جمـهوريـــــة العـراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعـة ديــالى

علاقة تعدد المظاهر الوراثية لجين الصدمة الحرارية (HSP 70) وبعض العوامل اللاوراثية في بعض الصفات التناسلية والإنتاجية لإناث الماعز المحلي

رسالة مقدمة إلى مجلس كلية الزراعة ـ جامعة ديالى
وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في العلوم الزراعية
علوم الثروة الحيوانية

من قبل الطالبة
أوراس رزوقي وهيب الزيدي

بإشراف
أ . د . صالح حسن العزاوي

1444 هـ
2022 م

المستخلص

Abstract

أجريت هذه الدراسة لتحديد علاقة التراكيب الوراثية لجين الصدمة الحرارية HSP70 وبعض العوامل اللاوراثية في بعض الصفات التناسلية والإنتاجية لإناث الماعز المحلي. نفذت هذه الدراسة في محافظة ديالى – قضاء الخالص على 30 انثى من الماعز المحلي للمدة من 15 / 7 / 2021 الى 6 / 7/ 2022 أظهرت النتائج اختلاف التراكيب الوراثية (Genotype) لمنطقة التشفير الاولى لجين HSP70 حيث ظهرت ثلاث طفرات نقطية وهي C1311T و C1528T و C1653T بعد ارسال النماذج إلى شركة Macrogen الكورية لتحديد تسلسل القواعد النايتروجينية . نجد من نتائج الدراسة عدم وجود فروق معنوية بين التراكيب الوراثية في القطعة الثالثة من جين الصدمة الحرارية HSP70 وهي C1311T و C1528T و C1653T. بينت نتائج الدراسة بالأداء التناسلي للمعزات للطفرة الاولى C1311T وجود تأثيرات عالية المعنوية ($P \leq 0.01$) لصفة نسبة الخصوبة لصالح التركيب الوراثي CT على CC وTT اما معدل الخصب عند الولادة والفطام ونسبة الهلاكات فلوحظ عدم وجود فروقات معنوية بين التراكيب الوراثية الثلاثة اما نسبة التوائم ووزن المواليد لكل معزة عند الفطام فلوحظ وجود تأثير عالٍ للمعنوية للتركيب الوراثي TT اما بالنسبة للطفرة الثانية C1528T لوحظ وجود تأثير عالٍ المعنوية ($P \leq 0.01$) للتركيب الوراثي TT في نسبة الخصوبة ووجود تأثير عالٍ المعنوية ($P \leq 0.01$) للتركيب الوراثي CC في نسبة الهلاكات اما معدل الخصب عند الولادة والفطام اما بالنسبة للطفرة C1653T وجود تأثيرات عالية المعنوية ($P \leq 0.01$) لصالح التركيب الوراثي TT في نسبة الخصوبة ووجود تأثير معنوي ($P \leq 0.05$) في معدل الخصب عند الفطام للتركيب الوراثي CT اما نسبة الهلاكات فلوحظ عدم وجود هلاكات للتركيبين الوراثيين CT و TT . أما صفة انتاج الحليب اليومي والكلي فلم يلاحظ وجود فروقاً معنوية بين التراكيب الوراثية للطفرات الثلاث . أما صفات النمو فلوحظ في الطفرة الأولى C1311T وجود فروق معنوية ($P \leq 0.05$) للتركيب الوراثي TT إذ بلغت 13.50 كغم إذ تفوقت على بقية التراكيب الوراثية CC و CT في صفة وزن الفطام اما في صفة وزن الميلاد والزيادة الوزنية فلم تكن هنالك فروق معنوية بين التراكيب الوراثية الثلاثة لهذه الطفرة اما الطفرة الثانية C1528T فلم يلاحظ وجود فروق معنوية في وزن الميلاد للتراكيب الوراثية الثلاثة ووجود فروق معنوية ($P \leq 0.05$) للتركيبين الوراثيين CC و TT على التركيب الوراثي CT في وزن الفطام اذ بلغت (11.70 و 12.90) كغم على التوالي ، أما الزيادة الوزنية فوجد ان هنالك فروق معنوية ($P \leq 0.05$)

فقد تفوق التركيب الوراثي TT على التركيبين CC وCT إذ بلغ التركيب TT 15.66 كغم . اما الطفرة الثالثة C1653T فلم يلاحظ وجود فروقاً معنوية بين التراكيب الوراثية الثلاثة في صفة وزن الميلاد والزيادة الوزنية اما بالنسبة الى وزن الفطام فلوحظ وجود فروق معنوية ($P \leq 0.05$) للتركيبين الوراثيين CC و TT على التركيب الوراثي CT إذ بلغت 11.70 ، 11.92 كغم . اما العوامل الثابتة في الصفات المدروسة فلوحظ عدم وجود فروق معنوية لنوع الولادة التوأمية والولادة المفردة في وزن الميلاد ووزن الفطام والزيادة الوزنية. بينما جنس المولود فوجد هنالك فروق معنوية ($P \leq 0.05$) إذ تفوقت الذكور في وزن الميلاد ووزن الفطام والزيادة الوزنية على الاناث 2.63 و 11.56 و 14.04 كغم على التوالي . في حين وجد ان لشهر الولادة فروقات معنوية ($P \leq 0.05$) فقد تفوقت معنويا مواليد شهر كانون الثاني وشباط في وزن الميلاد إذ بلغت 2.80 كغم لكل منهما. وكذلك بالنسبة إلى وزن الفطام والزيادة الوزنية اذ كان التفوق الأعلى لشهر كانون الثاني وشباط اذ بلغت 12.96، 11.76 كغم على التوالي لوزن الفطام والزيادة الوزنية اذ بلغت 15.76 و14.67 كغم على التوالي. كما وجد هنالك فروق معنوية ($P \leq 0.05$) لوزن الأمهات فالأوزان العالية للأمهات ذات تفوق اعلى على بقية الاوزان المتوسطة والمنخفضة في وزن الميلاد ووزن الفطام والزيادة الوزنية إذ بلغت 2.84 ، 12.30 ، 15.15 كغم. بينما صفات انتاج الحليب فلم يكن لنوع الولادة تأثيراً معنوياً في انتاج الحليب اليومي والكلي . ولجنس المولود ايضاً لم يكن هنالك تأثيراً معنوياً على انتاج الحليب اليومي والكلي. أما بالنسبة لشهر الولادة فلوحظ تفوق معنوي لشهري تشرين الثاني وكانون الأول في انتاج الحليب اليومي والكلي 1.13 ، 45.33 ، 1.16 ، 70.00 كغم على التوالي . في حين ان نسبة الأوزان الأمهات فكانت الأمهات ذات الاوزان المتوسطة أعلى معنوياً على الاوزان الباقية العالية والمنخفضة في انتاج الحليب اليومي والكلي 1.25 ، 52.51 كغم على التوالي. وقدرت المكونات الكمية للطفرة C1653T كونها سجلت تأثيراً معنوياً على عدد من صفات معدل الخصب عند الفطام ونسبة الهلاكات وكان التباين التجميعي اكثر من السيادي في صفة معدل الخصب عند الفطام أي إمكانية انتقال هذه الصفة من الإباء إلى الأبناء وأما نسبة الهلاكات فكان التباين التجميعي لها اقل من السيادي مما يعني عدم إمكانية توريث هذه الصفة بشكل كامل الى الأبناء.

قائمة المحتويات

التسلسل	الموضوع	الصفحة
-	المستخلص	أ – ب
-	المحتويات	ج – و
-	قائمة الجداول	ز- ح
-	قائمة الاشكال	ط
-	قائمة الملاحق	ي
الفصل الأول	المقدمة Itroduction	2 – 1
الفصل الثاني	مراجعة المصادر Review of Literatures	3
2 – 1	المفهوم العام للإجهاد	3
2 – 2	الاجهاد الحراري	5 – 4
2 – 3	تأثير الاجهاد الحراري على الخصوبة	7 – 6
2 – 4	تأثير الاجهاد الحراري على انتاج الحليب	9 – 8
2 – 5	التكيف مع المناخ الحار	11 - 10
2 – 6	التنوع الوراثي الحيواني	12 - 11
2 – 7	الواسمات الوراثية	13 - 12
2 – 8	بروتينات الصدمة الحرارية	17 – 14
2 – 9	أنواع بروتينات الصدمة الحرارية	19
2 – 10	عائلة بروتينات الصدمة الحرارية HSP70	23 - 21
2 – 11	دور المرافقات الجزيئية في طي البروتين	24 - 23
2 – 12	العوامل التي تؤثر على وزن الميلاد والفطام	26
2 – 12 – 1	نوع الولادة	26
2 – 12 – 2	جنس المولود	27
2 – 12 – 3	شهر الولادة	27
2 – 12 – 4	الفئة الوزنية للام	28 - 27

التسلسل	الموضوع	الصفحة
2 – 13	العوامل التي تؤثر على الخصوبة والخصب	28
الفصل الثالث	المواد وطرق العمل Materials and Methods	29
3 – 1	اجراء التجربة	29
3 – 2	تصميم التجربة	29
3 – 3	المواد والأجهزة المستخدمة في الدراسة	31
3 – 4	حساب الأداء التناسلي والانتاجي	32 - 33
3 – 5	قياس وزن الحملان والزيادة الوزنية ونسبة الهلاكات	33
3 – 6	قياس انتاج الحليب	34
3 – 7	عينات الدم	34
3 – 8	تصميم البادئ	34
3 – 9	تحليل الـ DNA	35
3 – 9 – 1	استخلاص الـ DNA	35 - 36
3 – 9 – 2	الترحيل الكهربائي للمادة الوراثية DNA	37 – 38
3 – 9 – 3	تخفيف الباديء	39
3 – 9 – 4	تحديد درجة الالتحام المناسبة للقطعة الثالثة من الباديء	39
3 – 9 – 5	تفاعل البلمرة المتسلسل PCR	39
3 – 9 – 6	الترحيل الكهربائي	41
3 – 9 – 7	تحديد تتابع النيوكليوتيدات لقطع (DNA)	42
3 – 10	التحليل الاحصائي	42 – 44
الفصل الرابع	النتائج والمناقشة Results and discussion	45
4 – 1	ناتج ترحيل القطعة المدروسة من منطقة التعبير الثالثة لجين الصدمة الحرارية HSP70	45
4 – 2	الكشف عن مواقع التغاير للطفرات الحاصلة في جين HSP70	46

التسلسل	الموضوع	الصفحة
4 – 3	مواقع حصول التغاير للطفرات الحاصلة في القطعة الثالثة من جين HSP70	46 – 48
4 – 4	العدد والنسب المئوية والتكرار الاليلي للتراكيب الوراثية في القطعة الثالثة من جين الصدمة الحرارية HSP70	49
4 – 4 – 1	التكرار الاليلي وتكرار التراكيب الوراثية ودليل الثبات للطفرات المختلفة لجين HSP70	51
4 – 4 – 2	عدد الاليلات المشاهدة (Na) والحجم المؤثر للاليلات (Ne) ودليل شانون (I)	52
4 – 4 – 3	نسبة الخلط الاليلي المشاهد والمتوقع والتراكيب الوراثية المتماثلة المشاهدة والمتوقعة	53
4 – 5	علاقة الطفرات الثلاث في القطعة المدروسة الثالثة لجين HSP70 على الأداء التناسلي للمعزات	54 - 56
4 – 6	علاقة الطفرات الثلاث في القطعة المدروسة الثالثة لجين HSP70 في انتاج الحليب	57
4 – 7	علاقة الطفرات الثلاث في القطعة المدروسة الثالثة لجين HSP70 في صفات النمو	58
4 – 8	بعض العوامل المؤثرة على صفات النمو	60
4 – 8 – 1	نوع الولادة	60
4 – 8 – 2	جنس المولود	61
4 – 8 – 3	شهر الولادة	62
4 – 8 – 4	الفئة الوزنية للام	63
4 – 9	التقدير الكمي لموقع الطفرة C1653T و C1311T لجين HSP70	66

التسلسل	الموضوع	الصفحة
الفصل الخامس	الاستنتاجات والتوصيات Recommendations and Conclusions	68
5 – 1	الاستنتاجات	68 – 69
5 – 2	التوصيات	69
الفصل السادس	المصادر References	70
6 – 1	المصادر العربية	70 – 72
6 – 2	المصادر الأجنبية	73 - 87

قائمة الجداول

التسلسل	عنوان الجدول	الصفحة
1	أنواع الضغط الواقع على الخلية التي تسبب HSP	18
2	أنواع بروتينات الصدمة الحرارية	20
3	الأجهزة المستخدمة في الدراسة	31 - 32
4	بيانات البادئ القطعة الثالثة لجين HSP70	35
5	أسماء المواد الداخلة وكميتها في تفاعل البلمرة المتسلسل لكل عينة من المادة الوراثية	40
6	ظروف تفاعل البلمرة المتسلسل PCR للقطعة الثالثة لجين HSP70 التي برمج الجهاز عليها	40
7	العدد والنسبة المئوية لجين HSP70 لمواقع الطفرة C1311T و C1528T وC1653T في عينة اناث الماعز المدروسة	50
8	تكرار الاليلات وتكرار التراكيب الوراثية ودليل الثبات (Fis) للطفرات المدروسة لجين HSP70	51
9	عدد الاليلات المشاهدة (Na) والحجم المؤثر للاليلات (Ne) ودليل شانون Shanon Index (I) للطفرات الحاصلة لجين HSP70	52
10	حساب الاليلات المشاهدة والمتوقعة والخلط الاليلي للطفرات المدروسة	53
11	الأداء التناسلي لاناث الماعز المحلي العراقي ضمن الطفرة الوراثية C1311Tلجين HSP70	54
12	الأداء التناسلي لاناث الماعز المحلي العراقي ضمن الطفرة الوراثية C1528T لجين HSP70	55
13	الأداء التناسلي الأداء التناسلي لاناث الماعز المحلي العراقي ضمن الطفرة الوراثية C1653T لجين HSP70	56

التسلسل	عنوان الجدول	الصفحة
14	انتاج الحليب اليومي والكلي لاناث الماعز المحلي العراقي للتراكيب الوراثية المختلفة ضمن مواقع الطفرات C1311T و C1528T و C1653T لجين HSP70 (المتوسط ± الخطأ القياسي)	57
15	وزن الميلاد والفطام والزيادة الوزنية لمواليد الماعز المحلي العراقي للتراكيب الوراثية المختلفة ضمن مواقع الطفرات C1311T و C1528T و C1653T لجين HSP70 (المتوسط ± الانحراف القياسي)	59
16	وزن الميلاد والفطام والزيادة الوزنية لمواليد الماعز المحلي العراقي باختلاف العوامل المؤثرة (المتوسط ± الانحراف القياسي)	64
17	انتاج الحليب اليومي والكلي لاناث الماعز المحلي العراقي باختلاف العوامل المؤثرة (المتوسط ± الخطأ القياسي)	65
18	القيمة التربوية والانحراف السيادي والتباين التجميعي والسيادي والوراثي لجين HSP70 للموقع C1653T لصفة معدل الخصب عند الفطام ونسبة الهلاكات	67

قائمة الأشكال

التسلسل	عنوان الشكل	الصفحة
1	التأثيرات السلبية للإجهاد الحراري على الماعز	6
2	يبين آثار الاجهاد الحراري في المراحل المختلفة لنمو الجنين	8
3	يصف الاليات الخلوية والجزيئية الناشئة في انتاج HSPs	15
4	اثار الصدمة الحرارية على تنظيم الخلية حقيقية النواة	17
5	يبين تركيب بروتين الصدمة الحرارية	22
6	الية عمل المرافقات الجزيئية وعملية طي البروتين	25
7	توضح عينة من حيوانات التجربة	29
8	مخطط التجربة	30
9	توزيع البوادىء المصممة لدراسة القطعة الثالثة لجين الصدمة الحرارية HSP70 في الماعز المحلي	35
10	عملية استخلاص الـ DNA وناتج الترحيل	38
11	الكشف عن ناتج البلمرة المتسلسل (PCR) بوساطة الترحيل الكهربائي	45
12	يبين موقع الطفرة النقطية C1311T في جين HSP70	46
13	يبين موقع الطفرة النقطية C1528T في جين HSP70	47
14	يبين موقع الطفرة النقطية C1653T في جين HSP70	48

قائمة الملاحق

	ملاحق	88
ملحق 1	جدول تحليل التباين للعوامل المؤثرة في (وزن الميلاد ، وزن الفطام ، الزيادة الوزنية)	88
ملحق 2	جدول تحليل التباين للعوامل المؤثرة في (انتاج الحليب اليومي ، انتاج الحليب الكلي)	88

الفصل الأول

المقدمة

(Introduction)

يعتبر الماعز من الحيوانات التي لم يهتم بتربيتها في معظم الدول العربية بالرغم من استغلال هذا الحيوان في الكثير من الدول الآسيوية والأفريقية ، وذلك لإنتاجه للتوائم بالإضافة الى كونه مصدراً للحوم مع الانتاج العالي من الحليب لبعض سلالاته مقارنة بالأغنام . يعد الماعز من مصادر الإنتاج الحيواني المهمة في المناطق الجافة وشبه الجافة نتيجة مقدرتها على التغذية والاستفادة من مواد قد يصعب على أنواع الحيوانات الأخرى استخدامها ، كما أن مقدرتها على المعيشة تحت ظروف مناخية قاسية تؤهلها لان تساعد المجتمعات الإنسانية في استغلال المصادر المتاحة في مناطق تكاد تكون غير مؤهلة (Silanikove ، 1996 و الحمداني ، 2000) .

أشار Gupta وMondal (2019) إلى أن الاجهاد الحراري من بين الضغوط المتنوعة التي تتعرض لها الحيوانات ، يعد الماعز من اكثر الحيوانات قدرة على التعامل مع الاجهاد الحراري من دون أن يؤثر على صحتها أو أدائها الإنتاجي ، وعلى الرغم من قدرتها على مقاومة الاجهاد الحراري وبدرجة كبيرة إلا أنها تعاني من الاجهاد الحراري الخارج عن منطقة راحتها . يعرف الاجهاد الحراري بأنه عدم التوازن بين ما ينتجه الجسم من الحرارة الايضية داخل الجسم وبين ما يبددها إلى المناطق المحيطة ، كما أن للإجهاد الحراري تأثيراً معنوياً على بعض المعايير الفسيولوجية والسلوكية والدمية للماعز(Alam واخرون ، 2011) .

أن التغيرات الجوية المستقبلية تنذر بخطر داهم يلف الكرة الأرضية ، إذ أن كل المؤشرات توحي بذلك بسبب عبث الانسان وتماديه في الإساءة بالاستخدام السيء وغير المسؤول للموارد الطبيعية المتاحة له ، وهذا أثر على المنطقة العربية بشكل كبير إذ تصنف 90 % من أراضيها على انها قاحلة وجافة شبه رطبة (Abahussain، 2002) ، وهذا انعكس سلباً على الكائنات الحية ومنها السلالات الحيوانية بضمنها المحلية وهي الموجودة في بلد ما لفترة طويلة لتتكيف وراثياً مع واحد أو اكثر من أنظمة الإنتاج التقليدية . تمثل السلالات المحلية موارد وراثية قيمة ولاسيما في سياق تغير المناخ عليه يجب أن يفكر الباحثون والمختصون بسبل الارتقاء بما يملكه البلد من مصادر حيوانية والاهتمام بها ومحاولة تحسين نسلها نحو الأفضل سواء بالتضريب أو الانتخاب كما فعلت كثير من

الدول التي سبقتنا في هذا المجال (Akila و Chandar، 2010) .وتبرز أهمية الانتخاب للحيوانات الأكثر مقاومة واكثر تأقلماً لهذه التغيرات المناخية وظروف الاجهاد المختلفة وذلك لقدرتها الوراثية العالية لحماية خلاياها والتي تعمل على التقليل من آثار الاجهاد الحراري ، وتعتبر بروتينات الصدمة الحرارية HSP70 من اهم الاليات الجزيئية التي يمتلكها الجسم والتي لها الدور الكبير جداً في حماية الخلايا والمحافظة عليها عند التعرض لظروف الاجهاد المختلفة (Guerriero وآخرون ، 2004) . وإمكانية الوصول الى الهدف المنشود والحصول على حيوانات محلية قادرة على الإنتاج المقبول ومقاومة للتغيرات المناخية القادمة . عليه جاءت هذه الدراسة بهدف :

1 - دراسة تعدد المظاهر الوراثية لجين الصدمة الحرارية HSP70 في عينة من اناث الماعز المحلي واستخراج نسب توزيع تلك المظاهر والتكرارات الاليلية باستخدام تتابع القواعد النايتروجينية .

2- علاقة المظاهر الوراثية المتعددة لبعض الصفات التناسلية (الخصوبة والخصب) والإنتاجية (وزن المواليد عند الولادة والفطام وإنتاج الحليب) .

3- تقدير التأثيرات التجميعية والسيادية لجين HSP70 ، وتقدير القيم التربوية لبعض الصفات المدروسة .

4- دراسة علاقة بعض العوامل اللاوراثية في بعض الصفات الإنتاجية .