

مروری بر اصول اخلاقی و فنی کار با ماهی گورخری به عنوان

یک گونه مدل زیستی در مطالعات علوم پزشکی

علیرضا خیابانی^{۱*}

تاریخ انتشار: 98/4/25

تاریخ پذیرش: 98/3/22

تاریخ دریافت: 98/1/8

مقاله‌ی مروری

چکیده

ماهی گورخری یک ارگانسیم مدل سرآمد است که با خصوصیات متنوعی که دارد، گسترش مرزهای علم را در رشته‌های متعدد سبب شده است. خصوصیات این ماهی کوچک آب شیرین به کمک زیست‌شناسان به نحوی نمود یافت که مقایسه‌ی ژنتیکی آن با پستانداران (همچون موش) حتی برای بسیاری از محققان باورنکردنی بود؛ به عنوان مثال، ظهور روش‌های جدید و کارآمد برای نسخه برداری و ویرایش ژنوم، کمک کرد تا در زمینه‌ی استفاده از آن در زمینه‌های مختلف علمی، از جمله سم‌شناسی، کشف مواد دارویی، زیست‌شناسی پیوند، مدل‌سازی بیماری و حتی آبی‌پروری رشدی فزاینده روی دهد. تداوم تکامل و تطبیق سیستم مدل ماهی گورخری، نیازمند بهبود روش‌ها و رویکردهایی برای پرورش و مدیریت این ماهی‌ها در مخازن کنترل‌شده است؛ به طوری که در نهایت، تحقیقات صورت‌گرفته بر روی این ماهی بیشتر تکرارشدنی، مقرون به صرفه و در چارچوب اخلاق پژوهشی باشد. انتقال دانش و فناوری از علوم آزمایشگاهی و پزشکی و آبی‌پروری، بخشی ضروری از این توسعه است که باید با موازین اخلاق در علم منطبق باشد. در این مقاله به برخی اصول اخلاقی و فنی کار با ماهی گورخری به عنوان یک گونه مدل زیستی در مطالعات علوم پزشکی پرداخته می‌شود.

واژگان کلیدی: آبی‌پروری زیست‌پزشکی، اخلاق در پژوهش، حیوانات آزمایشگاهی، ماهیان زینتی، ماهی گورخری

۱. عضو هیئت علمی، گروه کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه جامع علمی کاربردی، تهران، ایران.

* نویسنده‌ی طرف مکاتبه: تهران، خیابان انقلاب اسلامی، سازمان مرکزی دانشگاه جامع علمی کاربردی، دفتر ارتباط با صنعت و کارآفرینی،

تلفن: ۰۹۱۲۴۵۰۳۷۱۷

Email: khiabani@uast.ac.ir

مقدمه

میسر شود. ازجمله‌ی شایان توجه‌ترین این تحولات را، می‌توان در زمینه‌ی تکامل توالی ژنوم این ماهی (۷) و ظهور خوشه‌بندی منظم بین دو نقطه‌ی ژنوم، تکرار رونویسی‌های کوتاه و تکنیک‌های ویرایش ژنوم دید (۹و۸). هر کدام از این مباحث، فرایندهایی پیچیده را در رشته‌های مختلف علمی به دنبال داشته‌اند (۱۰). از منظر تاریخی، توسعه‌ی رویکردها برای مدیریت و پرورش ماهیان گورخری به‌عنوان یک گونه‌ی زیتنی (آکواریومی)، بسیار پیش‌تر از پژوهش‌های امروزی علوم زیست‌فناوری پزشکی آغاز شده است (۱۱). اقدامات مدیریتی معمول برای کار با ماهی‌های گورخری، در محدوده‌ی تحقیقات طولانی‌مدت با هدف تولید موجودات عاری از بیماری که از سرعت رشد خوبی برخوردار بوده و پاسخ‌گوی نیاز محققان در طول دوره‌ی پژوهش باشند، به اندازه‌ی کافی وجود داشته و توصیه شده است؛ اما بررسی مقالات علمی، این واقعیت را نشان می‌دهد که بسیاری از این مقالات همچنان اطلاعات کافی و مطمئن و قابل‌تکراری را درباره‌ی شرایط نگهداری ماهی گورخری استفاده‌شده در طول دوره‌ی آزمایشات پزشکی فراهم نکرده یا به‌طور کامل گزارش ننموده‌اند. در این مقالات فقدان شرایط تعریف‌شده‌ی نگهداری، استانداردها و نحوه‌ی کنترل فاکتورهای فیزیکیوشیمیایی آب در مخازن آزمایشگاهی، بیشتر دیده می‌شود؛ زیرا بیشتر این محققان به کار با سایر جانوران آزمایشگاهی همچون موش‌ها عادت کرده‌اند و خود را با اصول و قواعد اخلاقی کار با ماهی گورخری به‌عنوان یک گونه مدل زیستی نوظهور در مطالعات علوم پزشکی منطبق نکرده‌اند (۱۲و۱۳). بنابراین روشن است که تغییر در پارادایم، تغییر در تحقیقات ماهی گورخری را سبب می‌شود؛ یعنی هر جنبه‌ای از محیط و شرایط آزمایشگاهی این ماهی، دارای توانی بالقوه برای نفوذ در فیزیولوژی جانور و در نتیجه تغییر در بیان نتایج مطالعات انجام‌شده است (۱۴). بنابراین

ماهی‌های گرمسیری (اعم از آب شیرین و دریایی) گونه‌های تجاری بسیار مهم و ارزشمندی به لحاظ اقتصادی و تجاری هستند. برخی از این گونه‌ها ارزش غذایی بالایی دارند و به مصرف بشر می‌رسند و برخی نیز به‌عنوان گونه‌های زیتنی ارزشمند در زنجیره‌ی اقتصاد جهانی نقش دارند (۱). محققان دریافته‌اند که نگهداری آکواریوم و ماهیان زیتنی باعث بهبود سلامت انسان در بسیاری از جنبه‌ها، ازجمله توسعه‌ی مسئولیت در تربیت کودکان می‌شود (۲)؛ همچنین موجب کاهش سطح استرس در بزرگسالان و بهبود سلامت جسمی و روانی سالمندان می‌شود (۳). علی‌رغم وجود روش‌های متنوع آزمایشگاهی هنوز شناخت بسیاری از مسائل مرتبط با سلامت انسان، مستلزم مطالعه بر روی حیوانات زنده است. با توجه به اینکه رعایت حقوق حیوانات از وظایف اخلاقی هر پژوهشگری است و در کشور ما نیز فعالیت‌های آموزشی و پژوهشی متعددی بر روی حیوانات صورت می‌گیرد، لزوم توجه به مسائل اخلاقی حیوانات آزمایشگاهی بیش از پیش باید در کانون توجه قرار گیرد (۴).

ظهور ماهی گورخری^۱ در طول چند دهه‌ی گذشته به‌عنوان یک حیوان مدل^۲ آزمایشگاهی برجسته به‌خوبی تثبیت شده است (۵). در ابتدا این ماهی به‌عنوان یک گونه‌ی زیتنی که گاهی نیز در آزمایشگاه مورد مطالعه قرار می‌گرفت کاربرد داشت (۶)؛ اما در حال حاضر، این گونه به یک مکمل همیشگی یا حتی جایگزینی مناسب برای موش‌های آزمایشگاهی و دیگر پستانداران مبدل شده است. گسترش استفاده از این ماهی آب شیرین در تحقیقات اولیه‌ی پزشکی سبب شده است مجموعه‌ای از پیشرفت‌های حوزه‌ی فناوری و ابزارهای مولکولی مورد نیاز برای مطالعه‌ی آن به‌خوبی

1. Danio Rerio
2. Model Organism

شیرین جهان دارد و به خوبی در صنعت آکواریوم و ماهیان زینتی اقصا نقاط جهان وارد شده است. از این ماهی برای کنترل بیولوژیک پشه در برخی نقاط دنیا (۲۵)، در صنعت آکواریوم و ماهیان زینتی (۲۶) و خصوصاً به عنوان یک گونه زیستی مدل^۶ در توسعه علوم مختلف زیست‌شناسی (۲۷ و ۲۸) استفاده می‌شود. به طور کلی ماهیان گورخری از زمان خروج از تخم (مرحله‌ی هیچ‌شدن یا تخم‌گشایی) تا ۲۱ روز پس از آن مرحله‌ی نوزادی (ماهی نوزاد)^۷، از روز بیست و یکم تا نودمین روز مرحله‌ی جوانی (ماهی جوان)^۸ و پس از نود روز مرحله‌ی بلوغ (ماهی بالغ)^۹ را طی می‌کنند (۲۹).



تصویر شماره ۱- ماهی گورخری برگرفته از

www.worldlifeexpectancy.com

به سبب شباهت‌های بالای ژنتیکی، فیزیولوژیک و فارماکولوژیک ماهی گورخری با انسان، این ماهی برای تشخیص مواد طبیعی با پتانسیل‌های درمانی مختلف، بسیار مناسب به نظر می‌رسد. عمده دلایل اولیه‌ای که سبب گسترش این مدل شده است، عبارت‌اند از: اندازه‌ی کوچک لارو و جنین مورد آزمایش (یک تا پنج میلی‌متر، بسته به مراحل رشد)، سرعت رشد، قدرت باروری بالای ماهیان بالغ،

تحقیقات علوم زیستی و پزشکی، در کنار قواعد اخلاقی کار با ماهی گورخری باید به نحوی توأم باشد که یک فضای تبادل پویا برای بهبود هر دو حیطة را نشان دهد.

معرفی ماهی گورخری

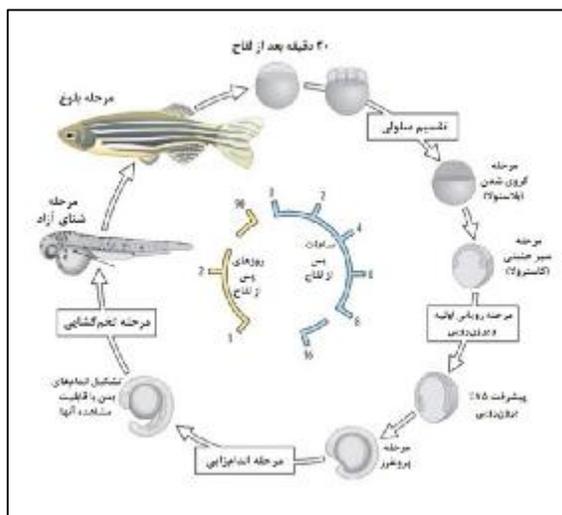
ماهی گورخری^۱ یا زبرا دانیو^۲، یکی از ارزشمندترین ماهیان گرمسیری تجاری آب شیرین جهان است که در راسته‌ی کپورماهی شکلان^۳ و خانواده‌ی کپورماهیان^۴ جای داشته و به صورت بتئوپلاژیک (بسترگرا) زیست می‌کند. جرج استریزینگر^۵ و همکارانش، نخستین بار در دهه‌ی ۱۹۷۰، استفاده از ماهی گورخری را به عنوان یک مدل ژنتیکی به جامعه‌ی علمی معرفی کردند. از آن پس این ماهی، به طور گسترده‌تری برای کار در علوم زیستی و پزشکی به کار گرفته شد (۱۶ و ۱۵). این گونه بومی مناطقی از حوضه‌های آب‌ریز پاکستان، هندوستان، بنگلادش، نپال و میانمار است که از طریق آکواریوم‌داران به بخش‌هایی از آب‌های کلمبیا نیز راه یافته است (۱۷-۱۹). حداکثر طول این ماهی ۳/۸ سانتی‌متر گزارش شده است و در حدود ابعاد ۲/۵ سانتی‌متری به بلوغ می‌رسد (۱۸). رشد فیزیکی، عاملی کلیدی برای تمایز جنسیت این گونه محسوب می‌شود و در برخی مطالعات مورفولوژیک بدان پرداخته شده است (۲۰). این ماهی گوشت‌خوار بوده و در طبیعت از کرم‌های کوچک، سخت‌پوستان ریز، لارو حشرات و نظایر آن تغذیه می‌کند (۲۱ و ۲۲). طول عمر متوسط این ماهی در شرایط اسارت (آکواریوم) ۳/۵ سال بوده و حداکثر تا ۵/۵ سال به درازا می‌کشد (۲۳). تخم‌ریزی ماهی گورخری تحت تأثیر درجه حرارت آب، رژیم غذایی مطلوب و البته تغییرات فصلی، مکرر در طول سال اتفاق می‌افتد (۲۲ و ۲۴). ماهی گورخری همواره سهمی شایان توجه در صادرات ماهیان زینتی آب

1. Danio Rerio Hamilton, 1822
2. Zebra Danio
3. Cypriniformes
4. Cyprinidae
5. George Streisinger

6. Model Species; Model Organism
7. Nursery
8. Juvenile
9. Adult

جای می‌گیرد. کمیت محتویات این مخازن برای بقا و سلامت عمومی آبزیان موجود در آن، بسیار ضروری است و در برخی سطوح قابلیت کشندگی نیز خواهد داشت. کیفیت آب در مخازن به دلیل تشکیل فرایندهای بیوشیمیایی و مواد افزودنی رایج، با گذشت زمان دچار تغییراتی می‌شود. عواملی نظیر میزان اکسیژن محلول و پی‌اچ در طول شبانه‌روز و گاهی در شرایط خاص می‌توانند در لحظه تغییراتی داشته باشند؛ درحالی‌که عواملی دیگر مانند میزان آمونیاک یا خصلت قلیایی بودن آب، هفته‌ها و حتی ماه‌ها برای تغییر به زمان نیاز دارند. مباحث مدیریت کنترل کیفی آب در پرورش ماهی گورخری بسیار حائز اهمیت است (۳۲). دمای ۱۸ تا ۲۴ درجه‌ی سانتی‌گراد، سختی پنج تا نوزده و پی‌اچ شش تا هشت از مشخصه‌های مطلوب آب مخزن نگهداری ماهی گورخری است (۳۳)؛ هرچند هر پژوهشگری می‌تواند متناسب با شرایط پژوهش خود مؤلفه‌های فیزیکی‌وشیمیایی آب را تعیین و گزارش کند. تعدادی از پارامترها شامل محیط خارجی محیط زیست ماهی، از جمله پی‌اچ، شوری، قلیایی بودن، سختی، دی‌اکسید کربن، اکسیژن محلول، فسفات، نیتريت، نترات، آمونیاک، درجه حرارت، شدت نور و دوره‌ی نوری است. بررسی و رعایت این شاخص‌ها باید در محدوده‌ای باشد که رشد و توسعه‌ی ماهی گورخری را در آزمایشگاه تأمین کند؛ به‌نحوی می‌توان گفت رعایت کردن این شاخص‌ها، شاید ضروری‌ترین الزامات هر کار تحقیقاتی بر روی ماهی است؛ لذا باید در نظر داشت که هر کدام از این عوامل که کیفیت آب را شامل می‌شوند، اثرات متعدد و اغلب متقابلی را بر فیزیولوژی ماهی گورخری می‌گذارند (۳۴ و ۳۵)؛ از این‌رو محقق باید ضمن شناخت از کم و کیف آن‌ها، این مؤلفه‌ها را تحت کنترل خود داشته باشد؛ به‌عنوان مثال در حیات وحش، تخم‌ریزی ماهی گورخری در ابتدای روز و هم‌زمان با پیدایش نور در صبح صورت می‌گیرد (۳۶)؛ در آزمایشگاه، این کار به‌طور بالقوه چارچوب زمانی برای انجام

شفافیت جنین و لارو این ماهی (سهولت در مشاهده‌ی اندام‌ها و اعضای داخلی بدن ماهی زبرا) و دسترسی آسان به این ماهی که امکان ردگیری اثرات مختلف ترکیبات آزمایش شده را امکان‌پذیر می‌کند (۳۰). این ماهی گرمسیری از جمله مهره‌دارانی است که از سهام ژنومی بالا، همسانی پروتئوم و از نظر متابولیک با سایر مهره‌داران دیگر شامل هشتاد درصد همولوژی با ژنوم انسان برخوردار است (۳۱) که این ویژگی‌ها بر اهمیت استفاده از آن در پژوهش‌های نوین در علوم زیستی و پزشکی می‌افزاید.



تصویر شماره‌ی ۲- چرخه‌ی زندگی ماهی گورخری

برگرفته از www.flickr.com

محیط فیزیکی‌وشیمیایی آب

محیط فیزیکی و شیمیایی آب مخازن که به‌طورکلی به‌عنوان کیفیت آب محیط آزمایش شناخته می‌شود، عاملی فراگیر و اثرگذار به شمار می‌رود؛ زیرا در تمام مراحل پژوهش وجود دارد. با توجه به اینکه آبزیان در یک محیط شیمیایی محصور جای دارند و کاملاً بدان وابسته هستند، این مسأله در زمره‌ی محدودیت‌های فیزیکی مخازن آزمایشی

طبیعی برای کار با ماهی گورخری

شاخص آب	توصیه‌ی مرکز تحقیقات بین‌المللی ماهی گورخری (ZIRC)*	وضعیت پارامتر آب در محیط طبیعی**
هدایت الکتریکی آب ($\mu\text{S/cm}$)	۵۰۰	۴۵۲
سختی عمومی (dGH)	۶-۷	۲/۳
کربنات کلسیم محلول در آب (میلی‌گرم در لیتر)	۱۲۰-۱۳۰	۵۷
بج‌اج	۶/۷ - ۲/۷	۴/۷
درجه حرارت (درجه‌ی سانتی‌گراد)	۵/۲۸	۰/۲۸
آمونیاک (NH_3) (NH_4^+) (میلی‌گرم در لیتر)	۰	گزارش نشده
نیتريت (NO_2) (میلی‌گرم در لیتر)	۰	کمتر از ۱/۰
نترات (NO_3) (میلی‌گرم در لیتر)	۰-۵	۱/۴

* منبع: ۴۳ ** منبع: ۲۰

تغذیه و غذاهای در شرایط آزمایشگاهی

وضعیت تغذیه‌ای ماهیان استفاده‌شده در تحقیق، به‌عنوان عاملی حیاتی برای حفظ یکپارچگی، کیفیت فعالیت‌های آزمایشگاهی و همچنین به‌عنوان عامل اثرگذار در کیفیت آب مخازن حائز اهمیت است. همانند ماهیت شیمیایی و فیزیکی آب، وضعیت تغذیه‌ای نیز بر روی ماهی‌ها، به‌عنوان موضوع تحقیق، آثاری گسترده و فراگیر می‌گذارد. اهمیت محدودکردن تنوع در رژیم غذایی حیوانات آزمایشگاهی به‌خوبی اثبات شده است (۴۴) و شواهد فراوانی وجود دارد که وضعیت تغذیه‌ی ماهیان گورخری، دارای اثرات عمیق، متنوع و

آزمایش بر روی جنین‌های ماهی را محدود می‌کند. برای جلوگیری از این محدودیت، روش‌های متعددی وجود دارد: ۱. استفاده از سالن‌های ایزوله در برابر نفوذ نور خورشید و تنظیم رژیم نوری (فتوپریود) مورد نظر توسط محقق، ۲. استفاده از روش In Vitro و لقاح آزمایشگاهی (۳۷). از سوی دیگر نمونه‌های متعددی از عوامل محیطی مؤثر بر بیان ژن و فیزیولوژی در ماهی گورخری در منابع علمی وجود دارد که از آن جمله می‌توان به اکسیژن محلول (۳۸)، دما (۳۹)، غلظت مواد معدنی (۴۰)، دوره‌ی نوری (۳۹) و شدت نور (۳۵) اشاره کرد. با وجود این مستندات، برخی مطالعات منتشرشده در مقالات علمی، شرایط فیزیکی‌شیمیایی آب محیط آزمایش را به‌طور کامل توصیف نکرده‌اند که این بدان معناست که آن‌ها اندازه‌گیری نشده یا برای محقق شناخته‌شده نیستند. در بسیاری از مواقع، از سیستم‌های مدرنی که برای استفاده در آزمایشات ماهی گورخری طراحی شده‌اند استفاده می‌شود (۴۱). این سیستم‌ها به‌صورت خودکار نظارت و پیمایش طیفی وسیع از شرایط فیزیکی‌شیمیایی آب را به‌طور مداوم بر عهده دارند؛ به‌طوری‌که داده‌های مورد نظر به‌راحتی برای محقق در دسترس و شاخص‌های محیطی تحت کنترل او هستند. یک نمونه از این سیستم‌های مدرن نگهداری ماهی گورخری را می‌توان در بخش تحقیقاتی بیمارستان کودکان بوستون^۱ ایالات متحده‌ی آمریکا مشاهده کرد. این نمونه‌ای از ارتباطات بهبودیافته بین آبی‌پروری و برنامه‌ی تحقیقاتی در حوزه‌ی زیست‌فناوری پزشکی است که علم قوی‌تر را به دنبال دارد (۴۲). در جدول شماره‌ی یک، اهم شاخص‌های کلیدی آب مورد نظر برای کار با ماهی گورخری ذکر شده است.

جدول شماره‌ی ۱- اهم شاخص‌های آب پیشنهادشده از

سوی مرکز تحقیقات بین‌المللی ماهی گورخری (ZIRC)

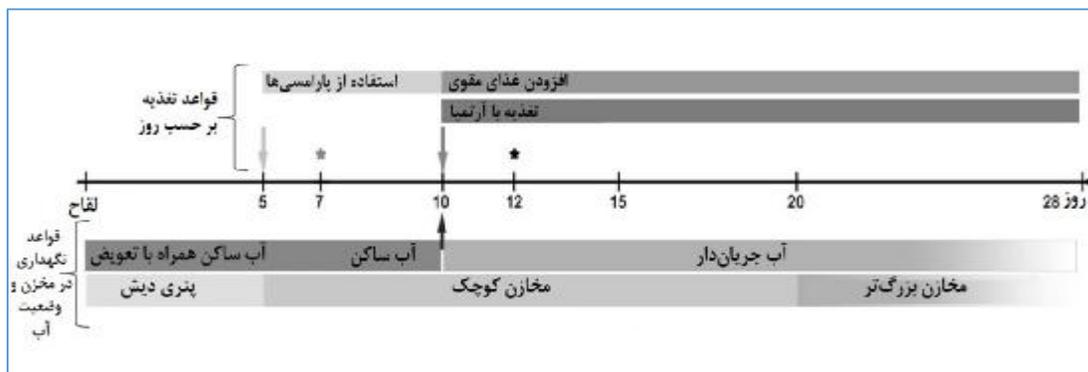
دانشگاه اورگان ایالات متحده‌ی آمریکا و وضعیت آن در محیط

1. Boston Children's Hospital

Website: <http://ijme.tums.ac.ir>

غذایی را در سه یا پنج نوبت تغذیه در روز دریافت کرده‌اند، نرخ آماری مشابهی داشته‌اند؛ یعنی تداوم و افزایش دفعات غذادهی روزانه، بر افزایش رشد و همآوری تأثیر نداشت، بلکه فقط هزینه‌ی پژوهش را افزایش می‌دهد و سیستم تصفیه‌ی آب مخزن را بیشتر دچار فشار ناشی از دفع مواد زائد می‌کند (۴۲). با وجود نزدیک به چهل سال کار علمی مختلف در پیوند با ماهی گورخری، درباره‌ی نیازهای غذایی آن اطلاعات نسبتاً اندکی به دست آمده است (۴۹). تغذیه‌ی ماهی گورخری در دوره‌ی نوزادی (تا روز بیست‌ویکم زندگی) باید با غذای زنده همچون پارامسی و روتیفر یا غذای خشک بسیار مرغوب با ابعاد بین ۱۰۰ تا ۱۵۰ میکرومتر صورت گیرد؛ در مرحله‌ی جوانی (تا نودمین روز زندگی) از غذای زنده‌ی بزرگ‌تر همچون آرتمیا و غذای خشک مرغوب با ابعاد ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۵۰ و حداکثر ۳۰۰ میکرومتر استفاده شود که این بسته به سن ماهی از ریزتر به درشت‌تر تغییر می‌کند. در مرحله‌ی بلوغ (بعد از نود روز زندگی) علاوه بر غذای خشک مرغوب، استفاده از جلبک اسپیرولینا نیز مفید خواهد بود (۲۹).

گسترده‌ای بر فیزیولوژی آن‌هاست (۴۵-۴۷). از سوی دیگر توجه به تعداد و تراکم ماهی‌های موجود در مخازن، بازده رشد و نرخ تغذیه، از جمله عوامل مؤثر برای دستیابی به کیفیت مناسب آب است که در طراحی هر پژوهش باید بدان توجه کرد (۳۲). بدین ترتیب، توجه به تغذیه و غذادهی ماهی گورخری از طریق ارائه‌ی یک رژیم غذایی مناسب برای رشد، بقا و حتی عملکرد مناسب دستگاه تولید مثل در شرایط آزمایشگاهی و نیل به اهداف پژوهش مدنظر در محدودیت‌های زمانی موجود ضروری است. حساسیت‌ها و دستاوردهای درخور توجهی که به افزایش بهره‌وری در برنامه‌های غذایی ماهی گورخری در طول چند سال گذشته منتج شده، به شدت به روش‌شناسی مدون برای آبی‌پروری تجاری و بازرگاری در پروتکل‌های تغذیه‌ی سنتی ماهیان تجاری پرورشی نیز مبدل شده است (۴۸). در مطالعه‌ای بر روی تناوب غذادهی در ماهی گورخری مشخص شد که ماهیان گورخری که در هر روز به مقدار پنج درصد از وزن بدنشان، از غذای فرموله‌شده استفاده کرده بودند، از مرحله‌ی بلوغ به بعد، از نظر رشد و همآوری با ماهیانی که آن ماده‌ی



تصویر شماره‌ی 3- قواعد تغذیه‌ی ماهی گورخری و نگهداری آن در مخازن مناسب همراه با نحوه‌ی تعویض آب پیشنهادشده از سوی

مرکز تحقیقات بین‌المللی ماهی گورخری (ZIRC)، منبع: 29

بسیاری از تحقیقات در حال انجام بر روی ماهی

مخازن نگهداری در شرایط آزمایشگاهی

جهان، انواعی از آن را می‌توان یافت (۵۱). مخازن iSpawn علاوه بر آنکه به کاربر یا محقق اجازه می‌دهد تا هزاران جنین هم‌سن را که در یک شرایط محیطی تولید شده‌اند به‌طور هم‌زمان جمع‌آوری کند، برای استفاده‌ی کاربر نیز بسیار آسان است و به پیچیدگی یا مهارت خاصی نیاز ندارد. این مخازن به‌صورت کاملاً علمی و مبتنی بر رفتار طبیعی ماهی گورخری بالغ و آماده‌ی تولید مثل طراحی شده است. پیش‌بینی می‌شود در پروتکل‌های آتی کار با ماهی گورخری، برای ثبت گزارش‌های علمی، استفاده از چنین تجهیزات هوشمندی نهادینه شود.

گورخری، به تولید به‌موقع و مداوم تخم و جنین با کیفیت بالا برای آزمایش بستگی دارد. درک رفتارهای تولید مثلی ماهی در حیات‌وحش و به تبع آن در محیط اسارت، نوآوری‌هایی را در تکنیک‌های پرورش و تجهیز ادوات آزمایشگاهی موجب شده است (۵۰). یک نمونه‌ی شایسته‌ی توجه از این ادوات آزمایشگاهی پیشرفته، استفاده از مخازن تخم‌ریزی iSpawn است که در حال حاضر در کشور وارد نشده اما امکان واردات و حتی تولید آن توسط متخصصان داخلی به‌راحتی ممکن است. این مخازن برای تخم‌ریزی ماهی گورخری طراحی و تولید شده است و امروزه به‌صورت تجاری شده در اقصا نقاط



تصویر شماره‌ی ۴- لابراتوار اختصاصی تولید ماهی گورخری دانشگاه دالهاوزی کانادا، آزمایشگاه دکتر برمن.

برگرفته از <http://bermanzebrafishlaboratory.pediatrics.dal.ca>

القای استرس (استرس حاد و مزمن)، توسعه‌ی عوامل بیماری‌زای احتمالی (باکتریایی و قارچی و انگلی)، مشکلات تغذیه‌ای و واکنش‌های زیستی با سایر عوامل محیطی را رقم می‌زند. مؤلفه‌های پیش‌گفته می‌توانند به‌شدت توانایی سیستم فیزیولوژیک ماهی را تحت تأثیر قرار داده و نتایج نامطلوبی را برای پژوهش رقم بزنند. اثرات نامطلوب تراکم ماهی در

وضعیت تراکم ماهی‌های گورخری در مخازن، از جمله مهم‌ترین نکات اخلاقی و فنی کار با این گونه‌ی آزمایشگاهی مدل است. نگهداری متراکم ماهی‌ها علاوه بر نیازهای فیزیولوژیک طبیعی مورد نیاز ماهی در یک محیط طبیعی، تقابل فیزیولوژیک با عواملی نظیر ازدحام، تغییرات شیمی آب (بی‌اچ، اکسیژن محلول، نیتريت، نیترات، آمونیاک و غیره)،

سراسر دنیا هستیم (۵۳). ماهی گورخری بدین شکل توسعه نداشته است. وجود جثه‌ی کوچک (حداکثر ۸/۳ سانتی‌متر)، طول عمر کوتاه (۵/۵ تا ۵/۳ سال) و ترکیب رنگی نسبتاً مشابه در کنار زندگی اجتماعی (دسته‌جات چندتایی) کمتر تمایل بشر عادی را به شناخت این تفاوت‌های ریختی و ژنتیکی جلب کرده است. این به‌نوبه‌ی خود سبب رشد چشمگیر تأمین‌کنندگان تجاری ماهی گورخری در دنیا شده است که می‌توانند به‌راحتی حیوانات آزمایشگاهی خود را بدون هرگونه تأیید از منظر شناسه‌ی ژنتیکی به بازار تحقیقاتی روانه کنند.

با وجود رشد سریع این گونه مدل در طول چند دهه‌ی گذشته، دستیابی و اطمینان خاطر از چنین خصوصاتی برای جامعه‌ی علمی انتظار بزرگی نیست. از جمله شایان توجه‌ترین تغییرات ژنتیکی دارای عامل انسانی در آبزیان، ایجاد ماهی گورخری رنگی یا دارای قابلیت نوردهی فلورسنت است که تحت عنوان گلوپیش^۴ تولید و بعدها روانه‌ی بازار شد. در سال ۱۹۹۹، دکتر زیوان گونگ^۵ با وارد کردن ژنی به نام پروتئین فلورسنت سبز (GFP) که از یک نوع عروس دریایی^۶ استخراج شده بود، به جنین ماهی گورخری، به‌طور طبیعی تابش رنگ سبز روشن فلورسنت را در این ماهی تولید کرد. گلوپیش در ابتدا برای تجارت زینتی ماهی ساخته نشده بود؛ اما اکنون اولین جانور اصلاح‌شده‌ی ژنتیکی است که به‌عنوان حیوان خانگی در دسترس عموم قرار دارد. هدف دکتر گونگ از طرح‌ریزی این پژوهش، تولید ماهی‌هایی بود که قادر به نمایش سطح آلودگی محیط با استفاده از فلورسانس انتخابی در حضور سموم زیست محیطی بود. بلافاصله پس از انجام این پژوهش، یک لاین از ماهی‌های گورخری با تابش فلورسنت قرمز با اضافه‌کردن یک ژن از مرجان‌های دریایی و یک لاین از این ماهی با تابش فلورسنت زرد با اضافه‌کردن

مخزن به‌شدت سطح استرس و سلامتی ماهی را دستخوش تغییر می‌کند و می‌تواند منجر به ایجاد تلفات در ماهی‌ها شود. بدین‌منظور مرکز تحقیقات بین‌المللی ماهی گورخری، متناسب با حجم مخزن و سن ماهی گورخری، حداقل استانداردهایی را پیشنهاد کرده است (۲۹).

جدول شماره ۲- وضعیت ایده‌آل تراکم ماهی گورخری در مخازن آزمایشگاهی

گروه سنی ماهی گورخری	تراکم در مخزن (قطعه)	حجم مخزن (L)	شدت جریان آب مخزن ($L \times h^{-1}$)
نوزاد	۵۰	۱/۳	۶/۸
جوان	۲۰ (۵±)	۳/۶	۱۰/۲
جوان	۱۸۸ (۲۰±)	۷۵	۱۸۴/۲

اصالت ژنتیکی گونه‌ها

پیش‌زمینه‌ی ژنتیکی حیوانات آزمایشگاهی یکی دیگر از متغیرهای عمیق و اثرگذار در هر پژوهش علمی است که می‌تواند نتایج آزمایش را به‌طور پیش‌بینی‌نشده‌ای تحت تأثیر قرار دهد. نیروهای درونی ژنتیکی، مانند جهش و رانش ژنتیکی^۱، به تجمع در جمعیت حیوانات در طول زمان تمایل دارند و در نهایت می‌توانند سازگاری محیطی را در صورت محدودبودن، تعریف و کنترل کنند. اهمیت اصالت ژنتیکی گونه‌های آزمایش‌شده در طول زمان محرز شده و موجب توسعه‌ی استانداردهای بین‌المللی ژنتیک برای این گونه‌ها (خصوصاً موش‌های آزمایشگاهی) در تحقیقات علمی شده است (۵۲). برخلاف ماهیان زینتی پرطرفداری همچون: ماهی طلائی^۲ و کپور زینتی کوی^۳ که به واسطه‌ی توجه و علاقه‌ی مردم عادی شاهد توسعه‌ی ارقام و نژادهای مختلفی از آن در

4. GloFish
5. Dr Zhiyuan Gong
6. Jellyfish

1. Mutation and Drift
2. Goldfish (Carassius Auratus)
3. Koi (Cyprinus Carpio)

جدول شماره ۳- نام لاین‌های استاندارد ماهی گورخری
(نام اختصاری لاین)

AB	C32	Nadia (NA)	SJA	Darjeeling (DAR)
AB/Tupfel long fin (AB/TL)	Ekkwill (EKW)	NHGR-1	SJD	Tupfel long- finnacre (TLN)
AB/Tuebin gen (AB/TU)	Hong Kong (HK)	RIKEN WT (RW)	Tuebi ngen (TU)	WIK
Cologne (KOLN)	India (IND)	Sanger AB Tuebinge n (SAT)	Tupfe l long fin (TL)	Wild type (WT)

بهداشت، سلامت و آرامش گونه‌ها

به‌طور کلی وجود بیماری در ماهیان، هزینه‌های نگهداری را افزایش می‌دهد. زمان صرف‌شده برای درمان بیماری‌ها به اندازه‌ی خسارات ناشی از مرگ‌ومیر ماهی‌ها هزینه در پی خواهد داشت؛ بنابراین انجام فعالیت‌های پیشگیرانه بسیار مفید است. در انجام پژوهش‌های علمی استفاده از ماهیان آزمایشگاهی سالم، امری ضروری و اجتناب‌ناپذیر است؛ زیرا عوامل بیماری‌زا می‌توانند فیزیولوژی جانور را تحت تأثیر قرار داده و نتیجه‌ی آزمایش‌ها را به مخاطره اندازند (۱۴). با وجود تست‌های منظم آب، ماهی‌ها باید حداقل یک بار در روز بررسی شوند تا مشکلات موجود در کیفیت آب، به‌سرعت شناسایی شود. تغییرات رفتاری و کم‌شدن اشتها ماهی‌ها از علائم هشداردهنده‌ی اولیه هستند. علائم خارجی واضح بیماری نیز شامل وجود زخم، دانه‌های سفید، خون‌ریزی یا وجود انگل است. نمونه‌هایی از ماهیان بیمار و آب مخزن، باید توسط متخصص امر، کالبدشکافی و بررسی شود و وجود هرگونه موارد غیرطبیعی، انگل‌های داخلی و خارجی، تلفات و نظایر آن در سالنامه‌ی مجموعه ثبت و نگهداری شود؛ سپس اقدامات درمانی لازم، با توجه به نتایج آزمایش‌های ذی‌ربط انجام شود. ماهیان بیمار باید در مخازن قرنطینه قرار گیرند یا

نوع دیگری از ژنوم عروس دریایی تولید شد. گلوپیش در اواخر سال ۲۰۰۳، پس از قریب به دو سال تحقیق گسترده‌ی زیست‌محیطی و مشورت با سازمان‌های مختلف فدرال و ایالتی و همچنین متخصصان پیشرو در زمینه‌ی ارزیابی ریسک، به بازار ایالات متحده‌ی آمریکا معرفی شد و تاکنون هیچ‌گونه نگرانی درباره‌ی تبعات فروش آن گزارش نشده است (۵۴)؛ اما همچنان اهمیت زمینه‌ی ژنتیکی در کار با ماهی گورخری هنوز تا حد زیادی نادیده گرفته می‌شود که خود خطر عدم استانداردسازی ژنتیک برای یکپارچگی نتایج یافته‌های علمی، دامنه و رشد آینده‌ی علوم مرتبط را نشان می‌دهد.

در حال حاضر گونه‌های وحشی این ماهی که زمینه‌ساز بروز هزاران زیرگونه، نژاد جدید یا جهش یافته و حتی ترانس ژنتیک هستند، ایجاد شده و در این صنعت بدون شناسه‌ی ژنتیکی جابه‌جا و خرید و فروش می‌شوند. این گونه‌ها می‌توانند پاسخ‌های متفاوتی را در برابر فشارها یا محرک‌های محیطی از خود نشان دهند. حال تعمیم‌دادن نتایج حاصله، خارج از اخلاق علم و پژوهش محسوب می‌شود. در این باره، براون و همکاران (۲۰۱۲) سطوحی شایان توجه از تنوع ژنتیکی و زیرساخت بین سویه‌های آزمایشگاهی مختلف ماهی گورخری را تجزیه و تحلیل و نتایج خوبی کسب کرده‌اند (۱۳). همچنین اثرات تفاوت سویه‌ها در نتایج آزمایشگاهی در سم‌شناسی، رفتارشناسی و زمینه‌های دیگر علمی اثبات شده است (۵۶ و ۵۵). قریب به بیست لاین دارای استاندارد مشخص به تأیید مراجع علمی رسیده است که در جدول شماره‌ی سه بدان اشاره می‌گردد (۲۹).

ترجیح داده می‌شوند. افزایش چشمگیر شمار ماهیان گورخری که در دهه‌ی گذشته در فعالیتهای علمی به کار گرفته شده‌اند، افزایش علاقه‌ی محققان را به القای آرامش به آنها در محیط‌های آزمایشگاهی، موزه‌ها و نظایر آن افزایش داد. این در حالی بود که برای سال‌های بسیار، رفاه ماهی گورخری در مخازن تا حد زیادی نادیده گرفته می‌شد (۵۸). امروزه مطالعات گسترده‌ای در خصوص القای آرامش، وضعیت اضطراب، استرس، نحوه‌ی حمل و نقل و سندرم‌های دیگر در ماهی گورخری صورت گرفته است (۵۹-۶۱). در هر حال استفاده از ماهیان گورخری که دارای سابقه‌ی بیماری یا اقدام درمانی و قرارگیری در برابر انواع مواد دارویی و شیمیایی بوده باشند، برای استفاده به‌عنوان گونه‌ی آزمایشگاهی در پژوهش رایج نیست و توصیه نمی‌شود؛ مگر آنکه این موضوع به‌عنوان بخشی از جامعه‌ی مورد مطالعه، طرح‌ریزی شده باشد.

آموزش و بازآموزی نیروی انسانی

افزایش پیچیدگی و مقیاس تحقیقات وابسته به ماهی گورخری، نه‌تنها گسترش زیرساخت برای حمایت از آن، بلکه تنوع و عمق دانش و مهارت‌های مورد نیاز برای مدیریت آن را ملموس‌تر ساخته است. این موضوع یک نیاز مبرم و درحال‌توسعه را در این زمینه، به‌عنوان متخصصان «آبزی‌پروری زیست‌پزشکی»^۵ ایجاد کرده است. اگرچه بسیاری از افراد، دانش‌آموخته‌ی رشته‌های مرتبط با آبزی‌پروری (شیلات، بیولوژی دریا، دامپزشکی) هستند، تنها تعداد بسیار کمی از آنها شناخت و مهارت لازم را برای کار با ماهی گورخری و دیگر ماهیان مشابه (همچون مداکا^۶) به‌عنوان یک گونه مدل دارند. متخصصان حیوانات آزمایشگاهی ذی‌ربط باید همواره در برنامه‌های آموزشی علمی و بین‌المللی مرتبط با استانداردهای اخلاقی و حرفه‌ای روز

با نظر متخصص به روش اتانازی^۱ یا کشتن آسان از بین بروند؛ سپس مخازن آلوده باید کاملاً تمیز شده و مواد آلی جمع‌شده بسته‌بندی شوند.

از سوی دیگر تجمع مواد آلی ممکن است منجر به بروز بیماری‌های قارچی در سالن شود. آب مخازن موجود قبل از اتصال به سیستم‌های تخلیه‌ی فاضلاب، باید ضدعفونی و رقیق و تمیز شود. شست‌وشوی پیرامون مخازن برای رعایت استانداردهای حرفه‌ای اهمیت دارد (۳۲). برای به‌حداقل‌رساندن گسترش آلودگی، می‌توان از تابش نور فرابنفش استفاده کرد. به‌طورکلی سیستم‌های پرورشی باید به گونه‌ای طراحی شوند که یک مخزن، هرگز پساب مخزن دیگر را دریافت نکند. باین‌حال در بسیاری از مواقع، آب چندین مخزن، قبل از فیلترشدن و پرتودهی فرابنفش، با یکدیگر ادغام می‌شود که سبب گسترش انواعی از ویروس‌ها، باکتری‌ها، قارچ‌ها و سایر میکروارگانیسم‌های مضر می‌گردد. پرتودهی آب از طریق نور فرابنفش احتمال سرایت عوامل بیماری‌زا را کاهش می‌دهد (۵۷). استفاده از انواع روش‌ها و مواد ضدعفونی (شیمیایی و فیزیکی: همچون ازن^۲، یدوفور^۳، آهک^۴ و غیره) برای ضدعفونی‌کردن آب، مخازن و وسایل (تور، فیلترها و سایر ادوات) رایج است که البته باید با نظر متخصص علوم شیلات یا دامپزشکی آبیان انجام شود.

خاطرنشان می‌سازد اگر یک پاتوژن یا عامل بیماری‌زا، در یک سیستم بزرگ و مشترک وارد شود، به‌طور خودکار تمام مجموعه‌ی آزمایشگاه را با خطر مواجه می‌سازد و هنگامی که در محیط تثبیت شد، رهایی از آن بسیار دشوار است؛ لذا استفاده از سیستم‌های کوچک‌تر که می‌توانند از یکدیگر جدا شوند و گروه‌های گسسته و تفکیک‌شدنی این ماهیان را درون آن‌ها نگهداری کنند، در فعالیتهای آزمایشگاهی بیشتر

1. Euthanasia
2. Ozone
3. Iodophor
4. Lime

5. Biomedical Aquaculture
6. Medaka; Japanese Rice Fish (*Oryzias latipes*)

دنیا، برای مطابقت با نیازهای روبه رشد این حوزه شرکت نمایند. برنامه ریزی و اطلاع رسانی این دوره های آموزشی کوتاه مدت، به طور معمول بر عهده انجمن های علمی، دانشگاه های علوم پزشکی و زیستی و همچنین سازمان ها و نهادهای تخصصی است.

نتیجه گیری

آزمایش بر روی حیوانات مدل به توسعه علوم زیستی و پزشکی و سلامت بشریت بسیار کمک کرده است؛ به نحوی که همواره در زمینه شناخت و درمان و پیشگیری از بیماری ها کمک های شایانی نموده است. بسیاری از پیشرفت های علمی حیطه دانش پزشکی که به صورت بنیادی و کاربردی مطرح می شوند، برای استفاده در پیشگیری و درمان بیماری هایی که روش های مناسب مهار آن ها هنوز در دسترس نیستند، نیازمند انجام آزمایش هایی بر روی حیوانات مدل است که در این رابطه پیش درآمد بسیاری از پیشرفت های گذشته و همچنین پیشرفت های آتی، آزمایش هایی است که بر روی حیوانات صورت می گیرد؛ به عبارت دیگر، علوم پزشکی بر پایه این تلاش های آزمایشگاهی بر روی حیوانات مدل استوار است.

از سوی دیگر طبق معاهدات اخلاقی بین المللی، مواد یا تجهیزات جدید نباید برای اولین بار روی انسان آزمایش شوند؛ مگر اینکه آزمایش های قبلی بر روی حیوانات آزمایشگاهی مدل، مبنی بر بی خطر بودن آن ها گزارش شده باشد؛ از این رو محافظت از سلامت بشر و جانوران، به انجام آزمایش هایی بر روی گونه های مختلفی نیاز دارد که برای هر موردی باید گونه و مدل مناسب به کار گرفته شود. حتی تا حد امکان، پیش از انجام آزمایش روی جانوران، استفاده از روش هایی مثل مدل سازی ریاضی، شبیه سازی رایانه ای و سیستم های زیستی آزمایشگاهی و نظایر آن توصیه می شود. به طور کلی قوانین و قواعد هر کار، ابزارهای ضروری برای مدیریت تلقی می شوند. تبعیت مستمر از قواعد خاص، حجم کار نگهداری از ماهیان گورخری را کاهش و از بروز مشکلات احتمالی جلوگیری می کند. مطالب اشاره شده، راهنمایی کلی برای توجه بیشتر به قواعد اخلاقی و فنی کار با ماهی گورخری به عنوان یک گونه مدل زیستی نوظهور در مطالعات علوم پزشکی است؛ اما هر مرکز آزمایشگاهی ماهیان گورخری، باید قواعد کار را متناسب با شرایط و ضوابط استاندارد مدنظر قرار دهد. در جدول شماره ی یک اهم شرایط آزمایشگاهی مناسب برای کار با ماهی گورخری درج شده است.

منابع

- 1- Johnston B. Economics and market analysis of the live reef-fish trade in the Asia-Pacific region. 2007; ACIAR Working Paper No.63, Australian Centre for International Agricultural Research, Canberra.
- 2- Edwards NE, Beck AM. Animal-assisted therapy and nutrition in Alzheimer's disease. *West J Nurs Res.* 2002; 24(6): 697-712.
- 3- Reaser JK, Meyers NM. Habitattitude™: getting a backbone about the pet release pathway. http://www.aphis.usda.gov/wildlife_damage/nwrc/symposia/invasive_symposium/nwrc_TOC_index.shtml (accessed on: 2018).
- 4- Mobasher M, Sasani P, Al-e-Davood SJ, Aramesh K, Larijani B. Revision of the guideline for ethical use of animals. *Medical Ethics & History of Medicine.* 2012; 5(1 and 2): 70-111
- 5- Santoriello C, Zon LI. Hooked! modeling human disease in zebrafish. *J Clin Invest.* 2012; 122(7): 2337-43.
- 6- Laale HW. The biology and use of zebrafish, *Brachydanio rerio* in fisheries research: A literature review. *Journal of Fish Biology.* 1977; 10(2): 121-73.
- 7- Howe K, Clark MD, Torroja C F, Torrance J, Berthelot C, Muffato M, Stemple DL. The zebrafish reference genome sequence and its relationship to the human genome. *Nature.* 2013; 496: 498-503.
- 8- Auer TO, Durore K, Concordet J P, Del Bene F. CRISPR/Cas9-mediated conversion of eGFP- into Gal4-transgenic lines in zebrafish. *Nature Protocols.* 2014; 9: 2823-40.
- 9- Irion U, Krauss J, Nusslein-Volhard C. Precise and efficient genome editing in zebrafish using the CRISPR/Cas9 system. *Development.* 2014; 141: 4827-30.
- 10- Ribas L, Piferrer F. The zebrafish (*Danio rerio*) as a model organism, with emphasis on applications for finfish aquaculture research. *Reviews in Aquaculture.* 2014; 6(4): 209-40.
- 11- Lawrence C. Advances in zebrafish husbandry and management. *Methods in Cell Biology.* 2011; 104: 429-51.
- 12- Lawrence C, Ennis DG, Harper C, Kent M L, Murray K, Sanders G. E. The challenges of implementing pathogen control strategies for fishes used in biomedical research. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol.* 2012; 155(1): 160-6.
- 13- Brown KH, Dobrinski KP, Lee AS, Gokcumen O, Mills RE, Shi X, Lee C. Extensive genetic diversity and substructuring among zebrafish strains revealed through copy number variant analysis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America,* 2012; Washington, USA; National Academy of Sciences; 2012.
- 14- Kent M L, Harper C, Wolf JC. Documented and potential research impacts of subclinical diseases in zebrafish. *ILARJ.* 2012; 53(2): 126-34.
- 15- Streisinger G, Walker C, Dower N, Knauber D, Singer F. Production of clones of homozygous diploid zebra fish (*Brachydanio rerio*). *Nature.* 1981; 297: 293-6.
- 16- Rasooly, R.S., Henken, D., Freeman, N., Tompkins, L., Badman, D., Briggs, J., Hewitt, A.T., 2003. Genetic and genomic tools for zebra fish research: The NIH zebra fish initiative, *Developmental Dynamics.* 228: 490-496.
- 17- Welcomme RL. International introductions of inland aquatic species. 1988; 294: 318. <http://www.fao.org/3/X5628E/X5628E00.htm> (accessed on: 2018)
- 18- Menon AGK. Check list - fresh water fishes of India. *Rec. Zool. Surv. India, Misc. Publ., Occas. West Bengal: Zoological Survey of India;* 1999.
- 19- Petr T. Coldwater fish and fisheries in Bhutan. <http://www.fao.org/3/x2614e/x2614e02.htm> (accessed on: 2018)
- 20- Lawrence C. The husbandry of zebrafish (*Danio rerio*): A review. *Aquaculture.* 2007; 269(1): 1-20.
- 21- Mills D, Vevers G. The Tetra encyclopedia of freshwater tropical aquarium fishes. New Jersey: Tetra Press; 1989.
- 22- Spence R, Fatema M, Ellis S, Ahmed Z, Smitz C. Diet, growth and recruitment of wild zebrafish in Bangladesh. *J Fish Biol.* 2007; 71:304-09.
- 23- Gerhard GS, Kauffman EJ, Wang X, Stewart

- R, Moore JL, Kasales CJ, et al. Life Spans and Senescent Phenotypes of Zebrafish (*Danio rerio*). *Exp. Gerontol.* 2002; 37: 1055-68
- 24- Delaney M, Follet C, Ryan N, Hanney N, Lusk-Yablick J, Gerlach G. Social interaction and distribution of female zebrafish (*Danio rerio*) in a large aquarium. *Biol Bull.* 2002; 203: 240-1.
- 25- Shrestha TK. Resource ecology of the Himalayan waters. Kathmandu: Tribhuvan University; 1990.
- 26- Arunachalam M, Johnson J, Sathyanarayanappa SN, Sankaranarayanan A, Soranam R. Cultivable and ornamental fishes from Hemavathi and Ekachi rivers, South Karnataka. p. 226-227. In: A.G. Ponniah and A. Gopalakrishnan. (eds.). Endemic fish diversity of Western Ghats. Lucknow: NBFGR-NATP Publication; 2002.
- 27- Mayden RL, Tang KL, Conway KW, Freyhof J, Chamberlain S, Haskins M, et al. Phylogenetic relationships of *Danio* within the order Cypriniformes: A framework for comparative and evolutionary studies of a model species". *Journal of Experimental Zoology Part B: Molecular and Developmental Evolution.* 2007; 308(5): 642-54.
- 28- McCluskey BM, Postlethwait JH. Phylogeny of zebrafish, a model species, within *Danio*, a model genus. *Molecular Biology and Evolution.* 2015; 32(3): 635-52.
- 29- William D H, Westerfield M, Zon L. *Methods in Cell Biology, The Zebrafish: Genetics, Genomics, and Transcriptomics.* Volume 135. New Yourk: Academic Press; 2016.
- 30- Crawford AD, Esguerra CV, Witte PAM. Fishing for drugs from nature: Zebrafish as a technology platform for natural product discovery. *Planta Medica.* 2008; 74: 624-32.
- 31- Lieschke GJ, Currie PD. Animal models of human disease: Zebra fish swim into view *Nature.* 2007; 8: 353-67.
- 32- Hensen RR. Water quality in the Ornamental aquatic industry. Translated by Alireza Khiabani & Shahram Dadgar. Tehran: Moje Sabz; 2010.
- 33- Riehl R, Baensch HA. *Aquarien Atlas.* Band 1. Melle: Mergus, Verlag für Natur-und Heimtierkunde; 1991.
- 34- Lawrence C, Best J, Cockington J, Henry EC, Hurley S, James A, et al. The complete and updated "Rotifer Polyculture Method" for rearing first feeding zebrafish. *Journal of Visualized Experiments.* 2016; 107: e53629.
- 35- Villamizar N, Vera LM, Foulkes NS, Sanchez-vazquez FJ. Effect of lighting conditions on zebrafish growth and development. *Zebrafish.* 2013; 11(2): 25-40.
- 36- Detrich HW, Westerfield M, Zon LI. Overview of the zebrafish system. In: HW. Detrich, M. Westerfield, LI. Zon. (eds.). *Methods in Cell Biology.* 1999; 59(3-10). San Diego: Elsevier.
- 37- Siripattarapavat K, Busta A, Steibel J, Cibelli J. Characterization and in vitro control of MPF activity in zebrafish eggs. *Zebrafish.* 2009; 6: 97-105.
- 38- Martinovic D, Villeneuve DL, Kahl MD, Blake LS, Brodin JD, Ankley G. Hypoxia alters gene expression in the gonads of zebrafish (*Danio rerio*). *Aquatic Toxicology.* 2009; 95(4): 258-72.
- 39- Marvin GA, Lewis M. Effect of temperature, photoperiod, and feeding on the rate of tail regeneration in a semiaquatic plethodontid salamander. *Journal of Thermal Biology.* 2013; 38(8): 548-52.
- 40- Craig PM, Wood CM, McClelland GB. Water chemistry alters gene expression and physiological end points of chronic waterborne copper exposure in zebrafish, *Danio rerio*. *Environmental Science & Technology.* 2010; 44(6): 2156-62.
- 41- Lawrence C, Mason T. Zebrafish housing systems: A review of basic operating principles and considerations for design and functionality. *ILAR Journal.* 2012; 53(2): 179-91.
- 42- Lawrence C, Adatto I, Best J, James A, Maloney K. Generation time of zebrafish (*Danio rerio*) and medakas (*Oryzias latipes*) housed in the same aquaculture facility. *Lab Animal.* 2012; 41(6): 158-65.
- 43- Westerfield M. *The zebrafish book. A Guide for the Laboratory Use of Zebrafish (Danio rerio).* Eugene: University of Oregon Press; 2007.
- 44- Barnard DE, Lewis SM, Teter BB, Thigpen JE. Open- and closed-formula laboratory animal diets and their importance to research. *JAALAS.* 2009; 48: 709-13.
- 45- Jury DR, Kaveti S, Duan ZH, Willard B, Kinter M, Londraville R. Effects of calorie restriction on the zebrafish liver proteome. *Comparative Biochemistry and Physiology Part*

- D: Genomics and Proteomics. 2008; 3(4): 275-82.
- 46- Lebold KM, Lohr CV, Barton CL, Miller GW, Labut EM, Tanguay RL, Traber MG. Chronic vitamin e deficiency promotes vitamin C deficiency in zebrafish leading to degenerative myopathy and impaired swimming behavior. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*. 2013; 157: 382-9.
- 47- Ulloa PE, Pen˜a AA, Lizama CD, Araneda C, Iturra P, Neira R, et al. Growth response and expression of muscle growth-related candidate genes in adult zebrafish fed plant and fishmeal protein-based diets. *Zebrafish*. 2013; 10: 99-109.
- 48- FAO. The state of world fisheries and aquaculture. 2014. <http://www.fao.org/3/a-i3720e.pdf> (accessed on: 2018).
- 49- Siccardi AJ, Garris HW, Jones WT, Moseley DB, D'Abramo LR, Watts SA. Growth and survival of zebrafish (*Danio rerio*) fed different commercial and laboratory diets. *Zebrafish*. 2009; 6: 275-80.
- 50- Uusi-Heikkil S, Kuparinen A, Wolter C, Meinelt T, Arlinghaus R. Paternal body size affects reproductive success in laboratory-held zebrafish (*Danio rerio*). *Environmental Biology of Fishes*. 2012; 93(4): 461-74.
- 51- Adatto I, Lawrence C, Thompson M, Zon LI. A new system for the rapid collection of large numbers of developmentally staged zebrafish embryos. *PLoS One*. 2011; 6(6): e21715.
- 52- Taft RA, Davisson M, Wiles MV. Know thy mouse. *Trends in Genetics: TIG*. 2006; 22: 649-53.
- 53- Khiabani A. Reviewing on the Present Koi Carp (*Pisces: Cyprinidae*). 2015; 2(1): 37-41
- 54- Monticini P. The ornamental fish trade. Production and commerce of ornamental fish: technical-managerial and legislative aspects. Room: FAO, GLOBEFISH, Products, Trade and Marketing Service, Fisheries and Aquaculture Policy and Economics Division; 2010.
- 55- Link BA, Gray MP, Smith RS, John SW. Intraocular pressure in zebrafish: Comparison of inbred strains and identification of a reduced melanin mutant with raised IOP. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2004; 45(12): 4415-22.
- 56- Meyer BM, Froehlich JM, Galt NJ, Biga P R. Inbred strains of zebrafish exhibit variation in growth performance and myostatin expression following fasting. *Comparative Biochemistry and Physiology: Part A, Molecular & Integrative Physiology*. 2013; 164: 1-9.
- 57- Ebeling JM, Timmons MB. Recirculating Aquaculture Systems; Aquaculture production systems. New Yourk: Wiley & Sons; 2012.
- 58- Smith SA. Welfare of laboratory fishes. 2014; 301-11. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385103-1.00017-8> (accessed on: 2018).
- 59- Maximino C, De Brito T M, Da Silva Batista AW, Herculano A M, Morato S, Gouveia A. Measuring anxiety in zebrafish: A critical review. *Behav Brain Res*. 2010; 214(2): 157-71.
- 60- Norton W, Bally-Cuif L. Adult zebrafish as a model organism for behavioural genetics. *BMC Neuroscience*. 2010; 11: 90.
- 61- Steenbergen PJ, Richardson MK, Champagne DL. The use of the zebrafish model in stress research. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2011; 35(6): 1432-51.

Review of the Ethical and Technical Principles of Working with Zebrafish as a Species of the Biological Model in Medical Science Studies

Alireza Khiabani^{*1}

¹Department of Agriculture & Natural Resources, University of Applied Science and Technology, Tehran, Iran

Abstract

The Zebrafish is a preeminent model organism that, with its most prominent features, has expanded the boundaries of science in many disciplines. Characteristics of this small freshwater fish, with the help of biologists, showed that it has a highly comparable genetic with mammals such as mice and rats. For example, the emergence of new and efficient methods for duplicating and editing the genome has helped to increase the growth of its use in various fields of science, including toxicology, drug discovery, transplant biology, disease modeling, and even aquaculture. Continued maturation and adoption of the Zebrafish model system require the improvement of methods and approaches for the cultivation and management of these fishes in controlled reservoirs, so that, ultimately, research on this fish is more reusable, cost-effective and in a framework for ethics in research. Knowledge and technology transfer from laboratory science, medicine, and aquaculture is a necessary part of this development, which should be in line with ethical standards in science. In this paper, we would consider the ethical and technical principles of working with Zebrafish as a species model in studies of medical sciences.

Keywords: Biomedical aquaculture, Ethics in research, Laboratory animals, Ornamental fish, Zebrafish

* Corresponding Author: khiabani@uast.ac.ir