

کاربردهای واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) در بهبود اقتصادی صنعت دام، طیور و شیلات

رضا پسندیده^۱ (نویسنده مسئول)، مجید پسندیده^۲

- ۱- پژوهشکده میگوی کشور، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی (AREEO)، بوشهر، ایران
۲- استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهر کرد

تاریخ دریافت: اردیبهشت ۱۴۰۴ تاریخ پذیرش: مرداد ۱۴۰۴

شماره تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۵۱۸۷۹۸۰۴

Email: Rezapasandideh63@gmail.com

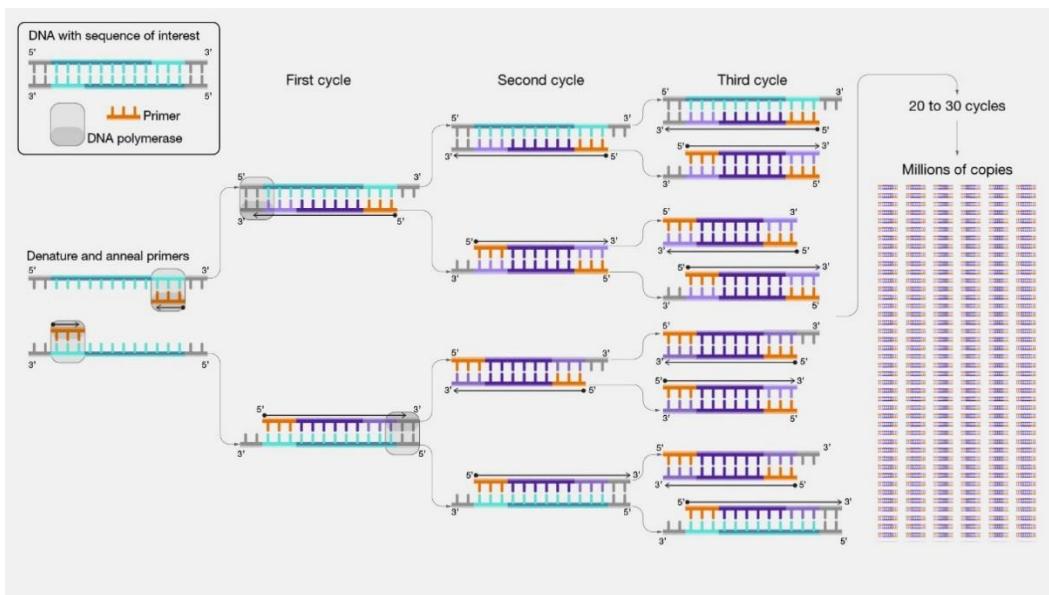
شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/AASRJ.2025.368200.1307

چکیده

صنعت دام، طیور و شیلات اصلی ترین منابع تأمین نیازهای غذایی انسان بوده که با چالش‌های مختلفی روبرو می‌باشد. یکی از چالش‌های اصلی در این صنایع، بیماری‌های عفونی هستند که می‌توانند موجب بروز خسارت‌های اقتصادی شدیدی گردند. علاوه بر این، شناسایی ساختار و تنوع ژنتیکی جمعیت‌های حیوانی جهت طراحی برنامه‌های اصلاح نژادی و جلوگیری از بروز افت ناشی از همخونی ضروری است. برای دستیابی به این اهداف از فناوری‌های مختلفی استفاده می‌شود که یکی از آن‌ها واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) است. انواع مختلفی از روش‌های PCR برای تشخیص عوامل بیماری‌زا، تجزیه و تحلیل ساختار ژنتیکی جمعیت، تشخیص جایگاه‌های ژنی مرتبط با صفات اقتصادی، انتخاب مولدهای برتر با هدف امنیت غذایی و بهبود تولید در صنعت دام، طیور و شیلات مورد استفاده قرار می‌گیرند. در این مقاله ترویجی به انواع روش‌های PCR مورد استفاده در صنعت دام، طیور و شیلات، کاربردها، مزایا و محدودیت‌های آن‌ها و چگونگی کمک به حفظ جمعیت‌ها پرداخته شده است.

بیان مسئله

علم ژنتیک نقش مهمی را در بهبود تولید، کارایی و پایداری صنعت دام، طیور و شیلات داشته است. این صنایع به طور قابل توجهی از انتخاب ژنتیکی و دستکاری ژنی برای ایجاد لاین های حیوانات با صفات مطلوب مانند رشد سریع، بازده بالا، مقاومت به بیماری ها و کارایی مصرف خوراکی استفاده کرده اند. واکنش زنجیره ای پلیمراز (PCR)^۱ یکی از پیشرفته ترین ابزارهای زیست شناسی مولکولی است که انقلابی را در علوم پزشکی، دامپروری ایجاد کرده است. این فناوری که نخستین بار در دهه ۱۹۸۰ توسط کری مولیس معرفی شد، امکان تکثیر سریع و دقیق قطعات خاصی از DNA را در محیط آزمایشگاهی فراهم می کند. همان طور که در شکل ۱ نشان داده شده است، PCR طی یک سری چرخه دمایی موجب تکثیر توالی های خاصی از DNA می شود. این فرآیند با واسرت شدن DNA آغاز و دو رشته ای به رشته های منفرد جدا می شود. سپس، پرایمرهای خاص DNA به توالی های هدف متصل شده و نقاط شروع تکثیر را مشخص می کنند. در نهایت، آنزیم DNA پلیمراز رشته های DNA مکمل را سنتز می کند که منجر به افزایش تصاعدی تعداد قطعات DNA هدف می شود (Rajalakshmi, 2017).



شکل ۱- چگونگی انجام روش PCR جهت تکثیر توالی های خاصی از DNA

¹ Polymerase chain reaction

ابزاری کلیدی برای تشخیص سریع، دقیق و حساس بیماری‌ها، اصلاح نژاد، مدیریت ژنتیکی و پایش زیست محیطی تبدیل شده است (Giridharan et al., 2005). در این مقاله به انواع آزمایش‌های PCR مورد استفاده در صنعت دام، طیور و شیلات، کاربردهای روش PCR در این صنایع و چگونگی کمک به حفظ جمعیت‌ها پرداخته شده است.

انواع روش‌های PCR مورد استفاده در صنعت دام، طیور و شیلات

PCR-۱ معمولی^۹

PCR معمولی اصلی‌ترین نوع PCR است که در آن قطعات DNA هدف با استفاده از پرایمرهای اختصاصی و آنزیم پلیمراز به صورت تصاعدی تکثیر می‌شوند. نتایج نهایی را می‌توان با استفاده از الکتروفورز ژل آگارز و یا پلی آکریل آمید آنالیز نمود (Khalil, 2021).

Real-time PCR (qPCR) -۲

Real-time PCR (qPCR) روشی بسیار حساس است که امکان تشخیص و تعیین کمیت DNA را در زمان واقعی (در زمان واکنش) فراهم می‌نماید. qPCR اغلب برای بررسی میزان عفونت عامل بیماری‌زا و ارزیابی پاسخ ایمنی حیوانات استفاده می‌شود (Gil, 2007; Ador et al., 2021).

۳ نسخه بوداری معکوس (RT-PCR)^{۱۰}

RT-PCR برای عوامل بیماری‌زا بی نظر برخی از ویروس‌ها که ماده ژنتیکی آنها RNA است، استفاده می‌شود. این روش شامل نسخه بوداری معکوس RNA به cDNA با استفاده از آنزیم نسخه بودار معکوس و سپس تکثیر cDNA است (Khalil .2021).

یکی از چالش‌های اصلی در صنعت دام، طیور و آبزی پروری، بیماری‌های عفونی می‌باشد که می‌توانند موجب بروز خسارت‌های اقتصادی شدیدی گردند. روش‌های قدیمی تشخیص بیماری‌ها مانند کشت باکتریایی یا آزمایش‌های سرولوژیک، PCR محدودیت‌هایی نظیر زمان بر بودن و حساسیت پایین داشتند. به دلیل حساسیت و دقت بالا و شناسایی سریع عوامل بیماری‌زا حتی در مراحل اولیه عفونت، می‌تواند جایگزین ارزشمندی برای روش‌های قدیمی محسوب شود (Ador et al., 2021). صنعت پرورش می‌گویی از صنایع مهم مرتبط با امنیت غذایی در آبزی‌پروری است که بخش قابل توجهی از پروتئین مورد نیاز انسان با منشاء دریابی را تأمین می‌کند. می‌گویی سفید غربی (Litopenaeus vannamei) پرکاربردترین گونه می‌گویی از خانواده پنائیده در صنعت آبزی‌پروری است. در سال‌های اخیر، صنعت پرورش می‌گویی نیز با تهدید فراینده عوامل بیماری‌زا نظیر باکتری نکروز حاد هپاتوپانکراس (AHPND)^۱، انگل درون سلولی (EHP)^۲، ویروس سندروم لکه سفید (WSSV)^۳ و ویروس نکروز دهنده عفونی عضلات (IMNV)^۴ روبرو شده است (Liao & Chien, 2011). مطالعات متعدد نشان داده‌اند که PCR در تشخیص بیماری‌هایی مانند بروسلوز و تب برفکی (FMD)^۵ در دام، آنفلوآنزای پرنده‌گان^۶ (HPAI) و بیماری‌های (AHPND) لکه سفید (WSD)^۷ و نکروز حاد هپاتوپانکراس (AHPND) در می‌گویی نقش کلیدی دارد. به عنوان مثال، تحقیقات انجام شده در سال ۲۰۰۵ نشان دادند که استفاده از PCR در تشخیص تب برفکی باعث کاهش زمان تشخیص از چند روز به چند ساعت شده و در نتیجه، مدیریت سریع و مؤثرتر این بیماری را امکان‌پذیر کرده است. همچنین، این روش به عنوان ابزاری مؤثر در تشخیص بیماری‌های ژنتیکی مانند ناهنجاری‌های مادرزادی و جهش‌های ژنتیکی در حیوانات اهلی شناخته می‌شود. روش PCR به طور گسترده‌ای در تحقیقات دام، طیور و آبزیان به کار گرفته شده و به

² Acute hepatopancreatic necrosis disease

³ Enterocytozoon hepatopenaei

⁴ White spot syndrome virus

⁵ Infectious myonecrosis virus

⁶ Foot-and-mouth disease

⁷ Highly pathogenic avian influenza

⁸ White spot disease

⁹ Conventional PCR

¹⁰ Reverse transcription PCR

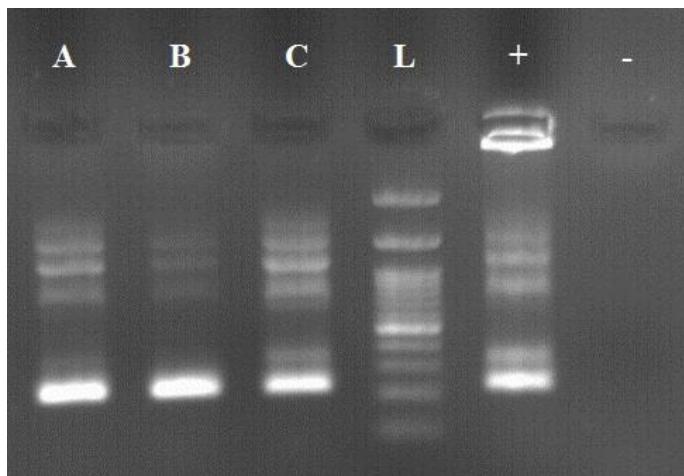
Insulated Isothermal PCR (iiPCR) -۴

اصول تشخیص بیماری‌ها از طریق iiPCR مشابه سایر روش‌های PCR است، اما عملکرد متفاوتی دارد. برخلاف PCR معمولی و Real-time PCR که شامل سه دمای مختلف در هر چرخه تکراری هستند، تکثیر ژن هدف در iiPCR در دمای ثابت انجام می‌شود. فرآیند iiPCR به زمان کمتری نیاز دارد و نتایج را می‌توان به صورت کیفی در صفحه نمایش iiPCR یا Pockit مشاهده کرد. هنگامی که تعداد نسخه‌های DNA عامل بیماری‌زا در نمونه از ۱۰ نسخه بیشتر شود، iiPCR یک نتیجه مثبت را نشان می‌دهد (Chua et al., 2016).

Nested PCR -۵

در روش Nested PCR از دو جفت پرایمر استفاده می‌شود به طوری که پرایمرهای جفت دوم درون قطعه تکثیر شده توسط پرایمرهای جفت اول قرار می‌گیرند. این روش دو مرحله‌ای بوده و محصولات مرحله اول PCR به عنوان الگو برای مرحله دوم Nested PCR استفاده می‌شوند (Khalil, 2021). از روش Nested PCR برای شناسایی عوامل بیماری‌زا مختلف برای مثال باکتری ویبریوپاراهمولیتیکوس (عامل ایجاد کننده بیماری AHPND) در میگوی سفید غربی (Dangtip et al., 2015) و هرپس ویروس نوع ۳ (عامل ایجاد کننده بیماری کوی هرپس ویروس^{۱۱}) در ماهی کپور معمولی (شهوازی و همکاران، ۱۴۰۱) استفاده شده است. در شکل ۲ قطعه ۲۳۰ جفت بازی تکثیر شده مربوط به نمونه‌های مثبت برای بیماری AHPND در میگو نشان داده شده است.

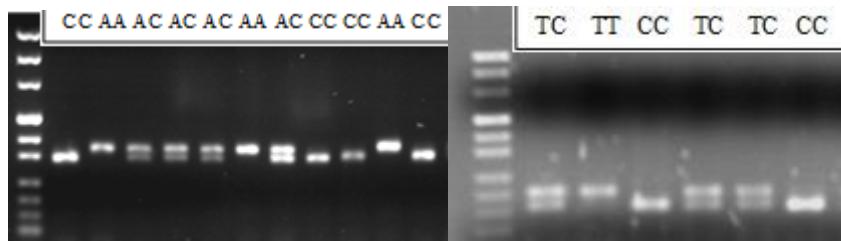
^{۱۱} Koi herpesvirus



شکل ۲- ردیابی بیماری AHPND در میگوهای سفید عربی. A، B و C: قطعه ۲۳۰ جفت بازی حاصل از تکثیر ژن پلاسمید موجود در باکتری ویریوپاراهمولیتیکوس در نمونه‌های مثبت میگو برای بیماری AHPND؛ L: نردهان ژنی ۱۰۰ جفت بازی.

PCR-¹²RFLP -۶

در روش PCR ابتدا محصول PCR تحت تأثیر یک آنزیم محدود کننده اختصاصی قرار می‌گیرد و بر اساس برش‌هایی که در توالی مورد شناسایی آن آنزیم رخ می‌دهد، ژنوتیپ حیوان برای آن ژن خاص تعیین می‌شود. طبیعی است که در این روش باید نوع جهش و جایگاه آن کاملاً شناخته شده باشد تا بتوان از آنزیم اختصاصی در تشخیص آن استفاده کرد. در این روش به ازاء هر جهش نوکلئوتیدی تعداد قطعات حاصل از آلل‌های سالم و جهش یافته یک عدد با یکدیگر اختلاف دارند که بر روی ژل الکتروفوروز قابل تشخیص است (Ador et al., 2021). در شکل ۳ با استفاده از روش PCR-RFLP چندشکلی‌های تک نوکلئوتیدی C>T و A>C از ژن PPARC1A مرتبط با ترکیب و تولید شیر در گاوهای هلشتاین استان‌های تهران و اصفهان شناسایی شده‌اند. همان‌طور که در شکل ۳ سمت راست مشخص است، با توجه به قطعات حاصل از برش آنزیم، ژنوتیپ‌های افراد در هر موقعیت تعیین شد. با استفاده از آنزیم HaeIII در موقعیت C1892T>C، سه نوع ژنوتیپ TT، TC و CC مشخص شد. قطعه برش نخورده ۱۹۵ جفت بازی، بیانگر ژنوتیپ TT می‌باشد و دو قطعه ۱۶۳ و ۳۲ جفت بازی، بیانگر ژنوتیپ CC است. همچنین سه قطعه ۱۹۵، ۱۶۳ و ۳۲ جفت بازی، نشان‌دهنده ژنوتیپ TC می‌باشد (شکل ۳ سمت راست). در شکل ۳ سمت چپ، با تأثیر آنزیم NheI در موقعیت C3359A>C، ژنوتیپ‌های AA، AC و CC تشخیص داده شد. قطعه برش نخورده ۳۵۷ جفت بازی، بیانگر ژنوتیپ AA می‌باشد و دو قطعه ۳۱۹ و ۳۸ جفت بازی، بیانگر ژنوتیپ CC است. همچنین سه قطعه ۳۵۷، ۳۱۹ و ۳۸ جفت بازی، نشان‌دهنده ژنوتیپ AC می‌باشد (شکل ۳ سمت چپ). قابل ذکر است که قطعات ۳۲ و ۳۸ جفت بازی، به علت کوچک و سبک بودن، در ژل آگارز مشاهده نشدند (پسندیده و همکاران، ۱۳۹۰).



شکل ۳- شناسایی جهش‌های تک نوکلئوتیدی در ژن PPARGC1A با استفاده از روش PCR-RFLP در گاوها های هلشتاین استان های تهران و اصفهان.

دریافت نتایج کشت میکروبی می تواند از نظر اقتصادی برای پرورش دهنده ضرر اقتصادی داشته باشد. همچنین روش PCR در شناسایی سریع بیماری های ویروسی مانند تب برفکی (FMD) و آنفلوانزایی پرنده گان (HPAI) به طور گستردگی مورد استفاده قرار می گیرد (Vidic et al., 2017; de Camargo, 2018).

آبزی پروری یکی از حوزه های حیاتی در تأمین امنیت غذایی جهانی است، اما بیماری های ویروسی و باکتریایی یکی از مهم ترین تهدیدات این صنعت به شمار می روند. در این صنعت نیز روش PCR نقش حیاتی در شناسایی زودهنگام عوامل بیماری زا مانند ویروس سندروم لکه سفید در میگو یا ویروس بیماری نکروز عفونی پانکراس (IPNV)^{۱۴} در ماهی قزل آلا ایفا می کند (Ador et al., 2021). در حوزه صنعت پرورش میگو، تکثیر کنندگان و پرورش دهنگان می توانند از طریق غربالگری مولدهاین، پست لاروها و منابع آب، ناقلين بیماری را شناسایی و از گسترش آنها به سایر مزارع جلوگیری کنند (Meng et al., 2010). در حال حاضر در اغلب مزارع پرورش میگوی ایران، بیماری هایی نظیر AHPND و لکه سفید به طور منظم از طریق آزمایش PCR مورد بررسی قرار می گیرند (شکل ۴). همچنین نظارت دقیقی روی سایر بیماری های مخاطره آمیز میگو در مراکز مولدهاین و تکثیر به منظور اجرای اقدامات ایمنی زیستی جهت به حداقل رساندن خطر شیوع بیماری وجود دارد. روش PCR همچنین در پایش کیفیت آب و شناسایی میکروگانیسم های مضر در محیط های آبی استفاده می شود. در مطالعه ای در سال ۲۰۱۰ روی میگوهای پرورشی در آسیا مشخص

PCR-SSCP -۷
در روش PCR-SSCP جهش های ناشناخته با استفاده از PCR و نوع خاصی از الکتروفورز روی ژل پلی اکریل آمید شناسایی می شوند. شناسایی جهش های نقطه ای توسط این روش بر اساس تغییر در ساختار DNA تک رشته ای استوار می باشد. به این صورت که تک رشته ای که دارای یک جهش ژنتیکی باشند، روی ژل پلی اکریل آمید الگوی حرکتی متفاوتی را نسبت به رشته های سالم نشان می دهند (Ador et al., 2021). از این روش برای شناسایی جهش های تک نوکلئوتیدی در ژن های مختلف حیوانات از جمله ژن لپتین در گوسفند کرمانی استفاده شده است (شجاعی و همکاران، ۱۳۸۹).

معرفی دستاوردهای راهکار کاربردهای روش PCR در صنعت دام، طیور و شیلات

۱- تشخیص بیماری های حیوانات

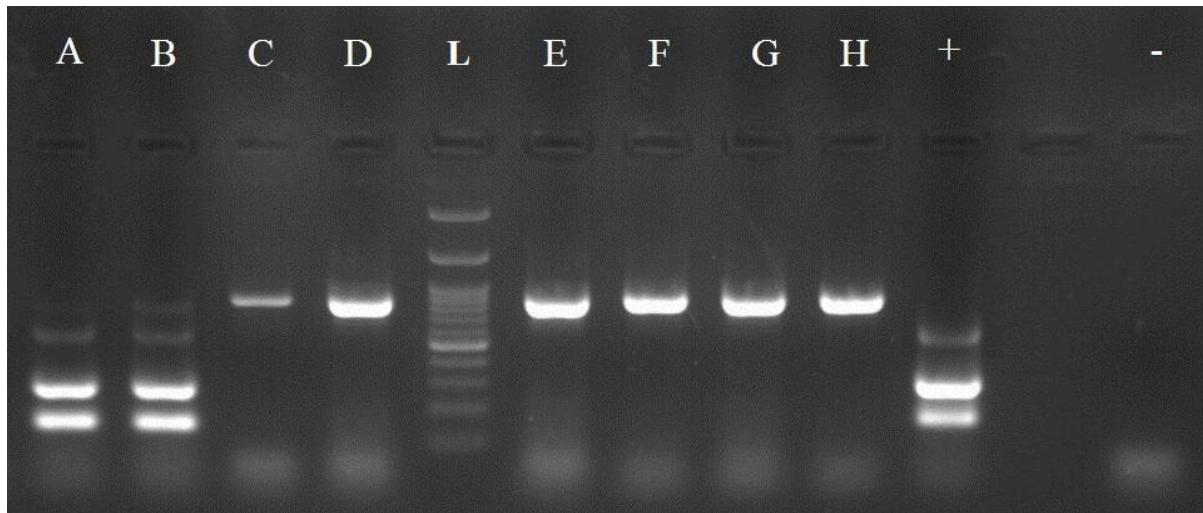
بیماری های عفونی یکی از چالش های اساسی در صنعت دامپروری هستند که می توانند تأثیرات مخربی بر تولید، سلامت حیوانات و امنیت غذایی داشته باشند. در این حوزه، روش PCR به عنوان یک ابزار پر کاربرد مطرح می باشد که نه تنها دقت و سرعت تشخیص بیماری ها را افزایش داده است، بلکه امکان شناسایی عوامل بیماری زا را پیش از ظهور علائم بالینی فراهم کرده است. برای مثال، با استفاده از روش PCR می توان نتایج ورم پستان را در همان روز آزمایش به دست آورد، در مقابل روش کشت میکروبی ممکن است تا ۱۰ روز به طول انجامد. گاهی اوقات ممکن است نیاز به معده مسازی حیوان آلدوده باشد تا از گسترش بیماری به حیوانات دیگر جلوگیری شود. در این حالت انتظار برای

¹⁴ Infectious Pancreatic Necrosis virus

^{۱۳} Single-strand conformation polymorphism

روش PCR می‌تواند در شناسایی گونه‌های خاص قارچی و باکتریایی نقش داشته باشد (Ador et al., 2021).

شد که استفاده از Real-Time PCR برای تشخیص سندروم لکه سفید در مزارع میگو منجر به کاهش مرگ و میر تا ۴۰ درصد گردید (Meng et al., 2010). همچنین در آبزیان زیستی،



شکل ۴- ردیابی بیماری لکه سفید در میگوهای سفید غربی. A و B: تکثیر ژن‌های مربوط به ویروس در نمونه‌های مثبت میگو برای بیماری لکه سفید؛ C، E، F، G و H: نمونه‌های میگوی عاری از بیماری لکه سفید؛ L: نرdbian ژنی ۱۰۰ جفت بازی.

جمعیت‌های دامی و آبزی است. برای مثال، روش PCR به شناسایی گونه‌های با ارزش ژنتیکی بالا در برنامه‌های اصلاح نژادی ماهیان خاویاری کمک کرده است. همچنین، این روش برای شناسایی گونه‌های مهاجم یا مختلط در اکوسیستم‌های آبی استفاده می‌شود (Ador et al., 2021). مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۸ نشان داد که استفاده از Multiplex PCR برای پایش تنوع ژنتیکی ماهیان پرورشی می‌تواند مفید باشد. نتایج آن مطالعه نشان داد که تنوع ژنتیکی ماهیان در معرض خطر کاهش است و اقدامات حفاظتی مؤثری در این راستا پیشنهاد گردید (Ador et al., 2021). همچنین، برای ارزیابی تنوع ژنتیکی ذخائر مختلف میگو در برنامه‌های مولدسازی و تکثیر می‌توان از مناطق خاص DNA برای مثال نشانگرهای ریزماهواره‌ای استفاده نمود. محققان می‌توانند با درک ساختار و تنوع ژنتیکی جمعیت‌های میگو، برنامه‌های اصلاح نژادی را برای توسعه خزانه‌های ژنی متنوع و

۲- ناهنجاری‌های ژنتیکی

روش PCR در شناسایی و پایش ناهنجاری‌های ژنتیکی در دام‌ها به کار می‌رود. با استفاده از این فناوری، می‌توان جهش‌های ژنی مرتبط با صفات نامطلوب یا بیماری‌های ژنتیکی را شناسایی و با اجرای برنامه‌های اصلاح نژادی، سلامت و بهره‌وری جمعیت‌های دامی را بهبود بخشید. برای مثال، در مطالعه‌ای نقص‌های ژنتیکی چسبندگی گلبول‌های سفید (BLAD)^{۱۵} و ناهنجاری ستون فقرات (CVM)^{۱۶} در جمعیتی از گاو‌های هلشتاین با استفاده از سلول‌های سوماتیک شیر و سلول‌های خون با استفاده از روش PCR مورد بررسی قرار گرفت (همتی و نوشی، ۱۳۹۴).

۳- توسعه نژادها و ارزیابی تنوع ژنتیکی ذخائر مختلف حیوانات

یکی دیگر از کاربردهای مهم PCR، ارزیابی تنوع ژنتیکی ذخائر مختلف حیوانات و تعیین ارتباط ژنتیکی میان گونه‌ها در

¹⁵ Bovine Leukocyte Adhesion Deficiency

¹⁶ Complex Vertebral Malformation

محدودیت‌های استفاده از روش PCR در صنعت دام، طیور و شیلات

آزمایش PCR به تجهیزات تخصصی و کارکنان آموزش دیده نیاز دارد. علاوه بر این، تفسیر نتایج PCR ممکن است به سطح خاصی از تخصص فنی نیاز داشته باشد. این موارد می‌تواند برای پرورش دهنده‌گان در مقیاس کوچک پرهزینه باشند. البته مراکز تکثیر و پرورش دهنده‌گان می‌توانند این چالش‌ها را از طریق همکاری با موسسات تحقیقاتی یا آزمایشگاه‌های تشخیصی بر طرف کنند. از طرفی، کارآبی آزمایش PCR به کیفیت نمونه‌های DNA بستگی دارد. مهار کننده‌های موجود در نمونه‌ها مانند مواد شیمیایی یا ناخالصی‌ها، می‌توانند بر فرآیند تکثیر DNA تأثیر بگذارند و منجر به نتایج مثبت کاذب و یا منفی کاذب شوند (Ador et al., 2021).

توصیه ترویجی

آزمایش PCR یک ابزار ضروری در صنعت دام، طیور و آبزیان می‌باشد که با ویژگی‌هایی مانند حساسیت و دقت بالا برای تشخیص سریع عوامل بیماری‌زا و تجزیه و تحلیل ژنتیکی بکار می‌رود. علاوه بر این، تکثیر کننده‌گان و پرورش دهنده‌گان حیوانات PCR می‌توانند با استفاده از نشانگرهای ژنتیکی مبتنی بر برنامه‌های اصلاح نژادی مؤثری را در زمینه انتخاب مولدهای برتر اجرا کنند. حتی اگر روش PCR هزینه اولیه بالاتری را نسبت به سایر روش‌ها دارا باشد اما اگر پرورش دهنده‌گان دام، طیور و آبزیان بدانند که به نتایجی دست خواهند یافت که می‌تواند به بهبود اقتصادی مزارع آن‌ها کمک کند، این افزایش هزینه را متناسب خواهند شد. در مجموع، ژنتیک نقش مهمی در بهبود کارآبی و پایداری تولید در بخش‌های دام، طیور و شیلات ایفا می‌کند و پیشرفت‌های آینده در زمینه‌های ژنومیکس، ویرایش ژنی و مطالعات همبستگی ژنی، نوآوری را در این صنایع ایجاد خواهند نمود و سرعت پیشرفت ژنتیکی را در مقایسه با روش‌های انتخابی سنتی افزایش خواهند داد.

Zhang (et al., 2023) جلوگیری از بروز افت ناشی از همخونی طراحی نمایند (.

۴- تشخیص جایگاه‌های ژنی مرتبط با صفات اقتصادی در حیوانات و انتخاب مولدهای برتر

این فناوری در شناسایی ژن‌های مرتبط با ویژگی‌های مطلوب مانند رشد سریع، مقاومت در برابر بیماری‌ها و تحمل در برابر شرایط محیطی در گونه‌های دام، طیور و آبزیان استفاده می‌شود. در صنعت شیلات نیز تکثیر کننده‌گان ماهی و میگو می‌توانند از طریق تجزیه و تحلیل الگوهای ژنتیکی کاندیداهای بالقوه اصلاح نژادی، مولدهای دارای صفات مطلوب مانند مقاومت در برابر بیماری و سرعت رشد بالاتر را انتخاب کنند. بنابراین موجب افزایش بهره‌وری و بهبود کیفیت و توسعه جمعیت‌های آبزیان از نظر ژنتیکی شوند (Ador et al., 2021).

مزایای استفاده از روش PCR در صنعت دام، طیور و شیلات

۱- تشخیص زودهنگام بیماری

با استفاده از آزمایش PCR امکان تشخیص زودهنگام بیماری‌ها در جمعیت‌های حیوانات و انجام اقدامات سریع برای کاهش شیوع بیماری فراهم می‌گردد. بنابراین خسارات اقتصادی به حداقل رسیده و از شیوع بیماری در مقیاس بزرگ جلوگیری می‌شود (Ador et al., 2021).

۲- صحت و دقت بالا در تشخیص بیماری

آزمایش PCR موجب شناسایی دقیق عوامل ایجاد کننده بیماری می‌گردد. بنابراین، پرورش دهنده‌گان می‌توانند اقدامات ایمنی زیستی و دستورالعمل‌های حفاظتی را به موقع اجرا کنند. این دقت در تشخیص و مدیریت بیماری، استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها و مواد شیمیایی را به حداقل رسانده و موجب پرورش پایدار و سازگار با محیط زیست می‌گردد (Ador et al., 2021).

- De Camargo, G.M.F. (2018). The role of molecular genetics in livestock production. *Animal Production Science*. 59(2): 201-206.
- Gil, L.A. (2007). PCR-based methods for fish and fishery products authentication. *Trends in Food Science & Technology*. 18(11): 558-566.
- Giridharan, P., Hemadri, D., Tosh, C., Sanyal, A., and Bandyopadhyay, S.K. (2005). Development and evaluation of a multiplex PCR for differentiation of foot-and-mouth disease virus strains native to India. *Journal of virological methods*. 126(1-2): 1-11.
- Khalil, M.I. (2021). Different types of PCR. *Global Scientific Journal*. 9(2).
- Liao, I.C., and Chien, Y.H. (2011). The pacific white shrimp, Litopenaeus vannamei, in Asia: The world's most widely cultured alien crustacean. In In the wrong place-alien marine crustaceans: Distribution, biology and impacts (pp. 489-519). Dordrecht: Springer Netherlands.
- Meng, X.H., Jang, I.K., Seo, H.C., and Cho, Y.R. (2010). A TaqMan real-time PCR assay for survey of white spot syndrome virus (WSSV) infections in Litopenaeus vannamei postlarvae and shrimp of farms in different grow-out seasons. *Aquaculture*. 310(1-2): 32-37.
- Rajalakshmi, S. (2017). Different types of PCR techniques and its applications. *International Journal of Pharmaceutical, Chemical & Biological Sciences*. 7(3).
- Vidic, J., Manzano, M., Chang, C.M., and Jaffrezic-Renault, N. (2017). Advanced biosensors for detection of pathogens related to livestock and poultry. *Veterinary research*. 48: 1-22.
- Zhang, Z., Lu, C., Lin, K., You, W., and Yang, Z. (2023). Genetic Diversity and Genetic Structure among Four Selected Strains of White leg Shrimp (Litopenaeus vannamei) Using SSR Markers. *Fishes*. 8(11): 544-555.

منابع

- پسندیده، م.، محمدآبادی، م. ر.، ترنگ، ع. ر.، اسماعیلی زاده کشکوییه، ع.، صیقلانی، ر.، انصاری مهیاری، س. و پسندیده، ر. (۱۳۹۰). ارتباط چندشکلی های تک نوکلئوتیدی T/C و A/C از ژن PPARGC1A با ترکیب و تولید شیر در گاوها هلشتاین ایران. *ژنتیک نوین*. ۶ (۳): ۲۳-۱۵.
- شجاعی، م.، محمدآبادی، م. ر.، اسدی فوزی، م.، اسماعیلی زاده کشکوییه، ع.، فردوسی، م. ح.، ترابی، ا.، طیارزاده، م. و میرزاخانی، ح. (۱۳۸۹). چگونگی استفاده از روش-PCR-SSCP برای بررسی چند شکلی ژن لپتین گوسفند کرمانی. *پژوهش‌های علوم دامی (دانش کشاورزی)*. ۲۰/۴ (۲): ۱۱۵-۱۲۲.
- شهوازی، ص.، رضایی، آ.، صیفی آباد شاپوری، م. ر.، علیشاهی، م. و آهنگرزاده، م. (۱۴۰۱). بررسی مولکولی کوی هرپس ویروس (Koi Herpesvirus) در تلفات مزارع پرورشی ماهیان گرمابی استان خوزستان. *مجله علمی شیلات ایران*. ۳۱ (۳): ۱۲۹-۱۳۸.
- همتی، ب. و نوشری، ع. ر. (۱۳۹۴). بررسی نقص‌های ژنتیکی BLAD و CVM با استفاده از سلول‌های سوماتیک شیر و سلول‌های خون در جمعیتی از گاوها هلشتاین. *نشریه پژوهش‌های علوم دامی*. ۲۵ (۲): ۲۱-۱۳.
- Ador, M.A.A., Haque, M.S., Paul, S.I., Chakma, J., Ehsan, R., and Rahman, A. (2021). Potential application of PCR based molecular methods in fish pathogen identification: A Review. *Aquaculture Studies*. 22(1). DOI: 10.4194/2618-6381/AQUAST621
- Chua, K.H., Lee, P.C., and Chai, H.C. (2016). Development of insulated isothermal PCR for rapid on-site malaria detection. *Malaria Journal*. 15: 1-10.
- Dangtip, S., Sirikharin, R., Sanguanrut, P., Thitamadee, S., Sritunyalucksana, K., Taengchayaphum, S., and Flegel, T.W. (2015). AP4 method for two-tube nested PCR detection of AHPND isolates of Vibrio parahaemolyticus. *Aquaculture reports*. 2: 158-162.

