

انتقال ژن در ماهیان

سیدمر تضی ابراهیمزاده

Sm_ebrahimzadeh@hotmail.com

مجمع آموزش جهاد کشاورزی مازندران

مرکز آموزش عالی علمی کاربردی شهید حسن پور، بابلسر

چکیده

با وجود این که صید ماهیان در سال‌های اخیر رشد آهسته یا ثابت داشته است، تراکم جمعیت جهانی آدمی در حال افزایش و در پی آن تقاضا برای غذاهای دریایی رو به افزایش است. یکی از راه‌های برطرف کردن کمبود غذا و غلبه بر افزایش قیمت‌ها، فعالیت‌های آبی‌پروری در جهان است. از جمله مهم‌ترین زمینه‌های تحقیق در صنعت آبی‌پروری، استفاده از بیوتکنولوژی برای افزایش دسترسی به غذا و کاهش هزینه‌های تولید، به‌ویژه از طریق دستکاری ژن‌ها و کروموزوم‌های گونه‌های پرورشی است. از جمله این تکنیک‌ها ایجاد ماهیانی است که انتقال ژن به آن‌ها صورت گرفته و خصوصیات آن‌ها از قبیل افزایش رشد، بهبود ضریب تبدیل غذایی، مقاومت به بیماری‌ها، تحمل سرما و بهبود متابولیسم گیاهان خشکی زی به وجود آمده است. با وجود این، استفاده از موجودات انتقال ژن یافته در آبی‌پروری از نظر ملاحظات زیست‌محیطی و بهداشت انسانی از موضوع‌های بحث‌برانگیز بوده است. در پاسخ به این مشکل، برای کاهش خطر تولیدمثل ماهیان انتقال ژن یافته با گونه‌های وحشی، برخی تحقیقات انتقال ژن روی القای عقیمی تمرکز یافته است. در این مقاله مروری، پیشرفت‌های اخیر در زمینه انتقال ژن در ماهیان و مهم‌ترین ملاحظات زیست‌محیطی و بهداشت انسانی در این زمینه مورد بررسی قرار گرفته است.

کلیدواژه‌ها: انتقال ژن، ماهیان تراژن، بیوتکنولوژی، آبی‌پروری.

مقدمه

پیشرفت در بیوتکنولوژی در چند دهه گذشته، ابزارهایی مؤثر و ضروری برای دست‌کاری ژن‌ها و کروموزوم‌های موجودات زنده، فراهم کرده است. ایجاد ماهیان و موجودات پوسته‌دار انتقال ژن یافته، به علت نقش این فناوری در اصلاح و بهبود تولید، بخش اعظم تحقیقات آبی‌پروری را به خود اختصاص و آن را در رأس موضوع مورد توجه محققان قرار داده است. حیطة اصلی تحقیقات تراژنی در ماهیان شامل استفاده از هورمون‌های رشد (GH) برای افزایش رشد و ضریب تبدیل غذایی؛ استفاده از پروتئین‌های ضد انجماد (AFP) برای افزایش تحمل سرما و مقاومت در برابر انجماد؛ استفاده از پپتیدهای ضد میکروبی برای افزایش مقاومت به بیماری‌ها؛ استفاده از ژن‌های متابولیک برای افزایش بازدهی غذاهای کم‌ارزش؛

و روش‌های ژنتیک برای عقیم کردن است. اگرچه عمل انتقال ژن در ماهی به خوبی اجرا شده است، تحقیق در زمینه بی‌مهرگان دریایی بر اثر پیچیدگی معرفی و بیان ژن‌های بیگانه و خارجی، در مراحل مقدماتی قرار دارد. تحقیقات اولیه روی بی‌مهرگان دریایی با تمرکز بر اصلاح و بهبود مقاومت در برابر بیماری‌ها، منجر به توسعه روش‌های موفقیت‌آمیز انتقال ژن در این موجودات شده است.

صنعت آبی‌پروری از سال ۱۹۷۰، سریع‌ترین رشد را در بخش تولید غذای حیوانی با افزایش میانگین ۸/۹ درصد در سال، داشته است (FAO, ۲۰۰۴). با وجود این که برداشت از منابع آب دریایی در دوره زمانی ۱۹۵۰ تا ۱۹۹۰، پنج برابر شده است، رشد سالانه آن در طول ۱۵ سال گذشته ثابت باقی مانده است (FAO, ۲۰۰۴, ۲۰۰۶). در نتیجه عواملی از قبیل رشد جمعیت، شهری‌سازی و افزایش درآمد سرانه، از

سال ۱۹۶۱ تا سال ۲۰۰۱، مصرف ماهی سه برابر شده است و از ۲۸ میلیون تن به ۹۶/۳ میلیون تن افزایش یافته است (FAO، ۲۰۰۴). پیش‌بینی می‌شود تقاضای جهانی برای ماهی و محصولات شیلاتی از ۱۳۳ میلیون تن در سال‌های ۱۹۹۹ تا ۲۰۰۱ به ۱۸۳ میلیون تن در سال ۲۰۱۵ افزایش پیدا کند. محاسبات نشان می‌دهند که صید از ذخایر طبیعی نزدیک به ظرفیت نهایی شده و یا به احداکثر ظرفیت خود رسیده است، جهان به فعالیت‌های آبی‌پروری و تکنولوژی‌های مرتبط به آن می‌نگرد تا به تقاضای رو به تزاید پاسخ دهد: انتظار می‌رود تا سال ۲۰۲۰ آبی‌پروری ۴۱ درصد از تولید ماهی جهانی را تأمین می‌کند (در مقایسه با ۳/۹ درصد در سال ۱۹۷۰ و ۲۹/۹ درصد در سال ۲۰۰۲) (FAO، ۲۰۰۴). با وجود پیش‌بینی رشد صنعت آبی‌پروری، ثابت ماندن میزان صید ماهی از منابع آبی و افزایش جمعیت، کمبود جهانی ماهی و تولیدات آن در سال‌های پیش‌رو اجتناب‌ناپذیر است. در نتیجه، افزایش قیمت ماهی دور از انتظار نیست، پیش‌بینی می‌شود قیمت ماهی تا سال ۲۰۱۵ در حدود ۳/۲ درصد (نسبت به سال‌های ۲۰۰۱/۱۹۹۹) (FAO، ۲۰۰۴) و تا سال ۲۰۲۰ قیمت صدف‌ها و سخت‌پوستان از ۴ تا ۱۶ درصد (نسبت به سال ۲۰۰۱/۱۹۹۹) افزایش یابد. استفاده از بیوتکنولوژی در آبی‌پروری ظرفیت لازم برای

رشد این ماهی انتقال ژن یافته در ۱۳۵ روز اول، ۳ تا ۴/۶ برابر سریع‌تر از ماهی‌های گروه شاهد بود. از سال ۱۹۸۵، در میدان عمل انتقال ژن یافته پیشرفت‌های تکنولوژیک مختلفی ایجاد شد. برای ایجاد گونه‌های ماهی تغییر یافته ژنتیکی روش‌های مختلف انتقال ژن بیگانه (از قبیل ریز تزریقی، روش ایجاد منافذ با الکتروسیسته (الکتروپوراسیون)، روش حامل‌های ویروسی، بمباران با تفنگ میکروسکوپی و روش‌های انتقال ژن با اسپرم و بیضه حامل) و ردیابی کشف ژن خارجی (از قبیل واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR) و آنالیز لکه‌گذاری سادرن) به‌وجود آمد. ماهی انتقال ژن یافته در مقایسه با سایر موجودات بیشتر مورد درخواست و توجه است، چون دست‌یابی به صفات مطلوب معمولاً قابل اجرائت و قابل هدایت‌تر است و می‌تواند از طریق اصلاح بازدهی تولید در آبی‌پروری، بهره‌ اقتصادی این فعالیت‌ها را افزایش دهد. علاوه بر این، گونه‌های ماهی به دستکاری مصنوعی ژن‌هایشان در طول مراحل اولیه رشد و نمو مقاومت نسبی دارند و این امر آن‌ها را برای ایجاد تغییرات ژنتیکی آرمانی کرده است. با وجود این، موضوعات بهداشت انسانی و زیست‌محیطی متعددی در زمینه استفاده از تکنولوژی تراژنی در آبی‌پروری وجود دارد که در ادامه این مقاله به آن اشاره خواهد شد.

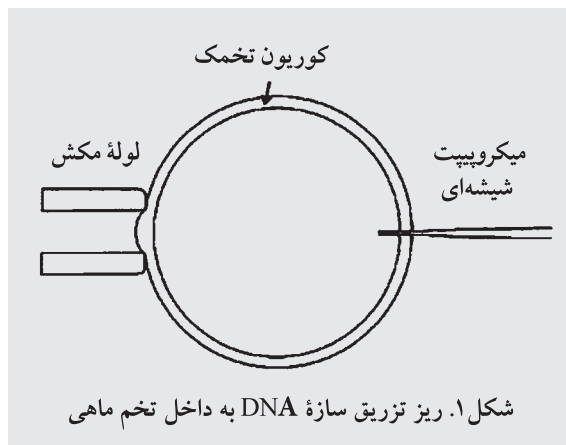
برای ایجاد ماهیان تراژن، معمولاً سازه DNA حاوی ژن‌های صفات مطلوب همراه با توالی پیش‌برنده^۳ به پیش‌هسته‌های تخم‌های لقاح یافته معرفی و انتقال داده می‌شوند. سپس این جنین‌های تزریق شده در محیط آزمایشگاه یا در بدن جاندار انکوباسیون و سپس به یک موجود زنده کاملاً رشد یافته تبدیل می‌شوند. از ماهی گورخری به علت مزیت‌های زیست‌شناختی و آزمایشگاهی اغلب به عنوان گونه مدلی در مطالعات انتقال ژن استفاده می‌شود: این ماهیان به آسانی نگهداری و تکثیر می‌شوند، جنین آن‌ها در مقابل دستکاری آزمایشگاهی مقاوم است، به سرعت رشد می‌یابند، تعداد زیادی نوزاد به وجود می‌آورند و چون در برخی مراحل رشد و نمو خود شفاف هستند، استفاده از ترانس ژن‌های فلورسنت میسر می‌شود. تا به امروز، ماهیانی از قبیل آتلانتیک، کوهو و چینوک سالمون، قزل‌آلای رنگین‌کمان و قزل‌آلای قاتل^۴، تیلاپیا، باس راه‌راه، لوچ لجنی، گربه‌ماهی

در تعریف، موجودات انتقال ژن یافته یا موجودات تغییر یافته ژنتیک (GMOها) آن دسته از موجوداتی هستند که دارای DNA (دئوکسی ریبونوکلیک اسید) بیگانه یا خارجی هستند که به‌طور مصنوعی به ژنوم آن‌ها وارد شده باشد

کم کردن کمبودهای ماهی و کنترل افزایش قیمت آن‌ها را با افزایش بازدهی تولید، به حداقل رساندن قیمت‌ها و کاهش بیماری‌ها داراست. به هر حال، ورود موجودات انتقال ژن یافته به داخل زنجیره غذایی با انتقادهای گسترده بخش‌های محیطی و بهداشت انسانی روبه‌رو بوده است. این مقاله مروری به پیشرفت‌هایی که اخیراً در انتقال ژن برای استفاده در آبی‌پروری به‌وقوع پیوسته است، همراه با بحث‌هایی که درباره تکنولوژی انتقال ژن در آبی‌پروری مطرح شده، پرداخته است.

ماهی تراژن

در تعریف، موجودات انتقال ژن یافته یا موجودات تغییر یافته ژنتیک (GMOها) آن دسته از موجوداتی هستند که دارای DNA (دئوکسی ریبونوکلیک اسید) بیگانه یا خارجی هستند که به‌طور مصنوعی به ژنوم آن‌ها وارد شده است. اولین مورد موفق ماهی تراژن در سال ۱۹۸۵ گزارش شد، در این زمان ژن هورمون رشد انسانی به تخم‌های لقاح‌یافته ماهی طلائی^۱ ریز تزریق شد. این کار با معرفی ژن هورمون رشد به ژنوم ماهی لوچ^۲ پیگیری شد که در نتیجه آن



کانالی، کپور معمولی، کپور ماهیان هندی اصلی، ماهی طلایی، مداکا ژاپنی، اردک ماهی شمال، سیم دریایی قرمز و نقره‌ای، ماهی چشم مات (از خانواده سوف ماهیان) و ماهی گورخری برای تولید صفات به‌گزینی شده از قبیل افزایش رشد، افزایش ضریب تبدیل غذایی، تحمل سرما و مقاومت به بیماری از نظر ژنتیکی تغییر یافته‌اند.

هورمون رشد: هورمون رشد (GH) پلی پپتیدی است که از غده هیپوفیز ترشح می‌شود، با گیرنده‌های سلولی ویژه‌ای پیوند برقرار، سنتز و ترشح فاکتورهای رشد شبه انسولین (IGF-1 و IGF-II) را القا می‌کند و در نتیجه از طریق بهبود اشتها، افزایش بازدهی تغذیه‌ای و افزایش میزان رشد، سبب افزایش رشد سوماتیک می‌شود. در ماهی، سیستم اعصاب مرکزی (CNS) به طور طبیعی سطوح ترشحات GH را کنترل می‌کند که با توجه به فصل متغیر است. با وجود این ژن AFP در ماهی لب کلفت اقیانوسی^۵ در طول سال در کبد بیان و تظاهر می‌یابد. تحقیقات انتقال ژن GH را به پروموتور ژن AFP ارتباط می‌دهند. افزایش ترشح GH و متعاقب آن افزایش اندازه ماهی می‌تواند هزینه تولید فعالیت‌های آبی‌پروری را با کاهش زمان اندازه‌بازاری شدن ماهی و کاهش خطر بیماری و شکارچیان، کاهش دهد. اگرچه، در این زمینه چالش بزرگی در تعیین تعادل اپتیمم GH برای به‌دست آوردن حداکثر بدون اثر زیانبار به موجود زنده باقی مانده است، به طوری که افزایش GH می‌تواند باعث ایجاد مشکلاتی از قبیل رشد بیش از حد بدن (آکرومگالی) (که در انسان‌ها با رشد استخوان‌های فک همراه است) و سر بزرگ شده، شود.

از اولین معرفی و انتقال ژن GH انسان به ماهی طلایی و لوچ لجنی، تحقیقات گسترده‌ای در استفاده از ژن GH در محدوده وسیعی از گونه‌های آبی به کار گرفته شده است. اخیراً تکنیک‌های اصلاح شده برای معرفی ترانس ژن‌ها به ژنوم‌های میزبان توسعه یافته و به‌منظور افزایش قابلیت پذیرش مصرف‌کنندگان، تمرکز روی استفاده از ژن‌های GH ماهی در مقایسه با انسان قرار گرفته است. نگرش منفی همراه با استفاده از پیش‌برنده‌های ویروسی برای بیان ژن‌های انتقال یافته، بسیاری از تحقیقات را به سمت جانشینی آن‌ها با پیش‌برنده‌های (پروموتور) ماهی برای ایجاد سازه‌های ترانس ژن تمام ماهی^۶ سوق داده است. این نژادهای ترانس GH تمام ماهی، در تعدادی از ماهیان از قبیل کپور معمولی^۷، سیم دریایی نقره‌ای^۸، سیم دریایی قرمز^۹، تیلایپا^{۱۰} و آتلانتیک سالمون^{۱۱} انجام گرفته است.

یک سازه GH تمام ماهی به طور موفقیت‌آمیز به ماهی کپور معمولی انتقال داده شد که در نتیجه آن در مقایسه با گروه شاهد ماهیان پرورشی، میزان رشد افزایش پیدا کرده و ضریب تبدیل غذایی بهبود پیدا کرده است. آزمایش‌های در مقیاس متوسط از این کپورهای ترانس GH تمام ماهی، ظرفیت بالای کاربرد تجاری این فن را در آبی‌پروری نشان داده است. در سال ۲۰۰۳، کپور معمولی و دیگر کپورها با ۱۷/۲ تن تولید (وزن زنده)، از گروه‌های اصلی تولیدات جهانی آبی‌پروری برای مصارف غذایی بودند. استفاده از تکنولوژی

انتقال ژن در کپور فواید بسیاری را عاید صنعت پرورش این ماهی و افزایش دسترسی به این ماهی‌ها در آینده خواهد کرد.

لاین‌های تراژن سیم دریایی نقره‌ای، گونه‌پرورشی مهم در آسیا، با استفاده از سازه‌های حاوی DAN مکمل GH (cDAN) قزل‌آلای رنگین کمان^{۱۲} با پیش‌برنده کپور معمولی توسعه پیدا کرده است. با استفاده از دو روش جدید انتقال ژن، انتقال اسپرم و بیضه حامل، بین ۵۶ تا ۷۶ درصد از جانوران، حامل ژن انتقالی شدند و رشد آن‌ها در مقایسه با گروه‌های شاهد چندین برابر شد.

سیم دریایی قرمز در چین دارای ارزش اقتصادی بالایی است، اما تولید آن به علت رشد نسبتاً کم آن‌ها اندک است. به‌منظور توسعه این صنعت، سازه‌ژن تمام ماهی حاوی GH چینوک سالمون^{۱۳} با پروموتور ژن AFP لب کلفت اقیانوسی با استفاده از روش الکتروپوراسیون (روشی که امکان تیمار ۱۰۰۰۰ تخم در ده دقیقه فراهم می‌کند) به تخم‌های لقاح‌یافته، انتقال داده شد. بعد از ۳۰ روز، ۲۹ درصد از ماهیان و بعد از دو ماه، ۳۸ درصد از ماهیان حامل توالی DAN بیگانه بودند. در مقایسه با گروه کنترل در ماه هفتم، میانگین وزن و طول بدن ماهی‌های انتقال‌ژن یافته به ترتیب ۲۱ و ۹/۳ درصد افزایش یافت.

صنعت آبی‌پروری از سال ۱۹۷۰، سریع‌ترین رشد را در بخش تولید غذای حیوانی با افزایش میانگین ۸/۹ درصد در سال، داشته است

تیلایپا گونه‌پرورشی مهمی است و در بیش از ۶۰ کشور پرورش داده می‌شود. تیلایپای تراژن تمام ماهی به طور موفقیت‌آمیز با ریز تزریق GH چینوک سالمون همراه با پروموتور AFP لب کلفت اقیانوسی ایجاد شد. تیلایپای تراژن چهار برابر سریع‌تر از هم‌نژادهای انتقال‌ژن نیافته خود رشد پیدا می‌کند. اخیراً، آزمایش‌های طولانی مدت نشان داده‌اند که میزان رشد آن‌ها ۲/۵ درصد و ضریب تبدیل غذایی ۲۰ درصد و بازدهی مصرف پروتئین، مواد خشک و انرژی در مقایسه با هم‌نژادهای انتقال‌ژن نیافته بیشتر بود. در ارزیابی مکان‌های بیان پروموتور نوع سوم AFP و سازه GH چینوک سالمون در تیلایپا، انتظار می‌رفت ریبونوکلیک اسید پیام‌رسان (mRNA) حاوی GH تراژن عمدتاً در کبد ردیابی شود (Caelters and others, ۲۰۰۵). اگرچه نتایج الگوی بیان منعکس‌کننده شرایط طبیعی بدن ماهی بود به طوری که mRNA تراژن در اندام‌های دیگر از قبیل آبشش، قلب، مغز، کلیه، طحال، روده، ماهیچه‌های اسکلتی و بیضه‌ها یافت شدند. چون شرایط غیرطبیعی در رشد این ماهی دیده نشد، محققان پیشنهاد کردند که این روش انتقال ژن شبیه به بیان طبیعی GH در اندام‌ها در طول رشد و نمو است که در نتیجه آن افزایش رشد ماهی با تناسب عادی انجام می‌گیرد.

پروتئین ضد یخ

اندیشه سیستم ضد یخ اولین بار در نوعی ماهی دریایی ساکن سواحل شمالی لابرادور تشریح شد؛ نقطه انجماد مایعات بدن این ماهی برخلاف نقطه انجماد آب شیرین (صفر درجه سانتی گراد) بیشتر مشابه انجماد آب دریا (۱/۷- تا ۲- درجه سانتی گراد) است. نهایتاً این پدیده به پتیدها و گلیکوپتیدهایی به نام AFPها و گلیکوپروتئینها (AFGها) نسبت داده شد. این پتیدها در ابتدا در کبد سنتز می‌شوند و سپس به خون و فضای خارج سلولی ترشح می‌شوند؛ در آن جا به هم می‌چسبند، ساختار کریستال‌های ریز یخی پیدا می‌کنند و بنابراین از رشد کریستال‌های یخ جلوگیری می‌کنند و نقطه انجماد مایع بدن را کاهش می‌دهند. AFPها ساختارهای گوناگونی دارند و بسته به توالی پروتئین آن‌ها به سه دسته طبقه‌بندی می‌شوند. همچنین تعداد نسخه‌ها و انواع ژن‌های AFP با نوع گونه تغییر می‌کند. برای مثال در فلاندر زمستان^{۱۴} ۳۰ تا ۴۰ نسخه نوع ۱، در راون دریا^{۱۵} ۱۲ تا ۱۵ نسخه نوع ۲ و در ماهی لب کلفت اقیانوسی جزیره نیوفاندلند ۱۵۰ نسخه از نوع ۳ وجود دارد.

AFP نوع ۳ ماهی لب کلفت اقیانوسی به‌طور موفقیت‌آمیزی به ماهی طلائی انتقال و در این ماهی بیان شد. ژن به روش ریزتریزی

اندیشه سیستم ضد یخ اولین بار در نوعی ماهی دریایی ساکن سواحل شمالی لابرادور تشریح شد؛ نقطه انجماد مایعات بدن این ماهی برخلاف نقطه انجماد آب شیرین بیشتر مشابه نقطه انجماد آب دریاست

به اووسیت‌ها انتقال داده شد و در دو نسل به ارث رسید. تحمل ماهی طلائی ترازن نسبت به سرما در مقایسه با ماهیان کنترل بالاتر است؛ از این رو امکان استفاده از روش‌های انتقال ژن برای افزایش مقاومت به سرما در ماهی توصیه شده است.

فن انتقال ژن AFP در صنعت آبی‌پروری کشورهایی که خطوط ساحلی آن‌ها در شرایط انجماد و زیر انجماد است، می‌تواند مفید واقع شود. برای مثال، دمای آب در فصل زمستان در سواحل آتلانتیک کانادا از ۰ تا ۱/۸- درجه سانتی‌گراد است؛ این شرایط پرورش آزاد ماهیان و دیگر ماهیان مهم تجاری را به مناطق منتخبی در مناطق جنوبی کانادای شرقی محدود می‌کند. بنابراین اخیراً تحقیقات به سمت ایجاد نژادهایی از آتلانتیک سالمونی که قادر به پرورش در محدوده جغرافیایی وسیعی باشد، سوق پیدا کرده است. این امر از این راه‌ها زیر قابل اجراست:

- معرفی مجموعه‌ای از ترانس ژن‌های AFP امکان بقای ماهی را در دمای آب پایین می‌دهند،
- معرفی ترانس ژن‌های GH برای تولید نژادهایی با رشد سریع که

نیاز به زمستان‌گذرانی نداشته باشند.

اگرچه ترانس ژن‌های AFP به‌طور موفقیت‌آمیز به ماهی آتلانتیک سالمون انتقال یافت و در بدن این ماهی بیان و از طریق جرم لاین‌ها^{۱۶} به نسل آینده به ارث رسید، اما آزاد ماهیان ترازن، AFP را به مقدار کافی تولید نکردند تا در برابر انجماد مقاوم شوند. بر مبنای نظر فلچر و همکارانش (۲۰۰۴)، باید سازه‌های ترانس ژن AFP ایی ایجاد شود که در سطوح بالایی در بافت اپتلیال و کبد بیان شوند.

مقاومت به بیماری

محدودیت اصلی در برابر صنعت آبی‌پروری شیوع بیماری‌های مختلف است؛ چون ماهی پرورشی معمولاً در تراکم بالا و تحت استرس پرورش داده می‌شوند و این شرایط آن‌ها را در خطر آلودگی‌های باکتریایی قرار می‌دهد. به عنوان نمونه، در صنعت پرورش گربه ماهی سالانه به‌طور میانگین ۱۰۰ میلیون دلار خسارت به علت بیماری دیده می‌شود. گربه ماهی کانالی^{۱۷} گونه تجاری مهمی در ایالات متحده است. به طوری که بیش از ۶۰ درصد از تولیدات آبی‌پروری (۲۶۹۰۰۰ تن در سال) به این گونه اختصاص دارد. این ماهی مستعد به عفونت‌های باکتریایی، به‌ویژه سپتی سمی روده‌ای در اثر آلودگی به ادواردسیلا ایکتالوری‌ای^{۱۸} است. ممکن است آنتی‌بیوتیک‌ها در برابر بیماری‌ها ایجاد مقاومت کنند و فقط انواع محدودی برای استفاده در آبی‌پروری مورد توافق‌اند. اگرچه واکسن‌های مؤثری برای برخی از بیماری‌ها وجود دارد، اما برای بسیاری از بیماری‌های رایج گربه ماهی از قبیل سپتی سمی روده‌ای روش تیمار واقعاً مؤثری وجود ندارد. همچنین واکسن‌های DNA اغلب به نیروی انسانی زیادی نیاز دارند و می‌توانند استرس بالایی بر اثر دستکاری زیاد به ماهی وارد کنند. یک دانشین نویددهنده و مؤثر در این زمینه استفاده از تکنولوژی تولید نژادهای ماهی با مقاومت بالا به بیماری است. تعدادی پتیدهای ضد میکروبی با ظرفیت اصلاح و بهبود مقاومت در برابر بیماری در آبی‌پروری از ماهی جدا شده است. رمزگذاری ژن برای این پتیدها به‌خوبی انجام نشده است.

متابولیسم گیاهان خشکی‌زی

استفاده از غذای گیاهی خشکی‌زی در آبی‌پروری از غذاها با منشأ دریایی سنتی چندین مزیت دارد. تولیدات گیاهی از قبیل آرد سویا و روغن‌های گیاهی در مقایسه با آرد و روغن ماهی سطوح بالایی از پروتئین و انرژی را با هزینه کمتر تأمین می‌کند. همچنین این استدلال وجود دارد که استفاده از گیاهان در حفظ اکوسیستم‌های دریایی از طریق کاهش نیاز به برداشت ماهیان کوچک پلاژیک که اغلب به عنوان غذای ماهی استفاده می‌شوند، کمک خواهد کرد. با وجود این، چون گیاهان خشکی‌زی در مود تشکیل‌دهنده‌شان با غذاهای دریایی تفاوت دارند، اطمینان از تأمین سطوح غذایی مورد نیاز ماهیان پرورشی و دیگر عناصر مورد تقاضای آن‌ها ضروری است.

برای مثال، گیاهان خشکی‌زی فاقد برخی آمینواسیدهای ضروری و اسیدهای چرب که در آرد و روغن ماهی وجود دارد، هستند. برای جبران این مسئله، اخیراً دو فناوری تراژنی به‌منظور افزایش استفاده از غذای گیاهی به‌کار گرفته شده است.

اسیدهای چرب چند غیر اشباع امگا-۳ (n-۳ PUFAs) ایکوزاپنتانونیک اسید (EPA) و دکوزاهگزانونیک اسید (DHA) برای سلامتی انسان‌ها مفیدند. ماهیان سطوح بالای این اسیدهای چرب را از طریق زنجیره آبی به دست می‌آورند و بنابراین منبع اصلی غذایی EPA و DHA برای انسان‌ها محسوب می‌شوند. با وجود این، ماهیانی پرورشی اغلب با غذاهای غنی از روغن گیاهی تغذیه می‌شوند که حاوی اسید چرب آلفا-لینولنیک اسید (ALA) به عنوان پیش‌ساز EPA و DHA، هستند. محدودیت موجود در تبدیل ALA به EPA و DHA به علت آنزیم n-۶-desaturase است. اخیراً، سازه ژنی حاوی ژن شبه n-۶-desaturase ماسو سالمون^{۱۹} همراه با پروموتور ژن بتا-اکتین از مداکای ژاپنی به جنین تک‌سلولی ماهی گورخری ریز تزریق شد. بیان ژن شبه n-۶-desaturase در ماهی گورخری انتقال ژن یافته موجب افزایش ۱/۴ برابری مقدار EPA، افزایش ۲/۱ برابری مقدار DHA و کاهش متناظر مقدار ALA در مقایسه با گروه‌های شاهد انتقال ژن نیافته شد. با وجود این، تغییرات در ترکیب اسید چرب در ماهیان ترنس ژنیک، مقدار لپید کل ثابت باقی ماند. این تکنولوژی به عنوان وسیله‌ای برای افزایش اسیدهای چرب n-۳ در ماهیان پرورشی و بنابراین فراهم کردن محصولات سالم‌تر برای مصرف‌کننده‌ها در آبی‌پروری مطرح است. همچنین می‌تواند وابستگی صنعت آبی‌پروری را به منابع غذایی حاصل از برداشت دریا کاهش دهد و امکان استفاده گسترده از غذای گیاهی ارزان‌قیمت حاوی ALA را فراهم کند. پیشرفت در گیاهان انتقال ژن یافته نیز امکان تولید دانه‌های روغنی حاوی EPA (بیش از ۱۵ درصد از کل اسیدهای چرب) و DHA (بیش از ۳/۳ درصد از کل اسیدهای چرب) را ایجاد کرده است. با وجود این که این گیاهان انتقال ژن یافته سطوح n-۳ PUFAs متغیر و محدودی را تولید می‌کنند، ظرفیت بالقوه‌ای را برای استفاده در صنعت آبی‌پروری از خود نشان داده‌اند.

عقیمی و قطع ژن ویژه غدد جنسی

اگرچه استفاده از ماهیان انتقال ژن یافته در آبی‌پروری موجب افزایش دسترسی به غذا و کاهش هزینه تولید می‌شود، اما امکان فرار این ماهیان به محیط طبیعی و آلودگی جمعیت وحشی از طریق آمیزش با آن‌ها وجود دارد. بنابراین، استفاده از تکنیک‌هایی که از معرفی ژن‌های انتقال یافته به ذخایر وحشی جلوگیری می‌کنند، مورد توجه قرار دارد. اخیراً دو عقیده و فکر تحقیقاتی شامل القا عقیمی قطع ژن ویژه غدد جنسی مطرح شده است. با بکارگیری عقیمی ماهی از طریق دستکاری کروموزوم، عقیمی ۱۰۰ درصدی در جمعیت ماهیان تحت تیمار به‌دست نمی‌آید و اغلب ماهیان رشد کمی دارند. اخیراً عقیمی با استفاده از روش تراژنی با توقف بیان رمزگذاری ژن هورمون

آزادکننده گنادوتروپین (GnRH) به عنوان ترکیب مهم در رشد و نمو غدد جنسی و عملکرد تولیدمثلی انجام شده است. در مطالعات آزمایشی، باروری برگشت‌پذیر در کپور معمولی که رمزگذاری ژن برای توالی RNA آنتی‌سنس (Antisense) که بیان ژن GnRH را متوقف می‌کند در آن‌ها انجام شد، دیده شد. زمانی که RNA پیامبر antisense-GnRH به تخم‌های ماهی کپور معمولی انتقال یافت، در حدود ۳۰ درصد از نوزادان غدد جنسی رشد نیافته داشتند؛ اگرچه با به‌کار بردن هورمون‌های خارجی باروری آن‌ها به‌وجود آمد.

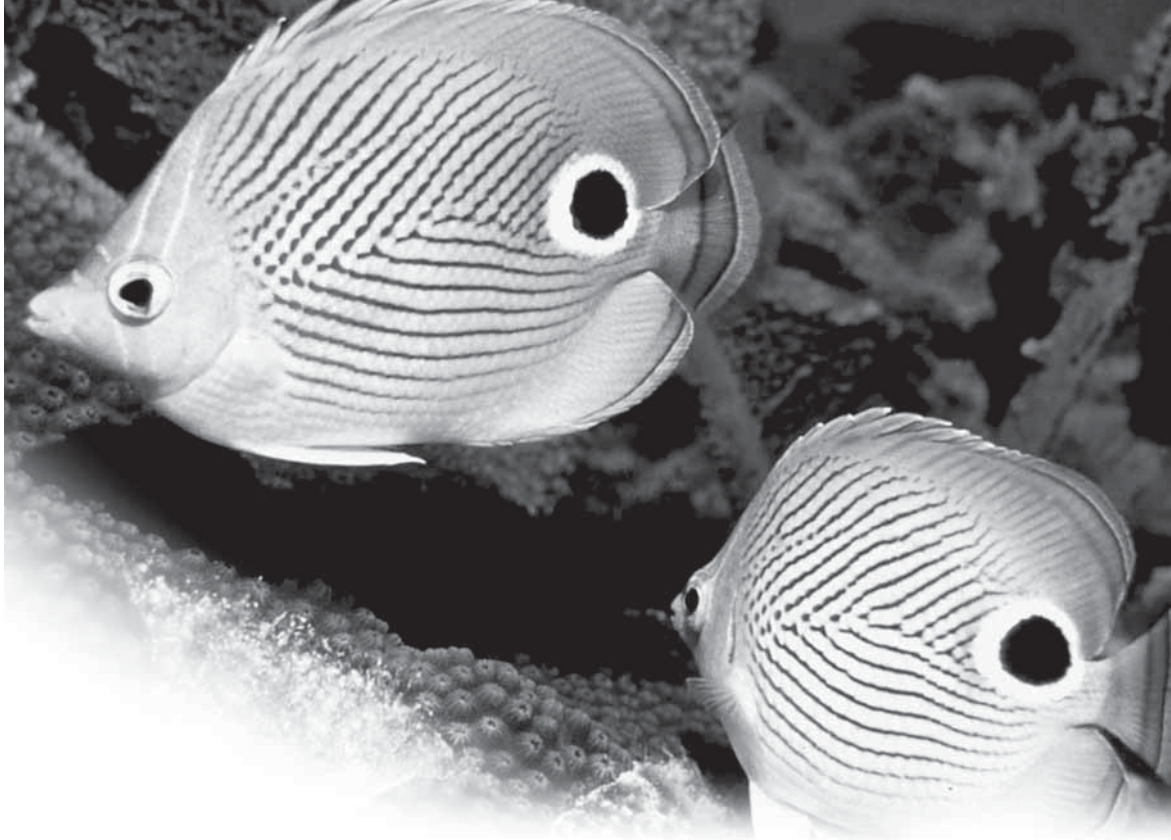
مباحث زیست‌محیطی و بهداشت انسانی

اگرچه به‌کار بردن روش‌های انتقال ژن در آبی‌پروری مزیت‌های زیادی در توسعه این صنعت دارد و به تأمین تقاضاهای در حال رشد غذای جهانی کمک می‌کند، اما مباحث مختلفی در زمینه اثرهای بالقوه منفی ماهیان تغییر یافته به زنجیره غذایی وجود دارد. قبل از معرفی ماهیان انتقال ژن یافته به آبی‌پروری تجاری، باید تجزیه و تحلیل خطر این عمل به‌منظور ارزیابی اثرهای زیان‌آور این روش از جنبه زیست‌محیطی و بهداشت انسانی مورد توجه قرار گیرد.

محدودیت اصلی در برابر صنعت آبی‌پروری شیوع بیماری‌های مختلف است؛ چون ماهی پرورشی معمولاً در تراکم بالا و تحت استرس پرورش داده می‌شوند و این شرایط آن‌ها را در خطر آلودگی‌های باکتریایی قرار می‌دهد

مباحث زیست‌محیطی

علت عمده بحث در این زمینه فرار موجودات زنده پرورشی به محیط طبیعی و به تبع آن کنش و واکنش‌های آن‌ها با جمعیت‌های بومی است که ممکن است باعث تغییر شدید خصوصیات اکوسیستم‌های طبیعی بشوند. حتی در زمانی هم که محیط آبی‌پروری محصور باشد، باز هم امکان فرار برخی از آبیان وجود دارد. برای مثال آزادماهی‌های پرورشی فرار کرده در نروژ در حدود ۳۰ درصد آزادماهیان ساکن در رودخانه‌ها بیند (FAO، ۲۰۰۰). این ماهیان فراری می‌توانند آسیب‌های جدی به جمعیت‌های وحشی وارد کنند؛ به ویژه زمانی که پرورش در زیستگاه‌های بومی ماهیان فراری انجام شود، زمانی که تعداد ماهیان پرورشی بیشتر از جمعیت وحشی باشد یا زمانی که جمعیت وحشی در معرض عوامل بیماری‌زای ماهیان پرورشی قرار گیرند. همچنین آزادماهیان پرورشی فراری اگرچه به‌خوبی ماهی‌های وحشی تخم‌ریزی نمی‌کنند، ولی تخم‌ریزی آن‌ها در آب شیرین مشاهده شده است. زمانی که آزادماهیان پرورشی با جمعیت وحشی تولیدمثل می‌کنند نه تنها تنوع ژنتیک طبیعی آن‌ها



تغییر می‌کند، بلکه نوزادان حاصل از این آمیزش، کیفیت پایین‌تری

پیدا می‌کنند، تفاوت ندارند؛ اما افکار عمومی و بسیاری از گروه‌های زیست‌محیطی با انتقال مصنوعی ژن به‌طور محتاطانه‌ای برخورد می‌کنند (FAO، ۲۰۰۰).

بهداشت انسانی

همانند هر فناوری نوظهوری، استفاده از ماهیان تراژن با مباحث بهداشت انسانی روبه‌رو شده است. اثرهای مصرف درازمدت غذاهای تغییر یافته ژنتیک نامشخص است. همچنین اضافه کردن ژن‌های بیگانه با گونه‌ها ممکن است سبب ایجاد سموم با مواد حساسیت‌زایی (آلرژن) شود که قبلاً وجود نداشته‌اند. دومین محل بحث افزایش مقاومت به بیماری در ماهیان انتقال ژن یافته است که ممکن است آن‌ها را به میزبانی مناسب برای عوامل بیماری‌زای جدید و انتقال به بدن انسان تبدیل کند (FAO، ۲۰۰۰). در سراسر دنیا مباحث بهداشتی مربوط به غذاهای تغییر یافته ژنتیک یافته محل بحث و جدل‌های جدی بوده است. با وجود این، کشورهایی نظیر ایالات متحده و کانادا نسبتاً سریع غذاهای تغییر یافته ژنتیک مورد قبول واقع شده‌اند، اما این کار در اروپا به علت گستره مقاومت مردمی و تصویب قوانین ضد تغییر ژنتیک مبنی بر «اصول پیشگیرانه» به کندی پیشرفته است.

اگر ژن‌های انتقال یافته برای پروتئین آلرژیک یا پروتئینی که الفاکندنده سم غیرفعال است، رمزگذاری شوند آلرژن‌ها یا مواد سمی ممکن است در نتیجه انتقال ژن تولید شوند. برای مثال، اگر رمزگذاری برای ژن پروتئین یک نرم تن پوسته‌دار برای ایجاد ماهیان تراژن مورد استفاده قرار گیرد، مصرف‌کننده‌هایی که به نرم تن پوسته‌دار حساس‌اند، در معرض خطر واکنش‌های آنافیلاکتیک قرار دارند. همچنین، اثر پلیوتروپیک قبلاً بیان شد نیز می‌تواند منجر به پدیده‌های ناخواسته از جمله تولید سم یا آلرژن شود که در حالت طبیعی بیان نمی‌شوند. با وجود این، بیان ژن‌های سمی غیرفعال در نتیجه انتقال ژن بسیار بعید به نظر می‌رسد، چون جانورانی که به

اگرچه عمل انتقال ژن در ماهی به خوبی اجرا شده است، تحقیق در زمینه بی‌مهرگان دریایی بر اثر پیچیدگی معرفی و بیان ژن‌های بیگانه و خارجی، در مراحل مقدماتی قرار دارد

در مقایسه با والدین و هم‌نسل‌های وحشی خود دارند. طرفداران انتقال ژن معتقدند موجودات تغییر ژن یافته در محیط طبیعی و وحشی کیفیت و کارایی کمتری خواهند داشت و به‌طور موفقیت‌آمیز قادر به رقابت با جوامع ماهیان بومی نیستند (FAO، ۲۰۰۰). با این وجود، اثرهای انتقال ژن‌های خاص روی رفتار ماهی در محیط طبیعی به سختی قابل پیش‌بینی است.

ایجاد ماهیان عقیم از طریق دستکاری کروموزوم یا ژن برخی نگرانی‌های مربوط به تولیدمثل ماهیان انتقال ژن یافته در جوامع طبیعی را کاهش داده است (FAO، ۲۰۰۰) با وجود این، روش‌هایی که اخیراً برای ایجاد موجودات عقیم مورد استفاده قرار گرفته است، ۱۰۰ درصد مؤثر نبوده و امکان این که برخی از این ماهیان تغییر یافته قادر به تولیدمثل باشند، وجود دارد. علاوه بر این ماهیان انتقال ژن یافته فراری با وجود عقیم بودن ممکن است قادر به رقابت مکانی با جوامع بومی ماهیان یا دخالت در رفتار طبیعی جمعیت ماهیان وحشی باشند. گذشته از امکان افزایش بقا و زنده ماندن ماهیان انتقال ژن یافته، ماهیان تراژن مقاوم به بیماری‌ها امکان حمل باکتری، انگل یا ویروس‌ها را که برای جوامع طبیعی مضرند، دارند. با وجود عقیده طرفداران انتقال ژن که ماهیان تغییر یافته ژنتیک چندان با گونه‌هایی که از طریق مولدسازی تغییر ژنتیکی

عنوان غذا مورد استفاده قرار می‌گیرند، معمولاً غذاهایی ایمن و سالم برای مصارف انسانی‌اند و به‌ندرت ترکیبات سمی تولید می‌کنند. علاوه بر تولید مواد حساسیت‌زا و سموم، در بیان برخی پروتئین‌های زیست فعال از قبیل GH و سکرورین بحث‌هایی وجود دارد، به‌طوری که ممکن است خصوصیات زیستی فعالی آن‌ها بعد از مصرف نیز ادامه یابد. برای مثال، خصوصیت ضد میکروبی سکرورین‌ها می‌تواند باعث تغییر فلور طبیعی روده انسان، یا به‌طور گزینشی موجب توسعه عوامل بیماری‌زای انسانی با افزایش مقاومت شود.

با وجود این، به عقیده متخصصان FAO خطرهای همراه با استفاده از بیوتکنولوژی در آبی‌پروری «محدود و ناچیز» است (FAO، ۲۰۰۰). برخلاف گیاهان انتقال یافته، که معرفی آن‌ها برای رمزگذاری آنتی‌بیوتیک‌های معمولی، ترکیبات آلرژن، و مقاومت به آفات معمول و علف‌های هرز انجام می‌گیرد، ماهیان تغییر ژن یافته برای اهداف پرورشی دارای سازه‌های ژنی هورمون رشد هستند (FAO، ۲۰۰۰). آزمایش‌های مقدماتی در امنیت مصرف کپور معمولی انتقال یافته ژن GH تمام ماهی، اثرهای بهداشتی منفی

هورمون GH تیلاپیا روی پستاندار نخستی را نشان نداد و اثرهای معنی‌داری روی پروفیل نمونه خون، رشد بدنی یا خصوصیات مورفولوژیک اندام‌ها و بافت‌های آن‌ها گزارش نشد.

برای ارزیابی امنیت مصرف گوشت تیلاپیا انتقال ژن یافته، ۲۲ داوطلب انسانی به‌طور تصادفی به دو گروه تقسیم شدند که هر دو روز یک‌بار به مدت ۵ روز تیلاپیا انتقال ژن یافته یا انتقال ژن نیافته را دریافت کردند. نمونه‌های خونی به‌طور روزانه جمع‌آوری می‌شد و برای پارامترهای بالینی و بیوشیمیایی مشابه مطالعه روی پستانداران نخستی غیرانسان مورد بررسی قرار گرفتند. بعد از آزمایش، انسان‌های مورد آزمایش به سؤالاتی که در زمینه طعم و کیفیت گوشت ماهی مطرح شد، پاسخ دادند. گوشت تیلاپیا انتقال ژن یافته به‌خوبی توسط مصرف‌کننده‌ها مورد پذیرش قرار گرفت و در مقایسه با گروه شاهد گزارشی مبنی بر اثر منفی آن‌ها گزارش نشد و تغییری در پارامترهای بالینی و بیوشیمیایی دیده نشد.

پی‌نوشت

1. Carassius auratus L. 1758
2. Misgurnus anguillicaudatus
3. Promoter sequence
4. Cutthroat
5. Macrozoarces americanus
6. All-fis
7. Cyprinus carpio
8. Sparus sarba
9. Pagrosomus major
10. Oreochromis niloticus
11. Salmo salar
12. Oncorhynchus mykiss
13. Oncorhynchus tshawytscha
14. Pleuronectes americanus
15. sea raven, Hemitripterus americanus
16. Germlines
17. Ictalurus punctatus
18. Edwardsiella ictaluri
19. Oncorhynchus masuo

منابع

۱. ومنت، ای. آر. و هور کی. (۱۳۸۹). زیست فناوری و ژنتیک در شیلات و آبی‌پروری، مترجمان: دکتر سعید کیوان شکوه و دکتر سالار درافشان، مرکز نشر دانشگاه صنعتی اصفهان، ۱۳۷-۱۵۲.
۲. تیو، دی. (۱۳۸۸). مبانی ژنتیک، اصلاح نژاد و بیوتکنولوژی ماهیان، مترجم: دکتر فرهاد امینی، انتشارات جهاد دانشگاهی واحد تهران، ۲۲۳-۳۵۱.
۳. (۱۳۸۸)، مبانی ژنتیک آبزیان، مؤسسه تحقیقات شیلات ایران، ۱۰۳-۱۳۰.
4. FAO (2008), The state of world fisheries and aquaculture, FAO fisheries and aquaculture department, pp: 3- 23.
5. Gomelsky, B. (2003). Chromosome set manipulation and sex control in common carp: a review, Aquat. Living Resour. 16, pp: 408-415.
6. Rasmussen R.S. and Morrissey M.T. (2007). Biotechnology in Aquaculture: Transgenic and Polyploidy. Comprehensive reviews in food science and food safety. Vol. 6, PP: 2- 16.

اضافه کردن ژن‌های بیگانه به گونه‌ها ممکن است
سبب ایجاد سموم یا مواد حساسیت‌زا (آلرژن) بی
شود که قبلاً وجود نداشته‌اند

روی موش مشاهده نشده است. موش‌هایی که با کپورهای تراژن در دوز ۵ تا ۱۰ گرم در کیلوگرم وزن بدن به‌طور روزانه به مدت ۶ هفته تغذیه شدند، با گروه شاهدی که از کپورهای انتقال ژن نیافته تغذیه شدند، در رشد، ارزیابی هیستوشیمیایی ۱۲ اندام و تجزیه و تحلیل بیوشیمیایی خون مورد مقایسه قرار گرفتند. با وجود این که این مطالعه اثر منفی مصرف ماهیان انتقال ژن یافته را نشان نداد، برای تضمین بی‌تأثیر بودن این ماهیان بر انسان‌ها، آزمایش‌های دیگر که عوامل متفاوت این قبیل تأثیر مصرف بلندمدت و مصرف بالای این ماهیان را مشخص می‌کند، باید طراحی شود.

در کوبا آزمایش‌های امنیت غذایی مصرف GH تیلاپیا و گوشت ماهی تیلاپیا انتقال یافته ژن GH با استفاده از پستانداران نخستی غیر انسان و انسان‌های داوطلب انجام گرفت. شش پستاندار نخستی غیرانسان روزانه به مدت ۳۰ روز از طریق تزریق وریدی تحت تیمار هورمون رشد نو ترکیب تیلاپیا قرار گرفتند. نمونه‌های خونی قبل و بعد از تیمار برای پارامترهای بالینی و بیوشیمیایی از قبیل هموگلوبین، پروتئین‌های تام سرم، گلوکز، کراتینین، لکوسیت‌ها و اریتروسیت‌ها مورد آزمایش قرار گرفتند. همچنین جانوران به‌طور روزانه برای شاخص‌های بالینی از قبیل وزن، ضربان قلب و دمای راست روده (رکتال) بررسی شدند. بعد از آزمایش جانوران کشته شدند و جزئیات کالبدشکافی مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج اثرهای خاص زیستی