

NAGYLÉPTÉKŰ 'OMIKAI' ELJÁRÁSOK ALKALMAZÁSA A MODERN HALTENYÉSZTÉSBN

ORBÁN LÁSZLÓ - BOGNÁR ANDRÁS - HAVASI MÁTÉ - SZEVERÉNYI ILDIKÓ -
VARGA LÁSZLÓ

ÖSSZEFOGLALÁS

Az emberiség rohamos mértékben emelkedő lélekszáma, és természetes vizeink szennyezett-ségének növekedése egyre fokozódó kettős nyomást gyakorol akvakultúránkra. Egyre több és jobb halhúst kell megtermelni úgy, hogy vizeinket minél kevésbé terheljük. Erre nyilvánvalóan csak akkor van esély, ha a haltenyésztést hatékonyabbá tesszük a legmodernebb kutatások eredményein alapuló technológiák által biztosított előnyöknek a hagyományos módszerekkel való kombinálása révén. Ennek a szemléző cikknek az elsődleges célja az, hogy megmutassa, milyen módon segíthetik az örökítő anyag rendszerszintű vizsgálatának, a genomikának, epigenomikának, transzkriptomikának és metabiomikának a különböző eszközei a modern halbiológiai és haltenyésztéssel kapcsolatos kutatásokat. A közlemény az akvakultúra két olyan területét tekinti át, ahol a fenti, nagyhatékony-ságú eljárások és/vagy a rendszer-szintű megközelítés lehetővé tette, hogy a kutatók és tenyésztők alkotta munkacsoportok korábban elképzelhetetlen felbontású információhoz jussanak, és fontos problémák megoldásához kerüljenek közelebb. Ez a két terület: (i) az elit tenyészvonalak létrehozása genomszelekcióval; és (ii) a haltenyésztési technológiák hatékonyságának növelése 'omikai' eljárások alkalmazásával. Jelen áttekintő közlemény nyilvánvalóan szubjektív és nem foglalja magába a nagyhatékony-ságú megközelítések által a halas kutatások számára kínált lehetséges előnyök teljes tárházát, ugyanakkor reményeink szerint a termelők és a területen kívül dolgozó kutatók számára is jól demonstrálja az 'omikai' kutatásokban rejlő lehetőségeket. A közleményben ismertetett eljárások zömét egyes hazai kutatólaborok rutinszerűen alkalmazzák, így elérhetőek a termelő egységek számára is. Kíváncsunk lenne mielőbbi bevezetésük a hazai haltenyésztési technológiákba, ezáltal segítve a hazai akvakultúra továbbfejlesztését és modernizálását.

SUMMARY

Orbán, L. - Bognár, A. - Havasi, M. - Szeverényi, I. - Varga, L.: APPLICATION OF LARGE-SCALE 'OMICS' TECHNOLOGIES IN MODERN AQUACULTURE

The drastically growing human population and the increasing pollution level of natural water bodies places our aquaculture under double pressure. We need to produce more seafood of better quality without further increasing the load on our rivers, lakes and oceans. Our only chance to solve this problem is to make our aquaculture more efficient by combining approaches developed through the use of cutting-edge technologies developed based on our latest research advances with traditional approaches. The primary purpose of this review is to show how can the high throughput analyses performed with various tools of genomics, epigenomics, transcriptomics and metagenomics help modern research on fish biology and aquaculture. We have selected to such areas of fish production, where the above approaches and/or systems science made it possible for teams consisting researchers and farmers to access new information to a hitherto unexpected resolution and thereby helping them to solve their problems. These two areas are: (i) generation of elite breeding lines by genomic selection; and (ii) improving the efficiency of aquaculture technologies through the use of omic platforms. This review is obviously subjective and does not involve the full repertoire offered by 'omic' approaches for aquaculture research. Nonetheless, the authors hope that it will provide a useful demonstration of opportunities for researchers and farmers alike. Most platforms introduced in the review are routinely used by some of the Hungarian laboratories and/or service providers, thus they are available for the farms as well. The incorporation of these platforms into the aquaculture technologies would be highly desirable as they could help the improvement and modernization of fish production of Hungary.

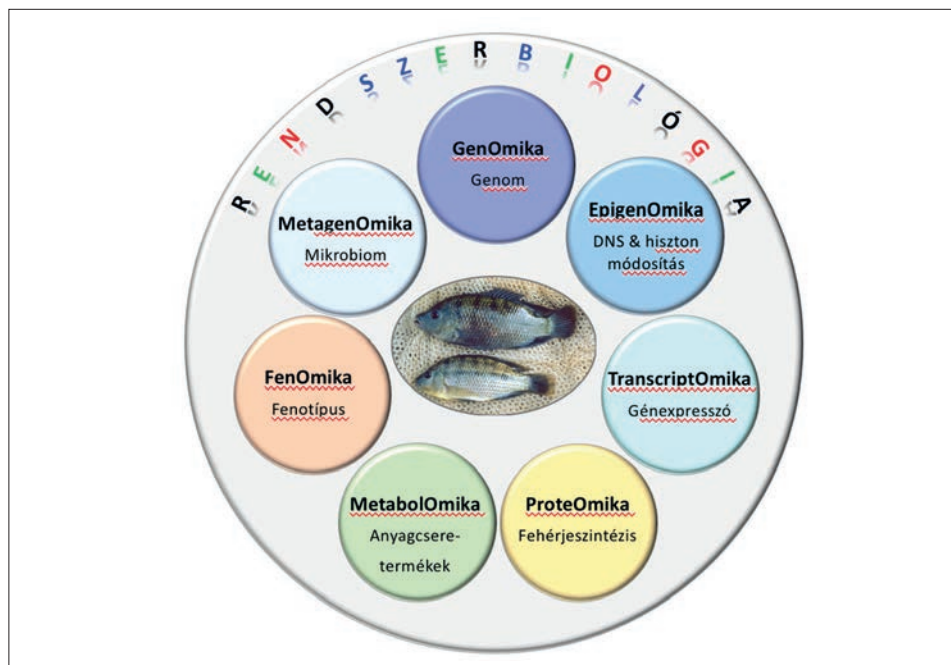
BEVEZETÉS

A halak ősidők óta fontos szerepet töltenek be az emberiség táplálkozásában. Őseink kezdetben a természetes vizekből kifogott példányokat fogyasztották, később azonban a szárazföldi fajokhoz hasonlóan elkezdődött a halak befogása és háziasítása is. Az első fogságban szaporított hal feltehetően ponty vagy nilusi tilápia volt (*Teletchea*, 2018) évezredekkel ezelőtt, mára már több mint 350 halfaj egyedeit tenyésztik, főként édesvízi farmokon (*FAO*, 2020). Az akvakultúrával 2018-ban megtermelt 82,1 millió tonna termék (halak, gerinctelenek és növények együtt) közel 46%-át tette ki a világ akkori teljes termelésének, a maradékot elsősorban a tengeri halászat biztosította, melynek volumene egyre lassabban növekszik és egyes becslések szerint a közeljövőben elérheti a maximumát. A jövőben tehát várhatóan egyre több teher hárul majd akvakultúránkra: egyre több és jobb minőségű halhúst kell megtermelnünk, ráadásul úgy, hogy vizeinket minél kevésbé terheljük, hiszen azok szennyezettsége egyre fokozódik. Erre nyilvánvalóan csak akkor lesz esélyünk, ha a hagyományos tenyésztési technológiákat továbbfejlesztjük a legfrissebb tudományos eredményeken alapuló módszerekkel.

Az elmúlt három évtized során a biológiai kutatások területén forradalmi változások zajlottak le, melyek eredményeként az addig általában egyszerre egy vagy néhány célpontot vizsgáló eljárások (pl. genetika, vagy biokémia) mellé felzárkóztak a nagyléptékű megközelítések is. Számos olyan diszciplína jött létre, mint például a teljes genomot vizsgáló genomika, a fehérjekészleteket analizáló proteomika vagy a kis molekulásúlyú anyagcseretermékeket (metabolitokat) kimutató metabolomika, melyek lényege, hogy az élőlényeket nagyhatékonyságú eljárásokkal vizsgálják (*1. ábra*). Ezeket a tudományágakat összefoglaló néven 'omikáknak', párhuzamos alkalmazásukat pedig 'multi-omikai' megközelítésnek vagy rendszerbiológiának nevezzük (*Hasin és mtsai*, 2017). Szemben a klasszikus, hipotézis alapú kutatásokkal, az 'omikák' és a rendszertudomány hipotéziseket előállító megközelítések (*Horgan és Kenny*, 2011).

Jelen közlemény terjedelmi korlátai miatt nem adhat teljeskörű és részletes összefoglalást az 'omikák' több tucatnyi területéről és azok összefüggéseiről, szerencsére ezt mások korábban már megtették (*Horgan és Kenny*, 2011; *Coughlin*, 2014). Ehelyett az a célunk, hogy megmutassuk, milyen módon segíthetik a nagyléptékű és hatékony 'omikai' eljárások a modern halas kutatásokat és ezen keresztül a haltenyésztés hatékonyságának növelését. Ehhez négy 'omikai' eljárást kell röviden bemutatnunk. A genomika a teljes örökítő anyag, azaz az összes kromoszóma egyidejű vizsgálatával foglalkozik (*Lander*, 1996), míg az epigenomika azokat a visszafordítható módosításokat kutatja, melyek a DNS-re vagy az azt burkoló hisztonokra rakódva hatnak a gének megnyilvánulására anélkül, hogy a DNS szekvenciáját megváltoztatnák (*Novik és mtsai*, 2002). A transzkriptomika az adott körülmények között megnyilvánuló génkészletet analizálja (*Wolf*, 2013), míg a metagenomika, más néven metabiometika a komplex, esetenként fajok ezreit tartalmazó, környezeti minták örökítő anyagának elemzésével foglalkozik (*Xu*, 2006; *Wooley és mtsai*, 2010). Lényeges különbség az első és a másik három terület között, hogy míg egy egyed genomja az élete folyamán egyes sejtjeiben bekövetkező mutációktól eltekintve állandó, addig epigenomja, transzkriptómája és benne/felszínén található mikroorganizmusok metagenomja plasztikusan változhat a környezeti tényezők hatására.

1. ábra Az akvakultúrában alkalmazott 'omikai' eljárások szelektált gyűjteménye



A halak körül elhelyezkedő színes körök egy-egy olyan 'omikai' eljárást reprezentálnak, melyet az akvakultúrában sikerrel alkalmaztak a tenyészállományok vagy a technológiák fejlesztése céljából. Együttes alkalmazásukat rendszerbiológiának nevezzük. A lista nem teljes, további eljárásokat is alkalmaztak az akvakultúrában, míg mások bevonása erősen kívánatos volna.

Figure 1. A selected set of omics approaches utilized in aquaculture

Each colored circle around the fishes in center represents an 'omics' approach that has been successfully utilized for the improvement of broodstock or advancement of technology. Parallel use of several 'omics' approaches is called systems biology. The list is not complete, as several other platforms have been used, whereas incorporation of others would be desirable.

Az akvakultúra két olyan területét választottuk ki, ahol a fenti, nagyhatékonyságú eljárások és/vagy a rendszer-szintű megközelítés alkalmazása lehetővé tette, hogy a kutatók és tenyésztők alkotta munkacsoportok korábban elképzelhetetlen felbontású információhoz jussanak, és általuk fontos problémák megoldásához kerüljenek közelebb. Ez a két terület: (i) az elit tenésvonalak létrehozása genomikai szelekcióval; (ii) a haltenyésztési technológiák hatékonyságának növelése 'omikai' eljárások alkalmazásával. Az omikák akvakultúrában történő alkalmazásáról a közelmúltban több szemleci is megjelent (Samuelsson és Larsson, 2008); Lokman és Symonds, 2014; Raposo de Magalhães és mtsai, 2018), melyekből az olvasó további 'omikai' eljárásokat és újabb alkalmazási lehetőségeket ismerhet meg.

Elit tenyészvonalak létrehozása genomikai szelekcióval

Mielőtt a genomikai szelekciót bemutatnánk, röviden ismertetjük a haszonállatokon végzett szelekció történetét, mely az évszázadokon át tökéletesített fenotípusos szelekcióval indult. A következő fontos lépés a markerek segítségével végzett szelekció volt, melyet a genomok kellő szintű megértése után a genomikai szelekció váltott fel. Mivel a szárazföldi haszonállatokban (pl. szarvasmarha, sertés vagy tyúk) a fenti eljárások alkalmazása sokkal előrehaladottabb állapotban van, mint a halaknál, így példáinkat többször ezekből a fajokból vesszük majd.

Fenotípusos szelekció

A domesztikáció tízezer évre tehető története alatt az állattenyésztők a fenotípus alapján végezték a szelekciót és sokan így végzik még ma is. E szelekciós forma hatékonysága, illetve a generációk közötti szelekciós előrehaladás mértéke attól függ, hogy az illető tulajdonság sokféleségében (fenotípusos variancia) mekkora szerepet játszanak a genetikai faktorok (genetikai variancia). A h^2 (örökölhetőség) az a hányados, amely ezt számszerűleg is becsli egy nullától egyig terjedő skálán.

Az egygénés, úgynevezett mendelező tulajdonságoknál, ahol a $h^2=1$, ott kizárólag a genetikai faktorok határozzák meg a fenotípust. Szemléletes példák az ilyen fenotípusos szelekció hatékonyságára a különböző aranyhal változatok, amelyek számos szín- és egyéb morfológiai tulajdonsággal rendelkeznek: (pl. fátyolos farkú, teleszkópszemű, pirossapkás stb.), s mindezeket – a díszhal tenyésztés szempontjából jellegtelennek tűnő halból – az ezüstkárászból tenyésztették ki évszázadok alatt Kínában.

A legfontosabb termelési tulajdonságok viszont többgénés öröklésmenetet mutatnak, amelyeknél számos – a genom különböző pontjain elhelyezkedő – kisebb nagyobb hatású gén bonyolult kölcsönhatása, valamint jelentős környezeti hatás együttes eredőjeként alakul ki a fenotípus. E tulajdonságok h^2 értéke jellemzően alacsony és így a fenotípusos szelekció hatékonysága, a szelekciós előrehaladás mértéke is jellemzően alacsonyabb.

Markerek segítségével végzett szelekció

A genetika technikai és módszertani fejlődésével először a kilencvenes években nyílt lehetőség az egygénés öröklésmenetet mutató tulajdonságokat meghatározó mutációk feltérképezésére, azaz egy adott kromoszóma régióba történő lokalizálására. Az ezt követő finomfelbontású géntérképezés során pedig a ható mutáció pontos helyét és kilétét lehet meghatározni. Ha ez sikerül, akkor úgynevezett direkt géntesztel lehet közvetlenül magát a mutációt genotipizálni és ezt az információt felhasználni a tenyésztésben: ha a mutáció előnyös, akkor bevonható a pozitív szelekcióba, ha káros (pl. betegséget okoz), akkor pedig ellene lehet szelektálni.

Az ezt megelőző térképezést genetikai markerekkel végzik. Ezek olyan polimorf szekvenciák, amelyeket a genetikusok azért azonosítanak, dolgozzák ki a detektálási technológiájukat és térképezik fel az egymáshoz viszonyított pontos pozíciójukat, hogy utána ezekhez képest lehessen feltérképezni az állattenyésztési szempontból fontos mutációk helyét a genomban. A kilencvenes évek elején

fedezték fel a mikroszatellit markereket és használják ezeket azóta is a gén térképezésben. Előnyeik: egyszerű kodomináns öröklésmenetet mutatnak, számos allélváltozattal rendelkeznek (polimorfizmus), kimutatásuk pontos és egyértelmű, továbbá a genom bármely pontján megtalálhatók (*Ellegren*, 2004). Polimorf jellegük miatt ezeket a markereket a származásellenőrzésben is hatékonyan alkalmazzák.

A markerek segítségével végzett szelekció (angolul 'Marker Assisted Selection', röviden MAS) volt az első olyan stratégia, ahol a szelekció alapját nem a fenotípus, hanem a genotípus jelentette. E módszernek az a lényege, hogy, ha genetikai markerekkel be lehet térképezni az adott ható mutációt egy szűk kromoszómaregióna, akkor még az előtt, hogy magát a mutációt azonosították volna, a szomszédos markerek segítségével megállapítható, hogy az egyes utódok valóban örökölték-e a szóban forgó mutációt az egyik, vagy másik szülőtől, avagy sem (*Wakchaure és mtsai*, 2015). A MAS-hoz nagy reményeket fűztek a kilencvenes években, de sajnos a legtöbb esetben mégsem eredményezett széles körben átúto sikereket. Ennek az volt az oka, hogy a mikroszatelliteknek, a teljes genomhoz viszonyított száma és a térképezés hatékonysága nem volt alkalmas arra, hogy a ható gén legszorosabb szomszédságába pozícionálja a markereket. Így ezek a kapcsolatok pár generáción belül felbomlottak és a ható mutáció átadódását már nem lehetett megbízhatóan nyomon követni a generációk között.

Genomikai szelekció (GS)

A genomikában hatalmas robbanás játszódott le az ezredfordulón, s a fejlődés azóta exponenciális jelleggel folytatódik napjainkban is. E robbanást az emberi genom 3,3 milliárd nukleotid (3,3 gigabázis, azaz Gb) sorrendjének meghatározása (teljes genom szekvenálás) jelentette. Ezt az egyik valaha volt legnagyobb tudományos összefogás, az emberi genom projekt (angolul: Human Genome Project, HGP) keretében hajtották végre a világ vezető laboratóriumai (*Lander és mtsai*, 2001; *Venter és mtsai*, 2001). A HGP nemcsak az emberi, de a modellállatok (pl.: egér; *Waterston és mtsai*, 2002) és a legfontosabb háziállat fajok [pl. a tyúk (*International Chicken Genome Sequencing Consortium*, 2004), kutya (*Linblad-Toh és mtsai*, 2005), szarvasmarha (*Bovine Genome Sequencing and Analysis Consortium és mtsai*, 2009), sertés (*Groenen és mtsai*, 2012) és juh (*Jiang és mtsai*, 2014)] teljes genom szekvenciájának elkészítését is megvalósította. Megszülettek az első hal genomok is, például a pöttyös zöld bőrröndhal (*Aparicio és mtsai*, 2002), japán medaka (*Kasahara és mtsai*, 2007) illetve zebradánio (*Howe és mtsai*, 2013) modelleké, majd egyre több haszonhalé is [pl. bölcsőszájú halak (*Cichlidae*; *Brawand és mtsai*, 2014), és az ázsiai tengeri sügér (*Vij és mtsai*, 2016)]. További cél volt a genomika fejlődéséhez szükséges korszerűbb és hatékony platformok kifejlesztése is. Így dolgozták ki az ún. következő generációs szekvenálást (angolul Next Generation Sequencing, NGS vagy High Throughput Sequencing, HTS; *Kircher és Kelso*, 2010) és az SNP-chip technológiát (*LaFramboise*, 2009) is. Az NGS hatékonyságát jól jellemzi, hogy míg az előbb említett első emberi szekvencia tíz éven keresztül készült első generációs 'Sanger' szekvenálással és nagy nemzetközi összefogással, addig ma egyetlen NGS készülékkel egy teljes emberi genomot meg lehet szekvenálni pár óra alatt ezer dollár alatti költséggel.

Az SNP-chip módszer egy új típusú genetikai markert használ: az SNP-t (az

angol 'Single Nucleotide Polymorphism' kifejezés rövidítése), ami egy bázis különbséget jelent a genom adott pontján (Kim és Misra, 2007). Az SNP egyedileg sokkal gyengébb marker, mint a mikroszatellit, mert jellemzően minden SNP-nek csak két allélja van. Ugyanakkor hatalmas előnye, hogy egyrészt a kimutatása (genotipizálása) teljesen automatizálható, másrészt a nanotechnológiával elkészített SNP-chipeken, egy mikroszkópos tárgylemez felületén, ezres-tízezres-százezres-millió léptékben ('low-medium-high density chip') lehet SNP-ket genotipizálni egyetlen lépésben. E chipet nagy nemzetközi gyártók készítenek minden fontosabb háziállatfajra. A SNP-ket úgy választják ki, hogy azok egyenletesen fedjék le a genomot. A legfontosabb fajok esetében többféle markersűrűségű chip is rendelkezésre áll.

Az SNP-chipek megjelenése tette lehetővé a genomszelekciót (GS), amely gyökeresen felforgatta és teljesen új alapokra helyezte a nemzetközi tejlómarha fajták szelekciós stratégiáját, és az állattenyésztés többi ágazatát is kezdi jelentősen megváltoztatni (Goddard és Hayes, 2007). A GS azon az elméleti tézisen alapul, hogy ha a genomot sűrűn pozicionált SNP-markerekkel vizsgáljuk, akkor egy mennyiségi tulajdonságra – például tejtermelésre – ható összes, kisebb-nagyobb hatású, ismeretlen pozíciójú gén szoros fizikai közelségben lesz minimum egy SNP markerhez, amelyeknek viszont ismert helye a kromoszómákon (Meuwissen és mtsai, 2001).

A GS-hez szükség van még egy referencia populációra (RP) is. Ebbe minél több, lehetőleg több ezer olyan bikát kell összegyűjteni, amelyeknek ivadékvizsgálatuk alapján igazoltan kiváló tejtermelési képességet örökítenek nőivarú utódaikra. Ha ezeket a bikákat genotipizálják a kiválasztott SNP-chipre, akkor egy speciális, összhangot mutató mintázatot kapnak azokra az SNP-ekre, amelyek a tejtermelésre ható gének közvetlen szomszédságaiban vannak. Ez a mintázat fog megfelelni a „jó tejtermelésnek”. A következő lépésben kiválasztják azokat a kisbikákat, amelyek a küllemük és a származásuk alapján megfelelő jövőendő tenyészállat-jelöltek lehetnének és ezeket ugyancsak genotipizálják az SNP-chipre. Ezek közül azokból lesznek a legjobb tejtermelési képességet örökítő bikák, amelyeknek az SNP mintázata minél jobban összhangban van a fent bemutatott, „jó tejtermelést” megtestesítő összesített mintázattal. Ezt az összefüggést egy komplex matematikai egyenlettel számolják ki. A korreláció olyan szoros az egyenlet adta SNP értékek és a valódi tenyészérték között, hogy az USA-ban egyre inkább háttérbe szorul a nagy költségekkel járó klasszikus ivadékvizsgálat. Helyette egyre nagyobb teret hódít a GS, mellyel a jó SNP mintázattal rendelkező „genomi kisbikákat”, már az ivarérettség előtt jó áron tudják értékesíteni. Az SNP genotipizálás ugyan költséges módszer, de ebben az ágazatban megtérül a befektetés, mert a tenyészvárományos növendék bikáknak nem kell hat évet várakoznia, míg az ivadékvizsgálat alapján eldől a tejtermelési örökítőkéességük, s ez jelentős költségmegtakarítást eredményez. A többi háziállat fajnál a helyzet nem ennyire egyértelmű, ezeknél számos tényező alakítja a GS jövőendő alkalmazhatóságát.

Ahogy korábban említettük a haszonhalak szelekciója jóval később kezdődött a szárazföldi haszonállatokénál. Ráadásul a halak genomja a közös ősökben lezajlott teljes genomkettőződés (angolul 'teleost-specific genome duplication', röviden TGD; Christoffels és mtsai, 2004; Meyer and Van de Peer, 2005) és az egyes csoportok, így például a lazacfélék vagy tokfélék, közös őseiben lezajlott

további genom kettőződéseket (Guyomard és mtsai, 2012; Berthelot és mtsai, 2014) következtében általában komplexebb, mint az emlősöké vagy madaraké (Wittbrodt és mtsai, 1998; Sandve és mtsai, 2018). A fenti okok miatt egyelőre kevés tenyésztés számára fontos haszonhal fajban végeztek genomi szelekciót. Mivel a halaknál – a lazacfélék kivételével – mind a termelt mennyiség, mind pedig a kilónkénti ár túl alacsony ahhoz, hogy fedezze az SNP chipek nagyléptékű előállítását, ezért halakon a genomok analízisét inkább nagyhatékonyságú szekvenálással végzik. Ennek a megközelítésnek angolul ‘genotyping-by-sequencing’, azaz GBS a neve, melynek több változata is van (Robledo és mtsai, 2018). A leggyakrabban az ún. ‘restriction-site associated DNA mapping’ (RADseq vagy RADmap) eljárást (Baird és mtsai, 2008; Peterson és mtsai, 2012) alkalmazzák, melynek során nem a teljes genomot, hanem annak egy ügyes trükkkel kiszortírozott tizedét-husadát szekvenálják meg. Így nincs szükség nagyszámú SNP marker azonosítására és jellemzésére, elegendő csak azokat vizsgálni, amelyek a kiválasztott szakaszokon helyezkednek el.

Az atlanti lazac (*Salmo salar*; innen: lazac) a világ halhústermelésének 4,5 %-át [azaz közel 2,5 millió tonnát; (FAO, 2020)] szolgáltatja, ennek megfelelően a faj kutatására is igen komoly erők összpontosulnak. A lazacot fertőző megbetegedések elleni küzdelemben egyre fontosabb szerepet tölt be az a szisztematikus szelekciós munka, mellyel egyes betegségek ellen fokozott toleranciát mutató tenésvonalakat fejlesztenek ki. A fertőző hasnyálmirigy elhalás vírusa (angolul infectious pancreas necrosis virus, IPNV) komoly mértékű elhullásokat okozott a lazac farmokon világszerte. A lazac genomjának szisztematikus átfésülésével sikerült azonosítani egy olyan ‘quantitativ trait locus’-nak, azaz QTL-nek nevezett genomrégiót (Würschum, 2012), mely az IPN-nel szembeni ellenállás több mint feléért felelős (Houston és mtsai, 2008; Moen és mtsai, 2009). Ennek alapján kidolgoztak egy olyan genotipizáló tesztet, melynek alkalmazásával IPN-rezisztens lazac vonalakat fejlesztettek ki, ezáltal drámai mértékben lecsökkentve a vírus okozta problémákat a lazactenyésztésben. Később teljes genom szekvenálással sikerült feltárni a QTL-és és azonosítani azt az epithelial cadherin (*cdh1*) gént, melynek fehérjeterméke szerepet játszik a vírus sejtekbe történő bejutásában, és melynek mutációja fokozza a fertőzés ellen rezisztenciát (Moen és mtsai, 2015).

Mivel az atlanti lazac tengeri termelése során legnagyobb gondot okozó vírusok és baktériumok legtöbbjére ellen sikerült hatékony vakcinákat kifejleszteni (Bravo és Midtlyng, 2007; Midtlyng és mtsai, 2011), így a farmok számára ma a legnagyobb problémát a köznyelv által vízitétűknek (angolul ‘sea lice’) nevezett ektoparaziták okozta fertőzés jelenti. Ezek valójában az evezőlábú rákok (Copepoda) milliméter nagyságú lárvái, melyek a lazacok bőrén élősködve lokális gyulladásokat okoznak és immunszuppresszáns hatást fejtenek ki (Finstad és mtsai, 2000). Európában elsősorban a *Lepeophtheirus salmonis*, míg Dél Amerikában elsősorban a *Caligus rogercresseyi* lárvái okoznak problémát a lazactenyésztők számára. Az elmúlt évtized során számos eljárást teszteltek ezen paraziták elleni védekezésre, így például kémiai kezeléseket, tisztító halakat vagy a táplálékhoz kevert adalékanyagokat (Núñez-Acuña és mtsai, 2015; Gentry és mtsai, 2020; Hannisdal és mtsai, 2020). Több esetben tapasztaltak ugyan kíváncsi hatást, de a problémát egyik alkalmazása sem oldotta meg. Így a figyelem egyre inkább azon erőfeszítések felé fordult, melyek a genomselekció segítségével próbálnak

olyan lazacvonalakat kifejleszteni, melyek fokozott toleranciát mutatnak ezen ektoparazitákkal szemben (Gharbi és mtsai, 2015; Gallardo-Escárate és mtsai, 2019). A lazac után – némi késéssel – megindultak a genomszelekciós kutatások több más halfajban, így például a nílusi tilápiában (Xia és mtsai, 2015), az ázsiai tengeri sügérben (Wang és mtsai, 2017), európai tengeri sügérben (Palaïokostas és mtsai, 2018) és a japán lepényhalban (Zhou és mtsai, 2020). Ezen programok célja – a lazachoz hasonlóan – elsősorban olyan elit tenyészvonalak előállítás, melyek nagyobb növekedési eréllyel és bizonyos fertőző betegségekkel szembeni fokozott ellenállással rendelkeznek.

A haltenyésztési technológiák hatékonyságának növelése 'omikai' eljárások alkalmazásával

Az intenzív haltenyésztés legnagyobb kihívása: hogyan lehet minél több halhúst megtermelni költséghatékonyan egy adott térfogatban a lehető legrövidebb idő alatt úgy, hogy a környezetet minél kevésbé szennyezzük. A nagyhatékonyságú 'omikai' eljárások ehhez is több ponton nyújthatnak segítséget.

Haltenyésztő rendszerek metagenomikai analízise

A költséghatékonyság fokozása miatt a zárt intenzív haltartó rendszerek felhasználói arra kényszerülnek, hogy drasztikusan fokozzák az egységnyi térfogatra eső állománysűrűséget. A nyilvánvaló előnyök mellett ennek sajnos megvannak a hátrányai is, hiszen az ilyen rendszerekben a halak az állandó fizikai közelség miatt nagyobb stresszhatásnak vannak kitéve, és ez hosszú távon növelheti a fertőző betegségek kialakulásának esélyét és drasztikusan felgyorsíthatja azok lefolyásának menetét is (Snieszko, 1974; Conte, 2004). Könnyen belátható, hogy a védekezés egyik frontja az ilyen rendszerek gyakori monitorozása olyan eljárásokkal, melyekkel a fertőzéseket már kezdeti fázisukban detektálhatjuk.

A metagenomika segítségével a környezetünkből gyűjtött minták mikrobiális genetikai analízisét végezhetjük el anélkül, hogy a mintában jelenlevő baktériumokat (és/vagy vírusokat és gombákat) izolálnunk kellene (Xu, 2006; Wooley és mtsai, 2010). Intenzív farmok befolyó és kifolyó vizének rendszeres metagenomikai monitorozásával a rendszerek állapota könnyen leellenőrizhető, és a biofilterekben bekövetkező változások azok korai fázisában megfigyelhetők (Bentzon-Tilia és mtsai, 2016; Martínez-Porchas és Vargas-Albores, 2017). Különböző körülmények között működtetett recirkulált vizű haltenyésztő rendszerekben ('recirculating aquaculture system', RAS) a biofilterek mikrobiomjának összetétele jelentősen eltér (Huang és mtsai, 2016), jelezve, hogy ezzel az eljárással a rendszerben esetlegesen bekövetkező kedvezőtlen változásokat követni, sőt esetleg korán előre jelezni is lehet. Mivel a tartási körülmények hatással vannak a halak belében illetve felszínüket borító nyálkarétegben élő mikroorganizmusokra (de Bruijn és mtsai, 2018), valószínűsíthető, hogy a halakat borító nyálkaréteg vagy az általuk termelt bélsár rendszeres metagenomikai analízisével akár a stressz vagy a felbukkanó betegségek korai hatását is detektálni lehet majd (Llewellyn és mtsai, 2014).

*A fertőző betegségek folyamatainak és az ellenük való védekezés
lehetőségeinek 'omikai' analízise*

Az „omikák” alkalmazása lehetővé teszi a patogén-gazdaszervezet közötti kölcsönhatások mélyebb megértését is. A nagyhatékonyságú szekvenálási eljárások szélesebb körű hozzáférhetőségével feltárhatóvá vált a halak immunrendszerének genetikai háttere és ezzel párhuzamosan a legfontosabb patogének genomja is megismerhetővé vált. A bioinformatikai kapacitások bővülésével azonosíthatóvá váltak kulcsfontosságú gének és jelátviteli útvonalak, amelyek fontos szereppel bírnak a patomechanizmusok megértésében, a rezisztencia és fogékonyság molekuláris manifesztálódásában és a halak immunrendszerének evolúciós fejlődésében. Lehetővé vált a humán és rágcsáló ismeretanyag alapján végzett kísérletes összehasonlító jellegű analízisektől való elszakadás, és a 'de novo' eredményekre és az egyre növekvő számú hal genom alkotta információs bázisra támaszkodva a halak egyedi evolúciós és fajspecifikus megoldásainak azonosítása.

Korábban a halak immunrendszerének és a betegségek patomechanizmusának vizsgálata elsősorban bizonyos gének azonosítására illetve fehérje funkciók tisztázására szorítkozott, így például a komplement faktor gén klónozására (Kuroda és mtsai, 1996), vagy az immunglobulin gének organizációjának tisztázására (Amemiya és mtsai, 1990). Ugyanakkor, a halakra jellemző egyedi evolúciós megoldások és az immunrendszer működésének holisztikus feltárása váratott magára.

Önmagában a genomszekvenálások is rendkívül érdekes immun-evolúcióbíológiai vonatkozásokat tártak fel egyes fajok esetében. Az atlanti tőkehal genomjának elemzése során kimutatták az MHC-II és a CD4 receptort kódoló gének hiányát, így igazolták az adaptív immunrendszer CD4 helper T sejt alapú aktivációjának diszfunkcionalitását. A kibővült MHC-I gének számával és a csontos halak közötti legnagyobb változatosságot mutató Toll-szerű receptor készlettel kompenzálva egyedi evolúciós immunbiológiai fejlődési útra derült fény a gerincesek között a genomika alkalmazásával (Star és mtsai, 2011). Később a fajokon átívelő vizsgálatok is megvalósíthatóvá váltak: 66 halfaj részleges genomjának összehasonlító elemzésével feltárták, hogy a vizsgált 27 tőkehalfélére általános érvényű a gerincesek között egyedülálló MHC-II deficiens immunrendszer architektúrája (Malmstrøm és mtsai, 2016). Egy tőkehalféle (*Syngnathus typhle*) esetében is leírták a funkcionális MHC-II gének hiányát igazolva, hogy ez genomikus esemény a fejlődésbiológiaiilag egymástól távol álló csoportokban következett be (Magadan és mtsai, 2015).

A csontos halak komplex interakcióit vizsgáló immunológiai vizsgálatokban a célszervek (kopolyú, lép, vese, máj) vagy egyes sejtcsoportjaik transzkriptóma analízise megkerülhetetlen lépéssé vált. Kiválóan szemlélteti ennek hasznosságát az a metaanalízis, amely 80 közlemény alapján hasonlította össze a különböző halfajok bakteriális, virális vagy parazita fertőzésre adott immunválaszát génextpressziós szinten (Sudhagar és mtsai, 2018). Eredményeik segítettek felderíteni a különböző halfajokban eltérő patogének által kiváltott molekuláris immunválasz konzervált elemeit. Szintén transzkriptóma vizsgálatokkal igazolták a halak vörösvérsejtjeinek aktív immunológiai funkcióját is (Shen és mtsai, 2018).

A transzkriptóma analízise az immunfunkciók feltárásán túl a betegség által érintett egyéb folyamatokban, így például a metabolizmusban történő válto-

zásokat is felderítheti. A 'grass carp rheovirus'-sal (GCRV) fertőzött amurok gasztrointesztinális rendszerében a megváltozott immunműködésen túl lipid és szénhidrát anyagcserezavarokat mutattak ki ezzel az eljárással, ezáltal kiterjesztve a vírus patobiológiájával kapcsolatos ismereteinket (Shi és mtsai, 2014).

Gazdasági haszonhalak esetében a jelentős károkat okozó patogének indukálta molekuláris változások azonosítása segíti a gazda-patogén kapcsolatának jobb megértését, ezáltal előre mozdítva a kórokozók elleni védekezés folyamatát is. *Aeromonas hydrophila*-val fertőzött pontyok lépéből például 2900 differenciáltan expresszált gént azonosítottak (Jiang és mtsai, 2016), melyek segíthetnek a baktérium patobiológiájának megértésében.

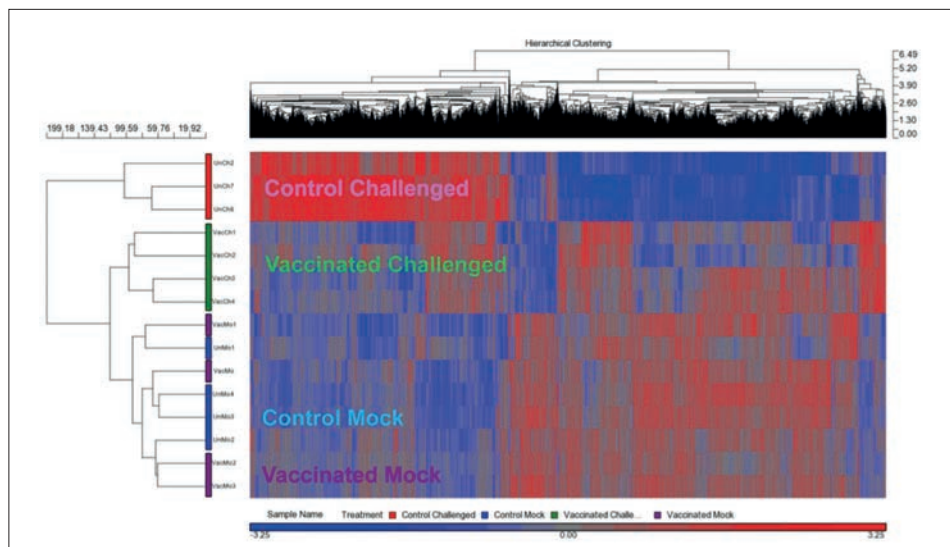
A vakcinálási stratégiák tervezését és a vakcinák hatásmechanizmusának megértését is segíti az omikák eszközei. Az *Edwardsiella tarda* egy olyan fakultatív anaerob, Gram negatív baktérium, mely több halfajt képes megfertőzni, szepszist okozva. Amikor zebradániót kezeltek élő, attenuált *E. tarda* elleni vakcinával, a máj transzkriptómájának analízise felfedte, hogy a vakcinázás kezdeti szakaszában az egyes 'major histocompatibility complex' (MHC-I) génjei fokozott expressziót mutattak, ugyanakkor lecsökkent az MHC-II génjeinek megnyilvánulása (Yang és mtsai, 2012). Ezek az eredmények igazolták a feltételezett immunválasz mechanizmusát és jó példát szolgáltatnak a genomika alkalmazhatóságára megfelelő vakcinázási stratégiák kialakításához. Egy másik kísérletben, egy kereskedelmi forgalomban lévő, *Streptococcus iniae* baktérium elleni vakcina hatását tesztelték ázsiai tengeri sügér ivadékokon. A vakcinázott és a vakcinával nem kezelt egyedeket fertőzve, azok lépének és fejveséjének transzkriptómáját hasonlították össze. A kapott eredmények nem csak a vakcinázás és fertőzés hatására differenciált expressziót (azaz jelentősen eltérő megnyilvánulást) mutató gének százait azonosították, hanem néhány tucat olyan gént is, melyek a vakcinázott egyedekben aktiválódva feltehetően jelentősen hozzájárultak a halakat megvédő molekuláris változásokhoz (2. ábra; Jiang és mtsai, 2014).

Az 'omikai' eljárások kombinációival integratív patobiológiai analízisekre is lehetőség nyílik. Tilápia máj és posterior bélszakasz transzkriptóma és proteóma szintű összehasonlító vizsgálatával a két szerv közötti hasonlóságokat és eltéréseket sikerült felfedni homeosztatis és gyulladásos állapotban (Wu és mtsai, 2016). Egyes vélemények szerint az antimikrobiális peptidok jelenthetik az egyik kulcsot az antibiotikum használat visszaszorításához. *Channa striatus* esetében 13 antimikrobiális peptidet sikerült azonosítani a bőrszövetben *Aeromonas hydrophila* fertőzéskor a bőr transzkriptóma analízisének eredményeiből (Kumaresan és mtsai, 2019).

A tenyésztett halak táplálkozásának 'omikai' analízise

A takarmányozás kulcsfontosságú kérdés minden haltenyésztő számára. Különösen igaz ez az intenzív termelésre, egyrészt a természetes táplálékbázisok hiánya, másrészt a magas költségek, harmadrészt pedig a nagy sűrűség és biomassza miatt, amelynek köszönhetően minden a halat érő hatás fokozottabban jelentkezik. Egyes becslések szerint a takarmány ára az ilyen rendszerekben a halhús előállítás költségeének akár 70%-át is kiteheti. A nutrigenomikai eljárásokkal a táplálék halakra kifejtett hatása több szinten is részletesen tanulmányozható.

2. ábra Vakcinázást követő bakteriális fertőzés hatására az ázsiai tengeri sügér (*Lates calcarifer*) lépében lezajló génexpresszió mintázata



A három hónapos egyedek felét hasüregbe való oltással vakcinázták a *Streptococcus iniae* baktérium (Strep) ellen, míg a kontrollhalakba ugyanolyan térfogatú puffertolt fiziológiás sóoldatot injektáltak. Huszonegy nap elteltével mindkét csoport felét hasüregbe injektált Strep-pel fertőzték, míg a többiekbe puffertolt fiziológiás sóoldatot juttattak. A 10 331 próba alapján készült hőtérképen minden egyes sor egy egyednek, míg minden egyes oszlop egy próbának (génnek) felel meg. A piros szín jelentős expressziót, míg a kék alacsonyabb szintű megnyilvánulást jelez. Az ábra tetején az egyes próbák összes egyedben detektált expresszióján alapuló rokonsági térkép (angolul 'hierarchical clustering map') található, míg a bal oldal a 15 vizsgált egyedben ábrázolja az összesített expressziós mintázatok hasonlóságát. Statisztikai analízis: 0,05 P-érték FDR kezeléssel egyutas ANOVA analízissel. (Forrás: Jiang és mtsai, 2014; 7. ábra a szerzők engedélyével)

Figure 2. Bacterial infection of vaccinated Asian seabass (Lates calcarifer) juveniles resulted in fewer changes in the gene expression profile of spleen than in those of unvaccinated, infected ones

Half of the three-months old juveniles were injected intraperitoneally with a commercial vaccine developed against *Streptococcus iniae* (Strep), where controls were mock-injected with buffered physiological salt solution. Twenty-one day later half of the individuals from both groups were challenged by intraperitoneal injection of Strep, whereas the rest were injected with buffered saline. The main image shows the heat map of the expression profile based on 10, 331 probes. Every line represents a separate individual, whereas every column represents a different probe (gene). The red color indicates substantial up-regulation of expression, whereas the blue down-regulation. On the top of the figure, a hierarchical clustering map depicts the relatedness of genes based on their combined expression profile, whereas on the left the similarity of combined expression profiles for all genes is exhibited. Statistical analysis: a P-value with FDR (treatment) <0.05 in a one-way Anova analysis. (Source: Jiang et al., 2014; Figure 7.; with the authors' permission)

Különböző, a kereskedelemben kapható tápokkal etetett ázsia tengeri sügereket (*Lates calcarifer*) vizsgálva kimutatták, hogy a táplálék összetétele a növekedés mértéke mellett jelentős hatással van az izom lipidösszetételére, valamint az emésztőrendszer hisztológiai paramétereire is (Ngoh és mtsai, 2015). A máj transzkriptómájának analízise számos differenciál expressziót mutató gént detektált nem csak a táppal etetett egyedek és fagyasztott hallal táplált kontrolljaik között, hanem a különböző tápokkal etetett példányok között is.

A táplálék emésztésében és feldolgozásában kulcsszerepet játszó szervekben, így például a belekben vagy a májban zajló génexpresszió analízisével betekintést nyerhetünk azokba a folyamatokba, melyek meghatározzák, hogyan hasznosulnak a bevitt tápanyagok. Különösen fontos ez akkor, amikor nem hagyományos alapanyagok teszteléséről van szó.

Az akvakultúrában széles körben elterjedt törekvés a halliszt és a halolaj gazdaságos és fenntartható alternatívákkal való helyettesítése. A növényi alapanyagok hatásainak megértéséhez az 'omikai' eljárások hatékony segítséget nyújtanak. A növényi fehérjék használhatóságának egyik korlátja az úgynevezett 'antinutritív faktorok' jelenléte, melyek kedvezőtlen hatással lehetnek az emésztésre, felszívódásra, a tápanyagok hasznosulására és negatívan befolyásolják a bél állapotát is (Krogdahl és Bakke, 2015). A legelterjedtebben használt növényi fehérjehordozó a szójaliszt, melyben az antinutritív komponensek a halakban bélgyulladást okoznak. Ez a hatás olyan általánosnak tekinthető, hogy a szójalisztet modellként használják bélgyulladás előidézésére. (Baevefjord és Krogdahl, 1996; Krogdahl és mtsai, 2003; Hu és mtsai, 2016). A transzkriptóma elemzések eredményei azt mutatják, hogy a szója etetése először az immunfolyamatokért felelős gének expresszióját befolyásolja, majd később a bélfunkciók ellátására szolgáló gének kifejeződésére is hatással van. A szója hatására alulregulált (azaz alacsonyabb expressziós szintet mutató) gének főleg az endocitózisért, transzport- és anyagcsere-folyamatokért felelősek. Ezek együttesen a megváltozott bélműködésre és a bél epithél hámjának hibás működésére utalnak nagyobb permeabilitás mellett. Mivel a szójaszaponinok, csak szójafehérjék jelenlétében okoznak gyulladást, elmondható, hogy a bél egészségét befolyásoló mechanizmusok még nem kellően ismertek (Chikwati és mtsai, 2012).

Mivel a takarmányalkotók hatással vannak az emésztőszervekben zajló génexpresszióra, ezért a takarmányozás nyomonkövetése transzkriptóma analízissel feltárja, hogy milyen emésztőenzimeket termel a szervezet, ami közvetlen visszacsatolást jelent a takarmányalkotók emészthetőségével kapcsolatban. A folyamat befolyásolja a teljes anyagcserét, amiről a bomlástermékek elemzésével, a metabolomika segítségével nyerhetünk képet.

A takarmányalkotók hatása azonban nem csak a hal élettani és egészségi állapotán érhető tetten, hanem közvetetten a bélben élő mikroorganizmus közösségre, sőt azok genomi összetételére (mikrobiom) is hatást gyakorolnak. A béltartalom metagenomikai analízisével fontos információt szerezhetünk arról, hogyan hatnak a tápok a halak emésztési folyamataiban kulcsszerepet játszó bélbaktériumokra, illetve a bélflóra összetételének megváltozása hogyan hat a hal egészségi állapotára. Kifejlett aranydurbincs (*Sparus aurata*) beléből izolált *Lactobacillus fructivorans* törzset és a halakból korábban nem izolált *Lactobacillus plantarum* törzset egyidejűleg juttattak vissza aranydurbincs ivadékokba élő és

mesterséges takarmány segítségével (Carnevali és mtsai, 2004). A mikrobióta megváltozása már a lárva 35 napos korára egyértelművé vált, mindkét *Lactobacillus* törzset sikerült megtelepíteni a bélrendszerben. A túlélésre kifejtett pozitív hatásuk pedig már 39 napos kortól megmutatkozott. Később mások azt tapasztalták, hogy a *Lactobacillus* a bélflóra összetételében való megjelenésével szignifikánsan csökkent a kortizol szintje, csökkent a Hsp70 hősokk fehérje génexpressziója és emelkedett az egyedek pH okozta stresszel szembeni tolerancia szintje (Rollo és mtsai, 2006).

A táplálék a halak immunstátuszát is megváltoztathatja, ami preventív jelleggel jelentősen segítheti az egyes kórokozókkal szembeni védekezést. Igazolást nyert, hogy funkcionális takarmányok segítségével javítani lehet a tengeri lazac-termelésben súlyos gondokat okozó 'sea lice' ellen való védekezés hatásfokát is. A tápokhoz kevert növényi glükozinolátokat a bélben élő mikrobióta lebontja, izotiocianátokká alakítja, melyeknek gyulladáscsökkentő és antioxidáns hatása van. Az ilyen tápok használata 25%-kal csökkentette a rákok okozta terhelést a kontroll tápokhoz képest (Jodaa Holm és mtsai, 2016). A transzkriptóma analízise igazolta, hogy a lazac bőrében az interferon és a kapcsolódó gének expressziója megnőtt már a fertőzést megelőzően és a fertőzés felfutásával 1-es típusú immungén expresszióját is indukálta. A glükozinolát kiegészítés csökkentette a rákok immunszuppresszív hatását a halakon. A halak szervezete a glükozinolátokat toxiként értelmezte és további transzkriptóma vizsgálatok szignifikáns emelkedést mutattak a méregtelenítésért felelős gének májbeli expressziójában, a vesében, hasonlóan a bőrhöz, ugyanakkor az interferon gének expressziójának emelkedett szintje volt tapasztalható (Skugor és mtsai, 2016).

Az éhezés a halak életmenetében nem ritka jelenség, hiszen előfordul telelés, ivási vándorlás, szaporodási időszak során, de ennek fiziológiai hatásait kevesen vizsgálták. A csatornaharcsa (*Ictalurus punctatus*) táplálékhiány esetén különösen érzékenyvé válik a *Flavobacterium columnare* fertőzésre. Csatornaharcsa ivadék egy hetes éheztetése után a kopoltyú és a bőr transzkriptómáját analizálva azt tapasztalták, hogy az éhezés hatására a nyálkában a gének komoly hányadának, közöttük számos immunfunkcióért felelős génnek expressziós szintje jelentősen lecsökkent (Zhao és mtsai, 2015). A transzkriptóma analízise tehát már rövid éheztetés után is felfedte az érintett immunfunkciókat.

Az 'omikai' eljárásoknak a közeljövőben nagy szerepe lehet a korai egyedfejlődési szakaszokban a takarmányozás hatásainak felderítésében, különösen a bél egészség és az immunfolyamatok, valamint a bélflóra kialakulásának terén.

KÖVETKEZTETÉSEK

Ahhoz, hogy növelni tudjuk akvakultúránk hatékonyságát, valamint a megtermelt halhús mennyiségét és minőségét, egyre inkább támaszkodnunk kell a modern technológiákra. A legfrissebb kutatási eredményeken alapuló módszerek lehetővé teszik, hogy többet és jobbat termelhessünk anélkül, hogy környezetünket egyre jobban szennyeznénk.

A nagyléptékű eljárásokon alapuló 'omikai' megközelítésekkel javítani lehet a tenyészállományok minőségét, szelektálva azokat a vonalakat, melyek legjobban alkalmazkodnak a zárt, intenzív rendszerek körülményeihez. Ezzel párhuzamo-

san az 'omikai' módszerek alkalmazásával tovább lehet fejleszteni a tenyésztési technológia több komponensét is.

A közleményben ismertetett eljárások zömét egyes hazai kutatólaborok rutin-szerűen alkalmazzák, így elérhetőek a termelő egységek számára is. Kíváncsú lenne mielőbbi bevezetésük a hazai haltenyésztési technológiákba, ezáltal segítve a hazai akvakultúra továbbfejlesztését és modernizálását.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

OL-t, BA-t és Szi-t a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal Él-vonal Kutatási Kiválósági Programja (KKP126764), míg HM-t és Szi-t az Euró-pai Regionális és Fejlesztési Alapnak, valamint Magyarország Kormányának a GINOP-2.3.2-15-2016-00025. számú kutatási programja támogatja.

IRODALOMJEGYZÉK

- Amemiya, C. T. – Litman, G. W. (1990): Complete nucleotide sequence of an immunoglobulin heavy-chain gene and analysis of immunoglobulin gene organization in a primitive teleost species. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 87. 811-815.
- Aparicio, S. – Chapman, J. – Stupka, E. – Putnam, N. – Chia, J. M. – Dehal, P. – Christoffels, A. – Rash, S. – Hoon, S. – Smit, A. (2002): Whole-genome shotgun assembly and analysis of the genome of *Fugu rubripes*. *Science*, 297. 1301-1310.
- Baeverfjord, G. – Krogdahl, A. (1996): Development and regression of soybean meal induced enteritis in Atlantic salmon, *Salmo salar* L, distal intestine: a comparison with the intestines of fasted fish. *J. Fish. Dis.*, 19. 375-387.
- Baird, N. A. – Etter, P. D. – Atwood, T. S. – Currey, M. C. – Shiver, A. L. – Lewis, Z. A. – Selker, E. U. – Cresko, W. A. – Johnson, E. A. (2008): Rapid SNP discovery and genetic mapping using sequenced RAD markers. *PLoS ONE*, 3: e3376.
- Bentzon-Tilia, M. – Sonnenschein, E. C. – Gram, L. (2016): Monitoring and managing microbes in aquaculture – Towards a sustainable industry. *Microb. Biotechnol.*, 9. 576-584.
- Berthelot, C. – Brunet, F. – Chalopin, D. – Juanchich, A. – Bernard, M. – Noël, B. – Bento, P. – Da Silva, C. – Labadie, K. – Alberti, A. (2014): The rainbow trout genome provides novel insights into evolution after whole-genome duplication in vertebrates. *Nat. Commun.*, 5. 3657.
- Bovine Genome Sequencing and Analysis Consortium – Elsik, C. G. – Tellam, R. L. – Worley, K. C. (2009): The genome sequence of taurine cattle: a window to ruminant biology and evolution. *Science*, 324. 522-528.
- Bravo, S. – Midtlyng, P. J. (2007): The use of fish vaccines in the Chilean salmon industry 1999-2003. *Aquaculture*, 270. 36-42.
- Brawand, D. – Wagner, C. – Li, Y. – Malinsky, M. – Keller, I. – Fan, S. – Simakov, O. – Ng, A. Y. – Lim, Z. W. – Bezaul, E. (2014): The genomic substrate for adaptive radiation in African cichlid fish. *Nature*, 513 375–381.
- Carnevali, O. – Zamponi, M. C. – Sulpizio, R. – Rollo, A. – Nardi, M. – Orpianesi, C. – Silvi, S. – Caggiano, M. – Polzonetti, A. M. – Cresci, A. (2004): Administration of probiotic strain to improve sea bream wellness during development. *Aquac. Int.*, 12. 377e86.
- Chikwati, E. M. – Venold, F. F. – Penn, M. H. – Rohloff, J. – Refstie, S. – Guttvik, A. – Hillestad, M. – Krogdahl, A. (2012): Interaction of soya saponins with plant ingredients in diets for Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Br. J. Nutr.*, 107. 1570-1590.
- Christoffels, A. – Koh, E. G. L. – Chia, J. M. – Brenner, S. – Aparicio, S. – Venkatesh, B. (2004): *Fugu* genome analysis provides evidence for a whole-genome duplication early during the evolution of ray-finned fishes, *Mol. Biol. Evol.*, 21. 1146–1151.

- Conte, F. S. (2004): Stress and the welfare of cultured fish. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 86. 205–223.
- Coughlin, S. S. (2014): Toward a road map for global -omics: A primer on-omic technologies. *Am. J. Epidemiol.*, 180. 1188–1195.
- de Bruijn, I. – Liu, Y. – Wiegertjes, G. F. – Raaijmakers, J. M. (2018): Exploring fish microbial communities to mitigate emerging diseases in aquaculture. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 94. fix161.
- Ellegren, H. (2004): Microsatellites: Simple sequences with complex evolution. *Nat. Rev. Genet.*, 5. 435–445.
- FAO (2020): The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. Sustainability in action. Rome, Italy; <https://doi.org/10.4060/ca9229en>
- Finstad, B. – Bjørn, P. A. – Grimnes, A. – Hvidsten, N. A. (2000): Laboratory and field investigations of salmon lice [*Lepeophtheirus salmonis* (Krøyer)] infestation on Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) post-smolts. *Aquaculture*, 31. 795–803.
- Gallardo-Escárate, C. – Arriagada, G. – Carrera, C. – Gonçalves, A. T. – Núñez-Acuña, G. – Valenzuela-Miranda, D. – Valenzuela-Muñoz, V. (2019): The race between host and sea lice in the Chilean salmon farming: a genomic approach. *Rev. Aquacult.*, 11. 325–339.
- Gentry, K. – Bui, S. – Oppedal, F. – Dempster, T. (2020): Sea lice prevention strategies affect cleaner fish delousing efficacy in commercial Atlantic salmon sea cages. *Aquacult. Environm. Interact.*, 12. 67–80.
- Gharbi, K. – Matthews, L. – Bron, J. – Roberts, R. – Tinch, A. – Stear, M. (2015): The control of sea lice in Atlantic salmon by selective breeding. *J. R. Soc. Interface*, 12. 20150574.
- Goddard, M. E. – Hayes, B. J. (2007): Genomic selection. *J. Anim. Breed. Genet.*, 124. 323–330.
- Goddard, M. E. – Hayes, B. J. (2009): Mapping genes for complex traits in domestic animals and their use in breeding programmes. *Ann. Rev. Genet.*, 10. 381–391.
- Groenen, M. A. – Archibald, A. L. – Uenishi, H. – Tuggle, C. K. – Takeuchi, Y. – Rothschild, M. F. – Rogel-Gaillard, C. – Park, C. – Milan, D. – Megens, H. J. – Li, S. (2012): Analyses of pig genomes provide insight into porcine demography and evolution. *Nature*, 491. 393–398.
- Guyomard, R. – Boussaha, M. – Krieg, F. – Hervet, C. – Quillet, E. (2012): A synthetic rainbow trout linkage map provides new insights into the salmonid whole genome duplication and the conservation of synteny among teleosts. *BMC Genet.*, 13. 15.
- Hannisdal, R. – Nøstbakken, O. J. – Hove, H. – Madsen, L. – Horsberg, T. E. – Lunestad, B. T. (2020): Anti-sea lice agents in Norwegian aquaculture; surveillance, treatment trends and possible implications for food safety. *Aquaculture*, 521. 735044.
- Hasin, Y. – Seldin, M. – Lusi, A. (2017): Multi-omics approaches to disease. *Genome Biol.*, 18. 83.
- Horgan, R. P. – Kenny, L. C. (2011): 'Omic' technologies: genomics, transcriptomics, proteomics and metabolomics. *Obstetr. Gynaecol.*, 13. 189–195.
- Houston, R. D. – Haley, C. S. – Hamilton, A. – Guy, D. R. – Tinch, A. E. – Taggart, J. B. – McAndrew, B. J. – Bishop, B. C. (2008): Major QTL affect resistance to infectious pancreatic necrosis in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Genetics*, 178. 1109–1115.
- Howe, K. – Clark, M. – Torroja, C. – Torrance, J. – Berthelot, C. – Muffato, M. – Collins, J. E. – Humphray, S. – McLaren, K. – Matthews, L. (2013): The zebrafish reference genome sequence and its relationship to the human genome. *Nature*, 496. 498–503.
- Hu, H. – Kortner, T. M. – Gajardo, K. – Chikwati, E. – Tinsley, J. – Krogdahl, A. (2016): Intestinal fluid permeability in Atlantic Salmon (*Salmo salar* L.) is affected by dietary protein source. *PLoS One*, 11. e0167515.
- Huang, Z. – Wan, R. – Song, X. – Liu, Y. – Hallerman, E. – Dong, D. – Zhai, J. – Zhang, H. – Sun, L. (2016): Metagenomic analysis shows diverse, distinct bacterial communities in biofilters among different marine recirculating aquaculture systems. *Aquacult. Int.*, 24. 1393–1408.
- International Chicken Genome Sequencing Consortium (2004): Sequence and comparative analysis of the chicken genome provide unique perspectives on vertebrate evolution. *Nature*, 432. 695–716.

- Jiang, J. – Miyata, M. – Chan, C. – Ngoh, S. Y. – Liew, W. C. – Saju, J. M. – Ng, K. S. – Wong, S. F. – Lee, Y. S. – Chang, F. S. (2014): Differential transcriptomic response in the spleen and head kidney following vaccination and infection of Asian seabass with *Streptococcus iniae*. PLoS ONE, 9. e99128.
- Jiang, Y. – Xie, M. – Chen, W. – Talbot, R. – Maddox, J. F. – Faraut, T. – Faraut, T. – Wu, C. – Muzny, D. M. – Li, Y. – Zhang, W. (2014): The sheep genome illuminates biology of the rumen and lipid metabolism. Science, 344. 1168-1173.
- Jiang, Y. – Feng, S. – Zhang, S. – Liu, H. – Feng, J. – Mu, X. – Sun, X. – Xu, P. (2016): Transcriptome signatures in common carp spleen in response to *Aeromonas hydrophila* infection. Fish Shellfish Immunol., 57. 41-48.
- Jodaa Holm, H. – Wadsworth, S. – Bjelland, A. K. – Krasnov, A. – Skugor, S. – Evensen, Ø. (2016): Dietary phytochemicals modulate skin gene expression profiles and result in reduced lice counts after experimental infection in Atlantic salmon. Parasit. Vectors, 9. 271.
- Kasahara, M. – Naruse, K. – Sasaki, S. – Nakatani, Y. – Qu, W. – Ahsan, B. – Yamada, T. – Nagayasu, Y. – Doi, K. – Kasai, Y. (2007): The medaka draft genome and insights into vertebrate genome evolution. Nature, 447. 714–719.
- Kim, S. – Misra, A. (2007): SNP genotyping: technologies and biomedical applications. Ann. Rev. Biomed. Eng., 9. 289-320.
- Kircher, M. – Kelso, J. (2010): High-throughput DNA sequencing: concepts and limitations. Bioessays, 32. 524-536.
- Krogdahl, A. – Bakke-McKellep, A. M. – Baevefjord, G. (2003): Effects of graded levels of standard soybean meal on intestinal structure, mucosal enzyme activities, and pancreatic response in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). Aquac. Nutr., 9. 361-371.
- Krogdahl, A. – Bakke A. M. (2015): Antinutrients in C.S. Lee, C. Lim, D.M. Gatlin III, C.D. Webster (Eds.), Dietary Nutrients, Additives and Fish Health, Wiley-Blackwell, Hoboken (NJ, USA), 211-235.
- Kumaresan, V. – Pasupuleti, M. – Paray, B. A. – Al-Sadoon, M. K. – Arockiaraj, J. (2019): Gene profiling of antimicrobial peptides, complement factors and MHC molecules from the skin transcriptome of *Channa striatus* and its expression pattern during *Aeromonas hydrophila* infection. Fish Shellfish Immunol., 84. 48-55.
- Kuroda, N. – Wada, H. – Naruse, K. – Simada, A. – Shima, A. – Sasaki, M. – Nonaka, M. (1996): Molecular cloning and linkage analysis of the Japanese medaka fish complement Bf/C2 gene. Immunogenetics, 44. 459-467.
- LaFramboise, T. (2009): Single nucleotide polymorphism arrays: a decade of biological, computational and technological advances. Nucleic Acids Res., 37. 4181-4193
- Lander, E. S. (1996): The new genomics: Global views of biology. Science, 274. 536-539.
- Lander, E. S. – Linton, L. M. – Birren, B. – Nusbaum, C. – Zody, M. C. – Baldwin, J. (2001): Initial sequencing and analysis of the human genome. Nature, 409. 860-921.
- Lindblad-Toh, K. – Wade, C. M. – Mikkelsen, T. S. – Karlsson, E. K. – Jaffe, D. B. – Kamal, M. – Clamp, M. – Chang, J. L. – Kulbokas, E. J. – Zody, M. C. – Mauceli, E. (2005): Genome sequence, comparative analysis and haplotype structure of the domestic dog. Nature, 438. 803-819.
- Llewellyn, M. S. – Boutin, S. – Hoseinifar, S. H. – Derome, N. (2014): Teleost microbiomes: the state of the art in their characterization, manipulation and importance in aquaculture and fisheries. Front. Microbiol., 5. Art 207.
- Lokman, P. M. – Symonds, J. E. (2014): Molecular and biochemical tricks of the research trade: -omics approaches in finfish aquaculture, New Zealand J. Mar. Freshw. Res., 48. 492-505.
- Magadan, S. – Sunyer, O.J. – Boudinot, P. (2015): Unique features of fish immune repertoires: Particularities of adaptive immunity within the largest group of vertebrates. Results Probl. Cell. Differ., 57. 235-264.
- Malmström, M. – Matschiner, M. – Tørresen, O. K. – Star, B. – Snipen, L. – Hansen, T. F. – Baalsrud, H. T. – Nederbragt, A. J. – Hanel, R. – Salzburger, W. (2016): Evolution of the immune system influences speciation rates in teleost fishes. Nat. Genet., 48. 1204-1210.

- Martínez-Porchas, M. – Vargas-Albores, F. (2017): Microbial metagenomics in aquaculture: a potential tool for a deeper insight into the activity. *Rev. Aquacult.*, 9. 42-56.
- Meuwissen, T. H. – Hayes, B. J. – Goddard, M. E. (2001): Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. *Genetics*, 157. 1819-1829.
- Meyer, A. – Van de Peer, Y. (2005): From 2R to 3R: evidence for a fish-specific genome duplication (FSGD). *BioEssays*, 27. 937-945.
- Midtlyng, P. J. – Grave, K. – Horsberg, T. E. (2011): What has been done to minimize the use of antibacterial and antiparasitic drugs in Norwegian aquaculture? *Aquacult. Res.*, 42. 28-34.
- Moen, T. – Baranski, M. – Sonesson, A. K. – Kjøglum, S. (2009): Confirmation and fine-mapping of a major QTL for resistance to infectious pancreatic necrosis in Atlantic salmon (*Salmo salar*): population-level associations between markers and trait. *BMC Genomics*, 10. 368.
- Moen, T. – Torgersen, J. – Santi, N. – Davidson, W. S. – Baranski, M. – Ødegård, J. – Kjøglum, S. – Velle, B. – Kent, M. – Lubieniecki, K. P. (2015): Epithelial cadherin determines resistance to infectious pancreatic necrosis virus in Atlantic salmon. *Genetics*, 200. 1313-1326.
- Ngoh, S. Y. – Tan, D. – Shen, X. – Kathiresan, P. – Jiang, J. – Liew, W. C. – Thevasagayam, N. M. – Kwan, H. Y. – Saju, J. M. – Prakki, S. R. S. (2015): Nutrigenomic and nutritional analyses reveal the effects of pelleted feeds on Asian seabass (*Lates calcarifer*). *PLoS ONE*, 10. e0145456.
- Novik, K. L. – Nimmrich, I. – Genc, B. – Maier, S. – Piepenbrock, C. – Olek, A. – Beck, S. (2002): Epigenomics: genome-wide study of metylation phenomena. *Curr. Issues Mol. Biol.*, 4. 111-128.
- Palaïokostas, C. – Cariou, S. – Bestin, A. – Bruant, J. S. – Haffray, P. – Morin, T. – Cabon, J. – Allal, F. – Vandeputte, M. – Houston, R. D. (2018): Genome-wide association and genomic prediction of resistance to viral nervous necrosis in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) using RAD sequencing. *Genet. Sel. Evol.*, 50. 30.
- Peterson, B. K. – Weber, J. N. – Kay, E. H. – Fisher, H. S. – Hoekstra, H. E. (2012) Double digest RADseq: an inexpensive method for de novo SNP discovery and genotyping in model and non-model species. *PLoS ONE*, 7. e37135.
- Raposo de Magalhães, C. S. F. – Cerqueira, M. A. C. – Schrama, D. – Moreira, M. J. V. – Boonanuntanasarn, S. – Rodrigues, P. M. L. (2018): A proteomics and other omics approach in the context of farmed fish welfare and biomarker discovery. *Rev. Aquacult.*, 12. 122-144.
- Robledo, D. – Palaïokostas, C. – Bargelloni, L. – Martínez, P. – Houston, R. (2018): Applications of genotyping by sequencing in aquaculture breeding and genetics. *Rev. Aquacult.*, 10. 670-682.
- Rollo, A. – Sulpizio, R. – Nardi, M. – Silvi, S. – Orpianesi, C. – Caggiano, M. – Cresci, A. – Carnevali, O. (2006): Live microbial feed supplement in aquaculture for improvement of stress tolerance. *Fish Physiol. Biochem.*, 32. 167e77.
- Samuelsson, L. M. – Larsson, J. D. G. (2008): Contributions from metabolomics to fish research. *Rev. Mol. Biosyst.*, 4. 974-979.
- Sandve, S. R. – Røhlfs, R. V. – Hvidsten, T. R. (2018): Subfunctionalization versus neofunctionalization after whole-genome duplication. *Nat. Genet.*, 50. 908-909.
- Shen, Y. – Wang, D. – Zhao, J. – Chen, X. (2018): Fish red blood cells express immune genes and responses. *Aquacult. Fish.*, 3. 14-21.
- Shi, M. – Huang, R. – Du, F. – Pei, Y. – Liao, L. – Zhu, Z. – Wang, Y. (2014): RNA-seq profiles from grass carp tissues after reovirus (GCRV) infection based on singular and modular enrichment analyses. *Mol Immunol.*, 61. 44-45.
- Sudhagar, A. – Kumar, G. – El-Matbouli, M. (2018): Transcriptome analysis based on RNA-Seq in understanding pathogenic mechanisms of diseases and the immune system of fish: A comprehensive review. *Int. J. Mol. Sci.*, 19. 245.
- Skugor, S. – Jodaa Holm, H. – Bjelland, A. K. – Pino, J. – Krasnov, A. – Evensen, Ø. – Wadsworth, S. (2016): Nutrigenomic effects of glucosinolates on liver, muscle and distal kidney in parasite-free and salmon louse infected Atlantic salmon. *Parasit. Vectors*, 9. 639.
- Snieszko, S. F. (1974): The effects of environmental stress on outbreaks of infectious diseases of fishes. *J. Fish Biol.*, 6. 197-208.

- Star, B. – Nederbragt, A. J. – Jentoft, S. –, Grimholt, U. – Malmstrøm, M. – Gregers, T. F. – Rounge, T. B. – Paulsen, J. – Solbakken, M. H. – Sharma, A. (2011): The genome sequence of Atlantic cod reveals a unique immune system. *Nature*, 477(7363). 207-210.
- Teletchea, F. (2018): Fish Domestication: An Overview. A book chapter in *Animal Domestication* (Ed.: Teletchea, F.) IntechOpen, DOI: 10.5772/intechopen.79628.
- Venter, J. C. – Adams, M. D. – Myers, E. W. – Li, P. W. – Mural, R. J. – Sutton, G. G. – Smith, H. O. – Yandell, M. – Evans, C. A. – Holt, R. A. (2001): The sequence of the human genome. *Science*, 291. 1304-1351.
- Vij, S. – Kuhl, H. – Kuznetsova, I. S. – Komissarov, A. – Yurchenko, A. A. – Van Heusden, P. – Singh, S. – Thevasagayam, N. M. – Prakki, S. R. S. – Purushothaman, K. – Saju, J. M. (2016): Chromosomal-level assembly of the Asian seabass genome using long sequence reads and multi-layered scaffolding. *PLoS Genet.*, 12. e1005954.
- Wakchaure, R. – Ganguly, S. – Praveen P.K. – Kumar A. – Sharma S. – Mahajan, T. (2015): Marker assisted selection (MAS) in animal breeding: A review. *J. Drug. Metab. Toxicol.*, 6. e127.
- Wang, L. – Liu, P. – Huang, S. – Ye, B. – Chua, E. – Wan, Z. J. – Yue, G. H. (2017): Genome-wide association study identifies loci associated with resistance to viral nervous necrosis disease in Asian seabass. *Mar. Biotechnol.*, 19. 255–265.
- Waterston, R. H. – Lindblad-Toh, K. – Birney, E. – Rogers, J. – Abril, J. F. – Agarwal, P. – Agarwala, R. – Ainscough, R. – Alexandersson, M. – An, P. (2002): Initial sequencing and comparative analysis of the mouse genome. *Nature*, 420. 520-562.
- Wittbrodt, J. – Meyer, A. – Scharl, M. (1998): More genes in fish? *BioEssays*, 20. 511-515.
- Wolf, J. B. W. (2013): Principles of transcriptome analysis and gene expression quantification: an RNA-seq tutorial. *Mol. Ecol. Resour.*, 13. 559-572.
- Wooley, J. C. – Godzik, A. – Friedberg, I. (2010): A primer on metagenomics. *PLoS Comput. Biol.*, 6. e1000667.
- Wu, N. – Song, Y. L. – Wang, B. – Zhang, X. Y. – Zhang, X. J. – Wang, Y. L. – Cheng, Y. Y. – Chen, D. D. – Xia, X. Q. – Lu, Y. S. (2016): Fish gut-liver immunity during homeostasis or inflammation revealed by integrative transcriptome and proteome studies. *Sci. Rep.*, 6. 36048.
- Würschum, T. (2012): Mapping QTL for agronomic traits in breeding populations. *Theor. Appl. Genet.*, 125. 201–210.
- Xia, J. H. – Bai, Z. – Meng, Z. – Meng, Z. – Zhang, Y. – Wang, L. – Liu, F. – Jing, W. – Wan, Z. J. – Li, J. (2015): Signatures of selection in tilapia revealed by whole genome resequencing. *Sci. Rep.*, 5. 14168.
- Xu, J. (2006): Microbial ecology in the age of genomics and metagenomics: concepts, tools, and recent advances. *Mol. Ecol.*, 15. 1713-1731.
- Yang, D. – Liu, Q. – Yang, M. – Wu, H. – Wang, Q. – Xiao, J. – Zhang, Y. (2012): RNA-seq liver transcriptome analysis reveals an activated MHC-I pathway and an inhibited MHC-II pathway at the early stage of vaccine immunization in zebrafish. *BMC Genomics.*, 13. 319.
- Zhao, H. – Li, C. – Beck, B. H. – Zhang, R. – Thongda, W. – Davis, D. A. – Peatman, E. (2015): Impact of feed additives on surface mucosal health and columnaris susceptibility in channel catfish fingerlings, *Ictalurus punctatus*. *Fish. Shellfish Immunol.*, 46. 624-637.
- Zhou, Q. – Chen, Y. D. – Lu, S. – Liu, Y. (2020): Development of a 50K SNP array for Japanese flounder and its application in genomic selection for disease resistance. *Engineering*, in press

Szerzők címe: Orbán L. - Bognár A. - Szeverényi I.

Szent István Egyetem, Georgikon Campus, Állattudományi Tanszék
Élvonal Halgenomikai Kutatócsoport

Authors' address: Szent István University, Georgikon Campus, Department of Animal Sciences
Frontline Fish Genomics Research Group
H-8360 Keszthely, Deák Ferenc u. 16.
orban.laszlo@szie.hu

Havasi M. - Szeverényi I.

Szent István Egyetem, Georgikon Campus, Állattudományi Tanszék
Állattan és Akvakultúra Csoport
Szent István University, Georgikon Campus, Department of Animal Sciences
Animal Science and Aquaculture Group
H-8360 Keszthely, Deák Ferenc u. 16.

Varga L.

Szent István Egyetem, Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar
Biológiatudományi Intézet
Genetika, Mikrobiológia és Biotechnológia Tanszék
Szent István University, Faculty of Agricultural and Environmental Sciences
Institute of Biological Sciences
Department of Genetics, Microbiology and Biotechnology
H-2100 Gödöllő, Páter Károly u. 1.
Nemzeti Biodiverzitás- és Génmegőrzési Központ
Haszonállat-génmegőrzési Intézet
National Centre for Biodiversity and Gene Conservation
Institute for Farm Animal Gene Conservation
H-2100 Gödöllő, Isaszegi út 200.