مروری بر خط‌شناسه گذاری در ماهی‌ها با نگاهی بر ماهیان زینتی

آذین فهیم[۱]، رقیه صفری[۲*]

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد بیوسیستماتیک جانوری

۲- عضو هیئت علمی گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

*rsafari@gau.ac.ir

تاریخ دریافت: آبان ۱۳۹٤ تاریخ پذیرش: خرداد ۱۳۹۵

چکیده

بیش از ۱۰ سال از شروع خط‌شناسه گذاری DNA برای گونه‌ها گذشته است. این در حالی است که خط‌شناسه گذاری DNA در ماهی‌ها هنوز در ابتدای راه خود می‌باشد. مؤسسه بین‌المللی خط‌شناسه گذاری حیات (Barcode of life) بیان داشته که توالی DNA همانند بارکد روی اجناس فروشگاه می‌تواند برای شناسایی گونه‌های گوناگون مورد استفاده قرار گیرد. این امر به همین سادگی امکان‌پذیر نبوده و نیازمند یک دستگاه بارکدخوان می‌باشد. مطالعات انجام شده نشان می‌دهند که ژن COI میتوکندریایی می‌تواند به‌عنوان مارکری سریع و کارآمد در خط‌شناسه گذاری ماهی‌ها به‌کار گرفته شود؛ اما از سوی دیگر وجود گونه‌های دورگه و گونه‌هایی که اخیراً اشتقاق یافته‌اند باعث به‌وجود آمدن مشکلات و تردیدهایی برای استفاده از خط‌شناسه گذاری در ماهی‌ها شده است. البته مطالعات تکمیلی نشان می‌دهند که شناسایی اشتباه ماهی‌ها نسبت به مسئله مذکور نگران کننده‌تر می‌باشد و انجام خط‌شناسه گذاری می‌تواند این اشتباهات را تصحیح کند. به‌طور کلی با توجه به افزایش صادرات و واردات ماهی‌های زینتی در سراسر دنیا، استفاده از رویکرد خط‌شناسه گذاری می‌تواند در شناسلیی، حفظ و نگهداری گونه‌های این ماهی‌ها کمک کننده باشد.

کلمات کلیدی: خط‌شناسه گذاری، ماهیان زینتی، COI.

Downloaded from ornamentalaquatics.ir at 23:55 +0330 on Wednesday November 20th 2019

Downloaded from ornamentalaquatics.ir at 23:55 +0330 on Wednesday November 20th 2019

مقدمه

روش‌های سنتی شناسایی، نام‌گذاری و رده‌بندی ماهی‌ها به‌طور گسترده‌ای بر مبنای صفات بارز مورفولوژیکی بنا نهاده شده‌اند. اما در عین حال مشکلاتی در استفاده صرف از صفات مورفولوژی به‌ویژه هنگامی که هدف شناسایی ماهی‌ها در مراحل خاص تکاملی بوده و یا زمانی که شناسایی از روی بخش کوچک باقی‌مانده از جاندار انجام می‌شود، وجود دارد. این‌گونه دشواری‌ها در شناسایی‌ها و تاکسونومی گونه‌ها، مانعی برای برآورد، حفاظت و مدیریت تنوع زیستی ماهی‌های دنیا خواهد بود. شناسایی گونه‌ها با روش‌های مولکولی سال‌ها است که انجام می‌شود، در ابتدای کار، تفاوت‌های آلوزیمی و به‌دنبال آن استفاده از آزمایشات mtDNA مورد توجه قرار گرفت (Avise, 1975). در مقایسه با صفات مورفولوژیکی که تجلی پروتئین‌های رونویسی شده می‌باشند؛ قدرت ترمیم بالا، نیاز به حجم کم نمونه، امکان نمونه‌برداری از تمامی مراحل از تخم تا موجود بالغ، کاهش هزینه‌ها در سال‌های اخیر از مزایای استفاده از توالی‌های DNA برای شناسایی می‌باشند. برای اولین بار Bartlett و Davidson (۱۹۹۱) از توالی‌یابی mtDNA جهت شناسایی گونه‌های ماهی استفاده کردند و نشان دادند که توالی‌های سیتوکروم b قابلیت تفکیک چهار گونه از ماهی تن (*Thunnus* spp.) را دارد و توالی‌های نوکلئوتیدی را (Bartlett and Davidson, 1991) را به‌عنوان وسیله‌ای جهت شناسایی ماهی‌ها معرفی کردند. بر خلاف استفاده از ژن‌ها و توالی‌های گوناگون برای بررسی تاکسون‌ها به‌طور اختصاصی، در خط‌شناسه‌گذاری DNA توالی یک منطقه واحد ژنی به‌عنوان پایه سیستم شناسایی زیستی جهانی برای همه تاکسون‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد (Hubert *et al.*, 2003). در همین راستا منطقه‌ای به طول ۶۵۵ جفت باز در زیرواحد I سیتوکروم اکسیداز (COI) به‌عنوان هدف خاص برای شناسایی گونه‌ها در نظر گرفته می‌شود.

جایگاه جهانی خط‌شناسه گذاری ماهی‌ها

پایگاه خط‌شناسه گذاری، کلید جهانی جدیدی را برای شناسایی گونه‌های ماهی‌ها عرضه می‌کند و تاکسون‌های همواره رو به افزایش را با تعیین توالی سریع، ارزان و کم‌زحمت تحت پوشش قرار می‌دهد (Weigt *et al.*, 2012). نیاز به ابزارهای شناسایی قابل اعتماد و مقایسه‌ای برای گونه‌ها به‌همراه خط‌شناسه گذاری موفقیت‌آمیز برای ماهیان (Savolainen *et al.*, 2005; Ward *et al.*, 2012) باعث راه‌اندازی خط‌شناسه‌گذاری ماهیان (http://www.fishbol.org) شد که هدف اولیه آن ثبت رکورد خط‌شناسه برای تمامی ماهیان دنیا که حدود ۳۱ هزار گونه می‌باشند، قرار گرفت. هم‌چنین از اهداف ثانویه آن درک تاریخ طبیعی و فعل و انفعالات بوم‌شناسی برای گونه‌های ماهی می‌باشد. از آنجا که ماهی‌ها جزو مهره‌داران اولیه محسوب می‌شوند، مشخص کردن خطوط تکاملی آن‌ها و خط‌شناسه گذاری گونه‌های ماهی به درک بهتر تاریخ تکامل اغلب گروه‌های مهره‌داران کره زمین منجر خواهد شد.

قابل توجه اینکه هدف از انجام خط‌شناسه گذاری DNA برای گونه‌ها، منسوخ کردن مطالعات مورفولوژیک با استفاده سیستمی کاملاً مولکولی در رده‌بندی نمی‌باشد (Will and Rubinoff, 2004)، بلکه برقراری اتحاد و همبستگی بین تاکسونومیست‌های مولکولی و مورفولوژیکی در راستای شناسایی سریع گونه‌ها می‌باشد (Summerbell *et al.*, 2005). طبقه‌بندی صحیح ماهی‌ها از جمله مواردی است که با توجه به وابستگی به زنجیره تجاری، در امور ایمنی مصرف‌کنندگان و مبارزه با انجمن‌های کلاه‌بردای که در سطح جهان در حال فعالیت هستند، حائز اهمیت می‌باشد (Jacquet and Pauly, 2008; Wong and Hanner, 2008). از این رو به کارگیری ژنتیک در بخش شیلات برای تصدیق صحت‌گونه‌ها مورد توجه قرار گرفته است (Filonzi *et al.*, 2010).

با توجه به موفقیت‌های حاصل از انجام خط‌شناسه گذاری DNA در انواع گونه‌های ماهیان آب شور و شیرین (Alvarez and Nicieza, 2003; Besansky *et al.*, 2003; Ballard and Whitlock, 2004)، نیاز به برقراری پایگاهی جهت ثبت داده‌های خط‌شناسه گذاری به‌وجود آمد (Blaxter *et al.*, 2005). در حال حاضر از بیش ۴۱۷۷۱ رکورد از ماهی‌ها اطلاعات خط‌شناس‌های ۶۵۶۶ گونه ماهی در سیستم داده‌ای خط‌شناسه حیات[1] ثبت شده است (Guiliano and Blaxter, 2006).

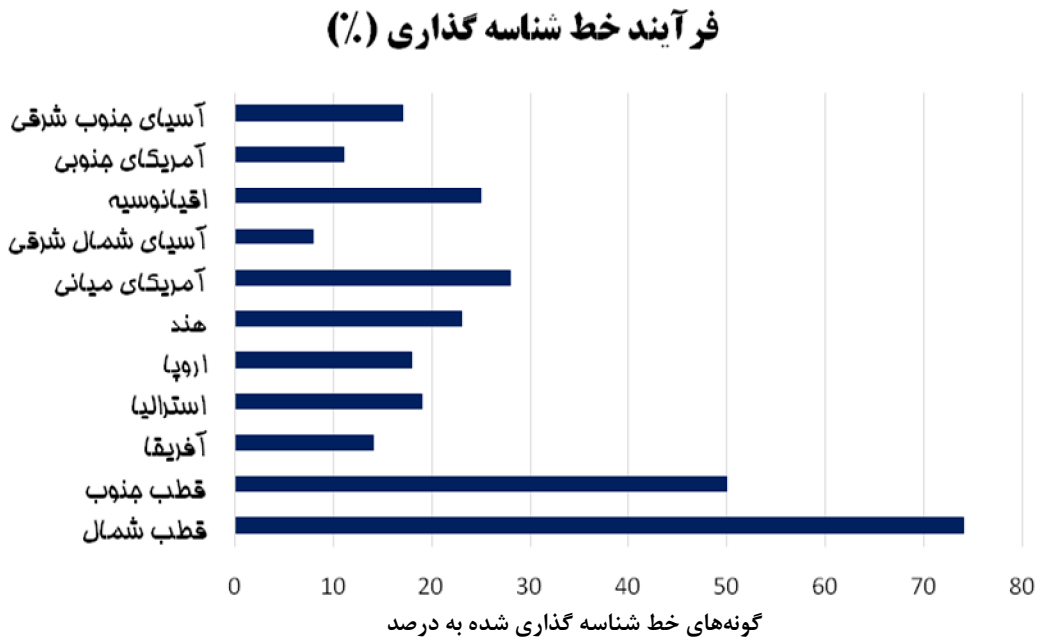
انجام خط‌شناسه‌گذاری DNA برای ماهی‌ها، به‌عنوان شیوه‌ای مستقل برای آزمون صحت رده‌بندی حال حاضر ماهی‌ها نیز کاربرد دارد. به طور مثال در دریای مدیترانه مرکزی مجموع داده‌ای ۱۲۷۸ خط شناسه گذاری DNA (نشان دهنده ۲۱۸ گونه ماهی دریایی) برای آزمون درستی خط‌شناسه DNA جهت تعیین گونه‌ها از دیدگاهی جدید برای بررسی تنوع زیستی ماهی‌های دریایی حتی تا سطح زیرگونه استفاده شده است (Landi *et al.*, 2014).

امروزه فرآیند خط‌شناسه گذاری برای ۲۵٪ از ۳۱۸۵۰ گونه ماهی شناخته شده (Fishbase, 2016) انجام شده است. داده‌های مربوط به این مطالعات در جدول ۱ و شکل ۱ به تفکیک منطقه جغرافیایی و تاکسونومی آورده شده است. با استفاده از شیوه‌نامه‌های استاندارد تجزیه و تحلیل، نشان داده شده است که عمده تفاوت‌ها در نرخ تکمیل خط‌شناسه گذاری بین راسته‌ها و خانواده‌ها قابل مشاهده است. مطالعات نشان داده که هنگامی که گونه‌ای فقط با یک نمونه شناسایی شده مورد بررسی قرار می‌گیرد، نرخ شکست ۹٪ خواهد بود (Dasmahapatra *et al.*, 2010). علت این امر می‌تواند متعدد

[1] Barcode of Life Data System

Downloaded from ornamentalaquatics.ir at 23:55 +0330 on Wednesday November 20th 2019

باشد و به عدم جفت‌شدن پرایمرها و یا نمونه‌های DNA آسیب دیده برگردد. در حالتی‌که از دو نمونه برای خط‌شناسه گذاری DNA استفاده شود نرخ شکست به میزان قابل توجهی کاهش می‌یابد (حدود ۳٪) (Ward, 2012).



شکل ۱: درصد گونه‌های خط‌شناسه گذاری شده ماهی‌ها در مناطق جغرافیایی گوناگون (اقتباس از Scientific Committee on Network Antarctic Research – Marine Biodiversity Information (2012))

جدول ۱: مقایسه آمار گونه‌های ماهی شناخته شده و خط شناسه گذاری شده در مناطق جغرافیایی مشخص اقتباس از FISH-BOL (Fish Barcode of Life Initiative)

منطقه	گونه‌های موجود	گونه‌های خط‌شناسه گذاری شده
قطب شمال	۲۴۰	۱۷۸
قطب جنوب	۳۲۵	۱۶۲
آفریقا	۸۹۸۰	۱۲۱۶
استرالیا	۸۶۲۳	۲۴۴۹
اروپا	۲۰۲۸	۳۹۱
هندوستان	۱۱۰۲۳	۱۹۱۸
آمریکای میانی	۷۶۷۷	۱۷۱۳
آمریکای شمالی	۸۱۱۲	۲۲۳۹
آسیای شمال شرقی	۱۰۴۱۴	۹۱۷
اقیانوسیه	۵۷۰۲	۱۳۹۴
آمریکای جنوبی	۸۹۸۱	۱۰۰۳
آسیای جنوب شرقی	۱۲۱۴۰	۲۰۱۹

خط شناسه گذاری و مارکرهای DNA برای ماهی‌ها

زمانی توالی از DNA به عنوان یک مارکر مولکولی انتخاب می‌شود که بتواند برای نشان‌کردن و یا ردیابی مکانی ویژه (لوکوس) روی کروموزومی خاص مورد استفاده قرار گیرد که در این حالت مارکر ژنی نامیده می‌شود. مارکرهای ژنی به داشتن مکانی دقیق یا بیان ظاهری مشخصی شناخته می‌شود که به سبب آن مطالعه وراثتی یک ژن یا یک ویژگی را تسهیل می‌کند (Hohenlohe *et al.*, 2011). همانگونه که پیش‌تر نیز اشاره شد، توالی مشخص‌شده‌ای در

Downloaded from ornamentalaquatics.ir at 23:55 +0330 on Wednesday November 20th 2019

انتهای '5 ژن COI میتوکندریایی به‌عنوان مارکر جهانی خط‌شناسه گذاری معرفی شده است. در سطح درون‌گونه‌ای، تنوع برای این ژن در مقایسه با سطوح بین‌گونه‌ای بسیار پایین است، به عبارت دیگر COI مارکر مناسبی جهت نشان‌دادن تفاوت‌های گونه‌ای می‌باشد.

با توجه به مطالعات گوناگون انجام شده در راستای خط‌شناسه گذاری آبزیان (Ward *et al*., 2012, Ivanova *et al*., 2007, Baldwin *et al*., 2011) مجموعه توالی پرایمرهای ذکر شده در جدول ۲ برای آنالیزهای خط‌شناسه گذاری DNA در ماهی‌ها پیشنهاد می‌شود.

جدول ۲: مجموعه پرایمرهای PCR و توالی‌های پرایمری مورد استفاده برای خط‌شناسه گذاری DNA

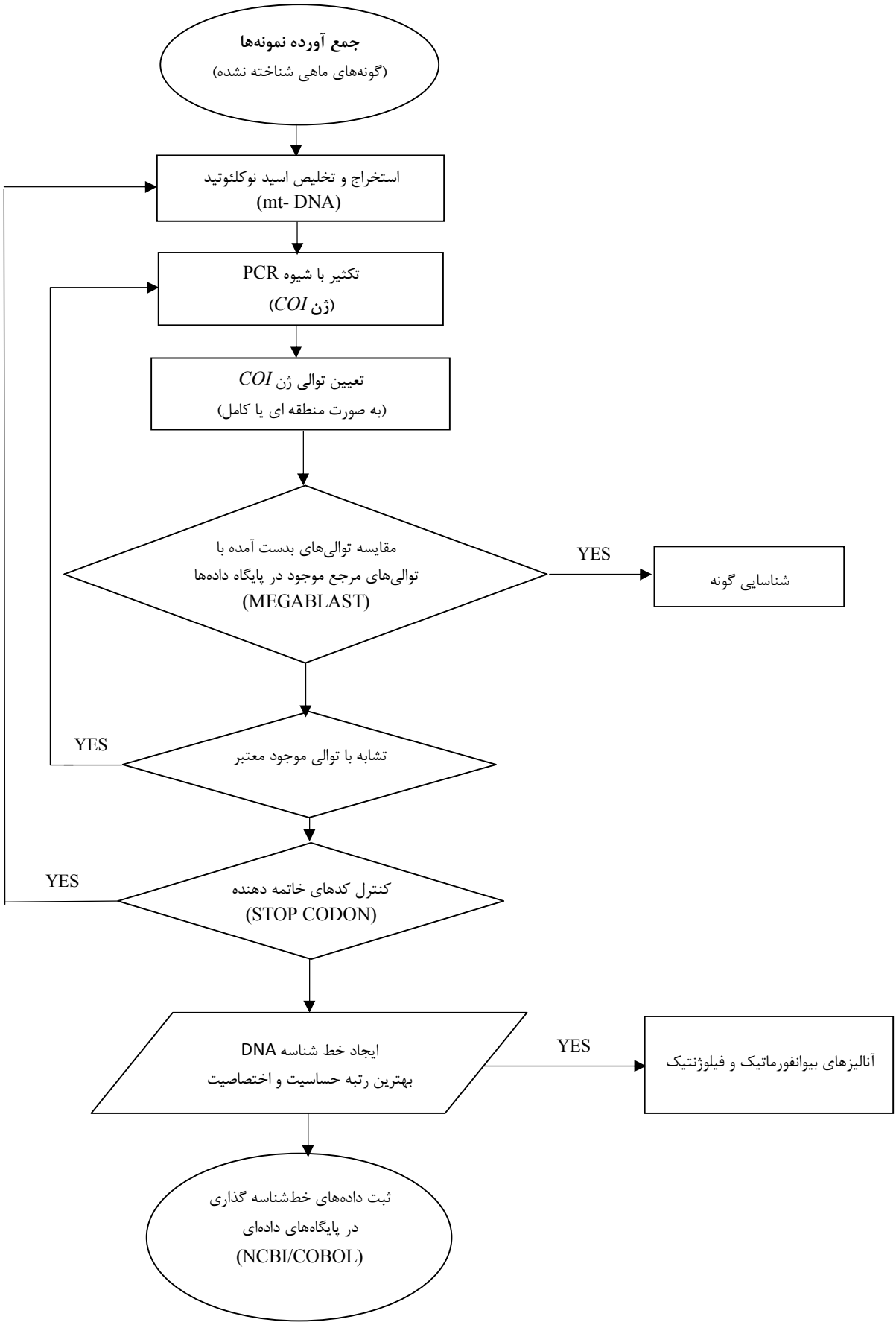
نام پرایمر	توالی ´3-´5	منبع
پرایمرهای بدون دم M13		
Fish F1	TCAACCAACCACAAAGACATTGGCAC	(Ward *et al*., 2005)
FishF2	TCGACTAATCATAAAGATATCGGCAC	(Ward *et al*., 2005)
FishR1	TAGACTTCTGGGTGGCCAAAGAATCA	(Ward *et al*., 2005)
FishR2	ACTTCAGGGTGACCGAAGAATCAGAA	(Ward *et al*., 2005)
Fish-BCH	ACTTCYGGGTGRCCRAARAATCA	(Baldwin *et al*., 2011)
Fish-BCL	TCAACYAATCAYAAAGATATYGGCAC	(Baldwin *et al*., 2011)
VF1	TTCTCAACCAACCACAAAGACATTGG	(Ward *et al*., 2005)
VF2	TCAACCAACCACAAAGACATTGGCAC	(Ivanova *et al*., 2007)
VR1	TAGACTTCTGGGTGGCCAAAGAATCA	(Ward *et al.,* 2005)
پرایمرهای با دم M13		
C_FishF1t1– C_FishR1t1 (ratio 1:1:1:1)		
VF2_t1	TGTAAAACGACGGCCAGTCAACCAACCACAAAGACATTGGCAC	(Ivanova *et al*., 2007)
FishF2_t1	TGTAAAACGACGGCCAGTCGACTAATCATAAAGATATCGGCAC	
FishR2_t1	CAGGAAACAGCTATGACACTTCAGGGTGACCGAAGAATCAGAA	
FR1d_t1	CAGGAAACAGCTATGACACCTCAGGGTGTCCGAARAAYCARAA	
C_VF1LFt1– C_VR1LRt1 (ratio 1:1:1:3:1:1:1:3)		
LepF1_t1	TGTAAAACGACGGCCAGTATTCAACCAATCATAAAGATATTGG	(Ivanova *et al*., 2007)
VF1_t1	TGTAAAACGACGGCCAGTTCTCAACCAACCACAAAGACATTGG	
VF1d_t1	TGTAAAACGACGGCCAGTTCTCAACCAACCACAARGAYATYGG	
VF1i_t1	TGTAAAACGACGGCCAGTTCTCAACCAACCATAATGATATTGG	
LepR1_t1	CAGGAAACAGCTATGACTAAACTTCTGGATGTCCAAAAAATCA	
VR1d_t1	CAGGAAACAGCTATGACTAGACTTCTGGGTGGCCRAARAAYCA	
VR1_t1	CAGGAAACAGCTATGACTAGACTTCTGGGTGGCCAAAGAATCA	
Vr1i_t1	CAGGAAACAGCTATGACTAGACTTCTGGGTGICCIAAIAAICA	
پرایمرهای تعیین توالی برای محصولات PCR با دم M13		
M13F (-21)	TGTAAAACGACGGCCAGT	(Messing, 1983)
M13R (-27)	CAGGAAACAGCTATGAC	

همچنین فرآیند کامل خط‌شناسه گذاری از جمع‌آوری نمونه تا کنترل کیفیت داده‌های به‌دست آمده در شکل ۲ به صورت خلاصه آورده شده است.

کشف و تأیید گونه‌ها

در اولین مطالعه خط‌شناسه ماهی‌های استرالیا، تعدادی از تاکسون‌هایی که فقط به‌طور موقت توسط ویژگی‌های مورفولوژیکی شناسایی شده بودند مورد بررسی قرار گرفت. در تمامی اقیانوس‌ها این ماهی‌ها توسط خط‌شناسه‌شان قابل تشخیص هستند. بعضی‌ها هم در ادامه نام‌گذاری شده‌اند، به‌طور مثال گونه‌ای از سگ‌ماهی جنس *Squalus* به‌طور اولیه خط‌شناسه گذاری شد که *Squalus* sp. نام‌گذاری شد. پس از آن، پنج گونه دیگر از *Squalus* (که به عنوان B، C، D، E و F نامگذاری شده بودند) در حال حاضر دارای اسمی علمی می‌باشند (Last *et al*., 2007; Ward and Holmes, 2007).

Downloaded from ornamentalaquatics.ir at 23:55 +0330 on Wednesday November 20th 2019



شکل ۲- خلاصه فرآیند خط شناسه گذاری از جمع آوری نمونه تا ثبت داده‌های به دست آمده

Downloaded from ornamentalaquatics.ir at 23:55 +0330 on Wednesday November 20th 2019

ماهی گوبی (*Coryphopterus kuna*) اولین گونه مهره‌دار بود که خط‌شناسه ژن *COI* به‌عنوان بخشی از توصیف گونه‌اش ذکر شده بود (Victor, 2007). به‌علاوه خط‌شناسه *COI* کمک شایانی به اعتبار سنجی گونه‌جدید دومی از گوبی *Coryphopterus bol* (Victor, 2008)، یک گونه جدید از سپرماهی *Urolophus kapalensis*، یک ماهی دستی *Brachionichthys australis* (Last *et al*., 2007) و پنج گونه جدید از شقایق ماهی *Chromis* sp کرده است (Pyle *et al*., 2008). Lakra و همکاران (۲۰۱۱) ۱۱۵ گونه (متعلق به ۳۷ خانواده و ۷۹ جنس) از ماهی‌های دریایی فاین فیش آب‌های هندوستان را خط‌شناسه گذاری کردند. بیشتر نمونه‌برداری‌های آن‌ها مربوط به مناطق ماهی‌گیری بود. بنابراین آن‌ها تنها موفق به خط‌شناسه گذاری ماهی‌هایی که به لحاظ تجاری مهم بودند شدند (Khan *et al*., 2011). همچنین Krishnamurthy و Francis (۲۰۱۲) روابط ژنتیکی و تنوعاتی را درون گونه‌های ماهی‌ها توسط روش‌های بر پایه تعیین توالی ژن COI مشاهده کردند. داده‌های مبتنی بر تعیین توالی آن‌ها ۱۰ گونه ماهی متعلق به ۶ خانواده را رده‌بندی کرد. در مجموع در شمال شرقی هند، مطالعه تاکسونومیکی تفصیلی ۲۵ گونه از ۱۷ جنس و ۹ خانواده را با آنالیز داده‌های تعیین توالی‌های ژن COI مشخص نمود. داده‌های مربوط به این رده‌بندی در BOLD قابل دسترسی می‌باشد (Bhattacharjee *et al*., 2012).

دشواری‌های خط‌شناسه گذاری ماهی‌ها

تکنیک خط‌شناسه گذاری DNA سعی بر این دارد که با سرعت بخشیدن به مقوله کشف و طبقه‌بندی گونه‌ها، راستی آزمایی فرضیه‌های تاکسونومی حاضر و نیز ارائه روشی دردسترس و آسان جهت شناسایی گونه‌ها، از حیات گونه‌ها حمایت نماید. با این وجود دورگه‌زایی[1] و ورود[2] گونه‌ها، می‌تواند برای خط‌شناسه گذاری مشکل‌زا باشد. از آنجا که ژن خط‌شناسه (COI) ژنی میتوکندریایی می‌باشد، طبیعتاً از والد مادری هر نمونه خط‌شناسه گذاری شده مشتق می‌شود. بنابراین هر ماهی دورگه به‌طور اجتناب‌ناپذیری، از روی گونه مادری‌اش شناسایی خواهد شد. اگر مشخص شده باشد که گونه شناسایی شده دورگه است، آنگاه خط‌شناسه گذاری DNA باید با آنالیز آلل‌های DNA هسته‌ای مختص گونه‌ای شناخته‌شده همراه شود و از مارکرهای میتوکندریایی و هسته‌ای حفاظت‌شده‌تر مانند 16s rRNA، ND2 (NADH dehydrogenase 2)، EF1-α (Elongation Factor 1 alpha)، (Da Lage *et al*., 2011; 2009; Pradhan *et al*., 2015; Lakra *et al*., Thirumaraiselvi *et al*., 2015) استفاده گردد.

مثال‌هایی از دورگه‌زایی در میان تنوع گسترده‌ای از ماهیان استخوانی در هر دو محیط آب شیرین (۱۳۹ گونه جفت، Scribner *et al*., 2000) و دریایی (Gardner, 1997) ثبت شده است. اما حتی در میان ماهیان استخوانی نیز فقط درصد بسیار کمی از گونه‌ها (تقریباً ۱٪) به‌عنوان گونه دورگه شناخته شده‌اند. نتایج بدست آمده نشان می‌دهند که دورگه‌زایی به قدری غیرمعمول است که به‌ندرت قابلیت خط‌شناسه گذاری را برای انجام یک شناسایی صحیح تحت تأثیر قرار می‌دهد. به هر حال مطالعات انجام شده در این زمینه نشان می‌دهند که نمونه‌هایی که در ابتدا اشتباه شناسایی شده‌اند نسبت به نمونه‌هایی که در آن‌ها دورگه‌زایی رخ داده است جای نگرانی بیشتری دارند و با خط شناسه‌گذاری می‌توان بسیاری از نمونه‌ها را به درستی شناسایی کرد.

از دیگر مواردی که خط‌شناسه‌گذاری در مورد شناسایی آن‌ها ناتوان است، گونه‌هایی هستند که اخیراً اشتقاق یافته‌اند. اشتقاق ژنتیکی خطوط تکاملی که به لحاظ تولیدمثلی ایزوله و در طول زمان افزایش می‌یابد. گونه‌های جنس *Thunnus* در مجموع اشتقاق کمی را نشان می‌دهند (Ward *et al*., 2007). هم‌چنین ماهی‌تن باله آبی اقیانوس آرام *Thunnus orientalis* و ماهی تن آلباکور (*Thunnus alalunga*) فقط در یک جفت نوکلئوتید عدم شباهت دارند. جالب توجه اینکه بر خلاف اشتقاق پایین بین این دو گونه، تنها جفت نوکلئوتید متفاوت منجر به تفکیک این دو گونه می‌شود. با این وجود ممکن است که بعضی از گونه‌های این چنینی دارای جهش نوکلئوتیدی مشخص در منطقه خط‌شناسه COI نداشته باشند.

بدون شک جفت گونه‌هایی وجود دارند که با خط‌شناسه‌گذاری قابل تفکیک نمی‌باشند. به‌طور مثال ماهی‌های چهارگوش عمق‌زی *Urolophus. sufflavus* و *Urolophus cruciatus* از جمله این جفت‌ها هستند (Ward and Holmes, 2007). همچنین گونه‌های آب شیرینی وجود دارند که دارای خط‌شناسه هاپلوتایپ یکسان می‌باشند (Hubert *et al*., 2008). به هر حال چنین مواردی غیرمعمول بوده و شامل تاکسون‌های خواهری می‌شود که به لحاظ مورفولوژیکی هم اشتقاق کمی داشته‌اند. نکته قابل ذکر این است که اگر نمونه‌ای ناشناخته، خط‌شناسه گذاری شود و نمونه مربوط به گونه‌های خواهری باشد، داده‌های بدست آمده با هر دو گونه ثبت شده شباهت نشان می‌دهد که در اینجا می‌توان با مارکرهای دیگری نظیر ریزماهواره‌هایی[3] از جمله MFW4, MFW3, MFW2, MFW8, MFW7, MFW6, MFW5, MFW1 گونه صحیح را تشخیص داد.

[1] Hybridization
[2] Introgression
[3] Microsatellites

Downloaded from ornamentalaquatics.ir at 23:55 +0330 on Wednesday November 20th 2019

نگاهی بر خط‌شناسه گذاری در ماهی‌های زینتی

تجارت بین‌المللی و به‌خصوص صنعت آکواریوم داری، عامل مهمی در انتقال ماهی‌ها و بی‌مهرگان غیربومی و پاتوژن‌های همراه آن‌ها می‌باشد (Duggan, 2010; Chang *et al*., 2008; Derraik and Phillips, 2010). تجارت بیش از یک بیلیون ماهی در سال در دنیا (Whittington and Chong, 2007) و بیش از ۵ هزار گونه مورد توجه، انجام پایش زیستی مؤثر برای این تجارت از ضروریات است. فرآیندهای قرنطینه نقش مورد توجهی را در جلوگیری از ورودهای ناخواسته احتمالی بر عهده دارند. کشورهای مختلف یکی از این دو استراتژی فهرست سیاهی از تاکسون‌های ممنوعه یا فهرست سفید تاکسون‌های مجاز را جهت فائق آمدن به مشکلات این چنینی در پیش گرفته‌اند. به هرحال الزامی کردن چنین فهرستی در مرزها، مشکلات خاص خودش از جمله مشکلات مربوط به خطا در شناسایی چشمی گونه‌ها به همراه دارد (Hensen *et al*., 2010). از سوی دیگر، از آنجایی که صادرات و واردات انواع ماهی‌های زینتی به سراسر دنیا، روند رو به افزایشی داشته است موارد دیگری نیز مطرح است. در نگاه اول شاید امر صادرات ماهی‌های تزئینی کم اهمیت جلوه دهد اما با نگاهی دقیق‌تر می‌توان دریافت که ورود این ماهی‌ها به مناطقی که زیستگاه طبیعی آن‌ها نمی‌باشد از یک سو و همچنین برداشت بیش از اندازه این گونه ماهی‌ها از صخره‌های مرجانی از سوی دیگر تهدید کننده بقا این ماهی‌ها و حتی جزایر مرجانی خواهد بود. در همین راستا انجام خط‌شناسه گذاری DNA در ماهیان زینتی می‌تواند روشی پایه و راه‌حلی استاندارد برای شناسایی سریع این ماهی‌ها و کنترل صادرات و واردات آن‌ها باشد (Collins *et al*., 2012). به‌طور مثال اخیراً ۵۰۰ گونه ماهی زینتی دریایی که به طور عمده از صخره‌های مرجانی سراسر دنیا جمع‌آوری شده‌اند برای نگهداری در آکواریوم‌های خانگی و تفریحی به کانادا وارد شده‌اند. این امر باعث شده مسئولین امر به فکر کنترل واردات این ماهی‌ها از طریق خط‌شناسه گذاری بیفتند. همچنین مجموع ۱۲۸ نمونه از ماهی‌های زینتی که از شمال شرقی هند به مناطق مختلف صادر شده بود از طریق خط‌شناسه گذاری DNA و داده‌های مورفولوژیکی مورد بررسی قرار گرفت (Dhar and Ghosh, 2015). اخیراً یک آزمایشگاه خط‌شناسه گذاری DNA برای ۳۱ گونه از ۶۳ ماهی زینتی دریایی مهم از لحاظ تجاری از هندوستان ایجاد شده تا مشکلات شناسایی در بخش تجاری را حل و فصل نماید (Bamaniya *et al*., 2015).

نتیجه‌گیری کلی

در ۵۰ سال گذشته، تجارت بین‌المللی ماهی‌های زینتی روند رو به رشدی داشته است. گونه‌هایی که از آب شیرین و محیط‌های دریایی برای تجارت صید می‌شوند شامل انواع گونه‌های بی‌مهره (مرجان‌ها، سخت‌پوستان و شقایق دریایی) و مهره‌دار (انواع ماهی‌ها) می‌باشند (FAO, 2008). در حقیقت تجارت بین‌المللی آبزیان زینتی و به‌ویژه ماهیان زینتی، عامل مهمی برای توزیع گونه‌های مهاجم در سرتاسر جهان به‌حساب می‌آید (Collins, 2013). اما شناسایی دقیق موجودات وارداتی به‌عنوان بخشی از یک برنامه نظارت امنیت زیستی، فرصتی مناسب را جهت کاهش مشکلات بالقوه در این زمینه فراهم آورده است. در گذشته شناسایی گونه‌ها امری بصری بوده و گونه‌های جانوران با صفات مورفولوژیکی شناسایی می‌شدند، اما اخیراً به کارگیری روش‌های مولکولی و سرآمد همه آن‌ها شیوه‌های خط‌شناسه گذاری DNA کار شناسایی گونه‌ها را دقیق‌تر و آسان‌تر کرده است. در همین راستا ساماندهی و بهینه‌سازی تلاش‌های جهانی برای ایجاد و انتقال دانش تاکسونومی موجودات آبزی از الزامات حال حاضر می‌باشد. تکنولوژی‌های تعیین توالی به‌سرعت در حال پیشرفت بوده و نتایج ارزشمندی را با کارایی بالا و قیمت مناسب عرضه می‌کنند. حدود ۲۵٪ از گونه‌های ماهی خط‌شناسه گذاری شده‌اند اما هنوز راه زیادی برای تحقق هدف خط‌شناسه گذاری تمامی گونه‌های شناخته شده ماهی‌ها (حدود ۳۱ هزار گونه) وجود دارد. لازمه رسیدن به این هدف تشکیل انجمن خط‌شناسه گذاری جهانی است. در عین اینکه دستیابی به این هدف نوید دهنده سیستم شناسایی کارآمد برای ماهی‌ها است، ممکن است با موانع معدودی همراه باشد. گروه‌های تاکسونومیکی وجود خواهند داشت که خط‌شناسه گذاری COI نمی‌تواند برای آن‌ها در سطح گونه شفاف باشد. با این وجود شواهد نشان می‌دهند که این گونه موارد نه تنها برای ماهی‌های زینتی بلکه برای سایر ماهی‌ها نیز نادر خواهند بود و در پایگاه‌های داده‌ای گوناگون مشخص شده‌اند. مثال‌های معدودی از شباهت بارکدها بین گونه‌ها یافت شده است. این امر احتمالاً به دورگه‌زایی، اشتقاق‌یافتگی اخیر و یا خطا در شناسایی و حتی برچسب گذاری مربوط می‌باشد. از آنجایی که توسعه یک سیستم خط‌شناسه گذاری DNA برای شناسایی گونه‌های ماهی‌ها در گرو بنیادی برای شناسایی تاکسونومیکی صحیح گونه‌های مرجع می‌باشد، موفقیت خط‌شناسه گذاری mt-DNA نشان‌دهنده نیاز مکرر به سرمایه‌گذاری‌ها در مجموعه‌ها و سیستم پشتیبان رده‌بندی وسیع‌تر در آینده نزدیک است. بررسی‌های انجام شده در این مطالعه نشان می‌دهد که خط‌شناسه گذاری DNA در ماهی‌های تزئینی ابزار مناسبی برای کنترل صادرات و واردات ماهی‌های تزئینی وجلوگیری از ورود گونه‌های مهاجم می‌باشد.

منابع

Alvarez, D., Nicieza, A.G., 2003. Predator avoidance behaviour in wild and hatchery-reared brown

Downloaded from ornamentalaquatics.ir at 23:55 +0330 on Wednesday November 20th 2019

trout: The role of experience and domestication. Journal of Fish Biology, 63:1565–77.

Avise, J. C., 1975. Systematic value of electrophoretic data. Systematic Zoology, 23: 465–481.

Ballard, J.W., Whitlock, M.C., 2004. The incomplete natural history of mitochondria. Molecular Ecology, 13:729–44.

Bamaniya, D.C., Pavan-Kumar, A., Gireesh-Babu, P., Sharma, N., Reang, D., Krishna, G., Lakra, W., 2015. DNA barcoding of marine ornamental fishes from India. Mitochondrial DNA, 27(5): 3093-3097.

Bartlett, S.E., Davidson, W.S., 1991. Identification of *Thunnus tuna* species by the polymerase chain reaction and direct sequence analysis of their mitochondrial cytochrome b genes. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science, 48: 309–317.

Baldwin, C.C., Castillo, C.I, Weigt, L.A., Victor, B.C., 2011. Seven new species within western Atlantic *Starksia atlantica*, *S. lepicoelia*, and *S. sluiteri* (Teleostei, Labrisomidae), with comments on congruence of DNA barcodes and species. Zookeys 79:21–72.

Besansky, N.J, Severson, D.W., Ferdig, M.T., 2003. DNA barcoding of parasites and invertebrate disease vectors: What you don't know can hurt you? Trends Parasitol, 19:545–6.

Bhattacharjee, M.J, Laskar, B.A, Dhar, B., Ghosh, S.K., 2012. Identification and re-evaluation of freshwater catfishes through DNA barcoding. PLoS One, 7(1):e49950.

Blaxter, M., Mann, J., Chapman, T., Thomas, F., Whitton, C., Floyd, R., Abebe, E., 2005. Defining operational taxonomic units using DNA barcode data. Philos Trans R Soc Lond B Biological Science, 360:1935–43.

Chang, A.L., Grossman, J.D., Spezio, T.S, Weiskel, H.W., Blum, J.C., Burt, J.W., Muir, A.A., Piovia-Scott, J., Veblen, K.E., Grosholz, E.D., 2008. Tackling aquatic invasions: risks and opportunities for the aquarium fish industry. Biological Invasions. 11:773–785.

Collins, R.A., Armstrong, K.F., Meier, R., Yi, Y., Brown, S.D.J., Cruickshank, R.H., Keeling, S., Johnston, C., 2012. Barcoding and border biosecurity: identifying cyprinid fishes in the aquarium trade. PLoS ONE, 7:328-381

Collins, R.A, Armstrong, K. F., Holyoake, A. J., Keeling, S., 2013. Something in the water: biosecurity monitoring of ornamental fish imports using environmental DNA. Biological invasions.15 (6):1209-1215.

Duggan, I.C., 2010. The freshwater aquarium trade as a vector for incidental invertebrate fauna. Biol Invasions. 12:3757–3770.

Da Lage, J.L., Maczkowiak, F., Cariou, M.L., 2011. Phylogenetic distribution of intron positions in alpha-amylase genes of bilateria suggests numerous gains and losses. PLoS One, 6:e19673.

Dasmahapatra, K.K., Elias, M., Hill, R.I, Hoffman, J.I., Mallet, J., 2010. Mitochondrial DNA barcoding detects some species that are real, and some that are not. Molecular Ecological Resources, 10:264–73.

Dhar, B., Ghosh, S.K., 2015. Genetic assessment of ornamental fish species from North East India. Gene, 555:382–92.

Derraik, J.G.B., Phillips, S., 2010. Online trade poses a threat to biosecurity in New Zealand. Biol Invasions, 12:1477–1480.

Food and Agriculture Organization., 2008. FAO yearbook. Fishery and Aquaculture Statistics. 2006. Rome: FAO Fisheries and Aquaculture Information and Statistics Service.

Filonzi, L., Chiesa, S., Vaghi, M., Nonnis Marzano, F., 2010. Molecular barcoding reveals mislabelling of commercial fish products in Italy. Food Research International, 43:1383–8.

Gardner, T., 1997. Commercial breeding of the dottybacks. Seascope, 14:1–2.

Guiliano, D.B., Blaxter, M.L., 2006. Operon conservation and the evolution of trans-splicing in the phylum Nematoda. PLoS Genet, 2: e198.

Hensen, R.R., Ploeg, A., Fossa, S.A., 2010. Standard names for freshwater fishes in the ornamental aquatic industry. Ornamental Fish International, Maarssen

Hohenlohe, P.A., Amish, S.J., Catchen, J.M., Allendorf, F.W., Luikart, G., 2011. Next-generation RAD sequencing identifies thousands of SNPs for assessing hybridization between rainbow and westslope cutthroat trout. Molecular Ecological Resources. 11:117–22.

Http://www.fishbase.org

Http://www.fishbol.org

Hubert, N., Hanner, R., Holm, E., Mandrak, N. E, Taylor E, Burridge, M., Watkinson, D., 2008. Identifying Canadian freshwater fishes through DNA barcodes. PLoS One, 3: e2490.

Ivanova, N.V., Zemlak, T.S., Hanner, R.H., Hebert, P.D.N. 2007. Universal primer cocktails for fish DNA barcoding. Molecular Ecological Notes, 7:544–8.

Jacquet, J.L., Pauly, D., 2008. Trade secrets: Renaming and mislabeling of seafood. Marine Policy, 32:309–18.

Khan, S.A., Kumar, C.P., Lyla, P., Murugan, S., 2011. Identifying marine fin fishes using DNA barcodes. Current Science (Bangalore), 101:1152–4.

Landi, M., Dimech, M., Arculeo, M., Biondo, G., Martins, R., Carneiro, M., Carvalho, G.R., 2014. DNA barcoding for species assignment: The case of Mediterranean marine fishes. PLoS One, 9: e106135.

Downloaded from ornamentalaquatics.ir at 23:55 +0330 on Wednesday November 20th 2019

T., 2005. Microcoding: The second step in DNA barcoding. Philos Trans R Soc Lond B: Biologival Science, 360:1897–903.

Thirumaraiselvi, R., Sourin, D., Ramanadevi, V., Thangaraj, M., 2015. MtDNA barcode identification of finfish larvae from Vellar Estuary, Tamil Nadu, India. Notulae Science Biology, 7:16–19.

Victor, B.C., 2008. Redescription of Coryphopterus tortugae (Jordan) and a new allied species *Coryphopterus bol* from the tropical western Atlantic Ocean. Journal Ocean Sciecnce Found, 1:1–19.

Ward, R.D., Holmes, B.H., 2007. An analysis of nucleotide and amino acid variability in the barcode region of cytochrome c oxidase I (cox1) in fishes. Molecular Ecology Notes, 7:899–907.

Ward, R.D., 2012. FISH-BOL, a case study for DNA barcodes. Methods Molecular Biology, 858:423–39.

Weigt, L.A, Driskell, A.C, Baldwin, C.C., Ormos, A., 2012. DNA barcoding fishes. Methods Molecular Biology, 858:109–26.

Will, K.W., Rubinoff, D., 2004. Myth of the molecule: DNA barcodes for species cannot replace morphology for identification and classification. Cladistics, 20:47–55.

Whittington, R.J., Chong, R. 2007. Global trade in ornamental fish from an Australian perspective: the case for revised import risk analysis and management strategies. Preventive Veterinary Medicine, 81:92–116.

Wong, E.H.K., Hanner, R.H., 2008. DNA barcoding detects market substitution in North American seafood. Food Research International, 41:828–37.

Lakra, W.S., Goswami, M., Gopalakrishnan, A., 2009. Molecular identification and phylogenetic relationships of seven Indian Sciaenids based on 16S rRNA and cytochrome c oxidase subunit I mitochondrial genes. Molecular Biology Report, 36:831–9.

Last, P.R., Gledhill, D.C., Holmes, B.H., 2007. A new handfish, Brachionichthys australis sp. nov. (Lophiiformes: Brachionichthyidae), with a redescription of the critically endangered spotted handfish, *B. hirsutus* (Lacepe`de). Zootaxa, 1666:53–68.

Pradhan, V., Kamble, Y., Ladniya, V., Mogul, M., 2015. An overview of species identification by DNA barcoding. International Journal of Current Microbiology and Applied Science, 4:127–40.

Pyle, R.L., Earle, J.L., Greene, B.D., 2008. Five new species of the damselfish genus Chromis (Perciformes: Labroidei: Pomacentridae) from deep coral reefs in the tropical western Pacific. Zootaxa, 1671:3–31.

Savolainen, V., Cowan, R.S., Vogler, A.P., Roderick, G.K., Lan, R., 2005. Towards writing the encyclopedia of life: an introduction to DNA barcoding. Philosophical Transactions of the Royal Society, 360: 1805–1811.

Scribner, K.T., Page, K.S., Bartron, M.L., 2000. Hybridization in freshwater fishes: A review of case studies and cytonuclear methods of biological inference. Review of Fish Biology, 10:293–323.

Scientific Committee on Antarctic Research – Marine Biodiversity Information Network., 2012. Available on SCAR-Marine Biodiversity Information Network (http://www.scarmarbin.be)

Summerbell, R.C., Le´vesque, C.A., Seifert, K.A., Bbovers, M., Fell, J.W., Diaz, M.R., Boekhout,