کاربرد زیست فن‌آوری دستکاری ژنتیکی انتقال ژن در آبزی‌پروری دریایی

شیرین جمشیدی*[۱]، سمیرا ناظم‌رعایا[۲]

۱. موسسه تحقیقات بین المللی تاسماهیان دریای خزر، سازمان تحقیقات،آموزش و ترویج کشاورزی، رشت،ایران.
۲. پژوهشکده آبزی پروری جنوب کشور، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اهواز، ایران.
* نویسنده مسئول: jamshidi99@yahoo.com

چکیده

باتوجه به افزایش روز افزون جمعیت دنیا، آبزی پروری دریایی نقش کلیدی را در تأمین نیاز پروتئینی انسان بازی خواهد کرد. بنابراین، نیاز به تولید بیشتر در این صنعت امری بسیار ضروری و غیرقابل اجتناب است. تولید لارو و بچه ماهی نیز وابسته به مولدین است، درحالیکه یکی از تنگناهای مهم در پرورش ماهیان دریایی، تهیه ذخیره ژنتیکی از مولدین با ویژگی‌های خاص می‌باشد. این مولدین می‌توانند حاوی ژن‌های ویژه‌ای مانند قابلیت رشد بالاتر یا مقاومت به بیماری‌های خاص باشند. از آنجاییکه روش‌های سنتی اصلاح نژاد بسیار زمان‌بر و پرهزینه هستند، با استفاده از فناوری‌های زیستی نوین مانند تراریخته کردن می‌توان به ایجاد مولدین برتر رسید. در این مقاله سعی بر آن شده است تا نمونه‌های موفقی از ماهیان دریایی تراریخته تولید شده در سراسر دنیا معرفی شوند. همچنین درباره ژن‌های مهمی بحث می‌شود که انتقال آنها به ماهی باعث افزایش تولید، کاهش هزینه‌ها و در نهایت سرمایه گذاری پرسودتر خواهد شد.

واژگان کلیدی: زیست فن‌آوری دریایی، تراریخته، ماهیان دریایی

مقدمه

وضعیت آبزی پروری در دنیای امروزی و لزوم توجه به فن‌آوری زیستی نوین در آبزی‌پروری

در سال ۲۰۱۶ میزان تولید شیلاتی، شامل صید و پرورش آبزیان، برابر با ۱۷۱ میلیون تن بوده است. حدود ۸۰ میلیون تن از این مقدار، مختص به آبزی پروری بوده است (Williams, 2018). تا سال ۲۰۳۰، میزان مصرف آبزیان توسط انسان افزایش می‌یابد که این رشد بیشتر از جانب آبزی‌پروری در مقایسه با صید آبزیان خواهد بود (FAO, 2014). بنابراین باتوجه به افزایش جمعیت دنیا به مرز بیش از نه میلیارد نفر تا سال ۲۰۵۰ و اهمیت آبزی‌پروری، استفاده از زیست فن‌آوری که منجر به تولید بیشتر در واحد سطح یا حجم پرورش شود بسیار ضروری و غیرقابل اجتناب خواهد بود. در این میان به‌کارگیری «فن‌آوری زیستی نوین»[1] چون پرورش آبزیان «تراریخته»[2] و یا آبزیان اصلاح نژاد شده با قابلیت رشد بیشتر، با قابلیت تحمل بیماری‌های ویروسی و باکتریایی و همچنین با قابلیت استفاده از مواد غذایی ارزان‌تر و تولید پروتئین بیشتر یکی از راهکارهای اصلی در طراحی و توسعه پایدار «آبزی‌پروری نوین»[3] است. این مقاله به گونه‌هایی از ماهیان دریایی اشاره دارد که فرآیند انتقال ژن‌های خاص در آنها صورت گرفته و نمونه‌های موفقی در آبزی‌پروری دریایی در کشورهای مختلف بوده‌اند.

تعریف « فن‌آوری زیستی»[4] و « فن‌آوری زیستی دریایی»[5]

«فن‌آوری زیستی» استفاده از موجودات زنده یا محصولاتی از آنهاست که به‌منظور بهبود وضعیت زندگی انسان یا دیگر موجودات زنده به کار می‌روند. همچنین زمانی‌که با استفاده از زیست شناسی مشکلی برطرف گردد، از فن‌آوری زیستی استفاده شده است. مثال‌های تاریخی از فن‌آوری زیستی شامل فرآیند تخمیر در پخت نان توسط باکتری‌ها، به‌گزینی جانوران و گیاهان با ویژگی‌های برتر تولیدی و زیبا شناختی و همچنین استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در درمان بیماری-های باکتریایی است که از دیرباز توسط انسان برای بهبود کیفیت سلامت و زندگی استفاده شده اند. همچنین زیست فن‌آوری مدرن استفاده از فن‌آوری زیستی «دی ان اِی نوترکیب»[6] است که کاربری‌های فراوانی در جهت افزایش محصولات تولیدی گیاهی و جانوری مورد نیاز انسان، حذف و کنترل بیماری‌ها در بخش گیاهی و جانوری، حذف و کنترل آلودگی‌ها توسط موجودات زنده و عوامل زیستی دارد. همچنین در تولید پروتئین داروها در جلوگیری از سرطان و کنترل بیماری‌های سخت درمان در انسان و کمک در جهت حفظ ذخایر و تنوع زیستی جانوران و گیاهان کاربرد دارد. به‌طور کل فن‌آوری زیستی به شاخه‌های «زیست فن‌آوری میکروبی »[7]، «زیست فن‌آوری کشاورزی»[8]، «زیست فن‌آوری جانوری»[9]، «زیست فن-آوری قضایی»[10]، «زیست فن‌آوری خود پالایی»[11]، «زیست فن‌آوری موجودات آبزی»[12] و «زیست فن‌آوری پزشکی»[13] تقسیم‌بندی می‌شود.

«زیست فن‌آوری دریایی» به معنای استفاده از موجودات آبزی برای بهبود و افزایش کیفیت زندگی انسان و یا تولید محصولاتی می‌باشد که به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم در زندگی انسان تأثیر دارند. در واقع به استفاده از موجودات آبزی به منظور افزایش غذای تولید شده برای انسان، تولید مواد یا داروهایی که در

[1] Modern Biotechnology
[2] Transgenic
[3] Modern Aquaculture
[4] Biotechnology
[5] Marine Biotechnology

[6] recombinant DNA
[7] Microbial Biotechnology
[8] Agricultural Biotechnology
[9] Animal Biotechnology
[10] Forensic Biotechnology
[11] Bioremediation
[12] Aquatic Biotechnology
[13] Medical Biotechnology

بهبود سلامت انسان نقش دارند و ردیابی آلودگی‌ها در طبیعت اطلاق می‌شود.

اما چگونه فن‌آوری زیستی دستکاری ژنی به افزایش تولید در آبزی‌پروری یا آبزی‌پروری پایدار کمک خواهد کرد؟ اهمیت فرآورده‌های حاصل از آبزیان علاوه بر تولید اسیدآمینه‌های ضروری و منابع عالی عناصر کمیابی همچون ید، به تأمین نیاز پروتئینی انسان و تولید گوشت سفید با کیفیت حاوی اسیدهای چرب امگا-۳ برمی‌گردد که به ندرت منابع دیگری در روی کره زمین را بتوان به جای آنها معرفی کرد.

یافته های قابل ترویج

استفاده از آبزیان تراریخته

مهمترین کاربرد زیست فن‌آوری آبزیان تراریخته، استفاده از قابلیت افزایش رشد توسط انتقال ژن‌های هورمون رشد آبزیان با استعداد رشد بالاتر می‌باشد که در بسیاری از آبزیان از جمله ماهی انجام شده است. از این طریق، ژن هورمون رشد به فرد جدید انتقال یافته و منجر به رشد بالاتر آن موجود می‌گردد (Levy et al., 2000). اما، کاربرد تولید آبزیان تراریخته تنها به بحث افزایش تولید گوشت سفید معطوف نمی‌باشد. موارد دیگر در ایجاد ماهیان تراریخته شامل تولید ماهیان آکواریومی با رنگ‌های زیباتر و ویژگی بازارپسندی بیشتر (Wan et al., 2002)، تولید آبزیان با قابلیت تحمل بیشتر در مقابل بیماری‌های ویروسی و باکتریایی (Dunham et al., 2002)، تولید ماهیانی با قابلیت تحمل آبهای زیر صفر درجه سانتی‌گراد برای جلوگیری از تشکیل کریستال‌های یخی در بدن (Hew et al., 1996) و تولید ماهیانی با توانایی متابولیک ساخت اسیدهای چرب بلند زنجیره غیراشباع از روغن-های گیاهی و یا دارای قابلیت استفاده از کربوهیدرات بیشتر در جیره غذایی (Pitkänen et al., 1999, Kapuscinski, 2005) می‌باشد. ماهی گلدفیش (*Carassius auratus*) اولین ماهی تراریخته‌ای است که در سال ۱۹۸۵ تولید و ژن هورمون رشد انسانی به جنین آن تزریق شده است (Zhu et al., 1985). در ادامه روی ماهی لوچ (*Misgurnus anguillicaudatus*) ژن هورمون رشد انسانی امتحان شده و باعث افزایش رشد ۳ تا ۴/۶ برابری جانور شده است (Zhu et al., 1986). از سال ۱۹۸۵ روش‌های متفاوتی برای تولید ماهی تراریخته انجام شده است که شامل روش‌های «ریزتزریقی»[1]، «الکتروپوریشن»[2]، «آلودگی با وکتورهای رتروویروسی»[3]، «تفنگ ژنی»[4] و «انتقال ژن توسط اسپرم»[5] می‌باشد (Cheri et al., 1995, Lu et al., 2002, Sarmasik et al., 2002, Collares et al., 2005, Pandian and Venugopal, 2005). تمایل بیشتری برای تراریخته کردن ماهی نسبت به دیگر جانوران وجود دارد. چون ماهی صفات اقتصادی سودمندی داشته و جالب توجه این است که با تراریخته کردن، بسیار مؤثرتر از روش اصلاح نژاد می‌توان این صفات را بهبود بخشید (Nam et al., 2002). نظرات منفی که در استفاده از «پیشبر»[6]های ویروسی داشته است، باعث شده تا توجه به استفاده از پیشبرهای خود جانور معطوف شود زیراکه برای مصارف انسانی و مشتری مقبولیت بیشتری دارد. بدین منظور، از سازه‌هایی استفاده شده‌اند که پیشبر و ژن هدف هردو از ماهی گرفته شده و در اصطلاح «سازه ژنی تمام ماهی»[7] است (Rasmussen and Morrissey, 2007).

تاکنون، بیشتر آبزیان تراریخته تولید شده از ماهیان آب شیرین بوده‌اند چون نگهداری و تخم‌ریزی این ماهیان در شرایط آزمایشگاهی آسان می‌باشد. در مقابل، توجه اندکی به ماهیان دریایی معطوف گشته

[1] microinjection
[2] electroporation
[3] Retroviral vectors
[4] shutgun
[5] Sperm mediated gene transfer
[6] Promoter
[7] All-fish construct

است، برخلاف اینکه این ماهیان از ارزش اقتصادی بالایی در صنعت آبزی‌پروری برخوردارند.

۱-تولید ماهیان تراریخته دریایی به منظور افزایش رشد

بدین منظور، مطالعات زیادی روی بسیاری از ماهیان مهم اقتصادی مثل اعضای پرورشی خانواده آزادماهیان مثل ماهی آزاد اقیانوس اطلس، *Salmo salar* (Hew et al., 1996)، ماهی شانک قرمز، *Pagrosomus major* (Zhang et al., 1998)، ماهی سیم دریایی نقره‌ای، *Sparus sarba* (Lu et al., 2002) و هامور گوژپشت، *Cromileptes altivelis* (Subkato et al., 2011) برای افزایش رشد از طریق انتقال ژن رشد انجام شده که موفقیت‌آمیز نیز بوده است. اما، از میان این ماهیان، تنها یک ماهی مسیرهای تجاری شدن را پیموده است.

در همین راستا، نسل جدیدی از ماهی آزاد اقیانوس اطلس (*Salmo salar*) به نام ماهی آزاد « Aqua Advantage» توسط شرکت « Aqua Bounty Technologies» تولید شده است که به خاطر دریافت هورمون رشد ماهی آزاد چینوک (*Oncorhynchus tshawytscha*) که از نظر ذاتی بزرگترین ماهی آزاد می‌باشد، دارای رشد بیشتری نسبت به ماهی آزاد اقیانوس اطلس می‌باشد (Fletcher et al., 2005). این ماهی مراحل مقدماتی مجوز تولید و پرورش را در کشور آمریکا از سازمان غذا و داروی جهانی (FDA)[1] دریافت کرده است. با در نظر گرفتن احتمال فرار ماهیان تراریخته به طبیعت، برای جلوگیری از در معرض خطر قرار گرفتن ژنوم ماهیان سالمون اطلس در زیست بوم طبیعی، گونه تجاری که مجوز پرورش را دریافت کرده است به شکل تری‌پلوئید تمام ماده در فرآیند پرورش و رسیدن به دست مصرف کننده طراحی شده است.

ماهی سیم دریایی نقره‌ای از جمله ماهیان اقتصادی مهم در آسیا می‌باشد که زیست فن آوری انتقال ژن رشد در این ماهی نیز انجام شده است. تراریخت کردن آن و همچنین یافتن روش انتقال ژن مناسب برای این ماهی، دستاورد بزرگی برای بهبود صفات ژنتیکی در ماهیان دریایی بوده است. این ماهی با استفاده از ژن هورمون رشد ماهی قزل‌آلا همراه با پیشبر ژن (بتا-اکتین) ماهی کپور معمولی تراریخته شده است. در این کار از دو فن‌آوری انتقال ژن از طریق اسپرم و انتقال ژن به بیضه جانور استفاده شده است که به ترتیب منجر به افزایش رشد بیشتر ٪۵۶ و ٪۷۶ در این ماهی شده است. همچنین میزان عملکرد رشد و ترکیب لاشه از نظر میزان پروتئین و چربی در ماهی تراریخته با ماهی شاهد مقایسه شده و نتایج نشان داده است که القای ژن رشد در این ماهی باعث کاهش محتوای چربی تا ٪۵۰ و افزایش میزان پروتئین و رشد در آن شده است. اینها صفاتی مطلوبی در گونه های پرورشی به حساب می‌آیند (Lu et al., 2002).

ماهی هامور نیز یکی از گونه‌های مهم پرورشی در آسیا می‌باشد. مشکل اصلی پیش روی پرورش هامور، نرخ رشد اندک آن می‌باشد. برای مثال، برای رسیدن به وزن بازاری حدود ۱-۰/۵ کیلوگرم این ماهی، به هشت تا بیش از ۲۴ ماه زمان نیاز است. این رشد اندک هزینه‌های پرورش این ماهی را به‌طور قابل ملاحظه‌ای افزایش می‌دهد. بنابراین، برای حل این مشکل روش مؤثرتر و کاراتر تراریخته کردن بررسی شده است. در ماهی هامور گوژپشت کارایی سه روش ریزتزریق، ترانسفکشن (قرار دادن اسپرم در معرض محلول دی ان اِی قابل انتقال) و الکتروپوریشن (انتقال دی ان اِی از طریق جریان الکتریکی) برای انتقال ژن رشد بررسی شده است. هرچند امکان انتقال ژن رشد به هامور در هر سه روش وجود داشته، اما از دیدگاه سهولت و کارایی، روش مناسب برای انتقال ژن در این ماهی

[1] Food and Drug Administration

الکتروپوریشن گزارش شده است (Subkato et al., 2011).

۲- تولید ماهی تراریخته دریایی با قابلیت تحمل آبهای زیر صفر درجه سانتی گراد برای جلوگیری از تشکیل کریستال‌های یخی

ایده استفاده از پروتئین ژن «ضد یخ زدگی»[1] اولین بار از آنجا شکل گرفت که چگونه ماهیان دریایی در دماهای زیر صفر درجه سانتی‌گراد (۱/۷ ºC- تا ۲ ºC-) نسبت به ماهیان آب شیرین که در آبهای با دماهای بالای صفر درجه سانتی‌گراد حضور دارند، قابلیت زنده-مانی بیشتری دارند. پروتئین ضدیخ از یک سری از پپتیدها و گلیکوپپتیدها تشکیل شده است. این پپتیدها از سلول‌های کبدی ترشح شده و در خون و فضای بین سلولی وجود دارند. این پپتیدها به کریستال‌های یخی متصل شده و آنها را تغییر می‌دهند. بدین ترتیب مانع تشکیل کریستال یخ شده و نقطه انجماد مایعات بدن را کاهش می‌دهند (Davies and Hew, 1990). پروتئین‌های ضد یخ به سه تیپ (I،II،III) تقسیم‌بندی می‌شوند. توالی این پروتئین‌ها با هم متفاوت است. تعداد نسخه‌های تیپ‌های یک تا سه و همچنین تیپ این پروتئین در گونه‌های مختلف متفاوت است. به‌طور مثال، در ماهی فلاندر زمستانی (*Pleuronectes americanus*) بین ۳۰ تا ۴۰ کپی از نوع I وجود دارد. در زاغ دریایی (*Hemitripterus americanus*) ۱۲تا ۱۵ کپی از نوع II و در مار ماهی نیوفولند (*Macrozoarces americanus*) تا ۱۵۰ کپی از نوع III آن موجود می‌باشد (Hew et al., 1995). تکنولوژی تولید این نوع ماهی برای تولید پروتئین ضد یخ در کشورهایی که سواحل خیلی سرد دارند و دمای آب تا ۱/۸- درجه سانتی گراد می‌رسد مثل سواحل کانادا و کشورهای اسکاندیناوی که مبادرت به پرورش ماهیان آزاد می‌کنند، کاربرد دارد. هرچند با وجود آنکه، ماهی تراریخته سالمون (*Salmo salar*) حاوی ژن ضدیخ به راحتی تولید شده و ژن آن در بافت ماهی بیان شده و از طریق سلول‌های جنسی نیز به نسل بعد انتقال پیدا کرده است اما، نتوانسته قابلیت ضدیخ بودن را برای ماهی به ارمغان بیاورد. علت این امر می‌تواند به این موضوع مرتبط باشد که این ژن می‌بایست به میزان بیشتری بیان شود. همچنین این احتمال وجود دارد که لازم است این ژن پروتئینی را تولید کند که به شکل عملکردی قابلیت بالاتری داشته باشد؛ و یا در بافت هایی مثل سلول‌های اپیتلیال پوست یا بافت کبد میزان بیان بیشتری داشته باشد (Maclean and Laight, 2000).

۳- کنترل بیماری‌های آبزیان پرورشی از طریق تولید آبزیان مقاوم به بیماری‌ها با استفاده از زیست فن‌آوری تولید آبزی تراریخته

صنعت پرورش ماهی و آبزیان به جهت پرورش با تراکم بالا مستعد بروز بیماری‌های ویروسی و باکتریایی بسیاری می‌باشد. به‌طور مثال، در پرورش گربه-ماهی(*Ictalurus punctatus*) که ٪ ۶۰ از آبزی‌پروری کشور آمریکا را به خود اختصاص داده است، میزان خسارت پذیری از ابتلاء ماهی به باکتری *Edwardsiella ictalurii* بیش از ۱۰۰ میلیون دلار در سال است. استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها یکی از ابتدایی‌ترین راه‌های جلوگیری از ابتلاء جانور به بیماری باکتریایی است، اما تنها تعداد کمی از آنتی‌بیوتیک‌ها در پرورش آبزیان مجوز استفاده دارند. همین‌طور بسیاری از واکسن‌های بیماری‌های آبزیان که در بازار وجود دارد برای برخی از گونه‌ها کارآمد نمی‌باشند. از سویی دیگر ساختن «دی ان ای واکسن‌ها» نیز بسیار مشکل می‌باشد و نیازمند تجهیزات آزمایشگاهی پیچیده است و از همه مهمتر اینکه هنگام تزریق، استرس زیادی به آبزی وارد می‌سازد. برخی از

[1] antifreeze protein

پروتئین‌ها و پپتیدهایی شناسایی شده‌اند که خاصیت ضد باکتریایی و ویروسی دارند. به‌طور مثال «سکروپین»[1] پپتیدی است که اولین بار در شاپرک (*Hyalophora cecropia*) شناسایی شده و خاصیت ضد باکتریایی وسیعی دارد. این پپتید در تنباکو و سیب زمینی به عنوان پپتید ضدمیکروب برای مقاوم کردن این دوگیاه استفاده شده است. این پپتید بر ضد باکتری *Edwardsiella ictalurii* و باکتری *Flavobacterium columnare* به کار گرفته شده و ماهیان تراریخته با این پپتید ۴۰ تا ۱۰۰ درصد نسبت به جمعیت غیرتراریخته مقاومت ضد باکتریایی از خود نشان داده‌اند (Dunham et al., 2002). برخی از پپتیدها و پروتئین‌ها مثل لیزوزیم آنزیم‌های ضدمیکروبی غیراختصاصی هستند. لیزوزیم در خون، موکوس کلیه و لنف ماهی قزل‌آلا نسبت به ماهی آزاد اطلس ۱۰ تا ۲۰ برابر بیشتر وجود دارد (Hew et al., 1995). مشخص شده است که این پروتئین در ماهی قزل‌آلا دو تیپ دارد و این تیپ دوم آن است که ماهیت ضدباکتریایی بیشتری دارد (Mitra et al., 2003). ژن این پروتئین از ماهی قزل‌آلا به همراه پروموتور ژن ضد انجماد برای ماهی آزاد اطلس استفاده شده است. این پروتئین برای استفاده درکشاورزی و محصولاتی مانند برنج نیز به‌کار گرفته شده است (Huang et al., 2002). برای استفاده از لیزوزیم در مطالعات پپتیدها و پروتئین های ضدمیکروبی مطالعات بسیار کمی انجام شده و مستندات علمی اندکی وجود دارد (Fletcher et al., 2005). پروتئین لاکتوفرین انسانی که جزء پروتئین‌های غیراختصاصی سیستم ایمنی است، در کشاورزی برای استفاده از خواص ضد باکتریایی و ویروسی در پرورش تنباکو و سیب زمینی استفاده شده است (Weifeng et al., 2004). این پروتئین در آبزی‌پروری برای جلوگیری از بیماری هموراژی ویروسی در ماهی کپور علفخوار (*Ctenopharyngodon idella*) استفاده شده و مشخص شده است که ماهیان تراریخته تا ٪۳۶ بازماندگی داشته‌اند (Zhong et al., 2002). اینترفرون تیپ I انسانی نیز برای بیماری‌های ویروسی آزادماهیان و فلاندر ژاپنی و هالیبوت اطلس مثل بیماری ویروسی آنمی استفاده شده که باعث کاهش تلفات در این گونه‌ها شده است.

۴-استفاده از زیست فن‌آوری تولید ماهیان تراریخته با قابلیت متابولیکی تبدیل روغن‌های گیاهی به اسیدهای چرب بلند زنجیره و غیراشباع (EPA و DHA) و قابلیت متابولیکی هضم کربوهیدرات‌ها در ماهی

در منابع غذایی گیاهی خشک‌زی مانند گیاه سویا و دیگر دانه‌های روغنی، میزان بسیار زیادی از پروتئین-هایی وجود دارد که هزینه تولید آنها بسیار کمتر از هزینه تولید پروتئین‌های آبزیان و آرد ماهی است که نهاده اصلی در تهیه غذای آبزیان می‌باشند. استفاده از این پروتئین‌ها باعث کاهش هزینه تولید غذای ماهی می‌شود و دیگر نیاز نیست برای ساخت غذای ماهی از آرد ماهی استفاده شود. همین موضوع موجب کاهش بهره‌برداری از ماهیان مناطق پلاژیک مانند کیلکای آنچووی می‌گردد، چون هرساله منابع بسیاری از این ماهیان برای تولید آرد ماهی صید می‌شوند. اما، یکی از مشکلات در استفاده از این منابع گیاهی این است که مقدار برخی از اسیدهای آمینه و اسیدهای چرب در آنها پایین هستند (مانند اسیدهای چرب امگا-۳ بلند زنجیره مثل ایکوزاپنتاانوئیک اسید (EPA)[2] که اسید چرب بلند زنجیره و با پنج باند غیراشباع و دکوزاهگزاانوئیک اسید (DHA) که با شش باند دوگانه می‌باشند). برخی از آبزیان ژن مربوط به آنزیم‌های بلندکننده زنجیره اسید چرب و غیراشباع کردن آنها را

[1] cecropin

[2] Eicosapentaenoic Acid

دارا می‌باشند. مثال آن ماهی آزاد آلبالویی یا ماسو (*Oncorhynchus masu*) است که حاوی ژن «غیراشباع کردن»[1] و «افزایش طول»[2] اسیدهای چرب بوده و گزینه مناسبی برای به‌کارگیری در ماهیان پرورشی است که حاوی میزان اسیدهای چرب اندک می‌باشند و از طریق تغذیه، اسیدهای چرب گیاهی ارزان قیمت تر مثل اسید لینولئیک را از منابع غذایی گیاهی و خشکی به دست می‌آورند. بدین منظور سازه حاوی ژن غیراشباع کردن از ماهی آزاد ماسو با «پیشبر» [3] از ژن «بتا اکتین»[4] ماهی مداکا (*Oryzias latipes*) به جنین تک سلولی گورخر ماهی تزریق شده است. مطالعات نشان داده که میزان اسید چرب غیراشباع (EPA) ۱/۴ برابر و میزان اسید چرب غیراشباع (DHA)[5] ۲/۱ برابر بوده است (Yoshizaki et al., 2005). غیر از تراریخته کردن ماهی با ژن‌های مبدل اسیدهای چرب گیاهی و زنجیره کوتاه به اسیدهای چرب زنجیره بلند و غیراشباع می‌توان از غلات و محصولات گیاهی تراریخته‌ای که قابلیت تولید اسیدهای چرب غیراشباع دارند در جیره غذایی آبزیان استفاده کرد (Robert, 2006).

از دیگرکاربردهای تولید ماهیان تراریخته این است که بتوان ماهیانی را تولید کرد که به لحاظ متابولیکی قادر به مصرف کربوهیدرات‌ها باشند تا هزینه پرورش آبزیان کاهش یابد. به‌طور مثال، در قزل‌آلا با استفاده از سازه ژنی حاوی ژن «ترانسپورتر گلوکز انسانی»[6] یا ژن «هگزی نوز تایپ دو»[7] و پیشبر ماهی «سالمون ساک آی»[8] (*Oncorhynchus nerka*) یا پیشبر ویروسی سیتومگالوویروسی (CMV) میزان متابولیسم کربوهیدرات نسبت به ماهی غیرتراریخته بهبود یافته است (Pitkänen et al., 1999).

همچنین پتانسیل کاربرد کربوهیدرات‌های بیشتر درسالمون کوهو (*Oncorhynchus kisutch*) تراریخت شده با سازه ژنی هورمون رشد «onMTGH1» از ماهی آزاد ساک آی از طریق آزمون مقاومت به گلوکز و سنجش‌های متابولیک پس از تزریق درون صفاقی آن به اثبات رسیده است (Panserat et al., 2014). نقش تنظیم کننده هورمون رشد در گلیکوزیز و لیپوژنزیز در این ماهی باعث شده است تا میزان رشد آن دو تا سه برابر نسبت به ماهی تراریخت نشده باشد.

تلاش دیگر برای استفاده از مواد گیاهی در جیره غذایی آبزیان استفاده از ژن‌های آنزیم فیتاز است که فیتات را می‌شکند. بیشترین فرم فسفر در منابع گیاهی به شکل فیتات است که برای ماهی غیرقابل استفاده است و اگر ماهی از منابع غذایی حاوی فیتات استفاده کند، آن را به صورت هضم نشده در محیط رها می‌سازد. در نتیجه، با تجزیه میکروارگانیسم‌ها فسفر زیادی در طبیعت رها شده که منجر به آلودگی محیط می‌شود. چون ماهی توانایی استفاده از فسفر با قابلیت دسترسی زیستی را ندارد باید به شکل غیر آلی به جیره غذایی اش اضافه شود. اگر فیتاز به غذای ماهی اضافه شود به جهت فرآیند گرمایی که برای عمل‌آوری غذا انجام می شود، ممکن است این آنزیم از بین برود. بنابراین تولید ماهیان تراریخته‌ای که بتوانند فیتات را مصرف کنند از اهمیت ویژه‌ای در آبزی‌پروری برخوردار است. مطالعاتی در زمینه تولید ماهی مداکا حاوی ژن فیتاز انجام شده است (Hostetler et al., 2003).

نتیجه گیری و توصیه ترویجی

با افزایش جمعیت انسان روی کره زمین تنها راه تأمین غذا برای جوامع انسانی در دهه‌های آتی، افزایش پرورش دام، طیور و آبزیان می‌باشد. استفاده از آبزیان

[1] desaturase
[2] elongation
[3] promoter
[4] β-actin
[5] Docosahexaenoic Acid
[6] Human glucose transporter
[7] Hexinose type Ⅱ
[8] Sockeye salmon

یکی از راه‌های دستیابی به گوشت سفید با کیفیت و مقرون به صرفه اقتصادی از نظر پرورش است. ظرفیت صید از آبها محدود است و برخلاف آنکه در سال‌های آتی افزایش خواهد داشت اما رشد پرورش آبزیان برای جمعیت فزاینده، روز به روز در حال افزایش است. تنها راه دستیابی به محصول بیشتری از گوشت سفید، پرورش آبزیانی با بازده تولید بیشتر می‌باشد. از سویی دیگر، چشم‌انداز آینده زیست فن‌آوری انتقال ژن در پرورش آبزیان بسیار روشن است. استفاده از این زیست فن‌آوری برای تولید آبزیان تراریخته با قابلیت رشد بیشتر، ماهیان تراریخته مقاوم به بیماری، ماهیان تراریخته با قابلیت متابولیکی در استفاده از کربوهیدرات‌ها و تولید اسیدهای چرب غیراشباع ضروری به نظر می‌رسد. بسیاری از کشورهای پیشرفته مبادرت به دستیابی تولید ماهیان با قابلیت تولید بیشتر کرده اند، اما مطالعات آنها تنها معطوف به این مسأله نبوده است. از این منظر برای جلوگیری از رهاسازی و آمیختگی ماهیان تراریخته، تولید لاینی از ماهی تراریخته‌ای که تری‌پلوئید باشد و درصورت آزادسازی نتواند با ماهیان زیست بوم طبیعی تکثیر کند، منطقی و هوشمندانه به نظر می‌رسد.

چنانچه در این مقاله اشاره شد، انتقال ژن‌های مختلف به ماهیان دریایی منجر به نتایج مطلوبی شده است. هرچند که استفاده از موجودات تراریخته در آبزی-پروری بحث برانگیز است، اما کوتاه‌ترین و مؤثرترین راه برای ایجاد لاین‌های خاص و مولدین کارا، ناگزیر از به-کار بردن روش‌های نوین زیست فن‌آوری مانند انتقال ژن می‌باشد. زیراکه روش‌های اصلاح نژاد سنتی بسیار زمان‌بر و پرهزینه هستند و در مسیر انتخاب یک صفت خاص، ممکن است صفات مطلوب دیگر حذف شوند. در دهه اخیر دانش انتقال ژن در گیاهان در کشور ما بومی‌سازی شده است و امکان تهیه ماهی تراریخته نیز در مراکز تحقیقاتی وابسته به وزارت جهاد کشاورزی در مراحل انتهایی پژوهش است. بنابراین یکی از گزینه-های پیش رو برای معرفی مولدین مناسب به صنعت آبزی پروری دریایی کشور در آینده، استفاده از ماهیان تراریخته خواهد بود.

فهرست منابع

CHERI, T. T., LU, J., SHAMBLOTT, M., CHENQ, C. M., LIN, C., JANE C. BURNS, J. C., HEIMSCHUESSEL, R., CHATAKCNDI, N. & DUNHAM, R. A. 1995. Transgenic fish: ideal models for basic research and biotechnological applications. *Zoological Studies,* 34**,** 215-234.

COLLARES, T., BONGALHARDO, D., DESCHAMPS, J. & MOREIRA, H. 2005. Transgenic animals: The melding of molecular biology and animal reproduction. *Anim Reprod,* 2**,** 11-27.

DAVIES, P. L. & HEW, C. L. 1990. Biochemistry of fish antifreeze proteins. *The FASEB Journal,* 4**,** 2460-2468.

DUNHAM, R. A., WARR, G. W., NICHOLS, A., DUNCAN, P. L., ARGUE, B., MIDDLETON, D. & KUCUKTAS, H. 2002. Enhanced bacterial disease resistance of transgenic channel catfish *Ictalurus punctatus* possessing cecropin genes. *Marine Biotechnology,* 4**,** 338-344.

FAO 2014. The State of World Fisheries and Aquaculture (SOFIA), opportunities and challenges. Rome, Italy.: Food and Agriculture Organization of the United Nations

FLETCHER, G., SHEARS, M., YASKOWIAK, E., KING, M. & GODDARD, S. 2005. Gene transfer: potential to enhance the genome of Atlantic salmon for aquaculture. *Australian Journal of Experimental Agriculture,* 44**,** 1095-1100.

HEW, C., FLETCHER, G. & DAVIES, P. 1995. Transgenic salmon: tailoring the genome for food production. *Journal of Fish Biology,* 47**,** 1-19.

HEW, C. L., DU, S. J., GONG, Z., FLETCHER, G. L., SHEARS, M., DAVIES, P. L. & DEVLIN, R. 1996. Biotechnology for aquaculture: Transgenic salmon with enhanced growth and freeze-resistance. *Biotecnologia Aplicada,* 13.

HOSTETLER, H., COLLODI, P., DEVLIN, R. & MUIR, W. Ecological risks and benefits of fish transgenic for the phytase gene. Transgenic Animal Research Conference IV, Tahoe City, CA, August, 2003. 10-14.

HUANG, J., NANDI, S., WU, L., YALDA, D., BARTLEY, G., RODRIGUEZ, R., LONNERDAL, B. & HUANG, N. 2002. Expression of natural antimicrobial human lysozyme in rice grains. *Molecular Breeding,* 10**,** 83-94.

KAPUSCINSKI, A. 2005. Current scientific understanding of the environmental biosafety of transgenic fish and shellfish. *Scientific and Technical Review,* 24**,** 309-322.

LEVY, J., MARINS, L. & SANCHEZ, A. 2000. Gene transfer technology in aquaculture. *Hydrobiologia,* 420**,** 91-94.

LU, J.-K., FU, B.-H., WU, J.-L. & CHEN, T. T. 2002. Production of transgenic silver sea bream (*Sparus sarba*) by different gene transfer methods. *Marine biotechnology,* 4**,** 328-337.

MACLEAN, N. & LAIGHT, R. J. 2000. Transgenic fish: an evaluation of benefits and risks. *Fish and Fisheries,* 1**,** 146-172.

MITRA, A., FOSTER-FREY, J., REXROAD III, C. E., WELLS, K. D & .WALL, R. J. 2003. Molecular characterization of lysozyme type II gene in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): evidence of gene duplication. *Animal biotechnology,* 14**,** 7-12.

NAM, Y. K., CHO, Y. S., CHO, H. J. & KIM, D. S. 2002. Accelerated growth performance and stable germ-line transmission in androgenetically derived homozygous transgenic mud loach, *Misgurnus mizolepis*. *Aquaculture,* 209**,** 257-270.

PANDIAN, T. & VENUGOPAL, T. 2005. Contribution to transgenesis in Indian major carp *Labeo rohita*. *In:* PANDIAN ,T. (ed.) *Fish Genetics and Aquaculture Biotechnology.* 1th ed. Boca Raton: CRC press.

PANSERAT, S., KAMALAM, B. S., FOURNIER, J., PLAGNES-JUAN, E., WOODWARD, K. & DEVLIN, R. H. 2014. Glucose metabolic gene expression in growth hormone transgenic coho salmon. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology,* 170**,** 38-45.

PITKÄNEN, T. I., KRASNOV, A., REINISALO, M. & MÖLSÄ, H. 1999. Transfer and expression of glucose transporter and hexokinase genes in salmonid fish. *Aquaculture,* 173**,** 319-332.

RASMUSSEN, R. S. & MORRISSEY, M. T. 2007. Biotechnology in aquaculture: transgenics and polyploidy. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety,* 6**,** 2-16.

ROBERT, S. S. 2006. Production of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid-containing oils in transgenic land plants for human and aquaculture nutrition. *Marine Biotechnology,* 8**,** 103-109.

SARMASIK, A., WARR, G. & CHEN, T. T. 2002. Production of transgenic medaka with increased resistance to bacterial pathogens. *Marine Biotechnology,* 4**,** 310-322.

SUBKATO, S., TRIASTUTIK, G., SUMANTADINATA, K., JATI, M. S., FAIZAL, I. & ALIAH, R. S. 2011. Comparison of three techniques of gene transfer in humpback grouper (*Cromileptes altivelis*). *Biotropia,* 18**,** 13-23.

WAN, H., HE, J., JU, B ,.YAN, T., LAM, T. J. & GONG, Z. 2002. Generation of two-color transgenic zebrafish using the green and red fluorescent protein reporter genes gfp and rfp. *Marine Biotechnology,* 4**,** 146-154.

WEIFENG, M., YAPING, W., WENBO, W., BO, W., JIANXIN, F. & ZUOYAN ,Z. 2004. Enhanced resistance to Aeromonas hydrophila infection and enhanced phagocytic activities in human lactoferrin-transgenic grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*). *Aquaculture,* 242**,** 93-103.

WILLIAMS, L. 2018. *FAO biannual report lauds aquaculture's role in meeting growing demand for fish* [Online]. Uinted Kingdom: The Fish Site. Available: https://thefishsite.com/articles/fao-biannual-report-lauds-aquaculture-as-champion-in-meeting-growing-demand-for-fish [Accessed 10 July 2018].

YOSHIZAKI, G., KIRON ,V., SATOH, S. & TAKEUCHI, T. 2005. Enhancement of EPA and DHA biosynthesis by over-expression of masu salmon Δ6-desaturase-like gene in zebrafish. *Transgenic research,* 14**,** 159-165.

ZHANG, P., XU, Y., LIU, Z., XIANG, Y., DU, S. & HEW, C. L. 1998. Gene transfer in red sea bream (*Pagrosomus major*). *In:* GAL, Y. L. & HALVORSON, H. O. (eds.) *New Developments in Marine Biotechnology.* Boston, MA: Springer.

ZHONG, J., WANG, Y. & ZHU, Z. 2002. Introduction of the human lactoferrin gene into grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) to increase resistance against GCH virus. *Aquaculture,* 214**,** 93-101.

ZHU, Z., HE, L. & CHEN, S. 1985. Novel gene transfer into the fertilized eggs of gold fish (*Carassius auratus*). *Journal of Applied Ichthyology,* 1**,** 31-34.

ZHU, Z., XU, K., LI, G., XIE, Y. & HE, L. 1986. Biological effects of human growth hormone gene microinjected into the fertilized eggs of loach *Misgurnus anguillicaudatus* (Cantor). *Kexue Tongbao,* 31**,** 988-990.

Applying the genetic manipulation biotechnology of gene transfer in marine aquaculture

Shirin Jamshidi[1]*, Samira Nazemroaya[2]

1. International Sturgeon Research Inistitue, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran
2. South Iran Aquaculture Research Institute, Iran Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Ahwaz, Iran

*Corresponding author: jamshidi99@yahoo.com

Abstract

Regarding increasing the world population, the marine aquaculture will play a key role in supplying the protein requirement of the human. Therefore, the need for achieving to more production in this industry is necessary and unavoidable. Larvae and fry production also depend on broodstocks, while one of the major bottlenecks in marine fish breeding is to prepare gene pool of breeders having special genetically characteristics. These broodstocks may carry specific genes such as higher growth rate ability or resistance to disease. Since the conventional breeding is a long time and expensive protocol, applying the modern biotechnologies such as transgene would lead to achieving selective broodstocks. In this paper, it tries to introduce successful examples of transgenic marine fish produced worldwide. Moreover, it involves discussion about the important genes transferred to fish leading to raised production, reduced costs, and consequently more profitable investment.

Keywords: marine biotechnology, transgenic, marine fish.