر مشابه گردیده و لذا از نظر فنـوتیپی نیـز همشـکل

خواهند شد موضوع اخیر اغلب به عنوان یکی از اهداف برنامه آمیخته گـری اسـت و هـر دو بـه همکـاری اثرات متقابل آلل ها بستگی دارد.

اثرات درون زایی

۱- اثرات مثبت

درون زایی یک برنامه تولیدمثلی است که می تواند جهت تولید مثل مولدین گیاهی و جـانوری عـالی و ممتاز استفاده شود ، و همچنین می تواند تولید حیوانات و گیاهانی را که از نظر ژنتیکی رشد بهتری دارند را تولید کند. تولید مثل خویشاوندی یک برنامه تولید مثلی است که اغلب برای ایجاد نژاد و واریته های جدید استفاده می شوند که نژاد درست را بوجود می آورند ، که یک ساختار ویژه بـدن و یـک سـری از فنوتیـپ های کیفی را بوجود می آورند.

درون زایی می توانند برای تثبیت یک صفت ظـاهری مطلـوب در جمعیـت و رسـیدن بـه یکنـواختی و همشکلی افراد مفید باشد. به عنوان مثال شباهت یک فرزند به والد همخون نسبت به والد غیرهمخون بسیار بیشتر است. یکی از مهمترین کاربردهای درون زایی ایجاد نسلهایی است که در طرح های دورگه گیـری در جهت تولید هیبرید های برتر با میزان رشد بسیار بالا استفاده می شوند.

۲- اثرات منفی

تقریبا هر موجود زنده ای حامل الل های نهفته و زیان آوری هستند که بصورت ناخالص پنهان می باشند هرگاه این آلل ها بروز پیدا کنند باعث ایجاد فنوتیـپ هـای غیـر طبیعـی و یـا کشـنده خواهنـد شـد افـراد خویشاوند احتمالا دارای الل های نهفته ، زیان آور مشابه هستند . به دلیل اینکه درون زایی از طریق جفـت نمودن آلل هایی به دلیل نسب مشابه اند باعـث ایجـاد خلـوص ژنتیکـی مـی شـوند لـذا در آمیـزش افـراد خویشاوند آلل های نهفته نادری که زیان آور هستند با احتمال بیش از آمیزش افراد غریبه با یکدیگر جفـت شده و بروز پیدا می کند . احتمال جفت شدن الل های نهفته زیان آور با افـزایش رابطـه خویشـاوندی بـین والدین بالا می رود . هنگامی که والدین با یکدیگر خویشاوند باشند ، احتمال بوجود آمـدن زاده هـای غیـر طبیعی یا زاده های دارای قابلیت زیست پایین ، بیشتر می شود . و هر اندازه که این رابطه نزدیک تر باشـد ، این احتمال بالاتر خواهد رفت.

جفت شدن آلل های زیان آور باعث ایجاد یـک رونـد عمـومی در جهـت کـاهش قابلیـت زیسـت ، باقیماندگی ، رشد ، افزایش درصد ناهنجاریها می شود و همچنین فشار ناشی از درون زایـی موجـب افـت کیفیت جمعیت و کاهش هم آوری می گردد. که این نیز بـه انقـراض بعضـی از جمعیـت هـای مـاهی مـی انجامد.

چالش درون زایی باعث کاهش در نرخ رشد و قابلیت باروری می شود. مشکلات ناشی از درون زایی به سطح درون زایی ، فنوتیپ مورد نظر و جمعیت بستگی دارد. بـرای اسـتفاده از برنامـه درون زایـی یـک پرورش دهنده باید درک کامل از نحوه عملکرد این تکنیک داشـته باشـد . برنامـه تکثیـر بسـیار پرهزینـه و طولانی مدت می باشند . سیستم های تصادفی و بدون برنامه منجر به ایجاددرون زایی نامشخص و غیرقابل پیش بینی می شوند بنابراین همه برنامه های تکثیر باید یک سیستم منظم را دنبال نمایند کـه درون زایـی از ارائه مسئله مستثنی نمی باشد.

تعداد زیادی از سیستمهای متعادل درون زایی وجود دارند که بعضی از آنها نسبتا ساده ولـی بعضـی از آنها به قدری پیچیده اند که میزان درون زایی تولید شده بسیار ناچیز است که استفاده از آن عملی نمی باشد .

جمعیت (Population)

بزرگترین اجتماع از افراد است که ژنوتیپ آنها به عنوان طرح تصادفی از یک مخزن ژنی منفرد می باشد.یا به عبارت دیگر یک جمعیت گروهی از افراد درون امیزش است که از نظر تولید مثلی از گروههای دیگر همان گونه جدا هستند.اگر چه این گروههای تولیدمثلی از هم جدا هستند اما به علت نبود جداسازی کامل میان جمعیتها (یعنی وجود جریان ژنی بین جمعیتها)به عنوان گونه قلمداد نمی گردند.اعضای دو جمعیت از یک گونه اگر فرصتی پیدا نمایند ،قادرند فرزندان بارور تولید کنند.

ساختار جمعیت (population structure)

از آنجاییکه جمعیتها ممکن است تبادلاتی با هم داشته باشند این امکان وجود دارد که تمایز ژنتیکی بین جمعیتها وجود نداشته باشد(به استثنای جمعیتهایی که بطور آشکارا از نظر جغرافیایی از هم جدا هستند وهیچ ارتباطی با هم ندارند) به عبارت دیگر در مواردی موانع تولید مثلی پنهانی وجود دارد که از تبادلات اطلاعاتی ژنتیکی بین جمعیت جلوگیری می کند. به علاوه در طول چرخه زندگی یک گونه ممکن است اعضای یک جمعیت به طور فیزیکی با اعضای دیگرجمعیتها مخلوط شوند. بدین ترتیب ساختار جمعیتی یک گونه می تواند یک جمعیت تولیدمثلی منفرد، جمعیتهای متعدد مجزا، که تنها گاهی با هم تبادلات گامتی دارند ولی در اصل به وسیله فاصله جغرافیایی از هم جدا هستند، جمعیتهایی که در کنار هم زندگی می کنند ولی از نظر تولید مثلی مجزا هستند وبا ترکیبی از تمام حالات بالا باشند.

اللهای واقعی و موثر(Real and Effective allels)

اللهای واقعی درحقیقت تعداد اللهای مشاهده شده درهر جایگاه ژنی است. این معیار به شدت تحت تاثیر اندازه نمونه بوده به همین جهت این امکان وجود داردکه در آزمایشات گوناگون با تعداد نمونه های متفاوت تعداد اللهای واقعی مختلفی برای یک جایگاه معین بدست آید.

معیار دیگری که منعکس کننده تعداد اللها است تعداد اللهای موثر میباشد. این معیار بیانگر تعداد اللهایی است که هتروزایگوسیتی یکسان ایجاد میکنند. در شرایطی که همه اللها دارای فراوانی یکسان بوده وبا اللهای نادر($P \leq 0.01$) تحت تاثیرقرار نگیرند تعداد للهای موثر دریک جمعیت برابر تعداد اللهای واقعی خواهد بود. تعدادالهای موثر(ne) را به صورت زیر محاسبه میکنند:

$$n_e = 1 \Big/ \sum Pi^2$$

که در آن P_I فراوانی هر یک از اللهاست. این معیار را بیشتر به دلیل حساسیت کم آن به اندازه نمونه مورد استفاده قرار می دهند.

تنوع **هتروزایگوسیتی یا تنوع ژنی(Gene or Heterozygosity Variation)**

مطالعه تغییرات در جوامع مشخص کننده وسعت تنوع ژنی میباشند. راههای مختلفی برای بررسی وجود داردکه ساده ترین آن اندازه گیری فراوانی اللها یا ژنوتیپها میباشد. فراوانی هتروزیگوتها از این جهت اهمیت دارد که هر هتروزایگوت ناقل اللهای متفاوتی است و این نشان دهنده وجود تنوع میباشد. به همین دلیل معمولترین معیار تنوع ژنی در یک جمعیت میزان هتروزایگوسیتی میباشد. این معیار اغلب برای یک مکان ژنی و یا میانگین تعدادی مکان ژنی گزارش می شوند.

شاخص شانون (Shanon Index)

از آنجا که حد نهایی هتروزیگوسیتی برای هر تعدادی از اللها یکسان (برابر ۱) میباشد، معیار هتروزایگوسیتی حساسیت زیادی به افزایش تنوع ندارند. این محدودیت تفکیک بین جمعیتها را با استفاده از جایگاههای بسیار متغییر همچون ریز ماهواره ها (با هتروزایگوسیتی ۰/۸ یا بیشتر) دشوار می سازد تنوع را میتوان به صورت زیر وتحت عنوان شاخص اطلاعات شانون نیز تعیین نمود.

$$I = -\sum_i PiLnPi$$

که در ان Pi فراوانی I امین الل در یک جایگاه معین میباشد. بر خلاف هتروزایگوسیتی که برای هر تعداد الل حد نهایی یک را دارد، مقدار I برابر Ln (n) میباشد. با وجود اینکه تفسیر بیولوژیکی این معیار مشخص نیست، ممکن است برای اندازه گیری تنوع جایگاههای بسیار متغییر مفید باشد.

تعادل هاردی-واینبرگ (Harady_Weinberg Equlibrium)

فرضیه چگونگی توزیع زنها وژنوتیپها ی مختلف در یک جمعیت در سال ۱۹۰۸ مستقلاً به وسیله دو دانشمند انگلیسی و آلمانی با نامهای هاردی (Hardy) و واینبرگ (Weinberg) ارایه گردیده است و تنها در جوامعی صادق است که دارای شرایط زیر باشند.

الف)جفت گیری در این جوامع تصادفی باشد.

ب)جهش در ژنهای مورد مطالعه نادر بوده و میزان جهش در دو الل تقریباً برابر باشد.

ج)تعداد افراد جمعیت نسبتاً زیاد باشد به طوریکه شانس عامل مهمی در تغییر فراوانی ژنها نباشد.

د)تولید مثل و قابلیت زندگی ژنوتیپهای مختلف تحت مطالعه مساوی باشد. به عبارت دیگرژنوتیپهای مختلف دارای ارزشهای متفاوتی از نظر انتخاب طبیعی نباشند.

بر اساس قانون هاردی –واینبرگ در جمعیتی که شرایط فوق صادق باشد نسبت گامتهای تولید شده متناسب با فراوانی ژنها در جمعیت خواهد بود. اولین مرحله تجزیه وتحلیل در هر جمعیت، آزمون تعادل هاردی-واینبرگ است، وقتی یک جمعیت نسبتهای هاردی-واینبرگ را دارد، ضریب عدم تعادل D_A برابر صفر

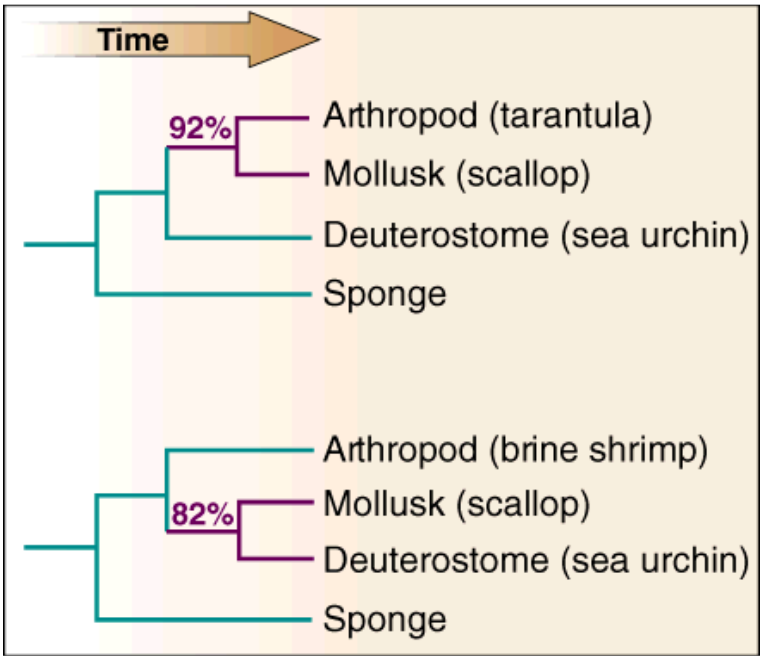
است، که این همان آزمون برای تعادل هاردی واینبرگ یـا آزمـون فـرض میباشـد $H: D_A = 0$ تعادل هاردی –واینبرگ با استفاده از آزمون مربع کای X^2 و آزمون نسبت درست نمایی G^2 مـورد بررسـی قرار می گیرد.

فاصله ژنتیکی(Genetic Distance)

زمانی که داده های ژنتیکی از چند جمعیت بدست می آید اولین سوالی که مطرح می شود این است کـه شباهت ژنتیکی جمعیتها چقدر است. عموماً عقیده بر اینست که ارتباط جمعیتها مربوط به زمانی اسـت کـه آنها از یک جد مشترک انشقاق یافتند که این نیازمند مدل ژنتیکی مشخص می باشد تا فراینـدهایی از قبیـل جهش و تفرق را در جمعیتهای جدا شده تعیین کند. فاصله ژنتیکی طرحی است که برای بیان تفاوت میـان جمعیتها مطرح می شود. اگر هیچ تفاوتی وجود نداشته باشد فاصله ژنتیکی صفر خواهد بود و اگر جمعیتهـا در هیچ یک از مکانهای ژنی الل مشترک نداشته باشند فاصله ژنتیکی حداکثر یعنی مساوی یک خواهد بود.

فیلوژنی(Phylogeny)

فیلوژنی علمی است که با در نظر داشتن شباهتها وتفاوتهای بین گونه ها میتواند به توضیح روابط تکاملی موجودات بپردازد. یعنی اگر دو گونه خیلی به هم شبیه اند می توان این فرض را داشت که آنها در یک جد مشترک با هم اشتراک دارند . در بررسی های فیلوژنیک از انواع مختلف صـفات میتـوان اسـتفاده نمـود امـا امروزه استفاده از نوکلیک اسید وتوالی پروتئین به خاطر وجودشان در اشکال مختلـف حیـاتی بیشـتر رایـج است. ولی به هر حال زمانی که از داده های این توالی ها می خواهیم به استنباط فیلوژنی بپـردازیم بایسـتی دانست که میزان موتاسیون ممکن است ثابت باشد و از این رو توالیها ممکن است در معرض تغییرات ناشی از انتخاب قرار گیرند. یک درخت فیلوژنیک نموداری است که از یکسری گره ها و شاخه ها تشـکیل شـده است. از اتصال دو شاخه یک گره حاصل می شود. گره ها حاکی از وجود واحـدهای تاکسـونومیک اسـت. واحدهای تاکسونومیک به گره هایی که می تواند یک گونه یا جمعیت یا یـک فـرد وحتـی یـک ژن باشـد منتهی گردند. شاخه ها تعیین کننده ارتباط واحدهای تاکسونومیک به بیـان دیگـر نژادهـا وجدشـان اسـت . معمولاً برای نشان دادن میزان انشقاق گروهها، طول شاخه هایی که آنها را با هم متصل می کنند مورد قیاس قرار می گیرد. عموما دو نوع درخت فیلوژنیک به کار می رود . درختان بی ریشه تنها فواصل بین واحدها را بدون اینکه کدامیک جد دیگری است ارایه می دهد. در حـالی کـه درختـان ریشـه دار تصـویری از ترتیـب موقتی گونه ها را بر روی یک درخت ارایه می دهد.



شکل شماتیک روابط فیلوژنی در جانداران

روشهای حفظ تنوع ژنتیکی

تنوع ژنتیکی بوسیله انقراض جمعیتها و فقدان تنوع در درون جمعیتهای محدود از بین می رود نسبت مورد انتظار تنوع ژنتیکی (هتروزایگوسیتی یا Ht) که در داخل یک جمعیت پس از t نسل باقی می ماند را می توان از معادله زیر بدست آورد .

$$Ht=Ho\{1-1/(2Ne/N)\}^t$$

که در آن : Ho ، هتروزایگوسیتی اولیه ، N اندازه جمعیت ، Ne اندازه موثر جمعیت t : تعداد نسل که در نتیجه حفظ هتروزایگوسیتی از طریق زیر حداکثر می گردد .

۱- حداکثر نمودن هتروزایگوسیتی اولیه : حداکثر نمودن هتروزایگوسیتی اولیه از طریق تشکیل جمعیتها با تعداد بالا بدست آید بایستی تا حد امکان جمعیتهایی که سطوح بالائی از تنوع را دارند انتخاب شوند.

۲- حداقل نمودن تعداد نسل : تعداد نسل را می توان از طریق افزایش فاصله نسل یا از طریق استفاده از انجماد اسپرم حداقل نمود . فناوریهایی ازقبیل انجماد اسپرم و جنین، فرصتهایی را برای حداقل کردن کاهش ژنتیکی فراهم می کند .

۳- حداکثر نمودن اندازه جمعیت

۴- حداکثر نمودن نسبت Ne/N (اندازه موثر جمعیت به اندازه جمعیت)

اندازه موثر جمعیت نه تنها به اندازه سرشماری شده بلکه به تنوع اندازه خانواده ، نابرابری نسبت جنسی و نوسانات تعداد در طی نسلها بستگی دارد و یکسان سازی اندازه خانواده Equalization of family (size) باعث افزایش موثر جمعیت خواهد شد.

روشهای تعیین تنوع ژنتیکی

تعیین تنوع ژنتیکی گونه ها به منظور اهداف پایه ای (فهم مکانیسم های دخیل در سازش و تکامل گونه ها و مطالعات سیستماتیک) و اهداف کاربردی (مدیریت منابع ژنتیکی گونه ها) انجام می گیرد. در حالت عادی نمی توان تنوع ژنتیکی یک گونه را بطور مستقیم از داده های فنوتیپی بدست آورد زیرا تأثیر عوامل محیطی مانع تفسیر صحیح و دقیق آنها می شود. بنابراین به روشهای علمی که بر پایه طرحهای آزمایشگاهی باشند نیاز است. روشهای متداول در بررسی تنوع ژنتیکی شامل آنالیز صفات کمی ، کروموزومی و ملکولی می باشند.

۱- صفات کمی (Quantitive characters) و مورفولوژیکی

در غالب موارد صفات کمی، صفاتی هستند که تنوع و گوناگونی پیوسته (مثل اندازه) یا طیف وسیعی از مقادیر مجزا را نشان می دهند. کنترل ژنتیکی صفات مورفولوژیکی نامشخص و گاهاً چند ژنی هستند. یکی از معایب مهم این نشانگرها عدم توانائی داده های مورفولوژیکی در برآورد فاصله ژنتیکی است. برآورد فاصله ژنتیکی در صورتی دقیق خواهد بود که اثر عوامل محیطی بر روی آنها حداقل باشد. صفات مورفولوژیکی به شدت به تغییرات محیطی حساسند. آنالیز صفات کمی بر اساس مدل زیر استوار است:

اثرات محیطی + ژنوتیپ = فنوتیپ

اگر چه صفات ظاهری بطور سنتی در علوم زیستی مورد استفاده قرار گرفته اند ولی دارای محدودیت های اساسی هستند. محدودیت هائی شامل تعداد کم صفات ظاهری، دقت کم، تأثیر پذیری شدید از محیط و مراحل رشد و بلوغ، جنسیت، سن، وجود غالبیت در بروز، نامشخص بودن اساس ژنتیکی، مشکل بودن تفسیر بسیاری از این نشانگر ها و عدم تفکیک افراد خالص از ناخالص می باشند.

۲- تنوع سیتوژنتیکی یا کرموزومی (Chromosomal variation)

تهیه کارت کروموزومی برای موجود است که تعداد و نوع کروموزوم ها را روی یک صفحه نمایش می دهد. در این امر کروموزوم ها براساس اندازه طول بازوها ، محل سانترومرها و شکل کروموزم از بزرگترین کروموزوم به کوچکترین آنها نمایش داده می شوند

روشهای کاریوتایپی برای تعیین تنوع در تعداد و تنوع ساختمانی کروموزوم ها مورد استفاده قرار می گیرند. تنوع درون و بین جمعیتی در تعداد کروموزومها در بعضی آزاد ماهیان مشاهده شده که این تنوع حاصل الحاق سانترومر (Center fusions) است. اجزای کروموزوم ها بر روی هر یک از طرفین سانترومر را اصطلاحا بازوی کروموزوم chromosomal arm که اصطلاحا namber of fundamental NF نامیده می شود.در این زمینه بیشترین مطالعات انجام در آزاد ماهیان صورت گرفته است.

تنوع ساختمانی: محل قرار گرفتن سانترومرها مثل تلوسانتریک ها، متاسانتریک و...، ایزوکروموزوم ها، جابه جایی کروموزومی ، الگوهای نواری از این گروه از نشانگرها می باشند که نماینگر تنوع و اختلاف در ساختمان کروموزوم ها هستند.

کروموزوم ها در مرحله متافاز تقسیم سلولی به علت حداکثر فشردگی بطور واضح در خط استوای سلول دیده می شوند و این همان مرحله ای است که مطالعات کاریو لوژیک به آن وابسته است. به علاوه طول کروموزوم ها ، منطقه سانترومر در آنها به خوبی قابل تشخیص است . همچنین به راحتی قابل پخش شدن روی لام و تهیه گسترش کروموزومی می باشد در نتیجه امکان شمارش و طبقه بندی آنها فراهم است . در این مرحله شکل و سایز و تعداد کروموزومها می تواند تعیین کننده گونه های موجودات باشد.

-

بدون الگوهای نواری تشخیص مشابهت های کروموزومی می تواند فقط بر اساس اندازه کروموزوم ها و موقعیت سانترومرها، محل تراکم ثانویه مشخص گردد. با به کار بردن تکنیک باندینگ، کروموزوم ها به صورت نوارهای تاریک و روشن دیده می شوند که مقایسه تشابه آنها ساده تر می گردد .روشهای Bonding ، الگوهای نوار بندی بطور مؤثر در ماهیان کار نشده است. مطالعات تنوع سیتوژنتیکی ودر آبزیان بیشتر برای درک مفاهیم تکاملی وفیلوژنتیکی استفاده می گردد. تکوین تعداد کروموزوم ها درسخت پوستان، نرمتنان، Chordata, Annelida, Platyhelminthis تا کنون مطالعه شده است. مطالعات مورفولوژی کروموزومی در Gastropoda, Bivalvia, Carciformes انجام شده است. NOR- باندینگ در Ciprinidae ، C -باندینگ در Belnnida ،باندینگ با آنزیم های برشگر در Salmonidae انجام شده است(Beaumont, 1994).

کاریوگرام: اگر کروموزومهای حقیقی بر اساس عدد دیپلوئید نشان داده شوند تصویرهای حاصل کاریو گرام نامیده می شود.

اهمیت تهیه کاریو تایپ ماهیان

-دستکاریهای کروموزومی شامل ماده زایی – دو رگه کیوی – تولید تریپلوئیدی و....

– بررسی های تاکسونومیک : ماهیانی که دارای شباهت مرفولوژیک هستند ممکن است از نظر تعداد و انواع کروموزوم ها با یکدیگر تفاوت داشته باشند.

– اصلاح نژاد

– ناهنجاریهای کروموزومی ناشی از آلودگیهای محیط زیست که بعضاً می توانند از نسلی به نسل بعد به ارث برسند.

– از حدود ۲۰۰۰۰ گونه ماهی که تا کنون شناخته شده است فقط تعداد کروموزومهای ۷۰۰ تا ۷۵۰ گونه ماهی تعیین شده است (Gold & power,1990).

روش های تهیه گسترش های کروموزومی

الف) روش غیر مستقیم

(کشت گلبولهای سفید خون) از زمانی که نوول در سال ۱۹۶۰ کشف کرد که ماده موکو پروتئین گیاهی فیتو هما گلوتی نین (phytohaemagglutinin) یا (PHA) در کشت های لنفوسیتی باعث وقوع میتوز در سلولها می شود کشت بافت خونی در تعدادی از گونه ها برای مطالعات کروموزومی مورد استفاده قرار گرفت. روشهای کشت گلبولهای سفید خون برای ماهی قزل آلا ی رنگین کمان توسط (Heckman,1971) (Grammelt vedt.1974)و توگارد در سال ۱۹۷۶ گزارش گردیده است. از سرم جنین گوساله (Fcs) ،(fetal calf serum) نیز می توان به عنوان میتوژن (محرک میتوز) می توان استفاده کرد.

کشت بافت خونی روش بسیار خوبی برای دستیابی به کروموزوم ها و دسته بندی (banding) آنها در ماهیان می باشد و ضمنا در این روش به خود ماهی آسیبی وارد نمی شود .

به طور خلاصه روش کشت گلبولهای سفید خون شامل مراحل زیر است:

۱-ابتدا از ماهی مورد نظر مقداری خون (در حدود ۲cc) تهیه نموده و آن را در لوله حاوی هپارین می ریزیم

۲-سپس نمونه خونی را سانتریفوژ نموده تا گلبولهای سفید و پلاسما ی خون از یکدیگر جدا شوند.

۳-سانترفیوژ مجدد- حدود ۱cc پلاسمای غنی از لکوسیت را به دست می آوریم .

۴-سپس پلاسمای مذکور را در محیط کشت های حاوی سرم جنین گوساله ، فیتوهما گلو تی نین و آنتی بیوتیک در دمای $۲۰c^0$ انکو باسیون می گردد.

۵-پس از ۵ روز به محیط کشت ، کلشی سین (colchicine) اضافه می گردد که نقش کلشی سین ممانعت از تشکیل دوک تقسیم می باشد.

۶-سانتریفوژ

۷-هیپوتونیزاسیون سلول ها توسط محلول (کلرید پتاسیم -سیترات سدیم – آب مقطر و...)

۸-سانتریفوژ

۹-اضافه کردن محلول سرد تثبیت کننده کارنوی (carnoy fixative) شامل (متانول و اسید استیک به نسبت ۳ به ۱)

۱۰-سانتریفوژ

۱۱-در نهایت حدود ۰/۵cc سوسپانسیون سلولی را جدا نموده و دو قطره آن را روی یک لام تمیز از فاصله ۵۰ تا ۷۰ سانتی متری می چکانیم و لامهای تهیه شده در دمای آزمایشگاه خشک می شوند.

۱۲- لامها به وسیله گیمسای ۵ درصد رنگ آمیزی می شوند و بعد از خشک شدن لامها آنها را مورد مطالعه میکروسکوپی قرار داده و از گسترش های مناسب به وسیله یک دستگاه میکروسکوپ دوربین دار عکس هایی تهیه می شود . بهترین عکس ها برای تهیه کاریو تایپ مورد استفاده قرار می گیرد.

ب) – روش مستقیم

۱- تهیه گسترش های کروموزومی در مرحله (alevin) جذب کیسه زرده در مرحله جنینی تخم ها

تهیه گسترش های کروموزومی در مرحله لاروی ماهیان ، امکان دستیابی به کروموزوم های متافازی را افزایش داده و اصولا به دلیل سرعت رشد و تقسیم سلولس در این مرحله ، اندیس متافازی در گسترش ها بالاتر خواهد بود.

- خلاصه روش تهیه گسترش های کروموزومی در مرحله لاروی به شرح زیر می باشد

۱- ابتدا لارو ها را در محلول کلشی سین غوطه ور می گردند.

۲-لاروها را خرد و قطعه قطعه می کنند

۳- در محلول هیپوتونیک (کلرید پتاسیم سیترات سدیم ...) قرار می دهند.

۴ – سانتریفوژ

۵- در محلول کارنوی تثبیت می کنند

۶- به مدت نیم ساعت نمونه ها را در یخچال قرار می دهند.

۷- از سوسپانسیونی که بدین طریق به دست آمده است یک یا چند قطره بر روی یک لام سرد (cold slide) می چکانند

۸- پس از خشک شدن لامها با معرف گیمسا رنگ آمیزی می کنند و پس از خشک شدن نهایی لامها می توان کروموزوم های متافازی را توسط میکروسکوپ مشاهده کرد.

تهیه گسترش های کروموزومی در مرحله جنینی عیناً مانند مرحله لاروی است با این تفاوت که تخم ها حاوی جنین را بعد از قرار دادن در محلول کلشی سین به محلول نمک ۰/۸ در صد منتقل ساخته تا جنین ها از پوسته تخم جدا شوند.

۲-تهیه گسترش های کروموزومی در مرحله انگشت قدی و پس از آن

که به اختصار شامل مراحل زیر است.

الف) invivo treatment این مرحله عموماً شامل تزریق یک ماده شیمیایی متوقف کننده میتوز مثل کلشی سین به داخل بدن ماهی می باشد . ورود این ماده در بدن ماهیان و مجاورت آنها با سلولهای بدن تقسیمات میتوزی را در مرحله متافازی تثبیت می کند. که قبل از تزریق ماهیان را توسط محلول MS222 بیهوش می کنند.

ب) برداشت سلول یا بافت: که برای این منظور از بافت اندام های مختلف بدن ماهی شامل کلیه – طحال – کبد- قلب- بیضه (در هنگام اسپر ماتوژنز) ، اپی تلیال آبششها ، فلسها، قرنیه ماهیان کوچک حتی مایع حفره شکمی استفاده می شود . اما از آنجا که بافت خونساز غالب ماهیان در کلیه آنها قرار داشته و شامل سلولهای خونی فراوان در حال تقسیم می باشد بهتر است از این بافت و ترجیحا از بخش قدامی کلیه نمونه برداری کرد.

پ) هیپوتونیزه کردن : این امر بدین خاطر است که اصولا در محلول هیپوتونیک غلظت بافت کمتر بوده و بنابراین بافت می ترکد و محتویات بافت وارد محلول می شود در این حالت کروموزوم های متافازی از درون سلول قابل دسترسی می گردند . از kcl ، سیترات سدیم و آب مقطر استفاده می شود .

ت) تثبیت کردن نمونه ها : که از محلول تثبیت کننده کارنوی استفاده می شود.

ث) تهیه گسترش های کروموزومی: تمیز بودن لامها تأثیر مهمی بر کیفیت گسترش کروموزومی تهیه شده خواهد داشت . برای این منظور لامها را در آب جوش محتوی مواد پاک کننده جوشانده پس از شست شو با آب مقطر آنها را خشک و توسط پارچه آغشته به اتانول کاملا تمیز می کنند . گسترش ها بر روی لام سرد یا گرم تهیه می شوند . برای تهیه لام سرد می توان آن را درون فریزر قرار داد و برای تهیه لام گرم نیز بوسیله لام گرم کن می توان تهیه کرد . چند قطره از سوسپانسیون سلولی را از فاصله (60cm-100cm) روی چند لام تمیز می چکانیم و این گسترش ها را در هوای آزاد خشک می کنیم.

ج) رنگ آمیزی گستر شها : بوسیله گیمسای ۵ درصد یا ۱۰ درصد می باشد پس از رنگ آمیزی گسترش ها در هوای آزاد خشک می گردند.

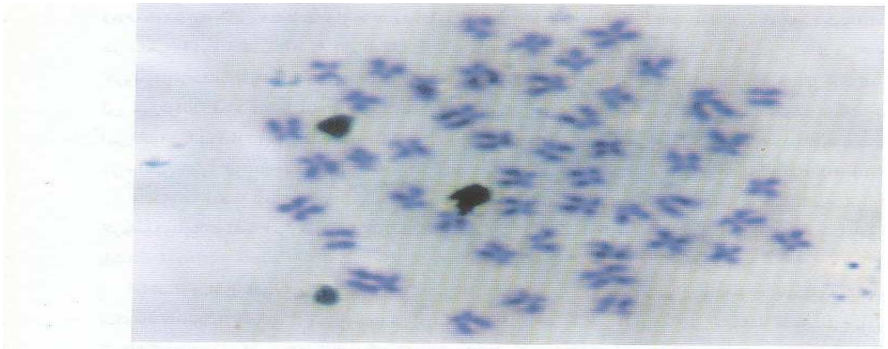
چ) بررسی و تجزیه و تحلیل کروموزوم ها : گسترش ها را با استفاده از یک فتو میکروسکوپ با درشت نمایی ۱۰۰۰× کروموزوم ها را جستجو و بررسی نموده معمولا بر روی هر گسترش ممکن است چند متافاز کروموزومی دیده شود که از بهترین آنها ممکن است عکس گرفته شود.

کاربوتایپ انواع ماهیان :

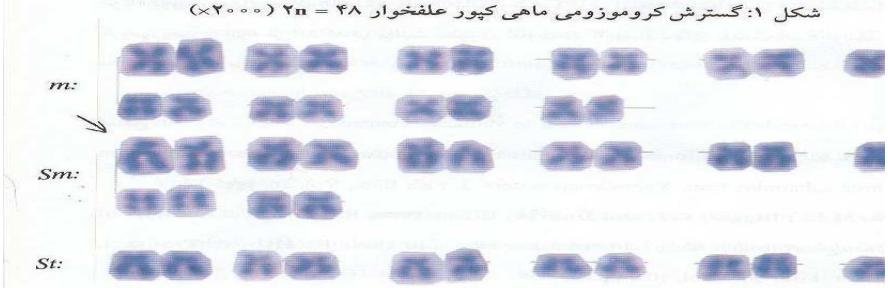
۱-کاریوتایپ ماهی کپور علفخوار (آمور) با استفاده از روش کشت گلبولهای سفید خون توسط (فشخامی و همکاران ،۱۳۸۱) تعیین شد . برای تعیین تعداد کروموزوم ها ، ۴۷ پلاک متافازی به دست آمده از ۳ عدد ماهی آمور مورد آزمایش بررسی شد و تعداد کروموزوم ها در هر یک از پلاک های متافازی شمارش گردید.

تعداد کروموزوم های ماهی آمور با توجه به جدول و با استفاده از فرمول محاسبه میانگین $2n=48$ تعیین گردید. در کاریو تایپ تهیه شده ای از این ماهی $(10m+8sm+6st)$ وجود دارد). با توجه به کاریو تایپ تهیه شده تعداد بازوهای کروموزومی $NF=84$ تعین گردید و بزرگترین کروموزوم در کاریوتایپ تهیه شده از این ماهی یک جفت کروموزوم ساب متاسنتریک می باشد(که با فلش در شکل ۲ مشخص شده است).

تعداد کروموزوم ها در هر پلاک متافازی	۴۸	۴۷	۴۶	۴۵
تعداد پلاک های متافازی	۳۹	۴	۳	۱



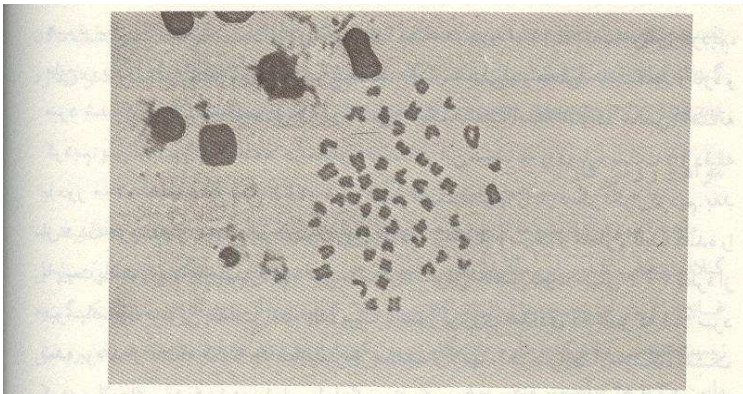
شکل ۱: گسترش کروموزومی ماهی کپور علفخوار ۲n = ۴۸ (×۲۰۰۰)



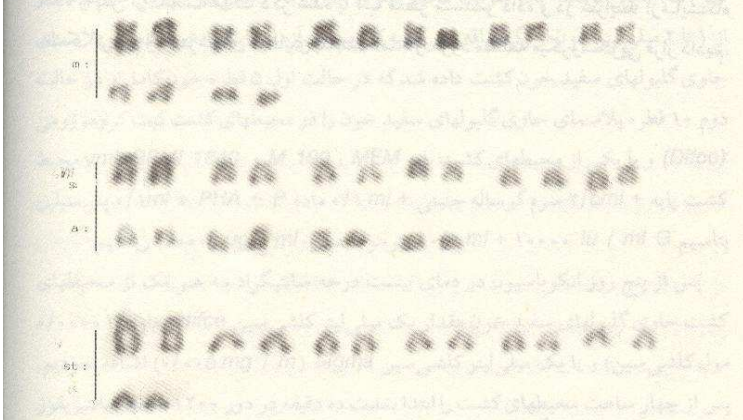
شکل ۲: کاریوتایپ ماهی کپور علفخوار

۲- با استفاده از روش کشت گلبولهای سفید خون کاریو تایپ ماهی سفید*Rutilus frissi kutum* *توسط* (فشخامی، همکاران ۱۳۷۴) تعیین شد که با بررسی پنجاه پلاک متافازی ماهی سفید نتایج زیر را به دنبال داشت که تعداد کروموزوم ها در ماهیان سفید مورد مطالعه NF=86,2n=50 می باشد. در کاریو تایپ تهیه شده از این ماهی ها (8m+10sm+7st) وجود داشت و بزرگترین کروموزوم در زیر گونه مورد بررسی یک جفت کروموزوم ساب تلوسنتریک بود.

تعداد کروموزوم های هر پلاک متافازی	۵۰	۴۹	۴۷	۴۶	۴۵
تعداد پلاک های متافازی	۳۹	۵	۲	۳	۱



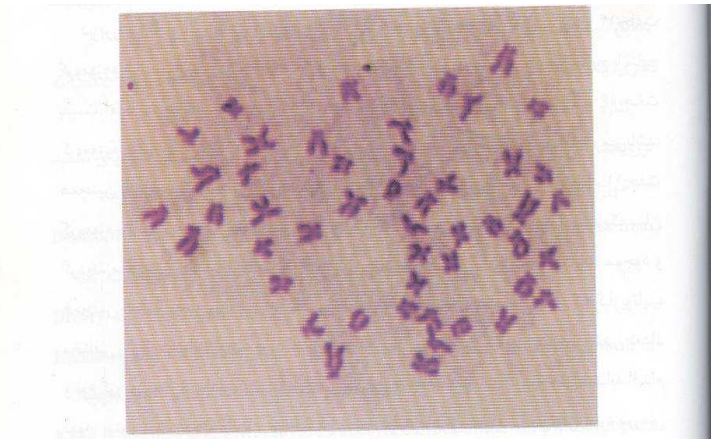
شکل شماره ۱ : گسترش کروموزومی ماهی سفید *Rutilus frisii kutum*



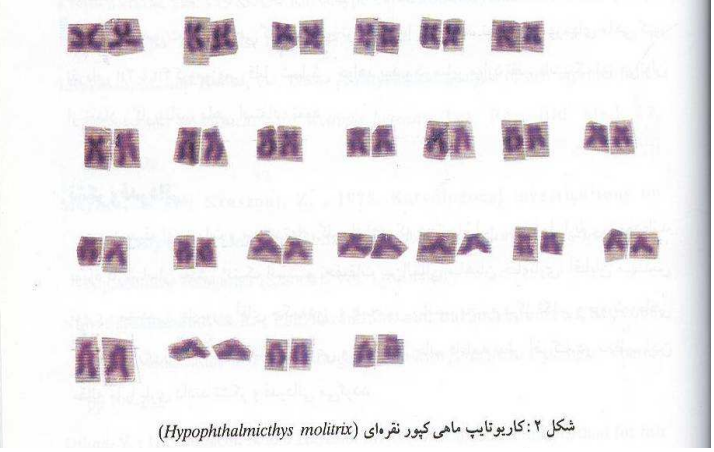
شکل شماره ۲ : کاریوتیپ *Rutilus frisii kutum*

۳-با استفاده از روش له کردن بافت و رنگ آمیزی گیمسا (نمونه از بافت هـای کلیـوی و جنینـی) کـاریو تایپ ماهی کپور نقره ای (فیتو فاگ) توسط (وارسته و همکاران،۱۳۸۰) تعیین شد . در آزمایشاتی کـه روی ۸۰ عدد لارو و ۱۰ عدد بچه ماهی ۱ تا ۸ گرمی فیتوفاگ و با شمارش تعداد ۳۰ عدد گسترش کرومـوزومی انجام گرفت که تعداد کروموزوم های ماهی کپور نقره ای $2n=48$ و تعداد بازوهای کروموزومی $NF=88$ تعیین گردید. در بررسی کاریوتایپ تهیه شده از این ماهی $(6m+14sm+4a)$ وجود داشت.

تعداد کروموزوم در پلاک متا فازی	۴۸	۴۷	۴۹	۵۰	۴۶
تعداد پلاک متافازی	۲۱	۴	۳	۱	۱



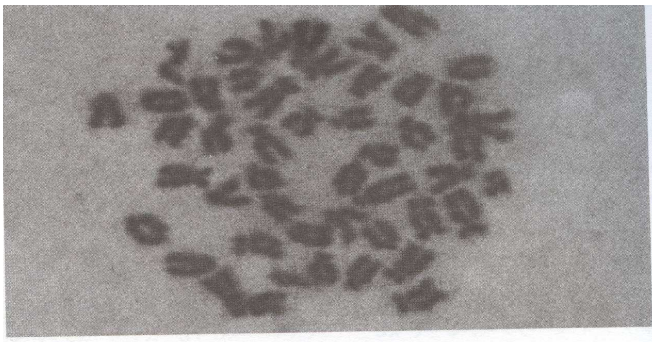
شکل ۱ : گسترش کروموزومی ماهی‌کپور نقره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix*)

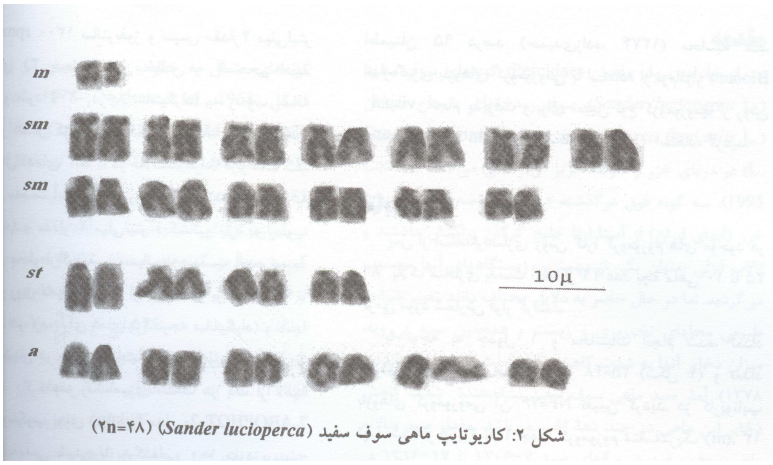


شکل ۲ : کاریوتایپ ماهی کپور نقره‌ای (*Hypophthalmicthys molitrix*)

۴-با استفاده از این روش له کردن بافت کاریو تایپ ماهی سوف سفید حوضه جنوبی دریای خزر (*Sander lucioperca*)توسط (میری و همکاران ، ۱۳۸۴) تعیین شد و در آزمایشاتی که روی ۲۹ عدد بچه ماهی سوف ۱۰ تا ۲۵ گرمی انجام شده و با شمارش تعداد ۸۱ پلاک متافازی بدست آمده با توجه به جدول ۴ و محاسبات انجام شده : تعداد کروموزوم های ماهی سوف سفید 2n=48 و تعداد بازو های کروموزومی آن NF=76 تعیین گردید. در کاریو تایپ تهیه شده از این گونه (1m+13sm+4st+6t) وجود داشت.

تعداد کروموزوم ها در پلاک متافازی	۴۸	۴۷	۴۶	۴۴
تعداد پلاک متافازی	۶۸	۷	۴	۲

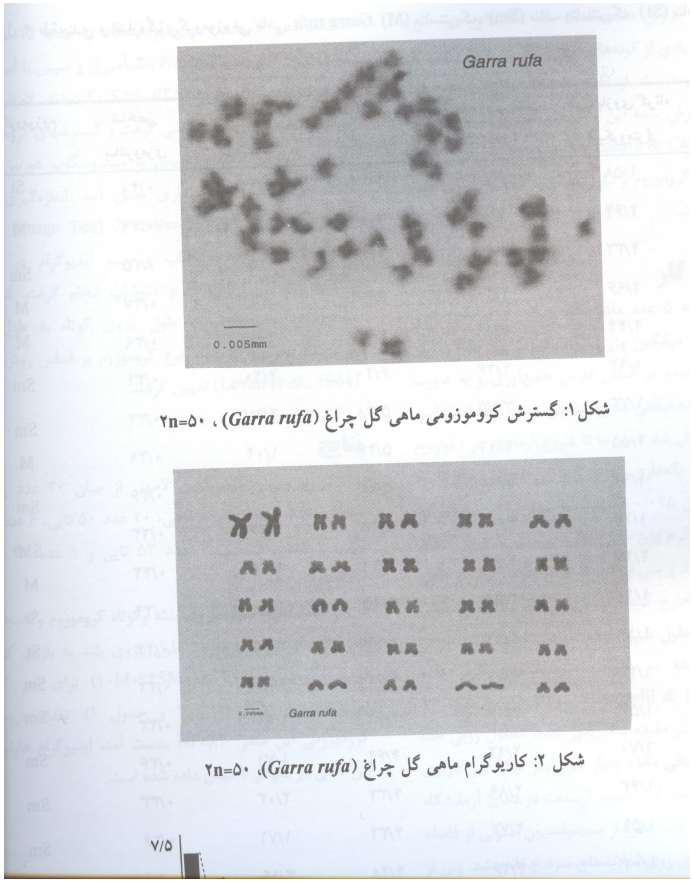




شکل ۲: کاریوتایپ ماهی سوف سفید (*Sander lucioperca*) (۲n=۴۸)

۵- با این روش له کردن بافت کاریو تایپ ماهی گل چراغ(heckel,1843) *Garaa rufa* توسط (اسماعیل و پیرآور۱۳۸۶) تعیین شد. در آزمایشاتی که روی ۵ عدد ماهی گل چراغ با میانگین وزن ۱/۳۹ گرم که از رودخانه رود بال فیروز آباد در استان فارس صید شده بود در بررسی ۳۰ عدد پلاک متافازی شمارش شده ، تعداد کروموزوم ها ی ماهی گل چراغ 2n=50 و تعداد بازوهای کروموزومی NF=84 تعیین گردید.در بررسی کاریو تایپ ماهی گل چراغ (5m+12sm+8st) وجود داشت.

تعداد کروموزوم ها در پلاک متافازی	۵۰	۴۹	۴۷	۵۲	۴۸
تعداد پلاک متافازی	۲۰	۶	۲	۱	۱



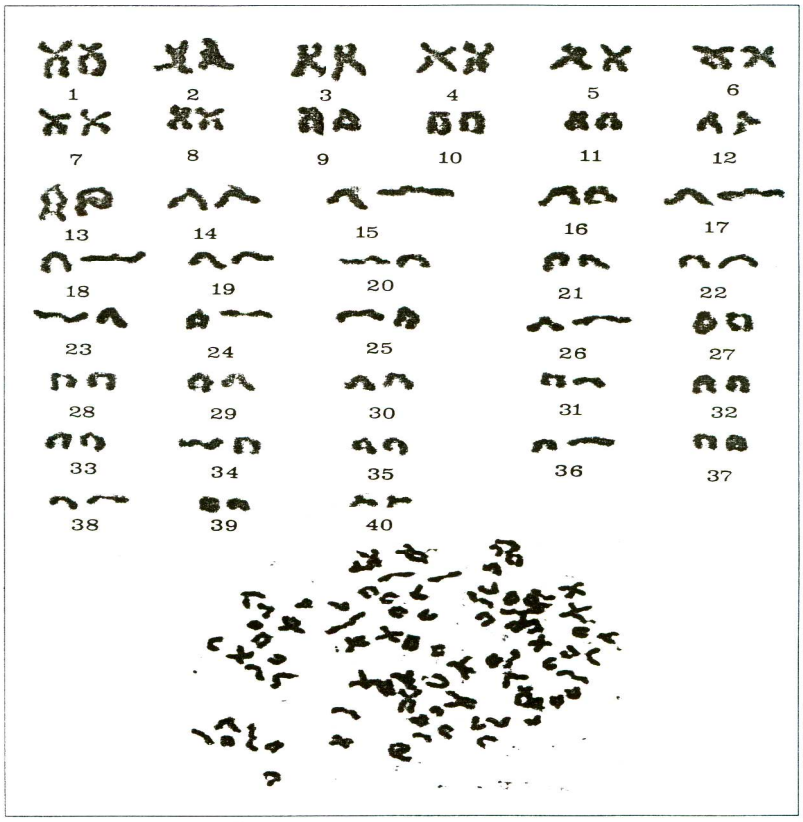
شکل۱: گسترش کروموزومی ماهی گل چراغ (*Garra rufa*) ، ۲n=۵۰

شکل ۲: کاریوگرام ماهی گل چراغ (*Garra rufa*)، ۲n=۵۰

۶- با استفاده از روش له کردن بافت کاریو تایپ ماهی آزاد دریای خزر ***salmo trutta caspius kessler***, توسط (توکلیان،۱۳۸۰) تعیین شد با توجه به آزمایشاتی که روی جنین لارو، بچه ماهی انگشت قد و ماهی یک ساله صورت گرفت ۶۰ پلاک متافازی حاصل از مراحل مختلف تکاملی بررسی شد که نتایج در جدول زیر آمده است. متوسط عدد کروموزومی این ماهی 2n=80 در نظر گرفته شد و تعداد بازو های کروموزومی NF=104 به دست آمد. در بررسی کاریو تایپ تهیه شده از آن (3m+9sm+28st) وجود داشت.

تعداد کروموزوم در پلاک متافازی	کمتر از ۴۰ عدد	۷۶ کروموزوم	۸۰
تعداد پلاک متا فازی	۱۵	۹	۳۶

٤ -٧- کاریوگرام دیپلویید ماهی آزاد دریای خزر 2n=80



نصویر ٤-٣ - پلاک متافازی و کاریوگرام 2n = 80 ماهی آزاد دریای خزر

۷- با استفاده از روش له کردن بافت و رنگ آمیزی گیمسا کاریو تایپ ماهی قزل آلای رنگین کمان توسط (کلباسی و خضاب، ۱۳۷۹) با استفاده از جنین لارو fry قزل آلای رنگین کمان تعیین شد . که تعداد کروموزوم های این ماهی 2n=60,NF=104 تعیین شد و با بررسی کاریو تایپ کروموزوم های حدواسط بین (22m-sm+8st-t) وجود داشت.

۸- با استفاده از روش کشت گلبولهای سفید خون کاریو تایپ فیل *ماهی Huso huso*. ماهی اوزون برون A.*STELLATUS* وقروبرون A.*PERSICUS* متعلق به حوضه جنوبی در یای خزر تعیین شد (توسط فشخامی، همکاران ۱۳۷۴). این آزمایش بر روی ماهیان بزرگ صید شده توسط صید گاههای بزرگ منطقه غرب گیلان و ماهیان کوچک پرورش یافته انجام گرفت. برای گونه فیل ماهی در پنجاه پلاک متافازی خوب پخش شده توزیعی وجود داشت. تعداد کروموزوم ها در این گونه با توجه به جدول $2n = 1\ 7 \pm$ 115 محاسبه گردید و تعداد بازو های کروموزومی برای کاریو تایپ تهیه شده با 2n=116 برابر با NF=356 تعیین گردید.

تعداد کروموزوم در پلاک متافازی	۱۰۵	۱۱۰	۱۱۲	۱۱۴	۱۱۵	۱۱۶	۱۱۷	۱۱۸
تعداد پلاک های متافازی	۱	۴	۸	۱۴	۱	۱۰	۱	۱۱

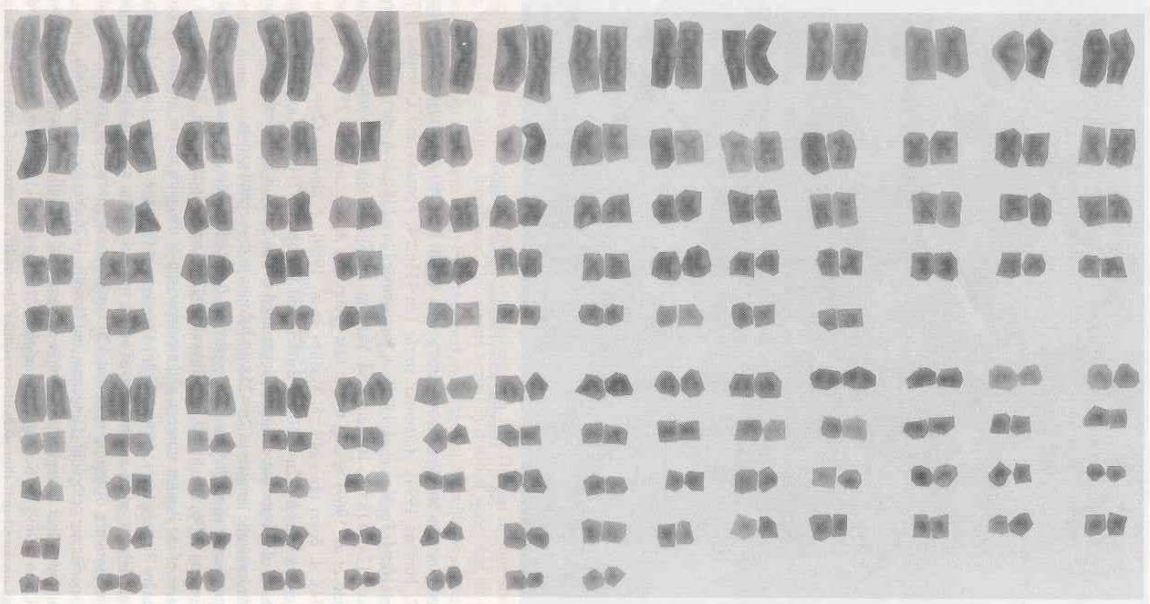


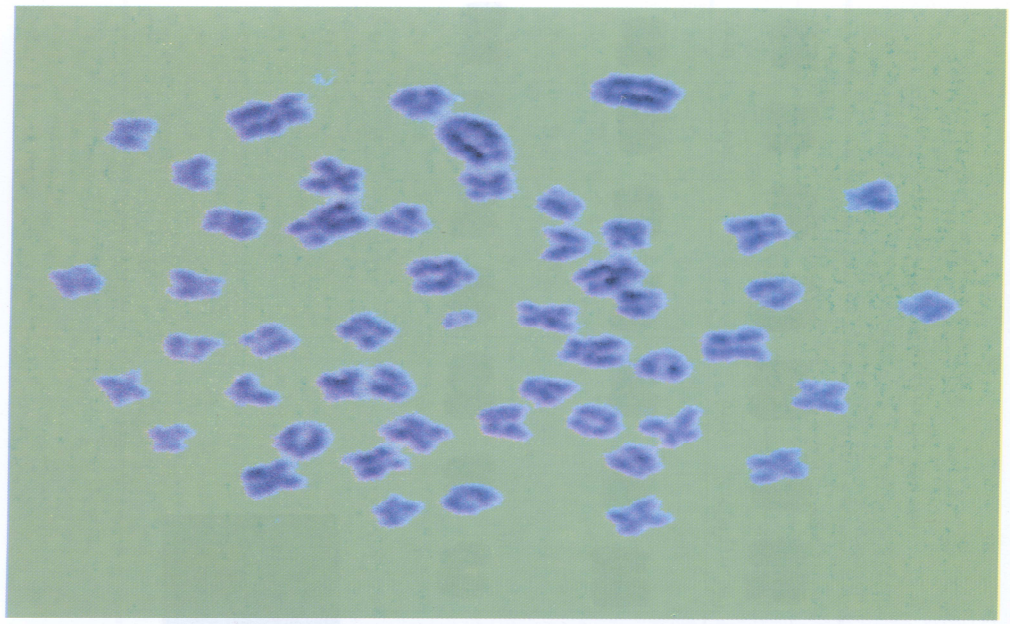
Fig. 2. Karyotype of *Acipenser persicus* (2n=262). The meta- and submetacentric chromosomes were aligned in order of declining size, followed by the acrocentrics and microchromosomes (×2000).

در مورد گونه A.Stellatus (اوزون برون) در پنجاه پلاک متافازی خوب پخش شده توزیعی مطابق جدول ۸ بدست آمد. تعداد کرو موزوم ها در این گونه $2n=114 \pm 1$ محاسبه گردید . تعداد بازو های کروموزومی برای کاریو تایپ های تهیه شده با $2n=118$ برابر با $NF=372$ تعیین گردید و در مورد گونه قره برون $2n=262$ تعیین گردید.

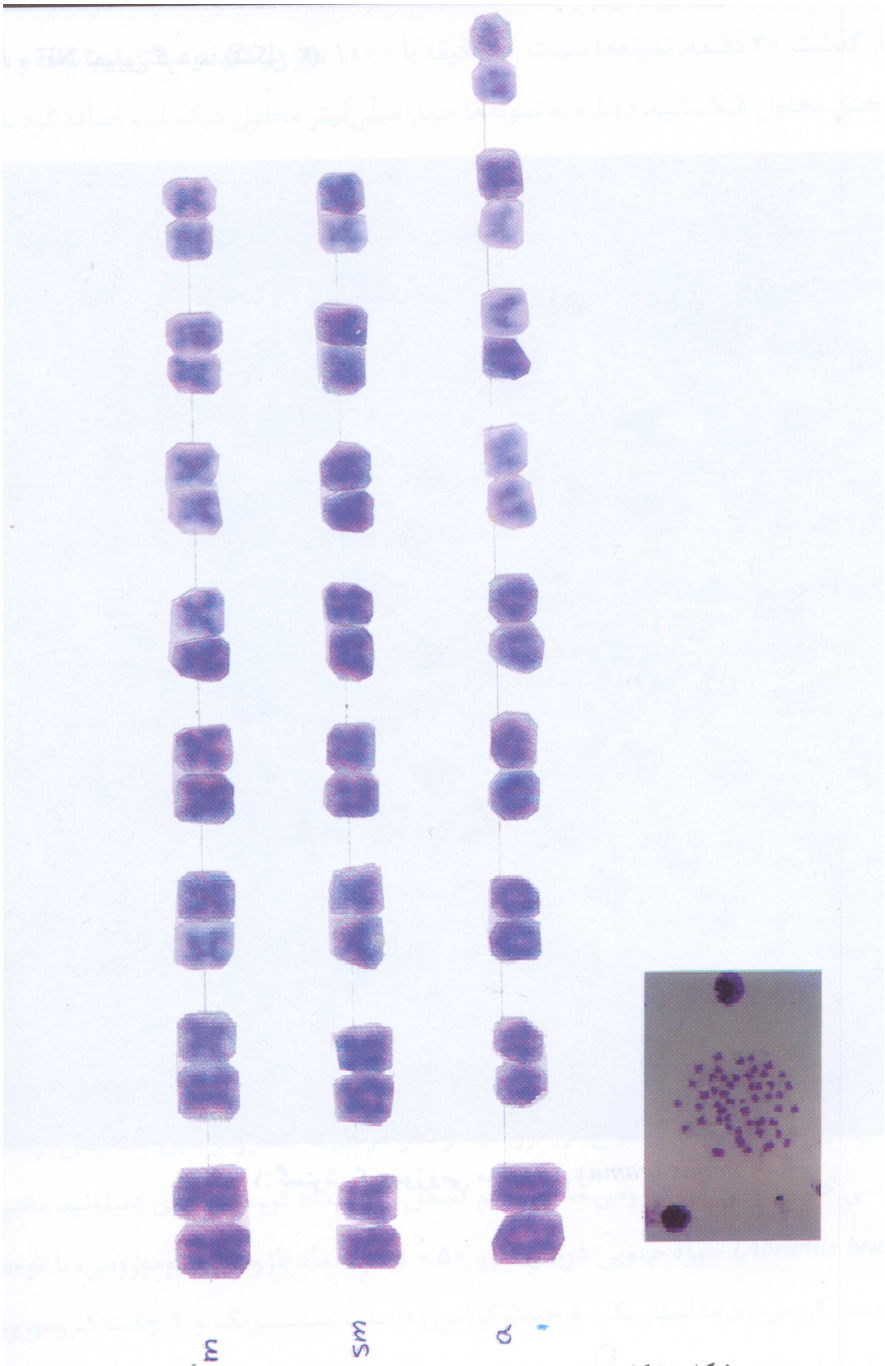
تعداد کرو موزوم ها در پلاک متافازی	۱۰۷	۱۱۰	۱۱۲	۱۱۴	۱۱۶	۱۱۷	۱۱۸
تعداد پلاک های متافازی	۱	۸	۱۰	۱۲	۱۳	۱	۵

مشکل در مورد مطالعات کروموزومی ماهیان خاویاری وجود تعداد زیادی کروموزوم ریز تحت عنوان میکرو کروموزوم می باشد که امکان دقیق تعداد کرو موزومها و بازو های کرو موزومی ، همچنین نوع کروموزومهای آنها را مشکل نموده است.

۹- با استفاده از روش له کردن بافت های قسمت قدامی کلیه و آبشش کاریو تایپ ماهی سیم *Abramis brama* حوضه جنوبی دریای خزر توسط (نهاوندی و همکاران ۱۳۸۰) تعیین شد. با بررسی کروموزومهای پلاک های متا فازی عدد کروموزومی این ماهی 2n=50 و تعداد بازو های کروموزومی NF=82 تعیین گردید . در کاریو تایپ تهیه شده از این ماهی (8m+8sm+9a) وجود داشت.



شکل ۱: گسترش کروموزومی ماهی سیم (*Abramis brama*)



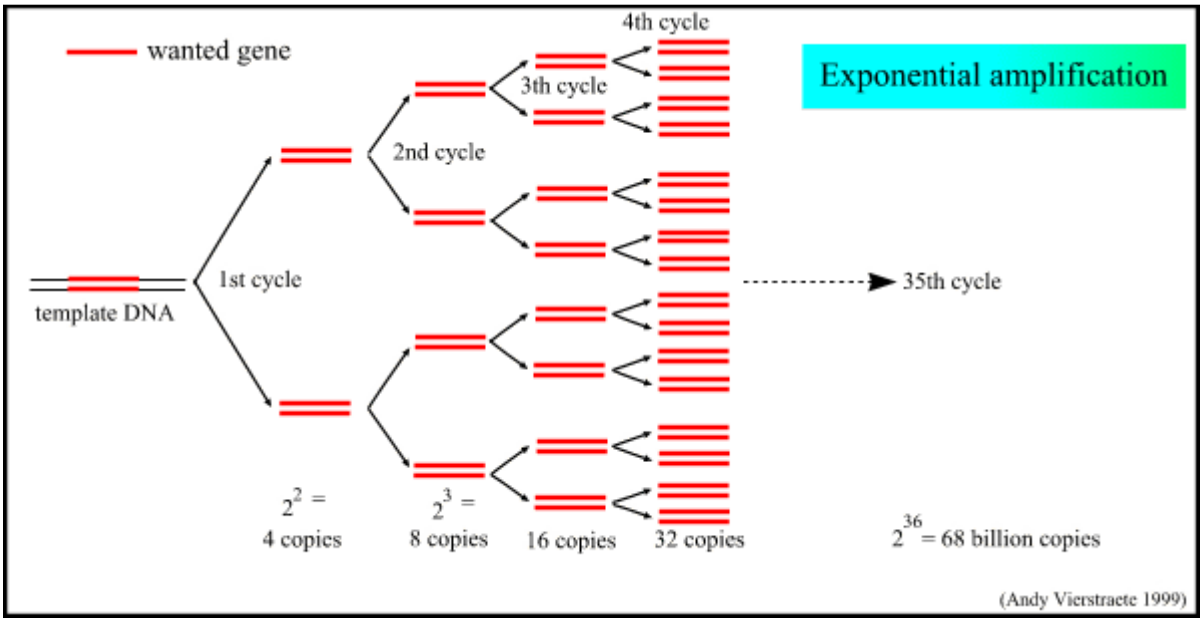
شکل ۲: کاریوتایپ ماهی سیم (*Abramis brama*)

واکنش های زنجیره ای پلیمراز: (PCR):

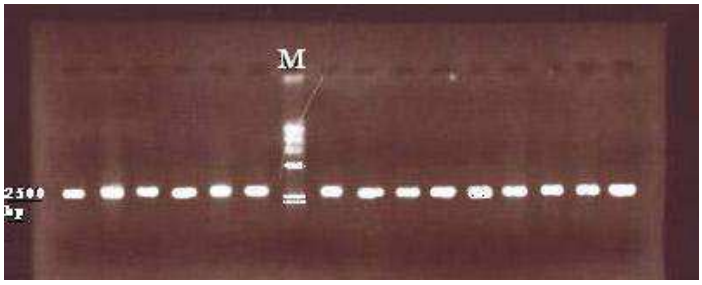
واکنش زنجیره ای پلیمراز، یک تکنیک آزمایشگاهی است که امکان تکثیر قطعه خاصی از DNA کـه بـین دو توالی شناخته شده وجود دارد را امکان پذیر می سازد . تکثیر DNA پس از چسبیدن آغاز گر بـه انتهـای توالی مشخص از DNA الگوصورت می گیرد.

اززمان ابداع این تکنیک در سال۱۹۸۲ توسط کـری مـولیس ، بسـیاری از روشـهای ژنتیـک مولکـولی توسعه یافته اند که برخی از آنها امکان تعیین پلی مورفیسم DNA را فراهم می نمایـد . تکثیـر DNA بـا استفاده ازتکنیک PCR امکان آزمون تغییرات ژنتیکی در جمعیتهای ماهی در طول صد سال یا بیشـتر را بـا استفاده از نمونه های موجود در آزمایشگاه فراهم نموده و بنابراین حیاتی تازه به بسیاری از کلکسیون هـای فلس در آزمایشگاهها ی شیلاتی و نمونه های موزه ها در سراسر جهان داده اسـت(Ferguson, 1995) . تکثیر ژن از طریق PCR و در محیط خارج از سلول روشهای دست ورزی اسید نوکلئیـک ماننـد همسـانه سازی ، توالی یابی ، هیبریداسیون با کاوشگر ها را بسیار ساده می سازد . در این روش سـنتز رشـته مکمـل DNA با استفاده ازdNTP آغازگرها $Mgcl_2$ و با فر PCR و در حضور آنزیم پلـی مـراز صـورت مـی گیرد.

PCR شامل یک سری دوره های حرارتی است که هر دوره (سیکل) با یک مرحلـه واسرشـته سـازی (Denaturing)` در دمائی حدود ۹۲ تا ۹۶ درجه سانتیگراد آغاز می گردد تا DNA از حالت دو رشته ای به حالت تک رشته ای تبدیل گردد . پس از آن یک مرحله اتصـال (Annelling) در دمـای حـدود ۳۵ تـا ۶۵درجه سانتیگراد وجود دارد که طی آن آغاز گرها به توالی مکمل خـود روی رشـته DNA الگـو متصـل شده (انتهای هیدروکسیل/ 3 آنها رو به سوی ناحیه هدف قرار می گیرد)در مرحله سوم در دمای حـدود ۷۲ درجه سانتی گراد هـر آغـاز گـر در طـول ناحیـه هـدف از طریـق آنـزیم DNA پلیمـراز بسـط مـی یابـد (Extention) .دوره های متوالی سه مرحله ای واسرشـت شـدن DNA الگـو ، اتصـال آغـازگر و بسـط آغازگرهای اتصال یافته منجر به افزایش یک قطعه خاص DNA مـی شـود . محصـولات دوره اول ودوم طول مشخصی ندارند ولی در دور سوم قطعاتی ساخته میشوندکه دارای طول مشخصی هستند که این طـول بستگی به موقعیت اولیه آغازگر ها روی رشته DNA اصلی دارد . از دوره چهارم به بعد توالی هدف بطـور نمائی تکثیر می شود (Phillips and Vasil, 2001).



شکل شماتیک تکثیر یک قطعه از ژن با استفاده از PCR



محصول PCR تکثیر شده توسط پرایمرهای $ND\frac{5}{6}$ میتوکندریایی(ژل اگارز ۱/۵ درصد)

نشانگرهای ژنتیکی (Genetic Marker) :

هر فنو تیپ یا صفت (قابل توارث) موجود زنده که با صفت معادل خود درموجود زنـده دیگـر تفـاوت داشته باشد یک نشانگر محسوب می شود . نشانگرهای ژنتیکی جایگاههای خاص روی یک کروموزم دارند که به عنوان نشانه‌های اختصاصی برای تجزیه و تحلیلهای ژنومی به خدمت گرفته میشوند. در واقع تفـاوت موجود بین ردیف DNA کروموزوم در افراد یک جامعه ویا نژاد که از افراد به نتاج آنهـا منتقـل مـی گـردد می‌تواند به عنوان نشانه یا نشانگر ژنتیکی به کار گرفته شود . برای آنکه صفتی بعنوان نشانگر ژنتیکی استفاده

شود بایستی حداقل واجد دو ویژگی متفاوت بودن دربین دو فرد (بروز چند شکلی)، همچنین قابلیت توارث داشته باشد . نشانگرهای ژنتیکی به عنوان ابزاری برای تهیه نقشه ها ی پیوستگی مولکولی و ارزیابی جایگاههای ژنتیکی چند شکلی در صفات اقتصادی کمی کاربردهای بالقوه ای را در برنامه های اصلاحی حیوان و گیاه پیدا کرده اند.

۱ – تخمین تنوع ژنتیکی بااستفاده از نشانگرهای ژنتیکی :

تخمین ترکیب ژنتیکی افراد، مجموعه های ژنتیکی و قرابت بین آنها از گذشته های دور معمول بوده است و بیشتر براساس صفات مرفولوژیک واخیرا با استفاده از نشانگرهای پروتئینی مانند ایزوزایم ها صورت گرفته است . گرچه این نشانگرها و روشهای متناظر تخمین تنوع ژنتیکی در جای خود بسیارمفیدوسودمند است ، اما اخیرا استفاده از نشانگرهای ملکولی DNA ، تفاوتهای ژنتیکی را بیشتر مشهود ساخته که این تفاوتها تحت تاثیر محیط و اثراتی همچون پلیوترپی و اپیستازی و دوره رشد حیوانی نبوده و امکان آگاهی دقیق و کافی از تنوع ژنتیکی در سطح DNA را فراهم می سازد . (قره یاضی، ۱۳۷۵)

۲ –نشانگرهای مورفولوژیکی:

نشانگرهای مورفولوژیکی به علائمی گفته می شودکه به طور مستقیم در فنوتیپ جانور وگیاه قابل تشخیص وتوارث پذیر هستند (مردانی،۱۳۷۲)مثل فلسها ، اتولیتها ، پارازیتهاوترکیب عنصری قسمتهای مختلف بدن،چند نمونه از صفات مرفولوژیک قابل اندازهگیری در ماهیان عبارتند از : طول کل، طول فورک،طول پوزه، ارتفاع سر، قطر افقی چشم،..... . اگر چه نشانگرهای مورفولوژیکی به طور سنتی درعلوم زیستی مورد استفاده قرار گرفته اند ولی دارای محدودیتهای اساسی همچون تعداد کم این نشانگرها ، دقت کم ،تاثیرپذیری شدید از محیط ومرحله رشدوسن ووجود غالبیت در بروز می باشند.اساس وتفسیر ژنتیکی بسیاری از این نشانگرها نا مشخص بوده وشناسایی افراد ناخالص از خالص ممکن نیست.اما به دلیل ساده وکم هزینه بودن وعدم نیاز به امکانات پیچیده وگران قیمت برای اندازه گیریها محققین بسیاری از این نشانگرها استفاده می نمایند(Morgan,1961).

۳ –نشانگرهای سیتوژنتیکی:

وجود اختلاف در شکل ، اندازه و تعداد کروموزمها می تواند بیانگر وجود اختلاف ژنتیکی باشد . بنابراین این نشانگرها نمایانگر تنوع در ساختمان کروموزومها می باشد . تلوسانتریکها ، ایزوکروموزمها جابجایی و الگوهای بایندینگ از این گروه هستند. مطالعات سیتو ژنتیکی به منظور مقایسه اختلافات موجود بین

افرادیک گروه و آشکار شدن مسیر تکاملی تغییرات در کروموزمهای تشکیل دهنده ژنوم ، تفکیک گونه ها و بعضا جمعیت های مختلف از نظر تعداد و نوع کروموزومها انجام می گیرد . (جوانروح علی آباد، ۱۳۸۱).

۴ –نشانگرهای مولکولی:

هر گونه تفاوت در ترتیب نوکلئوتیدی DNA که از والدین به نتاج قابل انتقال باشد به عنوان نشانگر مولکولی به کار گرفته می شود و به دو دسته نشانگرهای مبتنی بر پروتئین ومبتنی برDNA تقسیم می شوند .

۵ –نشانگرهای پروتئینی:

برخی از تفاوتها در ترتیب نوکلئوتیدی DNA بین دو موجود ممکن است که به صورت پروتئین هایی با اندازه های مختلف بروز کند که از طریق بیوشیمیایی قابل آنالیز و مطالعه است . این نشانگرها را نشانگر پروتئینی می گویند که به دو نوع آنزیمی و غیر آنزیمی تقسیم می شوند مطالعات ابتدائی برای شناسایی جمعیتهای ماهی با استفاده از مارکرهای غیر آنزیمی مثل هموگلوبین و ترافسفرین بود که به سرعت به سمت پروتئینهای آنزیمی تمایل پیدا کرد(Smithies,1995) . آنزیم های موجود در هر فرد ممکن است دارای بیش از یک فرم مولکولی باشند . فرم های مولکولی متفاوت یک آنزیم در یک فرد ایزوزایم می نامند. ساختمان اولیه ایزوزایم ها ازاین جهت متفاوتند که به وسیله ژنهای متفاوت کدگذاری می شوند و در نتیجه چنین ساختمان مولکولی متفاوت یک آنزیم که دارای فعالیت آنزیمی (کاتالیزوری) یکنواخت و مشخص هستند را اصطلاحا ایزوزایم گویند محصولات ایزوزایم دوالل متفاوت در یک لوکوس به عنوان آلوازیم شناخته میشوند.به عبارت بهتر آلوزایمها به زیر گروهی از ایزوزایم ها اطلاق می شوند که از اللهای مختلف یک لوکوس معین ایجاد می شوند هنگامی که دوالل از یک لوکوس بوجود می آیند ، شکلهای مختلف الکتروفورتیکی هنوز نقش های معینی را ایفاءمی کنند . پروتئین های حاصل از این اللها تحت عنوان الوازیم شناخته می شوند(Carvalho,.1998).

از عیوب نشانگرها ی پروتئینی می توان به نیار به مقدار زیادی نمونه تازه یا تازه فریزشده (کشتن موجود زنده) پلی مورفیسم پائین و محدودیت روشهای رنگ آمیزی ، مشکل بودن آنالیز داده ها بخصوص در پلی پلو ئیدها اشاره کرد . (Ferguson , 1995)

۶ –نشانگر DNA :

تفاوتهای موجود در سطح DNA که هیچ گونه تظاهری ندارند ، نه صفت خاصی را کنترل می کنند و نه در ردیف اسیدهای آمینه رشته های پلی پلوئیدی تاثیر بر جا می گذارند در واقع نشانگرهای DNA چند شکلی موجودات را در سطح DNA تعیین می کنند این نشانگرها ژنوتیپ موجودات را توصیف می کنند و

در نتیجه توالیهای کد کننده و غیر کد کننده را در بر می گیـرد . بررسـی اینگونـه تفاوتهاکـه فقـط از طریـق تجزیه و تحلیل مستقیم DNA امکان پذیر است و به آنها نشانگرهای مولکولی در سطح DNA گوینـد . (جوانروح علی آباد، ۱۳۸۱)

فراوانی بالا، هم بازر بودن اکثر این نشانگرها ، امکان به کار گیری آنها در تمام مراحل زنـدگی حتـی دوران جنینی ، عدم تاثیر از شرایط محیطی امکان استفاده از نرم افزارهـای رایانـه ای مختلـف در آنـالیز داده هـا ، قدرت تمایزبالای این نشانگرها نمایان ساختن تفاوت بین ترتیبهای غیر کننده علاوه بـراختلاف موجـود در ترتیبهای کد کننده از مزایای این نشانگرها میباشد. این نشانگرها به دو دسـته مبتنـی بـر PCRوغیـر مبتنـی برPCR تقسیم می شوند . انواع مختلفی از این نشانگرها ، با تفاوت های بسیاری از لحاظ تکنیکـی ، روش تولید ، نحوه کاربرد و امتیاز بندی و تجزیه و تحلیل و تفسیر نتایج به سرعت ابداع گردیدند و تحولی عظیم در اطلاعات تنوع ژنتیکی ایجاد کرده اند (قره یاضی ۱۳۷۵) و به عنوان ابزارهای ضروری در ایجـاد اهـدافی چون نگهداری بیولوژیک مطالعات تکاملی و نیـز پـروژه هـای نقشـه بـرداری ژنـی در آمـده انـد (دانشـور آملـی،۱۳۸۳) .از ۲۴ سـال گذشـته توجـه بـه نشـانگرها ی DNA افـزایش پیـدا کـرده ، در ابتـدا DNA میتوکندریائی و سپس تکنیکهای مولکولهای پیشرفته کرده به سمت DNA هسته ای سوق پیدا کـرده اسـت .(Ferguson,1995)

جدول ۲-۱. دسته بندی نشانگرهای DNA (مردانی ، ۱۳۷۲).

غیر مبتنی بر PCR	RFIP[۵۲]	
	VNTR[۵۳]	
	RLGS[۵۴]	
مبتنی بر PCR	پرایمر تصادفی	RAPD[۵۵]
		DAF[۵۶]
		AFIP[۵۷]
		PBR[۵۸]
	پرایمرهدفمند از توالی	Microsatellite
		SSCP[۵۹]
		CAPS[۶۰]
		SCAR[۶۱]
		ALP[۶۲], STS[۶۳]

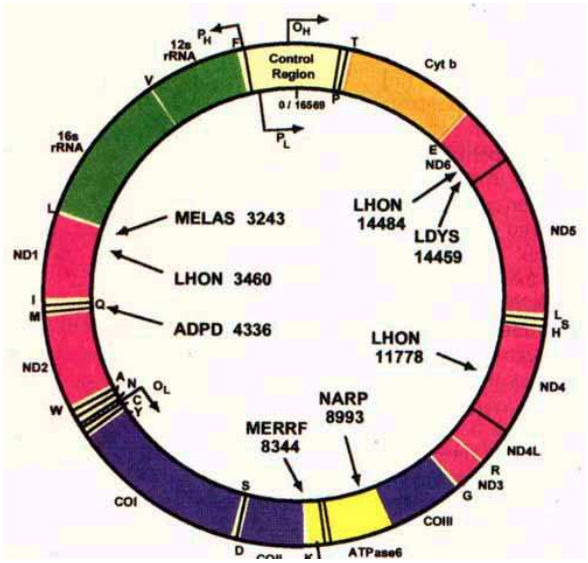
1-Resttriction Fragment Length Polymorphism
2-Variabe Number of Tandem Repeat

3-Restriction Landmark Genomic Scanning
4-Random Amplification Polymorphism DNA
5- DNA Amplification Fingerprinting
6- Amplified Fragment Length Polymorphism
7- PCR-RFLP
8- Single Strand Conformation Polymorphism
9-Cleavable Amplified Polymorphism Sequence
10-Sequence Charecterized Amplified Region
11-Amplified Length Polymorphism
12-Sequence Tagged Site
13- Amplification Refactory Mutation System
14- Allel Specific PCR

ASP[۶۵] , ARMS[۶۴]		

الف) مواد ژنتیکی خارج کروموزومی(mt-DNA) :

اندازه mtDNA در اکثرماهیان حدود ۵۰۰ ±۱۶۵۰۰جفت باز میباشد. در گونه های جانوری ژنوم میتوکندری دارای ۳۷ ژن میباشد که عبارتند از ۱۳ ژن رمز دهنده پروتیین ۲۲ ژن rRNA و یک ناحیه بعنوان آغاز همانندسازی یا D-loop . در مطالعات مختلف دو منشأ پدری و مادری برای mtDNA ثابت شده است. هر چند که ژنوم میتوکندری جانوری اغلب منشا مادری دارد ، ولی منشا پدری ژنوم میتوکندری در دروزفیلا وموش گزارش شده است.با توجه به اینکه میتوکندری منشا مادری دارد ونوترکیبی در آن انجام نمیگیرد لذا این خاصیت باعث بروز اختلاف ژنتیکی بیشتر در ژنوم میتوکندری نسبت به ژنوم هسته شده است. از اینرو نشانگر خوبی برای تشخیص گروههایی بوده اند که برای ۱۰ ،۱۰۰یا ۱۰۰۰ سال از هم جدا بوده میباشد. سرعت جایگزینی نوکلوتیدها درm tDNA مهره داران عالی تقریبا ۵ تا ۱۰ برابر بیشتر از ژنوم هسته ای است که ۲ درصد تغییر به ازای هر میلیون سال میباشد.سرعت تغییرات نوکلوتیدی در نواحی مختلف ژنوم میتوکندری متفاوت است. ژنهای rRNA , tRNA نسبت به سایر قسمتها محفوظ تر وناحیه D-l oop منطقه ای است که بیشترین تغییر را دارا میباشد. این ناحیه تنوع کافی با قابلیت تمایز زیاد را درسطح جمعیت نشان میدهد. همچنین ژن سیتوکروم دارای محلهای اطلاعاتی مناسبی برای شناسایی ارتباطات فیلوژنی بین گونه هایی است که از نظر مرفولوژی خیلی بهم نزدیک هستند. بنابراین این ژنها یک نشانگر قابل اعتماد ومناسب برای مطالعات فیلوژنیک محسوب میگردد.

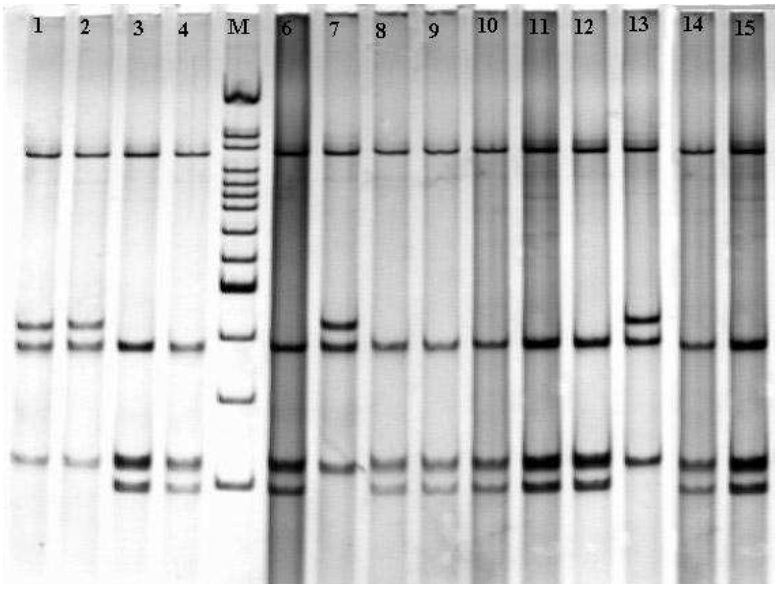


(Restriction Fragment Length Polymorphism) RFLP

Bostein و همکاران در سال ۱۹۸۰ روش تفاوت طول قطعات حاصل از هضم یا RFLP را برای مطالعه مستقیم DNA به عنوان نشانگرهای ژنتیکی جدید معرفی نمودند. اساس مولکولی RFLP ها وجود یا عدم وجود نقاط قابل تشخیص آنزیمهای محدود کننده به علت وقوع جهشهای نقطه ای حذف اضافه یا معکوس شدن قطعه ای از کروموزوم ویا سایر تغییرات ژنی ـ کروموزومی میباشد. کلیه این تغییرات باعث ایجاد پلی مورفیسم میگردد. به طور کلی RFLP به دو شکل صورت می گیرد :

- هضم آنزیم و سپس الکتروفورز و استفاده از لکه گذاری سادرن
- PCR قطعه مورد نظر و هضم آنزیمی آن

فراوانی بالا، توارث همبارز عدم اثرات پلیوتروپی، عدم تاثیرازشرایط محیطی، قابلیت شناسایی درتمام بافتهای زنده ودرتمام مراحل رشد از مزایای این نشانگرمیباشد. در طبقه بندی و تعیین ژنتیکی گونه های جانوری و گیاهی و تعیین تنوع ژنوتیپی جمعیتها و تهیه نقشه های لینکاژژنومی مورد استفاده قرار می گیرد.



الگوی برشی ژن $\frac{5}{6}$ mtDNA ND تاس ماهی شیپ باآنزیم *MboI*

ب) مواد ژنتیکی کروموزومی

۱) RAPD : Random Amplification Polymorphic DNA

در زمانی کمتر از یکسال دو گروه مستقل، (Williams et al.1990, Welsh &McClelland 1990) روش جدیدی را برای ارزیابی پلی مورفیسم بر اساس واکنش زنجیره ای پلیمراز در انستیتوی تحقیقاتی بیولوژیک کالیفرنیا ارائه کردند . این تکنیک انگشت نگاری قابل تشخیص ژنوم بدون استفاده از سیستم های رادیو اکتیو و توالی یاب DNA برای ژنوم را فراهم کرد . هر چنداساس این دو تکنیک یکسان بوده است ولیWelsh و همکاران (۱۹۹۰) آنرا AP-PCR (Arbitary Primed DNA) و Williams و همکاران (۱۹۹۰) آنرا RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) نامیدند. روش AP-PCR مشابه با RAPD بود و در هر دو از یک پرایمر استفاده می شود ولی غلظت پرایمر مورد استفاده در آن حدود ۱۰ برابر بیشتر است. پلی مورفیسم مشاهده شده به دلیل تفاوت توالی در یک یا هردو جایگاه اتصال پرایمر است که در صورت حضور یا فقدان یک باند متجلی می شود . پرایمر های RAPD مختص به ژنوتیپ ، گونه و جنس خاص نیست و قابل استفاده در تمام موجودات می باشد . امکان بررسی همزمان بیش از یک مکان ژنی در این تکنیک وجود دارد . این روش گرچه آسان و کم هزینه است ولی معایب فراوانی دارد که از جمله آن می توان به عدم تکرار پذیری نشانگرهای RAPD، حساسیت فوق العاده به آلودگی ، عدم تشخیص سیستم آللی (به دلیل غالب و مغلوبی بودن RAPD تشخیص هموزیگویتی و هتروزایگوتی غیر ممکن است)، امتیازدهی باندها و نامعلوم بودن قرابت و شباهت باندهائی که برروی ژل الکترو فورزی دارای مهاجرت یکسان هستند، اشاره نمود .

۲) Sequence Characterized Amplification Region : SCAR

Parden and Michelmore (۱۹۹۳) روش جدیدی به نام اسکار که براساس توالی سنجی قطعات بدست آمده از RAPD می باشد را پیشنهاد نمودند در این روش قطعات به دست آمده از روشRAPD مثل ژن مقاومت به بیماری درآفتابگردان که به وسیله نشانگر رپید نشانمند شده را ابتدا کلون کرده و سپس تعیین توالی میکنند. از اطلاعات حاصل از باند رپید(انتهای نشانگر رپیدلینک با صفات یا ژن مورد نظر) برای طراحی آغازگرها با طول زیاد که معمولا اختصاصی بودن واکنش را به همراه خواهد داشت استفاده می کنند و به این ترتیب ، تکرار پذیری این نشانگرها در مقایسه با RAPD خیلی بالا خواهد بود.

۳) Restriction Landmark Genomic Scaning (RLGS)

Hatada و همکاران (۱۹۹۱) روشی را برای شناسائی و انگشت نگاری موجودات عالی ابداع کردند و آن را RLGS نامیدند . اساس این روش که بر مبنای جایگاه برش اختصاصی آنزیم های محدودگر است می تواند به عنوان تشابه و علامتی برای تشخیص و تمایز افراد به کار برده شود. در این روش، رشته های DNA توسط آنزیم هضم و محل های برش داده شده به طور مستقیم با فسفر رادیواکتیو نشاندار می شوند

و پس از الکتروفورز قطعات هضم شده DNA از هم جدا شده و بوسیله فلورسانس باندها قابل مشاهده می گردد. در این روش الگوهای متفاوت بدست آمده، می تواند به عنوان یک نشانگر مورد استفاده قرار گیرند. از معایب این روش می توان به :

۱ . نیاز به DNA با کیفیت بالا

۲ . دشواری در قرائت و تفسیر باندها

۳ . تکرار پذیری پایین به دلیل هضم ناقص DNA توسط آنزیم های محدودگر

و از مزایای آن می توان به : استفاده شدن در طبقه بندی گیاهان و جانوران ، نیازمندی به تعداد کم ، تولید تعداد بی شماری نشانگر در هر آزمایش و ... اشاره نمود .

۴) DNA Amplifiatidn Fingerprinting (DAF)

Caetano-Anolles و همکاران د رسال ۱۹۹۱ تکنیک جدیدی را پیشنهاد نمودند که از نظر اصول مشابه با روش RAPD می باشد با این تفاوت که پرایمر آن بسیار کوچک حدود ۸-۵ نوکلئوتید می باشد و به جای سه مرحله ، دو مرحله دارد . محصول PCR توسط ژل پلی اکریل آمید جدا گردیده و با رنگ آمیزی نقره قابل رویت می گردند . این نشانگرها برای تعیین خصوصیات لاین های تقریبا ایزوژن ، تجزیه و تحلیل های جمعیتی و نیز تعیین شجره افراد مورد استفاده قرار می گیرند .

۵) ALP : Amplified Length Polymorphism

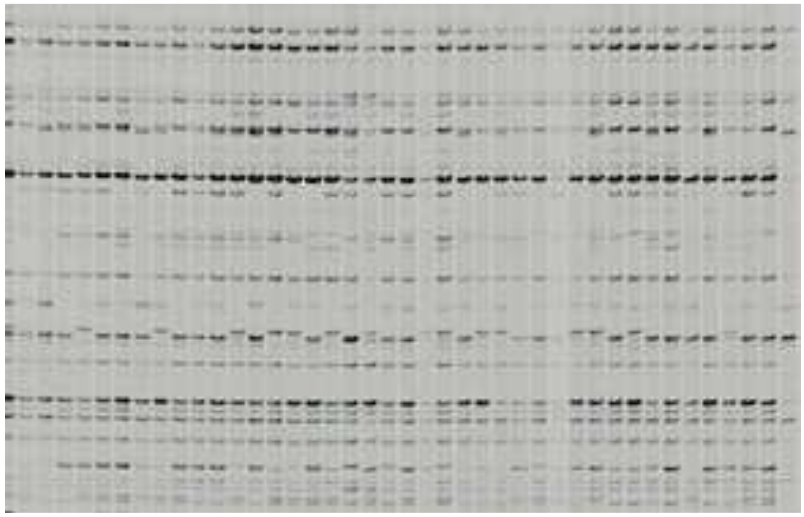
وجود اختلاف دراندازه قطعات حاصل از PCR که در آن پرایمر اختصاصی از توالی ژنوم به کار رفته است را ALP می گویند . این اختلاف بیانگر وقوع پدیده حذف و اضافه شدن این نشانگر است عمل اختصاصی این نشانگر، تکرار پذیری بالا از مزایای این نشانگر می باشد و از معایب این نشانگر می توان به مواردی چون نیاز به توالی سنجی DNA در طراحی و ساخت آغازگر اختصاصی اشاره کرد .

۶)SSCP: (Singel Strand Conformation Polymorphism)

گاهی تفاوتها آنقدرکوچک هستند (یک یا چندنوکلئوتید) که از طریق نشانگرها ALP قابلیت رویت در روی ژل های معمولی نیست . بنابراین این قبیل تفاوتها ممکن است از طریق تک رشته سازی قطعات تکثیر شده وحفظ ساختمان ثانویه و فرم و فضای آن درحین الکتروفوز صورت دیگر کهSSCP نامیده میشود و میتوان ازطریق فسفررادیواکتیوخودپرتونگاری نموده و یا اینکه از طریق رنگ آمیزی با نیترات نقره به مطالعه و بررسی آن پرداخت.

۷) AFLP : (Amplified Fragment length Polymorphism)

Zabeau و همکاران (۱۹۹۳) روش جدیدی را تحت عنوان قطعات برش یافته انتخابی ابداع نمودند که حاصل آن نشانگر AFLP است . این مارکر ژنتیکی بر اساس آنالیز قطعات برش یافته DNA بنیان نهاده شده است که در آن از تکنیک DNA یرای تکثیر قطعات مورد نظر و شناسائی آن استفاده می شود به علت استفاده از واکنش PCR، این تکنیک متفاوت از روش RFLP می باشد، در حقیقت این روش ترکیبی از AFLP و واکنش زنجیره ای پلیمراز است در مرحله اول DNA مورد نظر توسط دو آنزیم برش دهنده هضم می شود به طوری که دو انتهای برش یافته دارای فرم برشی متفاوت می باشند . سپس دو آداپتور (DNA دو رشته ای به طول حدود ۱۸ جفت باز که یکی از آنها از انتهای آن مکمل دو انتهای برش یافته باشد.) به دو انتهای برش یافته اتصال می یابد. دو مرحله بعد با استفاده از روش PCR و به کمک پرایمر های طراحی شده بر اساس توالی آداپتورها (حدود ۲۰ جفت باز) قطعات مورد نظر تکثیر می شوند. دارای تکرار پذیری بالای هستند و در یک واکنش مناسب بین ۵۰ تا ۱۰۰ باز قابل تشخیص است. بر این اساس مقدار زیادی باند پلی مورفیک جهت بررسی تنوع ژنتیکی یا تهیه نقشه ژنتیکی امکان پذیر است . مارکر AFLP غالب است و شناسائی وضعیت هتروزیگوتی از هموزیگوتی مسیر نیست.



محصول PCR نشانگر AFLP بر روی ژل پلی آکریل آمید دناتوره

۸) DGGE: Denaturing Gradiant Gel Electrophoresis

Mayers و همکاران (۱۹۸۷) روشی را ابداع نمودند که یکی از روشهای مناسب برای آشکارسازی جهش ها می باشد . این روش بر روی فراورده های زنجیره ای پلیمراز صورت می گیرد . در صورتیکه قطعات رشته ای DNA در یک نوکلئوتید با هم متفاوت می باشند الگوی واسرشت شده متفاوتی را نشان میدهند. در این روش دو نمونه DNA در دو ستون جداگانه از یک ژل پلی اکریل آمده که دارای نسبتی از غلظت ماده واسرشت کننده (فرمالید) هستند، گرادیانی از افزایش مواد دناتوره کننده ، مورد الکترو فورز قرار می گیرد . وقتی مولکولها به سطح بحرانی دناتوره می رسند دو رشته شروع به جدا شدن می کنند. در این حالت کاهش معنی داری در حرکت قطعات ایجاد می شود. این نقطه به عنوان نقطه ذوب عمل می کند و باعث تأخیر در حرکت مولکول DNA جهش یافته نسبت به فرم وحشی می شود (مردانی ،۱۳۸۲). در روش DGGE به مواد رادیو اکتیو و مواد شیمیایی نیازی نیست. ولی ابزار پیشرفته ای می خواهد درصد تعیین موتاسیون در این روش خیلی نزدیک به ۱۰۰٪ است. نوع مشابهی از این روش TGGE میباشد که در آن از حرارت به جای غلظت مواد شیمیایی در ژل استفاده می شود. (Etscheid,1998) بهترین طول قطعات برای DGGE بین ۵۰۰-۱۵۰ باز می باشد و برای واسرشت کامل قطعات حاصل از زنجیره پلیمراز یک ناحیه حاوی بالاترین دمای ذوب مصنوعی به نام GG-Clamp استفاده می شود.

۹) ماهواره ها یا Satellites:

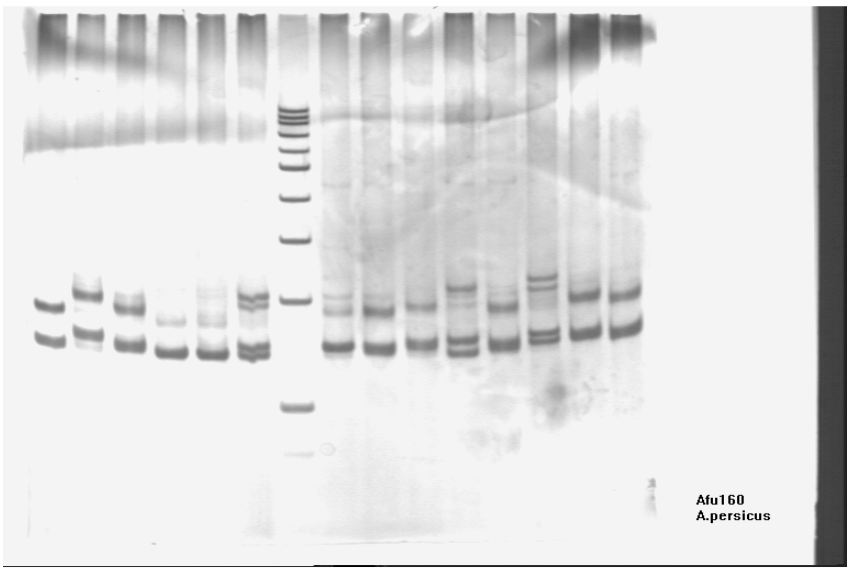
DNA ماهواره‌ای زمانی مطرح گردید که معلوم شد در سانتریفیوژ کلرید سدیم، بخش کوچکی از DNA کل باند ماهواره‌ای تشکیل می دهد که از باند ژنومی اصلی جدا قرار می گیرد که این بخش کوچک دارای توالیهای ساده ای هستند که کمتر از ۵۰۰ جفت باز دارند که هزاران یا میلیونها بار تکرار می شوند بعدها انواع دیگری از DNA ماهواره ای با واحدهای تکراری بسیار کوتاهتر در طول توالی یا بی ژن انسولین انسانی کشف گردیدکه تحت عنوان minisatellite ها شناخته می شوند و شامل واحدهای تکراری ۶۴-۱۵ جفت باز می باشند. سومین گروه ریز ماهواره یا مایکروساتلایتها میباشند که تحت عناوین Simple Tandem Repeat (STR) یا (Simple Sequence Repeat) (SSR) شناخته می شوند توالیهای تکراریDNA هستند که دارای نگاره مرکزی یا موتیف تکرار شونده‌ای به طول یک تا شش جفت باز می‌باشند دو گروه اخیربنام (VNTR(Variable Number Tandem Repeat نیز شناخته می شوند.

نشانگرهای ریز ماهواره (Microsatellite):

واژه ریزماهواره در سال ۱۹۸۵توسط Jeffery مطرح گردید و مفهوم آن توالیهای کوتاه تکرار شونده در ژنوم موجودات می‌باشد .در دهه گذشته نشانگرهای ریزماهواره بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند . علت اصلی کاربرد این نشانگر ، قدرت آن در حل مشکلات بیولوژیکی و تجزیه و تحلیل‌های جمعیتی و همچنین

مطالعات اکولوژیکی می باشد. تنوع زیاد ، قابلت رتبه‌دهی آسان ، همبارز بـودن و پراکنـدگی یکنواخـت در سراسر ژنوم از دلائل عمده کاربرد وسیع این نشانگر محسوب می شود.

فراوانی ریزماهواره‌ها متفاوت و بستگی به اندازه ژنوم دارد. برای مثال برآورد شده که فراوانی ریزماهواره در ژنوم انسان به طور متوسط ۱۰ برابر ژنوم گیاهان است و توزیع ریزماهواره‌ها نه تنها در گونه هـای مختلـف متفاوت است . بلکه در درون یک ژنوم و در بین کروموزومهای مختلف نیز متفاوت است از لحاظ توزیع و سازماندهی ریزماهواره‌ها در ژنوم‌ها با نقشه های ژنتیکی و فیزیکی مشخص شد که ریزماهواره هـا در یـک ناحیه جمع نشده و به طور یکنواخت در نواحی مختلف کروموزوم توزیع شده‌اند. اما با روش هیبریداسیون فلورسنت و هیبریداسیون در ژل ، مشخص شد که این توالی‌ها در برخی از قسمت‌هـای کرومـوزوم تجمـع دارند به طور کلی توالیهای مونو نوکلئوتیدی (poly A/T) فراوانی بیشتری نسبت به (poly C/G) دارند. آنها در نواحی اینترون و درون ژنی فراوانی بیشتری دارند. در ژنوم انسان نیـز poly A /poly T بیشـتری وجود دارد، اما این نوع ریزماهواره‌ها به دلیل بی ثباتیش در واکنش PCR نشانگر مناسبی نیسـت ,Weber Beckman اعلام کردند که بالاترین نوع تکرار در دی نوکلئوتیدی به صورت CA/CT در ژنوم انسـان و پستاندارن می باشد اما در ژنوم گیاهان تکرارهای GA, AT بیشتر از تکرارهای CA می باشـد. تکرارهـای تری نوکلئوتیدی در همه نواحی ژنوم با فراوانی قابل توجهی مشخص شده‌اند و معمولیترین آنها تکرارهـای ATT,CAG می باشند این توالیها بیشتر در اگزون حضور دارندو درنواحی دیگـر کمتـر دیـده مـی شـوند وتکرارهای ترا نوکلئوتیدی دراگزونها وجود ندارند و تکرارهای پنتـا نوکلئوتیـدی در همـه پسـتانداران بـه اندازه فرواوانی تکراری تری نوکلئوتید در اینترونها و نـواحی درون ژنـی دارنـد و ایـن تـوالی تکـراری در اکسونها تنوع وسیعی را نشان می دهد مایکروساتلایتها در ژنوم انسان هر ۳۰ کیلو باز ژنوم سـالمون هـر ۱۲ کیلو باز ژنوم کاد هر ۷ کیلو باز ژنوم قزل الای قهوه ای هر ۲۳ کیلو باز ژنوم زنبور هر ۴۷ کیلـو بـاز وجـود دارند.و طول توالی مایکروساتلایتها درژنوم موجودات خونسرد بیشتر اززنوم سایر موجودات است.



۱-۲-۸-۱ اشکال مختلف ریزماهواره‌ها :

ریزماهواره ها بر اساس ترتیب توالی و شکل و ساختارشان به چهارگروه تقسیم بندی می شوند :

۱ـ **ریزماهواره‌های کامل**: در این گروه یک واحد کامل ریز ماهواره پشت سر هم و بدون هیچ تداخلی دیده می شود (مانندGTGTGTGTGTGT).

۲ ـ **ریز ماهواره‌های ناقص**: دراین گروه در درون واحدهای ریز ماهواره ای یک یا دو نوکلئوتید غیر ریز ماهواره‌ای مشاهده می شود که در ساختمان آن ایجاد تداخل می کند(مانند GTGTGTCGTGTGT).

۳ ـ **ریز ماهواره‌های گسیخته**: در این گروه تعداد کمی جفت باز که بیش از دو نوکلئوتید هستند و با ساختمان تکراری توالی جور نیستند باعث گسیختگی ریزماهواره‌ای می شوند(مانند GTGTGTCCCGTGTGT).

۴ـ **ریز ماهواره‌های مرکب یا ترکیبی**: در این گروه نیز دو ساختار یا بیش از آن پشت سر هم و یا یکی در درون دیگری قرار گرفته است (مانند GTGTGT GCGCGCGC).

۱-۲-۸-۲ چندشکلی در ریز ماهواره ها:

تنوع تعداد واحدهای تکرار شونده در ریز ماهواره، چند شکلی بسیار بالای آنها را سبب می گردد. که این تنوع خود ناشی از نرخ بالای جهش در این نشانگرهاست که یکی از خصوصیات مهم ریز ماهواره ها می باشد میزان جهش در این جایگاهها $۱۰^{-۹}$ تا $۱۰^{-۱۰}$ جهش در هر نسل است و با بلند شدن رشته ریز ماهواره ای میزان جهش به مراتب افزایش می یابد . وجود چنین ناپایداریهای قابل توارث در جایگاههای ریزماهواره آنها را تبدیل به ابزاری سودمند برای مطالعه‌های ژنتیکی و تکاملی کرده است بررسی‌های شجره‌ای در انسان نرخی حدود $۱۰^{-۳}$ جهش در هر جایگاه در هر نسل را نشان داده است ولی این نرخ در مگس سرکه نسبتا پایین و حدود۶×۱۰^{-۶} می باشد. عواملی همچون تعداد و نوع تکرار ردیف کناری و نو ترکیبی بر میزان جهش ریز ماهواره‌ای مؤثر می باشد با توجه به میزان جهش بالا دو نوع مکانیسم برای این جهش‌ها پیشنهاد شده است :

الف- لغزش رشته مکمل در طی فرآیند تکثیر:

بر اساس این نظریه در خلال نسخه برداری نسخه جدید DNA سنتز شده میتواند به شکل غیرعادی قرار گیرد ولی به دلیل ساختار تکرار شده DNA مایکروساتلایتها اکثر بازهای دو رشته ای جدید هنوز به صورت جفت شده باقی میمانند و تنها یک ساختار حلقه ای کوچک به صورت جفت نشده میماند درصورتی که سنتز DNA ادامه پیدا کند، تعداد تکرارها در رشته جدید تغییر خواهد کرد و از اینرو لغزش نسخه برداری منجر به ایجاد یک سری از اللها با اندازه متفاوت (تعداد تکرارهای متفاوت) در افراد جمعیت میشود.

ب-کراسینگ اور نابرابر :

کراسینگ اور بین کروموزومهای همولوگ در مرحله میوز انجام می شود که به طور ناقص با هم جفت می شوند ، کراسینگ اور نامتعادل موجب حذف شدگی در یک مولکول و اضافه شدن در مولکولی دیگر و متعاقب آن باعث انبساط و انقباض آرایه ها می گردد .

۱-۲-۸-۳ عوامل مؤثر بر میزان جهش :

افزایش تعداد واحدهای ریز ماهواره ، کاهش طول تکرار (دی نوکلئوتیدی نسبت به ترا نوکلئوتیدی) و کاهش تعداد CG نواحی مجاور واحدها ، باعث افزایش میزان جهش می گردند. همچنین بررسیها نشان داده میزان جهش در نرها نسبت به ماده ها بیشتر است.

۱-۲-۸-۴ تکامل ریز ماهواره ها :

به منظور برآورد میزان تنوع در جمعیت و فاصله ژنتیکی از داده های ریزماهواره و همچنین برای توصیف تنوع ژنتیکی در جایگاههای ریزماهوارهای دو مدل اساسی جهش آللی نا محدود (IAM)[1] و جهش مرحله ای (SMM)[2] استفاده می شود. Kimura در اوایل سال ۱۹۶۰ و Crow در سال ۱۹۶۴ جهت درک تحقیقات در سطح مولکولی جمعیتها مدل IAM را پیشنهاد می کنند که پیش بینی می کنند که جهش تنها به حالت آللی جدید می انجامد و همیشه آللهایی در جمعیت به وجود می آید که قبلا وجود نداشته و این حالات می توانند هر تعداد واحد تکرار شوند (مانندGT) رخ می دهد برعکس در مدل SMM که توسط Kimura و Utta درسال ۱۹۷۳ به عنوان یک تئوری در مبحث ژنتیک جمعیت معرفی گردید، پیش بینی می کند که جهش به صورت اضافه شدن یا حذف یک واحد تکرار شونده (مانندGT) رخ می دهد.

1)Infinite Allele Model (IAM)
2)Step Mutation Model (SMM)

این بدان معنی است برخی از جهش ها آللهایی را تولید خواهند کرد که از قبل وجود داشته انـد . اهمیـت استفاده از مدلی که بهتر با داده‌های ریز ماهواره ای هم خوانی داشته باشد در این است که این کار موجـب خواهد شد که برآوردهای دقیق تری از اندازه جمعیت و وقایع ساختاری آن به دست آوریم .البته مدل‌هـای دیگری مانند مدل دو مرحله‌ای و مدل K آللی نیز وجود دارد و هرآلل یک احتمـال ثابـت تغییرپـذیری بـه طرف هریک ۱-K حالت آلل دیگر است.

مطالعات اولیه بر روی مدلهای جهش حاکی از آن است که SMM میزان تنوع مشاهده شده در جایگاههای ریز ماهواره ای را دقیقتر پیش بینی می نماید بررسی انواع ترتیبهای ریز ماهواره ای نشان می دهد که تغییـر پذیری جایگاههای سه یا چهار نوکلئوتیدی در مقایسه با جایگاههای دونوکلئوتیـدی و ماهوارکهـا شـباهت بیشتری با SMM دارند (Hansen,2004) .

۱-۲-۸-۵ جداسازی ریز ماهواره ها:

برای کاربرد ریزماهواره‌ها و استفاده از آنها نیازمند استخراج و جداسازی و تعیین توالی ناحیه مجاور آن مـی باشد. برای این منظور روشهای مختلفی ابداع شده که شامل روش سنتی ، مبتنی بر RAPD، بسط آغـازگر، دورگه گیری انتخابی ومبتنی برAFLP میباشدکه در ذیل به شرح دو روش بسط آغازگر که بر خلاف دیگر روش‌ها از تکنیک PCR استفاده نمی شود پرداخته میشود.

روش بسط آغاز گر:

در این روش ابتدا برای ساخت کتابخانه ژنومی DNA را هضم نموده و برای تعیین آنها قطعات حاصـل از هضم را بر روی ژل آگارزکرده و پس از انتخاب و جداسازی قطعات مناسب۶۰۰-۳۰۰ جفت باز قطعه مورد نظر را وارد یک حامل فاژی کرده تا تک رشته تشکیل شود. سپس این ناقل به میکروارگانیزمها انتقال یافتـه و یک کتابخانه ژنومی نسبی تشکیل داده و این کتابخانه ژنومی نسبی بااستفاده از کاوشگری که واحد تکرار شونده (CCT)n یا (CA)n را دارد غربال میگردد و ردیف یابی که با کاوشگر مذکور جفت شوند صورت گرفته و در آخر طراحی آغازگرهایی متناظر با ردیف‌های منحصر به فرد واقع در هر دو طرف آنها انجام می گیرد.

مزایای ریزماهواره‌ها:

این نشانگرها دارای مزایای متعددی بشرح ذیل می باشد:

۱ـ دارای توارث همباز می باشند و از توارث ساده مندلی تبعیت می کنند. یعنی می توان افراد هتروزیگـوت را از هموزیگوت به راحتی تفکیک نمود.

۲ـ در ژنوم موجودات به فراوانی یافت می شوند و به پراکندگی آنها نیـز در سـطح ژنـوم موجـودات عـالی یکنواخت می باشد.

۳ـ چند شکل بالائی دارند، علاوه بر این توانائی آنها در تشخیص میان افراد ، در صورت استفاده از ترکیبـی از جایگاهها، این تکنیک را در مطالعه جریان ژنی و تعیین هویت بسیار توانمند ساخته است.

۴- مقدار بسیار کمی DNA نیاز دارند و به وسیله PCR قابل تکثیر هستند.

۵- امتیاز دهی آنها آسان و دقیق است.

۶ـ قابلیت استفاده نشانگرهای یک گونه در گونه‌های بسیار نزدیک دیگر وجود دارد.

معایب ومشکلات ریزماهواره ها:

از محدودیتها و مشکلات کار با ریزماهواره ها می توان به موارد زیر اشاره کرد :

الف) تعیین توالی: یکی از مشکلات ریز ماهواره ها که در واقع مشکل عملی وابتدائی آنهاست. تعیین توالی برای ساخت و طراحی نشانگر مورد نیاز است ودر ابتدا باید این عمل انجام شود که انجام آن مستلزم صرف وقت وهزینه زیادی است.

ب) اشتباهات آلل خوانی : این اشتباهات در اثر لغزش DNA پلیمراز رخ می دهد ، کـه منجـر بـه تولیـد باندهای پهن و متعددی می گردد که همچون سایه در اطراف باند اصلی قرار گرفته و این باندها را باندهای نارسا می نامند و گفته می شود که در اثر حوادث Sllipage درطول PCR بوجود میاید. این باندها معمولاً وضوح کمتر از باندهای اصلی دارندومی توان از آنها صرف نظر کرد آما اگر با فرآورده‌های مربوط بـه یـک فرد هتروزیگوت هم پوشانی داشته باشد. آنگاه تشخیص این دو باند مشکل می شود می توان چند روش را برای رفع این مشکل به کار برد، برای مثال انتخاب جایگاههایی با واحدهای تکرار چهار نوکلئیدی مناسـب است زیرا با توجه به فاصله بیشتر بین آللها در این جایگاه‌ها تعیین آلل ساده‌تر و نارسائی کمتر است، یا مـی توان از جایگاههای دو نوکلئوتیدی به همراه کاهش اندازه فرآورده‌هاحدود۱۲۰جفت باز استفاده کـرد، زیـرا اندازه کوچک آللها به لحاظ فیزیکی سبب میگردد تا صحت تعیین آللها افزایش یافته و نارسایی کمتر شـود، هر چند که میزان تغییر پذیری قابل تشخیص نیز کاهش می یابد و در روش دیگر مـی تـوان بـرای افـزایش دقت از چندین نشانگر اندازه برای ژلها استفاده کرد، ضمناً می توان از برنامه هایی مانند ژنوتایپر کـه جهـت تشخیص باندهای نارسا طراحی شده‌اند استفاده کرد.

ج) ایجاد اللهای صفر: اللهای صفر اللهایی هستند که ضعیف تکثیرشوند ویا پس از تکثیـر وتفکیـک قابـل رویت نباشند. وجود جهش درتوالیهای مجاورریز ماهواره ها (Flanking) از اتصال آغازگر جلوگیری کرده ودر نتیجه هیچ فراورده ای در PCR تولید نمیشود .البته کیفیت پایین DNA استخراجی وجهـش در درون ترتیب مورد تکثیر نبز میتوانند باعث ایجاد اللهای صفر شوند وجود اللهای خنثی موجـب بـرآورد نادرسـت هتروزیگوسیتی در داخل یک جمعیت میگردد.

د) هموپلاسی اندازه: چند شکلی و تغییرات مشاهده شده در ریزماهواره‌ها، ناشی از تغییرات طول قطعات تکثیر شده است. دو آلل در صورتی از همه لحاظ یکسان هستند که بدون جهش از آلل اجدادی یکسان ایجاد شده باشند. دو آلل ممکن است اندازه یکسان و یا حتی توالی یکسان داشته ولی از یک جد مشترک نباشند که هموپلاسی اندازه نامیده می شوند. آنها ممکن است از یک آلل ولی با یک تاریخ متفاوت ایجاد شده باشند. بی توجهی به هموپلاسی اندازه منجر به برآورد رو به پایین زمان انشعاب واقعی بین جمعیتها خواهد شد. این پدیده ممکن است از طریق مقایسه توالی دو آلل هم اندازه مشخص می شود.

۱-۲-۸-۸ حفاظت شدگی مایکروستلایتها

تولد و مرگ مایکرو ستلایتها

در اولین مطالعات توسط (Mesier et al., 1996) حفاظت شدگی یک لوکوس مایکروستلایتی تترا نوکلئوتیدی درون یک ژن بین همه انواع گونه های میمون و گونه انسان نشان داده شده و از روی تغییرات توالیهای ماهیان آنها (در اثر جهش) مدلی برای پیدایش یاتولد و تکامل مایکروستلایتها ارائه گردید. در همین راستا (Taylor et al., 1999) از بررسی توالیها لوکوس مایکروستلایت در گونه های مختلف نتیجه گرفتند که در مرحله ای خاص از انتهای چرخه تکاملی مایکرو ساتلایتها ، انقطاع در توالیهای تکرار در یک مرحله و حذف شدن بخشهای بزرگتر تکراری در مرحله بعد اتفاق می افتد و ایشان این مرحله را مرگ مایکروستلایتها نام نهادند.

میکرو ستلایتهای بسیار حفاظت شده:

Rico و همکاران (۱۹۹۶) حفاظت شدگی لوکوسهای میکرو ساتلایتی را به مدت ۴۷۰ میلیون سال میان گونه های ماهی نشان داده اند. مشابه آن (Fitzsimmons et al., 1995) چنین حالت پایدار رابه مدت ۳۰ میلیون سال پیش میان گونه های لاک پشت دریایی ثابت کردند. (Ezenwa et al., 1995) حفاظت شدگی ۲۷ لوکوس تری نوکلوتیدی از هرگونه زنبور میان ۲۷ گونه دیگر از خانواده زنبورها که حداکثر ۱۴۴ میلیون سال پیش از آنها اتشقاق یافته را بررسی کردند و ثابت نمودند که میان فاصله سیستماتیک و دو فاکتور حفاظت شدگی(محل پرایمر ها و هتروزیگوسیتی و پلی مورفیسم) ایجاد شده و نسبت آشکاری وجود دارد . حفاظت شدگی یک لوکوس مایکروساتلایتی را در کوسه هائی که تخمین زده میشد یک میلیارد سال قبل انشقاق یافته باشند توسط(Martin et al., 2002) بررسی و عمری معادل ۲۵۰ میلیون سال برای آنها پیشنهاد کردند. در میان پستانداران دیگر نیز تحقیقاتی انجام شده است به طور مثال آشکار شده است که ۴۳ لوکوس مایکروساتلایتی از میان ۷۰ لوکوس جدا نشده از گاو در بز حفاظت شده اند و می‌توانند تکثیر یابند.

کاربرد ریز ماهواره ها

هم اکنون در انسان هزاران نشانگر ریز ماهواره وجود دارد که توزیع متراکمی در هر بخش از کروموزم دارند و هر روز بر تعداد این نشانگرها افزوده می شود و به کمک آنها نقشه های مربوط به تک تک ژنها به سرعت مکان یابی می شود. این نشانگرها برای تعیین و حل بسیاری از ناهنجاریهای ژنتیکی در انسان با ارزش بوده وشناسائی بسیاری از بیماریهای زیانبار را در انسان تسریع می کند. برای مثال در سرطانها در برخی از آنها افزایش یا کاهش طول ریزماهواره ها سلول به میزان زیادی اتفاق می افتد که این تغییرات به راحتی قابل تشخیص است. چنین نقشه هایی در سایر موجودات نیز در حال تهیه هستند و اساس نقشه های جایگاههای کنترل کننده صفات کمی را تشکیل می دهند. از موارد دیگر کاربردریز ماهواره ها، استفاه در انگشت نگاری DNA و در مطالعات مربوط به تعیین هویت، مسائل حقوقی، قضایی، جنایی و دیرین شناسی و همچنین کاربرد آنها در تشخیص ژنوتیپها و تمایز بین افراد می باشد. مطالعات مربوط به بررسی روابط خویشاوندی، آزمون انساب و تعیین اصالت در انسان و حیواناتی مثل اسب که اصیل بودنشان و از اهمیت زیادی برخوردار است، بسیار مورد توجه می باشد. چنین مطالعاتی برای مدیریت جمعیتهای اهلی و درک الگوهای آمیزشی در حیات وحش مفید می باشد. به عنوان مثال در صنعت گاو گوشتی با افزایش نگرانی مصرف کنندگان از مصرف گوشتهای آلوده به جنون گاوی کارشناسان مایلند تا منشاءگوشتهای آلوده موجود در بازار را داشته و لکه مربوطه را شناسایی کنند تا دقیقا نمونه گوشت مشکوک را به جمعیت خاصی منتسب نمایند. بررسی رفتارهای تولید مثلی، شناسایی ساختار جمعیت های گیاهی و جانوری از دیگر کاربردهای ریز ماهواره ها می باشد وراثت دو والدین و همبارزی ریز ماهواره ها این نشانگر هارا برای بررسی روابط بین افراد و تجزیه و تحلیل شجره و شناسایی والدین مناسب کرده است خصوصیات مایکروستلایتها همچنین باعث استفاده از این نشانگرها در آبزی پروری و مدیریت شیلاتی ، در مطالعات ساختار جمعیتی، تشخیص نژادهای پرورشی از طبیعی، ارزیابی رابطه ژنتیکی والدین با فرزندان، مدیریت والدین ،تشخیص ژینوژنز، پلی‌پلوئیدی، تشخیص دورگه ها، ارزیابی تکاملی گردیده است.

جدول ۲-۱ مقایسه خصوصیات چند نشانگر DNA

مبنای مقایسه	ALP	PBR	RFLP	RAPD	AFLP	Microsatellite
چگونگی کاربرد	خیلی سریع	سریع	کند	خیلی سریع	آهسته	خیلی سریع
سلامتی	مطمئن	مطمئن	مواد رادیو اکتیو	مطمئن	ژل پلی اکریلامید	ژل پلی اکریلامید
تکرار پذیری	تقریبا صد در صد	تقریبا صد در صد	تقریباً۹۵٪	متوسط	بالا	تقریبا صددر صد
کیفیت DNA	پایین	پایین	بالا	بالا	بالا	پایین
کمیت DNA	پایین	پایین	بالا	پایین	پایین	پایین

نیاز به دانستن توالی	بله	بله	خیر	خیر	خیر	بله
تشخیص جهش نقطه‌ای	خیر	بله	مشکل	خیر	خیر	خیر
میزان چند شکلی	پایین	بالا	بالا	بالا	پایین	بالا
فنوتب مولکولی	همباز	همباز	همباز	غالب	همباز	همباز
نیاز به موجود زنده	خیر	خیر	بله	خبر	خیر	خیر

مدل هاردی واینبرگ:

فرآیند بررسی تغییرات ژنتیکی شامل امتیازدهی به یک یا تعداد بیشتری از انواع نشانگرهای ژنتیکی، کمی نمودن فراوانی فنوتیپ‌ها، و سپس نشان دادن فراوانی ژنوتیپ‌های مربوطه می‌باشد. از این رو، برای بیان رابطه‌ای بین فراوانی ژنوتیپ و فراوانی آلل‌ها و دستیابی به نتیجه‌ای معقول در رابطه با فرآیندهای مؤثر بر جوامع طبیعی، وجود مدل ضروری است. مطلوبیت و کاربرد چنین مدلی در توانایی آن برای شناسایی تغییرات مهم، که باید آنها را یافت و یا در توانایی آنها برای نشان دادن آزمایش‌های مهمی که باید در دستیابی به دیدگاه‌های جدید انجام گیرد، نهفته است.

مدلی که در سال ۱۹۰۸ توسط G. H. Hardy و W. Weinberg به طور جداگانه مطرح گردید، مهمترین مدلی است که فراوانی آللی و ژنوتیپی را به هم ربط می‌دهد. مدل هاردی ـ واینبرگ دارای چند پیش فرض مهم به شرح زیر می‌باشد:

- طی نسل‌های مختلف، اندازه جمعیت بزرگ و ثابت باقی می‌ماند
- آمیزش‌ها به صورت تصادفی است، به این مفهوم که جامعه مورد مطالعه، جمعیتی پانمیکتیک (Panmictic) یا دارای اختلاط خوب می‌باشد
- اعضای جامعه دیپلوئیدند
- نسل‌ها با هم همپوشانی ندارند
- تولید مثل جنسی است
- جهش، مهاجرت، یا انتخاب تأثیرات ناچیزی بر جامعه دارد

در مورد جایگاه‌های ژنی غیر جنسی (ژن‌هایی که بر روی کروموزوم‌های غیر جنسی واقع‌اند) که دارای دو الل باشند، مدل هاردی ـ واینبرگ به صورت زیر بیان می‌شود:

$$(p+q)^2=p^2+2pq+q^2=1$$

در این رابطه P نشان دهنده فراوانی آلل غالب (معمول‌تر) A، و q نشان دهنده فراوانی آلل مغلوب (غیرمعمول‌تر)، a، بوده و مجموع فراوانی آنها برابر یک می‌باشد (p+q=1). در صورتی که آلل‌های A و a در رابطه با صفتی خاص، آلل‌های هم غلبه (alleles codominant) باشند، می‌توان از روی فنوتیپ‌های مربوط به آنها، افراد دارای ژنوتیپ‌های AA، Aa و aa را از هم تشخیص داد. فراوانی افراد خالص غالب و

شایع‌تر، AA برابر P^2؛ فراوانی افراد ناخالص Aa برابر 2pq و فراوانی افراد خالص مغلوب و کمیاب‌تر aa برابر با q^2 می‌باشد. مدل هاردی واینبرگ را می‌توان به آلل‌های چندگانه (Multiple alleles)، ژن‌هایی که بر روی کروموزوم x واقعند (Hartl 1988 Falconer 1989) و به جفت ژن‌های واقع بر روی یک کروموزوم نیز تعمیم داد.

مدل هاردی ـ واینبرگ ثبات فراوانی آلل‌ها را در بین نسل‌های مختلف پیش بینی می‌کند. می‌توان از مدل مذکور برای پیش بینی فراوانی ژنوتیپی که منجر به فراوانی آللی کنونی شده است استفاده نمود، که این امر با فرضیات مندل مطابقت دارد. کاربرد مدل هاردی ـ واینبرگ امکان ارزیابی و برآورد نیروهای تکاملی را فراهم آورده و سیستم ژنوتیپ‌های یک جامعه را آشکار می‌کند. در صورتی که نتایج مشاهده شده در عمل با نتایج مدل هاردی ـ واینبرگ همخوانی نداشته باشد، باید درصدد ارایه فرضیاتی برای توجیه عدم انطباق واقعیت مشاهده شده با مدل و متعاقباً انجام مشاهدات و آزمایش‌های دیگری برآمد.

مشکل موجود در رابطه با این مدل در آن است که به علت برقرار نبودن یک یا تعداد بیشتری از فرضیات مربوطه، مدل کفایت لازم را ندارد. ممکن است، عدم برقراری فرضیات مدل هاردی ـ واینبرگ ناشی از مکانیزم‌های بوم شناختی مختلف باشد.

در مدل هاردی ـ واینبرگ فرض بر این است که آمیزش‌ها تصادفی‌اند، اما این فرض به کرات، بواسطه رفتارهای جفت‌گیری خاص نقض می‌شود. جفت‌گیری انتخابی (Assortative mating)، انتخاب جفت بر اساس فنوتیپ است. جفت‌گیری انتخابی مثبت (Positive assortative mating) هنگامی اتفاق می‌افتد که افراد شبیه به هم بیشتر از آنچه که بتوان آن را تصادف یا شانس نامید، با هم جفتگیری کنند. درون‌آمیزی (Inbreeding) به جفت‌گیری یا آمیزش افراد خویشاوند، با هم اطلاق می‌شود که نوع خاصی از جفت‌گیری انتخابی مثبت می‌باشد. جفت‌گیری انتخابی منفی هنگامی روی می‌دهد که افراد ناهمسان بیشتر از آنچه که بتوان آن را تصادف یا شانس نامید، با هم جفت‌گیری کنند، از این موارد می‌توان به مگس سرکه اشاره نمود. ساختار ذخایر ژنتیکی نیز ناشی از نوعی جفت‌گیری انتخابی می‌باشند که در آن ذخایر ژنی یک گونه شامل گروهی از زیر جمعیت‌ها، یا ذخایر ژنی بوده و افراد آن دارای آمیزش‌های تصادفی می‌باشند.

در موارد خاص، تأثیرات انتخاب طبیعی بر فراوانی ژنوتیپ‌ها چندان ناچیز هم نیست. برای مثال نمونه معروفی دراین زمینه، مزیت انتخابی مربوط به افراد ناخالص، در جایگاه ژن هموگلوبین ـ B انسان می‌باشد. در این مورد ژنوتیپ S+ (مقاوم در برابر مالاریا و کم خونی) بسیار سازگارتر از ژنوتیپ‌های ++ (مستعد نسبت به بیماری مالاریا) و SS (کم خونی داسی شکل) می‌باشد.

عدم صدق فرضیات مربوط به مدل هاردی ـ واینبرگ ممکن است ناشی از سایر مکانیزم‌های بوم شناختی باشد. در واقع مدل هاردی ـ واینبرگ در ازای بروز انحرافات جزئی در فرضیات آن، تأثیرات نسبتاً اندکی

می‌پذیرد (Hartl 1988: 28) که این خاصیت کاربرد آن را بهبود می‌بخشد. به هر حال، باید معلـوم شـود که آیا فراوانی ژنوتیپ‌های مشاهده شده با انتظارات مدل هاردی ـ واینبرگ مطابقـت دارد یـا نـه، ایـن امـر ضرورتاً به مفهوم آن می‌باشد که تمام فرضیات باید تأمین و برقرار شوند.

کاربرد مدل هاردی ـ واینبرگ در بررسی صید ذخایر ترکیبی:

مدل هاردی ـ واینبرگ (H-W) کاربرد وسیعی در علوم شیلاتی دارد. یکی از مهمترین کاربردهای این مدل در امور مربوط به شناسایی ذخایر ترکیبی و برآورد ترکیب آنهـا بـا اسـتناد بـه خـواص ملکـولی-هسـته‌ای می‌باشد. در صورتی که نمونه‌ای از موجودات صید شده در فعالیت صیادی با نتایج و انتظارات مـدل H-W مطابقت نکند، احتمال آن وجود خواهد داشت که چند زیر مجموعه تمایز یافته با هم ترکیب شده باشند. در سال ۱۹۸۹ فالکنر به مطالعه موردی ماهی روغن اقیانوس اطلس، Gadus morhua اشاره نمود کـه اولـین بار توسط مولر در سال ۱۹۶۸ گزارش شده بود. فراوانی ژنوتیپ‌هـا در جایگـاه هموگلـوبین مجموعـه‌ای از روغن ماهیان صید شده توسط ناوگان صیادی نروژ تعیین شد. از ۲۵۹۱ قطعه ماهی روغن موجود در نمونه، تعداد ۱۳۰ قطعه دارای ژنوتیپ AA، ۷۶۳ قطعه دارای ژنوتیپ Aa و ۱۶۹۸ قطعـه نیـز دارای ژنوتیـپ aa بودند. انجام این مطالعات تا حدی، بدلیل عدم آگاهی از وجود یک یا تعداد بیشتری ذخـایر ژنتیکـی مـاهی روغن در فعالیت‌های صیادی، بود. از این رو فرض صفر (Ho) که باید مورد آزمایش قرار می‌گرفت، تبعیت جامعه از مدل هاردی ـ واینبرگ و فرض آزمون (Ha) نیز عدم تبعیت جامعه از مدل هاردی ـ واینبرگ بود که در مقابل فرض صفر قرار داشت. بررسی‌ها به صورت زیر انجام شد:

مرحله یک: محاسبه فراوانی آلل‌ها:

تعداد ماهی ۱۳۰+۷۶۳+۱۶۹۸=۲۵۹۱

تعدادآلل ۵۱۸۲=(آلل در هر فرد)۲×(ماهی)۲۵۹۱

برای محاسبه p یا فراوانی آلل A باید توجـه شـود کـه مجموعـه نمونـه حاضـر حـاوی ۱۳۰ قطعـه مـاهی خالص×۲ آلل در هر ماهی +۷۶۳ قطعه ماهی ناخالص×۱آلل در هـر مـاهی (۱۰۲۳=۲×۱۳۰+۱×۷۶۳) یعنـی ۱۰۲۳ آلل A می‌باشد. با تقسیم عدد حاصل بر تعداد کل آلل‌ها، P به دست می‌آید:

p=۱۰۲۳÷۵۱۸۲=۰/۱۹۷

جهت محاسبه q یعنی فراوانی آلل a، مشابه با روش فوق عمل می‌شود:

آلل۴۱۵۹=۷۶۳+۳۳۹۶=۷۶۳ماهی ناخالص×۱آلل در هر کدام+۱۶۹۸ماهی خالص×۲آلل در هر کدام

q=۴۱۵۹÷۵۱۸۲=۰/۸۰۳

مرحله دو: محاسبه فراوانی‌های مورد انتظار با استفاده از مدل هاردی ـ واینبرگ:

$(p+q)^2=p^2+2pq+q^2=1$

$=۰/۱۹۷^۲+۲(۰/۱۹۷)(۰/۸۰۳)+۰/۸۰۳^۲$

$=۰/۰۳۹+۰/۳۱۶+۰/۶۴۵$

این ارقام بیانگر فراوانی ژنوتیپ‌های مختلف می‌باشند. فراوانی ژنوتیپ‌های AA، Aa و aa به ترتیب برابر با ۰/۰۳۹، ۰/۳۱۶ و ۰/۶۴۵ می‌باشد.

مرحله سه: محاسبه تعداد افراد دارای هر کدام از ژنوتیپ‌ها:

تعداد مورد نظر افرادی که دارای هر کدام از ژنوتیپ‌ها باشند بواسطه ضرب نمودن تعداد کل افراد موجود در نمونه مورد بررسی در فراوانی هر کدام از ژنوتیپ‌ها به دست آید.

تعداد افراد دارای ژنوتیپ AA ۰/۰۳۹×۲۵۹۱=۱۰۱/۰۵

تعداد افراد دارای ژنوتیپ Aa ۰/۳۱۶×۲۵۹۱=۸۱۸/۷۶

تعداد افراد دارای ژنوتیپ aa ۰/۶۴۵×۲۵۹۱=۱۶۷۱/۲۰

مرحله چهار: استفاده از آزمون x^2 جهت بررسی آنکه مشاهدات با مدل هاردی ـ واینبرگ همخوانی دارد یا نه:

آزمون x^2 به منظور تعیین آنکه آیا اعداد مشاهده شده مربوط به ژنوتیپ‌های با مدل هاردی ـ واینبرگ همخوانی دارد یا نه به کار می‌رود.

$x^2=$(تعداد مشاهده − تعداد مورد نظر) ÷ تعداد مورد انتظار

برای ژنوتیپ AA ← $x^2=(۱۳۰-۱۰۱/۰۵)^۲÷۱۰۱/۰۵=۸/۲۹$

برای ژنوتیپ Aa ← $x^2=(۷۶۳-۸۱۸/۷۶)^۲÷۸۱۸/۷۶=۳/۸۰$

برای ژنوتیپ aa ← $x^2=(۱۶۹۸-۱۶۷۱/۲۰)^۲÷۱۶۷۱/۲۰=۰/۴۳$

$\Sigma=۱۲/۵۲$

درجه آزادی مربوط به مقدار x^2 حاضر برابر است با تعداد کلاس‌های داده‌ها (در این مثال ۳) منهای ۱، منهای تعداد پارامترهای محاسبه شده از داده‌ها (در این مثال، پارامترp، از روی داده‌ها محاسبه گردیده بود)، یعنی ۱=۱-۱-۳. باید توجه داشت که در محاسبه درجه آزادی برای q عددی کسر نمی‌شود، چون q بر اساس محاسبه p از رابطه q=۱-p بدست می‌آید. با درجه آزادی یک، مقدار x^2 معنی‌دار است (p<۰/۰۱).

از این مثال نتیجه می‌شود که فراوانی ژنوتیپ‌های مشاهده شده در نمونه با مدل هاردی ـ واینبرگ همخوانی ندارد. در نهایت باید اظهار داشت که حداقل یکی از فرضیات مدل برقرار نبوده است، اما کدام فرض؟ از طریق مدارک و شواهد دیگر پیشنهادهایی ارایه می‌گردد. در میان روغن ماهیان اطلس دو نژاد را می‌توان از طریق تفاوت‌های ظاهری موجود در سنگریزه شنوایی آنها، تشخیص داد. با بررسی سنگریزه شنوایی روغن ماهیان اقیانوس اطلس، ماهیان صید شده به دو ذخیره ساحلی و قطبی تقسیم شدند. نسبت‌های ژنوتیپی مربوط به نژاد ساحلی برابر با AA ۲۳، Aa ۲۵۰، و aa ۹۶۴ بوده و در ذخایر قطبی برابر با AA ۱۰۷، Aa

۵۱۳ و aa ۷۵۲ بود. این قبیل یافته‌ها و مشاهدات چه روش و دیدگاهی را در مـورد ترکیـب صـید کـل در پیش رو قرار می‌دهد؟

بررسی‌های مذکور با تعیین این که آیا ترکیب ژنوتیپی ذخایر ساحلی با مـدل هـاردی ـ واینبـرگ همخـوانی دادر یا نه ؟ آغاز شد.

مرحله یک: محاسبه فراوانی آلل‌ها:

آلل ۲۴۳۸ یا ماهی ۱۲۱۹=۹۴۶+۲۵۰+۲۳

$p=[(۲۳\times۲)+(۲۵۰\times۱)] \div ۲۴۳۸=۰/۱۲۱$

$p=[(۲۵۰\times۱)+(۹۴۶\times۲)] \div ۲۴۳۸=۰/۸۷۹$

مرحله دو: محاسبه فراوانی مورد انتظار ژنوتیپ‌ها:

$(p+q)^۲=p^۲+۲pq+q^۲=۱$

$=۰/۱۲۱^۲+۲(۰/۱۲۱)(۰/۸۷۹)+۰/۸۷۹^۲=$

$=۰/۰۱۴+۰/۲۱۳+۰/۷۷۲$

هر کدام از اعداد سه گانه فوق به ترتیب از چپ به راست با فراوانـی ژنوتیـپ‌هـای AA، Aa و aa برابـر است.

مرحله سه: محاسبه تعداد افراد مورد انتظار برای هر ژنوتیپ:

قطعه ماهی۱۷/۰۷=۱۲/۹×۰/۰۱۴=تعداد افراد AA مورد انتظار

قطعه ماهی۲۵۹/۶۴=۱۲۱۹×۰/۲۱۳=تعداد افراد Aa مورد انتظار

قطعه ماهی۹۴۱/۰۷=۱۲۱۹×۰/۷۷۲=تعداد افراد aa مورد انتظار

مرحله چهار: انجام آزمون x^2 جهت بررسی همخـوانی یـا عـدم همخـوانی مشـاهدات بـا مـدل هـاردی ـ واینبرگ:

$x^2=(۲۳-۱۷/۰۷)^۲\div۱۷/۰۷=۲/۰۶$ ← برای AA

$x^2=(۲۵۰-۲۵۹/۶۴)^۲\div۲۵۹/۶۴=۰/۳۶$ ← برای Aa

$x^2=(۹۴۶-۹۴۱/۰۷)^۲\div۹۴۱/۰۷=۰/۰۳$ ← برای aa

$\Sigma=۲/۴۵$

نتیجه آزمون x^2 که برابر ۲/۴۵ است از نظر آماری معنی‌دار نمی‌باشد. از این رو فراوانی ژنوتیپ‌ها در ذخیره ساحلی با مدل هاردی ـ واینبرگ همخوانی دارد.

سپس تعیین می‌شود که آیا فراوانی ژنوتیپ‌ها در ذخیره قطبی با مدل هاردی ـ واینبرگ همخوانی دارد یا نه.

مرحله یک: محاسبه فراوانی آلل‌ها:

آلل ۲۷۴۴=۲×قطعه ماهی ۱۳۷۲=۷۵۲+۵۱۳+۱۰۷

p= [(۱۰۷×۲)+(۵۱۳×۱)] ÷ ۲۷۴۴=۰/۲۶۵

q=[(۵۱۳×۱)+(۷۵۲×۲)] ÷۲۷۴۴=۰/۷۳۵

مرحله دو: محاسبه فراوانی مورد انتظار ژنوتیپ‌ها:

$(p+q)^2=p^2+2pq+q^2=1$

$=۰/۲۶۵^2+2(۲/۲۶۵)(۰/۷۳۵)+۰/۷۳۵^2$

=۰/۰۷۰+۰/۳۹۰+۰/۵۴۰

مرحله سه: محاسبه تعداد افراد مورد انتظار برای هر ژنوتیپ:

قطعه ماهی ۹۶/۰۴=۱۳۷۲×۰/۰۷۰=تعداد افراد AA مورد انتظار

قطعه ماهی ۵۳۵/۰۸=۱۳۷۲×۰/۳۹۰=تعداد افراد Aa مورد انتظار

قطعه ماهی ۷۴۰/۸۸=۱۳۷۲×۰/۵۴۰=تعداد افراد aa مورد انتظار

مرحله چهار: انجام آزمون x^2 جهت تعیین آنکه آیا مشاهدات با مدل هاردی ـ واینبرگ همخوانی دارد یا نه:.

برای AA $\rightarrow x^2=(۱۰۷-۹۶/۰۴)^2 \div ۹۶/۰۴=۱/۲۵$

برای Aa $\rightarrow x^2=(۵۱۳-۵۳۵/۰۸)^2 \div ۵۳۵/۰۸=۰/۹۱$

برای aa $\rightarrow x^2=(۷۵۲-۷۴۰/۸۸)^2 \div ۷۴۰/۸۸=۰/۱۷$

$\Sigma=۲/۳۳$

نتیجه آزمون x^2 برابر ۲/۳۳، از نظر آماری معنی‌دار نمی‌باشد. از این رو فراوانی ژنوتیپ‌های مربوط به ذخیره قطبی نیز با مدل هاردی ـ واینبرگ همخوانی دارد.

در مجموع نتایج بررسی‌های انجام گرفته، بیانگر این موضوع است که انحراف از معادله هاردی ـ واینبرگ نشان می‌دهد، امور صید و صیادی ماهیان روغن اقیانوس اطلس مبتنی بر ذخایر ترکیبی است و در برگیرنده دو ذخیره ساحلی و قطبی می‌باشد. فراوانی ژنوتیپ‌های مربوط به هر کدام از این دو ذخیره با مدل هاردی ـ واینبرگ مطابقت دارد و نشان می‌دهد که هر کدام از آنها به نوبه خود از ذخایر پانمیکتیک می‌باشند. روشی که ذکر شد بنیان و اساس بسیاری از بررسی ذخایر ترکیبی را تشکیل می‌دهد که از این قبیل می‌توان به انجام آن در رابطه با قزل‌آلای دریاچه‌ای Grewe et al salvelinus namaycush (Krueger et al. ((1989)(1994)) آزاد ماهیان اقیانوس آرام (Pella and Oncorhynchus spp. Milmer 1987; Waples et al. 1990)،Smouse et al. 1990 و ماهی شاد آمریکایی، Alosa sapidissima،

(Epifanio et al. 1995; Brown et al. 1999; Brown et al. 1996) اشاره نمود. شناسایی ساختار ژنتیکی ذخایر در مدیریت صیادی ـ شیلاتی کاربردهای مهمی دارد.

ژنتیک کمی:

۱-۱۲- مقدمه

هرکس که جمعیت ماهیان را نمونه‌برداری کند، با این حقیقت که ماهیان دارای تنوع فنوتیپی زیادی هستند، موافق خواهد بود. تفاوت‌های بارز و هم از نظر اقتصادی در صفاتی مانند سرعت رشد، اندازه بدن در هنگام بلوغ و صفات دیگر، به فراوانی در درون و برون جوامع بسیاری از گونه‌های ماهیان وجود دارد (Allendorf et al., 1987). علی‌رغم آنکه نمی‌توان به طور مستقیم ویژگی‌های مورفولوژیک را در ماهیان گروههای جانوری مقایسه نمود، اما ماهیان در مقایسه با مهره‌دارای دیگر از نظر فنوتیپی متنوع‌تر و متغیرتر می‌باشند (Mayer 1969: 170). ضرایب تغییرات در میان افراد یک جمعیت به طور معمول، برای مهره‌داریا دیگر، کمتر از ۱۰٪ مذکور تجاوز می‌کند. اغلب تغییرات و تنوع موجود در میان جوامع ماهیان هم گونه، می‌باشد. وجود تنوع گسترده در خصوصیات کمی، سئوالاتی را پیش می‌آورد که باید دانشمندان علوم شیلاتی به آنها پاسخ دهند. چه مقدار از تغییرات مشاهده شده ناشی از عوامل ژنتیکی است؟ اهمیت سازگارکنندگی و تکاملی این تغییرات چیست؟ چگونه باید تغییرات ژنتیک کمی را در مباحث مدیریت و حفاظت شیلاتی مد نظر قرار دهیم؟

مباحث این فصل در مورد تنوع ژنتیک کمی است، در قالب تنوع مولکولی و کروموزومی، در فصل اول کتاب مطرح شده است. با این وجود، به منظور آشنایی بیشتر خوانندگان، با فرایندهای ژنتیک جمعیت، مبحث مجزایی نیز برای ژنتیک کمی در نظر گرفته شده است. در این فصل سعی بر این است که درک اولیه‌ای در مورد چگونگی اندازه‌گیری تغییرات کمی و اساس ژنتیکی آن، در خوانندگن ایجاد شود. در نهایت کاربرد تغییر و تنوع ژنتیک کمی در امور مدیریت و حفاظت شیلاتی ذکر می‌شود.

صفات پیوسته طبقی از فنوتیپ‌های قابل اندازه‌گیری را نشان می‌دهند. در این فنوتیپ‌های زیادی وجود دارد که تفکیک آنها تنها محدود به توانایی ما برای اندازه‌گیری آنها می‌باشد. مثال‌هایی از صفات پیوسته، شامل سرعت رشد، تولید و صفات مورفومتریک (مانند طول سر: طول استاندارد، قطر چشم: طول سر و ارتفاع بدن: طول استاندارد) وجود دارد.

صفات شمارشی، فنوتیپ‌هایی را نشان می‌دهند که اجزای آنها مستقل و مشخص بوده و باید برای طبقه‌بندی، آنها را شمارش نمود. فنوتیپ مربوط به این صفات با توجه به تعداد اجزایی صفت (مانند تعداد شعاع‌های نرم باله پشتی) تعیین می‌شود. نمونه‌هایی از صفات شمارشی در ماهیان، عبارت است از تعداد

فلس‌های خط جانبی، تعداد شعاع‌های باله‌ای و تعداد زواید باب‌المعده‌ای. در مـواردی ماننـد همـاوری کـه تعداد اجزاء و عناصر صفات بسیار زیاد می‌باشد، تفکیک نمودن صفات پیوسته و شمارشی دشوار است.

صفات آستانه، صفاتی مشخص است که می‌توانند در یک فرد وجود داشته و یا نداشته باشند. عموماً بـروز این صفات تحت تأثیر هر دو عامل ژنتیکی و محیطی قـرار دارد. از مشـاهده ایـن صـفات در فـرد خاصـی می‌توان استنباط نمود که فرد مذکور، حد آستانه لازم برای بروز آن صفت را دارد. این وابستگی همیشـه بـه طور مستقیم قابل مشاهده نیست، لذت ژنتیک دانان برای قضاوت در مورد احتمال بـروز صـفت آسـتانه در افراد نیازمند در اختیار داشتن اطلاعات شجره‌ای آنها هستند. آشناترین نمونـه‌هـای صـفات آسـتانه بیمـاری دیابت، شیزوفرنی و انواع معینی از سرطان در انسان است. با توجه به نوع عوامل ژنتیکی و غیرژنتیکی بـروز یک صفت آستانه، احتمال آنکه فرد دارای پیش زمینه ژنتیکی بیماری دیابـت، دچـار ایـن بیمـاری شـود بـه عواملی مانند رژیم غذایی، وزن و سن او بستگی خواهد داشت. صفات آستانه در ماهیان هم قابـل مشـاهده است. ژنتیک دانان چنین فرض می‌دارند که تمایب برخی از آزادماهیان به پیش‌رس شدن و انجام مهـاجرت زودهنگام، از صفات آستانه است.