



ارائه شده توسط:

سایت ترجمه فا

مرجع جدیدترین مقالات ترجمه شده

از نشریات معتبر

توصیف واریانس ژنتیکی موجود در درون یا میان جمعیت های آماری *Sperara seenghola*

که از طریق علائم مشخصه DNA چندوجهی تقویت شده تصادفی صورت می گیرد.

خلاصه

تنوع ژنتیکی در بین 5 جمعیت آماری با استفاده از علائم مشخصه DNA چندوجهی تقویت شده، به نمایش درآمد. 10 پرایمر (Primer) تصادفی مورد تفکیک قرار گرفتند و از میان آنها 5 پرایمر، الگوهای گروهی مختلفی را نشان دادند و 71-loci کلی را به عنوان میانگینی که 39.60 درصد آن چندوجهی بوده در میان جمعیت آماری و 86.84 درصد نیز درون جمعیت *Seprata seenghola* تشکیل دادند.

بالاترین جمعیت چندوجهی ژنتیکی در آب انبار Bhabbada به میزان 67.61 درصد دیده شد. در حالی که پایین ترین آنها به مقدار 49.30 درصد در آب انبار Gandhisagar یافت شد. اما بررسی واریانس مولکولی، تنوع (اختلاف) ژنتیکی پایینی را در آب انبار Bansagar نشان می دهد. اختلاف ژنتیکی نسبی و فراوانی ژنی محدود ($N_m = 0.7523$) به عنوان میانگینی، تنوع (اختلاف) ژنی کمی را در جمعیت ماهی ها نشان می دهد. روش دوتایی بی وزن با نمودار درختی (UPGMA) میانگین ها، نشاندهنده 5 کلاستر (Cluster) اصلی می باشد که هر کدام از آنها نماینده یک جمعیت می باشد. جمعیت ماهی های موجود در آب انبار Mohinisagar، فواصل ژنتیکی بسیاری را نسبت به جمعیت موجود در آب انبار خصوصی Bargi از خود نشان دادند و هویت ژنتیکی بالایی بین آب انبارهای Bansagar و Gandhisagar ایجاد شد.

بیشترین فاصله ژنتیکی موجود در میان جمعیت های آماری آب انبارهای Bargi و Mohinisagar، نشاندهنده عدم وجود هر گونه ارتباط قابل ملاحظه ای بین فاصله جغرافیایی و ژنتیک ژنوتایپ های جمع آوری شده سواحل آبی تفکیک شده از مناطق جغرافیایی و آبی مختلف می باشد. این بررسی، نشاندهنده وجود کمترین تنوع ژنتیکی موجود در بین جمعیت های مختلف جغرافیایی *S. seenghala* می باشد.

5 جمعیت آماری موجود، همگی دارای تنوع ژنتیکی پایینی هستند که منجر به ایجاد اطلاعات مفیدی در جهت نگهداری (بقا) بیشتر مقیاس های تعریف شده موجود در اجساد آبهای طبیعی Madhya Pradesh می شود.

1-مقدمه

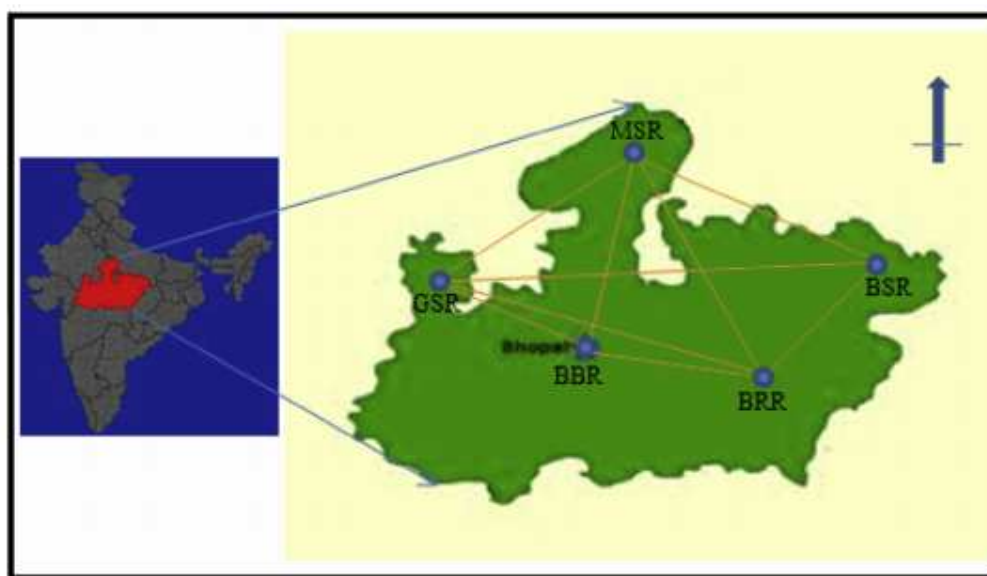
تنوع بیولوژیکی به دلیل وجود فعالیت های مربوط به پیدایش و تکامل انسان از محدودیت های مستقیم و غیرمستقیمی برخوردار بوده است. کاهش میزان عرصه های جمعیت های طبیعی احتمالا توانسته است منجر به کاهش گزینه های تکاملی در مواجهه با تغییرات محیطی ناشی از فقدان تنوع ژنتیکی، شود. بیشتر ماهیان مورد استفاده در مصارف انسانی از مناطق پرت نظیر رودخانه ها و سواحل آبی راکد، صید می شوند. در نتیجه، جمعیت های طبیعی با خطر حفظ و نگهداری مواجه هستند. مدیریت جمعیت های آماری پرت که شامل ماهیگیران ورزشی یا تجاری می شود، نشاندهنده خلا ژنتیکی است که برای مدیریت ماهیگیری و کاهش منابع ژنتیکی جمعیت ماهی های طبیعی به عنوان یکی از مهمترین مسایل مدیریت ماهیگیری به شمار می رود.

نگهداری موفقیت آمیز و مدیریت کارآمد گونه های خاص، شامل استراتژیهای تکاملی در جهت حفظ تنوع ژنتیکی برای تعیین سطح تغییرات ژنتیکی یا فراوانی ژنی اطلاعات ژنتیکی که در حل مسایل مربوط به شناسایی و تعریف واحد نگهداری (بقاء) برای گونه های خاص مشارکت دارند، می باشند. *Sperata seenghala* نیز تحت نام های *Mystus seenghala* و *Aorichthys seenghala* نیز شناخته می شود و عمدتاً یک نوع ماهی رودخانه ای است و نیز در زیست بوم های آبی روان باعث شده است. این گونه خاص در سراسر هندوستان، پاکستان، بنگلادش، افغانستان و نپال توزیع می شود. این نوع ماهی به دلیل گوشت بسیار لذیذش و داشتن حداقل استخوان به عنوان مهمترین و رایج ترین گونه ماهی خوراک در ایالات شمال و شمال غربی هندوستان به شمار می رود. از آنجایی که تقاضای کلی برای این نوع ماهی در بازار خانگی از طریق صید رودخانه ای مرتفع می شود. بنابراین این گونه با خطر تهدید مواجه است. در نتیجه، بررسی کنونی به منظور ترسیم اصول ژنتیکی جمعیت آماری صورت گرفت و ارتباط نامتعارف موجود بین *loci*، آزمایش ملزومات اولیه و پایه برای بررسی ژنتیک جمعیت، دوری از تفکرات و انتظارات *Hardy Weinberg*، تخمین تفاوت های ژنتیکی موجود در درون یا میان جمعیت ها با استفاده از فواصل ژنتیکی (*FST*) و بررسی فراوانی ژنی، برآورد فراوانی ژن ها و ژنوتایپ ها و اندازه های جمعیتی مفید به طور مختصر شرح داده شد.

2-متدها و مواد (ابزارها)

1-2-نمونه برداری موقعیت های جغرافیایی (مناطق جغرافیایی)

60 نمونه خاص از پنج جمعیت آماری طبیعی *S. seenghala* که از مناطق آبی مرکز هندوستان جمع آوری شدند به ترتیب عبارتند از: آب انبار Bhadbhada (n=8) در Bhopal ، آب انبار Mohinisagar (n=11) در Gwalior ، آب انبار Bansagar (n=15) در Shedhol و آب انبار Bargi (n=11) در Jabalpur و نیز رودخانه های Son ، Gandhisa ، Narmada و Chambal (جدول 1-شکل 1) نمونه ها در کیسه های یخی نگهداری و به منظور بررسی های مولکولی به آزمایشگاه منتقل شدند. بافت های مغز، کبد و گوشت ماهی های از آنها جداسازی شدند و در دمای 20- درجه سانتی گراد نگهداری شدند تا در آینده در آزمایش های مولکولی مورد استفاده قرار گیرند.



Source: Google images

شکل 1

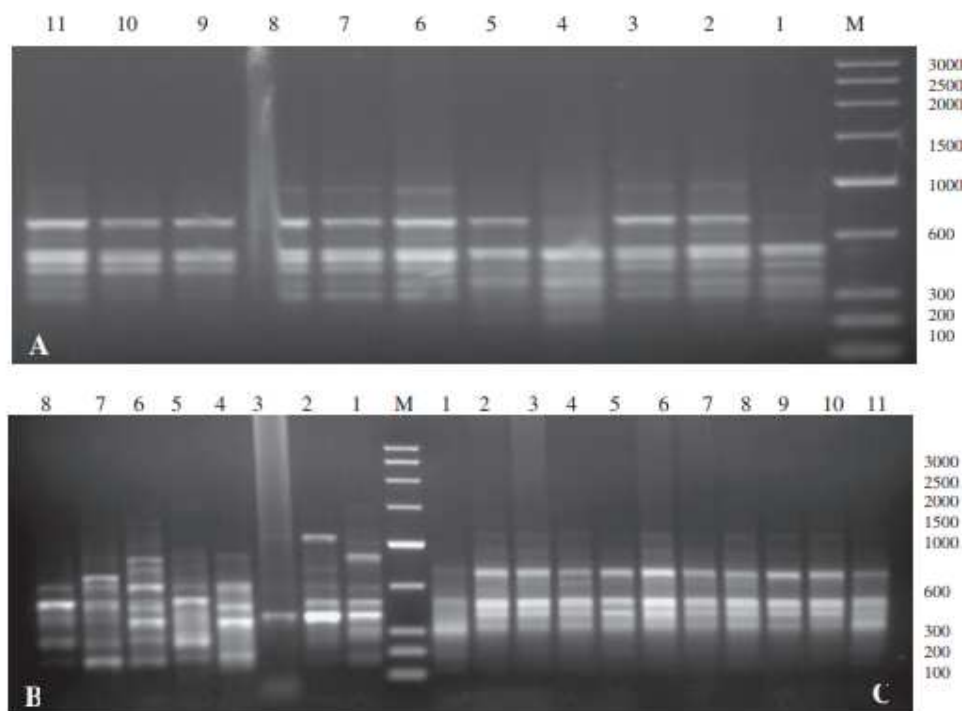
S. No.	Sample code	Locality/Reservoir	Constructed on	Geographical coordinates	Samples size (n)
1.	BBR	Bhadbhada Reservoir	Kolans River	23°12'30"N 77°22'44"E	08
2.	MSR	Mohinisagar Reservoir	Sindh River	23.32°N 77.97°E	11
3.	BSR	Bansagar Reservoir	Sone River	24°11'30"N 81°17'15"E	15
4.	BRR	Bargi Reservoir	Narmada River	22°56'30"N 79°55'30"E	11
5.	GSR	Gandhisagar Reservoir	Chambal River	24°42'24"N 75°33'12"E	15

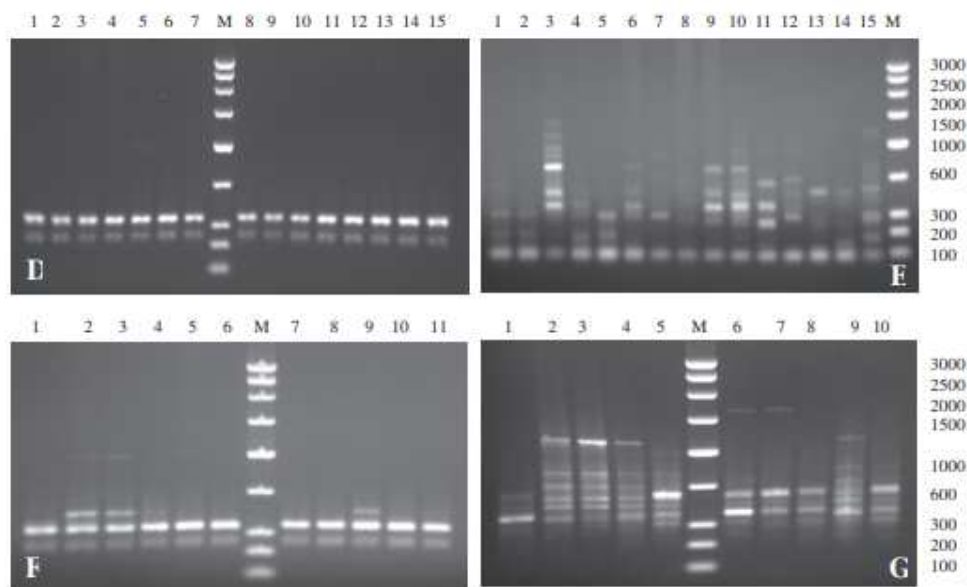
جدول 1

2-2 استخراج DNA ژنومی

تمامی DNA ژنومی استخراج شده به عنوان یک پروتکل با استفاده از برخی اصطلاحات صورت گرفته است. یک نمونه بافتی صدمیلی گرمی در یک لوله از قبل سرد شده eppendart قرار داده شد و به کمک استفاده از هاون

کوچکی درون لوله خرد و نرم شد و 0.5 میلی لیتر ماده گوارشی در طی فرایند خرد شدن بافت و 0.5 میلی لیتر دیگر نیز پس از خرد شدن آن، به لوله ها اضافه شد. نمونه ها، در دمای 50 درجه سانتی گراد در حمام خشک به مدت 30 تا 60 دقیقه نگهداری شدند که گهگاهی تکان داده می شدند و سپس به مدت 10 دقیقه در دمای محیط، با استفاده از 5000 rpm سانتریفوژ (تجزیه و تفکیک) شدند. جسم شناور در لوله تازه ای جمع آوری شد و مقدار مساوی phenol:chloroform:isoamyl-alcohol (25:24:1) به نمونه ها اضافه شدند. تفکیک و جداسازی مجددا در دمای 4 درجه سانتی گراد با استفاده از 10000 rpm به مدت 10 دقیقه انجام و جسم شناور (لایه آبکی) به لوله جدیدی منتقل شد. نصف پیمانۀ آمونیوم استات 7.5 M و 2 پیمانۀ اتانول سرد شده 100 درصد نیز به آن افزوده شد. لوله ها به مدت 1 تا 2 ساعت در پایین ترین قسمت فریزر نگهداری شدند و سپس به مدت 10 دقیقه با استفاده از 10000 rpm در دمای 4 درجه سانتی گراد مورد تفکیک قرار گرفتند. 1 میلی گرم اتانول 70 درصد برای شستشو به لوله ها اضافه شد و به مدت 10 دقیقه استفاده از 10000 rpm در دمای 4 درجه سانتی گراد مورد جداسازی قرار گرفت. جسم شناور بالایی دور ریخته شد و پلت (pellet) به مدت 1 تا 2 ساعت در دمای محیط خشک شد. 50 μ l از ماده Tris-EDTA به آن اضافه شد و سپس برای انحلال پلت ها به مدت 2 ساعت نگهداری شد.





شکل 2

3-2 توصیف و عیارگیری DNA ژنومی استخراج شده

DNA حاصله از بافت های ماهی در ng/μ با استفاده از نورسنج اشعه ماورابنفش (ND-1000) با طول موج های 260 و 280 nm مورد اندازه گیری قرار گرفت. خلوص DNA از طریق محاسبه نسبت جذب در 260 تا 280 nm تعیین و اندازه گیری شد. نسبت جذب در 260 به 280 nm باید برابر 1/8 باشد که معمولاً برای سنجش خلوص DNA با توجه به آلودگی پروتئین مورد استفاده قرار می گیرد چرا که پروتئین (بویژه آمینواسید معطر بودار) در 280 nm جذب می شود. نمونه DNA هنگامی که نسبت 260 به 280 nm به 1/8 نزدیک می شود به درجه خلوص می رسد و حال آنکه نمونه ای که دارای نسبت 1/5 به 2 است را به آسانی می توان برای PCR مورد استفاده قرار داد. پس از بررسی مقدار کیفیت DNA رقیق سازیهایی به همان روشی که برای تقویت و توسعه PCR یعنی استفاده از $50 ng/\mu l$ انجام شد، صورت می گیرد و یا نمونه ها برای حصول DNA خالص در معرض $proteinase/K$ یا $Rnase$ قرار می گیرند.

4-2- تقویت (توسعه) PCR

10 پرایمر تجاری اختیاری تصادفی موجود (در دسترس) برای شروع تقویت و توسعه PCR مورد استفاده قرار گرفتند. این پرایمرها به صورت تصادفی برمبنای توانایی عمل آوری مجددشان برای تقویت RAPD-PCR انتخاب شدند. پس از آنکه جداسازی اولیه با استفاده از 10 پرایمر صورت گرفت، 5 عدد از آنها

AM7658341 (RAN-8, RAN-6, RAN-5, RAN-4, RAN-3) به همراه ارقام دستیابی شان که به ترتیب AM765833 و AM765829 و AM750052 و AM750059 و AM750059 و AM765833 می باشند برای تقویت نهایی که منجر به کسب نتایج مثبت و قابل محاسبه می شود، مورد استفاده قرار گرفتند. ترکیب واکنش PCR از 12.50µl Red Dye، 1.0 µl پرایمر، 11.00 µl آب مقطر استریل و 1.0µl DNA تشکیل می شود. پس از گرمادهی اولیه به مدت 5 دقیقه در دمای 94 درجه سانتی گراد، PCR به میزان 45 دور چرخانده شد. این چرخش شامل مرحله تقلیب (مصنوعی سازی) 94 درجه سانتی گرادی به مدت 0/45 دقیقه، مرحله حرارت دهی 37 درجه سانتی گرادی به مدت 1 دقیقه و مرحله امتداد دهی (دراز کردن) 72 درجه سانتی گرادی به مدت 1/5 دقیقه در یک دستگاه چرخشی حرارتی (Eppendorf آلمان) می باشد. پس از پایان چرخش، مرحله نهایی انبساط و کشش به مدت 10 دقیقه در دمای 72 درجه سانتی گراد به مراحل قبلی اضافه می شود و نهایتاً محصولات PCR تا زمانی که با الکتروفورز ژل عمل آوری شوند، در دمای 4 درجه سانتی گراد، نگهداری و ذخیره می شوند.

5-2 قابل رویت شدن الگوی DNA

بقایای DNA گسترش یافته در 1/2 درصد ژل آگاروز از هم جداسازی می شوند و توسط Ethidium Bromide رنگی می شوند. یک علامت مشخصه DNA که برد پایینی دارد با هر ژل چرخانده می شود (100 و 200 و 300 و 400 و 600 و 1000 و 1500 و 3000 bp). الگوی گسترش یافته (تقویت شده) از طریق دستگاه تابنده اشعه ماورابنفش قابل رویت شد و توسط سیستم مستندسازی ژل مورد عکس برداری قرار گرفت و پس از آن محاسبه انگشت نگاری و وزن مولکولی نیز از طریق همین سیستم انجام گرفت.

6-2 بررسی های آماری

بقایای RAPD برای حضور یا عدم حضورشان در عکس های ژل مورد ارزیابی قرار گرفتند و نیز در میان مجموعه آماری S. seenghala مورد مقایسه قرار گرفتند. الگوهای گروهی RAPD ثبت و ضبط شدند و با استفاده از بررسی آماری واریانس مولکولی (AMO-VA) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و FST به منظور تعیین الگوهای مولکولی و اختلافات موجود در درون یا میان 5 جامعه آماری 60 گروهی (رشته ای) از طریق نرم افزار popgene محاسبه شد. تمامی محاسبات با استفاده از نرم افزار Arlequin 1.3 انجام پذیرفت.

واریانس کلی به واریانس ژنتیکی موجود در بدن یا مابین مناطق جغرافیایی و پوشش های موجود در آنها تقسیم بندی شد. متد POPGENE ver.1.31 برای محاسبه فراوانی آلل ها (عامل انتقال صفات ارثی) به کار گرفته شد و (H0) نیز به وسیله این متد مورد بررسی قرار گرفت و (H4) دورگه ای و تعداد واقعی آنها نیز پیش بینی شد.

6-2 بررسی ژنتیکی و ایجاد اطلاعات

تعداد آلل ها مشاهده شده، تعداد واقعی آنها (ne)، تنوع ژنی (h)، فهرست اطلاعاتی Shannon (I)، تعداد کلی loci و درصد هایشان، همگی با استفاده از بسته نرم افزاری POPGENE ver. 1.31 مورد تخمین و ارزیابی قرار گرفت. فراوانی ژنی (Nm)، هتروزیگوت های میان جمعیتی (Hs)، مجموع هتروزیگوت (Ht)، اختلاف نسبی (Gst) و تخمین فراوانی ژن نیز به منظور طبقه بندی تنوع ژنی و توزیع تنوع با استفاده از برنامه POPGENE مورد محاسبه قرار گرفت.

3-نتایج و مباحثات

در تحقیق کنونی از بررسی RAPD بر روی 60 نمونه خاص S. seenghala جمع آوری شده از 5 آب انبار که تقریباً شامل کل اکوسیستم آبی دست نخورده و یکدست Madhya Pradesh می باشند، استفاده شد. چرا که این آب انبارها در رودخانه های مختلفی که در ایالات هندوستان جریان دارند قرار گرفته اند. در میان 5 آب انبارها در رودخانه های مختلفی که در ایالات هندوستان جریان دارند قرار گرفته اند. در میان 5 آب انبار ذکر شده، حداقل فاصله جغرافیایی 190 کیلومتری بین آب انبارهای Bargi و Bansagar و حداکثر فاصله 576 کیلومتری بین آب انبارهای Gandhisagar و Bargi مشاهده شد. 10 برابر RAPD الیگونوکلئوتیدی موجود تجاری برای شروع تقویت یا گسترش PCR انتخاب شدند که در بین آنها 5 پرایمر RAN-3 (AM765834) و RAN-4 (AM750059) و RAN-5 (AM750052) و RAN-6 (AM765829) و RAN-8 (AM765833) که از نتایج بهتری برخوردار بودند، برای تقویت (گسترش) نهایی به منظور ترسیم تنوع ژنتیکی در پنج جمعیت آماری، مورد استفاده قرار گرفتند. بسیاری از بقایای RAPD را به دلیل چندوجهی بودن و تنوع در فراوانی آنها، نمی توان به طور قابل اطمینانی بین نمونه ها و بین ژل ها مورد مقایسه قرار داد و از بررسی های بیشتر در خصوص حضور یا عدم حضور فهرست، کنار گذاشته شدند.

1-3 خواص و ویژگی های مشهود RAPD-PCR و چند وجهی بودن آنها

تعداد قابل مقایسه ای از علائم مشخصه هر نوع در هر جمعیت آماری یافت شدند. ترکیب علایم فوق برای شناسایی و تعیین 60 نمونه خاص از تمامی مناطق *S. seenghala* کافی به نظر می رسید. هر ژنوتایپی تنها به یک جمعیت آماری خاص تعلق داشت. تمامی 5 پرایمر RAPD، قادر به شناسایی درصد بالایی از ژنوتایپ های چندتایی منحصر به فرد نسبت به همان تعداد اثر انگشت DNA چندوجهی بودند. پرایمر RAN-3 در هر 60 نمونه خاص تفکیک و جداسازی شد و دامنه ای را بین 260 تا 1200bp با دامنه کلی $loci$ $4-11\pm 14$ می باشد، تشکیل داد. جدول 2 نشاندهنده پولیمور فیزهای ژنتیکی موجود بین یا در میان پنج جمعیت آماری *S. seenghala* می باشد که حاوی این مطلب است که پرایمر RAN-3 حداقل اتحاد چندوجهی (3 تا) را در جمعیت آماری آب انبار Bargi نشان می دهد، در حالی که حداکثر این اتحاد (9 تا) در آب انبار Bansagar بچشم می خورد. RAN-4، گروهی را در رنج 150 تا 1800bp با دامنه کلی $loci$ $9-14\pm 16$ ایجاد نمود که در میان آنها کمترین گروه چندوجهی یعنی 8 تا در آب انبار Gandhisagar و بیشترین آنها یعنی 13 تا در آب انبار Bhabbada دیده شدند. RAN-5 گروهی را در رنج 200 تا 1500bp با دامنه کلی $loci$ $5-11\pm 13$ ایجاد نمود که در میان آنها کمترین گروه چندوجهی یعنی 5 تا در آب انبار Bhabbada و بیشترین آنها ایجاد نمود که در میان آنها کمترین گروه چندوجهی یعنی 5 تا در آب انبار Bhabbada و بیشترین آنها یعنی 11 تا در آب انبار Bargi دیده شدند. RAN-6 گروهی را در رنج 110 تا 1400bp با دامنه کلی $loci$ $8-11\pm 14$ ایجاد نمود که در میان آنها کمترین گروه چندوجهی یعنی 6 تا در آب انبار Mohinisagar و بیشترین آنها یعنی 11 تا در آب انبار Bansagar دیده شدند. به طور مشابهی RAN8 نیز گروهی را در رنج 200 تا 1466bp با دامنه کلی $loci$ $3-14\pm 14$ تشکیل داد که در میان آنها کمترین گروه چندوجهی یعنی 2 تا در آب انبار Bansagar و بیشترین آنها یعنی 13 تا در آب انبار Bhabbada بچشم می خوردند.

بررسی های کلی به وضوح نشان دهنده این مطلب بودند که حداقل تعداد کلی $loci$ یعنی 2 تا توسط RAN-8 در آب انبار Bansagar ایجاد شد در حالی که حداکثر آنها توسط RAN-4 و RAN-8 یعنی 13 تا در آب انبار Bhabbada به وجود آمدند. اما از طریق استفاده از RAN-3، RAN-5، RAN-6 و RAN-8 به ترتیب چندوجهی بودن صددرصدی را می توان در آب انبارهای Bargi، Gandhisagar، Bansagar و Bargi مشاهده نمود.

Locations	Between populations		Within population			
	Total loci	Polymorphic loci (%)	Total loci	Monomorphic loci (%)	Polymorphic loci (%)	Genetic distance (D)
BBR	71	48 (67.60)	56	08 (14.29)	48 (85.71)	0.400-0.694
MSR	71	40 (56.33)	48	08 (16.67)	40 (83.33)	0.142-0.756
BSR	71	36 (50.70)	41	05 (12.20)	36 (87.80)	0.272-0.814
BRR	71	39 (54.93)	43	04 (09.30)	39 (90.70)	0.267-0.827
GSR	71	35 (49.29)	40	05 (12.50)	35 (87.50)	0.278-0.750
Average	71	39.6 (55.77)	45.6	06 (13.16%)	39.60 (86.84%)	-

جدول 2

Population genetic parameters	BBR	MSR	BSR	BRR	GSR
Samples size (n)	8	11	15	11	15
Observed number of alleles A (na) [*]	1.6761 ± 0.4713	1.5634 ± 0.4995	1.5070 ± 0.5035	1.5493 ± 0.5011	1.4930 ± 0.5035
Effective number of alleles (ne) [*]	1.3143 ± 0.3450	1.3586 ± 0.3885	1.1278 ± 0.1976	1.2274 ± 0.2907	1.1759 ± 0.2755
Nei's (1973) gene diversity (H _{pop}) [*]	0.1928 ± 0.1817	0.2069 ± 0.2052	0.0921 ± 0.1249	0.1474 ± 0.1651	0.1145 ± 0.1547
Shannon Information Index (I) [*]	0.3007 ± 0.2566	0.3074 ± 0.2927	0.1584 ± 0.1942	0.2347 ± 0.2444	0.1859 ± 0.2290
Total number of loci	71	71	71	71	71
Number of polymorphic loci	48	40	36	39	35
% of polymorphic loci (P)	67.61	56.34	50.70	54.93	49.30

* Mean values with standard deviation (SD).

جدول 3

Population genetic parameters	Obtained values
Intra-population (H _S)	0.2509 ± 0.0249
Total heterozygosity (H _T)	0.1507 ± 0.0078
Relative differentiation (G _{ST})	0.3993
Estimate gene flow (N _m)	0.7523

جدول 4

2-3 تنوع ژنتیکی موجود در درون یا در میان جمعیت های آماری

فاصله ژنتیکی (D) بدست آمده از مقایسه های دوتایی مجزا در درون یا در میان جمعیت های آماری ایجاد کننده کلاسترهای (گروههای) UPGMA، در جهت بررسی تنوع ژنتیکی مورد استفاده قرار گرفتند. ما توانستیم از مجموع جمعیت های آماری تفکیک شده توسط 5 پرایمر RAPD، 71 loci را استخراج کنیم که در میان آنها کمترین تعداد loci چندوجهی یعنی 35 تا با 49.29 درصد چندوجهی بودن آب انبار Gandhisagar، مشاهده شد. در حالی که بیشترین تعداد loci چندوجهی یعنی 48 تا با 67.60 درصد چندوجهی بودن در آب انبار Bhabhada مشاهده شد. در این بررسی، فاصله ژنتیکی بسیار زیاد بود و در محدوده شخصی برای انجام مقایسه سطح جمعیت آماری مورد استفاده قرار گرفت. بیشترین فاصله ژنتیکی موجود یعنی 0.827 در میان نمونه های آب انبار Bargi واقع در Jabalpur مشاهده شد.

جمعیت های آماری آب انبار Bhabbada (BBR) توسعه یافته توسط 5 پرایمر انتخابی، 56 عدد loci را ایجاد نمودند که در این بین، 48 عدد از آنها چندوجهی 8 عدد بقیه، غیرچندوجهی بودند. اما در میان جامعه آماری آب انبار Bhabbada یک گروه چندوجهی یعنی 48 با 85.71 درصد چندوجهی بودن و بیشترین فاصله ژنتیکی (D) یعنی 0.694 دیده می شد. در تفکیک جمعیت آماری آب انبار Mohinisagar، 48 عدد loci بدست آمد که از بین آنها، 40 عدد چندوجهی و 8 عدد از آنها غیرچندوجهی بودند که درصد چندوجهی بودنشان 83.33 درصد و بیشترین فاصله ژنتیکی شان (D) 0.756 بود. جمعیت آماری Bansagar، 41 عدد loci را نشان داد که 36 عدد از آنها با 87.80 درصد چندوجهی و 4 عدد از آنها با 90.07 درصد چندوجهی بودن، یک وجهی بودند و حداکثر فاصله ژنتیکی شان 0.827 بود. اما جمعیت آماری ماهی های آب انبار Gandhisagar کل 40 عدد loci را تشکیل دادند که از میان آنها 35 عدد از آنها با 87.50 درصد چندوجهی و 5 عدد دیگر از آنها یک وجهی بودند و حداکثر فاصله ژنتیکی شان 0.750 بود.

3-3 تنوع ژنی و فهرست اطلاعاتی Shannon

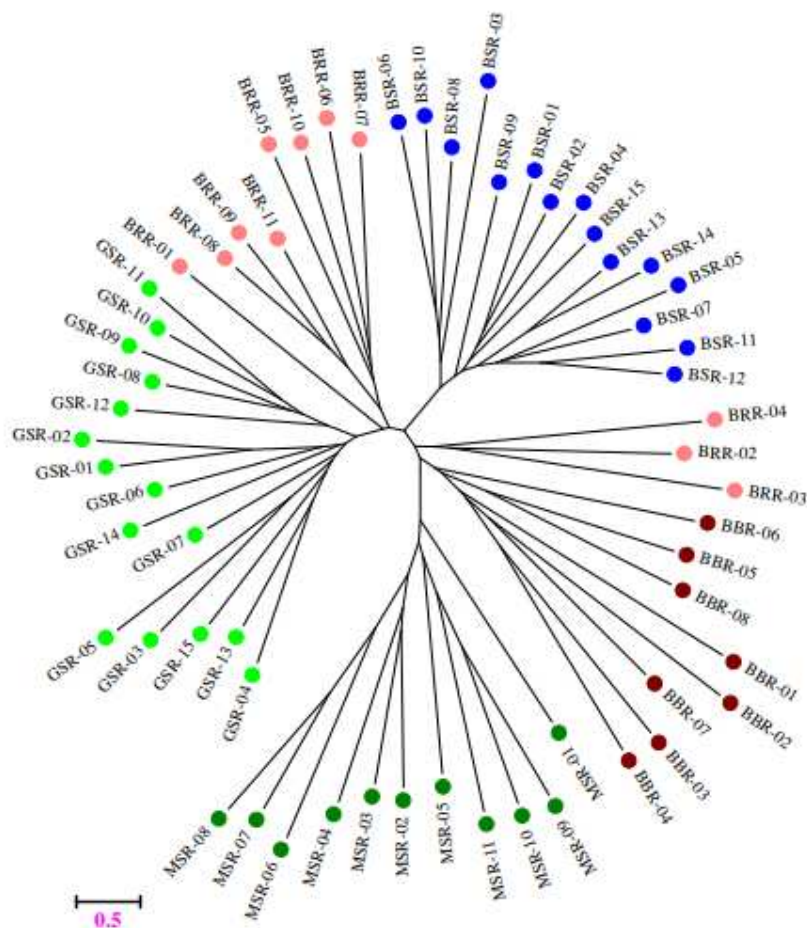
بررسی های آماری نظیر ANOVA (بررسی واریانس مولکولی) و فهرست اطلاعاتی Sahnnon (I) حداکثر تنوع ژنی (Hpop) را در جمعیت آماری آب انبار Mohinisagar به میزان $I=0.3074\pm 0.2927$ و $Hpop=0.2069\pm 9.2052$ و حداقل این مقدار را در آب انبار Bansagar به میزان $I=0.584\pm 0.1942$ و $Hpop=0.0921\pm 0.1249$ نشان دادند.

3-4 اختلاف نسبی (Gst) و فراوانی ژنی (Nm) در میان مکانهای جغرافیایی

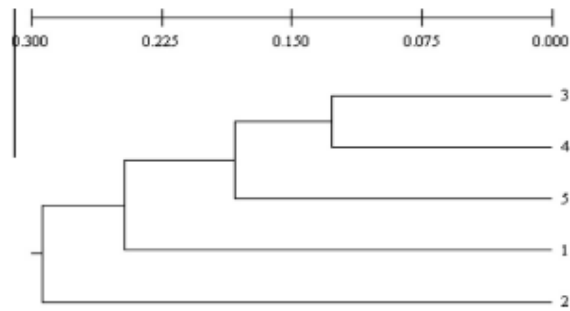
تنوع ژنی در جمعیت آماری فرعی (جزئی) به کمک استفاده از نرم افزار POPGENE برپایه انگشت نگاری RAPD DNA مورد محاسبه قرار گرفت. مقدار کلی مشاهده شده در درون جمعیت آماری 0.2509 ± 0.0249 و کل نژاد غیرخالص 0.1507 ± 0.0078 بود. اختلاف نسبی برآورد شده برابر با 0.3993 و فراوانی ژن برابر با 0.7523 بود.

بررسی های انجام شده درون جمعیتی، حداکثر تعداد loci بدست آمده از نقاط الحاقی Bhabbada را 56 عدد و loci یک وجهی و چندوجهی را به ترتیب 8 و 48 عدد نشان داد. حداقل تعداد loci بدست آمده از نقاط الحاقی آب انبار Gandhisagar، 40 عدد و حداقل تعداد loci چندوجهی 35 عدد بود. حداقل تعداد loci

موجود در آب انبار Bargi 4 عدد بود. بیشترین درصد چندوجهی بودن در سه Bargi، 90.70 درصد و فاصله (تفاوت) ژنتیکی به میزان 0.82759 بود. کمترین درصد چندوجهی بودن در آب انبار Bhadbada، 83.33 درصد و فاصله ژنتیکی 0.894 بود. بررسی های انجام شده در بین جمعیت آماری حداکثر تعداد loci چندوجهی را از نقاط الحاقی Bhadbada، 48 عدد و درصد آن را نیز 67.60 درصد نشان دادند. حداقل تعداد loci چندوجهی جمع آوری شده از نقاط الحاقی Gandhisagar، 35 عدد و درصد آن نیز برابر با 49.29 درصد بود.



شکل 3



شکل 4

Locations	BBR	MSR	BSR	BRR	GSR
BBR	-				
MSR	287	-			
BSR	398	376	-		
BRR	265	387	190	-	
GSR	235	283	576	488	-

جدول 5

Populations compared	Distances (d)	Identity (i)	Unbiased distance (d)	Unbiased identity (i)
BBR vs. MSR	0.2606	0.7706	0.2406	0.7862
BBR vs. BSR	0.2405	0.7863	0.2166	0.8052
BBR vs. BRR	0.2697	0.7636	0.2498	0.7790
BBR vs. GSR	0.2277	0.7963	0.2068	0.8132
MSR vs. BSR	0.2081	0.8121	0.1913	0.8259
MSR vs. BRR	0.3981	0.6716	0.3852	0.6803
MSR vs. GSR	0.3073	0.7355	0.2934	0.7457
BSR vs. BRR	0.1267	0.8810	0.1099	0.8959
BSR vs. GSR	0.1809	0.8846	0.1632	0.8494
BRR vs. GSR	0.1845	0.8315	0.1707	0.8431

جدول 6

3-5 بررسی فیلوژنتیکی

دو متد ساختار درختی مختلف به نام های فیلوژنی (Phylogeny) و همسایه (Neighbor) از طریق بکارگیری نرم افزار به نام های نرم افزار ابزارهای بررسی ژنتیکی جمعیت آماری و نرم افزار Mega انجام گرفت تا از طریق آنها بتوان انگشت نگاریهای DNA با پایه فیلوژنی پنج جمعیت آماری موجود در *S. seenghala* را شناسایی و تعیین نمود. در خصوص فیلوژنی، فهرست دوتایی تمامی پرایمرهای تصادفی و نیز پارامترهای تخمین زده شده مورد استفاده قرار گرفتند تا احتمالاً بتوان از طریق آنها، شاخه هایی را در میان فهرست های فواصل ژنتیکی و ضریب Jaccard ایجاد نمود. این مطالعات مولکولی فیلوژنتیکی حاوی این مطلب می باشند که تمامی 5 جمعیت آماری از لحاظ ژنتیکی کاملاً مجزا و متفاوت از یکدیگر هستند و به استثنای جمعیت آماری آب انبار

Bargi مابقی به همراه نمونه های خاصشان در 5 گروه اصلی توزیع می شوند. دو نمونه خاص بدست آمده از آب انبار Bargi (BRR-04, BRR-03) به طور قابل ملاحظه ای با 9 نمونه دیگر تفاوت دارند و گروه جداگانه ای را تشکیل می دهند. علاوه بر این، جمعیت های آماری 04 نظیر آب انبار (BBR) Bhadbhada، آب انبار Bansagar (GSR) دسته ها گروه های جداگانه ای را تشکیل می دهند و با یک گروه اصلی ترکیب می شوند. درحالی که نمونه های اصلی آب انبار Gandhisagar از مونوفیلی (یک وجهی بودن) حمایت نمی کنند و گروه جداگانه ای را با تمامی نمونه های خاصشان که مستقیماً با شاخه اصلی در ارتباط می باشند را تشکیل می دهند. در نتیجه، مغایرت بسیاری در ادبیات و نوشته های مربوط به وضعیت و موقعیت ژنتیکی جمعیت آماری آب انبار Gandhisagar در خصوص نمونه های خاص مختلف S. seenghala بچشم می خورد. این وضعیت مبهم ژنتیکی، نتایج پیامدهای جدی را برای اهداف مطالعاتی دربردارد. S. seenghala به طور گسترده ای، به عنوان یک نوع غذا در هندوستان و نیز خارج از آن به شمار می رود. علاوه بر این، وضعیت رده بندی اغلب حق تقدم های نگهداری را دیکته می کند. در نتیجه، این وضعیت، هرگونه اقدامی برای نگهداری یا بقا s.seenghala را بر هم می زند.

برپایه فاصله ژنتیکی میان جمعیتی، دندروگرام اتصال همجوار (NJ) با استفاده از TFGA (ابزارهای لازم برای بررسی ژنتیکی جمعیت آماری) ایجاد شد که نشاندهنده این مطلب بود که نمونه های آب انبار Mohinisagar همگی در یک گروه قرار گرفته بودند، در حالی که نمونه های آب انبارهای Bansagar, Bhadbhada، Bargi و Gandhisagar همگی در گروه دیگری قرار داشتند.

بررسی های صورت گرفته بر روی DNA چندوجهی تصادفی (Random) برای شفاف سازی تنوع ژنتیکی در درون یا میان جمعیت آماری ماهی تازه S. seenghala کافی و مناسب به نظر می رسند. اغلب اوقات لازم است قبل از آنکه بتوان از برنامه های حفاظتی مناسب به طرز موفقیت آمیزی استفاده کرد، از منتخبان رفع ابهام نمود. S. seenghala یک نوع ماهی رودخانه ای است، اگرچه در آبهای تازه سواحل زیستگاه های آبی نیز یافت می شود و این نوع ماهی در کشورهای پاکستان، بنگلادش، نپال، افغانستان و نیز هندوستان عرضه می شود. توصیف تنوع ژنتیکی در میان جمعیت های آماری و تعیین جمعیت آماری مجزا و واضح، برای ایجاد یک طرح حفاظتی، بسیار ضروری بنظر می رسد. اطلاعات ما، اختلاف ژنتیکی موجود در میان جمعیت های آماری S.

seenghala را که با استفاده از پرایمرهای تصادفی مشخص شدند، نشان می دهد. تکنیک واکنش DNA پلیمرز چندوجهی تقویت شده تصادفی، ابزار مفیدی برای تخمین میزان چندوجهی بودن تنوع ژنتیکی DNA و اختلاف موجود میان نمونه های ماهی شرح داده شده، می باشد.

بنابراین، به منظور تعیین چندوجهی بودن ژنتیکی در میان 5 جمعیت آماری که در سراسر Madhya Pradesh حضور داشتند، از پرایمرهای تصادفی استفاده شد. پنج پرایمر RAPD-PCR استاندارد بالاتری را در تنوع ژنتیکی جمعیت آماری و پارامترهای ساختاری نسبت به دیگر علائم مولکولی ممکن، دارا بودند. همانگونه که انتظار آن میرفت، میزان هتروزیگوت بودن (نژاد غیرخالص داشتن) که برابر با 0.1507 ± 0.0078 بود به طور قابل ملاحظه ای پایین تر از میزان مشابه برآورد شده در ماهی نوع *Catla catla* بود و در مقایسه با نمونه های ماهی تیلپیا از درصد چندوجهی بودن بالاتری یعنی 67.61 درصد در جمعیت آماری آب انبار Badhbada برخوردار بود. میزان تنوع ژنتیکی (Hpop) در آب انبار Bhadhadar برابر با 0.1928 ± 0.1817 ، در آب انبار Bargi برابر با 0.1474 ± 0.1651 در آب انبار Mohinisagar برابر با 0.2069 ± 0.2052 در آب انبار Bansagar برابر با 0.0921 ± 0.1249 و در آب انبار Gandhisagar برابر با 0.1145 ± 0.1547 بود که این میزان، بسیار پایین تر و کمتر از میزان تنوع ژنتیکی کلی یعنی 0.208، در جمعیت آماری *Catla catla* بود. میانگین فراوانی ژنی (Nm) برابر با 0.7523 بود و اختلاف نسبی (Gst) در حضور *S. seenghala* به پایین ترین میزان خود رسید، یعنی درست هنگامی که مطالعه ای با استفاده از علائم مشخصه SSR، بر روی ماهی صخره زی (ماهی راه راه خاردار) به نام *sebasticus marmoratus* انجام گرفت.

فاصله ژنتیکی که از طریق اطلاعات ترکیبی مورد بررسی و تخمین قرار گرفته بود برای 5 پرایمری که دارای رنج (range) 0.142 تا 0.828 بودند نیز تعیین شد. ارتباط مستقیم موجود بین جمعیت های آماری مختلف و فواصل جغرافیایی جمعیت آماری 2 تایی مجزا با استفاده از یک تست ذهنی مورد ارزیابی قرار گرفت و بیشترین فاصله 576 کیلومتری مابین آب انبار (GSR) Gandhisagar و (BRR) Bargi گواهی بر وجود فاصله ژنتیکی منفی بین BRR و GSR (همانگونه که در جدول 2 و 6 نشان داده شده) می باشد. این مطالعه مطمئناً میزان نسبی بالایی از چندوجهی بودن ژنتیکی را از لحاظ نسبت loci چندوجهی، فهرست های مشابهت موجود در

درون جمعیت های آماری و تنوع ژنی (Hpop) Nei در BBR را همانگونه که با دیگر جمعیت های آماری ماهیها مورد مقایسه قرار گرفت، نشان داد. به عنوان نتیجه گیری، در میان جمعیت های آماری مختلف، نه تنها نتوانستیم نمونه ها را به آسانی در میان 5 منطقه جغرافیایی از هم جدا کنیم بلکه نتایج نیز نشاندهنده این مطلب است که تنوع ژنتیکی در جمعیت های آماری مناطق جغرافیایی مختلف S.seenghala بسیار پایین است. تمامی 5 جمعیت آماری دارای تنوع ژنتیکی پایینی بودند که این اطلاعات می تواند در ایجاد طرحی برای بقا این گونه ماهی ها در Madhya Pradesh متمر ثمر و مفید باشند.

حمایت مالی دولتی از Madhya Pradesh قابل قدردانی است. نویسندگان از پروفیسور Pramod K. Verma که Director General و مشاور علمی و MPCST دولت Madhya Pradesh می باشد برای کمک ها و پشتیبانی هایش در طی تحقیق انجام شده قدردانی کردند. آنها همچنین از کارکنان آزمایشگاه و دانشجویان MSc فوق لیسانس، خانم Stuti Tomar از دانشگاه علمی Govt. هوشنگ آباد و آقای Kushagra sharma از دانشگاه Gandhi Vocational واقع در Guna نیز به دلیل کمک هایشان در طی کار، تشکر و قدردانی کردند.

این مقاله، از سری مقالات ترجمه شده رایگان سایت ترجمه فا میباشد که با فرمت PDF در اختیار شما عزیزان قرار گرفته است. در صورت تمایل میتوانید با کلیک بر روی دکمه های زیر از سایر مقالات نیز استفاده نمایید:

لیست مقالات ترجمه شده ✓

لیست مقالات ترجمه شده رایگان ✓

لیست جدیدترین مقالات انگلیسی ISI ✓

سایت ترجمه فا ؛ مرجع جدیدترین مقالات ترجمه شده از نشریات معتبر خارجی