

Study the Effect of Cyp19 Gene Polymorphism in Some Genital Hormones and Some Milk Traits in Local Ewes

Razak Naser Abd

Makki Khlaf Hussein

Mohanad Jawad Kadhim

Mussayab College of Technology - Middle Euphrates Technical UniversityRazakabo131@gmail.commakkikhalaf@Yahoo.commohanadbio13@Yahoo.com

ARTICLE INFO**Submission date:** 18 /6/ 2019**Acceptance date:** 2/ 7 /2019**Publication date:** 1 /11 /2019

Abstract

This study was carried out for the studying CYP19 gene polymorphism and its effect in concentrations of estrogen and progesterone in local ectopic ewes. Blood samples were collected from ewes in the fields of Husseiniya on the Najaf / Karbala road. In terms of the field side, estrogen concentrations The highest concentration of progesterone (0.5893 ng / ml) and the lowest concentration (ng / ml)0.1302) was the isolation of the genetic bundle For the third CYP19 genome of 140 bp and the determination of the structures Genotype). The genotype of the CYP19 gene in the sample of local ewes was 6.25%, 31.25%, and 62.50% for the TT, TC and CC sequences in the sequence. Concentration measurement results Estrogen had a significant effect on the level of P (0.05) in the genotype TT and TC (15,5745,15,4617) respectively, compared with the CC model (14.2362), while there was no significant difference between the TT and TC models. Progesterone significantly exceeded the P00.05 probability level in the Ur model (0.47770) on the genotype TT and CC (0.3288,0.2469). The progesterone concentration of the TT genotype decreased significantly compared with TC and CC. The study found that the genetic makeup of the gene CYP19 on the genetic structures of TT and CCW and the polymorphism of CYP19 gene in Exon3 had a significant effect on estrogens and progesterone concentrations. Individuals carrying the genetic makeup of the gene CYP19 were superior to the TT and CC structures in estrogen and progesterone concentrations.

Keywords: Gene CYP19 , local Awassi ewes , hormonal estrogen and progesterone.

دراسة تأثير تعدد الأشكال الوراثي لجين Cyp19 في بعض الهرمونات التناسلية في النعاج العواسي المحلي

مهنا جواد كاظم

مكي خلف حسين

رزاق ناصر عبد

قسم تقنيات الانتاج الحيواني - كلية التقنية المسيب - جامعة الفرات الاوسط التقنية

الخلاصة

أجريت هذه الدراسة لغرض دراسة تعدد الأشكال الوراثية polymorphism لجين CYP19 ومعرفة تأثيرها على تراكيز هرموني الاستروجين والبروجيستيرون في النعاج العواسية المحلية , جمعت عينات الدم من النعاج العواسية في حقول العتبة الحسينية الواقعة على طريق نجف /كربلاء وهذا فيما يخص الجانب الحقلية, تم قياس تراكيز هرمون الاستروجين وهرمون البروجيستيرون بحيث سجل أعلى تركيز في هرمون الاستروجين (16.3349pg/ml) وأقل تركيز (9.3885pg/ml) وكان أعلى تركيز في هرمون البروجيستيرون (0.5893 ng/ml) وأقل تركيز (0.1302ng/ml) تم عزل الحزمة الجينية للاكسون الثالث التابعة للجين CYP19 البالغ حجمها 140 bp وتحديد التراكيب الوراثية (Genotype) لها تبعا لاختلاف تسلسل النيوكليوتيدات وعلاقتها بتراكيز الاستروجين والبروجيستيرون في عينات الدراسة كانت نسب توزيع التراكيب الوراثية لجين CYP19 في عينة النعاج العواسية المحلية 6.25% و 31.25% و 62.50% لكل من التراكيب الوراثية TT و TC و CC على التتابع, وظهرت نتائج قياس تركيز الاستروجين تقوفاً معنوياً على مستوى احتمالية ($P \leq 0.05$) في الطراز الوراثي TT و TC (15,5745,15,4617) على التوالي مقارنة بالطراز الوراثي CC (14.2362) في حين لم يكن هنالك فرق معنوي بين الطرازين الوراثيين TT و TC. أوضحت نتائج قياس تركيز البروجيستيرون تقوفاً معنوياً على مستوى احتمالية $P \leq 0.05$ في الطراز الوراثي TC (0.4777) على الطرازين الوراثيين TT و CC (0.2469,0.3288) بينما انخفض تركيز البروجيستيرون للطراز الوراثي TT انخفاضاً معنوياً مقارنة بالطراز الوراثي TC و CC. توصلت الدراسة الحالية الى شيوع التركيب الوراثي TC لجين CYP19 على التركيبين الوراثيين TT و CC وان تعدد الأشكال الوراثي Polymorphism لجين CYP19 في Exon3 تأثيراً معنوياً على تراكيز الاستروجين والبروجيستيرون إذ تفوقت الأفراد الحاملة للتركيب الوراثي TC لجين CYP19 على التراكيب الوراثية TT و CC في تراكيز هرموني الاستروجين والبروجيستيرون.

الكلمات الدالة: جين CYP19, النعاج العواسي المحلي , هرموني الاستروجين والبروجيستيرون.

1- المقدمة

تعد الاغنام احد اهم مصادر الثروة الحيوانية في العراق وتشكل جزءا كبيرا من الدخل القومي الزراعي، و من اهم انواعها الاغنام العواسي والتي تشكل 58.2% من اغنام العراق (8) حيث تنتج اللحم والصوف والحليب، وهي السلالة الرئيسية في بلدان الشرق الاوسط ، ولها قابلية عالية على تحمل الظروف البيئية القاسية، وتختلف صفاتها الانتاجية والتناسلية تبعا للبيئة والمنطقة التي تعيش فيها (10) تربي وتعيش على الزراعة والمراعي الطبيعية، لذا فان انتاجيتها وخصوبتها منخفضة مما يستوجب استخدام الطرائق العلمية والتقنية الحديثة (11) يعتمد الانتخاب التقليدي على الصفات الشكلية لسلاسل الحيوانات الزراعية ومنها الاغنام ، تم في القرن الماضي تبني النظرية الكمية لتحسين عمليات الانتخاب وتوقع الاستجابات الوراثية لعمليات التحسين وأدى ذلك إلى الانتخاب لاعداد كثيرة من الصفات الوراثية ذات الأهمية الاقتصادية في قطاع الأغنام والأبقار والخنازير والدواجن واكتشاف مجاميع الدم في حيوانات المزرعة ومن ثم تركزت الأبحاث العلمية نحو موضوع المناعة الجينية (Immune Genetics)، والتنوع الجيني (Gene Diversity) بين الحيوانات، وبعد الانتخاب على أساس التركيبة الجينية أداة مهمة في عملية التحسين الوراثي للحيوانات المزرعية (12). ان الصفات الكمية تأتي في مقدمة الصفات ذات الأهمية الاقتصادية وبما أن هذه الصفات تتحكم بها عشرات الى مئات الجينات، فإن التعبير الفوري لتلك

الجينات يجعل الأمر شبه مستحيل في تحديد الجينات المنفردة، وأكتشاف أسلوب التوريث، لذا برزت الحاجة الى تطبيق مؤشرات أخرى للكشف عن تلك الصفات ومن هذه استخدام واسمات الدنا (DNA Markers) (1) في السنوات القليلة الماضية، اخذ علم البيولوجيا الجزيئية بالتطور بحيث شكلت بعض نواحيه ثورة في مجال التطبيقات العملية وإيجاد تقانات حديثة في هذا المجال، فإن احد أهم هذه التطبيقات هي تقانة التفاعل المتسلسل لأنزيم البوليميريز (Polymerase chain Reaction- PCR) والذي يمكن استخدامه لدراسة أي جزء من الحامض النووي الدنا (DNA)، إن الهدف الرئيسي من استخدام المؤشرات الوراثية (DNA Markers) هو لتحديد مواقع الصفات الكمية المهمة في تطبيق برامج الانتخاب الوراثي وتحسين الصفات الإنتاجية للحيوانات الزراعية (14). و لتحديد الجينات ذات العلاقة بالصفات الإقتصادية، يعد جين cyp19 الجين المشفر لأنزيم الأروماتيز المهم لتصنيع هرمون الأستروجين وذلك من خلال تحويله الأندروجين الى أستروجين الذي يلعب دورا تنظيميا في تناسل الذكور والإناث، فضلا عن ترسيب الدهون (15 و16) وفي النمو (13). ونظرا لقلة الدراسات على المستوى الجزيئي لجين cyp19 لاسيما دراسة التغيرات الوراثي في العراق وعلاقته بمستويات وتراكيز بعض الهرمونات التناسلية هدفت هذه الدراسة الى

تقييم التغيرات الجيني لجين Cyp19 في سلالات الاغنام العراقية ومعرفة تاثيره على تركيز هرمون الاستروجين والبروجستيرون من خلال تشخيص الاليات (alleles) للتركيب الوراثية لجين Cyp19.

2- مواد وطرائق العمل

نفذت الدراسة وجمعت عينات الدم من الاغنام العواسية من الوريد الوداجي بحجم (5مل) لغرض فصل (serum) و(2مل) في (EDTA Tube) لغرض استخلاص DNA في حقول العتبة الحسينية الواقعة على طريق نجف -كربلاء وهذا فيما يخص الجانب الحقلي، في حين اجريت التحاليل الوراثية (الجزء المختبري) في مختبر التقانات الاحيائية/جامعة القاسم الخضراء حيث استخلصت المادة الوراثية DNA والكشف عن جين CYP19 بواسطة PCR وقياس تركيز هرمون الاستروجين وهرمون البروجستيرون في مختبرات قسم علوم الحياة -كلية العلوم -جامعة بابل و أجري فحص تسلسل القواعد النيتروجينية السكونس (Sequencing) خارج العرق.

2-1 - حيوانات التجربة

استخدمت في هذه التجربة 50 نعجة من سلالة الاغنام العواسي المحلية ولدت ولادة مفردة ومنتجة للحليب (غير جافة) حالتها الصحية سليمة ونظام التربية مجموعات والحظائر مغلقة تقدم لها العلائق في الحظيرة وتخرج للرعي في الصباح .

2-3: جمع عينات الدم

جمعت 5 مل من الدم من الوريد الوداجي (Jugular vein) من كل حيوان في انبوبة جمع الدم (TestTub) لغرض الحصول على (serum) وجمع 2مل من الدم في انبوبة جمع حلوية على مادة للتخثر (EDTA Tube) مضاف لها مانع تخثر من نوع K3 EDTA نقلت بصندوق مبرد الى المختبر لحفظها بالتجميد على درجة - 18م° لحين وقت استخلاص DNA .

2-3 قياس تركيز الاستروجين والبروجستيرون بجهاز الاليزا:

أخذ 5مل من عينات دم الاغنام ووضع في تيوباتغير حاوية على مانع تخرلغرض فصل (serum) وتم وضع التيوبات في جهاز الطرد المركزي وبسرعة (14000) لمدة 5 دقائق وبعدها يتم سحب (serum) عن الخلايا بواسطة الميكروبايبيت ووضعه في انببب ابندروف وبعدها يتم تقدير تركيز الاستروجين باستخدام تقنية الفحص المناعي المرتبط بالإنزيم (ELISA) وحسب الشركة المصنعة لعدة الكشف (Elabscience ، الصين)

2-4استخلاص DNA

استخلص الحامض النووي الـ DNA من عينات دم النعاج لاجراء الفحص الجزيئي للجين قيد دراسته (CYP19)وكمايلي ،

2-4-1طريقة استخلاص DNA (Protocol of DNA Isolation)

استخلص الـ DNA من الدم المجمد على وفق تعليمات العدة (Kit) المجهزة من شركة USA Geneaid الولايات المتحدة الامريكية

2-4-2 قياس نقاوة DNA وتركيزه الناتج بأستخدام جهاز Nanodrop

فحص الحامض النووي الجينومي المستخرج من الدم بأستخدام (THERMO. USA) Nanodrop

2-4-3: الترحيل الكهربائي لـ DNA

اجراء الترحيل الكهربائي لتحديد قطع الحامض النووي (DNA) بعد عملية الاستخلاص وللكشف عن وجود الـ DNA لمعرفة حجم الحزمة الناتجة.

الكشف عن جين (CYP19) باستخدام PCR

2-5: اختيار البادئ

تم اختيار البادئ (primer) وكما موضح في الجدول (4) لاجراء الكشف الجزيئي ومعرفة التعدد المظهري لجين CYP19.

الجدول (1) تسلسل البادئ (Primer) المجهز من شركة IDTIntegratedDNA Technologies, CYP19(Canada)

مختصر الجين	التسلسل	حجم المنتج
EXONE3 OF CYP19	(F) 5-CCA GCT ACT TTC TGG GAA TT-3	140bp
	(R) 5-AAT AAG GGT TTC CTC TCC ACA-3	

2-6 التفاعل المتسلسل لانزيم البوليميريز (PCR) للجين الذي تمت دراسته

أستخدمت المواد في الجدول (6) للكشف الجزيئي باستخدام التفاعل المتسلسل لانزيم البوليميريز للجين CYP19 وبحجم 25 مايكروليتر، وضعت العينات في جهاز التفاعل على وفق ظروف التفاعل الخاصة بكل قطعة جينية متضاعفة، وبعد انتهاء التفاعل تم ترحيل ناتج تفاعل البلمرة للتأكد من تضاعف القطعة المطلوبة.

بعد ذلك تم مزج هذه المواد بواسطة جهاز المازج (Vortex) ثم نقلت الانابيب الى جهاز تفاعل البلمرة وضبطت ظروف تفاعل البلمرة المتسلسل كما مبينه في الجدول ادناه.

الجدول (2): المواد المستخدمة في التفاعل المتسلسل لأنزيم البوليميريز للجين CYP19.

المكونات	الحجم بالميكروليتر
Master Mix	5
مستخلص DNA	2
البادئ Primer	F : 1 R: 1
ماء مقطر Distill Water	16
الحجم النهائي	25

الظروف المستخدمة في الكشف عن الجين (CYP19) في جهاز PCR

الجدول (3): الظروف المتبعة لتضاعف الحزمة لجين CYP19 في تفاعل PCR.

ت	الخطوات	درجات الحرارة	الوقت	عدد الدورات
1	مرحلة المسخ الاولى	94°C	5 دقائق	1
2	المسخ	94°C	30 ثانية	35
3	التصالب	55°C	30 ثانية	
4	الاستطالة	72°C	30 ثانية	
5	مرحلة الاستطالة النهائية	72°C	5 دقائق	1

2-6-1 تحميل ناتج التفاعل المتسلسل لأنزيم البوليميريز والترحيل الكهربائي:

حملت 10µL من الدليل الحجمي (DNA ladder) و 5µL من نواتج PCR في جل الاكاروز تركيز 1.5%، اذ تم الترحيل بفرق جهد مقداره 100 فولت/سم وبتيار 65 ملي امبير ولمدة ساعة واحدة، وشوهدت الحزم بواسطة جهاز المطياف الاشعة فوق البنفسجية (UV light transillminator)، وتم صورت باستخدام جهاز التوثيق الفوتوغرافي (photo documentation system).

2-6-2 قراءة نتائج تتابع القواعد النايروجينية للحزمة المستهدفة (Sequencing)

بعد استخلاص المادة الوراثية وتكثير الحزمة المستهدفة بواسطة تقنية PCR والبالغ حجمها 140 زوجاً قاعدياً، ارسلت الحزمة الى شركة Macrogen الكورية لمعرفة تسلسل القواعد النايروجينية لكل عينة تجريبية وبعدها حلت النتائج .

2-6-3 تحليل نتائج تتابع القواعد النيتروجينية لجين CYP19

حللت نتائج Sequencing بالاعتماد على موقع NCBI لاجراء Sequencing alignment وكذلك استخدم برنامج Bioedit وبرنامج Megal للكشف عن وجود SNP ورسم الشجرة التطورية لجين CYP19 (Feleenein) (Adiguzel el al.,2009, Lee et al .,2003)

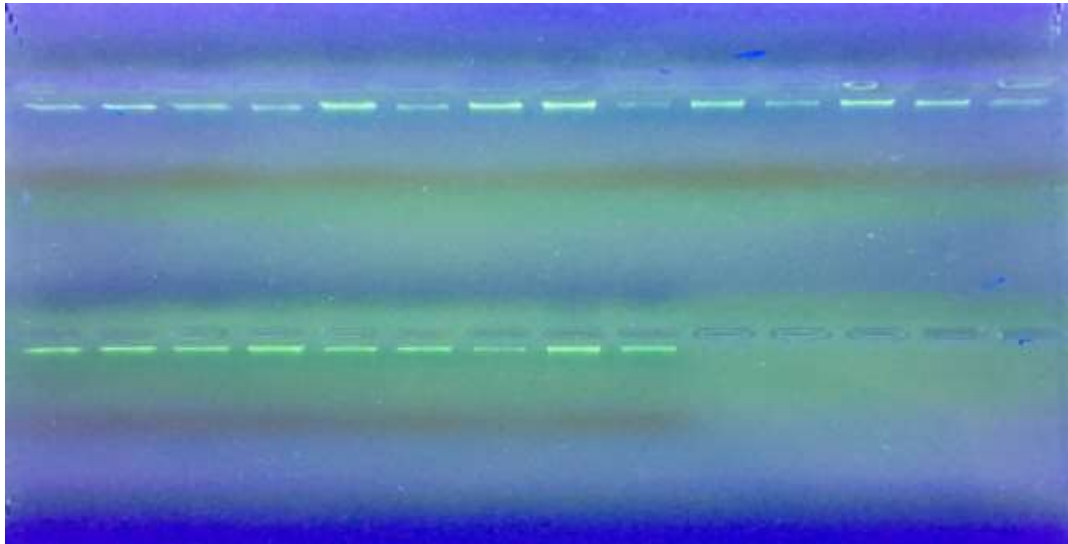
2-7: التحليل الاحصائي

أجري التحليل الاحصائي لعينات الدراسة باستخدام برنامج SPSS نسخة (25) وحسبت متوسطات تراكيز البروجيستيرون والاسروجين وحساب الخطأ القياسي والانحراف المعياري للعينات وأستخدم اختبار دنكن لمعرفة الفروقات المعنوية في عينات الدراسة وعلى مستوى احتمالية (0.05) لكل من تركيز الاستروجين وتركيز البروجيستيرون علماً ان تراكيز الاستروجين كانت بواقع ثلاث مكررات لكل تركيز. وأستخدم اقل فرق معنوي LSD لتحديد الفروقات المعنوية لتراكيز البروجيستيرون والاسروجين بالاعتماد على الطرز الوراثية (TT.TC.CC)

3: النتائج والمناقشة

3-1 استخلاص وتنقية DNA:

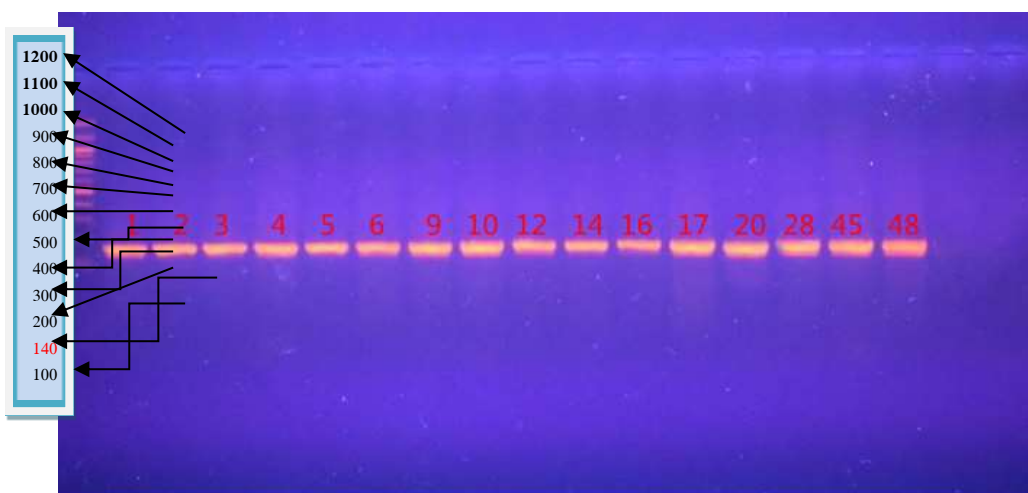
اظهرت نتائج استخلاص وتنقية DNA وجود نقاوة وتراكيز عالية من DNA والتي قيست بواسطة جهاز (Nano drop) وكانت النتائج بين (13.9 الى 42.9 ng/ μ l) وايضاً تم التأكد من وجود DNA عن طريقة الترحيل الكهربائي وكما موضح في الشكل رقم (2).



الحزم الناتجة من عملية الترحيل الكهربائي DNA. شكل رقم (2)

3-2: الكشف عن جين CYP19 باستخدام تقنية PCR

اظهرت نتائج الكشف عن جين CYP19 باستخدام البادئ الخاص ب(Exon3) ان جميع عينات الدراسة تحتوي على هذا الاكسون واذ بينت نتائج الترحيل الكهربائي وجود الحزمة الخاصة بهذا الاكسون ,وحجم الحزمة 140 زوج قاعدي وكما موضح في الشكل رقم (3)



شكل رقم (3) التتابع النيوكليوتيدي للحزمة 140 زوج قاعدي

3-2-1 دراسة التتابع النيوكليوتيدي لجين CYP19 (Exon3):

استخدمت تقنية تتابع القواعد النايتروجينية لمعرفة سلسلة القواعد النايتروجينية المكونة للحزمة (140 زوجاً قاعدياً) لجين CYP19 وقد اظهرت النتائج وجود عينة تحمل التركيب الوراثي (TT,TC,CC) لبعض من العينات (16عينة) عن بقية العينات (34عينة) وقد تم الحصول على هذه التراكيب الوراثية باستخدام نتائج التحليل الوراثي .

3-3: النسب المئوية وعدد التراكيب الوراثية (Genotype) لجين CYP19

تظهر النتائج المبينة في الجدول (4) النسب المئوية للتراكيب الوراثية لجين CYP19 في العينات المدروسة، إذ كانت اعلى نسبة تعود للتركيب الوراثي (CC) 62.50% واقل نسبة تعود للتركيب الوراثي (TT) 6.26% في حين كانت نسبة التركيب الوراثي (TC) 31.25%. وأفادت دراسة اجراها الباحث (5) للتراكيب الوراثية للجين CYP19، إذ تظهر فروقات عالية المعنوية ($P < 0.01$) بين نسب التراكيب الوراثية المختلفة التي بلغت 8.75 و 58.75 و 32.50% للتراكيب AA و AB و BB بالتتابع، أي أن هناك شيوعا واضحا للطرز الهجينة (AB) موازنة بكلا الطرازين الوراثيين النقيين لاسيما الطراز الوراثي AA، وفي الوقت الذي أشارت فيه الدراسة الحالية الى انخفاض نسبة الطراز الوراثي AA، أشارت دراسة أجريت في البرازيل أن هذا التركيب كان معدوما لدى السلالات 1/2 Dorper و Poll Dorset و Santa Inês و Brazilian Somali، إذ بلغت نسب التراكيب الوراثية لكل من الطرازين الوراثيين AB و BB 0.64 و 0.36 على التوالي، وهذا نتيجة لإنخفاض تكرار الأليل A ، و أن الكباش جميعها كانت AB (8)، وقد تم الحصول على هذه الطرز الوراثية بالاعتماد على نتائج التحليل الوراثي باستخدام برنامج (Bio edit)

*TT. النمط الوراثي السائد

*TC. النمط الوراثي الطافر او غير المتماثل

*CC. النمط الوراثي الطافر المتماثل

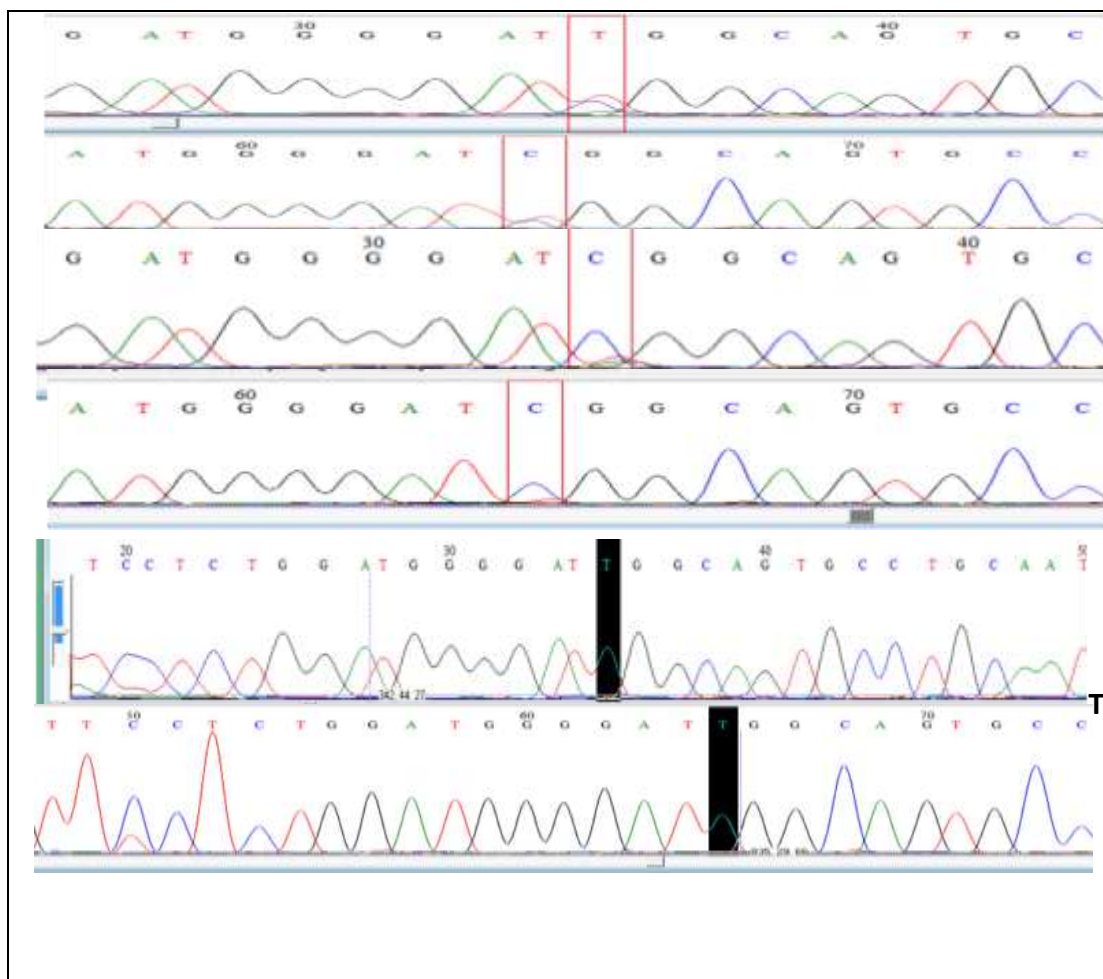
وكما مبينة في الجدول رقم (4)

جدول رقم (4) يبين النسب المئوية لعينات الاغنام العواسية لجين (CYP19)

النسب المئوية (%)	العدد	التركيب الوراثي (Genotype)
6.25	1	TT
31.25	5	TC
62.50	10	CC
%100	16	المجموع

3-4 الطرز الوراثية (Genotype)

اظهرت النتائج وجود اختلاف في تتابع القواعد النايتروجينية للحزمة 140 زوجاً قاعدياً لجين Exon3(CYP19) وتم الحصول على ثلاثة طرز وراثية وكما في الشكل (1)



الشكل (1) يبين وجود اختلاف في تتابع القواعد النايتروجينية للحزمة 140bp زوج قاعدي لجين CYP19

3-5 علاقة التراكيب الوراثية بتركيز الاستروجين في عينات الدراسة:

يبين الجدول رقم (5) متوسطات تركيز الاستروجين التي حلت احصائياً باستخدام اختبار اقل فرق معنوي وتظهر النتائج فروقات معنوية على مستوى احتمالية 0.05 بين عينات الدراسة وتبين وجود تفوق معنوي على مستوى احتمالية $P \leq 0.05$ في الطرز الوراثية TT و TC (15.5745 pg/ml) و (pg 15.4617/ml) مقارنة بتراكيز الاستروجين للطراز الوراثي CC (14.2362 pg/ml). يتبين من نتائج الدراسة الحالية تأثير واضح لجين CYP19 وتأثيره على تركيز الاستروجين ويعد هذا الأنزيم مسؤول عن تصنيع هرمون الأستروجين من خلال تحويل الاندروجين الى استروجين ولهذا الهرمون اهمية جار صمية (Paracrine) و صمية (Endocrine) وذاتية (Autocrine) وهو مهم ليس فقط في تنظيم الفعالية التناسلية للذكور والإناث ولكنه مهم أيضا في ترسيب الدهون (15 و 16). ، وان لجين CYP19 علاقه في التحفيز على الشبق وتطوير الغدد اللبانية من خلال دوره في تحويل الاندروجين الى استروجين. وعندما يكون تصنيع الأستروجين غير كاف فإن ذلك يعمل على تراكم الأندروجين المنتج في خلايا (Theca) في الحويصلات المبيضية ويبدو أن هذا التراكم يؤدي الى تثبيط عملية تكوين الحويصلات المبيضية وبالتالي ان هذه الحويصلات ستموت (9) أما تأثيره على الصفات التناسلية فان له تأثيراً في تباين تأثيرات الأختلاف الاليلي ففي الوقت الذي تفوق فيه الليل معين في صفة ما لسلالة أغنام معينة فلم يكن كذلك لسلالة اخرى (9) وان للطفرة الوراثية تأثير واضح على تركيز الاستروجين للطراز الوراثي الطافر (TC) والطراز الوراثي السائد (TT) وان حدوث الطفرة ينتج عنه تغيير للتركيب الوراثي للكائن الحي (genotype) وهذ يؤدي الى ظهور انماط مظهرية مختلفة (Phenotype) ويكون قسم من الطفرات ضاره وبعضها يكون مفيداً وان تأثير الطفرة يكمن في حدوث تغيير تدريجي في تسلسل المعلومات الوراثية الجينات او عددها ومن ثم يحدث تغيير في التركيب الجيني للكائن الحي (genotype) وتسبب نوع من التطور للكائن الحي والذي يؤدي الى ظهور سلوكيات وانماط مظهرية (Phenotype) قادر على التكيف في ظروف البيئة (20) وان التباين في نتائج البحث للدراسة الحالية واختلاف الطرز الوراثية لجين CYP19 ناتج من وجود طفرة وراثية من نوع (missense) وهي تعني الطفرة المفقودة .وهي تشفر لحامض اميني مختلف حيث يحدث الاحلال القاعدي الذي يسبب احلال حامض اميني محل حامض اميني اخر وان العديد من الباحثين والدراسات ركزوا على اهميته الوراثية وايجاد الاساليب الحديثة وتطويرها من اجل التحسين الوراثي وذلك من خلال معرفة تأثير الجينات والمعلومات الوراثية والطرز الوراثية لسلاسل الاغنام وحيوانات المزرعة (18 و 19)

جدول رقم (5) متوسطات تركيز الاستروجين في عينات الدراسة حسب الطرز الوراثية

الطرز الوراثية	المتوسط pg/ml	الانحراف القياسي	الخطا القياسي
TT	15.5745(aa)	.40510	.07396
TC	15.4617(ab)	.43573	.07955
CC	14.2362(aa)	2.05818	.37577
المجموع	15.0908	1.36641	.14403

*الحروف المشابهة تدل على عدم وجود فرق معنوي والحروف المختلفة تدل على وجود فرق معنوي على

مستوى احتمالية $p < 0.05$

جدول رقم (6) مقارنة متوسطات تركيز الاستروجين للطرز الوراثية لعينات الدراسة باستخدام اختبار اقل فرق

معنوي LSD

المعنوية	اختلاف المتوسطات	المجاميع الوراثية	الطرز الوراثية
.725	.11284	TC	T
.000	1.33835*	CC	T
.725	-.11284	TT	TC
.000	1.22551*	CC	TC
.000	-1.33835*	TT	CC
.000	-1.22551*	TC	CC

*تدل على وجود فروقات معنوية على مستوى احتمالية 0.05

3-6 علاقة التراكيب الوراثية بتركيز البروجيستيرون في عينات الدراسة:

يبين الجدول رقم (7) متوسطات تركيز البروجيستيرون التي حلت احصائياً باستخدام اختبار اقل فرق معنوي وتظهر النتائج فروقات معنوية على مستوى احتمالية 0.05 بين عينات الدراسة والبالغة 50 وتبين وجود تفوق معنوي على مستوى احتمالية $P \leq 0.05$ في الطراز الوراثي TC (ng/ml 0.4777) على الطراز الوراثي TT و CC (ng/ml) 0.3288, 0.2469 بينما انخفض تركيز البروجيستيرون للطراز الوراثي TT انخفاضاً معنوياً على مستوى احتمالية $P \leq 0.05$ مقارنة بالطراز الوراثي TC و CC يتبين من نتائج الدراسة الحالية تاثير واضح لجين CYP19 وتأثيره على تركيز البروجيستيرون من خلال تأثيره على الصفات التناسلية فان له تأثيراً في تباين تأثيرات الاختلاف الاليلي ففي الوقت الذي تفوق فيه اليل معين في صفة ما لسلاله أغانم معينة فلم يكن كذلك لسلالة اخرى (9) وان التباين في تراكيز الطرز الوراثية وتفوق الطراز الوراثي (TC) على الطرازين TT و CC ناتج عن حدوث طفرة وراثية من نوع (missense) وهي تعني الطفرة المفقودة .وهي تشفر لحامض اميني مختلف حيث يحدث الاحلال القاعدي الذي يسبب احلال حامض اميني محل حامض اميني اخرواكدت الدراسات على ضرورة ايجاد الاساليب الوراثية الحديثة وتطويرها من اجل عمليات التحسين الوراثي لسلالات الاغانم وحيوانات المزرعة واكدت عدة دول اوربية على اهمية هذا الموضوع مما ادى الى تحسين الصفات التناسلية والانتاجية لسلالات الاغانم (21).

جدول رقم (7) متوسطات تركيز البروجيسترون في عينات الدراسة حسب الطرز الوراثية

الطرز الوراثية	المتوسط/ml ng	الانحراف القياسي	الخطا القياسي
TT	0.2469(aa)	.01869	.00341
TC	0.4777(ab)	.13443	.02454
CC	0.3288(aa)	.15200	.02775
المجموع	0.3511	.15085	.01590

*الحروف المتشابهة تدل على عدم وجود فرق معنوي والحروف المختلفة تدل على وجود فرق معنوي على مستوى احتمالية $p > 0.05$

جدول رقم (8) مقارنة متوسطات تركيز البروجيسترون للطرز الوراثية لعينات الدراسة باستخدام اختبار اقل

فرق معنوي LSD

الطرز الوراثية	المجاميع الوراثية	اختلاف المتوسطات	المعنوية
TT	TC	-.23075*	.000
	CC	-.08186*	.008
TC	TT	.23075*	.000
	CC	.14889*	.000
CC	TT	.08186*	.008
	TC	-.14889*	.000

*تدل على وجود فروقات معنوية على مستوى احتمالية 0.05

4: الاستنتاج

في ضوء ما توصلت إليه الدراسة الحالية يمكن الإشارة الى مجموعة من الاستنتاجات والتوصيات بما يخص امكانية استغلال جين CYP19 في برامج التربية والتحسين للأغنام العواسي المحلي من خلال التعدد المظهري للجين شيع التركيب الوراثي CC 62.5% على التركيب الوراثي السائد TT 6.25% والتركيب الوراثي المتغاير الطافر TC 31.25% لجين CYP19 في اغنام العواسي المحلي ان لتعدد الاشكال الوراثي Polymorphism لجين CYP19 في Exon3 تأثيراً معنوياً على تراكيز الاستروجين والبروجيسترون. تفوق التراكيب الوراثية TT و TC على التركيب الوراثي CC في قياس تركيز الاستروجين. وتفوق الافراد الحاملة للتركيب الوراثي الهجين الطافر TC لجين CYP19 على التركيبين الوراثيين TT و CC في قياس تركيز البروجيسترون.

Conflict of Interests.

There are non-conflicts of interest .

5-المصادر

- 1-الجبوري، تيماء عبدالحسين مهدي كاظم. 2012. استخدام المؤشرات الوراثية (Genetic markers) في تقييم تضريب خطوط مختلفة من أسماك الكارب الاعتيادي. رسالة ماجستير ،هيئة التعليم التقني / الكلية التقنية المسيب، ص 39.
- 2-الحسناوي ، ميادة صاحب حسن .(2012) تأثير الموسم وحجم الجريبة المبيضية في بعض المكونات البايوكيميائية للسائل الجربي في النعاج المحلية . رسالة ماجستير.الكليةالتقنية المسيب .جامعة الفرات الاوسط التقنية.
- 3-الشجيري ,الاء خضير.(2017)تأثير وزن النعاج العواسي وعمرها وعدد الويضات في تركيز بعض الهرمونات في السائل الجربي.مجلة جامعة بابل/العلوم الصرفة والتطبيقية/العدد(4)/المجلد(25):2017
- 4-الخفاجي ,مصطفى خضير عباس, العكام ناظم محمود .(2017)تأثير مرحلة نهاية الحمل على مستوى هرمون الاستروجين والبروجيسترون وبعض مكونات الدم في الاغنام العواسية.مجلة الفرات للعلوم الزراعية/مجلد 9 عدد4: 762-772.
- 5-عبد غافل , هديل علوان .(2013) تأثير تقنية توحيد الشبق وفعالية الاداء في الاغنام العواسي. رسالة ماجستير .الكلية التقنية المسيب .جامعة الفرات الاوسط التقنية.
- 6-عزاوي، مثنى صباح . 2015. التحليل الوراثي الجيني لـ CYP19 و PRL واختبار المذنب وعلاقتها ببعض مظاهر الاداء للأغنام العواسية المحلية والتركية. اطروحة دكتوراه- كلية زراعة- جامعة بغداد.
- 7-Al-Anbaky, K . I. H. (2009). A study of serum steroid hormones Concentration of pregnant cows .Iraqi Journal of Veterinary Medicine vol .33 , No.1.
- 8-Al-Barzinji, Y.M.S. and Othman, G.U. (2013). Genetic polymorphism in fecb gene in Iraq sheep breeds using RFLP – PCR Technique. IOSR. J. of Agri. And Vet. Sci. 2: 46 – 48.
- 9-Ana Maria Bezerra Oliveira Lobo., Raimundo Nonato Braga Lôbo., And Samuel Rezende Paiva. 2009. Aromatase gene and its effects on growth, reproductive and maternal ability traits in a multibreed sheep population from Brazil. Genetics and Molecular Biology. 32(3): 484- 490. www. sbg.org.br.
- 10-Salman, M. and Abdallah, J. (2014). Evaluation of Performance and Estimation of Genetic Parameters for Milk Yield and Some Reproductive Traits in Sheep Breeds and Crosses in the West Bank. Tropentag, Prague, Czech. Republic: 17 - 19.
- 11-Julius, H.J. and Van derwef. (2007). Mark- assisted selection, chapter13. Marker-assisted selection in sheep and goats. FAO.
- 12-Liron, J.P.and Givambatt, G. 2006. Genetic characterization of Argentine and Bolivian cercal cattle Breeds Assessed through microsatellites. Journal of Heredity, 67 (4): 331- 33.
- 13-Simpson, E., Rubin, G., Clyne, C., Robertson, K., O'Donnell, L., Jones, M., and Davis, S .2000. The role of local estrogen biosynthesis in males and females. Trends Endocrinol Metab, 11:184-188.
- 14-Sun, W., Chang, H., and Mingxing, C. 2010. Study on relationship between microsatellite polymorphism and producing ability on litter size trait of Hu sheep in China. African Journal of Biotechnology, 9(50): 8704-8711.

- 15-Heine, PA, Taylor, JA., Iwamoto, GA., Lubahn, DB., and Cooke, PS .2000.** Increased adipose tissue in male and female estrogen receptor-alpha knockout mice. Proc Natl Acad Sci USA 97:12729- 12734.
- 16-Jones, ME., Thorburn, AW., Britt, KL., Hewitt, KN., Wreford, NG., Proietto,, J., Oz OK., Leury BJ., Robertson, KM., and Yao S., 2000.** Aromatase-deficient (ArKO) mice have a phenotype of increased adiposity. Proc Natl Acad Sci USA 97:12735-12740
- 17-Messer L.A., Wang L., Tuggle C.K., Yerle M., Chardon P., PompD., Womack J.E., Barendse W., Crawford A.M., Notter D.R. and Rothschild M.F. (1997).** Mapping of the melatonin receptor 1a (MTNR1A) gene in pigs, sheep and cattle. Mamm.Gen.370-8,368. method for detection of mutations in the genomic DNA. PCR Methods Appl. 1, p. 34-38 .H o d g e s J. (1984). Conservation
- 18-Teneva, A. E. Todorovska, N. Tyufekchiev, A. Stella, P.Boettcher, Dimitrova. 2007.** Molecular characterization of Bulgarian livestock genetic resources. II. Microsatellite variation withi and among Bulgarian cattle breeds. Biotechnology in Animal Husbandry, 23, 5-6, 227-242.
- 19-Teneva, A.E., Dimitrova, I., Georgiev, G., Polihronoval, G. & Ivanova, K .2009 .**Molecular characterization of Bulgarian livestock genetic resources and their optimized utilization for animal production. FAO/IAEA Intern ational Symposium on Sustainable Improvement of animal Production and Health, 8-11 June 2009, Vienna, Austria, Synopses -126-127-17 Petrovic ,M.P. Mekic, C., Dragana, R. & Zujovic, M. 2005.Genetics principles relating to improvement of milk yield in sheep and goat. Biotechnology in animal husbandry.21(5-6),p:73-78.
- 20- [xiv] U.S. Genetic map Construction, 2014.**
- 21-Petrovic ,M.P. Mekic, C., Dragana, R. & Zujovic, M. 2005.**Genetics principles20 relating to improvement of milk yield in sheep and goat. Biotechnology in animal husbandry.21(5-6),p:73-78
- 22-Adiguzel, A.; Ozkan, H.; Baris, O.; Inan, K.; Gulluce, M. and Sahin, F. (2009).** Identification and characterization of thermophilic bacteria isolated from hot springs in Turkey. J. Microbiol., 79: 321-328.