تحليل التباين الوراثي لانتاج الحليب ومكوناته في المعز المحلي لجين مستقبل البرولاكتين (PRLR)

وسن جاسم الخزرجي[1] حمزة مزعل الخزاعي[2] مي عبد القهار الشيخ[1]
[1] قسم الإنتاج الحيواني كلية علوم الهندسة الزراعية- جامعة بغداد
[2] قسم الإنتاج الحيواني كلية الزراعة- جامعة الكوفة
hamzabreeding _1970@yahoo.com

المستخلص

اجريت الدراسة في محطة بحوث المجترات التابعة لوزارة الزراعة باستخدام 50 معزة محلية لتحديد القيم التربوية والأثر التجمعي والسيادي واثر إبدال الاليلات لجين مستقبل البرولاكتن في تباين إنتاج الحليب في المعز بالاعتماد على معلومات SNP في المنطقة البينية الثانية (UTR-3 Region) لجين مستقبل البرولاكتين باستخدام تقنية تعدد أطوال القطع المقيد (RFLP). بلغت القيم التربوية للتراكيب الوراثية MM وMN وNN المتحصل عليها 3.544 و0.818 و-1.91 على التوالي، كما بلغت قيم الانحراف السيادي للتراكيب الثلاثة -1.0207 و0.465 و- 0.2988 على التوالي. كانت قيمة التباين الوراثي(VG) لأليلات جين مستقبل البرولاكتين 4.11943 وهي محصلة كل من التباين التجمعي (VA) (3.812) والتباين السيادي (VD) (0.3082). أما متوسط أثر الأليلين M وN فبلغ 1.7719 و0.9541- على التوالي، كما بلغ متوسط أبدال الأليل M محل الأليل N في هذه الدراسة 2.776، ومتوسط أبدال الأليل N محل الأليل M كان - 2.726 . تشير النتائج إلى أهمية الانتخاب باتجاه الاليل M والقيمة الفعلية له في حالة وجود نسخة منه أو نسختين لصفة إنتاج الحليب مع ضرورة إجراء التحليل الوراثي للصفات الكمية وعدم الاعتماد فقط على التأثير التجمعي وان تقدير تلك المكونات لكل تركيب وراثي يعد مهما في تطبيق برامج الانتخاب وتحديد طريقة التزاوج .

الكلمات المفتاحية : جين مستقبل البرولاكتين، قيم تربوية، التباين التجميعي، التباين السيادي.

ANALYSIS OF GENETIC VARIANCE FOR MILK PRODUCTION AND IT COMPONENTS IN LOCAL GOAT FOR PROLACTIN RECEPTOR GENE

Wasan J.M. AL Khazraji[1] Hamza M. AL-Khuzai[2] May A. AL-Shaikh[1]
[1]College of Agricultural sciences and engineering –University of Baghdad - Iraq
[2]College of Agriculture University of Kufa – Iraq
hamzah.alkhuzaie@uokufa.edu.iq

ABSTRACT

The current study was conducted in Ruminant research station belong to the Minister of Agriculture Iraq by using 50 dies to estimate the breeding value and additive or dominant variance as well as the effect of gene substitution of PRLR gene depending on the information of (SNPs) which determined by (RFLP), Results showed three genotypes in the location that studded and breeding values were 3.544,0.818 and -1.91 MM, MN and NN Respectively, Dominance devotion -1.0207, 0.465 and -0.2988 Respectively, Genetic variance value (4.11943) while Additive variance value (3.812) and Dominance variance

value (0.3082). Results showed that the average gene substitution from M to N was 2.776 and the average gene substitution at N to M was -2.726. Results referred to the importance at selection towards the M alle and against the N alles to increase the animal number that carrying the M allele in herd which reflex positively on milk production.

Keyword: PRLR gene, Breeding value, Additive variance, Dominance variance.

المقدمة

يعتبر الماعز من الحيوانات المهمة اقتصاديا والتي تمتاز بقدرتها العالية على تحمل الظروف البيئية وإنتاج الحليب وعدد المواليد مقارنة ببقية الحيوانات الزراعية مما جعل تربيته أكثر ملائمة مع ظروف الجفاف والمناطق الزراعية منخفضة الإنتاج، وبلغت أعداد الماعز في العراق 1.6 مليون رأس (FAO،2013).

تم تبني النظرية الكمية من اجل تحسين عمليات الانتخاب وتوقع الاستجابة الوراثية لعمليات التحسين ، وقد أدى ذلك إلى انتخاب العديد من الصفات ذات الأهمية الاقتصادية على أساس التركيبة الجينية أداة مهمة في عملية التحسين الوراثي لحيوانات المزرعة (Liron وGivambatt ، 2006).

ويعتبر الاهتمام بتحسين إنتاج الحيوانات المزرعية ومنها الماعز من الجوانب المهمة لرفع العائد الاقتصادي وعادة مايتبع مربو الحيوانات برامج تحسين تعمل على زيادة وتحسين قدرة الحيوان الإنتاجية من خلال رفع تكرار الاليلات المتميزة في القطعان والانتخاب لها بهدف رفع تكرارها داخل القطيع مما يعمل على زيادة القدرة الوراثية للحيوانات وبالتالي زيادة الإنتاج (جلال وكرم،2003) وذلك من خلال الربط بين التطورات الحاصلة في مجال الوراثة الجزيئية التي مكنت من الكشف عن الجين المطلوب احتساب تكراره الاليلي في القطيع المدروس.

ومن هذه الجينات المهمة في إنتاج الحليب هو جين مستقبل البرولاكتين الذي يقع في الماعز على الكروموسوم رقم 20، وهو من المؤشرات الوراثية المهمة في انتاج الحليب بسبب دوره الحاسم في انتقال الإشارات من الهرمونات إلى جين بروتين الحليب (Hayes وزملاؤه ،1996). أن مستقبلات البرولاكتين (PRLR) تنتمي إلى نفس عائلة مستقبلات هرمون النمو وهو جزء من مستقبلات السيتوكينات الفائقة (Clevenger وزملاؤه ،1998)، وارتبط تعدد المظاهر الوراثية لجين مستقبل البرولاكتين (PRLR) بصفات اقتصادية مهمة مثل إنتاج الحليب وصفات الجزة والصفات التناسلية في الماعز والأغنام (Terman، 2005 ،Chu وزملاؤه،2007، Zhou وزملاؤه،2011).

إن الأساس الذي يستند عليه إتباع برامج التحسين الوراثي هو معرفة القيم التربوية للأفراد للصفة المراد تحسينها بحيث يمكن تشخيص الحيوانات ذات التراكيب الوراثية المرغوبة واستغلالها للوصول إلى أفضل درجات التحسين الوراثي (Neopane وزملاؤه،1998 و Cassell،2001). هدف البحث تقدير التأثير التجميعي والتأثيرات السيادية ومتوسط اثر الجين (مستقبل البرولاكتين) ومتوسط اثر الإحلال للوصول إلى أفضل خطة انتخابية لتحسين صفة إنتاج الحليب في عينة الماعز المدروسة.

المواد وطرائق العمل

درست عينة مكونة من 50 معزة محلية في محطة بحوث المجترات التابعة للهيئة العامة للبحوث الزراعية/ وزارة الزراعة و تم أجراء التحاليل الوراثية في مختبرات جسر المسيب المتخصصة بالوراثة الجزيئية بهدف فصل المادة الوراثية وتحديد التراكيب الوراثية (Genotypes) لجين مستقبل البرولاكتين. تم جمع 5 مل من الدم من الوريد الوداجي (Jugular vein) من كل حيوان في أنبوبة جمع مضاف لها مانع تخثر من نوع K2 EDTA، ونقلت بصندوق مبرد إلى المختبر لحفظها بالتجميد على درجة -18م° لحين وقت الاستخلاص.

تم استخلاص DNA من الدم حسب تعليمات العدة التشخيصية (Kit) المجهزة من شركة Geneaid . تم الكشف عن كفاءة عملية الاستخلاص في الوصول إلى DNA الكامل وذلك باجراء ترحيل للعينات المستخلصة على هلام الاكاروز. تم اختيار البوادئ (Primers) لغرض أجراء الكشف الجزيئي ومعرفة التعدد المظهري للجينات والطفرات الموجودة للجين PRLR.

اسم الجين ومختصره		التسلسل
Prolactin Receptor (PRLR)	المنطقة المدروسة Exon 3 3'UTR	**F : 5'**- AGTGAGAGTTATGGAAGGATG-**3'** **R : 3'** – AAGGTTAAGCAACTGGTCTT-**5'**

(Hou واخرون، 2014)

بعد انتهاء تفاعل البلمرة تم الكشف عن وجود الطفرة عن طريق استعمال إلانزيم القاطع (Ras1) من شركه Bioneer وبتركيز1000 وحده لكل مول وحضن مزيج التفاعل في درجة حرارة 37 م° ولمدة ثلاث ساعات وبعد إجراء القطع الانزيمي ثم تم اجراء الترحيل الكهربائي للعينات المقطوعة للكشف عن مواقع القطع وبهذه التقنية تم التعرف على التعدد المظهري للمنطقة الجينية المضاعفة من الجين PRLR.

تم قياس إنتاج الحليب لإناث المعز في المحطة وذلك بوزن كمية الحليب الناتجة عن حلبتين و استخراج مجموع الحلبتين في اليوم وذلك لموسم إنتاجي واحد (من الولادة لغاية الجفاف). طبقت القوانين الخاصة بكل قيمة محسوبة (Falconer و Mackay، 1996) كما يلي :

1- متوسط أثر الأليل A : $\alpha 1 = \alpha A = q[a+d(q-p)]$

متوسط أثر الأليل B: $\alpha 2 = \alpha B = -p[a+d(q-p)]$

أما متوسط الإبدال فيمثل الفرق بين القيمتين. $\alpha = \alpha 1 - \alpha 2$

2- القيم التربوية وكانت كما يأتي:

$AA = 2\alpha 1$, $AB = \alpha 1 + \alpha 2$, $BB = 2\alpha 2$

3- الانحرافات السيادية:

$AA = -2q^2d$, $AB = 2pqd$, $AA = -2p^2d$

4- استخرجت التباينات المختلفة كما يأتي:

$VA = 2pq\,\alpha^2$, $VD = 4p^2q^2d^2$, $VG = VA + VD$

p وq:تكرار الاليل A و B على التوالي، a: القيمة الوراثية للتركيب الوراثي AA.

d: القيمة الوراثية للتركيب الوراثي Aa.

VG =التباين الوراثي ، VA=التباين التجميعي، VD=التباين السيادي

وتم اختبار كون العشيرة متزنة ام لا وذلك باجراء اختبار X^2 للتراكيب الوراثية الثلاث وكانت النتيجة غير معنوية وهذا دليل على كون العشيرة متزنة.

النتائج والمناقشة

بينت نتائج الجدول 1 العدد والنسبة المئوية لجين مستقبل البرولاكتين (PRLR) في العينة المدروسة، إذ ظهر وجود فروق معنوية عالية (P<0.01) بين نسب التراكيب الوراثية المختلفة للأمهات والتي بلغت 50 و 12 و 38 % للتراكيب الوراثية NN و MN و MM بالتتابع، أي أن هنالك توفر واضح للإفراد النقية الحاملة للتركيب الوراثي MM ثم الافراد النقية التركيب الوراثي NN مع تدني نسبة التركيب الوراثي الخليط MN في العينة المدروسة، وقد كان التكرار الاليلي بحدود 0.56 و 0.44 للاليلين N وM بالتتابع، ويلاحظ من النتائج الحالية عند مقارنتها مع الدراسات السابقة على المنطقة نفسها من جين مستقبل البرولاكتين وجد أنها مشابهه لها في تصدر نسبة التركيب الوراثي، إذ جاء في معظمها التركيب MM في حين كان الهجين يليه الهجين يليه او مساوياً له ومن ثم التركيب NN، وهنا يشابه في جزء من نتائجنا الحالية ومخالفه في جانب آخر ويمكن تفسيره باختلاف حجم العينه ومنطقة الدراسة (Zhou واخرون ، 2011) و(Hou واخرون ، 2014).

جدول 1. العدد والنسب المئوية للتراكيب الوراثية والتكرار الاليلي لجين PRLR

التركيب الوراثي	العدد	(%)
NN	25	50
MN	6	12
MM	19	38
المجموع	50	% 100
قيمة مربع كاي (χ^2)	----	** 19.538
الاليل	التكرار	
N	0.56	
M	0.44	
** (P<0.01).		

سجلت الأفراد ذات التركيب الوراثيMM أعلى معدل إنتاج الحليب مقارنة بالتركيبين الوراثيين MN وNN (152.94 و114.44 و124.47 على التوالي) . كما سجل التركيب الوراثي MM أعلى قيمة تربويه وهي متماشية مع كون هذا التركيب هو الأعلى إنتاجا للحليب كما انه الأقل انحرافا سياديا مقارنة بالتركيبين الوراثيين الآخرين (MN و NN) (الجدول 2). إن هذه النتيجة تشير بشكل واضح إلى ان التركيب الوراثي MM هو الأفضل ولكون التباين التجمعي (VA) مرتفعا مقارنة مع التباين السيادي(VD) فأن انتخاب التركيب الوراثي الأفضل(MM) سيكون مجديا وذلك لأن التأثير التجمعي سوف يورث للأجيال اللاحقة (Schaeffer، 2006) و(Jicai واخرون، 2017).

جدول 2. القيم التربوية والانحراف السيادي للتراكيب الوراثية لجين مستقبل البرولاكتين لصفة انتاج الحليب

التركيب الوراثي	العدد	(A-TMP)	(BV)	(DD)	VA	VD	VG
NN	25	124.47	1.91 -	-0.2988	3.812	0.3082	4.11943
MN	6	114.44	0.818	0.465			
MM	19	152.94	3.5444	1.0207 -			

A-TMP: متوسط انتاج الحليب الكلي، BV: القيمة التربوية، DD : الانحراف السيادي، VA: التباين التجميعي
VD: التباين السيادي، VG : التباين الوراثي.

جدول 3. متوسط أثر الاليل ومتوسط الاحلال للأليل في عينة المعز المحلي

الأليل	متوسط أثر الأليل	متوسط أبدال الأليل
M	1.7719	2.726
N	0.9541 -	2.726 -

وأظهرت النتائج ان متوسط أبدال الأليل M محل الأليل N في هذه الدراسة بلغ (2.776)، ومتوسط أبدال الأليل N محل الأليل M كان (- 2.726) مما يعني أهمية الانتخاب باتجاه الاليل M والقيمة الفعلية له في حالة وجود عدة نسخ منه لصفة إنتاج الحليب، ومن خلال نتائج الدراسة الحالية يمكن الاستنتاج بأن تقدير القيمة التربوية باستخدام الواسمات الوراثية سوف يزيد من العائد الوراثي وذلك نتيجة لتقليل مدى الجيل وزيادة الدقة الوراثية وكلفة أقل، كما أن دقة استخدام الواسمات الوراثية في تقدير القيمة التربوية وتحسين اداء الحيوانات المحلية تحت الظروف الحقلية.

المصادر

Cassell, B.G. 2001. Using Ileritability for genetic improvement. Cell. l0:52l-529.

Chu, M.X., Y.L., Mu, L.Fang, S.C. Ye, S.H. Sun. 2007. Prolactin receptor as a candidate gene for prolificacy of small tail han sheep. Anim. Biotechnol. 18: 65-73.

Clevenger, C.V., D.O., Freier and J.B., Kline. 1998. Prolactin receptor signal transduction in cells of the immune system. J. Endocrinal. 157: 187-197.

Falconer, D.S. and T.F.C. Mackay, 1996. Introduction to quantitative genetic. 4th edition, Longman Group Ltd.

FAO. 2013. FAO Statistical Database. www.faostat.fao.org.

Hayes, H., C.C. Le, G. Goubin, D. Mercier, E.J. Payen, C. Bignon and K. Kohno. 1996. Localization of ZNF164, ZNF146, GGTA1, SOX2, PRLR and EEF2 on homeologous cattle, sheep, and goat chromosomes by fluorescent in situ hybridization and comparison with human gene map. Cytogenetic Cell Genet 72:342-346.

Hou, J.X., F. Fang, X.P.An, Y. Yan, T. Ma, P. Han , F.X. Meng, Y.X. Song, J.G. Wang and B.Y. Cao. 2014. Polymorphisms of PRLR and FOLR1 genes and

association with milk production traits in goats. Genet. Mol. Res. 13 (2): 2555-2562.

Jalal, S., H. Salah. 2003. Animal Breeding. Egyptian Anglo Library. 6th edition. Cairo. Egypt.

Jiang, J., B. Shen, J.R. O'Connell, P. M.VanRaden, J. B. Cole, and L. Ma,. 2017. Dissection of additive, dominance, and imprinting effects for production and reproduction traits in Holstein cattle. BMC Genomics, 18:425.

Liron, J.P., G. Givambatt. 2006. Genetic characterization of Argentine and Bolivian cercal cattle Breeds assessed through microsatellites. Journal of Heredity, 67 (4): 331- 339.

Neopane, S.P. and G.E. Pollott. 1998. Genetic parameter estimation of weight traits in Nepalese Hitl goats. 6th World Congress on Genetics Applicd to Livestock Production. lan, Armidale' NSW Australia. 2.1: 189-192.

Schaeffer, L.R. 2006. Strategy for applying genome-wide selection in dairy cattle. J Anim Breed Genet, 123:218-223.

Terman, A. 2005. Effect of the polymorphism of prolactin receptor (PRLR) and leptin (LEP) genes on litter size in Polish pigs. J. Anim. Breed. Genet. 122: 400-404.

Zhou, J.P., X.P. Zhu, W. Zhang, F. Qin, S.W. Zhang, Z.H. Jia. 2011. A novel single-nucleotide polymorphism in the 5' upstream region of the prolactin receptor gene is associated with fiber traits in Liaoning cashmere goats. Genet. Mol. Res. 10: 2511-2516.