العلاقة بين تعدد المظاهر الوراثية لجين اللبتين والنمو في الحملان العواسية

عادل حسين راضي المرشدي حافظ موسى علي الطائي علاوي العيبي داغر الخزاعي
كلية الزراعة/ جامعة القاسم الخضراء كلية الزراعة/ جامعة القادسية

الخلاصة :

أجريت هذه الدراسة في كلية الزراعة / جامعة القاسم الخضراء للفترة من 13 / 2 / 2014 ولغاية 15 / 5 / 2014، وتضمنت 31 حملاً من سلالة الأغنام العواسية من محافظة بابل بمتوسط عمر أربعة أشهر وبمتوسط وزن 27.903 ± 3.410 كغم، وتهدف هذه الدراسة إلى دراسة العلاقة بين تعدد المظاهر الوراثية لجين اللبتين والنمو في الحملان العواسية ويمكن تلخيص نتائج الدراسة الحالية بما يأتي :

1 سجلت المظاهر الوراثية AA، AH و AM أعلى وزناً ($P < 0.05$) ، إذ بلغت 44.650، 41.593 و 43.683 كغم على التوالي مقارنةً بالمظهر الوراثي AR (34.250).

2 حقق المظهران الوراثيان AB و AH أعلى زيادة وزنية ($P < 0.05$) ، حيث بلغت 14.250 و 14.210 كغم على التوالي، وأقلها للمظهرين الوراثيين AA 10.400 كغم و AR 10.500 كغم.

The Correlation between polymorphism of leptin gene and growth of Awassi lambs

Abstract:

This study was carried out in college of Agriculture / Al-Qasim Green University, for 13/2/2014 until 1/5/2014 included thirty one lambs with average age of four months and average weight of 27.903 ± 3.410 kg.

Unb uThe current study was aimed to the study of The Correlation between polymorphism of leptin gene and growth of Awassi lambs.

The results of the current study can be summarized as follows:

1 AA , AH and AM genotypes for the lambs of Babylon province were recorded higher weight ($P < 0.05$) which were 44.650 , 41.593 and 43.683 kg respectively compared to AR genotype (34.250 kg) .

2 AB and AH genotypes inquired the highest significant weight gain (14.250 and 14.210 kg respectively), and the lowest weight gain was for AA and AR genotypes (10.400 and 10.500 kg respectively).

المقدمة :

تنتمي الأغنام العراقية الى الأغنام الأسيوية ذات الألية العريضة وتشمل ثلاثة عروق هي الكرادي والعواسي والعرابي ، وتعد الأغنام أحد أهم مصادر الثروة الحيوانية في العراق وتمثل جزءاً كبيراً من الدخل القومي الزراعي ، تربى وتعيش على هامش الزراعة والمراعي الطبيعية، لذا فان إنتاجها وخصوبتها منخفضة مما يستوجب العناية بها بالطرائق العلمية والتقنية الحديثة (الحلو، 2005)

ونتيجة لتطور علم الوراثة الجزيئية أصبح بالإمكان تحديد الواسمات الوراثية ذات الإرتباط العالي بجزء أو أكثر من تركيب الحامض النووي DNA للجينات ذات التأثير الرئيس في الصفات الإقتصادية (Field،2007) .

البحث مستل من رسالة الماجستير للباحث الأول

ISSN 2072-3875

يرتبط هرمون اللبتين بالصفات المهمة في تربية الحيوان، مثل العلف المتناول ومحتوى الدهن في اللحم ونوعية اللحوم (Geary وجماعته، 2003)، ومن ناحية أخرى اعتبر المظهر الوراثي لهذا لجين هرمون اللبتين دليلاً على الاختلافات النسبية بين الأفراد للصفات أعلاه، وأصبحت واسمات هذا الجين جزءاً من خطة تحديد التراكيب الوراثية تجارياً لتصميم مايسمى بالواسمات المساعدة للانتخاب (Marker assisted selection) في أنواع عديدة من الحيوانات الزراعية (Nkrumah وجماعته، 2005 ; Schenkel وجماعته،2005)، ينتج ويفرز هرمون اللبتين من قبل النسيج الدهني وبالأخص النسيج الدهني الأبيض الذي يعد المصدر الرئيسي لإنتاج هرمون اللبتين في الإنسان الذي يقع بشكل رئيس تحت الجلد، كما يمكن أن يفرز من أنسجة أخرى مثل المشيمة والعضلة الهيكلية (Klein وجماعته، 1996 ; Jin وجماعته، 2000) .

يمثل نمو لعدة أنواع من الخلايا مثل الخلايا اللمفاوية وخلايا القصبة الهوائية الطلائية والخلايا الحرشفية للرئة والخلية البنكرياسية والخلايا الجنينية ، وإن بيولوجيا هرمون اللبتين في الماشية مشابهة لما موجود في الانسان (Agarwal وجماعته، 2009) ، حيث يلعب دوراً مهماً في العديد من الفعاليات والوظائف الفسلجية مثل النمو الجنيني ووزن الجسم من خلال السيطرة على كمية الغذاء وتنظيم الأداء للإنتاج في الحيوانات، وأيضاً يشترك هرمون اللبتين في السيطرة المركزية والخارجية لاستقرار الجسم (Homeostasis) والاستفادة من الطاقة وخزنها وأفعال التناسل والمناعة (Tartaglia وجماعته، 1995 ; Barb وجماعته، 2001) ، أما جين اللبتين فيمثل أحد الجينات المحتملة التي تؤثر بشكل رئيس في الإفراز الذي يؤدي في النهاية الى الأيض الكامل لطاقة الجسم (Chilliard وجماعته، 2005). يقع جين أو مورث اللبتين على الكروموسوم الرابع في الأبقار والأغنام والماعز ويقع مستقبل هرمون اللبتين للعائلة البقرية على الكروموسوم الثالث أما في الانسان فيقع جين اللبتين على الكروموسوم السابع (Perucatti وجماعته، 2006).

تعد صفة وزن الجسم والزيادات الوزنية من المعايير الإنتاجية المهمة في تربية الأغنام والتي تتأثر بالعوامل البيئية والوراثية (Dickerson، 1978).

عند تحليل علاقة المظهر الوراثي للبتين مع الزيادة الوزنية في أغنام البلوش الإيرانية وجد علاقة معنوية ($P < 0.1$) بينهما منذ الولادة الى عمر ثلاثة أشهر (Tahmures Poor وجماعته، 2009). كما أكدت الدراسات وجود ارتباط معنوي لصفات الذبائح وكمية اللحم وموقع جين اللبتين في سلالة الأغنام الإيرانية Shal و Zel بينما لم تلاحظ هذه العلاقة في سلالة Zandi (Boucher وجماعته، 2006 ; Barzehkar وجماعته، 2009) .

وجد Delavaud وجماعته (2000) في دراسة على الأغنام إن هناك علاقة خطية بين تركيز هرمون اللبتين في المصل ووزن الجسم إذ لوحظ وجود ارتباط عالي المعنوية بين تركيز هرمون اللبتين مع كل من وزن الجسم وترسيب الدهن حيث بلغت 0.72 و 0.68 على التوالي، واتفقت هذه النتائج أيضا مع الدراسة التي أجريت على الأبقار، إذ لوحظ فيها وجود ارتباط عالي المعنوية بين تركيز هرمون اللبتين في المصل والزيادة الوزنية (0.83) وان التغير في وزن الجسم يؤثر في تركيز هرمون اللبتين، حيث يمكن اعتبار ارتفاع تركيز هذا الهرمون مؤشراً على تحسن حالة الجسم في الأبقار (Leon وجماعته، 2004). في حين وجد ارتباط ضعيف بين وزن جسم النعاج وتركيز هرمون اللبتين في فترة ما بعد الولادة (Mcfadin وجماعته، 2002) .

كما وجد أن هناك ارتباطاً وثيقاً بين كتلة الجسم Body Mass Index (BMI) والنسبة المئوية لدهن الجسم والوزن الحي وتركيز اللبتين ووفرة leptin mRNA في النسيج الدهني لكلا الجنسين في الانسان والمجترات والقوارض (Maffei وجماعته، 1995 ;Liefers وجماعته، 2003a) .

يتأثر تركيز اللبتين بكل من التغذية والوزن وحجم الخلايا الدهنية والتكاثر كما انه يتأثر بالتغيرات في المراحل الفسلجية مثل الحمل وإنتاج الحليب (Sinha وجماعته، 1996)، في حين كان للسلالة تأثير بسيطاً على تركيزه في مصل الدم (Delavaud وجماعته، 2002).

المواد وطرائق العمل :

أجريت هذه الدراسة في كلية الزراعة / جامعة القاسم الخضراء للفترة من 13 / 2 / 2014 ولغاية 1

ISSN 2072-3875

/ 5 / 2014، وتضمنت 31 حملاً من سلالة الأغنام العواسية من محافظة بابل بمتوسط عمر أربعة أشهر وبمتوسط وزن 27.903 ± 3.410 كغم، وبعد أن أجريت عليها الفحوصات البيطرية أعطيت اللقاحات اللازمة وجرعت ضد الديدان الكبدية وقدم لها الماء ومكعبات الأملاح المعدنية بصورة حرة وقدمت لها عليقة يومية على أساس 3% من وزن الجسم الحي حاوية على 300 غم من نخالة الحنطة و 200 غم شعير و 200 غم طحين الحنطة و 200 غم من العلف الأخضر لكل رأس وبوجبتين يومياً عند الساعة السابعة صباحاً والساعة الخامسة مساءاً فضلاً عن خروج الحملان للرعي في الحقول القريبة ووزنت الحيوانات كل أسبوعين، كما تم تنظيف منطقة سحب عينات الدم (الوريد الوداجي) من الصوف وتعقيمها بالكحول الأثيلي ثم سحبت عينات الدم بواسطة المحاقن الطبية وبمعدل 5 مل ووضع الدم المسحوب في انابيب اختبار حاوية على المادة المانعة للتخثر (EDTA).

استخلاص DNA من الدم

أستخلص الحامض النووي منقوص الاوكسجين (DNA) من الدم باستخدام عدة (Kit) المجهز من قبل شركة Genaid – Taiwan اعتماداً على الخطوات التي أشارت إليها الشركة المجهزة.

تضخيم نسخ الحامض النووي DNA

ضخمت نسخ الحامض النووي DNA باستخدام تقنية التفاعل السلسلي للبوليمريز (PCR Polymerase Chain Reaction)، وتم ضبط PCR القياسي حسب ما جاء به Barzehkar وجماعته (2009) مع إجراء بعض التعديلات اللازمة.

طريقة التشكل الموافق للخيط المفرد

Polymerase Chain Reaction – Single strand conformation polymorphism (PCR – SSCP)

استخدمت طريقة التشكل الموافق للخيط المفرد (PCR – SSCP) لتحديد المظاهر الوراثية لموقع اللبتين وطبقت الطريقة على ناتج PCR وفقاً لما جاء به Orita (1989) مع إجراء بعض التعديلات اللازمة.

التحليل الأحصائي

تم تحليل بيانات الدراسة الحالية (النمو والزيادة الوزنية) باستخدام التصميم العشوائي الكامل للإيجاد تأثير المظاهر الوراثية في الصفات أعلاه، اعتماداً على البرنامج الإحصائي الجاهز SPSS (2006).

النتائج والمناقشة :

أشارت نتائج الدراسة الحالية الى تفوق المجموعات الوراثية ذات المظاهر الوراثية AA ، AH و AM معنوياً ($P < 0.05$) مقارنة مع المجموعة الوراثية ذات المظهر الوراثي AR حيث كانت الأوزان للمظاهر الوراثية AA، AH و AM 44.650، 41.592 و43.683 كغم على التوالي في حين كان وزن الجسم للمظهر الوراثي AR 34.250 كغم ، أما بالنسبة للزيادة الوزنية تفوق المظهران الوراثيان AB و AH معنوياً ($P < 0.05$) على المظهرين الوراثيين AA و AR حيث كانت الزيادة الوزنية للمظهرين الوراثيين AB 14.250كغم و AH 14.210 كغم بينما الزيادة الوزنية للمظهريين الوراثيين AA و AR هي 10.400 و 10.500 كغم على التوالي، الجدول (1) .

اتفقت هذه النتائج مع ما توصل اليه Barzehkar وجماعته (2009) ، حيث إن سلالة شال ذات المظهر الوراثي AG تفوقت معنوياً ($P < 0.01$) على نظيراتها من نفس السلالة.

وجد أيضاً Tahmures Poorوجماعته (2009) تأثيراً معنوياً ($P < 0.01$) عند تحليل علاقة التشكل الوراثي لجين اللبتين مع الزيادة الوزنية اليومية منذ الولادة الى عمر 3 أشهر في أغنام البلوش الإيرانية.

في حين وجد Shojaei وجماعته (2010) أنَه لم تظهر فروق معنوية بين المظاهر الوراثية لجين اللبتين لصفة وزن الجسم عند الميلاد، وأعلى متوسط وزن حصل عليه المظهر الوراثي AC، بينما لوحظت فروق معنوية ($P < 0.01$) بعمر 3 اشهر، و كان أعلى متوسط وزن للمظهر الوراثي ABE، أما بعمر 6 أشهر فكان أعلى متوسط وزن للمظهرين الوراثيين AC و ABCF، كما امتلك المظهر الوراثي الأخير فرقاً معنوياً في وزن الجسم بعمر 9 أشهر و 12 شهراً بالمقارنة مع المظاهر الوراثية الاخرى.

ISSN 2072-3875

جدول (1). متوسط وزن الجسم (كغم) والزيادة الوزنية الكلية (كغم) للمظاهر الوراثية لسلالة الحملان العواسية .

الصفة	المظهر الوراثي	العدد	المتوسط ± الخطأ القياسي
وزن الجسم (كغم)	AA	2	$44.650^{ab} \pm 0.050$
	AB	2	$40.500^{bc} \pm 0.100$
	AH	20	$41.593^{ab} \pm 0.826$
	AM	3	$43.683^{ab} \pm 1.742$
	AR	2	$34.250^{c} \pm 0.300$
	AS	2	$40.750^{bc} \pm 0.050$
الزيادة الوزنية الكلية (كغم)	AA	2	$10.400^{c} \pm 0.050$
	AB	2	$14.250^{b} \pm 0.000$
	AH	20	$14.210^{b} \pm 0.594$
	AM	3	$13.433^{bc} \pm 0.044$
	AR	2	$10.500^{c} \pm 0.050$
	AS	2	$11.700^{bc} \pm 0.050$

الحروف المختلفة الصغيرة تشير الى وجود فروق معنوية ($P < 0.05$) .

المصادر :

الحلو، مرتضى فرج عبد الحسين. (2005). استخدام بعض المعايير الدمية والكيمياحيوية دليلا للنمو ودراسة البلوغ الجنسي وصفات الصوف في الحملان العرابية. رسالة ماجستير، كلية الزراعة – جامعة البصرة.

Agarwal, R., Rout, P.K. and Singh, S.K. (2009). Leptin : A Bimolecular for enhancing livestock productivity. *Indian J. Of Biotechnology*. 8 : 169 – 176.

Barb , C.R., Hausman , G. J., Houseknecht, K. L. (2001) . Biology of leptin in the pig. Domestic Animal Endocrinology 21 : 297 _ 317.

Barzehkar, R., Salehi, A. and Mahjoubi , F. (2009) Polymorphisms of the ovine leptin gene and its association with growth and carcass traits in three Iranian sheep breeds.J. Biotechnology , 7 (4) : 241 – 246.

Boucher , D. , Palin , M. F. , Castonguay, F. , Gariepy , and Pothier , F. (2006) . Drtection of polymorphism in the ovine leptin (*LEP*) Gene : Association of a single nucleotide polymorphism with muscle growth and meat quality traits. Can. J. Anim. Sci. 86 : 31 – 35.

Chilliard , Y., Deavaud, C. and Bonnet, M. (2005) . Leptin expression in ruminants : nutritional and physiological regulations in relation with energy metabolism. In : Domest. Animal Endocrinol , 29 : 3 – 22.

Delavaud , C., Bocquier , F., Chilliard, Y., Keisler, D.H., Gertler, A. And Kann, G. (2000) . Plasma leptin determination in ruminants :

ISSN 2072-3875

Plasma concentrations of leptin , insulin – like growth factor – I , and insulin in relation to changes in bodycondition score in heifers. J. Anim. Sci. 82 : 445 – 451

Liefers , S. C. , Veerkamp ,R. F., Tepas , M. F. W. , Delavaud, C., Chilliard , Y. And van der Lende , T. (2003 a). Leptin concentrations in relation to energy balance , milk yield , intake , live weight , and estrus in dairy cows. J. Dairy Sci. 86 : 799 – 807.

Maffei , M., Halaas , J. L., Ravussin , E., Pratley , R. E., Lee,G. H. , Zhang , Y. , Fei, H., Kim , S., Lallone , R., Ranganathan , S., Kern , P. A. And Friedman , J. M. (1965) . Leptin levels in human and rodent : Measurement of plasma leptin and ob RNA in obese and weight reduced subjects. Nat. Med. 1 : 1155 – 1161.

Mcfadin , E. L., Morrison , C. D., Buff, P. R., Whitley , N. C. And Keisler , D. H. (2002) . Leptin concentrations in periparturient ewes and their subsequent offspring. J. Anum. Sci. 80 : 738 - 743.

Nkrumah, J.D., Li,C., Yu, J., Hansen, C., Keisler, D.H. Moore, S. (2005) . Polymorphisms in the bovine leptin promoter associated with serum leptin concentration, growth, feed intake , feeding behavior, and measures of carcass merit. J. Anim. Sci. 83 : 20 – 8.

Orita, M., Iwahana, H., Kanazawa, H., Hayashi, K., Sekiya, T., 1989. effect of nutritional status and body fatness on plasma leptin concentration assessed by a specific RIAin sheep. J. Endocrinol, 65: 519 – 526.

Delavaud, C., Ferlay, A., Falconnier, Y., Bocquier, F., Kan and Chilliard, Y. (2002). Plasma leptin concentrat in adult cattle : Effect of breed , adiposity , feeding level, and meal intake. J Anim. Sci. 80 : 1317 – 1328.

Dickerson , G. E. (1978) . Cross breeding evaluation of finn sheep and some U. S. breeds for market lamb production. North Central Regional Publication. No. 246.

Field, T. G. (2007). Beef production and Management Decisions 5th Ed. Prentice Hall.

Geary , T. W., Mc Fadin , E. L. , Mac Neil,M. D., Grings , E. F., Short, R. R., Funston, R. N. and Keisler , D. H. (2003). Leptin as a predictor of carcass composition in beef cattle. j. Anim. Sci. 81 : 18.

Jin , L., Zhang , S., Burguera , B. G., Couce , M. E., Osamura, R. Y., Kulig , E. and Lloyd, R. V. (2000) . Leptin and leptin receptor expression in rat and mouse pituitary cells. Endocrinology. 141 : 333 – 339.

Klein ,S., Coppack, S. W., Mohamed – Ali , V. and Landt, M. (1996) . Adipose tissue leptin production and plasma leptin Kinetics in humans. Diabetes. 45 : 984 – 987.

Leon , H. V. , Ceron , J. H. , Keisler , D. H. And Gutierrez , C. G. (2004).

ISSN 2072-3875

Sinha , M. K., Ohannesian, J. P., Heiman, M. L., Kriauciunas, A., Stephens, T. W., Magosin, S., Marco , C. and Caro, J. F. (1996) . Nocturnal rise of leptin in lean , obese and non – insulin dependent Diabetes mellitus subjects. J. Clin. Invest. 97 : 1344 – 1347.

SPSS. (2006) . Statistical Packages of Social Sciences. Version 20.USA.

Tahmures Poor , M. , Nassiry , M. R. , Ansary , M., Heravi Mousavi , A., Vafaye vale , M. And Eftekhari Shahroudi , F. (2009) . Analysis of *Leptin* gene polymorphism and their association with average daily gain trait in Baluchi sheep. 3 rd Congress of Animal Science Mashhad , Iran.

Tartaglia, L. A., Dembski, M., Weng , X., Deng, N., Culpepper, J., Devos, R., Richards , G. J., Campfield, L. A., Clark, F. T., Deeds, J., Muis, C., Sanker , S., Moriarty, A., Moore, K. J., Smutko, J. S., Mays, G. G. Woolf, E. A., Monroe, C. A. and Tepper, R. I. (1995). Identification and expression cloning of a leptin receptor, Ob – R. Cell. 83 : 1263 – 1271.

Detection of polymorphisms of human DNA by gel electrophoresis as single-strand conformation polymorphisms. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86: 2766-2770.

Perucatti, A., Di MEO, G. P., Vallinoto, M., Kierstein, G.,Schneider , M. P. C., Incarnato , D. ,Caputi Jambrenghi, A. , Mohammadi, G., Vonghia, Silva, A., Brenig , B. And Iannuzzi , L. (2006) . FISH – mapping of *LEP*. And *SLC26A2* genes in sheep , goat and cattle R – banded chromosomes : comparison between bovine , ovine and caprine chromosome 4 (BTA4 / OAR4 / CH14) and human chromosome 7 (HSA7). Cytogenet Genome Res.115 :7 – 9.

Schenkel, F.S., S.P. Miller, X. Ye, S.S. Moore, J.D. Nkrumah, C. Li, J. Yu, I.B. Mandell, J.W. Wilton and J.L. Williams. 2005. Association of single nucleotide polymorphisms in the leptin gene with carcass and meat quality traits of beef cattle. J. Anim. Sci. 83: 2009 – 2020.

Shojaei , M. , Abadi , M. M. , Foze , M. A. , Dayani , O. , Khezri , A. And Akhondi , M. (2010) . Association of growth trait and *Leptin* gene polymorphism in Kermani sheep. Journal of Cell and Molecular Research. 2 , (1) : 67 – 73.

ISSN 2072-3875