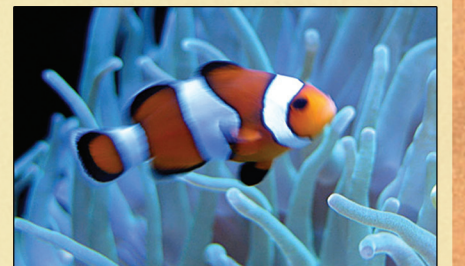
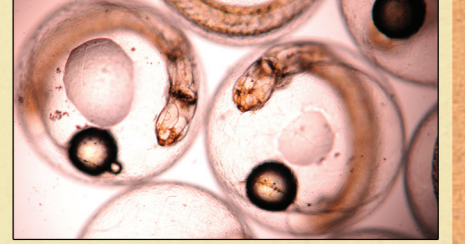


# मात्स्यगंधा

## 2009

जलकृषि में जैव प्रौद्योगिकी की साध्यताएं

अंक 9, विशेष प्रकाशन सं. 102



भाऊ अनूप  
ICAR

केंद्रीय समुद्री मात्स्यिकी अनुसंधान संस्थान

(भारतीय कृषि अनुसंधान परिषद)

कोची 682 018



कडलमीन™  
cadalmin

## समुद्रकृषि में फिश सेल लाइन

के.एस. शोभना, एस. श्रीदेवी और कीर्ती राणी अगस्टिन, गीता आन जोर्ज और के.के. सुरेंद्रन  
केंद्रीय समुद्री मात्स्यिकी अनुसंधान संस्थान, कोची, केरल

जलकृषि के विश्वव्यापक विकास में फिश सेल लाइनों को महत्वपूर्ण भूमिका निभाना है। फिश सेल लाइनों के निरंतर विकास के पीछे का उद्देश्य कई वाणिज्य प्रधान मछली जातियों में वैरस के ज़रिए होनेवाले जंतु महामारी रोकने को उन वैरसों का विघटन व पहचान करना है। इसके सिवा वैरस मुक्त मछली पर राष्ट्रीय और अंतरराष्ट्रीय संगरोध प्रमाणीकरण करने को सेल लाइन महत्वपूर्ण औजार है। फिश सेल लाइन के इनविट्रो (पात्रेन) मोडल के ज़रिए कोशकीय क्रियाविज्ञान और रोगप्रतिरोधकी संबंधी अध्ययन किया जाता है।

समुद्री मछलियों की खेती और हैचरी पालन में पाई जाने वाली मुख्य समस्या मछली रोग है और अधिकांश रोगों का कारण वैरस समझा गया है। मछली रोग से जलकृषि में भारी नष्ट होती है विशेषकर कुछ पसंदीदे मछलियों की खेती में। मछली खेती में वैरस जनित रोग आज बढ़ता रहता है। एशिया के जलकृषि करने वाले देशों में वैरस से होनेवाले पांडुरोग और

तंत्रिकीय रोग (VNN) रिपोर्ट की है। हमारे उष्णकटिबंधीय मछलियों में वैरस से होनेवाले महामारियों के संबंध में कम सूचनाएं उपलब्ध है। कई मछलियों में छुपा हुआ रोग प्रतिकूल स्थितियों में प्रकट हो सकता है, विशेषकर मछलियों और मछली संततियों का व्यापार बढ़ गए हाल के संदर्भ में।

जलकृषि करनेवाली कई मछली जातियों में वैरस के आक्रमण से भारी मृत्युता होती है। अन्य सूक्ष्म जीवाणुओं का संवर्धन कृत्रिम पौष्टिक घोल में किया जा सकता है जबकि वैरस अन्तराकोशकीय रोगाणु होने के कारण इसका विघटन और संवर्धन सजीव कोशों के सिवा साध्य नहीं है। इसके सिवा अधिकांश वैरस विनिर्दिष्ट जीवों व ऊतकों (host specific & tissue specific) में जीनेवाले हैं इसलिए इनका विघटन और संवर्धन उसी ही जाति व ऊतक में साध्य होता है जहाँ सेल लाइनों का महत्व उभरकर आता है।

असल में एक अनुरूप सेल लाइन रोगकारी मछली वैरस को बढ़ाने, विघटन करने, अभिलक्षण निर्धारित करने और पहचानने का लबोरटरी टूल है। पर खेती केलिए उपयोग करनेवाले अधिकांश पख व अलंकारी मछलियों के सेल लाइन उपलब्ध नहीं है। अनुरूप सेल कल्चर सिस्टम के अभाव में मछली में

### पत्रव्यवहार

डॉ. के.एस. शोभना

वरिष्ठ वैज्ञानिक, केंद्रीय समुद्री मात्स्यिकी अनुसंधान संस्थान,  
एरणाकुलम नोर्ट पी.ओ., कोचीन-682 018, केरल



होनेवाले वाइरस रोगों का रोकथाम नहीं होने के अलावा तरुण मछलियों का उचित स्वास्थ्य प्रमाणीकरण भी नहीं हो पा रहा है। अनुरूप सेल लाइनों का विकास कृष्य मछलियों में आक्रमण करनेवाले रोगकारी वैरसों का पहचान और स्वास्थ्य सुरक्षा सुनिश्चित करने के लिए आवश्यक है।

मीठा जल मछली जैसे सालमनोइड, चानल काट फिश, कॉमन कार्प का सेल लाइन विकसित किया है। अन्य मछलियों के सतत सेल लाइन विकास के लिए दुनिया के कई भागों में अनुसंधान चल रहा है। समुद्री मछलियों में पाए जानेवाले कुछ वैरसों का पहचान सेल लाइन के ज़रिए हो पाया है, फिर भी कार्य पर्याप्त नहीं है। किसी एक जाति या उसी की निकटवर्ती जाति के लिए विकसित सेल लाइन, वैरस को पहचानने में बहुत ही संवेदनशील है इसलिए विनिर्दिष्ट जाति के अलावा विनिर्दिष्ट क्षेत्र की जातियों का सेल लाइन की तैयारी आवश्यक लगता है।

मछलियों में होनेवाले वैरस रोग संबंधी सूचना उष्णकटिबंधीय देशों की मछली जैसी सालमन, ट्राऊट और चानल कैट फिश से प्राप्त हुई है। जलकृषि के प्रचार से नोर्थ अमरिका, यूरोप और जापान में वैरस रोग व्याप्त हो जाने पर स्वास्थ्य प्रबंधन के लिए सेल लाइनों का विकास करने लगा, अधिकांश प्रारंभिक सेललाइनों का विकास शीत जल मछलियों से विकसित किया है।

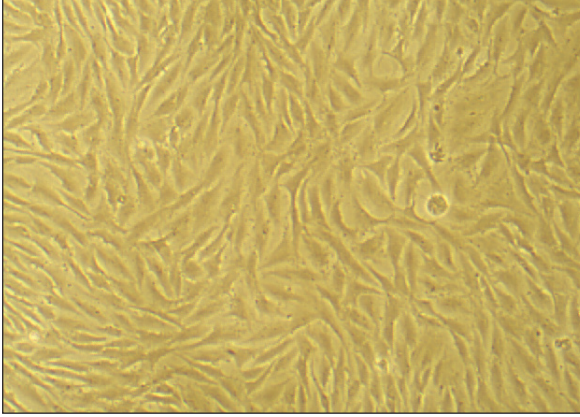
रेनबो ट्राऊट, *सालमो गेरडेनेरी* (*Salmo gairdneri*) के गोनाड से 1960 में विकसित RTG-2 सेल लाइन इस दिशा का पहला स्थिर सेल लाइन है (वोल्फ आन्ड कुंबी 1962)। समुद्री पख मछलियों का पहला सेल लाइन ब्लू स्ट्राइपड ग्रेट, *हेमुलोने फ्लावोलिनियाटस* (*Haemulon flavolineatum*) फिन कल्चर से विकसित GF-1 कोशों का सेल लाइन है। पहली बार रेनबो ट्राऊट से सेल लाइन विकसित करने के बाद कई प्रकार की मछलियों से सेल लाइन और सेल कल्चर का विकास किया। विकसित जन्तु सेल लाइनों की संख्या में स्तनीपाई पहले स्थान पर है इसके पीछे अस्थिमीन है। वर्ष 1980 से

पहले विकसित किए फिश सेल लाइन की समग्र सूची प्रकाशित की है (वोल्फ और आन्, 1982)। उष्णकटिबंधीय मछलियों से विकसित सेल कल्चर के अनुरक्षण और प्रयोग पर कई समग्र पुनरीक्षण उपलब्ध है।

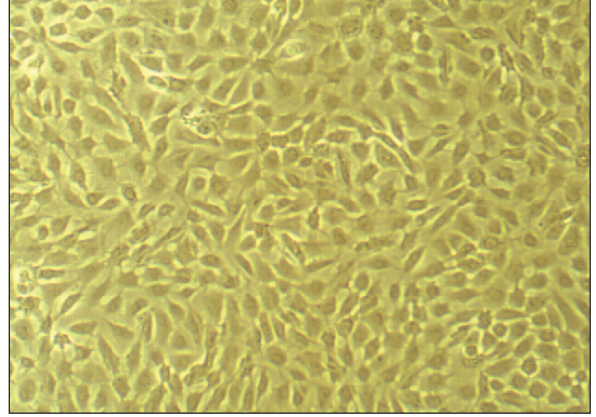
यद्यपि वैरसों के पहचान के लिए कई फिश लाइनों को ढूँढ निकाला है तथापि समुद्री मछलियों का फिश सेल लाइन क्रम (~34) है (चि *आदि*, 1999)। हाल में समुद्री मछलियों के पात्रेन पालन, कोशिका अनुवंशिकी, प्रतिरक्षा विज्ञान और रोगविज्ञान पर हुए तात्पर्य ने मछलियों की कोशिकाओं का विघटन और सेल कल्चर की तैयारी को प्रोत्साहित किया। समुद्री मछलियों की तुलना में मीठाजल मछलियों में वैरस रोग कम देखा जाता है इसका कारण समुद्री मछली सेल लाइनों का कम विकास है। वर्ष 1980 से लेकर इस दिशा में कार्य चल रहा है और हाल में सेल लाइन अनुसंधान ने द्रुत गति प्राप्त की है।

जापानी स्ट्राइपड नैफ़ जॉ, *अपलेग्नाथस फसियाटस* (*Oplegnathus fasciatus*) के गोनाड से (JSKG सेल लाइन), *केल्प एपिनेफेलस मेरा* (*Epinephelus merra*) और *रेड स्पोट्टेड ग्रूपर*, *ई. अकारा* (*E. Akaara*) के भ्रूण से और *ग्रेट अम्बरजाक*, *सीरियाला टुमरेली* (*Seriola dumerili*) की त्वचा से सतत सेल लाइनों का विकास किया है। गिल्ट हेड सी ब्रीम, *स्पारस आरेटा* (*Sparus aurata*) के पख ऊतकों से SAF-1 नाम के सतत सेल लाइन विकसित किया (बेजर *आदि*, 1997)। *ग्रूपर इपिनेफेलस कोइडस* (*Epinephelus coioides*) के पख ऊतक से विकसित सेल लाइन GF-1 मछली में नोडा वैरस से होनेवाले रोग पर अध्ययन करने का अच्छा औजार है। *ग्रूपर*, *ई. अवोरा* (*E. awora*) के जिगर और वृक्क ऊतकों से इरिडोवैरस को पहचानने का GL और GK सेल लाइनों का विकास किया है (लाइ *आदि*, 2000)। *एशियाई सी बास*, *लेटस कालकारिफर* (*Lates calcarifer*)





डामसेल मछली के पख ऊतकों से विकसित किया कल्चर



मलबार गूपर मछली के क्लोम से विकसित किया सेल लाइन

से SF नामक सेल लाइन विकसित किया (चांग आदि, 2001)।

बहुसक्षम भ्रूणीय कोश (ES) जीनोम मानिपुलेशन संबंधी अध्ययनों को आगे बढ़ाने में सक्षम है। चैन आदि (2003) ने सी पर्च, लाटियोलब्राक्स जापोनिकस (*Lateolabrax japonicus*) के गास्ट्रुला दशा भ्रूण से LJESI नामक बहुसक्षम सेल लाइन का विकास किया।

चैन आदि, 2003 ने पालित समुद्री मछली टर्बोट, स्कोप्तालमस माक्सिमस (*Scophthalmus maximus*) के गास्ट्रियो दशा भ्रूण से सेल लाइन, TEC का विकास किया। क्विन आदि, 2006 ने ऑरंज स्पॉटड गूपर, एपेनेफेलस कोयोडस (*Epinephelus coioides*) के प्लीहा से उष्णकटिबंधीय समुद्री मछली सेल लाइन, GS के विकास के संबंध में विवरण किया है। GS सेल लाइन इरिडोवैरस और नोडावैरस के विघटन व पहचान करने को अच्छा टूल सुझाया जाता है। GS कोशों को pEGFP vector DNA से ट्रांसफेक्ट करने पर महत्वपूर्ण फ्लूरोसेंट सिग्नल देखा गया जो इस बात का सूचक है कि GS सेल लाइन आनुवांशिकी रूपांतरण व हेर फेर संबंधी अध्ययन के लिए अनुयोज्य है।

भारत में ऊतक संवर्धन नया अध्ययन का क्षेत्र है। साठे आदि ने 1995 में मृगाल, सिरिनस मृगला (*Cirrhineus*

*mrigala*) के क्लोम से सेल लाइन MG-3 का विकास किया। अति सूक्ष्म दर्शनी अध्ययनों से संवर्धित कोशों का कोशिकीय रचना और स्रावी स्वभाव समझा गया। साठे आदि ने वर्ष 1997 में रोहु, लबियो रोहिता (*Labeo rohita*) के क्लोम से दूसरे सेल लाइन का विकास किया। मीठाजल मछली हेटिरेनेस्टस फोसिलिस (*Heteropneustes fossilis*) के वृक्क से प्राइमरी कल्चर - कोश पुंजक (clones of cells) का विकास किया (सिंह आदि, 1995)। लक्रा और भोंडे ने 1996 में रोहु लबियो रोहिता के पुच्छीय पख से प्राइमरी कल्चर का विकास किया। इंडियन मेजर कार्प के विविध ऊतकों (रावु आदि, 1997), टोर पुटिटोरा (*Tor putitora*) के पुच्छीय पख (प्रसन्न कुमार आदि 2001) से सेल कल्चर विकास संबंधी रिपोर्ट प्राप्त है। निर्भाग्यवश इन्हीं से कोई कल्चर आगामी प्रयोग के लिए अनुरक्षण नहीं किया गया है (कुमार आदि, 2001)। कुमार आदि ने (2001) आफ्रिकन काट फिश, क्लारियस गरिपिनस (*Clarias gariepinus*) के अंडाशय ऊतक से सेल कल्चर का विकास किया। 15 बार के एकतरफा प्रयोग के बाद इसका गुणन न हुआ और कल्चर का नाश हुआ।

लक्रा आदि (2005) ने रोहु मछली के वृक्क, जिगर, हृदय, क्लोम, पुच्छीय पख और तरण ब्लाडर कल्चर के लिए अनुकूल समझा। लक्रा आदि ने गेल्डन महसीर, टोर पुटिटोरा

के पोने से डिप्लाइड सेल लाइन (TP-1) का विकास रिपोर्ट की। शाहुल हमीद आदि (2006) ने भारत में पहली बार सीबास *एल. कालकारिफर* (*L. calcarifer*) के वृक्क से फिश सेल लाइन (SISK) का विकास किया। दो समुद्री मछली वैरसों को संवेदन करने में यह सफल देखा गया। परमेश्वरन आदि ने इंडयन सी बास के भ्रूणीय सेल लाइन (SISE) का विकास स्थापित किया। सी बास के प्लीहा से मरैन फिश सेल लाइन (SISS) का विकास करने का विवरण भी उन्होंने पेश किया। दो सेल कल्चर पद्धति याने कि *लेटस* का *एपितीलियोड सेल* (LCE) और *लेटस* का फाइब्रोब्लास्टिक सेल (LCF) यथाक्रम इसके पोने और अंगुलीमीन से विकसित किया (लक्रा

आदि, 2006)।

सेल कल्चर सिस्टम विनिर्दिष्ट शरीरक्रिया सहित जैविक सत्व है। इसके विकास के लिए निरंतर परिचर्या, आवश्यक पोषण, अनुकूल वातावरण और नियमित जाँच पडताल चाहिए। प्रत्येक कल्चर को आगे के उपयोग के लिए शीतल स्थिति में संभरण करके रखना चाहिए। इसकेलिए लिक्विड नाइट्रोजन या अल्ट्रा कोलड फ्रीजर्ज का उपयोग कर सकता है। मछली कोशों के अतिशीतन के लिए 10% या इस से अधिक सीरम और क्रयोप्रोटक्टन्टों में ग्लिसरोल या डाइमीथिल सल्फोक्सेड (DMSO) को 5-10% अंतिम संकेंद्रण में जोड़के बनाया जा सकता है।

### मुख्य शब्द/Keywords

सेल लाइन - cell line (specific cells that can grow indefinitely given the appropriate medium)

टूल/साधन - tool

जंतुमारी - epizootic

संगरोध - quarantine

वैरल पांडुरोग - viral etiology

महामारी विज्ञान - epidemiology

कोशिका संवर्धन तंत्र/सेलकल्चर सिस्टम - cell culture system

सालमनोइड - salmonoid

चैनल काट फिश - channel cat fish

कोमन कार्प - common carp

ट्रौट - trout

सतत सेल लाइन - continuous cell line

रेनबो ट्रौट - rainbow trout

स्तनीपाई - mammal

अस्थिमीन - teleost

कोशिका आनुवांशिकी - cytogenetics

प्रतिरक्षा विज्ञान - immunology

केल्प - kelp

स्ट्राइप्ड नाइफ जॉ - striped knife jaw

ग्रेट अम्बरजैक - great amberjack

ग्रूपर - grouper

नोडा वैरस - noda virus - (single stranded RNA virus causing Viral Nerval Necrosis in fishes)

जीनोम मनिपुलेशन - genome manipulation

सी पर्च - sea perch

गास्ट्रुला दशा भ्रूण - gastrula stage embryo

ऑरंज स्पॉटड ग्रूपर - orange spotted grouper

प्लीहा - spleen

इरिडो वैरस - irido virus (a virus characterised by the emittance of blue to purple iridescence)

ट्रानसफेक्ट - transfect

चमत्कारी सूचना - fluroscent signal

आनुवांशिकी रूपांतरण - transgenic

स्रावी स्वभाव - secretory nature

कोश पुंजक - clone of cells

रोहु - rohu

पुच्छीय पख - caudal fin

तरण ब्लाडर - swim bladder

सी बास - sea bass

पोना - fry

अंगुलीमीन - fingerling

जैविक सत्व - biological entity



अंतिम सकेन्द्रण - final concentration

सीरम - serum

क्रयोप्रोटेक्टन्ट - cryoprotectant

इंडियन मेजर कार्प - Indian major carp

एपीथीलियोइड सेल - epithelioid cell

फाइब्रोब्लास्टिक सेल - fibroblastic cell

मुख्य चित्र - कोबिया के पख ऊतकों से विकसित किया कल्चर

## ट्यूनाओं का बारकोडिंग

सी एम एफ आर आइ ने आनुवंशिक बारकोडिंग के लिए ट्यूना की 5 जातियों का जीन अनुक्रमण करके नाशनल सेन्टर फोर बयोटेकनोलजी इन्फोर्मेशन (एन सी बी आइ) के जीन बैंक में जमा किया।

जातियों और आवृत्ति संख्या का विवरण:

- जाति : ऑक्सिस रोचेई  
ACCESSION GQ199626
- जाति : ऑक्सिस थासार्ड  
ACCESSION GQ199627
- जाति : यूथिन्नस एफिनिस  
ACCESSION GQ199628
- जाति : काटसुवोनस पेलामिस  
ACCESSION GQ199629
- जाति : थन्नस अल्बाकारस  
ACCESSION GQ199630

