تحديد بعض الواسمات الوراثية وتتابعاتها لجين CAPN1 وعلاقتها مع بعض الصفات النوعية قبل وبعد الذبح لفروج اللحم روز 308

أسامة محمد عبد الله*[1]، أحمد عبدالله عباس* ورحاب صبحي رمضان**
*جامعة الانبار/ كلية الزراعة
**جامعة النهرين/ كلية التقنيات الحيوية

الخلاصة

تم اختيار 100 طير بصورة عشوائية من فروج اللحم التجاري (روز308) بعمر 42 يوماً من حقل أهلي، واخذت عينات الدم بصورة فردية ثم ذبحت، وتم اجراء التحاليل الوراثية في مختبرات كلية العلوم/ قسم التقانة الاحيائية/ جامعة النهرين، بهدف استخلاص الدنا وتحديد التراكيب الوراثية (Genotype) لجين CAPN1، استهدفت الدراسة ايجاد العلاقة لهذه الجينات (الواسمات الوراثية) ببعض الصفات المهمة للذبيحة (وزن الذبيحة، وزن القطعيات الرئيسية، وزن الأحشاء المأكولة، نسبة التصافي، وزن الدهن البطني) في الطيور قيد الدراسة، ومعرفة تكرار التراكيب الوراثية وتكرار الجين والتتابعات لجين CAPN1، لتحسين صفات فروج اللحم الاقتصادية المهمة. ظهرت النتائج التالية: تم تشخيص جين CAPN1 في طيور الدراسة الحالية، اعتمادا على الحزم الناتجة من ترحيل الدنا للأفراد بعد اجراء الترحيل الكهربائي باستعمال تقانة RFLP وانزيم التقييد *Bam H1* وتم تحديد التركيب الوراثية اعتمادا على حجم القطعة الناتجة لجين CAPN1. وتم تحديد التراكيب الوراثية AA وAB وBB للجين CAPN1 وكان تكرار التراكيب الوراثية 0.25 و0.55 و0.20 على التتابع، وتكرار الجين A 52.5% والجين B 47.5%. تفوق التركيب الوراثي BB للجين CAPN1 على بقية الأفراد للتراكيب الوراثية لهذا الجين في صفات وزن الجسم الحي ووزن الذبيحة ووزن الصدر ووزن الفخذ والقلب والقانصة وكذلك في نسبة الفخذ الأعلى وعرض الصدر تفوقاً معنوياً ($P<0.01$). ارتبط الجين CAPN1 ارتباطا عاليا موجبا ومعنويا مع صفات وزن الجسم الحي ووزن الذبيحة ووزن الجسم ووزن قطعية الصدر. اتضح ان الأفراد الحاملة للتركيب الوراثي BB للجين CAPN1 هي الأفراد المتميزة اذ تفوقت معنويا ($P<0.05$) على بقية التراكيب الوراثية بسبب التأثيرات المتعددة لهذا الجين. تم تحديد الطفرات التي حصلت في جين CAPN1 بعد دراسات التتابعات التي بينت ظهور طفرات من نوع الاستبدال والحذف وبنسبة 37.5 % لكل واحدة و25% لم تظهر بها اي تغيير في عينات فروج اللحم من نوع Ros 308.

الكلمات المفتاحية: CAPN1، PCR، RFLP، Sequencing، فروج اللحم.

E. mail: Osamah1986@yahoo.com

[1] البحث مستل من رسالة ماجستير للباحث الأول.

Identify some of the Genetic Markers and gene Ttaavatha CAPN1 and its relationship with some of the qualitative Characteristics before and after slaughter of Broiler Chickens Rose 308

O. M. Abdullah[*], A. A. Abbas[*] and R. S. Ramadhan[**]
[*]College of Agriculture/ University of Anbar
[**]College of Biotechnology/Al-Nahrain University

Abstract

A total of one hundred birds of commercial broiler (Ros 308) were selected randomly from a private flock at the age of 42 days. Samples of blood were collected from each bird individually then birds were slaughtered. The genetic analyses was performed in the laboratories of College of Science, University of Al-Nahrain, The aim of extract DNA to identify genotypes (Genotype) gene CAPN1. The study aimed to find the relationship of these genes (genetic markers) some important qualities of sacrifice (slaughter weight, the weight of the main Alqtaaat, edible viscera weight, dressing percentage, abdominal fat weight) in broilers under study Knowing repeating and repeat genotypes and gene sequences to gene CAPN1 To improve the qualities the most important economic to broilers Meat. The results could be summarized as following: gene were determined in the broilers of the current study depending on the bands that got it from the electrophoresis of the individuals DNA using RFLP technique and restricted enzyme with (*Bam H1*) and the genotypes were determined according to the size of the parts of the gene for gene CAPN1. Three types of genotypes for the CAPN1 gene were determined according to the flock size, where AA, AB and BB. The genotype frequency of the mentioned genotypes were 0.25, 0.55 and 0.20 respectively and the gene frequency was 52.5% A and 47.5% B. The genotype BB of the CAPN1 gene was superior significantly ($P<0.01$) as compared with others genotypes concerning live body weight, carcass weight, thigh weight, gizzard, and the ratio of upper thigh to the breast width. The correlation coefficients between CAPN1 gene and each of the live body weight, carcass weight and breast weight were significant and positive. The genotypes BB for the CAPN1 are the distinct as they superior significantly ($P<0.05$) compared with others genotypes due to the polymorphism of these gene, hence, we recommend the using as genetic markers in the selection programs. The mutations were determined in CAPN1 gene as a result of studying the sequences that indicate the occurrence of mutations for the Substitution and deletion types (37.5%) while 25% did not show any change in the broilers samples.

Keywords: CAPN1, PCR, RFLP, Sequencing, Broiler Chickens

المقدمة

رغم أن الانتخاب لمعدل النمو يعتمد بصورة رئيسية في البداية على الوزن الحي فان الناتج النهائي لتربية فروج اللحم يعتمد إلى حد بعيد على محصول اللحم الناتج، وخاصة قطعية الصدر والتي تشكل القيمة السعرية الأعلى مقارنة بالأجزاء الأخرى في الذبيحة (1). ان لحم قطعية الصدر هو الجزء الأكثر قيمة اقتصادية في الدجاج والذي يبلغ 50% من وزن العضلات الكلي، وتحسين حاصل لحم قطعية الصدر عن طريق العلاقة بين نسبة وزن لحم قطعية الصدر الى وزن الجسم، سينتج عنه زيادة في فعالية الاستفادة من الغذاء المستهلك من قبل الطير (2). تعد صفة محصول اللحم من الصفات التي يصعب قياسها وتقييمها في معظم الحالات، والتي تستبدل غالباً بتقييم الأخوة أو نسل الأفراد قيد الاختبار وهذه العمليات هي مكلفة وينتج عنها تباطؤ التقدم الوراثي لعملية التربية، لعدم أمكانية الحصول على اكبر من 50% من درجة القرابة للأفراد قيد الاهتمام. ان صفة حاصل لحم

الصدر يرتبط ارتباطاً وراثياً جيداً مع عدد الصفات المهمة مثل دليل شكل الصدر المطبق من قبل عدد كبير من المربين في تحسين هذه الصفة(3). ان الانتخاب لتحسين صفات الذبيحة وخاصة قطعية الصدر صعب من الناحية العملية، ومع ان استعمال الارتباط الوراثي العالي بين وزن الجسم مع وزن قطعة الصدر يزيد من كمية لحم الصدر المنتج، إلا ان حاصل لحم الصدر (نسبة اللحم المنتج لقطعية الصدر نسبة لوزن الذبيحة الكلي) سوف لن تزداد بنسبة كبيرة؛ بسبب الارتباط الوراثي المنخفض لحاصل قطعية الصدر مع وزن الجسم (0.13 ذكور، 0.16 اناث) وهو ما يستوجب اتباع طرق غير تقليدية لتحسين مثل هذه الصفات(2). ومن حسن الحظ، يمكن تمييز الأفراد المتميزة وراثيا لصفات الذبيحة عن طريق استعمال الواسمات الوراثية Genetic Marker والتي ترتبط مع الجينات المسؤولة عن الصفات قيد الاهتمام، حيث ان طرق الانتخاب التقليدية لم تؤثر في زيادة تحسين نوعية اللحوم، بسبب ان معظم الصفات النوعية للذبائح سوف لايتم تقييمها وراثيا (بسبب الحاجة الى الحصول على الأبناء) ولا يمكن اللجوء الى طريقة الاختبار بالنسل (والتي لايمكن اللجوء اليها باسباب كلفة التربية وطول المدة والتي تسبب في صعوبات التربية). جرت أولى الملاحظات على علاقة مستوى بروتينات الكالبين Calpain في التسعينات حيث لوحظ زيادة الكالبينات في لحوم الدجاج البياض مقارنة بفروج اللحم وهذه الدراسات تقترح ان يكون لفعالية الكالبين علاقة مع بروتينات اللحم، حيث ينخفض فعالية الكالبين ويزداد الكالبستاتين Calpastatin في فروج اللحم(4)، لفت الكالبين انتباه الباحثين في السنوات الأخيرة بسبب تأثيره الواضح على نمو وتمايز العضلات وتنظيم المايوفابريل اضافة الى دوره في تطرية اللحوم(5، 6)، حيث تعمل ثلاثة جينات رئيسة (غير طافرة) هي CAPN1 و CAPN2 و CAPN3 عن التعبير عن الكالبين في الطيور الداجنة، اضافة الى الكالباستاتين Calpastatin (7). أشارت العديد من الدراسات الى امكانية وجود تعدد الأثر Polymorphisms لعدد من الجينات مع العديد من صفات الذبيحة النوعية وصفات قطعية الصدر(8، 9، 10)، التي يمكن ان تستعمل كمؤشرات في برامج الانتخاب غير المباشر المعاون بالواسمات Marker assisted selection والتي يمكن تمييز وانتخاب الافراد المتميزة للصفات المرغوب بها من قبل المربي بأعمار مبكرة والحصول على تقدم وراثي لهذه الصفات ينعكس ايجابيا على تحسين الطيور الداجنة. ان جودة اللحوم تعتبر من المميزات الهامة لصناعة الدواجن والذي يترافق مع رضى المستهلك (11). حيث يشفر جين CAPN1 بروتين السستين الذي يحطم بروتينات الالياف العضلية بعد الوفات ويعتبر هذا الانزيم الاساس الذي يعتمد علية بعد الذبح في عملية طراوت اللحوم (12). في الدواجن يشفر جين CAPN1 على الكروموسوم 3. وتم العمل على هذا الجين على الاكسون 5 و6. ووفقاً للمركز الوطني لقاعدة المعلومات التكنلوجية NCBI 2012 هناك 118 SNP في جين الـ CAPN1 في الدجاج.

المواد وطرائق العمل

تم شراء 100 طير من فروج اللحم التجاري نوع (روز308) بعمر 42 يوماً من حقل أهلي ذي مواصفات قياسية وتم نقل الطيور في اقفاص بلاستيكية الى مكان مخصص للذبح، واخذ عينات الدم، في حين تم اجراء التحاليل الوراثية في مختبرات كلية العلوم/ قسم التقانة الاحيائية/ جامعة النهرين بهدف فصل المادة الوراثية وتحديد التراكيب الوراثية Genotype لجين CAPN1 ودراسة علاقة هذه المواقع الوراثية بالأداء. أجريت عملية جمع الدم عن طريق قطع الوريد الوداجي Jugular vein حيث تم جمع 5 مل من الدم من كل طير وتم حفظ العينات في انابيب اختبار حاوية على مادة مانعه لتخثر للدم K_2 EDTA، ونقلت العينات في صندوق مبرد الى المختبر، وحفظت بالتجميد على درجة حرارة −20 مئوي لحين وقت الاستخلاص. تم استخلاص الحامض النووي الدنا من عينات دم الطيور وفق العدة المستخدمة لشركة Promega. اجريت عملية الترحيل الكهربائي للدنا وفق طريقة (14). تم اختيار البوادئ Primers وكما موضح في الجدول (1) لغرض اجراء الكشف الجزيئي ومعرفة التعدد المظهري للجين والطفرات الموجودة لجينCAPN1.

الجدول (1) تسلسل البرايمرات المستخدمة المجهزة من شركة BIONEER

اسم الجين	Oligo nucleotides	TmC°	GC%	Product size	Sequence (5'-3')	Ref.
CAPN1	Forward primer	57.8	57.1	217bp	TCACCTCACGTGC CTCTCTCA	(Zhang, et al., 2008)
	Reverse primer	47.6	50.0	-	CGGAACACTTA CGTCGAT	(Zhang, et al.,2008)

الجدول (2) البرنامج المستخدمة في الكشف الجزيئي لجين CAPN1 باستخدام تقنية PCR

ت	الخطوات	درجات الحرارة	عدد الدورات	الوقت
1	مرحلة المسخ الاولى	94 C°	1	5 min*.
2	المسخ	94 C°	35	1 min*.
3	الالتحام	60 C°		1 min*.
4	الاستطالة	72 C°		1 min*.
5	مرحلة الاستطالة النهائية	72 C°	1	10 Min

* Min=minute

تم تحديد تعدد المظاهر الجينية من خلال تتابع القواعد النتروجينية لقطعة الجين بطريقة التتابع (Sequencing)، حيث تم ارسال 40 عينة/20 مايكروليتر من (PCR Product) لجميع الطيور قيد الدراسة. بعد الانتهاء من عملية تفاعل البلمرة تم الكشف عن مواقع القطع وكذلك عن وجود الطفرة من عدمها عن طريق استعمال أنزيم التقييد *Bam H1* المجهز من شركة Sigma/USA. الطريقة اعتمدت من قبل (15).

- **القياسات المأخوذة قبل عملية الذبح:**

- طول الصدر: تم قياس طول الصدر لكل ذبيحة باستخدام مسطرة مقسمة الى اجزاء الملم (الفيرنية الألكترونية)، إذ تم اخذ القياس من عظم الجؤجؤ الى نهاية عظم القص.
- محيط الصدر: جرى قياس محيط الصدر لكل طير بوساطة شريط قياس خاص مقسم إلى أجزاء الملم وذلك بلفه حول الصدر وبشكل ملامس الى المنطقة التي تقع أعلى الجناحين (16).
- عرض الصدر: حيث تم اخذ قياس عرض الصدر بواسطة مسطرة مقسمة الى اجزاء الملم (الفيرنية الألكترونية) حيث أخذ القياس من الجه البطنية للطير.
- تم اخذ القياسات للطيرور قبل اجراء عملية الذبح وهي (طول الصدر وعرض الصدر وعمق الصدر) ومن ثم اخذت الأوزان الفردية للطيور.

- **عملية الذبح ونزع الريش والأحشاء ونسبة التصافي %:** اجريت عملية الذبح اليدوي بعد اخذ عينات الدم والوزن الحي وبعد ذلك تم فصل الأحشاء الداخلية المأكولة ووزنة بواسطة ميزان حساس ثم احتسبت كنسبة من وزن الجسم الحي وكذلك الدهن البطني، تم اخذ اوزان القطعيات الرئيسية وحساب نسبة التصافي وفق المعادلتين الاتيتين وحسب ما ذكرة (17):

$$\text{نسبة التصافي مع الاجزاء المأكولة} = \frac{\text{وزن الذبيحة + وزن الاحشاء المأكولة}}{\text{وزن الجسم الحي}} \times 100$$

$$\text{نسبة التصافي بدون الاجزاء المأكولة} = \frac{\text{وزن الذبيحة}}{\text{وزن الجسم الحي}} \times 100$$

- **التقطيع واخذ أوزان القطعيات:** بعد اخراج الذبائح من التبريد تم تقطيع الذبيحة الى القطعيات الرئيسية وهي (الصدر والفخذين) والقطعيات الثانوية وهي (الظهر، الرقبة والجناحين) ووزنت كل قطعة على انفراد (18).

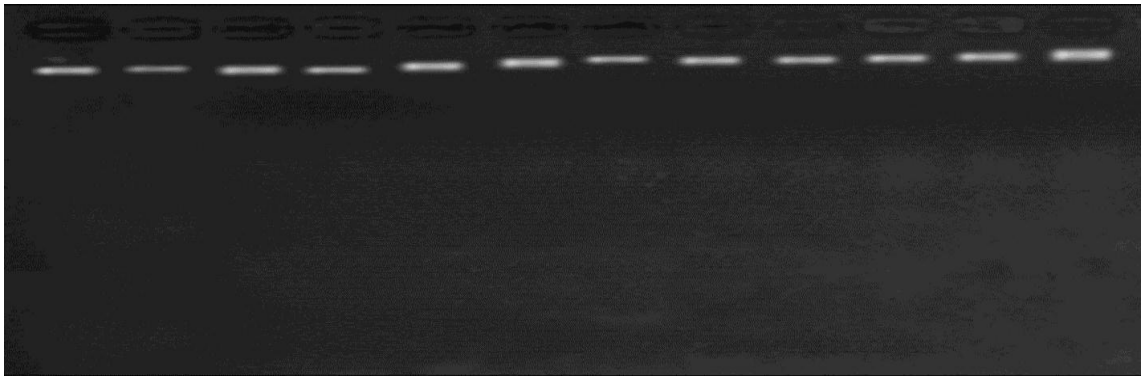
- **نسبة الدهن البطني** :تم حساب نسبة الدهن البطني وفق المعادلة التي وضعة من قبل (19):

نسبة الدهن البطني = (وزن الدهن البطني/ وزن الذبيحة) × 100

- **التحليل الاحصائي:** تم تحليل البيانات احصائيا باستعمال البرنامج SAS– Statistical Analysis System (20) لدراسة تأثير تعدد المظاهر الوراثية لجين CAPN1، وقورنت الفروق المعنوية بين المتوسطات باستخدام اختبار Duncan(21) متعدد الحدود.

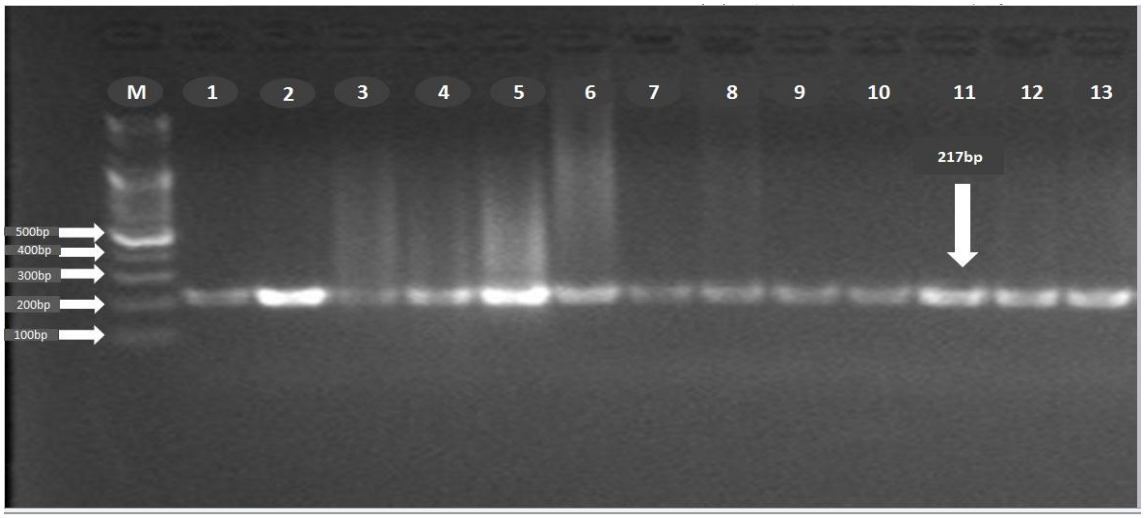
النتائج والمناقشة

- **استخلاص الدنا:** يتضح من الشكل (1) نتائج ترحيل عينات الدنا بهلام الاكاروز الحاوي على صبغة الأثديوم بروماید.



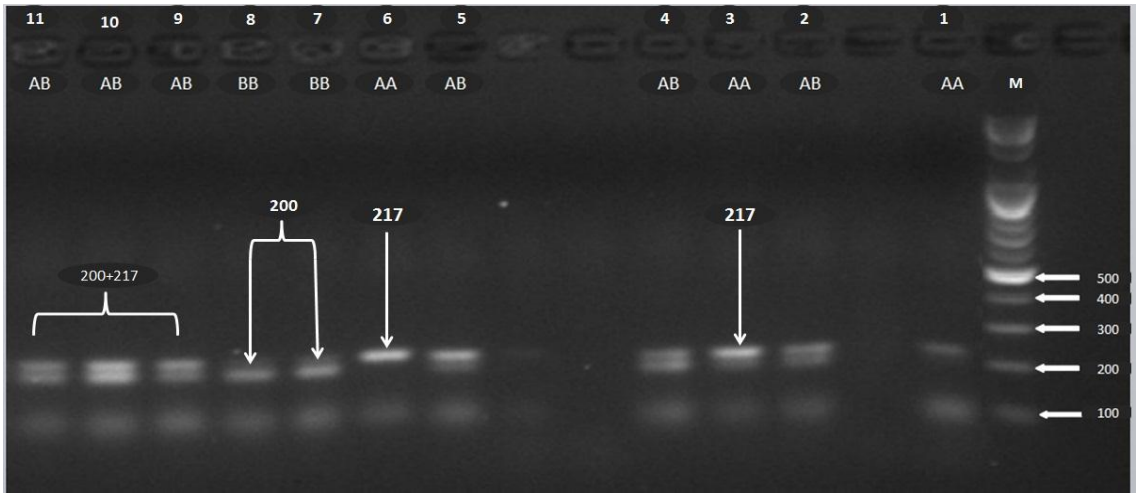
الشكل (1) عينات الدنا المستخلصة من فروج اللحم نوع Ros 308

- **جين الـ CAPN1:** تم تضخيم جين CAPN1 بتقنية PCR وباستخدام عدة PCR والبادئات وعينات الحمض النووي DNA الكلي وتم ضبط جهاز الدورات الحرارية PCR حسب ما ذكره في فصل مواد وطرق العمل وبعد ذلك تم ترحيل العينات المضاعفة عن طريق حقن 7µL من كل عينة مستخلصة واستخدام 4µL من قطع معلومة الحجوم (Marker 100 – 2000) في هلام الأكاروز وبتركيز 2% وتم ضبط فولتية الجهاز على 100 فولت لمدة 10 دقائق، وبعدها خفضت الفولتية الى 70 فولت لمدة ساعة ونصف وبعدها تم تصوير ناتج الترحيل للتأكد من نجاح عملية الأستخلاص والحصول على حجم القطعة المطلوبة والتي هي



الشكل (2) ناتج تقنية PCR لجينCAPN1 بعد تعريض هلام لأكاروز المضاف لهُ صبغة الاثديوم بروماید والمعرضة لجهاز الاشعة فوق البنفسجية. عامود M هو قطع معلومة الحجم حجم القطعة (100–2000) زوج قاعدي، العامود من1 الى 13 هي لفروج اللحم نوع Ros 308

تم تحديد التراكيب الوراثية (Genotype) لفروج اللحم لجين CAPN1 باستخدام تقانة RFLP وانزيم التقييد *Bam H1* وحسب ما ورد في فصل المواد وطرق العمل حيث تم ترحيل 9 µL من ناتج التضخيم و4 µL من القطع معلومة الحجوم (Marker 100 – 2000) عن طريق هلام الأكاروز بتركيز 2% وتم ضبط الفولتية في العشر دقائق الاولى على 100 فولت، ومن ثم تم ضبط الفولتية على 70 فولت لمدة ساعة ونصف وبعدها تم تصوير ناتج الترحيل ليتم التعرف على توزيع التراكيب الوراثية ضمن فروج اللحم في التجربة وكانت كما في الشكل (3).



الشكل (3) ناتج هضم جين CAPN1 باستخدام انزيم التقييد *Bam H1* بعد تعرض هلام الاكاروز المصبوغ بصبغة الاثديوم بروميد لجهاز الاشعة فوق البنفسجية عامود M هو قطع معلومة الحجم (100–2000 زوج قاعدي) عامود 6,3,1 تعتبر عينات متماثلة الاليلات ويروز لها AA، وعمود 4،2، 5، 9 ، 10، 11 تعتبر عينات غير متماثلة الاليلات ويرمز لها AB، واخيراً العمود 7، 8 تعتبر الأليلات متماثله ويرمز لها BB.

من الشكل (3) نلاحظ الأختلافات الحاصلة في التراكيب الوراثية لفروج اللحم وقد تم تقسيمها اعتماداً على حجم القطع الناتجة من عملية الهضم بواسطة انزيم التقييد *Bam H1* حيث كان التركيب الوراثي AA بحجم قطعه 217 زوج قاعدي والتركيب الوراثي BB بحجم قطعه 200 زوج قاعدي ويعتبر متماثلين في الاليلات اما التركيب الوراثي AB بحجم قطعه 217 و200 زوج قاعدي ويعتبر غير متماثلين في الاليلات.

- **توزيع جينات CAPN1 في التراكيب الوراثية في عينة فروج اللحم نوع Ros 308**: يتضح من الجدول (3) أن النسب المئوية للتراكيب الوراثية لجين CAPN1 في عينات فروج اللحم المدروسة اظهرت فروقات عالية المعنوية ($P<0.01$) للتراكيب الوراثية المختلفة والتي بلغت 0.25، 0.55 و0.20% للتراكيب الوراثية AA، AB وBB على التوالي، اي ان هناك زيادة واضحه للأفراد الحاملة التركيب الوراثي AB الذي يشير الى ان تكرار الجين في القيم الوسطية هو ما يمثل وجود وفره من التراكيب الوراثية في حالة الرغبة بالانتخاب على وفق هذا الجين ويليه التركيب الوراثي AA مع انخفاض في نسبة التركيب الوراثي BB، وهو ما يشير الى ان تكرار الجين في قيمة وسطية هو ما يمثل وجود وفرة من التراكيب الوراثية في حالة الرغبة بالانتخاب على وفق هذا الجين.

جدول (3) العدد والنسبة المئوية لجين CAPN1 في عينات فروج اللحم نوع Ros 308

التركيب الوراثي (Genotype)	العدد	التكرار الجيني%
AA	15	0.25
AB	33	0.55
BB	12	0.20
المجموع	60	%100
قيمة مربع كاي (χ^2)	---	12.9
** ($P<0.01$).		

وجاءت هذه النتائج متفقة مع دراسة اجراها (10) على جين CAPN1 اذ وجدوا ان نسبة التراكيب الوراثية AB كانت مرتفعة حيث بلغت 50% وتلاها التركيب الوراثي AA اذ بلغ 30% اما التركيب الوراثي BB فكانت نسبته منخفضة حيث بلغت 20% كما وجد بأن هذه العشيرة متزنة حسب اتزان هاردي واينبرغ Hardy Weinberg (Equilibrium)، وهذه التأثيرات تتضمن التزاوج غير العشوائي الطفرات، الانتخاب (الطبيعي والاصطناعي، الصدفة، الهجرة والطفرة)، ولكن في واقع الأمر يوجد على الأقل واحد من هذه التأثيرات في العشائر الوراثية.

جدول (4) تكرار التراكيب الوراثية .Genotype frec لجين CAPN1 في فروج اللحم نوع Ros 308

الاليل	التكرار
A	%52.5
B	%47.5
المجموع	%100

تم حساب التكرارات الأليلية لجين CAPN1 على اساس وجود او غياب مواقع القطع في مختلف الأليلات اذ ان الأليل الذي يمتلك موقع قطع واحد عند الموقع 217 زوج قاعدي اطلق علية أليل A اما عند وجود قطعه عند الموقع 200 زوج قاعدي اطلق علية أليل B اعتماداً على وفرة التراكيب الوراثية، وعند متابعة النتائج في جدول (4) نجد ان التكرارات الأليلية 52.5 و47.5 لكل من اليل A وB على التوالي. ان النتائج الحالية متفقة مع دراسة (22)، في حين لم تتفق مع نتائج (10) في السلوى الياباني حيث كانت التكرارات الأليلية لكل من اليل A وB (0.67، 0.33) على التوالي؛ يعزى سبب الاختلافات بين نسب التراكيب الوراثية والتكرارات الأليلية الى مدى الاختلافات بين السلالات والتراكيب الوراثية.

- **علاقة التركيب الوراثي لجين الـ CAPN1 في كل من وزن الجسم الحي ووزن الذبيحة ونسبة التصافي لفروج اللحم نوع Ros 308**: اظهرت نتائج التجربة الحالية المبينة في جدول (5) علاقه التركيب الوراثي لجين CAPN1 بوزن الجسم ووزن الذبيحة ونسبة التصافي حيث وجد تفوق معنوي ($P<0.05$) التركيب الوراثي BB على وزن الجسم ووزن الذبيحة عن التراكيب الوراثية AA وAB، وقد يعزى سبب هذا الفرق المعنوي بين التراكيب الوراثية الى تأثير جين CAPN1 بشكل واضح على التركيب الوراثي BB، واتفقت هذه النتائج مع الباحث (22) عندما قارن بين ثمان مجاميع لفروج اللحم وتأثير جين CAPN1 في وزن الجسم ووزن الذبيحة حيث اشاروا الى ان وزن الذبيحة وصفات الالياف العضلية تأثرت بشكل كبير بالجينات وعوامل التغذية والبيئة، كما وأوضح (23) ان التغذية وما تحتويه من بروتينات تؤثر على عمل الجينات من ناحيه وزن الجسم ووزن الذبيحة وكذلك القطعيات. واظهرت النتائج عدم وجود فروقات معنويه في نسبه التصافي بين معاملات التجربة وقد يرجع السبب الى تجانس تقريبي للوزن الحي بين افراد القطيع، واتفقت هذه النتيجة مع (24).

جدول (5) المتوسطات ± الخطأ القياسي للصفات (وزن الجسم وزن الذبيحه ونسبة التصافي) لعدد من التراكيب الوراثية لجين CAPN1 في فروج اللحم ROS 308

التركيب الوراثي (Genotype)	المتوسط ± الخطأ القياسي/غم		
	وزن الجسم الحي	وزن الذبيحة	نسبة التصافي (%)
AA	40.62 ± 2438.67 c	44.56 ± 1780.00 b	1.09 ± 72.93 a
AB	24.77 ± 2590.55 b	23.29 ± 1877.64 b	0.56 ± 72.47 a
BB	48.87 ± 2794.58 a	36.97 ± 2021.25 a	0.66 ± 72.34 a
مستوى المعنوية	**	**	NS
المتوسطات التي تحمل حروفا مختلفة ضمن العمود الواحد تختلف معنويا فيما بينها، ** ($P<0.01$).			

- **علاقة التركيب الوراثي لجين CAPN1 مع وزن قطعيات الذبيحة لفروج اللحم نوع Ros 308:** يبين جدول (6) ان النتائج المستحصل عليها من التجربة الحالية اذ تفوق التركيب الوراثي BB في وزن الفخذ والجناح والظهر على التراكيب الوراثية AA وAB وتفوق على التركيب الوراثي AA في الصدر والظهر وتتفق هذه النتائج مع (25) اذ وجدوا فروقات معنويه في وزن قطعيات الذبيحة وتوافقت نتائجه مع (26)، وقد اعزو سبب ذلك الى انه عندما تكون الظروف البيئية المرباة تحتها الطيور مثالية فأن تغير الجين يكون اعلى بينما في الظروف البيئية المتدنية فأنها تعمل على اختزال تأثيرها بحيث ان الطيور المتفوقة وراثياً لا يمكن ان تُظهر هذا التفوق، كما واظهرت نتائج التجربة الحالية عدم وجود فروقات معنويه بين التراكيب الوراثية AA، AB وBB في وزن الرقبة ودهن البطن.

جدول (6) المتوسطات ± الخطأ القياسي لوزن قطعيات الذبيحة غم لعدد من التراكيب الوراثية لجين CAPN1 في فروج اللحم ROS 308

التركيب الوراثي (Genotype)	المتوسط ± الخطأ القياسي/ غم					
	الصدر	الفخذ	الجناح	الرقبة	الظهر	دهن البطن
AA	643.66 ± 21.99 b	503.66 ± 12.16 b	181 ± 4.02 b	102.66 ± 3.86 a	349 ± 11.65 b	28.63 ± 1.33 a
AB	685.84 ± 11.34 ab	530.09 ± 8.54 b	184.90 ± 2.48 b	105.96 ± 2.68 a	370.81 ± 6.01 ab	32.41 ± 1.79 a
BB	716.25 ± 16.35 a	597.5 ± 13.36 a	201.25 ± 5.07 a	110.41 ± 5.94 a	395.83 ± 11.49 a	32.69 ± 2.75 a
مستوى المعنوية	**	**	**	NS	**	NS
المتوسطات التي تحمل حروفا مختلفة ضمن العمود الواحد تختلف معنويا فيما بينها. ** (P<0.01).						

- **علاقة التركيب الوراثي لجين CAPN1 في وزن الاحشاء المأكولة لفروج اللحم نوع Ros 308:** يوضح جدول (7) تفوق معنوي (P<0.01) للتركيب الوراثي BB في وزن الاحشاء المأكولة جميعها (الكبد والقانصة والقلب) على التراكيب الوراثية AA وAB، واشار (22) ان وزن الاحشاء الداخلية تتوافق طردياً مع وزن الجسم اذ ان التركيب الوراثي BB في التجربة الحالية تفوق معنوياً (P<0.01) في وزن الجسم على التراكيب الوراثية الاخرى، في حين لم تتفق هذه النتائج مع (27) اذ لم نجد فروقات معنوية بين التراكيب الوراثية في وزن الأحشاء الداخلية المأكولة وان سبب عدم تأثر الاحشاء المأكولة بجين CAPN1 كونه يؤثر بشكل عام وفعال على القطعيات الرئيسية المشتملة على قطعية الصدر وقطعية الفخذ واتفقت هذه النتيجة مع نتائج الباحث (24).

جدول (7) المتوسطات ± الخطأ القياسي لوزن الأحشاء المأكولة غم لعدد من التراكيب الوراثيه لجين CAPN1 في فروج اللحم ROS 308

التركيب الوراثي (Genotype)	المتوسط ± الخطأ القياسي/ غم		
	الكبد	القانصة	القلب
AA	b 1.74 ± 57.27	b 1.27±31.05	b 0.75±14.02
AB	b 1.19±57.63	ab 1.02 ± 33.32	b 0.48 ±14.42
BB	a 3.47 ±61.84	a1.85 ±36.29	a 1.49 ±16.84
مستوى المعنوية	**	**	**
المتوسطات التي تحمل حروفا مختلفة ضمن العمود الواحد تختلف معنويا فيما بينها. ** (P<0.01) .			

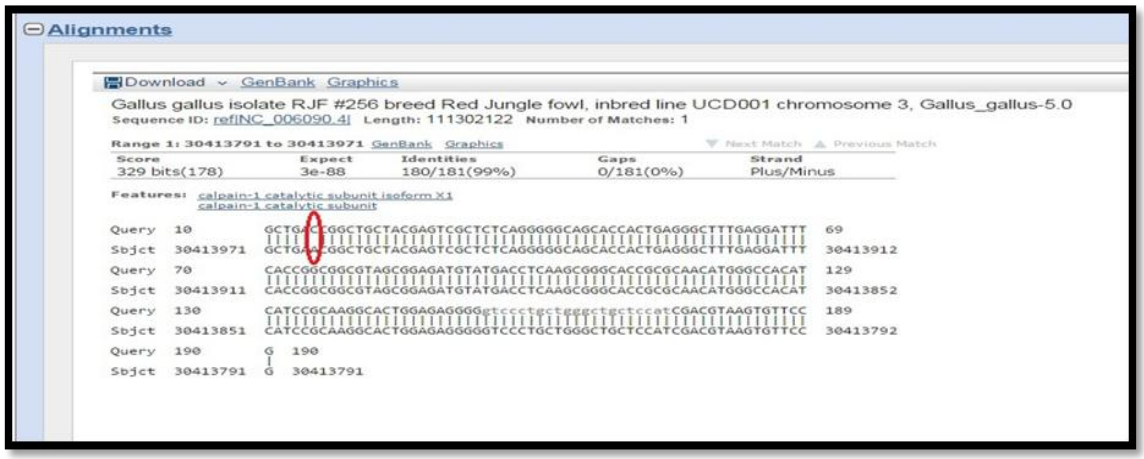
- **علاقة التراكيب الوراثية لجين CAPN1 مع قياسات اطوال الصدر:** يوضح جدول (8) ان التركيب الوراثي BB تفوق معنوياً ($P<0.01$) في طول وعرض وعمق الصدر على التراكيب الوراثية AB ويعزى سبب هذا التفوق الى ان التركيب الوراثي BB تفوق معنوياً في وزن قطعية الصدر حسب ما موضح في بيانات التجربة في جدول (8) وهذا ما اشار اليه (25، 26).

جدول (8) المتوسطات ± الخطأ القياسي لقياسات الصدر (طول وعرض وعمق) لعدد من التراكيب الوراثية لجين CAPN1 في فروج اللحم ROS 308

التركيب الوراثي (Genotype)	المتوسط ± الخطأ القياسي (ملم)		
	الطول	العرض	العمق
AA	b 1.55 ± 143.97	b 1.76 ± 109.58	b 0.29 ± 23.60
AB	ab 0.73 ± 144.40	ab 0.87 ± 111.99	ab 0.17 ± 23.74
BB	a 0.95 ± 146.69	a 1.35 ± 114.19	a 0.17 ± 24.00
مستوى المعنوية	**	**	**

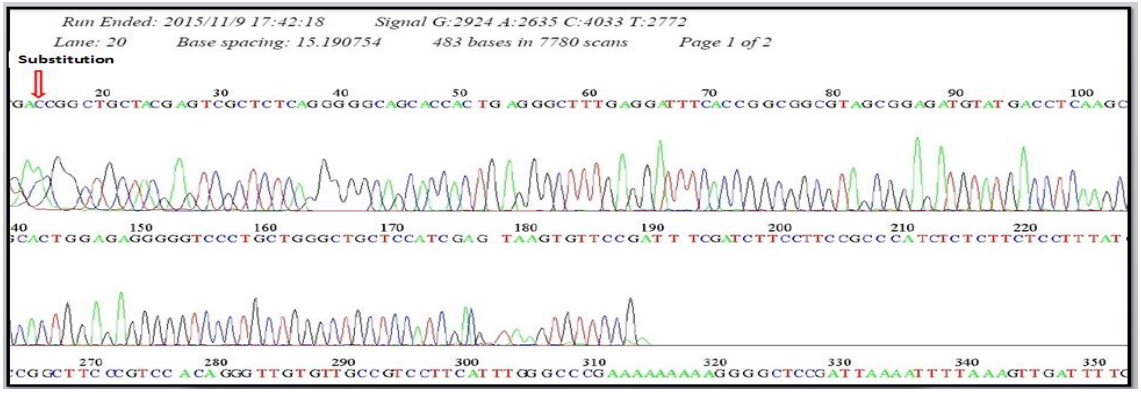
المتوسطات التي تحمل حروفا مختلفة ضمن العمود الواحد تختلف معنويا فيما بينها. ** ($P<0.01$) .

- **دراسة التتابعات لجين CAPN1 لفروج اللحم نوع Ros 308:** تم دراسة تتابع التسلسلات لجين CAPN1 بعد ارسال 40 عينة من ناتج تقنية الـ PCR لفروج اللحم نوع Ros 308. وبعدها تمت مقارنتها مع المركز الوطني لمعلومات التكنولوجيا الحيوية (NCBI nucleotide blast) من اجل دراسة بعض التغايرات الحاصله في الجين. وان البادىء المستخدم في دراستي يضخم جزء من جين CAPN1 والذي يعمل على الاكسون 5 و6 للجين. وكذلك تمت دراسة العينات في برنامج Maga 6. التغاير الاول لجين CAPN1 من عينات فروج اللحم قيد الدراسة الموجود في الاكسون 5 و6 وتمت مقارنتها مع المركز الوطني لمعلومات التكنولوجيا الحيوية (NCBI nucleotide blast) حيث نلاحظ بعض التغايرات وهي الاستبدال والتي يمكن ملاحظتها في الشكل (4 أ، ب، ج).



شكل (4 أ) يبين هذا الشكل الاختلاف في تتابع جين CAPN1 حيث وجد استبدال قاعدة نيكلوتيدية (30413976 C/A) عند المقارنه مع المركز الوطني لمعلومات التكنولوجيا الحيوية (NCBI nucleotide blast).

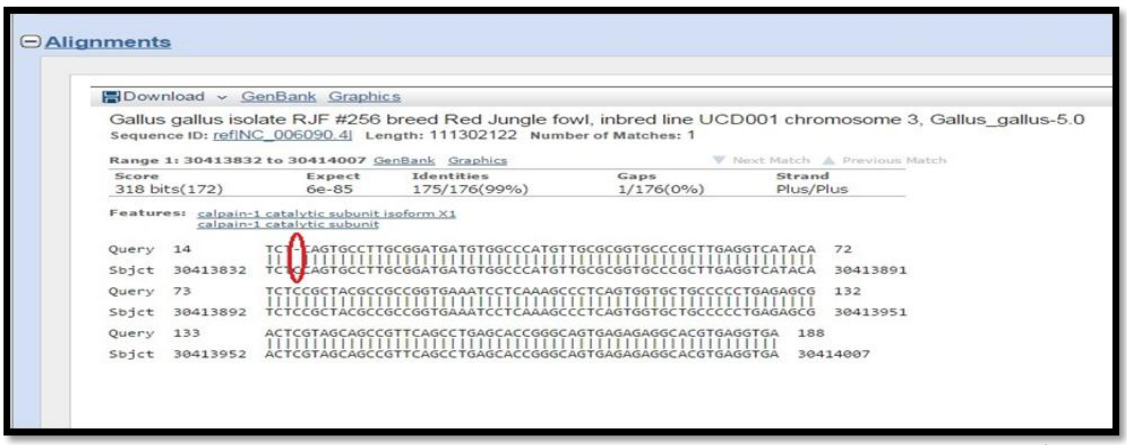
شكل (4 ب) يبين الشكل مقارنة لجين CAPN1 بين السيطرة (control) المأخوذة من المركز الوطني لمعلومات التكنولوجيا الحيوية (NCBI) وعينات فروج اللحم قيد الدراسة في برنامج Maga 6.



GACCGGCTGCTACGAGTCGCTCTCAGGGGGCAGCACCACTGAGGGCTTTGAGGAT
TTCACCGGCGGCGTAGCGGAGATGTATGACCTCAAGC

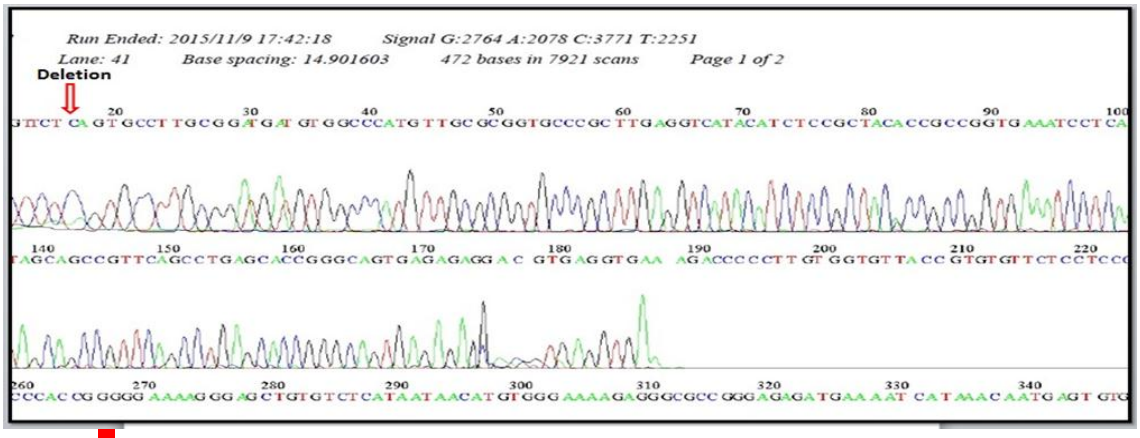
شكل (4 جـ) يوضح صورة شكلية لتتابعات القواعد النيتروجينية في عينات فروج اللحم قيد الدراسة مع تحديد موقع الطفرة (استبدال).

في هذه العينة لجين CAPN1 تم ظهور SNP استبدال C/A في القاعدة النتروجينية 30413976- 30413978/ ACG في الاكسون 5 و 6 والتي تسببت بحدوث طفرة (نقطية) ادت الى تغاير الحامض الاميني من .Pro الى .Thr، ونتيجة لظهور هذه الطفرة ادى الى حدوث زيادة في وزن الصدر والفخذ وهذه النتيجة جاءت متفقة مع دراسة(22). نلاحظ التغاير الثاني لجين CAPN1 من عينات فروج اللحم قيد الدراسة وبعد مقارنتها مع المركز الوطني لمعلومات التكنولوجيا الحيوية (NCBI nucleotide blast) حيث نلاحظ وجود بعض التغايرات وهي الحذف في القواعد النيكلوتيدية والتي يمكن ملاحظتها في الشكل (5 أ، ب، جـ).



شكل (5 أ) يبين هذا الشكل الاختلاف في تتابع جين CAPN1 حيث تم اكتشاف حذف قاعدة نيكلوتيدية (30413976 C/A) عند المقارنة مع المركز الوطني لمعلومات التكنولوجيا الوطني (NCBI nucleotide blast).

شكل (5 ب) يبين الشكل مقارنة لجين CAPN1 بين السيطرة (control) المأخوذ من المركز الوطني لمعلومات التكنولوجيا الحيوية (NCBI) وعينات فروج اللحم قيد الدراسة في برنامج Maga 6



GTTCT–CAGTGCCTTGCGGATGATGTGGCCCATGTTGCGCGGTGCCCG

CTTGAGGTCATACATCTCCGCTACACCGCCGGTGAAATCCTCA

شكل (5 جـ) يوضح صورة شكلية لتتابعات القواعد النيتروجينية في عينات فروج اللحم قيد الدراسة مع تحديد موقع الطفرة (حذف).

في هذه العينة لجين CAPN1 ظهر حذف في القاعدة النتروجينية 30413834 – 30413836 / TCC، في الاكسون 5 و6 والتي سببت حذف في انتاج الاحماض الامينية Ser. / Deletion.

- **انواع الطفرات وتأثيرها على جين CAPN1:** ظهرت تغايرات مختلفة في واحد او اكثر من مناطق الجين قيد الدراسة. في حين تشير التغايرات الى استبدال او حذف والتي بدورها تؤثر على جين CAPN1، وتم استخدام برنامج الـ Maga 6 لمعرفة نوع التغاير في الشفرات المنتجة للبروتينات في فروج اللحم نوع Ros 308 كما مبين في الجدول (9).

جدول (9) التغايرات الحاصلة في انتاج البروتين بعد حصول الطفرات

اسم الجين	الطراز البري	نوع التغاير	التغاير في الحامض الاميني	موقع النيوكليوتيدية	نوع الطفرة	تأثيرها على الترجمة
CAPN1	ACG TCC	CCG T-C	Pro. – Thr. Deletion. – Ser.	15 17	استبدال حذف	Nonsense Frame shift

يبين جدول (9) التغايرات التي تحصل في انتاج البروتين بعد حدوث الطفرة نلاحظ التغاير الاول في جين الـ CAPN1 دى الى استبدال قاعدة نيكلوتيدية باخرى CCG/ ACG وهذا النوع من الطفرة يسمى استبدال مما يؤثر على انتاج البروتين (عمل ووظيفة) وبهذا التغير ينعكس بشكل ايجابي على الزيادة في وزن الصدر والفخذ. اما التغاير الثاني لجين CAPN1 ادى الى حذف قاعدة نيكليوتايدية.

- **النسبة المئوية للطفرات:** ان النسب المئوية للطفرات المدروسة لجين CAPN1 على الاكسون 5 و6 موضحه في الجدول (10).

جدول (10) النسبة المئوية لانواع الطفرات

نوع الطفرة	النسبة المئوية%
استبدال	%37.5
حذف	%37.5

يبين جدول (10) ان الطفرة من نوع استبدال (Substitution) ظهرت في الـ CAPN1 بنسبة 37.5 %، في حين الطفرة من نوع حذف (Deletion) ظهرت بنسبة 37.5 % و25% لم تظهر بها اي تغيير في عينات فروج اللحم من نوع Ros 308.

يمكن الاستنتاج أنه يمكن تحديد الجينات ذات العلاقه مع صفات الذبيحه مختبريا وتحديد التراكيب الوراثيه للافراد بناءا علئ محتوئ الافراد الوراثي لهذه الجينات. كما يمكن تحديد التراكيب الوراثية للأفراد وبأعمار مبكره وكذلك تحديد الافراد الافضل بناءا علئ المعلومات المستحصل عليها والاستفاده منها من اجل الانتخاب المبكر. تمتاز الافراد الحامله للتراكيب الوراثية BB لجين CAPN1 بالتفوق على بقية التراكيب الوراثية في صفات وزن الجسم الحي ووزن الذبيحه ووزن الصدر والفخذ والقلب والقانصة ونسبة الفخذ الاعلى وعرض الصدر. ان استعمال الجينات قيد الدراسة مؤشرات وراثية يمكن ان يساهم في زيادة العائد الوراثي للافراد الحاملة للجين في الصفات الانتاجية وصفات الذبيحة المهمة، مما يسبب في زيادة محصول اللحم وزيادة نسب القطعيات المرغوبة ذات القيمة الاقتصادية الأعلى، وبالتالي يمكن اعتبار هذه النتائج خطوة مهمة في برامج التحسين الوراثي لصفات الذبيحة في فروج اللحم. بالإمكان استعمال جين CAPN1 كمؤشر وراثي في برامج الانتخاب وخاصة في برامج تربية اباء وامهات فروج اللحم.

المصادر

1. Bihan-Duva, E. L.; Debut, M.; Berri, C. M.; Sellier, N.; Sante-Lhoutellier, V.; Jego, Y. & Beaumont, C. (2008). Chicken meat quality: genetic variability and relationship with growth and muscle characteristics. BMC Genet., 9:53.
2. Mcelroy, J. P.; Harry, D. E.; Dekkers, J. C. M. & Lamont, S. J. (2002). Molecular markers associated with growth and carcass traits in Meat-type Chickens. 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, August, PP. 19-23.
3. خليل، ماهر حسب النبي والحميدان، إبراهيم بن حمد. (2004). كتاب تربية وتحسين الدواجن. جامعة الملك سعود – الرياض.
4. Goll, D. E.; Thompson, V. F.; Li, H.; Wei, W. & Cong, J. (2003). The Calpain System. Physiol. Rev., 83: 731-801.
5. Zhang, Z. R.; Liu, Y. P.; Yao, Y. G.; Jiang, X. S.; Du, H. R. & Zhu, Q. (2009). Identification and association of the single nucleotide polymorphisms in calpain3 (CAPN3) gene with carcass traits in chickens. BMC Genet., 10:10.
6. Lian, T.; Wang, W. & Liu, Y. (2013). A new insight into the role of Calpains in Post-mortem meat tenderization in domestic Animals: A review. Asian-Australas J. Anim. Sci., 26 (3): 443-445.
7. Okumura, F.; Shimogiri, T.; Kawabe, K. & Okamoto, S. (2006). Gene constitution of South-East Asian native chickens, commercial chickens and Jungle fowl using polymorphisms of four calpain genes. Anim. Sci., 77: 188-195.

8. Liu, R.; Sun, Y.; Zhao, G.; Wang, F.; Wu, D.; Zheng, M.; Chen, J.; Zhang, L.; Hu, Y. & Wen, J. (2013). Genome-Wide association study identifies loci and candidate genes for body composition and meat quality traits in Beijing-You Chickens. PLoS ONE 8(4):e61172.
9. Sun, Y.; Zhao, G.; Liu, R.; Zheng, M.; Hu, Y.; Wu, D.; Zhang, L.; Li, P. & Wen, J. (2013). The identification of 14 new genes for meat quality traits in chicken using a genome-wide association study. BMC Genomics,14:458.
10. Rasouli, Z.; Zerehdaran, S.; Azari, M. A. & Shargh, M. S. (2013). Genetic polymorphism of the CAPN1 gene is associated with meat quality traits in Japanese quail. Br. Poult. Sci., 54 (2):171-175.
11. Felicio, A. M.; Boschiero, C.; Balieiro, J. C. C.; Ledur, M. C.; Ferraz, J. B. S.; Michelan Filho, T.; Moura, A. S. A. M. T. & Coutinho, L. L. (2013). Identification and association of polymorphisms in CAPN1 and CAPN3 candidate genes related to performance and meat quality traits in chickens. Genet. Mol. Res., 12 (1): 472-482.
12. Koohmaraie, M. & Geesink, G. H. (1999). Effect of calpastatin on degradation of myofibrillar proteins by u-calpain under postmortem conditions. J. Anim. Sci., 77: 2685-2692.
13. NCBI, National Center for Biotechnology Information. (2015). Available at [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/].
14. Sambrook, J. & Russel, D. (2001). Molecular cloning: a laboratory manual. 3rd ed. Cold Spring Harbor, New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
15. Thakur, M. S.; Parmar, S. N. S.; Tolenkhomba, T. C.; Srivastava, P. N.; Joshi, C. G.; Rank, D. N.; Solanki, J. V. & Pillai, P. V. A. (2006). Growth hormone gene polymorphism in Kadaknath breed of poultry. Indian J. Biotechnol., 5: 189-194.
16. البغدادي، محمد فوزي، عبد سلطان حسن وشوكت، طارق فرج. (1995). تأثير الخط الوراثي والكثافة في الصفات النوعية والقطعيات لذبائح الذكور خطين من خطوط فروج اللحم (فاوبرو). مجلة البصرة للعلوم الزراعية، 8(2).
17. الفياض، حمدي عبد العزيز وناجي، سعد عبد الحسين. (1989). تكنلوجيا منتجات الدواجن. مطبعة التعليم العالي، بغداد.
18. المرسومي، طارق صلاح فتحي. (2000). تأثير احلال الذرة البيضاء والترتكلي محل الذرة الصفراء في اداء فروج اللحم. رسالة ماجستير، كلية الزراعة– جامعة بغداد.
19. Griffiths, L. S.; Lesson, S. & Summers, J. D. (1977). Studies on abdominal fat with four commercial strains of male broilers chickens. Poult. Sci., 57: 1198-1203.
20. SAS. (2012). Statistical Analysis System, User's Guide. Statistical. Version 9.1th ed. SAS. Inst. Inc. Cary. N.C. USA.
21. Duncan, D. B. (1955). Multiple Rang and Multiple F-test. Biometrics. 11: 4-42.
22. Zhang, Z. R.; Liu, Y. P.; Jiang, X. S.; Du, H. R. & Zhu, Q. (2008). Study on association of single nucleotide polymorphism of CAPN1 gene with muscle fiber and carcass traits in quality chicken populations. J. Anim. Breed Genet., 125:258-264.
23. Marcu, A.; Dumitrescu, G.; Stef, L.; Petculescu Ciochina, L.; Pet, I.; Dronca, D.; Baul, S. & Marcu, A. (2014). The Influence of Nutrition, Sex and Slaughter Age on Characteristics of Pectoralis Major Muscle at Broiler Chickens Ross-308. Scientific Papers: Animal Science and Biotechnologies, 47 (1): 306-312.

24. Al-Kkhateeb, B. G. M. (2015). Effect of growth Hormone and it's Receptor gene polymorphisms on Productive and Physiological Traits in two Broiler Hybrid chickens. PhD Dissertation, College of Agriculture, University of Baghdad.
25. Bingxue, Y.; Xuemei, D.; Jing, F.; Xiaoxiang, H.; Changxin, W. & Ning, L. (2003). Single nucleotide polymorphism analysis in chicken growth hormone gene and its associations with growth and carcass traits. Chin. Sci. Bull., 48:1561-1564.
26. Ghelghachi, A. A.; Seyedabadi, H. R. & Lak, A. (2013). Association of growth hormone gene polymorphism with growth and fatness traits Arian broilers. Int. J. Biosci., 3:216-220.
27. Shu, J. T.; Zhang, M.; Shan, Y. J.; Xu, W. J.; Chen, K. W. & Li, H. F. (2015). Analysis of the genetic effects of CAPN1 gene polymorphisms on chicken meat tenderness. Genet. Mol. Res., 14 (1): 1393-1403.