کاربرد نشانگر ریزماهواره در تهیه شناسنامه ژنتیکی در مولدین ماهی باس دریایی آسیایی (*Lates calcalifer*)

سمیرا ناظم رعایا[1*]

۱. پژوهشکده آبزی پروری آب های جنوب کشور، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اهواز، ایران

* نویسنده مسئول: s.nazem@areeo.ac.ir

چکیده

با توجه به اهمیت توسعه و گسترش صنعت آبزی پروری، ضروری است که در برنامه‌های تکثیر مصنوعی ماهیان پرورشی به مسأله آمیزش خویشاوندی توجه ویژه شود تا از کاهش تنوع ژنتیکی و بروز مشکلات ناشی از آن در نسل‌های بعد جلوگیری شود. در واقع، کمبود امکانات و خلاء مقررات در ارتباط با جابجایی مسؤولانه آبزیان زنده، کم توجهی به مدیریت و کنترل بیماری ها در مزارع تکثیر و پرورش، در سال‌های اخیر باعث شیوع برخی ازبیماری‌ها و تحمیل هزینه‌های گزاف از طریق بروز تلفات سنگین و یا درمان آنها شده است. بنابراین، ضرورت دارد قبل از شروع برنامه تکثیر، پرورش و یا اصلاح نژادی در هر منطقه، خصوصیات گونه‌ها و جمعیت‌های مختلف شناسائی شود و با روش‌های ژنتیک مولکولی مورد ارزیابی قرارگیرند تا همزمان با خصوصیات زیستی آنها مانند توان تولیدمثل، نرخ رشد و درصد تلفات مطالعه شوند. دسترسی به مولدین و بچه ماهیان دارای شناسنامه ژنتیکی از مهم‌ترین مسایل در هر مرکز تکثیر می‌باشد. در این مقاله سعی بر آن شده است تا اهمیت تعیین تنوع ژنتیکی با نشانگر ریزماهواره در تهیه شناسنامه ژنتیکی مولدین به ویژه در ماهی باس دریایی آسیایی به بحث گذاشته شود.

واژگان کلیدی: تنوع ژنتیکی، شجره نامه، باس دریایی آسیایی، نشانگر

مقدمه

درواقع، یکی از نیازمندی‌های مدیریت مولدین، تخمین وابستگی ژنتیکی در میان آنها می‌باشد. با پایش ژنتیکی می‌توان تنوع ژنتیکی در طول نسل‌های متمادی مولدین را تخمین زد و اطلاعات مهمی در مورد کارآیی مدیریت تکثیر فراهم آورد. از آنجایی‌که در شرایط پرورشی عوامل اصلی مانند رقابت غذایی، فشار صیادان، شرایط زیست محیطی و غیره که بر به‌گزینی طبیعی در جمعیت‌های وحشی تاثیرگذار هستند وجود ندارد، بنابراین در بعضی از مولدین پرورشی به دلیل دخالت انسان بروز آمیزش و ایجاد ناهنجاری‌های تکاملی مشاهده می‌شود. در چنین شرایطی، بروز پدیده آمیزش خویشاوندی سبب افزایش درصد ناهنجاری در بچه ماهیان تولیدی می‌گردد و در نتیجه کاهش بازدهی تولید را به همراه دارد (Fisch et al., 2015).

در واقع آمیزش خویشاوندی، آمیزش بین خویشاوندان است نه بیشتر و نه کمتر، و به هیچ عنوان در برگیرنده و معرف مفاهیمی از قبیل: قابلیت زیست، رشد یا توان تولید نمی‌باشد. آمیزش خویشاوندی نه خوب است و نه بد، بلکه می‌تواند شبیه سایر برنامه‌های اصلاح نژاد به طور معقول یا نامعقول استفاده شود. تاثیر همخونی از دو جنبه کاهش تنوع ژنتیکی و کاهش عملکرد فنوتیپی حایز اهمیت است (امینی، ۱۳۷۴).

از نظر ژنتیکی، آمیزش خویشاوندی فقط باعث ایجاد «خلوص ژنتیکی»[1] می‌شود. ماهیان که با یکدیگر خویشاوند هستند، قسمتی از آلل‌های خود را از یک یا چند «جد مشترک»[2] دریافت می‌کنند. در صورتی که افراد خویشاوند با یکدیگد آمیزش کنند، آن دسته از آلل‌هایی که به واسطه جد مشترک به آنها رسیده اند، امکان جفت شدن پیدا می‌کنند. در این حالت فرزندان ایجاد شده در یک یا بسیاری از لکوس ها خالص می‌باشند و در اصطلاح «همخون»[3] نامیده می‌شوند (امینی، ۱۳۷۴). تقریباً هر موجود زنده ای حامل آلل‌های نهفته زیان آوری است که به صورت ناخالص پنهان می‌باشند. هر گاه این آلل ها بروز پیدا کنند با ایجاد فنوتیپ های غیر طبیعی و یا کشنده خواهند شد. افراد خویشاوند یا همخون احتمالا دارای آلل‌های نهفته زیان آور مشابه هستند. به دلیل اینکه آمیزش خویشاوندی از طریق جفت شدن آلل هایی که به دلیل نسب مشابهند باعث ایجاد خلوص ژنتیکی می‌شود، لذا در این گونه آمیزش ها، آلل‌های نهفته نادری که زیان آور هستند با احتمالی بیش از آمیزش افراد غریبه با یکدیگر جفت شده و بروز پیدا می‌کنند. احتمال جفت شدن آلل‌های نهفته زیان آور با افزایش رابطه خویشاوندی بین والدین بالا می‌رود. غیر طبیعی شدن فرزندان همخون قطعیت ندارد، اما هنگامی‌که والدین با یکدیگر خویشاوند باشند، احتمال بوجود آمدن زاده‌های غیرطبیعی و یا زاده‌های دارای قابلیت زیست پایین، بیشتر می‌شود و هر قدر این رابطه خویشاوندی نزدیک تر باشد این احتمال بالاتر خواهد رفت (امینی، ۱۳۷۴). جفت شدن آلل‌های زیان آور، باعث ایجاد یک روند عمومی در جهت کاهش قابلیت زیست، بازماندگی، رشد، تولید مثل، و به طور همزمان افزایش درصد ناهنجاری‌ها می‌شود. به طور کلی افزایش همخونی، باعث ایجاد «افت» در توان تولید و کاهش شایستگی خواهد شد (امینی، ۱۳۷۴؛ هاشم‌زاده سقرلو، ۱۳۸۴). کاهش شایستگی در اثر پدیده درون آمیزی به عنوان «فشار درون آمیزی» نامیده می‌شود. افزایش سطح درون آمیزی فشار درون آمیزی بارزتری را در پی دارد (هاشم زاده سقرلو، ۱۳۸۴).

با توجه به جمعیت اندک مولدین پرورشی و احتمال خویشاوندی نزدیک آن‌ها، تقویت احتمال بروز هم خونی به‌شکل بالقوه وجود دارد. در برنامه تکثیر سنتی در گونه‌های پرورشی، حفظ تنوع ژنتیکی برای نسل‌های متمادی،

[1] Homozygosity
[2] Common ancestor
[3] Inbred

بسیار مشکل است و با توجه به انتخاب افراد برتر بر اساس خصوصیات ریختی از خانواده‌های کوچک، تلاقی افراد هم-خون غیر قابل اجتناب می‌شود خطر هم‌خونی افزایش می-یابد (Gjedrem and Baranski, 2009). شود. به خوبی مشخص شده است که هم خونی منجر به کاهش صفات فنوتیپی بقا و رشد می‌گردد (Gao et al., 2015). به این پدیده «پسروی درون زادآوری»[1] می‌گویند که می‌تواند پتانسیل انتخاب مداوم درون جمعیت را محدود می‌کند (Charlesworth and Willis, 2009). بنابراین، درک اثرات همخونی بر وراثت پذیری صفات اقتصادی چون رشد و بقا به منظور طراحی برنامه‌های آمیزش مولدین در استراتژی‌های بلندمدت پرورشی ضروری است (Fang et al., 2021).

زمانی‌که اطلاعات شجره‌نامه‌ای قابل اعتماد در دسترس باشد، انتخاب می‌تواند درون هر خانواده انجام شود و این امکان وجود دارد که آمیزش خویشاوندی را به منظور کاهش هم‌خونی تنظیم کرد (Liu et al., 2012). محاسبه مقدار ضریب درون آمیزی یک فرد، بر اساس آگاهی از شجره‌ی آن فرد استوار است. بنابراین، ضروری است که در برنامه‌های تکثیر مصنوعی ماهیان پرورشی توجه و دقت بیشتری به مسأله آمیزش خویشاوندی شود تا از کاهش تنوع ژنتیکی و بروز مشکلات ناشی از آن در نسل‌های بعد جلوگیری شود.

تاکنون انواع متعددی از نشانگرها در موجودات مختلف شناسایی و به‌کار گرفته شده‌اند و کاربردهای متنوعی برای آنها پیشنهاد شده است. یکی از کاربرد عمده نشانگرها، استفاده از آنها در مطالعات مربوط به بررسی تنوع ژنتیکی می‌باشد. نشانگرهای مولکولی، چندشکلی موجودات را در سطح DNA تعیین می‌کنند و قادرند ژنوتیپ موجودات را توصیف نمایند. فراوانی بالا، هم بازر بودن اکثر این نشانگرها، امکان به کارگیری آنها در تمام مراحل زندگی حتی دوران جنینی، عدم تاثیر از شرایط محیطی امکان استفاده از نرم افزارهای رایانه‌ای مختلف در آنالیز داده ها، قدرت تمایز بالای این نشانگرها نمایان ساختن تفاوت بین ترتیب‌های غیر کدکننده علاوه براختلاف موجود در ترتیب‌های کدکننده از مزایای این نشانگرها می‌باشد (DeWoody and Avise, 2001). همچنین برنامه‌های اصلاح نژاد، مستلزم پیشرفت تعداد بسیاری از نشانگرهای DNA ذخایر، تعیین جایگاه صفات کمی (QTL) و بهبهود ژنتیکی از طریق انتخاب بر پایه نشانگرها می‌باشند. تعیین نقشه پیوند ژنی برای مشخص کردن جایگاه QTL برای انتخاب بر مبنای نشانگرها ضروری است (Dekkers and Hospital, 2002).

نشانگر ریزماهواره یا مایکروستلایتیکی از انواع نشانگرهاست برای تعیین تنوع ژنتیکی در گونه‌های بسیاری به کار می-رود. ریزماهواره‌ها توالی‌های کوتاه (۱-۶ جفت باز) تکرار پذیر از DNA هستند که بسیار فراوان و تقریبا در همه جای ژنوم توزیع شده‌اند. این نشانگرها در اکولوژی رفتاری، ژنتیک حفاظت، مطالعات فیلوژنیک، ژنتیک جمعیت و تهیه نقشه پیوند ژن‌ها مورد استفاده هستند (Goldstein and Schlotterer, 2000). ریزماهواره‌ها به دلیل فراوانی بالا و «چندشکلی»[2] و همچنین سهولت ارزیابی محتوی ژنتیکی آنها توسط واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز، در مطالعه تنوع ژنتیکی و ساخت نقشه‌های پیوند ژنی بسیار زیاد استفاده می‌شوند. نقشه‌های پیوند ژنی بر اساس ریزماهواره‌ها ابزاری دقیق برای اصلاح نژاد و مشخص کردن جایگاه صفات کمی (QTL)[3] صفات مورد هدف برای گونه‌ای مانند باس دریایی آسیایی می‌باشد (Wang et al., 2007).

در سال‌های اخیر، ماهی باس دریایی آسیایی به صنعت پرورش ماهیان دریایی وارد شده و در حال گسترش تولید و کسب جایگاه در بازار فروش و صادرات می‌باشد. با توجه به اهمیت این ماهی در صنعت پرورش ماهیان دریایی از

[1] Inbreeding Depression
[2] Polymorphism
[3] Quantitative Trait Loci

یک سو، و وابستگی به کشورهای تایلند و استرالیا برای تأمین بچه ماهی آن از سویی دیگر، در هر مرکز تکثیر ماهیان دریایی که در نظر دارد به امر تولید بچه ماهی آن مبادرت ورزد، مولدسازی و تعیین شناسنامه ژنتیکی برای ذخایر آن بسیار ضروری می‌باشد. دانستن اطلاعات شجره نامه‌ای برای تخمین پارامترهای ژنتیکی (مانند وراثت پذیری) و ارزش اصلاحی در تکثیر این گونه به منظور جلوگیری از افت ناشی از هم خونی به دلیل کاهش تنوع ژنتیکی و بروز مشکلات ناشی از آن ضروری است.

ماهی باس دریایی آسیایی (*Lates calcarifer*) که بارامونديی نیز نامیده می‌شود، یکی از نه گونه از خانواده «لاتیده»[1] است که به طور گسترده در نواحی ساحلی و آب‌های شیرین منطقه گرمسیری هند و آرام از خلیج فارس تا هندوستان و شمال استرالیا حضور دارد (Nelson 1994; Berra 2001). بلوغ جنسی این ماهی در ۳-۲ سالگی اتفاق می‌افتد و ماهیانی پیش نر هستند، به این معنا که در ابتدا به شکل نر بالغ شده و پس آنکه بزرگتر و مسن‌تر شد ماده می‌شود .در هر تخم‌ریزی، ماده‌ها بیش از یک میلیون تخم می‌گذارند. ژنوم فشرده آن (حدود ۷۰۰ مگاباز) در میان کوچکترین ژنوم‌ها در گونه‌های ماهیان خوراکی است و اندازه ژنوم آن (G- value)[2] بر اساس پایگاه داده اندازه ژنوم جانداران۰/۷ پیکوگرم می‌باشد (http://www.genomesize.com/fish.htm). ژنوم بارامونديی شامل ۲۴ جفت کروموزم می‌باشد (Carey and Mather, 1999). این ماهی به آسانی در شرایط پرورشی رشد می‌کند و از ماهیان بسیار مهم برای تولید غذای انسان می‌باشد.

یافته‌های قابل ترویج

کاربرد نشانگر ریزماهواره یا مایکروستلایت برای تعیین تنوع ژنتیکی ماهی باس دریایی آسیایی

به منظور تسهیل اصلاح نژاد ماهی باس دریایی آسیایی، برخی ابزارهای ژنتیکی از سال ۲۰۰۱ مانند نشانگرهای ریزماهواره (Yue et al., 2002; Zhu et al., 2009)، SNP ها در ژن‌ها (Xu et al., 2006)، BAC و چندین کتابخانه cDNA (Wang et al., 2008b; Xia et al., 2011)، نقشه‌های ژنتیکی و نقشه‌های فیزیکی بر مبنای «BAC»[3] (Wang et al., 2007; Wang et al., 2011; Xia et al., 2010) گسترش یافته‌اند. ریزماهواره‌ها به منظور مطالعه تنوع ژنتیکی در حیات وحش و تفریخ‌گاه‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند تا بدین‌وسیله شجره‌نامه‌ها برای تخمین پارامترهای ژنتیکی ساخته شوند (Yu et al., 2009; Wang et al., 2008c) و نقشه‌های ژنی و نقشه QTL از طریق آن تهیه گردد (Wang et al., 2006; Wang et al., 2007; Wang et al., 2008a; Wang et al., 2011).

ریزماهواره‌ها از معروف‌ترین نشانگرها برای روش انتساب والدین و مطالعات ژنتیک جمعیت جهت تهیه شناسنامه ژنتیکی در ماهی باس دریایی آسیایی می‌باشند (Zhou et al., 2009). اما، روش‌های متفاوت ارزیابی ریزماهواره‌ها در مراکز تحقیقاتی مختلف باعث به وجود آمدن عدم یکنواختی در گزارش‌ها و الگوهای آلل‌های به دست آمده می‌گردد (DeWoody and Avise, 2000). بنابراین، اغلب به سختی می‌توان نتایج آزمایشگاه‌های مختلف را مقایسه کرد که این موضوع به کاهش قابلیت استفاده از اطلاعات منجر می‌شود. برای اینکه مقایسات در سطح بین المللی انجام شود، مجموعه‌ای استاندارد از نشانگرهای ریزماهواره برای مطالعات ژنتیک جمعیت و انتساب والدین برای ذخایر زنده توسط انجمن بین‌المللی ژنتیک جانوران

[1] Latidae

[2] اندازه ژنوم به مقدار DNA موجود در یک ژنوم هاپلوئید به تعداد جفت باز، کیلوباز یا مگاباز یا به عنوان جرم DNA در پیکوگرم بیان می‌شود.

[3] Bacterial Artificial Chromosome

(ISAG)بر اساس شرایط تکثیر ژن، چندشکلی و الگوی تکثیر همزمان (مولتی پلکس) انتخاب می‌شوند (Zhou et al., 2009).

در سال ۲۰۰۸، به منظور تخمین موفقیت تولیدمثلی مولدین و وراثت پذیری صفات مرتبط با رشد، دو تلاقی مستقل فاکتوریل کامل (P1، P2) از تلاقی ۱۰ ماهی نر و ۱۰ ماهی ماده باس دریایی آسیایی در نظر گرفته شد (Wang et al., 2008c). ۹۰ روز پس از تفریخ، ویژگی‌های وزن بدن و طول کل ۸۰۴ فرد از تلاقی P1 و ۹۰۰ فرد از تلاقی P2 اندازه‌گیری شد و نمونه‌برداری از بافت هر فرد صورت گرفت. والدین و نتاج با نه نشانگر چندشکل ریزماهواره ژنوتایپ شدند. بیش از ۱۷۰۴ قطعه از نتاج از هر دو تلاقی (٪ ۹۸/۷) به والدین‌شان منتسب شدند. در تلاقی P1، تعداد ۱۹ از ۲۰ مولد در تولید نتاج نقش داشتند، درحالیکه در تلاقی P2 تنها پنج والد در تولید نتاج مشارکت داشتند. مشارکت اندک والدین در ایجاد نتاج می‌توانست منجر به کاهش تنوع ژنتیکی در نسل بعد شود. وراثت پذیری صفات مرتبط با رشد با استفاده از شجره‌نامه ایجاد شده با استفاده از ژنوتایپ نشانگر ریزماهواره محاسبه شد. وارثت پذیری برای هر دو تلاقی P1 و P2 به ترتیب، ۰/۱۶ ± ۰/۲۲ و ۰/۱۸ ± ۰/۲۵ برای وزن بدن؛ ۰/۱۴ ± ۰/۳۱ و ۰/۲۱ ± ۰/۲۴ برای طول کل و ۰/۲۲ ± ۰/۲۲و ۰/۰۹ ± ۰/۱۵برای فاکتور وضعیت بود. بنابراین، صفات مرتبط با رشد را می‌توان با استفاده از اثرات ژنتیکی افزایشی از طریق به‌گزینی بهبود بخشید و انتخاب مولد پیش از چرخه تولیدمثلی از این طریق امکان پذیر است.

نقشه ژنتیکی اولین نسل ماهی باس دریایی آسیایی با پانل نقشه حاوی سه والد (دو نر و یک ماده) و ۳۹ نتاج توسط Wang و همکاران (۲۰۰۷) ایجاد شده است. تعداد ۲۴۰ نشانگر ریزماهواره در ۲۴ گروه رابط مشخص شد. در میان این ۲۴ نشانگر، ۱۰ عدد از آنها در «توالی‌های بیان شده نشاندار»[1] (EST) و ژن‌های شناخته شده قرار داشتند. طول کل نقشه والد ماده و نر به ترتیب cM ۸۷۳/۸ و ۴۱۴/۵ با نشانگر میانگین در فاصله cM^2 ۶/۲۰ و ۴/۷۰ بود. برای انجام مقایسه نقشه ژنی، از توالی ژنوم کامل بادکنک ماهی *Tetraodon nigrovidiris* استفاده گردید. در مقایسه با توالی در نوسان ۲۴۰ عدد ماهی باس دریایی آسیایی، ۵۵ توالی هومولوگ در ۱۹ کروموزوم از ۲۱ کروموزوم *T. nigrovidiris* آشکار شد. نتایج آنها نشان داد نقشه ژنی نه فقط به تنهایی می‌تواند جایگاه صفات کمی را مشخص کند، بلکه می‌تواند منبع خوبی برای تکامل ژنوم این ماهی باشد.

در مطالعه‌ای دیگر، Zhou و همکاران (۲۰۰۹) به منظور برآورده کردن احتیاجات لازم برای انجام مقایسه‌های بین المللی در مطالعات ژنتیکی ماهی باس دریایی آسیایی، یک پنل استاندارد حاوی ۲۸ نشانگر ریزماهواره را انتخاب کردند و با استفاده از دی اِن اِی ۲۴ ماهی از تایلند، مالزی، اندونزی و استرالیا، آن را بررسی کردند. تعداد متوسط آللی این نشانگرها ۰/۷۱ ± ۱۰/۸۲ (محدوده: ۱۹-۶) و متوسط هتروزیگوسیتی مورد انتظار ۰/۲۰ ± ۰/۷۶ (محدوده: ۶۳/۰۰-۰/۱) بود. تمام نشانگرهای ریزماهواره، وراثت مندلی را نشان دادند. به علاوه، هشت کنترل با اندازه استاندارد همراه با کلون کردن یک سری آلل ریزماهواره در وکتور pGEM-T ایجاد شد تا اندازه آلل‌هایی که در آزمایشگاه‌های مختلف مشخص شده اند را کالیبره کند. هفت واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرازی مولتی پلکس، که هر کدام ۵-۳ نشانگر را آمپلی‌فای می‌کنند، بهینه شدند تا ریزماهواره‌ها با دقت و سریع ژنوتایپ شوند. انتساب والدین با استفاده از ده نشانگر ریزماهواره در دو تلاقی (۱۰×۱۰ و ۲۰×۲۰) قدرت بالای این نشانگرها را برای آشکارسازی ارتباط والدین با نتاج اثبات کرد. از طریق نتایج این تحقیقات، مجموعه‌ای استاندارد از نشانگرهای ریزماهواره برای مطالعات تنوع ژنتیکی ماهی باس دریایی آسیایی

[1] قطعات کوچکی از دی اِن اِی مکمل می‌باشد که کشف ژن ها و تعیین توالی ژن ها به کار می‌روند (EST: expressed sequence tag)

[2] centimorgan، واحد اندازه‌گیری طول قطعه ای از دی اِن اِی به ویژه فاصله بین دو موقعیت کروموزومی می‌باشد.

تدوین شده است که می‌تواند مجموعه واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز چندگانه انتساب والدین را آسان سازد.

در سال ۲۰۱۲، Liu و همکاران نیز از نه نشانگر ریزماهواره برای ژنوتایپ ۸۰ مولد باس دریایی آسیایی و تعداد۲۵۲۰ عدد از نتاج آنها از چهار تلاقی فاکتوریل کامل شامل (۱۰ نر × ۱۰ ماده) در تفریخگاه خود به منظور آنالیز مشارکت والدین در نتاج و همچنین بررسی شانس تنوع ژنتیکی از تلاقی‌های مختلف به منظور تسهیل برنامه اصلاح نژادی و تکثیر ماهی باس دریایی آسیایی استفاده کردند. اطلاعات آنها بیانگر این موضوع بود که انتخاب دقیق مولدین برای تخم ریزی و آنالیز مولکولی همیشگی والدین به منظور حفظ تنوع آللی و ژنتیکی در تکثیر ماهی باس دریایی آسیایی بسیار ضروری می‌باشد.

نتیجه گیری

از آنجاکه تمایل برای پرورش و تکثیر باس دریایی آسیایی بین پرورش دهندگان زیاد شده است و سیاستی برای جابجایی اصولی مولدین بین مراکز تکثیر دولتی و خصوصی وجود ندارد، امکان رسیدن آسیب به منبع ژنی این ماهی و ایجاد هم خونی در جمعیت‌های وارداتی وجود دارد. افزایش بروز هم خونی می‌تواند کیفیت آنها را تحت تأثیر قرار داده و حتی افزایش تلفات و ایجاد ناهنجاری ظاهری به همراه داشته باشد. این عوامل ناشی از اختلالات ژنتیکی می‌تواند باعث افزایش ضریب تبدیل غذایی، مصرف بیشتر غذا و افزایش هزینه‌های غیر اقتصادی تولید در مزارع گردد. چنانچه صفات اقتصادی رشد، بازماندگی تحت تأثیر همخونی قرار بگیرند، لزوم تهیه شناسنامه ژنتیکی برای بررسی میزان همخونی مولدین ضروری است. بنابراین، در راستای تولید بچه ماهیان با کیفیت مورد نیاز صنعت پرورش ماهیان دریایی، لازم است که ماهیانی که به‌عنوان مولد و پیش مولد در بانک ژن زنده مراکز تکثیر نگهداری می‌شوند آگاهانه و براساس اطلاعات ژنتیکی انتخاب شوند. بنابراین، از دیدگاه اقتصادی انجام تعیین تنوع ژنتیکی برای مولدین هر مرکز تکثیر و تهیه شناسنامه ژنتیکی برای آنها برای جلوگیری از هدرفت انرژی و سرمایه، دارای توجیه می‌باشد. همچنین، آگاهی از ساختار ژنتیکی جمعیت‌های مولدین پرورشی ماهی باس دریایی آسیایی برای حفظ تنوع ژنتیکی آنها در تفریخگاه ها بسیار مهم است و اطلاع از تنوع ژنتیکی ذخایر نگهداری شده به‌وسیله یک نشانگر ملکولی ریزماهواره که قابل اعتماد،کارا و کم هزینه نسبت به سایر نشانگرها می‌تواند راهگشای این قضیه باشد.

فهرست منابع

امینی، ف. سازمان چاپ و انتشارات وزارت فرهنگ و ارشاد اسلامی، شماره انتشار ۲۸۵، شرکت سهامی (سازمان شیلات ایران)، سال ۱۳۷۴، «مبانی ژنتیک و اصلاح نژاد ماهیان». ص ۲۳۵- ۲۳۱.

هاشم زاده سقرلو. ا، ۱۳۸۴.، انتشارات نقش مهر. شابک ۹۶۴-۶۱۴۵-۷۳-۶ ، ترجمه «اصول و روش‌های مطالعات ژنتیکی ماهیان» جلد اول، ص ۳۲۲ و۳۲۳.

BERRA, T.M., 2001. Freshwater fish distribution. Academic Press.

CAREY, G.R. & MATHER, P., 1999. Karyotypes of four Australian fish species *Melanotaenia duboulayi*, *Bidyanus bidyanus*, *Macquaria novemaculeata* and *lates calcarifer*. *Cytobios*, 100(395), 137-146.

CHARLESWORTH, D. & WILLIS, J.H., 2009. The genetics of inbreeding depression. *Nature reviews genetics*, 10(11), 783-796.

DEKKERS, J.C. & HOSPITAL, F., 2002. Multifactorial genetics: The use of molecular genetics in the improvement of agricultural populations. *Nature Reviews Genetics*, 3(1), 22-32.

DEWOODY, J.A. & AVISE, J.C., 2000. Microsatellite variation in marine, freshwater and anadromous fishes compared with other animals. *Journal of fish biology*, 56(3), 461-473.

FANG, J., HAN, Z. & LI, Q., 2021. Effect of inbreeding on performance and genetic parameters of growth and survival traits in the Pacific oyster *Crassostrea gigas* at larval stage. *Aquaculture Reports*, 19, 100590.

FISCH, K.M., KOZFKAY, C.C., IVY, J.A., RYDER, O.A. & WAPLES, R.S., 2015. Fish hatchery genetic management techniques: integrating theory with implementation. *North American Journal of Aquaculture*, 77(3), 343-357.

Earl, D.A., 2012. Structure harvester: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation genetics resources*, 4(2), 359-361.

GAO, B., LIU, P., LI, J., WANG, Q. & HAN, Z., 2015. Effect of inbreeding on growth and genetic diversity of *Portunus trituberculatus* based on the full-sibling inbreeding families. *Aquaculture international*, *23*(6), 1401-1410.

GJEDREM, T. & BARANSKI, M., 2009. The success of selective breeding in aquaculture. In Selective Breeding in Aquaculture: An Introduction (pp. 13-23). Springer, Dordrecht.

GOLDSTEIN, D.B. & SCHLÖTTERER, C., 2000. Microsatellites: Evolution and Applications. Oxford University Press, Oxford.

GOUDET, J., 2001. FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices, version 2.9. 3. http://www2. unil. ch/popgen/softwares/fstat. htm.

KEARSE, M., MOIR, R., WILSON, A., STONES-HAVAS, S., CHEUNG, M., STURROCK, S., BUXTON, S., COOPER, A., MARKOWITZ, S., DURAN, C. & THIERER, T., 2012. Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics*, 28(12), 1647-1649.

LI, Z., LIANG, H.W., ZOU, G.W., TAO, M., WANG, Y.M., XIE, B.W., QIN, C.J., QI, Z.M., YUE, X.J., ZOU, Y.C. & WANG, Y., 2012. A rapid PCR-quality DNA extraction method in fish. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 36(2), 365-367.

LIU, P., XIA, J.H., LIN, G., SUN, F., LIU, F., LIM, H.S., PANG, H.Y. & YUE, G.H., 2012. Molecular parentage analysis is essential in breeding Asian seabass. *PloS one*, 7(12). P.e51142.

NELSON, J., 1994. Fishes of the World. John Wiley & Sons, New York.

PEAKALL, R.O.D. & SMOUSE, P.E., 2006. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Resources*, 6(1), 288-295.

PRITCHARD, J.K., WEN, W. & FALUSH, D., 2003. Documentation for STRUCTURE software: Version 2.

VAN OOSTERHOUT, C., HUTCHINSON, W.F., WILLS, D.P. & SHIPLEY, P., 2004. MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes*, 4(3), 535-538.

VIEIRA, M.L.C., SANTINI, L., DINIZ, A.L. & MUNHOZ, C.D.F., 2016. Microsatellite markers: what they mean and why they are so useful. *Genetics and molecular biology*, 39(3), 312-328.

WANG, C.M., LO, L.C., FENG, F., ZHU, Z.Y. & YUE, G.H., 2008A. Identification and verification of QTL associated with growth traits in two genetic backgrounds of Barramundi (*Lates calcarifer*). *Animal Genetics*, 39(1), 34-39.

WANG, C.M., BAI, Z.Y., HE, X.P., LIN, G., XIA, J.H., SUN, F., LO, L.C., FENG, F., ZHU, Z.Y. & YUE, G.H., 2011. A high-resolution linkage map for comparative genome analysis and QTL fine mapping in Asian seabass, *Lates calcarifer*. *Bmc Genomics*, 12(1), 174- 192.

WANG, C.M., LO, L.C., FENG, F., GONG, P., LI, J., ZHU, Z.Y., LIN, G. & YUE, G.H., 2008B. Construction of a BAC library and mapping BAC clones to the linkage map of Barramundi, *Lates calcarifer*. *BMC genomics*, 9(1), 1-14.

WANG, C.M., LO, L.C., ZHU, Z.Y., LIN, G., FENG, F., LI, J., YANG, W.T., TAN, J., CHOU, R., LIM, H.S. & ORBAN, L., 2008c. Estimating reproductive success of brooders and heritability of growth traits in Asian sea bass (*Lates calcarifer*) using microsatellites. *Aquaculture Research*, 39(15), 1612-1619.

WANG, C.M., LO, L.C., ZHU, Z.Y. & YUE, G.H., 2006. A genome scan for quantitative trait loci affecting growth-related traits in an F1 family of Asian seabass (*Lates calcarifer*). *BMC genomics*, 7(1), 1-13.

WANG, C.M., ZHU, Z.Y., LO, L.C., FENG, F., LIN, G., YANG, W.T., LI, J. & YUE, G.H., 2007. A microsatellite linkage map of Barramundi, *Lates calcarifer*. *Genetics*, 175(2), 907-915.

XIA, J.H., HE, X.P., BAI, Z.Y., LIN, G. & YUE, G.H., 2011. Analysis of the Asian seabass transcriptome based on expressed sequence tags. *DNA research*, 18(6), 513-522.

XIA, J.H., FENG, F., LIN, G., WANG, C.M. & YUE, G.H., 2010. A first-generation BAC-based physical map of the Asian seabass (*Lates calcarifer*). *PLoS One*, 5(8), p.e11974.

XU, Y.X., ZHU, Z.Y., LO, L.C., WANG, C.M., LIN, G., FENG, F. & YUE, G.H., 2006. Characterization of two parvalbumin genes and their association with growth traits in Asian seabass (*Lates calcarifer*). *Animal Genetics*, 37(3), 266-268.

YUE, G., LI, Y., CHAO, T., CHOU, R. & ORBAN, L., 2002. Novel microsatellites from Asian sea bass (*Lates calcarifer*) and their application to brood stock analysis. *Marine Biotechnology*, 4(5), 503-511.

YUE, G.H., ZHU, Z.Y., LO, L.C., WANG, C.M., LIN, G., FENG, F., PANG, H.Y., LI, J., GONG, P., LIU, H.M. & TAN, J., 2009. Genetic variation and population structure of Asian seabass (*Lates calcarifer*) in the Asia-Pacific region. *Aquaculture*, 293(1-2), 22-28.

ZHU, Z.Y., WANG, C.M., LO, L.C., LIN, G., FENG, F., TAN, J., CHOU, R., LIM, H.S., ORBAN, L. & YUE, G.H., 2009. A standard panel of microsatellites for Asian seabass (*Lates calcarifer*). *Animal genetics*, 41(2), 208-212.

The use of microsatellite marker in estimating genetic relatedness for domesticated Asian sea bass (*Lates calcarifer*) broodstocks

Samira Nazemroaya*

South Iran Aquaculture Research center, Iran Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research, Education, and Extension Organization, Ahvaz, Iran

*Corresponding author: S.nazem@areeo.ac.ir

Abstract

Regarding the importance of aquaculture industry development, it is necessary to focus on inbreeding in artificial propagation to prevent genetic diversity reduction and problems arising from low genetic variation. Indeed, lack of facilities and the rules related to the responsible transportation of live aquatic animals, and carelessness on health- diseases control in farms has led to some diseases outbreaks which have imposed high costs for farmers, including huge losses or cure. Therefore, it is required to identify the species and population traits before initiating any culturing or breeding programs and evaluate them with molecular genetic methods to synchronizing study with biological characteristics such as reproductive potential, growth rate, and mortality. Achieving broodstocks and fry owning genetically relatedness is a principal issue in each hatchery. This article tries to discuss the significance of genetic diversity assessment by microsatellite marker for broodstocks' genetic relatedness, with an emphasis on Asian sea bass.

Keywords: Genetic diversity, pedigree, Asian sea bass, marker