نقش شاخص‌های ژنتیکی در انتخاب مولدین میگوی سفید غربی

محمد مدرسی[۱]، محمد خلیل پذیر[۲] و علی قوام پور[۳]

modarresi@pgu.ac.ir[۱]

۱- گروه اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه خلیج فارس (بوشهر)

۲-پژوهشکده میگوی کشور، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بوشهر، ایران

چکیده

در میگوهای خانواده پنائیده به دلیل شباهت ظاهری میان افراد یک گونه، مراکز تکثیر همواره با مشکلاتی همچون آمیزش افراد خویشاوند (خواهر و برادر) روبرو هستند که این امر در نهایت منجر به کاهش شاخص‌های ژنتیکی و افزایش ضریب هم خونی در نتاج حاصل از آنها خواهد شد. از این رو در صورت نسل گیری متعدد از میگوهای یک جمعیت و افزایش آمیزش‌هایی خویشاوندی میان آنها، بویژه جوامع ای که دسترسی به منابع وحشی میگو ندارند و مولدین‌شان در اسارت و یا در محیط‌های بسته نگهداری می‌شوند، نتایج حاکی از آن خواهد بود که همزمان با کاهش فراوانی آلل‌های اختصاصی در نتاج حاصل، میگوهای تولید شده بجای چند شکلی شدن (پلی‌مورف) به سمت یک شکل شدن (مونومورف) پیش خواهند رفت. از سوی دیگر به دنبال کوچک شدن اندازه جمعیت مؤثر علاوه بر کاهش شدید تنوع ژنتیکی میزان ضریب هم خونی نیز افزایش خواهد یافت. از این رو توصیه می‌شود که بمنظور جلوگیری از کاهش شاخص‌های فوق با استفاده از روش‌های مولکولی علاوه بر شناسایی جمعیت‌های مختلف میگو، برای هر کدام از جمعیت‌های شناسایی شده یک شناسنامه ژنتیکی تدوین شود.

واژگان کلیدی: روش‌های مولکولی، شاخص‌های ژنتیکی، شناسنامه ژنتیکی

مقدمه

از نقطه نظر طبقه بندی میگوها در شاخه بندپایان، رده سخت پوستان، فوق راسته ده پایان، خانواده پنائیده قرار می‌گیرند و از ۱۲ جنس و ۳۰۰ گونه تشکیل شده‌اند. از این میان گونه‌های مختلف میگو، گونه پنئوس سمی‌سولکاتوس (ببری سبز)، پنئوس ایندیکوس (سفید هندی)، لیتوپنئوس وانامی (سفید غربی)، پنئوس مونودون (ببری سیاه)، میگوی لیتوپنئوس استیلوروستریس (آبی)، ماکروبراکیوم روزنبرگی (آب شیرین)، پنئوس مرگوینسیس (موزی)، متاپنئوس آفینیس (سفید) و پاراپنئوپسیس استیلیفر (میگوی خنجری) از گونه‌های مورد استفاده در صنعت تکثیر و پرورش میگو محسوب می‌شوند. با توجه به آغاز تکثیر و پرورش از سال ۱۹۳۴ امروزه بالغ بر ۵۰ کشور به این صنعت روی آورده‌اند به گونه‌ای که بر اساس آخرین آمار سازمان خواروبار جهانی فائو میزان تولید این آبزی در سال ۲۰۱۴ میلادی به رقمی بالغ بر ۴٫۵ میلیون تن رسیده است.

در سال‌های اخیر از میان گونه‌های فوق برخی از گونه‌ها از جمله گونه وانامی به واسطه داشتن برخی از ویژگی‌های منحصر به فردی همچون سرعت بالای رشد در هفته، ضریب تبدیل غذایی پائین و بازماندگی بالا در مقابل عوامل بیماریزا بطور فزآینده‌ای در سرتاسر جهان گسترانیده شده‌اند بطوریکه امروزه بیش از ۹۰ درصد میزان تولیدات صنعت میگو را به خود اختصاص داده است (شکل ۱).

شکل ۱- مناطق پرورش میگوی *لیتوپنئوس وانامی* در جهان

با وجود اینکه زیستگاه اصلی این‌گونه سواحل اقیانوس آرام از جنوب مکزیک تا شمال کلمبیا بوده است (Perez Farfante & Kensley 1997)، اولین باز در اواخر دهه ۸۰ میلادی به آسیا معرفی شد. واردات این‌گونه به کشور برای

یکی از دلایل کاهش میزان رشد و بازماندگی میگوی وانامی پرورشی در داخل کشور که با افزایش حساسیت به عوامل بیماری‌ها در سال‌های اخیر همراه بوده، آمیزش‌های خویشاوندی صورت گرفته میان مولدین نگهداری شده در مراکز تکثیر بوده که منجر به کاهش شاخص‌های ژنتیکی و افزایش ضریب هم خونی در نسل های حاصل از مولدین اولیه شده است.

اولین بار در سال ۲۰۰۴ میلادی (۱۳۸۳ هجری شمسی) توسط مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی ایران با هدف ایجاد تنوع گونه‌ای و مقابله با مشکلات ناشی از شیوع بیماری لکه سفید در مزارع پرورشی میگوی کشور صورت پذیرفت. لذا در پی افزایش تمایل پرورش‌دهندگان میگوی کشور به پرورش این‌گونه، از سال ۱۳۸۴ بخش خصوصی اقدام به واردات این‌گونه از مناطق مختلف جهان به کشور نمود، به طوری‌که پس از گذشت چند سال این‌گونه به طور کامل جایگزین گونه ایندیکوس که سال‌ها به عنوان مهم‌ترین گونه پرورشی کشور به حساب می‌آمد شد. شایان ذکر است که از مهم‌ترین خصوصیات یک‌گونه وجود جمعیت مختلف در آن‌گونه است، در واقع جمعیت‌ها گروهی از افراد یک‌گونه بوده که در یک محدوده جغرافیایی محدود و مشخص با همدیگر زندگی می‌کنند و قادرند ژن‌های خود را به طور مساوی از نسلی به نسل دیگر منتقل نمایند (فریلند، ۱۳۸۹).

بررسی‌های میدانی صورت گرفته حاکی از آن بود که در طی سال‌های اخیر طول دوره پرورش میگوی وانامی که در سال‌های ابتدایی معرفی به صنعت ۹۰-۸۵ روز بود، به ۱۴۰ و گاهی ۱۶۰ روز افزایش یافته است. از سوی دیگر علاوه بر طولانی شدن طول دوره پرورش میگوهای پرورشی با کاهش میزان رشد و بازماندگی همراه با افزایش حساسیت به عوامل بیماری‌ها همراه شده‌اند، به‌گونه‌ای که در سال‌های اخیر به دلیل کاهش مقاومت میگوها و شیوع مجدد بیماری ویروسی لکه سفید در مزارع پرورشی کشور میزان تولید این‌گونه به شدت کاهش یافته است که این امر همواره با ضرر و زیان اقتصادی فراوان فعالان این صنعت همراه بوده است. شاید یکی از دلایل بوجود آمدن این حالت آمیزش‌های خویشاوندی (خواهر و برادر) صورت گرفته میان مولدین نگهداری شده در مراکز تکثیر بوده باشد که در نهایت با کاهش شاخص‌های ژنتیکی و افزایش ضریب هم خونی در نتاج حاصل از آن‌ها همراه شده است. لیکن امروزه مشاهده می‌شود که استفاده از اصطلاح هم خونی در بسیاری از نشست‌ها و جلسات برگزار شده به موضوعی حساسیت‌زا تبدیل شده است. البته چنین رویدادی در بسیاری از کشورها از جمله کشور برزیل به دنبال آمیزش‌های خویشاوندی صورت گرفته میان مولدین وانامی نیز مشاهده شده بود که در نهایت به دنبال افزایش ضریب هم‌خونی و کاهش تنوع ژنتیکی، مقاومت نتاج تولید شده نسبت به عوامل بیماری‌زا و میزان رشد و بازماندگی آن‌ها به شدت کاهش یافته بود (Gjedrem et al., 2012; Castillo et al., 2015).

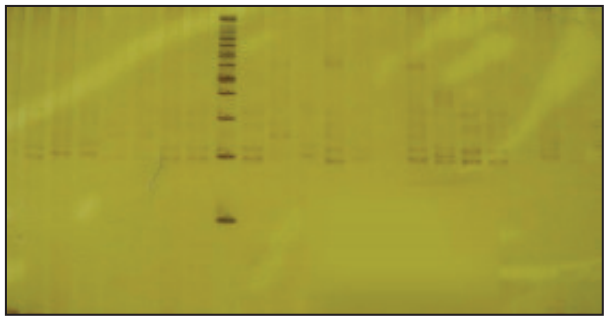
ذکر این نکته قابل‌تأمل است که تمامی میگوها برخلاف انسان‌ها از لحاظ ظاهری شبیه به همدیگر می‌باشند لذا شاید بتوان مهم‌ترین دلایل به وجود آمدن چنین نقیصه‌ای را عدم شناسایی جمعیت‌های مختلف میگو به دلیل نبود شناسنامه و شجره‌نامه ژنتیکی مولدین وانامی دانست که این امر منجر به افزایش آمیزش خویشاوندی ناخواسته و افزایش هم‌خونی خواهد شد. در واقع این حالت می‌تواند ناشی از شرکت تنها تعداد کمی از میگوها در آمیزش باشد که در نهایت بعد از گذشت چند نسل، اندازه جمعیت مؤثر مورد استفاده در تکثیر به شدت کاهش خواهد یافت.

با توجه به پیشرفت‌های صورت گرفته در استفاده از علم ژنتیک در صنایع شیلاتی به ویژه صنعت تکثیر و پرورش میگو، می‌توان با بهره‌گیری از روش‌های جدید مولکولی همراه با به‌گزینی و اصلاح نژاد صورت گرفته، مشکلات به وجود آمده را برطرف نمود. از جمله روش‌های مورد استفاده در این خصوص می‌توان به روش مولکولی ریزماهوره (Microsatellite)، چند شکلی در اندازه قطعات تکثیر شده (AFLP) و چند شکلی نوکلئوتیدی ساده (SNP) اشاره نمود. با استفاده از روش‌های فوق بر اساس اطلاعات ژنتیکی مولدین مورد استفاده در مراکز تکثیر علاوه بر تعیین ضریب هم‌خونی، مقادیر مربوط به تنوع ژنتیکی، فراوانی آلل‌ها (اشکال مختلف ژن‌های موجود در مولد)، شباهت ژنتیکی، فاصله ژنتیکی و تمایز ژنتیکی آن‌ها را مشخص نمود (Moss et al. ۲۰۰۶).

از آنجا که ماده ژنتیکی DNA هر موجود منبع بی پایان اطلاعات است، لذا به منظور رسیدن به اهداف فوق باید به ماده ژنتیکی مولدین ذخیره سازی شده در مراکز تکثیر میگو دست یافت. بدین منظور با نمونه‌برداری از بافت بدن مولدین (پای شنا) و با استفاده از کیت‌های تجاری، ماده ژنتیکی نمونه‌ها استخراج خواهد شد (یوسفیان، ۱۳۸۸) (شکل ۲).

شکل ۲- نمونه‌گیری از بافت عضله میگوهای پرورشی مراکز پرورش و نگهداری در الکل ۹۶ درجه

در این فرآیند، حداقل تعداد نمونه مورد نیاز جهت تفکیک و شناسایی جمعیت‌های میگو ۳۰ قطعه است که پس از استخراج ماده ژنتیکی هر یک از مولدین به‌صورت جداگانه با استفاده از آغازگرهای اختصاصی میگوی وانامی از طریق روش مولکولی PCR تکثیر توالی‌های تکراری DNA در دستگاه ترموسایکلر صورت خواهد پذیرفت. در ادامه با توجه به بار منفی ماده ژنتیکی DNA پس از الکتروفورز نمودن محصول به دست آمده با سنجش وزن مولکولی باندهای تشکیل شده در هر ستون علاوه بر با شناسایی جمعیت‌های مختلف، شاخص‌های ژنتیکی آن‌ها نیز تعیین خواهد شد (شکل ۳).



شکل ۳- تشکیل باندهای مولکولی با وزن‌های مختلف بر روی ژل الکتروفورز

در یک مثال بارز، در صورت شناسایی سه جمعیت مولد در یک مرکز تکثیر، نتایج به دست آمده می‌تواند حاکی از افزایش فراوانی آلل‌ها و تنوع ژنتیکی در جمعیت ۲ نسبت به دو جمعیت دیگر باشد، لیکن با توجه به اینکه مقادیر هم‌خونی می‌تواند در محدوده ۱-۰ قرار بگیرد نتایج حاکی از پائین بودن میزان ضریب هم‌خونی در مولدین جمعیت ۳ است (جدول ۱).

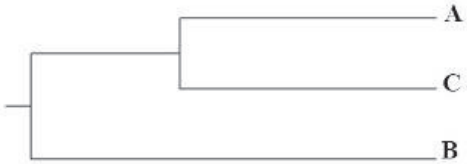
جدول ۱-مقادیر شاخص‌های ژنتیکی مولدین مراکز تکثیر

شاخص ژنتیکی	جمعیت		
	A	B	C
فراوانی آلل	۴/۸±۱/۱۱	۵/۲۰±۱/۲۰	۴/۴۰±۱/۱۲۲
تنوع ژنتیکی	۰/۳۴۳±۰/۰۵۳	۰/۳۶۲±۰/۰۹۳	۰/۳۳۰±۰/۰۶۲
ضریب هم‌خونی	۰/۴۳۹±۰/۱۲۵	۰/۴۹۸±۰/۰۹	۰/۲۴۰±۰/۱۵۹

همچنین نتایج حاصل از تمایز ژنتیکی نشان‌دهنده وجود یک تمایز ژنتیکی پائین تا متوسط میان سه جمعیت شناسایی شده است. به‌گونه‌ای که تمایز ژنتیکی موجود میان جمعیت‌های B و C بود که در سطح متوسط قرار دارد درحالی‌که تمایز ژنتیکی موجود بین جمعیت‌های B و A و همچنین جمعیت A و C پایین‌ترین سطح قرار گرفته است و بیشترین و کمترین فاصله ژنتیکی به ترتیب میان جمعیت‌های B و C و جمعیت‌های A و C است (جدول ۲) (شکل ۴).

جدول ۲-مقادیر تمایز و فاصله ژنتیکی جمعیت‌های مختلف شناسایی‌شده

جمعیت	تمایز ژنتیکی		فاصله ژنتیکی	
	B	C	B	C
A	۰/۱۳۵	۰/۱۱۷	۰/۵۱۲	۰/۳۵۷
C	۰/۱۸۲	۰/۰۰	۰/۶۱۵	



شکل ۴- فاصله ژنتیکی میان مولدین جمعیت‌های مختلف

لذا درصورتی‌که میان مولدین جمعیت‌های A و C که با هم خویشاوند هستند آمیزش صورت گیرد، علاوه بر کاهش فراوانی آلل و تنوع ژنتیکی مقادیر ضریب هم‌خونی در نتاج حاصل به شدت افزایش خواهد یافت، لیکن در صورت آمیزش میان مولدین جمعیت‌های B و C که با هم غیر خویشاوند هستند نتایج برعکس خواهد شد (جدول ۳).

جدول ۳- مقادیر شاخص‌های ژنتیکی مولدین خویشاوند و غیر خویشاوند

شاخص ژنتیکی	نتاج حاصل از	
	آمیزش خویشاوندان	آمیزش غیر خویشاوندان
فراوانی آلل	۳/۶±۰/۶۷۸	۵/۰±۰/۴۹
تنوع ژنتیکی	۰/۲۱۸±۰/۰۵۹	۰/۴۷۶±۰/۱۲۳
ضریب هم‌خونی	۰/۶۷۷±۰/۰۹۷	۰/۲۶۸±۰/۱۸۵

نتیجه‌گیری

با توجه به شاخص‌های ژنتیکی به دست آمده، هر چه فراوانی آلل‌ها در جمعیت‌های شناسایی شده کمتر باشد، جمعیت بجای چند شکلی شدن (پلی‌مورف) به سمت یک شکل شدن (مونومورف) پیش خواهند رفت که این حالت معمولاً به دنبال نسل گیری متعدد از یک جمعیت و افزایش آمیزش‌هایی خواهر-برادری در جوامع روی خواهد داد (Moss et al., 2005). از این رو در جمعیت‌های مولدی که در اسارت و یا در محیط‌های بسته نگهداری می‌شوند به ویژه مراکزی که به منابع وحشی میگوی وانامی دسترسی ندارند، به دنبال کوچک شدن اندازه جمعیت مؤثر علاوه بر کاهش شدید مقادیر تنوع ژنتیکی و فراوانی آللی نتاج حاصل از مولدین، با افزایش ضریب هم خونی مواجهه خواهند شد (Wolfus et al., 1997). در چنین شرایطی به منظور بهبود شاخص‌های ژنتیکی و فنوتیپی از قبیل رشد و بازماندگی بهتر است که علاوه بر انتخاب مولدین مناسب از هر سه جمعیت شناسایی شده از ایجاد آمیزش‌های خویشاوندی میان مولدین نر و ماده آن‌ها جلوگیری به عمل آید (Ibarra et al., 1995).

در پایان خاطر نشان می‌شود که با توجه به اینکه امروزه بیش از یک دهه از ورود اولین محموله مولدین میگوی لیتوپنئوس وانامی به کشور می‌گذرد، لیکن به دلیل عدم شناسنامه دار کردن مولدین وارداتی و پرورشی میگوی وانامی در سال‌های گذشته و عدم تعیین شاخص‌های ژنتیکی ذخایر مولد مراکز تکثیر به دلیل آمیزش‌های نابجای صورت گرفته، شاهد کاهش تدریجی تنوع ژنتیکی و همچنین افزایش ضریب هم‌خونی در میان نتاج

حاصل از مولدین پرورشی در کشور بوده‌ایم، به گونه‌ای که در سال اخیر به دلیل شیوع مجدد بیماری لکه سفید در مزارع پرورش میگوی کشور و عدم کسب مجوزهای لازم از سوی سازمان دامپزشکی جهت جمع‌آوری پیش مولد از مزارع پرورشی، به دلیل احتمال آلودگی آن‌ها، عملا در سال جاری دسترسی به ذخایر پرورشی این‌گونه در کشور را می‌بایست ازدست رفته دانست. لذا بجاست که در سال جاری و به دنبال واردات مولدین جدید مولوکائی از مقصد هاوایی به کشور با اجرای یک برنامه هماهنگ میان بخش‌های دولتی و مراکز تکثیر و پرورش بخش خصوصی با شناسنامه‌دار کردن مولدین وارداتی علاوه بر سهولت در ردیابی آن‌ها در مراکز مختلف، با استفاده از روش‌های مولکولی شاخص‌های ژنتیکی مولدین وارداتی هر یک از مراکز تعیین گردد تا از این طریق بتوان با تکیه بر اطلاعات موجود و به‌گزینی و اصلاح نژاد صورت گرفته هم از نقایص ایجاد شده در سال‌های گذشته جلوگیری به عمل آورد و هم اینکه با بهبود ذخایر ژنتیکی مولدین پرورشی کشور از واردات مولد از خارج از کشور بی‌نیاز شد.

فهرست منابع

۱- فریلند، ج. ۱۳۸۹. بوم شناسی مولکولی. مترجم: منصوره ملکیان. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد. ۳۰۴ ص.

۲- یوسفیان. م. ۱۳۸۸. مبانی ژنتیک آبزیان. موسسه تحقیقات شیلات ایران. مدیریت اطلاعات علمی. ۱۸۱ ص.

3- Castillo-Juárez, H., Campos-Montes, G. R., Caballero-Zamora, A. and Montaldo, H. H. (2015). Genetic improvement of Pacific white shrimp [Penaeus (Litopenaeus) vannamei]: perspectives for genomic selection. Frontiers in genetics, 6 (93).

4- Gjedrem, T., Robinson, N. and Rye, M. (2012). The importance of selective breeding in aquaculture to meet future demands for animal protein: a review. Aquaculture, 350, 117129-.

5- Ibarra, A. M., Cruz, P. and Romero, B. A. (1995). Effects of inbreeding on growth and survival of self-fertilized catarina scallop larvae, Argopecten circularis. Aquaculture, 134(1), 3747-.

6- Moss, S. M., Arce, S. M., Moss, D. R. and Otoshi, C. A. (2003). Disease prevention strategies for penaeid shrimp culture. In Proceedings of the Thirty-second US Japan Symposium on Aquaculture. US-japan Coope rative Program in Natural Resources (UJNR). US Department of Commerce, NOAA, Silver Spring, MD, USA 3446-.