التنوع الوراثي لطيور من الدجاج المحلي البني اللون بالمقارنة مع أمات دجاج البيض للخلط HNالإسباني

فاديا خليل [*] **موسى عبود** [**]

سلام لاوند [***]

الملخص

أُجريت الدراسة لتحديد درجة القرابة الوراثية لعشرةٍ من الدجاج المحلي (ذكور + إناث) ذي اللون البني من مناطق مختلفة من ريف دمشق ومقارنتها مع خمسة دجاجات من أمات دجاج البيض للخلط HN الإسباني، باستخدام 11 بادئة من بادئات ISSR وقد أعطت جميعها منتجات تضخيم في تفاعل البلمرة المتسلسل PCR، وبلغت النسبة المئوية للتعددية الشكلية 96.26%.

بلغت أعلى قيمة لمصفوفة النسب المئوية للتوافق (PAV) 0.95 ضمن مجموعة HN بين الفردين HN_2، HN_3، أما أدنى قيمة لها فكانت 0.84 بين HN_4 و(HN_2،HN_3)، وبالتالي تعد أفراد هذه المجموعة متجانسة نسبياً ودرجة القرابة فيما بينها عالية، إذ أنها مصنفة كخلط معتمد. أما ضمن مجموعة الطيور المحلية البنية اللون فقد بلغت أعلى قيمة لـ (PAV) 0.93 بين الفردين Br_6، Br_9، وبلغت أدنى قيمة

[*] طالبة دكتوراه.

[**] أستاذ، قسم الإنتاج الحيواني، كلية الزراعة، ص.ب 30621، جامعة دمشق، سورية.

[***] أستاذ مساعد، قسم المحاصيل الحقلية، كلية الزراعة، ص.ب 30621، جامعة دمشق، سورية.

لها 0.48 بين الفردين Br_4، Br_9، وبالتالي الطيور المحلية البنية اللون المدروسة تعد غير متجانسة نسبياً، وذلك نتيجة التزاوج العشوائي الناتج عن تربيتها بشكل خليط مع غيرها من المجموعات.

تم رسم شجرة القرابة الوراثية للعينات المدروسة والتي انقسمت حسب التحليل العنقودي إلى عنقودين:

1- **العنقود الأول:** ضم جميع طيور أمات دجاج البيض HN، وقد انقسم بدوره إلى تحت عنقودين، تحت عنقود أول ضم الفردين HN_4، HN_5 وتحت عنقود ثاني ضم ثلاثة أفرادHN_2، HN_3 الذين كانا أقرب لبعضهما من HN_1.

2- **العنقود الثاني:** ضم مجموعة الطيور المحلية البنية اللون، الذي إنقسم بدوره إلى تحت عنقودين:

تحت عنقود أول ضم أربع أفراد ذكور بغض النظر عن المنطقة التي تم أخذ العينة منها، وتحت عنقود ثاني ضم جميع الإناث بغض النظر عن مصدر العينة إضافةً للذكر Br_5.

الكلمات المفتاحية: الدجاج المحلي، التكرارات البسيطة الترادفية الداخليةISSR، القرابة الوراثية، مصفوفة النسب المئوية للتوافقPAV، شجرة القرابة الوراثية.

Genetic diversity of local brown-colored chicken birds compared to the laying hen HN Spanish hybrid

Fadia Khalil* **Prof.Mousa Abboud****

Dr.Salam Lawand***

Abstract

This research was carried out to determine the genetic diversity of ten of local brown chicken (Br) and compared to five laying hen (HN) Spanish hybrid, The ISSR technique was carried out using (11) Primer of ISSR markers, they all gave PCR products, the percentage Percent Agreement Values of polymorphism was 96.26%.

The highest Value of percentage agreement value in HN group was 0.95 between HN_2, HN_3, and the lowest value was 0.84 between HN_4 and (HN_2, HN_3). The members of this group are relatively homogeneous and their degree of genetic relationship is high, while within the domestic brown group, the highest (PAV) value was 0.93 between Br_6, Br_9, the lowest value was 0.48 between Br_4, Br_9. Thus, local brown birds were relatively heterogeneous due to the random mating that resulted from breeding them in the other groups.

The dendrogram was divided into two main clusters:

* Ph.D. Candidate;Animal product Department, Faculty of Agriculture, Damascus University.

** Prof., Animal product Department, Faculty of Agriculture, Damascus University.

*** Associate Professor; Agronomy Department, Faculty of Agriculture, Damascus University.

1- The first cluster included all the HN genotypes and it was divided into two subclusters, the first one included two genotype HN_4, HN_5. The second one included three genotype HN_2, HN_3which are closest to each other. The dendrogram thus showed the high relationship within this group.

2- The second cluster included all brown domestic birds, and itself was divided into two subclusters, the first subcluster included four males regardless of the area. The second subcluster included all females regardless of the area, plus the male Br_5.

Key words: local chicken, Inter simple sequence repeat, ISSR, genetic relationship, Percent Agreement Values, PAV, Dendrogram.

المقدمة:

حققت صناعة الدواجن عالمياً تقدماً كبيراً في الآونة الأخيرة وذلك استجابة لزيادة الطلب على هذه المنتجات. يعد الدجاج المحلي المنتشر في سورية أسراب خليطة عديدة الألوان والأشكال، وليست لها صفات مميزة كعرق مستقل أو سلالة،لذلك من الصعب تصنيف أي مجموعة من الدجاج المحلي تحت أي من العروق القياسية المعروفة عالمياً (عروق لحم–عروق بيض–عروق ثنائية الغرض). هناك اختلاف كبير في الصفات الشكلية والإنتاجية للدجاج المحلي، لكن تتميز بعض مجموعاته بصفات شكلية وأحياناً إنتاجية خاصة يمكن من خلالها تميزها عن غيرها (حسن وعبود،2008) وتعرف بعض مجموعات الدجاج المحلي بالمسميات التالية:

1- الهندي: حجمه كبير نسبياً يصل وزن الديك 3.4 كغ والإناث2.3 كغ. الديوك قوية البنية، والإناث غالباً تكون أمات جيدة في الرقاد. ويمكن الاستفادة منه في التربية لإنتاج اللحم.

2- الشركسي: يرجح أنه أُدخل إلى سورية عبر تركيا، حيث كان يستخدم في إنتاج اللحم لكبر حجمه وجودة طعمه، وقد توجد سراويل من الريش على الأقدام مما يرجح أصله الآسيوي، أشهر ألوانه الأبيض والأسود.

3- الرزي: ويعتقد أنه دخل إلى سورية أيام الحروب الصليبية مع الأوربيين. وهو يشبه الليجهورن في الشكل إلا أنه أصغر منه في الحجم.

تتم رعاية المجموعات المختلفة من الدجاج المحلي في القرى والأرياف السورية على هامش المزرعة بهدف توفير حاجة المزارعين من البيض واللحم، ويمتاز بصغر حجمه (2.4–2.6) كغ، وانخفاض معدل إنتاج البيض (80–120) بيضة سنوياً، ووزن البيضة في حدود (45–50) غ فقط، وربما يعود ذلك لعدم العناية بتنظيم الرعاية والتغذية وقلة الاهتمام بالناحية الصحية وعدم القيام بالتحسين الوراثي.

يؤدي الاعتماد على الهجن المستوردة عالية الإنتاج إلى إقصاء الدجاج المحلي تدريجياً حيث انخفضت أعداده ولم يحظ بأهمية في مجال البحث العلمي، لذا لا بد من إجراء الدراسات العلمية على المستوى الإنتاجي والجزيئي بهدف تطويره وتحسينه، وهذا يتطلب استخدام تقنيات الوراثة الجزيئية لمعرفة التنوع الوراثي داخل مجموعاته والذي يمكن تحديده داخل السلالة الواحدة وبين السلالات المختلفة (Hetzel و Drinkwater،1992).

شكلت منظمة الأغذية والزراعة (FAO) عام 1995 مجموعة دولية من الخبراء قامت بتطوير المشروع الدولي للحفاظ على التنوع الحيوي للحيوانات الأليفة (MoDAD:FAO،1995). قام هذا المشروع بدراسة التنوع الحيوي لـ 14 نوعاً أساسياً من الحيوانات المدجنة حول العالم، من بينها أربعة أنواع من الدواجن وذلك باستخدام تقنية تحليل الميكروستلايت. بناءً على ذلك قدمت (FAO) في عام 2004 مجموعة من الواسمات الجزيئية التي ينصح باستخدامها لدراسة القرابة الوراثية عند الدواجن، ومن بينها كان هناك 30 واسماً جزيئياً من التوابع الدقيقة لنوع الدجاج (FAO،2004). تم في عام 2000 إحداث مشروع دولي لدراسة التنوع الحيوي في خمسين عرق دجاج باستخدام 25 مؤشراً جزيئياً من التوابع الدقيقة. استُخدمت نتائج هذا المشروع لإحداث قاعدة بيانات عالمية للتنوع الوراثي في الدجاج ضمن المشروع AVIANDIV الموقع الالكتروني (http://aviandiv.tzv.fal.de/).

تُستخدم تقانات مختلفة من الواسمات الجزيئية لتقدير التباين الوراثي في الدواجن، كالبصمة الوراثية للـ DNA (Mafeni وزملاؤه1997) والتضخيم العشوائي للـ DNA المختلف شكلياً RAPDs (Smith،1996) والتوابع الدقيقة التي تعد الأكثر توفراً واستخداماً في الدواجن (Crooijmans وزملاؤه،1995؛ Vanhala وزملاؤه،1998).

التكرارات البسيطة الترادفية الداخلية Inter simple sequence repeat(ISSR): إن التكرارات البسيطة الترادفية الداخلية تورث كمعلمات سائدة وأحيانا غير

سائدة، إلا أنها معلمات ذات طبيعة عشوائية، فهي مناسبة بشكل خاص لدراسة وتقييم التنوع الوراثي وتحديد الأصناف (Jain وزملاؤه،1999؛ Cavan وزملاؤه،2000؛ Raina وزملاؤه،2001).

تتميز معلمات ISSR بأنها تعطي عدداً كبيراً من الحزم، والقدرة عالية على التضخيم، والتكاليف المنخفضة نسبياً، كما أن جهد تنفيذها منخفض (Van Der nest وزملاؤه،2000). تعد هذه التقنية بشكلٍ عام– بسيطة وسريعة وذات مصداقية عالية، ويمكن تصميم بادئاتها بسهولة وبدون معلومات مسبقة عن التسلسل الجيني لقطعة الـ DNA (Rakoczy–Troganowska و Polibok،2004؛ Qian وزملاؤه،2007).

درس Jossi وزملاؤه (2003) التنوع الوراثي ما بين إثنان وخمسون سلالة من الدجاج باستخدام 22 واسم جزيئي وتبين أن متوسط عدد القرائن ما بين السلالات المختلفة 9.6 ومتوسط حجم القرين 191 pb.

دُرس التنوع الوراثي ما بين خمس عروق من الدجاج التجاري (Leghorn, Plymouth Rock, Rhode Island Red, Cornish, New Hampshire Red) اعتماداً على 40 مؤشراً جزيئياً، حيث وجد اختلاف وراثي كبير ما بين عرق Leghorn والعروق الأخرى (Tadano وزملاؤه،2007a).

قام الباحث Pirany وزملاؤه (2007) بدراسة التنوع الوراثي داخل وما بين ستة سلالات من الدجاج الهندي باستخدام 9 واسمات جزيئية لتقنية SSR أعطى سبعة منها إتلاف ما بين السلالات وتراوح عدد القرائن مابين 3–27 قرين للمؤشر، وما بين 4.1 – 8.6 للسلالة وكان معدل التنوع الوراثي ما بين السلالات 0.66.

تم دراسة التنوع الوراثي بين ثلاثة سلالات دجاج محلية هندية باستخدام 25 زوج من بادئات SSR حيث أظهرت النتائج أن جميع هذه المؤشرات أعطت إختلافاً وراثياً كبيراً ما بين السلالات المدروسة، إذ بلغ البعد الوراثي بين Jet black,Golden و Jet black,Pencilled و Golden,Pencilled (0.1678;0.0951;0.1943) على

التوالي، وتراوح عدد القرائن الملاحظة للمؤشرات ما بين 3-10 قرائن وتراوح حجم هذه الأليلات بين 98-365 Pb (Parmar وزملاؤه،2007).

قام Sangwon وزملاؤه (2014) بدراسة التنوع الوراثي ما بين تسعة عروق منها ستة محلية كورية وثلاثة عروق مستوردة من الدجاج باستخدام ثلاثون مؤشر جزيئي لتقنية للتوابع الدقيقة SSR، حيث تراوح عدد القرائن ما بين 2-15 لكل مؤشر بمتوسط قدره 8.13، وانقسمت العروق المدروسة بحسب التحليل العنقودي إلى مجموعتين رئيسيتين White leghorn في مجموعة مستقلة بينما انضمت بقية العروق ضمن مجموعة ثانية والتي شكل كل عرق منها تحت مجموعة مستقلة.

قُورنت سلالات متنوعة من الدجاج المحلي لعدد من الدول باستخدام تقنية التوابع الدقيقة SSR، إذ أظهرت النتائج وجود تنوع وراثي كبير داخل عروق الدجاج من إيران والصين وتركيا وكوريا والسودان ودول من جنوب شرق إفريقيا (Kaya وYildiz،2008) وذلك بعكس العروق المحلية اليابانية التي أظهرت بعداً وراثياً كبيراً عن باقي عروق الدجاج (Tadano وزملاؤه،2007b؛2008).

مبررات البحث وأهدافه:

بالرغم من أهمية الدجاج المحلي كمخزون وراثي، إلا أنه لم يحظ بالدراسات الكافية،ولم يتم توصيفه حتى الآن خاصة على المستوى الجزيئي، كما أدى الاعتماد على الهجن المستوردة عالية الإنتاج إلى تقليل الاعتماد على الدجاج المحلي وشكل تهديداً على بقائه. لذلك يجب زيادة الاهتمام بالدجاج المحلي ومراقبة التغير في تركيبه الوراثي ومعرفة درجة القرابة الوراثية بين وضمن مجموعاته.

لذلك يهدف هذا البحث إلى **دراسة القرابة الوراثية للدجاج المحلي ذي اللون البني بالمقارنة مع أمات دجاج البيض للخلط HN الإسباني باستخدام التكرارات البسيطة الترادفية الداخلية تقنية ISSR.**

مواد البحث وطرائقه:

نُفذ البحث في مخبر التقانات الحيوية التابع لقسم المحاصيل الحقلية في كلية الزراعة بجامعة دمشق عام 2017.

المادة الحيوانية: استُخدمت(10) عينات دم للدجاج المحلي البني اللون أُخذت من مربين من منطقة جديدة عرطوز ومنطقة يعفور ومنطقة نهر عيشة، وخمس عينات من أمات دجاج البيض المستورد HN من منشأة دواجن صيدنايا التابعة للمؤسسة العامة للدواجن. جُمعت عينات دم من الوريد الجناحي للطيور بمقدار (1) مل ووُضعت في أنابيب تحتوي مادة مانعة للتخثر EDTA، ثم نُقلت العينات في الثلج وخُزنت في درجة حرارة –20ْم حتى موعد استخلاص الـ DNA.

استخلاص الحمض النووي الريبي DNA: استُخلص الـ DNA وفق الطريقة الكيميائية لاستخلاص الـ DNA من الدم (Benson،1999) حسب الخطوات التالية:

وُضع 1 مل دم في أنبوب، وأُضيف إليه 1 مل من محلول حال للخلايا [0.32mM سكروز،Tris–Hcl 10 mM، PH=7.6،Mgcl2 5 mM،1% (TritonR x–100)]، وثُفل بسرعة 4000 rpm لمدة 5 دقائق. وكررت هذه المرحلة مرة ثانية. أُضيف بعد ذلك 500 µl من محلول هضم البروتين [Tris–Hcl 10mM,PH=8، Nacl 10 mM،EDTA 10 mM] إلى الأنبوب وثُفل بسرعة 4000 rpm. أُضيف بعدها 225 µl من محلول هضم البروتين، و25 µl من محلول البروتياز (K) (10 mg/ml) إلى الأنبوب من أجل التخلص من البروتينات. حُضنت العينات في حمام مائي على درجة حرارة 65ْم مع التحريك المستمر لمدة (30–40) دقيقة، ثم وُضعت العينات في البراد على درجة حرارة 4ْم لمدة 5 دقائق، ثم أُضيف للعينات كمية من مادة كلوروفورم/ ايزو ايميل الكحول (24:1) مماثلة لكمية محلول الاستخلاص، ثم حُركت الأنابيب برفق مدة 10دقائق وتُركت لمدة 20 دقيقة مع التحريك في وسط حراري 4ْم. وُضعت الأنابيب في جهاز الطرد المركزي على سرعة 10000 rpm لمدة 10 دقائق على حرارة 4ْم لفصل المزيج إلى طورين، نُقل الطور العلوي بحذر إلى أنابيب Eppendorf جديدة سعة 1.5 مل، وأُعيد تنقيته مرة أخرى بكمية مماثلة من مادة كلوروفورم/ ايزو ايميل

الكحول (24:1)، ثم أُضيف 500 ميكرو ليتر من إيزوبروبانول (isopropanol) المبرد على حرارة –20ْم مع التحريك بلطف، وتُركت العينات بعدها على درجة حرارة – 20ْم لليوم التالي وذلك من أجل ترسيب الحمض النووي. أعيد التثفيل في اليوم التالي بجهاز الطرد المركزي بسرعة 10000 rpm لمدة 10دقائق، تم التخلص من الرشاحة وأُضيف 200 µl من محلول إيتانول 70 % لراسب الحمض النووي DNA، ثُفل بعد ذلك عند سرعة 10000 rpmلمدة 10 دقائق، وجُفف راسب الحمض النووي DNA عند حرارة 37ْم مدة 10 دقائق. حُل الحمض النووي DNA في 50 µl من محلول TE المكون من [10 mM Tris–Hcl،PH=8، 1 mM EDTA] على درجة 4ْم. تم التخلص من الحمض النووي RNA بإضافة 2 µl من أنزيم RNase (10 mg/ml) والتحضين على درجة 37ْم مدة نصف ساعة. حُفظت العينات بدرجة حرارة 4ْ م لمدة 24 ساعة، ثم خُزنت على درجة حرارة –20ْم لحين الاستخدام.

تضخيم الحمض النووي الريبي منقوص الأكسجين DNA Amplification:

أُجري تفاعل التسلسل البوليميرازي PCR وفقاً لـ Williams وزملائه(1990) مع بعض التعديلات. كان حجم التفاعل النهائي 25 µl باستخدام ماستر مكس (Master mix) × 2، تم الحصول عليها من شركة Fermentas Germany.

الجدول (1) الرموز والتسلسل النكليوتيدي ودرجة حرارة والبادئات المستخدمة في تقنية ISSR

رمز البادئ	التسلسل النكليوتيدي	درجة الحرارة للبادئ ْس
P 230/5	$(CT)_8GC$	50 ْس
P5	$(GT)_8TC$	50 ْس
P 230/4	$(GA)_8GC$	52 ْس
P 230/32	$(CT)_7CC$	52 ْس
P 230/33	$(TC)_8GC$	52 ْس
P 230/35	$(GA)_8AC$	52 ْس
P 230/37	$(CTG)_3G$	52 ْس
P 230/43	$(CA)_8GC$	52 ْس
P 6	$(GCT)_3G$	56 ْس
P 9	$(AG)_8CG$	56 ْس
P 14	$(GT)_8AG$	56 ْس

بمجرد الانتهاء من تفاعل PCR أُضيف إلى الأنابيب 10 µl من محلول إيقاف التفاعل (Stop Sequencing) والذي يتكون مما يلي:[9.6 µl من% 99 Formamide (فورم أميد)،0.005 غ Bromophenol Blue (بروموفينول الزرقاء)، 0.005 غ Xylene Cyanol (سيانول كزايلين)، 384.1µl ماء مقطر ومعقم]. ثم حُفظت العينات في درجة حرارة –20 ْم لتفصل الحزم بعدها بالرحلان الكهربائي على هلامة 2 % آغاروز.

الرحلان الكهربائي والتلوين والتصوير:

تحضير هلامة الآغاروز: تم إضافة 2 غ آغاروزلـ 100 ml من المحلول المنظم 1x (TBE) المكون من:

(TBE)10x (108 g Tris borate + 55 g Boric acid +9.39 g EDTA, PH 8.0)

تم صب المزيج السائل بهدوء في الصفيحة المخصصة لتحضير الهلامة، وعند تماسك الجل وتصلبه أُزيلت الأمشاط ووضعت هلامة الآغاروز مع الصفيحة في جهاز الرحلان الكهربائي، ثم مُلئ حوض الرحلان بمحلول منظم 1xTBE حتى غطى المحلول سطح الهلامة بشكل كامل على ارتفاع 2–1 mm.

تلوين هلامة الآغاروز: تم تلوين الهلامة بوضعها في حوض يحوي 200 مل 1x (TBE) ممزوجاً بـ 5 µl صبغة الإيثيديوم بروماید 50 mg/ml وتركت في الحوض لمدة نصف ساعة. شُوهدت حزم الـ DNA بوجود الأشعة فوق البنفسجية UV–light وصُورت الهلامة الحاوية على الحزم، وحُللت صور الهلامات وحُدّد الوزن الجزيئي لقطع DNA المكاثرة مع البادئات المختلفة، بإضافة معلم جزيئي 100KP.

التحليل الإحصائي:

تم جمع نتائج عملية الرحلان الكهربائي في جداول اعتماداً على مقارنة وجود أو غياب حزم الحمض النووي DNA بين العينات التي جُمعت من مواقع مختلفة، حيث أُعطي الرقم (1) عند وجود حزمة DNA ذات وزن جزيئي محدد عند أي عينة، والرقم

(0) لعدم وجودها وقد نُظِّمت الجداول لكل بادئة على حدا (Suman وزملاؤه،2005؛ Zhi–Peng وزملاؤه،2007؛ Zhong وزملاؤه،2009).

حُددت درجة القرابة الوراثية ورسمت شجرة القرابة الوراثية Dendrogram بين عينات الدجاج المدروسة بتطبيق طريقة التحليل العنقودي Cluster Analysis باستخدام برنامج (Popgene 1.31) الإحصائي الذي يسمح التحليل العنقودي بتقسيم العينات المدروسة إلى مجموعات، وتعكس هذه المجموعات درجة القرابة الوراثية فيما بينها، ولهذا شُكلت مصفوفة النسب المئوية للتوافق Percent Agreement Values (PAV). تم إنشاء هذه المصفوفة وفقاً لعدد وحدات التضاعف المشتركة، بتطبيق متوسطات المجموعات الزوجية غير الموزونة Unweighted Pair (UPGMA) Group Method with Arithmetic Averaging، حيث أن ارتفاع قيم هذه المصفوفة يدل على وجود قرابة وراثية، وبازديادها تزداد القرابة الوراثية بين العينات المدروسة (Nei،1972؛1987).

النتائج والمناقشة:

التعددية الشكلية الناتجة عن تطبيق تقنيةISSR على العينات المدروسة:

تضمنت الدراسة اختبار عشرة عينات من الدجاج المحلي ذو اللون البني وخمسة من أمات دجاج البيض HN. تم استخدام 11 بادئة ISSR وأعطت جميعها منتجات تضخيم في تفاعل البلمرة المتسلسل PCR، وبالتالي أثبتت فعاليتها في إظهار تعددية شكلية بين العينات المدروسة، ونجم عن استخدام هذه البادئات ما مجموعه 107 حزمة، حيث أعطت جميع هذه البادئات تعددية شكلية Polymorphic. بلغت النسبة المئوية للتعددية الشكلية 96.26 %، وكان عدد الحزم وحيدة التكرار Monomorphic 4 حزم، وبلغت النسبة المئوية للحزم وحيدة التكرار 3.74%، وتراوح عدد الحزم لكل بادئة بين 3 كأقل عدد مع البادئتين (P6،P5) و20 كأعلى عدد مع البادئة (P230/33) بمتوسط 9.73 حزمة لكل بادئة. وتراوح عدد الحزم المتعددة شكلياً لكل بادئة 1 مع البادئة (P230/43) و20 مع البادئة (P230/33)، وكانت النسبة المئوية للتعددية الشكلية الأقل 20 % مع البادئة (P230/43) والأعلى 100 % مع بقية البادئات المدروسة (الجدول. 2).

الجدول (2) التعددية الشكلية الناتجة عن تطبيق تقنية ISSR على مجموعة الدجاج المحلي البني اللون وأمات دجاج البيض الأسباني HN

البادئ	عدد الحزم الكلي	عدد الحزم ذات التعددية الشكلية	النسبة المئوية للتعددية الشكلية %	عدد الحزم وحيدة التكرار	النسبة المئوية للحزم وحيدة التكرار%
P 230/5	9	9	100	–	–
P 5	3	3	100	–	–
P 230/4	4	4	100	–	–
230/32P	16	16	100	–	–
230/33P	20	20	100	–	–
230/35P	12	12	100	–	–
230/37P	12	12	100	–	–
230/43P	5	1	20	4	80
P 6	3	3	100	–	–
P 9	12	12	100	–	–
P 14	11	11	100	–	–
المجموع	107	103		4	
المتوسط	9.73	9.36	96.26	0.36	3.74

تحديد درجة القرابة الوراثية بين العينات المدروسة:

يفيد تحديد درجة القرابة الوراثية ضمن الأنواع في برامج التحسين الوراثي في تأمين قاعدة وراثية كبيرة للاستفادة منها في برامج التحسين الوراثي، وقد تمت دراسة العلاقة الوراثية بين العينات المدروسة من الدجاج المحلي البني اللون وأمات دجاج البيض HN بتطبيق مصفوفة النسب المئوية للتوافق (PAV)، حيث يدل ارتفاع قيم هذه المصفوفة على وجود قرابة وراثية وبازديادها تزداد درجة القرابة الوراثية بين المجموعات المدروسة، ويتم إنشاء هذه المصفوفة وفقاً لعدد وحدات التضاعف المشتركة.

الجدول (3) مصفوفة النسب المئوية للتوافق (Percent Agreement Values(PAV
لمجموعة الطيور المحلية البنية اللون وHN

	Br_1	Br_2	Br_3	Br_4	Br_5	Br_6	Br_7	Br_8	Br_9	Br_{10}	HN_1	HN_2	HN_3	HN_4	HN_5
Br_1	*	0.66	0.68	0.63	0.66	0.60	0.61	0.64	0.58	0.77	0.45	0.53	0.53	0.45	0.45
Br_2		*	0.66	0.86	0.60	0.54	0.78	0.72	0.50	0.58	0.43	0.44	0.46	0.43	0.41
Br_3			*	0.63	0.89	0.85	0.73	0.70	0.79	0.79	0.62	0.65	0.67	0.60	0.60
Br_4				*	0.61	0.53	0.81	0.76	0.48	0.57	0.44	0.43	0.45	0.44	0.42
Br_5					*	0.87	0.76	0.75	0.83	0.81	0.60	0.65	0.69	0.60	0.60
Br_6						*	0.71	0.68	0.93	0.79	0.70	0.76	0.78	0.66	0.66
Br_7							*	0.80	0.67	0.71	0.59	0.58	0.62	0.59	0.55
Br_8								*	0.64	0.66	0.50	0.53	0.57	0.50	0.50
Br_9									*	0.77	0.68	0.71	0.73	0.66	0.64
Br_{10}										*	0.50	0.55	0.59	0.52	0.50
HN_1											*	0.92	0.90	0.87	0.89
HN_2												*	0.95	0.84	0.88
HN_3													*	0.84	0.88
HN_4														*	0.93
HN_5															*

يبين الجدول (3) أن أعلى قيمة لمصفوفة النسب المئوية للتوافق PAV ضمن مجموعة HN 0.95 بين الفردين HN_2، HN_3، أمّا أدنى قيمة لها فكانت 0.84 بين

HN_4 و (HN_3،HN_2)، بالتالي تعد أفراد هذه المجموعة متجانسة نسبياً ودرجة القرابة فيما بينها عالية، لأنها مصنفة كخلط معتمد. أما مجموعة الطيور المحلية البنية اللون فقد بلغت أعلى قيمة لمصفوفة النسب المئوية للتوافق 0.93 بين الفردين Br_6، Br_9 وهما من منطقة واحدة، أما أدنى قيمة لها فبلغت 0.48 بين الفردين Br_4، Br_9، وبالتالي تعد طيور التجربة المحلية البنية اللون غير متجانسة نسبياً.

ومن شجرة القرابة الوراثية الموضحة في الشكل (1)، يتبين أن شجرة القرابة الوراثية انقسمت حسب التحليل العنقودي إلى مجموعتين:

المجموعة الأولى: هي مجموعة طيور أمات دجاج البيض HN الاسباني، انقسمت بدورها إلى تحت عنقودين، تحت عنقود أول ضم فردين هما (HN_5،HN_4) بمسافة وراثية 3.22، وتحت عنقود ثاني ضم ثلاثة أفراد(HN_2،HN_3، HN_1) وكانت المسافة الوراثية بين HN_2 و $HN_3$2.12 والمسافة الوراثية للفرد HN_1 كانت 4.35. وقد وجد Parmar وزملاؤه (2007) أن البعد الوراثي بين Jet black,Golden و Jetblack,Pencilled و Golden,Pencilled كان (0.1678;0.0951;0.1943) على التوالي.

المجموعة الثانية: هي مجموعة الطيور المحلية البنية اللون، انقسمت بدورها إلى تحت مجموعتين:

1- تحت مجموعة أولى: ضمت أربع أفراد ذكور بغض النظر عن المنطقة التي تم أخذ العينة منها، حيث انقسمت بدورها إلى:

❖ تحت تحت عنقود أول: ضم Br_7، Br_8 وهما من منطقة نهر عيشة بمسافة وراثية 11.02.

❖ تحت تحت عنقود ثاني: ضم Br_2 من منطقة الجديدة 2 و Br_4 من منطقة يعفور 1 بمسافة وراثية 7.27.

2- تحت مجموعة ثانية: ضمت جميع الإناث بغض النظر عن مصدر العينات بالإضافة إلى الذكر Br_5 من يعفور. حيث انقسمت بدورها إلى تحت تحت مجموعتين:

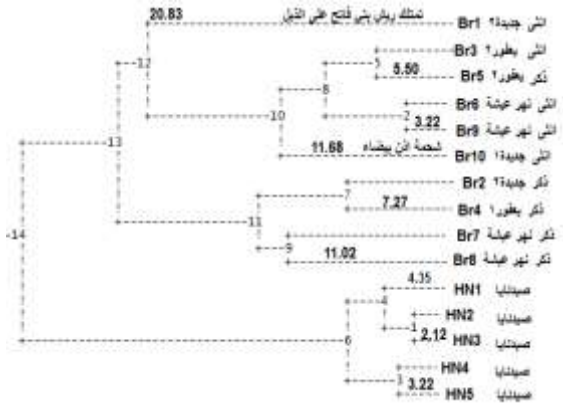
❖ تحت تحت مجموعة أولى: ضمت الأنثى Br_1 مصدرها جديدة 2 بمسافة وراثية 20.83 وتميزت بريش فاتح اللون على الذيل.

❖ تحت مجموعة ثانية: ضمت خمسة أفراد:

– الأنثى Br_{10} مصدرها جديدة1 بمسافة وراثية 11.68، وتميزت بشحمة أذن بيضاء.

– الأفراد الأربعة الباقية كان فيها (Br_9،Br_6) وكلاهما إناث من منطقة نهر عيشة بمسافة وراثية 3.22، وباعتبار أنهما من نفس المصدر فهذا يرجح كونهما أخوة من نفس الأم والأب. وكذلك الفردان (Br_3، Br_5) وهما ذكر وأنثى من منطقة يعفور2 بمسافة وراثية 5.50 ربما يكونان أخوة من نفس الأم والأب، والمسافة الوراثية بينهما أكبر من الفردين السابقين بسبب اختلاف الجنس.

وقد وجد Hillel وزملاؤه (2003) أن المسافة الوراثية تراوحت بين (0.19) لخط الفروج Reynolds و (0.61) لـ Landrace الفلندي. يوضح الشكل (1) شجرة القرابة الوراثية لمجموعة الطيور المحلية البنية اللون مع مجموعة HN



الشكل (1). شجرة القرابة الوراثية لمجموعة الطيور المحلية البنية اللون مع مجموعة HN

الاستنتاجات والمقترحات:

- انفصلت شجرة القرابة الوراثية إلى عنقودين، مما يدل على عدم وجود تداخل وراثي بين طيور التجربة المستوردة HN ومجموعة طيور التجربة المحلية البنية اللون.
- أبدت طيور التجربة المستوردة (أمات دجاج البيض HN) تجانساً وراثياً مرتفعاً وذلك لأنها محسنة وخضعت لبرامج تحسين وراثي لهدف محدد.
- أظهرت طيور التجربة المحلية البنية اللون عدم تجانس وراثي بين المناطق المختلفة، بينما ارتفعت درجة القرابة بين طائران يعودان لنفس المربي.
- يمكن أن يستفاد من درجة القرابة المرتفعة بين طيور من مناطق مختلفة في برامج التحسين الوراثي.

المـراجـــع References:

- **حسن، عيسى وموسى عبود. (2008).** إنتاج الدواجن منشورات جامعة دمشق كلية الزراعة.
- **Benson, G. (1999).** Tandem repeats finder: a program to analyze DNA sequences. Nucleic Acids Res. 27, 573-580.
- **Cavan, G; Potier, V; and Moss, S.R. (2000).** Genetic diversity of weeds growing in continuous wheat. Weed Res, 40:301-310.
- **Crooijmans, R.P.M.A; Vander Poel, J.J; Groenen, M.A.M. (1995).** Functional genes mapped on the chicken genome. Anim Genet, 26:73-78.
- **FAO. (1995).** Global Project for the Maintenance of Domestic Animal Genetic Diversity (MoDAD):Draft project formulation report. FAO, Rome (Italy). (http://dad.fao.org./en/refer/library/guidelin/ project.pdf).
- **FAO. (2004).** Guidelines for development of national management of farm animal genetic resources plans. Measurement of Domestic Animal Genetic Diversity (MoDAD): Recommended microsatellite markers. Rome (Italy).
- **Hetzel, D.J.S; and Drinkwater, R.D. (1992).** The use of DNA technologiesfor the conservation and improvement of animal geneticresources, (FAO Expert consultation on the management ofglobal animal genetic resources, Rome).
- **Jain, A; Apparanda, C; Bhalla, P.L. (1999).** Evaluation of genetic diversity and genome fingerprinting of Pandorea (Bignoniaceae) by RAPD and inter-SSR PCR. Genome, 42:714-719.
- **Jossi,H., Martien,A.M. GROENE,N., Michèle Tixie-Boichard., Abraham B. Korol., Lior David., Valery,M., Kirzhne,R., Terry Burke., Asili Barre-Dirle., Richard,P.M.A. Crooijman,S., Kari,E., Marcus,W., Feldman., Paul,J., Freidlin., SkoMaki-Tanila., OORTWIJN,M., THOMSON,P., VIGNAL,A., WIMMERS,K., WEIGEND,S. (2003).** Biodiversity of 52 chicken populations assessed by microsatellite typing of DNA pools.

- **Hillel, J; Groenen, M.A; Tixier-Boichard, M; Korol, A.B; David, L; Kirzhner, V.M; Burke, T; Barre-Dirie, A; Crooijmans, R.P; Elo, K; Feldman, M.W; Fre-idlin, P.J; Maki-Tanila, A; Oortwijn, M; Thomson, P; Vignal, A; Wimmers, K; Weigend, S. (2003).** Biodiversity of 52 chicken populations assessed by microsatellite typing of DNA pools. Genet. Select. vol., 35: 533–557.
- **Kaya, M; and Yildiz, M.A. (2008**). Genetic diversity among Turkish native chickens, Denzli and Gerze, estimated by microsatellite markers. Biochem. Genet., 46: 480–491
- **Mafeni, M.J; Wimmers, K; and Horst, P. (1997).** Genetic diversity in indigenousCameroon and German Dahlem rRed Fowl populationseastmated from DNA fingerprints, Arch Tierz, 40: 581-589.
- **Nei,S. M. (1972).** Interspecific gene differences and evolutionary time estimated from electrophoretic data on protein identity. Amer. Naturalist 105:385-98,
- **Nei, S.M. (1987).** Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. Genetics 89: 583-590.
- **Parmar, S.N.S; Tolenkhomba, T.C; Thakur, M.S; Joshi, C.G; Rank, D.N; Solanki, J.V; Srivastava, P.N; Pillai, P.V.A. (2007).** Analysis of genetic relationship among three varieties of indigenous Kadaknath breed using 25 chicken microsatellite markers.Indian Journal of Biotechnology Vol 6, April 2007, pp 205-209
- **Pirany, N; Michael, N.R; Suhash, P.G; Govindaiah, D; Doddananjappa, T.P. (2007).** Microsatellite Analysis of Genetic Diversity in Indian Chicken Populations. Poult Sci, 44:19-28.
- **Qian, Z; Hong, D; Dong Hang, Z. (2007).** ISSR Molecular Marker and its application in plant researches. Molecular Plant Breeding, V.(5). 6:123-129.
- **Raina, S.N; Rani, V; Kojima, T; Ogihara, Y; Singh, K.P; Devarumath, R.M. (2001).** RAPD and ISSR fingerprints as useful genetic markers for analysis of genetic diversity, varietal identification, and phylogenetic relationships in peanut (Arachis hypogaea) cultivars and wild species. Genome, 44: 763-772.

- **Rakoczy-Trojanowska, M; and Bolibok, H. (2004**). Characteristtics and comparision of three classes of Microsatellite-based markers and their application in plants. Agricultural university, Nowoursynowska, Wraszawa, Poland.
- **Sangwon, Suh; Aditi, Sharma; Seunghwan, Lee; Chang-Yeon, Cho; Jae-Hwan, Kim; Seong-Bok Choi, Hyun Kim; Hwan-Hoo, Seong; Seong-Hum, Yeon; Dong-Hun, Kim; Yeoung-Gyu, Ko. (2014).** Genetic Diversity and Relationships of Korean Chicken Breeds Based on 30 Microsatellite Markers. Asian Australas. J. Anim. Sci. Vol. 27, No. 10: 1399-1405.
- **Smith, E.J; Jones, C.P; Barlett, J; Nestor, K.E. (1996).** Use of randomlyamplified polymorphic DNA markers for the genetic analysis of relatedness and diversity in chicken and turkeys.Poult Sci, 75: 579-84.
- **Suman, S.,B.Singh and S.N.Govinder. (2005).** Genetic relationship among wheat genotypes, as revealed by microsatellite markers and pedigree analysis. J.Appl. Genet. 46(4):375-379.
- **Tadano, R; Nishibori, M; Nagasaka, N; Tsudzuki, M. (2007a).** Assessing genetic diversity and population structure for commercial chicken lines based on forty microsatellite analyses. Poult Sci. 86: 2301–2308.
- **Tadano, R; Sekino, M; Nishibori, M; Tsudzuki, M. (2007b).** Microsatellite markers analysis for the genetic relationships among Japanese long-tailed chicken breeds. Poult Sci. 86: 460–469.
- **Tadano, R; Nishibori, M; Imamura, Y; Matsuzaki, M; Kinoshita, K; Mizutani, M; Namikawa, T; Tsudzuki, M. (2008).** High genetic divergence in miniature breeds of Japanese native chickens compared to Red Jungle fowl, as revealed by microsatellite analysis. Anim. Genet. 39: 71–78.
- **Van Der Nest, M.A; Steenkamp, E.T; Wigfield, B.D; Wingfield, M.J. (2000).** Development of simple sequence repeat (SSR) markers in Eucalyptus from amplified inter-simple sequence repeats (ISSR). Plant Breed, 119: 433-436.
- **Vanhala, T; Tuiskula-Haanisto, M; Elo, K; Vilkki, J; Maki, A.T. (1998).** Evaluation of genetic variability and genetic distances betweeneight chicken lines using microsatellite markers. Poult Sci. 77: 783-790.

- **Williams, J.G.K., A.R. Kubelik., J.A. Rafalski and S.V. Tingey. (1990).** DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers areuseful as genetic markers. Nucleic Acid Res., Vol(18) PP:6231-6235.
- **Zhi-Peng, L., L.Gong-She and Y.Qing-Chaun. (2007).** A novel statistical method for assessing SSR variation in autotetraploid Alfalfa (Medicagosativa L.). Genetics and Molecular Biology. 30(2): 385-391.
- **Zhong, J., X.Lv, R.Liu and H.Chen. (2009).** Genetic relationship of sweet Cherry (Prunusavium L.) based on SSR markers.Plant Sciences Research. 2(1): 6-10.