دراسة الاختلافات بين سمكة القاجوج *Sparus aurata* L. 1758 البحرية والمزرعية

II: دراسة الاختلافات البيوكيميائية بين سمكة القاجوج البحرية والمزرعية.

حسين علي امهوس[1] رفعت غريب ابو العلا [1] حنين معيوف علي[1]

DOI: https://doi.org/10.54172/mjsc.v23i1.352

الملخص

أجريت دراسة بيوكيميائية لتقييم تأثير العوامل المرافقة لعملية الاستزراع السمكي على سمكة القاجوج خلال فترة زراعتها وأقلمتها في مزارع سمكية بحرية ، حيث لوحظ باستخدام تقنية الترحيل الكهربائي عبر هلام البولي أكريل أمايد (SDS-PAGE 12.5%) لمستخلص كل من خياشيم وقلب اسماك القاجوج البحرية والمزرعية وجود اختلافات بيوكيميائية بين سمكة القاجوج البحرية والمزرعية في 12 حزمة بروتينية في مستخلص الخياشيم و ستة حزم بروتينية في مستخلص عضلة القلب، حيث كانت الحزم البروتينية نات الأوزان الجزيئية 79 و 83 و 87 و 89 و 98 و 125 كيلودالتن مميزة لخياشيم سمكة القاجوج البحرية، بينما كانت الحزم 78 و 81 و 85 و 88 و 95 و 104 كيلودالتن مميزة لخياشيم الأسماك المزرعية. وكانت هناك ثلاثة حزم بروتينية هي 17 و30 و 66 كيلودالتن مميزة لقلب السمكة البحرية في حين كانت الحزم البروتينية ذات الاوزان الجزيئية 55 و 71 و 26 كيلودالتن مميزة لقلب السمكة المزرعية. وكان معامل التشابه بين سمكة القاجوج البحرية والمزرعية يساوي 0.892 و 0.889 لكل مستخلص على التوالي.

1 قسم علم الحيوان، كلية العلوم، جامعة عمر المختار، البيضاء –ليبيا.

©. المؤلف (المؤلفون) هذا المقال المجاني يتم الوصول إليه من خلال رخصة المشاع الإبداعي (CC BY-NC 4.0)

المقدمة

إن استخدام الخصائص المظهرية لوحدها في الدراسات التصنيفية قد لا يفي بالغرض مما يتطلب استخدام طرق إضافية تعزز أو تفند النتائج التي توصلت إليها الدراسة المظهرية كالطرق البيوكيميائية والجزيئية للوقوف على أوجه التشابه والاختلاف الوراثي (Galbusera *et CiL*، 2000). أعطت طريقة الترحيل الكهربائي للبروتيذات إجابات عالية الدقة وعند مختلف المقارذات التصنيفية (Basaglia ، 1990 ؛ Basaglia، 1992 and Marchetti) لحل الإشكالات العالقة في عمليات التصنيف وكشف الاختلافات الموجودة (Hasnain *et al*.، 2005).

وتاريخيا كان Thomson (1960) من أوائل المشتغلين في توظيف تقنية ترحيل وفصل البروتيذات كهربائيا **في** تشخيص الأسماك البحرية واستخدم هلام النشا كوسط في تفريد بروتيذات العضلات، وتنبأ لهذه الطريقة بأنها ستكون انعطافة كبيرة وواعدة في مجال التشخيص. وأستخدم بعد ذلك Jamaka *et al*. (1963) هلام النشا كوسط في الفصل الكهربائي لبروتيذات هيموجلوبين الدم لتشخيص 12 نوعا من أسماك السلمون حيث درسوا تأثير النوع والجنس ومكان الأسر والعمر للأسماك على صورة فصل الأنماط البروتينية، ووجدوا أن الترحيل الكهربائي كان فعالا في إيجاد التشابه والاختلاف بين الأنواع. وتمكن Tsuyuki and Roberts (1963) من تشخيص العديد من اسماك السلمون من خلال فصل بروتيذات عضلاتها على هلام النشا. وقام بعد ذلك (1966) Tsuyuki *et al*. بفصل بروتيذات عضلات وهيموغلوبين ومصل دم خمسة أنواع من السلمون بواسطة الترحيل الكهربائي عبر هلام النشا والبولي أكريل أمايد.

وأستطاع Uthe *et al*. (1966) من تشخيص العوائد السمكية Pteromyzontidae و Esocidae و Centrarchidae و Percidae في البحيرات الأمريكية باستخدام الترحيل الكهربائي لبروتيذات مصل الدم عبر هلام النشا والبولي أكريل أمايد وكشفت هذه النتائج عن وجود أنماط مختلفة داخل العائلات السمكية للبحيرات المختلفة. وعلى ضوء هذه الدراسة قام Uthe and Tsuyuki (1967) بدراسة تعدد أشكال أسماك اللامبري من خلال ترحيل بروتيذات العضلات و الهيموجلوبين. وعلى أساس الفصل الكهربائي للبروتيذات وباستخدام مستخلص العضلات ومصل الدم والهيموجلوبين على هلام النشأ والبولي أكريل أمايل تمكن Tsuyuki *et al*. (1967) من تمييز أنواع أسماك عائلة Catosomidae المؤلفة من 80 نوعا، ولاحظوا أيضا تعدد أنماط البروتيذات لسمكة *Catasomus catasomus*.

وقام Brouk and Ball (1968) بفصل أنزيم Lactate dehydrogenase من أسماك السلمون على هلام البولي أكريل أمايد واستطاعا من خلاله التمييز بين أنواع سمكة سلمون التراوت وهجنها، مع أجراء بعض التعديلات في خارطتها الوراثية. وعمل Gray and McKenzie (1970) على فصل بروتينات عضلات اسماك النوعين *Salmo trutta* و *s gairdni* والمأخوذة من مناطق جغرافية مختلفة على هلام النشا بطريقة الترحيل الكهربائي والتمييز بينهما. وأستخدم Chen and Tsuyuki (1970) هلام النشا لفصل الأنزيمات الناقلة في العضلات والدم وأنزيمات أستريز مصل الدم لتوظيفها في التفريق بين سمكة *Tilapia sp* وأسماك أفريقية أخرى. وأشاد Westerheim and Tsuyuki (1971) بالجدارة والثقة التي تتسم بها طريقة الترحيل الكهربائي في الدراسات التشخيصية لنجاحها في التفريق بين أنواع أسماك العائلة العقربية Scorpaenidae عن طريق تشابه واختلاف الحزم البروتينية للعضلات أو الهيموجلوبين.

وتتالت الدراسات التي تستخدم تقنية الترحيل الكهربائي دراسة بعد اخرى، فقد لاحظ Miyazaki et al. (1998) من اجراء الترحيل الكهربائي لبروتينات أكباد ستة انواع من اسماك عائلة Cyprinidae سهولة الفصل بين العائلات الثانوية والأنواع. ووجد (1999) Shahin تباينات جينية بين اسماك *Alestes dentex* و *Barbus bynni* و *Labeo niloticus* الشائعة في نهر النيل عند محافظة المنيا في مصر وسمكة كارب العشب الصينية *Ctenopharyngodon idella* عند دراسة 14 بروتينا أنزيميا وبروتينين غير أنزيميين باستخدام الترحيل الكهربائي.ومكنت عمليات التطوير والتحوير التي أجريت على تقنية الترحيل الكهربائي خلال السبعينات والثمانينات من القرن الماضى الباحثين من فصل البروتينات **ذات** الأوزان الجزيئية المنخفضة (Schagger and Jagov، 1987) وفي حل مشكلة البروتينات **ذات** الأوزان الجزيئية المتشابهة (Martinez *et al,*.، 1990 ; Focant *et al* 1990). ويعول هذه الأيام على هذه التقنية في كشف الاختلافات الموجودة بين أو ضمن الأنواع والسلالات من خلال التشابه أو التباين في الحزم البروتينية المفصولة على الهلام (Hasnain *et al*.، 2005).

المواد وطرق البحث

جلبت عينات أسماك القاجوج حية لاستخدامها في الدراسة البيوكيميائية، فالأسماك البحرية تم الحصول عليها من مصيد سوسة البحري التقليدي، أما عينات أسماك القاجوج المزرعية فتم الحصول عليها من مزرعة عين الغزالة الواقعة في الجزء الشرقي من ليبيا، وبواقع 25 سمكة لكل منهما.

ونقلت العينات حية إلى المعمل ووضعت في أكياس من البولي إثيلين، علمت وحفظت في المجمدة عند درجة حرارة 82 م تحت الصفر لحين الحاجة إليها.

أنتزعت القلوب والأقواس الخيشومية من عينات اسماك القاجوج البحرية واسماك القاجوج المزرعية وجمع كل منهما على انفراد، وقطعت وهرست واستخلصت طبقا لطريقة (2006) Martinez *et al*. تم تفريد بروتينات كلا من قلب وخياشيم سمكة القاجوج البحرية وسمكة القاجوج المزرعية باستخدام تقنية الترحيل الكهربائي (Laemmli، 1970)' وخلال هلام البولي اكريل امايد 12.5% Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis تحت ظروف الاختزال. وحضر وسط البولي اكريل امايد واخذ 40 مايكروليتر (تركيز 250 مايكروجرام بروتين /مل) من مستخلص كل مجموعة من العينات السالفة الذكر وعوملت ورحلت على انفراد مع عينة من البروتينات القياسية المعروفة الوزن الجزيئي الكتروفورسيا وثبتت وصبغت حسب طريقة Hudson and Hay (1991). وحفظ الهلام لحين إجراء الفحص والتصوير.

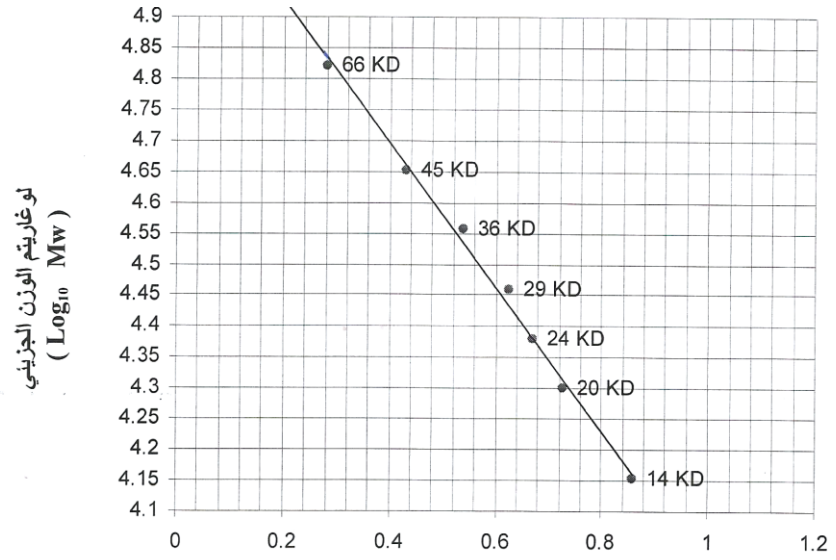
وقدرت الأوزان الجزيئية لبروتينات القلب والخياشيم لسمكة القاجوج البحرية والمزرعية بحساب الحركة النسبية لجزيئات البروتين (Relative mobilities of the proteins *(Rf* حسب المعادلة التالية (Deutscer، 1990).

$$\text{الحركة النسبية للبروتين}(R_f) = \frac{\text{المسافة التي قطعها البروتين}}{\text{المسافة التي قطعتها الصبغة}}$$

واسقاط ذلك على المنحنى القياسي للبروتينات القياسية المرسوم من لوغاريثم الوزن الجزيئي وال Rf (شكل 1).

وحسبت درجة التشابه بين الاسماك البحرية والمزرعية طبقاً لمعادة Ni and Li (1979).

$$\text{معامل التشابه} = \frac{2 \times \text{عدد الحزم البروتينية المتشابهة}}{\text{عدد الحزم البروتيبية في العينة أ + ب}}$$

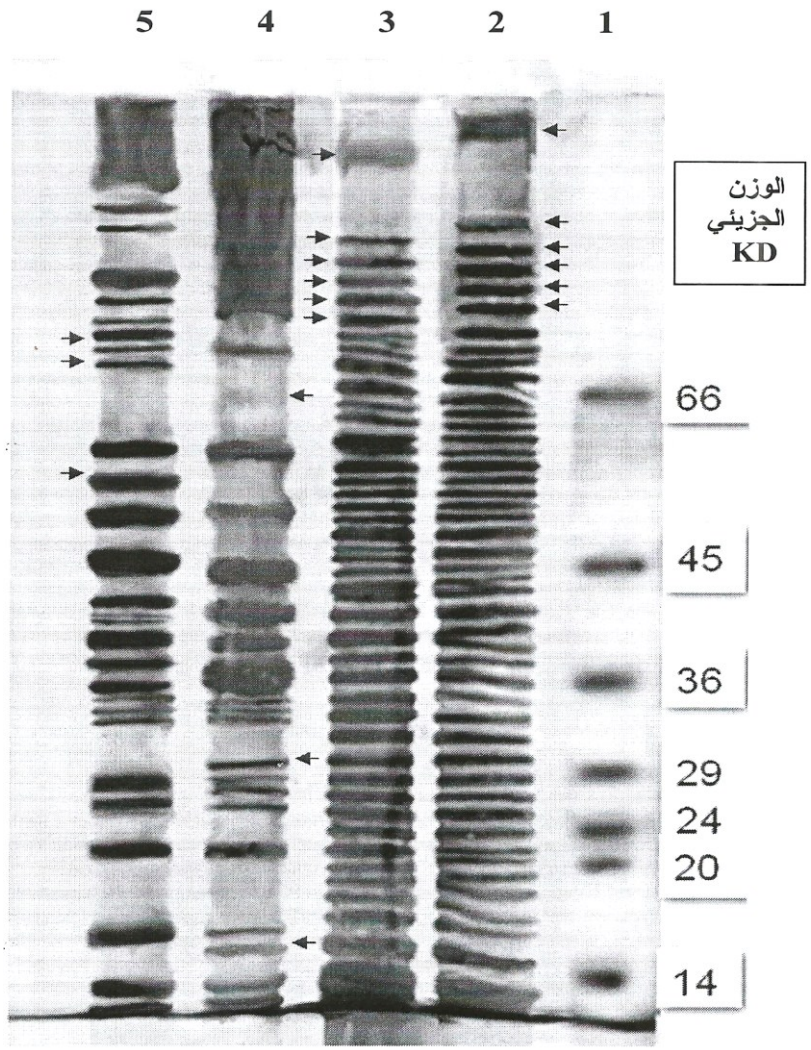


شكل1. المنحنى القياسي للبروتينات القياسية المرحلة كهربائيا على هلام البولي أكريل أمايد

النتائج

أجريت الدراسة البيوكيميائية باستخدام تقنية الترحيل الكهربائي لبروتينات القلب والخياشيم عبر هلام البولي أكريل أمايد (SDS-PAGE) 12.5%. وأظهرت نتائج الترحيل الكهربائي لمستخلص خياشيم سمكة القاجوج البحرية والمزرعية (شكل 2) بأنهما يختلفان عن بعضهما في 12 حزمة بروتينية مختلفة الوزن الجزيئي. حيث لوحظ وجود ستة حزم بروتينية مميزة لخياشيم الأسماك البحرية ذات أوزان جزيئية قدرت بـ 79 و 83 و 87 و 89 و 98 و 125 كيلودالتن ولا يوجد مثيلا لها في خياشيم الأسماك المزرعية. وفي المقابل هناك ستة حزم بروتينية ذات أوزان جزيئية 78 و 81 و 85 و 88 و 95 و 104 كيلودالتن كانت مميزة لخياشيم الأسماك. المزرعية ولا يوجد ما يقابلها لدى خياشيم الأسماك البحرية التي تعيش في البيئة الطبيعية. وبتطبيق معادلة(1979) Nei and Li وجد **أن** معال التشابه بين سمكة القاجوج البحرية و المزرعية يساوي 0.892 أي **أن** معدل الاختلاف اختلافا بينهما يساوي 0.108 وهذا يعني **أن** هناك نسبة تشابه أو اختلاف بين سمكة القاجوج البحرية والمزرعية مقدارها 90.2% أو 10.8% على التوالي.

أما بالنسبة لعضلة القلب فقد أسفرت نتائج الدراسة (شكل 2) عن وجود ستة حزم بروتينية مختلفة لدى قلب الأسماك البحرية والمزرعية، حيث لوحظ وجود ثلاثة حزم بروتينية **ذات** أوزان جزيئية قدرها 17 و 30 و 66 كيلودالتن مميزة لقلب الأسماك البحرية ولا يوجد ما يماثلها لدى قلب الأسماك المزرعية، وهناك أيضا ثلاثة حزم بروتينية أوزانها الجزيئية 55 و 71 و 76 كيلودالتن مميزة لقلب الأسماك المزرعية ولا يوجد ما يقابلها في قلب الأسماك البحرية. وبحساب معامل التشابه بين سمكة القاجوج البحرية والمزرعية أتضح أنه يساوي 0.889 أي هناك معدل اختلاف بينهما قدره 0.111وهذا يعني نسبة التشابه أو الاختلاف بين سمكة القاجوج البحرية والمزرعية تساوي 0/.88.9 أو 11.1% على التوالي وهذه النسبة مماثلة تقريبا لما تم الوصول إليه مع بروتينات الخياشيم.



شكل 2. نمط الترحيل الكهربائي لبروتينات قلب وخياشيم سمكة *S. aurata*
وتمثل الأرقام مسارات الهجرة الكهربائية حيث ان:

1 تمثل مسار الحزم البروتينية لبروتينات قياسية مختارة.
2 تمثل مسار الحزم البروتينية لبروتينات خياشيم الأسماك البحرية.
3 تمثل مسار الحزم البروتينية لبروتينات خياشيم الأسماك المزرعية.
4 تمثل مسار الحزم البروتينية لبروتينات قلب الأسماك البحرية.
5 تمثل مسار الحزم البروتينية لبروتينات قلب الأسماك المزرعية.
تشير الأسهم ← إلى الحزم البروتينية المختلفة.

المناقشة

تعد تقنية الترحيل الكهربائي للبروتينات من التقنيات الواسعة الاستخدام إذ استخدمت في العديد من الفعاليات الحيوية كتشخيص الأمراض (Buffon، 1978) وفي الكشف عن السموم وحالات التسمم (Soares et al، 1998) وتحلل البروتينات وصلاحية المواد الغذائية (Biochgen، 1973) وفي الكشف الجنائي والطب العدلي والكشف عن صلة القرابة بين الأشخاص وغيرها (Westermeier، 2005). ويعود استخدامها في تصنيف وتشخيص الكائنات الحية إلى بدايات النصف الثاني من القرن الماضي، حيث أستخدمها العديد من الباحثين في شخيص وتصنيف العديد من النباتات والحيوانات على حد سواء استنادا إلى مدى التشابه أو الإخلاف في الصورة الألكتروفورسسية للبروتينات (Razin، 1968 ؛ 1974؛Baptist et al، 1969؛ Rickemanand ، 1973؛ Gardener et ؛ Desborough,1978; Shechter Frenkel and 1979 ,Johnston and 1987؛ Sharman, 1979; Gillespie ؛Van Vuuren and van der Meer، Boerlin et all، 1991).

ومن المعروف إن الدراسات التصنيفية تستند بشكل عام على القياسات المظهرية والخصائص التشريحية (Yilmaz et al، 2007) ، ولكن هذه الطرق لم تعد اليوم هي الوحيدة المعتمدة في تصنيف الأسماك وغيرها من الحيوانات كما هو الحال في السابق، بل تستخدم معها طرق بيوكيميائية وجزيئية يعتمد تطبيقها أساسا على استخدام تقنية الترحيل الكهربائي سواء كانت للبروتينات أو الإنزيمات أو أل DNA (Focant et al، 1981 ؛ 1998؛ Miyazaki 2001؛ Galbusera et al، 2000؛ et Pinerio et al،). وتستخدم الان تقنية الترحيل الكهربي بشكل واسع في مجال تصنيف الأسماك (Yilmaz et al، 2007) ، فحقق هذا النوع من الدراسات طفرة واسعة في هذا المجال ومكن من إجراء العملية التصنيفية بيسر مع دقة عالية من التمييز وفقاً لنتائج عملية الترحيل الكهربائي (Theophilus 1998 and Rao).

وبينت الدراسة الحالية وجود إختلاف في بعض الأنماط البروتينية بين سمكة القاجوج البحرية والمزرعية. حيث أفرزت نتائج الترحيل الكهربائي وجود 12 حزمة بروتينية مختلفة بين خياشيم السمكة البحرية وخياشيم السمكة المزرعية وستة حزم بروتينية أخرى مختلفة بين قلب السمكة البحرية وقلب السمكة المزرعية، وهذا يتفق مع ما لاحظه (2006) . Martinez et al من وجود اختلاف بين الأنماط البروتينية للأسماك البحرية والمزرعية لسمكة klipfish أو مع ما وجده(2000) Crozier مع سمكة سلمون المحيط الهادي البحرية والمزرعية. وهذا الاختلاف في الأنماط البروتينية بين الأسماك البحرية والمزرعية قد يعزى إلى التباين فى طبيعة تغذية هذه الأسماك (Barnhart,1969) فأسماك القاجوج تعد في

الأساس من اللواحم وقد تتغذى على الأعشاب (Bauchot and Hureau، 1990) ، فهي تتغذى على الصدفيات مثل بلح البحر والمحار في بيئتها الطبيعية، في حين تمت أقلمتها في أقفاص التربية على غذاء جاهز مصنع من عدة مواد على شكل حبيبات (محمود، 1998). أو ربما يعزى هذا الاختلاف في الأنماط البروتينية إلى الاختلاف في طبيعة الظروف البيئية التي تتعرض لها الأسماك المزرعية فالظروف البينة للمزارع السمكية تعرض الأسماك إلى إجهادات حادة ومتكررة ومتنوعة ذات تأثيرات كابحة للنمو والتكاثر والقابلية المناعية فتظهر تأثيراتها على معدلات النمو والأيض ومقاومة الأمراض والتحمل الحراري والأسموزي والخصوبة، وسيؤول تأثير تفاعلاتها في النهاية – بدون شك. على الأنماط البروتينية في الأسماك المزرعية مقارنة مع الأسماك البحرية (Braton and Iwama، 1991 ؛ Barton، 2002). إذ تواجه الأسماك المربـاة اختلافات كبيرة في ظروف التربية مقارنة مع الظروف الطبيعية وبدءا من المفاقس وما يرافقها من الانتقاء الصناعي والتهجين والتضريب لمختلف الأصول والسلالات ونقل البيوض واليرقات والأصبعيات لمسافات طويلة وما يرافق ذلك من مخاطر، إضافة إلى ظروف الاستزراع والازدحام والغذاء، ومما لاشك فيه، إن الظروف التي تعيش فيها الأسماك المزرعية من ناحية النظام الغذائي والكثافة العددية والتعرض للمفترسات والتنافس بين أفراد النوع ذاته لا تشابه الظروف الطبيعية التي تتواجد فيها الأسماك في بيئتها البحرية (Einum and Fleming، 2001). وبهذا يمكن القول إن اختلاف الظروف البيئة وما تبديه الأسماك المزرعية من تفاعلات تكلفية لظروف البيئة الجديدة يعد عاملا مؤثراً في حصول التباينات البيوكيميائية والوراثية للأسماك المزرعية عن الأسماك البحرية (Schulte، 2001) والتي سترسم خطوطها الأخيرة شكل البروتينات المتكونة، وهذا ما ينعكس في الأخير على الصفات البيولوجية مظهرية كانت أم وراثية (ألساعدي وآخرون، 2008 أ، ب؛Yongqiang et al، 1998). إذ يعتقد البعض إن المحددات الكبيرة للخصائص المظهرية عند مستويات ضمن نوعية تكون اختلافات طرز مظهرية phenotypes قد تخضع أو لا تخضع مباشرة تحت السيطرة الجينية بل تخضع للتكيفات أو التحورات البيئية Karkauer, and Borenstein 2008.

ولوحظ أيضا أن معدل الاختلاف بين سمكة القاجوج البحرية والمزرعية من خلال الترحيل الكهربائي لبروتينات الخياشيم والذي بلغ 0.108 كان مساويا تقريبا لمعدل الاختلاف بينهما من خلال ترحيل بروتينات القلب (0.111) رغم اختلاف طبيعة ووظيفة الأنسجة. وهذا إن دل على شيء فإنما يدل على دقة نتائج تقنية الترحيل الكهربائي ومقدرتها على كشف التشابه والاختلاف بين اسماك النوع الواحد. ولتؤكد ما جاءت به الدراسات السابقة من كونها تمكن الباحثين من كشف الاختلافات الموجودة بين أو ضمن الأنواع من خلال التشابه أو التباين في الحزم البروتينية المفصولة على الهلام (Hasnain et al.، 2005) مع سهولة الفصل بين الأنواع وإرجاعها إلى عائلاتها الثانوية (Miyazaki et al. 1998). بل كانت دقيقة في تمييز ذكور وإناث النوع الواحد 1991

Komagata et al،). وضمن هذا السياق لاحظ Yilmaz et al .2000 و من خلال ترحيل مصلي سمكتي Capoeta trutta و Capoeta capota umbla أنهما تختلفان عن بعضهما معنويا حيث بلغ عدد الحزم البروتينية 16 و 11 حزمة على التوالي . وكشف Tsuyuki وزملائه من خلال استخدام تقنية الترحيل الكهربائي لبروتينات العضلات وبروتينات مصل الدم وجود ظاهرة تعدد الأشكال لبعض أسماك اللامبري (Uthe and ، 1967 Tusuyki) والسلمونيات ،،.(Tsuyuki، 1963 and Roberts) ، وتكن هذا الفريق الفصل بين أنماط و أنواع السلمونيات عن طريق الترحيل الكهربائي باستخدام هلام النشا والبولي أكريل أمايل (1966 Tsuyuki et al،). واستطاع (2007) Yilmaz et al. أيضا من خلال استخدام هذه التقنية من تشخيص أنواع:

Acanthobrama marmid و Leuciscus cephalus و Chondrostoma regium في تركيا. ولوحظ أيضا أن بروتينات الخلايا العضلية لسمكتي Orthrias insignis euphyraticus و Cyprinion macrostomus تختلف فيما بينها في العدد والوزن الجزيئي (Yilmaz et.، 2005 al). ولاحظ (1999) Shahin أيضا وجود تباينات جينية بين أسماك Alestes dentex و Barbus bynni و Labeo niloticus الشائعة في نهر النيل عند محافظة المنيا في مصر وسمكة كارب الأعشاب الصينية Ctenopharyngodon idella عند دراسة 16 بروتين أنزيمي وغير أنزيمي باستخدام الترحيل الكهربائي، وغيرها من الدراسات التي أكدت دقة ومصداقية تقنية الترحيل الكهربائي في تشخيص وتصنيف الأسماك.

وعلى الرغم من كون الجينات البروتينية لا تمثل سوى 10% من الجينوم إلا إن الترحيل الكهربائي للبروتينات يعتبر برهانا إيجابيا للعلاقة بين الاختلافات الجينية والذي يكشف عن جزءا مهما من الجينوم الذي يشفر للنتاجات البيوكيماوية الوظيفية (Mitton ، 1984 Allendorf; 1989، 1986'and Grant and Teary Danzmann et al).

The differences study between wild and aquaculture gilthead sea bream *Spams aurata* L. 1758. II: The biochemical differences between wild and aquaculture gilthead sea bream.

Hussain A. Al-saady[1] Refaat G. Abu Elela[1] Haneen M. Ali[1]

Abstract

The current study was carried out to evaluate the effect of environmental stress on gilthead sea bream *Sparus aurata* L during the domestication period in marine aquaculture.

The biochemical study with 12.5% SDS - PAGE of gills and cardiac muscle proteins of wild and aquaculture individuals showed that they differed in 12 protein bands form the gills and in six protein bands form the cardiac muscle. Six protein bands (79, 83, 87, 89, 98 and 125 KDa) are characteristic of wild fish gills, while six other protein bands (78, 81, 85, 88, 95 and 104) are characteristic of aquaculture fish gills. In addition, three protein bands are characteristic of wild fish heart (17, 30 and 66 KDa) while three other protein bands (55, 71 and 76 KDa) are characteristic of aquaculture heart.

The coefficient of similarity between wild and aquaculture gilthead sea bream are 0.892 and 0.889 for gills and heart respectively.

[1] Department of Zoology, Faculty of Science, Omar Al-Mukhtar University, Al-Bayda - Libya

المراجع

ألساعدي، حسين علي مهوس؛ ابو العلا، رفعت غريب و العبيدي، حتين معيوف علي(2008 ؛). دراسة الاختلافات بين سمكة القاحوج 1758 *Sparus aurata* L. البحرية والمزرعية. 1: دراسة الاختلافات المظهرية بين سمكة القاجوج البحرية والمزرعية. مقبول للنشر، مجلة المختار للعلوم.

ألساعدي، حسين علي مهوس؛ أبوالعلا، رفعت غريب؛ السعدي، علي حمود والعبيدي، حتين معيوف علي (2008 ب). دراسة الاختلافات بين سمكة القاحوج *Sparus aurata* L.1758 البحريةوالمزرعية.3: دراسة الاختلافات الجزيئية بين سمكة القاجوج البحرية والمزرعية. مقبول للنشر، مجلة المختار للعلوم.

محمود، عبد الباري محمد (1998). الاستزراع السمكي المكثف. منشأة المعارف. الإسكندرية.

Allendorf, F. w. and Leary, R. F. (1986). Heterozygosity and Fitness in Natural Populations of Animals. In: Soule, M. E. (ed.) *Conservation Biology Associates*. Massachusetts, pp 57-76.

Baptist, j. N.; Shaw, c. R.; and Mandel M. (1969). Zone electrophoresis of enzymes in bacterial taxonomy, *j. Bacteriol.,* 99: 180-188.

Barnhart, R. A. (1969). Effects of certain variables on hematological characteristics of rainbow trout. *Transactions of the American Fisheries Society,* 98: 411-418.

Barton, B. A. (2002). Stress in fishes: a diversity of responses with particular

reference to changes in circulating corticosteroids. *Integ. Comp. Biol.,* 42: 517- 525.

Barton, B. A. and Iwama, G. K. (1991). Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. *Ann. Rev, Fish Dis, ١ V. ?)-26.*

Basaglia, F. (1992). Comparative examination of soluble red muscle protein of fifteen Sparidae species. *j. fish. Biol.,* 40: 557-566.

Basaglia, F. and Marchetti, M. G. (1990). A comparative stady of some soluble proteins of genus *Diplodus* (Sparidae: Teleostei). *Comp. Biochem Physiol.,666 و6 '.6٠دتل*

Bauchot, M. and Hureau, j. (1990). Sparidae. In: Quero. j. c.١ Hureau, j. c., Katter, c.. Post, A. and Saldanha, L. (ed.). *Check-List ofThe Fishes ofThe Eastern Tropical Atlantic (CLOFETA).* JNICT, Lisbon; SEL Paris and UNESCO, Paris, pp 790-812.

Bioch.gen, (BiochemicesKaja genetika ryb) (1973). Material 1

Crozler W.W. (2000). Esca۴d fanned salmon *Salmoscdar* L. inIheGlenmRiver,
Northern Ireland: genetic status of tire wild population 7 „veare on. *Fish. Mariag. Ecol.,* 7: 437-446.
Danzmann, R. G.; Ferguson, M. M. and Allendrof, F. w. (1989). Genetic variability and components of fitness in hatchery strains of rainbow trout. *j. Fish Biol.,* 35: 313-319.
, (fly *Guide to Protein Purification.. Methods in Enzymology* vol. 182. San Diego: Academic Press, p 439.
Einum, s. and Fleming, I. A. (2001). Implications of stoking: Ecological interactions between wild and released salmonids. *Nordic, j. Freshw. Res.,* 75: 56-70. - -
Focant B.; Jacob M. F. and Huriaux F. (1981). Electrophoretic comparison ofthe proteins of some perch (*.Percafluviatilis* L.) head muscles, *j. Muscle Res. Cell Motil.* 2: 95-305.
Focant, B.; Michel, c. and Van de Walle, p. (1990). Use ofbiochemical analysis of muscle proteins to help the classification ofpolychromic individuals ofthe ؟اعـــة، *Symphodus. Arch. In. Physiol. Biochem., 92 -1؟:؟>•. ؟ا*
Frenkel, M. j. and Gillespie, j. M. (1979). Proteins ofbeaks, ثـــل-go vessojuznogo sovieSCania, Leningrad 1973, Izd Institut citologii Akademii Nauk SSSR- Leningrad.
Boerlin, p.; Rocourt, j. and Piffaretti, j. c. (1991).Taxonomy ofthe genus Listeria by using multilocus enzyme electrophoresis. *Int. j. Syst. Bacteriol.,* 41: 59-64.
Borenstein E. and Krakauer D. c. (2008). An end to endless forms: Epistasis, phenotype distribution bias, and iron-uniform evolution. *PLoS Computational*
.4:1-13ﻟ..0؛5
Brouk, G. R. and Ball, R. c. (1968). Conrparative electrophoretic patterns of lactate dehydrogenase in three species oftrout. *J.fish. Res. Bd. Can.,* 25: 13-2.
Buffon, j. G. (1987). Principles of Immunochemical Techniques. In: Tieiz, N.
w. (ed.) *Fundamitation ofClinical Chemistry* .3 ٢٥ed. Philadelphia, Saunders, ppl45-159.
Chen, F. Y. and Tsuyuki, H. (1970). Zone electrophoretic studies on the proteins of *Tialapia mossambica* ٥١ا٥& *T. hornarum and xkfr T*\ ١١لا١له؟ا>*, T. zillii awd T. melanopleura. j. fish. Res. Bd. Can.,*2٦'*. 2161.*

Jamaka, H. Y.; Hasimoto, K. and Matsura, F. (1963). Starch gel electrophoresis of fish hemoglobin; III. Salmonid Fishes. *Bull. Sci. Fish.,* 33: 195.

Johnston P. G. and Sharman G. B. (1979). Electrophoretic, chromosomal and morphometric studies on the red-necked wallaby, *Macropus rufogriseus* (Desmarest). *Austral. J. ZooL,* 27441-433 ؛.

Laemmli, U. K. (1970). Cleavage of structural proteins during assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature,* 277: 680-685.

Martinez, I.; Ofstad, R., and Olsen, L. (1990). Electrophortic study of myosin

isoforms in white muscles of some teleost species. *Comp. Biochem. Physiol.,* 96: 221-227.

Martinez I.; Slizyte R. and Dauksas E. (2006). High resolution two-dimensional electrophoresis as a tool to differentiate wild from farmed cod (*Gadus morhua)* and to assess the protein composition of klipfish. *J. Foodchem.,* 3: 37-44.

Mitton, J. B. and Grant, M. C. (1984). Associations among protein hetertzygosity growth rate and developmental homeostasis. *Ann. Rev. Ecol. System.,* 15: 479- 499.

Miyazaki J. I.; Hirabayashi T.; Hosoya K. and Iwami T. A. possible use in taxonomy of birds .*Austral, j. Zoo¡.,* 27452-443؛ .

Galbusera, p.; Volckaert, F. A. M. and Ollevier, F. (2000). Gynogenesis in the

African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell,1822) III. Induction ofendomitosis and the presence ofresidual genetic variation. *Aquaculture,* 185: 25-42.

Gardener, P. J.; Chance, M. L. and Peters, W. (1974). Biochemical taxonomy of *Leishmania.* II. Electrophoretic variation of malate dehydrogenase. *Ann. Trop. Med. Parasit.,* 68:317-325.

Gray, R. W. and Mckenzie, J. (1970). Muscle proteins electrophoresis in the genus *Salmo* of Eastern Canada. *J. Fish. Res. Bd. Can.,* 27: 2109.

Hasnain, A.; Arif, S. H.; Ahmad, R. and Pandey, R. B. (2005). Identification of species-marker Bands in Native and SDS-PAGE patterns of soluble muscle proteins of four species of Genus *Chan* (Channidae : Channiformes) with evidence of some intraspecies heterogenicity. *Asian fish. Sci.,* 18: 49-58.

Hudson, L. and Hay, F. C. (1991). *Practical Immunology.* 3rd ed. London:

Blackwell Scientific Pubulations. pp. 65-69.

Schagger, H. and von Jagov, G. (1987). Tricine-sodium-dodecyl-sulphate-
polyacrylamide gel electrophoresis for separation of proteins in the range of 1-100 KDa. *Analyt. Biochem.,* 166: 368-379.

Schulte, P. M. (2001). Environmental adaptations as windows on molecular evolution. *Comp. Biochem. Physiol. Biochem. Mol. Biol.,* 128: 597-611.

Shahin A. A. B. (1999). Phylogenetic relationship between the characid Nile fish
" cyprinid *Barbus bynni, Labeo niloticus,* and the introduced grass
carp, *Ctenopharyngodon idella* elucidated by protein electrophoresis. *J. Egypt Ger. Soc, Zool.,T. 21-41*

Shechter Y. (1973). Electrophoresis and taxonomy of medically important fungi. *JSTOR Bull. Torrey Botunicul Club,* ١٢١w. *TTin.*

Soares, A. M.; Anzaloni, L. H.; Fontes, M. R. M.; Da Silva, R. j. and Giglio, j.
R. (1998). Polyacrylamide gel electrophoresis as a tool for the taxonomic identification of snakes from the Elapidae and Viperidae. *j. Venom. Anim.*
Toxins, 4: 137-42.

Theophilus j. and Rao p. R. (1998). Electrophoretic studies on the serum proteins of the three (1998). Study of the systematic of cyprinid fishes by two dimensional gel electrophoresis. *Environ. Biol. Fish.,* 52: 173-179.

Nei, M., and Li, W. H. (1979). Mathematical mode for studying genetic variations in terms of restriction endonucleases. *PNAS (Proc. Natl. Acad. Sci. USA), 1C.* 5269-5273.

Pickering, A. D. (1993). Growth and stress in fish production. *Aquaculture,* 111: 51- 63.

Pineiro C.; Vazquez J.; Marina A. I.; Barros-Velazquez J. and Gallardo J. M. (2001). Characterization and partial sequencing of species-specific sarcoplasmic polypeptides from commercial hake species by mass spectrometry following two-dimensional electrophoresis. *Electrophoresis,* 22: 1545-1552.

Razin S. (1968). *Mycoplasma* taxonomy studied by electrophoresis of cell proteins. *J. Bacteriol.,* 96: 687-694.

Rickeman V• S. and Desborough S. L. (1978). Elucidation of the evolution and taxonomy of cultivated potatoes with electrophoresis. *TAG Theoret. Appl.*
Gene., 52:217-220.

Petomyzontidae, Centrchidae and Percidae . *j. Fish. Res. Bd. Can.,* 23: 1663-70.

Van Vuuren and van der Meer (1987). Fingerprinting of yeasts by protein electrophoresis *Am. j. Enol. Vitic.,* 38: 49-53.

Westerheim, S. j. and Tsuyuki, H. (1971). Taxonomy distribution and biology of the northen rockfish, *Sebastespolyspinis. j. Fish. Res. Bd. Can.,* 28: 1621.

Westermeier, R.; Barnes N. and Gronau-Czybulka, s. (2005). *Electrophoresis in Practice: A Guide to Theory and Practice.* 4th ed. New York,Weinheim: Wiley-VCH.pp. 1-36.

Yilmaz M.; Cigremis Y.; turkoz Y. and Gaffruoglu M. (2005). A taxonomic study on *Orthrias insignis euphraticus* (Banarescu and Nalbant, 1964) and *Cyprinion macrostomus* (Heckel, 1843) by sarcoplasmic protein electrophoresis. *G. u. j. Sci.,* 18:61-68.

Yilmaz M.; Yilmaz H. R. and Alas, Ali (2007). An electrophoretic taxonomic study 1 ɔ*of*

Acanthobrama marmid, Leuciscus cephalus, 'dwd

*Chondrostomaregium.EurAstaj. Bio. Sci.,2`.22-2*٦.

Yongqiang, F.; Youzhu, w.; Yao, Y. and Lan, c. (1998). Introductive

domestication and culture ofturbot in Xiamen, *j. Oceanography Taiwan Strait/ Tuwian Elabda. Xiamen, Id". 1-1.*

species of genus *Channa. Indian j. Fisk,* 35: 294-297.

Thomson, R. K. (1960). Species identification by starch gel zone electrophoresis of protein extracts. *I. Fish. Journal ofA.0. A. c.,* 43: 763.

Tsuyuki, H. and Roberts, E. (1963). Species differences of some members of

salmonidae based their muscle myogen patterns, z. *Fish. Res. Bd. Can.,* 20: 101.

Tsuyuki, H.; Roberts, E.; Kerr, R. H.; Uthe, j. F. and Clarke, L. w. (1967). Comparative electropherograms ofthe family Catostomidae. *j. Fish. Res. Bd.* c०n., 24: 299-304.

Tsuyuki, H.; Uthe. j. F.; Roberts E. and Clarke, L. w. (1966). Comparative electropherograms ofceregonus clupeaformes *Salvelinus namaycush, s. alapinus. s. malma* and *s. fantinalis* from the family Salmonidae. z. *Fish. Res. Bd.* Ca^., 23: 1599-1607.

Uthe, j. F. and Tsuyuki, H. (1967). Comparative zone electropherograms ofmuscle myogens and blood proteins of adult and ammocoete lamprey, *j. Fish. Res. Bd.* c«,,., 23:1269-73.

Uthe, j. E.; Roberts, E.; Clarke, L. and Tsuyuki, H. (1966). Comparative electropherograms of representatives ofthe families