

ORIGINAL ARTICLE

Genetic and breeding strategies for improving growth traits and disease resistance in aquaculture

Majid Pasandideh¹ , Reza Pasandideh²

¹Department of Animal Science,
Faculty of Agriculture, Shahrekord
University, Shahrekord, Iran.

²Iranian Shrimp Research Center,
Iranian Fisheries Science Research
Institute, Agricultural Research,
Education & Extension Organization
(AREEO), Bushehr, Iran.

Correspondence

Majid Pasandideh

Email: M.pasandideh@sku.ac.ir

How to cite

Pasandideh, M., & Pasandideh, R.
(2025). Genetic and breeding strategies
for improving growth traits and disease
resistance in aquaculture. *Experimental
Animal Biology*, 13(51), 13-24.

ABSTRACT

In aquaculture, disease prevention through elimination, eradication and cultural control are inefficient, costly and unstable solutions. Breeding programs for genetic improvement of disease resistance lead to a long-term sustainable disease control. Mass selection of survivors in contaminated ponds is a classic method for improving disease resistance. In this method, by collecting survivors from virus-infected pools and selecting after several generations, an increase in survival rate is created. Another method is to use a disease challenge test, which exposes different families to live virus and selects the best families. Modern genetic approaches for disease resistance include the use of microsatellite markers, Genome-wide association studies (GWAS), Genomic selection (GS) and CRISPR, which are reviewed in this article. Microsatellite markers are used for genotyping of breeding stock and monitor the genetic diversity of populations. GWAS to survey genotype-phenotype association lead to the identification of genomic regions affecting disease resistance. GS is the most advanced method for use in aquaculture breeding programs. CRISPR/Cas9-mediated genome editing and transgenesis by antimicrobial peptide genes (AMGs) have been found to be effective on the innate immune system of fish. Development of lines resistant to specific diseases and crossing them to produce hybrids are available solutions, and producing disease-resistant transgenic fish is a prospect for improving disease resistance in aquatic animals.

KEYWORDS

Aquaculture, Breeding programs, Genome editing, GWAS.

نشریه علمی

زیست‌شناسی جانوری تجربی

«مقاله پژوهشی»

استراتژی‌های ژنتیکی و اصلاح نژادی برای بهبود صفات رشد و مقاومت به بیماری در آبی‌پروری

مجید پسندیده^۱، رضا پسندیده^۲

چکیده

در آبی‌پروری، پیشگیری از بیماری از طریق حذف، ریشه‌کنی و کنترل پرورشی راه‌کارهایی ناکارآمد، پرهزینه و ناپایدار هستند. برنامه‌های اصلاح نژادی برای بهبود ژنتیکی مقاومت به بیماری باعث کنترل طولانی‌مدت بیماری می‌شوند. انتخاب توده‌ای از بازماندگان در استخرهای آلوده از روش‌های کلاسیک برای بهبود مقاومت به بیماری می‌باشد. در این روش، با جمع‌آوری بازماندگان از استخرهای آلوده به ویروس و پس از چند نسل انتخاب، افزایش میزان بازماندگی ایجاد می‌شود. روش دیگر، استفاده از آزمایش مواجهه‌سازی با بیماری است که با در معرض قراردادن خانواده‌های مختلف با ویروس زنده، خانواده‌های برتر انتخاب می‌شوند. روش‌های ژنتیکی مدرن برای مقاومت به بیماری شامل استفاده از نشانگرهای ریزماهواره، مطالعات گسترده ارتباط ژنومی (GWAS)، انتخاب ژنومی (GS) و کریسپر (CRISPR) می‌باشند که در این مقاله بررسی می‌شوند. از نشانگرهای ریزماهواره برای تعیین ژنوتیپ مولدین و نظارت بر تنوع ژنتیکی جمعیت‌ها استفاده می‌شود. مطالعات گسترده ارتباط ژنومی با بررسی ارتباط ژنوتیپ و فنوتیپ باعث شناسایی مناطقی ژنومی مؤثر بر مقاومت به بیماری می‌شوند. انتخاب ژنومی پیشرفته‌ترین روش برای استفاده در برنامه‌های اصلاح نژادی آبی‌پروری می‌باشد. ویرایش ژنوم با واسطه کریسپر و تراریختی با ژن‌های پپتید ضد میکروبی (AMGs) روی سیستم ایمنی ذاتی ماهی مؤثر است. توسعه لاین‌های مقاوم در برابر بیماری‌های خاص و کراسینگ آن‌ها برای تولید هیبرید از راه‌کارهای در دسترس و تولید ماهی تراریخته مقاوم به بیماری به‌عنوان دورنمای بهبود مقاومت به بیماری در آبیان می‌باشند.

واژه‌های کلیدی

آبی‌پروری، برنامه‌های اصلاح نژادی، مطالعات گسترده ارتباط ژنومی، ویرایش ژنومی.

^۱ گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران.
^۲ پژوهشکده میگوی کشور، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی (AREEO)، بوشهر، ایران.

نویسنده مسئول:

مجید پسندیده

رایانامه: M.pasandideh@sku.ac.ir

استناد به این مقاله:

پسندیده، مجید و پسندیده، رضا (۱۴۰۳). استراتژی‌های ژنتیکی و اصلاح نژادی برای بهبود صفات رشد و مقاومت به بیماری در آبی‌پروری. فصلنامه زیست‌شناسی جانوری تجربی، ۱۳(۵۱)، ۲۴-۱۳.

مقدمه

تولید ماهی و میگو به عنوان منبع اصلی پروتئین دریایی در رژیم غذایی انسان به شمار می‌آید به همین دلیل بهبود در مقیاس و کارایی آبی پروری، به ویژه در کشورهای در حال توسعه ضروری است. یکی از روش‌ها برای کمک به رفع این چالش به کارگیری برنامه‌های اصلاح نژادی از طریق بهبود در صفات تولیدی مهم، مانند نرخ رشد یا مقاومت در برابر بیماری می‌باشد. هدف آغازین یک برنامه اصلاح نژاد، تولید حیوانات کارای زیستی است که از رشد سریع‌تر، بازماندگی بیش‌تر و کیفیت بهتر محصول برخوردار باشند. حیواناتی که از رشد سریع‌تر برخوردار هستند، مقدار غذای کم‌تری به ازای هر کیلوگرم وزن بدن نیاز خواهند داشت و در نتیجه کارایی بهتری در مصرف منابع غذایی نشان می‌دهند. در خصوص صنعت آبی‌پروری در آب شیرین، تولید این گروه از آبزیان منجر به افزایش بهره‌وری از زمین و منابع آبی می‌شود. یک برنامه اصلاح نژاد مؤثر دارای اهداف مشخص و متمایزی است. هدف کلی، ایجاد ذخایر آبزیان با قابلیت تولید بالا می‌باشد. از اهداف دیگر کاهش هزینه تولید، افزایش کیفیت محصول، بهبود شرایط زندگی، کاهش تنش و افزایش مقاومت به بیماری می‌باشند (Olesen et al., 2000).

برنامه‌های اصلاح نژادی اهداف بلندمدتی را دنبال می‌کنند. تغییرات ژنتیکی و اصلاح نژادی ایجادشده در نسل کنونی ممکن است در نسل بعدی یا حتی نسل‌های بعدتر نمایان شوند. در برنامه اصلاح نژاد آزادماهی اطلس که در سال ۱۹۷۵ در نروژ آغاز شد، پرورش‌دهندگانی که از اسمولت‌های حاصل از برنامه اصلاح نژادی استفاده کردند، الزاماً نتیجه مثبتی را در نسل اول پس از انتخاب دریافت نکردند، بلکه در نسل دوم این نتیجه مثبت مشهود بود. به این معنا که در واقع، پس از هشت سال از شروع اصلاح نژاد، پرورش‌دهندگان به سود حاصل از اجرای برنامه اصلاح نژاد پی بردند (Gjedrem & Baranski, 2009).

در آبی‌پروری، بیماری‌ها مشکلات زیادی مانند افزایش مرگ‌ومیر، کاهش کیفیت گوشت، کیفیت بد محصول و آلودگی از طریق مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها ایجاد می‌نمایند. از آنجایی که آبزیان در آب‌های با جریان شدید و یا قفس‌های موجود در دریاچه‌ها یا دریا نگهداری می‌شوند، حفاظت از آن‌ها در مقابل عوامل بیماری‌زای موجود در آب دشوار است. علاوه بر خسارت‌های مستقیم ناشی از وقوع بیماری و نیروی انسانی لازم برای جمع‌آوری تلفات، اغلب هزینه‌های زیاد مانند دارو نیز به

پرورش‌دهندگان تحمیل می‌شود. بنابراین در این صنعت، بقا از اولویت زیادی برخوردار است و اغلب در برنامه‌های اصلاح نژاد تمرکز شدیدی روی آن وجود دارد. بقا یک صفت با توارث‌پذیری کم (حدود ۰/۱۶) می‌باشد. استفاده از واکسن‌ها و داروها برای پیشگیری و کنترل بیماری در گونه‌های آبی معمولاً گران بوده و فقط تا حدی مؤثر هستند. بنابراین، عامل مهم در کنترل بیماری، استفاده از تنوع ژنتیکی بین افراد جمعیت و اصلاح نژاد برای تولید استوک‌ها با مقاومت بهبود یافته در برابر عوامل بیماری‌زای مهم می‌باشد (Gjerde et al., 2005).

از روش‌های کلاسیک برای بهبود مقاومت به بیماری، انتخاب توده‌ای از بازماندگان در استخرهای آلوده می‌باشد. در این روش، با جمع‌آوری بازماندگان از استخرهای آلوده به ویروس و پس از پنج نسل انتخاب، افزایش میزان بازماندگی مشاهده شده است. روش دیگر، استفاده از آزمایش مواجهه‌سازی با بیماری است که با در معرض قراردادن خانواده‌های مختلف با ویروس زنده، خانواده‌های برتر برای نسل بعد انتخاب می‌شوند. با استفاده از چنین آزمون‌های آزمون‌های چالشی کنترل‌شده، در بسیاری موارد، واریانس ژنتیکی قابل‌توجهی در مقاومت به بیماری دیده شده است. به عنوان مثال، آزادماهیان اطلس مرحله پیش از اسمولت بریا مقاومت نسبت به باکتری *Aeromonas salmonicida* عامل بیماری کورک موردآزمایش قرار گرفتند. به‌طور کلی میزان توارث‌پذیری برای هر بیماری در یک آزمون چالشی نسبتاً زیاد است (Gjøen et al., 1997). بیش از ۲۰ سال است که مقاومت به بیماری یک ویژگی هدف برای پرورش‌دهندگان آبی‌پروری بوده است و اولین برنامه‌های پرورش ماهی قزل‌آلا از سال ۱۹۹۳ بر مقاومت در برابر بیماری‌ها متمرکز شده است. با این حال، اصلاح نژاد انتخابی برای مقاومت در برابر بیماری به دلیل نیاز به ثبت دقیق رکوردهای مربوط به مقاومت به بیماری چالش‌برانگیز است. تکنیک‌هایی که برای بهبود مقاومت گونه‌های آبی‌پروری در برابر بیماری‌ها به کار می‌رود، به ساختار برنامه اصلاحی و فناوری مورد استفاده بستگی دارد. کاربرد روش انتخاب انبوه در اصلاح نژاد آبزیان به علت شدت انتخاب بالا می‌تواند پیشرفت ژنتیکی سریع برای صفات مقاومت امکان‌پذیر کند. با این حال، انتخاب انبوه در طرح‌های اصلاح نژاد تجاری پیشرفته عملی نیست، زیرا خطر افت ناشی از همخونی دارد. بنابراین استفاده از روش‌های مولکولی و ژنومی در پرورش آبزیان برای مقاومت به بیماری پیشنهاد می‌شود (Houston et al., 2017). در این مقاله

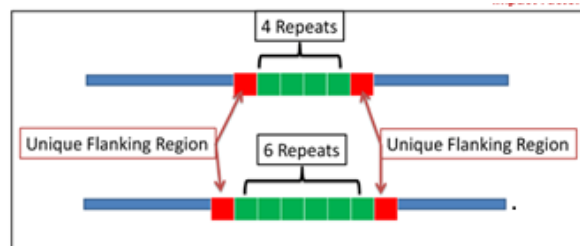
به روش‌های نوین ژنتیکی و اصلاح نژادی برای بهبود صفات اقتصادی مهم در آبی‌پروری پرداخته می‌شود.

روش‌شناسی پژوهش

با جستجوی مقالات از پایگاه‌های اطلاعاتی مهم مانند PubMed، Web of Science و google scholar، مطالب مفید و مرتبط با عنوان مقاله جمع‌آوری شد. از مقالات جدیدتر با ارجاع بیش‌تر و از مجلات معتبر استفاده شد. در بخش‌هایی از متن مقاله، از نتایج پژوهش‌های پیشین خود نویسندگان استفاده شد. مطالب به‌صورت روان، مختصر و مفید برای خوانندگان محترم نگاشته شد.

سیستم تعیین ژنوتیپ مبتنی بر ریزماهوره

ریزماهوره‌ها^۱ که به‌عنوان تکرارهای توالی ساده (SSRs)^۲ نیز شناخته می‌شوند، متشکل از ۱ تا ۶ جفت باز هستند و نشان‌دهنده نوع منحصر به فردی از توالی‌های ژنومی مکرر پشت سر هم هستند که به وفور در ژنوم توزیع شده‌اند و سطح بالایی از چندشکلی آلی را نشان می‌دهند. ریزماهوره‌ها به شیوه مندلی و به‌عنوان نشانگرهای هم‌بارز به ارث می‌رسند. یک نشانگر مولکولی ایده‌آل باید چندشکلی و توارث هم‌بارز را نشان دهد تا بتوان بین هموزیگوت و هتروزیگوت تمایز قائل شد. ریزماهوره‌ها در پروکاریوت‌ها و یوکاریوت‌ها وجود دارند و حتی در کوچک‌ترین ژنوم باکتری‌ها نیز وجود دارند. ریزماهوره‌ها در داخل مناطق کدکننده ژن، اینترون‌ها و در توالی‌های غیر ژنی یافت شده‌اند. در هر طرف واحد تکرار، نواحی کناری^۳ قرار دارند که شامل توالی ثابتی از DNA می‌باشند. این نواحی کناری از این نظر مهم هستند که اجازه طراحی پرایمرهای اختصاصی جایگاه موردنظر را برای تکثیر ریزماهوره‌ها از طریق PCR فراهم می‌نمایند (Liu et al., 2004) (شکل ۱).



شکل ۱. ساختار دو آلل ریزماهوره که نواحی کناری یکسان دارند (Liu et al., 2004)

در ارگانیزم‌های یوکاریوتی، SSRها در مناطق غیر کدکننده بیش از حد نشان داده شده است (Toth et al., 2000). گسترش اندازه بالقوه ریزماهوره‌های دی یا تترانوکلئوتیدی در مناطق ترجمه نشده (UTRs)^۴، اینترون‌ها و مناطق کدکننده می‌تواند منجر به اختلال در پروتئین طبیعی و/یا تشکیل ژن‌های جدید با جهش تغییر چهارچوب شود. تکرارهای دی نوکلئوتیدی در ژن‌های گونه‌های مختلف ماهی، از جمله گربه ماهی کانالی (*Ictalurus punctatus*) (Liu et al., 1999)، ماهی آزاد اقیانوس اطلس (*Salmo salar*) (Grimholt et al., 2002) و تیلپیا نیل (*Oreochromis niloticus*) توصیف شده است (Mansour et al., 1998).

ریزماهوره بر اساس تعداد نوکلئوتیدها در واحد تکرار (تک تا شش نوکلئوتیدی) و از نظر منبع توسعه به ریزماهوره‌های ژنومی یا هسته‌ای، EST^۵ یا ریزماهوره ژنیک، ریزماهوره‌های اندامکی (مشتق شده از ژنوم کلروپلاست/میتوکندری) تقسیم‌بندی می‌شوند. ریزماهوره‌ها فراوان هستند و به‌طور مساوی در تمام بخش‌های کروموزوم توزیع می‌شوند. از معایب این نشانگرها، نیاز داشتن به اطلاعات ژنتیکی قبل از استفاده می‌باشد یعنی توالی DNA برای طراحی پرایمر نیاز است. استفاده از ریزماهوره‌ها در آنالیزهای ساختار ژنتیکی جمعیت، تعیین سطح همخونی، نقشه‌برداری ژن، مطالعات فیلوژنتیکی، تشخیص بیماری‌های ژنتیکی و مهندسی ژنتیک، نقش مهمی دارد. علاوه بر این، قابلیت هتروزیگوسیتی بالا و حساسیت این نشانگرها، امکان ردیابی تغییرات آلی و تعیین فاصله ژنتیکی بین گونه‌ها را فراهم می‌سازد که این امر آن‌ها را به ابزاری کلیدی در تحقیقات ژنتیکی و زیست‌شناسی تکاملی تبدیل کرده است (Kumar et al., 2009).

نشانگرهای ریزماهوره در آبی‌زان

در یک پژوهش، با بررسی جایگاه‌های ریزماهوره در ماهی کفال طالبی (*Liza aurata*) در حوضه جنوبی دریای خزر، میانگین آلی در جایگاه‌های مختلف ۵/۷ (با دامنه ۳ تا ۹ آلل) و میانگین هتروزیگوسیتی مورد انتظار و مشاهده شده را به ترتیب ۰/۷۳۹ و ۰/۳۶۵ به دست آورده شد (Norouzi & Behrouz et al., 2016). در پژوهش دیگر، نوع ژنتیکی مولدین پرورشی ماده و نر فیل ماهی (*Huso huso*) در گله مولدین مؤسسه تحقیقات

4. Untranslated regions
5. Expressed sequence tag

1. Microsatellites
2. Simple sequence repeats
3. Flanking regions

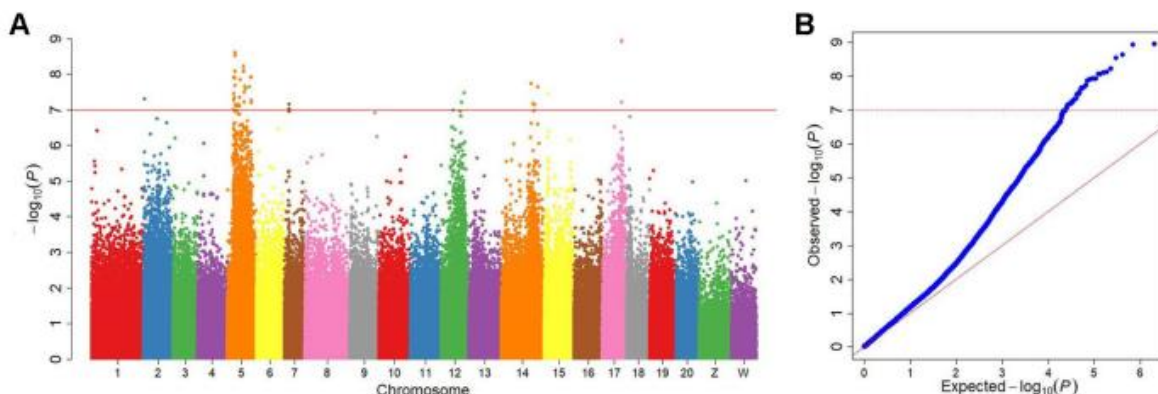
مطالعه ارتباط گسترده ژنومی (GWAS)^۱

امروزه، به دلیل دسترسی به تراشه‌های چندشکلی‌های تک نوکلئوتیدی (SNP)^۲ با چگالی بالا، مطالعه ارتباط گسترده ژنومی به یک تکنیک مفید برای شناسایی ژن‌های مسبب برای صفات اقتصادی در دام و آبزیان تبدیل شده است. مطالعات ارتباط گسترده ژنومی امکان شناسایی نواحی ژنومی خاص مرتبط با صفات مهم اقتصادی و کاربرد نشانگرهای مرتبط با جایگاه صفات کمی (QTL)^۳ را در برنامه‌های اصلاحی دام و آبزیان از طریق انتخاب به کمک نشانگر (MAS)^۴ فراهم کرده است. این رویکرد از عدم تعادل پیوستگی جمعیت (LD)^۵ برای شناسایی ارتباط بین واریانت‌های ژنتیکی خاص و تنوع فنوتیپی برای صفات مربوطه استفاده می‌کند. علاوه بر این، پانل‌های SNP متراکم را می‌توان برای اجرای طرح‌های انتخاب ژنومی مورد استفاده قرار داد که می‌تواند ارزش‌های اصلاحی برای هر فرد را با صحت بالا به دست آورد. این رویکرد، با این فرض که واریانس ژنتیکی برای یک صفت خاص توسط اثرات افزایشی هزاران جایگاه ژنی با اثرات بسیار کوچک که به طور یکنواخت در سراسر ژنوم توزیع شده‌اند، توضیح داده می‌شود (Pasandideh et al., 2020).

یک تراشه DNA با اتصال قطعات DNA به طول ۲۵ جفت باز از یک گونه به یک صفحه شیشه‌ای ایجاد می‌شود. این قطعات شامل انواع SNP برای تجزیه و تحلیل هستند. پروب‌های نشان‌دار شده با فلورسانس با قطعات DNA روی صفحه هیبرید می‌شوند و تراشه DNA مورد شست‌وشو قرار می‌گیرد. در نهایت، کاوشگرها برای القای فلورسانس در معرض نور با طول موج مشخص قرار می‌گیرند. از محدودیت‌های روش سنتی نقشه‌برداری QTL با استفاده از نشانگرهای ریزماهوره حساسیت کم و فاصله اطمینان زیاد می‌باشد که GWAS می‌تواند بر آن غلبه کند (Yanez et al., 2022). تجزیه و تحلیل GWAS با استفاده از مدل‌های آماری مختلف توسط نرم‌افزارهای ژنومی مانند PLINK انجام می‌شود. نمودار منهن، نشانگرهای SNP حاصل از GWAS را نشان می‌دهد و با استفاده از نرم‌افزار Haploview ترسیم می‌شود (شکل ۲).

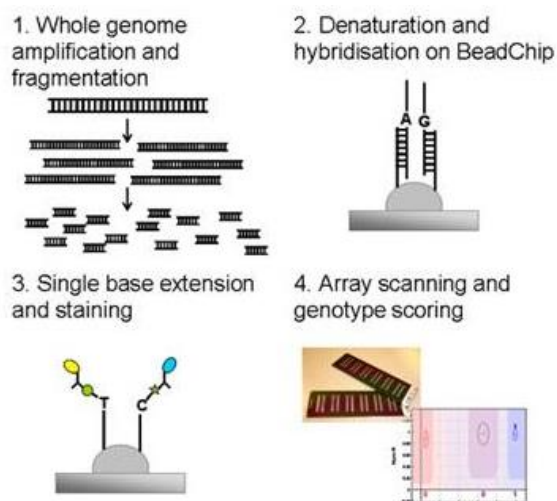
بین‌المللی تاس‌ماهیان دریای خزر با استفاده از چهار جفت لوکوس ریزماهوره بررسی شد. تعداد آلل‌ها در محدوده ۳۷-۶ (میانگین ۱۸) و هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده در محدوده ۰/۸۷-۰ (میانگین ۰/۴۱) قرار داشتند (Farasati et al., 2020). در یک مطالعه، با استفاده از هفت جایگاه ژنی ریزماهوره‌ای، تنوع ژنتیکی ماهی شیربت رودخانه کرخه با نمونه پرورشی آن مورد مطالعه قرار گرفت و تفاوت معنی‌دار بین تعداد آلل و هتروزیگوسیتی بین دو منطقه مشاهده نشد (Karami nasab et al., 2014). تنوع ژنتیکی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با استفاده از هشت جفت نشانگر ریزماهوره بررسی شد و در مجموع، الل‌های شناسایی‌شده در محدوده اندازه بین ۲۸۰-۶۴ جفت باز و هتروزیگوسیتی مشاهده شده در جایگاه‌های هشت‌گانه بین ۰/۸۶ تا ۰/۹۶ محاسبه شدند (Gorjipoor & Nazari, 2014). در یک پژوهش، با بررسی جمعیت میگوی موزی (*Fenneropenaeus merguensis*) در چهار صیدگاه خلیج فارس با استفاده از ۱۰ پرایمر ریزماهوره، فاصله ژنتیکی بین جمعیت‌ها بیش از ۰/۰۵ برآورد شد (Ghavampour et al., 2024). با استفاده از چهار نشانگر ریزماهوره، تنوع ژنتیکی در میگوی وانامی (*Litopenaeus vannamei*) استان هرمزگان بررسی شد و میانگین تعداد آلل‌ها در محدوده ۵/۷ تا ۷۵/۷ و میانگین مقدار هتروزیگوتی مشاهده شده در محدوده ۰/۴۵۸ تا ۰/۴۷۹ به دست آورده شد (Rezaee et al., 2014). با بررسی پنج نشانگر ریزماهوره در میگوی سفید (*Metapenaeus affinis*) سواحل خلیج فارس، میانگین تعداد آلل مشاهده‌شده ۷ و هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده ۰/۲۷ محاسبه شد (Shokoohmand et al., 2011). یک برنامه اصلاح ژنتیکی برای بهبود ژنتیکی میگوی سفید هندی در مصر برای توسعه میگوهای مقاوم به بیماری برای صنعت آبزی‌پروری ایجاد شد. این برنامه نشانگرهای ریزماهوره‌ای را توسعه داد که باعث پیشرفت‌های قابل توجهی در جهت توسعه یک سویه میگوی سفید هندی مقاوم در برابر بیماری داشته است. هدف از این روش، تعیین ژنوتیپ مولدین و نظارت بر تنوع ژنتیکی آن‌ها می‌باشد. نشانگرها و داده‌های ژنوتیپ حاصل به منظور مقایسه تنوع ژنتیکی مولدین در میان جمعیت‌های میگو و تخمین واگرایی ژنتیکی بین جمعیت‌ها، به عنوان مثال شاخص تثبیت (Fst) استفاده شدند (Megahed, 2020).

1. Genome-wide association studies
2. Single-nucleotide polymorphism
3. Quantitative trait loci
4. Marker-assisted selection
5. Linkage disequilibrium



شکل ۲. نتایج مطالعه ارتباط گسترده ژنومی برای مقاومت به عفونت *Vibrio harveyi* در *Cynoglossus semilaevis*. (الف) گراف منهن، خط قرمز آستانه معنی‌دار تصحیح‌شده بونفرونی را نشان می‌دهد؛ (ب) پلات Q-Q را نشان می‌دهد (Zhou et al., 2019).

یا G و رنگ زرد بیانگر هتروزیگوت بودن این SNP ها می‌باشند. در نهایت، با استفاده از دستگاه Illumina iscan reader، سیگنال‌های نوری تحلیلی و موقعیت فیزیکی دقیق SNP ها مشخص می‌شود (Pasandideh, 2018). مراحل تعیین ژنوتیپ با استفاده از تراشه‌های SNP به‌طور خلاصه در شکل (۳) نشان داده شده است.



شکل ۳. مراحل مختلف تعیین ژنوتیپ با استفاده از تراشه SNP (Pasandideh, 2018).

مطالعات GWAS در آبزیان

در یک پژوهش GWAS، ۳۳ نشانگر SNP و ۷۹ ژن کاندیدا مرتبط با مقاومت به بیماری در ماهی شناسایی شد. یک SNP با بیش‌ترین ارتباط معنی‌دار روی کروموزوم ۱۷ در بالادست ژن *fbx19* قرار داشت (Zhou et al., 2019). در یک مطالعه ارتباط گسترده ژنومی با استفاده از تراشه K ۷۰، SNP های معنی‌دار

مراحل انجام GWAS

مطالعات GWAS شامل چند مرحله کلیدی است که از استخراج و ارزیابی کیفیت DNA آغاز می‌شود. در این مرحله، خلوص DNA با استفاده از روش‌های اسپکتروفتومتری (مانند نانودراپ) و ژل الکتروفورز بررسی شده و با دستگاه پیکوگرین نیز کمیت DNA تعیین و به غلظت مناسب (۵۰ نانوگرم/میکرولیتر) تنظیم می‌شود. سپس برای تعیین ژنوتیپ از تراشه‌های SNP استفاده می‌شود که بسته به گونه، تراکم‌های متفاوتی دارند. تراکم آرایه‌های SNP برای گونه‌های ماهی و صدف که در مقالات گزارش شده است متنوع هستند. برای ماهی سالمون آرایه‌های ۵۰، ۱۳۲، ۲۰۰، ۲۲۰ و ۹۳۰ هزار نوکلئوتیدی، برای ماهی کپور آرایه ۲۵۰ هزار نوکلئوتیدی، برای ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمانی آرایه ۵۷ هزار نوکلئوتیدی، برای میگو وانامی آرایه ۹ هزار نوکلئوتیدی و برای صدف اقیانوس آرام آرایه‌های ۲۳، ۴۱ و ۱۹۰ هزار نوکلئوتیدی گسترش یافته‌اند (Yanez et al., 2022). روی هر آرایه یکسری چاله‌های آبی رنگ به نام بید^۱ وجود دارد. هر بید برای تعیین ژنوتیپ یک SNP منحصر به فرد استفاده می‌شود.

مراحل تعیین ژنوتیپ شامل واسرشت‌سازی DNA، بسط ژنوم با آنزیم phy29 و برش DNA به قطعات حدود ۳۰۰ جفت‌بازی است. سپس این قطعات وارد واکنش هیبریداسیون شده و در ادامه مراحل شست‌وشو، بسط تک‌نوکلئوتیدی و رنگ‌آمیزی انجام می‌گیرد. رنگ‌های حاصل از واکنش، نوع نوکلئوتید و وضعیت هموزیگوت یا هتروزیگوت بودن SNP ها را نشان می‌دهند. به‌طوری‌که رنگ قرمز نشان‌دهنده این است که SNP موجود در نمونه، هموزیگوت A یا T، رنگ سبز نشان‌دهنده هموزیگوت C

1. Bead

جمعیت مرجع^۲ دارای رکوردهای فنوتیپی و ژنوتیپی است. جمعیت تایید^۳ فقط دارای اطلاعات ژنوتیپی بوده و فاقد رکوردهای فنوتیپی می‌باشد (Meuwissen et al., 2001). برای ایجاد جمعیت مرجع، ابتدا رکوردهای فنوتیپی یک مجموعه از حیوانات برای چندین صفت مهم جمع‌آوری می‌شوند و سپس به منظور مرتبط نمودن رکوردهای فنوتیپی با اطلاعات ژنوتیپی، توسط یک تراشه SNP تعیین ژنوتیپ می‌گردند. به عبارت دیگر، در جمعیت مرجع ارزش‌های اصلاحی با صحت بالا وجود دارند و هدف شناسایی ارتباط بین ارزش‌های اصلاحی و SNP ها می‌باشد. در مرحله دوم، اثر هر SNP موجود در جمعیت مرجع برای تعیین یک معادله پیش‌بینی ژنومی^۴ برای صفت خاص برآورد می‌گردد. سپس، از این معادله برای تعیین ارزش‌های اصلاحی برآورده ژنومی (GEBVs)^۵ برای کاندیداهای انتخاب در جمعیت تأیید استفاده می‌شود. حیوانات کاندیدای انتخاب بر اساس رتبه بندی می‌شوند و افرادی که بالاترین رتبه را دارند به عنوان مولدین برای بهبود ژنتیکی صفت موردنظر در نسل‌های بعدی انتخاب می‌گردند (Pasandideh et al., 2022). عوامل مؤثر بر صحت انتخاب ژنومی در آزمون شامل اندازه جمعیت مرجع، تراکم نشانگر، روش پیش‌بینی ارزش‌های اصلاحی ژنومی، ارتباط خویشاوندی بین جمعیت‌های مرجع و تایید، طرح جفتگیری، تعداد و اندازه خانواده‌ها و تعداد نسل، طول کروموزوم‌ها، تعداد ژن‌های مؤثر بر صفات، وراثت‌پذیری صفات و اندازه ژنوم هستند که منجر به تفاوت‌های قابل‌توجهی در کارایی انتخاب ژنومی در گونه‌ها، جمعیت‌ها و صفات مختلف می‌شوند (Song et al., 2022).

انتخاب ژنومی در آزمون از طریق افزایش صحت انتخاب، کاهش فاصله نسل، کاهش میزان همخونی، کنترل بهتر اثرات متقابل ژنتیک و محیط و انتخاب حیوانات با حساسیت کم‌تر به تغییرات محیطی موجب افزایش پیشرفت ژنتیکی می‌گردد. انتخاب ژنومی به‌ویژه برای انتخاب صفاتی که اندازه‌گیری آن‌ها دشوار است یا وراثت‌پذیری پایینی دارند، برای مثال، مقاومت به بیماری، مصرف خوراک، صفات تولیدمثلی و کیفیت گوشت مناسب است. انتخاب ژنومی با در نظر گرفتن واریانس ژنتیکی درون خانواده موجب افزایش صحت پیش‌بینی و بنابراین بهبود صفات به‌ویژه صفات با وراثت‌پذیری پایین می‌گردد (Zenger et al., 2019).

روی کروموزوم‌های ۲۱، ۲۴ در نزدیکی ژن‌های مهم برای مقاومت به بیماری در ماهی *Paralichthys olivaceus* شناسایی شدند (Liyanage et al., 2022). در یک مطالعه پویش گسترده ژنومی، ارتباط ۵۴۲۲۴ نشانگر با صفت تحمل به هیپوکسی در ماهی *croaker* زرد بزرگ بررسی شد و چهار SNP و ده ژن کاندیدا، از جمله ژن *egln2*، که مستقیماً با هیپوکسی مرتبط است و سایر ژن‌های دخیل در مسیرهای تنظیمی مهم، مانند استرس اکسیداتیو، تنظیم یون و متابولیسم انرژی شناسایی شدند (Ding et al., 2022). با انجام GWAS روی ماهی *Coilia nasus*، تعداد ۱۴ SNP و دو ژن کاندیدا *bmp8a* و *uqcrfs1* مرتبط با صفات رشد شناسایی شدند (Yu et al., 2024). در یک مطالعه گسترده ژنومی، ارتباط معنی‌دار ۹۰ جایگاه ژنی روی کروموزوم‌های مختلف با انواع مختلف صفات رشد در ماهی کپور گزارش شد (Luo et al., 2023). با انجام یک مطالعه ژنومی روی صدف مروارید (*Pinctada fucata*) تعداد ۴۵ نشانگر و ۱۶۵ ژن کاندیدا از جمله *کلاژن ۳-آلفا* مرتبط با رشد شناسایی شدند (Zhao et al., 2023). در یک مطالعه ژنومی، ارتباط ۳۶۰۴۸ نشانگر با تحمل نیتروژن آمونیاکی در میگو وانامی بررسی شد و تعداد شش نشانگر و هفت ژن کاندیدا شناسایی گردید (Fu & Liu, 2022). در چندین مطالعه گسترده ژنومی روی گوسفند بلوچی با استفاده از تراشه ۵۰k مناطق ژنومی مؤثر بر صفات مختلف شناسایی شدند. دو SNP جدید روی کروموزوم‌های ۱۰ و ۱۵ که به ترتیب با سن در اولین بهره‌زایی و فاصله بهره‌زایی مرتبط بودند در نزدیکی ژن‌های *FAM155A* و *SYT13* شناسایی شدند (Pasandideh et al., 2020). پنج SNP در نزدیکی ژن‌های *LRGUK*، *HYDIN*، *MTPN* و *ZFP90* مرتبط با صفت وزن هشت ماهگی شناسایی شدند (Pasandideh et al., 2020). هم‌چنین ۲۱ نشانگر بر روی کروموزوم‌های مختلف برای صفات افزایش وزن روزانه گزارش شدند (Pasandideh et al., 2018).

انتخاب ژنومی (GS)^۱

تاکنون انتخاب ژنومی در آزمون برای حدود ۲۰ گونه مهم مورد استفاده قرار گرفته است. در انتخاب ژنومی دو مجموعه از افراد یعنی جمعیت مرجع و جمعیت تأیید مورد استفاده قرار می‌گیرند.

2. Reference or training population
3. Validation population
4. Genomic prediction equation
5. Genomic estimated breeding values (GEBVs)

1. Genomic selection

انتخاب ژنومی در آبیان

بیش‌ترین تعداد مطالعات انتخاب ژنومی برای ماهی‌های سالمونید (قزل‌آلا) گزارش شده است و پس از آن ماهی‌های غیرسالمونید (غیر ماهی قزل‌آلا) و گونه‌های صدف. دقت انتخاب ژنومی اغلب برای صفات رشد و مقاومت به بیماری گزارش شده است. مطالعات کمی در مورد ارزیابی مزایای انتخاب ژنومی در گونه‌های آبی‌پروری وجود دارد. برای ماهی قزل‌آلا اقیانوس اطلس تاسمانی، یک اثر تجمعی در نرخ پیشرفت ژنتیکی پس از دو سال انتخاب ژنومی برای بهبود مقاومت به بیماری آمیبی آبشش، رنگ فیله، بلوغ و صفات رشد مشاهده شد (Verbyla et al., 2022). یک پژوهش نشان داد که با استفاده از انتخاب ژنومی، دقت GEVBS برای مقاومت به بیماری باکتریایی آب سرد (BCWD)^۱ در قزل‌آلای رنگین‌کمان ۵۰ درصد بیش‌تر از روش‌های مبتنی بر شجره بود (Vallejo et al., 2017). افزایش نسبی در دقت انتخاب ژنومی بین هشت تا ۱۳ درصد برای مقاومت در برابر نکروز عصبی ویروسی در European sea bass (D. labrax) مشاهده شد و برای مقاومت به بیماری ویروس هرپس کوی^۲ در C. carpio، مقادیر از ۸ درصد تا ۱۸ درصد متغیر بود (Palaïokostas et al., 2019). انتخاب موفقیت‌آمیز ژنومی در کروکر زرد بزرگ (Larimichthys crocea) برای مقاومت در برابر Cryptocaryon irritans، یک مژک انگلی که خسارت‌های اقتصادی زیادی را به صنعت آبی‌پروری وارد می‌کند، گزارش شد و میزان بقا پس از یک نسل از انتخاب ژنومی به‌طور قابل‌توجهی بهبود یافت (Zhao et al., 2021). در تیلپیا نیل، انتخاب ژنومی برای مقاومت در برابر استرپتوکوک آگلالتیه^۳ و فرانسیسلا اورینتالیس^۴، منجر به بیش از دو برابر توانایی پیش‌بینی نسبت به روش‌های مبتنی بر شجره‌نامه شد (Lu et al., 2020).

ویرایش ژنوم با واسطه CRISPR/Cas9

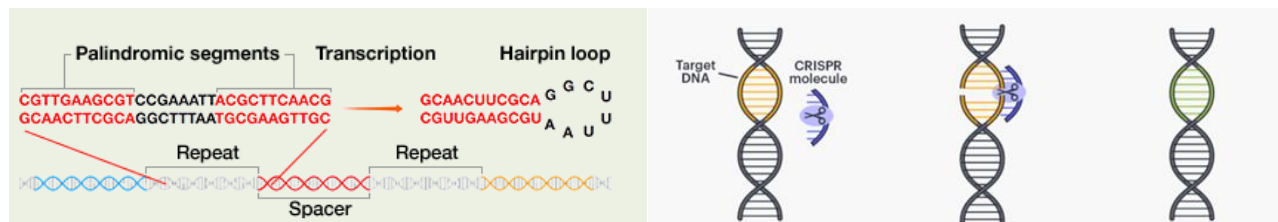
ویرایش ژنوم (که ویرایش ژن نیز نامیده می‌شود) گروهی از فناوری‌ها است که به دانشمندان توانایی تغییر DNA یک موجود را می‌دهد. این فناوری‌ها اجازه می‌دهند تا مواد ژنتیکی در مکان‌های خاصی از ژنوم اضافه، حذف یا تغییر داده‌شود. چندین رویکرد برای ویرایش ژنوم ایجاد شده است. یکی از

معروف‌ترین آن‌ها CRISPR-Cas9 نامیده می‌شود که مخفف تکرارهای کوتاه پالیندرومیک خوشه‌ای با فاصله منظم و پروتئین ۹ مرتبط با CRISPR^۵ است. سیستم CRISPR-Cas9 هیجان زیادی را در جامعه علمی ایجاد کرده است زیرا سریع‌تر، ارزان‌تر، دقیق‌تر و کارآمدتر از سایر روش‌های ویرایش ژنوم است (Roy et al., 2022).

CRISPR-Cas9 از یک سیستم ویرایش ژنوم طبیعی اقتباس شده است که باکتری‌ها از آن به‌عنوان دفاع ایمنی استفاده می‌کنند. هنگامی که باکتری‌ها با ویروس‌ها آلوده می‌شوند، قطعات کوچکی از DNA ویروس‌ها را می‌گیرند و آن‌ها را با الگوی خاصی در DNA خود وارد می‌کنند تا بخش‌هایی به نام آرایه‌های CRISPR ایجاد کنند. آرایه‌های CRISPR به باکتری‌ها این امکان را می‌دهد که ویروس‌ها (یا ویروس‌های نزدیک به هم) را به‌خاطر بسپارند. اگر ویروس‌ها دوباره حمله‌کنند، باکتری‌ها بخش‌های RNA را از آرایه‌های CRISPR تولید می‌کنند که مناطق خاصی از DNA ویروس‌ها را شناسایی کرده و به آن متصل می‌شوند. سپس باکتری‌ها از Cas9 یا یک آنزیم مشابه برای جدا کردن DNA استفاده می‌کنند که ویروس را از کار می‌اندازد. پژوهش‌گران این سیستم دفاعی ایمنی را برای ویرایش DNA تطبیق دادند. آن‌ها قطعه کوچکی از RNA را با یک توالی "راهنما"^۶ کوتاه ایجاد کردند که به یک توالی هدف خاص در DNA سلول متصل می‌شود (مثل بخش‌های RNA که باکتری‌ها از آرایه CRISPR تولید می‌کنند). این RNA راهنما به آنزیم Cas9 نیز متصل می‌شود. هنگامی که RNA راهنما به سلول وارد می‌شود، توالی DNA موردنظر را تشخیص می‌دهد و آنزیم Cas9 دی‌ان‌ای را در محل موردنظر برش می‌دهد. اگرچه Cas9 آنزیمی است که بیش‌تر استفاده می‌شود، آنزیم‌های دیگر (به‌عنوان مثال Cpf1) نیز می‌توانند استفاده شوند. هنگامی که DNA بریده شد، محققان از ابزارهای ترمیم DNA خود سلول برای افزودن یا حذف قطعاتی از مواد ژنتیکی یا ایجاد تغییراتی در DNA با جایگزینی یک بخش موجود با یک توالی DNA خاص، استفاده می‌کنند (شکل ۴) (Richardson et al., 2023).

5. Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats (CRISPR)
6. Guide RNA

1. Bacterial cold-water disease
2. Koi herpes
3. Streptococcus agalactiae
4. Francisella orientalis



شکل ۴. ساختار CRISPR و ویرایش (Richardson et al., 2023)

تحقیقات CRISPR-Cas در آریان

فناوری کریسپر دارای کاربردهای گسترده‌ای در آبی‌پروری از جمله ویرایش ژن برای ارتقای عملکرد رشد و توسعه عضلات، بهبود صفات تولیدمثلی، بهبود پاسخ‌های ایمنی و افزایش ارزش غذایی و بهبود کیفیت فیله می‌باشد. تکنیک ویرایش ژنوم با کریسپر برای افزایش نرخ رشد و توسعه عضلات با هدف غیرفعال‌سازی ژن مایوستاتین (*MSTN*) در چندین ماهی به صورت موفقیت‌آمیز گزارش شده است. مایوستاتین یک پروتئین از خانواده پروتئین‌های عامل رشد-بتا (β -TGF) می‌باشد که از رشد عضله جلوگیری می‌کند. تکنیک کریسپر با غیرفعال‌سازی ژن مایوستاتین در بسیاری از ماهیان پرورشی مانند کپور معمولی و گربه ماهی کانالی، ماهی شانک، کفشک روغنی و تیلایپای نیل باعث افزایش رشد عضله شده است (Roy et al., 2022). همچنین سیستم کریسپر برای ژن گیرنده لپتین که اشتها را کنترل می‌کند، باعث افزایش اشتها در ماهی پافر و افزایش رشد شده است (Kishimoto et al., 2018).

ژن فاکتور رشد شبه انسولین (IGF) به عنوان تنظیم‌کننده مثبت در رشد عضلات می‌باشد اما پروتئین اتصال دهنده IGF یعنی IGF¹ که به IGF متصل می‌شوند به عنوان یک تنظیم‌کننده منفی، رشد عضلات بدن را کنترل می‌کند. از این رو، تکنیک کریسپر برای اختلال در ژن *IGFBP-2b* در قزل آلا، رنگین کمان جهت افزایش نرخ رشد و توسعه عضلاتی بدن استفاده شده است (Cleveland et al., 2018). سیستم CRISPR-Cas9 با ایجاد جهش‌هایی انتخابی در ژنوم تیلایپا توانست نرسازی را القا نماید و باعث افزایش نرخ رشد شود (Li et al., 2021). از سیستم کریسپر برای تغییر جنسیت ماهی‌ها استفاده شده است. به عنوان مثال، جهش در ژن *gsdf* در ماهی تیلایپا xy (Jiang et al., 2016) و YY (Chen et al., 2018) منجر به تبدیل کامل به ماده با تخمدان‌های فعال می‌شود. این

فناوری با اصلاح ژن‌های مربوط به حساسیت یا مقاومت به عوامل بیماری‌زای ویروسی، باکتریایی یا انگلی می‌تواند سبب مقاومت به بیماری‌های عفونی در میزبان شود. به عنوان مثال، از تکنیک کریسپر برای معرفی صفات مطلوب آبی‌پروری مانند مقاومت در برابر بیماری، بهبود نرخ رشد و افزایش تحمل به استرس در ماهیان پرورشی تجاری مهم استفاده کردند (Liu et al., 2019). همچنین تکنیک کریسپر از طریق شناسایی توالی‌های اسید نوکلئیک منحصر به فرد پاتوژن‌ها و جفت‌شدن آن‌ها با کریسپر با توالی اسید نوکلئیک هدف به عنوان یک ابزار ارزشمند در زمینه تشخیص بیماری‌های مهم در آبی‌پروری به شمار می‌رود. اولین بار محققان تایلندی از کریسپر برای تشخیص ویروس سندروم لکه سفید (WSSV) استفاده کردند (Chaijarasphong et al., 2019).

استخوان‌های بین عضلانی تأثیرات منفی بر بازده تولید فیله‌های بدون استخوان، ارزش غذایی و جراثحت احتمالی در صورت قرار گرفتن در گلو یا دهان مصرف‌کننده می‌شوند. از تکنیک کریسپر برای تغییر در ژن *runx2b* در ماهیان گورخری و سیم دریایی و تولید سویه ای جدید فاقد استخوان‌های بین عضلانی، بدون تغییر شکل ظاهری استفاده شده است (Nie et al., 2021). ایجاد تغییر در ژن *bmp6* (پروتئین مورفوژنتیک استخوان ۶) در ماهی گورخری و ماهی حوض با فناوری کریسپر منجر به جمعیت‌های عاری از استخوان‌های بین عضلانی بدون هیچ گونه اثرات نامطلوب بر رشد و تغییرات اسکلتی شد (Wu et al., 2023). گزارش شده است که ویرایش ژنوم با واسطه CRISPR/Cas9 و تراریختی با ادغام ژن‌های پپتید ضد میکروبی مهندسی‌شده (AMGs) نوید قابل توجهی برای تعدیل سیستم ایمنی ذاتی ماهی و افزایش مقاومت در برابر بیماری‌ها دارد (Wang et al., 2024). کاربرد ایمونولوژیک کریسپر در برابر

بیماری‌های باکتریایی در گربه ماهی کانالی و ویروس سندرم لکه سفید در میگو تأیید شده است (Ferdous et al., 2022).

نتیجه‌گیری و پیشنهادها

برنامه‌های ژنتیکی و اصلاح نژادی در آبزی‌پروری، به‌ویژه برای بهبود صفات رشد و مقاومت به بیماری، یکی از مؤثرترین راه‌کارها برای افزایش بهره‌وری و پایداری در تولید هستند. استفاده از این روش‌ها نه تنها موجب کاهش وابستگی به داروها و مواد شیمیایی می‌شود، بلکه توانایی آبزیان را برای بقا در شرایط تنش‌زا افزایش می‌دهد. هم‌چنین استفاده از این برنامه‌ها باعث افزایش تولید، بهبود کارایی تغذیه و بازماندگی، بهره‌وری بهتر از منابع از جمله غذا، نیروی کاری، آب و زمین و در نتیجه کاهش هزینه‌های تولید خواهد شد. به دلیل هم‌آوری بالا و تنوع ژنتیکی فراوان در گونه‌های آبزی، این ارگانیزم‌ها پتانسیل بسیار بالایی برای بهره‌برداری ژنتیکی نسبت به حیوانات خشکی‌زی دارند. تنوع بالای فنوتیپی و ژنتیکی صفات در جانوران آبزی امکان انتخاب با شدت بالاتر را برای آن‌ها فراهم می‌نماید. بنابراین پیشرفت ژنتیکی برای گونه‌های آبزی بیش‌تر از گونه‌های خشکی‌زی است و استفاده از روش‌های ژنتیکی و اصلاح نژادی برای بهبود صفات اقتصادی در آبزیان پیشنهاد می‌شود.

بررسی‌ها نشان می‌دهد که انتخاب توده‌ای و مواجهه‌سازی با بیماری در شرایط مزرعه‌ای می‌تواند به صورت قابل‌توجهی مقاومت به بیماری را افزایش دهد. با این حال، این روش‌ها نیازمند مدیریت دقیق و زیرساخت‌های مناسب جهت اجرای کنترل شده و علمی هستند. در کنار روش‌های کلاسیک، بهره‌گیری از فناوری‌های نوین مانند نشانگرهای ریزماهواره، مطالعات ارتباط ژنومی، انتخاب ژنومی و ویرایش ژنوم با کریسپر، امکان پیشرفت سریع‌تر و دقیق‌تر را در اختیار پرورش‌دهندگان قرار می‌دهد.

در مقایسه روش‌های ژنتیکی مختلف، نشانگرهای ریزماهواره ابزاری کم‌هزینه و مناسب برای مدیریت تنوع ژنتیکی و تعیین خویشاوندی هستند، اما دقت آن‌ها در شناسایی ژن‌های مؤثر بر صفات پیچیده محدود است. مطالعات گسترده ارتباط ژنومی با بررسی همبستگی بین ژنوتیپ‌ها و فنوتیپ‌ها، امکان شناسایی ژن‌های کاندیدا یا مناطق ژنومی مرتبط با صفات اقتصادی مانند مقاومت به بیماری را فراهم می‌کنند، اگرچه موفقیت آن به اندازه نمونه و دقت در رکوردبرداری وابسته است. انتخاب ژنومی به عنوان ابزاری

قدرتمند، با استفاده از کل اطلاعات ژنومی موجود، می‌تواند ارزش اصلاحی حیوانات را پیش‌بینی کرده و باعث تسریع روند اصلاح نژاد شود؛ ولی اجرای آن نیازمند زیرساخت‌هایی مانند بانک‌های اطلاعات ژنوتیپی، رکوردهای فنوتیپی دقیق و مدل‌سازی آماری پیشرفته است. فناوری ویرایش ژنوم با سیستم کریسپر گامی فراتر گذاشته و با امکان ایجاد تغییر مستقیم در ژن‌های خاص، چشم‌اندازی نوین برای تولید لاین‌های مقاوم و با عملکرد بالا فراهم ساخته است. با این حال، اجرای عملی آن در سطح تجاری، با چالش‌هایی همچون نگرانی‌های اخلاق زیستی، نبود قوانین مشخص و مقاومت احتمالی مصرف‌کنندگان روبه‌رو می‌باشد.

در عین حال، کاربرد این فناوری‌ها در شرایط واقعی مزرعه‌ای، به‌ویژه در کشورهای در حال توسعه، با موانعی چون کمبود نیروی متخصص، هزینه‌های بالا، نبود سیاست‌های حمایتی و ضعف در زیرساخت‌های پژوهشی و اجرایی مواجه است. از سوی دیگر، مزایای بالقوه‌ای چون کاهش هزینه‌های درمان بیماری، افزایش نرخ رشد، بهبود کارایی تغذیه و کاهش تلفات، این روش‌ها را به ابزارهایی راهبردی در آینده صنعت آبزی‌پروری تبدیل می‌کند.

پیشنهادهای کاربردی این پژوهش عبارتند از:

- ۱- ایجاد بانک‌های اطلاعات ژنتیکی برای گونه‌های بومی
 - ۲- توسعه و بومی‌سازی فناوری‌های تعیین ژنوتیپ و رکوردبرداری دقیق و اتوماتیک
 - ۳- اجرای پروژه‌های انتخاب ژنومی برای گونه‌های مهم پرورشی مانند قزل‌آلا، کپور، میگو و تیلapia
 - ۴- بررسی اثرات بلندمدت استفاده از روش‌های اصلاح ژنتیکی بر سلامت مصرف‌کننده، اکوسیستم و بازار فروش
 - ۵- تدوین چارچوب‌های اخلاقی و قانونی شفاف برای استفاده از فناوری‌های ویرایش ژنی مانند کریسپر در آبزی‌پروری
 - ۶- حمایت دولتی و تسهیلات مالی برای واحدهای تولیدی به منظور دسترسی به تکنولوژی‌های اصلاح ژنتیکی و آموزش نیروی انسانی متخصص.
- در نهایت، با توجه به افزایش نیاز جهانی به منابع پروتئینی سالم و پایدار، سرمایه‌گذاری در فناوری‌های نوین اصلاح نژادی نه تنها یک ضرورت علمی، بلکه یک راهبرد اقتصادی و زیست‌محیطی در صنعت آبزی‌پروری محسوب می‌شود.

تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان وجود ندارد.

References

- Chaijarasphong, T., Thammachai, T., Itsathitphaisarn, O., Sritunyalucksana, K., & Suebsing, R. (2019). Potential application of CRISPR-Cas12a fluorescence assay coupled with rapid nucleic acid amplification for detection of white spot syndrome virus in shrimp. *Aquaculture*, 512, 734340.
- Chen, J., Fan, Z., Tan, D., Jiang, D., & Wang, D. (2018). A review of genetic advances related to sex control and manipulation in tilapia. *Journal of the World Aquaculture Society*, 49(2), 277-291.
- Cleveland, B. M., Yamaguchi, G., Radler, L. M., & Shimizu, M. (2018). Editing the duplicated insulin-like growth factor binding protein-2b gene in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Scientific reports*, 8(1), 16054.
- Ding, J., Zhang, Y., Wang, J., Liu, C., Gao, X., Wu, Y., ... & Shen, W. (2022). Genome-wide association study identified candidate SNPs and genes associated with hypoxia tolerance in large yellow croaker (*Larimichthys crocea*). *Aquaculture*, 560, 738472.
- Farasati, S., Khoshkholgh, M., & Yarmohammadi, M. (2020). Genetic diversity of cultured beluga sturgeon (*Huso huso*) brood stocks by using Microsatellite method. *Aquatic Physiology and Biotechnology*, 8(8), 55-72.
- Ferdous, M. A., Islam, S. I., Habib, N., Almeshmadi, M., Allahyani, M., Alsaiani, A. A., & Shafie, A. (2022). CRISPR-Cas genome editing technique for fish disease management: current study and future perspective. *Microorganisms*, 10(10), 2012.
- Fu, S., & Liu, J. (2022). Genome-wide association study identified genes associated with ammonia nitrogen tolerance in *Litopenaeus vannamei*. *Frontiers in Genetics*, 13, 961009.
- Ghavampour, A., Salari Aliabadi, M. A., Zolgharneen, H., & Archangi, B. (2024). Molecular Assessment of Banana Shrimp (*Fenneropenaeus merguensis*) Populations in Persian Gulf Fishing Areas Using Microsatellite Markers. *Journal of Marine Science and Technology*, 23(4), 73-87.
- Gjedrem, T., & Baranski, M. (2010). *Selective breeding in aquaculture: an introduction* (Vol. 10). Springer Science & Business Media.
- Gjerde, B., Pante, M. J. R., & Baevefjord, G. (2005). Genetic variation for a vertebral deformity in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*, 244(1-4), 77-87.
- Gjøen, H. M., Refstie, T., Ulla, O., & Gjerde, B. (1997). Genetic correlations between survival of Atlantic salmon in challenge and field tests. *Aquaculture*, 158(3-4), 277-288.
- Gorjipoor, E., & Nazari, S. (2014). Genetic variation in farmed population of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) based on microsatellite markers in Iran. *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 22(4), 93-106.
- Grimholt, U., Drablos, F., Jørgensen, S., Høyheim, B., & Stet, R. J. (2002). The major histocompatibility class I locus in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.): polymorphism, linkage analysis and protein modelling. *Immunogenetics*, 54, 570-581.
- Houston, R. D. (2017). Future directions in breeding for disease resistance in aquaculture species. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 46, 545-551.
- Jiang, D. N., Yang, H. H., Li, M. H., Shi, H. J., Zhang, X. B., & Wang, D. S. (2016). gsdf is a downstream gene of dmrt1 that functions in the male sex determination pathway of the Nile tilapia. *Molecular Reproduction and Development*, 83(6), 497-508.
- Karami nasab, M., Hosseinnia, Z., Kolangi Miandare, H., & Shabany, A. (2014). Genetic diversity of Barbus grypus in the Karkheh River in Khuzestan Province and cultured fish studied using a microsatellite marker. *GEBSJ*, 3 (2), 114-123
- Kishimoto, K., Washio, Y., Yoshiura, Y., Toyoda, A., Ueno, T., Fukuyama, H., ... & Kinoshita, M. (2018). Production of a breed of red sea bream *Pagrus major* with an increase of skeletal muscle mass and reduced body length by genome editing with CRISPR/Cas9. *Aquaculture*, 495, 415-427.
- Kumar, P., Gupta, V. K., Misra, A. K., Modi, D. R., & Pandey, B. K. (2009). Potential of molecular markers in plant biotechnology. *Plant omics*, 2(4), 141-162.
- Li, Y., Jia, Z., Zhang, S., & He, X. (2021). Progress in gene-editing technology of zebrafish. *Biomolecules*, 11(9), 1300.
- Liu, K., Petree, C., Requena, T., Varshney, P., & Varshney, G. K. (2019). Expanding the CRISPR toolbox in zebrafish for studying development and disease. *Frontiers in cell and developmental biology*, 7, 13.
- Liu, Z. J., & Cordes, J. F. (2004). DNA marker technologies and their applications in aquaculture genetics. *Aquaculture*, 238(1-4), 1-37.
- Liu, Z., Karsi, A., & Dunham, R.A. (1999). Development of polymorphic EST markers suitable for genetic linkage mapping of catfish. *Marine Biotechnology*, 1, 437-447.
- Liyanage, D. S., Lee, S., Yang, H., Lim, C., Omeka, W. K. M., Sandamalika, W. G., ... & Lee, J. (2022). Genome-wide association study of VHSV-resistance trait in *Paralichthys olivaceus*. *Fish & Shellfish Immunology*, 124, 391-400.
- Lu, S., Zhu, J., Du, X., Sun, S., Meng, L., Liu, S., ... & Chen, S. (2020). Genomic selection for resistance to *Streptococcus agalactiae* in GIFT strain of *Oreochromis niloticus* by GBLUP, wGBLUP, and BayesCπ. *Aquaculture*, 523, 735212.
- Luo, H., Pan, X., Huang, Y., Li, Z., Ye, H., Zhou, K., ... & Lin, Y. (2023). Genome-wide association study reveals markers and candidate genes associated with growth in the rice flower carp, an economic fish species of integrated rice-fish culture in China. *Frontiers in Marine Science*, 10, 1130667.
- Mansour, M., Wright Jr, J. R., & Pohajdak, B. (1998). Cloning, sequencing and characterization of the tilapia insulin gene. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 121(3), 291-297.

- Megahed, M. E. (2020). Genetic selection for improved disease resistance in aquaculture with special reference to shrimp and tilapia breeding programs in Egypt. *Journal of Applied Aquaculture*, 32(4), 291-340.
- Meuwissen, T. H., Hayes, B. J., & Goddard, M. (2001). Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. *Genetics*, 157(4), 1819-1829.
- Nie, C., Wan, S., Chen, Y., Zhu, D., Wang, X., Dong, X., & Gao, Z. X. (2021). Loss of scleraxis leads to distinct reduction of mineralized intermuscular bone in zebrafish. *Aquaculture and Fisheries*, 6(2), 169-177.
- Norouzi, M., & Behrouz, M. (2016). Microsatellite DNA analyses of the genetic structure of golden mullet (*Liza aurata*). *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 25(2), 183-195.
- Olesen, I., Groen, A. F., & Gjerde, B. (2000). Definition of animal breeding goals for sustainable production systems. *Journal of Animal Science*, 78(3), 570-582.
- Palaiokostas, C., Vesely, T., Kocour, M., Prchal, M., Pokorova, D., Piackova, V., ... & Houston, R. D. (2019). Optimizing genomic prediction of host resistance to koi herpesvirus disease in carp. *Frontiers in Genetics*, 10, 543.
- Pasandideh, M. (2018). *Detection of quantitative loci affecting growth rate and composite reproductive traits in Baluchi sheep using high density markers*. Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran
- Pasandideh, M., Gholizadeh, M., & Rahimi-Mianji, G. (2020). A genome-wide association study revealed five SNPs affecting 8-month weight in sheep. *Animal genetics*, 51(6), 973-976.
- Pasandideh, M., Gholizadeh, M., & Rahimi-Mianji, G. (2020). Identification of two novel SNPs affecting lambing traits in sheep by using a 50K SNP-Chip. *Small Ruminant Research*, 191, 106193.
- Pasandideh, M., Rahimi-Mianji, G., & Gholizadeh, M. (2018). A genome scan for quantitative trait loci affecting average daily gain and Kleiber ratio in Baluchi Sheep. *Journal of genetics*, 97, 493-503.
- Pasandideh, R., Mohamadabadi, M.R., & Pasandideh, M. (2022). The application of genomic selection in improvement of molecular breeding programs in aquaculture. *Agricultural Biotechnology Journal*, 14 (4), 133-156.
- Rezaee, S., Farahmand, H., & Nematollahi, M. A. (2014). Investigation of the genetic variability in *Litopenaeus vannamei* shrimp, using SSR markers, in Jask port of Hormozgan province. *Journal of Fisheries*, 67(1), 61-74.
- Richardson, C., Kelsh, R. N., & J. Richardson, R. (2023). New advances in CRISPR/Cas-mediated precise gene-editing techniques. *Disease Models & Mechanisms*, 16(2), dmm049874.
- Roy, S., Kumar, V., Behera, B. K., Parhi, J., Mohapatra, S., Chakraborty, T., & Das, B. K. (2022). CRISPR/Cas genome editing—can it become a game changer in future fisheries sector?. *Frontiers in Marine Science*, 9, 924475.
- Shokoohmand, M., Zolgharneen, H., Laloei, F., Fooroghmand, A. M., & Savari, A. (2011). Genetic variation of *Metapenaeus affinis* in Persian Gulf coastal waters using microsatellite markers. *ISFJ*, 20(3), 45-54.
- Song, H., Dong, T., Yan, X., Wang, W., Tian, Z., Sun, A., ... & Hu, H. (2023). Genomic selection and its research progress in aquaculture breeding. *Reviews in aquaculture*, 15(1), 274-291.
- Temnykh, S., DeClerck, G., Lukashova, A., Lipovich, L., Cartinhour, S., & McCouch, S. (2001). Computational and experimental analysis of microsatellites in rice (*Oryza sativa* L.): frequency, length variation, transposon associations, and genetic marker potential. *Genome research*, 11(8), 1441-1452.
- Tóth, G., Gáspári, Z., & Jurka, J. (2000). Microsatellites in different eukaryotic genomes: survey and analysis. *Genome research*, 10(7), 967-981.
- Vallejo, R. L., Leeds, T. D., Gao, G., Parsons, J. E., Martin, K. E., Evenhuis, J. P., ... & Palti, Y. (2017). Genomic selection models double the accuracy of predicted breeding values for bacterial cold water disease resistance compared to a traditional pedigree-based model in rainbow trout aquaculture. *Genetics Selection Evolution*, 49, 1-13.
- Verbyla, K. L., Kube, P. D., & Evans, B. S. (2022). Commercial implementation of genomic selection in Tasmanian Atlantic salmon: Scheme evolution and validation. *Evolutionary Applications*, 15(4), 631-644.
- Wang, J., & Cheng, Y. (2024). Enhancing aquaculture disease resistance: Antimicrobial peptides and gene editing. *Reviews in Aquaculture*, 16(1), 433-451.
- Wu, Y., Wu, T., Yang, L., Su, Y., Zhao, C., Li, L., ... & Zhou, L. (2023). Generation of fast growth Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by myostatin gene mutation. *Aquaculture*, 562, 738762.
- Yanez, J. M., Barria, A., Lopez, M. E., Moen, T., Garcia, B. F., Yoshida, G. M., & Xu, P. (2023). Genome-wide association and genomic selection in aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, 15(2), 645-675.
- Yu, Y., Wan, S. M., Zhang, S. M., Liu, J. Q., Sun, A. L., Wang, Y., ... & Gao, Z. X. (2024). Identification of SNPs and candidate genes associated with growth using GWAS and transcriptome analysis in *Coilia nasus*. *Aquaculture*, 586, 740777.
- Zenger, K. R., Khatkar, M. S., Jones, D. B., Khalilisamani, N., Jerry, D. R., & Raadsma, H. W. (2019). Genomic selection in aquaculture: application, limitations and opportunities with special reference to marine shrimp and pearl oysters. *Frontiers in genetics*, 9, 693.
- Zhao, J., Bai, H., Ke, Q., Li, B., Zhou, Z., Wang, H., ... & Xu, P. (2021). Genomic selection for parasitic ciliate *Cryptocaryon irritans* resistance in large yellow croaker. *Aquaculture*, 531, 735786.
- Zhao, M., Thaimuangphol, W., Hong, Y., Yan, Z., Chen, Z., Jin, M., ... & Wang, Z. (2023). Identification of Growth-Related SNPs and Genes in the Genome of the Pearl Oyster (*Pinctada fucata*) Using GWAS. *Fishes*, 8(6), 296.
- Zhou, Q., Su, Z., Li, Y., Liu, Y., Wang, L., Lu, S., ... & Chen, S. (2019). Genome-wide association mapping and gene expression analyses reveal genetic mechanisms of disease resistance variations in *Cynoglossus semilaevis*. *Frontiers in Genetics*, 10, 1167.