



بارکد DNA برای ماهیان

تازه‌فروانی

سیدمرتضی ابراهیم‌زاده

کلیدواژه‌ها: ماهیان، بارکد DNA، رده‌بندی.

مقدمه

ماهیان بزرگ‌ترین گروه مهره‌دارانند که تنوع وسیعی در ویژگی‌ها و سازگاری‌های زیستی از خود نشان می‌دهند. گونه‌های ماهیان براساس وجود خصوصیات ریختی تشخیصی از سایر گونه‌ها متمایز می‌شوند. اما تعداد زیادی ویژگی‌های درون‌گونه‌ای یا هم‌پوشانی‌های ریخت‌شناختی بین گونه‌ای در بین ماهیان وجود دارد که چالشی مهم پیش روی تاکسونومیست‌ها برای شناسایی دقیق ماهیان آن‌هاست. محدودیت‌های ذاتی در سامانه‌های تشخیصی مبتنی بر خصوصیات ریختی، محققان را بر آن داشته است که به دنبال روش‌های مولکولی برای تشخیص گونه‌ها باشند. ژن DNA میتوکندریایی سیتوکروم اکسیداز زیرواحد I (cox1) به‌عنوان یک بارکد در تشخیص گونه‌ای بسیاری از ماهیان، از جمله ماهیان دریایی استرالیا، ماهیان آب شیرین کانادا و ماهیان زینتی امریکای شمالی، مؤثر و کارا بوده است. از این روش علاوه بر تشخیص گونه برای مطالعات رده‌بندی ماهیان، می‌توان برای شناسایی محصولات شیلاتی و جلوگیری از تقلب در بازار فروش این محصولات نیز بهره برد.

بارکد DNA

از دیرباز مشخص شده است که می‌توان از تنوع توالی DNA، به‌صورت ارزیابی مستقیم یا غیرمستقیم از طریق آنالیز پروتئین، برای تمایز گونه‌ها استفاده کرد. اولین بار بیش از ۴۰ سال پیش، از تکنیک الکتروفورز پروتئین، برای تشخیص گونه‌ها استفاده شد. تقریباً از ۳۰ سال پیش، آنالیز توالی ژن منفرد DNA ریبوزومی برای بررسی روابط تکاملی در سطوح بالا مورد استفاده قرار گرفته ولی روش‌های بررسی DNA میتوکندریایی تکنیک‌های غالب در مطالعات سیستماتیک در دهه‌های ۱۹۷۰ و ۱۹۸۰ بوده است.

توالی DNA از ۳۰ سال پیش برای کمک به تشخیص گونه‌ها مورد استفاده قرار گرفته است. از آن زمان تاکنون توالی‌های مختلف برای گروه‌های تاکسونومیک مختلف و آزمایش‌های

متفاوت مورد استفاده قرار گرفته است. هبرت و همکاران (۲۰۰۳) پیشنهاد کردند که یک توالی ژنی منفرد برای تمایز همه یا حداقل اکثریت مطلق گونه‌های جانوری کافی است و استفاده از ژن DNA میتوکندریایی سیتوکروم اکسیداز زیرواحد I (cox1) به‌عنوان یک سامانه تشخیص زیستی جانوری را در این راستا معرفی کردند.

تا امروز بیش از ۳۰۰۰۰ گونه ماهی در جهان شناسایی شده‌اند. این تعداد در حدود ۵۰ درصد از همه گونه‌های مهره‌داران را شامل می‌شود. ماهیان از نظر سیستماتیک بسیار متنوع‌اند، از گونه‌های فاقد آرواره (آگناتا: هگ‌فیش و لامپری) تا ماهیان غضروفی (الاسموبرانش‌ها: کوسه‌ها و شیمراها) و ماهیان استخوانی قدیمی و جدید (مارماهیان، کپورماهیان، آزادماهیان و غیره) تفاوت‌های



می‌توان برای استخراج DNA استفاده کرد. تکثیر و تعیین توالی DNA قدم بعدی در این روش است. تکثیر DNA هدف، مرحله مهم در تعیین توالی DNA است.

برای تکثیر می‌توان از کشت‌های باکتریایی (کلون کردن) یا روش واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) استفاده کرد. بعد از قابل مشاهده کردن محصولات PCR روی ژل الکتروفورز، محصول مورد نظر برای

تعیین توالی انتخاب می‌شود. نتیجه حاصل از تعیین توالی، مشخص شدن ترتیب بازهای آدنین (A)، گوانین (G)، سیتوزین (C) و تیمین (T) در ژن مورد نظر است. پس

از تهیه بارکد، اطلاعات را می‌توان در بانک‌های اطلاعاتی ذخیره کرد و به‌عنوان کتابخانه مرجع برای شناسایی گونه‌های مجهول یا مورد مطالعه مورد استفاده قرار داد.

بسیاری با هم دارند. تشخیص دقیق و بدون ابهام ماهی‌ها و محصولات آن‌ها، از تخم تا ماهی بالغ، در بسیاری از مناطق اهمیت دارد. این امر

به مدیریت پایدار ذخایر شیلاتی و بهبود حفاظت از بوم‌سازگان کمک خواهد کرد. بنابراین، تکنیک بارکدگذاری DNA می‌تواند در تشخیص دقیق گونه‌های ماهیان مؤثر باشد. پویش (کمپین) بین‌المللی بارکدگذاری ماهی^۱

متعلق به کنسرسیوم بین‌المللی بارکد DNA برای شناسایی گونه‌ها (iBOL)، پایگاه داده استاندارد شده‌ای برای توالی مرجع همه ماهیان

ایجاد کرده است. تا امروز ۱۰۰۹۷ گونه ماهی در این پایگاه اطلاعاتی بارکدگذاری شده‌اند. با توجه به پیچیدگی و محدودیت خصوصیات ریختی در تاکسونومی سنتی، چندین روش مبتنی بر PCR برای آنالیز ژنوتیپ، به منظور

شناسایی گونه‌های ماهیان، به‌ویژه تخم، لارو و محصولات تجاری، توسعه یافته است. آنالیز توالی قطعات مختص به گونه DNA (اغلب ژن‌های میتوکندریایی یا ریبوزومی) و PCR قطعات حفاظت شده DNA برای تشخیص گونه‌های ماهی به کار می‌رود. با این حال، این روش‌های مولکولی به گونه‌های خاص شناخته شده محدودند و به آسانی قابل استفاده برای محدوده وسیعی از ماهیان نیستند. بنابراین، برای ماهیان، قطعه‌ای از DNA با ۶۵۲ جفت باز نزدیک به ناحیه انتهایی ۵ ژن میتوکندریایی سیتوکروم اکسیداز زیرواحد I پیشنهاد شده است.

روش کار

به منظور تهیه بارکد DNA گونه مورد مطالعه، بعد از صید و تهیه نمونه ماهی، از بخش‌های مختلف بدن برای استخراج DNA استفاده می‌شود. از بافت‌های مختلف بدن ماهی از جمله بافت آبشش، عضلات، چشم، کل بدن ماهی در ماهیانی که اندازه کوچکی دارند

• محدودیت‌های ذاتی در سامانه‌های تشخیصی مبتنی بر خصوصیات ریختی، محققان را بر آن داشته که به دنبال روش‌های مولکولی برای تشخیص گونه‌ها باشند

• پس از تهیه بارکد، اطلاعات را می‌توان در بانک‌های اطلاعاتی ذخیره و به‌عنوان کتابخانه مرجع برای شناسایی گونه‌های مجهول مورد استفاده قرار داد

پی‌نوشت‌ها

1. FISH-BOL
2. <http://www.fishbol.org>

منابع

1. Jun-Bin Zhang, Robert Hanne (2011), **DNA barcoding is a useful tool for the identification of marine fishes from Japan**. Biochemical Systematics and Ecology, Volume 39, Issue 1, Pages 31-42.
2. Lise Frézal, Raphael Leblois, (2008), **Four years of DNA barcoding: Current advances and prospects** Infection, Genetics and Evolution, Volume 8, Issue 5, Pages 727-736.
3. Nicolas Hubert, Erwan Delrieu-Trottin, Jean-Olivier Irisson, Christopher Meyer, Serge Planes (2010), **Identifying coral reef fish larvae through DNA barcoding: A test case with the families Acanthuridae and Holocentridae**, Molecular Phylogenetics and Evolution, Volume 55, Issue 3, Pages 1195-1203.