تأثير طرز جين المايوستاتين (Myostatin) على بعض الصفات الكيمياحيوية للدم في فروج اللحم

عدنان حسين محمد إسماعيل حبيب اسماعيل
كلية الزراعة / جامعة بغداد
adnanjaborea@yahoo.com

تاريخ استلام البحث : 2016/4/18 تاريخ قبول النشر : 2016/6/5

الخلاصة

أجريت هذه الدراسة في حقل الطيور الداجنة التابع لكلية الزراعة / جامعة القادسية للمدة من 9/ 4/ 2015 الى 2015/5/20 فضلاً عن أجراء التحاليل الوراثية (الجزء المختبري) في مختبرات كلية الزراعة/جامعة بغداد و شركة جسر المسيب من 2015/6/4 لغاية 2016/1/5 بهدف فصل المادة الوراثية وتحديد علاقة التراكيب الوراثية لجين الميوستاتين (Myostatin) مع بعض الصفات الكيمياحيوية لفروج اللحم نوع روز 308 وكانت اعداد الطيور مرباة 300 طيراً والتي ربيت من 1 يوم الاول لغاية الأسبوع السادس، و استخدمت ثلاثة أنواع من الانزيمات القاطعة.
Aci I (Arthrobacter citreus) و*BbvI (Bacillus brevis)* و *BbsI (Bacillus brevis)* في الهضم القطعة المضخمة لتحديد التراكيب الوراثية، باستخدام تقنية تعدد المظاهر لأطوال القطع مقيدة الطول(RFLPs).

ويمكن تلخيص نتائج الدراسة الحالية بما يلي:

التراكيب الوراثية لجين الميوستاتين (Myostatin) الناتجة من استخدام الانزيم القاطع Aci I، وكانت هي GG وGA وAA على التوالي، حيث كان تأثيرها التراكيب الوراثية في الصفات الكيمياحيوية للدم غير معنوي عند عمر 21 و42 يوماً في جميع الصفات الكيمياحيوية ماعدا الالبومين عند عمر 21 يوماً فقد كان تأثيره عالي المعنوية ($P<0.01$).

كما اشارت النتائج الى ان التراكيب الوراثية لجين الميوستاتين (Myostatin) والناتجة من استخدام الانزيم القاطع Bbs I كانت CC وCT وTTعلى التوالي، والتراكيب الوراثية لجين الميوستاتين (Myostatin) الناتجة من استخدام الانزيم القاطع Bbv I في العينة المدروسة كانت AA وGAعلى التوالي، وكان تأثيرها غير معنوي في الصفات الكيمياحيوية للدم عند عمر 21 و42 يوماً.

الكلمات المفتاحية: الميوستاتين ، الانزيمات القاطعة، الصفات الكيمياحيوية ، تعدد المظاهر لأطوال القطع مقيدة الطول

المقدمة

أحدثت البايلوجيا الجزيئة والإحصاء ثورة في مجال الوراثة الجزيئية ولاسيما في تحديد الجينات التي تؤثر في الصفات المتنوعة والتي من الممكن ان تساعد في الانتخاب من خلال استخدامها كواسمات وراثية في البرامج الانتخابية، إذ سمحت التقانات الجزيئية بالكشف عن وجود تباين او تعدد للمظاهر الوراثية بين الافراد في القطيع وفي قطع محددة من الـ DNA(Nandedkar واخرون، 2014).

وأصبح الانتخاب على أساس التراكيب الجينية أداة مهمة في عملية التحسين الوراثي (Sabir واخرون ، 2014).

يعطي الاعتماد على الوراثة الجزيئية نتائج أفضل من الاعتماد على المظهر الخارجي في البرامج الانتخابية لعدة أسباب منها ان التركيب الوراثي لا يتأثر بالعوامل البيئية في حين يتأثر المظهر الخارجي بتغير البيئة ويمكن الانتخاب المبكر اعتماداً على المعلومات الوراثة الجزيئية، فضلاً عن إمكانية الحصول على جميع المعلومات الخاصة بالصفات المنتخبة لها والصفات المحددة بالجنس (Stella واخرون، 2007).

ومن بين اهم الجينات التي لها تأثير في النمو وبعض الصفات الانتاجية هو جين Myostatin لما له من دور في تنظيم نمو العضلات وتحديد كتلة الجسم وان علاقة هذا الجين مع وزن الجسم اعلى من علاقة مع الصفات النوعية اللحم (Saxena واخرون، 2009). ان الاشكال

المتعددة لجين Myostatin لها عدة تأثيرات في الصفات الإنتاجية كوزن الجسم وزيادة نسبة التصافي وهذه ناتجة عن زيادة كمية اللحم المنتج على حساب العظام لذلك أولي هذا الجين أهمية كبيرة في الدراسات والبحوث العلمية (Chandan واخرون ،2014).

جين Myostatin يطلق عليه عامل النمو التخصصي Growth differentiation factor 8) الذي يكتب اختصاراً (GDF-8) و يكتب احياناً **(MSTN)**، حجم الجين Myostatin 8 كليو بايت(kb) (Saxena واخرون ،2005) ، يقع هذا الجين على الكرموسوم 7على الذراع الصغير7P11 في الدجاج (Sazanov واخرون، 1999) و يتألف جين MSTN في الدجاج من ثلاثة اكسونات (exons) انترونين (introns) وان كل من الاكسون الاول يتألف من 373 bp و الاكسون الثاني يتألف من 374 bp و الاكسون الثالث يتألف من 1567 bp والانترونين يتألفان من 2000 bp (Baron واخرون،2002)، وكذلك يتألف الجين Myostatin في الحيوانات الزراعية المختلفة والتي تشمل الابقار والاغنام والخنازير والماعز من ثلاثة اكسونات واثنين من الانترونات (McPherron واخرون ،1997 و Bellinge واخرون ،2005). ان حدوث أي طفرة وراثية في التسلسل الجيني للجين تفقد الجين القدرة على أداء وظائفه الحيوية ويؤدي الى حدوث زيادة مفرطة في كتلة العضلات الهيكلية في معظم انواع الثدييات (Miao واخرون، 2015).

ينتج البروتين جين Myostatin في العضلات الهيكلية بشكل رئيسي ويتألف من 376 حامضاً امينياً في الدجاج والديك الرومي والاغنام والابقار والخنازير بينما يتألف من 375 حامضاً امينياً في الانسان (McPherron واخرون، 1997). يفرز طبيعياً في الجسم ويعمل مع عدد من عوامل النمو الأخرى على تنظيم نمو العضلات ضمن الحدود الطبيعية ولا يسمح لها بالنمو خارج الحدود الطبيعة لحجم العضلة وينظم عدد الياف العضلية وحجمها في العضلة وله تأثير على نمو الهيكل العظمي. ان التعبير الجيني لجين Myostatin لا يقتصر على العضلات الهيكلية (Han واخرون ،2010)، فقط انما يشمل انسجة الدماغ وعضلة القلب والالياف العصبية في القلب والغدة اللبنية وبعض العضلات البيضاء اذ يؤدي دوراً في نمو هذه الأعضاء (Kerr واخرون ،2005). ونلاحظ زيادة في معدل افرازه (Myostatin) مع تقدم العمر ومن ثم حصول الهدم في العضلات الهيكلية في الاعمار المتقدمة، يعد Myostatin عضواً من الأعضاء (عامل النمو وتمايز بيتا) Transforming growth factor-beta (TGF-β)وهي سايتوكينات متعددة الوظائف تسيطر على النمو والتمايز الخلوي (Piek واخرون ،1999). في تشكيلة واسعة في الانسجة. يؤدي الجين Myostatin دوراً في نمو الانسجة العضلية الجنينية والتمايز الخلوي وافراز الهرمونات ذات الوظيفة المناعية يتم إفرازه بشكل dimer (جزيئتين متشابهتين مرتبطين معاً) او يرتبط dimer مع المستقبلات موجودة على سطح الخلية العضلية ويعمل تحديد و تنظم الانقسام الخلوي للخلية العضلية ضمن الحدود الطبيعة علماً ان التعبير الجيني لجين Myostatin يكون عالياً في الانسجة العضلية، واكتشف هذا الجين اول مرة في الفئران (Marchitelli واخرون، 2003) اذ لوحظت زيادة في كتلة العضلات بمقدار ضعفين حيث يكون وزنها حوالي 2-3 مرات أكبر من النوع البري الذي لا يحتوي على طفرة وانخفاض نسبة الدهن. من اجل مواكبة التطورات في مجال الوراثة الجزيئية تم اختيار طفرة وراثية محددة في عام 2007 وربطها مع بعض الصفات الفسلجية لأول مرة في العالم وكشف عن إمكانية استخدامها كواسمات في البرامج الانتخابية في قطعان الأصول لفروج اللحم ، علماً انه لم نحصل على دراسات سابقة حول علاقة هذا الجين مع الصفات الكمياحيوية للدم.

المواد و طرائق العمل

استخدمت في هذه الدراسة 300 فرخاً من فروج اللحم نوع روز (Ross – 308) غير مجنسة وبعمر يوم واحد والتي تم الحصول عليها من أحد مفاقس القطاع التجاري، ربيت الأفراخ في الاكنان(pens) وفق نظام التربية الأرضية قسمت القاعة إلى 10 اكنان بحواجز سلكية مشبكة ذات قياسات 2×3 متر وتم فرش الاكنان (pens) بفرشة من نشارة الخشب بسمك 5 سم

وكانت مدة التربية 42 يوماً. جمعت نماذج الدم من الوريد الجناحي للطيور بوساطة ابره طبية بعد تعقيم المنطقة التي جمع منها الدم وضع الدم في نوعين من الأنابيب الأولى حاوية على مادة EDTA (مانع التخثر) بعد تثبيت رقم الطائر والثانية لا تحتوي على مانع التخثر ولقد جمعت نماذج الدم عند عمر 21 يوماً وعمر42 يوماً من التربية، ثم وضعت النماذج في مجروش الثلج تم فصل المصل بوساطة جهاز الطرد المركزي تحت سرعة 3000 دورة / دقيقة لمدة 15 دقيقة، ونقلت في صندوق مبرد وحفظ كل من مصل الدم والدم الكامل تحت درجة -20°م لحين للإجراء الفحوصات الكيمياحيوية وقت الاستخلاص .

تم استخلاص DNA من الدم حسب تعليمات العدة التشخيصية (Kit) المجهزة من شركة Geneaid الكورية، وبعد استخلاص الـ DNA اعتمدت طريقة Sambrook وزملاؤه (1989) للتأكد من وجود إلـ DNA المستخلص من الدم. تم ترحيل العينات على طاقة كهربائية مقدارها (70فولت) وبتيار مقداره 40 ملي أمبير لمدة ساعة، يغطى الهلام بمحلول يحوي صبغة الاثيديوم برومايد تم اضافتها بنسبة 5 مايكروليتر الى 100 مل من بمحلول منظم الترحيل 1X TBE. استخدم جهاز مطياف الأشعة فوق البنفسجية (UV light transillminator) لغرض مشاهدة حزم الـ DNA، صورت باستخدام جهاز التوثيق الفوتوعرافي (Photo documentation system).

جُهزت البوادئ من شركة IDT (Integrated DNA Technologies) كمسحوق مجفف (Lyophilized product) كما موضح في جدول(1)، تم تحضير محلول الخزين Stock (solution) ومحـلول العمل (Working solution) بحسب تعليمات الشركة المنتجة للحصول على التركيز النهائي لمحلول العمل والذي هو 4 Picomols/ µl.

جدول(1) البادئات الخاصة لجين(Myostatin (GDF-8

اسم الجين	التسلسل		
Myostatin (GDF 8)	**EXON 1**	**F : 5'- TGGCATATATAAGGCACACCA-3'**	**حجم القطعة مضعفة 606 bp**
		R : 5' - GGGAGAGCCTGAGAAGGAGT-3'	

وضعت العينات في جهاز تفاعل البلمرة وحسب ظروف التفاعل الخاصة بالقطعة جينية متضاعفة المواد المستخدمة في تفاعل البلمرة المتسلسل للقطعة المستهدفة من لجينMyostatin

الجدول (2): المواد المستخدمة في تفاعل البلمرة المتسلسل للقطعة المستهدفة من لجينMyostatin

Component	Reaction size 20 reaction
PCR pre Mix(Bioneer)(Ready-to use) :Taq DNA polymerase, Each ,dNTPs tris-HCI (PH 9.o), Mgcl2 .KCI	One tube
Template DNA	5 µL
Primers	F 1 µL R 1 µL
DNase Free Water	13 µL

وكان البرنامج المستخدم في الكشف الجزيئي باستخدام تقنية الـــPCR يتمثل بمرحلة المسخ الأولى لمدة 5 دقائق على درجة 94 م والمسخ لمدة 45 ثانية على درجة 94 م والالتحام لمدة 45 ثانية 56 م والاستطالة لمدة 45 ثانية 72 م الـــ 30 دورة ومن ثم مرحلة الاستطالة النهائية

لمدة 10 دقائق على درجة 72 م. وبعد انهاء التفاعل تم ترحيل ناتج تفاعل البلمرة للتأكد من تضاعف القطعة المطلوبة.

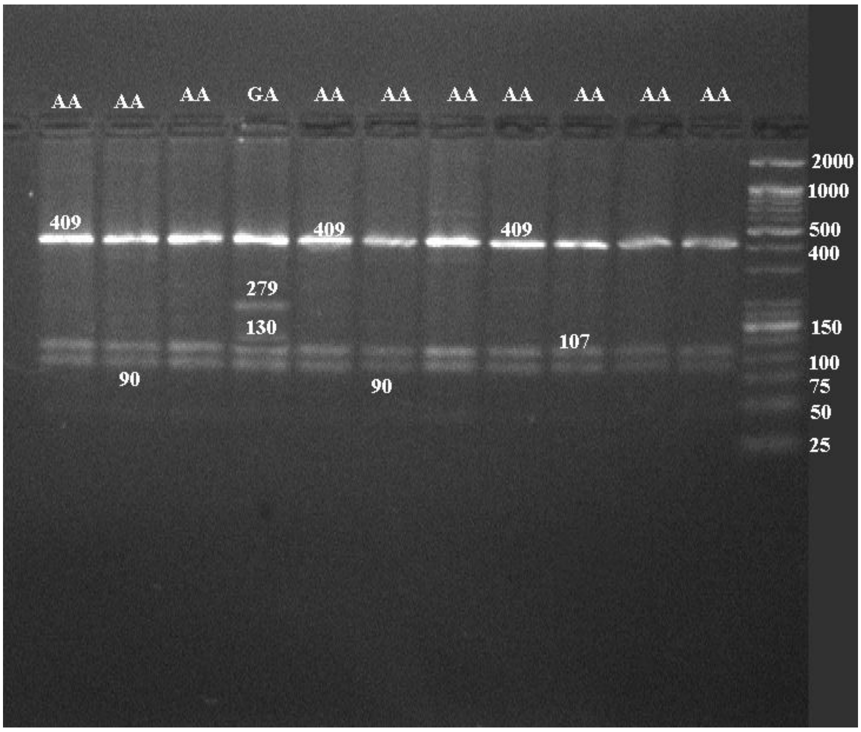
بعد انتهاء تفاعل البلمرة يتم الكشف عن وجود الطفرة من عدم وجودها عن طريق استعمال الأنزيمات القاطعة (Aci I و Bbv I و Bbs I) من قبل شركه Biolabs وبتركيز 10000 وحده لكل مول وحسب الجدول (3) ويحضن مزيج التفاعل في درجة حرارة 37 درجة مئوية ولمدة 4 ساعات لكل انزيم على انفراد وخلالها يتعرف الانزيم على موقع معين ضمن القطعة المتضاعفة وتقطع بالإنزيم القاطع ويتم اجراء الترحيل الكهربائي للعينات المقطوعة للكشف عن مواقع القطع وبهذه التقنية يتم التعرف على التعدد المظهري للمنطقة الجينية المضاعفة من الجين **GDF- 8** .

جدول(3) مكونات التفاعل (PCR) لجين Myostatin (GDF-8)

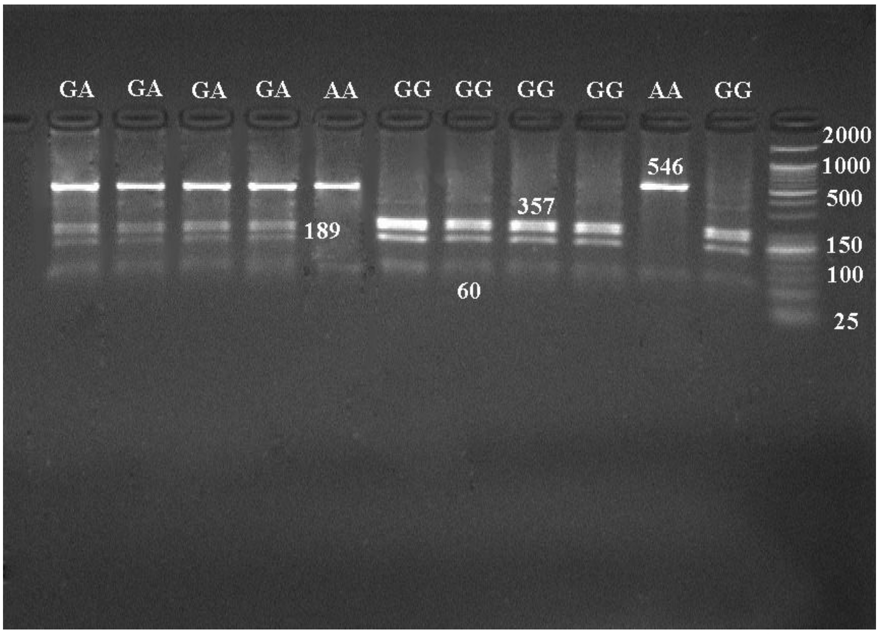
Component	Reaction size 10 reaction
* احد الانزيمات (10000 units\ml)	0. 5µl
Product PCR	5 µl
1X NEBuffer 4	1.5 µl
DNase Free Water	3 µl

النتائج والمناقشة

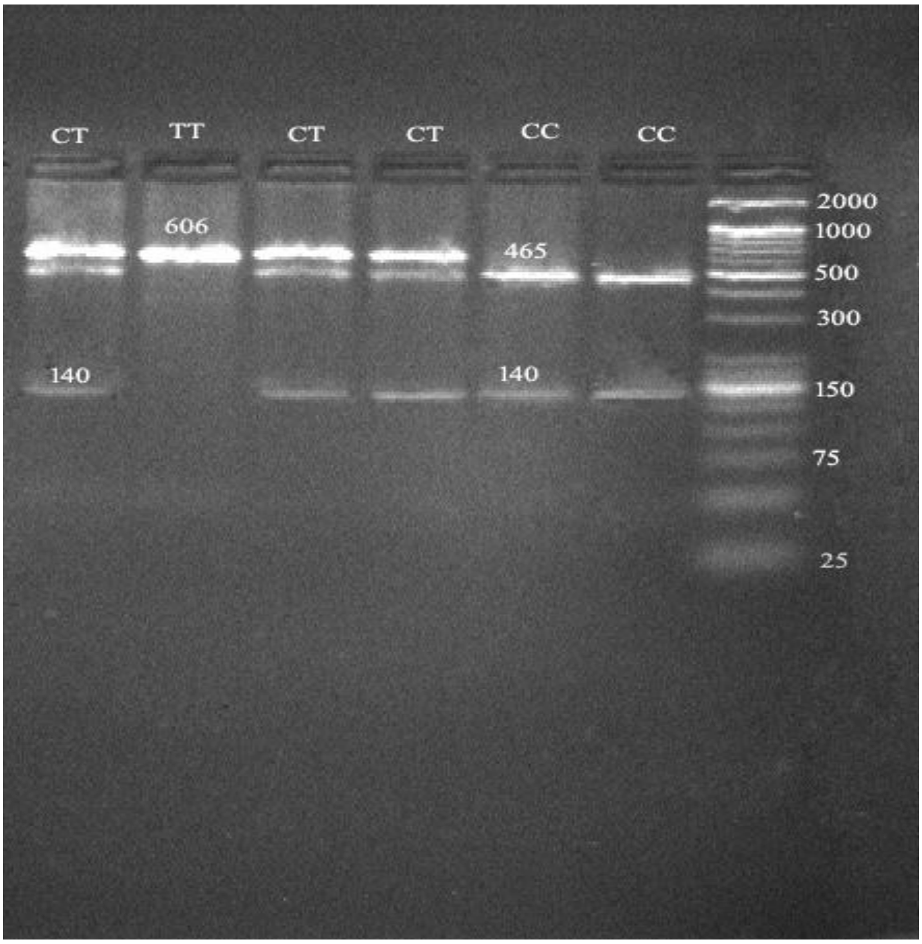
تم تحديد التركيب الوراثي (لطيور التجربة) لجينMyostatin باستخدام تقانة RFLP وانزيمات التقييد الاتية Aci I وBbv I و Bbs I وترحيل µL5 في هلام الاكروز % 2.5 وضبط الفولتية على V 70 وبتيار 40 ملي امبير لمدة ساعة وتصوير ناتج الترحيل للتعرف على توزيع التراكيب الوراثية ضمن حيوانات البحث وتم استخدام قطع DNA معلومة الحجوم (2000-25 Marker).



شكل (1) نواتج هضم جين Myostatin باستخدام انزيم Bbv I



شكل (2) نواتج هضم جين Myostatin باستخدام انزيم Aci1



شكل (3) نواتج هضم جين Myostatin باستخدام انزيم Bbs I

تأثير الاشكال المتعددة لجين Myostatin على الصفات الكيمياحيوية للدم عند عمر 21 يوماً .

تأثير الاشكال المتعددة لجين Myostatin الناتجة من الهضم بوساطة الانزيم Aci I.

من متابعة علاقة الاثر المتعدد لجين Myostatin مع الصفات الكيمياحيوية خلال الأسبوع الثالث للتربية يتضح ان غالبيتها غير معنوية (الجدول 4)، اذ تشير النتائج المتحصل عليها من الدراسة الحالية عدم وجود فروق معنوية في معدل البروتين الكلي باختلاف التركيب الوراثي لجين Myostatin، اذ كانت الافراد ذات التركيب الوراثي AA اعلى في معدل البروتين الكلي، اذ بلغ معدل البروتين الكلي 3.89 غراماً ثم تلاه الأفراد الحاملين التركيب الوراثي GG اذ بلغ معدل البروتين 3.64 (g/ dl) ومن ثم تلاه التركيب GA اذ بلغ معدل البروتين 3.63 (g/ dl) . اظهرت نتائج الدراسة الحالية تبايناً عالي المعنوية ($P\leq0.01$) في معدل الالبومين باختلاف التركيب الوراثي، اذ تفوق التركيبان الوراثيان AA وGG في معدل الالبومين على الافراد ذات التركيب الوراثي GA، اذ بلغ معدل الالبومين في التركيب AA 1.81 (g/ dl) متقدمة بفارق قليل عن مثيلاتها بالتركيب GG 1.76 (g/ dl)، بينما جاءت الافراد ذات التركيب الوراثي GA بأدنى معدل الالبومين وبواقع 1.56 (g/ dl) (الجدول 4). لم تكن هنالك فروق معنوية بين الافراد ذات التراكيب الوراثية المختلفة لجين Myostatin في معدل الكلوبيولين إذ بلغت معدلتها 2.14 و2.21 و2.09 (g/ dl) لكل من التراكيب الوراثية AA وGA وGG على التوالي. تركيز حامض اليوريك لم يتأثر معنويا باختلاف التركيب الوراثي لجينMyostatin،إذ بلغ تركيزها 5.39 و4.97 و 4.96 (mg/ dl) لكل من التراكيب الوراثية AA وGA وGG على التوالي. لم تكن هنالك فروق معنوية بين الافراد ذات التراكيب الوراثية المختلفة لجين Myostatin في تركيز الكرياتين إذ بلغت تركيزها 0.98 و0.87 و0.91 (mg/ dl) لكل من التراكيب الوراثية AA وGA وGG وعلى التوالي.

تأثير الاشكال المتعددة لجين Myostatin متوالدة من الهضم بوساطة الانزيم Bbs I

يتبين من الجدول (4) ان معدل البروتين الكلي لم يتأثر معنويا باختلاف التركيب الوراثي لجين Myostatin، إذ بلغ معدل البروتين الكلي اقصاه لدى الافراد ذوي التركيب الوراثيCT ، ولقد كان معدل البروتين الكلي 3.75 (g/ dl) في حين كان معدل البروتين الكلي في التركيب الوراثي TT أقل من ذلك اذ بلغ معدل البروتين 3.61 (g/ dl) ومن ثم التركيب الوراثي CC ولقد كان معدل البروتين الكلي 3.45 (g/ dl) ، لم تكن هنالك فروق معنوية بين الافراد ذات التراكيب الوراثية المختلفة لجين Myostatin في الالبومين، إذ بلغ معدل الالبومين 1.58 و1.66 و1.68(g/ dl) لكل من التراكيب الوراثية CC وCT وTT على التوالي، معدل الكلوبيولين لم يتأثر بشكل معنوي باختلاف التركيب الوراثي لجينMyostatin ، اذ بلغت 1.87 و2.16 و2.23 (g/ dl) لكل من التراكيب الوراثية CC وCT وTT على التوالي. فيما يخص تركيز حامض اليوريك تشير نتائج المتحصل عليها عدم وجود فروق معنوية في تركيز حامض اليوريك باختلاف التراكيب الوراثية لجين Myostatin، اذ بلغ تركيزها 4.56 و5.09 و5.06 (mg/ dl) لكل من التراكيب الوراثية CC وCT وTT على التوالي، لم تكن هنالك فروق معنوية بين الافراد ذات التراكيب الوراثية المختلفة لجين Myostatin تركيز الكرياتين إذ بلغت تركيزها 1.01 و0.83 و1.00 (mg/ dl) لكل من التراكيب الوراثية CC وCT وTT على التوالي.

تأثير الاشكال المتعددة لجين Myostatin متوالدة من الهضم بوساطة الانزيم Bbv1

اظهرت نتائج الدراسة الحالية الجدول (4) أن الاثر المتعدد لجين Myostatin في معدل البروتين الكلي لم يكن هنالك فروق معنوية باختلاف التركيب الوراثي لجين Myostatin، إذ بلغت النسبة اقصاه لدى الافراد ذوي التركيب الوراثي AA ولقد بلغت 3.67 (g/ dl) في حين كان معدل البروتين الكلي للتركيب الوراثي GA أقل من ذلك 3.60 (g/ dl) . اما الألبومين فلم تظهر فيها فروق معنوية باختلاف التركيب الوراثي لجين Myostatin، إذ بلغ

معدلاتها 1.66 و1.50 (g/ dl) للتراكيب الوراثية AA وGA على التوالي، معدل الكلوبيولين لم يتأثر معنويا باختلاف التركيب الوراثي لجين Myostatin، إذ بلغ معدلاتها 2.16 و2.09(g/ dl) للتراكيب الوراثية AA وGA على التوالي. فيما يخص تركيز حامض اليوريك لم يكن هنالك فروق معنوية باختلاف التركيب الوراثي لجين Myostatin، إذ بلغت النسبة اقصاه لدى الافراد ذوي التركيب الوراثي AA 5.05 (mg/ dl) في حين كان تركيز حامض اليوريك للتركيب الوراثي GA أقل من ذلك 4.73 (mg/ dl) . الكرياتين لم يتأثر بشكل معنوي باختلاف التركيب الوراثي لجين Myostatin، اذ بلغ معدلاتها 0.90 و0.86 (mg/ dl)لكل من التراكيب الوراثية. ويستنتج من ذلك أن الجين Myostatin هو جين متخصص يعمل على الانسجة العضلية دون تأثير واضح على الانسجة وأجزاء الجسم الأخرى لذلك كانت تأثيره ضئيلة او شبه معدوم على صفات الكيمياحيوية للدم وكانت الاشكال المتعددة لها تأثير كبير على نمو الانسجة عضلية في الدراسات السابقة.

جدول(4) تأثير الاشكال المتعددة لجين Myostatin على الصفات الكيمياحيوية للدم في عمر21 يوماً

الانزيمات		المتوسطات ± الخطاء القياسي				
	التركيب الوراثي	البروتين الكلي (g/ dl)	الألبومين (g/ dl)	الكلوبيولين (g/ dl)	حامض اليوريك (mg/ dl)	الكرياتين (mg/ dl)
Aci I	AA	a0.14 ± 3.89	a 0.07 ± 1.81	a 0.15 ± 2.14	a 0.41 ± 5.39	a 0.13 ± 0.98
	GA	a 0.08 ± 3.63	b 0.04 ± 1.56	a 0.13 ± 2.21	a 0.16 ± 4.97	a 0.07 ± 0.87
	GG	a 0.09 ± 3.64	a 0.07 ± 1.76	a 0.16 ± 2.09	a 0.25 ± 4.96	a 0.11 ± 0.91
	مستوى المعنوية	N.S	**	N.S	N.S	N.S
	التركيب الوراثي					
Bbs I	CC	a 0.14 ± 3.45	a 0.07 ± 1.58	a 0.11 ± 1.87	a 0.38 ± 4.56	a 0.14 ± 1.01
	CT	a 0.09 ± 3.75	a 0.05 ± 1.66	a 0.11 ± 2.16	a 0.16 ± 5.09	a 0.07 ± 0.83
	TT	a 0.07± 3.61	a 0.05 ± 1.68	a 0.18 ± 2.23	a 0.24 ± 5.06	a 0.11 ± 1.00
	مستوى المعنوية	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S
	التركيب الوراثي					
Bbv1	AA	a 0.06 ± 3.67	a 0.03 ± 1.66	a 0.09 ± 2.16	a 0.13 ± 5.05	a 0.05 ± 0.90
	GA	a 0.01 ± 3.60	a 0.15± 1.50	a 0.16 ± 2.09	a 0.11 ± 4.73	a 0.36 ± 0.86
	مستوى المعنوية	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S

المتوسطات التي تحمل حروفاً مختلفة ضمن العمود الواحد لكل انزيم تدل على وجود فروق معنوية

* الفروقات المعنوية تحت مستوى معنوية ($P < 0.05$)

N.S : تشير الى عدم وجود فروقات معنوية بين المتوسطات

تأثير الاشكال المتعددة لجين Myostatin في الصفات الكيمياحيوية للدم عند عمر 42 يوماً

تأثير الاشكال المتعددة لجين Myostatin الناتجة من الهضم بوساطة الانزيم Aci I

تشير نتائج الدراسة الحالية (الجدول 5) الى تأثير الاشكال المتعددة لجين Myostatin على الصفات الكيمياحيوية للدم خلال الأسبوع السادس للتربية يوماً كان غير معنوية، فيما يخص البروتين الكلي تشير النتائج المتحصل عليها من الدراسة الحالية عدم وجود فروق معنوية في معدل البروتين الكلي باختلاف التركيب الوراثي لجين Myostatin، اذ بلغت معدلات البروتين الكلي 4.14 و4.02 و3.96 (g/ dl) للتراكيب الوراثية AA وGA وGG

وعلى التوالي، لم تكن هنالك فروق معنوية بين الافراد ذات التراكيب الوراثية المختلفة لجين Myostatin في معدلات الالبومين إذ بلغت معدلاتها 1.92 و1.92 و1.94 (g/ dl) لكل من التراكيب الوراثي AA وGA وGG وعلى التوالي. معدل الكلوبيولين لم يتأثر معنويا باختلاف التركيب الوراثي لجينMyostatin ، إذ بلغت معدلاته 2.55 و2.06 و2.28 (g/ dl) لكل من التراكيب الوراثية AA وGA وGG على التوالي، لم تكن هنالك فروق معنوية بين الافراد ذوي التراكيب الوراثية المختلفة لجين Myostatin في تركيز حامض اليوريك إذ بلغت تركيز حامض اليوريك 4.51 و4.49 و4.55 (mg/ dl) لكل من التراكيب الوراثية AA وGA وGG على التوالي، بينما لم يتأثر تركيز الكرياتين معنويا باختلاف التركيب الوراثي لجين Myostatin في هذه الدراسة، اذ بلغ معدلات الكرياتين 1.15 و0.90 و1.61 (mg/ dl) لكل من التراكيب الوراثية AA وGA وGG على التوالي.

تأثير الاشكال المتعددة لجين Myostatin الناتجة من الهضم بوساطة الانزيم Bbs I

يتبين من نتائج الدراسة الحالية (الجدول 5) ان معدل البروتين الكلي لم يتأثر معنويا باختلاف التركيب الوراثي لجين Myostatin، إذ بلغت معدلاته 3.80 و4.10 و 3.92 (g/ dl) للتراكيب الوراثية CC وCT وTT على التوالي. لم تكن هنالك فروق معنوية بين الافراد ذوي التراكيب الوراثية المختلفة لجين Myostatin في معدلات الالبومين، إذ بلغت معدلات 1.82 و1.96 و1.89(g/ dl) لكل من التراكيب الوراثية CC وCT وTT وعلى التوالي. معدلات الكلوبيولين لم يتأثر بشكل معنوي باختلاف التركيب الوراثي لجين Myostatin، اذ بلغت معدلات 1.97و2.34 و1.96 (g/ dl) لكل من التراكيب الوراثية CC وCT وTT على التوالي. فيما يخص تركيز حامض اليوريك تشير نتائج المتحصل عليها عدم وجود فروق معنوية باختلاف التراكيب الوراثية لجين Myostatin، اذ بلغ أقصاه في الافراد ذوي التركيبين الوراثيين CC وCT الذي بلغ تركيز حامض يوريك 4.62، 4.62 (mg/ dl) وتلاه التركيب الوراثي TT اذ بلغ 4.25 (mg/ dl). اظهرت نتائج الدراسة الحالية ان تركيز الكرياتين عند 42 يوماً غير معنوي باختلاف التركيب الوراثي، وقد سجلت الافراد ذات التركيب الوراثي TT اقصاه 1.61 (mg/ dl) متفوقاً على الافراد ذات التركيب الوراثي عن مثيلتها بالتركيب CT 1.48 ملغم ثم تلاه التركيب CC ولقد بلغ 1.18 (mg/ dl)

تأثير الاشكال المتعددة لجين Myostatin الناتجة من هضم بوساطة الانزيم Bbv1

اظهرت نتائج الدراسة الحالية الجدول (5) أن الاثر المتعدد لجين Myostatin في معدل البروتين الكلي لم يكن معنوياً باختلاف التركيب الوراثي لجين Myostatin، إذ بلغت النسبة اقصاها لدى الافراد ذوي التركيب الوراثي GA بمعدل 4.49 (g/ dl) في حين كانت معدل البروتين للتركيب الوراثي AA أقل من ذلك 4.00 غراماً. اما الالبومين لم تظهر فيها فروق معنوية باختلاف التركيب الوراثي لجين Myostatin، إذ بلغت معدلاتها 1.92 و2.05 (g/ dl) للتراكيب الوراثية AA وGA وعلى التوالي، أن الكلوبيولين لم يتأثر معنويا باختلاف التركيب الوراثي لجين Myostatin، إذ بلغ معدله 2.19 و2.43 (g/ dl) للتراكيب الوراثية AA وGA وعلى التوالي. فيما يخص تركيز حامض اليوريك لم يكن هنالك فروق معنوية باختلاف التركيب الوراثي لجين Myostatin، إذ بلغت تركيزه اقصاه لدى الافراد ذوي التركيب الوراثي GA وكان معدله 4.61 مليغرام في حين كانت تركيزه للأفراد الحاملين التركيب الوراثي AA أقل من ذلك 4.50 (mg/ dl). تركيز الكرياتين لم يتأثر بشكل معنوي باختلاف التركيب الوراثي لجين Myostatin، اذ بلغت 0.93 و1.02 (mg/ dl) لكل من التراكيب الوراثية AA وGA على التوالي.

جدول(5) تأثير الاشكال المتعددة لجين Myostatin على الصفات الكيمياحيوية للدم في عمر 42 يوماً

الانزيمات		المتوسطات ± الخطاء القياسي				
	التركيب الوراثي	البروتين الكلي (g/ dl)	الألبومين (g/ dl)	الكلوبيولين (g/ dl)	حامض اليوريك (mg/ dl)	الكرياتين (mg/ dl)
Aci I	AA	a 0.20 ± 4.14	a 0.07 ± 1.92	a 0.42 ± 2.55	a 0.50 ± 4.51	a 7.28 ± 1.15
	GA	a 0.10 ± 4.02	a 0.05 ± 1.92	a 0.09 ± 2.06	a 0.25 ± 4.49	a 0.12 ± 0.90
	GG	a 0.11 ± 3.96	a 0.06 ± 1.94	a 0.29 ± 2.28	a 0.24 ± 4.55	a 3.70 ± 1.61
	مستوى المعنوية	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S
Bbs I	التركيب الوراثي					
	CC	a 0.12 ± 3.80	a 0.14 ± 1.82	a 0.17 ± 1.97	a 0.45 ± 4.62	a 0.24 ± 1.18
	CT	a 0.09 ± 4.10	a 0.03 ± 1.96	a 0.17 ± 2.34	a 0.21 ± 4.62	a 1.61 ± 1.48
	TT	a 0.16 ± 3.92	a 0.09 ± 1.89	a 0.11 ± 1.96	a 0.39 ± 4.25	a 3.63 ± 1.61
	مستوى المعنوية	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S
Bbv1	التركيب الوراثي					
	AA	a 0.07 ± 4.00	a 0.04 ± 1.92	a 0.12 ± 2.19	a 0.18 ± 4.50	a 1.40 ± 0.93
	GA	a 0.39± 4.49	a 0.05 ± 2.05	a 0.44 ± 2.43	a 0.09 ± 4.61	a 0.09 ± 1.02
	مستوى المعنوية	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S

المتوسطات التي تحمل حروفاً مختلفة ضمن العمود الواحد لكل الانزيم تدل على وجود فروق معنوية

يتضح من نتائج البحث عدم وجود تأثير الاشكال الوراثية لجين Myostatin في الصفات الكيمياحيوية للدم عند عمر 3 و6 اسبوع ماعدا تركيز الألبومين في مصل الدم وذلك لان الجين Myostatin له تأثيراته تكون بشكل أكبر واضحاً في العضلات الجسم مقارنة تأثيراته الضئيلة في الصفات الدم. اجراء المزيد من الدراسات على تعدد الاشكال لجين المايوستاتين في الاصول باستخدام مناطق اخر من الجين مع انواع اخرى لأنزيمات القاطع من اجل الحصول على واسمات وراثية ذات الارتباط مع صفات الدم واستخدامها في البرامج الانتخابية. ويفضل اجراء الأبحاث في مجال الوراثية الجزيئية على القطعان التي تكون فيها تباينات عالية كالدجاج المحلي.

المصادر

السعدي، رشا كريم محمد. 2002. تأثير المستخلصات النباتية المائية الخام لثلاثة أنواع نباتية (الموز Musa paraadisiaca var L، لأله عباس Mirabilis jalapa L، والمينا الشجرية Lantana camara L في الانقسام المايتوزي. رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة بغداد.

Baron E.E., A.A.Wenceslau., L.E. Alvares., K.Nones., D.C. Ruy., G.S . Schmidt., E.L. Zanella., L.L. Coutinho and M.C. Ledur (2002). High level of polymorphism in the myostatin chicken gene .proceedings of the 7th World Congress on Genetic .Applied to Livestock Production Montpellier France. 19–23.

Bellinge, R. , D. Liberles., S. Iaschi., P. O’Brien. , G. Tay. (2005). Myostatin and its implications on animal breeding: a review. Anim. Genet. 36. (1): 1-6.

Mammal. Genome. 14. 392-395.

McPherron, A. C., A. M. Lawler.and S. J .Lee. (1997). Regulation of skeletal muscle mass in mice by a new TGF-beta superfamily member. Nature .387:83-90.

Miao, Y., J. Yang., Z. Xu., Lu. Jing. , S. Zhao., and Li. Xinyun. (2015). RNA sequencing identifies upregulated kyphoscoliosis peptidase and phosphatidic acid signaling pathways in muscle hypertrophy generated by transgenic expression of myostatin propeptide . Int. J. Mol. Sci. 16. 7976-7994.

Nandedkar, P. V., V. K. Saxena., M. Saxena., K. A. Ahmed., S. Kumar ., R. Singh. , P.Jain., M. R. Jawale and S. B. Nehete. (2014). PCR-RFLP-gene study in musculoskeletal deformed birds. Indian Res. J. Ext. Edu. 14, (4):78-81.

Piek, E., CH. Ten., and P. Digke. (1999) .Specificity, diversity and regulation in TGF-beta superfamily signaling. FASEB J. 13: 2105-2124.

Sabir, J., M. Mutwakil., A. El-Hanafy. A. Al-Hejin., M.Sadek., M .Abou- Alsoud., M.Qureshi., K.Saini .,and M .Ahmed. (2014) .Applying molecular tools for improving livestock performance: From DNA markers tonext generation sequencing technologies. Journal of Food, Agriculture & Environment.12 (2): 541-553.

Chandan, P., T. K. Bhattacharya., C. S. Nagaraj., R. N. Chaterjee.,and M. R. Jayashankar. (2014). SNPs in minimal promoter of myostatin (GDF-8) gene and its association with body weight in broiler chicken. Journal of Applied Animal Research. 42, 3: 304–309.

Charlier.C., Coppieters. W., Farnir. F., Grobet. L., Leroy. Pl., Michaux .C., Mni, M., Schwers. A., Vanmanshoven. P., Hanset. R., Georges. M. 1995 .The mh gene causing double muscling in cattle maps to bovine Chromosome 2. Mamm. Genome, Springer-Verlag, N.Y. Inc., New York, NY, USA. 6, 788-792.

Han, J. H, Zhou. R. H, Forrest. J, R, Sedcole. C, M, Frampton. J, G, Hickford. (2010). Effect of myostatin (*MSTN*) g+6223G>A n on production and carcass traits in new zealand romney sheep. Asian-Aust. J. Anim. Sci. 23(7): 863 – 866.

Kerr, T., E . H .Roalson ., and B .D .Rodgers, (2005). Phylogenetic analysis of the myostatin gene sub-family and the differential expression of a novel member in zebrafish. Evol . Dev. 7(5):390-400.

Marchitelli C., M.C. Savarese., A.Crisa, A.Nardone, P.A. Marsan and A.Valentini (2003). Double muscling in Marchigiana beef breed is caused by a stop codon in the third exon of myostatin gene.

Saxena, V.K., A. K. Sachdev., R. Gopal .and A. B. Ramod. (2009). Roles of important candidate genes on broiler meat quality .World's Poul .Sci. J. 65 (1):37-50.

Stella. A., F. Panzetta and G. Gandini. (2007) .Use of linked Loci as individual or haplotype for marker asssisted breed assignment. Animal Genetic. 39: 8- 14.

Sambrook, J., T. Maniatis., and E. Fritsch, (1989). Molecular cloning: A labrotray manual.cold spring harbor labrotray press, Cold Spring Harbor, N.Y.61(1):17-28.

Sazanov, A., D .Ewald. , J .Buitkamp. ,and R. Fries. (1999). A molecular marker for the chicken myostatin gene (GDF8) maps to 7p11. Anim Genet 30:388-9.

The Effect of Myostatin Gene Polymorphisms on Some Biochemist Traits for Blood in Broiler Chicken

Adnan Hussein Mohammed **Ismail Habeeb Ismail**

University of Bagdad / College of Agriculture

Abstract

This study is conducted at the Poultry Farm of Animal Production Department of College of Agriculture, University of Al-Qadisiyah during the period 9/4/2015 - 20/5/2015 and in a laboratory of molecular genetic analysis of the College of Agriculture, University of Baghdad and Almusayab Bridge Company. The objective of this study is to identify the genotypes for Myostatin gene (GDF-8), and its relationship with physiological traits of broiler chicken. Three hundreds of Ross 308 chicks at day-old were used. The experiment continues until the sixth week of age. Three types of restriction enzymes (Aci I, Bbv I and Bbs I) are used

The results of this study could be summarized as follows.

The polymorphisms of the Myostatin gene achieves using Restriction enzyme (Aci) are GG, GA and AA respectively. The genotype of Myostatin gene has no effect on biochemical traits during 21 and 42 day, except which the effect of the genotypes of the Myostatin gene on the serum albumin is highly significant ($P<0.01$) during 21 day.

And also the form genotype of the Myostatin gene with Restriction enzyme form (Bbs I) are CC, CT and TT respectively. The genotype of Myostatin gene has no effect on the blood biochemical during 21 and 42 day.

The results show that the genotype of the Myostatin gene with Restriction enzyme form (Bbv I) are AA and GA respectively. The effect of has no effect on the blood biochemical during 21 and 42 day.

Keyword : Myostatin , Restriction Enzymes , Biochemical Trails , RFLPs