

## تطبيق تقانة الوراثة الجزيئية ( PCR-RFLP ) لمستقبل جين هرمون النمو وعلاقته مع بعض الصفات الكيموحيوية والتركيبية للجسم في الدجاج المحلي العراقي

\*مهند منذر الركابي \* ايمان حسن الدليمي \* خليل ابراهيم الدليمي  
\*اسامة صبحي العبيدي \* حميد عبد كريم الزيايدي \* يوسف عكاب الدريساوي  
\* وزارة العلوم والتكنولوجيا , دائرة البحوث الزراعية, بغداد والعراق

Corresponding Author e..mail : muhannad.genetic@yahoo.com

### الخلاصة

أجريت هذه التجربة في حقل الدواجن التابع لوزارة العلوم والتكنولوجيا دائرة البحوث الزراعية / مركز الثروة الحيوانية والسمكية للمدة من ٢٣ / ٣ / ٢٠١٦ لغاية ٢٣ / ٧ / ٢٠١٦ للكشف عن العلاقة بين المظاهر المتعددة لمستقبل جين هرمون النمو وكل من الصفات الكيموحيوية والتركيبية للجسم في الدجاج المحلي العراقي . جمعت عينات الدم بصورة عشوائية من طيور التجربة عند عمر ١٨ اسبوع. جينوم الدنا استخلص ثم كوثره القطعة ٧١٨ زوجاً قاعدياً بطريقة PCR –RFLP لأجل تحديد مواقع القطع في الانترون رقم ٢ لطيور التجربة استخدم انزيم القطع *HindIII* ، نواتج قطع الانزيم رحلت على هلام الاكاروز 1.8%. تم قياس الصفات التركيبية للجسم بالاضافة الى الصفات الكيموحيوية لطيور التجربة ، العينات المعاملة بانزيم القطع *HindIII* في مواقع مستقبل جين هرمون النمو أعطت التراكيب الوراثة التالية R1R1 و R2R2 وفقاً للنتائج فقد حصل التركيب الوراثة R1R1 على الحزم (٢٩٠ ، ٢٥٨ ، ١٧٠ زوج قاعدي ) على التوالي في حين حصل التركيب الوراثة R2R2 على الحزم (٤٢٨ ، ٢٩٠ ، زوج قاعدي) على التوالي . تشير المقارنة بين متوسط المربعات الصغرى ما بين المجاميع الوراثة الى ان المظاهر المتعددة لمستقبل جين هرمون النمو له علاقة معنوية (  $p \leq 0.05$  ) مع بعض الصفات الكيموحيوية ( البومين ، كلوكوز ، بروتين ) اضافة الى الصفات التركيبية للجسم ( وزن الجسم عند ٣٤ اسبوع ، طول عظم القص ، محيط الصدر ) في الدجاج المحلي العراقي . في ضوء النتائج التي تم الحصول عليها وجد ان المظاهر الوراثة المتعددة لمستقبل جين هرمون النمو تعتبر من الجينات المرشحة التي لها تأثير في بعض الصفات الكيموحيوية والتركيبية للجسم التي يمكن ان توظف كدوال وراثية في عملية الانتخاب للطيور الداجنة المحلية .

### المقدمة

يمكن اعتبار جينات Somatotropic ( الهرمونات الجسمية ) من الجينات المرشحة لفهم تأثيرها على عملية التطور و النمو بالإضافة الى تأثيرها على الصفات الاقتصادية في الدجاج ( 1 ) حيث وجد ( ٢ ) ان مستقبل جين هرمون النمو ( GHR ) Growth hormone receptor gene ومستقبل جين البرولاكتين Prolactin receptor ( PRLR ) يقعان على كروموسوم الجنس Z ( ZP23 ) وان مستقبل هرمون النمو ينتمي إلى عائلة مستقبلات كل من هرمون النمو ( Growth hormones ) ، البرولاكتين ( Prolactin ) ، السايوتوكاين ( Cytokine ) و الهيماتوبايوتين ( Hematopoietin ) والتي تتضمن مستقبلات لكل من ( GH ) ، ( PRL ) ، والعديد من مستقبلات Cytokines مثل Interleukines من 2-7 و 9-11 ، Granulocyte-

و Granulocyte colony – Stimulating factor ، macrophage colony – Stimulating factor و Interferons نوع  $\alpha$  ،  $\beta$  و  $\gamma$  . وجد ( ٣ ) ان ارتباط هرمون النمو مع المستقبل يكون ضروري لأجل بناء و تحرير IGF – I ( عامل النمو شبيه الأنسولين - I ) وقد وجد بان هناك إلفه عالية لارتباط هرمون النمو مع مستقبله في العديد من الأنسجة . كما وجد بان هناك إعداد عالية جدا من المستقبلات في الكبد عندما يعمل هرمون النمو على تحفيز بناء وإفراز هرمون IGF – I . ( ٤ ) و جدو إن عدم التجانس في المستقبلات قد يكون واحد من الأسباب التي تؤدي إلى اختلاف الاليات التي بدورها تقود إلى اختلاف الوظائف البيولوجية لهرمون النمو ان الاختلافات التي تحدث في مستقبل جين هرمون النمو قد تقود الى اختلافات في الاستجابة الخلوية حيث ان الاضطرابات التي تحدث في ( GHR ) مستقبل جين هرمون النمو سببها عملية الحذف في جين هرمون النمو وهي اضطرابات وراثية يمكن ملاحظتها من خلال ارتفاع ( Growth hormones ) هرمون النمو وانخفاض في الانسولين شبيه هرمون النمو 1 (IGF-1) في الدورة الدموية والتي تقود إلى قصر عظام الأرجل وبالتالي قصر القامة نفس هذه التغيرات لوحظت في الدجاج القزم المرتبط بالجنس ( sex-linked dwarf ) هذه الاضطرابات تظهر نتيجة حدوث طفرة في مستقبل جين هرمون النمو . في الدجاج بلغ الوزن الجزئي لجين مستقبل هرمون النمو 13 Kb كيلودالتون ومن خلال دراسة المناطق المشفرة والغير مشفرة لجين مستقبل هرمون النمو وجد بان المناطق المشفرة لهذا الجين تشفر إلى 592 حامض أميني مع residue signal 16 peptide . ( ٥ ) . ان جين مستقبل هرمون النمو يمتلك نسبة تشابه مع نظيره في اللبائن ( Mammalian ) تتراوح ما بين 50-58 % في حين يفتقر الاكسون رقم 3 في مستقبل جين هرمون النمو في الدجاج الى مثل هذا التشابه مع نظيره في اللبائن وعلى الرغم من هذا الاختلاف يعتبر مستقبل جين هرمون النمو متشابه مع نظيره في اللبائن Godowski ( ٦ ) . يمتلك مستقبل هرمون النمو في الدجاج وظائف مهمة فهو يدخل في فعاليات النمو والتكاثر حيث ان المظاهر المتعددة لهذا الجين تمتلك تباينات كثيرة في تسلسل الأحماض النووية في مجين الحيوانات والتي يمكن ان تستخدم كواسمات وراثية لانتخاب ودراسة الصفات الاقتصادية ( ٧ ) . أن تعدد المظاهر الوراثية في السلالات المحلية تعتبر مهمة جدا ولها اعتبارات كبيرة جدا وذلك لأهميتها في الحفاظ على المصادر الوراثية وانه من الضروري جدا إجراء عملية التوصيف الوراثي للسلالات Yazdapanah ( ٨ ) . حيث أشار ( ٩ ) أن الاختلاف في حجم وتسلسل النيوكليوتيدات واحدة من خصائص نسخ جين مستقبل هرمون النمو ( Growth hormone receptor ) والتي تحدث نتيجة مختلف العمليات التي تطرأ على GHR. Pre mRNA – والتي تتضمن عملية Alternative splicing والتي تتضمن حذف او تخطي ( Skipping ) للانترون ( Intron ) وبقاء ( Retention ) للاكسونات ( Exon ) والتي ينتج منها العديد من الشفرات الوراثية كما وجد ( ١٠ ) أن التغيرات التي تحدث في هرمون النمو نتيجة التباين الموجود في مستقبل هرمون النمو والتي يمكن إن تقود إلى حدوث تغيرات في الصفات المظهرية . ان المظاهر المتعددة لجين هرمون النمو تمتد على طول الجين وترتبط مع العديد من الصفات مثل النمو ، الصفات التركيبية للجسم وبعض الصفات الكيموحيوية والتي يمكن ان توظف في عملية الانتخاب والتحسين . لذا أجريت هذه الدراسة بهدف معرفة الطرز المتعددة لجين هرمون النمو وعلاقتها ببعض الصفات التركيبية والكيموحيوية للجسم في الدجاج المحلي العراقي والتي يمكن إن تستخدم كدالة وراثية في عملية التحسين الوراثي للعديد من الصفات الاقتصادية .

## المواد وطرق البحث

جمعت عينات دم من 100 دجاجة من قطيع الدجاج المحلي عند عمر ١٨ اسبوع بصورة عشوائية من الوريد الجناحي في أنابيب حاوية على مانع تخثر EDTA. حفظت عينات الدم تحت درجة حرارة  $20^{\circ}\text{C}$  حتى وقت الاستخدام. استخلاص الدنا (DNA) من الدم باستخدام طريقة الفصل بالأملاح (11). تم قياس تركيز ونقاوة عينات الدنا وذلك باستخدام جهاز المطياف الضوئي (Nano Drop Spectrophotometer). بعدها تم ترحيل العينات المستخلصة على هلام الاكاروز بنسبة 1.4% وعلى فرق جهد كهربائي 70 فولتاً لمدة ٥٨ دقيقة. استخدمت العدة التشخيصية ProfiTaq PCR PreMix في تفاعل PCR. اما الابدانات الخاصة بجين هرمون النمو في الانترون رقم ٢ فهي موضحة في جدول ١

جدول ١ البادئ الأمامي والخلفي لجين مستقبل هرمون النمو في الانترون رقم 2

الجينات Genes	بادئ أمامي Primer Forward	بادئ خلفي Primer Reverse
GHR gene	5'GGCTCTCCATGGGTATTAGGA3'	5'GCTGGTGAACCAATCTCGG TT3

استخدم تفاعل الكوثر المتسلسل لتضخيم او تكثير المنطقة الجينية المستهدفة ، حيث استخدم لهذا الغرض جهاز My Genie 96/384 Thermal Block مصنع من قبل شركة BIONEER كوري المنشأ . استعمل برنامج للكشف الجزيئي لجين هرمون النمو ( GHR ) ، إذ كانت درجة حرارة المسخ الأولية ( Denaturation )  $95^{\circ}\text{C}$  ولمدة دقيقتين يتبعها 35 دورة لكل من درجة حرارة المسخ  $95^{\circ}\text{C}$  لمدة 30 ثانية ، درجة الالتحام ( Annealing )  $60^{\circ}\text{C}$  ولمدة 30 ثانية ، كانت مرحلة الاستطالة ( Extension )  $70^{\circ}\text{C}$  لمدة 1.20 ثانية. اما الإستطالة النهائية فكانت  $95^{\circ}\text{C}$  لمدة 5 دقائق. تم ترحيل العينات المضخمة بواسطة جهاز PCR على 1.6% من هلام الاكاروز المضاف له صبغة الاثيديوم برومايد، إذ رحلت العينات في جهاز الترحيل الكهربائي الأفقي ثم صورت الحزم الخاصة بالعينات المرحلة على جهاز UV transiluminater . ولتحديد اطوال القطع المقيدة ( RFLP ) تم هضم العينات بواسطة انزيم *HINDIII*، إذ استخدم لهذا الغرض  $9\mu$  من ناتج PCR مع  $2\mu$  من Buffer 10X ، 3.3 من الماء المزال للأيونات يضاف لها  $0.2\mu$  من BSA وفي النهاية تمت إضافة 0.5 من انزيم *HindIII* ليصبح الحجم الكلي النهائي  $15\mu$  حضنت العينات في جهاز المبدل الحراري ( Thermal cyler ) بعد تثبيت درجة حرارته على 37 مئوية لمدة 4 ساعات وهذه الطريقة اعتمدت من قبل ( 12 ) . رحلت العينات على هلام الاكاروز 1.8% وبفرق جهد 55 فولت ولمدة 1٠٠ دقيقة بعدها تم تصوير الحزم الناتجة بواسطة جهاز التوثيق الفوتوغرافي ( photo documentation system ) . تم قياس الصفات الكيموحيوية للدم وذلك بسحب عينات الدم من طيور التجربة بعدها عرضت العينات الى الفصل بواسطة جهاز الطرد المركزي وعلى سرعة ٣٠٠٠ دورة / دقيقة للحصول على بلازما الدم ثم حفظت العينات في التبريد - ٢٠ م لحين الاستخدام . وباستعمال العدة التشخيصية قيست المؤشرات الكيموحيوية التالية البومين ، كوليسستيرول ،

كلوكوز ، الدهون الثلاثية ، البروتين الكلي و المغنيسيوم وعند عمر ٣٤ اسبوع تم اخذ وزن الجسم الحي لطيور التجربة واخذ القياسات التالية طول عظم الساق ، طول عظم القص ومحيط الصدر وذلك بواسطة شريط قياس مدرج بوحدة قياس السنتيمتر ( CM ) حيث تم قياس محيط الصدر وذلك بوضع شريط القياس بشكل دائري حول المنطقة الصدرية وانتهاء باعلى نقطة خلف الجناحين بينما قيست صفة طول عظم القص بدءاً من النهاية العليا لعظم القص وصولاً لنهايته ضمن التجويف الصدري اما صفة طول الرجل فقد قيست بوضع الشريط القياسي عند اعلى نقطة فية ومن ثم مده الى نهاية الاصبع الاطول في الساق ، وذلك لايجاد العلاقة ما بين الصفات الكيموحيوية والصفات التركيبية للجسم والمظاهر المتعددة لجين مستقبل هرمون النمو .

تم تحليل البيانات باستخدام التصميم العشوائي الكامل ، وقد استخدم البرنامج الإحصائي الجاهز SAS ( ١٣ ) في تحليل البيانات وإجراء تحليل التباين ANOVA ومقارنة المتوسطات حسب اختبار Duncan متعدد المديات ( ١٤ ) .

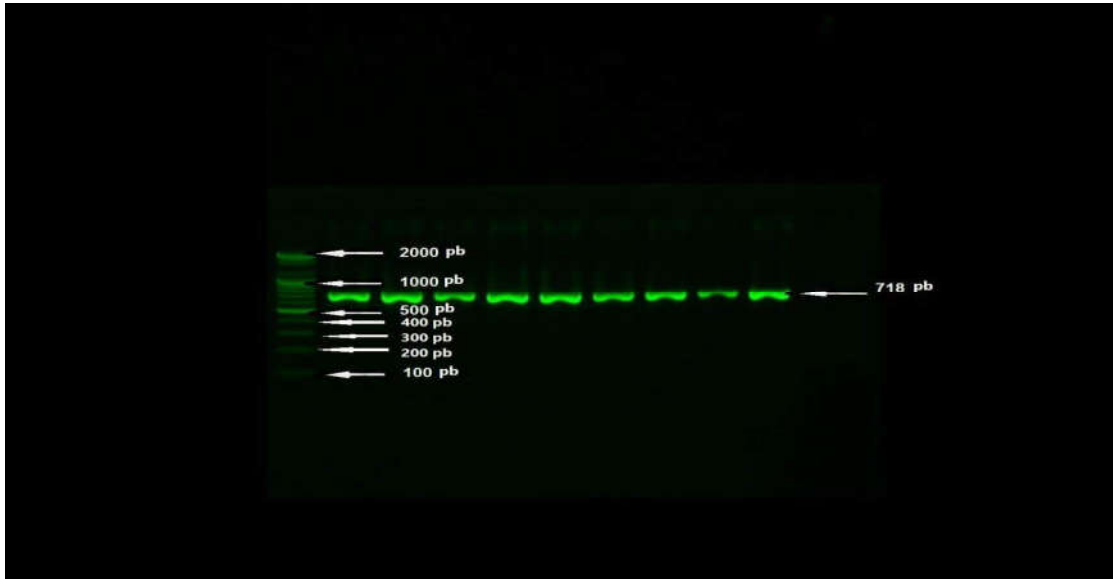
### النتائج والمناقشة

يتضح من شكل ١ ان استخلاص الحامض النووي DNA كانت خطوة ناجحة ومهمة لاستخلاص جين مستقبل هرمون النمو بعدها قطعة الحامض النووي البالغ حجمها ٧١٨ زوجاً قاعدياً كوثره باستخدام تقانة PCR-RFLP وتم ترجيلها على هلام الاكاروز ١.٦% كما في شكل ٢ ، القطعة الموكوثره لجين مستقبل هرمون النمو الناتجة من تقانة PCR-RFLP عرضت لانزيم التقبيد *HindIII* ورحلت نواتج الهضم على هلام الاكاروز ١.٨% كما في شكل ٣ . يتضح من شكل ٣ ان المظاهر المتعددة لطول القطعة المقيدة قد انتجت طرازين لمستقبل جين هرمون النمو في الانترون رقم ٢ في الدجاج المحلي العراقي، إذ ظهر التركيب الوراثي R1R1 على ثلاثة حزم وكان حجمها ٢٩٠ ، ٢٥٨ ، ١٧٠ زوجاً قاعدياً في حين التركيب الوراثي R2R2 ظهر بحزمتين وهما ٤٢٨ و ٢٩٠ زوجاً قاعدياً ، ان الدراسة الحالية تشير إلى وجود مظهرين لمستقبل جين هرمون النمو في الانترون رقم 2 في الدجاج المحلي العراقي وان هذه النتيجة قد اتفقت مع نتائج ( ١٥ ) ، ( ١٦ ) و ( ١٧ ) والذين اكدوا وجود موقعين للقطع لانزيم *HindIII* ينتج عنهما مظهران لمستقبل جين هرمون النمو في الانترون رقم 2 . يتضح من جدول ٢ وجود فروق معنوية ( $P \leq 0.01$ ) في النسبة المئوية ما بين التركيب الوراثي لجين مستقبل هرمون النمو في الدجاج المحلي وقد بلغت هذه الفروق 71.00 و 29.00% للتركيبي R1R1 و R2R2 على التوالي إي أن هنالك شيوعاً واضحاً للأفراد النقية الحاملة للتركيب الوراثي R1R1 ( ثلاث حزم ) مع تدني نسبة التركيب الوراثي R2R2 ( حزمتين ) في العينة . أن هذه النتائج جاءت متفقة مع دراسة ( ١٦ ) عند دراسته لنسب التراكيب الوراثية لمستقبل جين هرمون النمو في الانترون رقم 2 في دجاج Wenchang chicken الصيني كذلك دراسة ( ١٨ ) في إناث سلالة دجاج Mazandaran الهندية الذين وجدوا ان التركيب الوراثي الذي حصل على ثلاث حزم لمستقبل جين هرمون النمو قد تفوق وبشكل كبير جدا على التركيب الوراثي ذي الحزمتين ، ومن خلال متابعة الجدول ( ٢ ) نجد ان التكرارات الاليلية كانت 0.71 و 0.29 لكل من R1 و R2 على التوالي. إذ ان اليل R1 كانت تكراراته عالية جدا مقارنة بالاليل R2 الذي حصل على نسبة تكرار متدنية. ان النسبة العالية التي حصل عليها الاليل R1 تشير الى سيادة هذا الاليل في الدجاج المحلي العراقي. ان نتائج الدراسة جاءت متفقة مع نتائج ( ١٦ ) و ( ١٩ ) وعليه يمكن القول ان نسبة التكرار العالية التي حصل عليها

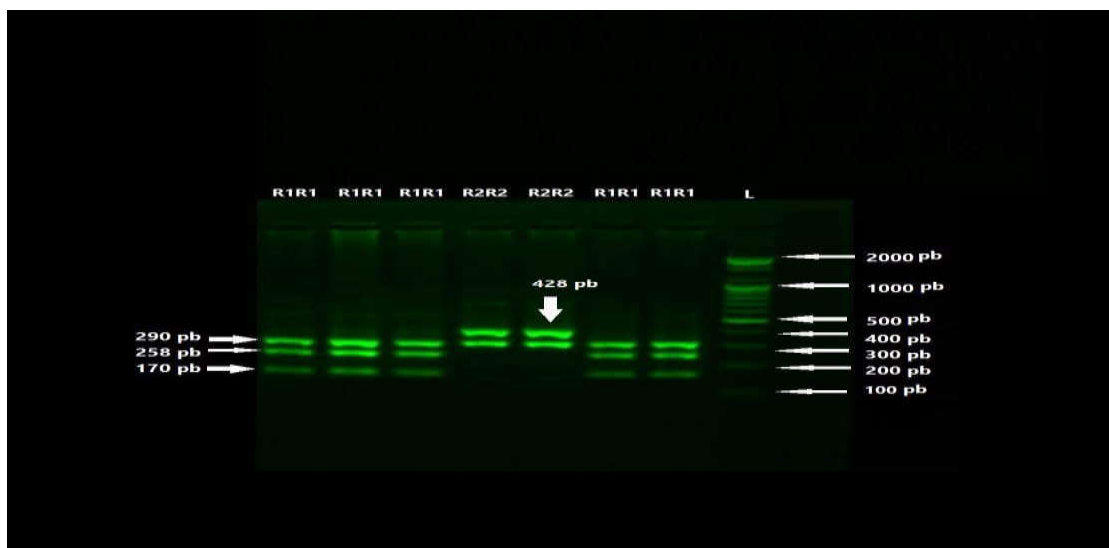
الاليل R1 ربما تعزى الى الاستراتيجيات الطويلة الامد التي اتبعت في الانتخاب ولصفات عدة في الدجاج المحلي العراقي.



شكل ١: نتائج استخلاص عينات DNA



شكل ٢: قطعة الدنا 718 bp لجين مستقبل هرمون النمو الموكوثررة بواسطة تقانة PCR-RFLP والمرحلة على هلام الاكاروز ١.٦ .



شكل ٣: نواتج هضم قطعة الدنا المكوثة بتقانة PCR-RFLP باستخدام انزيم القطع *HindIII* والمرحلة على هلام الاكاروز 1.8

من خلال متابعة نتائج الجدول ٣ نجد ان التركيب الوراثي R1R1 قد سجل تفوقا معنويا ( $P < 0.05$ ) في صفة متوسط البومين الدم اذ بلغت متوسطه 1.25 g/dl على متوسط التركيب الوراثي R2R2 والذي بلغ 1.12 g/dl كذلك عاود التركيب الوراثي R1R1 في تفوقه على التركيب الوراثي R2R2 في صفة كلوكوز الدم اذ سجل التركيب الوراثي R1R1 متوسط 189.07 Mg/dl اما متوسط التركيب الوراثي R2R2 فقد كان 182.33 Mg/dl، اما فيما يخص صفة البروتين الكلي في الدم فقد سجل التركيب الوراثي R1R1 تفوقا معنويا اذ بلغ متوسطه 3.15 g/dl على التركيب الوراثي R2R2 والذي بلغ متوسطه 2.21 g/dl في حين لم تكن هنالك اي فروقات معنوية تذكر ما بين التركيبين الوراثيين R1R1 و R2R2 لجين هرمون النمو للصفات الاتية الكوليستيرول ، الدهون الثلاثية و المغنيسيوم والفسفور. يتضح من الجدول ٤ ان هنالك علاقة معنوية ما بين جين هرمون ووزن الجسم عند عمر ٣٤ اسبوع فقد تفوق التركيب الوراثي R1R1 ( $P < 0.05$ ) الذي بلغ متوسطه 1530.46 على التركيب الوراثي R2R2 والذي بلغ متوسطه 1499.34 ، ومن متابعة نتائج الجدول ٤ نجد ان متوسط طول عظم القص للتركيب الوراثي R1R1 ( 11.63 ) سم سجل تفوقا معنويا على التركيب الوراثي R2R2 الذي بلغ متوسطه 10.62 سم كذلك عاود نفس التركيب الوراثي R1R1 في تفوقه على التركيب الوراثي R2R2 في صفة محيط الصدر اذ بلغت المتوسطات لكلا التركيبين 25.55 و 24.61 سم على التوالي كذلك لم تكن هنالك اي فروق معنوية ما بين التركيبين الوراثيين لصفة طول عظم الساق . تشير النتائج التي تم الحصول عليها إلى ان التركيب الوراثي R1R1 يمتلك تأثيراً فعالاً في صفة وزن الجسم وبعض الصفات التركيبية و الكيموحيوية في موقع جين مستقبل هرمون النمو ، وقد يعزى ذلك الى التكرار العالي الذي يمتلكه الاليل R1 في موقع الانترون رقم 2 لجين مستقبل هرمون النمو ، إذ بلغت قيمته 0.71 فضلاً عن النسبة المئوية المرتفعة للتراكيب الوراثي R1R1 ٧١ % . كذلك يعزى التفوق المعنوي للتركيب الوراثي R1R1 الى عمل هرمون النمو ومستقبله الذي هو أحد الهرمونات المهمة التي تفرز من الفص الأمامي للغدة النخامية ، إذ يمتلك هذا الهرمون الكثير من الفعاليات منها تأثيره في الخلايا الجسمية من خلال رفع تركيز عامل النمو المشابه للإنسولين IGF-I ( Insuline like growth factor –I ) وذلك من خلال تحفيز خلايا الكبد على إنتاجه ، إذ

يمتلك الأنسولين عملاً مهماً في إمتصاص الكلوكوز الخلوي ( Cellular glucose uptake ) ، وتنظيم الكاربوهيدرات والدهون ، وتمثيل البروتين و تحفيز الخلية على الانقسام والنمو ( 19 ) ، كما ان التباينات الوراثية لهرمون النمو يمكن ان تقودنا الى حدوث تغيرات في التعبير الجيني لهرمون النمو او للجينات المجاورة له ( 20 ) . يعد التشابه والاختلاف في النتائج اسباباً منطقية، والسبب يعود الى الاختلاف في الإستراتيجيات المستخدمة في أنظمة تربية وتحسين الطيور الداجنة . وطبقاً لنتائج البحث فأن هنالك علاقة معنوية ما بين المظاهر المتعددة لجين مستقبل هرمون النمو في الانترون رقم ٢ وبين كل من وزن الجسم وبعض الصفات التركيبية للجسم و الكيموحيوية في الدجاج المحلي العراقي. يمكن ان تستخدم كدوال وراثية لإغراض الانتخاب والتحسين الوراثي في الطيور الداجنة وخصوصاً المحلية منها .

الجدول ٢ العدد والنسب المئوية لجين مستقبل هرمون النمو ( GHR- Gene ) للدجاج المحلي العراقي

النسبة المئوية (%)	العدد	التركيب الوراثي (Genotype)
٧١.٠٠	٧١	R1R1
٢٩.٠٠	٢٩	R2R2
% ١٠٠	١٠٠	المجموع
** ١٢.٥٠٥	----	قيمة مربع كاي ( $\chi^2$ )
التكرار		الليل
٠.٧١		R1
٠.٢٩		R2
** (P<0.01).		

جدول ٣ تأثير تعدد المظاهر لجين مستقبل هرمون النمو ( GHR ) في الصفات الكيموحيوية للدجاج المحلي العراقي ( المتوسطات  $\pm$  الخطأ القياسي).

مستوى المعنوية	الصفات الكيموحيوية للتراكيب الوراثية ( Genotype )		الصفات الكيموحيوية
	R2R2	R1R1	
*	1.12 $\pm$ 0.09 b	1.25 $\pm$ 0.06 a	البومين g/dl
N.S	58.22 $\pm$ 10.40 a	59.04 $\pm$ 10.70 a	كوليسترول Mg/dl
*	182.33 $\pm$ 13.03 b	189.07 $\pm$ 13.31 a	كلوكوز Mg/dl
N.S	143.19 $\pm$ 5.60 a	142.25 $\pm$ 4.67 a	الدهون الثلاثية Mg/dl
*	2.21 $\pm$ 0.17 b	3.15 $\pm$ 0.13 a	بروتين g/dl
N.S	2.85 $\pm$ 0.12 a	2.87 $\pm$ 0.14 a	مغيسيوم mmol/L
N.S	3.03 $\pm$ 0.33 a	3.04 $\pm$ 0.32 a	فسفور mmol/L

( المتوسطات التي تحمل حروفاً مختلفة ضمن الصف الواحد تختلف معنوياً فيما بينها على مستوى ( $P < 0.05$ ) )

جدول ٤: تأثير تعدد المظاهر لجين مستقبل هرمون النمو ( GHR ) في معدل وزن الجسم الحي والصفات التركيبية للجسم للدجاج المحلي العراقي ( المتوسطات  $\pm$  الخطأ القياسي).

مستوى المعنوية	وزن الجسم الحي (غم) والصفات التركيبية للجسم للتراكيب الوراثية ( Genotype )		الوزن والصفات التركيبية للجسم
	R2R2	R1R1	
*	1499.34 $\pm$ 31.67 b	1530.46 $\pm$ 26.59 a	وزن الجسم غم ( ٣٤ اسبوع )
N.S	24.15 $\pm$ 0.83 a	25.11 $\pm$ 0.90 a	طول عظم الساق
*	10.62 $\pm$ 1.22 b	11.63 $\pm$ 1.25 a	طول عظم القص
*	24.61 $\pm$ 0.31 b	25.55 $\pm$ 0.23 a	محيط الصدر

( المتوسطات التي تحمل حروفاً مختلفة ضمن الصف الواحد تختلف معنوياً فيما بينها على مستوى ( $P < 0.05$ ) )



## APPLICATION OF MOLECULAR GENETICS TECHNOLOGY (PCR –RFLP) FOR GROWTH HORMONE RECEPTOR GENE WITH SOME BIOCHEMICAL AND BODY CONFORMATION TRAITS IN LOCAL IRAQI CHICKEN

Muhannad.M.-ALrekabi      \*Iman H. AL-Dulaimi      \* Khalil.I AL-Dulaimi

\*Osama.S AL-Obeidi      Hameed.A AL Zeyadi      \*Yousif O. AL-Dreesaoy

\*Ministry of Science and Technology/ Agricultural and biological Research Directorate .

### ABSTRACT

This study was conducted in poultry farm in the Ministry of Science and Technology/ Agricultural Research Directorate / Animal resources and fisheries center during the period from 23/3 /2016 to 24/2/2017. The objective of this study was to investigate the relationship between growth hormone gene polymorphism and biochemical and body composition in Iraqi local chicken . Blood samples collected randomly from experimental birds at the age of 18 weeks. Genomic DNA was extracted and fragmented of 718 bp in size amplified using PCR –RFLP method. To determine the restriction site in intron 2 of GHR gene for the birds of the experiment , *HindIII* endonuclease and the result digested products were run 1.8 agarose gel . The body composition as well as biochemical characteristic of the birds were measured. Treatment of the fragment at GHR loci with *HindIII* restriction enzyme was revealed R1R1 and R2R2 . According to the result , The genotype R1R1 recorded ( 290, 258 and 170bp ) , R2R2 ( 428 and 290 ) . The comparison of the least square means of different genotypes indicated that polymorphism in the GHR gene was significantly (  $p \leq 0.05$  ) associated with biochemical traits ( albumen , glucose and protein ) and body composition ( body weight at 34 weeks , breast circumference and length of the tibia bone ) in Iraqi local chicken . According to the results , GHR gene could be considered a gene that can affect some biochemical traits and body composition in Iraqi local chicken , which can be used as genetic marker in selection program for domestic birds.

### المصادر

- 1-Bingxue, Y., Xuemei, D., Jing, F. , Xiaoxiang, H. , Changxin, W. and Ning, L. 2003.** Single nucleotide polymorphism analysis in chicken growth hormone gene and its associations with growth and carcass traits. *Chinese Sci Bull* 48(15): 1561-1564.
- 2-Tanaka, H. H. , Levin, I. , Vallejo, R. L. , Khatib, H. , Dodgson, J. B. , Crittenden, L. B. and Hillel, J. 1995.** Development of a genetic map of the chicken with markers of utility. *Poult. Sci.* 74:1855–1874.
- 3-Moutoussamy, S., Kelly, P.A. and Finidori, J. 1998.** Growth hormone-receptor and cytokine receptor-family signaling. *European Journal of Biochemistry* 255: 1-11.
- 4-Isaksson, O.G.P., Eden ., S. and Jansson, J.O. 1985.** Mode of action of pituitary growth hormone on target cells. *Annual Review of Physio.* 47: 483-499.
- 5-Burnside, J., Liou, S.S. and Cogburn, L.A. 1991 .** Molecular cloning of the chicken growth hormone receptor complementary deoxyribonucleic acid: mutation of the gene in sex linked dwarf chickens. *Endocrinology* 128: 3183-3192.
- 6-Godowski, P.J., Leung , D.W., Meacham , L.R., Galgani, J.P., Bellmis, R. , Keret , Re. , Parks , J.S. , Laron, Z. and Wood, W.I. 1989.** haracterization of the human growth hormone receptor gene and demonstration of a partial gene deletion in two patients with Laran-type dwarfism. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 86:
- 7-Mehdi ,S., Hamidreza, S . , Abolfazl, G . and Nosratollah, Z. 2014.** Growth Hormone Receptor Gene Polymorphism and its Associations with Some Growth traits in West-Azarbaijan Native chicken. *Bull. Env.Pharmacol. Life Sci., Vol 3 [6]May:* 140-143.8083-8087.
- 8-Yazdanpanah, A., Roshanfeker, H. , Mirzadeh, K. , Mamouei, M. and Khederzadeh, S. 2013.** Polymorphism of insulin like growth factor 1 gene in najdi cattle populations. *Am.J. Biochem Biotechnology* 9 (3): 300-306. 3.
- 9-Edens, A. and Talamantes, F. 1998.** Alternative processing of growth hormone receptor transcripts. *Endocr Rev,* 19, 559-582.
- 10-Feng, X.P., Kuhnlein , U. , Aggrey , S.E. , Gavora, J.S. and Zadworny, O. 1997.** Trait association of genetic markers in the growth hormone and growth

hormone receptor genes in a white leghorn strain. *Poultry Science* 76: 1770-1775.

**11-Stephen, C.Y Ip, X. Zhang and F.C. Leung. 2001 .**Genomic growth hormone gene polymorphism in native Chinese chickens. *Experimental Biology and Medicine*. 226:458-462.

**12-Thakur, M. S., S.N.S. Parmar ,T. C. Tolankhomba, P. N. Srivastava, C.G. Joshi, D.N. Rank ,J.V.Solanki and P.V.A. Pillai .2006 .**Growth hormone gene polymorphism in Kadaknath breed of poultry. *Indian Journal of Biotechnology* 5:189-194.

**13-SAS. 2001.** Statistical Analysis System, User's Guide. Statistical. Version 9.1<sup>th</sup> ed. Inst. Inc. Cary. N.C.USA.

**14-Duncan, D.B.1955.** Multiple Rang and Multiple F-test. *Biometrics*. 11:

**15-Muhannad M. AL-Arekabi, Eman H.AL-Anbari, Iman H. AL- AL-Dulaimi HameedAL- Ziaidi and 1Yousif O. AL- Dreesaoy.2017.**Identification of HindIII polymorphisms in the two introne of GHR gene in native **Iraqi chicken**. *International Journal of Current Research* Vol. 9, Issue, 05, pp.50153-50155.

**16-Hui, F.L., Wen, Z., Kuau , W. ,Xu, Qing, W. P. and Yu, S. 2008.**Associations between GHR and IGF- I Gene polymorphisms and reproductive traits in Wenchang chicken . *Turk . J. Vet. Anim. Sci.* 32(4) : 281 -285 .

**17-Babak, E., and Ghodart, R. 2009 .**Genomic growth hormone ,growth hormone receptor ,transforming growth factor  $\beta$  -3 gene polymorphism in breed hen of Mazandaran native fowls. *African journal of Biotechnology*. Vol.8 ( 14 ) . pp. 3154- 3159.

**18-Feng, X.P., Kuhnlein, U. ,Fairfull, R.W. ,Aggrey, S.E. , Yao, J. and Zadwomy, D. 1998.** A genetic marker in the growth hormone receptor gene associated with body weight in chickens. *J Hered*, 89, 355-359.

**19-Wilcox, G., 2005.** Insulin and Insulin Resistance. *Clin. Biochem. Rev.* 26: 19-39.

**20-Aggrey, S.E., M. Lessard, D. Hutchings, S. Joseph, X. P. Feng, D. Zadwomy and U. Kuhnlein .1996.** Association of genetic markers with immune traits. *Proceedings of the 5th International symposium on Marek's disease*. 80-85.