خصوصیات ژنتیکی میگوهای پنائیده و معرفی انواع نشانگرهای مناسب برای مطالعه رابطه فیلوژنتیکی آبزیان با تاکید بر میگو

رویا رهنما

royarahnama60@yahoo.com

گروه علوم درمانگاهی،دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز

چکیده

رشد علم ژنتیک در طی دهه اخیر شگفت انگیز بوده است و ابزارهای جدید به آن سرعت بخشیده است، اما پیشرفت در زمینه ژنتیک میگوها کند بوده که بدلیل کمبود دانش کلیدی در زمینه بیولوژی آنها است. میگوهای خانواده پنائیده از آبزیان ارزشمندی هستند که به صورت گسترده در آب های گرمسیری و نیمه گرمسیری زندگی می کنند و بیش از نیمی از تولید ناخالص میگو در جهان را به خود اختصاص می دهند. در میگوها ممکن است تکامل ژنوم زیاد افزایش یافته باشد و راهی برای اندازه گیری صحیح آن وجود ندارد ولی احتمالاً سرعت جدایی مورفولوژیکی در میگوها پایین است و جدایی ژنتیکی میان دو گونه بسیار شبیه مؤید آن است که یک عامل پایدار کننده روی شکل ظاهری و ویژگی های اکولوژیکی اثر می کند، ولی تفاوت های مولکولی به صورت معمولی ظاهر می شوند. یکی از راه های کمک به توسعه و حفظ منابع شیلاتی، مطالعه جمعیت ها و تنوع ژنتیکی آن ها با استفاده از علم ژنتیک است.

واژگان کلیدی: میگوی پنائیده، نشانگرهای مولکولی، خصوصیات ژنتیکی، رابطه فیلوژنتیکی

مقدمه

رشد علم ژنتیک در طی دهه اخیر شگفت انگیز بوده است و ابزارهای جدید به آن سرعت بخشیده است، اما پیشرفت در زمینه ژنتیک میگوها کند بوده که بدلیل کمبود دانش کلیدی در زمینه بیولـــوژی آن ها است Ward et al., 2006; Benzie, 2000). Chow و همکاران (۱۹۹۰) اندازه ژنوم ۴ گونه پنائیده را در حدود ۷۰٪ ژنوم انسان تخمین زدند. اندازه ژنوم میتوکندری نیز در تمام گونه ها حدود ۱۵-۱۷kb گزارش شده است (Benzie, 1998). نقشه RFLP ژنوم میتوکندری و توالی ژن COI و 16S ریبوزومی یک تفاوت تعجب برانگیز از تفاوت ژنتیکی بین گونه ای (حداقل ۹/۴٪ تفاوت بین زیر جنس ها) را نشان داده است. تفاوت درون جنسی در میگو (۲۵٪) بیشتر از تفاوت های بین بعضی راسته های پستانداران (۲۳٪) است (Benzie, 2000). اصولاً برخلاف سایر موجودات علیرغم شباهت‌های فوق‌العاده زیاد میان گونه‌های جنس پنئوس، تفاوت‌ها در سطح مولکول DNA زیاد است. به عنوان مثال، داده های حاصل از مطالعات ژنوم میتوکندریایی، جدایی ژنتیکی ۹/۶٪ میان گونه های P. Vannamei و P. stylirostris را آشکار ساخته است. در صورتی که در مطالعات مشابه، بز و گوسفند یا انسان و شامپانزه با وجود اختلافات ظاهری فراوان، جدایی ژنتیکی کمتری از خود نشان می دهند (Palumbi and Benzie, 1991).

تمایز ژنتیکی جمعیت های دریازی به نظر می رسد مستقیماً به توانایی پراکنش گونه آنها نسبت داده شود، زیرا در محیط های دریایی سدهای فیزیکی جهت جلوگیری از مهاجرت نادر هستند. اگر یکی از دوره های زندگی موجود به صورت پلانکتونیک باشد ممکن است پراکنش جاندار در فاصله های زیادتری صورت گیرد. بررسی ها نشان می دهد که حرکت موجودات از یک نقطه به نقطه دیگر

میگوهای خانواده پنائیده از آبزیان ارزشمندی هستند که به صورت گسترده در آب های گرمسیری و نیمه گرمسیری زندگی می کنند و بیش از نیمی از تولید ناخالص میگو در جهان را به خود اختصاص می دهند.

سبب تغییرات مورفولوژیکی می شود، که خود ناشی از تغییرات ژنتیکی در طول زمان است و احتمالاً تغییرات ژنتیکی در میگوها نیز مشمول مطلب فوق است (حسینی، ۱۳۷۶).

انواع نشانگرها

به طور کلی هر صفت متفاوتی ناشی از تفاوت موجود بین توالی های DNA آن ها است که به افراد نسل بعد منتقل می شود. حتی صفاتی که تحت تاثیر شرایط محیط نیز به صورت متفاوت بروز می کنند (تفاوت بین افراد در شرایط محیطی یکسان)، بازتاب تفاوت های موجود در ردیف های DNA هستند. این تفاوت ها می توانند به عنوان نشانه یا نشانگر به کار گرفته شوند. پس بطور کلی برای آنکه صفتی به عنوان نشانگر ژنتیک مورد استفاده قرار گیرد، باید دست کم دو ویژگی زیر را داشته باشد:

الف- در بین دو فرد متفاوت باشد.

ب- به توارث برسد (Chawla, 2000).

۱- نشانگرهای مورفولوژیکی

نشانگرهای مورفولوژیکی به علائمی از قبیل فلس‌ها، اتولیت‌ها، پارازیت‌ها و ترکیب عنصری قسمت‌های مختلف بدن گفته می‌شود که به طور مستقیم در فنوتیپ جانور وگیاه قابل تشخیص و توارث پذیر هستند. طول کل، طول روستروم، خصوصیات ریختی کاراپاس، تعداد دندانه روی روستروم و ... چند نمونه از صفات مرفولوژیک قابل اندازه‌گیری در میگو هستند (حسینی، ۱۳۷۶). اگر چه نشانگرهای مورفولوژیکی به طور سنتی در علوم زیستی مورد استفاده قرار گرفته‌اند ولی دارای محدودیت‌های اساسی همچون تعداد کم این نشانگرها، دقت کم، تاثیرپذیری شدید از محیط، مرحله رشد و سن و وجود غالبیت در بروز هستند. اساس و تفسیر ژنتیکی بسیاری از این نشانگرها نامشخص بوده و شناسایی افراد ناخالص از خالص ممکن نیست، اما به دلیل ساده و کم هزینه بودن و عدم نیاز به امکانات پیچیده و گران قیمت برای اندازه گیری‌ها، محققین بسیاری از این نشانگرها استفاده می‌نمایند (متین فر، ۱۳۷۸).

۲- نشانگرهای سیتوژنتیکی

وجود اختلاف در شکل، اندازه و تعداد کروموزم‌ها بیانگر وجود اختلاف ژنتیکی است. لذا، این نشانگرها نمایانگر تنوع در ساختمان کروموزوم‌ها هستند. مطالعات سیتوژنتیکی به منظور مقایسه اختلافات موجود بین افراد یک گروه و آشکار شدن مسیر تکاملی تغییرات در کروموزم‌های تشکیل دهنده ژنوم، تفکیک گونه‌ها و بعضاً جمعیت‌های مختلف از نظر تعداد و نوع کروموزوم‌ها انجام می‌گیرد (Gold steine and Schlotterer, 1998).

۳- نشانگرهای مولکولی

دسته ای دیگر از تفاوت ها، در سطح DNA وجود دارند که هیچ تظاهری ندارند، نه صفت خاصی را کنترل می کنند و نه در ردیف اسیدهای آمینه پروتئین ها تاثیری بر جای می گذارند. این دسته از تفاوت ها را می توان با روش های مختلف شناسایی و ردیابی کرد و به عنوان نشانگر مورد استفاده قرار داد. این نشانگرها که تعدادشان تقریباً نامحدود است فقط از راه تجزیه و تحلیل مستقیم DNA قابل ثبت هستند و بنابراین به آنها نشانگرهای مولکولی در سطح DNA گفته می شود. (Ferguson et al., 1995)

توسعه نشانگرهای مولکولی DNA، عصر جدیدی را در عرصه علم ژنتیک گشوده است، به طوری که به کمک این نشانگرها ایجاد نقشه های فیزیکی و ژنتیکی در موجودات زنده و همچنین شناسایی ژنهای کنترل کننده صفات کیفی و کمی امکان پذیر شده است. نشانگرهای DNA در مدت یک دهه، تکاملی شگرف و تحسین بر انگیز داشته اند (Ferguson et al., 1995). چندین نوع نشانگر وجود دارد که در ژنتیک آبزیان رایج تر هستند. در گذشته، نشانگرهای آلوزایم و mtDNA در تحقیقات آبزیان رایج بوده اند. انواع نشانگرهای جدیدی که در این زمینه ابداع شده اند AFLP،RAPD،RFLP، ریزماهواره ها (میکروساتلایتها)، SNP و EST هستند (Liu and Cordes, 2004). این نشانگرها اطلاعات با ارزشی را در زمینه های مختلف آبزی پروری فراهم می کند، که از جمله

توسعه نشانگرهای مولکولی DNA، عصر جدیدی را در عرصه علم ژنتیک گشوده است، به طوری که به کمک این نشانگرها ایجاد نقشه های فیزیکی و ژنتیکی در موجودات زنده و همچنین شناسایی ژنهای کنترل کننده صفات کیفی و کمی امکان پذیر شده است.

این اطلاعات می توان به تشخیص و جدا سازی ژنتیکی ذخایر آبزیان، نظارت و پایش مولدین، بررسی تاثیرات در جمعیت های طبیعی در اثر رهاسازی یا فرار ماهیان پرورشی و تعیین اجداد گونه های مختلف اشاره کرد (Gold steine and Schlotterer, 1998).

الف- نشانگرهای پروتئینی

برخی از تفاوت ها در ترتیب نوکلئوتیدی DNA بین دو موجود ممکن است که به صورت پروتئین هایی با اندازه های مختلف تجلی کند که از طریق بیوشیمیایی قابل ثبت هستند، رویت می شوند و مطالعه می گردند. این نشانگرها را نشانگر پروتئینی می نامند که از آن جمله می توان به سیستم آیزوزایم/ آلوزایم اشاره کرد. آنزیم های موجود در هر فرد ممکن است دارای بیش از یک فرم مولکولی باشند. فرم های مولکولی متفاوت یک آنزیم در هر فرد را ایزوزایم می نامند. ساختمان اولیه ایزوزایم ها از این جهت متفاوت هستند که به وسیله ژن های متفاوت کدگذاری می شوند و در نتیجه چنین ساختمان مولکولی متفاوت یک آنزیم که دارای فعالیت آنزیمی (کاتالیزوری) یکنواخت و مشخص هستند اصطلاحاً ایزوزایم گویند. به عبارت بهتر آلوزایم ها به زیر گروهی از ایزوزایم ها اطلاق می شوند که از آلل های مختلف یک لوکوس معین ایجاد می شوند. هنگامی که دو آلل از یک لوکس به وجود می آیند، شکل های مختلف الکتروفورتیکی هنوز نقش های معینی را ایفا می کنند. پروتئین های حاصل از این آلل ها تحت عنوان آلوازیم شناخته می شوند. از دهه ۱۹۶۰ الکتروفورزآلوزایم بر ژل نشاسته رایج ترین روش مولکولی بود که در ژنتیک شیلاتی به کار گرفته می شد. از بین نشانگرهای اولیه، آلوزایم ها به طور گسترده در مطالعه ژنتیک آبزیان به کار می روند (Hilliset al., 1990).

از تفاوت در وجود یا عدم وجود و فراوانی نسبی آلل ها، برای شناسایی تنوع ژنتیکی و شناسایی بین واحدهای ژنتیکی در سطح جمعیت، گونه و ... استفاده می شود. آلوزایم در آبزی پروری برای شناسایی اثر آمیزش خویشاوندی، شناسایی ذخایر ماهیان و بررسی های موروثی نیز به کار می رود. از معایب استفاده از آلوزایم ها، می توان به پلی مورفیسم اندک، همچنین نیاز به دانستن کمیت و کیفیت نمونه های مورد نظر و محدودیت روش های رنگ آمیزی اشاره کرد. به علاوه بعضی از تغییرات در توالی DNA که در سطح پروتئینی پنهان می شوند، کاهش دهنده میزان تنوع قابل مشاهده هستند. استفاده از این نشانگرها در بررسی جمعیت های ماهیان دریایی، تنوع ژنتیکی بسیار کمی را نشان داد و بر لزوم استفاده از نشانگرهایی با قابلیت تفکیک بیشتر در تحقیقات بعدی تاکید نمود. علی رغم مزیت های ذکر شده برای این نوع نشانگرها کاربرد آنها در ژنتیک آبزیان محدود شده است (Liu and Cordes, 2004).

ب- نشانگرهای DNA

این نشانگرها تفاوت های موجود در سطح DNA که نه صفت خاصی را کنترل می کنند و نه در ردیف اسیدهای آمینه رشته های پلی پپتیدی تاثیر بر جای می گذارند، تشخیص می دهند. در واقع نشانگرهای DNA، چند شکلی موجودات (پلی مورفیسم) را در سطح DNA تعیین می کنند. این نشانگرها ژنوتیپ موجودات را توصیف می کنند (Garcia-Machado et al., 1993).

نشانگرهای DNA به دو دسته کلی نشانگرهای DNA ژنومی و DNA میتوکندری تقسیم بندی می شوند که نشانگرهای DNA ژنومی نیز خود به دو دسته مبتنی بر واکنش زنجیره ای پلیمراز (PCR) و نشانگرهای DNA غیر مبتنی بر واکنش زنجیره ای پلیمراز طبقه بندی می شوند (Liu and Cordes, 2004).

RFLP - (Restriction fragment length polymorphism)

Bostein و همکاران (۱۹۸۰) روش تفاوت طول قطعات حاصل از هضم یا RFLP را برای مطالعه مستقیم DNA به عنوان نشانگرهای ژنتیکی جدید معرفی نمودند. نشانگرهای RFLP از نوع I هستند. هضم DNA با آنزیم های محدود کننده، قطعاتی را بوجود می آورد که تعداد و اندازه آنها در بین افراد، جمعیت ها و گونه های مختلف می تواند متفاوت باشد. به طور کلی RFLP به دو شکل

آلوزایم ها به زیر گروهی از ایزوزایم ها اطلاق می شوند که از آلل های مختلف یک لوکوس معین ایجاد می شوند.

صورت می گیرد:
هضم آنزیم و سپس الکتروفورز و استفاده از لکه گذاری سادرن (southern blot)
PCR قطعه مورد نظر و هضم آنزیمی
قابلیت این نشانگرها جهت بیان تنوع ژنتیکی در مقایسه با نشانگرهایی که به تازگی توسعه یافته اند، کمتر است. فراوانی بالا، توارث هم بارز، عدم تاثیر از شرایط محیطی و قابلیت شناسایی در تمام بافت های زنده از مزایای این نشانگر است و چون تفاوت اندازه قطعات بوجود آمده بسیار زیاد است، رتبه دهی آنها نسبتاً آسان است. از معایب اصلی آن این است که سطح نسبتا پایینی از پلی مورفیسم را نشان می دهند در نتیجه در تحقیقات شیلاتی کاربرد چندانی ندارند (Liu and Cordes, 2004).

RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA)

این نشانگر، برای اولین بار در سال ۱۹۹۰، با استفاده از واکنش زنجیره ای پلیمراز جهت افزایش قطعات ناشناخته DNA ژنومی به همراه یک جفت پرایمر (با اندازه ۱۰-۸ جفت باز) در انستیتوی تحقیقات بیولوژیک کالیفرنیا ارائه گردید. نشانگرهای RAPD از نوع Π هستند، چون باندهای آن که از طریق واکنش PCR تقویت می شوند از نواحی ژنومی بدون نام هستند. پلی مورفیسم مشاهده شده به دلیل تفاوت توالی در یک یا هر دو جایگاه اتصال پرایمر است که در صورت حضور یا فقدان یک باند متجلی می شود. از کاربرد آنها در مطالعات شیلاتی، این است که در شناسایی آمیزش خویشاوندی موثرهستند. این نشانگرها برای شناسایی گونه ماهیان، نرم تنان و بررسی ساختار جمعیت میگوها و جلبک های دریایی و حتی جهت بررسی اثر ژنتیکی استرس های محیطی و تعیین تنوع ژنتیکی به کار رفته اند (Liu and Cordes, 2004). RAPD ها تمام مزایای یک نشانگر مبتنی بر واکنش زنجیره ای پلیمراز را دارا هستند. همچنین پرایمرهای آن همیشه در دسترس هستند. در استفاده از این نشانگرها نیازی به شناخت قبلی از قطعه DNA مورد نظر نیست. از معایب این نشانگرها این است که اثبات وراثت مندلی لوکوس های آن مشکل است و تشخیص هموزیگوت ها و هتروزیگوت ها غیر ممکن می شود، همچنین عدم تکرارپذیری نشانگرهای RAPD، حساسیت فوق العاده و شباهت باندهایی که بر روی ژل الکتروفورزی دارای حرکت یکسان هستند، از معایب این نشانگرها است. از آنجایی که دمای اتصال پرایمرهای RAPD در واکنش زنجیره ای پلیمراز پایین است، قابلیت تکثیر کمی دارند. معایب گفته شده کاربرد این نشانگرها را در علوم شیلاتی محدود می کند (Liu and Cordes, 2004).

AFLP (Amplified fragment length polymorphism)

Vos و همکاران در سال ۱۹۹۵ برای اولین بار روش AFLP را با استفاده از آنزیم های EcoRI و MseI برای DNA ژنومی انجام دادند این نشانگرها مبتنی بر واکنش زنجیره ای پلیمراز هستند. هدف اولیه این نشانگر در زمینه تعیین تنوع ژنتیکی مشابه RFLP است اما به جای بررسی یک لوکوس در زمان معین، بررسی لوکوس های بسیاری را به طور همزمان فراهم می کند. قابلیت این نشانگرها در بررسی تنوع ژنتیکی بسیار زیاد است و از آنجایی که آنزیم های بسیاری برای بررسی ژن مورد نظر مورد استفاده قرار می گیرند ظرفیت این نشانگرها بی پایان است. همچنین با استفاده از AFLP تشخیص هموزیگوت ها از هتروزیگوت ها میسر نیست. مزیت اصلی این نشانگرها این است که پلی مورفیسم های بسیاری که توسط آن شناسایی شده اند، به دلیل دمای اتصال بالا در واکنش زنجیره ای پلیمراز، دارای قابلیت تکثیر (تکرار پذیری) بالایی هستند. AFLP همانند RAPD یک نشانگر غالب است و همچنین باندهای آن دو آللی در نظر گرفته می شود، در نتیجه ارزش PIC کمی دارند. از آنجایی که مانند RAPD به اطلاعات مولکولی پیشین (شناخت قبلی از DNA هدف) نیازی ندارند در بررسی همه گونه ها از جمله ماهیانی که کمتر مورد مطالعه قرار گرفته اند، کاربرد دارند (Liu and Cordes, 2004).

این نشانگرها برای شناسایی گونه ماهیان، نرم تنان و بررسی ساختار جمعیت میگوها و جلبک های دریایی و حتی جهت بررسی اثر ژنتیکی استرس های محیطی و تعیین تنوع ژنتیکی به کار رفته اند.

– ریز ماهواره ها

واژه ریز ماهواره اولین بار در سال ۱۹۸۵ توسط Jeffery مطرح گردید و مفهوم آن توالی کوتاه تکرار شونده در ژنوم موجودات می باشد. علت اصلی کاربرد این نشانگرها، قدرت آن در حل مشکلات بیولوژیکی و تجزیه و تحلیل های جمعیتی و همچنین مطالعات اکولوژیکی است. تنوع زیاد، قابلیت رتبه دهی آسان، هم بارز بودن و پراکندگی یکنواخت در سراسر ژنوم از دلایل عمده کاربرد وسیع این نشانگر محسوب می شود. ریزماهواره ها توالی هایی از یک قطعه اصلی (۶- ۱ جفت باز) هستند که چندین بار در کنار هم تکرار شده اند و حداکثر طول این قطعات ۱۰۰- ۶۰ جفت باز است. آنها همچنین با نام توالی های ساده (Tautz, 1989) و تکرارهای کوتاه پشت سر هم نیز خوانده می شوند. اگر این تکرارها به اندازه کافی بلند و پشت سر هم باشند، به علت پلی مورفیسم بالا، نشانگرهای ژنتیکی بسیار خوبی خواهند بود. میکروستلایت ها در تمام موجوداتی که تا به حال مطالعه شده، دیده شده اند. علاوه بر موارد بالا، اندازه کوچک لوکوس و پلی مورفیسم بالا از دیگر مزایای این نشانگرها محسوب می شوند. تعداد زیاد آلل ها در هر لوکوس ریزماهواره باعث می شود که این نشانگرها نسبت به هر نشانگر دیگری ارزش PIC بیشتری داشته باشند. اخیراً در بررسی های ژنتیکی یک نشانگر رایج محسوب می شوند. خصوصیات برخی از نشانگرهای DNA در جدول (۱-۶) ذکر شده است (Liu and Cordes, 2004).

جدول ۱- انواع نشانگرهای DNA، ویژگی ها و کاربرد آنها (Liu and Cordes, 2004).

نشانگر	نیازمند اطلاعات مولکولی قبلی؟	طریقه وراثت	نوع نشانگر	لوکوس مورد بررسی	میزان پلی مورفیسم	کاربردهای اصلی
آلوزایم	بلی	مندلی	I	یک لوکوس	اندک	**نقشه پیوستگی ژنی،مطالعات جمعیت**
mtDNA	خیر	مادری	-	-	-	-
RFLP	بلی	مندلی	I یا II	یک	اندک	**نقشه پیوستگی ژنی**
RAPD	خیر	مندلی	II	چند لوکوس	متوسط	**مطالعات جمعیت، شناسایی دورگه گیری**
AFLP	خیر	مندلی	II	چند لوکوس	زیاد	**نقشه پیوستگی ژنی، مطالعات جمعیت**
ریزماهواره (SSR)	بلی	مندلی	بیشتر II	یک	زیاد	**نقشه پیوستگی ژنی، مطالعات جمعیت**
EST	بلی	مندلی	I	یک	اندک	**نقشه پیوستگی ژنی و نقشه فیزیکی**
SNP	**بلی**	**مندلی**	**I یا II**	**یک**	**زیاد**	**نقشه برداری مقایسه‌ای و ژنی**

ژنوم میتوکندریایی

در دهه های گذشته DNA میتوکندری به صورت گسترده به عنوان شاخص ژنتیکی برای تعیین ساختار ژنتیکی موجودات، ارتباط تکاملی آن ها و الگوهای جریان ژنی مورد استفاده قرار گرفته است (Wilson et al., 2000; Shen et al., 2007; Gaiet al., 2008). این اطلاعات ممکن است از مطالعات بر روی ترتیب ژنی، تعیین توالی ژن های فردی، تکثیر قطعات برش داده شده میتوکندری یا تعیین توالی کامل میتوکندری منشأ گرفته باشد (Wilson et al., 2000).

بررسی ها نشان داده است که ژنوم میتوکندری و حتی ترتیب ژن های آن در مهره داران از دوزیستان تا انسان کاملاً حفظ شده است. در حالی که در شاخه بی مهرگان متفاوت است. ژنوم میتوکندری بی مهرگان هرگونه که تا به امروز مورد بررسی قرارگرفته است، با گونه دیگر متفاوت است. حتی این تفاوت ها در هر گونه نیز موجود است. همه این تنوع ها منعکس کننده تکامل میتوکندری در حیوانات بوده و بدین وسیله می توان نحوه تکامل حیوانات را با استفاده از ژنوم میتوکندری آنان بررسی کرد (Tjensvolletal., 2008).

برای بررسی تغییرات ژنوم میتوکندری از مکان های عمل آنزیم های محدود کننده (آندونوکلئازها) استفاده می شود. امروزه با استفاده از مدل های ریاضی تغییرات انجام شده مورد بررسی قرار گرفته و روابط تکاملی موجودات و جدایی ژنتیکی آن ها تخمین زده می شود (Nei, 1978). با توجه به مطالب فوق استفاده از ژنوم میتوکندری در سخت پوستان برای بررسی ساختار ژنتیکی آنها مرسوم شده است.

تا سال ۲۰۰۸ ژنوم میتوکندری بطور کامل برای ۱۴ گونه از سخت پوستان تعیین توالی شده است که شامل ۴ گونه Branchiopods، ۶ گونه Decapods، ۱ گونه Ostracod، ۱ گونه Stomatopod، ۱ گونه Cirriped و ۱ گونه Copepod است (Tjensvollet al., 2008). در بین سخت پوستان ژنوم میتوکندری آرتمیا (Artemiafranciscana) بیشتر مورد مطالعه قرار گرفته است (Batuecas, 1988)، اما اطلاعات کمی در مورد توالی میتوکندری برای

در دهه های گذشته DNA میتوکندری به صورت گسترده به عنوان شاخص ژنتیکی برای تعیین ساختار ژنتیکی موجودات، ارتباط تکاملی آن ها و الگوهای جریان ژنی مورد استفاده قرار گرفته است.

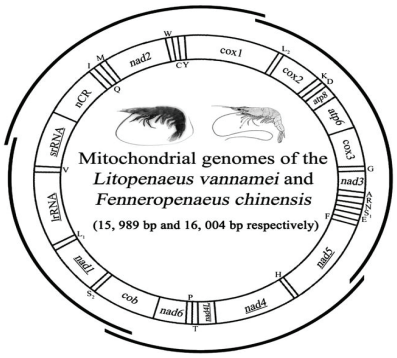
مقایسه روابط فیلوژنی در بین سخت پوستان و گروه های وابسته وجود دارد (Wilsonet al., 2000). بررسی ژنوم میتوکندری میگوهای خانواده پنائیده نتایج جالبی در برداشته است. برخلاف شباهت های زیاد مرفولوژیکی که نتیجه شباهت پروتئین هاست، ژنوم میتوکندری میگوهای خانواده پنائیده تنوع زیاد ژنتیکی بین گونه ها را آشکار ساخته است. (Garcia-Machado et al., 1993).

به طور کلی، مطالعات گونه های مهره دار نشان داده است که تغییر در توالی mtDNA نسبت به DNA ژنومی با سرعت بیشتری اتفاق می افتد (Brown, 1985) که می تواند به سرعت بیشتر جهش در mtDNA در نتیجه کمبود مکانیسم های جبران کننده در طی همانندسازی (Wilson et al., 2000) و یا کوچکتر بودن اندازه موثر جمعیت به دلیل وراثت محدود ژنوم هاپلوئید مادری میتوکندری باشد. تقریبا از تمام مولکول mtDNA به جز قسمت کنترل آن (D-loop) رونویسی انجام می شود. به طور کلی، قطعات رمز نشده ای مانند D- loop میزان بالاتری از تنوع ژنتیکی را نسبت به توالی های رمز شـــــده از جمله سیتوکـــــروم b نشان می دهند (Brown et al., 1993). با توجه به اینکه میتوکندری منشأ مادری دارد و نوترکیبی در آن انجام نمی گیرد، لذا این خاصیت باعث بروز اختلاف ژنتیکی بیشتر در ژنوم میتوکندری نسبت به ژنوم هسته شده است این نشانگرها به طور گسترده جهت بررسی ساختار ذخایر انواع مختلف ماهیان به کار رفته اند. ژن سیتوکروم (I) برای شناسایی ارتباطات فیلوژنی بین گونه هایی با شباهت زیاد مورفولوژیکی مناسب هستند. گرچه هر یک از لوکوس های این نشانگر می توانند تعداد زیادی آلل را نشان دهند، اما تعداد محدود نشانگرهای مربوط به مولکول mtDNA باعث شده است که ارزش PIC نشانگرهای mtDNA نسبت به آلوزایم ها بیشتر و نسبت به مارکرهای ژنومی مختلف کمتر باشد. به علاوه، از آنجایی که این مولکول تنها از طریق مادری وراثت می یابد، امکان دارد پلی ژنی ها و ساختارهای جمعیتی حاصل از نشانگر mtDNA، ژنوم هسته را مورد بررسی قرار ندهد (Birky, 1989).

بررسی ژنوم میتوکندری میگوهای خانواده پنائیده نتایج جالبی در برداشته است. برخلاف شباهت های زیاد مرفولوژیکی که نتیجه شباهت پروتئین هاست، ژنوم میتوکندری میگوهای خانواده پنائیده تنوع زیاد ژنتیکی بین گونه ها را آشکار ساخته است.

ساختار ژنوم میتوکندری در میگوهای جنس پنئوس

ژنوم میتوکندری یک مولکول دو رشته ای حلقوی است. در جانوران محتویات آن شامل، ۲ ژن RNA ریبوزومی(12S،16S rRNA) که S برآورد اندازه نسبی مولکول بر حسب واحدهای Svedberg است)، ۲۲ ژن tRNA و ۱۳ ژن تولید کننده پروتئین، بعلاوه یک ناحیه کنترلی (D-Loop، محل آغاز همانندسازی) است (Shen et al., 2007; Gaiet al., 2008; Tjensvollet al., 2008). بر خلاف DNA ژنومی، ژنوم میتوکندری فاقد هر گونه اینترون است، به این مفهوم که ژن ها به صورت متراکم قرار داشته، برخی توالی ها با هم همپوشانی دارند و توالی های بین ژنی اندکی در آن وجود دارد (اریک، ۱۳۸۴). در بین متازوآ حدود اندازه ژنوم میتوکندری 14-42kb است. این تفاوت در اندازه می تواند بدلیل تفاوت در طول ژن باشد اما در بیشتر موارد بدلیل تفاوت اندازه ناحیه D-Loop است. چیزی که تاکنون مشخص شده، اندازه ژنوم در سخت پوستان بین 14.6-16.2kb است (Tjensvollet al., 2008).



شکل ۱- نقشه ژنی ژنوم میتوکندری L. Vannamei و F. chinensis (گونه های جنس پنئوس) (Shen et al., 2007)

یافته های قابل ترویج

- گونه زائی، تکامل و رابطه فیلوژنتیکی میگوها

گونه، آخرین سطح رده بندی موجودات زنده است. مفهوم زیستی گونه بر این تاکید دارد که هر گونه از یک یا چند جمعیت تشکیل شده است و همه گونه ها به کمک برنامه ای

ژنتیکی که در طول زمان بین همه اعضا گونه تقسیم و اجرا می شود، واقعیت و همبستگی می یابند. در نتیجه اعضای هر گونه نسبت به هم مانند زوج های بالقوه عمل می کنند و به منظور تولید مثل همدیگر را می جویند. گونه همچنین واحدی اکولوژیک است که افراد آن هر تعداد که باشند، به صورتی واحد در برابر گونه هایی دیگر که با آن ها در یک نقطه زندگی می کنند، واکنش نشان می دهند. سرانجام این که گونه واحدی ژنتیکی است که از یک گنجینه ژنتیکی بزرگ قابل تبادل، تشکیل شده است. تعریفی که از این مفهوم نظری ناشی می شود این است که هر گونه شامل گروهی از جمعیت های طبیعی است که قادر به آمیزش هستند و از نظر تولید مثلی، از دیگر گروه های همانند متمایز می شوند (Hickman et al., 2004).

تبدیل یک گونه به دو یا چند گونه را گونه زایی می گویند. مکانیسم های گونه زایی بسیار پیچیده بوده و عوامل متعددی در آن دخیل هستند. ولی اساس گونه زایی از مکانیسم های، جدایی تولید مثلی منشا می گیرد.

دو مدل جغرافیایی مهم برای فرایند گونه زایی مطرح است:

۱.مدل هم جایی گونه زایی:وقتی که نژادهای متفاوت از یک گونه در کنار هم زندگی می کنند و کم کم از نظر ژنتیکی از همدیگر جدا می شوند و پلی مورفیسم جدیدی شکل می گیرد که قادر به تولید مثل با گونه اصلی نیست و تبدیل به گونه جدید می شوند که اصطلاحاً گفته می شود گونه زایی هم جا رخ داده است.

۲. مدل نا هم جایی گونه زایی: وقتی که جمعیت های یک گونه در اثر عوامل جداکننده فیزیکی در مکان های جغرافیایی جدا و مستقل از هم زندگی می کنند و براساس تغییرات ژنتیکی به دو گونه جدا و مستقل از هم تبدیل می شوند، اصطلاحاً گونه زایی را ناهم جا می خوانند.

طبقه بندی صحیح و دقیق موجودات زنده دارای اهمیت بسیار زیادی است. هدف رده بندی جدید نه تنها توصیف، تشخیص و مرتب کردن موجودات در سطوح مناسب است، بلکه شامل درک تاریخ تکامل و مکانیزم های آنها می شود (Verma, 2005). روش های اولیه بطور عمده تنها بر خصوصیات ظاهری، قابل مشاهده استوار بودند و به تفاوت های زیر گونه ای توجه نداشتند. بنابراین بسیاری از گونه ها بوسیله یک یا تعداد محدودی نمونه شناسایی می شدند. در حال حاضر به تقسیم بندی فرعی گونه ها مانند زیر گونه و جمعیت ها توجه زیادی شده است. گونه مورفولوژیکی سابق اکنون گونه بیولوژیکی نامیده می شود که خصوصیات اکولوژیکی، ژنتیکی، بیوشیمیایی و سایر خصوصیات را شامل می شود. همه این روش های جدید در توضیح ساختار واقعی گونه و موقعیت تکاملی آن سهم بزرگی دارند (Hickman et al., 2004).

نتیجه گیری

آن چیزی که در مورد تمام اعضای خانواده پنائیده مشترک است اختلافات ژنتیکی قابل ملاحظه با وجود شباهت های فنوتیپی (مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی و اکولوژیکی) است (Palumbi and Benzei, 1991; Tong et al., 2000; Laveryet al., 2004). احتمالاً یک عامل پایدار کننده روی شکل ظاهری و ویژگی های اکولوژیکی موثر است و به نظر می رسد شرایط دریایی یکی از عوامل ثبات خصوصیات مورفولوژیکی است. از طرف دیگر تفاوت های مولکولی به صورت معمول ظاهر می شوند، لذا پیرو ثبات بیشتر خصوصیات مورفولوژیک در مقایسه با سایر موجودات تفاوت های مذکور بزرگ تر به نظر می رسند. با توجه به این که، بعضی دانشمندان بعد از جدایی تولید مثلی، داشتن یک تفاوت مشخص مورفولوژیکی و مولکولی را برای تشخیص گونه کافی می دانند (Mink and Sites, 1996)، لزوم تحقیقات بیش تر مولکولی مورد تاکید قرار می گیرد. از طرف دیگر همانطور که در مقاله حاضر ذکر شده، نشانگرهای مولکولی هر کدام دارای ویژگی ها و محدودیت هایی هستند که انتخاب آنها جهت استفاده در تحقیقات مولکولی بستگی به هدف مطالعه، اطلاعات در دسترس، امکانات آزمایشگاهی و غیره دارد.

فهرست منابع

۱. اریک، ه.، ۱۳۸۴. اصول و روش های مطالعات ژنتیکی آبزیان(جلد اول و دوم). ترجمه ایرج هاشم زاده سقرلو. انتشارات نقش مهر، تهران. ۴۴۵ ص.

۲. حسینی، ج.، ۱۳۷۶. مطالعه کروموزومی و تهیه کاریوتیپ میگو ببری سبز خلیج فارس. پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه تهران، ۱۶۲ص.

۳. متین فر، ع.، ۱۳۷۸. بررسی و تعیین گونه ای وشناسایی جمعیت های میگوی ببری سبز در آب های شمالی خلیج فارس. پایان نامه دوره دکتری، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، ۱۵۳ص.

4. Batuecas, B., 1988. Genome organitation of Artemiamitochondrial DNA. Nucleic. Acids Reas. 16, 6515-6529.

5. Benzie, J.A.H., 2000. Population genetic structure in penaeid prawns. Aquaculture 30, 95- 119.

6. Chawla, H.S., 2000. Introduction to plant biotechnology. Pant University of Agricultureee& Technology, Pantnagar, India.

7. Cotton, R.G., 1993. Current methods of mutation detection. Mutat. Res. 285, 125– 144.

8. Ferguson, A., Taggart, J. B., Prodohl, P. A., Mcmeel,

O., Thompson, C., Stone,C., Mcginnity, P., Hynes, R. A., 1995. The application of molecular marker to the study and conservation of fish populations, with special reference to Salmo. J. Fish. Biol. 47, 103- 126.

9. Gai, Y.H., Song, D.X., Sun, H.Y., Zhou, K.Y., 2008. The complete mitochondrial genom of Symphylella sp.(Myriapoda:Symphyla): Extensive gene order rearrangement and evidence in favor of Progoneata. Mol. Phylogent. Evol. 49, 547- 585.

10. Garcia-Machado, E., Dennebouy, M., Oliva-Suarez, J.C., Monnerot, M., 1993. Mitochondrial 16S rRNA gene of two species of shrimp: sequence variable and secondary structure. Crustac. Biol. 65, 279-286.

11. Gold stein, D.B., Schlottere, C., 1998. Microsatellit: Evolution and Application. Oxford University press, 320pp.

12. Hickman, C., Roberts, L., Larson, A., 2004. Zoology. Higher Education. 835pp.

13. Hillis, D. M., Moritz, C., 1990. Molecular taxonomy. Sinauer Associates Inc Publishers. Sunderland, Massachusetts. U. S. A., 120 pp.

14. Lavery, S., Chan, T.K., Tam, Y.K., Chu, K.H., 2004. Phylogenetic relationship and evolutionary of the shrimp genus Penaeus s. l.drived from mitochondrial DNA. Mol. Phylogenet. Evol. 31, 39- 49.

15. Liu, Z.J., Cordes, J.F., 2004. DNA marker technological and their applications in aquaculture genetics. Aquaculter 238, 1- 37.

16. Mink, D.G., Sites, J.W., 1996. Species limits, phylogenetic relationship and origin of viviparity in the Scalaris complex of the lizard genus Scloporus (phrynosomatidae). Herpetological 52, 551- 557.

17. Morgan, T. H., 1961. Random segregation versus coupling in Mendelian inhhertance.Science 34, 384- 890.

18. Nei, M., 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. Genetics 89, 583- 590.

19. Palumbi, S. R., and Benzie, J., 1991. Large mitochondrial DNA differences between morphologically similar Penaeid shrimp. Mol.Mar. Biol. Biotechnol. 1, 27–34.

20. Shen, X., Ren, J., Cui, Z., Wang, B., 2007, The complete mitochondrial genomes of two common shrimps (Litopenaeusvannamei and Fenneropenaeuschinensis) and their phylogenomic considerations. Gene 403, 98-109.

21. Tam, Y. K., and Chu, K. H., 1993. Electrophoretic study on the phylogenetic relationships of some of the species of Penaeus and Metapenaeus (Decapoda: Penaeidae) from the South China Sea. Crustac. Biol. 13, 697–705.

22. Tautz, D., 1989. Hyper variability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. Nucleic Acids Res. 17, 6463– 6471.

23. Tjensvoll, K., Hondneland, K., Nilsen, F., Nylund, A., 2005. Genetic characterization of the mitochondrial DNA from Lepeophtheirussalmonis (Crustacea; Copepoda). A new gene organization revealed. Gene 353, 218- 230.

24. Tong, J.G., Chan, T.Y., Chu, K.H., 2000. A Perliminary Phylogenetic Analysis of Metapenaeopsis (Decapoda: Penaeidae) Based on Mitochondrial DNA Sequences of Selected Species From The Indo-West Pacific. Crustac. Biol. 20, 541- 549.

25. Ward, R.D., Ovenden, J., Meadows, J.R., Grewe, P.M., Lehnert, S.A., 2006. Population genetic structure of the brown tiger prawn, Penaeusesculentus, in tropical northern Australia. Mar. Biol. 148, 599- 607.

26. Wilson, K., Cahill, V., Ballment, E., Benzie, J., 2000, The complete sequence of the mitochondrial genome of the crustacean Penaeus monodon: are malacostracan crustacean more closely related to insect than to branchiopods. Mol. Biol. Evol., 863- 874.