دراسات على التحسين الوراثى لاسماك البلطى

رسالة مقدمة من

داليا محسن ثابت احمد

بكالوريوس العلوم الزراعية (انتاج حيوانى - اسماك)

كلية الزراعة- جامعة الفيوم- 2020

كجزء من متطلبات الحصول علي درجة

الماجستير في العلوم الزراعيه (تربية أسماك)

قسم الإنتاج الحيواني

كلية الزراعة- جامعة الفيوم

2025

دراسات على التحسين الوراثى لاسماك البلطى

رسالة مقدمة من

داليا محسن ثابت احمد

بكالوريوس العلوم الزراعية (انتاج حيوانى - اسماك)

كلية الزراعة- جامعة الفيوم- 2020

كجزء من متطلبات الحصول على درجة

الماجستير في العلوم الزراعية (تربية أسماك)

لجنة الإشراف العلمى :

1- أ.د/ رمضان محمد أبو زيد .

أستاذ رعاية الأسماك - كلية الزراعة - جامعة الفيوم.

التوقيع .....

2- أ.د/ جمال محمدين حسان

أستاذ ورئيس قسم الوراثة - كلية الزراعة - جامعة الفيوم.

التوقيع .....

3- أ.د/ سامى يحيى حمودة الزعيم

استاذ تربية الاسماك - كلية الزراعة سابا باشا - جامعة الاسكندرية

التوقيع .....

قسم الإنتاج الحيواني

كلية الزراعة - جامعة الفيوم 2025

الملخص العربي

أجريت هذه الدراسة بهدف انتاج أسماك بلطى نيلى متحملة لدرجات الحرارة المنخفضة من خلال تقنية التعديل الوراثى عن طريق إدخال قطع الحمض النووي(DNA) بعد عزلها وتنقيتها من اسماك السالامون في الغدد التناسلية للأسماك .وقد أظهرت النتائج المتحصل عليها من تلك الدراسة وجود تحسن ذو دلالة احصائية فى معظم صفات النموالأسماك البلطى النيلى المعدلة وراثيا.

ويمكن تلخيص أهم النتائج لهذه الدراسة في النقاط التالية :-

1- عزل الحمض النووي من سمك السلامون

تم الحصول على عينات الحمض النووي من سمك السلامون عن طريق قص الزعنفة، وهذه الطريقة لعزل ال DNA تعتبر طريقة سهلة التنفيذ وغير مكلفة ويمكن من خلالها الحصول على كميات كافية من الحمض النووي من خلال بتر جزئي أو كامل لزعنفة الصدر أو البطن. تم تقدير الأحماض النووية باستخدام NanoDrop، حيث وجد أن الأحماض النووية تمتص الضوء عند طول موجي قدره 260 نانومتر. بالنسبة للحمض النووي مزدوج السلسلة، فإن كثافة الضوء (OD) تبلغ 1 عند 260 نانومتر وتتوافق مع تركيز حمض نووي من 50 نانوجرام/ميكروليتر، ويمكن حساب تركيز الحمض النووي من قياسات.OD .

2- .تضخيم جين (gsr) المعزول من سمكة السلامون الأطلسي باستخدام تقنية PCR

تم تضخيم الجين gsr باستخدام بادئات متخصصة وتم تصميم البادئات وفقاً لتسلسل جين الاختزال الجلوتاثيوني (gsr) لسمك السلمون الأطلسي، المتاح من قاعدة بيانات GenBank لتصميم زوج من البريمات (الوزن الجزيئي لناتج ال PCR: 883 زوج من القواعد). باستخدام تقنية الترحيل الكهربائي للاجاروز تم الحصول علي حزمة واحدة بحجم يبلغ حوالي 883 bp من جميع عمليات تضخيم PCR لأسماك السلمون الأطلسي.

3- حقن DNA لجين gsr في الغدد التناسلية لاسماك البلطي النيلي

تم حقن ست إناث من اسماك البلطي النيلي البالغة المختارة بمتوسط وزن حي (165.00 ± 6.24 جرام/أنثى) وثلاثة ذكور بمتوسط وزن حي (187.00 ± 4.56 جرام/ذكر) بنجاح مباشرة باستخدام DNA الغريب (جين (*gsr* في غدد السمك وعضلاته باستخدام إبرة تحت الجلد؛ بالإضافة إلى المجموعة الضابطة (ثلاثة ذكور وثلاث إناث). بعد عملية الحقن ال DNA مباشرة تم عمل ثلاث مكررات (N = 15) وتم تغذية أسماك التربية مرتين يوميًا بأعلاف تحتوي على 25٪ بروتين حتى الشبع.

4- تأثير حقن الحمض النووي الغريب على وزن الجسم لأسماك البلطي النيلي

كانت الزيادة في وزن الجسم الأولي لأسماك البلطي النيلي المعدلة وراثيًا غير معنوية إحصائيًا (P0.05) مقارنةً بأجناس الأسماك الأخرى. وعلاوة على ذلك، كانت أعلى سجلات للوزن الجسم النهائي (FBW) وزيادة الوزن (WG) لأسماك البلطي النيلي المعدلة وراثيًا مرتفعة بشكل ملحوظ (P0.05) عند مقارنتها بأجناس الأسماك الأخرى. بينما زادت نسبة النمو الخاصة (SGR%/day) بشكل ملحوظ (P0.05) مقارنةً بالعينات الضابطة.

5- تأثير حقن الحمض النووي الغريب لأسماك البلطي النيلي على أداء نموالنسل

تم تسجيل أعلى القيم المتوسطة للوزن الجسم النهائي (FBW) وزيادة الوزن اليومي (DG)ونسبة النمو الخاصة (SGR) لأسماك البلطي النيلي المعدلة وراثيًا المعدلة وراثيًا والمعالجة بحمض نووي سالمون سالار، وكانت هذه السجلات أعلى بشكل ملحوظ ($P \leq 0.05$) من تلك الموجودة في العينات الضابطة. على الرغم من التأثير السلبي لدرجات الحرارة المنخفضة على النمو، أظهرت أسماك البلطي النيلي المعدلة وراثيًا المعدلة وراثياً أداءً نموًيا أعلى من العينة الضابطة.

6- تأثير حقن الحمض النووي الغريب على التركيب الكيميائي للجسم واستهلاك العلف في نسل أسماك البلطي النيلي المعدلة وراثيا

في نهاية التجربة، لم يتم ملاحظة أي اختلافات كبيرة في محتوى الرطوبة بين المعاملات. ومع ذلك، كان البروتين الخام غير ملحوظ وأقل ($P \leq 0.05$) في أسماك البلطي النيلي المعدلة **وراثيا** والتي تمت معالجتها بـ Salamo salar-DNA مقارنةً بالكنترول. علاوة على ذلك، كانت أعلى متوسطات لمحتوى الدهون تم تحقيقها من قبل الأسماك الكنترول واختلفت بشكل غير ملحوظ ($P \leq 0.05$)عن تلك الخاصة بأسماك البلطي النيلي المعدلة وراثيا و المعالجة بـ-Salamo salar DNA .كانت المتوسطات لمعدل استهلاك العلف متساوية لجميع مجموعات الأسماك. تم تحقيق أفضل أو أقل متوسطات لمعدل تحويل العلف(FCR) ، وأفضل نسبة كفاءة بروتين (PER) من قبل الأسماك المعالجة، واختلفت بشكل كبير ($P \leq 0.05$) عن تلك الخاصة بالكنترول. قد يُنسب تحسين FCRو PER للأسماك التي تم حقنها بـ Salamo salar-DNA مقارنةً بالكنترول إلى تأثير ارتفاع هرمون النمو في بلازما الأسماك الناتج عن تلك المعالجة ب Salamo salar-DNA.

7- اختبار التباين الجيني للبلطي النيلي المعدل جينياً ونوعه البري من خلال تحليل التكرارات البسيطة المتداخلة (ISSR).

تم فحص جميع عينات الحمض النووي المعزولة من أسماك البلطي النيلي المعدلة وراثيا وعيناتها الضابطة باستخدام تقنية ال PCR وبادئات ISSR . تم استخدام خمسة بادئات لتحديد بصمة الحمض النووي في أسماك البلطي النيلي المعدلة وراثيا بحقن الجين المعزول من أسماك السلمون والأسماك الضابطة. كانت جميع منتجات التضخيم قابلة للتكرار عندما تم تكرار التفاعلات باستخدام نفس شروط التفاعل. كما أظهرت النتائج أن عدد الأشرطة المضخمة المكتشفة كان متغيراً، حسب البادئات وعلاج الحمض النووي. تراوح النسبة المئوية للتنوع الجيني العالي من (50 إلى 85%) باستخدام بادئات ISSR المختلفة. قد يكون ذلك بسبب الاختلافات في جزيء الحمض النووي بين الأسماك الطبيعية والمعدلة بسبب حقن الحمض النووي الأجنبي المعزول من السلمون. علاوة على ذلك، قد تندمج بعض قطع الحمض النووي الأجنبي بشكل عشوائي في جينوم أسماك البلطي النيلي المعدلة وراثيا . تم الحصول على قطع ISSR الرئيسية والثانوية التي تتراوح من 200 إلى 2500 قاعدة. كشفت جميع البادئات عن درجة متفاوتة من التغاير بين الأنماط الجينية، تتراوح بين 50-85%. في هذه التحقيق، كما تم استخدام علامات ISSR كأداة لتقييم التباين الجزيئي بين الآباء الذين تم جمعهم.

تشير نتائج العمل الحالي إلى أن أسماك االبلطي النيلي المعدلة جينياً والتي يمكن إنتاجها من خلال نقل DNA أجنبي معزول من السالامون لتحمل درجات الحرارة المنخفضة تمثل معدل نمو أعلى، مما يمكن استخدامه كمنهجية سريعة وقابلة للتطبيق مقارنة بالتزاوج بين الأنواع، والذي يُعتبر واحداً من طرق التربية الكلاسيكية.