جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة ديالى

علاقة تعدد المظاهر الوراثية لجين عامل النمو التمايزي التاسع (GDF9) و بعض العوامل اللاوراثية في بعض الصفات التناسلية والإنتاجية لأناث الماعز المحلي

رسالة مقدمة إلى مجلس كلية الزراعة في جامعة ديالى

وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في العلوم الزراعية / الإنتاج الحيواني

من قبل الطالبة
عُلا حسين علي العبيدي

بإشراف
أ. د. صالح حسن جاسم
كلية الزراعة – جامعة ديالى

1444هـ 2022 م

بسم الله الرَّحمن الرَّحيم

وَقُلْ رَبِّ زِدْنِي عِلْمًا

صَدَقَ اللّٰهُ العَظيم
(طه ، ١١٤)

الإهداء

الى الحبيبة والصديقة أمي الغالية

التي رافقني دُعائها في كل خطوة

الى السند والداعم الأول أبي الحبيب

لولا دَعمُك وتشجيعك ما أستمريت

الى رفيق الحياة شريك الكفاح والجهد

زوجي الغالي كنت خير العون لي

الى من يسكنوا العينان ومافيها

الى وردتاي أطفالي (إحسان) و(غلا)

الى من هم سندي في هذه الحياة

أخواني وأخواتي أنتم نعم السند لي

الى من أحاطوني بأهتمامهم في كل أمر

والد ووالدة زوجي أدامكم الله لي

الى من لم يبخل عليه بعلمه وجهده

مشرف رسالتي الدكتور صالح حسن

الى جميع زملائي وزميلاتي وكل من ساندني خلال هذه المسيرة العلمية

الباحثة

عُلا حسين علي العبيدي

شكر وتقدير

الشكر لله عز وجل الذي بتوفيق وبفضل منه تمكنت من أتمام هذا الأنجاز العلمي

أتقدم بشكري وأمتناني الى مشرف رسالتي الأستاذ الفاضل الدكتور صالح حسن جاسم حفظه الله وأطال بعمره لما قدمه لي من معلومات ونصح وأرشاد خلال فترة الدراسة فله أسمى عبارات الثناء والتقدير، كما أتقدم بالشكر والتقدير لرئيس لجنة المناقشة أ.د. رائد إبراهيم خليل ولأعضاء لجنة المناقشة أ.د. وفاء إسماعيل السامرائي و أ.م.د. زيد محمد مهدي لقبولهم مناقشة رسالتي ، كما أتقدم بجزيل الشكر لرئيس قسم الأنتاج الحيواني أ.م.د بشار أدهم أحمد و أ.م.د زيد محمد مهدي لما قدموه لي من مساعدة ونصائح علمية خلال العمل المختبري والتحليل الأحصائي ، كما أتقدم بالشكر والثناء للدكتور مثنى عبد القادر المهداوي رئاسة جامعة ديالى / مدير الدراسات والتخطيط لمساعدته لي في العمل المختبري

الباحثة

علا حسين علي العبيدي

المستخلص

Abstract

نفذت هذه الدراسة لتحديد المظاهر الوراثية لجين عامل النمو التمايزي 9 (GDF9) ودراسة بعض العوامل اللاوراثية وعلاقتها ببعض الصفات التناسلية والإنتاجية لدى أناث الماعز المحلي . أجريت هذه الدراسة في الحقل الحيواني التابع لاحد المربين في قضاء الخالص / محافظة ديالى على مجموعة من اناث الماعز المحلي والبالغ عددها 36 معزة بالأضافة الى العمل المختبري في مختبر الوراثة /كليتنا ومختبر التقدم العلمي / بغداد – الحارثية للمدة من 2021/7/15 ولغاية 2022/7/4 وفي ما يأتي أهم النتائج المستحصل عليها

لقد وجد من خلال هذه الدراسة ثلاثة مواقع للتغاير الموقع الأول C 1868 A بتركيبين وراثيين CC ، CA ونسبة تكرار التركيب الوراثي لهما 0.67 ، 0.33 على التوالي ، والموقع الثاني للتغاير C1902G بثلاثة تراكيب وراثية CC وCG و GG وكانت نسبة تكرار التراكيب 0.78، 0.19، 0.03 على التوالي ، اما الموقع الثالث G 2034 A بتركيبين وراثيين GG و GA حيث نسبة تكرار التراكيب الوراثية 0.67 و 0.33 على التوالي وكانت قيمة مربع كاي لمواقع التغاير الثلاثة غير معنوية.

أما الصفات التناسلية فقد تم استخراج نسبة الخصوبة ونسبة الخصب عند الفطام ونسبة الخصوبة عند الميلاد ونسبة التوائم ووزن المواليد لكل معزة عند الفطام لجميع التراكيب الوراثية للطفرات الثلاث C 1868 A و C1902G وA 2034 G.

لقد أوضحت هذه الدراسة عدم وجود تأثير معنوي للتراكيب الوراثية في مواقع طفرات منطقة التعبير الأولى الثلاثة على الصفات الإنتاجية وهي وزن ميلاد ووزن فطام وزيادة وزنية وكذلك لم يوجد تأثير معنوي على انتاج الحليب الكلي واليومي .

لقد وجد من خلال دراسة العوامل الثابتة وتأثيرها على بعض صفات النمو (وزن الميلاد ، و وزن الفطام ، والزيادة الوزنية) عدم وجود تأثيراً معنوياً لنوع الولادة على صفات النمو الثلاثة ، ووجد تأثير معنوي لجنس المولد حيث تفوقت المواليد الذكور على المواليد الإناث في الصفات الثلاث ، أما في شهر الميلاد فقد تفوقت مواليد شهر كانون الثاني وشهر شباط على الأشهر الأخرى في صفة وزن الميلاد ، ووزن الفطام ولم يكن بين شهري شباط وكانون الثاني فروقاً في المعنوية ، وتفوقت مواليد

شهر شباط وكانون الثاني في الزيادة الوزنية على بقية الأشهر وكانت مواليد شهر تشرين الثاني هي الأقل معنوية ، ولم يكن بين شهري شباط وكانون الثاني فروقاً معنوية ، لقد وجد تأثيراً معنوياً لفئة وزن الأم على وزن الميلاد ، ووزن الفطام ، والزيادة الوزنية حيث تفوقت الفئة الوزنية الأولى على الفئات الأخرى ، وان الفئة الوزنية الثالثة هي الأقل معنوية .

لقد أوضحت هذه الدراسة عدم وجود تأثيراً معنوياً لنوع الولادة وجنس المولود في أنتاج الحليب الكلي واليومي ، في حين وجد تأثيراً معنوياً لشهر الولادة على أنتاج الحليب حيث تفوق شهري تشرين الثاني وكانون الأول على شهري كانون الثاني وشباط وان شهر شباط هو الأقل معنوية ، ووجد تأثيراً معنوياً للفئة الوزنية على أنتاج الحليب الكلي واليومي حيث تفوقت الفئة الوزنية الثانية على الفئتين الأولى والثالثة .

يمكن أن نستنتج من خلال دراسة التعبير الجيني لجين GDF9 إمكانية اعتماده في وضع استراتيجيات التحسين الوراثي للصفات التناسلية لدى الماعز المحلي لتعظيم العائد الاقتصادي في أنتخاب التراكيب الوراثية التي حققت أفضل نتائج .

قائمة المحتويات

التسلسل	الموضـــــــــوع	الصفحة
	الفصل الأول	
	المقدمة (Introduction)	1-2
	الفصل الثاني	
	مراجعة المصادر (Review of literatures)	3-20
1.2	الماعز العراقي	3
2.2	الخصوبة	4
1.2.2	الجينات المؤثرة على الخصوبة	4
2 .2.2	عائلة عامل النمو بيتا المتحول (TGFb)	6
3.2.2	عامل النمو التمايزيGDF9	6
3.2	عوامل تؤثر على الخصوبة والخصب	7
4.2	التبويض Ovulation	8
5.2	دور الجينات في معدل التبويض	9
6.2	تأثير الاجهاد الحراري على الخصوبة	12
7.2	الطفرات	13
8.2	الواسمات الوراثية	14
9.2	عوامل تؤثر بوزن المواليد عند الميلاد والفطام	15
9.1.2	المجموعة الوراثية	15
9.2.2	جنس المولود	16
9.3.2	نوع الولادة	17
9.4.2	وزن الأم عند الولادة	17
9.5.2	شهر الولادة	18
10.2	العوامل التي تؤثر على انتاج الحليب	18
10.1.2	المجموعة الوراثية	19
10.2.2	جنس المولود	19
10.3.2	نوع الولادة	19
10.4.2	موسم الولادة	20
	الفصل الثالث	

1.3	حيوانات التجربة وإدارة القطيع	21
2.3	خطوات التجربة	22
3.3	الأجهزة و المواد المستخدمة في الدراسة	23
4.3	قياسات الأوزان والحليب	25
1.4.3	أوزان الأمهات	25
2.4.3	أوزان المواليد	25
3.4.3	قياس انتاج حليب	25
5.3	جمع عينات الدم	26
6.3	استخلاص الحامض النووي DNA	26
7.3	الترحيل الكهربائي لعينات DNA	28
8.3	تجهيز البوادئ لجين GDF9	28
9.3	تخفيف البوادئ	30
10.3	تفاعل البلمرة المتسلسل لجين GDF9	30
11.3	الكشف عن الطفرات الوراثية بتقانة Sequencing	32
12.3	حساب الأداء التناسلي والأنتاجي	32
13.3	التحليل الاحصائي	33
	الفصل الرابع	
	النتائج والمناقشة Results and discussion	
1-4	التضخيم لقطعة الجين GDF9 المدروسة بالنسبة للاكسون الأول	36
2-4	استخدام تقنية Sanger Sequencing لتحديد التراكيب الوراثية لأناث الماعز المحلي	37
3-4	الإعداد والنسب المئوية للتراكيب الوراثية لجين GDF9 في عينات الماعز المحلي	40
4-4	الصفات التناسلية للماعز في كل من الطفرات الثلاث C1868 A ، C 1902 G ، G 2034 A	43
5-4	التراكيب الوراثية في مواقع الطفرات C1868 A ، C 1902 G ، G 2034 A وعلاقتها بالصفات الإنتاجية	45
6-4	تأثير العوامل الغير الوراثية على بعض صفات النمو	47
7-4	تأثير العوامل الغير وراثية على أنتاج الحليب	50
8-4	معاير التباين الوراثي للطفرات المختلفة في جين GDF9	51
1-8-4	عدد الأليلات المشاهدة Na وعدد الأليلات المؤثرة Ne ودليل شانون I للحيوانات المدروسة	51
2-8-4	نسبة الخلط الأليلي المشاهد والمتوقع والتراكيب الوراثية المتماثلة المشاهده والمتوقعة	52
3-8-4	معامل التربية الداخلية للأفراد (Fis)	53
9-4	تقدير التباين الوراثي لجين GDF9 في الماعز المحلي	53
	الفصل الخامس	
1-5	الاستنتاجات Conclusions	55

2-5	التوصيات Recommendations	56
الفصل السادس		
المصادر		
1-6	المصادر العربية	57
2-6	المصادر الأجنبية	60

قائمة الجداول

التسلسل	الموضوع	الصفحة
1	بعض الجينات التي لها تأثير على الخصوبة	5
2	أهم الأجهزة المستخدمة في التجربة	23
3	أهم المواد الكيميائية المستخدمة	24
4	مكونات عدة استخلاص DNA	27
5	تسلسل البادئات المستخدمة والتي تم تجهيزها من قبل الشركة المصنعة	30
6	المواد المستخدمة في تفاعل البلمرة المتسلسل PCR	31
7	ظروف التفاعل التي استخدمت في الكشف الجزيئي باستخدام تقانة PCR	31
8	العدد والنسب المئوية للتراكيب الوراثية والتكرار الاليلي لجين GDF9 للماعز المحلي لموقع الطفرة C 1868 A و G 1902 C و A 2034 G	42
9	الأداء التناسلي للمعزات في الطفرة C 1868 A	43
10	الأداء التناسلي للمعزات في الطفرة C 1902 G	44
11	الأداء التناسلي للمعزات في الطفرة G 2034 A	45
12	علاقة التراكيب الوراثية في بعض الصفات الإنتاجية لموقع الطفرة C 1868 A و C 1902 G و G 2034 A	46
13	علاقة التراكيب الوراثية في انتاج الحليب لموقع الطفرة C 1868 A و C 1902 G و G 2034 A	47
14	تأثير العوامل الغير الوراثية على بعض صفات النمو	49
15	تأثير العوامل الغير الوراثية على انتاج الحليب	51
16	عدد الاليلات المشاهدة Na والحجم المؤثر للأليلات Ne و دليل شانون Shanon Index (I) لموقع الجين GDF9	52
17	نسبة الخلط الأليلي المشاهد والمتوقع ومتوسط الخلط الأليلي	52
18	معامل التثبيت لمواقع الطفرات	53
19	القيمة التربوية والانحراف السيادي والتباين التجميعي والسيادي والوراثي لجين GDF9 للموقع C1902G لصفة نسبة الخصوبة ومعدل الخصب عند الفطام	54

الاشكال

التسلسل	الموضوع	الصفحة
1	أهم وظائف BMPs / GDF-9 في مبيض اللبائن	**10**
2	سيطرة BMP-15 و GDF-9 على نسبة التبويض في الأغنام	**11**
3	مخطط يوضح خطوات التجربة	**22**
4	طريقة وزن الحيوانات	**25**
5	جمع الدم عن طريق الوريد الوداجي	**26**
6	ترحيل عينات DNA لجين GDF9	**29**
7	نتائج الترحيل لعملية الأستخلاص	**36**
8	نتائج تفاعل البلمرة المتسلسل PCR من خلال الترحيل الكهربائي على هلام الاكاروز 1.5% عند فولتية 100فولت وتيار 50 أمبير وان .M يمثل حجم الدنا القياسي 100-1500 bp (6-21) تمثل حزم الدنا للجين GDF9 والذي يظهر بحجم 462	**37**
9	تحليل للموقع C 1868 Aللجين GDF9 باستخدام Sanger Sequencing	**38**
10	تحليل للموقع C 1902 G للجين GDF9 باستخدام Sanger Sequencing	**39**
11	تحليل للموقع G2034 A للجين GDF9 باستخدام Sanger Sequencing	**40**

المختصرات

SAS	**Statistical Analysis System**
PCR	**Polymerase chain reaction**
EDTA	**Ethylene demine tetra acetic acid**
FAO	**Food and Agricultural Organization**
FSH	**Follicle stimulating hormone**
GDF-9	**Growth differentiation factor-9**
DNA	**Deoxyribonucleic acid**
BMP-15	**Bone morphogenetic protein-15**
CM	**Centimeter**
LH	**Luteinizing hormone**
BMPR1B	**bone morphogenetic protein receptor type**
RNA	**Ribonucleic acid**
GH	**Growth hormone1**
CDH26	**Cadherin 26**
TGFb	**Transforming Growth Factor beta**
Ave.Het	**Average heterozygosity**
Exp.Het	**Expected heterozygosity**
Exp.Hom	**Expected Homozygosity**

Fis	**Fixation index**
Ho	**Observed heterozygosity**
I	**Shanon Index**
X_2	**Chi-squer**
Na	**Observed alleles**
Ne	**Expected alleles**
GDFs	**Growth differentiation factors**

الفصل الأول

المقدمة

Introduction

يمثل الماعز جزءاً أساسياً من الثروة الحيوانية في العديد من دول العالم لما له دور مهم في حياة المواطنين وأمنهم الغذائي . لقد ذُكر الماعز في القرآن الكريم بقوله تعالى (مِّنَ ٱلضَّأْنِ ٱثْنَيْنِ وَمِنَ ٱلْمَعْزِ ٱثْنَيْنِ) ، وهذا يدل على ان للماعز أهمية كبيرة حيث إنه يمتاز بلحوم ذات جودة ممتازة وقدرة على التأقلم والعيش تحت الظروف البيئية الصحراوية والفقيرة ، والقدرة على هضم الألياف السليلوزية لمخلفات المحاصيل الحقلية ، و تعد من الحيوانات سهلة الرعاية وقليلة الأحتياجات الغذائية (البركة وآخرون ، 2008 و عبد الرسول ، 2009) وكذلك يمتاز الماعز بكفاءة تحويل عالية للغذاء عند مقارنتها بالحيوانات المزرعية الأخرى (القس واخرون 1993) ، ويكون لحم الماعز ذا طعم ممتاز ونسبة دهن منخفضة وهذا يجعلها مفضلة للتقليل من الأصابات بأمراض الشرايين ، أما من ناحية إنتاج الحليب فلها نسبة إنتاج عالية وقد يصل إنتاجها 20- 25 % من إنتاج البقرة ، وتتصف بالكفاءة التناسلية العالية مقارنة مع حيوانات المزرعة الأخرى ، وكذلك نسبة خصوبة عالية جداً ، ويمكنها التناسل بعد الولادة بفترة شهرين تقريباً مع الاستمرار على انتاج الحليب (القس واخرون ، 1993 و إسماعيل ، 2005) . يعد انتاج الحليب من الصفات الاقتصادية التي تتاثر بالعوامل الوراثية وغير الوراثية كأي صفة اقتصادية اخرى وان القيمة المظهرية (Phenotypic Value) لصفة ما هي دالة لما يحمله الفرد من عوامل وراثية ومدى تاثر الصفة بالعوامل غير الوراثية (Falconer و Mackay ، 1996). وإن الأختلافات في صفات النمو هي محصلة لتأثير عدة عوامل منها ماهو وراثي يحملها الفرد في التركيب الوراثي ومنها محصلة تأثير عوامل غير وراثية (Jawasreh ، 2003 و Hermiz وآخرون ، 2009) . وإنّ الصفات التناسلية في الماعز تعد من الصفات الكمية والتي تتحكم بها جينات متعدده وقد تم اكتشاف بعض الجينات المسؤولة عن الخصوبة ومنها جين Growth differentsation factor 9 (GDF9) (جين عامل النمو التمايزي) الذي له دور مهم في التكوين المبكر للجرابيات (Alain وآخرون ، 2002) ، ولكون أن المربي يسعى دائما لزيادة قطيع الحيوانات الخاص به بزيادة عدد

المواليد وهذا مرتبط بأرتفاع نسبة الخصوبة للقطيع (الخزرجي وآخرون ، 2014) والتي تعرف (الخصوبة) بقدرة أفراد القطيع على التكاثر ويشترك بها كل من الذكر والأنثى (الدوري ، 2002) .

وعليه كان الهدف من الدراسة الحالية هو استخدام تقنية التسلسل النيوكلوتيدي Squncing لتحديد المظاهر الوراثية لمنطقة التعبير الأولى من جين عامل النمو التمايزي GDF9 ودراسة علاقته ببعض الصفات التناسلية على كل من الخصوبة والخصب ،ونسبة التوائم ، و الإنتاجية إنتاج الحليب وكذلك معدل النمو للولادات ، وعند الفطام وتحديد التراكيب الوراثية التي تعطي أفضل نتائج لهذه الصفات الكمية لغرض الانتخاب ، بالأضافة الى دراسة بعض العوامل اللاوراثية وتأثيرها في بعض صفات النمو وإنتاج الحليب