جمهورية العـــــــــراق

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جـــــــامـــعـــة ديـــالـــــــى

دراسة علاقة منطقة اللاترجمة (5-UTR) في جين عامل النمو شبيه بالأنسولين والعوامل اللاوراثية مع صفات انتاج الحليب والنمو في الماعز المحلي الاسود

رسالـــــة مقدمة إلى مجلس كلية الزراعة في جامعة ديالى

وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير في العلوم الزراعية الثروة الحيوانية

من قبل

رؤى نصرت علي

بإِشراف

أ.م. د. زيد محمد مهدي العزاوي

1444 هـ

2022 م

المستخلص

تهدف الدراسة الى تحديد التشكل الوراثي للمنطقة غير المترجمة (5-UTR) لجين IGF- 1 وعلاقتة بإنتاج الحليب وصفات النمو وابعاد الجسم عند الميلاد والفطام وكتلة الجسم . أجريت الدراسة على عينة مكونة من 34 معزة محلية في حقل أهلي لدى مربي في ناحية كنعان /محافظة ديالى وأجري العمل المختبري في مختبر كلية الزراعة – جامعة ديالى ومكتب التقدم العلمي – الحارثية – بغداد للمدة من 2021/11/13 لغاية 2022/5/1. بينت نتائج الدراسة وجود فروق عالية المعنوية ($P<0.01$) بين التراكيب الوراثية لمنطقة 5-UTR في عينة الحيوانات المدروسة.

سجل التركيب الوراثي GG اعلى انتاج لصفة انتاج الحليب اليومي والكلي مقارنة مع التركيب الوراثي AG .كذلك أظهرت نتائج الدراسة هنالك فروق عالية المعنوية ($P<0.01$) بين التراكيب الوراثية لصفة الوزن عند الفطام اذ تفوق التركيب الوراثي GG على التركيب الوراثي AG ،وتفوق معنوي ($p<0.05$) لصفتي وزن الميلاد والزيادة الوزنية قبل الفطام اذ تفوق التركيب GG للصفتين على التركيب الوراثي AG.

اما علاقة التراكيب الوراثية بصفات ابعاد الجسم عند الميلاد نجد تاثير معنوي للتراكيب الوراثية اذ تفوق التركيب الوراثي GG على التركيب الوراثي AG في طول الجسم. أظهرت نتائج الدراسة فروقآ معنوية ($P<0.05$) للتراكيب الوراثية في بعض صفات ابعاد الجسم عند الفطام ، اذ تفوق التركيب الوراثي الطافرGG المتمثلة بصفة محيط البطن وارتفاع المقدمة مقارنة بالتركيب الوراثيAG . كما نجد تفوق معنوي ($P<0.05$) لدليل كتلة الجسم للمواليد عند الميلاد اذ كان التفوق لصالح التركيب الوراثي GG على التركيب الوراثي AG.

نجد من دراسة العوامل الثابتة في الصفات المدروسة تفوق معنوي لجنس المولود في وزن الميلاد وزن الفطام و الزيادة الوزنية اذ تفوقت الذكور على الاناث ، في حين كان لنوع الولادة تفوق معنوي لجميع صفات النمو اذ تفوقت الولادات الفردية على التوامية . كان لشهر الولادة تفوق معنوي لجميع صفات النمو اذ كان التفوق الأعلى لشهر كانون الثاني في وزن الفطام والزيادة الوزنية على باقي اشهر الدراسة ، في حين تفوق شهر كانون الأول في صفة وزن الميلاد.

نلاحظ في صفات ابعاد الجسم عند الميلاد تفوق لجنس المولود في وطول الجسم اذ تفوقت الذكور على الاناث ، في حين كان لنوع الولادة تاثيرعالي معنوية في ارتفاع المقدمة وارتفاع المؤخرة بتفوق لصالح الولادات الفردية على التوامية ، كما كان لشهر الولادة تفوق معنوي في جميع اشهرالدراسة في صفة ابعاد الجسم عند الميلاد اذ كان التفوق الأعلى لصالح شهر شباط في محيط البطن والصدر وارتفاع المقدمة والمؤخرة وطول الجسم ، اما في صفة ابعاد الجسم عند الفطام نجد تفوق لجنس المولود في صفة ارتفاع المقدمة والمؤخرة وطول الجسم اذ تفوقت الذكور في الصفات انفة الذكر على الاناث ، في حين وجد تاثيرعالي معنوية لنوع الولادة في صفة ارتفاع المقدمة وارتفاع الؤخرة ومحيط البطن ومحيط الصدر بتفوق الولادات الفردية على الولادات التوأمية.كان لشهر الولادة تفوق معنوي لصفات ابعاد الجسم عند الفطام اذ تفوق شهر كانون الثاني لصفة محيط البطن والصدر وارتفاع المقدمة والمؤخرة وطول الجسم .

اما في صفات انتاج الحليب (انتاج الحليب اليومي والكلي) نجد تاثير معنوي لجنس المولود ونوع الولادة في صفة انتاج الحليب الكلي واليومي ، ولشهر الولادة تاثير معنوي اذ كان التفوق لصالح شهر كانون الثاني في انتاج الحليب اليومي والكلي. اما في دليل كتلة الجسم كان لنوع الولادة تفوق معنوي لصالح الولادات المفردة على التوأمية و كان لشهر الولادة تفوق معنوي لصالح شهر كانون الأول في كتلة الجسم للمواليد عند الولادة على بقية اشهر الدراسة ولشهر كانون الثاني في كتلة الجسم للجداء عند الفطام على بقية اشهر الدراسة.

قائمة المحتويات

التسلسل	الموضوع	الصفحة
الفصل الأول	**المقدمة**	2-1
الفصل الثاني	**مراجعة المصادر**	3
1-2	العوامل المؤثرة على صفات النمو	3
1-1-2	جنس المولود	4-3
2-1-2	نوع الولادة	5-4
3-1-2	شهر الولادة	6-5
2-2	العوامل المؤثرة على صفات ابعاد الجسم عند الميلاد والفطام	6
1-2-2	جنس المولود	6
2-2-2	نوع الولادة	7-6
3-2-2	شهر الولادة	7
3-2	العوامل المؤثرة في صفات انتاج الحليب	7
1-3-2	جنس المولود	7
2-3-2	نوع الولادة	8-7
3-3-2	شهر الولادة	8
4-2	جين عامل النمو الشبيه بالانسولين IGF-1 (insulin-1 Growth factor like hormone)	10-9
5-2	التركيب الكيميائي لبروتين عامل النمو الشبيه بالانسولين (IGF-1)	11-10
6-2	موضع افراز عامل النمو الشبيه بالانسولين (IGF-1)	12

7-2	ميكانيكية عمل عامل النمو الشبيه بالانسولين (IGF-1)	13
8-2	البروتينات الرابطه لعامل النمو الشبيه بالانسولين (IGF-1)	14
9-2	نظام عامل النمو الشبيه بالانسولين (IGF-1)	16-15
10-2	الأدوار الفسلجية لبروتين IGF-1	17
1-10-2	الادوار المتعددة لبروتينات IGF1 في النمو	18-17
2-10-2	الادوار المتعددة لبروتينات IGF-I في الجهاز التناسلي	19-18
3-10-2	الأدوار المتعددة لبروتينات IGF-1 في الغدة اللبنية	19
11-2	واسمات SNP وطريق حدوثها واساليب الكشف عنها	21-20
12-2	علاقة منطقة التنظيم غير المترجمة(5-UTR) Untranslated region لجين IGF-1 في صفة انتاج الحليب	22
13-2	علاقة منطقه (5- 5-Untranslated region UTR) لجين IGF-1 في صفات النمو وابعاد الجسم	24-23
الفصل الثالث	**المواد وطرائق العمل**	25
1-3	حيوانات التجربة	25
2-3	مخطط التجربة	26
3-3	إدارة القطيع	27
4-3	التغذية	27
5-3	موسم السفاد	27
6-3	الصفات المدروسة	27

1-6-3	قياس انتاج الحليب	28-27
2-6-3	قياس صفات النمو	28
3-6-3	قياس ابعاد الجسم لكل مولود عند الميلاد وعند الفطام	29
4-6-3	قياس دليل كتلة الجسم	29
7-3	الاجهزة والمواد المستخدمة في الدراسة	31
8-3	جمع عينات الدم	32
9-3	استخلاص DNA	33-32
10-3	خطوات عملية الترحيل الكهربائي لناتج الاستخلاص	34
11-3	اختيار البوادئ	35
12-3	تخفيف البوادئ	36
13-3	برنامج تكثير منطقة التنظيم غير المترجمة (5- UTR)لجين IGF-`1	37-36
14-3	التحليل الاحصائي	38-37
الفصل الرابع	**النتائج والمناقشة**	39
1-4	تحديد وتكثير منطقة التنظيم غير المترجمة (5-UTR) لجين IGF-1	39
2-4	تعدد المظاهر الوراثية لمنطقة التنظيم غير المترجمة (5-UTR) لجين IGF-1	41-40
3-4	العدد والنسب المئوية للتراكيب الوراثية وتكرار الاليلات لمنطقة التنظيم غير الترجمة (5-UTR) لجين IGF-1 في الماعز المحلي	43-42

4-4	علاقة تعدد المظاهر الوراثية لمنطقة التنظيم غير المترجمة (5-UTR) لجين IGF-1 بإنتاج الحليب اليومي والكلي	44-43
5-4	علاقة تعدد المظاهر الوراثية لمنطقة التنظيم غير المترجمة (5-UTR) لجين IGF-1 في صفات النمو	46-45
6-4	علاقة تعدد المظاهر الوراثية لمنطقة التنظيم غير المشفرة (5-UTR) لجين IGF-1 في ابعاد الجسم عند الميلاد و الفطام	48-47-46
7-4	علاقة تعدد المظاهر الوراثية لمنطقة التنظيم غير المشفرة (5-UTR) لجين IGF-1 في كتلة الجسم	49-48
8-4	العوامل المؤثرة في صفات النمو	49
1-8-4	جنس المولود	50-49
2-8-4	نوع الولادة	51-50
3-8-4	شهر الولادة	51
9-4	العوامل المؤثرة في صفة ابعاد الجسم عند الميلاد والفطام	52
1-9-4	جنس المولود	52
2-9-4	نوع الولادة	55
3-9-4	شهر الولادة	56-55
10-4	العوامل المؤثرة في انتاج الحليب	56

1-10-4	جنس المولود	56
2-10-4	نوع الولادة	56
3-10-4	شهر الولادة	57
11-4	العوامل المؤثرة في كتلة الجسم للامهات ومواليدها	58
1-11-4	جنس المولود	58
2-11-4	نوع الولادة	58
3-11-4	شهر الولادة	58
الفصل الخامس	**الاستنتاجات والتوصيات**	60
1-5	الاستنتاجات	60
2-5	التوصيات	61
الفصل السادس	**المصادر**	62
1-6	المصادر العربية	63-62
2-6	المصادر الأجنبية	82-64
الفصل السابع	**الملاحق**	83

قائمة الجداول

رقم الجدول	عنوان الجدول	الصفحة
1	الاجهزة المستخدمة في استخلاص DNA	31
2	المواد الكيميائية المستخدمة في التجربة	32
3	بادئات تكثير منطقة التنظيم غير المترجمة (5-UTR)	35
4	المواد االمستعملة في تفاعل انزيم البلمرة المتسلسل (PCR) لمنطقة (5-UTR)	36
5	البرنامج المستعمل في عملية الكوثرة باستعمال تقانة PCR لمنطقة (5-UTR)	37
6	تكرار التراكيب الوراثية والتكرار الاليلي لمنطقة التنظيم غير المترجمة (5-UTR) لجين IGF-1 في الماعز المحلي	43
7	المتوسط ± الخطأ القياسي لصفات أنتاج الحليب اليومي والكلي للتراكيب الوراثية	44
8	المتوسط ± الخطأ القياسي لصفات النمو للتراكيب الوراثية	46
9	المتوسط ± الخطأ القياسي لصفات ابعاد الجسم لدى المواليد عند الميلاد للتراكيب الوراثية	47
10	المتوسط ± الخطأ القياسي لصفات ابعاد الجسم لدى المواليد عند الفطام للتراكيب الوراثية	48
11	المتوسط ± الخطأ القياسي لصفات دليل كتلة الجسم للتراكيب الوراثية	49
12	المتوسط ± الخطأ القياسي لصفات النمو بأختلاف العوامل المؤثرة	50

13	المتوسط ± الخطأ القياسي لصفة ابعاد الجسم عند الميلاد بأختلاف العوامل المؤثرة	53
14	المتوسط ± الخطأ القياسي لصفة ابعاد الجسم عند الفطام بأختلاف العوامل المؤثرة	54
15	المتوسط ± الخطأ القياسي لصفة أنتاج الحليب اليومي والكلي بأختلاف العوامل المؤثرة	57
16	المتوسط ± الخطأ القياسي لصفة دليل كتلة الجسم بأختلاف العوامل المؤثرة	59

قائمة الاشكال

رقم الشكل	عنوان الشكل	الصفحة
1	اجزاء جين IGF1 مبينا منطقة التعبير الجيني	9
2	الهياكل الشريطية لـ IGF-I و IGF-II والأنسولين التي توضح المجال B (أزرق) و المجال C (وردي) و مجال A (أحمر)	11
3	. نظام عامل النمو الشبيه بالأنسولين. يتألف نظام IGF من الروابط (IGF-I والأنسولين و -IGF-II)، ومستقبلاتها (مستقبلات IGF-I، IGF-IR ؛ مستقبلات الأنسولين ، IR ؛ الهجين IGF-IR/IR والمانوز 6- فوسفات / IGF -II، M6P / IGF-IIR)، يكون في IGF-1 ستة بروتينات ارتباط (IGFBPs) والبروتياز الخاص بهم. تشير الأسهم الكاملة والأسهم المنقطة إلى ارتباط الترابط المرتفع والمنخفض ، على التوالي	16
4	يمثل الية افراز الانسولين الشبيه بهرمون النمو	18
5	وظيفة كل من هرمون النمو(GH) وهرمون IGF-I على المبيض	19
6	المستطيل 1 و 2 مناطق القواعد النتروجينة التي تشغل الموقع نفسه لكنها متباينة بين الاليلات المختلف التي تحملها الافراد في مجتمع واحد	21
7	الترحيل الكهربائي لعينات DNA المستخلصة	35
8	ترحيل ناتج PCR لمنطقة التنظيم غير المترجمة (5-UTR) لجين IGF-1	39

9	تعدد المظاهر الوراثي لمنطقة التنظيم غير المترجمة (5-UTR) لجين IGF-1	41
10	: موقع الطفرة (A182G) لقطعة تتابع ناتج PCR (294 زوج قاعدي) لمنطقة 5-UTR لجين IGF1 *(GenBank accession number* : *HQ731040.1*)	41

قائمة الصور

رقم الصورة	عنوان الصورة	الصفحة
1	حيوانات التجربة	25
2	قياس الوزن	25
3	قياس ابعاد الجسم	30

الفصل الأول

المقدمة Introduction

يعد الماعز من أوائل الأنواع الحيوانية التي قام الإنسان باستئناسها لغرض إنتاج الحليب واللحم والجلود والشعر. حيث بلغت أعداد الماعز في العراق حسب تقديرات منظمة FAO العالمية لسنة 2019 حوالي 1,282,856مليون رأس (FAO ، 2019). إذ يتميز الماعز عن حيوانات المزرعة في كون ادارته وتغذيته بسيطة فضلاً عن إنجابه للتوائم وبلوغه الجنسي المبكر وكفاءة التمثيل الغذائي وحياته الإنتاجية الطويلة وكذلك كفاءته في استغلال المراعي وتناوله الأعلاف التي قد لا تتناولها بقية الحيوانات وكذلك رخص ثمن الماعز مقارنة بالأغنام (القس وآخرون،1993). يوجد في العراق ثلاث سلالات من الماعز هي الماعز الأسود المحلي والماعز الأسود الجبلي و ماعز المرعز (الجليلي واخرون، 1984). من الأهداف الرئيسية لتربية هذا الحيوان هو أنتاج اللحوم من خلال زيادة نسبة التوأئم لدى الولادات بالمرتبة الأولى ونظرا لقلة او انعدام السجلات حول الصفات الاقتصادية لدى الماعز فضلا على ذلك ان التحسين الوراثي التقليدي غير ممنهج اي لاتوجد خطط للتحسين الوراثي لدى جميع المربين وأن هذا التحسين يحتاج وقت وكلفة لذا اتجه المتخصصون الى استخدام واسمات الحمض النووي (DNA) في برامج التحسين الوراثي عن طريق الانتخاب بمساعدة الواسمات الوراثية من خلال تحديد الجينات كمؤشرات لها علاقة في ألاداء الانتاجي والتي تعد السمة الأكثر شيوعًا والمستخدمة في تقييم القيمة الاقتصادية للحيــوانات (Lestari وآخرون،2020). ركزت الدراسات الحديثة على علم الوراثة الجزيئي لزيادة دقة الانتخاب الوراثي للحيوانات , (Rothschild و Soller،1997، Yurnalis واخرون،2013) لذا فأن استخدام التقانات الحديثة في تطوير التحسين الوراثي تعد من الوسائل التي تؤدي لزيادة إنتاجية الحيوان من خلال انتخاب الحيوانات المتفوقة وراثيا لابراز قدرتها الوراثية الكامـــــــنة (Gutierre واخرون ، 2007). يعد جين عامل النمو شبيه الانسولين (IGF-1) وسيطا لعمل هرمون النمو (GH) والذي يعد من الواسمات الوراثية الفعالة لصفات النمو في حيوانات المزرعة (Estanyواخرون، 2007) . أذ يرتبط جين IGF-1 بعلاقتة مع جين هرمون النمو اذ يؤثران في صفات النمو (Ge واخرون، 2001). كما يعد IGF-1 وسيطآ للعديد من التاثيرات البيولوجيةعلى سبيل المثال يحفز تكوين العضل و يزيد من امتصاص سكر الكلوكوز ويزيد من تخليق الدهون ويحفز انتاج

البروجسترون في الخلايا الحبيبية ويتدخل في تكاثر الخلايا (Yurnalis واخرون، 2017) . كما يلعب دورا مهما في جوانب مختلفه من نمو العضلات وتطورها (Davis وSimmen،1997) .

وجد تعدد مظاهر وراثي (Polymorphism) لجين (IGF-1) ،والذي يشترك بتنظيم هرمون النمو ذات العلاقة في الصفات الإنتاجية للمجترات لاسيما صفات الحليب والنمو في حيوانات المزرعة (Grochowska واخرون، 2001) . وأن عامل النمو الشبيه بالإنسولين يفرز أثناء دورة الشبق من الرحم في الماعز ويرتفع تركيزه في بلازما الدم خلال الشبق وهذا الأخير ضروري لإفراز (LH) الذي يكون في أعلى مستوى له في الشبق اذ تزداد عدد مستقبلات الإستروجينات في خلايا الرحم ومن خلال ارتباطه بها قد تزيد من تكون الرنا المرسال (mRNA) الخاص بـ IGF-1 في الرحم (Wathes واخرون ،1998). وأن هذا الإفراز يتأثر إيجابيا بافراز هرمون الأستروجين، اذ ينشط إفراز ال-IGF 1من الرحم (Toddو اخرون، 2010) . ومن ثم زيادة التعبير الجيني لل IGF-1 في الرحم وذلك بصورة مستقلة عن هرمون النمو(JonesوClemmons ،1995). تصل مستويات IGF-1 ذروتها خلال طور الشبق بالتزامن مع ذروة هرمون LH التي تسبق الإباضة، وتكون أعلى منه خلال الطور اللويتيني(الجسم الاصفر) (Hashizume واخرون، 2000). إذ وجد أن كمية العلف المتناول تؤثرفي افراز IGF-1 وتكونه في الكبد، وأن تعرض الحيوان لمدة حتى وإن كانت قصيرة لتغذية فقيرة بالطاقة في بدء الموسم التناسلي يؤثر وبشكل كبير في النشاط المبيضي ومظاهر حدوثه ، وأن وزن الجسم له تأثير معنوي على تركيز ال IGF-I في الحيوانات النامية، وله تُأثير على نمو وتمايز أنسجة الجسم المختلفة(Lucy ،2000) . لذا تهدف الدراسة الى :

١- تحديد التراكيب الوراثية للقطعة المدروسة من جين IGF1 ودورها في نمو الحيوان.

٢- دراسة علاقة التراكيب الوراثية لجين IGF-1 باداء الحيوانات في صفات الحليب .

٣- حساب نسب التوزيع التكراري للتراكيب الوراثية والاليلات في عينة الماعز المدروسة .

٤- دراسة علاقة العوامل اللاوراثية بالصفات المدروسة .