التشكل الوراثي لبروتين ناقل الحديد (الترانسفيرين) في دم الأبقار المحلية والمضربة

طالب احمد جايد منتهى يعقوب يوسف

فالح حسن حمد جعفر محمد عويد

الملخص

أجريت هذه الدراسة في محطة الأبحاث الزراعية، جامعة البصرة وعدد من قطعان التربية في محافظة البصرة. كان عدد العينات 50 عينة واستخدمت طريقة الترحيل الكهربائي العمودية بوجود مادة متعدد الأكريل آمايد Polyacrylamide Gel Electrophoresis (PAGE). كان الهدف من الدراسة هو معرفة وجود ظاهرة التشكل الوراثي في حيواناتنا المحلية والمضربة لجين الترانسفرين وإجراء مسح بصدد وجود أو عدم وجود أليلات الترانسفرين. تم استخدام جهاز توثيق البيانات (Gel Documentation) في تصوير العينات وتحويل الهلامات إلى بيانات حقيقية بمساعدة برنامج تطبيقي متخصص استورد من جامعة كامبرج البريطانية. أوضحت الدراسة وجود ظاهرة التشكل الوراثي لجين الترانسفرين بحيث تم اكتشاف أكثر من أليل واحد وبالتالي أكثر من تركيب وراثي (ستة تراكيب وراثية) منها ثلاثة تراكيب وراثية متماثلة (AA، DD وEE) وثلاثة تراكيب وراثية غير متماثلة (AD، AE و DE) مسؤول عنها ثلاثة أليلات (A، D وE) تتوارث حسب قوانين مندل وحسب السيادة المشتركة. تفوق الأليل D على كل من الأليل A و E (0.71، 0.17 و0.12) على التوالي. هذه النتائج أثرت حتى على التراكيب الوراثية الستة، إذ تفوق التركيب الوراثي المتماثل DD (50%)، تلاه التركيب الوراثي غير المتماثل AD (28%) وبعده التركيب الوراثي غير المتماثل DE (14%)، ثم مثلت نسبة التراكيب الحاوية على الأليل D 92% والباقي توزع على التراكيب الوراثية AA ، EE و AE (2، 4 و2)% على التوالي. وجد اتفاق بين الأعداد المتوقعة والملاحظة للتراكيب الوراثية على أساس قانون هاردي واينبرغ ($x^2 = 1.86$). وبالتالي كان هناك اتزان في عشائر الحيوانات المأخوذة منها العينات. هذه أول دراسة في العراق كان الهدف منها إجراء مسح بصدد وجود أو عدم وجود أليلات الترانسفرين. تم اكتشاف مجموعة من الاليلات ممكن الاستفادة منها في برامج التحسين الوراثي للحيوانات المحلية والحفاظ على تنوعها الحيوي.

المقدمة

تعد سلالات الماشية جزءا أساسا من التنوع الحيوي (7). ففي أوربا تم تقسيم سلالات الماشية وراثيا، وهذا التقسيم يحفز على فصل العشائر وراثياً من خلال التعمق العلمي في إجراء بحوث الوراثة الجزيئية سواء أكان على مستوى علم الأحياء الجزيئي أي البروتينات أم على مستوى اللغة النووية أي الدراسات الخاصة بالحامض النووي الوراثي. في الوقت نفسه، فان هناك سلالات على وشك الانهيار أو الانقراض, ربما كانت فريدة من نوعها في بعض الصفات مثلاً صفات المقاومة للظروف البيئية القاسية في هذه المنطقة أو تلك، وكذلك التأقلم للظروف المناخية السائدة للتغذية والأمراض التي من الصعوبة استرداد أو إعادة المناخ إلى وضعه الطبيعي. وبدأت السلالات تنتخب انسجاما مع تطلعات الإنسان. وهذا أدى إلى استخدام ظاهرة الانجراف الوراثي والانتخاب التي ساعدت كثيراً في الحفاظ على التنوع الوراثي في السلالات الأوربية (6)، وبالنتيجة فانه يمكن إرجاع السلالات الفريدة من خلال مجموعة من

كلية الزراعة- جامعة البصرة- البصرة، العراق.

العمليات المعقدة كتقانة النقل الجيني وغيرها من التقانات التي ساعدت وبشكل ملفت للنظر في المحافظة على التنـــوع الحيوي الوراثي في عموم أوربا (17).

هناك عوامل ساعدت على تدهور القيمة الوراثية – التنوع الحيوي لبعض السلالات بسبب لجوء المربين الى تركيز بعض الصفات الاقتصادية لدى حيواناتهم. هناك أكثر من 16% من سلالات الماشية المحلية انقرضت وأكثر من 15% تحت خط الانقراض أي أصبحت نادرة (7). لان العديد من خصائص هذه السلالات النادرة اما ان لها خصائص لا تتناسب مع متطلبات الوقت الحاضر او ان صفاتها مازالت غير معروفة حتى الآن. أما السلالات المتخصصة في إنتاج معين فإنها تنتشر وتتركز بسرعة كبيرة على شكل قطعان تربية وبمرور الوقت تنعزل السلالات التي يطلق عليها بالسلالات الطبيعية وبالتالي زيادة التدهور في صفاتها وزيادة نسبة التربية الداخلية لسلالات أخرى. الأمر الذي أدى إلى زيادة الحاجة لأجراء مزيد من البحوث عن سلالات سائدة تملك مواصفات تنوع حيوي عالي قد تكون هذه الأنواع أو السلالات هي برية في طبيعتها أو غير منتجة بشكل جيد ولكن سيكون هدفها خزين إستراتيجي كبير للأجيال القادمة بحكم تأقلمها للبيئة التي تعيش فيها وإمكان اكتشاف مزيد من الاليلات فيها، قد تصل إلى أكثر من 10 أليلات. إن هذه الاليلات لها فائدة كبيرة في إجراء عمليات الانتخاب وبشكل مرن على اعتبار وجود مجموعة كبيرة من التراكيب الوراثية تصل إلى أكثر من 20 تركيبا وراثيا (21). من بين هذه الجينات هو جين الترانسفرين (4).

إن أول من عمل على جين الترانسفرين في الأبقار هم 3، 4، 6، 7 و20 وذلك باستخدام هلام النشا. ثم توالت التجارب والبحوث على بقية حيوانات المزرعة ومنها ماشية الزيبو (4،9). وفي الوقت الحاضر بدأت تتوسع البحوث في كثير من الدول فيما يخص توارث جين الترانسفرين في الأبقار، فقد وجد Zitny وجماعته (18) ستة تراكيب وراثية لهذا الجين في حين وجد Jolanta وجماعته (14) تسعة تراكيب وراثية. أما في العراق، فقد بدأت الدراسات حديثا في هذا الموضوع، إذ درس حمد (2) هذا الجين في الجاموس ودرس جايد وجماعته (1) هذا الجين في الأغنام العرابية كما تمت دراسته في اسماك الكارب المحلية (12،13).

توجد في العراق وكما هو الحال في أوربا وكثير من الدول الآسيوية مجموعة لا باس بها من الحيوانات المحلية ومجموعة من الحيوانات الخليطة مع الحيوانات الأجنبية التي استوردت في سبعينيات القرن الماضي مثل الهولشتاين والجرسي والجرنسي والفريزيان والهرفورد وحدث تدهور كبير جداً في تنوعها الوراثي وهذا بحاجة إلى تفسير علمي وراثي. من بين السلالات المحلية في العراق هي سلالة الأبقار الجنوبية، تمثل هذه السلالة تقريبا (20%). لقد جاءت دراستنا لتوضيح العلاقة الوراثية بينه وبين الأبقار الخليطة مع الفريزيان والجرنسي نظرا لانتشارها بكثافة في جنوب العراق.

مواد وطرائق البحث

سحبت عينات دم من ثلاث مجاميع من الأبقار. العدد الكلي للأبقار 50 حيوانا. وحفظ بالطرق الاعتيادية وأجريت طريقة الترحيل الكهربائي العمودي حسب طريقة Jaayid وKhaertdinov (11) والمحورة باستعمال تركيزين من الهلام (جدول 1).

تحليل عينات الترحيل الكهربائي

تم تحليل عينات الترحيل الكهربائي بجهاز توثيق البيانات Gel Documentation المصنع من شركة Cleaver Scientific Ltd البريطانية سنة 2009 ومزود ببرنامج تطبيقي من جامعـــة كامبـــرج البريطانيـــة

(شكل 1). من خلال هذا البرنامج يمكن تحويل الحزم الموجودة في الهلام إلى أشكال معينة تعكس حجم ونوع الحزم وعددها، وكذلك يمكن من خلال هذا البرنامج تحويل الحزم الموجودة في الهلام إلى بيانات رقمية أي كمية.

التحليل الإحصائي: لحساب التراكيب الوراثية، استخدمت طريقة العد المباشر. ولحساب تكرار الجين استخدمت المعادلة التالية:

$$q = \frac{2(x1x1) + (x1x2) + (x1x3).....(x1xn)}{2N}$$

إذ يمثل q تكرار الأليل الأول.

x1x1= عدد التراكيب الوراثية المتماثلة للاليل الأول.

x1x2 و x1x3 و x1xn= عدد التراكيب الوراثية غير المتماثلة للاليل الأول.

N= العدد الكلي للحيوانات قيد الدراسة.

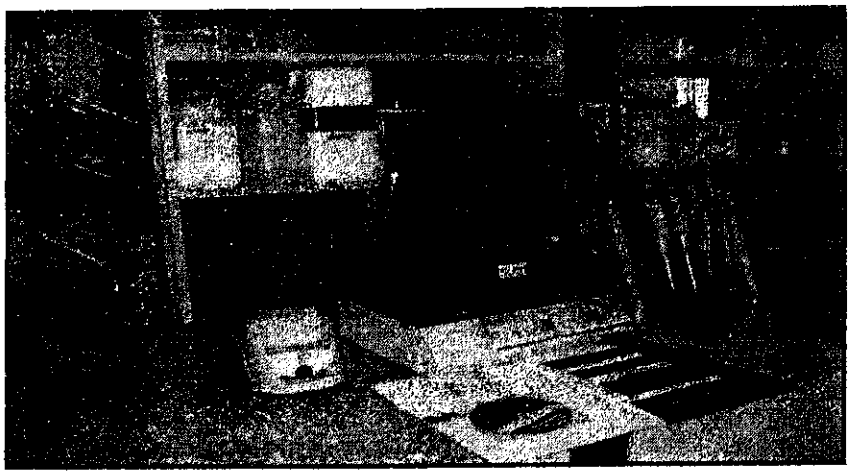
لبيان اتزان العشيرة استخدمت المعادلة التالية:

$$\chi 2 = \sum \frac{(O - E)^2}{E}$$

إذ تمثل O البيانات الملاحظة بينما تمثل E البيانات المتوقعة.

جدول 1: نظام الترحيل الكهربائي لترانسفرين دم الأبقار المحلية والمضربة (الأس الهيدروجيني 8.9)

هلام الانفصال			هلام التركيز			
رقم المحلول	كمية المحلول / 100 مل	كمية المحلول في الخليط	رقم المحلول	كمية المحلول / 100 مل	كمية المحلول في الخليط	كمية المحلول/ 1000 مل
1	حامض الهيدروكلوريك 48.0 مل	جزء واحد	4	الفوسفات المائية (25.6 مل)	جزء واحد	ترس 6.0 غم
	ترس 36.6 غم			ترس 5.7 غم)		
	تيميد 0.5 مل			تيميد 1.0 مل		
2	أكريلأمايد 30.0 غم	جزأين	5	أكريلأمايد 15.0 غم	جزأين	كلايسين 28.8 غرام
	مثيلين بز أكريلأمايد 1.0 غم			مثيلين بز أكريلأمايد 2.5 غم		
3	بير سلفات الأمونيوم 0.28 غم	أربعة أجزاء	6	رايبوفلافين 4.0 ملغم	جزء واحد	
	يوريا 9 مولاري		7	سكروز 40.0 غم	أربعة أجزاء	



شكل 1: جهاز توثيق البيانات (Gel Documentation) مع البرنامج التطبيقي.

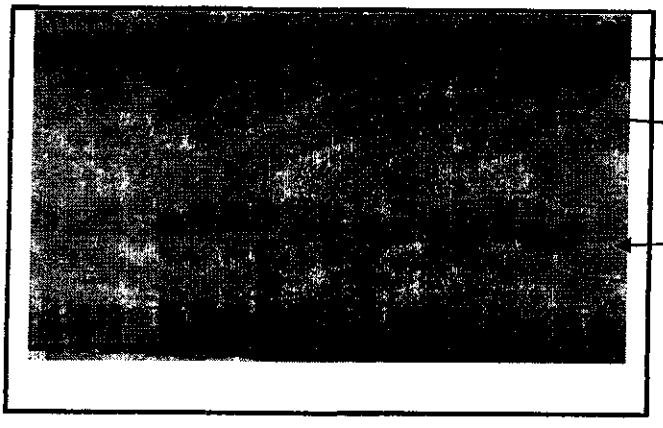
النتائج والمناقشة

أظهرت الدراسة الحالية الكشف عن مجموعة من بروتينات الدم التي قسمت حسب انخفاض شحنتها الكهربائية في مجال الترحيل الكهربائي وبوسط قاعدي (pH = 8.9). ويبينان وبوضوح تشكل الترانسفرين وراثيا إلى أكثر من تركيب وراثي (الشكلان 2 و 3). وخلافا لما موجود في حالة التشكل الوراثي للترانسفرين في الأغنام (تحتوي على حزمتين)، فان ترانسفرين الأبقار يحتوي على أكثر من حزمتين (Indalecio and Wilmer, 1968). أوضحت الدراسة وجود ظاهرة التشكل الوراثي لجين الترانسفيرين بما لا يقبل الشك، تم الحصول على ستة تراكيب وراثية منها ثلاثة متماثلة (AA، DD و EE) وثلاثة غير متماثلة (AD، AE وDE) مسؤول عنها ثلاثة أليلات (A، D وE) تتوارث حسب قوانين مندل في الوراثة وحسب السيادة المشتركة.

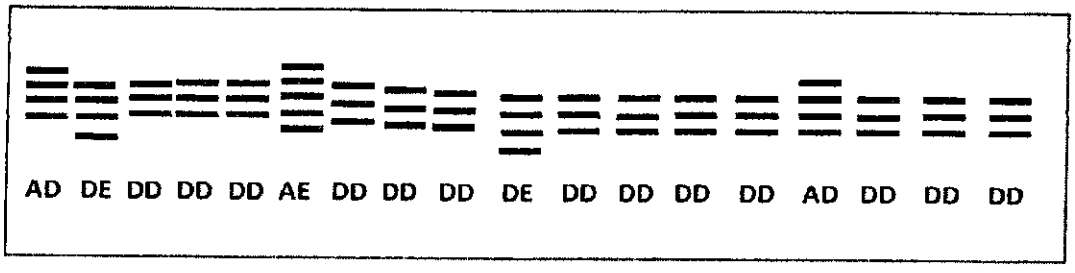
وجدت هذه الاليلات في أبقار الجرسي المربأة في تركيا (16). تفوق الأليل D (0.7) على كل من الأليل A (0.17) و E (0.12). أثرت هذه النتائج حتى في التراكيب الوراثية الستة، إذ تفوق التركيب الوراثي المتماثل DD (50%)، تلاه التركيب الوراثي غير المتماثل AD (28%) وبعده التركيب الوراثي غير المتماثل DE (14%). لا تتفق هذه النتائج مع Sekerden و Erdem (16)، إذ تفوق التركيب الوراثي AD (49%) في حين كانت نسبة التركيب الوراثي DD 21%. هنالك اتفاق عام بشأن تفوق التراكيب الوراثية الحاوية على الأليل D في دراستنا ودراسة Sekerden و Erdem (16)، إذ مثلت نسبة التراكيب الوراثية الحاوية على الأليل D 92% والباقي توزعت على التراكيب الوراثية AA ، EE و AE (2، 4 و2% على التوالي)، ومثلت نسبة التراكيب الوراثية الحاوية على الأليل D في دراستهم 72.12% (119 حيوان حمل الأليل D من اصل 165). اتفقت نتائجنا أيضا مع Mariana وجماعته (15)، إذ وجدوا الاليلات نفسها وأيضا تفوق الأليل D (0.55) على كل من الأليل A (0.40) وE (0.04). هذا يؤكد تفوق الأليل D في معظم سلالات الأبقار وبالتالي صار أكثر شيوعا، ولكن بتراكيب وراثية مختلفة باستثناء دراسة Gahne (8)، إذ تفوق الأليل A (0.53) على كل من الأليل D (0.18) وE (0.29). إن هذا يعكس التباعد الوراثي بين الأبقار المحلية والأبقار السويدية التي درس عليها Gahne (11). فيما يخص اعداد الاليلات المكتشفة لجين الترانسفرين، فقد سجل Ashton وجماعته (5) اكبر عدد ممكن

حتى الآن وهو ستة أليلات ووصل عدد التراكيب الوراثية المكتشفة إلى 21 وذلك في أبقار الدروغماستر (Droghtmaster).

كما حصل Indalecio وWilmer (9) على أربعة أليلات وعشرة تراكيب وراثية. إن هذا يوضح التنوع الكبير في أعداد الاليلات والتراكيب الوراثية لجين الترانسفرين في سلالات الأبقار. سجل تقارب بين الأعداد المتوقعة والملاحظة للتراكيب الوراثية وحسب معادلة هاردي واينبرك (X^2=1.86) وبالتالي كان هناك اتزان في عشائر الحيوانات المأخوذة منها العينات وهذا دليل على غياب الانتخاب الوراثي أو أي برامج للتحسين الوراثي (جدول 2).



شكل 2: نواتج التحلل البروتيني على هلام الفصل (متعدد الاكريلآمايد) بطريقة الهجرة الكهربائية لبروتين الترانسفرين في دم الأبقار المحلية والمضربة.



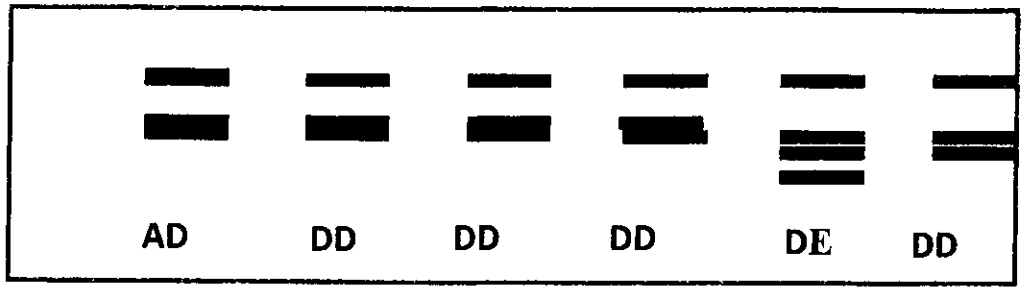
شكل 3: توزيع التراكيب الوراثية لجين الترانسفرين.

جدول 2: توزيع التراكيب الوراثية لبروتين الترانسفرين في الابقار المحلية والمضربة

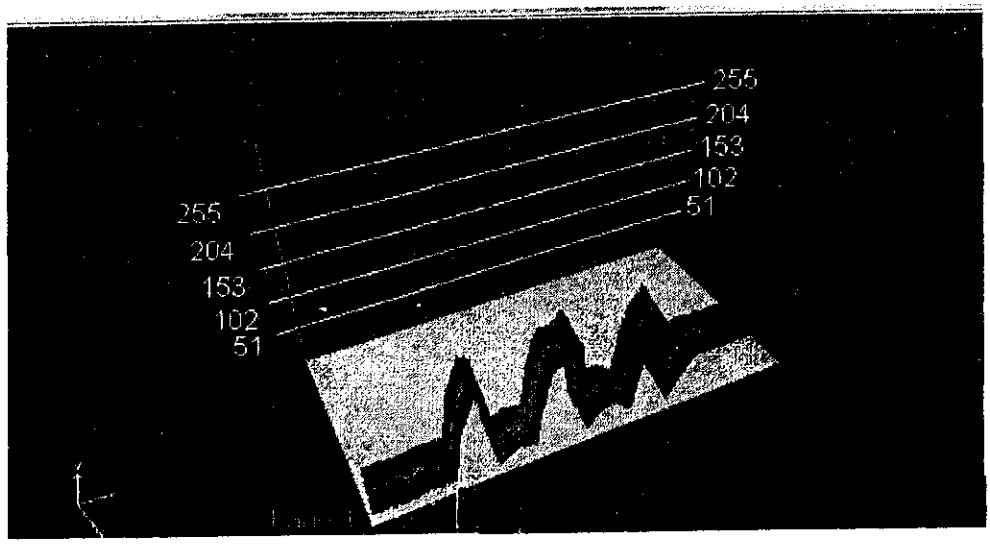
البروتين	التركيب الوراثي	عدد الحيوانات=50			X^2	تكرار الأليلات		
		الحقيقي	(%)	المتوقع		A	D	E
الترانسفرين	AA	1	2	1.45	1.86	0.17	0.71	0.12
	DD	25	50	25.21				
	EE	2	4	0.72				
	AD	14	28	12.07				
	AE	1	2	2.04				
	DE	7	14	8.52				

أما أشكال جين الترانسفرين، فتوضح الأشكال (4-11) مكونات كل تركيب وراثي من التراكيب الوراثية الستة المكتشفة، إذ تم إدخالها في برنامج تطبيقي يتضح منها شكل وكمية وحجم كل تركيب وراثي من هذه التراكيب الوراثية. إن هذا يعطي دليلا أو انطباعا على التنوع في هذه التراكيب الوراثية وبالتالي سيكون هناك تعبير جيني مختلف لكل تركيب وراثي انسجاما لما يحويه من أحماض امينية وبالتالي من شفرة وراثية مختلفة المسؤولة عن إنتاج البروتينات (13). هذه أول دراسة تجرى في العراق كان الهدف منها إجراء مسح بصدد وجود أو عدم وجود أليلات الترانسفرين و الاستفادة منها في برامج التحسين الوراثي للحيوانات المحلية والحفاظ على تنوعها الحيوي.

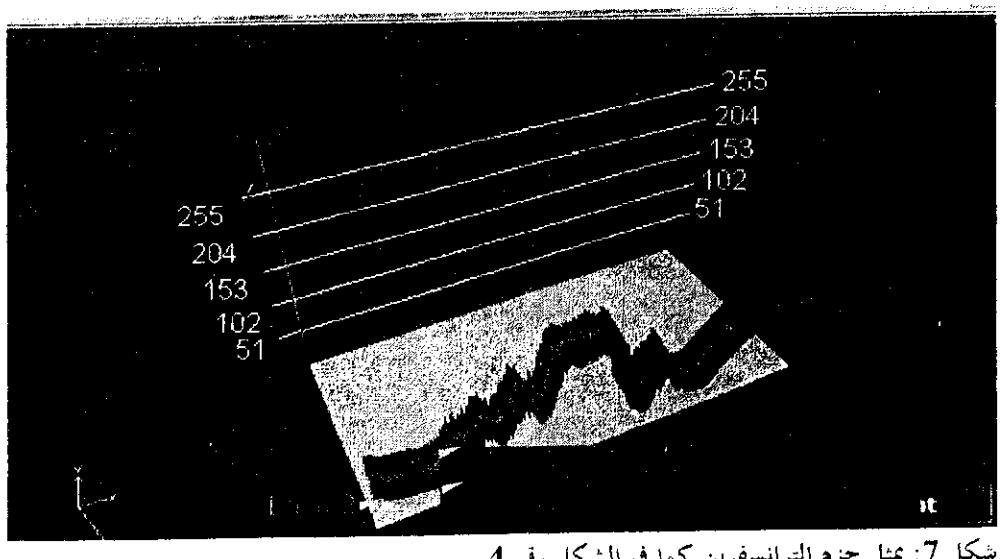
شكل 4: نواتج التحلل البروتيني على هلام الفصل (متعدد الاكريلآمايد) بطريقة الهجرة الكهربائية لبروتين الترانسفرين في دم الابقار المحلية والمضربة



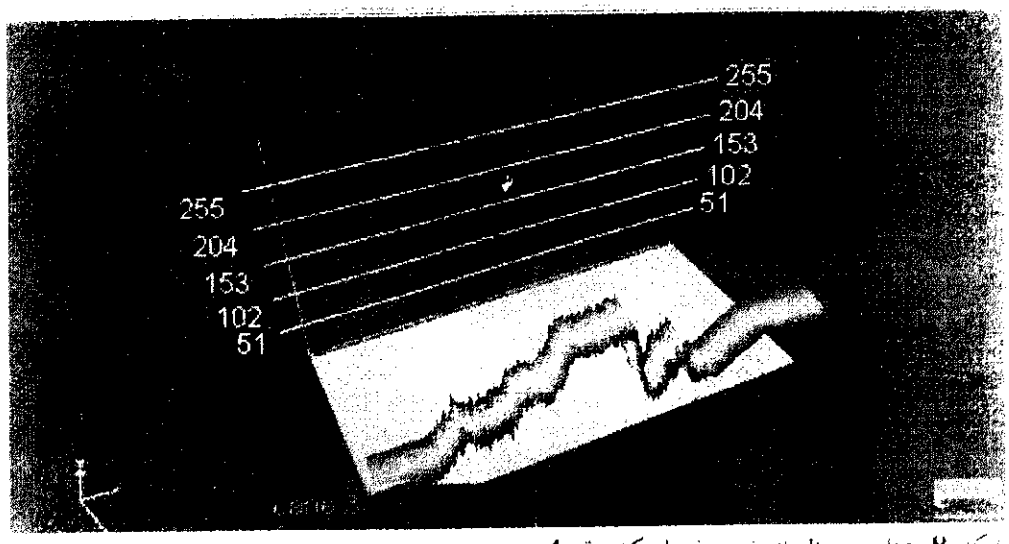
شكل 5: توزيع التراكيب الوراثية لجين الترانسفرين.



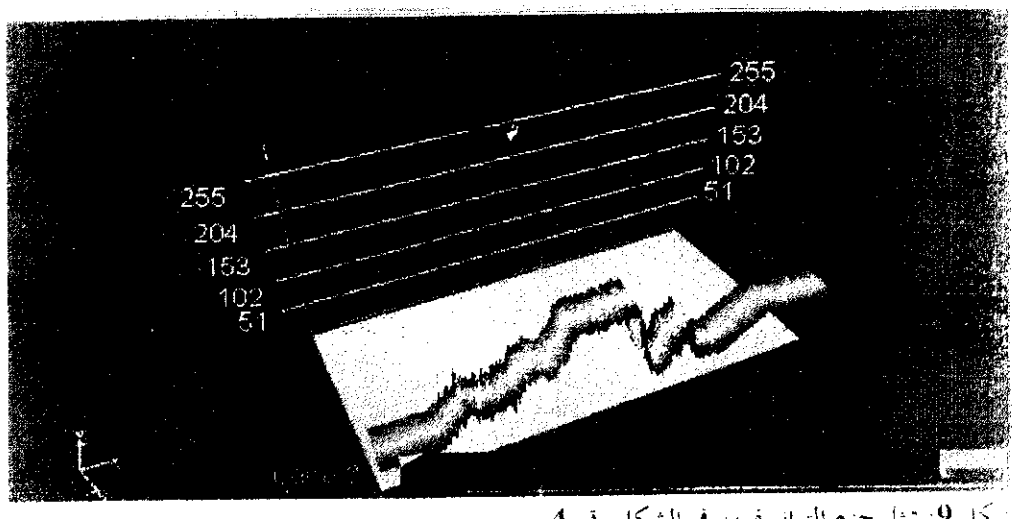
شكل 6: يمثل حزم الترانسفرين كما في الشكل 4.



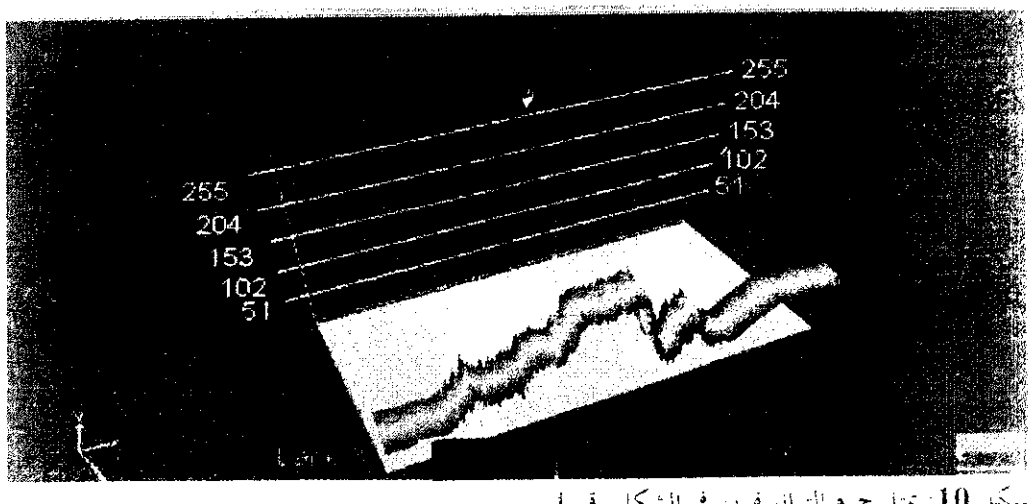
شكل 7: يمثل حزم الترانسفرين كما في الشكل رقم 4.



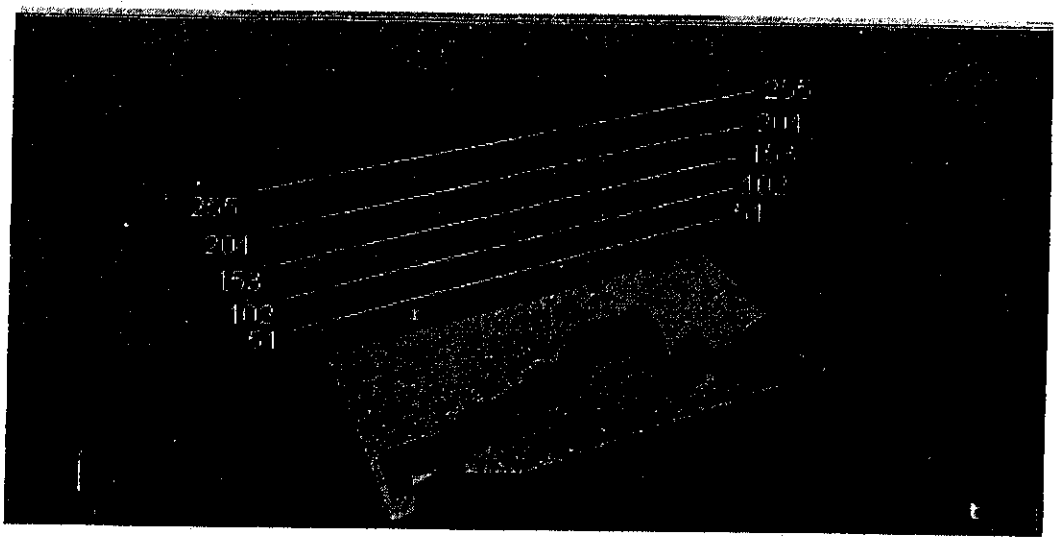
شكل 8: يمثل حزم الترانسفرين في الشكل رقم 4



شكل 9: يمثل حزم الترانسفرين في الشكل رقم 4



شكل 10: يمثل حزم الترانسفرين في الشكل رقم 4.



الشكل 11: يمثل حزم الترانسفرين في الشكل رقم 4.

المصادر

1- جايد، طالب احمد؛ منتهى يعقوب يوسف؛ بشار فالح صغير وجعفر محمد عويد (2011). التشكل الوراثي لبروتين ناقل الحديد إلى الدم (الترانسفيرين) في الأغنام العرابية. المؤتمر الزراعي الأول لكلية الزراعة- جامعة ديالى، العراق.

2- حمد، فالح حسن (2010). تثبيت الصفات الوراثية لبروتينات حليب ودم الجاموس العراقي. رسالة ماجستير- كلية الزراعة- جامعة البصرة، العراق.

3- Ashton, G.C. (1958). Genetics of β-globulin polymorphism in British cattle. Nature. 182:370-372.

4- Ashton, G.C. (1959). B- Globulin alleles in some zebu cattle. Nature. 184:1185-1136.

5- Ashton, G.C.; J. Franois and J.B. Ritson (1966). Distribution of transferrin, albumin, post-albumin, amylase, and hemoglobin genotypes in droughtmaster cattle. Aust. J. Biol. Sci., 19: 821-829.

6- Blott, S.C.; J.L. Williams and C.S. Haley (1998). Genetic relationships among European cattle breeds. Animal Genetics. 29: 273-282.

7- FAO. (1998). Secondary Guidelines for Development of National Farm Genetic Resources Management Plans: management of small populations at risk. FAO. Rome. Italy. P. 215.

8- Gahne, B. (1961). Studies of transferrin in serum and milk of Swedish cattle. Anim. Prod., 3: 135-145.

9- Indalecio, R.Q. and J.M. Wilmer (1968). An alternative method in distinguishing cattle transferrin phenotypes. Biochem. Gen., 2: 213-218.

10- Jaayid, T.A. (2003). The study of the milk proteins and it's influence on the lambs in Precos and Romanov ovine breeds. Ph.D. Thesis, Kazan state Academy of Vet. Med., Kazan, Russia.

11- Jaayid, T.A. and R.A. Khaertdinov (2003). Polymorphism in the Beta-casein of the Precos and Romanov ovine breeds. Material of International scientific conference denoted 130 year, Kazan State academy of Veterinary Medicine, Kazan. 2, 300-301.

12- Jaayid, T.A.; J.M. Owaid and N.M. Aziz (2009). Study of transferrin polymorphism in a population of Carp (Cyprinus carpio). Marsh Bulletin. 2: 162-168.

13- Jaayid, T.A.; M.Y. Yousief; J.M. Owaid and N.M. Aziz (2011). A study of biochemical polymorphism in Carp (*Cyprinus carpio*): Detect new alleles in transferrin. Research Opinions in Animal and Veterinary Sciences (ROAVS), 2011, 1(x), xxx. http://www.roavs.com.

14- Jolanta, M.; T. Saulius And M. Ilona (2003). Genetic diversity of four Lithuanian cattle breeds based on blood plasma protein and erythrocyte antigen system polymorphism. Veterinarija ir zootechnika. 44:

15- Mariana, R.; G. Elina; I. Ioanca; D. Colceri; S.E. Georgescu and C. Marieta (2005). Study of the genetic polymorphism of some blood proteins in Romanian Black Spotted cattle. Archiva Zootechnica. 8: 176-182.

16- Sekerden, O. And H. Erdem (1999). The relationships between blood serum transferrin and hemoglobin types with growth performances in jersey cattle. Tr. J. Of Vet. And Anim. Sci., 2: 291-296.

17- Vagonis, Z.; G. Meskauskas And G. kraujo (1975). Genetics. Vilnius. P. 65–91.

18- Zitny, J.; J. Bujko; A. Kubeka; A. Trakovicka and M. Rybanska (2007). Genotypes of five blood proteins polymorphism in various production age of dairy cows. j. of central European of Agric., 2: 159-164.

GENETIC POLYMORPHISM OF TRANSFERRIN IN IRAQI NATIVE AND HYBRID COWS

T.A. Jaayid M.Y. Yousief
F.H. Hamad J.M. Owaid

ABSTRACT

This study was carried out at the Animal Farm, Hartha Research Station, College of Agriculture, Basrah University and several farms in Basrah Province. Fifty blood samples were analyzed. Polymorphism of transferrin biochemical system was examined in the blood of Native cow using vertical polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE). The aim of the study was to know the existence of the genetic polymorphism in our animals and the hybrid cows for transferrin gene and conduct a survey on the presence or absence of transferrin alleles. Was used the gel documentation in the imaging of samples and convert the gels to real data through a specialized software application imported from the British Cambridge University. The study showed the existence of the genetic polymorphism of transferrin, so that was discovered more than one allele and therefore more of the genotypes (Six genotypes). Three of them were homozygous genotypes (AA, DD and EE) and three heterozygous genotypes (AD, AE and DE) responsibility of them three alleles (A, D and E) inherited by the laws of Mendel, according to co dominant. D allele was predominant than allele A and E (0.71, 0.17 and 0.12), respectively. These results have affected even the six genotypes. Homozygous genotype DD was predominant (50%), followed by heterozygous genotypes AD (28%) and DE (14%) and thus accounted for compositions containing allele D (92%) and the rest distributed among the genotypes AA, EE and AE (2, 4 and 2)%, respectively. Good agreement between the observed and expected frequencies on the basis of the Hardy-Weinberg laws (χ^2=1.86). Hence, the obtained polymorphism on transferrin is genetically caused and the cow populations are in genetic balance. This is the first study conducted in Iraq was intended to first conduct a survey on the presence or absence of transferrin alleles. The alleles have been discovered and the possible benefit for the genetic improvement programs of domestic animals and the conservation of bio-diversity.

College of Agric.- Univ. of Basrah- Basrah, Iraq.