



دراسة درجة القرابة الوراثية بين الماعز الشامي والنوبي باستعمال تقانة ISSR

Genetic Relationship Between Shami and Nubian Goats Using ISSR Technique

د. عبد المنعم الياسين⁽¹⁾ د. علي أبو عفيفة⁽¹⁾ د. لطفي موسى⁽¹⁾ د. سلام لاوند⁽²⁻¹⁾
م. غادة سلام⁽¹⁾ د. محمد نصري⁽¹⁾ د. هناء حسن⁽¹⁾

Dr. Abdel Moneim Al-Yassin⁽¹⁾ Dr. Ali Abu Afifa⁽¹⁾ Dr. Lotfy Musa⁽¹⁾ Dr. Salam Lawnd⁽¹⁻²⁾
Eng. Ghada Salam⁽¹⁾ Dr. Muhammad Nasry⁽¹⁾ Dr. Hanaa Hasan⁽¹⁾

musalutfimusa@gmail.com

Received 12 February 2024; Accepted 05 June 2024

(1) المركز العربي لدراسات المناطق الجافة والأراضي القاحلة/ أكساد، دمشق، سورية.

(1) The Arab Center for the Studies of Arid Zones and Dry Lands/ACSAD, Damascus, Syria.

(2) قسم المحاصيل الحقلية، كلية الزراعة، جامعة دمشق، سورية.

(2) Department of Field Crops, Faculty of Agriculture, Damascus University, Syria.

الملخص

أُجريت هذه الدراسة لتقدير التباين الوراثي داخل وبين سلالاتي الماعز الشامي والماعز النوبي وتحديد درجة القرابة بينهما، باستخدام تقنية التكرارات المترادفة البسيطة الداخلية ISSR وذلك على 90 عينة و96 عينة من السلالتين على التوالي. تضمنت الدراسة اختبار 30 بادئة، لم تُعط 10 بادئات منها نتائج، في حين اتضح بالنتائج فعالية 20 منها في إعطاء تعددية شكلية بين العينات المدروسة. أظهرت نتائج الماعز النوبي ما مجموعه 102 حزمة بمتوسط 5.1 حزمة لكل بادئ، وبلغ عدد الحزم المتباينة شكلياً 98 حزمة بمتوسط 4.9 حزمة لكل بادئ، وتراوح قيم معامل التعددية الشكلية (PIC) من 0.40 كأعلى قيمة، إلى 0.10 كأقل قيمة، وبلغ المتوسط العام 0.28. بينما أظهرت الدراسة ما مجموعه 90 حزمة بمتوسط 4.5 حزمة لكل بادئ للماعز الشامي، وبلغ عدد الحزم المتباينة شكلياً 83 حزمة بمتوسط 4.15 حزمة لكل بادئ، وتراوح قيم معامل التعددية الشكلية (PIC) من 0.08 إلى 0.36، وبلغ المتوسط العام 0.24، مما يشير إلى قدرة البادئات المستخدمة على التمييز بين العينات المدروسة وبنسبة أقل مما عليه بالماعز النوبي. أوضح التحليل العنقودي ورسم شجرة القرابة الوراثية بين السلالتين التباعد الوراثي بينهما.

الكلمات المفتاحية: الماعز الشامي، الماعز النوبي، تقنية ISSR، القرابة الوراثية.

Abstract

This study was conducted to estimate within and between genetic variation for Shami (N = 90) and Nubian (N = 96) goats using ISSR technique. Thirty primers were tested, however, 20 primers of them are functioned, and polymorphic in both breeds. The Nubian goats' results revealed a total of 102 alleles with an average of 5.1 alleles per locus, 98 of them are polymorphic and averaged 4.9 alleles per primer. The values of the polymorphism information content (PIC) ranged from 0.10 to 0.40. Regarding the Shami goats' analysis, the results showed a total of 90 alleles with an average of 4.5 alleles per primer, 83 of them are polymorphic and averaged 4.15 alleles per primer. The values of PIC ranged from 0.08 to 0.36, which indicates the power of the used primers to distinguish between the studied samples of Sami goats but at lower rate than in the Nubian goats. Phylogenetic analysis revealed the genetic divergence between Shami and Nubian goats' breeds.

Key words: Shami goats, Nubian goats, ISSR, genetic relationship.

المقدمة

تعدُّ المنطقة العربية موطنًا لعدد كبير من سلالات الماعز التي تتميز بتنوع وراثي كبير، وتعدُّ هذه السلالات جيدة التكيف مع بيئاتها التي يسود فيها الجفاف وارتفاع درجات الحرارة. وتتخذ الصفات التأقلمية لهذه السلالات أهمية متزايدة بالنظر إلى تغيرات المناخ وتزايد الطلب على المنتجات الحيوانية مع ارتفاع الدخل وزيادة أعداد السكان إلا أن كثيرًا من هذه السلالات مهددة بالانقراض أو التلوث الوراثي نتيجة تغير اتجاهات الطلب والخلط العشوائي مع السلالات الأجنبية وعدم وجود برامج تربية تهدف إلى تحسين الكفاءة الإنتاجية. أصبح المحافظة على التباين الحيوي همًا عالميًا باعتباره الأساس للأمن الغذائي والتنمية الزراعية (SCBD, 2001) حيث إن فقدان الموارد الوراثية الحيوانية كبير الأثر مقارنة بالنباتية. حاليًا نجد أن 82% من مشاركة الموارد الوراثية الحيوانية في الغذاء تأتي فقط من 14 نوع من الحيوانات. حتى نهاية القرن السابق يعتقد أن 16% من السلالات المتأقلمة مع بيئاتها فقدت وأن 32% منها في مرحلة الخطر (Hall and Ruane, 1993). للتأكد من أن إنتاج الحيوانات المزرعية أصبح أكثر كفاءة ومستدامًا ومستجيبًا للضغوطات الاقتصادية أنشأت منظمة الأغذية والزراعة العالمية (FAO) خطة العمل العالمية للموارد الوراثية الحيوانية (Global Plan of Action for Animal Genetic Resources) تهدف للمحافظة على هذه الموارد من خلال تنميتها واستخدامها بصورة مثلى. اشتملت خطة العمل العالمية على 23 أولوية استراتيجية للعمل، مقسمة على أربعة مجالات ذات أولوية استراتيجية، (1) توصيف وجرد ورصد الاتجاهات والمخاطر المرتبطة بها؛ (2) الاستخدام والتنمية المستدامين؛ (3) الحفظ؛ (4) السياسات والمؤسسات وبناء القدرات.

تناغمًا مع الخطة العالمية للموارد الوراثية الحيوانية أنشأ المركز العربي لدراسات المناطق الجافة والأراضي القاحلة/أكساد برنامج يُعنى بالمحافظة وتحسين سلالات المجترات الصغيرة في الوطن العربي، وخاصة الواعدة منها، مثل الماعز الشامي وأغنام العواس وغيرها من السلالات المتميزة في المنطقة العربية.

ينتمي الماعز الشامي أو الدمشقي إلى مجموعة الماعز كبيرة الحجم ويعد من أشهر سلالات الماعز العربية، ويمتاز بالتأقلم مع بيئة الإنتاج ومقاومة الأمراض وبقدرة وراثية عالية لإنتاج الحليب واللحم، إضافة للخصوبة العالية حيث تصل ولاداته التوأمية نحو 80%. تزداد شهرة الماعز الشامي لكونه من المصادر الوراثية المهمة والمرغوبة محلياً وعربياً وعالمياً، حيث يُستخدم في برامج التحسين الوراثي للعروق الأخرى، ولا سيما في المناطق الجافة وشبه الجافة بهدف تحسين إنتاجيتها من الحليب واللحم. فإنتاج المعزة الشامية يتراوح بين 4-6 كغ/يوم، ووصل إنتاجها في موسم طولته 7 أشهر نحو 497 كغ في قطاع المركز العربي/ أكساد في محطة بحوث أزرع.

يشكل الماعز النوبي في السودان نحو 46% من التعداد الكلي للماعز في السودان، وتتواجد حول مجرى النيل والمناطق الريفية والمدن في شمال السودان. ومن أهم أنواع الماعز المنتجة للألبان في السودان وتعد واحدة من مجموعة الماعز المتشابهة مظهرياً مع الحظائر في مصر والشكري في إريتريا والماعز الدمشقي في بلاد الشام (Devendra and McIeroy, 1982). وهو نوع كبير الحجم (70-75 سم) وتزن الذكور 50-70 كجم والإناث 40-60 كجم وله قرون متوسطة الحجم ويسود بينها اللون الأسود ماعدا الأذنين فهي رمادية أو رمادية مع نقاط بيضاء، وتتصف الجبهة بأنها بارزة وتوجد عليها خصل من الشعر ومقطع الوجه محدب في الذكور. وقد يصل إنتاجها من اللبن إلى 2.5 لتر يومياً.

اتجهت الأبحاث الحديثة حالياً لدراسة كافة الكائنات الحية على المستوى الجزيئي وتحديد المورثات المسؤولة عن مواصفات الإنتاجية العالية بالإضافة إلى مقاومة الأمراض ومخاطر البيئة. تقدم المؤشرات الجزيئية معلومات مفيدة عن تركيب الجماعة وعلاقات القرابة بالإضافة إلى التحقق من الأنساب (Feral, 2002) وتساعد في تطبيق الانتخاب (Bünger, 2008) من خلال مقدرتها على توصيف مواقع الصفات الكمية المرتبطة بالمؤشر. كما أنها تسمح بدراسة التكوين الوراثي للأفراد على مستوى الـ DNA (Naqvi, 2007) وتزود بمعلومات عن تنوع القرائن لموقع وراثي معين وبالتالي تحدد التنوع الوراثي وتكشف عن المورثات التي تؤثر في الصفات المهمة اقتصادياً (Erhardt and Weimann, 2007)، يضاف إلى ذلك أهميتها في تحديد مواقع الصفات الكمية Quantitative trait Loci (Simianer, 2005) ورسم خرائط الارتباط الوراثية (Diez-Tascon *et al.*, 2000; Moazami-Goudarzi *et al.*, 1997). إحدى هذه التقنيات المتبعة في هذا المجال هي تقنية (Inter Simple Sequence Repeats) التكرارات الترادفية البسيطة الداخلية، التي استخدمت لدراسة التنوع الوراثي في أغلب الكائنات الحية حقيقة النوى. (Zietkiewicz *et al.*, 1994).

انطلاقاً من أهمية التنوع الوراثي وتحديد درجات القرابة في برامج التربية وتحسين قطاع الماشية، ركزنا في هذا البحث على دراسة درجات القرابة الوراثية بين الماعز الشامي والنوبي المعروفين على مستوى المنطقة العربية لما لهما من أهمية في إنتاج الحليب واللحم وتحمل الظروف المناخية السائدة والمساهمة في سد الفجوة الغذائية. تهدف هذه الدراسة لتقدير التباين الوراثي داخل وبين سلالاتي الماعز الشامي والماعز النوبي وتحديد درجة القرابة بينهما؛ باستخدام التقانات الحيوية الحديثة مثل الـ SSR والـ ISSR.

مواد وطرائق البحث

المادة الوراثية

جمعت 96 عينة دم من الماعز النوبي من ثلاثة مواقع مختلفة في السودان (الخرطوم - بحري - ولاية نهر النيل). كما جمعت 90 عينة دم من الماعز الشامي من محطة أبحاث أكساد/ إزرع، (ذكور وإناث من كلا النوعين)، حيث سُحبت عينة الدم من الوريد الوداجي ضمن أنابيب مفرغة تحوي مانع تخثر EDTA anti-coagulant (Ethylenediaminetetra-acetic acid). جرى استخلاص الحمض النووي الريبي منقوص الأوكسجين DNA للعينات وحفظها في درجة حرارة -30 درجة مئوية، وذلك باعتماد الطريقة المسجلة من قبل الشركة المنتجة لمواد الاستخلاص iNtRON biotechnology. جرى تقدير النوعي وجودة الحمض النووي ال DNA في العينات المدروسة على هلامة الأغاروز 8% وتحت الأشعة فوق البنفسجية.

تطبيق تقنية التكرارات الترادفية البسيطة الداخلية (ISSR) Inter Simple Sequence Repeat

استُخدم 30 بادئة من بادئات ال ISSR، وبين الجدول (1) البادئات المستخدمة وتسلسلها النيكلوتيدي.

الجدول 1. البادئات المستخدمة في تقنية ISSR وتسلسلها النيكلوتيدي، ودرجة حرارة الالتحام

اسم البادئة	التسلسل النيكلوتيدي للبادئة	درجة حرارة الالتحام °C	اسم البادئ	التسلسل النيكلوتيدي للبادئة	درجة حرارة الالتحام °C
P1	(TC)8A	50.4	P2	(GT)8C	52.8
P3	(GACA)4	49.2	P4	(AC)8TC	53.7
P5	CCAG(GT)7	56.0	P6	(TC)8AG	53.7
P7	(TC)8GA	53.7	P8	(GA)8CG	56.0
P9	(AC)8T	50.4	P10	(CA)8A	50.4
P11	(AACC)4	49.2	P12	GA(8)YC	54.8
P13	(GGAC)3A	44.0	P14	(GGAC)4	42.0
P15	(AC)8C	52.8	P16	(GATA)4	38.9
P17	(ATG)6	46.9	P18	(AG)8T	50.4
P19	(CA)8G	52.8	P20	(GGAC)3C	46.0
P21	AG(8)CTG	56.7	P22	(AG)9C	56.7
P23	(GACAC)4	61.4	P24	(AG)8TT	51.4
P25	(AC)9T	54.5	P26	(CA)9T	54.5
P27	(AC)8GG	56.0	P28	CCAG(GT)7	56.0
P29	(GT)4(GA)5	53.7	P30	(AC)7(AT)3	51.1

جرى تضخيم قطع DNA في محلول نهائي 25μ ، مكون من: 12.5μ Master mix من شركة INTRON 2X PCR Master Mix Solution، 2μ من البادئ بتركيز 10 بيكومول، 2μ من المادة الوراثية DNA، وتم إكمال الحجم بالماء المقطر والمعقم.

تمت مضاعفة DNA في جهاز التدوير الحراري PCR من شركة Eppendorf وفق البرنامج التالي:

1- الانفصال: عند درجة حرارة 94°C ، مدة 5 دقائق ليجري انفصال سلسلي الحمض النووي الريبي منقوص الأوكسجين (DNA).

2- عمل 40 دورة تتضمن كل منها المراحل التالية:

- مرحلة التحطيم الحراري Denaturation: جرى في هذه المرحلة رفع درجة الحرارة حتى 94°C ليتم انفصال سلسلي الحمض النووي (DNA) عن بعضهما البعض، لتُصبحا في حالة سلسلة مفردة.
- مرحلة الالتحام Annealing: جرى خفض درجة الحرارة وفق الجدول المذكور سابقاً، وذلك تبعاً لطول البادئة، وعدد النيكليوتيدات المكونة لها ونوعها، ليجري التحام البادئة بالقطعة المكتملة لها من الحمض النووي الريبي منقوص الأوكسجين (DNA)، وتُعد هذه المرحلة الأهم خلال التفاعل لكي تجري مضاعفة سلسلة (DNA) بشكل صحيح.

- مرحلة الاستطالة Extension: جرى رفع درجة الحرارة لتصل إلى 72°C ، ليجري إكمال تكوين السلاسل الجديدة بوجود أنزيم Taq-Polymerase، والنيكليوزيدات ثلاثية الفوسفات، وبعد انتهاء هذا التفاعل جرى الحصول على عدد كبير من سلاسل الحمض النووي الريبي منقوص الأوكسجين DNA بدءاً من قطعة واحدة.

3- اكتمال التفاعل عند حرارة 72°C لمدة عشر دقائق.

ثم حُفظت العينات في درجة حرارة 4°C ، لتفصل الحزم بعدها بالترحيل على هلامه الأغاروز.

الرحلان الكهربائي والتصوير

جرى الترحيل على هلامه الأغاروز 2% المكونة من المحلول المنظم 1X TBE buffer: (10.8 g Tris borate + 5.5 g Boric acid + 0.92 g EDTA)، ويُضبط درجة الحموضة عند $\text{pH}=8$ ، ثم يُضاف إليه صبغة الإيثيديوم برومايد (10 ميكروغرام/ميكروليتر) بنسبة $5 \mu\text{l}/100 \text{ ml}$.

كما جرى حقن مؤشر Marker من الحمض النووي (DNA) 100 pb من شركة (Intron)، لتحديد أطوال الحزم الناتجة، ليجري بعد ذلك الترحيل بواسطة حقل كهربائي قدره 80 فولت، لفصل حزم DNA الناتجة عن عملية التضخيم، وصُورت الهلامة بجهاز تصوير هلامه الأغاروز (G: BOX SYNGENE).

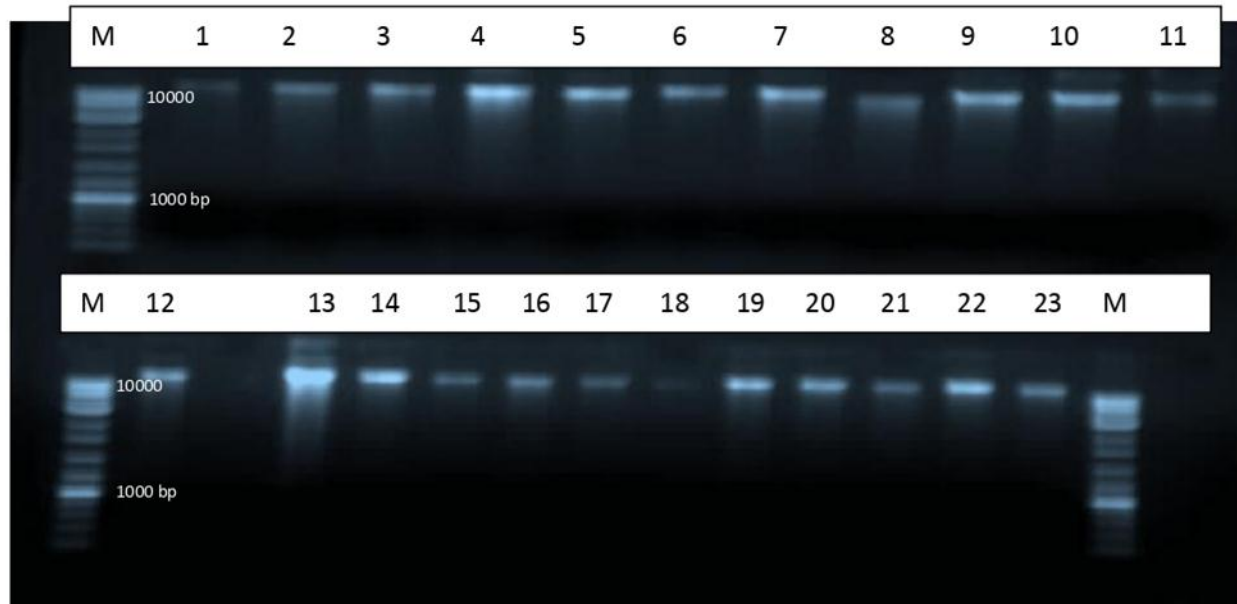
التحليل الإحصائي

استُخدم في تحليل البيانات الجزيئية لهذه الدراسة البرامج الإحصائية الخاصة بالتقانات الحيوية Bioinformatics، فجمعت نتائج عملية الرحلان الكهربائي في جداول مخصصة، اعتماداً على مقارنة وجود أو غياب حزم الحمض النووي الريبي منقوص الأوكسجين DNA بين العينات، حيث أُعطي الرقم (1) عند وجود حزمة DNA، والرقم (0) عند غيابها، ونُظمت

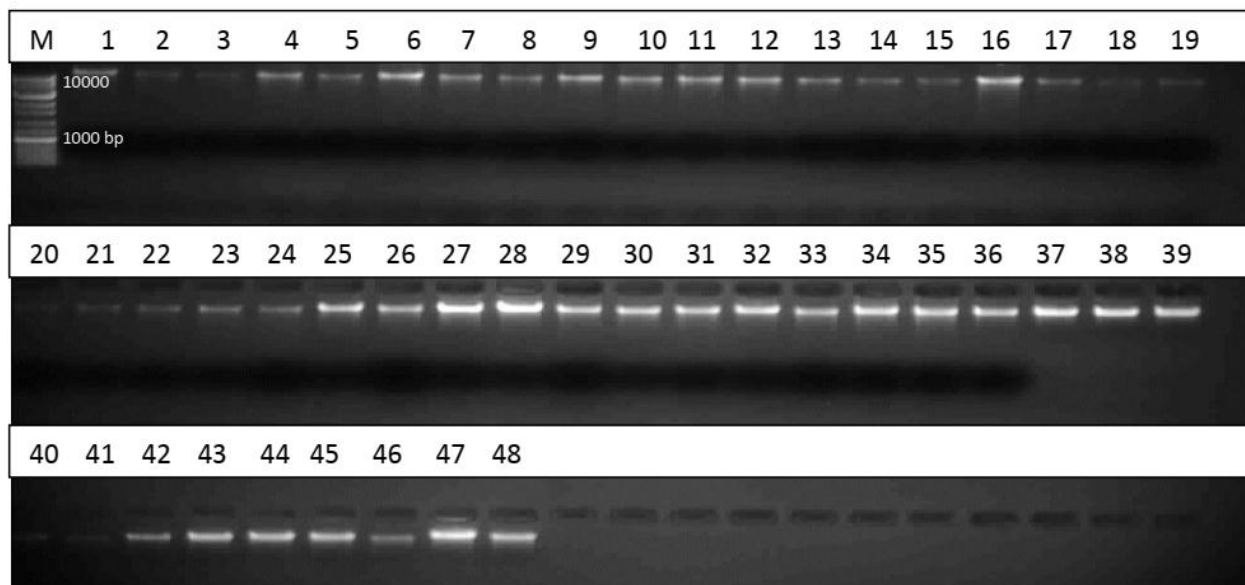
الجدول لكل بادئة على حده. حُدِّت مصفوفة درجة القرابة الوراثية بين العينات المدروسة (PAV) Percent Agreement Values، ورُسمت شجرة القرابة الوراثية Dendrogram بتطبيق طريقة التحليل العنقودي Cluster Analysis، باستخدام البرنامج الإحصائي Ntsys وحددت المجموعات الزوجية غير المزنة Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Averaging (UPGMA) حسب (Rohll, 1998). حيث يسمح التحليل العنقودي بتقسيم العينات المدروسة إلى مجموعات تعكس درجة القرابة الوراثية فيما بينها، فمن الممكن أن تتجمع العينات ضمن مجموعة واحدة بناءً على موطنها الأصلي، أو بناءً على أصلها ونسبها، وحُسبت قيم معامل التعددية الشكلية (PIC) Polymorphism Information Content (PIC) للبادئات المستخدمة وفق المعادلة: $PIC = \{\sum 2P_i (1-P_i)\}$ ، حيث P_i تكرارية الحزم الناتجة عن استخدام البادئة من جميع العينات المدروسة (Botstein *et al.*, 1980).

النتائج والمناقشة

بينت نتائج تحميل كمية قليلة من الـ DNA على (2 µl) هلامة الأغاروز (0.8%) وتحت الأشعة فوق البنفسجية جودة نوعية المادة الوراثية المستخلصة (DNA) موضوع الدراسة، وضحت عدم تكسرها وتحللها. إذ ظهر الـ DNA على شكل عصابات عالية الوزن الجزيئي في هلامة الأغاروز، وعليه جرى تمديد تركيز الـ DNA للوصول إلى التركيز 40 ng/µl وهو التركيز المستخدم في التجارب اللاحقة (الشكل 2.1).



الشكل 1. هلامة الأغاروز 0.8% لتحديد جودة الـ DNA المستخلص من بعض عينات الماعز النوبي
(M: مؤشر قياسي لتحديد أطوال حزم الحمض النووي DNA)



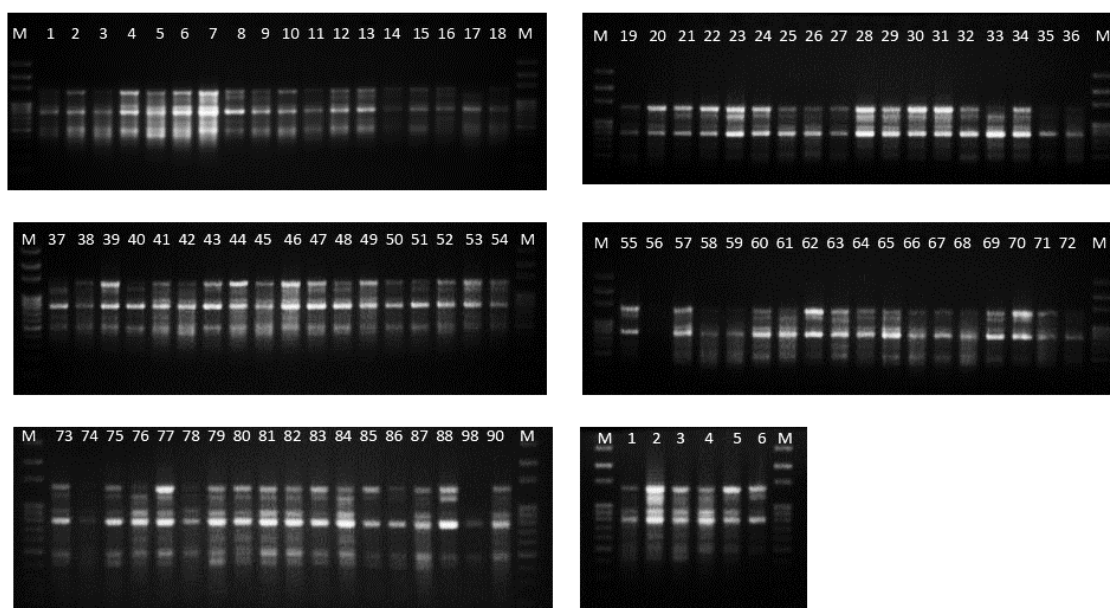
الشكل 2. هلامة الأغاروز 0.8% لتحديد جودة الـ DNA المستخلص من بعض عينات الماعز الشامي (M: مؤشر قياسي لتحديد أطوال حزم الحمض النووي DNA)

تطبيق تقنية التكرارات المترادفة البسيطة الداخلية (ISSR) على الماعز النوبي

تضمنت الدراسة اختبار 30 بادئ، 10 بادئات منها لم تعط نتائج، في حين اتضح بالنتائج فعالية 20 منها في إعطاء تعددية شكلية بين العينات المدروسة وذلك بوساطة التفاعل التسلسلي للبولىميراز الـ PCR، ونجم عن استخدام هذه البادئات ما مجموعه 102 حزمة بمتوسط 5.1 حزمة لكل بادئة، وبلغ عدد الحزم المتباينة شكلياً 98 حزمة بمتوسط 4.9 حزمة لكل بادئة حيث تراوح عدد الحزم لكل بادئ من 2 حزم كأقل عدد مع البادئة (P19)، و 10 حزم كأعلى عدد مع البادئ (P12)، وكانت النسبة المئوية للتعددية الشكلية 96.7% مع جميع البادئات المدروسة، حيث تراوحت النسبة المئوية للتعددية الشكلية 67% مع البادئتين (P11، P16) و 100% مع بقية البادئات المدروسة، كما في الجدول (2) والشكل (3). حُسب معامل التعددية الشكلية (PIC) لكل بادئة على حده حسب معادلة خاصة وباستخدام برنامج Ntsys، ويعد معامل التعددية الشكلية معيار يدل على قدرة وكفاءة البادئة في تمييز التباينات الوراثية وإظهارها بين العينات المختلفة، إذ كلما اقتربت قيمة PIC من (1) كانت المقدرة على تمييز التباينات الوراثية وإظهارها أكبر، ويمكن أن يعطي PIC قيمة (0) عندما يُظهر البادئة حزمة وحيدة ثابتة عند العينات كلها، لذلك يمكن اعتبار هذا البادئ ليس له أهمية في تمييز العينات المدروسة عن بعضها، حيث إنها لم تُظهر أي تعددية شكلية. تراوحت قيم معامل التعددية الشكلية (PIC) من 0.40 عند البادئة (ISSR-2) كأعلى قيمة، إلى 0.10 عند البادئة ISSR-12 كأقل قيمة، وبلغ المتوسط العام 0.28، مما يشير إلى قدرة البادئات المستخدمة على التمييز بين العينات المدروسة كما يوضح الجدول (2).

الجدول 2. عدد الحزم المتباينة - عدد الحزم المتباينة شكلياً - النسبة المئوية للتعددية الشكلية - قيمة معامل التعددية الشكلية للماعز النوبي

اسم البادئة	عدد الحزم الكلية	عدد الحزم المتباينة شكلياً	النسبة المئوية للتعددية الشكلية %	قيمة معامل التعددية الشكلية PIC
P1	7	7	100	0.32
P2	5	5	100	0.40
P3	5	5	100	0.41
P4	3	3	100	0.22
P5	3	3	100	0.46
P6	7	7	100	0.35
P7	7	7	100	0.30
P8	6	6	100	0.16
P9	4	4	100	0.27
P10	3	3	100	0.26
P11	6	4	67	0.12
P12	10	10	100	0.10
P13	4	4	100	0.21
P14	4	4	100	0.30
P15	4	4	100	0.42
P16	6	4	67	0.18
P17	5	5	100	0.36
P18	6	6	100	0.27
P19	2	2	100	0.32
P20	5	5	100	0.25
المجموع	102	98		
المتوسط	5.1	4.9	96.7	0.28

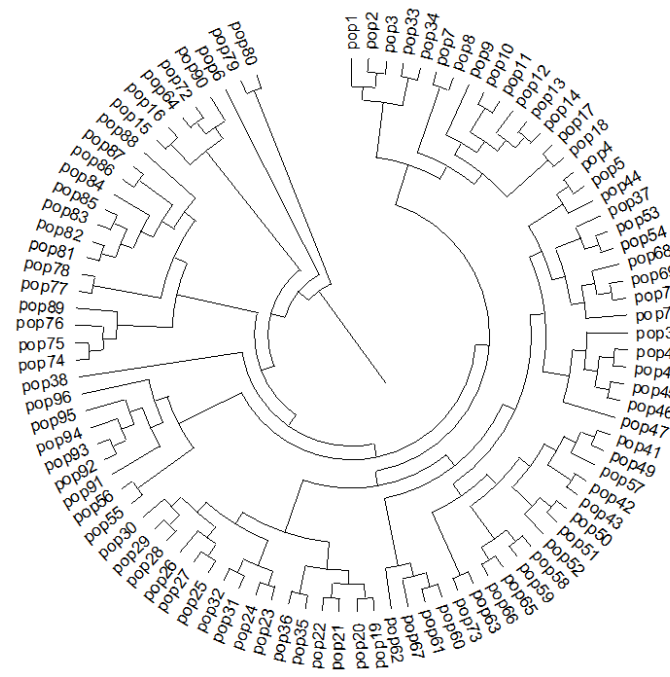


الشكل 3. التعددية الشكلية الناتجة عن استخدام البادئة (1) في العينات المدروسة من الماعز النوبي على هلامية الأغاروز 2%. (M): مؤشر قياسي لتحديد أطوال حزم الحمض النووي (DNA)

التحليل العنقودي للعينات المدروسة باستخدام تقنية ISSR

أجري التحليل العنقودي للنتائج التي جرى الحصول عليها باستخدام برنامج التحليل الاحصائي الحيوي Ntsys وجرى رسم شجرة القرابة الوراثية للأفراد المدروسة وتحديد درجة القرابة الوراثية فيما بينها، وقد لوحظ من الشجرة أن الأفراد المدروسة انفصلت إلى مجموعات تعكس درجة القرابة الوراثية. حيث من المعروف عادة تتجمع العينات ضمن مجموعة واحدة بناءً على موطنها الأصلي، أو بناءً على أصلها ونسبها.

انفصلت الأفراد المدروسة إلى عدة عناوين تبعاً لتقنية ISSR وذلك حسب مؤشرات مختلفة كموقع وجودها الجغرافي، وجنسها حيث انفصلت الأفراد وراثياً وتميزت بين ذكور وإناث. وأشارت النتائج أن الماعز النوبي متماثل وراثياً بنسبة تتراوح بين 68-95% ضمن القطيع، أي أن القطيع يعد نقي ولم يحدث فيه خلط يذكر من سلالات أخرى (الشكل 4).



الشكل 4. شجرة القرابة الوراثية لعدد 96 عينة من الماعز النوبي

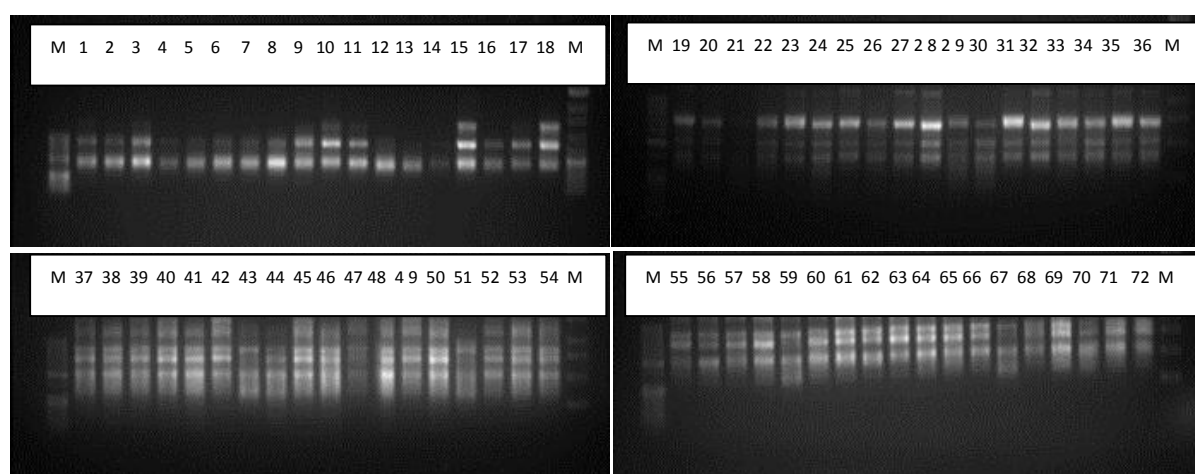
تطبيق تقنية التكررات الترادفية البسيطة الداخلية (ISSR) على الماعز الشامي

طبقت تقنية ISSR على عينات الماعز الشامي حيث استخدمت البادئات نفسها السابقة (الجدول 1) التي استخدمت مع عينات الماعز النوبي وبالشروط نفسها. فتضمنت الدراسة اختبار 30 بادئة، 10 بادئات منها لم تعط نتائج، في حين أكدت النتائج فعالية 20 بادئة منها في توضيح التعددية الشكلية بين العينات المدروسة الممثلة للأفراد موضوع الدراسة وذلك بوساطة التفاعل التسلسلي للبولىميراز، ونجم عن استخدام هذه البادئات ما مجموعه 90 حزمة بمتوسط 4.5 حزمة لكل بادئة، وبلغ عدد الحزم المتباينة شكلياً 83 حزمة بمتوسط 4.15 حزمة لكل بادئة حيث تراوح عدد الحزم لكل بادئة من 2 حزم كأقل عدد مع البادئات (P9، P4)، و12 حزمة كأعلى عدد مع البادئة (P12)، وكانت النسبة المئوية للتعددية الشكلية 91.1% مع جميع البادئات المدروسة حيث تراوحت النسبة المئوية للتعددية الشكلية 50% مع البادئة (P4) و100% مع أغلب البادئات المدروسة

كما في الجدول (3). تراوحت قيم معامل التعددية الشكلية (PIC) من 0.08 عند البادئة (P10) كأقل قيمة، إلى 0.36 عند البادئة (P19) كأعلى قيمة، وبلغ المتوسط العام 0.24، مما يشير إلى قدرة البادئات المستخدمة على التمييز بين العينات المدروسة ونسبة أقل مما عليه بالمعز النوبي (الجدول 3).

الجدول 3. عدد الحزم المتباينة - عدد الحزم المتباينة شكلياً - النسبة المئوية للتعددية الشكلية - قيمة معامل التعددية الشكلية في المعز الشامي

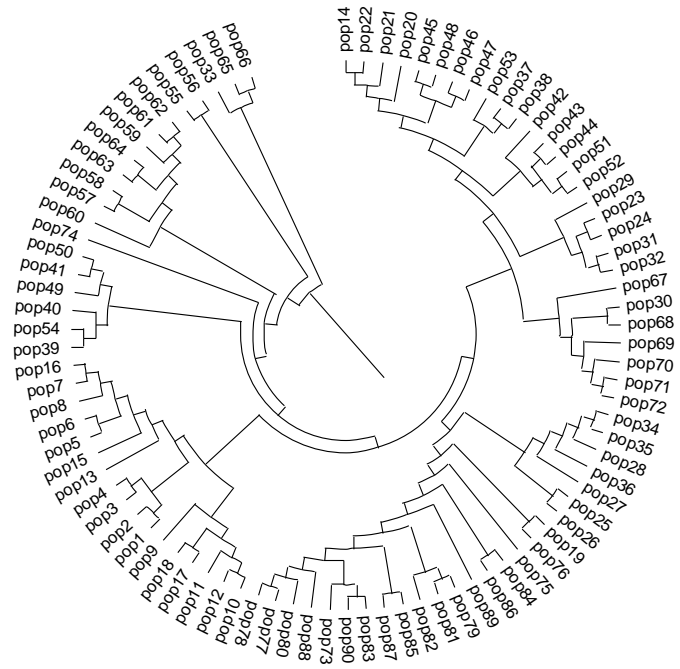
اسم البادئة	عدد الحزم الكلية	عدد الحزم المتباينة شكلياً	النسبة المئوية للتعددية الشكلية %	قيمة معامل التعددية الشكلية PIC
P1	3	3	100	0.34
P2	3	3	100	0.24
P3	3	3	100	0.43
P4	2	1	50	0.19
P5	5	5	100	0.34
P6	7	7	100	0.32
P7	6	6	100	0.15
P8	5	4	80	0.15
P9	2	2	100	0.29
P10	3	3	100	0.08
P11	5	5	100	0.25
P12	4	4	100	0.13
P13	4	3	75	0.20
P14	4	3	75	0.19
P15	3	3	100	0.22
P16	3	3	100	0.21
P17	6	4	67	0.14
P18	6	6	100	0.34
P19	4	3	75	0.36
P20	12	12	100	0.22
المجموع	90	83		
المتوسط	4.5	4.15	91.1	0.24



الشكل 5. هلامة الأغاروز 2% لملاحظة التعددية الشكلية الناتجة عن استخدام البادئة (5) في العينات المدروسة من المعز الشامي، (M: مؤشر قياسي لتحديد أطوال حزم الحمض النووي DNA)

التحليل العنقودي للعينات المدروسة من الماعز الشامي باستخدام تقنية ISSR

تمايزت العينات المدروسة وانفصلت إلى عناقيد تبعا لنتائج تقنية ISSR كما أمكن تمييز الذكور عن الإناث. وأشارت معطيات الشجرة الوراثية إلى أن الماعز الشامي متمائل وراثيًا بنسبة تتراوح بين 70-90%، أي أن القطيع نقي ولم يتعرض للخلط الوراثي الملحوظ، ويعود ذلك إلى أن جميع العينات جمعت من محطة إزراع ويطبق عليها برنامج التربية الداخلية منذ فترة طويلة (الشكل 6).



الشكل 6. شجرة القرابة الوراثية لعدد 90 عينة من الماعز الشامي

دراسة درجة القرابة الوراثية بين الماعز الشامي والنوبي

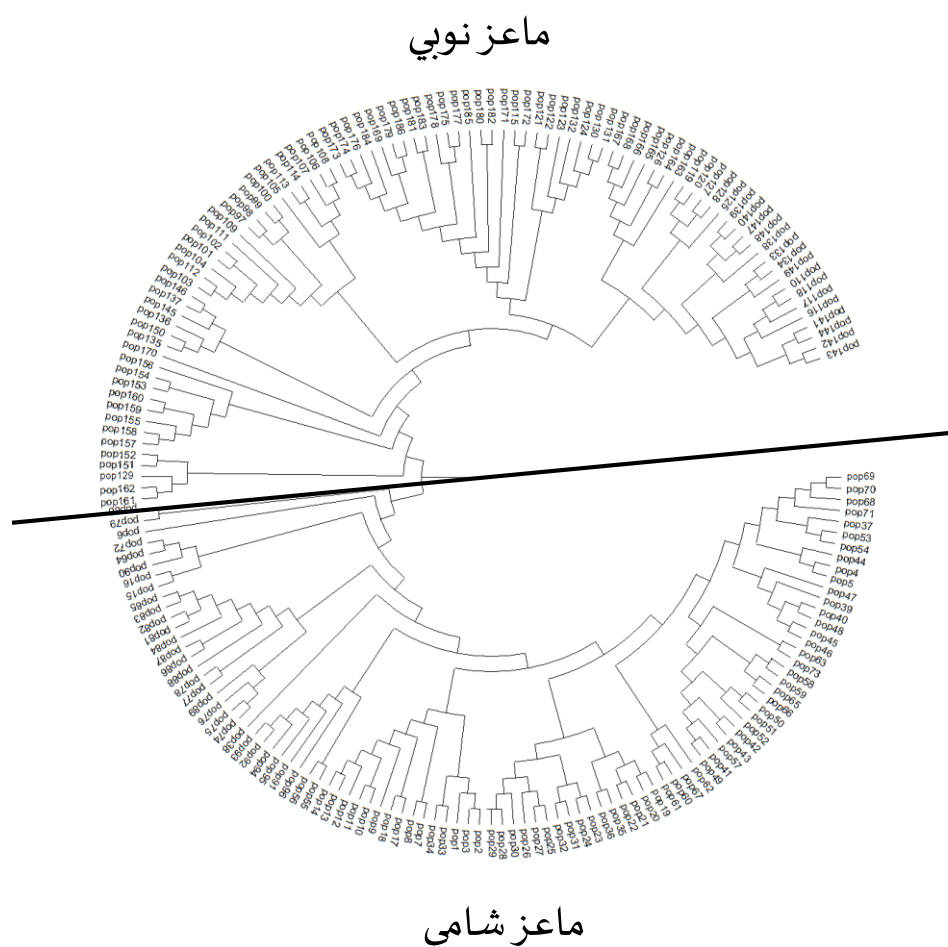
طبقت تقنية التكررات المترادفة البسيطة الداخلية (ISSR) Inter Simple Sequence Repeat للماعز النوبي والشامي معًا بحيث تضمنت الدراسة اختبار 30 بادئة، 10 بادئات منها لم تعط نتائج، في حين أثبتت 20 بادئة منها فعاليتها في إعطاء تعددية شكلية بين العينات المدروسة وذلك بواسطة التفاعل التسلسلي للبولىميراز، وبالنتيجة حصلنا على 112 حزمة بمتوسط 5.6 حزمة لكل بادئة، وبلغ عدد الحزم المتباينة شكلياً 112 حزمة بمتوسط 5.6 حزمة لكل بادئة حيث تراوح عدد الحزم لكل بادئة من 2 حزم كأقل عدد مع البادئات (P4، P9)، و12 حزمة كأعلى عدد مع البادئة (P12)، وكانت النسبة المئوية للتعددية الشكلية 91.1% مع جميع البادئات المدروسة حيث تراوحت النسبة المئوية للتعددية الشكلية 100% مع جميع البادئات المدروسة كما في الجدول (4) والشكل (7). تراوحت قيم معامل التعددية الشكلية (PIC) من 0.08 مع البادئة (P10) كأقل قيمة، إلى 0.36 مع البادئة (P19) كأعلى قيمة، وبلغ المتوسط العام 0.331، مما يشير إلى قدرة البادئات المستخدمة على التمييز بين العينات المدروسة (الجدول 4).

الجدول 4. عدد الحزم المتباينة - عدد الحزم المتباينة شكلياً - النسبة المئوية للتعددية الشكلية - قيمة معامل التعددية الشكلية في الماعز الشامي

اسم البادئة	عدد الحزم الكلية	عدد الحزم المتباينة شكلياً	النسبة المئوية للتعددية الشكلية %	قيمة معامل التعددية الشكلية PIC
P1	7	7	100	0.43
P2	5	5	100	0.35
P3	5	5	100	0.36
P4	3	3	100	0.34
P5	3	3	100	0.34
P6	7	7	100	0.42
P7	7	7	100	0.26
P8	6	6	100	0.15
P9	4	4	100	0.41
P10	3	3	100	0.40
P11	6	6	100	0.42
P12	10	10	100	0.16
P13	4	4	100	0.23
P14	4	4	100	0.37
P15	4	4	100	0.37
P16	6	6	100	0.30
P17	6	6	100	0.26
P18	6	6	100	0.31
P19	4	4	100	0.37
P20	12	12	100	0.17
المجموع	112	112		4.64
المتوسط	5.6	5.6	100	0.331

نتائج التحليل العنقودي للعينات المدروسة باستخدام تقنية ISSR لكلا القطيعين النوبي والشامي

- انفصل كل قطيع على حده في شجرة القرابة الوراثية تماماً، حيث بلغت نسبة البعد الوراثي بين القطيعين 67%، وهذا ينفي فرضية أن سلالة الماعز الشامي تنحدر من الماعز النوبي أو العكس.
- تضمنت العينات الخاصة بالماعز النوبي عينتين هجين بين الماعز النوبي والماعز الشامي (جيل ثاني F2) إلا أنها من خلال نتائج شجرة القرابة الوراثية انفصلت مع عينات الماعز النوبي وكانت بعيدة كل البعد عن الماعز الشامي (الشكل 7).
- توثيق البيانات الوراثية للماعز النوبي والشامي (البصمة الوراثية) في قاعدة البيانات الوراثية الخاصة بأكساد ACSAD Biotechnology Database، حيث يمكن الاستفادة منها في مجالات عديدة مستقبلاً مثل اختبارات كشف نقاوة السلالات المجهولة من الماعز، ووضع أسس مهمة يُعتمد عليها في برامج التربية والتحسين الوراثي.



الشكل 7. شجرة القرابة الوراثية للماعز النوبي والشامي حسب تقنية ISSR

المراجع

- Bünger L. 2008. New technologies in sheep breeding from molecular genetic tools to computed tomography and video image analysis, Conference on The Animal Wealth in Syria Current Status and prospects for Future Development, 17-20 November, Aleppo, Syria.
- Devendra, C. and McLeroy, G.B. 1982. Goat and Sheep Production in the Tropics. Longman, Harlow, Essex, UK.
- Diez-Tascon C., Littlejohn R.P., Almeida P.A.R., Crawford A.M. 2000. Genetic Variation within the Merino sheep breed: analysis of closely related populations using microsatellites, Animal Genetics, Vol. (31), pp.243-251.
- Erhardt G., Weimann C. 2007. Use of molecular markers for evaluation of genetic diversity and in animal production, Arch. Latinoam. Prod. Anim, vol. 15(1) 63-66.

- Hall, S.J.G. and Ruane, J. 1993. Livestock breeds and their conservation. global review. *Conserv. Biol.* 7 (4), 815 - 825.
- Feral J.P. 2002. How useful are the genetic markers in attempts to understand and manage marine biodiversity, *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 268:121-145.
- Moazami-Goudarzi K., Laloë D., Furet J.P., Grosclaude F.1997. Analysis of genetic relationships between 10 cattle breeds with 17 microsatellites. *Animal Genetics* 28:338-345.
- Secretariat of the Convention on Biological Diversity (Ed.). 2001. *Handbook of The Convention on Biological Diversity*. London and Sterling, UK and USA, 690 pp.
- Simianer H., (2005). Use of molecular markers and other information for sampling germplasm to create an animal gene bank, *The Role of Biotechnology*, pp: 37-42, 5-7 March, Villa Gualino, Turin, Italy.
- Zietkiewicz E, Rafalski A, Labuda D. 1994. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics* 20: 176-183.

N° Ref: 1167