چندشکلی ژن SLC24A5 در عضله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

مهرداد کریمخانی[۱]، سیامک یوسفی‌سیاهکلرودی*[۲]، قباد عسگری جعفرآبادی[۱]

۱- گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، واحد ورامین- پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران، صندوق پستی: ۳۳۸۱۷-۷۴۸۹

۲ - گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم زیستی، واحد ورامین- پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، پیشوا، ایران، صندوق پستی: ۳۳۸۱۷-۷۴۸۹

تاریخ دریافت: ۱۸ مرداد ۱۳۹۴ تاریخ پذیرش: ۹ آذر ۱۳۹۴

چکیده

در این تحقیق چندشکلی ژن SLC24A5 ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) مورد مطالعه قرار گرفت. از تعداد ۱۰۰ قطعه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان نمونه بافت عضله تهیه شد. پس از استخراج DNA، قطعه‌ای به اندازه ۱۰۰۰ bp از ناحیه پلی مورفیک این ژن با استفاده از تکنیک PCR تکثیر شد. قطعه تکثیر شده به‌وسیله آنزیم محدود کننده Taq1 مورد برش قرار گرفته و بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد الکتروفورز شد. نتایج حاصل حاکی از وجود دو آلل M و N در این جایگاه بود که فراوانی آن‌ها در کل جمعیت به‌ترتیب ۰/۷۲ و ۰/۲۸ محاسبه شد. دو ژنوتیپ MM و NN شناسایی شدند که فراوانی‌های ژنوتیپی محاسبه شده آن‌ها در کل جمعیت به‌ترتیب برابر ۰/۷۲ و ۰/۲۸ بود. آزمون مربع کای برای این ناحیه از ژن SLC24A5 در جمعیت ماهی مورد مطالعه، بیان‌گر عدم برقراری تعادل هاردی- واینبرگ بود که خود مبین این است که انتخاب ژنتیکی در راستای اصلاح نژاد برای ژن SLC24A5 در این جمعیت از ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌باشد. هم‌چنین تلاقی‌های غیرتصادفی، کوچک بودن جمعیت و افزایش هم‌خونی و افزایش هموزیگوت‌ها را در جامعه مورد مطالعه نشان می‌دهد. با در نظرگرفتن این موضوع که فعالیت SLC24A5 وراثت پذیری بالایی را از خود نشان می‌دهد پس انتخاب SLC24A5 می‌تواند باعث بهبود رنگ گوشت گردد. از آن‌جائی‌که ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان جزء ماهیان پرورشی مهم ایران محسوب شده، اهمیت این موضوع بیش از پیش نمایان می‌گردد.

کلمات کلیدی: چندشکلی، قزل‌آلای رنگین‌کمان(*Oncorhynchus mykiss*)،SLC24A5، PCR-RFLP

* عهده‌دار مکاتبات (✉).siamak.yousefi1@gmail.com

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

از بین منابع خوراکی پروتئین‌ها از اهمیت به‌سزایی برخوردار هستند و در بین منابع پروتئینی نیز پروتئین حیوانی به‌دلیل دارا بودن اسیدهای آمینه ضروری برتری دارد (صدیق و امین پور، ۱۳۶۸). از بین منابع پروتئین حیوانی، توصیه زیادی به مصرف منابع پروتئین آبزی می‌شود، اما علی‌رغم تمامی مزایایی که برای گوشت ماهی ذکر می‌شود، مصرف سرانه گوشت ماهی در ایران پایین‌تر از میانگین مصرف آن در سایر کشورهای دیگر است (سجادپور، ۱۳۹۲). یکی از مواردی که بر کیفیت و بازاریابی گوشت ماهی تاثیر می گذارد، رنگ فیله است که نقش مهمی در ارزیابی محصول در هنگام فروش ایفا می کند. معمولاً مصرف کنندگان به مصرف گوشت‌های قرمز رنگ و صورتی رنگ تمایل بیش‌تری نشان می‌دهند. به هرحال کیفیت ظاهری و رنگ فیله ماهی یکی از عوامل مهم است که باعث جذب مشتریان در هنگام خرید می شود (صالحی و مختاری، ۱۳۸۷). از این رو رنگدانه‌سازی و الگوهای متنوع آن در پوست و گوشت ماهیان در بین پرورش‌دهندگانی که به‌دنبال بهبود کیفیت در محصولات خود هستند از جایگاه ویژه‌ای برخوردار است (Buyukcapar *et al*., 2007).

مطالعات نشان می‌دهند که تنوع رنگ در ماهیان، علاوه بر عوامل غیرژنتیکی مانند تغذیه و مراحل رشد جانور، اساس ژنتیکی داشته و ژن‌های خاصی تنوع در رنگدانه‌سازی را کنترل می کنند. مطالعات اولیه جهت مطالعه و شناسایی ژن‌های دخیل در رنگدانه‌سازی بر روی ماهی‌ها نیز انجام شده است که علت این مسئله فاصله نسل کوتاه، تعداد فرزندان زیاد و وجود مخزن ژنی بکر می‌باشد. در ضمن رنگدانه‌سازی در ماهی‌ها بسیار متنوع‌تر از پستانداران بوده و طیف وسیعی از زانتواریتروفورزهای زرد تا قرمز و ایریدوفورزهای انعکاسی را شامل می‌شود درحالی‌که در پستانداران و پرندگان فقط ملانوسیت‌های سیاه تا قهوه‌ای مشاهده می‌شود (O'Quin *et al.,* 2013).

یکی از ژن‌های مؤثر بر رنگدانه‌سازی، ژن SLC24A5 می‌باشد که ابتدا در ماهیان استخوانی و سپس در سایر پستانداران شناسایی شده است. فرم جهش یافته آن به‌عنوان عامل بروز فنوتیپ طلایی در ماهی گورخری و رنگ پوست روشن در انسان شناخته می‌شود (Lamason *et al.,* 2005). درحالی‌که در جمعیت‌های آفریقایی با رنگ پوست تیره فرم وحشی آن غالب است. بروز جهش در این ژن منجر به تغییرات ساختاری در پلی‌پپتید حاصل (NCKX5) از ژن SLC24A5 شده و از این طریق بر تولید رنگریزه ملانین تاثیر می‌گذارد. ژن SLC24A5 یکی از مهم‌ترین ژن‌های دخیل در رنگدانه‌سازی است که اطلاعات نسبتاً مناسبی از آن در گونه‌های مختلف جانداران در دسترس است (Sturm, 2009; Ginger *et al.,* 2008; Nicoloso *et al.,* 2008; Soejima *et al.,* 2007; Lamason *et al.,* 2005). اما در ارتباط با گونه قزل‌آلای رنگین‌کمان، چه نمونه‌هایی که در ایران پرورش داده می‌شوند، چه نمونه‌های دیگر که در سایر نقاط جهان پرورش داده می‌شوند اطلاعات مولکولی در مورد این ژن موجود نیست. پرورش این گونه در ایران، وجود تجهیزات آزمایشگاهی و در دسترس بودن دانش لازم، انگیزه کافی را برای انجام این تحقیق ایجاد کرد. نتایج این تحقیق اطلاعات مفیدی را در ارتباط با چندشکل بودن ژن، فراوانی آللی و ژنوتیپی در اختیار قرار خواهد داد که این اطلاعات را می‌توان در بهبود نژادی قزل‌آلای رنگین‌کمان به‌منظور افزایش

Archive of SID
www.SID.ir

بازارپسندی آن مورد استفاده قرار داد. لذا تحقیق حاضر به‌منظور دستیابی به اهدافی مانند بررسی چندشکلی ژن SLC24A5 در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، بررسی فراوانی آللی ژن SLC24A5 در جمعیت ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، بررسی وجود و یا عدم وجود آلل‌های اختصاصی ژن SLC24A5 در جمعیت ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان انجام شد.

مواد و روش‌ها

جهت انجام این مطالعه در سال ۱۳۹۳، تعداد ۱۰۰ قطعه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) به‌صورت تصادفی از میدان میوه و تره بار قزل قلعه تهران تهیه گردیدند (به‌طوری‌که اطمینان حاصل شد تا نمونه ماهی‌ها از کارگاه‌های مختلف باشند) و تا شروع مراحل بعدی آزمایش در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. سپس نمونه‌های بافتی یخ‌زدایی شده و از هر نمونه به‌میزان ۵۰ میلی‌گرم از عضله ماهی، به میکروتیوب‌هایی با حجم ۱/۵ میلی‌لیتر منتقل گردید. به‌منظور استخراج DNA از بافت‌ها از کیت استخراج DNA شرکت BioFlux استفاده شد. DNA استحصالی به‌همراه محلول Elution Buffer از فیلتر عبور کرده و در انتهای تیوب‌ها جای گرفت که سریعاً به فریزر و دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد منتقل شد. برای تعیین مقدار و کیفیت DNA استخراج شده، از روش متداول الکتروفورز ژل آگارز استفاده شد (Moore *et al.*, 1991).

در این تحقیق جهت تکثیر ناحیه پلی‌مورفیک ژن ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به طول ۵۷۰ جفت باز از آغازگرهای اختصاصی SLC24A5 (پیش‌رو) و SLC24A5 (پس‌رو) (Tsetskhladze *et al.*, 2012) و با توالی زیر استفاده گردید:

SLC24A5 F (5′-GCTGTCTATAACCTGCTGTGCATC-3′)
SLC24A5 R (5′-GCATCACGTACTCGCTGATCTTC-3′)

برای انجام PCR ژن SLC24A5، DNA استحصالی، به تیوب‌های مخصوص PCR منتقل شده و در کوتاه‌ترین زمان ممکن تیوب‌ها، به دستگاه Thermal Cycler جهت انجام واکنش PCR منتقل شد. شرایط چرخه دمایی و مشخصات داده شده به دستگاه ترموسایکلر برای واکنش زنجیره‌ای پلی مراز به ترتیب مرحله اول واسرشته سازی ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، مرحله دوم اتصال پرایمرها به هدف ۵۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۰ ثانیه و ۳۵ چرخه و مرحله سوم بسط پرایمر ۷۲ ثانیه ۵۰ ثانیه تا ۴ دقیقه و ۳۵ چرخه تنظیم گردید.

سپس محصول تکثیر شده PCR به مدت ۱۴ تا ۱۶ ساعت در مجاورت با آنزیم محدودکننده Taq1 قرار داده شد. محصول به‌دست آمده از عمل هضم آنزیمی روی ژل آگاروز ۱٪ الکتروفورز شده و با باندهای تشکیل شده به‌وسیله اتیدیوم بروماید قابل مشاهده گردید و با استفاده از نشانگرها طول قطعات ایجاد شده اندازه‌گیری شد. برای تعیین ژنوتیپ در این جایگاه ژنی از تکنیک PCR-RFLP استفاده گردید. تعیین ژنوتیپ با توجه به حضور و یا عدم حضور باندها مشخص شد. برای تخمین فراوانی آللی و ژنوتیپی در این جامعه وهم‌چنین محاسبه تعادل هاردی – واینبرگ از آزمون کای‌اسکور (Chi-Squre) و آزمون نسبت درست‌نمایی جی‌اسکور (G-Squre) با

Archive of SID

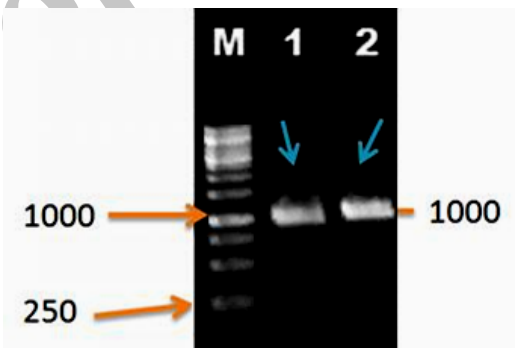
www.SID.ir

استفاده از نرم‌افزار Pop Gene 32 صورت گرفت (Yeh *et al.*, 1999).

نتایج

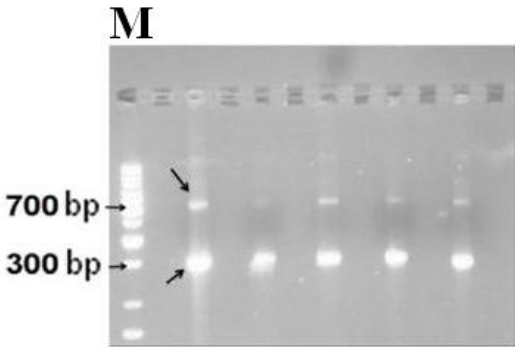
در این بررسی ۱۰۰ نمونه از عضله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان برای استخراج DNA مورد استفاده قرار گرفت. غلظت DNA تمام نمونه‌ها ۱۰۰ تا ۱۸۰ نانوگرم بود که با توجه به نتایج الکتروفورز ژل آگارز از کیفیت مناسبی برخوردار بودند.

در این تحقیق باند ۱۰۰۰ جفت بازی حاصل از تکثیر قطعه مورد نظر از ژن slc24a5 با توجه به پرایمر اختصاصی در نمونه‌ها روی ژل تشکیل شد (شکل ۱).

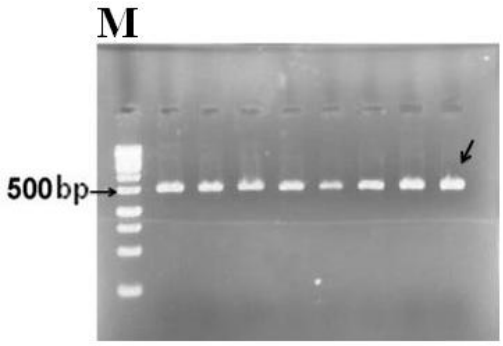


شکل ۱: نتیجه واکنش PCR بر روی ژن SLC (پرایمرهای اختصاصی این ژن توانسته‌اند قطعات ۱۰۰۰ و ۲۵۰ جفت باز را تکثیر دهند M: شاخص مولکولی ۱۰۰ جفت بازی)

آنزیم برش‌دهنده *Taq1* قطعات تکثیر شده حاصل از واکنش PCR را که دارای اندازه باند ۱۰۰۰bp می‌باشند در دو جایگاه برش می‌دهد و قطعات ۷۰۰bp و ۳۰۰bp ایجاد می‌کند (شکل ۲). البته آن‌چه که در نتیجهٔ برش آنزیمی مشاهده شد دو الگوی برشی بود: بعضی از نمونه‌ها پس از برش قطعات ۷۰۰bp و ۳۰۰bp را نشان دادند و برخی از نمونه‌ها فقط یک قطعهٔ ۵۰۰bp را نشان دادند (شکل ۳).



شکل ۲: نتیجه هضم آنزیمی محصول PCR با *Taq1*



شکل ۳: نتیجه هضم آنزیمی محصول PCR با *Taq1*

طبق نتایج به‌دست آمده از هضم آنزیمی، از ۱۰۰ نمونهٔ مورد بررسی ۷۲ نمونه آلل اول (که پس از هضم آنزیمی قطعات ۷۰۰bp و ۳۰۰bp را نشان دادند) و ۲۸ نمونه آلل دوم (که پس از هضم آنزیمی قطعات هم‌پوشان ۵۰۰bp را نشان دادند) بودند. فراوانی‌های ژنی و ژنوتیپی برای ۱۰۰ نمونه از ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان و هم‌چنین تعادل هاردی- واینبرگ به همراه دو آزمون کای‌اسکور و جی‌اسکور برای ژن slc24a5 مورد آزمون قرار گرفت که نتایج آن در جداول ۲ و ۳ آمده است.

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۲: فراوانی ژنی و ژنوتیپی به‌دست آمده از هضم آنزیمی

	ژنوتیپ		آلل	
	MM	NN	M	N
تعداد	۷۲	۲۸	۱۴۴	۵۶
فراوانی نسبی	۰/۷۲	۰/۲۸	۰/۷۲	۰/۲۸

نکته: فراوانی آللی از ۱۰۰ تا نمونه- فراوانی آللی که ۷۲ نمونه دو باند ۳۰۰ و ۷۰۰ جفت باز داده است، با ژنوتیپ MM نشان داده شده است و فراوانی آللی در ۲۸ نمونه دو باند ۵۰۰ داده است که با ژنوتیپ NN نمایش داده شده است. آلل ۷۲ نمونه با M و آلل ۲۸ نمونه با N نشان داده شده است.

جدول ۳: نتایج آزمون $(X_T)^2$ و $(G_T)^2$ جهت تعادل هاردی- واینبرگ

ژنوتیپ	افرادمشاهده شده (O)	افرادمورد انتظار (E)	$(O-E)^2/E$	df	$X_T{}^2$	Probability	$G_T{}^2$	Probability
MM	۷۲	۶۷/۹۷	۰/۲۳۹	۱	۰/۷۴	۰/۰۴۹	۰/۳۷	۰/۰۲۷
NN	۲۸	۳۲/۰۲	۰/۵۰۴					

با توجه به جدول فوق چون مقدار احتمال برای آزمون $(X_T)^2$ برابر با ۰/۰۴۹ و کم‌تر از سطح آزمون تعیین شده (۰/۰۵) می‌باشد، بنابراین وجود تعادل پذیرفته نمی‌شود. هم‌چنین برای آزمون $(G_T)^2$ نیز مقدار احتمال برابر ۰/۰۲۷ و کم‌تر از سطح آزمون می‌باشد، پس وجود تعادل پذیرفته نمی‌شود.

بحث

امروزه تنوع ژنتیکی به‌عنوان یکی از شاخص‌های وضعیت اکولوژیک اکوسیستم‌های آبی به‌کار می‌رود و برای مناطق مختلف کاربرد علمی و مدیریتی به‌عنوان یک ابزار منحصر به فرد و توانمند جهت ارزیابی وضعیت و روند طولانی مدت جوامع زیستی مطرح می باشد (Zhou *et al.*, 2004). اولین مرحله مهم تدوین استراتژی مدیریت ذخایر آبزیان در منابع آبی، مشخص شدن ساختار ژنتیکی جمعیت‌های در حال بهره‌برداری است. این استراتژی در صورتی‌که بر پایه روش‌های دقیق و قوی مثل داده‌های مولکولی باشد، می‌تواند علاوه بر حفظ تنوع زیستی، میزان برداشت و بهره‌برداری را به حد معقول و حداکثر برساند (Thai *et al.*, 2006). بررسی گوناگونی و تنوع ژنتیکی قزل‌آلای رنگین‌کمان، به‌منزلهٔ مهم‌ترین گونهٔ پرورشی در ایران، ضروری است.

فراوانی ژنی و ژنوتیپی محاسبه شده برای جمعیت مورد مطالعه نشان داد که ژن SLC24A5 در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان دارای چندشکلی بوده و هر دو ژنوتیپ حاصل از دو آلل قابل مشاهده است. در این تحقیق فراوانی آلل M در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان ۰/۷۲ و آلل N ۰/۲۸ به‌دست آمد. Tsetskhladze و همکاران (۲۰۱۲) که برروی عملکرد جهش رنگدانه-های پوست انسان مطالعه می‌کردند، گزارش نمودند که با بررسی ژن SLC24A5 موجود در پوست جمعیت

Archive of SID

www.SID.ir

انسانی در منطقه آسیای شرقی، ۲ نوع آلل و۳ ژنوتیپ متفاوت مشخص شد که با نتایج این تحقیق مغایرت داشت علت این تفاوت می‌تواند در نوع موجود مورد بررسی و بافت مورد مطالعه باشد.

علاوه بر آن PCR-RFLP با آنزیم *Taq1* روش مناسبی جهت انتخاب ژنوتیپ‌های مختلف ماهی در راستای اصلاح نژاد براساس ژن SLC24A5 بوده وآنزیم برشی *Taq1* آنزیم برشی بسیار کارآمدی جهت تشخیص واریانت‌های این ناحیه از ژن SLC24A5 در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌باشد.

بر اساس آزمون مربع کای خروج از تعادل هاردی- واینبرگ در همهٔ جایگاه‌ها مشاهده شد. عدم وجود تعادل هاردی- واینبرگ در جمعیت مورد مطالعه بیانگر انتخاب ژنتیکی در راستای اصلاح نژاد برای ژن SLC24A5 در این جمعیت از ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌باشد. هم‌چنین تلاقی‌های غیرتصادفی، کوچک بودن جمعیت و افزایش هم‌خونی و افزایش هموزیگوت‌ها را در جامعه مورد مطالعه نشان می‌دهد. به‌دلیل این‌که دراین تحقیق فقط چندشکلی موجود، مورد مطالعه بوده و ارتباط این چندشکلی با صفات تولیدی بررسی نشده است، لذا هیچ نظری نمی‌توان در مورد مطلوب بودن آلل‌ها ابراز داشت و تنها می‌توان به نتایج حاصل از مطالعات قبلی اکتفا نمود.

درافشان و همکاران (۱۳۹۲) در تحقیقی به ارزیابی مقایسه‌ای تنوع ژنتیکی جمعیت قزل‌آلای رنگین‌کمان پرورشی استان لرستان و جمعیت وارداتی از فرانسه پرداختند. ایشان نیز در آزمایشات خود پی به انحراف از تعادل هاردی- واینبرگ بردند که علت آن را وجود آمیزش‌های خویشاوندی در بین گونه‌ها، پهلوگیری تعداد محدودی از آلل‌ها و ناکافی‌بودن تعداد نمونه‌ها و خطای نمونه‌برداری دانستند. در این خصوص، Gross و همکاران (۲۰۰۷) تنوع و تفاوت ژنتیکی سویه‌های قزل‌آلای رنگین‌کمان پرورشی را در شمال و شرق اروپا (فنلاند، دانمارک، سوئد، نروژ، استونی و لهستان) بررسی کردند و انحراف از تعادل هاردی- واینبرگ را به کم بودن تعداد مولدین و نسبت نامساوی جنسی مولدین نسبت دادند.

به‌طور کلی، یک عامل به تنهایی نمی‌تواند علت انحراف از تعادل را توضیح دهد و مجموعه‌ای از عوامل فوق را، که بیش‌تر ناشی از تکثیر مصنوعی‌اند، می‌توان به‌منزلهٔ علل انحراف از تعادل در جمعیت‌های مورد بررسی قزل‌آلای رنگین‌کمان عنوان کرد. نتایج این تحقیق با نتایج سلیمانی و همکاران (۱۳۹۳) که به بررسی تنوع ژنتیکی ماهی کپور پرورشی در استان خوزستان با استفاده از روش ریزماهواره‌ها پرداختند نیز هم‌خوانی داشت. در بررسی آن‌ها انحراف از تعادل هاردی واینبرگ مشاهده شد که آن را به اندازه کوچک جمعیت و تاثیر آن در نمونه‌برداری نسبت دادند. ایشان هم‌چنین بیان نمودند که انحراف از تعادل در این جمعیت‌ها را می‌توان بر اثر اختلاط جمعیت‌ها و یا جفت‌گیری غیرتصادفی نسبت داد. فرضیه تعادل هاردی واینبرگ براساس چگونگی توزیع ژن‌ها و ژنوتیپ‌های مختلف در یک جمعیت بنا شده است و بنابراین فرضیه، حضور تعادل ژنتیکی مبتنی بر چند شرط اصلی می‌باشد که از آن جمله می‌توان به بسته بودن جمعیت و عدم مهاجرت، بزرگی جمعیت و عدم رانش ژنتیکی، جفت‌گیری تصادفی و عدم انتخاب (بقا و کارایی یکسان ژنوتیپ‌ها در تولید اخلاف) و عدم جهش اشاره کرد.

Archive of SID
www.SID.ir

SLC24A5 یکی از مهم‌ترین ژن‌های موثر در تنوع رنگ پوست است که تاکنون مطالعات زیادی بر روی آن انجام شده است (Lamason *et al.*, 2005) . این ژن عضوی از خانواده ژن‌های NCKX است که پروتئینی به نام NCKX5 را رمزدهی می‌کند. این پروتئین نیز جزو خانواده پروتئین‌های دخیل در تبادل سدیم-کلسیم می‌باشد که برای فعالیت وابسته به یون های پتاسیم هستند. در انسان این ژن بر روی کروموزوم شماره ۱۵ و در حدفاصل کدون‌های ۴۸۱۲۰۹۷۱ تا ۴۸۱۴۲۳۹۱ قرار دارد (تقریباً به‌طول ۱۵۰kb). جایگاه این ژن در گاو بر روی کروموزم شماره ۱۰، در ماهی آبنوس بر روی کروموزوم شماره ۲ و در ماهی گورخری بر روی کروموزوم شماره ۱۸ است (Haley *et al.*, 2000).

Lamason و همکاران (۲۰۰۵) در تحقیقی، یک جهش از نوع SNP (با علامت rs1426654) را در کدون ۱۱۱ اگزون ژن ۳ SLC24A5 گزارش نمودند که در آن باز گوانین با آدنین جایگزین می‌شود. آلل جهش یافته p.A111T نام دارد. این جهش نقطه‌ای در ژن SLC24A5 که منجر به جایگزینی اسید آمینه آلانین با تیروزین در زنجیره پلی‌پپتید رمز شده می‌شود نقش بسیار مهمی در تنوع رنگ پوست در انسان دارد. آن‌ها هم‌چنین تاثیر جهش در ژن SLC24A5 را در ماهی گورخری و انسان را بررسی کردند و گزارش کردند که این ژن تا حدود ۴۰ درصد از تنوع مشاهده شده در رنگ پوست افراد در جمعیت‌های مختلف را توجیه می‌کند. در ضمن این محققین نشان دادند که در جمعیت‌های اروپایی و آمریکایی فراوانی جایگزینی گوانین با آدنین از ۹۸/۷ تا ۱۰۰ درصد است (جهش تثبیت شده است) در صورتی که شکل اجدادی ژن (فاقد جهش) با فراوانی ۹۳ تا ۱۰۰ درصد در جمعیت های آفریقایی مشاهده می‌شود. به عبارت دیگر جمعیت های اروپایی و آمریکایی پوست روشن و جمعیت‌های آفریقایی پوستی تیره خواهند داشت. در ضمن مشخص شده که ژن ماهی گورخری به شدت بین گونه‌های مختلف حفاظت شده است. مطالعه پروفایل اسیدآمینه ای پلی‌پپتید حاصل از ژن نشان داد که توالی اسیدآمینه ای پلی پپتید تولید شده در ماهی گورخری ۶۸ تا ۶۹ درصد با توالی پلی پپتید تولید شده در انسان و موش شباهت دارد.

Streisinger و همکاران (۱۹۸۱) موتاسیون مغلوب برای اولین بار در ماهی گورخری تشخیص دادند که نتیجه آن ایجاد فنوتیپ طلایی (+gol) می‌باشد که در آن رنگ ماهی‌ها در غیاب تولید ملانین طلایی می‌شود. بررسی فراوانی ژنوتیپ‌ها در این تحقیق با تحقیقات Streisinger و همکاران (۱۹۸۱) هم‌خوانی داشت.

طلا و همکاران (۱۳۹۰) با بررسی پلی‌مورفیسم ژنوم میتوکندریایی سیتوکروم اکسیدازI، ماهی سوکلا *Rachycentron canadum* در آب‌های شمالی خلیج فارس و دریای عمان نشان دادند که در تمام نمونه‌ها هم‌شکل (مونومورف) بود و پلی‌مورفیسم (چندشکلی) مشاهده نگردید که با نتایج مطالعه اخیر مطابقت نداشت.

همانطور که اشاره شد SLC24a5 به‌عنوان یک ژن اختصاصی بر روی رنگدانه‌ها عمل می‌کند و در حقیقت میزان وسرعت رنگ پذیری پوست و گوشت تا حدود زیادی تحت تأثیر عملکرد SLC24a5 می‌باشد.

این پژوهش اولین گزارش کار با تکنیک PCR بر روی ژن SLC24a5 در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌باشد که درایران صورت گرفته است و چندشکلی

Archive of SID

www.SID.ir

در این ژن می‌تواند با استفاده از روش انتخاب به کمک نشانگر راه را برای سایرمحققین و اصلاح نژادکنندگان کشور هموارنماید و مسبب آن باشد که کیفیت رنگ پوست و گوشت در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان دقیق‌تر مورد بررسی قرار گیرد.

با در نظرگرفتن این موضوع که فعالیت SLC24a5 وراثت پذیری بالایی را از خود نشان می‌دهد و در نتیجه انتخاب SLC24a5 می‌تواند باعث بهبود رنگ پوست و گوشت گردد و از آن‌جائی‌که ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان جزو ماهیان پرورشی مهم ایران محسوب شده و از نظر تعداد بیش‌ترین تعداد را در کشور دارا می‌باشد، مطالعه پلی‌مورفیسم ژن SLC24a5 در این گونه دارای اهمیت می‌باشد، که تحقیق حاضر توانست وضعیت این گونه را از نظر تنوع آللی جایگاه مؤثر بر کیفیت رنگ پوست و گوشت مشخص نماید و در نهایت اطلاعات حاصل به عنوان ابزاری در اختیار اصلاحگران ماهی قرار گیرد.

سپاسگزاری

در اینجا بر خود لازم می‌دانیم از زحمات کلیه کسانی که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند سپاسگزاری کنیم.

منابع

۱. سجادپور، م.، ۱۳۹۲. خواص ماهی و امگا ۳ موجود در آن. انتشارات تیبان. تهران. ۷۴ صفحه.

۲. سلیمانی، ن.، محمدی، غ.ح.، خدادادی، م.، ۱۳۹۳. بررسی تنوع ژنتیکی ماهی *Cyprinus carpio* پرورشی در استان خوزستان با استفاده از روش ریزماهواره‌ها. مجله تازه‌های بیوتکنولوژی سلولی- مولکولی. ۴(۱۴)، ۹۳-۹۸.

۳. صالحی، ح.، مختاری، ع.، ۱۳۸۷. بررسی گرایش متخصصین تغذیه به مصرف ماهی در ایران. مجله علمی شیلات ایران. ۱، ۷۹-۹۰.

۴. صدیق، گ.، امین‌پور، ا.، ۱۳۶۸. اصول علم تغذیه. شرکت چهر. ۱۴۳ صفحه.

۵. طلا، م.، کاظمی‌دمنه، ب.، لالویی، ف.، سلطانی، م.، آزاد، م.، کوچکی، ا.، ۱۳۹۰. بررسی پلی‌مورفیسم ژنوم میتوکندریایی ماهی سوکلا *Rachycentron canadum* در آب‌های شمالی خلیج فارس و دریای عمان. مجله پژوهنده. ۱۶(۵)، ۲۴۶-۲۵۱.

۶. درافشان، س.، علیپور، ا.، قاسمی، س.ا.، ۱۳۹۲. ارزیابی مقایسه‌ای تنوع ژنتیکی جمعیت قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) پرورشی استان لرستان و جمعیت وارداتی از فرانسه. نشریه شیلات. مجله منابع طبیعی ایران. ۶۶(۲)، ۱۹۹- ۲۰۹.

7. Buyukcapar, H.M., Yanar, M., Yanar, J., 2007. Pigmentation of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) with Carotenoids from Marigold Flower (*Tagetes erecta*) and Red Pepper (*Capsicum annum*).Turkish Journal of Veterinary Animal Science, 31, 7-12

8. Ginger, R.S., Askew, S.E., Ogborne, R.M., Wilson, S., Ferdinando, D., Dadd, T., Smith, A.M., Kazi, S., Szerencsei, R.T., Winkfein, R.J., 2008. SLC24A5 encodes a trans-Golgi network protein with potassium-dependent sodium-calcium exchange activity that regulates human epidermal melanogenesis. Journal of Biological Chemistry, 283, 5486–5495.

9. Gross, R., Lulla, P., Paaver, T., 2007. Genetic variability and differentiation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) strains in northern and Eastern Europe. Aquaculture Research. Vol. 272, 139-146.

10. Haley, C., Visscher, P., 2000. DNA markers and genetic testing in farm animal improvement: current applications and future prospects. Roslin Institute Annual Report, 1998–1999.

11. Lamason, R.L., Mohideen, M.A., Mest, J.R., Wong, A.C., Norton, H.L., Aros, M.C., Jurynec, M.J., Mao, X., Humphreville, V.R., Humbert, J.E., Sinha, S., Moore, J.L., Jagadeeswaran, P., Zhao, W., Ning, G., Makalowska, I., McKeigue, P.M., O'donnell,

Archive of SID

www.SID.ir

D., Kittles, R., Parra, E.J., Mangini, N.J., Grunwald, D.J., Shriver, M.D., Canfield, V.A., Cheng, K.C., 2005. SLC24A5, a putative cation exchanger, affects pigmentation in Zebra fish and humans. Science, 310, 1782-1786.
12. Moore, G., Cheung, W., Schwarzacher, T., Flavell, R., 1991. BIS-I, a major component of the cereal genome and atool for studying genomic organization. Genomics, 10, 469-476.
13. Nicoloso, L., Negrini, R., Milanesi, E., Crepaldi, P., 2008. Identification of polymorphism in the SLC24a5 gene of cattle. Italian journal of animal science, 7, 505-512.
14. O'Quin, C.T., Drilea, C.A., Conte, M.A., Kocher, T.D., 2013. Mapping of pigmentation QTL on an anchored genome assembly of the cichlid fish, *Metriaclima* zebra. BMC Genomics, 14, 287 p.
15. Soejima, M., Tachida, H., Ishida, T., Sano, A., Koda, Y., 2006. Evidence for recent positive selection at the human AIM1 locus in a European population. Molecular Biology Evolution, 23, 179–188.
16. Streisinger, G., Walker, C., Dower, D., Knauber, D., Singer, F., 1981. Thegol-1, gol-2, alb-1andspa-1 mutations affect pigment pattern in the zebra fish. Nature, 291-293
17. Sturm, R., 2009. Molecular genetics of human pigmentation diversity. Human Molecular Genetics, 18, 9-17.
18. Thai, B., Pham, T., Austin, G., 2006. Genetic diversity of common carp in Vietnam using direct sequencing and SSCP analysis of the mitochondrial DNA control region. Aquaculture, 258, 1, 228-240
19. Tsetskhladze, Z.R., Canfield, V.A., Ang1, K.C., Wentzel1, S.M., Reid, K.P., Berg, A.S., Johnson, S.L., Kawakami, K., Cheng, K.C., 2012. Functional Assessment of Human Coding Mutations Affecting Skin Pigmentation Using Zebra fish. Plos one, 7, 10, 1-9.
20. Yeh, F.C., Yang, R., Boyle, T., 1999. POPGENE. Version 1.31. Microsoft Window-based Freeware for Population Genetic Analysis, University of Alberta. Edmonton, AB, Canada.
21. Zhou, J., Wu, Q., Ye, Y., Tong, J., 2004. Genetic variation analysis within and among six varietics of common carp in china. Using microsatellite markers. Russ J Genet, 40(10), 1372-1389.

Archive of SID

www.SID.ir