شناسایی جهشهای موجود در ژن کاندیدای کاتپسین L و ارتباط آن با خصوصیات رشد میگوی سفید ببری *(Penaeus monodon)* به روش PCR-RFLP

رضا نهاوندی[۱]، مسعود صیدگر[۲]، آرش جوانمرد[۳]، مهدی مقیم[۴]

۱-بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان- سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اصفهان، ایران

۲- مرکز تحقیقات آرتمیای کشور- موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور- سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی

۳- دانشگاه تبریز - دانشکده کشاورزی- گروه علوم دامی

۴- پژوهشکده اکولوژی دریای خزر- موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور- سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی

نویسنده مسئول: دکتر رضا نهاوندی

RezaNahavandi91@gmail.com

چکیده

امروزه محورهای تحقیقات در زمینه پرورش میگو، عمدتا بر روی شناسایی بیماریهای متداول با روشهای مولکولی متمرکز شده و شناخت معماری ژنتیکی صفات تولیدی و خصوصیات رشد در اولویت بعدی می باشد. به هرحال، اهداف برنامه های اصلاح نژادی مطلوب بیشتر، باید تاکید بر افزایش عملکرد رشدی ضمن ابقا مقاومت ژنتیکی به بیماریها باشد. در این راستا، هدف از این مطالعه شناسایی چند شکلیهای نوکلئوتیدی موجود در ناحیه‌ای از ژن کاتپسینL در میگوی ببری و ارتباط آن با صفت رشد است. به این منظور، در گام اول در مجموع ، ۶۵ میگوی ماده به مدت سه ماه مورد رکوردبرداری صفات رشد (وزن زنده بدن ، طول کل و عرض بدن) – به طور هفتگی انجام شد و در گام بعدی، با استفاده از نشانگر PCR-RFLP قطعه بطول ۷۷۷ جفت بازی از ناحیه اینترون ژن کاتاپسین(CTSL) توسط واکنش زنجیره ای پلی مراز تکثیر و متعاقبا با آنزیم برشی *PvuII* هضم آنزیمی شد. نتایج تحقیق حاضر وجود جهش (C681G) در ناحیه اینترون شماره ۳ را ثابت کرد. بعلاوه، این جهش ایجاد کننده سه ژنوتیپ و دو الل وحشی G(۵۷۱ و ۲۰۴ جفت باز) ، الل جهش یافته C (۷۷۷ جفت باز) بود. بطوریکه فروانی ژنوتیپهای مشاهده شده به ترتیب ۰/۷۷، ۰/۱۷ و ۰/۰۶ بود. نتایج تجزیه واریانس بین ژنوتیپ ها و رکوردهای رشد موجود پس از آزمون نرمالیتی و آزمون میانگینها نشان داد که ژنوتیپ GG در سطح یک درصد خصوصیات رشدی بالاتری را نسبت به ژنوتیپهای دیگر دارد. شاید بتوان از نتایج تحقیق حاضر در جهت تدوین برنامه های اصلاح نژادی و پرورش میگو استفاده کرد.

لغات کلیدی: *Penaeus monodon*، کاتپسین L ، صفت رشد، چند شکلی، PCR-RFLP

Journal of Aquatic Caspain Sea (J.A.C.S)

مقدمه

میگوی ببری (*Penaeus monodon*)، سخت پوست دریایی است که به‌منظور تأمین غذا بویژه در کشورهای آسیای جنوب شرقی مانند مالزی، تایلند، اندونزی و فیلیپین بطور وسیعی پرورش داده می‌شود (FAO, 2010). تولید آبزی‌پروری این گونه که در کشور مالزی ۱۳۵۰۳۳۱تن تخمین زده می‌شود که در آمدی معادل ۴۳۵/۳۵ میلیون دلار را عاید این کشور می کند. در این راستا سازمان شیلات کشور مالزی برای پرورش متراکم آن برنامه‌ریزی‌های متعددی انجام داده است (Azliya 2009). امروز محورهای تحقیقات در زمینه پرورش میگو، بر روی شناسایی بیماری های متداول با روش های مولکولی متمرکز شده و شناخت معماری ژنتیکی صفات تولیدی و خصوصیات رشد در اولویت نبوده است. در حالیکه، اهداف برنامه های اصلاح نژادی بیشتر، تاکید بر افزایش عملکرد رشدی ضمن ابقا مقاومت ژنتیکی به بیماریها را دارد.

در مورد سهم فراسنجه های محیطی و ژنتیکی موثر و ضرایب وراثت پذیری خصوصیات رشد در این میگو، اطلاعات محدودی وجود دارد. بررسی صفات رشد و خصوصیات بیومتریک به دلیل اندازه‌گیری آسان بودن می تواند ابزار مقدماتی برای ارزیابی پتانسیل ژنتیکی در میگو محسوب شود(Bindhu Paul, 2000; Nahavandi, 2010). چرا که در یک سن پرورشی معین در محیط یکسان، تنوع در خصوصیات فنوتیپی می تواند غیر مستقیم حکایت از تنوع ژنتیکی مولدین باشد.

بااین وجود، بهگزینی بر اساس فنوتیپ محدودیتهای زیادی از بروز خطا در رکوردبرداری، فقدان اطلاعات شجره نامه و تاثیر عوامل محیطی مثل آب و هوا، تغذیه و سیستم مدیریتی را دارد. (Hertzel *et al.*, 1997). انتخاب براساس فنوتیپ به دلیل آثاری که عوامل‌محیطی روی صفت اندازه‌گیری شده دارند و نیز توارث صفات چند ژنی، اثر متقابل بین ژنها دریک لوکوس (غالب) و بین لوکوسهای مختلف (اپیستازی) با کاهش سودمندی روبروست (Benzie *et al.*, 1996).

شناخت ملکولی ژنهائی که بزرگ اثر هستند ممکن است دیدگاه جدیدی برای بهبود ژنتیکی فراهم کند چرا که این دیدگاه می‌کوشد با پرده‌برداری از سیما و ساختار ژنها، نقش دقیق آنها را در تولید آبزیان شناسائی و چگونگی تغییرات آنها را در سطح مولکولی بررسی نماید و امکان انتخاب به‌کمک نشانگر را امکانپذیر می کند. در این راستا نشانگر مولکولی عبارتست از تفاوت در توالی نوکلئوتیدهایDNA که این تفاوت دارای توارث مندلی است این قطعه ویژه متعلق به ژن یا ژنهائی‌است که بطور معنی‌داری در تنوع بین مولدین سهیم هستند و در نتیجه ممکن است بین قطعه ویژه‌ای که نتاج از والدین دریافت می‌نمایند و عملکرد نتاج یک ارتباط مشاهده شود. در نتیجه می‌توان نتاج را براساس قطعه کروموزومی که از والدین دریافت کرده‌اند انتخاب کرد(Le Boulay *et al.*, 1996). از بین ژنهای کاندیدای مورد مطالعه در میگو، کاتپسین ها جزء خانواده آنزیم های پروتئولیتیک هستند که بصورت ذاتی دارای خاصیت لیزوزومی است. آنها گلیکوپروتئین هایی هستند که در pH اسیدی دارای بیشترین فعالیت ولی در

Journal of Aquatic Caspian Sea (J.A.C.S)

PHهای قلیایی و یا خنثی فاقد فعالیت می باشند. وزن مولوکولی آنها از ۱۴ کیلو دالتون تا ۶۵۰ کیلو دالتون متغیر است. در ریبوزوم های متصل به غشا سنتز، به شبکه اندوپلاسمی و سپس به دستگاه گلژی منتقل میشود. انتقال نهایی آنها به لیزوزوم توسط رسپتور های تشخیص دهنده مانوز ۶ فسفات انجام میشود. نامگذاری کاتپسین در سال ۱۹۲۹ انجام شد و بر اساس اختصاصیت سوبسترای آنها به ۶ خانواده از کاتپسین A تا کاتپسین T طبقه بندی شدند. آنها از طریق شکستن پیوند پپتید میانی(اندوپپتیداز) و حذف آمینواسیدهای انتهایی (اگزوپپتیداز) باعث شکستن پروتئین ها میشوند. در بین کاتپسین ها نوع B و D نقش بیشتری در سرطان دارند بطوریکه نوعB یک تیول اندوپپتیداز و پپتیدیل اندوپپتیداز است و نوع D کربوکسی آسپارتات پروتئیناز است. در این بین، کاتپسین L، یک اندوپپتیداز لیزوزمی که در بسیاری از سلول¬های یوکاریوتیک بیان می¬شود، عضوی از خانواده پروتئینازهای سیستئینی شبه پاپائینی است. کاتپسین L، نقش مهمی در فرآوری آنتی¬ژن، تهاجم تومور و متاستاز، جذب مجدد استخوان، و واگذاری پروتئین¬های ترشحی و داخل سلولی درگیر در تنظیم رشد بازی می¬کند. کاتپسین یک پروتئاز لیزوزمی است که بعنوان سینگنالی مغزی مرتبط با افزایش تقسیم سلولی و رشد عمل می کند . ژن کد کننده این پروتئین، حاوی ۶ اگزون با طول¬های مختلف بصورت جفت ۱۷۹۲bp است (Le Boulay *et al*., 1996). با توجه به طیف وسیع مداخله های این ژن در مکانیزمهای حیاتی هدف مطالعه حاضر، در گام اول شناسایی چندشکلی نوکلئوتیدی در ناحیه ای از ژن CTSL درمیگوی ببری Penaeus monodon و متعاقبا ارزیابی ارتباط ژنوتیپهای مشاهده شده با صفات رشد، وزن بدن و می باشد.

مواد و روشها

ماده آزمایشی و شرایط آزمایش

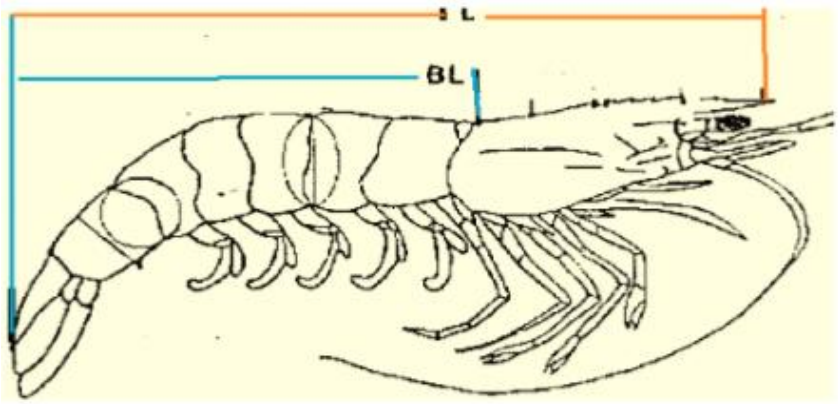
برای شروع آزمایش، تعدادی پست لارو ۱۰ روزه *Penaeus monodon* از مرکز تکثیر میگوی Confa Marine Products در شهر Penang کشور مالزی تهیه و به انستیتو تحقیقات علوم زیستی دانشگاه پوترا، منتقل شدند. شرایط پرورش لاروی‌ها با آب دریای مصنوعی با درجه شوری ۲۰ ppt تطابق داده شدند و به تانک پرورش رهاسازی شدند. همچنین آنها روزانه ۳-۴ بار غذادهی شدند. درجه حرارت آب در دمای ۲۵ °C نگه داشته شد. دامنه نوسان اکسیژن محلول بین ۶/۱۴ و ۱۰/۴۷ میلی‌گرم در لیتر و مقدار pH در محدوده ۶/۱۱ تا ۸/۷۳ بود. مدت انجام کل ازمایش یکسال بین سالهای ۱۳۹۱-۱۳۹۰ بود.

اندازه گیریهای فنوتیپی

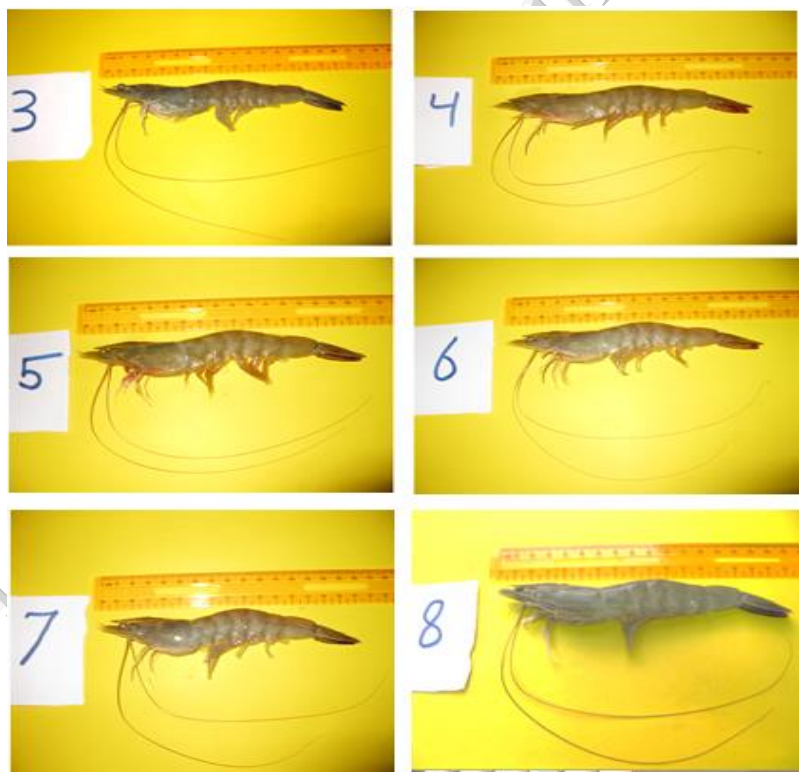
بررسی خصوصیات رشد مانند وزن زنده بدن ، طول کل و عرض بدن به مدت ۳ ماه – بطور هفتگی در ۶۵ میگوی ماده اندازه‌گیری شد. شکل بدن با روش Ttruss Network اندازه‌گیری شد (Lester *et al*., 1990; Lester and Pante, 1992).

Journal of Aquatic Caspain Sea (J.A.C.S)

نحوه اندازه‌گیری طول کل و عرض بدن در شکل ۱ نشان داده شده است. در این روش، طول کل (TL) از نوک روستروم تا تلسون، و عرض بدن(B L) از خط پشت چشمی تا کاراپاس تا نوک تلسون است. رکوردهای ثبت شده در برنامه اکسل انتقال و در آن ذخیره گردید.



شکل ۱- پارامترهای رشد مورد اندازه‌گیری شده بر اساس روش Ttruss Network



شکل ۲- نحوه قرار گرفتن میگوها برای اندازه‌گیری پارامترهای بیومتریک

مطالعه مولکولی

بعد از رکورد برداریهای فنوتیپی در شرایط یکسان، کلیه نمونه‌ها کدگذاری و با استفاده از فویل آلومنیومی بسته‌بندی و در فلاسک در مجاورت یخ نگه‌داری شدند. DNA ژنومی از ناحیه پاهای شنای میگوها به طور انفرادی با استفاده از دستورالعمل پیشنهادی کیت تجاری (Qiagen, USA) استخراج شد. آزمون کیفیت و کمیت DNA استخراج شده با محاسبه نسبت دانسیته نوری OD_{260}/OD_{280} با استفاده از اسپکتروفتومتر ارزیابی شد.

توالی آغازگرهای انتخابی در این مطالعه از مقاله گزارش شده توسط Glenn *et al.* (1995) و توالی ثبت شده در بانک ژن جهانی با کد AY822073 اقتباس گردید. انتظار بر این بود که این آغازگرها ناحیه ای به طول تقریبی ۷۷۵bp از ژن CTSL تکثیر کنند.

شرایط تهیه محلول واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز با حجم کلی ۲۵ میکرولیتری شامل: ۲/۵ میکرولیتر بافر واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (670 mM Tris-HCl pH 8.8, 160 mM $(NH_4)_2SO_4$, 0.1% mM Tween 20)، ($MgCl_2$۲۵میکرومول) ۱/۵ میکرولیتر، ۲/۵ میکرولیتر از هر یک از dNTPs (۲ mM) ، ۲ میکرولیتر از محلول ترکیبی هر دو الیگونوکلئوتیدها (۵۰ نانوگرم از هر آغازگر) ،۰/۵میکرولیتر Taq DNA پلی مراز (۰/۳ واحد به ازای یک میکرولیتر). تکثیر واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز در یک دستگاه گرادیانت ترموسایکلر (BioRad, USA) مورد استفاده قرار گرفت.

جزییات برنامه سیکل حرارتی در دستگاه ترموسایکلر به قرار ذیل بود: دناتوراسیون اولیه در$^{\circ}C$ ۹۵ به مدت ۵ دقیقه، تعداد چرخه حرارتی کل ۳۵ دور با دمای واسرشت سازی و اتصال و تکثیر به ترتیب یک دقیقه در$^{\circ}C$ ۹۵، ۴۵ ثانیه در$^{\circ}C$ ۵۷، ۴۰ ثانیه در$^{\circ}C$ ۷۲ و تکثیر نهایی در$^{\circ}C$ ۷۲ به مدت ۵ دقیقه قرار گرفتند. محصولات واکنش زنجیره ای پلی مراز در ژل آگارز ۱ ٪ با بروميد اتیدیوم رنگ آمیزی شدند. پس از اطمینان از تکثیر اختصاصی محصولات پی سی ار و بهبود کیفیت آنها مرحله دوم یعنی هضم آنزیمی صورت گرفت به منظور PCR- RFLP، محصولات واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز توسط آنزیم محدود کننده *Pvu*II(۲ واحد در هر میکرولیتر) هضم شدند. محصولات حاصل از هضم آنزیمی روی ژل آگارز متافور۴ درصد جدا شدند و مجدد با رنگ آمیزی بروميد اتیدیوم قابل مشاهده شدند. ژنوتیپهای مشاهده شده به دقت یادداشت برداری و به همراه رکوردهای فنوتیپی قبلی وارد برنامه اکسل شدند.

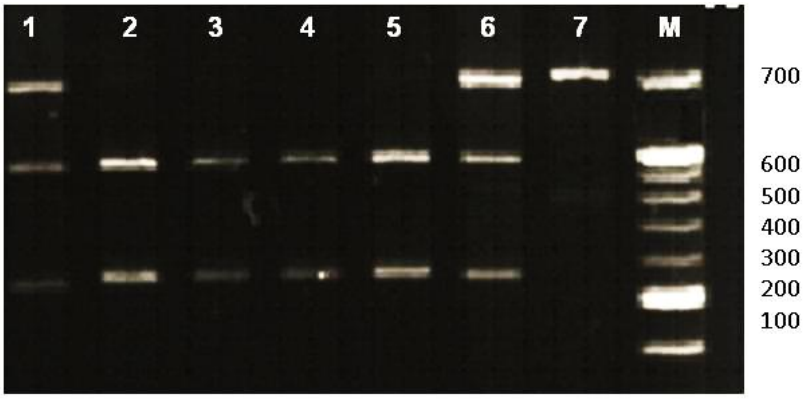
تجزیه و تحلیل آماری

Journal of Aquatic Caspain Sea (J.A.C.S)

برای تجزیه و تحلیل داده ها ابتدا برای خصوصیات فنوتیپی، آزمونهای آماری لازم همانند تست نرمالیتی، آمار توصیفی محاسبه شد. برای داده های مولکولی ارزیابی شاخصهای مولکولی همانند فراوانی ژنوتیپی، اللی، هتروزیگوتی و تعادل هاردی واینبرگ با نرم افزار PopGen32 (ver. 1.31) استفاده شد و در نهایت از تجزیه واریانس (GLM) برای مقایسه اثر سه ژنوتیپ مشاهده شده و آزمونهای میانگین Post hoc در سطح معنی داری ۱ یا ۵٪ استفاده شده و نمایش داده ها مجموع مربعات همراه با خطای معیار برای خروجی های نهایی استفاده شد.

نتایج و بحث

آمار توصیفی صفات فنوتیپی مورد اندازه گیری وجود واریانس و تنوع در معیارهای اندازه گیری را نشان داد با توجه به اینکه تنوع فنوتیپی برای بررسی های مولکولی آتی پیش شرط است خوشبختانه این تنوع انگیز ادامه آزمایش را توجیه پذیر نمود.



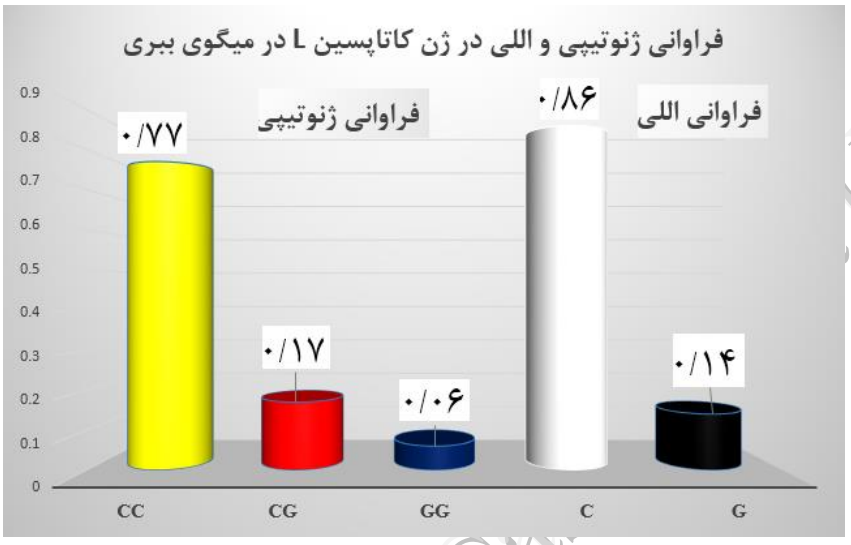
شکل ۳- ژنوتیپهای مشاهده شده بعد از انجام تکنیک PCR-RFLP در جمعیت میگوی ببری

چاهک شماره یک و شش ژنوتیپ هتروزیگوت(سه باند)، چاهک دو الی پنج ژنوتیپ که در آن آنزیم برشی هر دو کروموزوم را بریده است و دو قطعه باندی را ایجاد کرده است و در نهایت چاهک شماره ۷ ژنوتیپ جهش یافته(یک باند)

با استفاده از نشانگر PCR-RFLP قطعه بطول ۷۷۷ جفت بازی از ناحیه اینترون ژن کاتاپسین(CTSL) توسط واکنش زنجیره پلی مراز تکثیر و متعاقبا با آنزیم برشی *PvuII* هضم شد. همانگونه که در شکل ۲ مشاهده می‌شود، وجود جهش تک نوکلئوتیدی در موقعیت ۶۸۱ (C681G) در ناحیه ژنی اینترون شماره سه ژن بودند. به عنوان تفسیر ژنوتیپهای مشاهده شده در روی ژل، چاهک شماره یک و شش ژنوتیپ هتروزیگوت(سه باند)، چاهک دو الی پنج ژنوتیپ که در آن آنزیم برشی هر دو کروموزوم را بریده است و دو قطعه باندی را ایجاد کرده است و در نهایت چاهک شماره ۷ ژنوتیپ جهش یافته(یک باند) که در آن در محل پالیندروم یک باز نوکلئوتیدی تغییر یافته و بدانجهت آنزیم قادر به شناسایی محل برش نیست، را می توان مشاهده کرد.

Journal of Aquatic Cas... (J.A.C.S)

نتایج تحقیق حاضر وجود جهش (C681G) در ناحیه اینترون سه ایجاد کننده، سه ژنوتیپ و دو الل وحشی G(۵۷۱ و ۲۰۴ جفت باز) ، الل جهش یافته C (۷۷۷ جفت باز) ثابت کرد بطوریکه فروانی ژنوتیپهای مشاهده شده به ترتیب، ۰/۷۷، ۰/۱۷ و ۰/۰۶ بود. فراوانی اللی الل جهش یافت C ۰/۸۶ و G ۰/۱۴ محاسبه گردید.



شکل ۴- فراوانی ژنوتیپی و اللی مشاهده شده و محاسبه شده در ژن کاتاپسین(CTSL)

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها یک ارتباط معنی داری بین ژ نوتیپها و رکوردهای فنوتیپی را نشان داد (جدول ۱). بر اساس مطالعات پیشین، نشانگرهای DNA را می‌توان برای برنامه‌های پرورشی گونه‌های آبزیان مورد استفاده قرار داد. اولین کاربردهای ژنتیکی فناآوری‌های نشانگر DNA در آبزی‌پروری در اواسط دهه ۱۹۹۰ گسترش یافت (Hulata, 2001). در سخت پوستان، نشان داده شده که ژن‌های کاندیدا با خصوصیات رشد انفرادی بررسی شد. (El Haj, 96; Chang *et al.*, 2001; Bocking *et al.*, 2002; Lyons *et al.*, 2007; Dentis and Jerry, 2007). در مجموع، ارزیابی چندشکلی ژنهای در سطح ژنوم و اعتبارسنجی نشانگرهای ژنتیکی صفات رشد برای طراحی یک سیستم بهگزینی با کمک نشانگر (MAS) ضروری است. برنامه MAS در پرورش میگو می‌تواند بازده ژنتیکی را با افزایش صحت ارزیابی ژنتیکی، افزایش تراکم انتخابی، یا کاهش فواصل بین نسل‌ها افزایش دهد.

Journal of Aquatic Ca (J.A.C.S)

سناریوی مورد تحقیق در پژوهش حاضر زمانی قابل مقایسه با تحقیقات دیگر خواهد بود که ژن کاندیدای مورد مطالعه، ناحیه ژنی و آنزیم برشی و جمعیت مورد مطالعه یکی باشد تا منطق مقایسه و تکیه بر تفاوتها و اختلافات بوجود آید. متاسفانه مطالعات محدودی در زمینه تحقیقات مولکولی در میگو وجود دارد در جهت نیل به بحث نتایج، در صدف نرم تن دو کفه‌ای، ارتباط ژن آمیلاز با میزان رشد (Prudence *et al.*, 2006) ، ارتباط چند شکلی ژن parvalbumin با صفات رشد در ماهی باس دریایی آسیایی *Lates calcarifer* (Xu *et al.*, 2006)، و یا ارتباط بین چند شکلی‌های ژن Hsp70 با مقاومت در برابر ویروس‌ها در *Litopenaeus vannamei* (Zeng *et al.*, 2008) مثال‌هایی از ارتباطات مشاهده شده بین SNPs و فنوتیپ‌ها در گونه های آبزی هستند که فلسفه استفاده از این ابزار را اثبات می کند.

Journal of Aquatic Caspain Sea (J.A.C.S)

جدول ۱- تجزیه واریانس بین ژنوتیپهای مختلف مشاهده شده و صفات رشد اندازه گیری شده در در ژن کاتاپسین(CTSL) ژنوتیپ شده در جمعیت میگو ببری

ژنوتیپ		ماه اول پرورش			ماه دوم پرورش			ماه سوم پرورش		
	نمونه	وزن بدن	طول بدن	عرض بدن	وزن بدن	طول بدن	عرض بدن	وزن بدن	طول بدن	عرض بدن
CC	۳۵	۲۷۶/۷۵±۱/۷۰^{b}	۳۵/۳۹±۱/۴۶^{b}	۳۹/۲۹±۱/۰۰^{b}	۵۷۲/۲۳±۱/۳۸^{b}	۴۶/۳۴±۱/۸۰^{b}	۴۱/۰۵±۱/۵۶^{b}	۸۹۶/۰۱±۱/۹۵^{b}	۵۷/۱۰±۲/۴۰^{b}	۵۲/۷۰±۲/۷۰^{b}
CG	۲۰	۲۷۵/۳۸±۱/۸۴^{b}	۳۵/۷۰±۱/۳۹^{b}	۳۰/۳۹±۱/۰۵^{ab}	۵۷۲/۴۳±۱/۵۸^{b}	۴۶/۱۲±۱/۶۴^{b}	۴۰/۷۷±۱/۵۱^{b}	۸۹۶/۰۷±۱/۷۵^{b}	۵۷/۳۱±۲/۲۱^{b}	۵۲/۵۷±۲ /۴۹^{b}
GG	**۱۰**	**۲۸۰/۹۳±۱/۶۶^{a}**	**۳۷/۳۳±۰/۹۱^{a}**	**۳۰/۳۰±۱/۲۳^{ab}**	**۵۷۵/۲۷± ۱/۰۷ ^{a}**	**۴۸/۹۷±۰/۴۲^{a}**	**۴۳/۲۰±۰/۸۵^{a}**	**۹۰۰/۸۰±۲/۲۹^{a}**	**۵۹/۵۳±۱/۴۳^{a}**	**۵۵/۱۳±۰/۸۶^{a}**

وزن بدن بر حسب میلی گرم و ابعاد بر اساس میلی متر آورده شده است

a, b سطح معنی‌دار بودن در سطح ۰/۰۵ هستند. مقادیری که با حروف مشابه نشان داده شده‌اند معنی‌دار نیستند

۱و۲ و ۳ ماه متوسط دوره زندگی پرورش میگوهای پرورشی است.

Journal of Aquatic Caspain Sea (J.C.S)

در پژوهش حاضر،، وجود چندشکلی نوکلئوتیدی ژن CTSL در میگوی ببری *Penaeus monodon* را به روشنی شناسایی شد. در موافقت با بررسیهای مشابه پیشین توسط Glenn *et al.* (1995) ، یافته‌های این تحقیق نشان داد که جهش C681G یک محل پالیندرومیک جدیدی را در آلل وحشی در ااینترون شماره سه در ۳ ژن CTSL ایجاد می کند. تجزیه و تحلیل RFLP با استفاده از آنزیم محدود کننده *Pvu*II به ترتیب به ایجاد قطعات مختلف در ژنوتیپ‌های CG، CC و ژنوتیپ‌های با توالی‌های ۰/۷۷ ، ۰/۱۷ و ۰۶/ منجر شد. مشخص شد که صفت رشد به ژنوتیپ ژن CTSL مرتبط بود. اختلاف مشاهده شده در میزان رشد و مقدار چندشکلی در بین *P. monodon* و سایر گونه‌ها ممکن است مربوط به ترکیب ژنتیکی متفاوت، تطابق ژنی میگو، انتخاب طبیعی، تاریخچه گونه‌ها، انتخاب مصنوعی، مهاجرت و جهش باشد. ژنوتیپ GG بطور معنی‌داری ارزش بیشتری برای وزن بدن، اندازه گیری‌های زیست سنجی بیان کرد. این ژنوتیپ را می‌توان به‌عنوان ژنوتیپ مطلوب تری برای راندمان رشد در صنعت آبزی-پروری پیشنهاد کرد.

جمع بندی مطالعات پیشین مشابه هم در مطالعات مولکولی معماری صفات رشد مورد بررسی قرار گرفت و به عنوان مثال Marti و همکاران(۲۰۱۰) ارتباط الل C در ژن گیرنده هیدروکسی ترپتامین و میگوهای اسپانیایی را مورد بررسی قرارداد. Xi-Lian و همکاران(۲۰۱۱) ارتباط الگوی ژنوتیپی CC از نشانگر PCR-SSCP در ژن Molt Inhibiting hormone در میگوهای کشور چین و صفات وزن زنده بدن را مورد بررسی قرار دادند. Nguyen و همکاران (۲۰۱۰) ارتباط جهشهای شناسایی شده از تکنیک توالی یابی ژن اکتین را با میگوهای کشور ویتنام ارزیابی نمود. Glen و همکاران (۲۰۰۵) در میگوهای کشور آمریکا ارتباط جهشهای ژن کاتاپسین و خصوصیات رشد را مورد بررسی قراردادندو در نهایت پژوهش Chao Wangو همکاران(۲۰۱۲) ارتباط جهشهای شناسایی شده در ژن Sulfotransferase و صفات رشد را به چالش کشید.

از محدودیتهای موجود در پژوهش حاضر می توان به اندازه موثر جمعیت کم، تعیین ژنوتیپ صرفا یک ژن، بررسی فقط یک منطقه از ژن کاندید کاتاپیسین را اشاره کرد که وجود بودجه محدود و زمان کوتاه انجام علت تحمیل این تنگنا بود لذا ضمن اینکه پیام این تحقیق ژنوتیپ GG در سطح یک درصد خصوصیات رشدی بالاتری را نسبت به ژنوتیپهای دیگر نشان داد. شاید بتوان از نتایج تحقیق حاضر در جهت طراحی برنامه های اصلاح نژادی و پرورش میگو باشد برای تکمیل و تحقیقات اتی پیشنهاد می شود که از فناوری های بروز موجود مانند توالی یابی کل زنوم و چیپهای چند صد هزار اسنتیپ برای تعیین ژنوتیپ استفاده نمود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این پژوهش بر خود فرض می دانند که از کمکهای مالی تامین شده از سوی وزارت آموزش عالی مالزی برای تامین و دانشگاه پوترا، مالزی برای تأمین امکانات پژوهش و کمک فنی تشکر نمایند.

Journal of Aquatic Caspian Sea (J.A.C.S)

فهرست منابع

Azliya, B., 2009. Study on the effect of different sizes and the quality of the tiger prawns (Penaeus monodon) dried using freeze dryerm, Faculty of Chemical & Natural Resources Engineering University Malaysia Pahang.

Benzie, J., Kenway, M, Trott, L., 1996. Estimates for the heritability of size in juvenile Penaeus monodon prawns from halfsib matings, Aquaculture 152:49-53.

Bindhu, P., 2000. Population genetic structure of the marine penaeid prawn - Penaeus indicus H. Milne Edwards, 1837. Ph.D Thesis. 87p. Cochin University of Science and Technology, Kochi.

Bocking, D., Dircksen, H., Keller, R., 2002. The crustacean neuropeptides of the CHH/MIH/GIH family: structures and biological activities. In: Wiese, K. (Ed.), The(Lates calcarifer), Animal Genetics 37, 266–268.

FAO, 2010. Species Fact Sheets: Penaeus monodon (Fabricius,1798)". FAO species Identification and data programme. FAO/www.fao.org.

Glenn, K.L., grapes, L., Suwanasopee, T., Harris, D.L.,Li Y., Wilson K., Rothschild M.F., 2005. SNP analysis of alpha-AMY and CTSL genes in Litopenaeus vannamei and Penaeus monodon shrimp, Anim Genet 36, 235-236.

Hertzel, D., Crocos P.J, Davis GP, Moore SS, Preston N., 1997. Response to selection for growth in the Kuruma prawn, Penaeus japonicus. An abstract of the sixth international symposium on genetics in aquaculture, 24-28 June, Institute of Aquaculture, University of Stirling, Scotland.

Hulata, G., 2001. Genetic manipulations in aquaculture: a review of stock improvement by classical and modern technologies. Genetica 111, 155–173.

Le Boulay C., Van Wormhoudt A. and Sellos, D., 1996. Cloning expression of cathepsin L-like proteinases in the hepatopancreas f the shrimp Penaeus vannamei during the intermolt cycle, Journal of Comparative Physiology 166, 310–8.

Marti, M., Onteru, Z. Q. Du and Rothschild, M., 2010. Short communication. SNP analyses of the 5HT1R and STAT genes in Pacific white shrimp, Litopenaeus vannamei, Spanish Journal of Agricultural Research 8(1), 53-55.

Nahavandi, R.,S. M. Nurul Amin, Md.Shater Zakaria and Mariana Nor Shamsudin,2010.Growth and Length-Weight Relationship of Penaeus monodon (Fabricius) Cultured in Artificial Sea Water. Research Journal of Fisheries and Hydrobiology, 5(1): 52-55.

Nguyen-Minh, T., Andrew, C., Peter B. Mather, Yutao-Li, R., Lyons E., 2011.Single nucleotide polymorphisms in the actin and crustacean hyperglycemic hormone genes and their correlation

Journal of Aquatic Caspain Sea (J.A.C.S)

with individual growth performance in giant freshwater prawn Macrobrachium rosenbergii. Aquaculture 301 7–15.

Xi-Lian Li , Jing-Jing Xin , Ting-Ting Feng and Xiao-Lin Liu. 2010. Single Nucleotide Polymorphism Discovery of Molt Inhibiting hormone Gene 3 Exons and its Association with Growth Traits in White Shrimp (Litopenaeus vannamei).Journal of Animal and Veterinary Advances (10)21: 2856-2858.

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 Crustacean Nervous System, Springer, Berlin, pp. 84–97.

Yu, M., Cheung., Rothschild, M.F., 2006. SNP analysis of moulting genes in Peneaus monodon and Liteopeneaus vannemai shrimp,Anim Breed Archives 4,411-412.

Journal of Aquatic Caspain Sea (J.A.C.S)